



Adana İlinde CFTR Gen Mutasyonlarının Değerlendirilmesi

Evaluation of CFTR Gene Mutations in Adana

Özlem Görüroğlu Öztürk¹, Filiz Kibar², Esin Damla Ziyanoğlu Karaçor¹, Salih Çetiner², Gülhan Şahin¹, Akgün Yaman²

¹Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, ADANA

²Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi, Balcalı Hastanesi, Merkez Laboratuvarı, ADANA

Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi (Cukurova Medical Journal) 2013; 38 (2):202-208.

ABSTRACT

Purpose: Cystic fibrosis is the most common autosomal recessive inherited disorder seen in the white populations. It develops in result of mutations of cystic fibrosis transmembrane regulator (CFTR) gene. Rate of these mutations vary in different geographical regions. In this study, we aimed to determine the frequency of CFTR gene mutations in Çukurova region.

Material and Methods: DNA samples of 63 subjects who were diagnosed as cystic fibrosis at Balcalı Hospital of Çukurova University, were studied for 19 different CFTR mutations by the strip assay method which is based on reverse hybridization.

Results: In cystic fibrosis diagnosed patients, 19 mutations were observed of which 9 were homozygous and 10 were heterozygous. $\Delta F508$ frequency was found as 11.9%, and rate of homozygous was found as 66.7%. Mutation frequencies of W1282X and N1303K were found as 2.40% and 4.80% respectively and rate of homozygous was 50% for both. I148T mutation frequency was found as 3.20% and all were heterozygous. For the whole 19 mutations, frequency of mutation in 63 subjects was 22.3%.

Conclusion: Detection of CFTR gene mutations by the strip assay method by reverse hybridization is an easy, fast and informative method. However, due to improvability of the common mutations in probable cystic fibrosis patients because of heterogeneity in Çukurova region, it is still a major problem and does not exclude cystic fibrosis diagnosis. But this problematic issue can be overcome by evaluating the whole exons of CFTR mutations by advanced molecular techniques.

Key Words: CFTR, cystic fibrosis, molecular diagnosis, reverse hybridisation

ÖZET

Giriş: Kistik fibrozis beyaz ırkta en sık gözlenen otozomal resesif özellik gösteren kalıtsal bir hastalıktır. Bu hastalık kistik fibrozis transmembran regülatör (CFTR) genindeki mutasyonlara bağlı olarak gelişir. Mutasyonlardaki dağılım oranları değişik ülke ve bölgelere göre farklılık göstermektedir. Bu çalışma ile Çukurova yöresinde CFTR geni mutasyonlarının değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Materyal ve Metod: Çalışmada Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Balcalı hastanesinin farklı kliniklerinden kistik fibrozis tanısı alan 63 hastanın DNA örnekleri 19 farklı CFTR mutasyonu açısından ters hibridizasyona dayalı "strip assay" yöntemi ile incelenmiştir.

Bulgular: Kistik fibrozis tanısı almış hastaların 9'unda homozigot ve 10'unda heterozigot mutasyon olmak üzere toplam 19 hastada mutasyon saptanmıştır. $\Delta F508$ sıklığı %11.90, homozigotluk oranı ise %66.7 olarak bulunmuştur. W1282X mutasyon sıklığı %2.40 ve N1303K mutasyon sıklığı %4.80 bulunmuş olup homozigotluk oranları %50' dir. I148T

mutasyonu %3.20 olarak saptanmıştır ve hepsi heterozigottur. Taradığımız 19 mutasyon için hastaların toplam mutasyon oranı ise % 22.3 olarak bulunmuştur.

Sonuç: CFTR geni mutasyonlarının rutin laboratuvarlarda saptanabilmesi için ters hibridizasyona dayalı "strip assay" tekniği hızlı, kolay ve bilgi verici bir yöntemdir. Bununla birlikte, Çukurova yöresinde sonuçların heterojen olması nedeniyle şüpheli bir kistik fibrozis vakasında, yaygın bulunan mutasyonların kanıtlanamaması durumu, halen potansiyel bir sorun olarak kalmaya devam etmektedir ve bu durum tanıyı dışlamamaktadır. Bu sorun CFTR mutasyonunun bulunduğu ekzonların tamamının daha ileri moleküler teknikler ile incelenmesiyle ortadan kaldırılabılır.

