



T.C
BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ GENETİK ANABİLİM DALI

**OSTEOGENEZİS İMPERFEKTA TANILI HASTALARIN GENOTİP VE
FENOTİP KORELASYONU**

Dr. Lamiya ALİYEVA

UZMANLIK TEZİ

Bursa-2020



T.C
BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ GENETİK ANABİLİM DALI

**OSTEOGENEZİS İMPERFEKTA TANILI HASTALARIN GENOTİP VE
FENOTİP KORELASYONU**

Dr. Lamiya ALİYEVA

UZMANLIK TEZİ

Danışman: Doç. Dr. Şebnem ÖZEMRİ SAĞ
Eş Danışman: Doç. Dr. Şehime Gülsün TEMEL

Bursa-2020

İÇİNDEKİLER

KISALTMALAR LİSTESİ	v
TABLolar LİSTESİ	vii
ŞEKİLLER LİSTESİ	viii
ÖZET	xi
SUMMARY	xii
GİRİŞ ve AMAÇ	1
I. Kemik Yapısı.....	7
I.A. Kemik Hücreleri.....	10
I.A.a. Osteoprogenitör hücreler.....	10
I.A.b. Osteoblastlar.....	11
I.A.c. Osteositler.....	14
I.A.d. Osteoklastlar.....	16
I.B. Kemiğin Yeniden Düzenlenmesi.....	17
I.C. Organik Matriks.....	19
I.C.a. Kollajen Tip I Proteininin Yapısı ve Biyosentezi.....	20
I.C.b. Tip 1 Kollajenin Sentezi ve Translasyon Sonrası Modifikasyonu (Olgunlaşması ve Şekillenmesi).....	22
I.C.b.a. Kollajen Tip I Biyosentezi.....	22
I.C.b.b. Postranslasyonel Modifikasyon ve Çapraz Bağlanma.....	23
I.C.b.c. Kollajen Çapraz Bağları Oluşturması ve Katlanması.....	24
I.C.b.d. Kollajenin İşlenmesi /Kesilmesinde BMP1.....	24
I.C.b.e. Osteoblast Gelişimi ve İşlevi.....	25
I.C.b.f. Endoplazmik Retikulum İlişkili Proteinler.....	25
I.C.b.g. Kemik Mineralizasyonu.....	26
I.C.c. Non-Kollajen Proteinler.....	26
II. Osteogenezis İmpperfektayı Andıran Sendromlar.....	27
II.A. Rizomeli ile Giden Konjenital Kırılgan Kemik.....	27
II.B. Hiperplastik Kallus Formasyonu ile Seyreden Konjenital Kırılgan Kemik (tip V Oİ).....	28

II.C. Osteoporoz – Psödogliom Sendromu (OPS).....	28
II.D. Eklem Kontraktürleriyle Seyreden Konjenital Kırılğan Kemik Hastalıkları (Bruck Sendromu) (BS).....	29
II.E. Mineralizasyon Defektiyle Seyreden Konjenital Kırılğan Kemik Hastalıkları.....	30
III. Osteogenezis İmperfekta.....	30
III.A. Tarihsel Bakış.....	30
III.B. Klinik Özellikler	34
III.B.a. Kas ve kemik bulguları.....	35
III.B.b. Kraniyo - spinal bulgular.....	36
III.B.c. İşitme kaybı.....	39
III.B.d. Göz bulguları	40
III.B.e. Dentinogenezis imperfekta.....	42
III.B.f. Boy kısalığı.....	43
III.B.g. Cilt bulguları.....	43
III.B.h. Kardiyovasküler bulgular	44
III.B.i. Pulmoner bulgular.....	44
III.B.j. Gastrointestinal bulgular	45
III.B.k. Diğer bulgular.....	45
III.C. Tanı.....	46
III.C.a. Biyokimyasal Tanı	46
III.C.b. Prenatal Tanı.....	46
III.C.c. Postnatal Tanı.....	47
III.C.d. Radyolojik Tanı.....	49
III.C.d.a. Tip I.....	49
III.C.d.b. Tip II.....	49
III.C.d.b.a. Tip IIA	49
III.C.d.b.b. Tip IIB	50
III.C.d.b.c. Tip IIC	51
III.C.d.c. Tip III.....	52
III.C.d.d. Tip IV	53
III.C.d.e. Tip V	54

III.C.d.f. Tip VII ve Tip VIII.....	55
III.C.d.g. Tip IX	56
III.C.e. Sınıflandırma.....	57
III.C.f. Tedavi.....	65
MATERYAL ve METOD	66
IV. Olgu Grubu ve Klinik Değerlendirmeler.....	66
IV.A. Moleküler Yöntemler	67
IV.A.a. DNA Kalitesinin Değerlendirilmesi ve Yoğunluğunun Ölçümü.....	67
IV.A.b. Hedef Genlerin Belirlenmesi ve Genetik Analizler.....	67
IV.A.c. Yeni Nesil Dizileme Tabanlı Gen- Panel Testi.....	68
IV.A.d. Veri Analizi	74
IV.A.e. Doğrulama ve Segregasyon Analizleri.....	74
BULGULAR.....	76
V. Seçilmiş Olgular.....	91
V.A. Olgu (Oİ#1).....	91
V.A.a. Klinik Bulgular.....	91
V.A.b. Moleküler Bulgular.....	91
V.B. Olgu (Oİ#4).....	92
V.B.a. Klinik Bulgular.....	92
V.B.b. Moleküler Bulgular.....	93
V.C. Olgu (Oİ#7)	94
V.C.a. Klinik Bulgular)	94
V.C.b. Moleküler Bulgular	95
V.D. Olgu (Oİ#8).....	95
V.D.a. Klinik Bulgular.....	95
V.D.b. Moleküler Bulgular.....	96
V.E. Olgu (Oİ#9).....	97
V.E.a. Klinik Bulgular.....	97
V.E.b. Moleküler Bulgular.....	98
V.F. Olgu (Oİ#13).....	98
V.F.a. Klinik Bulgular.....	98
V.F.b. Moleküler Bulgular.....	99

V.G. Olgu (Oİ#15).....	100
V.G.a. Klinik Bulgular.....	100
V.G.b. Moleküler Bulgular.....	101
V.H. Olgu (Oİ#16).....	101
V.H.a. Klinik Bulgular.....	101
V.H.b. Moleküler Bulgular.....	102
V.I. Fetüs Olgu (Oİ#23).....	103
V.I.a. Klinik Bulgular.....	103
V.I.b. Moleküler Bulgular.....	104
V.J. Olgu (Oİ#26).....	104
V.J.a. Klinik Bulgular.....	104
V.J.b. Moleküler Bulgular.....	105
V.K. Olgu (Oİ#40).....	105
V.K.a. Klinik Bulgular.....	105
V.K.b. Moleküler Bulgular.....	106
TARTIŞMA VE SONUÇ	108
KAYNAKLAR	120
TEŞEKKÜRLER	134
ÖZGEÇMİŞ	135

KISALTMALAR LİSTESİ

ALP:	<i>Alkaline Phosphatase</i> (Alkalin Fosfataz)
AS:	Amniyosentez
BI:	<i>Basilar Impression</i> (Baziller İmpresyon)
BMP:	<i>Bone Morphogenetic Protein</i> (Kemik Morfogenetik Protein)
Ca:	<i>Calcium</i> (Kalsiyum)
CRTAP:	<i>Cartilage Associated Protein</i> (Kıkırdak İlişkili Protein)
CVS:	<i>Chorionic Villus Sampling</i> (Koryon Villus Biyopsisi)
Dak:	Dakika
DbSNP:	<i>The Single Nucleotide Polymorphism Database</i> (Tek Nükleotid Polimorfizm Veritabanı)
ddH₂O:	Distile su
DI:	<i>Dentinogenesis Imperfecta</i> (Dentinogenezis İmperfekta)
Dkk1:	<i>Dickkopf-related protein 1</i> (Dickkopf ile ilgili protein 1)
DKMP:	Dilate Kardiyomiyopati
DNA:	Deoksiribonükleik asit
ECM:	<i>Extracellular matrix</i> (Ekstraselüler matriks)
EDTA:	Etilendiamin tetraasedik
EKO:	Ekokardiyografi
ER:	<i>Endoplasmic Reticulum</i> (Endoplasmik Retikulum)
ExAC:	<i>Exome Aggregation Consortium</i> (Ekzom toplama konsorsiyumu)
FGFR3:	<i>Fibroblast Growth Factor Receptor 3</i> (Fibroblast Büyüme Faktörü Reseptörü 3)
FISH:	<i>Fluorescence In Situ Hybridization</i> (Floresan yerinde hibridizasyon)
F-USG:	Fetal Ultrasonagrafi
HGMD:	<i>Human Gene Mutation Database</i> (İnsan Mutasyon Veri Bankası)
IGF:	<i>Insulin-like Growth Factor</i> (İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü)
IGV:	<i>Integrative Genomics Viewer</i> (Bütünleştirici Genomik Görüntüleyici)

IL:	<i>Interleukin</i> (İnterlökin)
KS:	Kordosentez
KVS:	Kardiyovasküler
LRP:	<i>Lipoprotein Related Protein</i> (Lipoprotein ile ilgili protein)
M-CSF:	<i>Macrophage – Colony Stimulating Factor</i> (Makrofaj Koloni Uyarıcı Faktör)
NCBI:	<i>The National Center for Biotechnology Information</i> (Ulusal Biyoteknoloji Bilgi Merkezi)
OD:	<i>Autosomal Dominant</i> (Otozomal Dominant)
OI:	Osteogenesis Imperfecta (Osteogenezis İmperfekta)
OMIM:	Online Mendelian Inheritance in Man
OPG:	Osteoprotegerin
OR:	<i>Autosomal Recessive</i> (Otozomal Resesif)
PTH:	<i>Parathyroid Hormone</i> (Paratiroid Hormon)
PZR:	Polimeraz Zincir Reaksiyonu (<i>Polymerase Chain Reaction</i>)
San:	Saniye
SD:	Sanger Dizileme (<i>Sanger Sequencing</i>)
SIFT:	<i>Sorting Intolerant From Tolerant</i>
UTR:	Untranslated region (Çevrilmemiş bölge)
XLD:	<i>X-linked dominant</i> (X'e bağlı dominant)
XLR:	<i>X-linked recessive</i> (X'e bağlı resesif)
VCF:	<i>Variant Call Format</i>
YND:	Yeni Nesil Dizileme (<i>Next Generation Sequencing</i>)
WES:	<i>Whole Exome Sequencing</i> (Tüm Ekzom Dizileme)
WGS:	<i>Whole Genome Sequencing</i> (Tüm Genom Dizileme)
µl:	mikrolitre

TABLolar LİSTESİ

Tablo-1: Oİ'nin klinik ve genetik tipleri ve ayırt edici özellikleri.....	3
Tablo-2: Osteogenezis imperfekta ve sinonimler.....	32
Tablo-3: Osteogenezis imperfekta tiplerinde sklere.....	41
Tablo-4: Osteogenezis imperfektaya neden olan genler, kalıtım şekli ve kliniği.....	57
Tablo-5A: Oİ ile ilgili mutasyona sahip olguların fenotip özellikleri.....	81
Tablo-5B: Oİ ile ilgili mutasyona sahip olguların genotip özellikleri.....	82
Tablo-6: Mutasyon saptanan hastaların mutasyonun ailedeki segregasyonu.....	83
Tablo-7: Saptanan varyantlar analizleri.....	84
Tablo-8: YND İle Mutasyon Saptanmayan Olgular.....	91

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil-1: Uzun kemiğin yapısı.....	7
Şekil-2: Uzun kemiğin epifiz, metafiz, diafiz kısımları.....	8
Şekil-3: Kemik dokusu.....	9
Şekil-4: Kemik hücreleri	10
Şekil-5: Kemik oluşumunda osteoblastların evrimi.....	11
Şekil-6: Kemik hücrelerinden salgılanan proteinlerin parakrin etkileri.....	13
Şekil-7: <i>RUNX2</i> stabilitesinin ve transkripsiyonel aktivitenin düzenlenmesi...	14
Şekil-8: Kemik matriksi içerisinde osteositler.....	15
Şekil-9: Osteoklast oluşumu.....	17
Şekil-10: Kemiğin yeniden düzenlenmesi.....	18
Şekil-11: Kollajen sentezi.....	21
Şekil-12: Kollajenin yapısı.....	22
Şekil-13: M.Ö. 1000 yılında Mısır'da bulunan British Museum'da korunan çocuk mumyasına ait kalıntılar.....	31
Şekil-14: O.J. Ekman'ın doktora tezi.....	31
Şekil-15: Dr. Willem Vrolik tarafından tanımlanan fetusa ait illüstürasyon.....	33
Şekil-16: A, kılıç kını 'saber shin', B, çoban asası 'shepherd's crook' görüntüsü.....	36
Şekil-17: Baziler invajinasyon görüntüsü.....	37
Şekil-18: Wormian kemik görüntüsü.....	38
Şekil-19: O'lı hastalarda toraks deformitesi, kifoskolyoz.....	39
Şekil-20: Çoklu vertebraların çökmesi ('codfish vertebra').....	39
Şekil-21: O'ı hastasında mavi sklera.....	41
Şekil-22: O'ı hastalarında D'ı örneği.....	42
Şekil-23: O'ı'de postnatal tanı için algoritma.....	48
Şekil-24: O'ı tip I'de radyolojik görüntü.....	49
Şekil-25: O'ı tip IIA "beading" radyoloji görüntüsü.....	50
Şekil-26: O'ı tip IIB radyoloji görüntüsü.....	51
Şekil-27: O'ı tip IIC radyoloji görüntüsü.....	52

Şekil-28: OI tip III radyoloji görüntüsü.....	53
Şekil-29: OI tip IV radyoloji görüntüsü.....	53
Şekil-30: OI tip V. (a) Hiperplastik kallus. (b, c) İnterosseoz membranda kalsifikasyon.....	54
Şekil-31: OI tip V, metafizyel radyodens bant.....	55
Şekil-32: OI tip V. Radioulnar interosseoz membran ossifikasyonu.....	55
Şekil-33: OI tip VII radyoloji görüntüsü.....	56
Şekil-34: OI tip IX, <i>PPIB</i> gen mutasyonu olan hastanın radyoloji görüntüsü.....	56
Şekil-35: OI tip VI, “balık pulu” görünümü.....	61
Şekil-36: Günümüzde hastaların yaş ortalaması (yıl).....	78
Şekil-37: Klinik sınıflandırma.....	78
Şekil-38: Klinik bulgular.....	79
Şekil-39: Patojenik varyant saptanan genler.....	79
Şekil-40: Saptanan varyant tipleri.....	80
Şekil-41: <i>COL1A1</i> geninde mutasyon saptanan olguların bulguları.....	85
Şekil-42: <i>COL1A1</i> geninde saptanan varyantların “lolipop” görüntüsü.....	86
Şekil-43: <i>COL1A2</i> geninde mutasyon saptanan olguların bulguları.....	86
Şekil-44: <i>COL1A2</i> geninde saptanan varyantların “lolipop” görüntüsü.....	87
Şekil-45 A: <i>LEPRE1/P3H1</i> geninde saptanan varyantların “lolipop” görüntüsü.....	87
Şekil-45 B: <i>FKBP10</i> geninde saptanan varyantların “lolipop” görüntüsü.....	88
Şekil-45 C: <i>SERPINH1</i> geninde saptanan varyantların “lolipop” görüntüsü.....	88
Şekil-45 D: <i>IFITM5</i> geninde saptanan varyantların “lolipop” görüntüsü.....	89
Şekil-45 E: <i>PLS3</i> geninde saptanan varyantların “lolipop” görüntüsü.....	89
Şekil-45 F: <i>NBAS</i> geninde saptanan varyantların “lolipop” görüntüsü.....	90
Şekil-46: Olgu 1’in pedigrisi ve iskelet survey görüntüsü.....	92
Şekil-47: NGS’de saptanan varyantının IGV görüntüsü ve aile segregasyon görüntüsü.....	93
Şekil-48: OI#4’ün pedigrisi ve iskelet survey görüntüsü.....	94

Şekil-49: COL1A2 geni c.938G>A varyantının IGV görüntüsü ve aile segregasyon görüntüsü.....	94
Şekil-50: A, pedigrisi; B, FKBP10 geni c.419delT varyantının IGV görüntüsü...	95
Şekil-51: Alt ekstremitelerde bowing görünümü.....	95
Şekil-52: Oİ#8'in pedigrisi, hiperplastik kallus ve kostalarda incelme görüntüsü.....	97
Şekil-53: IFITM5 geni c.-14C>T varyantının IGV görüntüsü.....	97
Şekil-54: Oİ#9'un pedigrisi ve ekstremitelerde "bowing", skolyoz ve kostalarda incelme.....	98
Şekil-55: COL1A1 geni c.2452-1G>C varyantının IGV görüntüsü ve aile segregasyon görüntüsü.....	99
Şekil-56: A; vakanın pedigrisi, B; SERPINH1 geni homozigot c.635A>C varyantının IGV görüntüsü.....	100
Şekil-57: "Bowling", "popcorn" kalsifikasyon, skolyoz görünümü.....	100
Şekil-58: A; Oİ#15 pedigrisi, B; homozigot varyantının IGV görüntüsü, C; aile segregasyon görüntüsü.....	101
Şekil-59: Skolyoz, "popcorn" kalsifikasyon, "bowing" görüntüsü.....	102
Şekil-60: A; Oİ#16'nın pedigrisi, B; varyantının IGV görüntüsü.....	103
Şekil-61: Osteoporoz ve vertebralarda çökme görüntüsü.....	103
Şekil-62: Oİ#23 fetüsün pedigrisi ve iskelet survey görüntüsü.....	104
Şekil-63: COL1A1 geni c.3141_3158del varyantının IGV görüntüsü.....	105
Şekil-64: A: Oİ#26 pedigrisi, B: Oİ#26 COL1A2 geni c.488G>A varyantının IGV görüntüsü.....	106
Şekil-65: Oİ#40'ın pedigrisi.....	107
Şekil-66: Oİ#40 NBAS geni c.392C>T ve c.6805G>A varyantının IGV görüntüsü.....	107

ÖZET

Osteogenezis imperfekta (OI), artmış kemik fragilitesi, düşük kemik kitlesi, tekrarlayan kırık ve deformitelerle karakterize, kemik dokusunun sık görülen kalıtsal bağ dokusu hastalığıdır.

Bu çalışmada, 2016-2020 yılları arasında Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı polikliniğine başvuran, OI ön tanısı alan 54 olgu kullanıldı. Tanı amaçlı yapılan yeni nesil dizileme (YND) sonucunda genlerde saptanan varyantlar veritabanları kullanılarak olguların klinik özellikleri ile birlikte retrospektif olarak değerlendirildi.

Olguların 17'si erişkin, 34'ü çocuk ve 3'ü fetüstü. 54 olguya klinik sınıflandırma yapıldığında 24 olgu Tip I, 3 olgu Tip II, 16 olgu Tip III, 9 olgu Tip IV olarak değerlendirildi. Olguların 30'unda mavi sklera, 16'sında skolyoz, 32'sinde çoklu kırığa bağlı ekstremitte deformiteleri, 27'sinde osteoporoz, 19'unda osteopeni, 38'inde boy kısalığı, 7'sinde Dİ, 1'inde işitme kaybı görüldü. Olguların 19'unda COL1A1 geninde 17, 10'unda COL1A2 geninde 10, 4'ünde LEPRE1/P3H1 geninde 5, 3'ünde FKBP10 geninde 3, 2'sinde SERPINH1 geninde 3, 1'inde IFITM5 geninde 1, 1'inde PLS3 geninde 1, 1'inde NBAS geninde 2 varyant tespit edildi.

Veri analizi yapılan 54 olgunun 41'inde, 18 yeni varyant olmak üzere toplam 39 varyant saptandı. Varyant saptanmayan 13 olguya tüm ekzom dizi analizi yapılması planlandı. Çalışmamızda OI'nin moleküler tanısında panel testinin YND tekniği ile çalışılmasının etkinliği, genotip-fenotip korelasyonu, genetik danışma ve preimplantasyon/prenatal tanının önemi vurgulandı.

Anahtar Kelimeler: Osteogenezis imperfekta, yeni nesil dizileme, yeni varyantlar, genetik danışma.

SUMMARY

Genotype and Phenotype Correlation of Patients Diagnosed Of Osteogenesis Imperfecta

Osteogenesis imperfecta (OI) is the most common inherited connective tissue disease of the bone, characterized by increased bone fragility, low bone mass, recurrent fractures and deformities.

In this study, 54 patients who were admitted to the outpatient clinic of Bursa Uludağ University, Department of Medical Genetics between 2016-2020 and prediagnosed as OI were used. The variants detected in the genes as a result of routine next generation sequencing (NSD) diagnostic tests were evaluated retrospectively with the clinical data of the cases.

17 of the cases were adult, 34 were children and 3 were fetuses. 24 cases were evaluated as Type I, 3 cases as Type II, 16 cases as Type III, and 9 cases as Type IV. Blue sclera in 30, scoliosis in 16, extremity deformities due to multiple fractures in 32, osteoporosis in 27, osteopenia in 19, short stature in 38, DI in 7, and hearing loss in 1 case were seen. 17 variants in COL1A1 In nineteen caseses 10 variants in COL1A2 ; in ten cas, 5 variants in LEPRE1 / P3H1 in four cases, 3 variants in FKBP10 in three cases, 3 variants in SERPINH1 in two cases, 1 variant in IFITM5 , 1 variant in PLS3 and 2 variants in the NBAS gene in three cases were detected.

A total of 39 variants were detected on 41 cases. 22 of these variants were novel. In our study, the effectiveness of the NGS panel test in the molecular diagnosis of OI, genotype-phenotype correlation, genetic counseling and preimplantation/prenatal diagnosis were emphasized.

Keywords: Osteogenesis imperfecta, next generation sequencing, novel variants, genetic counseling.

GİRİŞ ve AMAÇ

Osteogenezis imperfekta (Oİ); Otozomal dominant (OD), otozomal resesif (OR) ve X'e bağılı kalıtım modeli gösteren, tip 1 kollajenin yapısal veya sentez bozukluğuna bağılı olarak gelişen, kemik dokusunun en sık görülen, artmış kemik frajilitesi, düşük kemik kitlesi, tekrarlayan kırık ve deformitelerle karakterize kalıtsal bir bağ dokusu hastalığıdır (1).

Bilinen bilimsel olarak açıklanan ilk vaka sık kırık öyküsü olan bir ailede tanımlanmış olup 1674 yılında bildirilmiştir (2). Bu hastalığın ilk defa 1788 yılında osteoporozdan farklı bir durum olduğu İsveçli Olof Jakob Ekman tarafından Uppsala Üniversitesi'nde yapmış olduğu doktora tezinde belirtilmiştir. Bu hastalığı "*osteomalacia congenita*" diye isimlendirmiştir. 1833 yılında Jean Lobstein Oİ'yi erişkinlerde tanımlamış ve "*osteopsathyrosis idiopathic*" olarak adlandırmıştır. Willem Vrolik 1842-1854 yılları arasında hastalık ile ilişkili çalışmalar yapmış ve prenatal, yeni doğan letal formunu tanımlamış ve ilk defa Oİ tanımını kullanmıştır. 1889 yılında Heinrich Stilling Oİ'nin histopatolojik özelliklerini yayımlamıştır (3).

Hastalığın klasik bulguları hafif travma veya travmaya maruz kalmadan tekrarlayan kırıklardır. Hastalığa ayrıca boy kısalığı, iskelet anomalilikleri, mavi sklera, işitme kaybı, dentinogenezis imperfekta (DI), eklem laksitesi, hiperplastik kallus vb. birçok klinik bulgular eşlik edebilmektedir (4). Klinik olarak çok heterojen bir hastalık olup, ağır iskelet deformiteleri ile seyreden perinatal letal tipleri, osteopeni ve osteoporoz ile seyreden hafif veya normal gelişimi olan boy kısalığının eşlik ettiği, başlangıç yaşının değişkenlik gösterdiği tipleri mevcuttur (5). Görölme sıklığı tahmini olarak 1/10.000 ve 1/20.000 canlı doğum olup, yaklaşık %50'si perinatal dönemde letal olarak görülür. Perinatal mortalite oranı ortalama %0,9'dur. Asemptomatik formları tanı alamadığı veya geç tanı aldığı için gerçek prevalansın bildirilenden daha fazla olduğu düşünölmektedir (6). Tüm ırk ve etnik gruplarda, her iki cinste de görülmeaktadır (7).

Osteogenezis imperfekta tanılı vakalar 1906'lı yıllarda klinik olarak iki sınıfa ayrılmıştı: Erken başlangıçlı (Oİ konjenita), geç başlangıçlı (Oİ tarda) (8). İlk kez 1979 yılında Sillence ve ark. yaptığı çalışmada Avustralya Victoria Üniversite'sinde klinik, kalıtım şekli ve radyolojik özelliklere göre Oİ'yi klasik dört sınıfa ayırmıştır (9); **tip 1:** mavi sklera, sık kırık gözlemlenmesi, kırık sıklığı ergenlikle azalan, yaklaşık %50 işitme kaybı riski oluşturan, özellikle gençlerde "codfish" vertebra, *wormian* kemik, ince korteksler, osteopeni ve kemik deformitesi tanımlanmamış hafif tip, **tip 2:** koyu mavi sklera, üçgen yüz, frontal *bossing*, dentinogenezis imperfekta, minimal kalvariyal mineralizasyon, kalsifikasyon plakları, platispondili, çok kısa boy, çoklu kırık sonucu ağır kemik deformiteleri, uzun kemiklerin sıkışması sonucu "crumpled" femur ve küçük "beaded" kosta görünümü ile karakterize, perinatal/ letal ağır tip, **tip3:** çoklu kırıklar, ince kaburgalar, platispondili, *wormian* kemik, ince korteksler, epifizlerde yaygın "popcorn" görünümü, çok kısa boy, üçgen yüz, uzun kemik deformiteleri, kifoskolyoz, osteoporozis, mavi sklera, dentinogenezis imperfekta, sıklıkla işitme kaybı ile seyreden ağır tip, **tip 4** ise beyaz veya gri sklera olan, genellikle kısa boy, ince korteksler, bazı vakalarda işitme kaybı ile gelişen orta şiddetli/ hafif tipidir. Tip 4 tip 1'e göre daha ağır ancak tip 2 ve 3 göre ise daha hafif formudur. Bu klasik sınıflama Oİ'li hastalarında bugüne kadar en sık kullanılan sınıflamadır (10).

Vakaların yaklaşık %85-90'ında tip-1 kollajenin alfa 1 ve alfa 2 zincirini kodlayan *COL1A1* ve *COL1A2* genlerinde mutasyon saptanır (11). Sırasıyla 17. ve 7. kromozom üzerinde lokalize olan *COL1A1* ve *COL1A2* genlerindeki heterozigot mutasyonlar sonucu kollajenin alfa zincirinde hatalı üretim gerçekleşir ve doku bütünlüğü bozulur (12). Bu 4 tipin de patofizyolojisinden sorumlu genlerdir. Tip 1 kollajen deri, kemik, dentin, sklera ve tendonlarda en fazla bulunan kollajendir. Bu nedenden dolayı Oİ tanılı vakalarda klinik bulgular bu organlardaki patolojiye bağlı olarak gelişir. Mutasyonun tipi ve yerleşimine göre hastalığın kliniği değişebilir. Son yıllarda hastalıkla ilişkili çoğu resesif yeni genin keşfedilmesi ile kollajenin yapısal, enzimatik özellikleri ve ekstraselüler alana transportuna etki eden farklı proteinlerdeki kusurların tanımlanması normal kemik gelişimi ve kollajen patofizyolojisi ile ilgili daha fazla bilginin

oluşmasını sağlamıştır (13). Klinik olarak sınıflandırılan OI'nin Warman ML ve ark. tarafından 2010 yılında revize edilmiş sınıflandırılmasında 11 tipi bildirilmiştir. Ancak daha sonraki yıllarda Türk ailelerinin içinde olduğu çalışmalarda 5 tip daha tanımlanmıştır. Son birkaç yılda Yeni nesil dizileme teknolojisindeki gelişmelerden sonra, genomik düzeyde yapılan çalışmalarda OI ile ilgili yeni genler ve yeni patojenik varyantların keşfi hızlanmıştır (14-16). Yeni OI tipleri tanımlanmış ve OI ile örtüşen fenotiplerin sayıları 21'lere ilişkili gen sayısı da 19'a (17) (*COL1A1*, *COL1A2*, *IFITM5*, *SERPINF1*, *CRTAP*, *LEPRE1 (P3H1)*, *PPIB*, *SERPINH1*, *FKBP10*, *SP7 (OSX)*, *BMP1*, *TMEM38B*, *WNT1*, *CREB3L1*, *SPARC*, *TENT5A (FAM46A)*, *MBTPS2*, *PLOD2*, *PLS3*) ulaşmıştır (18, 19) (Tablo-1).

Tablo-1: OI'nin klinik tipi, ilişkili genler ve ayırt edici özellikleri (19).

OI tipi	Kalıtım	Gen	Mekanizma	Klinik Şiddeti ve ayırt edici özellikler
I	OD	<i>COL1A1</i>	Kollajen sentez ve yapı bozukluğu	İlimli, normal ya da kısa boy; küçük deformite/deformite yok
II	OD OR (nadir)	<i>COL1A1</i> , <i>COL1A2</i> OR genler	Kollajen sentez ve yapı bozukluğu	Ağır, ölümcül, minimal kalvarial mineralizasyon, kosta tesbihleri, uzun kemik deformitleri
III	OD OR (nadir)	<i>COL1A1</i> , <i>COL1A2</i> OR genler	Kollajen sentez ve yapı bozukluğu	Şiddetli, ilerleyici kemik deformitleri
IV	OD	<i>COL1A1</i> , <i>COL1A2</i>	Kollajen sentez ve yapı bozukluğu	İlimli-orta, boy kısalığı
V	OD	<i>IFITM5</i>	Kemik mineralizasyon bozuklukları	Değişken ağırlıkta, ön kolda interossoz membran kalsifikasyonu, hiperplastik kallus formasyonu
VI	OR	<i>SERPINF1</i>	Kollajen postranslasyonel modifikasyon ve katlamadaki defektler	İlimli-ağır, mineralize olmamış osteoidler, biyopside lamellerde balık kabuğu görünümü
VII	OR	<i>CRTAP</i>	Kollajen postranslasyonel modifikasyon ve katlamadaki defektler	Ağır yada ölümcül, rizomeli
VIII	OR	<i>LEPRE1 (P3H1)</i>	Kollajen postranslasyonel modifikasyon ve katlamadaki defektler	Ağır yada ölümcül, rizomeli, koksa vara, "popcorn" metafizler
IX	OR	<i>PPIB</i>	Kollajen postranslasyonel modifikasyon ve katlamadaki defektler	Ağır, kısa eğrilmiş femur, tibiada anterior açılanma
X	OR	<i>SERPINH1</i>	Kemik mineralizasyon bozuklukları	Ağır
XI	OR	<i>FKBP10</i>	Kollajen postranslasyonel modifikasyon ve katlamadaki defektler	İlimli-ağır, eklem kontraktürleri, biyopside bozulmuş lameller yapı ve balık pulu görünümü
XII	OR	<i>SP7 (OSX)</i>	Osteoblast gelişim bozuklukları	İlimli

XIII	OR	<i>BMP1</i>	Kollajen postranslasyonel modifikasyon ve katlamadaki defektler	İlimli
XIV	OR	<i>TMEM38B</i>	Kollajen postranslasyonel modifikasyon ve katlamadaki defektler	İlimli-ağır
XV	OR	<i>WNT1</i>	Osteoblast gelişim bozuklukları	İlimli-ağır, beyin malformasyonlar
XVI	OR	<i>CREB3L1</i>	Osteoblast gelişim bozuklukları	Ağır, perinatal kırıklar, tubuler kemikte çoklu kırıklar, kemiklerde akerdeon benzeri görünüm
XVII	OR	<i>SPARC</i>	Kollajen postranslasyonel modifikasyon ve katlamadaki defektler	İlerleyici ağır
XVIII	OR	<i>TENT5A (FAM46A)</i>	Osteoblast gelişim bozuklukları	İlimli-ağır, dismorfik bulgular, gelişimsel gerilik
XIX	XBR	<i>MBTPS2</i>	Osteoblast gelişim bozuklukları	İlimli- ağır, pektus deformitesi
Sınıflandırılmamış	OR	<i>PLOD2</i>	Osteoblast gelişim bozuklukları	İlimli-ağır, eklem kontraktürleri
Sınıflandırılmamış	XBD	<i>PLS3</i>	Osteoblast gelişim bozuklukları	Kırıklar ile birlikte osteoporoz

OR: otozomal resesif, OD: otozomal dominant, XBR: X'e bağlı resesif, XBD: X'e bağlı dominant

Genetik heterojenite ve çok sayıda sorumlu gen ve ilgili genlerin büyük olması nedeni ile klasik moleküler genetik çalışmalar ile Oİ'de genlerin tek tek ekzonlarının dizilenmesi tanısal süreci zorlaştırmaktadır. Klasik Sanger dizileme yöntemi ile her genin ayrı ayrı çalışılması yeni nesil dizileme yöntemlerine göre hem çok zaman alıcı ve hataya açık ve hem de çok yüksek maliyetli olmaktadır. Yeni nesil dizileme yöntemi moleküler genetik tanıda önemli bir çözüm sunmakta, bir hastada aynı anda birden çok genin moleküler analizini çok kısa bir sürede ve daha ucuza yapılabilmesine olanak sağlamaktadır. Bu yöntem ile Oİ olgularında hızlı ve doğru tanı olanağı sağlanabilmektedir.

Bu çalışmaya Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik Anabilim Dalında, Temmuz 2016-Mart 2020 yılları arasında izlenen daha önce klinik olarak Oİ tanısı konulan ve halen izlemde olan olgular alınmıştır. Olguların demografik ve klinik verileri arşiv dosya bilgilerinden retrospektif olarak değerlendirilmiştir. Hedeflenmiş yeni nesil dizileme yöntemi ile moleküler tanısı belirlenmiş olan ve fenotip olarak Oİ ön tanısı alan 60 kişiden oluşan olgu grubu çalışmaya dahil edildi.

Ayırıcı tanıda Oİ düşünülen 54 olgudan 43 olguya Oİ ve azalmış mineralizasyonla giden fenotiplerle ilişkili genlerin tüm ekzonları ve ekzon-intron bağlantı bölgeleri CleanPlex® Targeted Library (Paragon Genomics,

U.S.A) kiti kullanılarak çoğaltılıp, Miseq (Illumina MiSeq- Berlin) cihazında dizi analizi yapıldı. Sophia DDM veri analiz platformu ve Sophia Genetics'in MOKA yazılımı varyant analizi kullanılarak ham veri dosyalarından hastalara ait VCF uzantılı genotip dosyaları oluşturuldu. İlgili hedef genlerde mutasyon belirlenen olgular için analiz verileri tekrar değerlendirilerek, saptanan varyasyonun özellikleri incelendi. Saptanan varyasyonun, tipi, tanımlı olup olmadığı, minör allel sıklığı, evrimsel korunmuşluğu, in silico modellemelere göre patojenitesi değerlendirildi, literatür verisi ile hastadaki bulguları karşılaştırılarak benzerlikler ve farklılıklar not edildi. Elde edilen veriler ışığında, olgulardaki gen ve varyasyon dağılımı göze alınarak mutasyon spektrumu belirlendi. Kliniği ile anlamlı bulunan varyantların özgün primerleri tasarlanarak Sanger dizileme yöntemi ile doğrulanması, uygun ailelerde segregasyon analiz sonuçlarının araştırılması, herhangi bir patojenik varyant ilişkisi saptanmayanlarda panelin tasarım gereği kapsam dışı bıraktığı bölgelerin HGMD (Human Genome Mutation Database) veri tabanında bildirilen patojenik varyant bölgeleri açısından değerlendirilmesi planlandı. Patojenik varyant saptanmayan olgular klinik bulguları ile tekrar değerlendirildi ve bu değerlendirmenin sonucu olarak seçilmiş olgulara tanısal yaklaşım sağlayacak Tüm Ekzom Dizi (WES) veya Tüm Genom dizi (WGS) analizi yapılması önerildi.

Çalışma sonucunda mutasyon saptanan olgulara ve ailelerine hastalık hakkında bilgi verilerek, hastalığın uzun dönemde yönetilmesi için yapılması gerekenler detaylı olarak açıklanması ve risk altındaki aile bireylerine prenatal tanı/preimplantasyon genetik tanı (PGD) içeren geniş bir genetik danışma verilmesinin sağlanması amaçlandı.

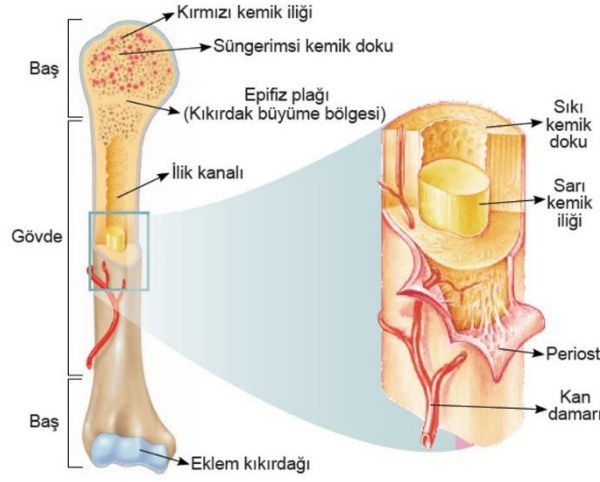
Bu çalışmadaki amaçlar:

1. Polikliniğimizdeki tanı konan ve takip edilen osteogenezis imperfekta olgularının demografik özelliklerinin ve klinik bulgularının sıklığını saptamak,
2. Hedeflenmiş yeni nesil dizileme yöntemi ile hızlı şekilde hastalığa sebep olan genlerdeki mutasyonları saptamak,

3. Oİ tanısı ile moleküler analizi yapılmış olgulardaki, genetik mutasyon spektrumunun belirlenmesi,
4. Oİ'ye neden olabilecek sorumlu yeni genleri saptamak ve böylece yeni Oİ tiplerinin tanımlanması,
5. Klinik özelliklerine göre olguları tiplendirmek, belirli tiplere daha sık eşlik eden bulguları saptamak,
6. Genotip fenotip ilişkisinin araştırılarak belirlenmesidir.

I. Kemik Yapısı

Kemik, vücudun kalsiyumdan dolayı en sert yapısıdır ve diğer dokularından çok farklıdır. Kemiklerin mekanik ve fizyolojik olarak birçok önemli fonksiyonları mevcuttur. İskelet sisteminin temel yapı taşıdır, vücuda destek verir, kaslarla birlikte hareket yeteneği ve vital organların korunmasını sağlar. Ayrıca kan hücrelerinin oluşumu (hematopoezis) ve kana verilmesinde rol oynar, büyüme faktörleri, sitokinler, kalsiyum ve birçok mineral maddeler için depo görevi görürler (20, 21) (Şekil-1).



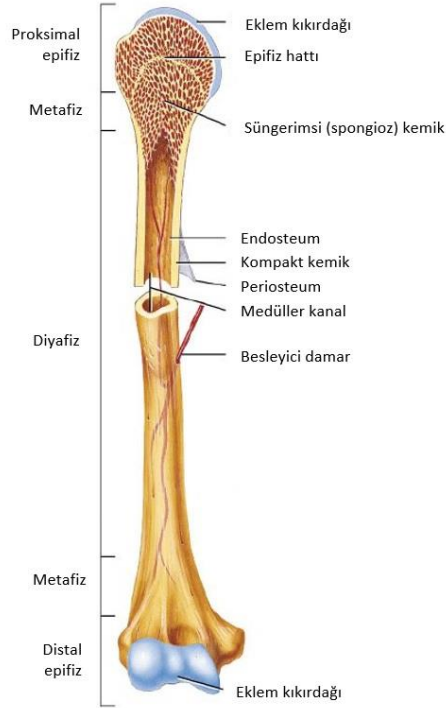
Şekil-1: Uzun kemiğin yapısı

(<http://www.biyolojidersim.com/kemik-cesitleri-ve-iskeletin-islevi/>).

İskelet sistemi vücudun büyümesini sağlayan en önemli dokulardan biridir. Embriyolojik dönemde kemik dokusu mezodermden gelişir. Kemikleşme iki şekilde olur: Yumuşak lifli doku, hyalin kıkırdağın olduğu endokondral kemikleşme ve direk mezenkim dokusundan gelişen intramembranöz kemikleşme. İskelet sistemini oluşturan yassı kemikler, kafatası, mandibular ve klavikula kemikleri intramembranöz kemikleşmeyle, bunlar hariç diğer kemikler tamamen endokondral kemikleşmeyle gelişmektedir (22, 23).

Vücudun uzun kemik içeren bir ekstremitesini değerlendirecek olursak, uzun kemiklerin her iki uç tarafı veya eklemlerinin bulunduğu gövdeye göre

daha geniş olan kısmı epifiz, ortadaki uzun kısmına diafiz ve epifiz ile büyüme plağı arasında bulunan kısmına metafiz adı verilir (24, 25) (Şekil-2).

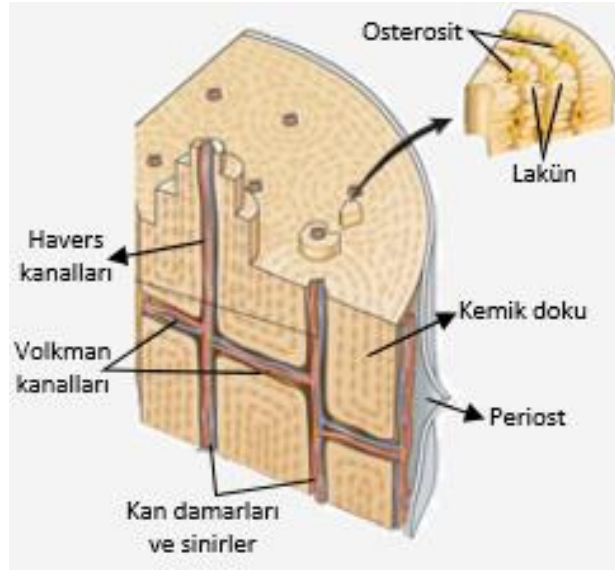


Şekil-2: Uzun kemiğin epifiz, metafiz, diafiz kısımları (<https://www.slideshare.net/HakkiNUR/anatomiye-giri-prof-dr-smail-hakknur>).

Histolojik olarak, kemik dokusu iki tipe ayrılır: Birincil immatür (olgunlaşmamış) demet kemiği (dokuma kemik/ *woven bone*) ve ikincil matür (olgun) lameller kemik. Lamellar kemik dokusu kemiğin yerleşim yeri ve yüküne göre iki yapısal alt tipe ayrılır: kompakt ve trabeküler (spongiyöz) kemik. Kemik iliği boşluğunu çevreleyen, boşluk içermeyen ve sert olan kompakt kemik dokusudur. Diafiz kısmı kompakt kemik dokusundan oluşmuştur. Boşluklu veya labirent tarzda görünümü olan, bu boşlukta kemik iliği oluşan, epifiz ve kısa kemiklerde bulunan ise spongiyöz kemik dokusudur (26).

Lameller kemik dokusu, demet kemik dokusundan daha sıktır. Lamellalar, mineralize amorf matriks ile sarılı paralel kollajen liflerinden meydana gelir. Konsantrik lameller merkezi kanalı sarar veya kemik yüzeyinde paralel lamel kılıf sistemi kurur. Merkezi kanalı (Haversian kanalı) saran

lameller sistem kompleksine osteon veya Haversian sistemi denir. Kemiğin eklem yüzü dışında kalan çevresini, kollajen lifler, damar ve sinirler ve sıkı, düzensiz, bağ dokusundan oluşan periosteum sarar. Kemiğin gövdesinin iç yüzünü, ve kemik iliği boşluğunu ise endosteum kaplar. Periost kemiği korur, sinirsel iletiyi sağlar. Ayrıca, kan damarlar ve sinirler periosteumdan Haversian kanallarına geçerek Volkmann kanallarına komşu Havers kanallarıyla iletişim sağlar. Volkmann kanalları lamellalarla sarılı değildir (23, 25- 27) (Şekil-3).



Şekil-3: Kemik dokusu
(<http://www.biyolojiportali.com/konu-anlatimi/3/Kemik-Doku-ve-Cesitleri>).

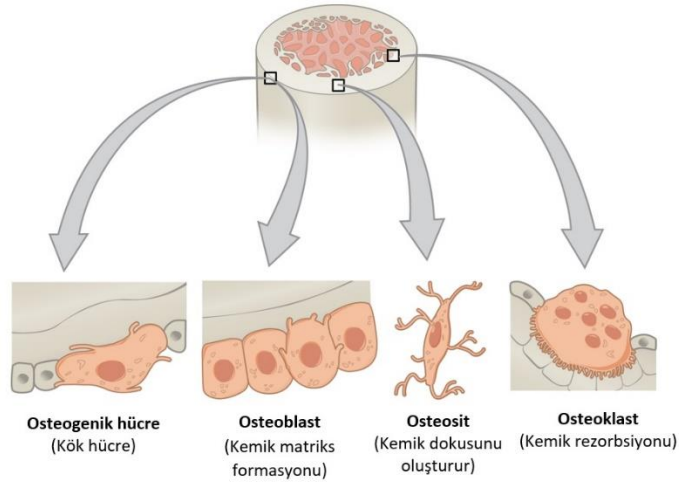
Kemikler hücreler (hücreyel) ve hücreler arası madde (hücreyel olmayan) olarak iki gruba ayrılır. Hücreyel grup kemiğin az kısmını kapsamakta olup osteoprogenitör hücreler, osteoblastlar, osteositler ve osteoklastlardan oluşur. Hücreyel olmayan grup %20-30'u organik, %5-10'u su ve %60-75'i inorganik komponent içerir. Organik komponentin %90-95'i tip I kollajen ve %5-10'u nonkollajen proteinler olan proteoglikanlar (heparan sülfat, perlekan, dekortin, dermatan sülfat, kondroitin-4 sülfat, keratan sülfat), glikoproteinler (osteonektin), osteokalsin (kalsiyum bağlayıcı role sahip), osteopontin, glikozaminoglikanlar (hiyaluron asidi), alkalin fosfat (ALP), trombospondin (COMP), fibronektin ve sialoprotein gibi proteinler içerir. Organik komponentler kemiğin dayanıklılığını ve esnekliğini sağlar. İnorganik

komponentlerin %85-95'ini hidroksiapatit ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$) kristalleri şeklinde bulunan kalsiyum ve fosfor iyonları oluşturur. Kemiğe sertlik veren maddedir. Aynı zamanda bikarbonat, sodyum, potasyum, magnezyum, florür, sitrat gibi elementlerden de oluşur (28-30) .

I.A. Kemik Hücreleri

I.A.a. Osteoprogenitör hücreler

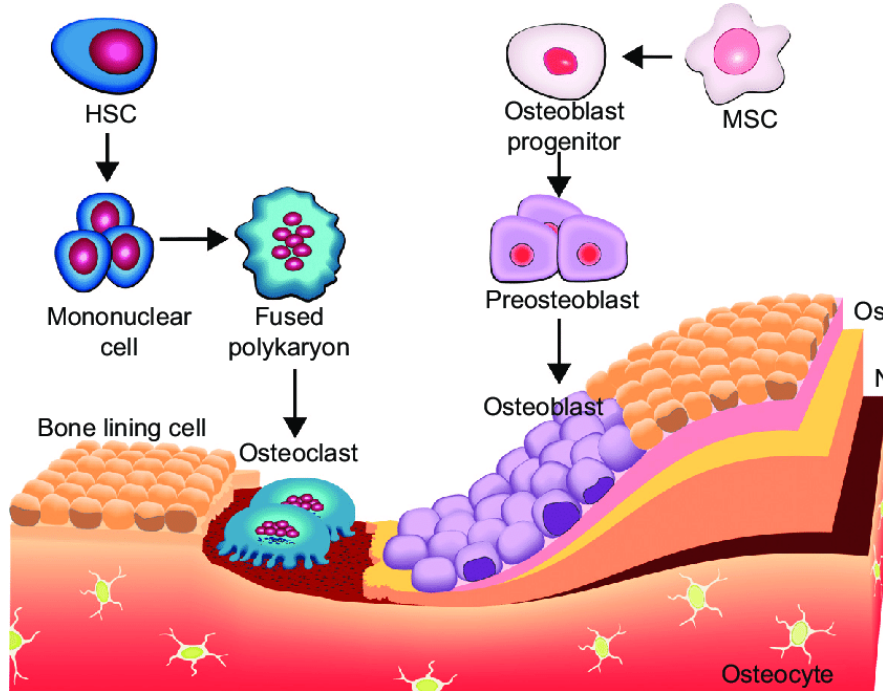
Osteogenik hücreler de denir. Kemik dokusunun ana hücreleri olup mezenkimden farklılaşma ile oluşurlar. Genellikle soluk boyanan nukleuslu, asidofilik sitoplazmalı hücreler olup, sekonder kemiğin endosteumunda, periosteumun iç tarafında, Havers ve Volkmann kanallarındaki damarlar çevresinde inaktif olarak bulunurlar. Osteoprogenitör hücreler mitozla bölünerek olgun kemik hücrelerine dönüşür. Osteogenik hücreler kemik büyümesinde, zedelenmesi veya kırık tamir süreçlerinde aktif hale gelerek bölünürler ve osteoblastlara dönüşürler (31, 32) (Şekil-4).



