

Spinal Müsküler Atrofi ve Moleküler Genetiği

Spinal Muscular Atrophy and Its Molecular Genetics

Sabriye Kocatürk Sel ¹, Halil Kasap ¹, Filiz Koç ², Ali İrfan Güzel ¹

¹Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, ² Nöroloji Anabilim dalı

Arşiv Kaynak Tarama Dergisi (Archives Medical Review Journal) 2012; 21(1):1-26

ABSTRACT

Spinal muscular atrophy (SMA) is one of the most common autosomal recessive diseases, affecting approximately 1 in 6,000 - 10,000 live births, and with a carrier frequency of approximately 1 in 40- 60. The childhood SMAs can be classified clinically into three groups. Type I (Werdnig-Hoffmann) is the most severe form, with onset at < 6 months of age and with death typically at <2 years of age. Type II SMA patients display an intermediate severity, with onset at <18 months of age and with an inability to walk. Type III (Kugelberg –Walender) individuals are able to walk independently and have a relatively mild phenotype, with onset at >18 months of age. The gene involved in type I–III SMA has been mapped to 5q12-q13 by linkage analysis, and refined to a region of about 500 kb. The region contains a large inverted duplication consisting of at least four genes, which are present in a telomeric (t) and a centromeric (c) copy: survival motor neuron gene (SMN1 or SMNt and SMN2 or SMNc); neuronal apoptosis inhibitory protein gene (NAIP); basal transcription factor subunit p44 (BTFp44t and BTFp44c); and a novel protein with unknown function H4F5. Although homozygous deletions encompassing all these genes are found in SMA patients, it is now well established that mutations or deletions of SMN1 (MIM#600354) cause the disease. SMN2 (MIM# 601627) gene, however, does not prevent the disease but attenuates disease severity. Therefore, upregulating functional SMN protein level via inducing gene expression and/or restoring splicing is an important therapeutic approach such as use of histone deacetylase (HDAC) inhibitors.

Key Words: HDAC inhibitors, SMA , SMN1, SMN2

ÖZET

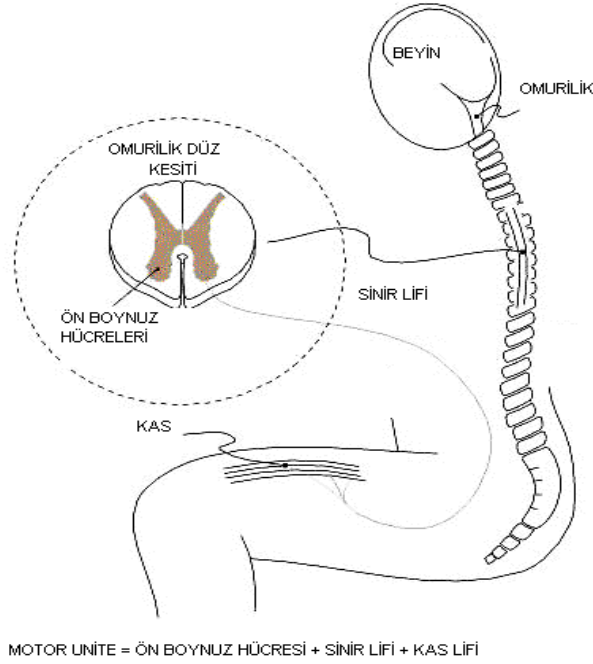
Spinal müsküler atrofi; yaklaşık olarak 1/6.000–10.000 canlı doğumda görülen ve 1/40-60 oranında taşıyıcı frekansına sahip en yaygın otozomal resesif hastalıklardan birisidir. Çocukluk SMA'sı klinik olarak 3 grupta sınıflandırılabilir. Başlangıç yaşı, 0-6 aylık Tip I (Werdnig-Hoffmann) SMA'sı en şiddetli formudur ve tipik olarak 2 yaşından önce ölümlü sonuçlanır. Tip II SMA

