

# Spina bifida hastalarında metilen tetrahidrofolat redüktaz, TEAD2 ve PAX3 gen polimorfizmlerinin araştırılması

Mehmet SARAÇ\*, Şeymus Kerem ÖZEL\*\*, Ebru ETEM ÖNALAN\*\*\*, Hüseyin YÜCE\*\*\*\*, Ünal BAKAL\*

\*Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Cerrahisi Anabilim Dalı, Elazığ, \*\*Bilim Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Cerrahisi Anabilim Dalı, İstanbul, \*\*\*Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Elazığ, \*\*\*\*Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Düzce

## Özet

**Amaç:** Gen polimorfizminin spina bifida (SB) etyopatogenezindeki rolü bir çok çalışmada değerlendirilmiştir. Bu çalışmada Türkiye'nin doğusunda bulunan SB hastalarında Metil tetrahidrofolat redüktaz (MTHFR), Transkripsiyon Faktör2 (TEAD2) ve Paired-Box3 (PAX3) gen polimorfizmleri ve allel sıklıkları değerlendirildi. MTHFR aktivitesi, folat metabolizması üzerinde kritik bir rol oynar. PAX3 ve TEAD2 nöral tüpün kapanmasında görevli olan iki farklı gen dir.

**Gereç ve Yöntemler:** Çalışmaya SB tanılı hastalar, kontrol grubuna ise sakral anomalisi olmayan hastalar alındı. Alınan kan örneklerinde MTHFR ve TEAD2 "Restriksiyon Fragment Uzunluk Polimorfizm" yöntemi, PAX3 gen polimorfizmleri ise "Amplifikasyon Spesifik Oligonükleotid" yöntemiyle araştırıldı. Bulgular ki-kare, Mann-Whitney U ve Pearson korelasyon analiziyle değerlendirildi.

**Bulgular:** Çalışma grubunda 67, kontrol grubunda ise 72 hasta mevcuttu. Ortalama yaş çalışma grubunda 2.4, kontrol grubunda ise 7.8 yıl idi. Çalışma grubunda bulunan hastalardan 65'inde meningomyelosel, 2'sinde ise meningosel mevcuttu. Yedi hastanın diğer aile üyelerinde de SB'ya rastlanırken 17 hastanın aile hikayesinde akraba evliliği mevcuttu. MTHFR ve TEAD2 gen polimorfizimleri yönünden çalışma ve kontrol grubu arasında anlamlı farklılığa rastlanmadı. PAX3 gen polimorfizm yönünden ise çalışma ve kontrol grupları arasında genotipik dağılım yönünden farklılık yoktu. Allel sıklıkları karşılaştırıldığında ise çalışma grubunda G alleli yüksek sıklıkta bulundu ( $p=0.03$ ).

**Sonuç:** SB gelişiminde multifaktöryel olaylar rol oynamaktadır. Yapılan bu çalışmamızda, literatürde bulunan diğer çalışmaların aksine, MTHFR ve TEAD2 gen polimorfizmleri hasta grubumuzda SB gelişiminde rol oynamamış olabileceği görülmüştür. Bulgularımız PAX3 gen polimorfizminin ise SB görülmesinde rol oynadığı yönündedir. SB nin etyolojisinin aydınlatılmasında daha fazla genetik araştırma yapılmasına ihtiyaç duyulmaktadır.

**Anahtar kelimeler:** Spina bifida, tek nükleotid polimorfizmi, MTHFR, TEAD2, PAX3

## Summary

**Determination of methyl tetrahydrofolate reductase, TEAD2 and PAX3 gene polymorphisms in patients with spina bifida**

**Introduction:** Several studies have evaluated the role of gene polymorphisms in etiopathogenesis of spina bifida (SB). The aim of this study is to evaluate methyl tetrahydrofolate reductase (MTHFR), Transcription factor2 (TEAD2) and Paired-Box3 (PAX3) gene polymorphisms and allele frequencies in patients with SB in eastern part of Turkey. MTHFR activity plays a critical role in folate metabolism. PAX3 and TEAD2 are two different genes that are functional in closure of neural tube.

**Material and Methods:** The study group included children with SB, children without any sacral anomalies, was accepted as the control group. MTHFR and TEAD2 were analysed by "Polymorphisms Restriction Fragment Length Polymorphism" method and for PAX3 determination, "Polymorphism Amplification Specific Oligonucleotide" methods. Data were analysed using chi-square, Mann-Whitney U tests and Pearson's correlation analysis.