Anahtar Kelimeler: CFTR, kistik fibrozis, moleküler tanı, ters hibridizasyon

GİRİŞ

Kistik fibrozis, tüm sistemlerdeki dış salgı bezlerini etkileyen, beyaz ırktaki en yaygın ölümcül kalıtsal hastalıktır. Otozomal resesif olarak kalıtılır ve cinsiyet baskınlığı yoktur^{1,2}. Kistik fibrozisin Avrupa'daki insidansı 1/2500 ve taşıyıcılık frekansı 1/25 gibi oldukça yüksek iken Asya popülasyonunda ve siyah ırkta oldukça nadir görülmektedir^{3,4,5,6}. Ülkemizde yapılan çalışmalarda insidansın 1/3000 olduğu belirtilmesine karşın, akraba evliliğinin çok sık olduğu göz önüne alınınca bu oranın daha yüksek olduğu sanılmaktadır⁷. Kistik fibrozis hastalığında belirtiler tüm salgı bezlerinde görülür. Normalde mukus üreten dış salgı bezleri ince ve akışkan mukus salgısı üretirler. Üretilen mukus salgısı çok yoğun ve yapışkandır. Bu hastalar, sıklıkla 30–35 yaş civarında akciğer patolojileri nedeni ile hayatlarını kaybederler^{8,9}. Hastalığın, mortalite oranının yüksekliğine ve yaşam kalitesini düşürme özelliğine rağmen, son yıllarda yeni ve etkin tedavi olanakları ile kistik fibrozisli hastaların yaşam süresi ve kalitesinde belirgin iyileşmeler olmuştur¹⁰.

Kistik fibrozis, kistik fibrozis transmembran regülatör (CFTR) genindeki mutasyonlara bağlı olarak gelişir¹¹. CFTR Geni; 1989 yılında Rommens ve arkadaşları tarafından tanımlanmış, izole edilmiş ve klonlanmıştır¹². Gen yaklaşık 250.000 bp ve 27 ekzon içeren bir genomik bölgeden oluşur^{13,14}. 7. kromozomun uzun kolunun q31–32 bandında yer alır, 6,5 kb'lık mRNA sentezler ve 250 kb'lık CFTR proteinini kodlar. Yapılan moleküler ve bağlantı analizleri tüm genin

7. kromozomdaki CFTR lokusuna ait olduğunu ve başka bir gende olmadığını göstermiştir. Klinik heterojenite allellik heterojeniteye bağlıdır¹⁵.

Kistik fibrozis geninin ürünü olan CFTR proteini, 1480 aminoasit içerir. Bu protein klor kanalı olarak işlev yapan glikozillenmiş transmembran proteindir ve ekzokrin dokuların (akciğer, pankreas, ter bezleri, vas deferens) epitel hücrelerinde ifadelendir¹⁶. Hücre zarından geçişi düzenleyen bu protein cAMP ve protein kinaz A'ya bağımlı olarak çalışan bir Cl⁻ kanalı olarak görev yapmakta olan plazma zarı proteindir¹⁷. Allelik heterojenitenin yüksek olduğu kistik fibroziste 1700'den fazla mutasyon ve 200 civarı polimorfizm belirlenmiştir^{18,19,20}. Bu mutasyonların tespiti ve hastalarda oluşturduğu klinik tablo (genotip-fenotip ilişkisi) ve genetik danışma açısından önemlidir^{21,22}. CFTR genindeki değişik mutasyonlar hastalığın farklı tablolarla ortaya çıkmasına sebep olurlar. Mutasyonun gende bulunduğu konuma, mutasyonun türüne, bölgenin proteinin hangi kısmını kodladığına ve mutasyonun protein sentezi üzerindeki etkisine bağlı olarak; oluşan mutasyonların bazıları ağır hastalık tablosuna neden olurken, bazıları daha hafif tablolar oluşturmakta, bazıları ise hastalığın herhangi bir belirtisini göstermemektedir. Bu mutasyonlar; yanlış anlamlı (missense) mutasyon (I148T), anlamsız (nonsense) mutasyon (G542X), nükleotid kaybı (delesyon) mutasyonu (Δ F508), çerçeve kayması (frameshift) mutasyonu (3196del54), kırılma bölgesi (splice site) mutasyonu (621+1G-T) olarak karşımıza çıkarlar. Bunların dışında yine protein yapı ve işlevinde herhangi bir değişikliğe neden olmayan koruyucu