Şekil-4: Kemik hücreleri
(<http://adliantropoloji101.blogspot.com/2017/07/kemik-doku-histolojisine-giris-2.html>).

I.A.b. Osteoblastlar

Osteoblastlar, embriyonik ve postnatal kemik formasyonu ile ilgili olup, multipotent mezenkimal kök hücrelerden gelişen, mononükleer kemiği oluşturan genç hücrelerdir. Multipotent mezenkimal kök hücrelerden aynı zamanda kondrositler, kemik iliği hücreleri, kas hücreleri ve adipositler de köken alır (33). İki farklı yol ile mezenkimal kök hücrelerinden osteoblastlar oluşturulur. İntramembranöz ossifikasyonda direk olarak osteoblastlara dönüşürken, endokondral ossifikasyonda ise önce perikondriumun içindeki mezenkim hücreleri bölünerek osteoprogenitör hücrelere, onlar da daha sonra osteoblastlara dönüşür. Kemik dokusunda matriksin yapımından sorumlu olan bu hücreler, kemik yüzeyinde tabaka oluşturacak şekilde dizilmiş, 20-30 mikrometre çapında, kübik büyük oval çekirdekli, yassı yada alçak prizmatik boylu ve çok sayıda çekirdek içeren hücrelerdir. Metabolik aktiviteleri yüksek düzeydedir (33- 36) (Şekil-5).



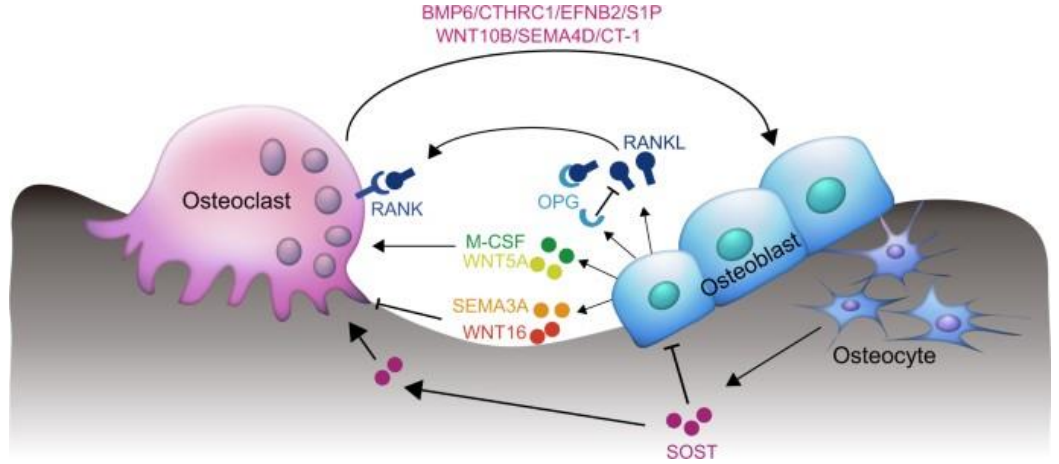
Şekil-5: Kemik oluşumunda osteoblastların evrimi (37).

Osteoblastlar organik matriksin %90-95'ini oluşturan kollajen tip 1 ve bazı nonkollajen proteinlerin (osteokalsin, osteopontin, proteoglikanlar ve

glikoproteinler) sentezini yapan ve kemik mineralizasyonunu sağlayan hücrelerdir. Osteoblastlar sadece kemik oluşumunda değil aynı zamanda osteositlerle beraber hematopoezis, kanser hücre metastazi, fosfor ve glikoz metabolizmasında da rol alırlar (33, 37, 38). Kemiğin inorganik komponentinin yapılması canlı osteoblastların varlığına bağlı bir durumdur. Osteoblastların salgıladığı osteoid doku matriksi; gerçek kemik oluşumu için gerekli kalsiyum, fosfor ve diğer mineralizasyon için adeta bir kalıp görevi görür. Kemik formasyonu beraberinde osteoblastlar, monositlerden gelen hücrelerin matür osteoklastlara dönüşmesi için gereken bazı maddeleri salgılaması ile birlikte, kemik rezorpsiyonunu uyardıkları gibi, osteoidi parçalayacak nötral proteazlar salgılar ve yeniden yapılanmayı yapacak olan osteoklastlar için kemik yüzeyini hazırlarlar (34, 39).

Osteoblastların sitoplazmik uzantıları komşu osteoblastlar ile iletişimi sağlar. Hücre kendi etrafını matriks ile sarmaya başladığı zaman uzantılar daha belirginleşir (26). Sitoplazmaları koyu bazofiliktir. Elektron mikroskobu ile incelendiğinde Golgi ve Endoplazmik retikulumları iyi gelişmiş olarak görülür. Lipid damlacıkları ve lizozom benzeri yapılar da sitoplazmalarında bulunur. Kuvvetli ALP ve PAS pozitif reaksiyon oluştururlar. ALP hem matriks hem de kalsifikasyonda rol alan en önemli enzimlerden biridir. Enzim, fosfatın hidroliziyle lokal inorganik fosfat konsantrasyonunu arttırmakta ve bunun kalsiyum iyonlarıyla birleşmesi sonucunda kalsiyum tuzları şeklinde dokuya çökmesi sağlanmaktadır. Organizmada kemik yapım hızının ölçülmesi için kanda ALP seviyesine bakılır (40).

Osteoblast aktivasyonu, inhibisyonu ve farklılaşması çok sayıda molekülün etkisiyle olur . Bunlara büyüme faktörleri, transkripsiyon faktörleri, sitokinler, hormonlar ve parakrin-otokrin mekanizmalar örnek verilebilir. Kemik matriks kaynaklı *Transforming growth factor* (TGF-beta), *bone morphogenetic protein* (BMPs), *Insulin like growth factor* (IGF-1), Parathormon (PTH), D vitamini, leptin, steroidler, *wingless* (WNT)-beta kateinin bunların bir kısmıdır. Osteoblastların dönüşümünde rol oynayan genlerde (*BMPS*, *NOTCH*, *OSTERIX*, *RUNX*, *WNT*) oluşan problemler farklı klinik ve fenotipler ortaya çıkarabilir (41- 46) (Şekil-6).



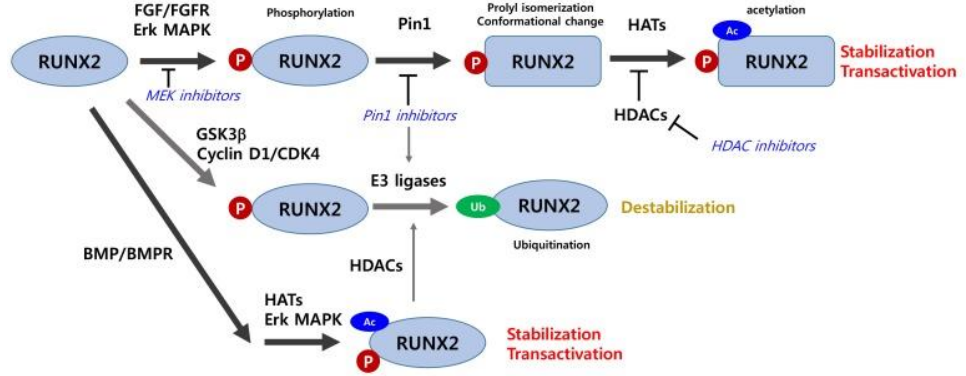
Şekil-6: Kemik hücrelerinden salgılanan proteinlerin parakrin etkileri (42).

NOTCH

Hücrelerin farklılaşmasını sağlayan reseptör ailesinden biridir. 4 reseptör (1-4) ve 5 ligand (JAG1, JAG2, DLL1, DLL3 ve DLL4) mevcuttur (47). Osteoblast öncüllerinin farklılaşmasını, osteoklastogenezisi direk veya indirek yolla inhibe eder. Notch reseptörleri veya ligandlarının mutasyonlarında ortaya çıkan kliniklere örnek olarak *DLL3* mutasyonunda OR kalıtım gösteren Spondilokostal Disostozis 1 meydana gelir. Alagille sendromuna Liganlardan *JAG1* mutasyonu neden olmaktadır (48- 50).

RUNX2

Runt ailesinin transkripsiyon faktörü olarak bilinir. *RUNX2* progenitörler (osteokalsin vs.) ile osteoblastların farklılaşmasına neden olur. *RUNX2*, kemik gelişimi ve onarımında önemli rol oynar. Çeşitli hücre içi ve hücre dışı çevresel uyarılarla, yapısal değişikliklerle birlikte ardışık dönüşüm sonrası modifikasyonlarla düzenlenir. Özellikle, *FGF / FGFR* ile geliştirilmiş *RUNX2* stabilizasyonu ve transaktivasyonu, fosforilasyon, prolin izomerizasyon ve asetilasyon sonucu meydana gelen modifikasyon kaskadları tarafından kontrol edilir (41, 51, 52) (Şekil-7). Bu transkripsiyon faktörünü kodlayan gende oluşan mutasyonlar iskelet anomalisi ve diş bozukluğu ile giden kleidokranial displazi hastalığına neden olur (53).



Şekil-7: RUNX2 stabilitesinin ve transkripsiyonel aktivitenin düzenlenmesi (52).

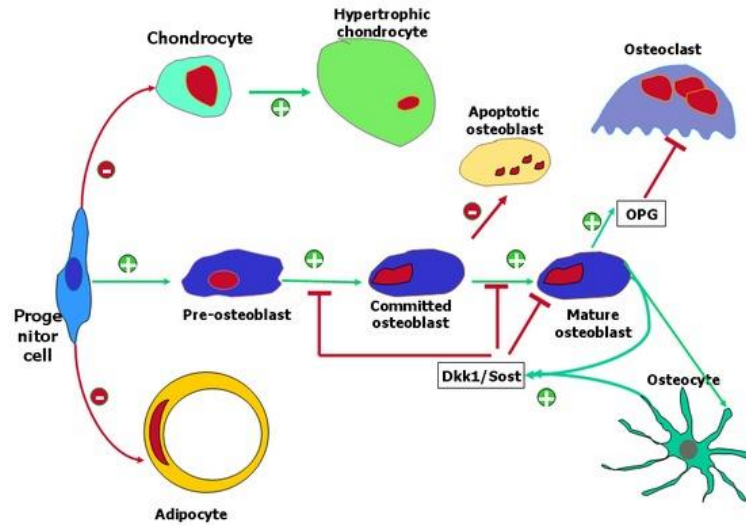
I.A.c. Osteositler

Osteoblastlardan meydana gelen diğer mezenkimal kaynaklı hücreler olan, bazı transkripsiyon faktörlerinin aracılığı ile gelişen osteositler, mineralize matriks lamelleri arasından bulunan lakuna boşlukları içinde yerleşmişlerdir. Her lakuner-kanaliküler içinde bir osteosit vardır ve kemik dokusunda en fazla bulunan, en uzun yaşayan hücreleridir (54-56). Kemikte kemik hücrelerinin %95'ini osteositler oluştururlar. Osteositler, kanaliküller adı verilen kemikteki kanallar yoluyla kemikteki diğer hücrelerle ilişkide kalırlar. Olgun kemik hücresi olup, kemiğin asıl hücrelerini oluşturur. Kemik dokusunun canlı kalmasını osteosit aktivitesi sağlar. Osteositlerin sayılarının artması kemik oluşum hızı ile doğru orantılıdır (34, 57, 58).

Gelişimlerini tamamlamış olduklarından bölünme güçlerini kaybetmişlerdir. Bu yüzden granüller endoplazmik retikulum ve Golgi aparatları az ve iyi gelişmemiştir. Hidroksiapatit, kalsiyum karbonat ve kalsiyum fosfat osteositlerin çevresinde birikir. Buradan osteoblast ve kan damarlarına dendritik uzantılarını gönderirler. Bu sitoplazmik uzantılar sayesinde, besin maddeleri ve hormonlar hücreden hücreye geçer (34, 59, 60). Osteositler esas olarak mekanosensöriyel hücreler olup, kemikte kalsiyum ve fosforun kana verilmesinde, konsantrasyonlarının düzenlenmesinde ve osteoklast aktivasyonunda önemli metabolik rolleri vardır. Bu roller genel olarak embriyolojik dönemden sonra ortaya çıkar. Genellikle embriyolojik kemik ve tamir kemiği kompakt kemiğe oranla daha fazla osteosit içerir. Osteositlerin

metabolik aktivitesi azdır. Hücrelerin ölümünü takiben kemik hücrelerinin matriksinde rezorpsiyon görülür. Hatta osteoblast ve osteoklast üzerinde multifonksiyonel bir rol oynayarak kemiğin yeniden şekil almasını düzenlerler ve PTH tarafından inhibe edilirler (42, 60-62).

Osteositler mekanik strese karşı hassastır. Bu hassasiyetlilik kemik matriksinin fiziksel deformasyonu, çatlak, laküna-kanaliküler iletimin etkilenmesi, hücre duvarı elektriksel akım değişikliklerine bağlı gelişir. Osteosit apoptozu kemik onarımında büyük rol oynar. Hatta osteoporoz ve osteoartrit gibi patolojik durumlarda da osteosit ölümü oluşmaktadır. Östrojen, bifosfonatlar, kalsitonin vb. diğer maddeler osteosit ölümünü inhibe ederken, glukokortikoidler, PTH, Wnt/beta-katenin yolağının inhibisyonu osteosit ölümünü indüklerler. Bu yolağın osteosit ölümü üzerinde negatif bir rolü vardır. Wnt /beta-katenin yolağında Dkk (Dickkopf-related protein 1) ve sklerostin gibi proteinler mevcuttur. Matür osteositlerin *SOST* geninin kodladığı sklerostinin vasıtasıyla osteoblastları inhibe ettiği gösterilmiştir. *SOST* geninde mutasyon olduğunda kemik kitlesinde artış görülmektedir (61, 63-67) (Şekil-8).



Şekil-8: Kemik matriksi içerisinde osteositler (65).

PHEX, *DMP-1*, *MEPE* ve diğer moleküller vasıtasıyla osteosit fosfat ve biyomineralizasyonu düzenler. *DMP-1* ve *PHEX* mutasyonu *FGF-23*'ü inhibe ederek OR hipofosfotemik riketse neden olur. Osteositlerde *FGF-23* düzeyi

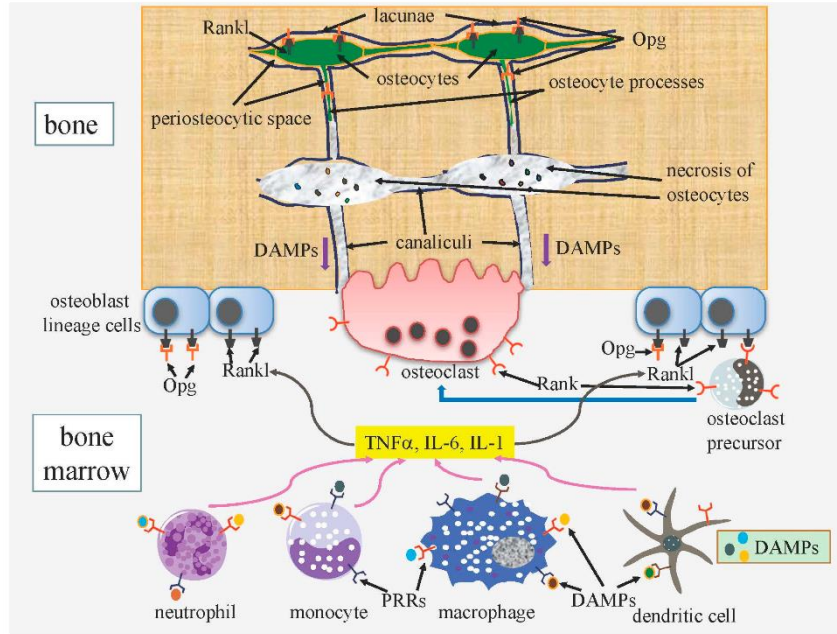
osteomalazi ve raşitizmde artmaktadır. *FGF-23* fosfor geri emiliminin böbreklerden gerçekleşmesine neden olur (42, 60, 62).

I.A.d. Osteoklastlar

Osteoklastlar kemik iliğindeki hemopoetik hücreler tarafından üretilen, multinükleer, büyük, ileri derece dallanmış, düzensiz dalları olan, farklı biçimde ve kalınlıkta, hareketli hücrelerdir ve mononükleer hücrelerden farklılaşmışlardır (42, 68). Kemik matriksini yok ederek, kemik dokusunun yenilenmesini, yıkımı veya kemik rezorpsiyonunu gerçekleştiren hücrelerdir. Kemik yıkımı osteoklast ve osteoblastların uyumlu çalışması sonucunda gerçekleşmektedir. Kemikğin osteoklastlar tarafından yeniden yapılması da kalsiyum homeostazını sağlar. Kemik rezorpsiyonunda oluşan artıkların ortadan kaldırılmasında aktif rol oynar. Kemik matriksine etki eden asit, kollagenaz ve diğer proteolitik enzimleri salgırlar. Bu enzimler, kollajen ve kalsifiye olmuş kemik matriksinin diğer organik bileşenlerini serbest hale getirip, sindirir ve degradasyona uğratır. Degradasyona uğratılmış ürünler osteoklastlar tarafından fagositoze edilir, aktif fagositoz yapmazlar. Osteoklastların kemik matriksinin yıkımı ile kemik yüzeylerinde oluşturdukları düzensiz yarımay şeklindeki çukur alanlara 'Howship lakünaları' adı verilir ve osteoklastlar bu alanlarda bulunur (42, 65).

Hücrelerin çok sayıda sitoplazmik uzantıları, lizozomları, iyi gelişmiş Golgi kompleksleri ve mitokondriyonları mevcuttur. Kemikğin yeniden şekillenmesi, genişlenmesinde, farklılaşmalarında ve fonksiyonlarında çeşitli transkripsiyon faktörleri ve sitokinlere gerek duyarlar. Nükleer faktör kappa B reseptör aktivatör ligand (RANKL), osteoprotegrin (OPG), IL-1, IL-6, ve makrofaj koloni stimulan faktör (M-CSF) osteoklast farklılaşmasında ve fonksiyonunda görevlidir. M-CSF ve RANKL kemik dokusunda farklı hücrelerden salgılanırlar. Bu faktörlerin salınımını arttırmasında aynı zamanda büyüme hormonu, mekanik stres vs. de rol oynar. Osteoklast yapımı, proenflamatuar sitokinlerin ve RANKL'nın sinerjistik etkisi ve dendritik hücrelerin osteoklastlara ayrılması yoluyla romatoid artrit gibi enflamatuar

durumlarda artar. Osteoklastlar hormonlara karşı çok duyarlı olup, hormonlar tarafından kontrol edilir. Örneğin Tümör Nekrozis Faktör (TNF-alfa), Prostaglandin (PGE) E2, İnterlökin (IL) -1, IL-6, IL11 ve IL-17, paratiroid hormonu (PTH) hücrede RNA sentezini arttırmada etkili olarak kemik emilimini uyarır, IL-4,12,13,18,İnterferon (IFN)-gama, kalsitonin hormonu ise emilimi inhibe eder (69- 71) (Şekil-9).

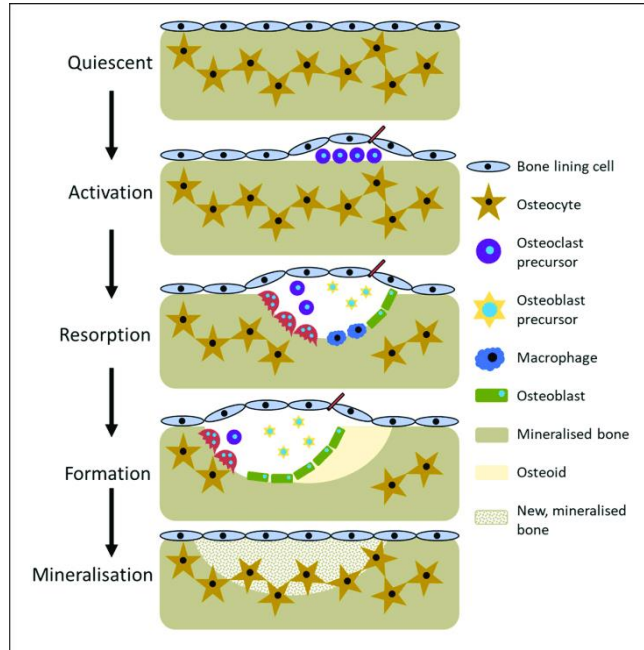


Şekil-9: Osteoklast oluşumu (69).

I.B. Kemiğin Yeniden Düzenlenmesi

Büyüme ve gelişme döneminde iskelet normal boyutuna ve şekline ulaşırken bir bölgede kemik yıkımı olurken diğer bir bölgede ise kemik yapımı gerçekleşir. Bu olay “modelling” olarak tanımlanmaktadır. İskelet sistemi olgunluğa ulaştığında rejenerasyon ile yaşlı kemik dokusunun periyodik olarak genç kemik dokusu ile yer değiştirir, bu olaya da “remodelling” (yeniden düzenlenme) denilir. Erişkin bir insanda yaklaşık on yılda bir tüm iskelet sistemi yenilenmektedir. Kemik yapımı ve yıkımı eşit miktarda olur ve sonuçta sağlıklı bir insanda yapım ve yıkım dengededir. Kemiğin yeniden şekillenmesi yaşam boyunca devam eden hücresel süreçleri oluşturur ve iskelet gelişiminin erken

döneminde başlar. Primer spongiöz kemikteki endokondral yeniden şekillenme, rölatif olarak zayıf olan kalsifiye olmuş kıkırdak spikülleri osteoklastlara benzeyen çok çekirdekli dev hücreler tarafından ortadan kaldırılarak daha güçlü trabeküler kemik dokusuna çevirir. Kemiğin yeniden düzenlenmesi 4 evreden oluşur: sessizlik, aktivasyon, rezorpsiyon, geri dönüşüm ve tekrar sessizlik (72-75) (Şekil-10).



Şekil-10: Kemiğin yeniden düzenlenmesi (75).

Kemik yüzeyindeki ufak bir bölge inaktif olarak bulunan sessizlik devresinden aktivasyon fazına geçer. Bu dönemde remodeling olacak alan üzerindeki hücreler aktive edilir. Bu fazda osteoklastlar rezorbe edilecek alana doğru kemotaksis ile yönlendirilir ve burada birleşmeye başlarlar ve kemik yüzeyi üzerindeki bir lokusa yapışırlar, osteoklast ekibinin çekilmesine aktivasyon denir. Bazı büyüme faktörleri tarafından bu kemotaksis yönetilir. Aynı zamanda osteoklastların bünyesinde bulunan bazı faktörler osteopontin, osteokalsin ve osteonektin bu olayda fonksiyon alan önemli proteinlerdendir. Kemiğin yüzeyi ince, düz ve yassılaştırmış yüzey hücreleri ile kaplıdır ve bunlar osteoblastların terminal değişime uğramış şekilleridir. Bu astar hücreleri olarak adlandırılan hücreler ile kemik arasında tabaka şeklinde mineralize olmamış

osteoid doku vardır ve bu hücrelerde birçok farklı maddeler için reseptörler bulunur. Bu hücreler rezorpsiyon fazının başlaması için önemlidir (PTH, PGE2) ve kemiğin üzerini kaplayan yüzey osteoidini emerek reseptör uyarılarına cevap verirler. Böylelikle mineralize olmuş kemik ortaya çıktığı için yeniden yapılanma başlatılmaktadır. Trabeküler kemikte osteoklastlar multinükleer hücrelerden orijin alırlar ve terminal boşluğu 2/3'ü derinliğinde bir çukur oluşturmak üzere aşındırırlar. Sonra multinükleer hücreler kaybolur, onların yerine mononükleer hücreler gelir ve oluşan kavitenin geri kalanını yavaş yavaş oyarlar. Mononükleer hücreler rezorpsiyon kavitesinin yüzeyini düzleştirdikten sonra glukozaminoglikanlar ve proteoglikanlar sentezlenir. Lakin oluşan bu doku kollajenden daha zayıftır. Geri dönüşüm evresi, rezorpsiyon ile kemik formasyonu arasında geçen zamanı temsil eder ve normal şartlarda 1-2 hafta sürer. Osteoblastlar rezorpsiyon alanına gelerek yeni kemik yapımına başlamakta böylece kaviteyi doldurmaya çalışmaktadırlar. Osteoblastlar kemik matriksi sentezlemeye başlarlar ve sonra osteosite dönüşürler. Osteoid oluşumu tip 1 kollajen ve osteoblast oluşumu ile başlar. Zamanla mevcut glikoproteinden zengin birçok faktörün etkisi ile rezorpsiyon formasyonun (yeniden şekillenme) önüne geçerse o zaman kavitenin tamamını doldurmada sorunlar ortaya çıkmaya başladığından kemik kütlelerinde azalmalar meydana gelerek kemik daha kırılabilir hale gelir. Dinlenme evresinde bir sonraki sıklusa kadar kemik yüzeyinde inaktif olarak bulunan çevreleyici hücreler kemik dokuyu sararlar. Osteoblastlar mineral matriks içinde gelecek sıklusa kadar beklerler (75-79).

I.C. Organik Matriks

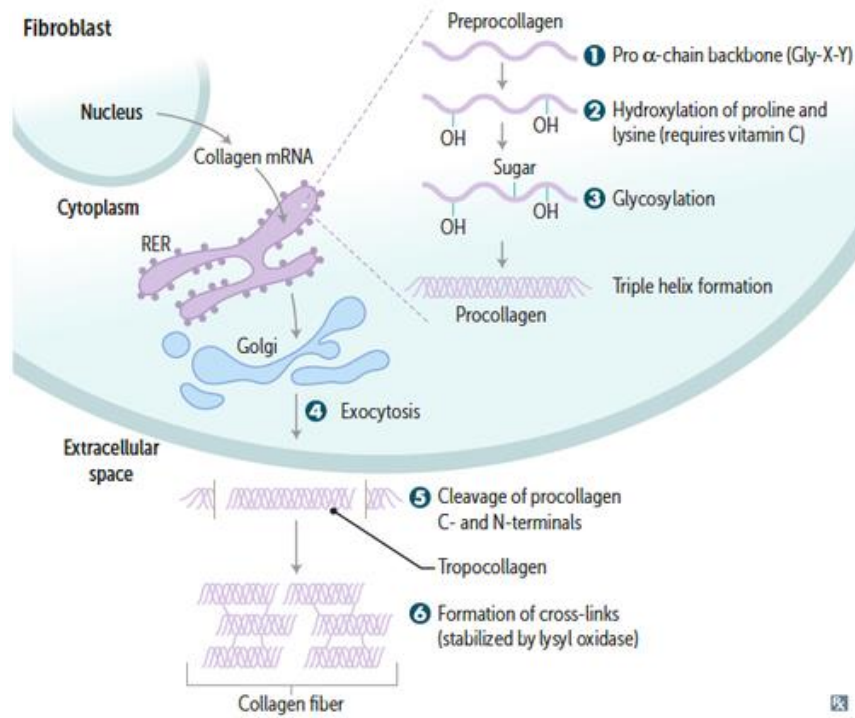
Organik matriks (OM), hücre iskeleti görevi gören, hücreler arasındaki boşlukları dolduran, hücreleri birbirine bağlayan ve destekleyen, besin ve madde alışverişini sağlayan, kemiğe dayanıklılık ve fiziksel destek sağlayan bir matriksdir (80). Çeşitli proteinler ve polisakkaritler içeren, hücrelerin hayatta kalmasını sağlayan, hücreler olarak üç boyutlu bir makromolekül ağıdır. Hücrenin morfolojisi, farklılaşması, göçü, proliferasyonu gibi fonksiyonların

oluşması için gerekli bir ortamın varlığına gerek vardır. Ayrıca, bu ortam içerdiği büyüme faktörleri, sitokinler nedeni ile bir depo görevi görür ve kemik fizyolojisi için çok önemlidir. Glikozaminoglikanlar, proteoglikanlar ve kollajenler hücreler arası matrikste bulunan ana biyomoleküllerdir. OM içerisinde bulunan moleküller birçok şekilde sınıflandırılrsa da genel anlamda yapısal olarak bulunan %90 tip 1 kollajen, proteoglikan, elastin gibi moleküller ve daha özelleşmiş yapılar olarak da fibronektin, integrin gibi yapılar yer almaktadır (81, 82).

I.C.a. Kollajen Tip I Proteininin Yapısı ve Biyosentezi

Kollajen organik matrikste yer alan, insan vücudunda en çok bulunan ana yapısal proteindir, kuru ağırlığın yaklaşık %30'unu oluşturur. Kollajen; kemik, ligaman, tendon, kıkırdak, deri, kan damarları vs. birçok dokuda yer alır (83). Kollajen, çekme mukavemetinden, hücre adezyonunun düzenlenmesinden ve doku gelişiminin yönetiminden sorumlu olup, mineralize olma özelliği vardır (80, 84- 86). Kollajen fibriller, desteler şeklinde kollajen lifini oluşturmak üzere bir araya gelirler. Oluşan kollajen lifleri arasında boşluk bulunur. Oluşan boşluklarda nonkollajen proteinler veya mineraller bulunur. Non-kollajenöz proteinlerin bazıları kollajen fibrilleri organize ederken, diğerleri minerallerin matrikse bağlanmasını ve mineralizasyonunu sağlar (87). Kollajen proteinleri ilk önce prokollajen şeklinde sentezlenmekte ve kollajene dönüşerek yapısal işlev göstermektedir. Yeni sentezlenen prokollajen endoplazmik retikülüm (ER) yüzeyinde yer alan ribozomlar da sentezlenir, ayrıca büyüyen zincir ER sisternalarına girmekte ve sentez burada tamamlanmaktadır (81, 88, 89). Kollajen, aynı zamanda olgun bir kollajen lifi haline gelmeden önce büyük bir kısmı bağ dokusu fibroblastları tarafından, intrasellüler prekürsör molekül halinde sentezlenir (83, 90) (Şekil-11). Kollajenin yapısında en çok aminoasitlerden glisin (%33,5), prolin (%12), hidroksiprolin (%10) ve alanin bulunur. Kollajenin yapısında, bu proteine özgü hidroksilizin ve hidroksiprolin olmak üzere iki aminoasit yer alır (91,92). Kollajen lifçiklerini oluşturmak üzere polimerize olan protein birimi,

tropokollajen molekülüdür. Prokollajen tip I, C- ve N-terminal pro-peptidleri ve baskın olarak Gly-X-Y tekrarları içeren üçlü bir sarmal α heliks zincirleri halinde örülmüş üç polipeptid zinciri alt biriminden oluşur. Granülsüz endoplazmik retikulumda, *COL1A1* tarafından 2 $\alpha 1$ (I) - kollajen zinciri ve *COL1A2* hizalaması tarafından kodlanan 1 $\alpha 2$ (I) - kollajen zinciri kodlanır. Her bir α zinciri yaklaşık 1000 amino asit içermektedir. C propeptidleri arasındaki etkileşimler, doğru hizalamayı sağlamak için büyük ölçüde zincirler arası disülfid bağları ile stabilize edilir. Protein disülfür izomeraz, zincirler arası disülfür bağlarının oluşumunda da rol oynar. 2 pro- $\alpha 1$ zincir ve 1 pro- $\alpha 2$ zinciri daha sonra üçlü bir sarmal oluşturmak için C- ile N-yönünde birleşir. Katlanma sırasında, kollajen, diğerleri arasında, lizin ve prolin kalıntılarını ve glikosilat hidroksilisil kalıntılarını hidroksile eden spesifik enzimler tarafından değiştirilir. Bu çeviri sonrası değişiklik, üçlü sarmal montajı tamamlandığında durur (90, 91, 93- 96).

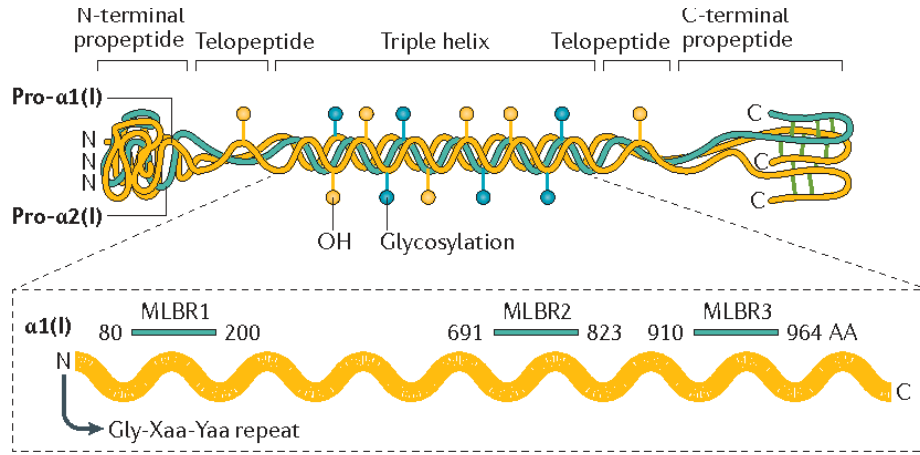


Şekil-11: Kollajen sentezi
(<https://quizlet.com/302149800/collagen-synthesis-and-structure-flash-cards/>).

I.C.b. Tip 1 Kollajenin Sentezi ve Translasyon Sonrası Modifikasyonu (Olgunlaşması ve Şekillenmesi)

I.C.b.a. Kollajen Tip I Biyosentezi

Tip I kollajen molekülünün 3 α heliks zincirinden ikisi alfa 1 zincir olup benzerdir, üçüncü zincir ise yapısal olarak benzer, ama genetik olarak farklı olan alfa 2 zinciridir. Tip I kollajenin biyosentezi, çok sayıda adım içeren, translasyon sonrası değişiklikler, katlanma ve çapraz bağlanma, taşınma, salgılanma ve kalite kontrolü için proteinlerin bir araya getirilmesini gerektiren karmaşık bir sistemdir. Üçlü heliks yapısının oluşumunu bu zincirler hidroksiprolin ve diğer iyonize artıklarla H^+ ile çapraz bağlanmakla yapmaktadır; bundan dolayı kemik kollajen lifleri erimeye dirençlidir. Böylelikle çok sert çizgisel (lineer) bir molekül oluştururlar (Şekil-12) (92, 96, 97). Tip I kollajen tendonlarda, ciltte, bağ dokusunda, kemik ve damar duvarında mevcut olup, insan vücudunda en fazla bulunan tipdir. Tip I kollajen, eriyebilme özelliği çok az olan bir proteindir (98- 100).



Şekil-12: Kollajenin yapısı. Tip I kollajen, iki $\alpha 1$ ve bir $\alpha 2$ poliprolin II - benzeri zincirlerden oluşan bir heterotrimerdir ve üçlü bir sarmal halinde birleşir. (file:///C:/Users/User/Downloads/nrdp201752.pdf).

Yaklaşık 28 farklı tip kollajen türü vardır. Kollajenin farklı tiplerinin oluşmasından, bu polipeptid zincirlerinin kimyasal yapısındaki farklılıklar

sorumludur. Tip I, tip II, tip V ve tip XI fibriler yapıdadır. Tip II hiyalin kırkırdak dokusunda en fazla bulunur. Tip IV kollajen bazal membranın ana proteini olup, hücreler tip IV kollajeni ile bazal membranlara bağlanırlar (88, 101). Hatta kardiyak kapakçık üretiminde, osteoartritte, kemik greftlerinde diğer canlılardan elde edilen kollajenler kullanılırlar. Kollajen sentezi ile ilişkili yaklaşık 34 adet gen tanımlanmıştır. Bu genler başına COL ilave ederek adlandırılır. Her bir gen farklı kromozomlar üzerinde bulunur (85, 102).

I.C.b.b. Postranslasyonel Modifikasyon ve Çapraz Bağlanma

Kollajenin postranslasyonel modifikasyonu, kollajen telopeptid ile sarmal bölgeler arasındaki kovalent çapraz bağların oluşumunu etkileyebilir ve bu da onun gerilme özelliklerini etkileyebilir.

CRTAP, *LEPRE1* ve *PPIB* genleri tarafından kodlanan *CRTAP/P3H1/CPB* kompleksi, prolil 3-hidroksilaz grubuna (P3H) aittir. Bu kompleksin bilinen işlevi P986'da bulunan prolin kalıntısının 3-hidroksilasyonundan sorumludur, aynı zamanda kompleks büyük olasılıkla bir prolin cis-trans izomeraz ve bir moleküler şaperon olarak işlev görür. Farelerle yapılan çalışmada *CRTAP*, *PPIB* ve *LEPRE1*'in homozigot delesyonu, 3-hidroksiprolini (3Hyp) azaltır ve farelerde azalmış kemik kütlesi, kemik kırılabilirliğinin artmasına ve biyomekanik parametrelerin bozulmasına yol açar. Aynı çalışmada, *PPIB*'in *CRTAP* düzeylerine etkisi olmadığını ancak *P3H1* düzeyini azaltarak *P3H1* stabilitesi için gerekli olduğu gösterilmiştir. 3Hyp eksikliği kollajen stabilitesini etkilemese de, diğer kollajen modifikasyonu enzimlere uzun süreli erişime izin verebilir, bu da tip I prokollajenin sarmal alanının aşırı modifikasyonuna ve çapraz bağlanmanın artmasına yol açar. Bu, aşırı modifikasyon *LEPRE1*^{-/-} ve *CRTAP*^{-/-} farelerde gözlenirken, *PPIB*^{-/-} farelerde görülmez, bu kısmen trimerik kompleksi korumak için *P3H1* ve *CRTAP*'ın karşılıklı gereksiniminden kaynaklanabilir (96, 103).

I.C.b.c. Kollajen Çapraz Bağları Oluşturması ve Katlanması

Lizil hidroksilaz 1-3 (LH1-3), sırasıyla prokollajen-lizin, 2-oksoglutarat 5-dioksijenaz 1-3 (PLOD1-3) tarafından kodlanır ve lizini daha sonra hidroksilisil (Hyl) kalıntılarına dönüştürmeye yarar ve Piridinolin çapraz bağları oluşturmak için lizil oksidazlar (LOX) ailesinin substratları olarak kullanılır. Hyl kalıntıları, prokollajen molekülü içindeki lizin kalıntısının konumuna bağlı olarak spesifik enzimler tarafından üretilir. *PLOD2* hidroksilatlarının protein ürünü, granülsüz endoplazmik retikulumda telopeptid lizinleri oluşturur. *FKBP10* tarafından kodlanan FKBP65 ayrıca tip I (pro) kollajen için bir moleküler şaperon görevi görür. FKBP65'in fenotip bulgularındaki benzerlikler, hücresel lokalizasyon ve intrinsik lizilhidroksilaz fonksiyonunun eksikliği nedeniyle, FKBP65 ve LH2'nin enzimatik fonksiyon uygulamak için bir kompleks oluşturması gerekebileceği tahmin edilmiştir (96).

SERPINH1 tarafından kodlanan HSP47'nin üçlü sarmalın stabilitesini düzenleyen bir ER şaperonudur. Yapılan OI köpek modeli çalışmada, HSP47'nin kollajenin postranslasyonel modifikasyonunda doğrudan yer almadığını *HSP47* (p.L326P) fonksiyon kaybı mutasyonlarında, tip I kollajenin aşırı modifikasyonuna ve 3Hyp'yi (Pro986) etkilemeden çapraz bağlanmanın artmasına neden olduğu gösterilmiştir. HSP47'nin, zayıf veya geçici bir şekilde de olsa FKBP65/LH2 kompleksi ile ilişkilendirilmesi mümkündür (96).

I.C.b.d. Kollajenin İşlenmesi /Kesilmesinde BMP1

Kemik morfogenezik proteini 1 (*BMP-1*), ekzositoz yolu ile hücre dışı matrikste salgılandıktan sonra prokollajenin propeptitleri, C- terminal propeptidin prokollajen tip I'den proteolitik olarak kesilmesinden sorumludur. TGF beta ailesinden olan, kemik hücrelerinde farklılaşmayı ve fonksiyonlarına katkı sağlayan düzenleyici proteinlerden biridir. Çok sayıda önemli görevleri vardır. Örneğin fare modelleri üzerinde BMP 2,4,7'nin ekstremiteler oluşumunda rol oynadığı gösterilmiştir (43, 44). BMPler ile ilişkilendirilmiş hastalıklar OI tip-

XIII, mikroftalmi sendromu tip 6, orofasiyal kleft sendromu tip 11, progresif ossifikan fibrodisplazi gibi hastalıklar olarak bilinmektedir (44).

I.C.b.e. Osteoblast Gelişimi ve İşlevi

Osteriks/SP7, farelerde saptanan homozigot osteriks mutasyonu osteosit maturasyonu, osteoblast farklılaşması, kemik morfoloji ve maturasyon bozukluklarına neden olmaktadır (45). SP7/OSX geninde homozigot çerçeve kayması mutasyonu saptanan Oİ tip XII vakası bildirilmiştir (46).

Wingless (Wnt), lipoprotein reseptör ilişkili protein 5 ve 6 (LRP5/6) ve beta katenin ile ilişkili, kıvrımlı-7- transmembran anahtar reseptör ailesindedir (54). Glukojen sentaz kinaz-3 (GSK) beta inaktivasyonu ve beta-katenin inhibisyonuna sebep olur. Mezenkimal hücrelerden osteoblast farklılaşmasında hedef gen ekspresyonunu indüklenmesinin önemli rolü vardır (55- 57). Kondrosit oluşumunda da rol aldıkları gösterilmiştir. *WNT1* geninde oluşan mutasyonlar sonucu Oİ tip- XV ile ilişkilendirilmiştir (56).

Osteonectin, salgılanan protein, asidik, sistein açısından zengin, hücre döngüsü ilerlemesini engelleyen ve ekstraselüler matriksin (ECM) sentezini etkileyen matrisle ilişkili glikoproteindir. Esas olarak, kemikteki osteoblastlar dahil, yüksek hücre dışı matriks üretimine sahip hücrelerde ifade edilir ve kemikteki kollajenin kalsifikasyona uğraması için gereklidir. *SPARC* geninde oluşan mutasyonlar Oİ tip- XVII ile ilişkilendirilmiştir (97).

I.C.b.f. Endoplazmik Retikulum İlişkili Proteinler

CREB3L1 geni ise osteoblast seviyesinde baskın olarak işlev gören, ER-stres transdüseri “eski astrositi spesifik olarak indükleyen madde”yi (Old Astrocyte Specifically Induced Substance/OASIS) proteinini kodlamaktadır. OASIS'in N-terminali etki alanı *COL1A1* promotörünü aktive eder ve kollajen matriks oluşumunda bulunan genlerin *TGFβ* tarafından aktivasyonu için de gerektiği bilinmektedir(33). OASIS^{-/-} farelerde azalmış *Col1a1* ekspresyonu ve

genişlemiş endoplazmik retikulum, şiddetli osteopeni ve spontan kırıklar gözlenmektedir (96).

MBTPS2 tarafından kodlanan intramembran proteoliz (intramembrane proteolysis /RIP) yolunun parçası olan proteinlerden biri olan site-2 metalloproteazının (S2P) substratları golgi'de bulunur ve OASIS ile birlikte ER stresi durumunda düzenleyici proteinlerin kesilmesinde görevlidir (96).

TMEM38B proteini ER'de yer alan hücre içi kalsiyum akışı için gerekli olan değerli bir trimerik katyon kanalından sorumlu protein olan TRIC-B'yi kodlar. TRICB -/- fare modelinde perinatal döneminde kaybedilir. Bu protein kaybı kalsiyum akışının bozulmasına, ER stresine ve kollajen sentezindeki düzensizliğe neden olmaktadır (96).

I.C.b.g. Kemik Mineralizasyonu

Kemik sınırlı IFITM benzeri protein (*BRIL*) olarak da bilinen, interferon-kaynaklı transmembran protein ailesi 5 (*IFITM5*) kemik formasyonunda görev alan ve mineralizasyondan sorumlu olan bir IFITM protein ailesinin bir üyesidir. *IFITM5* ekspresyonu en çok osteoblastlarda belirgindir (96).

Pigment-epitel türevli faktörü (Pigment epithelium-derived factor/PEDF) kodlayan *SERPINF1*, güçlü bir anjiyogenez inhibitörü olan çok işlevli proteindir. *BRIL* ve *PEDF*, osteojenik genlerin ekspresyonunu ve mineral depozisyonunu destekleyerek osteoblast gelişimini, kemik oluşumunu ve mineralizasyonunu olumlu yönde etkiler. *PEDF*'in eksikliği, *RANKL*'ı destekleyerek osteoklast sayısını ve kemik rezorpsiyonunu artırır (96).

I.C.c. Non-Kollajen Proteinler

Aynı zamanda matriks non-kollajen proteinler de içerir. Bu proteinlerin matrikse oynadığı rol mineral düzenlenmesi ve kollajen yapısının güçlendirilmesidir (103). Bunlar proteoglikanlar, glikoproteinler ve hyaluranik asittir. Bu proteinler kemik dokusunun esnekliğinden ve sağlamlığından da sorumludurlar (80, 96).

II. Osteogenezis İmperfektayı Andıran Sendromlar

Konjenital kemik frajilitesi ile giden bir grup genetik hastalıktır. Bu sendromlarda prokollajen genlerinde mutasyon gösterilememiştir ve bu sendromların çoğunda otozomal resesif kalıtım gösterilmiştir. Bu gruba dahil hastalıklar “Osteogenezis İmperfektayı Andıran Sendromlar” (OİAS) olarak adlandırılmıştır (104). Bu grup sınıflama yapılması olası gen tedavisi gelişimi için çok önemlidir. Bu hastalarda düşük kemik dansitesinin tedavisi Oİ tanılı hastalardaki gibidir, ancak bu hastalar konjenital kırılğan kemik hastalığı olan diğer hastaların aksine olasılıkla tedaviye daha iyi yanıt vermektedirler (105). Bu hastalarda da osteosarkom gelişebilir ve bu olasılık her zaman göz önünde bulundurulmalıdır (106).

II.A. Rizomeli ile Giden Konjenital Kırılğan Kemik

Bu kısa humerusla giden Oİ’yi andıran sendrom grubunda (OİAS) resesif kalıtım sadece Quebec First Nations Community’de tanımlanmıştır. Kalıtım paterni net değildir, ama aralarında akrabalık bulunan ailelerden doğmuş iki çocukta saptanmış olmaları, gonadal mozaisizm veya OR kalıtım olma olasılığını düşündürmektedir. Bu vakalar “tip VII Oİ” olarak yayımlanmıştır (107). Etkilenen bireylerde tipik olarak kısa humerus ve femur mevcuttur. Doğumda fraktürler mevcut olabilir. Bu sendromda görülen fraktür ve engellilik şiddeti orta ile ağır arasındadır. Hastalıkta erken dönemde alt ekstremitte anomalileri, koksa vara ve düşük mineral dansitesi görülmektedir. Diş anomalileri görülmemiştir ve *wormian* kemikleri yoktur. Mikroskop altında bakıldığında bu OİAS hafif Oİ’den farklı bir histoloji gösterir. Tanı için tanımlanmış yöntem sadece kemik biyopsisidir, biyopside kemik matriksi etkileyen, ancak büyüme kıkırdaklarını etkilemeyen bir mineralizasyon kusuru görülür. Yapılan bazı bağlantı analizi çalışmalarında kromozom 3’ün kısa kolunda hastalığa sebep olan lokus belirlenmiştir.. Fakat prokollajen tip 1’i kodlayan hiçbir gende mutasyon saptanmamıştır (108, 109).