**Results:** There were 67 patients with SB in the study group and 72 children in the control group. The mean age of children were 2.4 years and 7.8 years in the study and control group, respectively. In the study group, there were 65 meningomyelocele and 2 meningocoele patients. In seven patients, SB was detected in another family member and 17 patients had consanguinity in family history. No significant difference was detected in MTHFR and TEAD2 gene polymorphisms between control and study groups. PAX3 gene polymorphism did not differ between controls and study group in genotype distribution. G allele was found to have an increased frequency in the study group ( $p=0.03$ ).

**Conclusion:** SB development depends on multifactorial mechanisms. Results show that TEAD2 and MTHFR gene polymorphisms, in contrary to other studies in the literature, may not contribute the formation of SB in our patient population. Our data indicate that PAX3 gene polymorphisms may be a contributing factor for the development of SB. More accurate determination of genetic backgrounds of SB may help to solve the development mechanisms of the disease.

**Key words:** Spina bifida, single nucleotide polymorphism, MTHFR, TEAD2, PAX3

**Adres:** Yard. Doç. Dr. Mehmet Saraç, Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Cerrahisi, Elazığ  
**Alındığı tarih:** 17.06.2015  
**Kabul tarihi:** 22.07.2015

## Giriş

Canlı doğumların % 1'inde santral sinir sisteminin (SSS) doğumsal anomalileri görülmekte ve doğum öncesi fetal ölümlerin % 72'sinden sorumlu tutulmaktadır. Bu anomalilerin % 64'ü, vücudun arka-orta hattında nöral tüpün kapanma ya da gelişim bozukluğu sonucu oluşmaktadır <sup>(10,12)</sup>. SB, alt ekstremitelerde paralizi, nörojen mesane, barsak disfonksiyonu ve hidrosefali gibi yaşam boyu kalıcı morbiditelere yol açan, çok ağır seyreden konjenital anomalilerden biridir. Ailelerin ve sağlık kurumlarının yoğun çabalarına karşın SB'li çocukların kesin tedavisi bulunmamaktadır ve bu hastalar ömür boyu destek tedavisi almaya devam ederler <sup>(24)</sup>. Hastalık yüzyıldır bilinmesine karşın etyolojisi tam olarak gün ışığına çıkarılamamış, genetik ve çevresel faktörlerin kombinasyonu ile meydana geldiği düşünülmüştür. Tüm bu bilgiler ışığında, hastalığın tedavisinden ziyade SB'yi önlemeye yönelik çalışmaların daha fazla yarar sağlayacağı aşikardır.

Türkiye'de yapılmış bir araştırmada SB insidansı 1,5/1000 olarak bulunmuştur <sup>(15)</sup>. Doğu Anadolu bölgesinde bu insidans 2,6/1000 olarak tespit edilmiştir <sup>(23)</sup>. SB nedenleri hakkında çeşitli teoriler bulunmaktadır. Bunlar arasında genetik faktörler, çeşitli teratojenler, beslenme bozuklukları olduğu bilinmektedir <sup>(2)</sup>. Nöral tüp defektlerinin gelişiminde genetik faktörlerin rolünü göstermek amacıyla günümüze kadar 130'dan fazla gen üzerinde çalışma yapılmıştır. Bu genlerin çoğu folik asit metabolizması, glukoz dengesi gibi metabolik fonksiyonlar ya da oksidatif stres, apoptoz, DNA tamiri, gen ekspresyonu düzenlenmesi gibi hücre fonksiyonlarında rol alır <sup>(4)</sup>. MTHFR aktivitesi, folat metabolizması üzerinde kritik bir rol oynar, DNA ve RNA sentezine direkt olarak etki eder. NTD etiolojisinde rol oynayan ilk genetik risk faktörü olan MTHFR genin C677T polimorfizmi, Van der Put ve arkadaşları tarafından tanımlanmıştır <sup>(29)</sup>. PAX3 ve TEAD2 nöral tüpün kapanmasında görevli olan iki farklı gen <sup>(11)</sup>. TEAD2 PAX3'ün promotör bölgesine bağlanarak PAX3'ün ekspresyonunu düzenler <sup>(26)</sup>. TEAD2 p53 bağımlı apoptozisi inhibe ederek nöral tüpün kapanmasının regülasyonunda görev alır.