hastaları orta şiddetli olarak etkilenir ve başlangıç yaşı 18 aydan öncedir, bu hastalar yardımsız yürüyemezler. Tip III (Kugelberg-Walender) hastaları yardımsız yürüyebilirler, diğer gruplara göre daha hafif fenotipe sahip ve başlangıç yaşı 18 aydan sonradır. Linkaj analiz çalışmaları ile Tip I-III SMA'yı içeren gen bölgesi 5q12-5q13'te 500 kb olarak tanımlanmıştır. Bu bölge büyük bir ters dönmüş duplikasyonu içeren en az 4 genden oluşmaktadır. Telomerik ve sentromerik kopyalara sahip olan bu genler; survival motor nöron geni (SMN1 veya SMNt ve SMN2 veya SMNc), nöronal apoptozis inhibitör protein geni (NAIP), bazal transkripsiyon faktör subuniti p44 (BTfP44t ve BTfP44c) ve proteinin fonksiyonu bilinmeyen H4F5. SMA hastalarında bulunan homozigot delesyonlar bu genlerin hepsini kapsamına rağmen SMN1'de saptanan delesyonlar ve mutasyonlar hastalığa sebep olmaktadır. SMN2 geni ise, hastalığın ortaya çıkmasını engelleyememekte ancak hastalığın ciddiyetini azaltmaktadır. Bu nedenle SMN2 gen ekspresyonunun artırılması ve/veya "splicing" in doğru gerçekleşmesi sağlanarak fonksiyonel protein düzeyinin histon deasetilaz (HDAC) inhibitörlerinin kullanılarak yükseltilmesi önemli bir tedavi yaklaşımıdır.

Anahtar Kelimeler: HDAC inhibitörleri, SMA, SMN1, SMN2

Spinal müsküler atrofi (SMA), kalıtsal, sinir ve kası tutan (nöromüsküler) bir grup hastalığa verilen addır. Tedavi olanağı henüz tesbit edilememiş olan bu hastalıklar ciddi nörolojik hastalıklardır¹. Vücutta istemli kasların kuvvetsizliğine ve erimesine yol açarlar. Bu hastalığın tüm tiplerinde omuriliğin ön boynuz hücrelerinde dejenerasyon meydana gelir^{2,3}.

Vücutumuzdaki istemli kaslar, ancak omurilikteki ön boynuz hücrelerinden bir sinir yolu ile mesajı aldıklarında kasılabilir (Şekil 1). Spinal müsküler atrofide, ön boynuz hücreleri anormal olduğundan bu mesaj kasa gelemmez. Bunun sonucunda ise istemli kaslarda kuvvetsizlik ve erime (atrofi) görülür⁴.



Şekil 1. Ön boynuz hücresinin santral ve periferik sinir sistemiyle ilişkisi ⁵

Mesane ve bağırsak fonksiyonları gibi istemsiz durumlarla ilgili kaslar bu hastalıklarda etkilenmez. Görme ve işitme duyuları sağlamdır. Zeka, normal veya normalin üzerindedir. Yapılan araştırmalar SMA'lı hastaların çok yüksek zekaları olabildiğini göstermiştir ⁴.

Uluslararası SMA Konsorsiyomu, hastalığın başlama yaşı, klinik inceleme, kas biyopsisi ve elektrofizyolojik kriterlere dayanan hastalık şiddetine göre çocukluk yaşında başlayan SMA'ları üçe ayırmıştır ⁶;

1. Tip I SMA (Akut form) (İnfantil form) (Werdnig-Hoffmann)
2. Tip II SMA (Ara form) (Intermediate form)

3. Tip III SMA (Hafif form) (Kugelberg-Welander) ^{7,8}

Hastalığın yetişkin yaşta görülen bir çeşidi de olup Tip IV olarak sınıflandırılmaktadır (Çizelge 1).

Çizelge 1. Uluslar arası SMA Konsorsiyomu tarafından belirlenen sınıflandırma kriterleri ^{6,9}.