II.B. Hiperplastik Kallus Formasyonuyla Seyreden Konjenital Kırılğan Kemik (tip V Oİ)

OİAS'ın bu alt tipine ait hastalarda omurga gövdelerinin ve uzun kemiklerin kırılğanlığı artmış olup, uzun kemiklerde fraktürler ve intramedüller implant yerleştirme ameliyatlarından sonra hiperplastik kalluslar gelişebilir (110, 111). Bu OİAS'ın "tip V Oİ" olarak tanımlanmıştır, ama yine bu hastalarda prokollajen gen 1 mutasyonu bulunamamıştır, kalıtım şekli ise OD gibi görünmektedir (108). Başlangıç semptomları arasında görülen kemik frajilitesi ve deformitesi ile Oİ olarak gözükse de, bu hastaların uzun kemiklerinde inflamasyon veya osteosarkomu düşündürecek ağrılı, sert ve sıcak şişlikler gelişir (112). Bu hastalarda röntgende bazı fraktürlerin etrafında hiperkallus oluşumu gözlenebilmektedir. Kallusun büyüklüğü ve şekli hızlı büyüme periyodunu takip eden birkaç yıl boyunca aynı kalabilmektedir. Aşırı kallus formasyonu ile seyreden konjenital kırılğan kemik hastalığı olan hastaların radius ile ulna arasındaki interosseöz membranın kalsifikasyonu ile bağlantılı olarak bir veya her iki önkolda pronasyon ve supinasyonda kısıtlılık yaşanabilir. Oİ tanılı hastalarda osteosarkom gelişebilir ve bu olasılık her zaman göz önünde bulundurulmalıdır. Aynı zamanda, bu hastalarda mavi sklera görülmemekte, dişleri normal, ligament gevşekliliği ise Oİ tip IV hastalarına benzemektedir. Ayrıca bu hastalarda Oİ tip IV'te olduğu gibi kortikal ve süngerimsi kemik miktarlarında azalma mevcuttur. Histomorfometri çalışmaları kemik lamellerinin Oİ tanılı hastalardaki tipik paralel yapılanmanın aksine ağ şeklinde düzenlendiğini göstermiştir (109, 110, 112, 113).

II.C. Osteoporoz – Psödogliom Sendromu (OPS)

Bu sendrom ilk defa 1972'de üç ailede tanımlanmıştır. Juvenil ya da konjenital başlangıçlı osteoporoz, vitreus hiperplazisi, korneal opasite, sekonder glokoma bağlı körlük ile karakterize OR kalıtım gösteren bir hastalıktır (114, 115). Bu hastalarda kemik kırılğanlığı hafif-orta derece arasında değişmektedir. Fetal gelişim zamanı primer vitreal damar

yapılanmasının regresyon kusuru, oküler patolojilere neden olmaktadır. Patojenik mekanizması bilinmemektedir. Klinik, mikroskopik ve biyokimyasal testler OPS'nin bir matriks homeostaz bozukluğu olabileceğini göstermektedir. Yapılan haritalandırma çalışmaları sonucunda hastalığa sebep olan lokus kromozom 11q12-13 bölgesinde saptanmıştır (116). Özellikle mutasyon LDL reseptör ilişkili protein 5 (LRP5) gen bölgesindedir. Tedavi sürecinde intravenöz (İV) pamidronat tedavisi alan hastalar yüz güldürücü sonuçlar göstermektedir. LRP5 geni mutasyonları ile giden hastalıklar yüksek kemik kitlesi fenotipi, osteoporoz-psödogliom sendromu, van Buchem hastalığı, endosteal hiperosteozis, otozomal dominant osteoskleroz ve osteopetrozis tip 1'dir (117, 118)

II.D. Eklem Kontraktürleriyle Seyreden Konjenital Kırılgan Kemik Hastalıkları (Bruck Sendromu) (BS)

Bruck ve ark. tarafından bu sendrom ilk defa 1897'de erişkin bir hastada saptanmıştır. Bruck sendromu Oİ benzeri klinik bulgular göstermektedir. Bruck sendromlu hastalarda konjenital veya yenidoğan döneminde başlayan kırıklar, perinatal eklem kontraktürleri, konjenital artrogripozis multipleks (pterjium), dentinogenezis imperfekta, skolyoz, kalvaryumda *wormian* kemikler ve boy kısalığı ile seyreden bir hastalıktır. İşitme ve zihinsel gelişim normaldir. Kalıtım modeli OR'dir (119-121). Bu hastalarda *COL1A1* ve *COL1A2* genlerinde herhangi bir mutasyon saptanmamıştır. Bruck sendromundan sorumlu lokusun 17p12'de 18cM aralığında eşleştiği düşünülüyordu ki, bu bölge kemik telopeptidil hidrosilaz enzimini kodlayan genleri kapsamaktadır. Mutasyon kollajen tip 1 telopeptidlerinde yetersiz hidrosillenmiş lizin kalıntıları ortaya çıkarmakta ve buna bağlı kemikte aberan çapraz bağlar oluşturmaktadır. Ancak kırıkta ve ligamentlere etki etmemektedir. Son zamanlarda bu hasta gruplarında genetik heterojeniteyi gösterir şekilde lizil hidrosilaz 2 (*PLOD2*, 3q24) ve *FKBP10* (17q21.2) geninde mutasyonlar saptanmıştır (122-126).

II.E. Mineralizasyon Defektiyle Seyreden Konjenital Kırılgan Kemik Hastalıkları

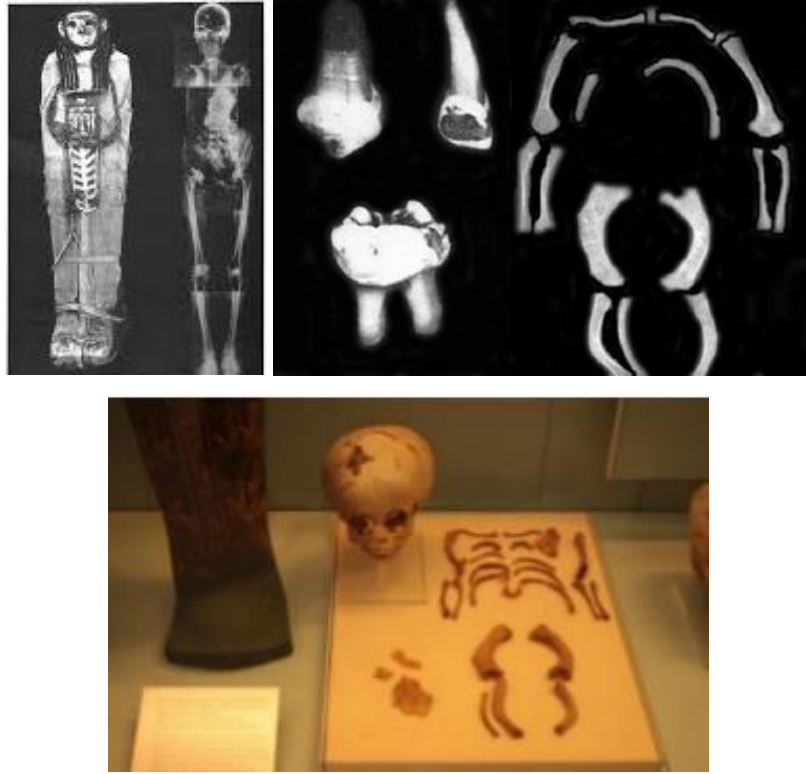
Bu hastalık grubu orta-ağır Oİ'den klinik bazda ayırt edilememekte ve nadir görülmektedir. Bu hastalar tip VII Oİ olarak raporlanmıştır. Tanı sadece kemik biyopsisiyle konulur, biyopside ise görülen kemik matriksi etkileyen, ama büyüme kıkırdaklarına etki etmeyen bir mineralizasyon kusurudur. Bu vakalarda *wormian* kemikleri yoktur ve dişler normal gelişmiştir (127). Kemik etkilense de büyüme plağının etkilendiğini gösteren radyolojik bulguları mevcut değildir. Kalıtım paterni belirtilmemiştir, ama akraba olan anne-babadan doğan 2 çocukta hastalığın görülmüş olması gonadal mozaizm veya otozomal resesif kalıtım olma olasılığını düşündürmektedir. OİAS'ın bu formu fibrogenesis imperfekta ossiuma benzer ortak bulgulara sahiptir. Çok nadir görülen bu hastalığın hafif bir formu olabilir, kemik biyopsisi yapılan 128 hastadan yalnızca 3 vakada görülmüştür (128-130).

III. Osteogenesis İmparfekta

Osteogenesis imperfekta, perinatal letal tip, yaşam boyu kırılğan kemikler, mavi sklera, işitme bozukluğu, Dİ, ciddi deformiteler, yürüme güçlüğü ve eklem hiperlaksitesi gibi özelliklerden biri veya daha fazlası ile ortaya çıkan tiplerinin yanı sıra sadece generalize osteopeniyle seyreden hafif klinik bulgularla karşımıza çıkabilen kalıtsal bir bağ dokusu hastalığıdır. Halk arasında 'cam kemik' hastalığı denilmektedir (1, 131).

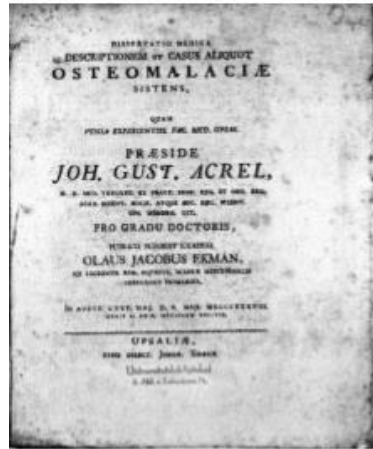
III.A. Tarihsel Bakış

Osteogenesis imperfekta hastalarının paleomedikal çalışmalarla elde edilen en erken kanıtları şu anda Londra'da "British Museum"da yer alan M.Ö. 1000 yılında Antik Mısır'da bulunan bir bebeğin iskelet mumyasına aittir, fakat mumyanın Oİ olup olmadığı halen tartışmalıdır (132) (Şekil-13).



Şekil-13: M.Ö. 1000 yılında Mısır'da bulunan "British Museum"da korunan çocuk mumyasına ait kalıntılar (Ref. (Gray P (1969) A case of osteogenesis imperfect, associated dentinogenesis imperfect, dating from antiquity).

İlk bilimsel çalışma, 1788 yılında, İsveçli cerrah Olof Jakob Ekman tarafından "Doğuştan Osteomalazi" konusundaki doktora tezinde kalıtsal kemik kırılğanlığına sahip bir aileyi tanımlayarak yapılmıştır (133) (Şekil-14).



Şekil-14: O.J. Ekman'ın doktora tezi (3).

Tarihsel incelemesinde O'yi tanımlamak için sayısız sinonimler kullanılmıştır (134) (Tablo-2).

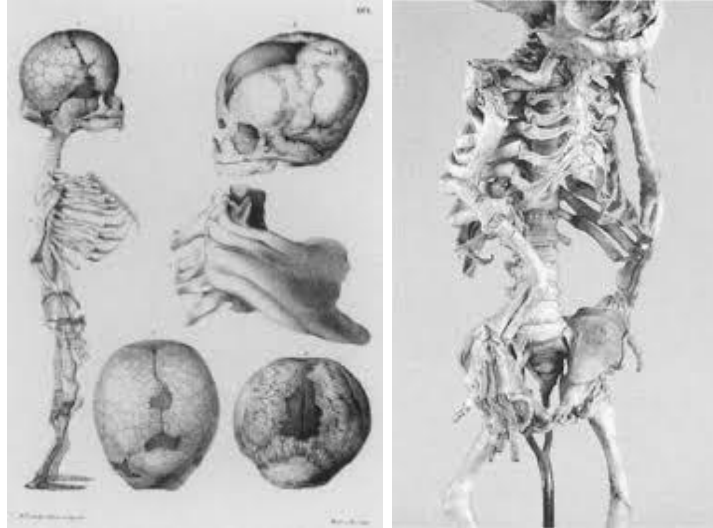
Tablo-2: Osteogenezis imperfekta ve sinonimler (3).

<i>Ekman sendromu (Ekman 1788)</i>
<i>Blue sclera sendromu (Axman 1831)</i>
<i>Aplasia periostalis</i>
<i>Blue sclerotics and brittle bones</i>
<i>Blue scleras and fragilitas osseum</i>
<i>Brittle bones and blue sclerae</i>
<i>Lobstein's hastalığı (Lobstein 1833)</i>
<i>Molities osseum</i>
<i>Osseous fragility</i>
<i>Osteogenesis imperfecta congenita [Vrolik] (Vrolik 1844-1849)</i>
<i>Osteogenesis imperfecta tarda</i>
<i>Osteomyopathia</i>
<i>Osteoporosis foetalis</i>
<i>Osteitis parenchymatosa chronica</i>
<i>Porak-Durante hastalığı</i>
<i>Rachitis congenita</i>
<i>Fetal rickets (Kaufman 1892)</i>
<i>Spurway sendromu (Spurway 1896)</i>
<i>Spurway-Eddowes sendromu</i>
<i>Dark sclerotics and fragilitas osseum (Eddowes 1900)</i>
<i>Eddowes sendromu (Eddowes 1900)</i>
<i>Periostal dysplasias</i>
<i>Periostal dystrophia</i>
<i>Adair-Dighton hastalığı (Adair and Dighton 1912)</i>
<i>Fragile bones (Ostheimer 1914)</i>
<i>Hereditary fibrous osteodysplasia</i>
<i>Hereditary hypoplasia of the mesenchyme (Voorhoeve 1918)</i>
<i>Triad of Van der Hoeve</i>
<i>Van der Hoeve sendromu</i>
<i>Van der Hoeve-De Kleyn sendromu (Van der Hoeve ve De Kleyn 1918)</i>
<i>Vrolik's hastalığı</i>
<i>Blegvad- Haxthausen sendromu (Blegvad and Haxthausen 1921)</i>
<i>Ekman-Lobstein sendromu (Caniggia et al. 1958)</i>
<i>Fragilitas ossium hereditaria tarda (Caniggia et al. 1958)</i>
<i>Fragilitas vitrea osseum</i>

1980'li yıllarda O'nın medikal tedavisinde bifosfonat kullanımı ilk kez rapor edilmiştir. "Pamidronate disodium"un olumlu etkileri görüldükten sonra, bu hastalığın tedavisinde kullanılmasıyla klinik semptomların düzeldiğini gösteren sonuçlar yayımlanmıştır (135,136). 1831 yılında kemik kırılma bulgusuna ek olarak mavi sklera bulgusu ilk kez Almanya Westheim'daki Edmund Axmann bahsetmiştir. Yıllar sonra (1835) infantın tekrar değerlendirilmesinde makrosefali, geniş ve yüksek bir alın, protrüde oksiput, sığ orbitalar, çok sayıda wormian kemiği azalmış mineralizasyon gözlemlenmiştir. Kaburgalar oldukça ince, tübüler kemikler hafif kavisli olmasına rağmen normal uzunlukta imiş. Tüm iskelet yapıları kırık sonrası kallus oluşumu göstermiş. Willem Vrolik, iskelet bulgularının çağdaşların inandığı gibi, "raşitizm" veya "osteomalazi" gibi

doğum sonrası kazanılmış bir hastalığın sonucu olmadığını ilk fark edenlerden biriydi ve bu hastalığı “Osteogenesis İmperfekta” olarak adlandırmıştır (3, 137). “Osteogenesis İmperfekta” tanımı 1842-1854 yıllarında konjenital anomalilerin patolojisiyle ilgilenen Anatomi Profesörü Willem Vrolik (1801-1863) tarafından birçok kırıkla doğan bir çocuk için yapılmış; bu sebeple hastalık “Vrolik sendromu” olarak da adlandırılmaktadır (106).

Amsterdam Üniversitesi Athenaeum Illustre’de Patolojik Anatomi ve Tabula (*Tabulae ad illustrandam embryogenesis hominis et mammalium, naturalem tam abnormem*) notlarında hidrosefali ve çoklu kırıklar ile doğup 3 gün sonra kaybedilen bir infant tanımlamıştır (3) (Şekil-15).



Şekil-15: Dr. Willem Vrolik tarafından tanımlanan fetusa ait illüstrasyon (ref. Aspects of the history of Osteogenesis imperfecta (Vrolik's syndrome) B. Balje 2002).

Heinrich Stilling 1889 yılında Oİ hastalığının histopatolojik özelliklerini raporlanmıştır. Martin Benno Schmidt 1897 yılında yetişkin ve yenidoğan formlarının aynı olduğu fikrini belirtmiştir (3). E. Looser 1906 yılında hastalığı ağırlığına göre "conjenita" (Vrolik) ve "tarda" (Lobstein) olarak iki forma ayırmıştır (8). Van der Hoeve ve de Kleyn, kemik kırılabilirliği ve sağırılık ilişkisine önem verirken, Bell, kemik kırılabilirliği, mavi sklera ve otosklerotik sağırılığın ortak bir ilişkisi olduğunu ve OD kalıtıldığını bildirmiştir (137, 138). 1949 yılında Seedorf kaburgaların tespih görünümü olduğunu ve uzun

kemiklerin, armonika körükleri gibi, aksenel olarak birbirine bastırılmış şekilde görünümüyle letal perinatal tip Oİ'yi tanımlamıştır (139). Wilson ve Tsuruta, Remigio ve Grivalsky ve Sugiura, sağlıklı anne babadan etkilenen kardeş olgular ile soyağaçlarında akraba evliliğinin eşlik ettiği OR kalıtım ile uyumlu olan Oİ tipini göstermişlerdir (140- 142). Aynı zamanda Dr. Victor McKusick 1970' li yıllarda OD kalıtılan vakaların yanında nadir de olsa OR kalıtım gösteren vakaların olduğunu da belirtmiştir (7). 1974 yılında kemik kollajeninin sentezi yavaş yavaş anlaşılmaya başlanmış ve elektron mikroskopuyla incelenmesi sonucunda hastalığın etyopatogenezinin aydınlatılmasına, kollajen agregasyon anormalliklerinin tanımlanmasına katkı sağlamıştır (143).

Sillence ve ark. ise 1979 yılında bugün de hala kullanılmakta olan "Sillence sınıflandırmasını" ortaya koydular ve hastalığın genetik heterojenitesi, son yıllardaki moleküler genetik çalışmalarla doğrulanmıştır (2). 1983-85 yıllarında ilk defa Oİ tanılı bir hastada pro- α 1 zinciri için bir allelde yaklaşık 0,5 kb'lik bir delesyon/silinme mutasyonunu tanımlamışlardır (2, 144, 145).

III.B. Klinik Özellikler

Osteogenezis imperfekta klinik olarak çok heterojen bir hastalıktır. Klinik bulguları ağır iskelet deformiteleri ile seyreden letal perinatal tipten, ciddi boy kısalığı ve deformiteleri olup yürüyemeyen tipe veya ömür boyu kırık olmayıp sadece osteopeni ve osteoporoz ile seyreden hafif tipe kadar farklı olabilir (1, 3). Tip 1 kollajen çoğu bağ dokusunda ve kemik, kornea, deri, tendon, damar duvarı ve kulakta da bol miktarda bulunduğu için iskelet tutulumun yanı sıra diş, göz ve kulak tutulumunda vardır (10). Kırılgan kemikler dışında, boy kısalığı, kas güçsüzlüğü, kronik gerilemeyen kemik ağrısı ve kırıklara bağlı olarak kraniyal kemik ve iskelet anomalilikleri, mavi sklera, işitme kaybı, Dİ, eklem hiperlaksitesi vb. birçok klinik bulguları da gösterebilir (1, 4, 10).

III.B.a. Kas ve Kemik Bulguları

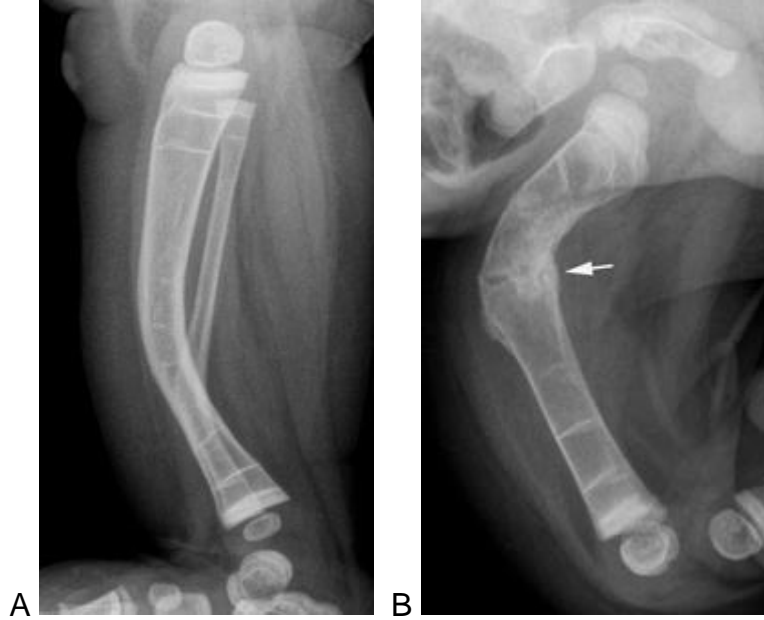
Oİ hastalarının daha sık orta ve ağır formlarında azalmış kas kuvveti ve kas atrofisi görülür. Hafif tip hastalarda bile hastaların egzersiz toleransı ve kas gücü anlamlı ölçüde azalmıştır (20). Bazen hastalığın ilk bulgusu olarak proksimal kaslarda güçsüzlük olabilir. Alt ekstremitelerde kırık sayısının çok olması ve bunun da kas kaybına bağlı atrofiye neden olduğu düşünülmektedir. Ligament zayıflığı Oİ tanılı hastaların 2/3'ünde görülür. Oİ vakalarının bazılarında aşil, patellar, kuadriseps tendonu rüptürleri görülebilir (146-148).

Kemik dokusunun ana yapısal proteini olan tip 1 kollajen ve diğer proteinlerdeki bozukluk, fibriller ya da mineral yapıda bozulmaya ve kemiğin betonarme yapısında azalmaya neden olur. Bu da kemik yapısının kolay kırılmasını ortaya çıkarır. Bazal kemik defektine bağlı tüm kemiklerde yaygın osteopeni görülür ki, bu da sıklıkla fraktür, cerrahi ve azalmış fiziksel aktiviteye sekonder olarak kötüleşmektedir. Hastalığın tipine göre şiddeti, kırıkların zamanı ve lokalizasyonu değişir. En sık görülen uzun kemiklerde orta şaft kırıklarıdır. Ayrıca metafizyel kırıklar da Oİ'li çocuklarda görülmektedir ve genellikle travmaya bağlı olmayan kırıkların patognomik bulgusudur (10, 149, 150). Oİ'da çok çeşitli kırılma motifleri vardır; bunlardanda en sık spiral ve enine kırıklar gözlenmektedir (149). Ayrıca bunun dışında kafa, vertebra, kosta, küçük kemiklerde kırıklar oluşabilir. Perinatal vakalarda daha sık kostalarda kırıklar görülür (10). Şiddetli tiplerde üst ve alt ekstremitelerde deformiteleri sadece kozmetik bir sorun teşkil etmekten başka, günlük yaşamı etkileyecek şekilde üst ekstremitelerde fonksiyon ve mobilitesini bozabilir (20).

Puberta döneminden sonra da fraktürler oluşmaya devam edebilir ve kemik frajilitesi yaşam boyunca sürebilir. Hastalığın hafif formları görülen bireylerde postür sorunları, kemik kırılabilirliği gibi sorunlar hayatı boyunca hiç olmayabilir ve hastalığın tanısı diğer nedenlerle çekilen bir grafi sonucunda tesadüfen konulabilir. Oİ tanılı hastaların ağrı eşikleri yüksek olur. Eski fraktürler infantlarda sadece diğer nedenlerden ötürü çekilen grafilerle tanınabilir ve bu hastalarda yine herhangi bir bulgu vermeden kırıklar oluşabilir.

Hafif Olı infantlar yaşamlarının ilk aylarında hafif travma veya travma olmadan kırıklar geçirebilirler, ancak bu grupta ki hastalarda ileriki yaşlarda kırık oluşma insidansı belirgin bir şekilde azalmaktadır (151). Kadınlarda postmenapozal, erkeklerde ise 60 yaşından sonra tekrar artış gösterebilir (152).

Uzun kemiklerin çoklu transvers kırıkları ve zayıflamış diyafiz karşısında kas kontraksiyonları ve vücut ağırlığı nedeniyle eğrilikler oluşabilir. Humerus, fibula ve tibiada anterior eğrilik (kılıç kını 'saber shin') görülürken, femur (çoban asası 'shepherd's crook'), ulna ve radiusda anterolateral eğrilik görülür (Şekil-16 A, B). Protrüzyo asetabuli, koksa vara deformiteleri de gelişebilir (153, 154).



Şekil-16: A, kılıç kını 'saber shin', B, çoban asası 'shepherd's crook' görüntüsü
(<https://link.springer.com/article/10.1007/s13244-013-0258-4>).

III.B.b. Kraniyo-spinal Bulgular

Baziler impresyon (Bİ) (göreceli olarak kafa tabanının aşağı inmesi ve üst vertebral yapıların kafatasının kaudal sınırının üzerine çıkmasıdır) kranioservikal bileşkenin nadir mekanik anomalisidir ki, ya baziler invajinasyon yada kranial yerleşme ile karakterizedir (Şekil-17). Oksiput tabanının içine katlanmasına bağlı baziler invajinasyon olur, O-C1 hastalığıdır. Kranial yerleşme ise yüksek servikal omurganın aşağıya fıtıklaşmasıdır, C1-C2'nin

dengesizliğinden kaynaklanır. Baziler invajinasyon Oİ'nin nadir fakat potansiyel olarak ölümcül bir komplikasyonudur. Hastalarda prevalansı tam olarak bilinmemektedir ama yaklaşık hastaların %8-25'inde baziler invajinasyon mevcuttur ve tedavisi oldukça güçtür (155). Bu komplikasyon vakaların %80'inde füzyon cerrahisine rağmen ilerleme eğilimi göstermektedir (156). Oİ hastalarının hepsi klinik olarak semptomatik değildir. Baziler invajinasyon, Oİ'nin tüm subtiplerinde görülebilir. Baziler invajinasyon, beyin omurilik sıvısı (BOS) dinamiğinde bozulma, beyin sapı ve serebellum kompresyonu, kranial sinirlerin mekanik gerilmesi ve hatta vertebrobaziler kan akımında bozulmaya bağlı olarak çok sayıda klinik bulgular ortaya çıkabilir (155). Kayropraktik manipülasyon hastalarda paraplejiye neden olabilir (157).



Şekil-17: Baziler invajinasyon görüntüsü
(<https://weillcornellbrainandspine.org/condition/basilar-invagination/pictures-basilar-invagination>).

İnce ve yuvarlak kafatasına sahiptirler, ciddi vakalarda doğumda ezilebilir. Özellikle art kafa içinde multipl kemikleşme merkezleri mevcut olduğundan oksiput büyüktür. Parietal ve temporal kemiklerin çıkıntı yapması nedeniyle olgular, frontal bossing ve sıklıkla maloklüzyona yol açan mandibular malformasyonlu üçgen bir yüz şekline sahiptirler. Bu görüntü “kask kafa” (helmet head) olarak adlandırılır (13, 158-161).

Wormian kemikler, komşu membranöz kemiklerdeki primer ossifikasyon merkezlerinin ayrılmış bölümleri olup, anormal derecede ince veya kalın bir kalvariuma, platibazi, baziler impresyon, görece ya da gerçek



Şekil-19: Oİ'li hastalarda toraks deformitesi, kifoskolyoz (file:///C:/Users/User/Downloads/slikovne_metode_kod_osteogenesis_imperfecta.pdf).



Şekil-20: Çoklu vertebraların çökmesi ('codfish vertebra') (file:///C:/Users/User/Downloads/slikovne_metode_kod_osteogenesis_imperfecta.pdf).

III.B.c. İşitme Kaybı

İşitme kaybı Oİ'li tüm olguların yaklaşık % 45 -% 58'inde gözlenir ancak genç hastalarda otitis media gibi nedenlerle de işitme kaybı olabildiğinden gerçek prevalansın daha düşük olması muhtemeldir (166, 167). Osteogenesis imperfecta'da otoskleroza benzer bir şekilde işitme kaybı tanımlanmıştır. Tipik

olarak sensörinöral, iletim veya miks tiptir ve yaşla birlikte derecesi artar (167, 168). Klasik otosklerozdan, erken başlangıçlı olması (ikinci ve dördüncü dekat arası), işitme kaybının daha yüksek insidansta görülmesi ve daha ciddi orta kulak tutulumu olması nedeni ile ayrılır (169). İşitme kaybı yaşa ve tiplere göre farklılık gösterir; Oİ tip I'e ait bir bulgu olup daha sık görülür, tip III ve IV'de daha az görülür, tip V ve IX'da ise işitme kaybı görülmemiştir (166, 167, 170). 10 yaşın altında nadir görülür, yaş ilerledikçe, 40 yaş civarında hastaların %50'sinde odimetri ile işitme kaybı saptanır (170).

İşitme kaybının tipi veya şiddeti ile mutasyona uğrayan gen veya mutasyonun yeri ile herhangi bir korelasyon kurulamamıştır (171). *COL1A2'nin* membranöz koklear hücrelerde ifadesi fazladır (170). Malleus, inkus, stapeste mikrokırık, otik kapsülde ossifikasyon gibi bulgular kantitatif veya kalitatif kollajen defekti olan hastalarda mutasyonlar, işitme kaybı tipi, orta kulak operasyonu prevalansı ve işitme cihazı kullanımı açısından karşılaştırıldığında da bir fark bulunamamıştır (172). Ayrıca, aynı mutasyonlar, işitme düzeninde önemli bir, inter/intrafamilial değişkenliğe yol açmaz (171). Orta kulakta efüzyon ve akut otitis media öyküsü, kafa travması ve gürültüye maruz kalma, işitme engelli Oİ hastalarında daha sık görülmüş olsa da, bu risk faktörlerinin hiçbiri işitme kaybı oluşumu ile anlamlı bir şekilde ilişkilendirilmemiştir (171). Oİ'ye neden olan mutasyonların işitme kaybının ifadesi için yeterli olmadığı ve bu nedenle, ilave bir genetik tetikleyicinin Oİ'deki işitme kaybından sorumlu olabileceği düşünülmektedir (171). Yaş artışına bağlı işitme kaybı sıklığının arttığı ve miks tip işitme kaybı olan olgulardaki sağırılığın şiddetinin daha ağır olduğu bildirilmiştir (172). Oİ tip I hastalarında işitme kaybı stapedektomi ile başarıyla tedavi edilmektedir. Bu hastalarda aynı zamanda vertigo da oldukça yaygındır (157).

III.B.d. Göz Bulguları

Oİ'de gözün birçok bölümü etkilenir ve çok çeşitli göz bulguları ile karşımıza çıkabilir. Tip I kollajen, sklera, kornea, trabeküler ağ örgüsü, lens kapsülü, uvea ve lamina kribrosa'nın en önemli yapısal komponentlerinden

birdir (173). Oİ ile ilgili tanımlanan karakteristik oküler bulgular genellikle mavi sklera, incelmış kornea, miyop, hipermetrop, astigmat, katarakt, keratokonus, koroid damarlanmasında artış, makuler dejenerasyon, retina dekolmanı ve glokomdur (174, 175). En karakteristik göz tutulumu bulgusu olan mavi sklera, Oİ hastalarında değişken şiddette görülebilir (10, 155) (Tablo-3, Şekil-21).

Tablo-3: Osteogenezis imperfekta tiplerinde sklera (10).

TİP	SKLERA
I	MAVİ
II	KOYU MAVİ
III	DOĞDUĞUNDA MAVİ, YAŞLA BİRLİKTE NORMAL
IV	GRİ – NORMAL
V	NORMAL
VI	GRİ MAVİ – NORMAL
VII	AÇIK MAVİ – NORMAL
VIII	NORMAL
IX	MAVİ
X	MAVİ
XI	AÇIK MAVİ – NORMAL
XII	NORMAL
XIII	BAZILARINDA AÇIK MAVİ
XIV	NORMAL
XV	MAVİ
XVI	MAVİ
XVII	GRİ – NORMAL



Şekil-21: Oİ hastasında mavi sklera
(http://www.oncetus.com/sozluk/osteogenezis_imperfekta).

Yaş ilerledikçe mavi skleranın şiddeti azalır veya griye dönebilir (172, 174). Oİ'nin yeni keşfedilen tiplerinin çoğunda skleralar normaldir (174). Oİ hastalarında görülen mavi sklera diğer göz hastalıklarıyla korele olup, aynı zamanda diğer göz hastalıkları açısından da risk faktörü olarak kullanılır (10, 155).

III.B.e. Dentinogenesis İmperfekta

Dentin, periodental, ligaman gibi elemanların yapısında tip 1 kollajen bulunur. Kollajen yapısında kalitatif veya kantitatif bozukluk olduğu zaman 'Dentinogenesis İmperfekta' denilen diş tutulumu meydana gelir (176) (Şekil-22). Hem süt hem de kalıcı dişleri etkiler. Dentinogenesis İmperfekta'da (Dİ) dentin yapısının bozulmasına bağlı açık griden koyu griye saydam ve opalesan görünümlü dişler, dişlerin damağa giriş bölgesindeki dentin yapısının bozulmasıyla ince, kolay çıkan ve spontan kırılmalar görülebilir. Kötü mineralizasyon sonucunda dişlerde şekil ve boyut bozukluğu, diş anormallikleri ve/veya maksillar hipoplazi ve mandibular prognatizmi içeren kraniofasyal varyasyonlar görülebilir (13, 155, 176). Dİ bulgusunun Oİ tip I hastalarında prevalansı %8- %40 arasında değişirken, en yüksek insidansı Oİ tip III ve IV hastalarında bulunmuştur (177).



Şekil-22: Oİ hastalarında Dİ örneği (*Maxime R, Jean-Marc R. Osteogenesis imperfecta: potential therapeutic approaches*).

III.B.f. Boy Kısaliğı

Boy kısaliğı, Oİ'nin sık görölen, temel özelliklerinden biridir. Oİ'nin tiplerine göre büyüme bozukluğunun ciddiyeti değişmektedir. Ağır Oİ tip III olan hastaların yetişkin boylarının genel olarak persantili 2-3 yaşlarından sonra düşmeye başlar (<100 cm) (178, 179), Oİ tip IV olan hastalar ortalama yetişkinin final boyuna sahip olabilirler (180). Hafif Oİ tip I hastalarında, standart büyüme eğrileri yüzde 5'in altına düşebilir veya yaşıtları ile aynı olabilir (181). Genellikle 1 yaşından sonra boy kaybı ve kas kitesinde azalma ile beraber görülür (179). Oİ hastalarında büyüme geriliği etiyojisi tam olarak bilinmemektedir, ancak ekstremiteler ve vertebraların epifizyal uçlarında çok sık oluşan mikrokırıklar nedeniyle olabilir (155, 179). Genellikle, Oİ tanılı hastalarda büyüme durmasının, kalitatif kollajen defekti olan hastalarda, nicel defektli hastalardan daha belirgin olduğu görölmekte, böylelikle Oİ'li çocuklarda büyümenin incelenmesi, genotip-fenotip korelasyonu çalışmaları için önemli bir alan haline gelmektedir (181). Büyüme aksının endokrin değerlendirmesi kollajen defekti olan çoğu olgu ile kıyaslayınca normaldir. Yapılan bir çalışmada 5 yaşından büyük Oİ hastalarında, genellikle İnsülin benzeri büyüme faktörü I (IGF-1) ve insülin benzeri büyüme faktörü bağlayıcı protein 3 (IGFBP-3) ölçümleri normal olarak saptanmasına rağmen; deneysel çalışmalar, kollajen metabolizması üzerinde büyüme hormonunun muhtemel bir pozitif etkisi olduğunu göstermektedir: IGF1 ve IGFBP-3'ün osteoblast kültürlerinde ekspresyonu uyardığı ve bunun da tip I kollajen sentezini düzenlediği gösterilmiştir (179, 182, 183).

III.B.g. Cilt Bulguları

Kollajen, vücudumuzda bol miktarda bulunan, cildimizin elastikiyetini arttıran ve yüksek gerilme özelliklerine sahip lifli proteindir (184). Cilt tutulumu hastalığın tipine göre değişkendir, ancak en sık olarak Oİ tip I ve IV bireyleri etkilenir. Oİ'li hastalarda en önemli cilt bulguları kollajen kaybına bağlı ciltte incelme, kırılabilirlik ve translusensidir (185). Oİ tanılı hastaların cildi sağlam

popülasyona göre daha az esnektir. Kollajen defekti cildin travma veya cerrahi sonrası iyileşme sürecini olumsuz yönde etkiler. Ayrıca kolay morarma, Oİ olan bireylerde sık görülen bir bulgudur (146, 185).

Histo-patolojik çalışmalar olgulardaki, yaşlanmış derideki bulgulara benzer şekilde kollajen içeriğinde ve dermal kalınlıkta incelmeye olduğunu göstermektedir. Hafif tip Oİ vakalarından elde edilen örneklerdeki kollajen liflerinin çapı daha ince iken, ağır tip Oİ vakalarından elde edilen kollajen normal bir çapa sahip olmasına rağmen mikro-iplikçikler daha yıpranmıştır (186). Optik tekniklerle (two-photon excited fluorescence; TPEF ve second-harmonic generation; SHG) cilt biyopsilerinin değerlendirilmesinde, kollajen yön dağılımı ve lif boyutu gibi özellikler incelenmiştir ve aynı zamanda Oİ alt tiplerini açısından da farklılık gösterdiği saptanmıştır (187).

III.B.h. Kardiyovasküler Bulgular

Oİ ve kardiyovasküler (KVS) hastalıklar arasındaki ilişki yıllardır görülmesine rağmen KVS hastalıklarının spektrumu ve insidansı hakkında sınırlı sayıda literatürde bilgiler mevcuttur. Tip 1 kollajen eksikliği sonucunda kalp ve kapak yetmezliği, aort anevrizması ve disseksiyonu, büyük ve orta damar rüptürü gibi potansiyel kardiyovasküler komplikasyonlar olabilir. Tip III Oİ'de tip I'e göre kardiyovasküler anormallik görülme sıklığı daha fazladır (155). Azalmış trombosit retansiyonu ve faktör VIII salınımına bağlı trombosit disfonksiyonu ve trombosit agregasyonundaki anormallikler kanama sıklığının artmasına neden olmaktadır (188).

III.B.i. Pulmoner Bulgular

Oİ hastalığında yaşam kalitesini ve süresini sınırlandıran önemli bir neden akciğer tutulumudur ve en önemli ölüm sebebi pulmoner hastalıklardır. Oİ'nin ağır tiplerinde akciğer tutulumu daha çok belirgindir. Mortaliteden göğüs duvarının az gelişmesi veya pulmoner hipoplazi oluşumu sorumludur. Akciğer fonksiyonlarında azalma, hipoventilasyon, hipoksi, artmış pulmoner

enfeksiyonlar gözlenebilir. Skolyoz, kifoskolyoz, vertebral kollaps, kosta kırıkları, pektus karinatum ve abdominal kompresyona bağlı diafragmanın hareket kısıtlılığı göğüs duvarını etkiler, akciğer fonksiyon kapasitesini azaltır. Oİ hastalarında boyun kısalığı ve skolyoza bağlı obstrüktif uyku apnesi de gelişebilir (189-191).

III.B.j. Gastrointestinal Bulgular

Tekerlekli sandalyede hareketli olan Oİ'li erişkinlerde kabızlık şikayetleri yaygın olsa da, bunun Oİ'nin kendisinin veya ulaşım tarzının bir komplikasyonu olup olmadığı net değildir. Protrüzyo asetabuli'nin bir sonucu olarak bağırsak tıkanıklığı ortaya çıkabilir ancak nadir görülmektedir. Oİ'li çocuklarda fitiklar genel popülasyona göre daha fazladır ve doğumdan itibaren oluşabilir (153, 154, 192).

III.B.k. Diğer Bulgular

Eklem hiperlaksitesi oldukça sık görülür ve bu durum skolyoz, spondilolistezis, ayak bilekleri, kalça, omuzlar, baş parmaklar ve dirseklerin sık burkulma ve çıkıklarına, radius başı dislokasyonlarına ve düz tabanlığa neden olabilir. Bu özelliklerin varlığı ve ciddiyetinde geniş bir farklılık mevcuttur ve aynı ailenin fertleri arasında bile Oİ'nin şiddeti belirgin değişiklik gösterebilir (193). Osteoartrit, Oİ'li erişkin hastaların sık problemlerinden birisidir. Alt ekstremitte eklemlerini etkileyen süreçlerin hepsi artrit nedenidir (194). Oİ tanılı hastaların %36'sında hiperkalsiüri görülür bu da böbrek taşlarına neden olabilir (195).

III.C. Tanı

III.C.a. Biyokimyasal Tanı

Bazı tiplerde kırılmanın olduğu zamanlarda D vitamini, kalsiyum, fosfor, parathormon ve ALP akut olarak yükselebilir bunun dışında serum konsantrasyonları normaldir (196). Kemik yıkım biyobelirteçlerinde (C-telopeptit vb) artış veya yapım biyobelirteçlerinde (C-terminal propeptid) düşüklük görülebilir (176). Aynı zamanda kemik rezorpsiyonunu gösteren deokspiridinolin, piridinolin ve hidroksiprolin gibi idrar belirteçlerinde artış görülmektedir (134). Tip I kollajenin yapı ve miktarının kültüre edilmiş fibroblast analizi Oİ tiplendirilmesinde ortalama tanısal bilgi verebilmektedir. Yapılan çalışmalarda osteoid yapısının anormal olduğu, hem hidroksiprolin üretiminin hem de kollajen çapraz bağlarının azaldığı, kemikteki kollajen liflerinin ince filamentler şeklinde veya gevşek biçimde sıkıştırılmış demetler halinde hücre dışında toplanmadığı görülmüştür. Elektron mikroskopik incelemelerde normal yuvarlak şeklini koruyan kollajen fibrillerinin çapları önemli derecede normalden daha küçük görülmüştür. Kollajen fibrillerinin düzenli lifler halinde toplanmasına neden olan faktörler tam olarak bugüne kadar bilinmediğinden Oİ'deki anormal kollajen morfolojisinden sorumlu bulunan biyokimyasal bozulmalar araştırılmaya devam etmektedir (10, 197). Biyokimyasal analiz, esasen moleküler teşhis alanındaki gelişmelerle artık klinik olarak kullanılmamaktadır (10).

III.C.b. Prenatal Tanı

Ciddi Oİ vakalarında farklı gebelik haftalarında Fetal Ultrasonografi (F-USG) ile prenatal olarak tanı konulabilir. Fetal USG ile Oİ ön tanısı konulmuşsa, öncelikle mevcut durumun letalite olasılığı daha sonra sınıflandırılması yapılmalıdır. Letal tip Oİ, tipik olarak letal olmayan tipe göre daha şiddetli fenotipik özelliklere ve daha erken başlangıca sahiptir (198). Antenatal 14-18. haftalarda uzun kemiklerde belirgin kısalık, femur boyu-karın

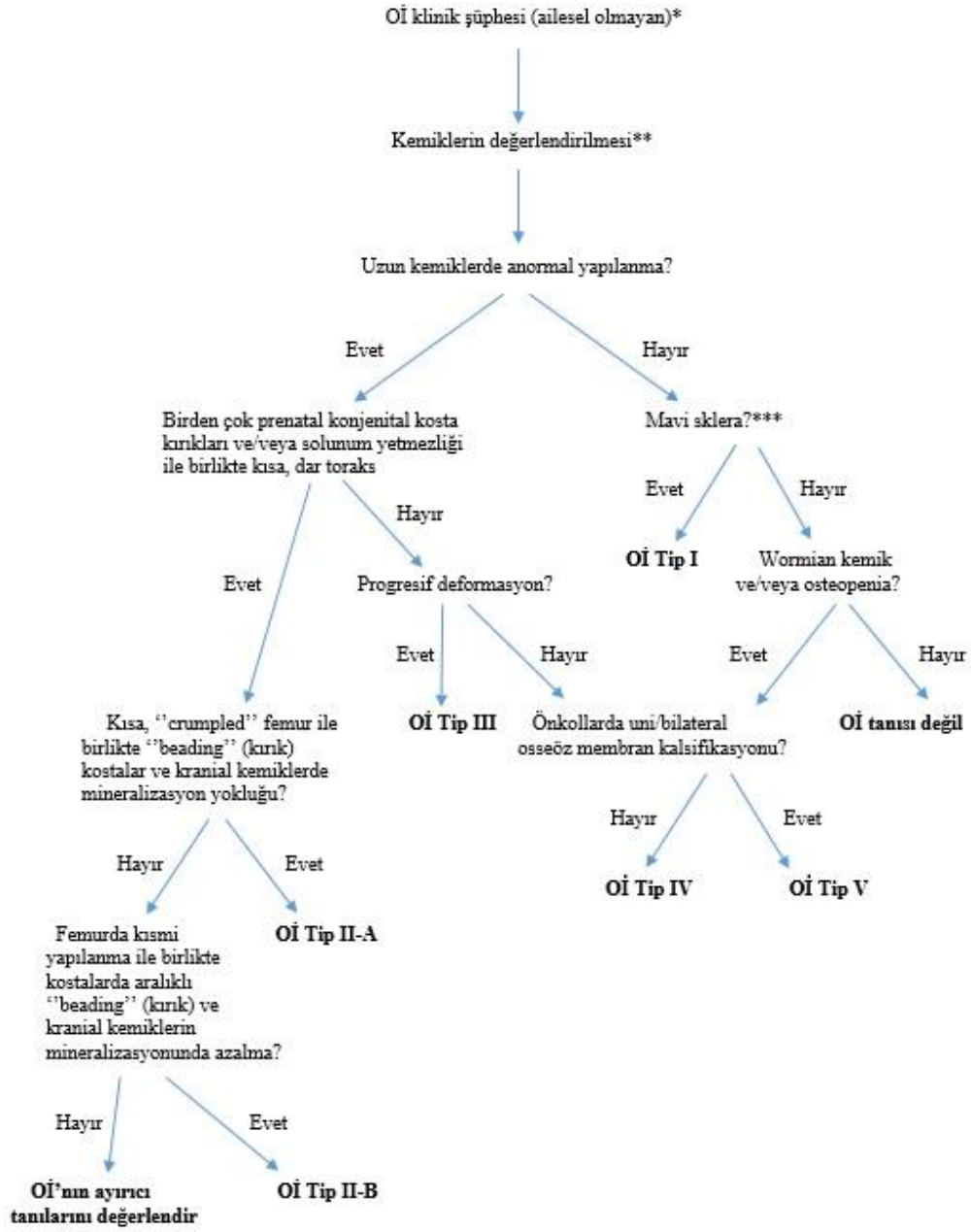
çevresi oranı düşük, hipoplastik toraks ve bariz bir eğrilik veya kırıklar ile letalite tahmin edilebilir. Bu haftalarda iskelet mineralizasyonu azalmış ve mikromeli saptanırsa, ön tanı olarak Oİ tip II düşünülebilir (143, 199). Fetal USG'de Oİ alt tiplendirmesini yapabilmek ailelere verilecek genetik danışma ve prenatal tanı için test seçimini belirleyecektir.

Oİ tanılı aile öyküsü, etkilenmiş kardeş varlığı ve gonadal mozaizm olasılığı nedeniyle hastalığın tekrarlama riski %1-50 arasında değişmektedir. Ailede bilinen mutasyon varsa gebelik haftasına göre, koryonik villus biyopsi (CVS) hücreleri, amniyositler ya da kordon kanından alınan örneklerden fetal DNA izole edilerek, moleküler analiz yapılabilir.

Prenatal tanı ile hastalığa neden olan bilinen varyantların tanımlanması hamileliğin konsey kararı aile isteği doğrultusunda sonlandırılma olasılığı veya preimplantasyon genetik tanı ile hastalığa neden olan varyantı taşıyan embriyoların değil sağlıklı embriyoların seçilmesi mümkündür (147).