Çalışmamızda, SB'li hastalarda MTHFR, TEAD2 ve PAX3 polimorfizmlerinin genotip ve allel sıklıklarının değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Çalışma sonu-

cunda elde edilecek verilerin SB'ye yatkınlık oluşturacak genetik durumların ortaya çıkarılmasına katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

## Gereç ve Yöntem

### Hastalar

Bu çalışma, Üniversitemizin yerel etik kurulundan onay alındıktan sonra, tüm ailelerin yazılı ve sözlü onamları alınarak gerçekleştirilmiştir. Kontrol grubu çocuk cerrahisi polikliniğine başvuran sakral bölge muayeneleri normal olan ve farklı diğer sebeplerle çocuk cerrahisi servisine yatırılan 80 hastadan oluşturuldu, PAX3 çalışmasına bu gruptan 8 hasta optimal sonuçlar elde edilemediği için dahil edilmedi. Çalışma grubunda ise spina bifida tanısı konulan 67 hasta incelendi.

Her olgunun demografik özellikleri ve klinik öyküleri detaylı olarak öğrenildi. Olgulardaki defektin tipi kayıt edildi ve ailede benzer olgu, akraba evliliği olup olmadığı ve anne yaşı sorgulandı. Doğum anamnezleri yanında olası teratojen nedenleri ortaya çıkarmak için annelerin perikonsepsiyonel dönemde ilaç kullanımı sorgulandı. Ayrıca hastaların geldiği il kaydedildi.

### Genotiplendirme

Kan örnekleri MTHFR, TEAD2 ve PAX3 polimorfizmlerine ait moleküler genetik çalışmalar için Tıbbi biyoloji bölümüne gönderildi. Genomik DNA periferik kandan Wizard Genomic DNA Extraction Kiti (Promega, USA) kullanılarak, üretici firmanın talimatları doğrultusunda gerçekleştirildi. MTHFR C677T tek nucleotid polimorfizmi (SNP) Ulvik ve arkadaşlarının tariflediği yöntem ile analiz edildi ve MTHFR A1298C SNP Chango ve arkadaşlarının tariflediği yöntemle analiz edildi <sup>(6,27)</sup>. TEAD2 ve PAX3 gen polimorfizminin tespiti için yeni primerler dizayn edildi. TEAD2 rs375306 genotipleme için "Restriksiyon Fragment Uzunluk Polimorfizm" yöntemi ve PAX3 rs16863657 genotipleme için ise "Amplifikasyon Spesifik Oligonükleotid" yöntemi kullanıldı. Tüm polimorfizimlerin analizinde aynı PCR reaksiyon şartları uygulandı. PCR koşulları 95°C'de 5 dk. ön denaturasyon, 95°C 30 saniye, 60°C 30 saniye, 72°C 30 saniye'lik 35 siklus, takiben 72°C 5 dakika son uzama şeklinde gerçekleştirildi. PZR 0.5

ml'lik tüplerde toplam hacim 30µl olacak şekilde yapıldı. Her bir tüpe 6 µl hasta DNA'sı ve üzerine 3 µl MgCl<sub>2</sub>, 3 µl 10X buffer, 3 µl dNTP (2.5mM), 1 µl primer 1 (10 pmol), 1 µl primer 2 (10 pmol), 0.1 U Taq DNA polimeraz ve 13 µl ddH<sub>2</sub>O konuldu. Hazırlanan tüpler vortekslenildi ve PZR cihazına önceden girilmiş olan programda PZR işlemi gerçekleştirildi. PCR ve RFLP sonrası ürünler %2'lik bir agaroz jelde etidyum bromid boyası varlığında yürütülerek değerlendirildi. PZR sonrası MTHFR için Hinfl ve TEAD2 için polimorfizm analizleri için Hind III restriksiyon enzimi kullanıldı. 15-µl'lik PCR ürünü bir gece boyunca 37 derecede 0.5 U HindIII (Promega, USA) ile kesime bırakıldı. C alleli için RFPL sonucu jelde 153bp+145 bp'lik iki band, C alleli için ise intakt bir 240-bp band elde edildi. PAX3 için çalışılan primere bağlı olarak 159-bp ampliconların gözlenip gözlenmemesine göre genotipler analizler edildi. TEAD2 ve PAX3 polimorfizmdeki genotipler için elde edilen sonuçlar rastgele seçilmiş üç numunenin sekanslama analizi ile doğrulandı. MTHFR rs 1801133 C677T polimorfizmi için kullanılan primer dizisi

Forward 5'-TGAAGGAGAAGGTGTCTGCGGGA-3',  
Revers 5'-AGGACGGTGCGGTGAGAGTG-3' şeklindedir.

TEAD2 rs375306 C→G polimorfizmi için kullanılan primer dizisi

Forward 5'-GAAGCCAGACTGCTTGGGTTCAAA-3',  
Revers 5'-AGACATTGAGCAGAGCTTCCAGGAG-3' şeklindedir.