SMA Tipi	Başlama yaşı	Motor yetiler	Ölüm
I.(Werdnig–Hoffmann Hast.)	0-6 ay	Yardımsız oturamaz	<2yaş
II. (Intermediate form)	<18 ay	Oturabilir, yürüyemez	>2 yaş
III.(Kugelberg-Welander Hast.)	1.5-18 yaş	Belli yaşa kadar yürüyebilir	Yetişkin
IV. (Yetişkin tip)	30.-40. Yaşlar	Yürüme kusuru	Normal ömür uzunluğu

Spinal müsküler atrofinin moleküler düzeyde teşhis edilmesinde SMN1 (telomerik survival motor nöron geni) genindeki homozigot ekzon 7 ve 8 delesyonlarının gösterilmesi çok önemlidir ¹⁰. Homozigot ekzon 7 ve 8 delesyonunun belirlenebilmesi için kullanılan en yaygın yöntem PCR (Polymerase Chain Reaction) ile RFLP (Restriction Fragment-Length Polymorphism) yöntemleridir ¹¹. Telomerik ekzon 7'nin homozigot kaybının gösterilmesi hastalığı moleküler olarak teşhis etmektedir. Bu yöntemin yanında PCR-SSCP (single stranded conformational polymorphizm) yöntemleri de ekzon 7 ve 8'in homozigot kaybını göstermek için kullanılmaktadır. Fakat PCR-SSCP yöntemi daha çok küçük intragenik mutasyonların ve polimorfizimlerin belirlenmesinde yararlıdır ⁸.

EPİDEMİYOLOJİ

Otozomal resesif geçiş gösteren çocukluk çağı spinal müsküler atrofisi (SMA), çocukluk çağı kalıtsal hastalıklarının en sık görülenlerinden bir tanesidir^{2,12}. Genel popülasyonda görülme sıklığı 1/6000-10000, taşıyıcı insidansı ise 1/40-60 tır^{7,13,14,15,16}.

Populasyonda görülme sıklığı İngiltere'de her 10.000 canlı doğumda 0,4, İtalya'da 0,78, Almanya'da ve Amerika Birleşik Devletlerinde 1 olarak tespit edilmiştir. Taşıyıcı frekansları ise İngiltere'de 1/90, İtalya'da 1/57, Almanya ve Amerika'da 1/10'dur¹⁷. Suudi Arabistan ve diğer müslüman ülkelerde (Tunus gibi) SMA insidansının oldukça yüksek olduğu bildirilmiştir. Dammam'da bir hastanede yapılan araştırmaya göre SMA I insidansının 19,3/10.000 gibi oldukça yüksek bir rakama sahip olduğu tespit edilmiştir¹⁸.

SMA TİPLERİNİN KLİNİK ÖZELLİKLERİ

TİP I SMA (Werdnig-Hoffmann)

Klinik ve histopatolojik bulgular doğrultusunda hastalık ilk olarak 19.yüzyılın sonuna doğru (1891-1900) Werdnig ve Hoffmann adlı araştırmacılar tarafından tanımlanmıştır^{1,18}. Bu yüzden Werdnig Hoffman hastalığı olarak da adlandırılır. Spinal müsküler atrofi grubunun en ağır seyreden hastalığıdır. Hastalık hayatın ilk 6 aylık döneminde başlar. Bazen, doğum öncesi başlayabilir. Bazı anneler hamileliklerinin son dönemlerinde bebek hareketlerinin azalmış olduğunu fark edebilirler¹⁹. Bu bebekler doğduklarında bez bebek gibidirler. Başlarını kaldıramazlar, desteksiz hiçbir zaman oturamazlar^{8,19}. Yutma ve emmede güçlük çekerler. Solunum kaslarının etkilenmesi, öksürmede güçlük ve solunum yolu enfeksiyonlarından dolayı iki yıldan fazla yaşayamazlar¹⁹. Çoğu hasta ilk bir yıl içinde kaybedilir. Bütün bunlarla birlikte, bu bebeklerin yüz hareketleri normal, bakışları canlıdır. Beyinleri etkilenmediğinden çevreye ilgilerinde bir bozulma yoktur⁴.