III.C.c. Postnatal Tanı

Aile öyküsü olmayan, postnatal dönemde başvuran olgularda kırık,kısalık, mineralizasyon, skolyoz, ekstremitte eğrilikleri gibi genel iskelet değerlendirmesi klinik ve radyolojik olarak yapılmalı, diş, skleralar, KVS, işitme ve dental anomaliler birlikte değerlendirilmelidir (Şekil-23).

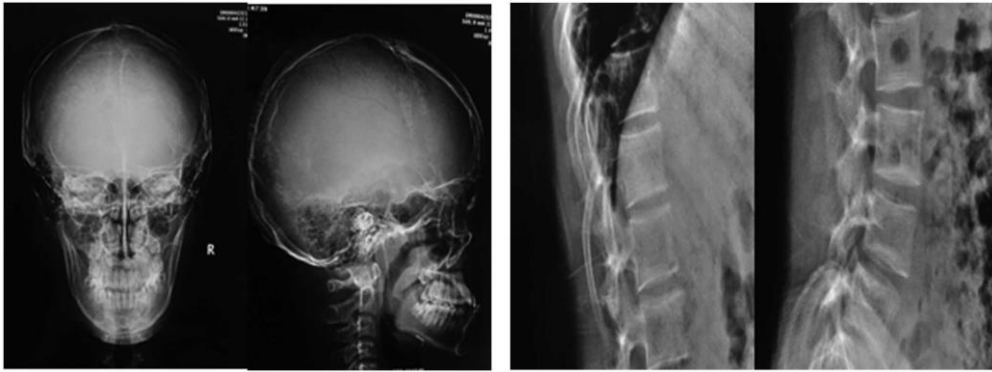


Şekil-23: Oİ'de postnatal tanı için algoritma (Ref) (*Osteogenesis Imperfecta: A Review with Clinical Examples Molecular syndromology 2(1):1-20 · December 2011*).

III.C.d. Radyolojik Tanı

III.C.d.a. Tip I

Oİ tip I'de, ekstremite uzunluğu doğumda normaldir, osteopeni, ince korteks, azalmış mineralizasyon, *wormian* kemikler, "codfish" vertebra görünümü mevcuttur. Femoral bowing ve kemik deformiteleri nadir görülür (10, 200) (Şekil-24).



Şekil-24: Oİ tip I'de radyolojik görüntü (Ref) (*Jianmin R, Xiaojie X, Xiangdong J, Jieru W. Osteogenesis imperfecta type I: A case report March 31, 2014.*)

III.C.d.b. Tip II

Oİ tip II radyolojik özelliklerine göre Tip IIA, Tip IIB ve Tip IIC olarak 3 kategoriye ayrılır. Tip IIA ve IIB arasındaki ortak bulgular, kısa, geniş ve "crumpled" uzun kemikler, tibial açılanma, azalmış mineralizasyon, mikromeli ve kırıklardır. Oİ tip IIC çok nadirdir, uzun, ince, yetersiz modellenmiş uzun kemikler, çoklu kırıklar ve "beading" görünümlü kostalar mevcuttur. Aynı zamanda kırık yüzeyleri yassı kemiklerin dış marjinleri ve metafizlerde osteoskleroz izlenir (201).

III.C.d.b.a. Tip IIA

Oİ tip IIA'da kranial kemiklerde mineralizasyon azalması, dar toraks, ince kalvarial kalsifikasyon, kısa, geniş ve "crumpled" uzun kemikler, tibial

açılanma, femurda akerdeon görünümü, ciddi platispondili, vertebra ve kostalarda "beading" izlenir (202) (Şekil-25).



Şekil-25: Oİ tip IIA kaburgalarda boncuk görüntüsü (https://www.researchgate.net/figure/OI-type-II-in-a-fetus-There-are-fractures-in-all-the-long-bones-Multiple-fractures-are_fig1_259336349).

III.C.d.b.b. Tip IIB

Oİ tip IIB ile tip IIA'da uzun kemikler ve kafatasındaki bulgular benzerdir fakat uzun kemiklerde daha az deformasyon derecesi mevcuttur. Farklı bulgu olarak ince kaburgalar görülür ve kostalarda "beading" izlenmez (202) (Şekil-26).

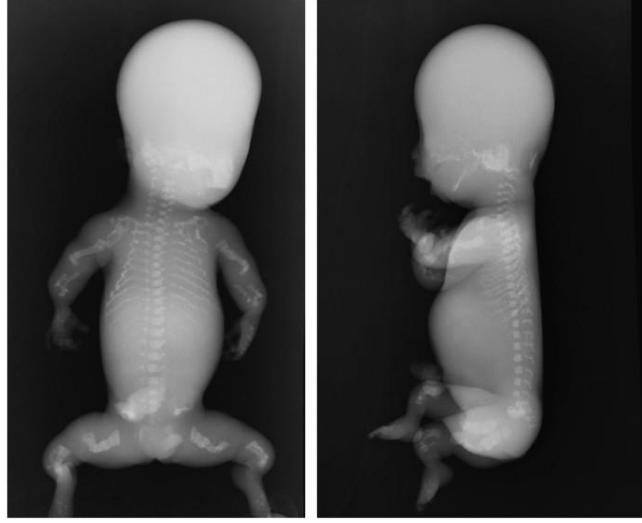


Şekil-26: Oİ tip IIB radyoloji görüntüsü (https://www.researchgate.net/figure/0-1-type-IIB-case-4-23-wk-Radiograph-showing-the-wavy-ribs-without-beading-and-the_fig2_20105196).

III.C.d.b.c. Tip IIC

Oİ Tip II C'de uzun, ince, yetersiz modellenmiş kemikler, çoklu kırıklar, ince ve boncuk kostalar görülür (202) (Şekil-27).

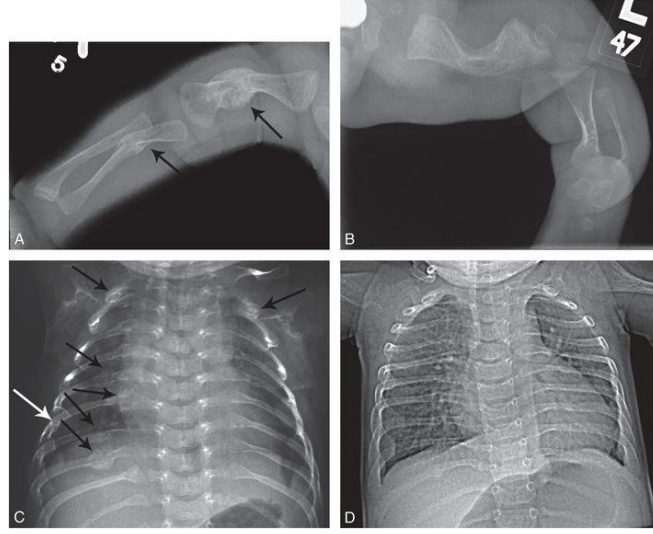
Ayrıca ince ve bükülmüş uzun kemikler, yassı kemiklerin düzensiz kemikleşmeleri, kırık yüzeyleri ve metafizyel uçlarda osteoskleroz izlenmesi, normal vertebra yüksekliği bulguları nedeniyle fenotipik olarak Oİ tip II C diğer iki alttipden ayrılır (203).



Şekil-27: Oİ tip IIC radyoloji görüntüsü
(<https://www.nature.com/articles/hgv201425>).

III.C.d.c. TİP III

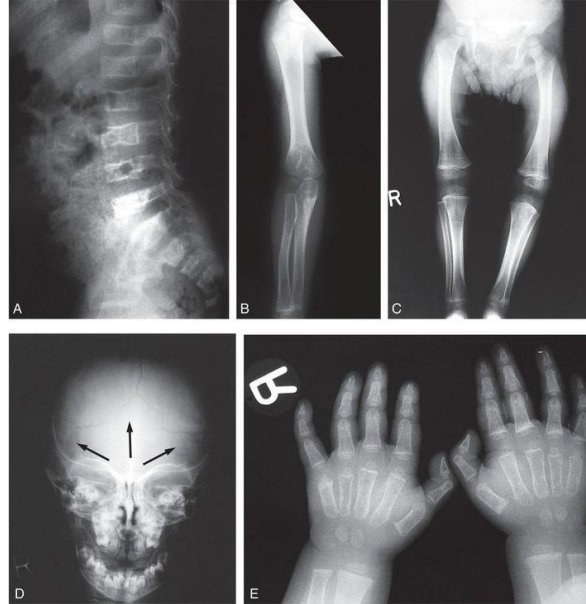
Antenatal USG ile hamileliğin 14-18. haftaların da Oİ tip III ön tanısı konulabilir. Kısa boy, üçgen yüz, geniş alın, düz oksiput, *wormian* kemikler, belirgin kifoskolyoz, "codfish" vertebra, ince kostalar, osteoporoz, metafizlerde "popcorn" görünüm, pektus karinatum ve asetabular deformiteler ile karakterize tiptir. Fetal ve perinatal dönemde çok sayıda kırıklar olur. Buna bağlı ekstremiteler ve vertebralarda progresif deformasyonlar izlenir (204) (Şekil-28).



Şekil-28: Oİ tip III radyoloji görüntüsü (<https://radiologykey.com/differential-diagnosis-iii-osteogenesis-imperfecta/>).

III.C.d.d. Tip IV

Oİ tip IV'de osteopeni, minimal travma ile kırılan kemikler, ince korteks, hafif boy kısalığı ve ekstremitelerde eğrilik eşlik etmektedir (205) (Şekil-29).



Şekil-29: Oİ tip IV radyoloji görüntüsü (<https://radiologykey.com/differential-diagnosis-iii-osteogenesis-imperfecta/>).

III.C.d.e. Tip V

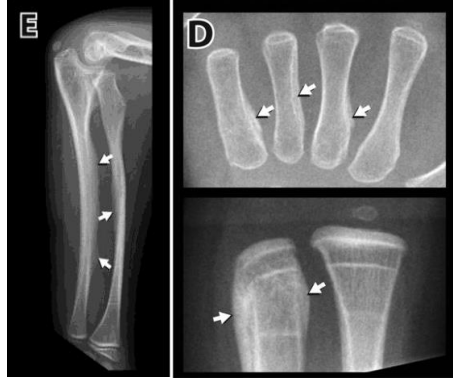
Oİ Tip V'e özgün kırıklardan sonra hiperplastik kallus, metafizyel radyodens bant, radius ve ulna arasında interosseöz membranda kalsifikasyon bulguları mevcuttur (107) (Şekil-30, b, c).

Hiperplastik kallus, osteotomi veya kırık sonrası gelişen kemik yüzeyinden kaynaklanan radyopak lezyondur (107). Hiperplastik kallus en sık uzun kemikleri etkiler, daha sık femur sonra sırasıyla tibia ve humerusta görülebilir (Şekil-30, a).



Şekil-30: Oİ tip V. (a) Hiperplastik kallus. (b, c) İnterosseöz membranda kalsifikasyon (107).

Metafizyel radyodens bant, metafizde, metafizin bitişiğinde beyaz bir çizgi olarak görülür ve Oİ tip V'li çocuklarda radyografide dikkat çekici bulgulardan biridir (Şekil-31). Yaşla azalma eğilimindedir (206).



Şekil-31: Oİ tip V, metafizyel radyodens bant (206).

Radioulnar interosseöz membran ossifikasyonu tip V hastalarının neredeyse hepsinde görülür ve patognomonik bulgusudur (Şekil-32). Ulnada her zaman görülür, sıklıkla radius da eşlik eder. Yaşla artma eğilimindedir. Önkolun supinasyon ve pronasyon hareketleri çok ciddi kısıtlanır (207).



Şekil-32: Oİ tip V. Radioulnar interosseöz membran ossifikasyonu (207).

III.C.d.f. Tip VII ve Tip VIII

Oİ tip VII ve VIII, *CRTAP* ve *LEPRE1* genlerindeki mutasyonlar Oİ tip II/III'teki gibi ağır fenotipte değil daha hafif fenotipik bulgulara sahip olabilir (Şekil-33). Bazı mutasyonlarda prenatal dönemde *COL1A1/COL1A2* genlerinden kaynaklanan ağır olgulara benzer şekilde doğumda uzun kemikler ve kostaların çoklu kırıkları, kemik deformasyonları ve azalmış kalvaryal mineralizasyon görülebilir. Radyolojik olarak bu tipleri ayırmak zordur (203).



Şekil-33: Oİ tip VII radyoloji görüntüsü (L.M. WARD ve ark. 2002. *Osteogenesis imperfecta type VII: an autosomal recessive form of brittle bone disease*).

III.C.d.g. TİP IX

PPIB genindeki homozigot mutasyonlara bağlı oluşan ağır Oİ tipidir (Şekil-34). Alt ekstremitelerde *bowing*, ince kostalar, femur metafizlerinde düzensizlik izlenmektedir (147).



Şekil-34: Oİ tip IX, *PPIB* gen mutasyonu olan hastanın radyoloji görüntüsü (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7277976/#!po=25.0000>).

III.C.e. Sınıflandırma

Oİ klinik olarak çok heterojen bir hastalık olduğu için sınıflandırılması ilk tanımlandığı yıllarda Looser tarafından perinatal başlangıçlı (konjenita) ve geç başlangıçlı (tarda) olarak ikiye ayrılmıştır (2). İlk profesyonel sınıflamayı 1979 yılında Sillence ve arkadaşları klinik, genetik ve radyolojik özellikler dikkate alarak 4 alt grupta sınıflandırmıştır (9) (Tablo-4).

Tablo-4: Osteogenezis imperfektaya neden olan genler, kalıtım şekli ve kliniği (<https://www.le.ac.uk/genetics/collagen/>-den adabte edilmiştir).

Oİ Tipi	Gen(Protein)	Kalıtım	Klinik
KOLLAJENİN SENTEZİ VE YAPISI BOZUKLUĞU			
I	COL1A1(Kollajen Tip 1)	OD	Hafif
II	COL1A1/COL1A2(Kollajen Tip 1)	OD	Letal
III	COL1A1/COL1A2(Kollajen Tip 1)	OD	Ağır
IV	COL1A1/COL1A2(Kollajen Tip 1)	OD	Orta
KEMİK MİNERALİZASYON BOZUKLUĞU			
V	IFITM5 (Interferon induced transmembrane protein 5)	OD	Orta/Ağır
VI	SERPINF1 (PEDF- pigment epithelium derived factor)	OR	Ağır
KOLLAJENİN MODİFİKASYON BOZUKLUĞU			
VII	CRTAP (cartilage associated protein)	OR	Ağır/Letal
VIII	LEPRE1 (P3H1- prolyl 3-hydroxylase 1)	OR	Ağır/Letal
IX	PPIB (CyPB- prolyl 3-hydroxylase 1)	OR	Orta/Letal
KOLLAJENİN İŞLENME VE ÇAPRAZ BAĞLANMA BOZUKLUĞU			
X	SERPINH1 (HSP47- serpin peptidase inhibitor, clade H)	OR	Ağır/Letal
XI	FKBP10 (FKBP65- FK506 binding protein 10)	OR	İlerleyici
XII	SP7 (Sp7 transcription factor, OSX)	OR	Ağır
OSTEOBLAST FARKLILAŞMASI VE İŞLEVİ BOZUKLUĞU			
XIII	BMP1 (bone morphogenetic protein 1)	OR	Ağır
XIV	TMEM38B (TRIC-B- transmembrane protein 38B)	OR	Orta/Letal
XV	WNT1 (wingless-type)	OR	Orta/Ağır

XVI	<i>CREB3L1 (OASIS, cAMP responsive element binding protein 3-like 1)</i>	OR	Ağır
XVII	<i>SPARC (osteonectin)</i>	OR	Orta/Ağır
XVIII	<i>FAM46A (TENT5A)</i>	OR	Orta/Letal
XIX	<i>MBTPS2 (membrane-bound transcription factor peptidase, site 2)</i>	XR	Orta/Ağır

KOLLAJENİN SENTEZİ VE YAPI BOZUKLUKLARI

Oİ hastalarının %85-90'ında tip-1 kollajenin alfa 1 ve alfa 2 zincirini kodlayan *COL1A1* ve *COL1A2* genlerinde mutasyon saptanır (11). Sırasıyla 17. ve 7. kromozom üzerinde lokalize olan *COL1A1* ve *COL1A2* genlerindeki dominant mutasyonlar sonucu kollajenin alfa zincirinde hatalı üretim gerçekleşir ve doku bütünlüğü bozulur (12). Oİ tip I, II, III ve IV'ün patofizyolojisinden sorumlu genlerdir.

Oİ tip I

Mavi sklera, presenil iletim tipi işitme kaybı, normal boy veya hafif boy kısalığı, yaygın osteopeni ile ortaya çıkan hafif-orta şiddette tekrarlayan kemik kırıkları ile karakterizedir. Oİ'nin en sık görülen, hafif kırık, kemik deformiteleri açısından en az etkilenen tipidir (155). Mavi sklera genellikle çoğu tip I hastalarında görülür ve en belirgin bulgusudur (193). Yaşamın ilk yıllarında kemik dansitesi genellikle normaldir fakat yaş ilerledikçe dansite azalmakta, bu yüzden kırıklar genellikle çocuğun gelişimi esnasında meydana gelmektedir. Ama puberte sonrası kırıkların sıklığı azalmaktadır. İlk dekatta skolyoz çoğunlukla görülmez fakat yaşamları boyunca vertebra kırıkları mevcut olabilir ve hafif skolyoza yol açabilir. Hareket kısıtlamaları genellikle olmaz. Dİ görülmeyen hastalar tip IA, eğer Dİ mevcutsa tip IB alt tiplerine dahildir. Etkilenen Tip I olgularının bazılarında makrosefali, işitme kaybı ve boy kısalığı görülebilir. Boy kısalığının nedeninin ilerleyici platisspondili, spinal osteoporoz ve deformasyonlara sekonder olduğu düşünölmüştür. OD kalıtım gösterir, çoğunlukla yeni varyant mutasyonlara bağlı gelişir (2, 155).

Oİ tip II

Perinatal letal veya hayatlarının ilk aylarında ölüme yol açan aşırı kemik kırıklarıyla karakterizedir. Mavi sklera, sivri burun, üçgen yüz, ince cilt, yumuşak kafatası, uzun kemiklerde şiddetli çoklu intrauterin kırıklar sonucu üst ve alt ekstremitelerde ciddi kısalık ve deformiteler mevcuttur. Radyografide ciddi osteopeni, buruşma (akordiyon benzeri femur), bilateral ekstremitte kemiklerinde ve kostalarda kırıklar, çok geniş fontanel, mineralizasyonu azalmış kısa tübüler kemikler, deformasyon, platisspondili, kaburgalarda "beading" ve azalmış kraniyal ossifikasyon bildirilmiştir (155).

Oİ tip III

İntrauterin dönemde veya doğumda ciddi çoklu kemik kırıkları olan bu grupta, gelişme geriliği, ekstremitte ve omurgada ilerleyici deformasyonlar mevcuttur. Ciddi boy kısalığı, makrosefali, frontal bossing, geniş fontanel ve yüz kemiklerinde gelişme geriliği nedeniyle mikrognati ve üçgen yüz, mavi ve gri sklera, ciddi osteoporozis, baziler invajinasyon, kifoskolyoz, Dİ, grafide "codfish" vertebra, protrüzyo asetabuli, metafizlerde "popcorn" görünüm, ince uzun kemikler, mineralize olmamış kalvaryum ve wormian kemik görülür (155, 208).

Oİ tip IV

Gri veya beyaz skleranın eşlik ettiği OD kalıtılan tipdir. Bu vakalarda hafif-orta derecede boy kısalığı, osteoporoz, uzun kemiklerde eğrilik, kifoskolyoz, bikonkav vertebra, bazı olgularda işitme kaybı bulunur. Eklem laksitesi ve kas güçsüzlüğü görülebilir. İntrauterin dönemde kırıklar, yürümeye başladıktan sonra tekrarlayan kırıklar görülebilir, puberte ile azalır. Dİ, bazı hastalarda görülebilir. Dİ mevcut olmayanlar tip IVA, Dİ mevcut olanlar tip IVB olarak olarak sınıflandırılır (155, 159, 161, 186).

Genişletilmiş Sillence sınıflandırılması

1981'de Sillence, hastalığa dair yaptığı genişletilmiş moleküler çalışmalarda, kollajen proteini sentezinin düzensizliği olan gruplar dışında bazı gruplarda primer bozukluğun iskelet-hücre metabolizmasında olabileceğini, OD ve OR kalıtıma ek olarak X'e bağlı kalıtılan Oİ tiplerinden bahsetmiştir (209).

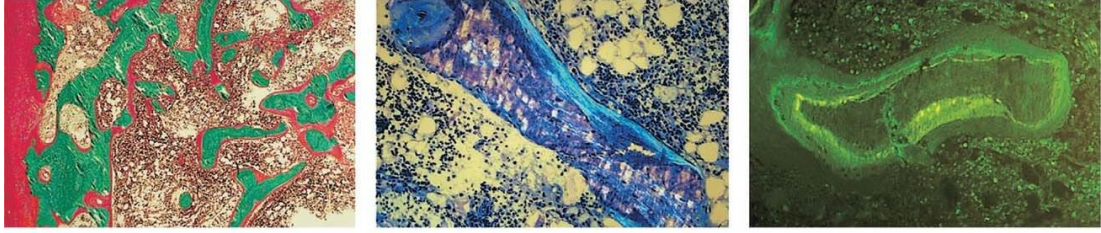
KEMİK MİNERALİZASYON BOZUKLUğU

Oİ tip V

OD kalıtım gösteren, *IFITM5* geninde bulunan mutasyonlar nedeniyle olduğu gösterilmiştir (107). Oİ tip V olgularda doğum sonrası başlayan kırıklar, üçgen yüz, beyaz sklera, sivri burun, dolgun yanaklar, hafif-orta kısıalık, dirsekte sınırlı supinasyon, pronasyon, grafide radius başı çıkığı, radius ve ulna arasında interosseoz membranda kalsifikasyon, metafizyel radyodens bant ve hiperplastik kallus görülebilir. Radius başı çıkığı en sık bu tipte gözükür, neredeyse tüm hastalarda mevcut olsa da bu tipe özgü bir bulgu değildir. Kemik biyopsisinde nadiren, bozulmuş lameller yapı ve balık pulu görünümü mevcuttur. Klinik şiddeti olgular arasında çok değişken olup, prognoz orta derecededir (210).

Oİ tip VI

OR kalıtım gösteren, PEDF fonksiyonunun kaybına yol açan *SERPINF1* genindeki mutasyonlar nedeni ile oluşur. Oİ tip VI'da da tanısal testlerden olan kemik biyopsisi polarize işık mikroskobu altında incelendiğinde bozulmuş lameller yapı ve balık pulu görünümü vardır (şekil-35). Hastalarda mavi sklera, postnatal boy kısıalığı, osteopeni, 4-18 ay civarında başlayan uzun kemiklerde kırıklar, kifoskolyoz, *wormian* kemikler, st ve alt ekstremitelerde "bowing" görülmektedir (211).



Şekil-35: Oİ tip VI, balık pulu görünümü
(<https://asbmr.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1359/jbmr.2002.17.1.30>).

KOLLAJENİN MODİFİKASYON BOZUKLUĞU

Oİ tip VII

OR kalıtım gösterir, *CRTAP* geni sorumludur. Oİ tip VII'de ciddi boy kısalığı, çok geniş fontanel, yuvarlak yüz, mavimsi sklera, proptotik gözler, dar toraks, rizomeli, mikromeli, yaygın osteopeni, *wormian* kemik, prenatal başlangıçlı çok sayıda kırık, pektus ekskavatum, çoklu kosta kırıkları, büzüşmüş ve eğri uzun kemikler karakteristik bulgulardır. Prognoz kötüdür, olgular yenidoğan döneminde solunum yetmezliğine bağlı kaybedilir. Protrüzyo asetabuli, koksa vara deformiteleri de gelişebilir. Dİ görülmez (10, 212).

Oİ tip VIII

OR kalıtım gösterir, *LEPRE1/P3H1* gen mutasyonu nedeni ile oluşur. Dİ görülmemektedir. Doğumdan başlayan çoklu kırıkları olan bu tipte cücelik, orantısız boy kısalığı, çok geniş ön fontanel, yuvarlak yüz, beyaz sklera, proptotik göz, ciddi osteopeni, *wormian* kemik, kemik frajilitesi, platispondili, kifoskolyoz, ince uzun kemikler, ekstremitelerde "*bowing*", bulböz metafiz, uzun falanks ve kısa metakarpallar ve gelişim geriliği görülmektedir (213).

Oİ tip IX

PPIB geni sorumlu olup OR geçiş gösteren tiptir. Doğumda çoklu kırıklar, kısalık, beyaz veya gri sklera, kifoskolyoz ve uzun kemiklerde "bowing" görülür. Klinik şiddeti orta derecededir (214).

KOLLAJENİN İŞLENME VE ÇAPRAZ BAĞLANMA BOZUKLUĞU

Oİ tip X

SERPINH1 gen mutasyonuna bağlı gelişen, OR kalıtım gösteren tiptir. Tip X olgularda kısa boy, makrosefali, bitemporal darlık, geniş alın, üçgen yüz, mavi sklera, dentinogenezis imperfekta, dar toraks, kronik akciğer hastalığı, inguinal herni, pilor stenozu, böbrek taşı ve tiz ses gibi anomaliler görülebilir. Hastalarda aynı zamanda ince ve geniş kostalar, yaygın osteopeni, çoklu kırıklar ve kemik deformiteleri, kısa ekstremiteler, eklem laksitesi, genu valgum, skolyoz, platispondili, vertebralarda kompresyon kırıkları mevcuttur (215).

Oİ tip XI

OR geçiş gösterir, *FKBP10* gen mutasyonuna bağlı oluşur. Türkiye'de 5 akraba ailede Oİ ile epidermolizis büllozanın birlikte olduğu tip rapor edilmiştir. Yaşamın 4-18 aylarında kırıklar oluşur. Olgularda, brakisefali, üçgen yüz, hafif mavi sklera, ciddi kemik frajilitesi, eklem laksitesi, kemik mineral yoğunluğu Z skorunda azalma, osteopeni, *wormian* kemikler, kifoskolyoz, bikonkav vertebra, koksava, bozulmuş lameller yapı ve balık pulu paterni, protüzyo asetabuli, "bowing" ekstremiteler, bülboz metafiz mevcuttur. Aynı zamanda ALP artışı görülür (216).

Oİ tip XII

OR kalıtım gösteren *SP7/OSX* gen mutasyonları sorumludur. Tip XII olgularında asimetrik yüz, küçük ağız, normal sklera, ciddi işitme kaybı, generalize osteoporozis, tekrarlayan kırıklar, *wormian* kemikler, üst ve alt ekstremitelerde "bowing", interfalangeal eklemlerde hiperekstansibilite ve motor gelişim geriliği mevcuttur. Genelde yaşamın ilk veya ikinci on yılında kırıklar oluşur, yaşamın ikinci on yılında işitme kaybı başlar (50).

OSTEOBLAST FARKLILAŞMASI VE İŞLEVİ BOZUKLUĞU

Oİ tip XIII

BMP1 gen mutasyonu sonucu oluşan, OR kalıtım gösteren tiptir. Olgularda üçgen yüz, hafif mavi sklera, eklem hiper mobilitesi, artmış veya azalmış kemik yoğunluğu, osteoporoz, prenatal kırıklar, *wormian* kemikler, vertebra kırıkları, kifoskolyoz, platispondili, üst ve alt uzun ekstremitelerde "bowing", kas kaybı, bazı hastalarda laboratuvar testinde düşük prokollajen 1 C-peptid ve yüksek deoksipiridinolin/kreatinin mevcuttur. Bu tipte işitme kaybı ve Dİ görülmemektedir. Tip XIII'ün kliniği değişkendir, bazı hastalarda daha ağır bulgular görülür (217).

Oİ tip XIV

Oİ tip XIV Transmembran protein 38b (*TMEM38B*) genindeki homozigot mutasyonlardan kaynaklanmaktadır. Kırık oluşumu başlangıcı prenatal dönemden 6 yaşına kadar değişir. Klinik olarak çoklu kırıklar ve osteopeni vardır. Mavi sklera, anormal diş, işitme kaybı ve diğer organ tutulumu yoktur (218).

Oİ tip XV

WNT1 gen mutasyonu ile ortaya çıkan tip XV OR geçiş gösterir. Bu hastalarda çoklu kırıklar, kısa boy, mavi sklera, ince kostalar, düşük kemik yoğunluğu, azalmış kalvariya mineralizasyon, vertebral kırıklar, skolyoz, platispondili, üst ve alt ekstremitelerde "*bowing*", üst ve alt ekstremitelerin kısalması, eklemlerin hiper mobilitesi ve bilateral proksimal femur açılanması mevcuttur. Hastalarda aynı zamanda gelişim geriliği, beyin malformasyonu, tek taraflı serebellar hipoplazi, konjenital vermis yokluğu, pontin hipoplazisi, mezensefalik tektum hipoplazisi, hipotalamus hipoplazisi, şizensefali, Tip 1 Chiari malformasyonu görülür (219).

Oİ tip XVI

CREB3L1 gen mutasyonu sonucu oluşan, OR kalıtım gösteren tiptir. Tip XVI olgularda mavi sklera, gebelik haftasına göre küçük, diş agenezi, "beaded" kostalar, kallus oluşumu, vertebral kompresyon kırıklar, yumuşak kalvarial kemikler, intrauterin başlangıçlı kosta ve uzun kemiklerde çoklu, minimal travma ile kırıklar, uzun kemiklerde akordeon benzeri genişlemiş görünüm, mikromelik, rizomelik, mezomelik uzuv kısalması, üst ve alt ekstremitelerde "*bowing*" ve küçük eklem hiper mobilitesi mevcuttur (220).

Oİ tip XVII

Akrabalığı olmayan iki kız çocuğu vakasında *SPARC* geninde homozigot mutasyon gösterilmiştir. Erken yaşda kırıklar, osteoporoz, kısa boy, hafif gri sklera, skolyoz, vertebralarda kompresyon kırığı, platispondili, eklem hiperlaksitesi, uzun kemik deformiteleri, ince metakarpal korteksler, kas kaybı, hipotoni, konuşma ve motor gerilik, intraventriküler kanama (bir hastada bildirilmiştir) bulguları ve tekerlekli sandalyeye bağımlılık öyküleri mevcuttur (221).

Oİ tip XVIII

TENT5A/FAM46A geninde homozigot mutasyonlarından kaynaklanır. Bu hastalarda dismorfik yüz (yüksek geniş alın, yivli filtrum, mikrognati), mavi sklera, uzun kirpikler, ince kostalar, klaviküler kırıklar, zayıf mineralizasyon, çoklu spontan kırıklar, ince kemik korteksi, *wormian* kemikler, "codfish" vertebra, vertebraların çökmesi, eklem laksitesi, uzun kemiklerde "bowing", motor gelişim geriliği ve konuşma bozukluğu mevcuttur (222).

Oİ tip XIX

MBTPS2 gen mutasyonu sonucu oluşan, X'e bağlı resesif kalıtım gösteren tiptir. Hastalarda belirgin kısa boy, mavi sklera, prenatal kosta ve klaviküler kırıklar, "beaded" kosta görünümü, pektus karinatum, osteopeni, prenatal çoklu kırıklar, düz bikonkav vertebra, skolyoz, üst ve alt uzun ekstremitelerde "bowing", üst ve alt ekstremitelerde rizomeli ve epifizde "popcorn" kalsifikasyonu görülebilir. İdrarda piridinolin artımı görülür. Genellikle puberta sonrası kırıklar azalabilir (223).

III.C.f. Tedavi

Oİ'nin tedavisi, medikal tedavi, ortopedik cerrahi, Fizik Tedavi ve Rehabilitasyon (FTR), ergoterapi, diyet, psikolojik destek, sosyal hizmetler ve diş hekimi eşliğinde multidisipliner bir yaklaşım gerektirir. Bazı vakalarda KBB uzmanı, kardiyolog, gastroenterolog, nörolog ve göğüs hastalıkları uzmanı da ekibe dahil olabilir. Ortopedi uzmanı tarafından tekrarlayan kırıkların onarımı, uzun kemik ve omurga eğriliklerinin tedavi ve kontrolü yapılmaktadır. Kemik kütlesi kalitesi açısından cerrahi tedavi kadar medikal tedavi de önemlidir ve endokrinolog tarafından kontrolü sağlanmaktadır. Cerrahi sonrası rehabilitasyon için fizyoterapi, dentinogenezis imperfekta, kapatma, ortodonti için diş hekimi, işitme kaybı açısından KBB uzmanı, kalp bulguları açısından kardiyolog tarafından tedavi ve takibi yapılmaktadır (160, 161, 186).

MATERYAL ve METOD

IV. Olgu Grubu ve Klinik Değerlendirmeler

Bu alışma Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi klinik araştırmalar etik kurulundan (18 Mart 2020 tarih, 2020-5/15 nolu karar) onaylanmıştır.

Bu alışmada, Temmuz 2016 – Nisan 2020 yıllar arasında, Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakóltesi, Tıbbi Genetik Anabilim Dalı ile Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı, Perinatoloji Bilim Dalı, ocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, ocuk Endokrinoloji Bilim Dalı, Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Endokrinoloji Bilim Dalı polikliniğinde değerlendirilen Oİ ön tanılı 60 olgunun Tıbbi Genetik Anabilim Dalı polikliniğinde hazırlanan demografik, klinik ve genetik verileri retrospektif olarak değerlendirildi.

Olgu dahil edilme kriterleri hastaya klinik olarak Oİ tanısı konulması, hastanın herhangi bir başka genetik sendromu ve bulgusunun olmaması olarak belirlendi. Olgu dışlanma kriterleri ise hastaya Oİ dışında başka bir nedenle klinik veya genetik kesin tanısı konmuş kırılğan kemik sendromu, başka kronik hastalık öyküsü olanlar veya ilaç (steroid, kemoterapi v.b) kullanımına bağlı kırılğan kemik sendromu olduğu düşünölen hastalar idi. Dahil edilme kriterlerini karşılayan olgulara ait demografik veriler, hasta hikayeleri, üç kuşak aile ağacı, öncöl laboratuvar test sonuçları, grafi ve fizik muayene bulguları, fotoğrafları, ek tetkikleri ve genetik analiz sonuçları ile klinik bulguları ayrıntılı şekilde retrospektif olarak değerlendirildi. Dahil edilme kriterlerini sağlayan toplam 60 hastanın 6'sı kan örneği vermediği ve genetik test yapılamadığı için 54 olgu çalışmaya dahil edilmiştir. Etkilenmis bireyde hastalığa sebep olacak bir mutasyon tesbit edildiğinde bu varyant hastanın öncelikle kendisinde Sanger dizileme tekniği ile doğrulanmıştır. Ayrıca aile içi segregasyon analizi için anne, baba ve kardeşlerinden alınan periferik kan örneğinden elde edilen DNA'lardan ilgili bölge çoğaltılıp Sanger dizi analizi ile

dizilendi, saptanan mutasyonların varlığı belirlenmiştir, sonuçları raporlanmıştır.

IV.A. Moleküler Yöntemler

IV.A.a. DNA Kalitesinin Değerlendirilmesi ve Yoğunluğunun Ölçümü

Bursa Uludağ Üniversitesi S.U.A.M Hastanesi Genetik Hastalıklar Değerlendirme Merkezi' ne yönlendirilmiş Osteogenezis İmperfekta tanılı hastalardan rutin tetkik olarak alınan periferik kan (EDTA'lı tüp) veya diğer invaziv yöntemler (CVS, amniyosentez (AS), kordosentez (KS), kardiyosentez) ile elde edilen örnekler için DNA laboratuvarımızda rutin olarak otomatik DNA izolasyon yöntemi (Qiagen-Qiacube, Qiagen-QIAamp DNA Mini Qiacube Kit) ile kit protokollerine uygun şekilde izole edilir. DNA örneği 1,5ml'lik tüplerde -20°C'de saklanır. Kalan kan numunesi +4°C'de muhafaza edilir. İzole DNA örneğinin miktar tayini Fluorometrik olarak (Invitrogen- Qubit 3.0) ölçülerek, spektrofotometre (Qiagen-Qiaexpert) ile kalite kontrolü yapılır. Kalite skorları (20ng/µl: OD260/280≥1.8, OD260/230≥1.8) olarak değerlendirilir.

IV.A.b. Hedef Genlerin Belirlenmesi ve Genetik Analizler

Temmuz 2016- Eylül 2018 yıllarında Oİ paneli çalışılmadığı için 14 hastaya öncelikle Oİ'den sorumlu olan *COL1A1* ve *COL1A2* genlerine ait dizi analizi yapılmıştır. Eylül 2018- Nisan 2020 yıllarında bu genlerde mutasyon saptanmayan 38 hastada 14 genin (*IFITM5*, *P3H1*/ *LEPRE1*, *SERPINF1*, *CRTAP*, *TMEM38B*, *PPIB*, *PLOD2*, *PLS3*, *SERPINH1*, *FKBP10*, *BMP1*, *SP7*) yeni nesil dizi analizi için Miseq platformu kullanılarak genlerinin tüm ekzonları hedef zenginleştirme ve örnek hazırlama kiti ile hazırlanmış ve örnekler indekslenmiştir. 14 geni kapsayan test analizi sonucu mutasyon saptanmayan beş (5) hastadan üç (3) hastaya Klinik ekzom dizileme (Clinical Exome Sequencing/CES) ve diğer 2 (iki) hastaya WES yapılmıştır. OMIM ve HGMD

profesyonel veritabanları kullanılarak, Oİ kliniği ile ilişkili genler belirlenmiş ve analizi yapılmıştır.

Örnekler MiSeq cihazına yüklenerek (Illumina MiSeq- Berlin) okuma yapılmıştır. Sonuçlar Sophia Genetics ve IGV programı ile analiz edilmiştir. Bu genlerin referans transkriptlerini kodlayan tüm ekzonik, 10 bazlık intronik (ekzon-intron sınırları) ve varsa mutasyon tanımlanmış diğer kodlamayan (5'UTR ve 3'UTR, regülatör, derin intronik) bölgeleri belirlenir. Bu aşamalarda gerçekleşen işlemler aşağıda belirtilmiştir.

IV.A.c. Yeni Nesil Dizileme Tabanlı Gen- Panel Testi

Elde edilen DNA'lardan hastalıkla ilişkili hedef bölgeler bölgeye spesifik primerler aracılığı ile Paragon Genomics, CleanPlex kit, U.S.A kiti kullanılarak Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) yöntemi (Biorad Laboratories, T100 Thermal Cycler, U.S.A) ile çoğaltılmaktadır. Protokole uygun olarak çalışılmakta, aşağıdaki adımlar izlenmektedir.

DNA tementasyonu: Örnekler için 2,5 ng/µl konsantrasyondaki DNA'dan 20 µl DNA 0.2'lik eppendorf tüp içine alınır. Bu işlemden sonra 25 µl Tagment DNA (TD) Buffer eklenir. 5 µl Tagment DNA Enzyme (TDE1) eklenip 10 kez pipetaj yapılır. 280 x g hızda 20°C'de 1 dakika santrifüj uygulanır. PZR tüpleri thermocyclera yerleştirilir. Aşağıda verilen şartlarda inkübasyon uygulanır.

Sıcaklık (°C)	Zaman
55	5 dakika
10	∞

Tegmente DNA'nın temizlenmesi: Inkübasyon işlemi yapıldıktan sonra örnekler üzerine 15 µl Stop Tagment Buffer (ST) ilave edilir ve 10 kez pipetaj uygulanır. Oda ısısında 5 dakika süre ile inkübasyona bırakılır. 280 x g hızda 20°C'de 1 dakika santrifüj uygulanır. Tüplerin üzerine 52 µl AMPure XP Beads eklenip 10 kez pipetaj yapılır. Oda ısısında 10 dakika inkübasyon

uygulanır. 280 x g hızında 20⁰C'de 1 dakika süre ile santrifüj uygulanır. Manyetik stand üzerinde 2 dakika süre ile bekletildikten sonra supernatant kısmı tüpten atılır. Manyetik standden kaldırmadan taze hazırlanmış %80'lik etanol 200 µl olacak kadar eklenir. Daha sonra 30 saniye bekletildikten sonra supernatant kısmı tüpten alınarak atılır. Son iki işlem tekrarlanır. Manyetik standden kaldırmadan oda ısısında 10 dakika süre ile kuruma işlemine bırakılır. Manyetik standden kaldırılıp 22,5 µl Resuspension Buffer eklenir ve 10 kez pipetaj uygulanır. Manyetik standde 2 dakika süre ile bekletilir ve daha sonra 20 µl supernatant yeni bir tüpe aktarılır.

PZR amplifikasyonu: CP Digestion Reagent ile muamele edilerek primerler ve spesifik olmayan bölgeleri içeren PZR ürünü parçalanır. 20 µl ürüne aşağıdaki oranlarda belirtilen ve hazırlanan miks eklenir. 20 µl 10x PCR Master Mix, 5 µl İndex1,5 µl İndex 2. 280 x g hızda 20⁰C'de 1 dakika santrifüj edildikten sonra PZR tüpleri PZR'a yerleştirilerek aşağıda verilen koşullarda inkübasyon sağlanır.

Sıcaklık (°C)	Zaman
72	3 dakika
98	30 saniye
10 siklus	
98	10 saniye
60	30 saniye
72	30 saniye
72	5 dakika
10	∞

PZR Pürifikasyonu: Ürün PZR'dan çıkarılır ve 280 x g hızda 20⁰C'de 1 dakika süre ile santrifüj uygulanır. AMPure XP Bead konulur ve elde edilen ampikonlar ve spesifik olmayan bölgeler de dahil olmak üzere ürün üzerine 45 µl mıknatıslı boncuklar (Beckman Coulter-Agencourt AMPure XP-U.S.A) konulduktan sonra 10 kez pipetaj uygulanır ve pürifiye edilir. Oda ısısında 10 dakika süre ile inkübasyona bırakılır. Manyetik standda 2 dakika süre ile bekletilir. Supernatant kısmı tüpten alınarak atılır. Manyetik standdan

kaldırmadan taze hazırlanmış %80'lik etanol 200 µl volümde eklenir. Supernatant kısmı tüpten alınarak atılır. Sonuncu basamaklar tekrarlanır. Manyetik standden kaldırmadan oda ısısında 15 dakika süre ile kuruma işlemine tabii tutulduktan sonra manyetik standdan kaldırılıp 40 µl yeniden süspansiyon tamponu eklenir ve 10 kez pipetaj uygulanır. Manyetik stand üzerinde 2 dakika süre ile bekletildikten sonra 38 µl supernatant yeni tüpe aktarılır. Mıknatıslı boncuklar ile bir purifikasyon yapılır ve ampikonlar saflaştırılır. Ürünlerin DNA konsantrasyonu ölçümü için Qubit DNA konsantrasyon ölçme cihazı kullanılır. Her bir örnekten en az 500 ng DNA içerecek ve toplam volüm 40 µl olacak şekilde birleştirilmesine özen gösterilir.

İlk hibridizasyon: Elde edilen 40 µl ürüne aşağıdaki oranlarda belirtilen şekilde miks katılır. 50 µl Nextera Capture Target Buffer 1 (NCT1), 10 µl TruSight Content Set Custom Selected Oligos (CSO). 280 x g hızda 20°C'de 1 dakika santrifüje edilir. CP Digestion Reagent ile muamele edilerek primerler ve spesifik olmayan bölgeleri içeren PZR ürünü parçalanır. Daha sonra PZR tüpleri thermalcyclera yerleştirilir. Aşağıda verilen koşullarda inkübasyon sağlanır.

Sıcaklık (°C)	Zaman
95	10 dakika
18 siklus	
93	1 dakika
Her siklus 2° C düşerek	
58	16-20 saat

Ürün thermalcyclerdan çıkarılarak 280 xg hızda 20° C'de 1 dakika santrifüj edilir. 250µl Streptavidin Magnetic Beads (SMB) eklenir ve 20 kez pipetaj yapılır. Oda ısısında 30 dakika inkübasyon uygulanır. 280 x g hızda 20°C'de 1 dakika santrifüj edilir. Manyetik standda 2 dakika bekletilir. Supernatant kısmı atılır ve manyetik standdan kaldırılır. 200µl yıkama solusyonu 1/Wash Solution 1 (WS1) eklenir ve 20 kez pipetaj yapılır. Manyetik stand üzerinde 2 dakika bekletilir. Supernatant kısmı atılır ve manyetik standdan kaldırılır. 200µl yıkama solusyonu 2/Wash Solution 2 (WS2) eklenir

ve 20 kez pipetaj yapılır. Manyetik stand üzerinde 2 dakika bekletilir. Supernatant kısmı atılır ve manyetik standdan kaldırılır. Tekrar 200µl WS2 eklenir ve 20 kez pipetaj yapılır. PZR tüpü thermalcyclera yerleştirilerek 42°C'de 30 dakika inkübasyonu sağlanır. Ürün thermalcyclardan çıkarılarak hızlıca manyetik standda alınıp 2 dakika bekletilir. Supernatant kısmı atılır ve manyetik standdan kaldırılır. Son üç basamaklar tekrarlanır. 200µl yıkama solusyonu 3/ Wash Solution 3 (WS3) eklenir ve 20 kez pipetaj yapılır. Manyetik stand üzerinde 2 dakika bekletildikten sonra supernatant kısmı atılır ve manyetik standdan kaldırılır. Son iki basamaklar tekrarlanır. Aynı bir PZR tüpünde aşağıdaki oranlarda karışım hazırlanır: 28.5µl Elute Target Buffer 1 (ET1) 1.5 µl 2N NaOH (HP3), 30 µl total volüm. Son basamakta elde edilen ürüne 23 µl hazırlanan karışım eklenir ve 20 kez pipetaj yapılır. Oda ısısında 5 dakika inkübe edilir. 280 x g hızda 20°C'de 1 dakika santrifüj edilir. Manyetik standda 2 dakika bekletilir. 21µl supernatant yeni bir tüpe alınır. Üzerine 4 µl Elute Target Buffer 2 (ET2) eklenir ve 10 kez pipetaj yapılır.

İkinci hibridizasyon: Son basamakta elde edilen 25µl ürüne aşağıdaki oranlarda hazırlanan karışım katılır: 50µl NCT1, 10µl CSO, 15µl ddH₂O. 280 x g hızda 20°C'de 1 dakika santrifüj edilir. Bundan sonra PZR tüpleri thermalcyclera yerleştirilir. Aşağıda verilen koşullarda inkübasyon işlemi yapılır.

Sıcaklık (°C)	Zaman
95	10 dakika
18 siklus	
93	1 dakika
Her siklus 2° C düşerek	
58	16-20 saat

İkinci yıkama: Ürün thermalcyclardan çıkarılarak 280 xg hızda 20°C'de 1 dakika santrifüj işlemi uygulanır. 250µl SMB eklenir ve 20 kez pipetaj yapılır. Oda ısısında 30 dakika süre ile inkübasyon işlemi yapılır. 280 x g hızda 20°C'de 1 dakika santrifüj edilir. Manyetik stand üzerinde 2 dakika süre ile bekletildikten sonra supernatant kısmı tüpten uzaklaştırılarak atılır ve

manyetik standden kaldırılır. 200µl WS1 eklenir ve 20 kez pipetaj yapılır. Manyetik stand üzerinde 2 dakika bekletildikten sonra supernatant kısmı atılır ve manyetik standdan kaldırılır. 200µl WS2 eklenir ve 20 kez pipetaj yapılır. Manyetik stand üzerinde 2 dakika bekletildikten sonra supernatant kısmı atılır ve manyetik standdan kaldırılır. Tekrar 200 µl WS2 eklenir ve 20 kez pipetaj yapılır. PZR tüpü thermalcyclera yerleştirilerek 42⁰C'de 30 dakika inkübasyonu sağlanır. Ürün thermalcyclardan çıkarılarak hızlıca manyetik standda alınıp 2 dakika bekletilir. Supernatant kısmı atılır ve manyetik standdan kaldırılır. Tekrar 200 µl WS2 eklenir ve 20 kez pipetaj yapılır. PZR tüpü thermalcyclera yerleştirilerek 42⁰C'de 30 dakika inkübasyonu sağlanır. Ürün thermalcyclardan çıkarılarak hızlıca manyetik standda alınıp 2 dakika bekletilir. Supernatant kısmı atılır ve manyetik standden kaldırılır. 200µl WS3 eklenir ve 20 kez pipetaj yapılır. Manyetik standda 2 dakika bekletildikten sonra supernatant kısmı atılır ve manyetik standdan kaldırılır. 200µl WS3 eklenir ve 20 kez pipetaj yapılır. Manyetik stand üzerinde 2 dakika bekletildikten sonra supernatant kısmı atılır ve manyetik standdan kaldırılır. Aynı bir PZR tüpünde aşağıdaki oranlarda karışım hazırlanır: 28,5µl ET1, 1,5 µl 2N HP3, 30 µl total volüm. Elde edilen ürüne 23 µl hazırlanan karışım eklenir ve 20 kez pipetaj yapılır. 5 dakika süre ile oda ısısında inkübasyon uygulanır. 280 x g hızda 20⁰C'de 1 dakika süre ile santrifüj işlemi uygulanır. Manyetik standda 2 dakika süre ile bekletilir. 21µl supernatant yeni bir tüpe alınır. Üzerine 4 µl ET2 eklenir ve 10 kez pipetaj yapılır.