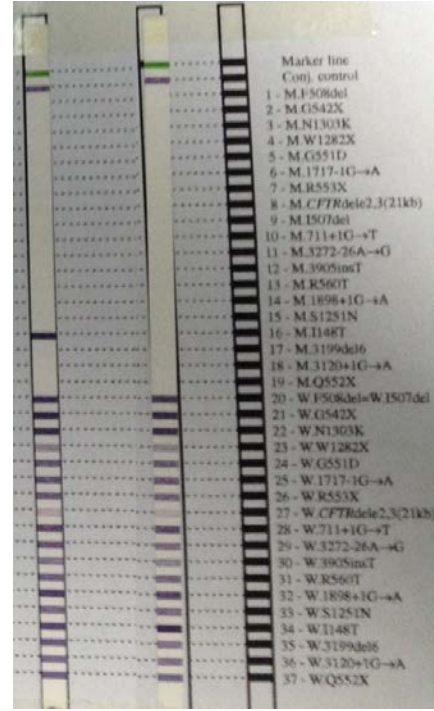
nitelikteki DNA dizi değişiklikleri de gözlemlenmektedir²³.

Kistik fibrozisli vakaların, %80'ine 5 yaşından önce tanı konulabilmekte iken, %10'una ergenlik çağına kadar tanı konulamamaktadır. Hastalığın hafif olduğu bazı olgulara 40-50 yaşına kadar tanı konulamamış olabilir^{24,25}. Rutin moleküler genetik laboratuvarlarında, CFTR genindeki mevcut mutasyonları tanımlamak için hibridizasyon deneyleri, restriksiyon enzim analizi ya da dizi analizi gibi moleküler tanı yöntemleri kullanılmaktadır^{26,27}. Bu yöntemler, CFTR geninde aynı anda birden fazla mutasyonu hızlı ve seri bir biçimde taranmasını mümkün kılmaktadır. Bu çalışma ile Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Balcalı Hastanesi Merkez Laboratuvarına başvuran kistik fibrozis tanısı ile takip edilen hastaların ters hibridizasyona dayalı "strip assay" yöntemi ile çalışılan 19 farklı CFTR geni mutasyon sonuçlarının retrospektif olarak incelenmesi amaçlanmıştır.

MATERYAL VE METOD

Çalışmaya Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Balcalı Hastanesinde 2010 ve 2011 yıllarında kistik fibrozis tanısı alan 63 hasta 19 CFTR gen mutasyonu (Δ F508del, G542X, I507del, 1717-1GA, G551D, R560T, R553X, W1282X, N1303K, Q552X, 3905insT, CFTRdele2,3(21kb), 711+1G-T, 3272-26A-T, 1898+1G-A, I148T, 3199del6, 3120+1G-A, S1251N) açısından incelenmiş elde edilen sonuçlar retrospektif olarak değerlendirilmiştir. Çalışmaya dahil edilen kişilerden alınan tam kan örneklerinden Magna Pure LC DNA izolasyon kiti ile DNA izolasyonu yapılmış ve izole edilen DNA'ların istenilen bölgeleri termalcycler cihazında (MyGenie 96 Bioneer) çoğaltılmıştır. CFTR geninde mutasyon taraması Profiblot T48 (Tecan) cihazında Inno-Lipa CFTR 19 (kat no: 80560) mutasyon tarama kiti kullanılarak striplerle ters hibridizasyon yöntemi

ile çalışılmıştır. Kit içerisinde bulunan striplere 37 adet prob hibridize olmuştur (şekil 1). Strip mutasyonların wild-type (sağlıklı) bantlarının olmasıyla ilgili mutasyonun heterozigot veya homozigot olduğu da anlaşılmaktadır (Şekil 1).