PAX3 rs16863657 A→G polimorfizmi için kullanılan primer dizisi

Forward (A): 5-TCGTTAGTTGAAGGCTGGGGGT  
ATGGGGGAGGGTGCAGATA-3

Forward (G): 5-TCGTTAGTTGAAGGCTGGGGGT  
ATGGGGGAGGGTGCAGATG-3

Revers 5-TACAGACACATCTCTGTGTCGACGCATC  
GGG-3 şeklindedir.

#### İstatistiksel analiz

Parametreler arası ilişkiler Pearson korelasyon analizi kullanılarak değerlendirildi. Hasta ve kontrol gruplarında genotip ve allel sıklıklarının dağılımı ki-kare analizi ile yapıldı. Gruplar arası farkların değerlendirilmesinde Mann-Whitney-U testi kullanıldı. Veriler ortalama±standart sapma olarak verildi. Değerlendirmelerde p<0,05 olan değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

#### Bulgular

Hasta grubunda (n=67), 26 kız (%38.8), 41 erkek (%61.2) vardı, bu hastaların dört tanesi çalışma için kanları alındıktan sonra; üç tanesi yenidoğan döneminde ameliyat edildikten sonra enfeksiyon nedeni ile, bir hasta da KBY nedeni ile kaybedildi. Hastaların yaş ortalamaları 2.46±3.22 yıl (1 ay ile 18 yaş arası), kızların yaş ortalaması 2.52±3.80 yıl (1 ay ile 18 yaş arası), erkeklerin yaş ortalaması 2.42±3.22 yıl (1 ay ile 14 yaş arası) dır. Annelerin yaş ortalamaları 28.15±4.71 yıl (19 ile 44 yaş arası) idi. Hastaların klinik bulguları Tablo 1'de bulunmaktadır.

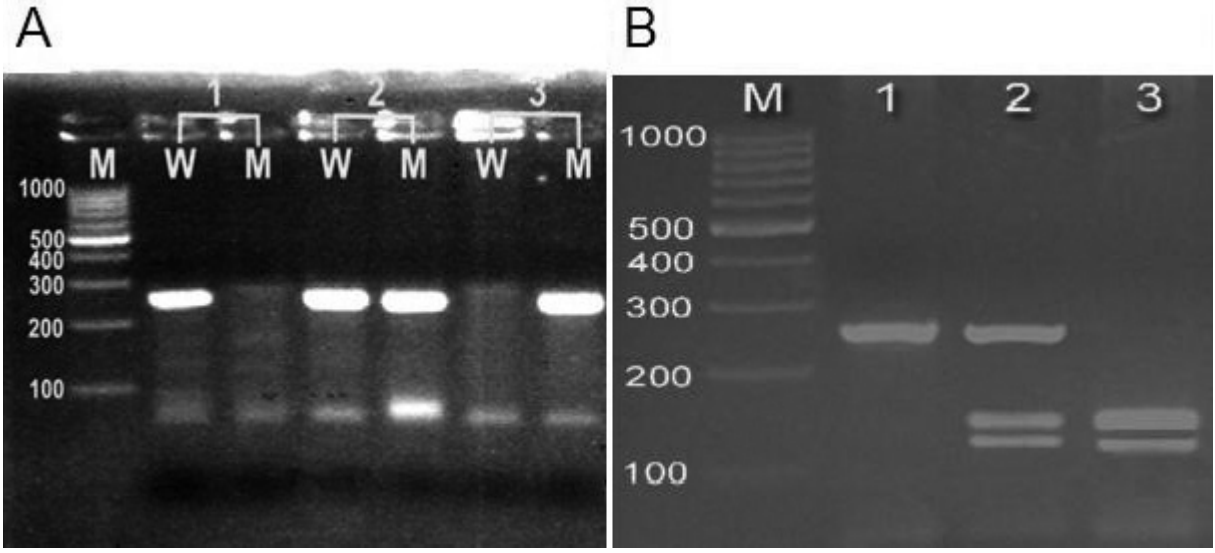
**Tablo 1. Hastaların klinik özellikleri.**

Klinik özelliği	n (%) / n (%)
Defektin tipi (meningose / meningomyelo)	2 (%3) / 65 (%97)
Annede daha önce NTD (+/-) düşük varlığı	16 (%23.9) / 51 (%76.1)
Akraba evliliği (+/-)	18 (%26.9) / 49 (%73.1)
Ailede diğer NTD çocuk varlığı (+/-)	8 (%11.9) / 59 (%88.1)
Hamilelik sırasında ilaç kullanımı (+/-)	11 (%16.4) / 56 (%83.6)
Yerel hasta/dış bölgeden gelen hasta	37 (%55.2) / 30 (%44.8)