TİP II SMA (Ara form, Intermediate form)

Tip II SMA (Ara tip), 7-8 aylık dönemde başlar. Daha öncesinde bebeğin gelişimi normaldir⁴. Tip I'deki hızlı kötüleşme burada görülmez. Bu hastalar genellikle desteksiz oturabilirler. Bazıları emekleyebilir veya ayakta durabilir. Fakat çoğu hasta yardımsız ayakta durmayı ve yürümeyi başaramaz^{4,19}. Hastalar solunum yolu enfeksiyonlarına karşı hassastırlar. Bu hassasiyet solunum kaslarının tutulma durumuna göre değişir. Omurga eğrilikleri (skolyoz), el, ayak ve göğüs duvarı anormallikleri sıktır. Eklemlerde, tendon

kasılması nedeniyle hareket kısıtlılığı görülebilir. Çocuğun hayat beklentisi solunum ve yutma fonksiyonlarının etkilenmesi durumuna göre değişir⁴.

TİP III SMA (Kugelberg-Walender)

Tip III SMA'sı (Çocukluk çağı) daha hafif bir formdur. Kugelberg-Walender tarafından 1956'da tanımlanmıştır. Psödomiyopatik familiyal müsküler atrofi ve atrofiya muskulum spinalis psödomiyopatik gibi isimler önerilse de Kugelberg-Walender hastalığı olarak isimlendirilmiştir¹. Hastalığın başlangıcı 18 aylıktan sonradır. İlk belirtiler çok hafif olduğu için gözden kaçabilir. Örneğin, çocuk otururken, emeklerken ve yürürken yavaş olabilir ve aynı yaştaki arkadaşlarıyla benzer fiziksel aktiviteyi göstermeyebilir. Hastalık ilerledikçe kalça ve bacak kaslarındaki kuvvetsizlik koşmayı engeller, düşmeler sık olarak görülür, yürüme güçleşir. Merdiven çıkmakta ve oturdukları yerden kalkmakta zorlanırlar. Bazı hastalarda baldırlarda şişme görülebilir⁴. İlk belirtilerden en az on yıl sonra, genellikle 20-30 yaşlarında tekerlekli iskemleye ihtiyaç duyulabilir¹⁹. Bu dönemde omurga eğrilikleri (skolyoz) gibi iskelet bozukluklarının belirginleştiği görülür. Yutma ve çiğneme kaslarının güçsüzlüğü nadirdir. Solunum etkilenmesi, tip 1 ve tip 2 deki kadar şiddetli değildir. Solunum kasları etkilenirse yaşamsal tehlike söz konusudur. Çocuğunun yaşam süresi normaldir⁴.

TİP IV SMA (Erişkin tip SMA)

Bu tip SMA 30-40 yaşlar arasında başlar fakat 70 yaş dolayında başlayan olgular da bildirilmiştir⁸. Genellikle başlangıç dördüncü dekadedir²⁰. Başlangıç ve ilerlemesi genellikle sinsidir. Hastalığın ilerlemesinde duraklamalar da tanımlanmıştır. Selim süreç gösteren bu hastalık klinik, EMG ve histolojik bulguları açısından Tip III (Kugelberg-Walender) hastalığından ayırt edilemez. Başlangıç yaşı, ayırıcı tanısında en önemli ipucunu teşkil eder¹.

Erişkin tip SMA'da (Tip IV) kollar ve bacaklarda kuvvetsizlik oluşturur. Kuvvetsizlik ve kas erimesi, kollar ve bacakların gövdeye yakın kısımlarında daha fazladır. Bu kuvvetsizlik yavaş bir biçimde yayılır. Hastanın yaşam süresi

etkilenmez veya çok az etkilenebilir ⁴.