PZR amplifikasyonu: Son basamakta elde edilen 25 µl üründen 20 µl alınarak aşağıdaki belirtilmiş olan oranlarda hazırlanan karışım eklenir: 25 µl PMM, 5 µl PPC (PCR Primer Cocktail). 280 x g hızda 20⁰ C'de 1 dakika santrifüj işlemi yapılır. Amplikonlar PZR yöntemi ile 5' ve 3' uçlarından dizisi bilinen adaptörler (p5 ve p7) yardımı ile işaretlenerek DNA kütüphanesi hazırlanmış olur. Sekanslama için her bir örnek farklı bir adaptör kombinasyonu ile işaretlenir. Daha sonra PZR tüpleri thermocyclera yerleştirilir. Aşağıda belirtilen koşullarda inkübasyon işlemi sağlanır.

Sıcaklık (°C)	Zaman
98	30 saniye
12 siklus	
98	10 saniye
60	30 saniye
72	30 saniye
72	5 dakika
10	∞

Ürün thermalcyclerdan çıkarılarak üzerine 90 µl AMPure XP Bead eklenir ve 10 kez pipetaj işlemi uygulanır. 15 dakika süre ile oda ısısında inkübe edilir. Manyetik stand üzerinde 5 dakika süre ile bekletilir. Supernatant kısmı tüpten alınarak atılır. Manyetik standdan kaldırmadan taze hazırlanmış %80'lik etanol 200 µl volümde eklenir ve 30 saniye süre bekletildikten sonra supernatant kısmı tüpten alınarak atılır. Son iki basamaklar tekrarlanır. Manyetik standdan kaldırmadan oda ısısında 15 dakika kurumaya bırakılır. Manyetik standdan kaldırılıp 30 µl yeniden süspansiyon tamponu (RSB) eklenir ve 10 kez pipetaj yapılır. 2 dakika süre ile oda ısısında inkübasyon yapılır. 5 dakika süre ile manyetik stand üzerinde bekletilir. 28 µl supernatant yeni tüpe aktarılır. Qubit DNA konsantrasyon ölçme cihazı kullanarak ürünlerin DNA konsantrasyonu ölçülür. Sekanslama için tüm örnekler eşit oranda birleştirilerek örnek havuzu oluşturulur ve çeşitli dilüsyon işlemlerinden geçirilerek son üründen 15 ng DNA içerecek şekilde uygun koşullarda MiSeq v2 300 siklus kite yüklenir. MiSeq sekans cihazında (Illumina MiSeq- Berlin) çift yönlü (5' ve 3') yüksek çıktılı dizileme ile uygun program seçilerek çalıştırılır.

IV.A.d. Veri Analizi

Sekans sonrası elde edilen ham datalar (fastq) analiz programına (Sophia Genetics, Sophia DDM V5.3.8, İsviçre) işlenir. Oİ ile ilişkilendirilmiş genler analiz edildi. Oİ'ye neden olduğu bilinen genlerdeki heterozigot,

homozigot ya da birleşik heterozigot varyantlar arasından toplum veritabanlarında [(NCBI dbSNP build141 (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP/>), 1000 Genomes Project (<http://www.1000genomes.org>), Exome Aggregation Consortium (ExAC) (<http://exac.broadinstitute.org/>) ve NHLBI Exome Sequencing Project (ESP) Exome Variant Server (<http://evs.gs.washington.edu/EVS/>)] sıklığı %0.5'den fazla olarak tespit edilmiş olanlar elenerek, az olanlarla analiz sürdürüldü. Belirlenen varyantların protein yapısı düzeyinde etkisi MutationTaster (Schwarz, Rödelberger, Schuelke, & Seelow, 2010), Polyphen-2 (Adzhubei, Jordan, & Sunyaev, 2013), PROVEAN ve SIFT (Pollard, Hubisz, Rosenbloom, & Siepel, 2010) *in silico* belirleme programları ile değerlendirildi. Türler arasında evrimsel korunmuşluk ele alınırken GERP kullanıldı. Değerlendirilmeler yapılırken ClinVar (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/>), VarSome veri tabanı (<https://www.varsome.com/>), Franklin by Genoox (<https://franklin.genoox.com/>) ve HGMD Professional 2020.2 (https://portal.biobase-international.com/cgi-bin/portal/login.cgi?redirect_url=/hgmd/pro/start.php?) kullanıldı. Son olarak, CES ve WES çalışılan Oİ ile ilişkili olduğu bilinen hiçbir gende mutasyon saptanmayan olgular, geri kalan tüm genler için de değerlendirildi.

IV.A.e. Doğrulama ve Segregasyon Analizleri

Elde edilen DNA'lardan çalışılan gen bölgeleri PZR yöntemi ile uygun primerler kullanılarak çoğaltılır.

PZR reaksiyonu için herbir örnek sayısına göre distile su, PCR Master Mix, forward ve revers primerler hazırlanır. Herbir örnek için 0,2 ml'lik PZR tüplerine dağıtılarak, üzerlerine hastaya ait DNA örneklerinden 5 µl eklenir. Aşağıda belirtilen koşullarda amplifikasyon için PZR Miksi hazırlanışı işlemi sağlanır.

PCR Master Mix	12,5 µl
ddH2O	5 µl
Forward Primer	1,25 µl
Revers Primer	1,25 µl
DNA	5 µl
Total	25 µl

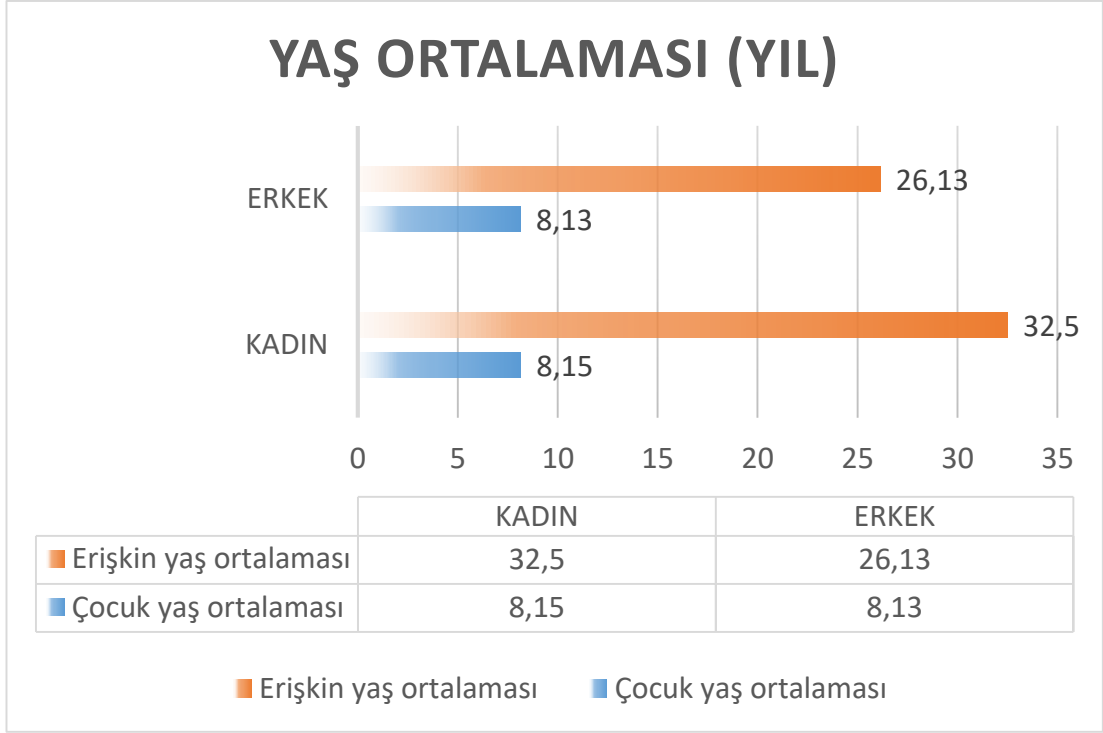
ABI 2720 termalcycler ile uygun programlarda ekzonların amplifikasyonu gerçekleştirilir. Ampifikasyon için PZR koşulları aşağıda belirtilmiştir.

	Sıcaklık (°C)	Süre	Döngü sayısı
Denatürasyon	94 °C	5 dakika	1
Denatürasyon	94 °C	30 saniye	35
Bağlanma	57,5 °C	30 saniye	35
Uzama	72 °C	45 saniye	35
Son Uzama	72 °C	7 dakika	1
Bekleme	4 °C	∞	

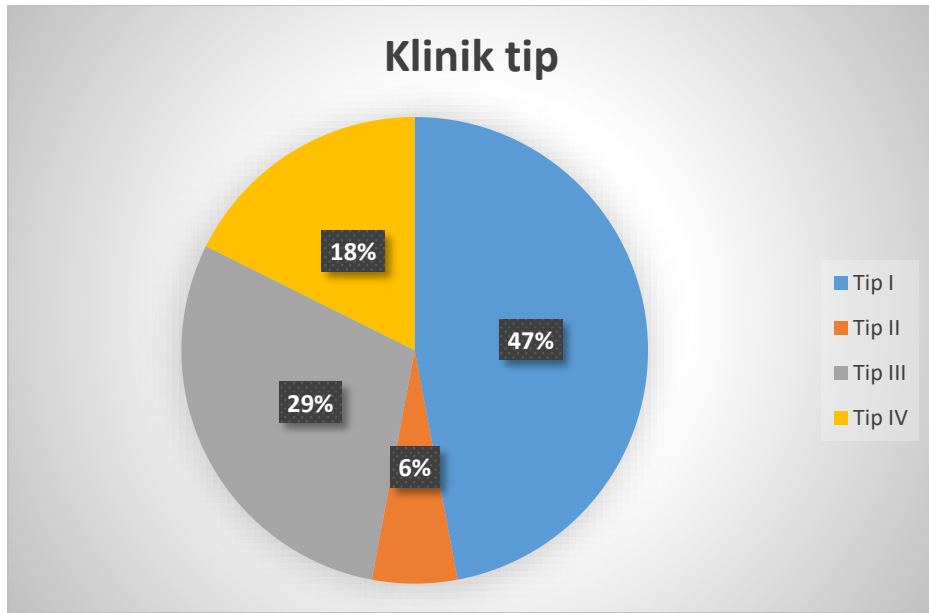
Amplifiye edilen bölgenin değerlendirilmesi: PZR ürünlerinin amplifiye olup olmadığını anlamak için örnekler %2'lik agaroz jelde yürütülür. Agaroz jelin hazırlanması için 100 ml'lik Erlenmeyer içine, 2 gr agaroz ve 100 ml 0,5XTBE konulup mikrodalga fırında ısıtılarak agarozun çözülmesi sağlanır. Çözelti berrak bir görünüm aldığı anda, üzerine 16 µl etidyum bromür eklenir ve karıştırılır. Ürünlerin yükleneceği kuyucukları oluşturmak için içine taraklar yerleştirilmiş tabağa dökülerek jel 20 dakika donmaya bırakılır. Daha sonra parafilm üzerinde 5 µl Orange G ve 5 µl PCR ürünleri karıştırılarak kuyucuklara yüklenir. Amplifiye olan ürünlerin uzunluklarını değerlendirmek için örneklerin başı ve sonundaki kuyucuklara DNA ladder yüklenir. Örnekler 140 Volt akımda yürütülür. Jel görüntüleme sistemi ile görüntüleri alınır. Uygun uzunlukta amplifiye olmuş ürünlere, dizi analizi bölümünde belirtildiği şekilde çalışmanın devam eden basamakları uygulanır.

BULGULAR

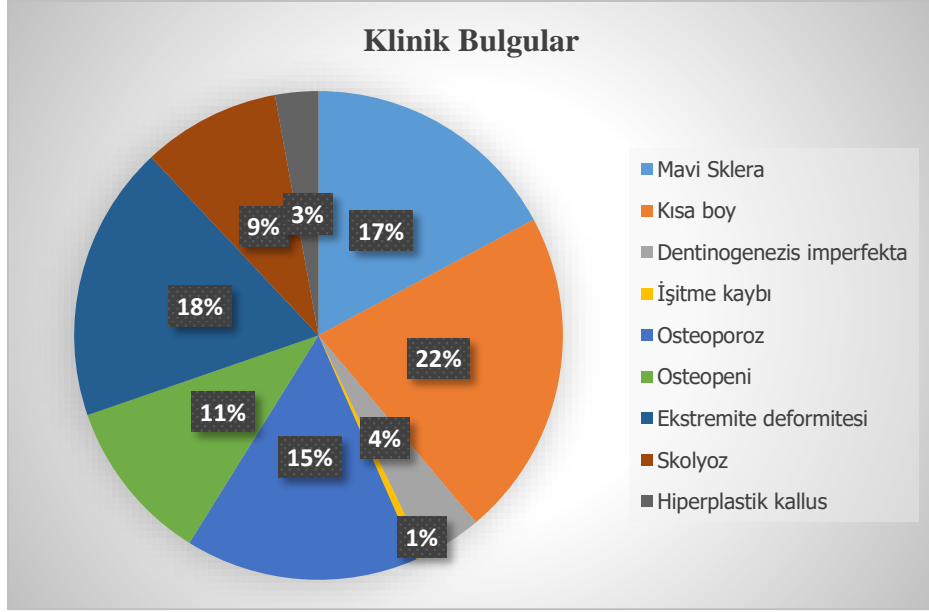
Çalışmaya alınan 52 aileden 54 olgunun 23'ü kadın (%42,5), 3'ü fetüs (%5,5), 28'i erkek (%52) idi. Bunlardan 34'ü (%63) çocuk, 17'si (%31,4) erişkin idi. Hastaların polikliniğe başvuru anında ortalama yaşı 0-4,62 yıl olarak saptanmıştır. Hastaların günümüz yaş ortalaması ise çocuk kadın için 8,15 yıl, çocuk erkek için 8,13 yıl, erişkin kadın için 32,5 yıl, erişkin erkek yaş ortalaması için 26,13 yıl olarak belirlenmiştir (Şekil-36). Klinik sınıflandırma yapıldığında 24 olgu Tip I, 3 olgu Tip II, 16 olgu Tip III, 9 olgu Tip IV olarak değerlendirilmiştir (Şekil-37). Olguların 30'unda mavi sklera, 16'sında skolyoz, 32'sinde çoklu kırığa bağlı ekstremitte deformiteleri, 5'inde hiperplastik kallus, 27'sinde osteoporoz, 19'unda osteopeni, 38'inde boy kısalığı, 7'sinde Dİ, 1'inde işitme kaybı görüldü (Şekil-38). Çalışmada olan 54 olgunun 41'inde mutasyon saptanmıştır, 13 olguda Oİ ile ilişkili bakılan genlerde mutasyon saptanmamıştır. Hastaların 19'unda *COL1A1* geninde 17, 10'unda *COL1A2* geninde 10, 4'ünde *LEPRE1/P3H1* geninde 5, 3'ünde *FKBP10* geninde 3, 2'sinde *SERPINH1* geninde 3, 1'inde *IFITM5* geninde 1, 1'inde *PLS3* geninde 1, 1'inde *NBAS* geninde 2 varyant saptandı (Şekil-39). Saptanan varyantlardan 2 hastada birleşik heterozigot varyant saptandığı için toplam varyantlardan 22'si yanlış anlamlı, 8'i kırılma hatasına yol açan nokta mutasyonu, 8'i çerçeve kayması, 3'ü kodlama yapmayan bölge idi (Şekil-40). 12 (%22,2) olgunun anne ve babası arasında akraba evliliği mevcut, 12 ailede birden fazla etkilenmiş birey öyküsü mevcut, 8'inde mutasyon saptanmıştır, 18 (%43,9) olgunun ise parental analizi yapılamamıştır. Mutasyon saptanan olguların genotip ve fenotip özellikleri (Tablo-5 A, B), aile segregasyon sonucu (Tablo-6) gösterilmiştir.



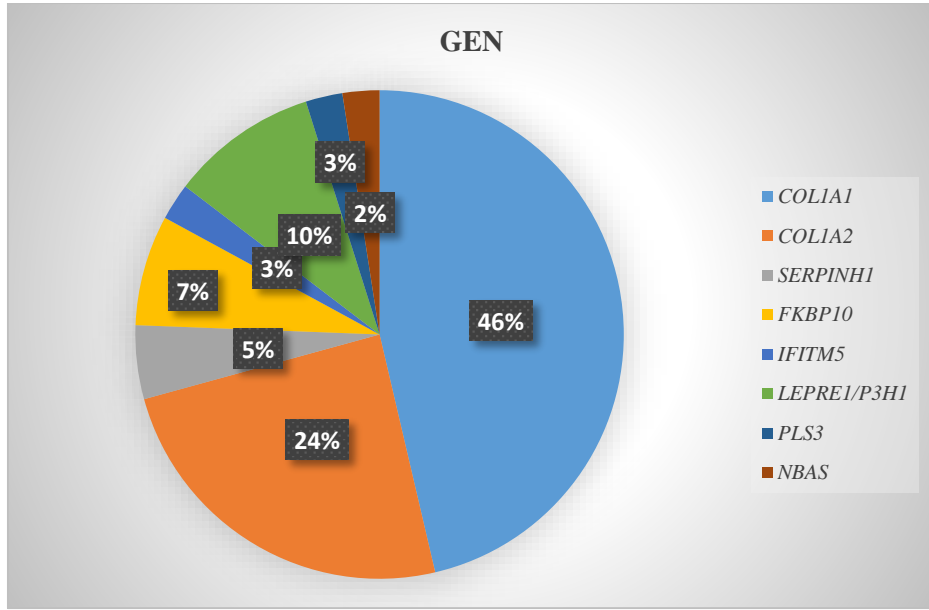
Şekil-36: Günümüzde hastaların yaş ortalaması (yıl).



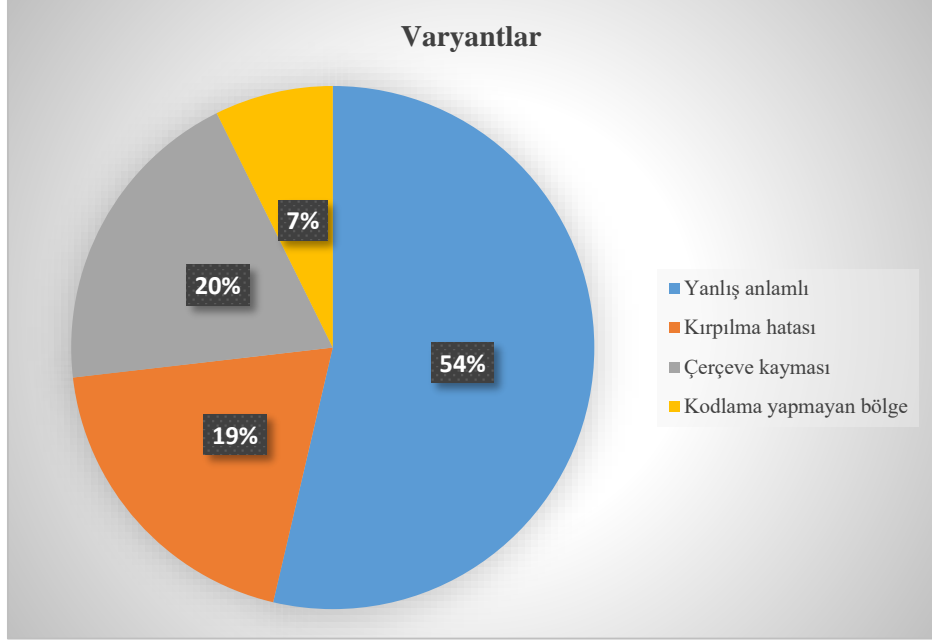
Şekil-37: Klinik sınıflandırma.



Şekil-38: Klinik bulgular.



Şekil-39: Patojenik varyant saptanan genler.



Şekil-40: Saptanan varyant tipleri.

Tablo-5 A: Oİ ile ilgili mutasyona sahip olguların fenotip özellikleri.

Olgu	Cinsiyet	Yaş	Kırık Başlama Yaşı	Kemik Dansitometresi	Mavi Sklere	Boy Kısaldığı	Dİ	Skolyoz/ Ekstremitte deformitesi/ Hiperplastik kallus	İşitme Kaybı
Oİ#1	K	6	İU	Osteoporoz	-	+	-	+/+/+	-
Oİ#2	E	18	8 yaş	Osteopeni	+	+	+	-/+/+	-
Oİ#3	E	11	2 yaş	Osteoporoz	-	-	-	-/+/+	-
Oİ#4	E	4	İU	Osteoporoz	+	+	+	-/+/+	-
Oİ#5	E	26	3,5 yaş	Osteopeni	+	+	+	+/+/+	-
Oİ#6	K	62	21	Osteoporoz	+	-	-	-/+/+	+
Oİ#7	E	2	4 ay	Osteoporoz	-	+	-	-/+/+	-
Oİ#8	E	5	1,5 ay	Osteopeni	+	+	-	-/+/+	-
Oİ#9	E	9	3 yaş	Osteopeni	+	+	+	+/+/+	-
Oİ#10	K	3,5	8 ay	Osteoporoz	+	+	-	-/+/+	-
Oİ#11	E	20	10 yaş	Osteoporoz	-	+	-	+/+/+	-
Oİ#12	E	1,5	İU	Osteoporoz	-	+	-	-/+/+	-
Oİ#13	K	10	2 yaş	Osteoporoz	-	+	-	-/+/+	-
Oİ#14	E	12	10 yaş	Osteoporoz	-	+	-	+/+/+	-
Oİ#15	E	10	1,5 yaş	Osteoporoz	+	+	-	+/+/+	-
Oİ#16	E	44	36 yaş	Osteoporoz	+	+	-	-/+/+	-
Oİ#17	E	39	36 yaş	Osteoporoz	+	-	-	-/+/+	-
Oİ#18	K	17	2 ay	Osteopeni	-	+	-	-/+/+	-
Oİ#19	F	-	İU	-	-	+	-	+/+/+	-
Oİ#20	K	9	10 ay	Osteopeni	+	+	-	+/+/+	-
Oİ#21	E	19	11 yaş	Osteopeni	+	+	-	-/+/+	-
Oİ#22	K	12	İU	Osteoporoz	+	+	+	-/+/+	-
Oİ#23	F	-	İU	-	-	+	-	+/+/+	-
Oİ#24	F	-	İU	-	-	+	-	+/+/+	-
Oİ#25	E	6	13 gün	Osteoporoz	+	+	-	+/+/+	-
Oİ#26	K	21	1,5 yaş	Osteoporoz	-	+	-	+/+/+	-
Oİ#27	K	56	9 yaş	Osteoporoz	+	+	-	+/+/+	-
Oİ#28	K	12	1 gün	Osteopeni	+	+	-	-/+/+	-
Oİ#29	K	8,5	3 yaş	Osteopeni	+	-	-	-/+/+	-
Oİ#30	K	13	2 yaş	Osteopeni	+	+	-	+/+/+	-
Oİ#31	E	10	9 ay	Osteoporoz	+	+	-	-/+/+	-
Oİ#32	K	32	Erişkin dönem	Osteopeni	+	+	-	-/+/+	-
Oİ#33	K	22	1 yaş	Osteopeni	+	-	-	-/+/+	-
Oİ#34	E	40	18 yaşa kadar kırık olmuş	Osteoporoz	+	+	-	-/+/+	-
Oİ#35	K	13	1 ay	Osteoporoz	+	+	-	-/+/+	-
Oİ#36	E	9	1,5 yaş	Osteopeni	+	+	-	-/+/+	-
Oİ#37	E	13	6 yaş	Osteopeni	-	+	-	-/+/+	-
Oİ#38	E	4	4 ay	Osteopeni	+	+	-	+/+/+	-
Oİ#39	E	6,5	Hiç kırık yok	Osteopeni	+	-	-	-/+/+	-
Oİ#40	E	18	7 yaş	Osteopeni	-	-	-	-/+/+	-
Oİ#41	E	6,5	İU	Osteopeni	-	-	-	-/+/+	-

Oİ: Osteogenezis İmperfekta, K: Kadın, E: Erkek, F: Fetüs, İU: İntrauterine, KD: kemik dansitometresi, Dİ: Dentinogenezis İmperfekta

Tablo-5 B: Oİ ile ilgili mutasyona sahip olguların genotip özellikleri.

Olgu	Gen	Transkript	Klinik Tip	Nükleotid değişikliği	Amino asit değişikliği	Varyant tipleri
Oİ#1	COL1A2	NM_000089	III	c.2819G>T	p.Gly940Val	YA
Oİ#2	COL1A1	NM_000088.3	I	c.696+1G>A	p.?	KH
Oİ#3	SERPINH1	NM_001207014	I	c.1231G>A c.1153G>A	p.Gly411Ser p.Asp385Asn	YA YA
Oİ#4	COL1A2	NM_000089	IV	c.938G>A	p.Gly313Asp	YA
Oİ#5	COL1A1	NM_000088.3	I	c.769G>A	p.Gly257Arg	YA
Oİ#6	COL1A1	NM_000088.3	I	c.2913_2915delCTTinsG	p.Phe972Profs*9	ÇK
Oİ#7	FKBP10	NM_021939	III	c.419delT	p.Leu140Profs*19	ÇK
Oİ#8	IFITM5	NM_001025295.2	III	c.-14C>T	p.?	KYB
Oİ#9	COL1A1	NM_000088.3	III	c.2452-1G>C	p.?	KH
Oİ#10	COL1A1	NM_000088.3	I	c.103+1G>T	p.?	KH
Oİ#11	LEPRE1/ P3H1	NM_001146289	III	c.2073G>A	p.Ala691Ala	YA
Oİ#12	COL1A2	NM_000089	III	c.2828G>A	p.Gly943Glu	YA
Oİ#13	SERPINH1	NM_001207014	III	c.635A>C	p.His212Pro	YA
Oİ#14	FKBP10	NM_021939	III	c.1586_1589delAAGT	p.Gln529Argfs*18	ÇK
Oİ#15	LEPRE1/ P3H1	NM_001146289	III	c.1345+1G>T	p.?	KH
Oİ#16	PLS3	NM_001282337	I	c.1358C>A	p.Ala453Asp	YA
Oİ#17	COL1A2	NM_000089	I	c.693+12C>A	p.?	KYB
Oİ#18	COL1A1	NM_000088	I	c.3245G>C	p.Gly1082Ala	YA
Oİ#19	COL1A2	NM_000089	II	c.2782-1G>T	p.?	KH
Oİ#20	COL1A1	NM_000088	IV	c.823G>T	p.Gly275Cys	YA
Oİ#21	COL1A1	NM_000088	I	c.1821+1G>A	p.?	KH
Oİ#22	COL1A1	NM_000088	III	c.850G>A	p.Gly284Ser	YA
Oİ#23	COL1A1	NM_000088	II	c.3141_3158del	p.Ala1050_Gly1055del	ÇK
Oİ#24	COL1A1	NM_000088.3	II	c.1668+1G>C	p.?	KH
Oİ#25	LEPRE1/ P3H1	NM_001146289	III	c.1224G>C	p.Lys408Asn	YA
Oİ#26	COL1A2	NM_000089	III	c.488G>A	p. Gly163Asp	YA
Oİ#27	COL1A2	NM_000089	I	c.353_354delinsAG	p.Gly118Glu	ÇK
Oİ#28	COL1A1	NM_000088.3	I	c.769G>A	p.Gly257Arg	YA
Oİ#29	COL1A1	NM_000088.3	I	c.1768-29C>A	p.?	KYB
Oİ#30	COL1A2	NM_000089	IV	c.838G>A	p. Gly280Ser	YA
Oİ#31	COL1A1	NM_000088.3	IV	c.1057G>T	p. Gly353Cys	YA
Oİ#32	COL1A1	NM_000088.3	IV	c.1057G>T	p. Gly353Cys	YA
Oİ#33	COL1A1	NM_000088.3	I	c.77G>A	p. Gly26Asp	YA
Oİ#34	COL1A1	NM_000088.3	I	c.103+1G>T	p.?	KH
Oİ#35	COL1A2	NM_000089	I	c.2882G>A	p.Gly961Asp	YA
Oİ#36	COL1A1	NM_000088.3	I	c.432del	p.Gly145Aspfs* 120	ÇK
Oİ#37	COL1A2	NM_000089	IV	c.3605C>A	p. Thr1202Asn	YA
Oİ#38	LEPRE1/ P3H1	NM_001146289	IV	c.492_495dupTGCA c.446T>G	p.Ala166Cysfs*11 p.Leu149Arg	ÇK YA
Oİ#39	COL1A1	NM_000088.3	I	c.572G>C	p. Gly191Ala	YA
Oİ#40	NBAS	NM_015909.3	I	c.392C>T c.6805G>A	p.Pro131Leu p.Glu2269Lys	YA YA
Oİ#41	FKBP10	NM_021939	III	c.21dup	p. Ser8Glnfs*67	ÇK

Oİ: Osteogenezis İmperfekta, YA: Yanlış anlamlı. ÇK: Çerçeve kayması. KYB: Kodlama yapmayan bölge. KH: kırılma hatasına yol açması beklenen nokta mutasyonu

Tablo-6: Mutasyon saptanan hastaların mutasyonun ailedeki segregasyonu.

Olgu	Gen	Nükleotit değişikliği	Hasta	Anne	Baba	Akraba evliliği	Ailede olgular
Oİ#1	COL1A2	c.2819G>T	Heterozigot	Normal	Normal	Yok	Yok
Oİ#2	COL1A1	c.696+1G>A	Heterozigot	-	-	Yok	Yok
Oİ#3	SERPINH1	c.1231G>A	Heterozigot	Het.	Normal	Yok	Yok
		c.1153G>A	Heterozigot	Normal	Het.		
Oİ#4	COL1A2	c.938G>A	Heterozigot	Normal	Normal	Yok	Yok
Oİ#5	COL1A1	c.769G>A	Heterozigot	Normal	-	Yok	Yok
Oİ#6	COL1A1	c.2913_2915delCTTinsG	Heterozigot	-	-	Yok	Var
Oİ#7	FKBP10	c.419delT	Homozigot	Het.	Het.	Var	Yok
Oİ#8	IFITM5	c.-14C>T	Heterozigot	Normal	Normal	Yok	Yok
Oİ#9	COL1A1	c.2452-1G>C	Heterozigot	Normal	Normal	Yok	Yok
Oİ#10	COL1A1	c.103+1G>T	Heterozigot	Normal	Het.	Yok	Var
Oİ#11	LEPRE1/ P3H1	c.2073G>A	Homozigot	Het.	Het.	Var	Yok
Oİ#12	COL1A2	c.2828G>A	Heterozigot	-	-	Yok	Yok
Oİ#13	SERPINH1	c.635A>C	Homozigot	Het.	Het.	Var	Yok
Oİ#14	FKBP10	c.1586_1589delAAGT	Homozigot	Het.	Het.	Var	Yok
Oİ#15	LEPRE1/ P3H1	c.1345+1G>T	Homozigot	Het.	Het.	Var	Yok
Oİ#16	PLS3	c.1358C>A	Hemizigot	Het.	-	Var	Var
Oİ#17	COL1A2	c.693+12C>A	Heterozigot	-	-	Yok	Yok
Oİ#18	COL1A1	c.3245G>C	Heterozigot	-	-	Yok	Yok
Oİ#19	COL1A2	c.2782-1G>T	Heterozigot	Normal	Normal	Yok	Yok
Oİ#20	COL1A1	c.823G>T	Heterozigot	Normal	Normal	Yok	Yok
Oİ#21	COL1A1	c.1821+1G>A	Heterozigot	-	-	Yok	Var
Oİ#22	COL1A1	c.850G>A	Heterozigot	-	-	Yok	Yok
Oİ#23	COL1A1	c.3141_3158del	Heterozigot	Normal	Normal	Yok	Yok
Oİ#24	COL1A1	c.1668+1G>C	Heterozigot	Normal	-	Yok	Yok
Oİ#25	LEPRE1/ P3H1	c.1224G>C	Homozigot	Het.	Het.	Var	Yok
Oİ#26	COL1A2	c.488G>A	Homozigot	Normal	Het.	Var	Var
Oİ#27	COL1A2	c.353_354delinsAG	Heterozigot	-	-	Yok	Var
Oİ#28	COL1A1	c.769G>A	Heterozigot	-	Het.	Yok	Var
Oİ#29	COL1A1	c.1768-29C>A	Heterozigot	-	-	Yok	Var
Oİ#30	COL1A2	c.838G>A	Heterozigot	-	-	Yok	Var
Oİ#31	COL1A1	c.1057G>T	Heterozigot	Het.	Normal	Yok	Var
Oİ#32	COL1A1	c.1057G>T	Heterozigot	-	-	Yok	Var
Oİ#33	COL1A1	c.77G>A	Heterozigot	-	-	Var	Yok
Oİ#34	COL1A1	c.103+1G>T	Heterozigot	-	-	Yok	Var
Oİ#35	COL1A2	c.2882G>A	Heterozigot	Normal	Het.	Yok	Var
Oİ#36	COL1A1	c.432del	Heterozigot	-	-	Yok	Yok
Oİ#37	COL1A2	c.3605C>A	Heterozigot	-	-	Yok	Yok
Oİ#38		c.492_495dupTGCA	Heterozigot	Het.	Normal	Yok	Yok

	<i>LEPRE1/ P3H1</i>	c.446T>G	Heterozigot	Normal	Het.		
Oİ#39	<i>COL1A1</i>	c.572G>C	Heterozigot	Normal	Normal	Yok	Yok
Oİ#40	<i>NBAS</i>	c.392C>T	Heterozigot	-	-	Yok	Yok
		c.6805G>A	Heterozigot	-	-		
Oİ#41	<i>FKBP10</i>	c.21dup	Homozigot	-	-	Var	Yok

Oİ: Osteogenezis İmperfekta, Het: Heterozigot, Hom: Homozigot

Oİ ile ilgili mutasyona sahip olguların varyant veri analizleri (Tablo-7) gösterilmiştir.

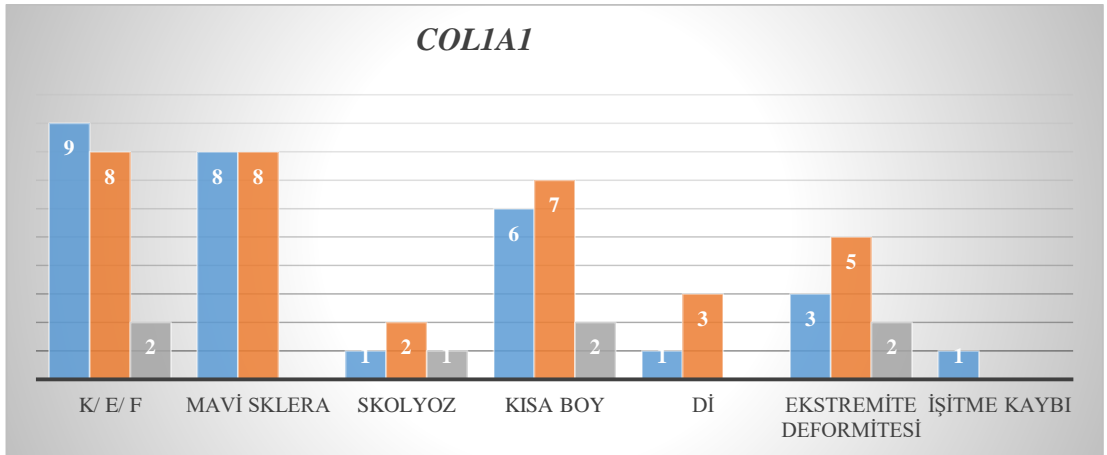
Tablo-7 : Saptanan varyantların analizleri.

Gen	Nükleotid değişikliği	ACMG	FRANKLİN by GENOOX	ClinVar	HGMD	Yeni Varyant
<i>COL1A2</i>	c.2819G>T	ÖBV	ÖBV	-	Oİ tip III CM1611609	-
<i>COL1A1</i>	c.696+1G>A	P	OP	-	Oİ tip I CS157539	-
<i>SERPINH 1</i>	c.1231G>A	ÖBV	ÖBV	-	-	YV
	c.1153G>A	ÖBV	ÖBV	-	-	YV
<i>COL1A2</i>	c.938G>A	ÖBV	OP	-	-	YV
<i>COL1A1</i>	c.769G>A	P	P	P	Oİ tip I CM960320	rs72645321
<i>COL1A1</i>	c.2913_2915delCTTinsG	P	OP	-	-	YV
<i>FKBP10</i>	c.419delT	P	OP	-	-	YV
<i>IFITM5</i>	c.-14C>T	OP	OP	P	Oİ tip V CR127151	rs587776916
<i>COL1A1</i>	c.2452-1G>C	P	P	P	-	rs72651667
<i>COL1A1</i>	c.103+1G>T	P	OP	-	-	YV
<i>LEPRE1/ P3H1</i>	c.2073G>A	OB	OP	-	-	rs137853890
<i>COL1A2</i>	c.2828G>A	ÖBV	OP	-	Oİ tip III CM1611610	-
<i>SERPINH 1</i>	c.635A>C	ÖBV	ÖBV	-	-	YV
<i>FKBP10</i>	c.1586_1589delAAGT	P	ÖBV	-	-	rs1555617307
<i>LEPRE1/ P3H1</i>	c.1345+1G>T	P	OP	-	-	YV
<i>PLS3</i>	c.1358C>A	ÖBV	ÖBV	-	-	YV
<i>COL1A2</i>	c.693+12C>A	ÖBV	OB	OB (1), ÖBV (1)	-	rs767990110
<i>COL1A1</i>	c.3245G>C	OP	ÖBV	-	-	YV
<i>COL1A2</i>	c.2782-1G>T	P	OP	-	-	YV
<i>COL1A1</i>	c.823G>T	OP	P	P	-	rs72645332
<i>COL1A1</i>	c.1821+1G>A	P	P	P	Oİ tip I CS930779	rs66555264
<i>COL1A1</i>	c.850G>A	OP	OP	-	Oİ tip III CM070750	rs72645336
<i>COL1A1</i>	c.3141_3158del	OP	OP	-	-	YV
<i>COL1A1</i>	c.1668+1G>C	P	OP	-	-	YV

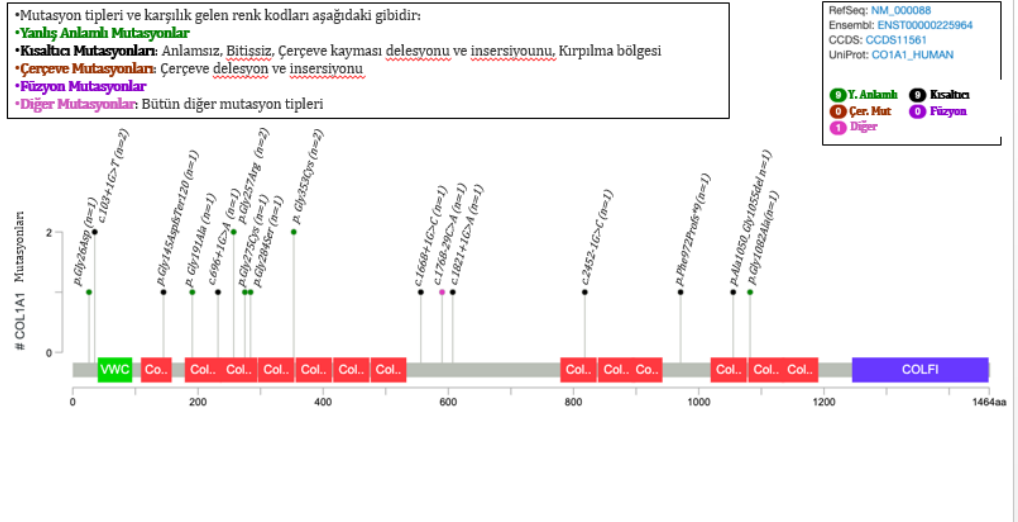
LEPRE1/ P3H1	c.1224G>C	ÖBV	ÖBV	-	-	YV
COL1A2	c.488G>A	ÖBV	ÖBV	-	-	YV
COL1A2	c.353_354delinsAG	OP	OP	-	-	YV
COL1A1	c.769G>A	P	P	P	Oİ tip I CM960320	rs72645321
COL1A1	c.1768-29C>A	ÖBV	ÖBV	-	-	rs1189240643
COL1A2	c.838G>A	P	P	P	Oİ tip IV CM070786	rs72656387
COL1A1	c.1057G>T	OP	OP	P	Oİ tip III/IV CM930141	rs66721653
COL1A1	c.1057G>T	OP	OP	P	Oİ tip III/IV CM930141	rs66721653
COL1A1	c.77G>A	OB	ÖBV	OB (1), ÖBV (3)	Oİ CM117851	rs151171179
COL1A1	c.103+1G>T	P	OP	-	-	YV
COL1A2	c.2882G>A	ÖBV	ÖBV	-	Oİ CM117851	-
COL1A1	c.432del	P	OP	-	Oİ tip I CD063493	rs72667016
COL1A2	c.3605C>A	OP	ÖBV	-	-	rs770720103
LEPRE1/ P3H1	c.492_495dupTGCA c.446T>G	P ÖBV	OP ÖBV	- -	- -	YV -
COL1A1	c.572G>C	OP	OP	OP	Servikal arter diseksiyonu CM960319	rs67828806
NBAS	c.392C>T c.6805G>A	ÖBV ÖBV	ÖBV B	- -	- -	rs114603112 rs150030853
FKBP10	c.21dup	P	OP	-	Oİ, OR tip CI134713	rs782271121

P: patojenik, OP: olası patojenik, ÖBV: Önerisi belirsiz varyant, OB: olası benin, B: benin, YV: yeni varyant Oİ: osteogenezis imperfekta, OR: otozomal resesif

COL1A1 geninde mutasyon saptanan hastaların klinik bulguları (Şekil-41) ve "lolipop" görüntüsü gösterilmiştir (Şekil-42).

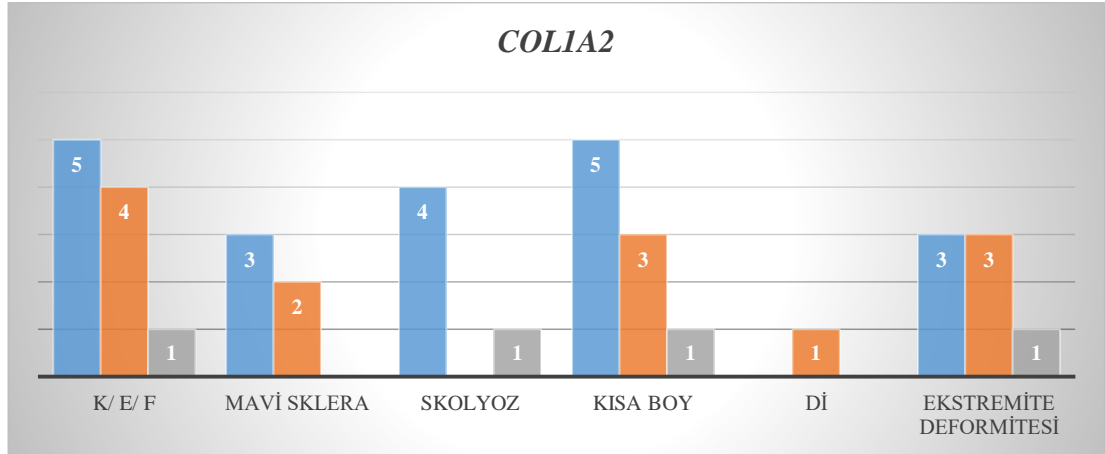


Şekil-41: COL1A1 geninde mutasyon saptanan olguların bulguları.
K: Kadın, E: Erkek, F: Fetüs, Dİ: Dentinogenezis İmperfekta

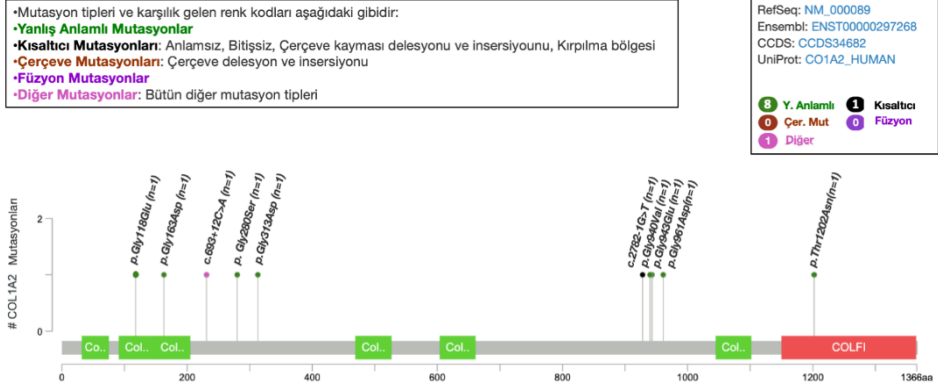


Şekil-42: COL1A1 geninde saptanan varyantların "lolipop" görüntüsü.

COL1A2 geninde mutasyon saptanan hastaların klinik bulguları (Şekil-43) ve "lolipop" görüntüsü gösterilmiştir (Şekil-44).

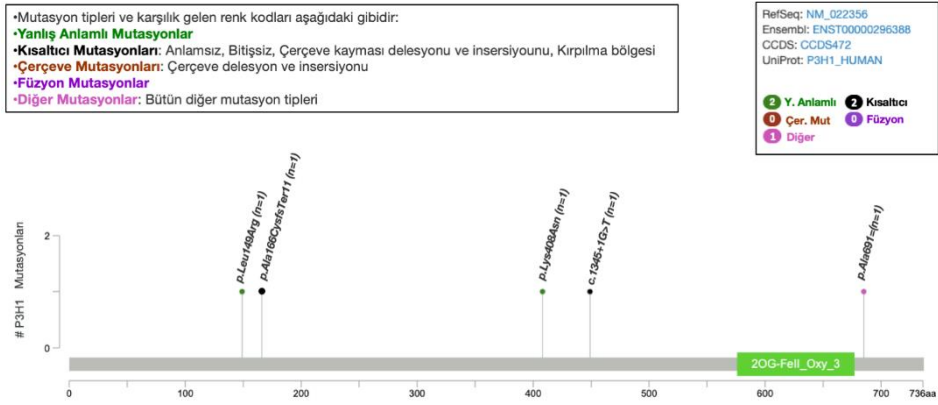


Şekil-43: COL1A2 geninde mutasyon saptanan olguların bulguları.
K: Kadın, E: Erkek, F: Fetüs, Dİ: Dentinogenesis İmperfekta



Şekil-44: COL1A2 geninde saptanan varyantların "lolipop" görüntüsü.

LEPRE1/P3H1, FKBP10, SERPINH1, IFITM5, PLS3 ve NBAS genlerinde saptanan varyantların "lolipop" görüntüsü gösterilmiştir (Şekil-45 A, B, C, D, E, F).