**Tablo 2. PAX3, TEAD2 ve MTHFR genlerine ait genotip ve allel sıklıklarının hasta ve kontrol gruplarında dağılımı.**

PAX3				
Genotipler	AA (n)	AG (n)	GG (n)	p
Hasta (n=67)	52	13	2	p>0.05
Kontrol (n=72)	64	8	0	
Alleller				
	A (%)	G (%)		p=0.03
Hasta (n=67)	87.3	12.7		p=0.03
Kontrol (n=72)	94.3	5.7		
TEAD2				
Genotipler	CC (n)	CG (n)	G (n)	p>0.05
Hasta (n=67)	45	21	1	p>0.05
Kontrol (n=80)	59	20	1	
Alleller				
	C (%)	G (%)		p>0.05
Hasta (n=67)	82.8	17.2		p>0.05
Kontrol (n=72)	86.25	13.75		
MTHFR				
Genotipler	TT (n)	TC (n)	CC (n)	p>0.05
Hasta (n=67)	32	25	10	p>0.05
Kontrol (n=80)	40	31	9	
Alleller				
	C (%)	G (%)		p>0.05
Patient (n=67)	66.4	33.6		p>0.05
Control (n=72)	69.4	30.6		

TEAD2 rs375306 ve MTHFR rs 1801133 gen polimorfizmlerine ait genotip ve allel sıklığı yönünden iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark-



Resim 1. (A): Pax3 rs16863657 SNP'ın agaroz jel elektroforezi görüntüsü sütun 1: DNA boyut markırı, sıra 2,3: AA genotipi için 159 bp , sıra 4,5: AG genotipi için 159 bp , sıra 6,7: GG genotipi için 159 bp. (B): HindIII RFLP ile TEAD2 gen polimorfizm genotiplendirilmesi Sütun 1: 100-bp DNA markırı (Fermentas, USA), sütun 2: 240bp (CC), Sütun 3: 240bp + 153bp + 145bp (CG), Sütun 4: 153bp + 145bp (GG)

lık bulunmadı. PAX3 gen rs16863657 polimorfizimi açısından iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamasına rağmen G allel sıklığının hasta grubunda kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek olduğu bulundu ( $X^2=4.4$ ,  $df=1$ ,  $p=0.03$ ) (Resim 1, Tablo 2).

### Tartışma

Nöral tüp defektleri dünyada % 0,1-0,4 ülkemizde ise % 0,3 oranında görülmektedir<sup>(15,29)</sup>. Annenin yetersiz beslenmesi, yüksek ateş, hipertansiyon, diabetes mellitus, obezite gibi sağlık sorunları, gebelikte kullandığı bazı ilaçlar ve maruz kaldığı çevresel faktörler farklı şekillerde etki göstererek nöral tüpün kapanma defektine neden oldukları bildirilmektedir<sup>(3,18)</sup>. NTD'nin aile içinde tekrarlaması etiolojisinde hem çevresel hem de genetik faktörlerin yer aldığı multifaktöriyel kalıtımın sorumlu olduğunu göstermektedir.

MTHFR geninin nükleotid dizimindeki 677 pozisyonunda bulunan sitozinin yerine timidin (C->T) bazının gelmesi, termolabil ve düşük çalışma aktivitesine sahip MTHFR enziminin sentezlenmesine neden olmaktadır<sup>(8)</sup>. MTHFR enzim aktivitesi 677C->T mutasyon varlığı ile doğrudan ilişkilidir<sup>(29)</sup>. Homozigot ('TT') bireylerde olduğu gibi, heterozigot ('CT') bireylerinde de MTHFR enzim aktivitesi göreceli olarak normalin altındadır<sup>(29)</sup>. Yapılmış bazı çalışmalar-

da NTD'li olgu ve ebeveynlerin sağlıklı popülasyona göre daha sık homozigot mutant 'TT' genotipi taşıdıkları gösterilmiştir<sup>(14,28,29)</sup>. Çalışmamızda tüm çocukların (hasta ve kontrol grubu) genotipleri MTHFR gen polimorfizimleri açısından analiz edilmiştir. Bunun sonucunda tüm NTD'li olgular arasında kontrol grubuna göre C677T polimorfizmi için 'TT' genotip ve allel sıklığı açısından anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir. MTHFR geninin sık görülen başka bir polimorfizmi olan A1298C mutasyonuna yönelik yapılan çalışmalarda da homozigot mutant 1298 'CC' genotipi / 'C' alleli taşımaları bakımından anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir. Van Rooij ve ark.<sup>(30)</sup> göre olgulardaki MTHFR C677T ve MTHFR A1298C polimorfizimleri NTD için bağımsız risk faktörleri değildir. C677T polimorfizmi için TT genotipi açısından çalışmalardaki bu farklı bulguların genetik çeşitlilik, çevresel faktörler, beslenme ve etnik farklılıklardan kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Van der Put ve ark.<sup>(28)</sup> bir çalışmalarında NTD olgularında MTHFR geni "kombine heterozigotluk" oranını kontrollere kıyasla daha yüksek saptanmıştır ve MTHFR enzim aktivitesine baktıklarında kombine heterozigot olguların tek bir mutasyon için homozigot (677TT veya 1298'CC) olanlara kıyasla daha düşük enzim aktivitesi gösterdiklerini bulmuşlardır. Çalışma popülasyonumuz "kombine heterozigotluk" açısından değerlendirildiğinde, heterozigot 'TC' ge-