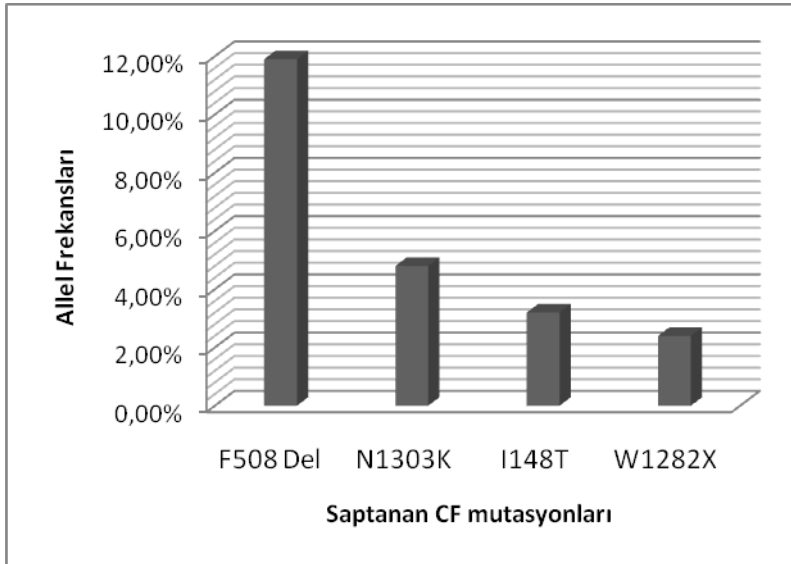
Şekil 1. I148T heterozigot mutasyon saptanan ve mutasyon saptanamayan hastaların strip örneklerinin örnek skala üzerinden değerlendirilmesi

BULGULAR

Taranan 63 hastanın 19'unda 4 farklı mutasyon saptanmıştır. Bu hastalardan dokuzu Δ F508 mutasyonu taşımakta olup altısı homozigot üçü heterozigottur. W1282X'i taşıyan iki hastadan biri heterozigot diğeri homozigot iken; N1303K'yı taşıyan dört hastadan ikisi homozigot, diğeri ikisi heterozigottur. Dört hasta ise I148T heterozigottur (Tablo 1). Saptanan CF mutasyonlarının allel frekansları ise Δ F508 için %11.90, N1303K için %4.80, I148T için %3.20 ve W1282X için %2.40'tır (şekil 2) ve homozigotluk oranları sırasıyla %66.7, %50, %0 ve %50 dir.

Tablo 1: Saptanan mutasyon tipleri

Mutasyonlu hastalar	Genotip	Sayı
Homozigot	Δ F508	6
	N1303K	2
	W1282X	1
Heterozigot	F508 Del	3
	N1303K	2
	W1282X	1
	I148T	4
Mutasyon saptanamayan hastalar		44
Toplam		63

**Şekil 2.** Saptanan kistik fibrosis mutasyonlarının allel frekansları.

TARTIŞMA

Kistik fibrosis beyaz ırkta oldukça sık gözlenen genetik hastalıklardan biridir. 1989 yılında hastalığa sebep olan hasarlı membran proteinini kodlayan genin bulunması ile hastalığın sıklığı ve mutasyonları hakkında çalışmalar yapılmaya başlanmıştır^{12,28,29}. Yapılan bir çalışmada, 100'ün üzerinde orijinal makale derlenmiş ve 80 farklı bölgeden elde edilen 72.431 kromozom analizi sonucunda bölgesel geniş bir mutasyonel heterojenite olduğu belirlenmiştir³⁰. Genotipik heterojenitenin kaynağı mutasyonların çoğunun

tek bir ailede görülen özel mutasyonlar olmasıdır. Kistik fibrosis mutasyon bilgi bankasında 1700 üzerinde mutasyon listelenmiştir³¹. Bazı mutasyonlarda daha belirgin olmakla birlikte, mutasyonlardaki dağılım oranları değişik ülke ve bölgelere göre farklılık göstermektedir. En sık rastlanan mutasyon dünya genelinde %66 sıklıkla rastlanan Δ F508 olarak bildirilmiştir³². Δ F508 sıklığı kuzeybatıdan güneydoğuya dereceli olarak azalmaktadır. Örneğin Danimarka Faroe adalarında %100 iken Türkiye'de % 24.5 'tir²⁹. Bölgesel analizler CFTR mutasyonunun göçler

boyunca ve akraba topluluklarındaki dağılımını belirlemek amacıyla yapılmıştır. Bu, ataların genotip paterninin belirlenmesine ve CFTR çoklu mutasyon tarama panelinin tasarlanmasına olanak sağlamıştır³⁰.