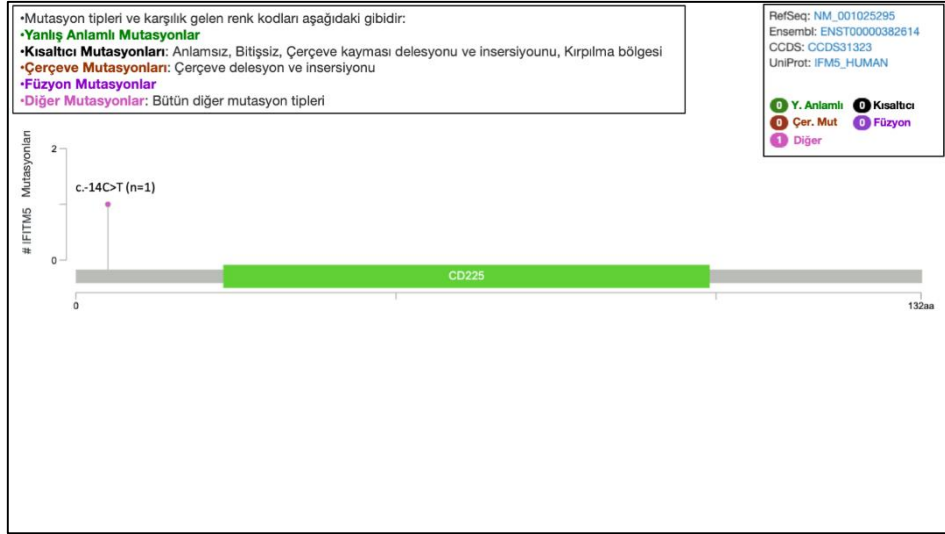
Şekil-45 A: LEPRE1/P3H1 geninde saptanan varyantların "lolipop" görüntüsü.



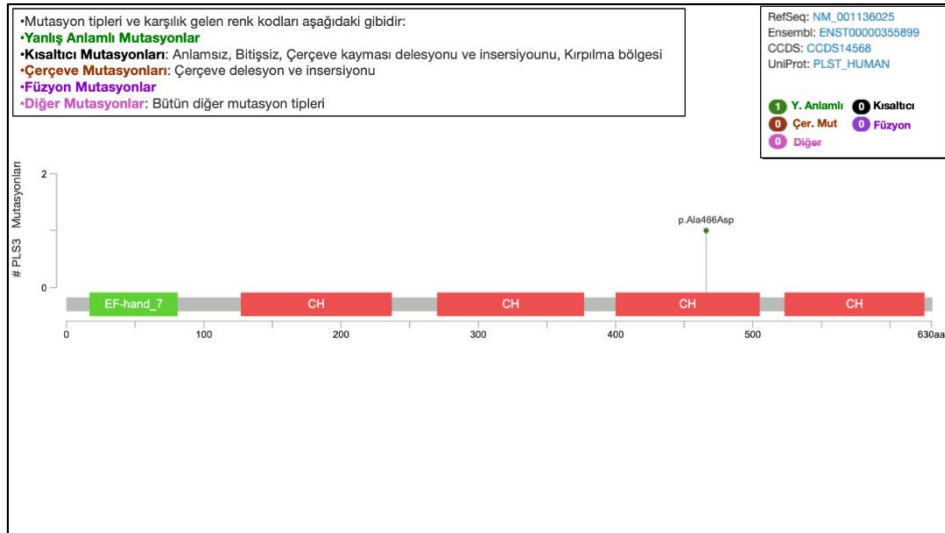
Şekil-45 B: *FKBP10* geninde saptanan varyantların "lolipop" görüntüsü.



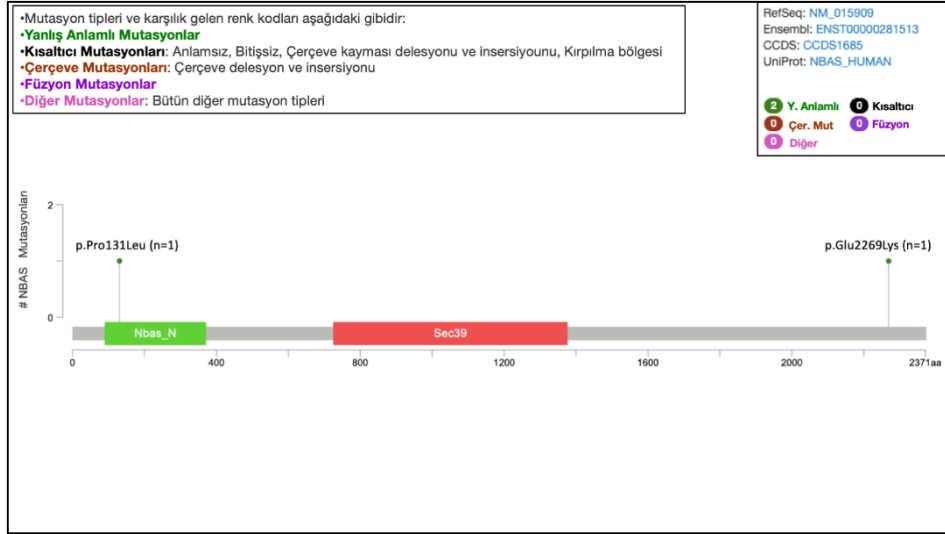
Şekil-45 C: *SERPINH1* geninde saptanan varyantların "lolipop" görüntüsü.



Şekil-45 D: *IFITM5* geninde saptanan varyantların "lolipop" görüntüsü.



Şekil-45 E: *PLS3* geninde saptanan varyantların "lolipop" görüntüsü.



Şekil-45 F: NBAS geninde saptanan varyantların "lolipop" görüntüsü.

Mutasyon saptanmayan hastaların klinik bulguları (Tablo-8) gösterilmiştir.

Tablo-8: YND İle Mutasyon Saptanmayan Olgular.

Olgu	Cinsiyet	Yaş	Akraba evliliği	Klinik tip	Oİ ilişkili bulgular	Ek bulgular	Panel-gen testi sonucu
Oİ#42	E	13	Yok	I	Osteopeni, çoklu kırıklar	Epilepsi	Oİ panel sonucu- N
Oİ#43	K	23	Yok	I	Osteoporoz, dismorfik diş	-	WES sonucu- <i>LAMB3</i> geninde heterozigot ÖBV c.1559C>T (p.Pro520Leu) ve <i>CCDC134</i> (yeni tanımlanmış Oİ geni) geninde heterozigot ÖBV c.311-135C>T (p.?) değişimi SD ile confirmasyon yapılamadı
Oİ#44	K	2	Yok	IV	Mavi sklera, kısa boy, çoklu kırık	Hidrosefali, alt ekstremite paraplejik, brakisefali, strabismus	WES sonucu- <i>ZBTB20</i> geninde heterozigot ÖBV c.616G>A (p.Asp206Asn) değişimi SD ile confirmasyon yapılamadı. OMIM'de Primrose sendromu ile uyumlu.
Oİ#45	K	25	Yok	-	Oİ ön tanılı vefat etmiş çocuk öyküsü	-	Oİ panel sonucu- N
Oİ#46	E	25	Yok	-	Oİ ön tanılı vefat etmiş çocuk öyküsü	-	Oİ panel sonucu- N
Oİ#47	K	11,5	Yok	IV	Mavi sklera, kısa boy, osteoporoz, çoklu kırık	Strabismus	CES sonucu- <i>FLNB</i> geninde heterozigot OP c.6121C>T (p.Arg2041Cys) değişimi SD ile confirmasyon yapılamadı
Oİ#48	K	20	Yok	I	Osteoporoz, kısa boy, eklem laksitesi	Kısa boyun, primer amenore	Oİ panel sonucu- N
Oİ#49	E	4,7	Yok	I	Mavi sklera, Dİ	Hipertelorizm, bilateral el 5.parmak klinodaktilisi, pes planus	Oİ panel sonucu- N
Oİ#50	K	6	Yok	I	Osteoporoz, 2 kez femur kırığı	-	Oİ panel sonucu- N
Oİ#51	E	9 yaş 10ay	Var	III	Osteoporoz, kifoskolyoz, çoklu kırık	Meningomyelosele, omfalosele	<i>COL1A1/COL1A2</i> - N
Oİ#52	K	7 yaş 9ay	Var	III	Osteoporoz, çoklu kırık, kırığa bağlı yürüyememe	-	<i>COL1A1/COL1A2</i> - N
Oİ#53	E	8 yaş 10ay	Yok	I	Mavi sklera, 3 kez kırık, kısa boy	-	Oİ panel sonucu- N
Oİ#54	K	3 ay, ex	Yok	III	İU kırıklara bağlı ekstremelerde eğrilik, kısa boy	-	<i>COL1A1/COL1A2</i> - N

CES: Clinical Exome Sequencing, Dİ: Dentinogenezis İmperfekta, E: Erkek, Ex: Eksitus, İU: İntrauterin, K: Kadın, N: Normal, Oİ: Osteogenezis İmperfekta, OP: olası patojenik, ÖBV: Önemi belirsiz varyant, SD: Sanger Dizileme.

V. Seçilmiş Olgular

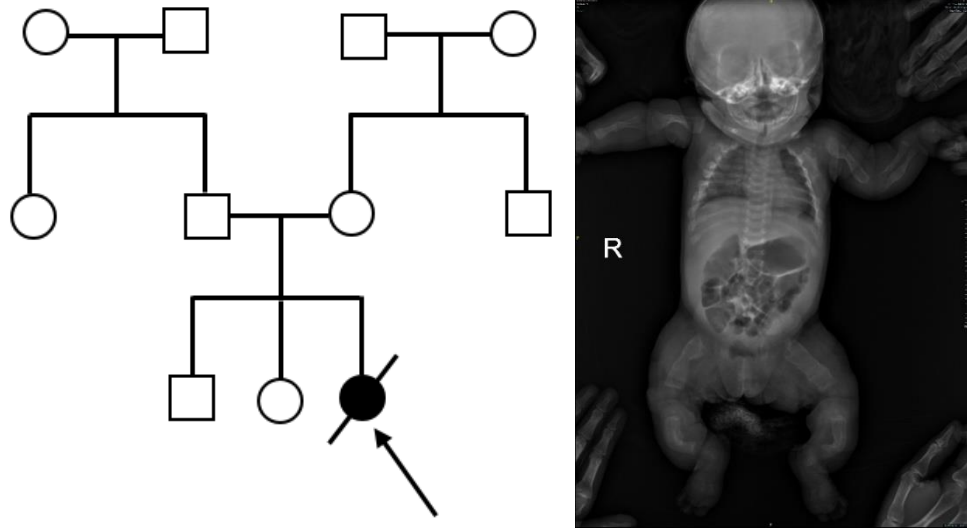
V.A. Olgu (Ol#1)

V.A.a. Klinik Bulgular

Aile öyküsü; Anne yaşı: 34, Baba yaşı: 42, anne baba arasında akraba evliliği yok, G3P3Y3 (Şekil-46).

Fizik Muayene Bulguları; Olguda geniş alın, burun kökü basık, üçgen yüz, düşük kulak, skolyoz, pektus karinatum mevcuttu. Kısa boy, üst ve alt ekstremitelerde kırıklara bağlı deformiteler mevcuttu.

X-Ray Bulguları; Bilateral alt ekstremitede, kortikal incelme, sola bakan skolyoz, osteopenik görünüm, üst ekstremitede uzun kemiklerinde, alt ekstremitede tibiada ve fibulada eğrilme, sağ hemitoraksın kostalarında ve tüm ekstremitede uzun kemiklerinde geçirilmiş fraktürlere ait kallus formasyonları izlenmektedir. Alt torakal vertebra korpusları yer yer incelmıştır (Şekil-46).

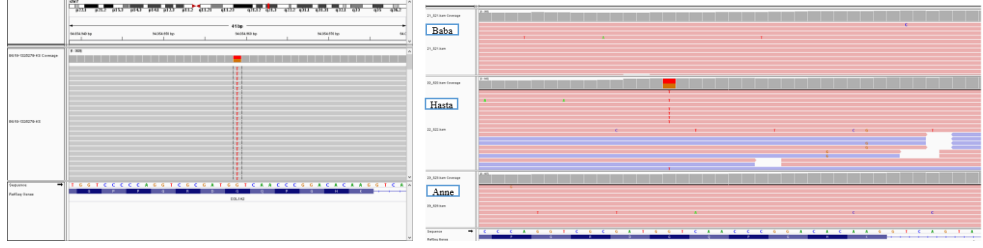


Şekil-46: Olgu 1'in pedigrisi ve iskelet survey görüntüsü.

Klinik ön tanı; Ol tip III

V.A.b. Moleküler Bulgular

Saptanan varyant; *COL1A2* geninde (NM_000089) heterozigot c.2819G>T (p.Gly940Val) varyantı saptandı (Şekil-47).



Şekil-47: NGS'de saptanan varyantının IGV görüntüsü ve aile segregasyon görüntüsü.

Varyantın özellikleri; Varyant hastalıkla ilişkilendirilmiş, yanlış anlamlı, HGMD Professional 2020.2' de hastalık yapıcı mutasyon olarak Osteogenesis Imperfecta tip III kliniği ile ilişkilendirilmiştir (CM1611609).

Varyant doğrulaması; YND okuma derinliği iyi olan varyantın, Sanger dizileme ile doğrulaması yapıldı .

Parental analiz: Sanger dizi analizi normal olarak sonuçlandı (Şekil-47)

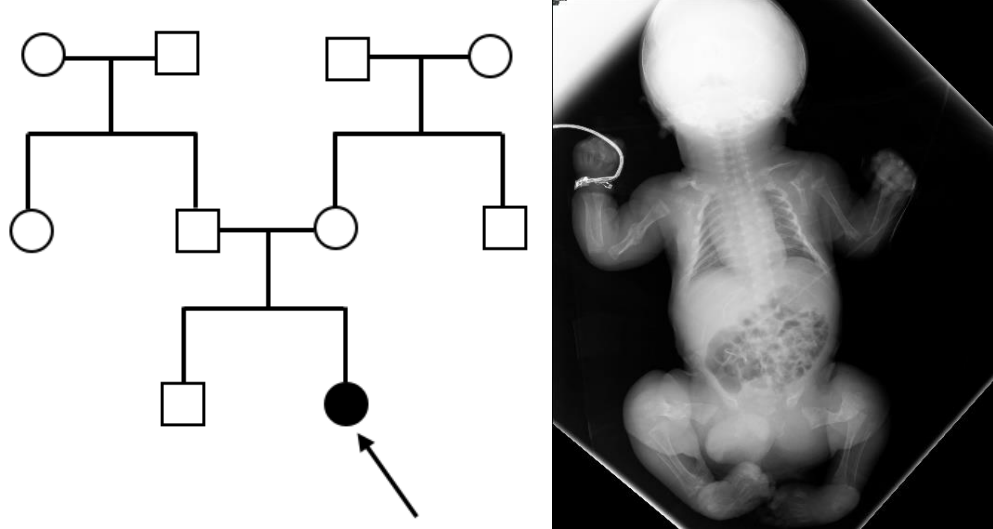
V.B. Olgu (Oİ#4)

V.B.a. Klinik Bulgular

Aile öyküsü; Anne yaşı: 33, Baba yaşı: 37, akraba evliliği olmayan aile, G2P2Y2 (Şekil-48).

Fizik Muayene Bulguları; Olguda mavi sklera, saydam dişler, multipl kırıklara bağlı iskelet deformitesi mevcuttu.

X-Ray Bulguları; Tüm kostalarda ve uzun ekstremelerde incelme, humerus ve femurda hiperplastik kallus, alt ve üst ekstremelerde "bowing" görünümü mevcuttu (Şekil-48).

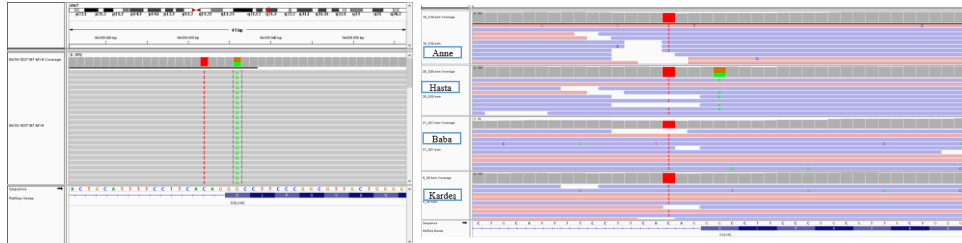


Şekil-48: OI#4'ün pedigrisi ve iskelet survey görüntüsü.

Klinik ön tanı; OI tip IV

V.B.b. Moleküler Bulgular

Saptanan varyant; *COL1A2* geninde (NM_000089) heterozigot c.938G>A (p.Gly313Asp) varyantı saptandı(Şekil-49).



Şekil-49: *COL1A2* geni c.938G>A varyantının IGV görüntüsü ve aile segregasyon görüntüsü.

Varyantın özellikleri; Varyant hastalıkla ilişkisi bilinmeyen, yanlış anlamlı, *de novo* varyanttı. Bu varyant HGMD'de tanımlanmamıştı.

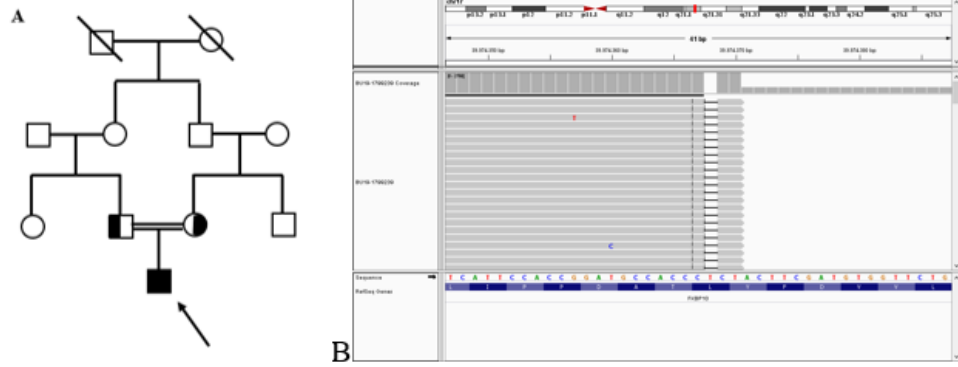
Varyant doğrulaması; YND okuma derinliği iyi olan variant için Sanger dizileme ile doğrulaması yapıldı.

Parental analiz: Sanger dizi analizi ile normal olarak sonuçlandı (Şekil-49).

V.C. Olgu (Ol#7)

V.C.a. Klinik Bulgular

Aile öyküsü; Anne yaşı: 27, Baba yaşı: 31, anne baba arasında akraba evliliği mevcut, G1P1Y1 (Şekil-50 A).



Şekil-50: A, pedigrisi; B, *FKBP10* geni c.419delT varyantının IGV görüntüsü.

Fizik Muayene Bulguları; Kısa boy, pes ekinovarus mevcut olan olguda, yürüme yoktu.

X-Ray Bulguları; Kostalarda yaygın osteopeni, alt ekstremitelerde "bowing" mevcuttu (Şekil-51).



Şekil-51: Alt ekstremitelerde "bowing" görünümü.

Klinik ön tanı; Oİ tip III

V.C.b. Moleküler Bulgular

Saptanan varyant; *FKBP10* geninde (NM_021939) homozigot c.419delT (p.Leu140Profs*19) varyantı saptandı (Şekil 50-B).

Varyantın özellikleri; Varyant hastalıkla ilişkilendirilmiş, çerçeve kaymasına neden olan, *novel* varyanttı. Bu varyant HGMD'de tanımlanmamıştı.

Varyant konfirmasyonu; YND okuma derinliği iyi olan varyanta, Sanger dizileme ile konfirmasyonu yapıldı.

Parental analiz; Sanger dizileme ile anne ve baba da *FKBP10* geni heterozigot c.419delT (p.Leu140Profs*19) varyantı saptandı.

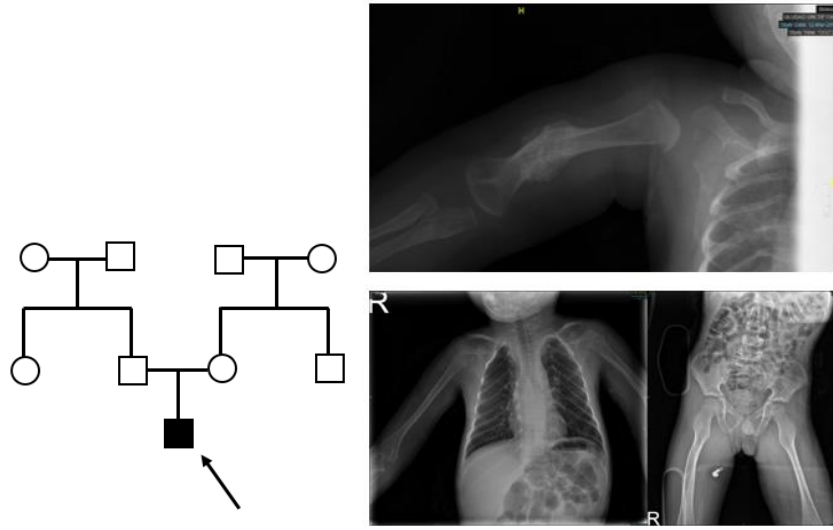
V.D. Olgu (Oİ#8)

V.D.a. Klinik Bulgular

Aile öyküsü; Anne baba arasında akraba evliliği yok, G1P1Y1 (Şekil-52).

Fizik Muayene Bulguları; Olguda mavi sklera, kısa boy, multipl kırıklara bağlı deformiteler mevcuttu.

X-Ray Bulguları; Sol radius ve ulna, sol tibia ve fibula, sağ femurda hiperplastik kallus ve interosseöz membran, tüm kostalarda incelme, kama, bikonkav vertebra izlenmekte idi (Şekil-52).

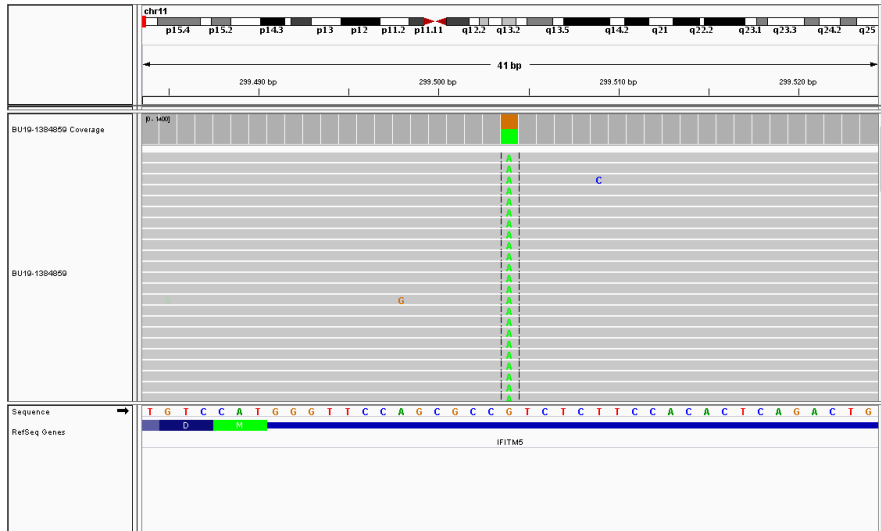


Şekil-52: OI#8'in pedigrisi, hiperplastik kallus ve kostalarda inceltme görüntüsü.

Klinik ön tanı; OI tip III

V.D.b. Moleküler Bulgular

Saptanan varyant; *IFITM5* geninde (NM_001025295.2) heterozigot c.-14C>T (p.?) varyantı saptandı (Şekil-53).



Şekil-53: *IFITM5* geni c.-14C>T varyantının IGV görüntüsü.

Varyantın özellikleri; Hastalıkla ilişkilendirilmiş, kodlama yapmayan bölgede yer alan varyanttı. Bu varyant HGMD Professional 2020.2' de hastalık

yapıcı mutasyon olarak Osteogenesis İmperfekta tip V ile ilişkilendirilmiştir (CR127151).

Varyant konfirmasyonu; YND okuma derinliği iyi olan varyanta, Sanger dizileme ile konfirmasyonu yapıldı.

Parental analiz: Sanger dizi analizi normal olarak sonuçlandı.

V.E. Olgu (Oİ#9)

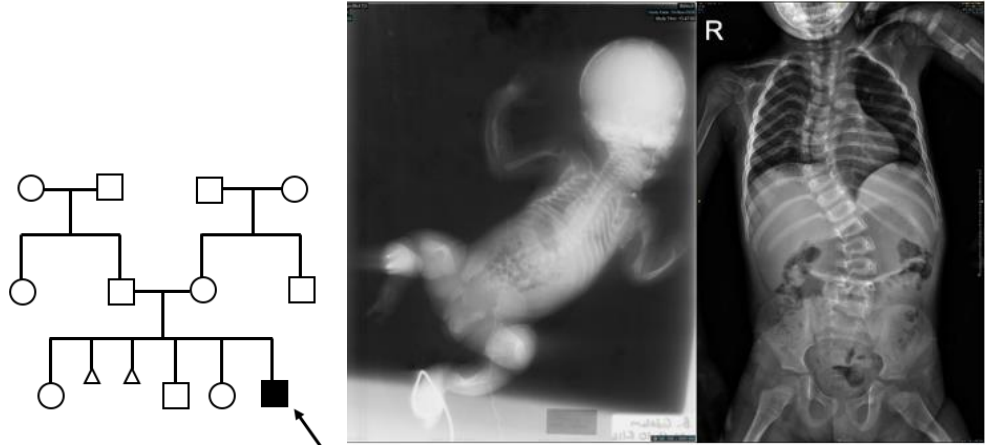
V.E.a. Klinik Bulgular

Aile öyküsü; Anne yaşı: 32, Baba yaşı: 37, akraba evliliği olmayan, G6A2P4Y4 (Şekil-54).

Fizik Muayene Bulguları; Olguda üçgen yüz, belirgin çene, dişler düzensiz ve anomalili, yüksek damak, mavi sklera, skolyoz, genu varum, kırıklara bağlı deformiteler mevcuttu.

Antenatal USG; Toraks hipoplazisi ,tüm ekstremitelerde kemik deformitesi ve kısalık ,vertebral kolon deformitesi, brakisefali saptanmıştı.

X-Ray Bulguları; Tüm kostalarda incelme, skolyoz, bikonkav vertebra, alt ekstremitelerde "bowing" izlenmekte idi (Şekil-54).

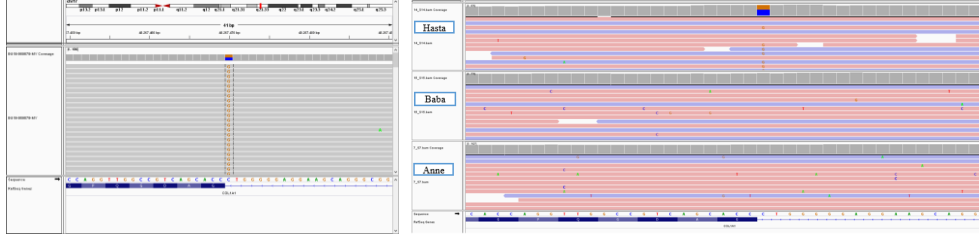


Şekil-54: Oİ#9'un pedigrisi ve ektremitelerde "bowing", skolyoz ve kostalarda incelme.

Klinik ön tanı; Oİ tip III

V.E.b. Moleküler Bulgular

Saptanan varyant; *COL1A1* geninde (NM_000088) heterozigot c.2452-1G>C (p.?) varyantı saptandı (Şekil-55).



Şekil-55: *COL1A1* geni c.2452-1G>C varyantının IGV görüntüsü ve aile segregasyon görüntüsü.

Varyantın özellikleri; Hastalıkla ilişkilendirilmiş, kırılma hatasına yol açması beklenen ("splice site") nokta mutasyonu varyantı. *COL1A1* geninde c.2452-1G>A varyantı HGMD Professional 2020.2' te hastalık yapıcı mutasyon olarak Osteogenezis İmperfekta tip I kliniği ile ilişkilendirilmiştir (CS042154).

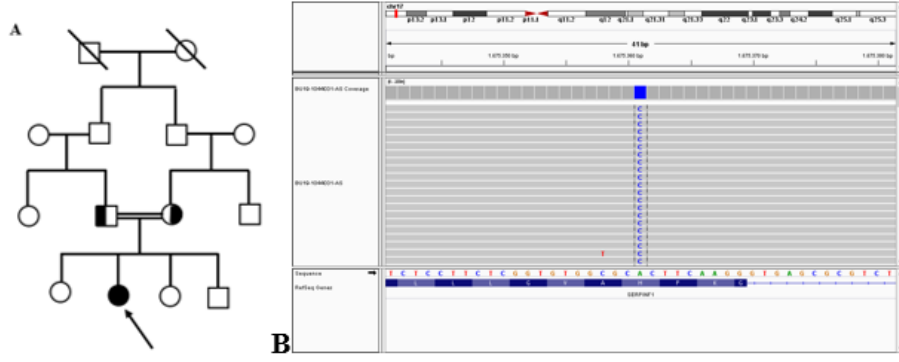
Varyant konfirmasyonu; YND okuma derinliği iyi olan varyanta, Sanger dizileme ile konfirmasyonu yapıldı.

Parental analiz; Sanger dizi analizi normal olarak sonuçlandı (Şekil 55).

V.F. Olgu (Oİ#13)

V.F.a. Klinik Bulgular

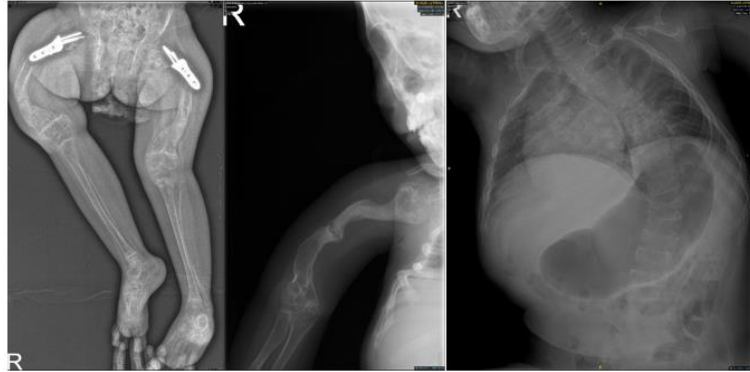
Aile öyküsü; Anne yaşı: 34, Baba yaşı: 38, akraba evliliği olan aile, G4P4Y4 (Şekil-56 A).



Şekil-56: A, vakanın pedigrisi; **B,** *SERPINH1* geninde homozigot c.635A>C varyantının IGV görüntüsü.

Fizik Muayene Bulguları; Olguda kısa boy, pektus karinatum, kemik deformiteleri mevcuttu. Olgunun oturması ve yürümesi yoktu.

X-Ray Bulguları; Osteopeni, üst ve alt ekstremitelerde kısalık ve "bowing", "popcorn" kalsifikasyon izlenmekte idi (Şekil-57).



Şekil-57: Bowing, "popcorn" kalsifikasyon, skolyoz görünümü.

Klinik ön tanı; OI tip III

V.F.b. Moleküler Bulgular

Saptanan varyant; *SERPINH1* geninde (NM_002615) homozigot c.635A>C (p.His212Pro) varyantı saptandı (Şekil 56-B) .

Varyantın özellikleri; Hastalıkla ilişkisi bilinmeyen, yanlış anlamlı, HGMD'de tanımlanmamış varyanttı.

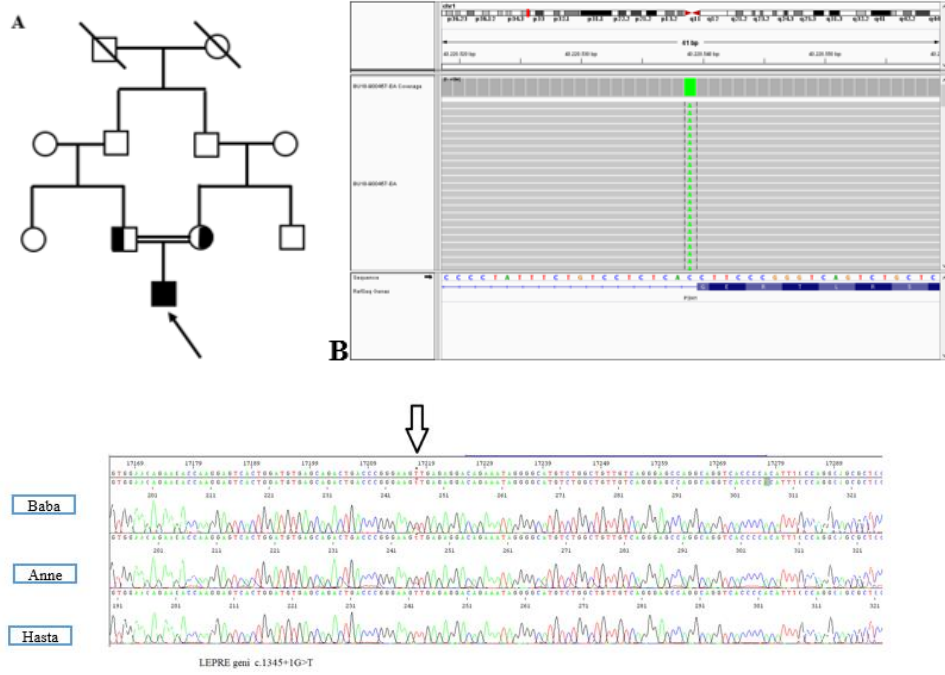
Varyant confirmasyonu; YND okuma derinliği iyi olan varyant için, Sanger dizileme ile confirmasyonu yapıldı.

Parental analiz: Sanger dizi analizi anne ve babada *SERPINH1* geni heterozigot c.635A>C (p.His212Pro) varyantı saptandı.

V.G. Olgu (Oİ#15)

V.G.a. Klinik Bulgular

Aile öyküsü; Anne yaşı: 40, Baba yaşı: 46, akraba evliliği olan aile, G1P1Y1 (Şekil-58 A).

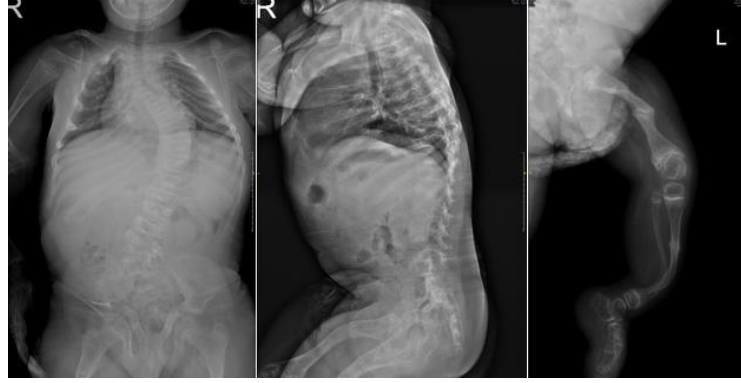


C

Şekil-58: A; Oİ#15 pedigrisi, **B;** homozigot varyantın IGV görüntüsü, **C;** aile segregasyon görüntüsü.

Fizik Muayene Bulguları; Olguda kısa boy, üçgen yüz, mavi sklera, gingival hipertrofi, yüksek damak, pektus karinatum, kifoskolyoz, intrauterin kırıklara bağlı ayaklarda deformiteler mevcuttu.

X-Ray Bulguları; Tüm kemiklerde osteopenik görünüm, ince kostalar, sağa bakan skolyoz, "popcorn" kalsifikasyon, vertebral kompresyon kırıkları, bilateral femur ve sol tibiada kırığa bağlı hiperplastik kallus, alt ve üst ekstremitelerde "bowing" izlenmekte idi (Şekil-59).



Şekil-59: Skolyoz, "popcorn" kalsifikasyon, "bowing" görüntüsü.

Klinik ön tanı; OI tip III

V.G.b. Moleküler Bulgular

Saptanan varyant; *LEPRE1/P3H1* geninde (NM_001146289) homozigot c.1345+1G>T (p.?) varyantı saptandı (Şekil-58 B).

Varyantın özellikleri; Hastalıkla ilişkilendirilmiş, kırılma hatasına yol açması beklenen (SS bölgesi) nokta mutasyonu, HGMD'de tanımlanmamış varyanttı.

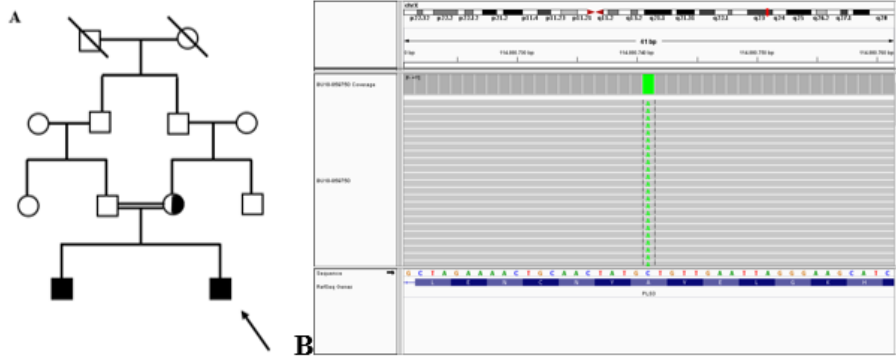
Varyant confirmasyonu; YND okuma derinliği iyi olan varyanta, Sanger dizileme ile confirmasyonu yapıldı.

Parental analiz: Sanger dizi analizi ile anne ve babada *LEPRE1/P3H1* geni heterozigot c.1345+1G>T varyantı saptandı (Şekil-58 C).

V.H. Olgu (OI#16)

V.H.a. Klinik Bulgular

Aile öyküsü; Anne yaşı: 72, Baba yaşı:74, akraba evliliği olan aile, G2P2Y2. Anne ve erkek kardeşi osteoporoz, erkek kardeşinin aynı zamanda kırık öyküsü mevcuttu (Şekil-60 A).



Şekil-60: A; Oİ#16'nın pedigrisi, **B;** varyantın IGV görüntüsü.

Fizik Muayene Bulguları; Olguda kısa boy, mavi sklera, genu varum bulguları mevcuttu.

X-Ray Bulguları; Kemik yapılarında osteoporotik değişiklikler vardır. Lomber düzeyde açıklığı sola bakan hafif skolyotik görünüm dikkati çekmiştir. Torakal kifoz artmıştı. Vertebra korpuslarında osteopeni ile uyumlu radyolüseni artımı mevcuttu. L1 ve L2 vertebra korpusunda grade I yükseklik kaybı, L4 vertebra orta kesiminde ve T6 ve T8 vertebralarda Grade I çökme izlenmekte idi. Ancak intervertebral disk mesafeleri kronik osteoporoza bağlı genişlemişti ve kemik korteksler incelmışti (Şekil-61).



Şekil-61: Osteoporoz ve vertebralarda çökme görüntüsü.

Klinik ön tanı; Oİ tip I

V.H.b. Moleküler Bulgular

Saptanan varyant; *PLS3* geninde (NM_001282337) hemizigot c.1358C>A (p.Ala453Asp) varyantı saptandı (Şekil-60 B).

Varyantın özellikleri; Hastalıkla ilişkisi bilinmiyor, yanlış anlamlı, HGMD'de tanımlanmamış varyanttı.

Varyant konfirmasyonu; YND okuma derinliği iyi olan varyant için, Sanger dizileme ile konfirmasyonu yapıldı

Parental analiz: Sanger dizi analizi ile anne *PLS3* geni c.1358C>A (p.Ala453Asp) varyantı heterozigot, erkek kardeşi hemizigot olarak saptandı.

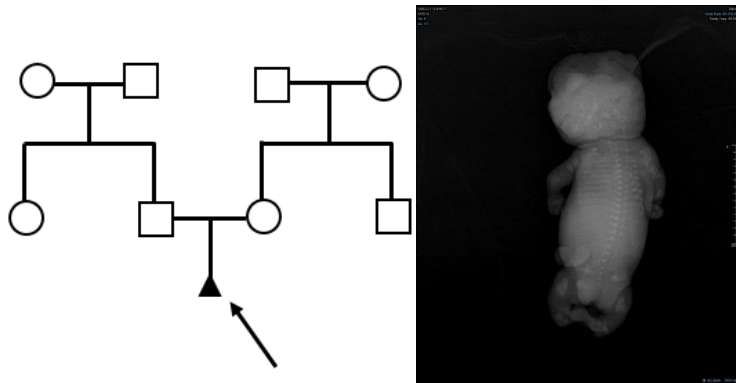
V.I. Fetüs Olgusu (Oİ#23)

V.I.a. Klinik Bulgular

Aile öyküsü; Anne yaşı: 28, Baba yaşı: 35, akraba evliliği yok, G1P1Y0 (Şekil-62).

Fizik Muayene Bulguları; Olgusu 22 haftalık fetüs, üst - alt ekstremitelerde proksimal ve distal kısımlarında kısalık, pes ekinovarius, kraniumda kemikleşme defekti mevcuttu.

X-Ray Bulguları; Her iki alt ve üst ekstremitelerde uzun kemiklerinde kısalık, kalınlaşma, düzensizlik, "bowing" tarzında eğilme ve güve yeniği benzeri lüsent alanlar izlenmekte idi. Benzer bulgular bilateral kostalarda ve iliak kemiklerde de dikkati çekmişti. Kalvaryal kemiklerde osifikasyon saptanmamıştı (Şekil-62).

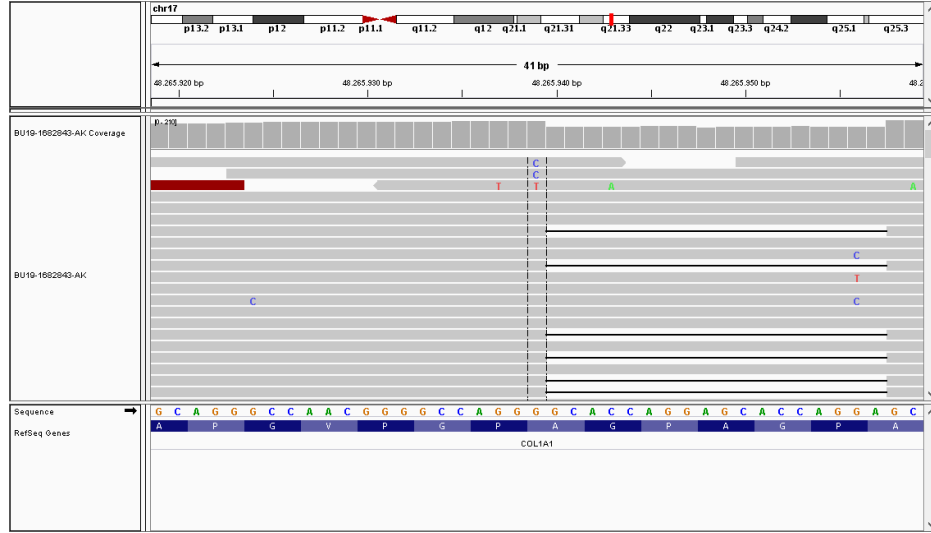


Şekil-62: Oİ#23 fetüsün pedigrisi ve iskelet survey görüntüsü.

Klinik ön tanı; Oİ tip II

V.I.b. Moleküler Bulgular

Saptanan varyant; *COL1A1* geninde (NM_000088) heterozigot c.3141_3158del (p.Ala1050_Gly1055del) varyantı saptandı (Şekil-63).



Şekil-63: *COL1A1* geni c.3141_3158del varyantının IGV görüntüsü.

Varyantın özellikleri; Varyant hastalıkla ilişkilendirilmiş, çerçeve kaymasına neden olan varyant HGMD'de tanımlanmamıştır.

Varyant confirmasyonu; YND okuma derinliği iyi olan varyantiğin Sanger dizileme ile confirmasyonu yapılmadı.

Parental analiz: Sanger dizi analizi ile normal olarak saptandı.

V.J. Olgu (Oİ#26)

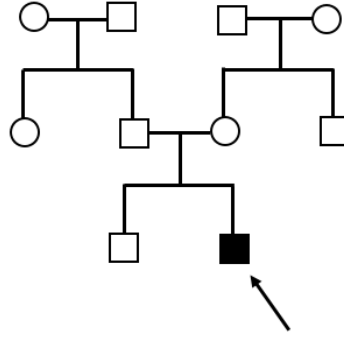
V.J.a. Klinik Bulgular

Aile öyküsü; Anne yaşı: 45, Baba yaşı: 46, akraba evliliği olan aile, G1P1Y1. Babası ve iki halası Oİ tanılı idi (Şekil-64 A).

Fizik Muayene Bulguları; Olguda kısa boy, multiple kırıklara bağlı alt ve üst ekstremitelerde eğrilikler, skolyoz mevcuttu.

X-Ray Bulguları; Alt ve üst ekstremitelerde uzun kemiklerde *bowing*, sola bakan skolyoz izlenmekte idi.

Klinik ön tanı; Oİ tip III



Şekil-65: Oİ#40'ın pedigrisi.

Fizik Muayene Bulguları; Olguda sol kolda kırığa bağlı eğrilik mevcuttu.

X-Ray Bulgular; Kemik yapısında osteopenik görünüm izlenmekte idi.

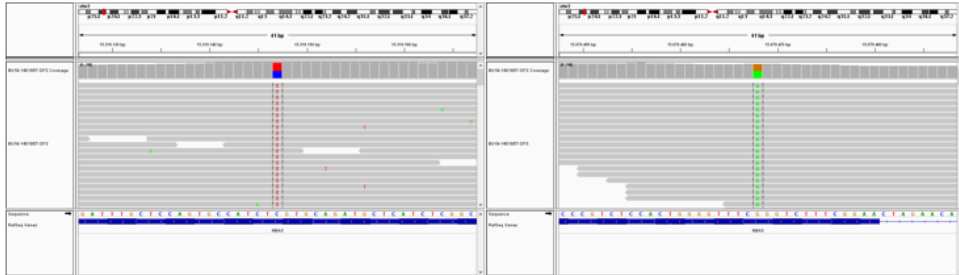
Klinik ön tanı; Oİ tip I

V.K.b. Moleküler Bulgular

Saptanan varyant; *NBAS* geninde (NM_015909.3) heterozigot c.392C>T (p.Pro131Leu) varyantı ve heterozigot c.6805G>A (p.Glu2269Lys) varyantı saptandı (Şekil-66).

NBAS geni c.392C>T

c.6805G>A



Şekil-66: Oİ#40 *NBAS* geni c.392C>T ve c.6805G>A varyantlarının IGV görüntüsü.

Varyantın özellikleri; Hastalıkla ilişkilendirilmemiş, yanlış anlamalı olan varyantlar HGMD'de tanımlanmamıştır. *NBAS* geni Oİ ile ilişkili yeni tanımlanmış bir gen olup, olgularda birleşik heterozigot mutasyon görülmektedir (224).

Varyant konfirmasyonu; YND okuma derinliği iyi olan varyant için Sanger dizileme ile konfirmasyonu yapılamadı.

Parental analiz: Bakılmadı.

TARTIŞMA ve SONUÇ

Osteogenezis imperfekta, OD, OR ve X'e bağılı kalıtım modeli gösteren, oldukça heterojen klinik ve genetik özelliklere sahip kollajen sentez ve yapı kusurları ile karakterize kırılğan kemik sendrom grubunda en sık görülen, nadir genetik bir hastalıktır (1). Olguların bazılarında perinatal dönemde letal formlar görülebilirken, olguların bazı hafif tiplerinde ise ancak erişkin dönemde kemik kırıkları ve osteoporoz fenotipi gibi değişken bulgular görülür (5).

Genetik çalışmalar, heterojen klinik ve genetik özelliklere sahip olan Oİ'nin etiolojisinin nedenleri ve mekanizmasının aydınlatılabilmesi ve osteoporoz ve kemik deformitelerinin önlenmesi için, 20'den fazla genin YND ile analiz edilerek spesifik moleküler patofizyolojisini aydınlatarak hedefe yönelik kişiselleştirilmiş, genotip bazlı tedavi stratejileri geliştirmeye yöneliktir (19, 204).