notipi ve allel sıklığı taşımaları açısından da anlamlı bir farklılık tespit edilememiştir.

TEAD2'nin nöral krestte PAX3 ekspresyonu üzerinde de etkili olduğu bilinmektedir (17). TEAD2, PAX3 ekspresyonunun regülasyonunda gerekli olmamasına rağmen, embriyonik nöral tüpün kapanmasında önemli bir rol oynar (22,32). PAX3 nöral krest indüksiyonundaki en öncü genlerden biridir. Nöral ektoderm ile epidermal dokular arasındaki doku- doku etkileşimini sağlar. PAX3 eksikliği olan farelerde spina bifida oluştuğu ve başka birçok nöral krest anomalilerinin ortaya çıktığı gösterilmiştir (1,5,26). Literatürde NTD hastalarında PAX3 polimorfizmlerinin araştırıldığı çalışma sayısı oldukça sınırlıyken TEAD2 gen polimorfizmlerinin incelendiği çalışmaya rastlanmamıştır (9,31). Çalışmamızda TEAD2 genotipleri ve allel sıklıkları açısından hasta ve kontrol grupları arasında anlamlı bir fark görülmemiştir.

PAX3 geni kromozom 2q36.1'de lokalize olup nöral krest hücrelerinde ekspres edilen bir transkripsiyon faktörüdür. Embriyonik nöral krestten köken alan melanositlerin farklılaşmasında ve gelişimde görev almaktadır (25). PAX3 proteini 2 DNA bağlanma alanı, bir çift alanı ve homeo alanı içeren toplam 6 ekzon içermektedir. Şu ana kadar Waardenburg sendromuna neden olan 100'den fazla mutasyonu tanımlanmıştır. Patojenik varyantlarının %95'i DNA bağlanma alanı içerisindedir (21). Gende pek çok polimorfizim bulunmasına rağmen rs16863657 polimorfizimi genin intronu içerisinde yer almakta olup bu polimorfizmin genin düzenlenmesi yada ekspresyonu üzerine etkilerinin değerlendirildiği bir çalışma bulunmamaktadır. Lu ve ark. SB hastalarında yaptıkları çalışmada PAX3 rs16863657 polimorfizmi ile NTD arasında ilişki bulduklarını belirtmişlerdir (13). Hasta ve kontrol grupları arasında PAX3 rs16863657 (A→G) polimorfizim genotip dağılımı açısından da anlamlı bir fark bulunmamıştır. Ancak PAX3'de G allel sıklığı hasta grubunda kontrol grubuna kıyasla anlamlı ölçüde yüksek olduğu saptanmıştır (p=0.03). Genetik çeşitlilik farklı etnik gruplarda değişik allel sıklıklarına ve farklı hastalık risklerine sebep oluyor olabilir. Çalışmamızdan elde ettiğimiz bu bulgular Lu ve ark.'nın (13) çalışmasının aksine, PAX3 geninin bölgemizde çocuklarda SB'nin görülmesi üzerinde bir kısım etkileri olabileceğini göstermiştir.

SB hastalarında aile hikayesi de oldukça önemlidir. Akraba evliliğinin SB ile ilişkisi yapılan çalışmalar ile kanıtlanmıştır (16,19). Suudi Arabistan'da SB hastalarında yapılan bir çalışmada hastalarda %89, kontrol grubunda ise % 67 ile akraba evliliği yönünden istatistiksel olarak anlamlı fark tesbit edilmiştir (19). SB'lı çocukların bulunduğu ailelerde farklı bireylerde SB görülme oranı literatürde %4 civarındadır (7,20), çalışmamızda ise bu oran literatürün çok üstünde, %11.9 olarak bulunmuştur. Bu durum çalışma grubumuzda SB'ya genetik bir yatkınlık olmasıyla açıklanabilir. Çalışmamızda, literatürle benzer olarak, SB'lı çocukların annelerinde %23.9 oranında düşük hikayesine de rastlanmıştır.