SMA VARYANTLARI

Çocukluk çağı ve yetişkin yaşta görülen SMA tiplerinin haricinde SMA ile ilişkili klinik gösteren bir takım varyant tipler de mevcuttur. Bu tipler her zaman kromozom 5q kusurları ile bağlantılı değildir⁹. Çizelge 2’de varyant tiplerin özellikleri kısaca belirtilmiştir.

Çizelge 2. SMA varyantları ¹³

Varyant tip	Kalıtım
Pontoserebral hipoplazinin eşlik ettiği ön boynuz hücresi hastalığı	OR
Konjenital kırılmaların eşlik ettiği spinal müsküler atrofi	OR ve XGR
Erken solunum yetersizliğinin eşlik ettiği spinal müsküler atrofi	OR ?
Konjenital kalp defektleri ile görülen spinal müsküler atrofi	OR ?
Mental reterdasyonun eşlik ettiği spinal müsküler atrofi	OR
Segmental spinal müsküler atrofi	Sporadik
Konjenital contractures ile spinal müsküler atrofi	XGR
Spinal müsküler atrofi ile X-geçişli spinal ve bulbar atrofi (Kennedy tipi)	XGR CAG trinükleotit tekrarları
İlerleyici olmayan konjenitel spinal müsküler atrofi	Gen bölgesi 12q23-q24
Arthrogryposis’in eşlik ettiği spinal müsküler atrofi	X geçişli

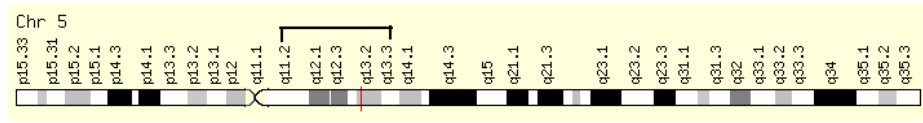
OR: Otozomal resesif, **XGR:** X geçişli resesif

SMA’NIN GENETİĞİ

Çocukluk çağı SMA’ların tümünde (Tip I, Tip II, Tip III SMA) %98 oranında otozomal resesif kalıtım, yetişkin tip SMA’da (Tip IV) ise %70 oranında otozomal resesif kalıtım görülmektedir. Belirtilen bu oranlar dışında kalan %2’lik ve %30’luk durumlarda ise farklı genlerin etkisiyle ortaya çıkan otozomal dominant veya X’e bağlı resesif kalıtım görülmektedir^{9,21}. Rietschel ve ark.²² yaptığı çalışmada, otozomal dominant SMA’ya neden olan genin resesif kalıtım gösteren SMA geni ile aynı lokus üzerinde olmadığı gösterilmiştir. Bu tiplerin kliniği de klasik SMA kliniğinden belirgin farklılıklar gösterir. X’e bağlı olan tipinde ilgili gen bölgesi içinde CAG trinükleotit

tekrarları mevcut olup tekrar sayısı ile hastalık şiddeti arasında korelasyon gözlenmektedir¹⁸.

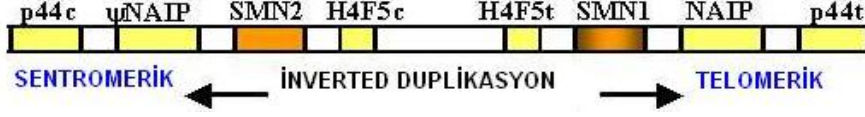
Genetik bağlantı çalışmaları ile çocukluk çağı ve yetişkin yaşta görülen SMA tiplerine neden olan gen bölgelerinin kromozom 5q13 bölgesinde yer aldığı gösterilmiştir¹⁵. İlk kez 1990 yılında, SMA'ya neden olan gen bölgesinin 5q11.2-13.3'te 35 cM uzunluğunda bir bölge olduğu bildirilmiş, daha sonraki çalışmalarla bölge 1cM'a kadar daraltılmış ve bölgenin fiziksel haritası 1994 yılında çıkartılabilmektedir (Şekil 2)^{12,16,23,24}.