Oİ'nin klinik ve genetik heterojenitesi ve Tip 1 kollajeni kodlayan genlerin ekzon sayılarının çok ve intronlarının büyük olması nedeniyle YND teknolojisinin genetik biliminde kullanıma girmesi ile Oİ fenotipine sahip olan hastalarda aynı anda, kısa sürede ve nispeten daha ucuza çoklu genin araştırılabilmesi, yeni varyantların tanımlanması, ayırıcı tanı ve hafif alt tiplerinin ayrılmasına olanak tanımıştır. Liu ve ark. tarafından 2017 yılında yapılan çalışmada akraba olmayan 101 aileden 103 olguda Oİ ile ilişkili 14 genin (*COL1A1*, *COL1A2*, *IFITM5*, *SERPINF1*, *CRTAP*, *LEPRE1*, *PPIB*, *FKBP10*, *SERPINH1*, *SP7*, *PLOD2*, *TMEM38B*, *BMP1* ve *WNT1*) tüm ekzonlarının hedeflenerek sekanslaması için YND ile panel çalışılmış, 90 hastada 43 yeni varyant (11 çerçeve kayması, 17 yanlış anlamlı, 5 anlamsız, 9 kırılma hatası ve 1 kromozom translokasyonu) dahil olmak üzere toplam 79 mutasyon tespit edilmiştir. Mutasyonlardan %73,3'ü tip I kollajeni kodlayan genlerde *COL1A1* geninde 37 varyant, *COL1A2* geninde 29 varyant, %26,5'i *IFITM5* (n = 9), *SERPINF1* (n = 4), *WNT1* (n = 4), *FKBP10* (n = 3), *TMEM38B* (n = 3) ve *PLOD2* (n = 1) genlerinde saptanmıştır (225). Li ve ark. tarafından yapılan şimdiye kadar Oİ'den etkilenen Çinli hastaların en büyük kohortu, olan

çalışmaya ise 378 aileden 668 olgu dahil edilmiştir. YND ile Oİ ile ilişkili 17 gene (*COL1A1*, *COL1A2*, *IFITM5*, *SERPINF1*, *CRTAP*, *P3H1*, *PIIB*, *SERPINH1*, *FKBP10*, *PLOD2*, *BMP1*, *SP7*, *TMEM38B*, *WNT1*, *CREB3L1*, *SPARC* ve *MBTPS2*) (tüm ekzonlar, intronlar ve UTR'ler dahil) bakılmış olup, 340 aileden 620 olguda 102 yeni varyant dahil olmak üzere 274 varyant (148 yanlış anlamlı, 21 anlamsız, 40 çerçeve kayması, 6 çerçeve değişkenliği, 50 kırılma hatası, 8 büyük kayıp, 1 büyük artış) tespit edilmiştir. Varyantlardan %84'ü Tip I kollajeni kodlayan genlerde 230 varyantı (*COL1A1* geninde 145, *COL1A2* geninde 85) ve %16'sı kollajeni kodlamayan genlerde (*IFITM5*, *SERPINF1*, *CRTAP*, *P3H1*, *PIIB*, *SERPINH1*, *FKBP10*, *PLOD2*, *BMP1*, *SP7*, *TMEM38B*, *WNT1*, *CREB3L1*, *SPARC* ve *MBTPS2*) 44 varyant saptanmıştır (226). Nawawi ve ark. tarafından yapılan bir diğer çalışmada ise 14 genin tüm ekzonlarının hedefli dizilenmesinde YND tekniği ile 28 aileden 29 olgu çalışılmış, 9'u yeni varyant olmak üzere 22 varyant saptanmıştır. Saptanan varyantlardan %73'ü tip I kollajen kodlayan genlerde *COL1A1* (s=12) ve *COL1A2* (s=4), % 27,2'si kollajen kodlamayan *IFITM5*, *BMP1*, *P3H1* ve *SERPINF1* genlerinde olmak üzere 6 varyant saptanmıştır (227). Yine 2019 yılında Ohata ve ark. tarafından yapılan bir başka çalışmanın sonuçları ise Oİ'li Japon hastaların mutasyon spektrumunu ortaya koymuştur. Oİ ile ilişkilendirilmiş 52 vaka için 16 genin (*COL1A1*, *COL1A2*, *FKBP10*, *SERPINH1*, *IFITM5*, *SERPINF1*, *CRTAP*, *P3H1*, *PIIB*, *SP7*, *PLOD2*, *BMP1*, *CREB3L1*, *TMEM38B*, *WNT1*, *SPARC* ve *MBTPS2*) tüm ekzonlarının hedefli dizilenmesi ile YND ile çalışılmış, 1 vakaya Tüm ekzom çalışılmıştır. 53 vakanın olduğu çalışmada 43 hastada mutasyon saptanmıştır, 15 yeni varyant olmakla 40 varyant (12 yanlış anlamlı, 7 anlamsız, 10 kırılma hatası, 7 çerçeve kayması, 3 çerçeve değişkenliği, 1 başlangıç kodonu) saptanmıştır. Hastalarda saptanan varyantlardan %97,5'i Tip I kollajen kodlayan genlerde (*COL1A1* geninde 27, *COL1A2* geninde 12), %2,5'i *IFITM5* geninde (n=1) görülmüştür (228). Maioli ve ark. tarafından yapılan bir diğer çalışmada ise 364 Oİ İtalyan hastada fenotip-genotip korelasyonu yapılmıştır. Bu çalışmada *COL1A1* ve *COL1A2* genlerinin tüm ekzonlarının hedefli dizilenmesi ile, 309 hastada mutasyon saptanmış, mutasyon saptanmayan 55 hastaya OR ve X'e

bağlı geçiş gösteren genler bakılması için YND ile panel çalışılması yapılmıştır ancak panel sonuçları çalışmada bildirilmemiştir. 309 hastadan 230 hastada *COL1A1* geninde, 79 hastada *COL1A2* geninde mutasyon: %77'si *COL1A1* geninde (143 nokta mutasyon ve 1 ilk 6 ekzonun delesyonu), %23'ü *COL1A2* geninde (42 nokta mutasyon ve 13-14. ekzonların kısmi delesyonu) olmak üzere 187 varyant saptanmıştır (229).

Bizim çalışmamızda ise 52 aileden 14 hastada *COL1A1* ve *COL1A2* genleri YND analizi ile çalışılmıştır, 38 hastaya 14 genin (*COL1A1*, *COL1A2*, *IFITM5*, *P3H1/LEPRE1*, *SERPINF1*, *CRTAP*, *TMEM38B*, *PIIB*, *PLOD2*, *PLS3*, *SERPINH1*, *FKBP10*, *BMP1*, *SP7*) tüm ekzonlarının hedefli YND paneli, 3 vakaya YND ile CES, 2 vakaya WES çalışıldı. 54 hastadan 41 hastada mutasyon saptandı, 18 yeni varyant olmakla birlikte toplam 39 varyant [20'si yanlış anlamlı (%54), 8'i çerçeve kayması (%19,5), 8'i kırılma hatası (%19,5), 3'ü kodlama yapmayan bölge (%7)] saptandı. Saptanan varyantların %70'i Tip I kollajen kodlayan genlerde (*COL1A1* geninde 17 varyant, *COL1A2* geninde 10 varyant), %30'unda kollajen olmayan genlerde [*LEPRE1/P3H1* geninde 4 (%10), *FKBP10* geninde 3 (%7), *SERPINH1* geninde 2 (%5), *IFITM5* geninde 1 (%2,7), *PLS3* geninde 1 (%2,7), *NBAS* geninde 1 (%2,7)] mutasyon saptandı. Bu bulgular literatürdeki benzer çalışmalarla uyumludur.

Klinik sınıflandırma, Sillence ve ark. tarafından 1979 yılında klinik, genetik ve radyolojik özellikleri dikkate alınarak 4 alt grupta yapılmıştır. 2019 yılında Li ve ark. tarafından, 668 vakalık bir çalışmada klinik sınıflandırma yapılan 348 vakanın 137'sinde hafif tip Oİ tip I (%39), 211'inde (3 vaka Oİ tip II, 75 vaka Oİ tip III, 123 vaka Oİ tip IV, 10 vaka Oİ tip V) orta ağır ve ölümcül tip olarak sınıflandırılmıştır (226). Lindahl ve ark. tarafından yapılan bir diğer çalışmada ise 223 vakanın klinik tip sınıflandırılmasında 151 vaka Oİ tip I, 1 vaka Oİ tip II, 29 vaka Oİ tip III, 42 vaka Oİ tip IV olarak yorumlanmıştır (230). Liu ve ark. tarafından yapılan bir başka çalışmada ise 103 vakadan 29'u Oİ tip I, 39'u tip III, 35'i tip IV olarak klinik sınıflandırılmıştır (225). Maioli ve ark. tarafından 2019 yılında yapılan 364 vakalık diğer bir çalışmada ise 262 vaka Oİ tip I, 24 vaka tip II, 39 vaka tip III ve 39 vaka tip IV olarak sınıflandırılmıştır (229). Rauch ve ark. tarafından yapılan bir başka çalışmada ise 192 vakadan

78'i Oİ tip I, 46'sı tip III, 68'i tip IV olarak klinik sınıflandırılmıştır (231). Bizim çalışmamızda 54 vakanın klinik sınıflandırılmasında 24 olgu Oİ Tip I, 3 olgu Oİ Tip II, 16 olgu Oİ Tip III, 9 olgu Oİ Tip IV olarak değerlendirilmiştir.

Mavi sklera, Oİ'de en önemli klinik bulgularından biridir ve Oİ tip I hastalarında daha sık görülür, tip III ve IV hastalarında doğumda mavi sklera görülebilir, ancak bazı hastalarda ilerleyen yaşlarda mavi sklera kaybolur. Dİ ise Oİ tip III ve IV'de daha sık görülür. Maioli ve ark. tarafından 171'i çocuk ve 163'ü yetişkin olan sklera ile ilişkili verileri olan 364 Oİ vakasında yapılan çalışmada 334 hastalık grupta 245'i mavi, 44'ü beyaz ve 45'inde gri sklera bildirilmiştir. Mavi sklera varlığı klinik olarak Oİ tip I'de %79,2, Oİ tip III'de %54,3 ve Oİ tip IV'de %50,0 olarak görülmüştür. Dİ ise, değerlendirilen 237 hastadan 18'i yetişkin ve 40'ı çocuk olan 58'inde (%24,5) tespit edilmiştir (229). 2019 yılında Ohata ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada ise yine 51 hastada sklera değerlendirilmiş, 42 (%82,4) hastada mavi sklera belirtilmiştir, Oİ tip I 30/34 (%88,2), Oİ tip III 8/8 (%100), Oİ tip IV 4/9 (%44,4) görülmüştür. Dİ ise değerlendirilen 50 hastanın 15'inde görülmüş, Oİ tip I 4/33 (%12,1), tip III 7/8 (%87,5), tip IV 4/9 (44,4%) hastada tespit edilmiştir (228).

Bizim çalışmamızda 54 hastanın 49'unda sklera ve Dİ değerlendirilmiş, 30 olguda mavi sklera ve 7 olguda Dİ görülmüş olup, mavi sklera Oİ tip I 17/25 (%68,0), Oİ tip II 5/15 (%33,3), Oİ tip IV 8/9 (%88,9), Dİ Oİ tip I 4/25 (%16,0), Oİ tip III 2/15 (%13,3), Oİ tip IV 1/9 (%11,1) olarak görülmüştür. Bizim çalışmamızda mavi sklera Oİ tip IV'de daha sık görülüp, sıklığına göre daha sonra Oİ tip I ve tip III'de sık görülmüştür. Dİ ise sıklığına göre daha sık Oİ tip I, tip III ve tip IV'de görülmüştür. Bunun nedeni çalışmamızın %63'ünün (34) çocuk hastaları kapsamı olup, ilerleyen yaşlarda sklera ve diş kontrolünün yapılması planlanmıştır.

COL1A1 ve COL1A2 Gen Mutasyonları

Tip I kollajeni kodlayan *COL1A1* ve *COL1A2* genlerindeki mutasyonlar hastalığın etiolojisinden çoğunlukla sorumludur. Bizim çalışmamızda *COL1A1* geninde %46,0 ve *COL1A2* geninde %24,0 vakada mutasyon olmakla birlikte toplam %70,0 vakada iki gende mutasyon saptanmıştır.

Çalışmamız retrospektif olduğu için ve OI#35'in baba ve halasının sanger dizi analizi sonucu çalışmadan sonra çıktığından istatistiğe dahil edilmemiştir. Daha önce yapılan çalışmalarda Tip I kollajen kodlayan genler yaklaşık hastalığın %73-97,5'inden sorumlu bulunmuş, *COL1A1* genindeki mutasyonlar *COL1A2* gen mutasyonlarına göre daha çok görülmüştür (225-229). Bizim çalışmamızda da literatürle benzer şekilde *COL1A1* ve *COL1A2* gen mutasyonlarının toplamı bütün vakaların %70'ini oluşturmaktadır.

Çalışmamızda *COL1A1* geninde saptanan 17 varyantın 8'inde (7 yanlış anlamlı, 1 çerçeve kayması) ve *COL1A2* geninde saptanan 10 varyantın 7'sinde (6 yanlış anlamlı, 1 çerçeve kayması) üçlü sarmal alandaki glisin dönüşümüne sebep olan mutasyon bulundu. *COL1A1* gen mutasyonu olan olguların 7'sinde mavi sklera, 2'sinde Dİ, 6'sında boy kısalığı, 2'sinde skolyoz ve 6'sında kırıklara bağlı ekstremitte deformiteleri görülmüş olup, 6'sı OI tip I, 3'ü tip IV ve 1'i tip III olarak sınıflandırılmıştır. *COL1A2* gen mutasyonu olan olguların 4'ünde mavi sklera, 7'sinde boy kısalığı, 1'inde Dİ, 4'ünde skolyoz, 5'inde kırıklara bağlı ekstremitte deformiteleri görülmüş olup, 2'si OI tip I, 3'ü OI tip III ve 2'si OI tip IV olarak sınıflandırılmıştır. Nadiah ve ark. (227) yaptığı çalışmada *COL1A1* geninde saptanan 12 varyantın 7'sinde glisin dönüşümleri görülmüş olup, olguların 1'i OI tip I, 5'i OI tip III, 1'i OI tip IV olarak sınıflandırılmış ve 6'sında Dİ, 6'sında kırıklara bağlı kemik deformitesi görülmüştür. *COL1A2* geninde 4 varyantın 3'ünde glisin dönüşümleri görülmüş olup, olguların tamamı OI tip III olarak sınıflandırılmış ve tamamında Dİ ve kırıklara bağlı kemik deformitesi görülmüştür. Bizim çalışmamızda glisin dönüşümü olan olguların %75'inde OI tip I görülse de, literatürde %14'ün oluşturmaktadır. Diğer kemik deformiteleri literatüre benzer şekilde görülmüştür.

Marini ve ark. (232) yaptığı çalışmada *COL1A2* geni Glisinin Valin dönüşümü saptanan 40 hastanın 7'si (%17,5) letal olarak belirtilmiştir, bizim çalışmamızda ise 1 hastada (OI#1) Glisin Valin dönüşümü N terminale yakın olarak saptanmış olup, hasta eksitus olmuştur.

OI hastalarında görülen kemik kırıkları ve deformiteleri genellikle erken yaşlarda ortaya çıkar ve en sık uzun kemiklerde görülen kemik kırılmaları ve

tekrarlanan kemik modellemesinden kaynaklanır (4, 19). Nadiah ve ark. (227) yaptığı bir çalışmada hastaların %63,6'sının kemik deformiteleri olduğunu ve yardımla yürümek zorunda kaldıklarını göstermişlerdir. Bizim çalışmamızda *COL1A1* gen mutasyonu olan hastaların %15,8'i, *COL1A2* gen mutasyonu olanların ise %30'u yürüyememekte idi. *COL1A1* mutasyonu olan hastaların %47,37'sinde, *COL1A2* mutasyonu olanların ise %80'inde ekstremitelerde deformite saptanmıştır.

Akraba evliliği olan aileden etkilenen 4. olgu olan Oİ#26'da mavi sklera, boy kısalığı, tekrarlayan kırıklar ve kırıklara bağlı alt ve üst ekstremitelerde eğrilikler mevcuttu. Olgunun babası ve iki halası Oİ ön tanılı idi. Bizim olguda *COL1A2* geninde homozigot c.488G>A (p. Gly163Asp) varyantı saptandı. Anne *COL1A2* geni c.488G>A varyantı normal, baba *COL1A2* geni c.488G>A varyantı heterozigot olarak saptandı. Saptanan bu varyant *in silico* analizlerde hastalık yapıcı, ClinVar veri tabanı ve HGMD'de tanımlanmamıştı, Varsome ve Franklin by Genoox veri tabanlarına göre önemi belirsiz yeni varyant olarak yorumlanmıştır. Şimdiye kadar yapılan çalışmalarda literatürde birkaç vakada homozigot farklı varyantlar bildirilmiştir. Costantini ve ark. tarafından yapılan çalışmada mavi sklera, hafif kısa boy, tekrarlayan kırık ve iskelet deformitesi olan, akraba evliliği mevcut aileden etkilenen 31 yaşındaki kadın olguda *COL1A2* geninde homozigot c.604G>A (p.Gly202Ser) varyantı saptanmıştır. $\alpha 1$ (I) zincirinin bialelik mutasyonları muhtemelen letal olsa da, $\alpha 2$ (I) zincirinin homozigot mutasyonları az sayıda ailede tanımlanmıştır. *COL1A2* geninde homozigot mutasyon saptanan olgularda tipik Oİ'de görülen kırıklardan farklı olarak asetabulum, pelvis, skafaoid kırıkları gibi atipik bölge kırıkları görülmüştür (233). Bizim olgumuzda sadece uzun kemik kırıkları görülmüştür. Ebeveynlerin mutasyon taşıyıcılığına bakıldığında annenin normal olması ve babanın heterozigot olması, vakada görülen homozigot mutasyon karakterinin *de novo*, uniparental dizomi yada gonadal mozaizimden kaynaklandığını göstermektedir.

SERPINH1 Gen Mutasyonu

SERPINH1 mutasyonuna sahip olgular daha ağır klinik tabloya ve intrauterin bulgulara sahiptirler (215). Çalışmamızda birinde akraba evliliği olmayan ve birinde akraba evliliği olan, farklı aileden 2 hastada 3 farklı mutasyon saptanmıştır. Li ve ark. tarafından yapılan çalışmada *SERPINH1* mutasyonu görülen hastalar Oİ tip II (n=1) ve Oİ tip III (n=1) olarak sınıflandırılmıştır (226). Bizim çalışmamızda olgu Oİ#3 klinik olarak Oİ tip I ve olgu Oİ#13 ise Oİ tip III olarak sınıflandırılmıştır. Literatürde Oİ tip II ve Oİ tip III belirtilirken, bizim çalışmada Oİ tip I ve Oİ tip III görülmüştür.

Christiansen ve ark. tarafından yapılan çalışmada, akraba bir Suudi Arabistanlı çiftten doğan ve ailede etkilenen tek üye olan, intrauterin etkilenen ciddi kemik deformeleri olan Oİ kliniğine sahip çocuk belirtilmiştir. Olguda üçgen yüz, makrosefali, mavi sklera, Dİ, kısa uzuvlara sahip, dar toraks, hidronefroz bulguları mevcuttur; ve hasta solunum yetmezliğinden ölmüştür (215). Bizim çalışmamızda, 2 yaşından kırıkları olan olgu Oİ#3'de, sağ femurda kırığa bağlı eğrilik bulgusu mevcut ve birleşik heterozigot c.1153G>A (p.Asp385Asn)/c.1231G>A (p.Gly411Ser) yeni varyantlar saptanmıştır. *In silico* analizlerde her iki mutasyonun da hastalık yapıcı olduğu, ClinVar veri tabanı ve HGMD'de tanımlanmamıştır, ACMG kriterleri ve Franklin by Genoox veri tabanlarına göre ÖBV olarak yorumlanmıştır. Bu olguda kısa boy, mavi sklera, Dİ görülmemiştir. Olgu Oİ#13'de kısa boy, pektus karinatum, kemik deformiteleri bulguları görülmüştür. Grafide ise üst ve alt ekstremitelerde kısalık ve "bowing", "popcorn" kalsifikasyon görülmüştür. Olgu kırıklara bağlı oturamamakta ve yürüyememekte idi. Bu olguda homozigot c.635A>C (p.His212Pro) yeni varyant saptanmıştır. *In silico* analizlerde varyantın da hastalık yapıcı olduğu, ClinVar veri tabanı ve HGMD'de tanımlanmamıştır, ACMG kriterleri ve Franklin by Genoox veri tabanlarına göre ÖBV olarak yorumlanmıştır. Olguda mavi sklera ve Dİ görülmemiştir.

Li ve ark. tarafından yapılan çalışmada klinik bulgular verilmemişken, Christiansen ve ark. tarafından yapılan çalışmada verilen bulgulardan boy kısalığı ve kırıklara bağlı ekstremitte deformiteleri bizim olgularımızda görülürken, mavi sklera, Dİ ve dar toraks bizim olgularımızda görülmemiştir.

Literatürde SERPINH1 geninde meydana gelen varyasyonların sebep olduğu Oİ kliniği nadir görülmektedir. Bugüne kadar HGMD Professional 2020.3 veri tabanında SERPINH1 geninde 9 hastada Oİ kliniği ile ilişkilendirilmiş 11 varyant bildirilmiştir (234). Bizim çalışmamızda sadece 2 hastada Oİ kliniği ile ilişkili varyant tespit edilmiştir. Çalışmamızda tesbit edilen oran literatür ile uyumludur.

FKBP10 Gen Mutasyonu

Akraba evliliği olan ailenin etkilenen tek bireyi olan olgu Oİ#7 kısa boy, pes ekinovarus, alt ekstremitelerde eğrilik, çoklu kırıklar şikayeti olan hastada *FKBP10* geninde homozigot c.419delT (p.Leu140Profs*19) mutasyonu görülmüş olup, *in silico* analizlerde mutasyonun hastalık yapıcı olduğu, ClinVar veri tabanı ve HGMD'de tanımlanmamıştır, ACMG kriterlerine göre patojenik ve Franklin by Genoox veri tabanına göre olası patojenik olarak yorumlanmıştır. Bu varyant daha önce tanımlanmamıştır. Hasta 2 yaşında olmasına rağmen kırıkların oluşturduğu deformitelerden yürüyememekte idi. Olgu Oİ#14'de akraba evliliği olan ailenin etkilenen tek bireyi, kısa boy, kısa boyun, kısa gövde, pektus karinatum, kifoskolyoz, eklemlerde hiperlaksite, pes valgus, bilateral koks valga bulguları mevcut olup, EKO'da DKMP görülmüştür. *FKBP10* geninde homozigot c.1586_1589delAAGT (p.Gln529Argfs*18) mutasyon saptanmıştır. *In silico* analizlerde mutasyonun hastalık yapıcı olduğu, HGMD'de tanımlanmamıştır, ACMG kriterlerine göre patojenik ve Franklin by Genoox veri tabanına göre ÖBV olarak yorumlanmıştır. Bu varyant ClinVar veri tabanında tanımlanmıştır. Diğer olgu Oİ#41 intrauterin kırıklara bağlı ekstremitelerde eğrilik, konjenital eklem kontraktürleri, pektus ekskavatum, hiperfleksi bulguları mevcut olup, grafide sağ taraflı kostalarda kırığa bağlı kallus, pektus ekskavatum, sağ fibulada hiperplastik kallus, bilateral femoral, radial ve ulnal, bilateral fibula ve tibial "bowing" görülmüştür. Olguda *FKBP10* geninde homozigot c.21dup (p. Ser8Glnfs*67) mutasyon saptanmıştır. Saptanan varyant HGMD Professional 2020.2' te hastalık yapıcı mutasyon olarak Osteogenezis İmperfekta, otozomal resesif tip kliniği ile ilişkilendirilmiştir. Hastalarımız klinik olarak Oİ tip III olarak sınıflandırılmıştır.

Literatürde *FKBP10* gen mutasyonları tamamen çerçeve kayması mutasyonlar olarak gösterilmiş ve ağır Oİ sendromu ile ilişkilendirilmiştir. Bizim olgularımızın da tamamında çerçeve kayması mutasyonları görülmüş olup klinik olarak Oİ tip III olarak sınıflandırılmıştır. Shaheen ve ark. yaptığı çalışmada kontraktürü olan hastalara Oİ benzeri Bruck sendromu düşünülürken Alanay ve ark. bu hastaların kliniğinin Oİ sendromu ile uyumlu olduklarını ve kontraktürlerin kırıklara bağlı geliştiğini belirtmiştir (235). Ayrıca olgu Oİ#41'de kontraktür görülmüş ve bunun intrauterin kırıklara bağlı olduğu düşünülmüştür. Diğer taraftan literatürde henüz bildirilmiş bir vaka olmamasına rağmen olgu Oİ#14'de görülen DKMP ile ilişkili ikinci bir gen mutasyonu açısından KMP genleri araştırılmalıdır.

***LEPRE1/P3H1* Gen Mutasyonu**

Akraba evliliği olan 3 farklı aileden 3 olguda (Oİ#11, Oİ#15, Oİ#25) ve akraba evliliği olmayan aileden tek olguda (Oİ#38) kısa boy, skolyoz, Dİ, kırıklara bağlı alt ve üst ekstremitelerde eğrilik bulguları mevcuttu. Olgu Oİ#15, Oİ#25 ve Oİ #38'de mavi sklera, Oİ#15'de hiperplastik kallus, Oİ#38'de grafide bilateral humerusta bulboz metafizler, Oİ#15'de grafide "popcorn" kalsifikasyon izlenmişti, Oİ#11 ve Oİ#25 kırıklara bağlı yürüyememekte idi. Olgu Oİ#11'de *LEPRE1/P3H1* geni c.2073G>A (p.Ala691Ala) varyantı saptandı. Saptanan varyantın *in silico* analizlerde hastalık yapıcı olduğu bildirilirken, ClinVar veri tabanında patojenitesi belirtilmemiştir ve HGMD'de tanımlanmamıştır, ACMG kriterlerine göre olası benign ve Franklin by Genoox veri tabanına göre olası patojenik olarak yorumlanmıştır. Olgu Oİ#15'de *LEPRE1/P3H1* geni c.1345+1G>T (p.?) yeni varyant saptandı. Saptanan varyant *in silico* analizlerde mutasyonun hastalık yapıcı olduğu, ClinVar veri tabanı ve HGMD'de tanımlanmamıştır, ACMG kriterlerine göre patojenik ve Franklin by Genoox veri tabanına göre olası patojenik olarak yorumlanmıştır. Olgu Oİ#25'de *LEPRE1/P3H1* geni c.1224G>C (p.Lys408Asn) yeni varyant saptandı. Saptanan varyant *in silico* analizlerde mutasyonun hastalık yapıcı olduğu, ClinVar veri tabanı ve HGMD'de tanımlanmamıştır, ACMG kriterleri ve Franklin by Genoox veri tabanına göre ÖBV olarak yorumlanmıştır. Olgu

Oİ#38'de *LEPRE1/P3H1* geni birleşik heterozigot c.492_495dupTGCA (p.Ala166Cysfs*11)/c.446T>G (p.Leu149Arg) varyantlar saptanmıştır. *In silico* analizlerde her iki mutasyonun da hastalık yapıcı olduğu, ClinVar veri tabanı ve HGMD'de tanımlanmamıştır, c.492_495dupTGCA varyantı ACMG kriterlerine göre patojenik, Franklin by Genoox veri tabanına göre olası patojenik varyant olarak yorumlanmıştır. Diğer c.446T>G varyantı ClinVar veri tabanında tanımlanmamıştır ancak Ege Üniversitesi Çocuk Genetik Anabilim Dalı ve İstanbul Üniversitesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı'nın Oİ ile ilişkili yapılan çalışmalarında bildirilmiştir (236, 237). ACMG kriterleri ve Franklin by Genoox veri tabanına göre ÖBV olarak yorumlanmıştır. Olguların kırıkları halen devam etmektedir. Literatürlerde *P3H1* gen mutasyonu olan Oİ olguları tip VIII, klinik olarak orta ağır/letal fenotipik özelliklere sahiptir (19). Yapılan çalışmalarda *P3H1* gen mutasyonu olan olgularda da erken yaş döneminde başlayan, tekrarlayan kırıklar ve kırıklara bağlı olgularda yürüyememek gibi ağır klinik bulgular görülmüştür (227). Literatürle benzer şekilde *P3H1* gen mutasyonlarını taşıyan olgularımızın tamamı ağır seyirli idi ve 2 olguda yürüyememe bulgular mevcuttu. Literatürde *P3H1* geni c.1080+1G > T homozigot intronik varyant saptanan olgunun perinatal letal olduğu bildirilmiştir (238). Ancak bizim çalışmamızda *LEPRE1/P3H1* geni c.1345+1G>T (p.?) homozigot intronik varyantı saptanan Oİ#15 olgumuz halen yaşamaktadır letal olmamıştır.

***IFITM5* Gen Mutasyonu**

Olgu Oİ#8'de 18 aylıkken kırık şikayetleri başlayan, mavi sklera, kısa boy bulguları mevcut olan hastanın kırık sonrası alt ve üst ekstremitelerde hiperplastik kallus ve interosseöz membran gelişmişti. *IFITM5* geninde heterozigot c.-14C>T (p.?) varyantı saptanmış olup bu varyant HGMD Professional 2020.2' de hastalık yapıcı mutasyon olarak Osteogenesis İmperfekta tip V ile ilişkilendirilmiştir (CR127151). *In silico* analizlerde mutasyonun hastalık yapıcı olduğu bildirilirken, ClinVar veri tabanına göre patojenik, ACMG kriterleri ve Franklin by Genoox veri tabanlarına göre olası patojenik olarak yorumlanmıştır. Literatürlerde de Oİ tip V olarak belirtilen,

IFITM5 c.-14C>T varyantı saptanan olgularda kırık veya cerrahi işlem sonrası hiperplastik kallus ve interosseöz membran geliştiği belirtilmektedir fakat rapor edilen olgularda mavi sklera görülmemiştir (206, 225, 227). Bizim çalışmamızda literatürden farklı olarak ilgili olguda mavi sklera görülmüştür. Diğer bütün klinik özellikler ve 5'UTR bölgesinde saptanan varyasyon literatürle uyumludur.

PLS3 Gen Mutasyonu

Mavi sklera, boy kısalığı, hafif skolyoz, genu varum, bir defa kırık öyküsü ve osteoporoz bulguları olan olgu Oİ#16'da *PLS3* geninde önemi belirsiz hemizigot c.1358C>A (p.Ala453Asp) yeni varyant saptandı. *In silico* analizlerde mutasyonun hastalık yapıcı olduğu, ClinVar veri tabanı ve HGMD'de tanımlanmamıştır, ACMG kriterleri ve Franklin by Genoox veri tabanlarına göre ÖBV olarak yorumlanmıştır. Olgunun annesi ve erkek kardeşinin osteoporoz öyküsü aynı zamanda erkek kardeşinin kırık öyküsü de mevcuttu. *PLS3* gen mutasyonu çok faktörlü osteoporozda yer alan yeni bir etiyolojik faktör olduğunu gösterir (239).

NBAS Gen Mutasyonu

7 yaşında kırıkları başlayan, kırıklara bağlı sol kolunda eğrilik ve osteopenisi olan olgu Oİ#40 akraba evliliği olmayan ailenin tek etkilenen üyesidir. Oİ panelde (14 gen) mutasyon saptanmayan hastaya CES çalışılmıştır. Olguda *NBAS* geninde heterozigot c.392C>T (p.Pro131Leu) varyantı ve heterozigot c.6805G>A (p.Glu2269Lys) varyantı saptandı. *In silico* analizlerde her iki mutasyonun da hastalık yapıcı olduğu, ClinVar veri tabanında patojenitesi belirtilmemiştir ve HGMD'de tanımlanmamıştır, ACMG kriterlerine göre ÖBV ve Franklin by Genoox veri tabanına göre c.392C>T varyantı ÖBV, c.6805G>A varyantı benign olarak yorumlanmıştır. Aile bireyleri gelmediği için parental analizi yapılamamıştır. *NBAS* geni HGMD Professional 2020.2 veri tabanında Oİ ile ilişkili yeni tanımlanmış bir gen olarak bildirilmiş olup, olgularda birleşik heterozigot mutasyonlar raporlanmıştır. *NBAS* mutasyonlu hasta fibroblastları ve kontrol hücrelerinde yapılan RNAseq

çalışmaları sonucunda kemik hücrelerinde kollajen ekspresyonunun azaldığı gösterilmiştir, ayrıca *NBAS* proteinin kemirgenlerin ve primatların osteoblastlarında ve osteositlerinde ifade edildiği gösterilmiştir. Bu bulgular, *NBAS* mutasyonlarının kemikte mekanik etkilere sahip olduğuna ve *NBAS* varyantlarının klasik Oİ'den ayırt edilebilen kemik kırılabilirliğinin yeni bir nedeni olduğuna dair kanıt sunmuştur (224).

Literatürde olgularda osteopeni, ostoporoz, kemik kırılabilirliği, immün yetmezlik ve gelişim geriliği görülmüştür (224). Bizim vakamızda immün yetmezliği ve gelişim geriliği görülmemiştir. Vakanın diğer bulguları literatür ile uyumludur.

Sonuç olarak bu çalışma, Oİ prevalansına ilişkin moleküler analiz içeren geniş kapsamlı bir çalışma olmuştur. Hedeflenmiş YND yöntemi ile 54 olgunun 41'inde 18 yeni varyant olmakla birlikte 41 varyant belirlenmiş, hastaların %76,0'sına genetik tanı konulmuştur. Bu çalışma sonucunda Oİ kliniği olan ve mutasyon saptanamayan olgularda tüm ekzom dizi analizi yöntemi ile ileri genetik analiz planlandı. YND yöntemi ile kapsamlı hedefe yönelik panel çalışılması genetik tanı konulma oranının yükseltilmesine faydalı olmaktadır. Genotip-fenotip korelasyonu, hastalığın şiddetine karşı etkilenen mutasyon tipine ilişkin önceki çalışmaları doğrulamıştır.

KAYNAKLAR

1. Sillence DO, Lamande SR. Evolution of the Present Understanding of the Clinical and Genetic Heterogeneity and Molecular and Biochemical Basis of Osteogenesis Imperfecta. In: Jay R. Shapiro, Peter H. Byers, Francis H (eds). *Osteogenesis Imperfecta, A Translation Approach to Brittle Bone Disease*. Elsevier; 2014. 6-7.
2. Sillence DO, Senn A, Danks DM. Genetic heterogeneity in osteogenesis imperfecta. *J Med Genet* 1979;16:101–16.
3. Baljet B. Aspects of the history of osteogenesis imperfecta (Vrolik's syndrome). *Ann Anat* 2002;184:1-7.
4. Jain M, Tam A, Shapiro JR, et al. Members of the Brittle Bone Disorders Consortium, Nagamani SCS. Growth characteristics in individuals with osteogenesis imperfecta in North America: results from a multicenter study. *Genet. Med* 2019;21:275-83.
5. Bishop N, Sprigg A, Dalton A. Unexplained fractures in infancy: looking for fragile bones. *Arch Dis Child* 2007;92:251-6.
6. Barbosa-Buck CO, Orioli IM, da Graça Dutra M, et al. Clinical epidemiology of skeletal dysplasias in South America. *DPAm J Med Genet A* 2012;158:1038-45.
7. Shapiro JR, Clinical and Genetic Classification of Osteogenesis Imperfecta and Epidemiology. Jay R. Shapiro, Peter H. Byers, Francis H (eds). *Osteogenesis Imperfecta, A Translation Approach to Brittle Bone Disease*. Elsevier; 2014. 28.
8. Van Dijk FS, Sillence DO. Osteogenesis imperfecta: clinical diagnosis, nomenclature and severity assessment. *Am J Med Genet A* 2013;164:1470–81.
9. Sillence DO, Rimoin DL, Danks DM. Clinical variability in osteogenesis imperfecta-variable expressivity or genetic heterogeneity. *Birth Defects Orig Artic Ser* 1979;15:113-29.
10. Steiner RD, Basel D. COL1A1/2 Osteogenesis Imperfecta. In: Adam MP, Ardinger HH, Pagon RA, et al., (eds). *University of Washington, Seattle*;1993.
11. Luisa B, Valerie CD, Christine H, et al. Nosology and classification of genetic skeletal disorders. 2015;295.
12. Glorieux FH. Osteogenesis imperfecta. *Best Pract Res Clin Rheumatol* 2008;22:85–100.
13. Obafemi AA, Bulas DI, Troendle J, Marini JC. Popcorn calcification in osteogenesis imperfecta: incidence, progression, and molecular correlation. *Am J Med Genet A* 2008;146:2725–32.
14. Lu JT, Campeau PM, Lee BH. Genotype Phenotype Correlation Promiscuity in the Era of Next-Generation Sequencing. *N Engl J Med* 2014;371:593–6.
15. Robinson ME, Rauch F. Mendelian bone fragility disorders. *Bone*, 2019;126:11–7.

16. Árvai K, Horváth P, Balla B, et al. Next-generation sequencing of common osteogenesis imperfecta-related genes in clinical practice. *Scientific Reports* 2016;6:28417.
17. David S. Nosology and Classification of Osteogenesis Imperfecta 230 Years of Discovering Genetic Heterogeneity, 13th International Conference on Osteogenesis Imperfecta, 2017.
18. Warman ML, Cormier-Daire V, Hall C, et al. Nosology and classification of genetic skeletal disorders: 2010 revision. *Am J Med Genet A* 2011;155:943-68.
19. Rossi V, Lee B, Marom R. Osteogenesis imperfecta: advancements in genetics and treatment. *Current Opinion in Pediatrics* 2019;1.
20. Bab IA, Einhorn TA. Polypeptide factors regulating osteogenesis and bone marrow repair. *J Cell Biochem* 1994;55:358-65
21. Ömeroğlu H. Kas iskelet sisteminde temel anatomik oluşumların yapısı, işlevi, iyileşmesi ve kemik metabolizması. *TOTBİD Dergisi* 2010;9:78-84
22. Adler CP. Bones and bone tissue: normal anatomy and histology. In: Adler CP (ed). *Bone Diseases*. New York, NY: Springer-Verlag; 2000:1-30.
23. Junqueira LC, Carneiro J. Temel Histoloji. In: Aytekin Y, Solakoğlu S. (eds). *Nobel Tıp Kitabevleri*. İstanbul; 2006:142-56.
24. Junqueira LC, Carneiro J, Long JA (eds). *Bone Basic Histology*. 5th edition. Norwalk, Conn: Appleton Century-Crofts; 1986:140-65.
25. Deng ZL, Sharff KA, Tang N, et al. Regulation of osteogenic differentiation during skeletal development. *Front Biosc* 2008;13:2001-21.
26. Barrett KE, Barman SM, Boitano S, et al. Ganong'un Tıbbi Fizyolojisi. In: Gökbel H. (ed). *Nobel Tıp Kitabevleri*. İstanbul; 2015:385-8.
27. Unur E, Ülger H, Ekinci N (eds). *Anatomi. Kivılcım Kitapevi*. Kayseri; 2014:7-11.
28. Stout S, Crowder C. Bone Remodeling, Histomorphology, and Histomorphometry. In: Crowder C, Stout S (eds). *Bone Histology: An Anthropological Perspective*. Crc Press 2011:1-6.
29. Biberoglu S. Osteoporoz Patogenezi. In: Gökçe KY (ed). *Osteoporoz. Günes Kitabevi*. Ankara; 2005:37-61.
30. Atay Z. Kemigin Yapısal Özellikleri, Fizyolojik Fonksiyonları ve Osteoporozdaki Değişimi. In: Göksoy T (ed). *Osteoporozda Tanı ve Tedavi*. Aktüel Tıp Dergisi. İstanbul; 2000:243-54.
31. Caplan AL. Bone Development and Repair. *Bioessays*. Wiley Online Library 1987;10:1002.
32. Pechak DG, Kujawa MJ, Caplan AL. Morphology of bone development and remodeling in embryonic chick limbs. *Bone* 1986; 459-72.
33. Zhang J, Niu C, Ye L, Huang H et al. Identification of the haematopoietic stem cell niche and control of the niche size. *Nature* 2003;425:836–41.
34. Katsimbri P. The biology of normal bone remodelling. *European Journal of Cancer Care*, 2017.
35. Peter E, Sanjiv SG (eds). *Nuclear Medicine in Clinical Diagnosis and Treatment*. 3rd edition. London, UK: Churchill Livingstone; 2004.

36. Baron R. Anatomy and Ultrastructure of Bone. In: Murray JF (ed). Primer on the Metabolic Bone Disease and Disorders of Mineral Metabolism. New York: Philadelphia; 1993:1-5.
37. Shaifur R, Naznin A, Mohammad JH, Rajat SB, Sikder MA. TGF- β /BMP signaling and other molecular events: regulation of osteoblastogenesis and bone formation. Citation: Bone Research 2015;3:15005.
38. Majeska RJ, Nair BC, Rodan GA. Glucocorticoid regulation of alkaline phosphatase in the osteoblastic osteosarcoma cell line. Endocrinology 1985;116:170–9.
39. Deakin, Barbara Y, et al. (eds) Wheater's functional histology : a text and colour atlas. 5th edition. Edinburgh: Churchill Livingstone/Elsevier; 2006;58:189-92.
40. Chen X, Wang Z, Duan N, et al. Osteoblast-Osteoclast Interactions. Connect Tissue Res 2018 March;59(2):99–107.
41. Komori T. Regulation of osteoblast differentiation by Runx2. Advances in Experimental Medicine and Biology 2010;658:43-9.
42. Yujiao H, Xiuling Y, Wenhui X, Zhong Z, Weiguo Z. Paracrine and endocrine actions of bone — the functions of secretory proteins from osteoblasts, osteocytes, and osteoclasts. Bone Research 2018;6:16.
43. Chen D, Zhao M, Mundy GR. Bone morphogenetic proteins. Growth Factors 2004;22(4):233–41.
44. Suzuki S., Marazita M. L., Cooper M, et al. Mutations in BMP4 are associated with subepithelial, microform, and overt cleft lip. Am J Hum Genet 2009;84:406-11.
45. Zanotti S, Canalis E. Notch and the skeleton. Mol Cell Biol 2010;30(4):886–96.
46. Engin F, Yao Z, Yang T, et al. Dimorphic effects of notch signaling in bone homeostasis. Nat Med 2008;14(3):299-305.
47. Whittock NV, Ellard S, Duncan J et al. Pseudodominant inheritance of spondylocostal dysostosis type 1 caused by two familial delta-like 3 mutations. Clin Genet 2004;66(1):67-72.
48. Heritage ML, MacMillan JC, Colliton A, et al. Jagged1 (JAG1) mutation detection in an Australian Alagille syndrome population. Baillieres Clin Gastroenterol 1998;12(2):275-91.
49. Koga T, Matsui Y, Asagiri M, et al. NFAT and Osterix cooperatively regulate bone formation. Nature Med 2005;11:880-5.
50. Lapunzina P, Aglan M, Temtamy S, et al. Identification of a frameshift mutation in Osterix in a patient with recessive osteogenesis imperfecta. Am J Hum Genet 2010;87:110-4.
51. Ducy P, Karsenty G. Two distinct osteoblast-specific cis-acting elements control expression of a mouse osteocalcin gene. Mol Cell Biol 1995;15(4):1858-69.
52. Kim HJ, Kim WJ, Ryoo HM. Post-Translational Regulations of Transcriptional Activity of RUNX2. Molecules and Cells 2020;43(2):160-7.

53. Dollfus H, Biswas P, Kumaramanickavel G, et al. Saethre-Chotzen syndrome: notable intrafamilial phenotypic variability in a large family with Q28X TWIST mutation. *Am J Med Genet* 2002;199:218-25.
54. Narumi S, Numakura C, Shiihara T, et al. Various types of LRP5 mutations in four patients with osteoporosis-pseudoglioma syndrome: identification of a 7.2-kb microdeletion using oligonucleotide tiling microarray. *Am J Med Genet* 2010;152A:133-40.
55. Fearon ER. Human cancer syndromes: clues to the origin and nature of cancer. *Science* 1997;278:1043-50.
56. Dallas SL, Prideaux M, Bonewald LF. The osteocyte: an endocrine cell and more. *Endocr Rev* 2013;34:658-90.
57. Bonewald LF. The amazing osteocyte. *J Bone Miner Res* 2011;26(2):229–38.
58. Biberoğlu S. Osteoporoz Patogenezi. In: Gökçe KY (ed). *Osteoporoz. Güneş Kitabevi. Ankara; 2005:37- 61.*
59. Kazuharu I, Sadakazu E, Yasunori S, Toru S, Toshihiko Y. Matrix mineralization as a trigger for osteocyte maturation. *J Histochem Cytochem.* 2008;56(6):561-7.
60. Paola DP, Daniela SK. Osteocyte Regulation of bone and blood. *Bone* 2019;119:13-8.
61. Dallas SL, Prideaux M, Bonewald LF. The osteocyte: an endocrine cell and more. *Endocr Rev* 2013;34:658-90.
62. Tresguerres FGF, Torres J, López-Quiles, et al. The osteocyte: A multifunctional cell within the bone. *Ann Anat* 2020;230:151510.
63. Cadigan KM, Nusse R. Wnt signaling: a common theme in animal development. *Genes Dev* 1997;11:3286-305.
64. Hu H, Hilton MJ, Tu X, et al. Sequential roles of Hedgehog and Wnt signaling in osteoblast development. *Development* 2005;132(1):49-60.
65. Moreira CA, Dempster DW, Baron R. *Anatomy and Ultrastructure of Bone – Histogenesis, Growth and Remodeling.* MDText.com, Inc., South Dartmouth; 2015.
66. Weinstein RS, Nicholas RW, Manolagas SC. Apoptosis of osteocytes in glucocorticoid-induced osteonecrosis of the hip. *J Clin Endocrinol Metab* 2000;85:2907–12.
67. Poole KE, van Bezooijen RL, Loveridge N, et al. Sclerostin is a delayed secreted product of osteocytes that inhibits bone formation. *Faseb J* 2005;19:1842–4.
68. Teitelbaum SL, Ross FP. Genetic regulation of osteoclast development and function. *Nat Rev Genet* 2003;4:638–49.
69. Toshihisa K. Cell death in chondrocytes, osteoblasts and osteocytes. *Int J Mol Sci* 2016;17(12):2045.
70. Boyce BF, Zuscik MJ, Xing L. *Biology of Bone and Cartilage.* In: Thakker RV, Whyte MP, Eisman JA, Igarashi T (eds). *Genetics of Bone Biology And Skeletal Disease.* Academic Press; 2011. 11-12.
71. Hofbauer LC, Khosla S, Dunstan CR, et al. The roles of osteoprotegerin and osteoprotegerin ligand in the paracrine regulation of bone resorption. *J Bone Miner Res* 2000;15:2–12.

72. Stout S, Crowder C. Bone Remodeling, Histomorphology, and Histomorphometry. In: Crowder C, Stout S (eds). Bone Histology: An Anthropological Perspective. Crc Press 2011. 1-8.
73. Taşan E. I.Ü Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri Osteoporoz Sempozyumu: İstanbul; 1999. 17-32.
74. Parfitt AM. Bone remodeling. *Henry Ford Hosp Med J* 1988;36:143-4.
75. Robert O, Gwendolen CR. In vitro models of bone remodelling and associated disorders. *Front Bioeng Biotechnol* 2018;6:134.
76. Parfitt AM. The cellular basis of bone remodeling: The quantum concept reexamined in light of recent advances in the cell biology of bone. *Calcif Tissue Int* 1984;36:37-45.
77. Takayanagi H, Kim S, Koga T, et al. Induction and activation of the transcription factor NFATc1 (NFAT2) integrate RANKL signaling in terminal differentiation of osteoclasts. *Dev Cell* 2002;3(6):889-901.
78. Soysa NS, Alles N. Osteoclast function and bone-resorbing activity: An overview. *Biochem Biophys Res Commun* 2016;476(3):115-20.
79. Mirzaali MJ, Schwiedrzik JJ, Thaiwichai S, et al. Mechanical properties of cortical bone and their relationships with age, gender, composition and microindentation properties in the elderly. *Bone* 2015;87:159-160.
80. Üçgül İ, Aras S, Elibüyük U. Ekstraselüler matriks yapısı ve görevleri. *Uludağ Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Dergisi*. 2018;23(1):295-310.
81. Rasime SC, Ekin E, Yahya E, Fatma BA. Ekstraselüler matriksin yapısal ve fonksiyonel özellikleri. *J Lit Pharm Sci* 2018;7(3):251-60.
82. Guyton AC, Hall JE (eds). *Textbook of medical physiology*. 11th edition. Philadelphia: Saunders Elsevier; 2011.
83. Sherman VR, Yang W, Meyers MA. The materials science of collagen. *J Mech Behav Biomed Mater* 2015;52:22-50.
84. David R. Eyre bone collagen: New clues to its mineralization mechanism from recessive osteogenesis imperfecta. *Calcif Tissue Int* 2013;93(4):338–47.
85. Ricard-Blum S. The collagen family. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 2011;3(1):a004978.
86. Frantz C, Stewart KM, Weaver VM. The extracellular matrix at a glance. *Journal of Cell Science* 2010;123:4195-200.
87. Karsenty G. Transcriptional control of skeletogenesis. *Annu Rev Genomics Hum Genet* 2008;9:183–96.
88. Tanzer ML. Current concepts of extracellular matrix. *J Orthop Sci* 2006;11(3):326-31.
89. Yue B. Biology of the extracellular matrix: an overview. *J Glaucoma* 2015;23:20-3.
90. Canty EG, Kadler KE. Procollagen trafficking, processing and fibrillogenesis. *Journal of Cell Science* 2005;118:1341-53.
91. Van der Rest M, Garrone R. Collagen family of proteins. *FASEB J*. 1991;5:2814-23.
92. Peng L, Guoyao W. Roles of dietary glycine, proline, and hydroxyproline in collagen synthesis and animal growth. *Amino Acids* 2018;50(1):29-38.