## Sonuç

NTD, etyopatogenezinde genetik faktörlerin de bulunduğu multifaktöryel olaylar rol oynamaktadır. Çalışmamızda, bölgemizde SB gelişiminde PAX3 allel sıklıklarındaki değişikliklerin etkili olabileceği düşünülmektedir. Bu allel sıklığının oluşmasında ise çevresel faktörler etkili olmuş olabilir. SB nin etyolojisinin aydınlatılmasında çalışmamızı desteklemek ve spesifik genleri gösterebilmek için daha geniş seriler üzerinde yapılmış daha fazla araştırmalara ihtiyaç vardır.

## Kaynaklar

1. Agopian AJ, Bahalla AD, Boerwinkle E, et al. Exon sequencing of PAX3 and T (brachyury) in cases with spina bifida. *Birth Defects Res* 2013;97:597-601.
2. Alexander GB, Zoha K. Genetic basis of neural tube defects. *Semin Pediatr Neurol* 2009;16:101-10. <http://dx.doi.org/10.1016/j.spen.2009.06.001>
3. Andrew JC, Philip S, Nicholas DEG. Neural tube defects: recent advances, unsolved questions and controversies. *Lancet Neurol* 2013;12:799-810. [http://dx.doi.org/10.1016/S1474-4422\(13\)70110-8](http://dx.doi.org/10.1016/S1474-4422(13)70110-8)
4. Au KS, Ashley-Koch A, Northrup H. Epidemiologic and genetic aspects of spina bifida and other neural tube defects. *Dev Disabil Res Rev* 2010;16:6-15. <http://dx.doi.org/10.1002/ddrr.93>
5. Auerbach R. Analysis of the developmental effects of a lethal mutation in the house mouse. *J Exper Zool* 1954;127:305-29. <http://dx.doi.org/10.1002/jez.1401270206>
6. Chango A, Boisson F, Barbe F et al. The effect of 677C→T and 1298A→C mutations on plasma homocysteine and 5, 10-methylenetetrahydrofolate reductase activity in healthy subjects. *Br J Nutr* 2000;83:593-6. <http://dx.doi.org/10.1017/S0007114500000751>
7. Farley TL. A reproductive history of mothers with spina bifida offspring-a new look at old issues. *Cerebrospinal*