Şekil 2. Kromozom 5q bölgesinde SMA'ya neden olan gen bölgesi²⁵

SMA İLE İLİŞKİLİ GENLER

Hastalıktan sorumlu olan bölgede 1995 yılında survival motor nöron (SMN) geni ve nöral apoptozis inhibitör protein (NAIP) geninin hastalarda kaybolduğu (delesyona uğradığı) saptanmış ve bu genler SMA oluşumuna neden olan aday genler olarak yayınlanmıştır. Aynı bölgede yer alan p44 geninde hastalarda delesyona uğradığı 1997 yılında gösterilmiş, böylece SMA'ya neden olan aday genlerin sayısı üçü bulmuştur¹². Bunların ardından fonksiyonu henüz bilinmeyen fakat SMA ile ilişkisi olduğu düşünülen H4F5 (SMA modifiye edici gen) adlı yeni bir gen tanımlanmıştır^{26,27}. SMA ile ilişkilendirilen her dört genin duplikasyon ve inversiyona uğramaları sonucunda 500 kb'lık²⁸ alanı kaplayan ve birbirine ters yönde uzanan telomerik ve sentromerik kopyaları bulunmaktadır^{14,29}. Telomerik kopyalar genlerin fonksiyonel alanlarını oluştururken sentromerik kopyaların bazı formları fonksiyonel iken bazı formları fonksiyonel değildir²⁶ (Şekil 3).

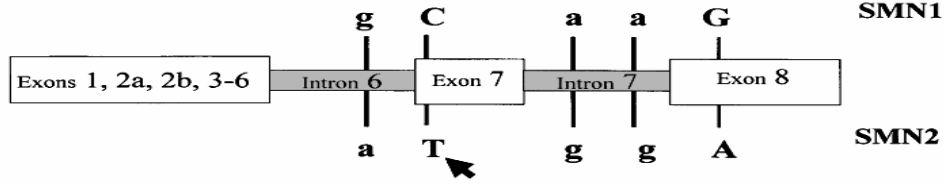


Şekil 3. Kromozom 5q lokusundaki SMA ilişkili genlerin yerleşimi²⁷.

SMN (Survival motor nöron)

Hastaların %95'ünde SMN geninde delesyon görülmesi, hastalıktan sorumlu olan genin SMN olduğunu düşündürmektedir²⁷. SMN geni 20 kb'luk³¹ 9 ekzon dan oluşmakta ve 294 amino asitlik 38 kDa'luk bir proteini kodlamaktadır^{2,32,33,34}. SMN geninin ilk önce 8 ekzondan oluştuğu bildirilmiş fakat daha sonra ekzon 2'nin iki ayrı ekzon olduğu tesbit edilerek ekzon 2a ve 2b olarak yeniden adlandırılmıştır⁹.

Melki ve ark.³⁵ tarafından 1995 yılında aday gen olarak bildirilen SMN geninin telomer ve sentromer yakınlıklarına göre adlandırılan telomerik (SMN 1 veya SMNt; OMİM 600354) ve sentromerik (SMN2 veya SMNc, cBCD54; OMİM 601627) kopyaları bulunmaktadır³⁵. Birbirlerine yüksek derecede (%99) homoloji³⁶ gösteren bu kopyalar arasında beş nükleotidlik fark bulunmaktadır^{12,27,29,33,38}. İntronlar arasında üç nükleotidlik fark bulunurken, ekzonlar arasında sadece iki nükleotidlik fark bulunmaktadır. Bu farklılıklardan bir tanesi intron 6'da, iki tanesi de intron 7'de dir. Ekzon 7'de mRNA'da kodon 280'de C→T (TTC→TTT)⁸ sessiz transisyonu görülürken ekzon 8'in 3' translayona uğramayan bölgesinde nükleotid 1155'te (G→A)⁹ nükleotid farklılığı görülür^{27,36,39,40} (Şekil 4).