93. Lavieu G, Dunlop MH, Lerich A, et al. The Golgi ribbon structure facilitates anterograde transport of large cargoes. *Mol Biol Cell* 2014;25:3028–36.
94. Chu ML, Mann K, Deutzmann R, et al. Characterization of three constituent chains of collagen type VI by peptide sequences and cDNA clones. *Eur J Biochem* 1987;168:309–17.
95. Bella J. Collagen structure: new tricks from a very old dog. *Biochem J* 2016;473:1001–25.
96. Lim J, Grafe I, Alexander S, Lee B. Genetic causes and mechanisms of osteogenesis imperfecta. *Bone* 2017;102:40-49.
97. Fisher LW, Drum MA, Robey PG, Conn KM, Termine JD. Osteonectin content in human osteogenesis imperfecta bone shows a range similar to that of two bovine models of OI. *Calcif Tissue Int* 1987;40:260–4.
98. Wilusz RE, Sanchez-Adams J, Guilak F. The Structure and Function of the Pericellular Matrix of Articular Cartilage. *Matrix Biol* 2014;39:25-32.
99. Seyfeli S, Üstünel İ, Değer N, Demir R. Ekstrasellüler matriks ve bazı kardiovasküler hastalıklarla ilişkisi. *Türkiye Klinikleri Kardiyoloji Dergisi* 2001;14(6):359-69.
100. Koch M, Laub F, Zhou P, et al. Collagen XXIV, a vertebrate fibrillar collagen with structural features of invertebrate collagens: selective expression in developing cornea and bone. *J Biol Chem* 2003;278:43236–44.
101. Theocharis AD, Skandalis SS, Gialeli C, Karamanos NK. Extracellular matrix structure. *Adv Drug Deliv Rev* 2016;(97):427.
102. Nusret Ç, Süleyman K, Çetin MR. Kollagenin ve kollagen tiplerinin yapısı. *Ondokuz Mayıs Üni Tıp Fak Derg* 1987;4(3):389-97.
103. Kram V, Young MF. Bone matrix proteoglycans in skeletal function. In: Saphiro JR, Byers PH, Francis H (eds). *Osteogenesis Imperfecta, A Translation Approach to Brittle Bone Disease*. Elsevier; 2014. 89-94.
104. Plotkin H. Syndromes with congenital brittle bones. *BioMed Central Pediatr* 2004;4:1-16.
105. Byers PH, Tsipouras P, Bonadio JF, Starman BJ, Schwartz RC. Perinatal lethal osteogenesis imperfecta (OI type II): a biochemically heterogeneous disorder usually due to new mutations in the genes for type I collagen. *Am J Hum Genet* 1988;42:237–48.
106. Ward L, Rauch F, Travers R, et al. Osteogenesis imperfecta type VII: an autosomal recessive form of brittle bone disease. *Bone* 2002;31:12-8.
107. Glorieux FH, Rauch F, Plotkin H, et al. Type V osteogenesis imperfecta: a new form of brittle bone disease. *J Bone Miner Res* 2000;15:1650–8.
108. Labuda M, Morissette J, Wart LM, et al. Osteogenesis imperfecta type VII maps to the short arm of chromosome 3. *Bone* 2002;31:19-25.
109. Smith R. Osteogenesis imperfecta. *Clin Rheumat Dis* 1986;12:655-89.
110. McPherson E, Clemens M. Bruck syndrome (osteogenesis imperfecta with congenital joint contractures): review and report on the first North American case. *Am J Med Genet* 1997;70:28–31.

111. Takahashi S, Okda K, Nagasawa H, et al. Osteosarcoma occurring in osteogenesis imperfecta. *Virchows Arch* 2004;444:454-8.
112. Banta JV, Schreiber RR, Kulik WJ. Hyperplastic callus formation in osteogenesis imperfecta simulating osteosarcoma. *J Bone Joint Surg Am* 1971;53:115–22.
113. Beighton P. Osteogenesis-pseudoglioma syndrome (letter). *Clin Genet* 1986;29:263.
114. Bianchine JW, Briard-Guillemot ML, Maroteaux P, Frezal J, Harrison HE. Generalized osteoporosis with bilateral pseudoglioma-an autosomal recessive disorder of connective tissue: report of three families-review of the literature. *Am J Hum Genet* 1972;24:34A.
115. Gong Y, Vikkula M, Boon L, et al. Osteoporosis-pseudoglioma syndrome, a disorder affecting skeletal strength and vision, is assigned to chromosome region 11q12-13. *Am J Hum Genet* 1996;59:146-51.
116. Gong Y, Slee RB, Fukai N, et al. LDL receptor-related protein 5 (LRP5) affects bone accrual and eye development. *Cell* 2001;107:513-23.
117. Zacharin M, Cundy T. Osteoporosis pseudoglioma syndrome: treatment of spinal osteoporosis with intravenous bisphosphonates. *J Pediatr* 1999;137:410-5.
118. Blacksin MF, Pletcher BA, David M. Osteogenesis imperfecta with joint contractures: bruck syndrome. *Pediatr Radiol* 1998;28:117–9.
119. Brady AF, Patton MA. Osteogenesis imperfect with arthrogyrosis multiplex congenital (Bruck syndrome)—evidence for possible autosomal recessive inheritance. *Clin Dysmorphol* 1997;6:329-36.
120. Viljoen D, Versfeld G, Beighton P. Osteogenesis imperfect with congenital joint contractures (Bruck syndrome). *Clin Genet* 1989;36:122-6.
121. Bank RA, Robins SP, Wijmenga C, et al. Defective collagen crosslinking in bone, but not in ligament or cartilage, in Brucks syndrome: indications for a bone-specific telopeptide lysyl hydroxylase on chromosome 17. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999;96:1054-8.
122. Ha Vinh R, Alanay Y, Bank RA, et al. Phenotypic and molecular characterization of Bruck syndrome (osteogenesis imperfect with contractures of the large joints) caused by a recessive mutation in PLOD2. *Am J Med Genet* 2004;131:115-20.
123. Kelley BP, Malfait F, Bonafe L, et al. Mutations in FKBP10 cause recessive osteogenesis imperfecta and Bruck syndrome. *J Bone Miner Res* 2011;26(3):666-72.
124. Leroy JG, Nuytinck L, De Paepe A, et al. Bruck syndrome: neonatal presentation and natural course in three patients. *Pediatr Radiol* 1998;28: 781–9.
125. McPherson E, Clemens M. Bruck syndrome (osteogenesis imperfecta with congenital joint contractures): review and report on the first North American case. *Am J Med Genet* 1997;70:28–31.
126. Glorieux FH, Wart L, Rauch F, et al. Osteogenesis imperfect type VI: a form of brittle bone disease with a mineralization defect. *J Bone Miner Res* 2002;17:30-8.

127. Baker SL, Dent CE, Friedman M, Watson L. Fibrogenesis imperfecta ossium. *J Bone Joint Surg Br* 1966;48:804-25.
128. Lang R, Vignery AM, Jensen PS. Fibrogenesis imperfecta ossium with early onset: observations after 20 years of illness. *Bone* 1986;7:237-46.
129. Munns CF, Rauch F, Travers R, Glorieux FH. Three children with lower limb fractures and a mineralization defect: a novel bone fragility disorder? *Bone* 2004;35:1023-8.
130. Van Dijk FS, Pals G, Van Rijn RR, Nikkels PGJ, Cobben JM. Classification of Osteogenesis Imperfecta revisited. *Eur J Med Genet* 2010;53:1-5.
131. Lowenstein EJ. Osteogenesis imperfecta in a 3,000-year-old mummy. *Child's Nerv Syst* 2009;25(5):515-6.
132. Philippe C, Antonia P, Raffaella B. Oldest medical description of osteogenesis imperfecta (17th Century France). *Clin Anat* 2017;30(2):128-9.
133. Peltier LF. The classic: congenital osteomalacia. Olaus Jacob Ekman. *Clin Orthop Relat Res* 1981;(159):3-5.
134. Özbek MN, Yüksel B, Mungan NÖ, Topaloğlu AK, Çıtırık D. Çocukluk çağında osteogenezis imperfektada pamidronat tedavisinin etkinliği. *Göztepe Tıp Dergisi* 2010;25:52-7.
135. Özdemir ÖMA, Kılıç İ, Semiz S, Candemir M. Osteogenezis imperfekta tedavisinde pamidronat tedavisi: SDÜ Tıp Fak Derg 2008;15:39-42.
136. Gray PHK. A case of osteogenesis imperfecta associated with dentinogenesis imperfecta dating from antiquity. *Clin Radiol* 1970;21(1):106-8.
137. King JD, Boblechko WP. Osteogenesis imperfecta: an orthopaedic description and surgical review. *J Bone Joint Surg* 1971;53B:72-89.
138. Van de Hoeve J, de Kleyn A. Blaue Sclerae Knochenbrüchigkeit und Schwerhörigkeit. *Archiv für Ophthalmologie* 1918;95:81-93.
139. Bell J (ed). Blue sclerotics and fragility of bone. In *Treasury of Human Inheritance*. Cambridge, London: Cambridge University Press; 1928.
140. Bauze RJ, Smith R, Francis MJ. A new look at osteogenesis imperfecta. A clinical, radiological and biochemical study of forty-two patients. *J Bone Joint Surg* 1975;57:2-12.
141. Remigio PA, Grinvalsky HT. Osteogenesis imperfecta congenita. *Am J Dis Child* 1970;119(6):524-8.
142. Wilson MG (1974). Congenital osteogenesis imperfecta. *Birth Defects-Original Article Series* 1974;10(12):296-8.
143. Teitelbaum SL, Kraft WJ, Lang R, Avioli LV. Bone collagen aggregation abnormalities in osteogenesis imperfecta. *Calcif Tissue Res* 1974;17:75-9.
144. Gioia R, Panaroni C, Besio R, et al. Impaired osteoblastogenesis in a murine model of dominant osteogenesis imperfecta: a new target for osteogenesis imperfecta pharmacological therapy. *Stem Cells* 2012;30:1465-76.
145. Chu ML, Williams CJ, Pepe G, et al. Internal deletion in a collagen gene in a perinatal lethal form of osteogenesis imperfecta. *Nature* 1983;304:78-80.

146. Nicholls AC, Osse G, Schollt HG, Lenard HG. The clinical features of homozygous x2(I) collagen deficient osteogenesis imperfecta. *J Med Genet* 1984;21:257-62.
147. Van Dijk FS, Cobben JM, Kariminejad A, et al. Osteogenesis imperfecta: A review with clinical examples. *Mol Syndromol* 2011;2:1–20.
148. Engelbert RH, Van der Graaf Y, Van Empelen R, Beemer F, Helden PJ. Osteogenesis imperfecta in childhood: impairment and disability. *Pediatrics* 1997;99(2):E3.
149. Marti B, Sirinelli D, Maurin L, Carpentier E. Wormian bones in a general paediatric population. *Diagn Interv Imaging* 2013;94:428–32.
150. Dent JA, Paterson CR. Fractures in early childhood: osteogenesis imperfecta or child abuse? *J Pediatr Orthop* 1991;11:184-6.
151. Takken T, Terlingen HC, Helden PJ, et al. Cardiopulmonary fitness and muscle strengt in patients with osteogenesis imperfecta type 1. *J Pediatr* 2004;145:813-8.
152. Cohn DH, Starman BJ, Blumberg B, Byers PH. Recurrence of lethal osteogenesis imperfecta due to parental mosaicism for a dominant mutation in a human type I collagen gene (COL1A1). *Am J Hum Genet* 1990;46(3):591-601.
153. Shapiro F (ed). *Skeletal Dysplasias. Pediatric Orthopedic Deformities.* Elsevier; 2016. 255-410.
154. Frick SL, Sponseller P, Leet A. Pediatric Limb Reconstruction in Osteogenesis Imperfecta. In: Shapiro JR, Byers PH, Glorieux FH, Sponseller PD (eds). *Osteogenesis Imperfecta: A Translational Approach to Brittle Bone Disease.* Cambridge, MA: Academic Press; 2013. 443-51.
155. Harry KW. Metabolic and Endocrine Bone Diseases. In: Herring JA (ed). *Tachdjian's Pediatric Orthopaedics.* 5th edition. Elsevier; 2014. 582-642.
156. Sawin PD, Menezes AH. Basilar invagination in osteogenesis imperfecta and related osteochondrodysplasias: medical and surgical management. *J Neurosurg* 1997;86:950–60.
157. Vetter U, Pontz B, Zauner E, Brenner RE, Spranger J. Osteogenesis imperfecta: a clinical study of the first ten years of life. *Calcif Tissue Int* 1992;50:36-41.
158. Lund AM, Jensen BL, Nielsen LA, Skovby F. Dental manifestations of osteogenesis imperfecta and abnormalities of collagen I metabolism. *J Craniofac Genet Dev Biol* 1998;18:30-7.
159. Zeitlin L, Fassier F, Glorieux FH. Modern approach to children with osteogenesis imperfecta. *J Ped Orthop B* 2003;10:77–87.
160. Jones D, Hosalkar H, Jones S. The orthopaedic management of osteogenesis imperfecta. *Curr Orthop* 2002;16:374-88.
161. Herring JA. Osteogenesis Imperfekta. In: Centel T (çvr. ed). *Tachdjian's Pediatric Orthopaedics.* Türkçe Baskı. İstanbul: Hayat Tıp Kitapçılık; 2007. 1717-40.
162. Calder AD. Radiology of osteogenesis imperfecta, rickets and other bony fragility states. *Endocr Dev* 2015;28:56-71.

163. Akgül T. Osteogenesis imperfecta. In: Balioğlu MB (ed). Omurgayı Tutan Sendromlar. 1. Baskı. Türk Omurga Derneği Yayınları. Ankara; 2016. 205-20.
164. Cristofaro RL, Hoek KJ, Bonnett CA, Brown JC. Operative treatment of spine deformity in osteogenesis imperfecta. *Clin Orthop Rel Res* 1979;139:40-8.
165. Janus GJ, Finidori G, Engelbert RH, Pouliquen M, Pruijs JE. Operative treatment of severe scoliosis in osteogenesis imperfecta: results of 20 patients after halo traction and posterior spondylodesis with instrumentation. *Eur Spine J* 2000;9:486–91.
166. Freya KR, Swinnen Orphanet J. Osteogenesis imperfecta: the audiological phenotype lacks correlation with the genotype. *Rare Dis* 2011;6:88.
167. Kuurila K. Hearing loss, balance problems and molecular defects in osteogenesis imperfecta. University of Turku, Department of Otorhinolaryngology; 2003.
168. Pillion JP, Santos F, Vernick DM, Shapiro J. Hearing Loss in Osteogenesis Imperfecta. In: Shapiro JR, Byers PH, Glorieux FH, Sponseller PD (eds). *Osteogenesis Imperfecta: A Translational Approach to Brittle Bone Disease*. Cambridge, MA: Academic Press; 2013. 305-12.
169. Shea JJ, Postma DS. Findings and long-term surgical results in the hearing loss of osteogenesis imperfecta. *Arch Otolaryngol* 1982;108:467-70.
170. Da Silva AP, Feliciano T, Figueirinhas R et al. Osteogenesis imperfecta and hearing losing description of three case reports. *Acta Otorrinolaringol Esp* 2013;64(6):423-7.
171. Murakami T, Saito A, Hino SI, et al. Signalling mediated by the endoplasmic reticulum stress transducer OASIS is involved in bone formation. *Nat Cell Biol* 2009;11:1205–11.
172. Garretsen AJ, Cremers CW, Huyg en PL. Hearing loss (in nonoperated ears) in relation to age in osteogenesis imperfecta type I. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1997;106:575-82.
173. Hald JD, Folkestad L, Swan CZ, et al. Osteogenesis imperfecta and the teeth, eyes, and ears—a study of non-skeletal phenotypes in adults. *Osteoporos Int* 20;29(12):2781-9.
174. Chau Felix Y, Wallace DJ, Vajaranant T, et al. Osteogenesis imperfecta and the eye. In: Shapiro JR, Byers PH, Glorieux FH, Sponseller PD (eds). *Osteogenesis Imperfecta: A Translational Approach to Brittle Bone Disease*. Cambridge, MA: Academic Press; 2013. 289-303.
175. Thomas IH, DiMeglio LA. Advances in the classification and treatment of osteogenesis imperfecta. *Curr Osteoporos Rep* 2016;14:1-9.
176. Harrington J, Sochett E, Howard E. Update on the evaluation and treatment of osteogenesis imperfecta. *Pediatr Clin N Am* 2014;61:1243–57.

177. Blumcke S, Niedorf HR, Thiel HJ, Langness U. Histochemical and fine structural studies on the cornea with osteogenesis imperfecta congenita. *Virchows Arch B Cell Pathol* 1972;11:124-32.
178. Shapiro JR, Byers PH, Glorieux FH, Sponseller PD (eds). *Osteogenesis Imperfecta: A Translational Approach to Brittle Bone Disease*. Cambridge, MA: Academic Press; 2013. 343-8.
179. Hoyer-Kuhn H, Hobing L, Cassens J et al. Children with severe Osteogenesis imperfecta and short stature present on average with normal IGF-I and IGFBP-3 levels *J Pediatr Endocrinol Metab* 2016;29(7):813–8.
180. Zeitlin L, Rauch F, Plotkin H, Glorieux FH. Height and weight development during four years of therapy with cyclical intravenous pamidronate in children and adolescents with osteogenesis imperfecta types I, III, and IV. *Pediatrics* 2003;111:1030–6.
181. Marini JC, Bordenick S, Heavner G, Rose S, Chrousos GP. Evaluation of growth hormone axis and responsiveness to growth stimulation of short children with osteogenesis imperfecta. *Am J Med Genet* 1993;45:261–4.
182. Willing MC, Deschenes SP, Scott DA, et al. Osteogenesis imperfecta type I: molecular heterogeneity for COL1A1 null alleles of type I collagen. *Am J Hum Genet* 1994;55:638-47.
183. Ernst M, Rodan GA. Increased activity of insulin-like growth factor (IGF) in osteoblastic cells in the presence of growth hormone (GH): positive correlation with the presence of the GH-induced IGF-binding protein BP-3. *Endocrinology* 1990;127:807-14.
184. Alfirevic A, Insler S: Deep hypothermic circulatory arrest in a patient with osteogenesis imperfecta. *J Cardiothorac Vasc Anesth* 2007;21:245–9.
185. Chien AL, Mu EW, Kang S. Skin in osteogenesis imperfecta. In: Shapiro JR, Byers PH, Glorieux FH, Sponseller PD (eds). *Osteogenesis Imperfecta: A Translational Approach to Brittle Bone Disease*. Cambridge, MA: Academic Press; 2013. 283-8.
186. Rauch F, Glorieux FH. Osteogenesis imperfecta. *The Lancet* 2004;363:1377–85.
187. Oxlund H, Andreassen TT. The roles of hyaluronic acid, collagen and elastin in the mechanical properties of connective tissue. *J Anat* 1980;131:611-20.
188. Ashournia H, Johansen FT, Folkestad L, et al. Heart disease in patients with osteogenesis imperfecta - a systematic review. *Int J Cardiol* 2015;196:149–57.
189. McAllion SJ, Paterson CR. Causes of death in osteogenesis imperfecta. *J Clin Pathol* 1996;49(8):627-30.
190. LoMauro A, Pochintesta S, Romei M, et al. Rib cage deformities alter respiratory muscle action and chest wall function in patients with severe osteogenesis imperfecta. *PloS One* 2012;7:35965.
191. Widmann RF, Bitan FD, Laplaza FJ, et al. Spinal deformity, pulmonary compromise, and quality of life in osteogenesis imperfecta. *Spine* 1999;24(16):1673.

192. Lee JH, Gamble JG, Moore RE, Rinsky LA. Gastrointestinal problems in patients who have type III osteogenesis imperfecta. *J Bone Joint Surg* 1995;77:1352-6.
193. Spence PA, Cohen Z, Salerno TA. Strangulated diaphragmatic hernia in a patient with osteogenesis imperfecta. *Can Med Assoc J* 1984; 131:1369-70.
194. McKiernan FE. Musculoskeletal manifestations of mild osteogenesis imperfecta in the adult. *Osteoporos Int* 2005;16(12):1698-1702.
195. Chines A, Petersen DJ, Schranck FW, Whyte MP. Hypercalciuria in children severely affected with osteogenesis imperfecta. *J Pediatr* 1991;119:51-7.
196. Sam JE. Guide to osteogenesis imperfecta for pediatricians and family practice physicians. In: Gaithersburg MD (ed). *Osteogenesis Imperfecta*. Osteogenesis Imperfecta Foundation; 2017.
197. Brown DM. Collagen metabolism in fibroblasts from patients with osteogenesis imperfecta. In: Frame B, Parfitt EM, Duncan H (eds). *Clinical aspects of metabolic bone disease*. Amsterdam: Excerpta Medica International; 1973. 303-7.
198. Nikkels PGJ. Diagnostic approach to congenital osteochondrodysplasias at autopsy. *Diagn Histopath* 2009;15:413-24.
199. Ngo C, Viot G, Aubry MC, et al. First-trimester ultrasound diagnosis of skeletal dysplasia associated with increased nuchal translucency thickness. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2007;30:221.
200. Chen CP, Su YN, Chang TY, et al. Osteogenesis imperfecta type I: Second-trimester diagnosis and incidental identification of a dominant COL1A1 deletion mutation in the paucisymptomatic father. *Taiwan J Obstet Gynecol* 2012;51(2):276-9.
201. Sillence DO, Barlow KK, Garber AP, Hall JG, Rimoin DL. Osteogenesis imperfecta type II: delineation of the phenotype with reference to genetic heterogeneity. *Am J Med Genet* 1984;17:407-23.
202. Young ID, Thompson EM, Hall CM, Pembrey ME. Osteogenesis imperfecta type IIA: evidence for dominant inheritance. *J Med Genet* 1987;24:386-9.
203. Masaki T, Mitsuru M, Gen N, Tomonobu H. Osteogenesis imperfecta IIC caused by a novel heterozygous mutation in the C-propeptide region of COL1A1. *Human Genome Variation* 2014;1:14025.
204. Antonella F, Joan CM. Osteogenesis imperfecta. *Lancet* 2016;387:1657-71.
205. Dustin B, Ulrike S, Roy M, et al. Crtap and Lepre1 mutations in recessive osteogenesis imperfecta. *Hum Mutat* 2008;29:1435-42.
206. Rauch F, Moffatt P, Cheung M, et al. Osteogenesis imperfecta type V: marked phenotypic variability despite the presence of the IFITM5 c.-14C>T mutation in all patients. *J Med Genet* 2013;50:21-24.
207. Dong YL, Tae-Joon C, In HC, et al. Clinical and radiological manifestations of osteogenesis imperfecta type V. *J Korean Med Sci* 2006;21:709-14.

208. Aarabi M, Rauch F, Hamdy RC, Fassier F. High prevalence of coxa vara in patients with severe osteogenesis imperfecta. *J Pediatr Orthop* 2006;26(1):24-28.
209. Forlino A, Cabral WA, Barnes AM, Marini JC. New perspectives on osteogenesis imperfecta. *Nat Rev Endocrinol* 2011;7:540-57.
210. Cho TJ, Lee KE, Lee SK, et al. A single recurrent mutation in the 5-prime UTR of IFITM5 causes osteogenesis imperfecta type V. *Am J Hum Genet* 2012;91:343-8.
211. Glorieux FH, Ward LM, Rauch F, et al. Osteogenesis imperfecta type VI: a form of brittle bone disease with a mineralization defect. *J Bone Miner Res* 2002;17:30-8.
212. Barnes AM, Chang W, Morello R, et al. Deficiency of cartilage-associated protein in recessive lethal osteogenesis imperfecta. *New Eng J Med* 2006;355:2757-64.
213. Cabral WA, Chang W, Barnes AM, et al. Prolyl 3-hydroxylase 1 deficiency causes a recessive metabolic bone disorder resembling lethal/severe osteogenesis imperfecta. *Nature Genet* 2007;39:359-65.
214. Van Dijk FS, Nesbitt IM, Zwikstra EH, et al. PPIB mutations cause severe osteogenesis imperfecta. *Am J Hum Genet* 2009;85:521-7.
215. Christiansen HE, Schwarze U, Pyott SM, et al. Homozygosity for a missense mutation in SERPINH1, which encodes the collagen chaperone protein HSP47, results in severe recessive osteogenesis imperfecta. *Am J Hum Genet* 2010;86:389-98.
216. Alanay Y, Avaygan H, Camacho N, et al. Mutations in the gene encoding the RER protein FKBP65 cause autosomal-recessive osteogenesis imperfecta. *Am J Hum Genet* 2010;86:551-9, 2010.
217. Martinez-Glez V, Valencia M, Martin C, et al. Identification of a mutation causing deficient BMP1/mTLD proteolytic activity in autosomal recessive osteogenesis imperfecta. *Hum Mutat* 2012;33:343-50.
218. Shaheen R, Alazami AM, Alshammari MJ, et al. Study of autosomal recessive osteogenesis imperfecta in Arabia reveals a novel locus defined by TMEM38B mutation. *J Med Genet* 2012;49:630-5.
219. Pyott SM, Tran TT, Leistriz DF, et al. WNT1 mutations in families affected by moderately severe and progressive recessive osteogenesis imperfecta. *Am J Hum Genet* 2013;92:590-7.
220. Mellor P, Deibert L, Calvert B, et al. CREB3L1 is a metastasis suppressor that represses expression of genes regulating metastasis, invasion, and angiogenesis. *Molec Cell Biol* 2013;33:4985-95.
221. Mendoza-Londono R, Fahiminiya S, Majewski J, et al. Recessive osteogenesis imperfecta caused by missense mutations in SPARC. *Am J Hum Genet* 2015;96:979-85.
222. Doyard M, Bacrot S, Huber C, et al. FAM46A mutations are responsible for autosomal recessive osteogenesis imperfecta. *J Med Genet* 2018;55:278-84.
223. Lindert U, Cabral WA, Ausavarat S, et al. MBTPS2 mutations cause defective regulated intramembrane proteolysis in X-linked osteogenesis imperfecta. *Nature Commun* 2016;7:11920.

224. Balasubramanian M, Hurst J, Brown S, et al. Compound heterozygous variants in NBAS as a cause of atypical osteogenesis imperfecta. *Bone* 2017;94:65–74.
225. Liu Y, Ma AD, Lv F, et al. Gene mutation spectrum and genotype-phenotype correlation in a cohort of Chinese osteogenesis imperfecta patients revealed by targeted next generation sequencing. *Osteoporos Int* 2017;28:2985–95.
226. Lulu Li, Bin M, Shan L, et al. Genotypic and phenotypic characterization of Chinese patients with osteogenesis imperfecta. *Hum Mutat* 2019;40:588–600.
227. Nadiah MN, Nalini MS, Rahmah R, et al. Genotype-phenotype correlation among Malaysian patients with osteogenesis imperfecta. *Clinica Chimica Acta* 2018;484:141-7.
228. Ohata Y, Takeyari S, Nakano Y, et al. Comprehensive genetic analyses using targeted next-generation sequencing and genotype-phenotype correlations in 53 Japanese patients with osteogenesis imperfecta. *Osteoporos Int* 2019;30:2333-42.
229. Maioli M, Maria G, Manila B, et al. Genotype–phenotype correlation study in 364 osteogenesis imperfecta Italian patients. *Eur J Hum Genet* 2019; 27:1090–1100.
230. Lindahl K, Eva Å, Carl-Johan R, et al. Genetic epidemiology, prevalence, and genotype– phenotype correlations in the Swedish population with osteogenesis imperfecta. *Eur J Hum Genet* 2015;23:1042-50.
231. Rauch F, Liljana L, Peter R, Francis HG. Relationship Between Genotype and Skeletal Phenotype in Children and Adolescents with Osteogenesis Imperfecta. *J Bone Miner Res* 2010;25:1367-74.
232. Marini JC, Antonella F, Wayne AC, et al. Consortium for Osteogenesis Imperfecta Mutations in the Helical Domain of Type I Collagen: Regions Rich in Lethal Mutations Align With Collagen Binding Sites for Integrins and Proteoglycans. *Hum Mutat* 2007;28;209-21.
233. Costantini A, Symeon T, Anders K, et al. Autosomal Recessive Osteogenesis Imperfecta Caused by a Novel Homozygous COL1A2 Mutation. *Calcif Tissue Int* 2018;103:353–8.
234. <https://my.qiagendigitalinsights.com/bbp/view/hgmd/pro/start.php>
235. Alanay Y, Krakow D. Response to Shaheen et al. (Letter) *Am J Hum Genet* 2010;87:308.
236. Samim Ö. Osteogenezis imperfektalı hastalarda yeni nesil dizi analizi yöntemi ile hedeflenmiş moleküler genetik tanı ve sorumlu yeni genlerin araştırılması (Doktora Tezi). İzmir: Ege Üniversitesi; 2020.
237. Leyla E. Osteogenezis imperfekta hastalarında yeni nesil dizileme teknolojisi ile ilişkili genlerin taranması ve bilinmeyen genlerin araştırılması (Doktora Tezi). İstanbul: İstanbul Üniversitesi; 2019.
238. Maira T, Marcos VDM, Dalila AS, et al. Osteogenesis imperfecta in Brazilian patients. *Genet Mol Biol.* 2019;42:344-50.
239. Van Dijk FS, Zillikens MC, Micha D, et al. PLS3 mutations in X-linked osteoporosis with fractures. *New Eng J Med* 2013;369:1529-36.

TEŞEKKÜRLER

Tıbbi Genetik eğitimime olan katkılarından dolayı Ana Bilim Dalı Başkanımız ve tezimin seçilmesi, planlanması ve yürütülmesi aşamasındaki sonsuz katkı ve yardımlarından dolayı değerli hocam Doç.Dr.Şebnem Özemri Sağ'a,

Bilgi ve deneyimlerini bizlerle paylaşarak eğitimime katkıları sağlayan Doç.Dr.Şehime G. Temel'e,

Tez yapımı esnasında yardımlarını esirgemeyen Çocuk Endokrinoloji, Endokrinoloji ve Çocuk Ortopedi bilim dallarına, değerli hocalarına ve uzmanlarına, doktora öğrencisi Adem Aldemdar ve yüksek lisans öğrencileri Ecem Buse Yılmaz ve Niyazi Kaya'ya,

Asistanlık hayatı boyunca yanımda olan tüm mesai arkadaşlarıma, adını yazamadığım tüm laboratuvar çalışanı arkadaşlarıma,

Benim bugünlere gelmemde en büyük pay sahibi olan, maddi ve manevi desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen sevgili annem Madina Mammedova, babam Rövşen Aliyev, abim İntigam Aliyev ve Aymen Aliyeva'ya, özellikle sevgisiyle bana her zaman destek olan biricik yiğenim Deniz'e

Teşekkürü bir borç bilirim

Dr. LAMİYA ALİYEVA

ÖZGEÇMİŞ

1 Ekim 1990 yılında Azerbaycan devleti, Dağlık Karabağ bölgesi, Zengilan ilinde doğdum. 1997-2008 yılları arasında ilk, orta okul ve liseyi Bakü'de 78 numaralı şehir okulunda okudum. 2008-2014 yıllarında Azerbaycan Tıp Üniversitesini kazanarak tıp eğitimimi tamamladım. Eğitim sürecinde 2011-2014 yıllarında Çocuk Yenidoğan Yoğunbakım Ünitesinde asistan olarak çalıştım. Nisan 2015 yılında Seviye Tespit Sınavını (STS) kazanıp, Nisan 2016'da yapılan Tıpta Uzmanlık Sınavında (TUS) Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı'nı kazanarak uzmanlık eğitimine başladım. Bu süreçte kurslara, seminerlere ve kongrelere katılımım, sözlü ve poster sunumlarım oldu, iki sözlü sunumlarımdan üçüncülük ödülü kazandım.

Yayınlar

1. Lysinuric protein intolerance and HOIP deficiency in a boy: *SLCA7A* and *RNF31* gene disruptions. **Lamiya Aliyeva**, Sahin Erdol, Orhan Gorukmez, Burcu Turkgenc, Hakan Gurkan, Yasin Yarali, Birol Baytan, Halil Saglam, Sebnem Kilic, Sehime G. Temel. Journal of Biotechnology 280S (2018) S12–S31. doi.org/10.1016/j.jbiotec.2018.06.061.
2. Frequency and Distribution of MEFV Gene Mutation in Familial Mediterranean Fever Patients: A Single Center Experience. Şebnem ÖZEMRİ SAĞ, Adem ALEMDAR, **Lamiya ALİYEVA**, Niyazi KAYA, Şehime Gülsün TEMEL. Med J SDU / SDÜ Tıp Fak Derg u 2019;26(1):000-000 doi: 10.17343/sdutfd.741507.

Sözlü Sunumlar

1. Lysinuric protein intolerance and HOIP deficiency in a boy: *SLCA7A* and *RNF31* gene disruptions. **Lamiya Aliyeva**, Sahin Erdol, Orhan Gorukmez, Burcu Turkgenc, Hakan Gurkan, Yasin Yarali, Birol Baytan, Halil Saglam, Sebnem Kilic, Sehime G. Temel. Erciyes Tıp Genetik Günleri 7-10 Mart 2018. (Sözlü Sunum Üçüncülük Ödülü).

2. Lysinuric protein intolerance and HOIP deficiency in a boy: *SLCA7A* and *RNF31* gene disruptions. **Lamiya Aliyeva**, Sahin Erdol, Orhan Gorukmez, Burcu Turkgenc, Hakan Gurkan, Yasin Yarali, Birol Baytan, Halil Saglam, Sebnem Kilic, Sehime G. Temel. European Biotechnology Congress 2018, April 26-28, 2018 in Athens, Greece.
3. BRCA1 ve BRCA2 Genlerinde Meme ve Over Kanseri ile İlişkili Yeni Varyantların Saptanması ve Analizleri. **Lamiya ALIYEVA**, Niyazi KAYA, Zeynep KURT, Ahmet KABLAN, Şebnem OZEMRI SAĞ, Dilek PIRIM, ELIF Uz Yıldırım, Sehime G. TEMEL. Uluslararası Katılımlı 13. Ulusal Tıbbi Genetik Kongresi Antalya, 2018.
4. A case with 5q microdeletion: Features overlaps with DiGeorge syndrome. **Lamiya Aliyeva**, Ahmet Kablan, Yasemin Ozen, Engin Atli, Hakan Gurkan, Sebnem Ozemri Sag, Sehime Gulsum Temel. International Participated Erciyes Medical Genetics Days 2019 21–23 February 2019, Erciyes University, Kayseri, Turkey.
5. Osteogenezis Imperfekta Ön Tanılı Hastaların Hedefe Yönelik Gen Paneli Kullanılarak Yeni Nesil Tekniği ile Dizilenmesi. **Lamiya ALIYEVA**, Niyazi KAYA, Ahmet KABLAN, Dilek PİRİM, Elif UZ, Şebnem ÖZEMRİ SAĞ, Sehime G TEMEL. 3. Ege Endokrin Hastalıklar ve Genetik Sempozyumu, 7 – 9 Mart 2019.
6. Identification of BRCA1/2 Variants via Next Generation Sequencing for Therapeutic Approach. Şebnem Özemri Sağ, Niyazi Kaya, **Lamiya Aliyeva**, Ahmet Kablan, Cemre Örnek, Berkcan Doğan, Dilek Pirim, Elif Uz Yıldırım, Şehime Gülsün Temel. 13th Balkan Congress of Human Genetics, 17-20 April 2019, Edirne, Turkey.
7. Targeted gene panel sequencing for Hereditary Cancers: Diagnostic Efficiency. Şehime G. TEMEL, Adem Alemdar, Niyazi Kaya, **Lamiya Aliyeva**, Ahmet Kablan, Dilek Pirim, Elif Uz, Sebnem Ozemri Sag. 13th Balkan Congress of Human Genetics, 17-20 April 2019, Edirne, Turkey.
8. Molecular diagnosis of connective tissue disorders using targeted gene panel screening. Ahmet Kablan, Niyazi Kaya, **Lamiya Aliyeva**, Dilek Pirim,

Elif Uz Yıldırım, Şebnem Sağ, Şehime Gülsün Temel 13th Balkan Congress of Human Genetics, 17-20 April 2019, Edirne, Turkey.

9. Genetic evaluation of the CFTR gene and comprehensive analysis of the sequence variants using bioinformatic tools. Ecem Buse Yılmaz, Niyazi Kaya, **Lamiya Aliyeva**, Ahmet Kablan, Dilek Pirim, Elif Uz Yıldırım, Şebnem Özemri Sağ, Şehime Gülsün Temel. 13th Balkan Congress of Human Genetics, 17-20 April 2019, Edirne, Turkey.
10. Osteogenezis İmperfekta tanılı hastaların fenotip-genotip korelasyonu. **Lamiya Aliyeva**, Ahmet KABLAN, Selcan ZEYBEK, F.Birand ARTIRAN, M.Bartu Sarısözen, Özgecan DEMİRBAŞ, Erdal EREN, Şebnem ÖZEMRİ SAĞ, Şehime G.TEMEL. 4. Ulusal Çocuk Genetik Kongresi, 25-27 Eylül 2019, Ankara, Türkiye.
11. Hipodonti, hipohidrozi, hipotrikozis ve cilt bulgulu 3 ailesel vaka sunumu. **Lamiya Aliyeva**, Şebnem Özemri Sağ, Burcu Tabakcı, Selcan Zeybek, Nursel Elçioğlu, Şehime G. Temel. 1. Bursa Uluslararası Katılımlı Genetik Günleri Dermatogenetik Sempozyumu, 09-11 Ocak 2020, Bursa. Türkiye. (Sözlü Sunum Üçüncülük Ödülü).
12. Nadir Görülen Bir DSP Fenotipi: Frajil cilt/yünsü saç sendromu. Zehra Manav Kabayeğit, **Lamiya Aliyeva**, Şebnem Özemri Sağ, Şehime G. Temel. 1. Bursa Uluslararası Katılımlı Genetik Günleri Dermatogenetik Sempozyumu, 9-11 Ocak 2020, Bursa. Türkiye.

Poster Sunumları

1. 1P36 Proksimal İnterstisyel Delesyonlu Bir Olgu Sunumu. **Lamiya ALİYEVA**, Ahmet KABLAN, Engin ATLI, Hakan GÜRKAN, Ergun ÇİL, Şehime G TEMEL. 3. Ulusal Çocuk Genetik Sempozyumu. 11-14 Ekim 2017, Antalya, Türkiye.
2. Psychomotor delay in a child with Achondroplasia. M. C. Ergoren, **L. Aliyeva**, E. Eren, E. Manara, S. Paolacci, G. Mocan, S. G. Temel, M. Bertelli. European Human Genetics Conference. June 16–19, 2018. Milano, Italy.

3. Lysinuric protein intolerance and HOIP deficiency in a boy: *SLCA7A* and *RNF31* gene disruptions. **Lamiya Aliyeva**, Sahin Erdol, Orhan Gorukmez, Burcu Turkgenç, Hakan Gurkan, Yasin Yarali, Birol Baytan, Halil Saglam, Sebnem Kilic, Sehime G. Temel. ASHG 2018 Annual Meeting San Diego, California, October 16-20.
4. A rare case report of SMARD1 (SPINAL MUSCULAR ATROPHY WITH RESPIRATORY DISTRESS 1) syndrome. **Lamiya Aliyeva**, Ahmet Kablan, Rabia Tütüncü Toker, Mehmet Sait Okan, Şebnem Özemri Sağ, Sehime G Temel. 13th Balkan Congress of Human Genetics Edirne, April 17-20, 2019.

Ulusal Bilimsel Toplantılarda Sunulan ve Bildiri Kitabında Basılan Bildiriler

1. Targeted gene panel sequencing for hereditary kidney diseases: Efficiently detects candidate pathogenic variants related with these disorders. Niyazi Kaya, Ahmet Alkaya, **Lamiya Aliyeva**, Ahmet Kaplan, Dilek Pirim, Elif Uz Yildirim, Sebnem Ozemri Sag, Sehime Gulsun Temel. Erciyes Tıbbi Genetik Günleri 2019, 21-23 Şubat, Kayseri, Sözlü Bildiri.
2. A case with 5q microdeletion: A case with 5q microdeletion Features overlaps with DiGeorge syndrome. **Lamiya Aliyeva**, Ahmet Kablan, Yasemin Ozen, Engin Atli, Hakan Gurkan, Sebnem Ozemri Sag, Sehime Gulsun Temel. Erciyes Tıbbi Genetik Günleri 2019, 21-23 Subat, Kayseri, Sözlü Bildiri.
3. A case with a de novo heterozygote *ACTG1* variant: Genotype-phenotype correlation. Ahmet Kablan, **Lamiya Aliyeva**, Sebnem Sag, Sehime Gulsun Temel. Erciyes Tıbbi Genetik Günleri 2019, 21-23 Subat, Kayseri, Sözlü Bildiri.
4. Osteogenesis İmprefekta Ön Tanili Hastaların Hedefe Yönelik Gen Paneli Kullanılarak Yeni Nesil Tekniği ile Dizilenmesi. **Lamiya ALİYEVA**, Niyazi KAYA, Ahmet KABLAN, Dilek PİRİM, Elif UZ, Şebnem ÖZEMRİ

- SAĞ, Sehime G TEMEL. 3.Ege Endokrin Hastalıklar ve Genetik Sempozyumu, 7-9 Mart 2019, İzmir, Sözlü Bildiri.
5. BİRT-HOGG-DUBÉ Sendromu: Üç Olgu Sunumu. Ahmet KABLAN, Ahmet ALKAYA, **Lamiya ALİYEVA**, Eda HAŞAL, Emel BÜLBÜL BAŞKAN, Aslı GÖREK DİLEKTAŞLI, Şebnem ÖZEMRİ SAĞ, Şehime GÜLSÜM TEMEL. Uluslararası Katılımlı 13. Uluslararası Katılımlı Ulusal Tıbbi Genetik Kongresi Antalya, 2018, Sözlü Bildiri.
 6. *Lysinuric protein intolerance and HOIP deficiency in a boy with homozygous missense mutation in the RNF31 gene and homozygous deletion of SLC7A7 gene.* Lamia Aliyeva, Şahin Erdöl, Orhan Görükmez, Hakan Gürkan, Yasin Karalı, Birol Baytan, Halil Sağlam, Şebnem Kılınç, Şehime Gülsüm Temel. Erciyes Tıp Genetik Günleri 2018, Sözlü Bildiri.
 7. 1P36 Proksimal İnterstisyel Delesyonlu Bir Olgu Sunumu. **Lamiya ALİYEVA**, Ahmet KABLAN, Engin ATLI, Hakan GÜRKAN, Ergun ÇİL, Şehime G TEMEL. 3. Ulusal Çocuk Genetik Sempozyumu. 11-14 Ekim 2017, Antalya, Türkiye, Poster Bildiri.
 8. Kıvrıntılı Arter Sendromu: Olgu Sunumları Ve Fenotip Genotip Korelesyonu. Ahmet KABLAN, **Lamia ALIYEVA**, Margot COUSIN, Fahrettin UYSAL, Özlem BOSTAN, Lut Van Laer, Ergün Çil, Bart LOEYS, Eric KLEE, Sehime TEMEL. Çocuk Genetik Sempozyumu 11-13 Ekim 2017, Antalya, Sözlü Bildiri.
 9. Hipodonti, hipohidrozi, hipotrikozis ve cilt bulgulu 3 ailesel vaka sunumu. **Lamiya Aliyeva**, Şebnem Özemri Sağ, Burcu Tabakcı, Selcan Zeybek, Nursel Elçioğlu, Şehime G. Temel. 1. Bursa Uluslararası Katılımlı Genetik Günleri Dermatogenetik Sempozyumu, 9-11 Ocak 2020, Bursa, Sözlü Bildiri.
 10. Nadir Görülen Bir DSP Fenotipi: Frajil cilt/yünsü saç sendromu. Zehra Manav Kabayeğit, **Lamiya Aliyeva**, Şebnem Özemri Sağ, Şehime G. Temel. 1. Bursa Uluslararası Katılımlı Genetik Günleri Dermatogenetik Sempozyumu, 9-11 Ocak 2020, Bursa, Sözlü Bildiri.

Ödüller

1. Lysinuric protein intolerance and HOIP deficiency in a boy: *SLCA7A* and *RNF31* gene disruptions. **Lamiya Aliyeva**, Sahin Erdol, Orhan Gorukmez, Burcu Turkgenc, Hakan Gurkan, Yasin Yarali, Birol Baytan, Halil Saglam, Sebnem Kilic, Sehime G. Temel. Erciyes Tıp Genetik Günleri 7-10 Mart 2018. (Sözlü Sunum Üçüncülük Ödülü).
2. Hipodonti, hipohidrozi, hipotrikozis ve cilt bulgulu 3 ailesel vaka sunumu. **Lamiya Aliyeva**, Şebnem Özemri Sağ, Burcu Tabakcı, Selcan Zeybek, Nursel Elçioğlu, Şehime G. Temel. 1. Bursa Uluslararası Katılımlı Genetik Günleri Dermatogenetik Sempozyumu, 9-11 Ocak 2020. (Sözlü Sunum Üçüncülük Ödülü).

Stajlar ve Kurslar

1. Çocuk Genetik Sempozyumu 11-13 Ekim 2017 Antalya – II. Mikroarray Kursu
 2. Erciyes Tıp Genetik Günleri 7-10 Mart 2018 - CES Okulu
 3. Uluslararası Katılımlı 13. Ulusal Tıbbi Genetik Kongresi Antalya - Non İnvaziv Genetik Testler Kursu
 4. Bursa Uludağ Üniversitesi Hayvan Deneylemleri Kursu, 2018.
 5. 3. Ege Endokrin Hastalıklar ve Genetik Sempozyumu, 7 – 9 Mart 2019 - Olgular Eşliğinde Endokrin Hastalıklarda Genetik Tanı Kursu
 6. 4. Ulusal Çocuk Genetik Kongresi, 25-27 Eylül 2019 – “Dismorfik Bulgudan Klinik Tanıya” Kursu
 7. Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik Anabilim Dalı, AGENTEM laboratuvarı, 6-10 Mayıs 2019 - Likit Biyopsi Analizi Eğitimi
 8. 1. Bursa Uluslararası Katılımlı Genetik Günleri Dermatogenetik Sempozyumu, 9-11 Ocak 2020- “Yapay Zeka ve Genetik” kursu, “İn Vivo İn Vitro Fonksiyonel Genetik Çalışmalarda Modelleme Sistemleri” kursu
-

Kongre Katılımları

1. Çocuk Genetik Sempozyumu, 11-13 Ekim 2017, Antalya, Türkiye.
2. Erciyes Tıp Genetik Günleri, 7-10 Mart 2018, Kayseri, Türkiye.
3. European Biotechnology Congress 2018, 26-28 April 2018, Athens, Greece.
4. Uluslararası Katılımlı 13. Ulusal Tıbbi Genetik Kongresi, Antalya, Türkiye.
5. International Participated Erciyes Medical Genetics Days, 21–23 February 2019, Erciyes University, Kayseri, Türkiye.
6. 3. Ege Endokrin Hastalıklar ve Genetik Sempozyumu, 7 – 9 Mart 2019, İzmir, Türkiye.
7. 13th Balkan Congress of Human Genetics, 17-20 April 2019, Edirne, Turkey.
8. 4. Ulusal Çocuk Genetik Kongresi, 25-27 Eylül 2019, Ankara, Türkiye.
9. 1. Bursa Uluslararası Katılımlı Genetik Günleri Dermatogenetik Sempozyumu, 9-11 Ocak 2020, Bursa, Türkiye.

Dr. Lamiya Aliyeva

Posta Adresi

Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi / Tıbbi Genetik Anabilim Dalı / 16120 / Bursa/
TÜRKİYE

Telefon

+90 530 507 8292

E-mail

lamiyalieva90@gmail.com

lamialieva@uludag.edu.tr