- Fluid Research* 2006;3:10.  
<http://dx.doi.org/10.1186/1743-8454-3-10>
8. Frosst P, Blom HJ, Milos R et al. A candidate genetic risk factor for vascular disease: a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase. *Nat Genet* 1995;10:111-3.  
<http://dx.doi.org/10.1038/ng0595-111>
  9. Hol FA, Geurds MP, Chatkupt S et al. PAX genes and human neural tube defects: an amino acid substitution in PAX1 in a patient with spina bifida. *J Med Genet* 1996;33:655-60.  
<http://dx.doi.org/10.1136/jmg.33.8.655>
  10. Jian L, Jing Q, Xiao Y. Et al. Investigations of single nucleotide polymorphism in folate pathway genes in Chinese families neural tube defects. *J Neurol Sci* 2014;337:61-6.  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.jns.2013.11.017>
  11. Kaneko KJ, Kohn MJ, Liu C et al. Transcription factor TEAD2 is involved in neural tube closure. *Genesis* 2007;45:577-87.  
<http://dx.doi.org/10.1002/dvg.20330>
  12. Kibar Z, Capra V gros P. Toward understanding the genetic basis of neural tube defects. *Clin Genet* 2007;71:295-310.  
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1399-0004.2007.00793.x>
  13. Lu W, Zhu H, Wen S, et al. Screening for Novel PAX3 polymorphisms and risks of spina bifida. *Birth Defects Res (Part A)* 2007;79:45-9.  
<http://dx.doi.org/10.1002/bdra.20322>
  14. Lynch SA: Non-multifactorial neural tube defects. *Am J Med Genet C Semin Med Genet* 2005;135:69-76.  
<http://dx.doi.org/10.1002/ajmg.c.30055>
  15. Mandıracıoğlu A, Ulman İ, Lüleci E, et al. The incidence and risk factors of neural tube defects in İzmir, Turkey: A nested case-control study. *Turk J Pediatr* 2004;46:214-20.
  16. Manning SM, Jennings R, Madsen JR. Pathophysiology, prevention and potential treatment of neural tube defects. *Ment Reatrd Dev Disabil Res Rev* 2000;6:6-14.  
[http://dx.doi.org/10.1002/\(SICI\)1098-2779\(2000\)6:1<6::AID-MRDD2>3.0.CO;2-B](http://dx.doi.org/10.1002/(SICI)1098-2779(2000)6:1<6::AID-MRDD2>3.0.CO;2-B)
  17. Milewski RC, Chi NC, Li J, et al. Identification of minimal enhancer elements sufficient for PAX3 expression in neural crest and implication of TEAD2 as a regulator of PAX3. *Development* 2004;131:829-37.  
<http://dx.doi.org/10.1242/dev.00975>
  18. Molloy AM, Daly S, Mills JL, et al. Thermolabile variant of 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase associated with low red-cell folates: implications for folate intake recommendations. *Lancet* 1997;349:1591- 93.  
[http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(96\)12049-3](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(96)12049-3)
  19. Murshid WR. Spina bifida in Saudi Arabia: is consanguinity among the parents a risk factor? *Pediatr Neurosurg* 2000;32:10-2.  
<http://dx.doi.org/10.1159/000028890>
  20. Partington MD, McLone DG. Hereditary factors in the etiology of neural tube defects. Results of a survey. *Pediatr Neurosurg* 1995;23:311-6.  
<http://dx.doi.org/10.1159/000120977>
  21. Pingault V, Ente D, Dastot-Le Moal F, et al. Review and update of mutations causing Waardenburg syndrome. *Hum Mutat* 2010;31:391-406.  
<http://dx.doi.org/10.1002/humu.21211>
  22. Ramalho-Santos M, Yoon S, Matsuzaki Y, et al. "Stemness":transcriptional profiling of embryonic and adult stem cells. *Science* 2002;298:597-600.  
<http://dx.doi.org/10.1126/science.1072530>
  23. Saraç M, Özel ŞK, Kaplan M, et al. Spina bifida: Doğu Anadolu'daki durum. XXV. Ulusal Çocuk Cerrahisi Kongresi, 22-27 Ekim, Çeşme, İzmir, 2007.
  24. Shuteff DB, Graaf WD. Overview of clinical issues in the management of myelomeningocele; in Sarwak JF, Lubicky JP (eds): Caring for the Child with Spina Bifida Illinois. Publ. American Academy of Orthopaedic Surgeons 2001, p: 1.
  25. Strachan T, Read AP. PAX genes. *Curr Opin Genet Dev* 1994;4:427-38.  
[http://dx.doi.org/10.1016/0959-437X\(94\)90032-9](http://dx.doi.org/10.1016/0959-437X(94)90032-9)
  26. Zhao T, Gan Q, Stokes A, et al. B-Catenin regulates Pax3 and Cdx2 for caudal neural tube closure and elongation. *Development* 2014;141:148-57.  
<http://dx.doi.org/10.1242/dev.101550>
  27. Ulvik A, Refsum H, Kluijtmans LAJ, et al. C677T mutation of the methylenetetrahydrofolate reductase gene determined in human blood or plasma by a method involving multiinjection capillary electrophoresis and laser induced fluorescence detection. *Clin Chem* 1997;43:267-72.
  28. van der Put NMJ, Gabreels F, Stevens EMB, et al. A second common mutation in the methylenetetrahydrofolate reductase gene: an additional risk factor for neural -tube defects? *Am J Hum Genet* 1998;62:1044-51.  
<http://dx.doi.org/10.1086/301825>
  29. van der Put NMJ, Steegers-Theunissen RPM, Frosst P, et al. Mutated methylenetetrahydrofolate reductase as a risk factor for spina bifida. *Lancet* 1995;346:1070-1.  
[http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(95\)91743-8](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(95)91743-8)
  30. Van Rooij IALM, Vermeij-Keers C, Kluijtmans LAJ, et al. Does the interaction between maternal folate intake and the methylenetetrahydrofolate reductase polymorphisms affect the risk of cleft lip with or without cleft palate? *Am J Epidemiol* 2003;157:583-91.  
<http://dx.doi.org/10.1093/aje/kwg005>
  31. Volcik KA, Blanton SH, Kruzel MC, et al. Testing for genetic associations with the PAX gene family in a spina bifida population. *Am J Med Genet* 2002;110:195-202.  
<http://dx.doi.org/10.1002/ajmg.10434>
  32. Zhao P, Caretti G, Mitchell S, et al. Fgfr4 is required for effective muscle regeneration in vivo. Delineation of a MyoD-TEAD2-Fgfr4 transcriptional pathway. *J Biol Chem* 2006;281:429-38.  
<http://dx.doi.org/10.1074/jbc.M507440200>