Şekil 4. SMN1 ve SMN2 arasındaki nükleotid farklılıkları²⁶

SMN1 ve SMN2 genelde aynı proteini kodlamasına rağmen SMN1 de görülen mutasyonlar SMA ile doğrudan ilişkilidir. Telomerik kopyanın (SMN1) d ve b olmak üzere 2 tip transkript varyantı vardır. Bunlardan, telomerik kopya d izoformu tam uzunlukta ve 294 amino asitlik aktif proteini kodlamaktadır. Telomerik izoform b ise 262 amino asitlik proteini kodlamaktadır. Sentromerik kopyanın ise a [ekzon 7 eksik (Iso7-SMN)], b [ekzon 5 eksik (Iso5-SMN)], c [ekzon 5 ve 7 eksik (Iso57-SMN)] ve d (tam uzunlukta) olmak üzere 4 tip varyantı vardır. Bu varyantlardan yalnızca izoform d tarafından tam uzunlukta protein kodlanmaktadır^{34,38}. SMN2 tarafından kodlanan ürünlerden %60'ında ekzon 7 bulunmazken %40'ında bulunmaktadır ve oluşturulan ürün aktif formdadır²⁷. Bundan dolayı SMA fenotipi üzerine SMN2 geninin etkisi vardır³⁴. SMN2 geninin homozigot delesyonunun olduğu durumlara da rastlanmış olmasına rağmen bu durum SMA ile ilgili klinik bir sonuç doğurmamaktadır⁴¹. SMN2 geninin delesyona uğramasıyla yalnızca İnfantil Motor Nöron hastalığı ortaya çıkmaktadır⁴¹.

SMN1 ekzon 7 ve 8 veya yalnızca ekzon 7'nin homozigot yokluğu SMA hastalarının %94'ünde görülmektedir⁸. Tip I ve Tip II hastalarında homozigot delesyon oranı %96 ve %94 iken, Tip III hastaların da %86 dır. Bunlarla birlikte SMA'ya neden olan SMN1 homozigot delesyonu SMA tiplerinde farklılıklar göstermektedir²⁷ (Çizelge3).

Çizelge 3. Tip I-III hastalarında bulunan SMN1 geni homozigot delesyon sıklığı²⁷.
SMN 1 geninin homozigot delesyonu (%)

Referans	SMA tipi	Exon 7 ve 8	Yalnızca exon 7	Delesyona uğramayan
Lefebvre et al., 1995	I-III	93 (213/229)	6 (13/ 229)	1 (3/ 229)
Rodrigues et al., 1995	I	96 (49/51)	2 (1 /51)	2 (1/51)
	II	93 (54/58)	5 (3 /58)	2 (1/ 58)
	III	84 (26/ 319)	13 (4 /31)	3 (1 /31)
Cobben et al., 1995	I	92 45 /49)	0 (0 /49)	8 (4 /49)
	II	88 (30 /34)	6 (2 /34)	6 (2 /34)
	III	90 (18 /20)	5 (1 /20)	5 (1 /209)
Hahnen et al., 1995; Wirth et al., 1996; Wirth, basımı yapılmamış sonuçları	I	91 (247/ 270)	7 (18/ 270)	7 (11/ 270)
	II	83 (103 /124)	10 (13/ 124)	7 (8 /124)
	III	68 (89 /131)	15 (19 /131)	18 (23/ 131)
Velasco et al., 1996	I	96 (27 /28)	4 (1 /28)	0 (0 /28)
	II	79 (22 /28)	4 (1 /28)	18 (5 /28)
	III	89 (8/ 9)	11 (1 /19)	0 (0 /9)
Simard et al., 1997	I	68 (19/ 22)	18 (1 /22)	9 (2 /22)
	II	100 (13/ 13)	0 (0/13)	0 (0 /13)
	III	72 (18/ 25)	4 (1 /25)	24 (6 /25)
Her SMA tipinin toplamı	I	91 (379 /418)	5 (21/ 418)	4 (18 /418)
	II	87 (222 /257)	7 (19 /257)	6 (16 /257)
	III	74 (159 /216)	12 (26/ 216)	14 (31/ 216)
Tüm SMA tiplerinin toplamı	I, II ve III	87 (975 /1122)	7 (79 /1122)	6 (68 /1122)