Δ F508 mutasyon sıklığı Kuzey Avrupa'da %87 iken Asya'da %28, Orta Doğuda ise dünya ortalaması olan %66 civarındadır¹⁸. Δ F508 mutasyonunun Avrupa haritası çıkarılmış^{28,29} ve bu mutasyonun Avrupa'daki oranlarının kuzeyden-güneye doğru azalan bir şekilde %87 ve %17.9 olduğu bildirilmiştir³⁴. Her ne kadar Avrupa'nın güneydoğusuna doğru, sıklıkta bir azalma sözü konusu ise de, bize en yakın komşu ülkeler olan Yunanistan ve Bulgaristan'da sıklık sırasıyla %54 ve %56'dır^{35,36}. Almanya'da yaşayan Türklere bir çalışma yapılmış ve Δ F508 mutasyon sıklığı % 27 olarak bulunurken, bu oranın Türkiye'de azalmış olduğu bildirilmiştir³⁷. Ülkemizdeki Δ F508 allel frekansı çeşitli yayınlarda %14-28.4 arasında gösterilmiştir³⁸⁻⁴⁴. Ülgenalp A ve ark.'larının 2009 yılında yaptığı bir çalışmada %14, yine Ülgenalp A.'nın "strip assay" tekniğini kullanarak yaptığı başka bir çalışmada Δ F508 mutasyon sıklığı %4 olarak bildirilmiştir³². Aynı tekniği kullanarak 63 DNA örneği ile yaptığımız bu çalışmada Δ F508 oranını %11.9 olarak saptadık. Aynı mutasyonun homozigotluk oranını ise %66.7 olarak saptadık. Ülke geneline baktığımızda Δ F508 mutasyonunun Çukurova bölgesi için belirlenen oranı %8.8' dir. Çukurova bölgesinde daha önce yapılan bir çalışmada ise kistik fibrozis hastalarında bizim çalışmamızdan farklı olarak sadece Δ F508 mutasyonu taranmış ve frekansı %15.7 olarak belirlenmiştir⁴⁵. Δ F508 mutasyonu için bizim bulduğumuz %11.9 lük oran bölgemizde daha önce yapılan çalışmalar ile uyumludur.

Çalışmamızda, W1282X mutasyonu sıklığı %2.4 olarak belirlenmiştir. Bu mutasyon İsrail'de en sık görülen mutasyon olup ülkemizde oldukça nadir görülmektedir. W1282X mutasyonu Eskenazi Yahudilerinden köken alan ve onların etkisinde kalan ülkelerde sık görülen bir mutasyondur⁴⁶. Yine çalışmamızda 4 olguda da I148T için heterozigot mutasyon saptanmıştır. Ülkemizde

nadir görülen bu iki mutasyon benzer şekilde daha önce Mersin ilinde yapılan bir çalışmada ilk kez saptanmıştır⁴⁷. N1303K mutasyonu sıklığı %4.8 bulunmuş olup, Türkiye genelinde ise sıklığı %3.7' dir. N1303K mutasyonu, G542X mutasyonu ile birlikte Fenikeliler'in göçü boyunca Akdeniz ülkelerine yayılmış olan mutasyonlardandır. Bu nedenle bu iki mutasyon Akdeniz'e sahili olan ülkelerde dünya geneline oranla daha fazla görülmektedir³⁰.

Saptadığımız mutasyonların toplam frekansları ise % 22.3 olarak bulunmuştur. Hastaların % 77.7' sinin taşıdığı mutasyon belirlenememiştir. Bunun sebebinin Türkiye'nin eski çağlardan bu yana kıtalar arası geçit işlevi görmesi nedeniyle bu bölgede hastalığa yol açan ve henüz tanımlanmamış farklı mutasyonların bulunması diye düşünülmektedir³⁰.

Sonuç olarak bakıldığında çalışmada saptanan mutasyonlardan Δ F508 Çukurova yöresinde, dünya ve Türkiye ortalamalarına göre daha düşük seviyede saptanırken, bu bölgede yapılan daha önceki çalışmalar ile uyumlu bulunmuştur. W1282X ve I148T mutasyonları ise Türkiye de ilk kez Çukurova bölgesinde yapılan çalışmalarda saptanmıştır. Bu veriler CFTR geni mutasyonlarındaki dağılım oranlarının bölgesel farklılığa bağlı olduğunu bir kez daha göstermektedir.

CFTR geni mutasyonlarının rutin saptanması açısından "strip assay" yöntemi hızlı ve bilgi verici olmasına rağmen tüm ekzonları taramayan bir yöntemdir. Şüpheli bir kistik fibrozis vakasında taranan belirli sayıdaki mutasyon tanı için yeterli olamamaktadır. Bu durum halen potansiyel bir sorun olarak kalmaya devam etmektedir. Böyle örneklerle dizi analizi uygulanarak az sıklıkta rastlanan mutasyonların veya daha önce tanımlanmamış mutasyonların ortaya çıkarılması olasıdır. Bu hastalıkta erken tanı ve uygun tedavinin direkt olarak hastanın yaşam süresini ve kalitesini arttırdığı bilinmektedir. Bu amaçla moleküler-genetik alanındaki araştırmalarla, hastalığın özgül tedavisine yönelik gen tedavisi yöntemlerinin geliştirilmesine çalışılmaktadır.

Ülkemizde kistik fibrozis ile ilgili bilgi ve deneyimlerinin artması bu hastaların daha erken dönemde tanı ve tedavi almasını sağlayacaktır.

KAYNAKLAR

- Fraser RG, Peter Pare JA, Pare PD, Fraser RS, Geneux GP. In Bralow L. Diseases of the airways. Diagnosis of Diseases of the Chest. 3rd Ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company. 1990; 1208-19.
- Neyzi O, Ertuğrul T. Pediatri. 2.Baskı. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi. 1990; 867-71.
- Scotet V, Barton DE, Watson JB, Audrezet MP, McDevitt T, et al. Comparison of the CFTR mutation spectrum in three cohorts of patients of Celtic origin from Britany (France) and Ireland. Hum Mutat. 2003;22:105.
- Devaney J, Glennon M, Farrell G, et al. Cystic fibrosis mutation frequencies in an Irish population. Clin Genet. 2003;63:121-5.
- Uzun S. Konjenital Bilateral Vas Deferens Aplazisi (CBAVD)'li hastalarda Kistik Fibroz (CF) Genindeki Nokta Mutasyonlarının Araştırılması: CBAVD, CF ilişkisi. (Doktora tezi). İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Biyofizik Anabilim Dalı, İstanbul. 2000.
- Radpour R, Gourabi H, Vosough Dizaj A, Holzgreve W, Zhong XY. Genetic Investigations of CFTR Mutations in Congenital Absence of Vas Deferens, Uterus and Vagina as a Cause of Infertility. J Androl. 2008; 29: 506-13.
- Kiper N, Yalçın E. Kistik Fibrozis. TTB Sürekli Tıp Eğitim Dergisi. 2003; 12: 131-3.
- Dean M, Will K, Stuhmann M, Schmidtke J. Alternative Splicing in the First Nucleotide Binding Fold of CFTR. Hum Mol Gen. 1993;2:231-5.
- Lyon A, Bilton D. Fertility issues in cystic fibrosis. Pediatr Respir Rev. 2002;3:236-40.
- Mitchell I, Nakielna E, Tullis E, Adair C. Cystic Fibrosis: End-stage care in Canada. Chest. 2000;118:80-4.
- Hargreave T. Genetic basis of male infertility. B Med Bul. 2000;3:650-71.
- Rommens JM, Iannuzzi MC, Kerem B, Drumm ML, Melmer G, Dean M, et al. Identification of the cystic fibrosis gene: chromosome walking and jumping. Science. 1989;245:1059-65.
- Mueller RF, Young ID. Emery's Elements of Medical Genetics. Singapore: Longman. 1997;233-43.
- Brock DJH. Molecular Genetics for Clinician. Cambridge University Press. 1993;168-206.
- Kerem B, Chiba-Falek O, Kerem E. Cystic fibrosis in Jews: frequency and mutation distribution. Genet Test. 1997;1:35-9.
- Cuppens H, Cassiman JJ. CFTR mutations and polymorphisms in male infertility. Int J And. 2004;27:251-6.
- Riordan JR. The Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator. Annual Rev. Physiol.1993;55:609-30.
- Cyctic fibrosis Mutation Database at HYPERLINK <http://www.genet.sickkids.on.ca/cftr/>. erişim tarihi: 06.08.2012
- Mennicke K, Klingenberg RD, Bals-Pratsch M, Diedrich K, Schwinger E. Rational approach to genetic testing of cystic fibrosis (CF) in infertile men. Andrologia. 2005;37:1-9.
- Popli K, Stewart J. Infertility and its management in men with cystic fibrosis: review of literature and clinical practices in the UK. Hum Fertil. 2007;10:217-21.
- Lissens W, Liebaers I. The genetics of male infertility in relation to cystic fibrosis. Baillieres Clin Obstet Gynaecol. 1997;11:797-817.
- Schulz S, Jakubiczka S, Kropf S, Nickel I, Muschke P, Kleinstejn J. Increased frequency of cystic fibrosis transmembrane conductance regulator gene mutations in infertile males. Fertil Steril. 2006; 85: 135-8.
- Taylor GR. Polymerase Chain Reaction: Basic Principle and Automation. In: Mc Pherson M.J, Qurkie P, Taylor G.R. PCR Volume 1:A practical approach, 1 st Ed. New York: Oxford University Press.1991;1-14.
- National Center for Biotechnology Information (NCBI); On line Mendelian Inheritance in Man (OMIM); HYPERLINK <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/htbin-post/Omim/dispmim219700>. Erişim tarihi :07.08.2012
- Costes B, Girodon E, Ghanem N, Flori E, Jardin A, Soufir JC et al. Frequent occurrence of the CFTR intron 8 (TG)_n 5T allele in men with congenital bilateral absence of the vas deferens. Eur J Hum Genet.1995;3:285-93.
- Schwarz M, Malone G. Methods for Screening in Cystic Fibrosis. In: Elles R (editor). Molecular Diagnosis of Genetic Diseases. New Jersey: Humana Press. 1996;99-119.
- Wu J, Griffith BB, Bassinger S, Moehlenkamp C, Brodie SG, Y. Wu, et al. Strategies for unambiguous detection of allelic heterozygosity via direct DNA sequencing of PCR products: application to the HLA DRB1 locus. Mol Diagn. 1996;1:89-98.
- Cystic Fibrosis Genetic Analysis Consortium. Worldwide survey of the ΔF508 mutation report of the Cystic Fibrosis Genetic Analysis Consortium. Am J Hum Genet. 1990;47:354-59.

29. The European Working Group on Cystic Fibrosis Genetics: Origin and diffusion of the major CF mutations in Europe. In Tsui LC (editor): The Identification of the CF Gene. 1 st Ed. New York: Plenum Press. 1991; 63-74.
30. Bobadilla JL, Macek M Jr, Fine JP, Farrell PM. Cystic Fibrosis: A Worldwide Analysis of CFTR Mutations. Correlation With Incidence Data and Application to Screening. Human Mutation. 2002;19:575-606.
31. Cystic Fibrosis Mutation Database. Cystic Fibrosis Centre at the Hospital for Sick Children in Toronto. [Updated on Apr 2010]. <http://www.genet.sickkids.on.ca/cftr/Home.html> erişim tarihi 08.08.2012
32. Ülgenalp A. Strip Assay Metodu Kullanılarak "Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator (CFTR)" Geni Mutasyonlarının Analizi. Deü tıp fakültesi dergisi. 2009;23:47-51.
33. Shah U, Frossard P, Moatter T. Cystic fibrosis: defining a disease under-diagnosed in Pakistan. Trop Med Int Health. 2009;14:542-5.
34. Messaoud T, Verlingue C, Denamur E, Pascaud O, Quéré I, Fattoum S, et al. Distribution of CFTR mutations in cystic fibrosis patients of Tunisian origin: identification of two novel mutations. Eur J Hum Genet. 1996;4:20-4.
35. Balassopoulou A, Loukopoulos D, Kollia P, Devoto M, Adam G, Arvanitakis S, et al. Cystic fibrosis in Greece; typing with DNA probes and identification of the common molecular defect. Hum Genet. 1990;85:393-4.
36. Kalaydjieva L, Antov J, Bronzova J, Vladimirova V, Horst J. Molecular data on cystic fibrosis in Bulgaria. Hum Genet. 1990;85:412-3.
37. Hundrieser J, Bremer S, Peinemann F, Stuhmann M, Hoffknecht N, Wulf B, et al. Frequency of the $\Delta F508$ deletion in the CFTR gene in Turkish cystic fibrosis patients. Hum Genet. 1990;85:409-11.
38. Yılmaz E, Erdem H, Özgüç M, Coşkun T, Özçelik U, Göçmen A, et al. Study of 12 mutations in Turkish cystic fibrosis patients. Hum Hered. 1995;45:175-77.
39. Onay T, Topaloglu O, Zielenski J, Gokgoz N, Kayserili H, Camcioglu Y, et al. Analysis of the CFTR gene in Turkish cystic fibrosis patients: identification of three novel mutations (3172delAC, P1013L and M1028I). Hum Genet. 1998;102:224-30.
40. Köprübasi FF, Malik N, Bösch-al-Jadooda N, Alkan M, Tanac R, Bühler E. Molecular genetic analysis of Turkish cystic fibrosis patients. Ann Genet. 1993;36:1449.
41. Ülgenalp A, Uzuner N, Giray Ö, Bora E, Erçal D. Türk Kistik Fibrozisli Hastalarda 14 Yaygın Mutasyonun Taranması. İzmir Göğüs Hastalıkları ve Hastanesi Eğitim Hastanesi Dergisi. 2000;14:1-4.
42. Onay T, Zielenski J, Topaloglu O, Gokgoz N, Kayserili H, Apak MY et al. Cystic fibrosis mutations as associated haplotypes in Turkish cystic fibrosis patients. Hum Biology. 2001;73:191-203.
43. Estivill X, Bancells C, Ramos C. Geographic distribution and regional origin of 272 cystic fibrosis mutations in European populations. The Biomed CF Mutation Analysis Consortium. Hum Mutat. 1997;10:135-54.
44. Kiliç MO, Ninis VN, Dağlı E, Demirkol M, Ozkinay F, Arıkan Z. Highest heterogeneity for cystic fibrosis: 36 mutations account for 75% of all CF chromosomes in Turkish patients. Am J Med Genet. 2002; 113:250-7.
45. İnal CT, Yüreğir G, Özer G, Yüksel B. Detection of cystic fibrosis $\Delta F508$ mutation in the Çukurova Region. Turk J Med Sci. 2000;30:605-7.
46. Kerem E, Kalman YM, Yahav Y, Shoshani T, Abeliovich D, Szeinberg A, et al. Highly variable incidence of cystic fibrosis and different mutation distribution among different Jewish ethnic groups in Israel. Hum Genet. 1995;96:193-7.
47. Görüroğlu Öztürk Ö, Karazindiyoğlu F, Muşlu N, Polat G. Mersin ilinde CFTR gen mutasyonlarının değerlendirilmesi. IX. Ulusal Klinik Biyokimya Kongre Kitabı, 2009;.96-43.

Yazışma Adresi / Address for Correspondence:

Dr. Özlem Görüroğlu Öztürk
 Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi,
 Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı
 01330 Balcalı-ADANA
 e-mail: ozlem_goruroglu@yahoo.com
 Tlf: 0 506 264 22 68
 Fax: 0 322 338 69 43

geliş tarihi/received :24.09.2012
 kabul tarihi/accepted:07.12.2012