Nadir durumlarda SMN1 geninde görülen bir takım intragenik mutasyonlar da bu hastalığa sebep olmaktadır. Şimdiye kadar 23 farklı tip mutasyon tanımlanmıştır²⁷. Bu mutasyonlar; zincir sonlandırıcı mutasyonlar (nonsense), çerçeve kayması mutasyonları (frameshift), yanlış anlamlı mutasyonlar (missense), delesyonlar, inversiyonlar ve kesim bölgesi mutasyonları (splice site mutations) şeklindedir^{27,33,37} (Çizelge 4). Bu mutasyonlar arasından Y272C mutasyonları %17'lik (9/53) ve 813ins/dup11 %13'lük (7/53) oranlarla en sık görülenleridir. Missense mutasyonları daha çok ekzon 6 ve ekzon 7 bölgelerinde görülmektedir ve bu mutasyonlar SMN proteininin kendi üzerine

katlanma aktivitesini azaltmaktadır^{8,27}. SMA'ya neden olan bu intragenik mutasyonların oranı Tip 3 SMA hastalarında Tip 1 SMA hastalarına göre daha fazladır⁸.

SMN geninde 31 tane de polimorfizm tanımlanmıştır. Bu polimorfizimlerin 20 tanesi promotor bölgesinde, 1 tanesi intron 1'de, 1 tanesi ekzon 2a da, 1 tane ekzon 3 te, 15 tanesi de intron 6'da yer almaktadır²⁷ (Çizelge 5).

SMA fenotipi göstermeyen fakat homozigot ekzon 7 ve 8 delesyonuna sahip bazı bireyler tespit edilmiştir^{27, 29}. Bu bireylerde homozigot ekzon 7 ve 8 yokluğunu telafi eden bazı genetiksel ve çevresel faktörlerin olabileceği düşünülmektedir⁴².

Çizelge 4. Küçük intragenik SMN1 mutasyonlarının listesi. Standart literatürde mutasyonlar, başlangıç kodonu ATG'ye göre listelenmiştir.

Nükleotid değişimlerinin gösterildiği standart nomenklatür	Tek amino asit değişimi	Literatürlerde kullanılan diğer nomenklatürler	Mutasyon bölgesi	Mutasyon tipi	SM A TİPİ	Hastaların numaraları	Referanslar
5C→G	A2G	38C→G	Exon 1	Missense	II, III	3	Parsons et al. 1998b
22_23insA (veya 22dupA)			Exon 1	Frameshift	I veya II	1	Tsai et al. 2001
43C→T	Q15X	78C→T	Exon 1	Nonsense	I, III	2	Wirth et al. 1999
81_81+1insG (veya 81dupG)		Q27insG	Exon 1/Intron 1	Frameshift	II	2	Skordis et al. 2001
91_92insT (veya 91dupT)		124insT	Exon 2a		I	1	Wirth et al. 1999
208_209insGTGT		241-242in4	Exon 2b	Frameshift	III	1	Wirth et al. 1999
305G→A	W102X		Exon 3	Nonsense	II, III	2	Sossi et al. 2001
399_402delAGAG		430del4	Exon 3	Frameshift	I, II, III	5	Bussaglia et al. 1995; Martin et al. 2002
400G→A	E134K	433G→A	Exon 3	Missense	I	1	Clermont et al. 1997; Wirth 2000
439_443delGAAGT		425del5, 472del5	Exon 3	Frameshift	I	2	Brahe et al. 1996; Sossi et al. 2001

509_510delGT		542delGT	Exon 4	Frameshift	I, II, III	3	Parsons et al. 1998a, 1998b
558delA (veya 556delA)		591delA	Exon 4	Frameshift	II	1	Wirth et al. 1999
585_586insT (veya 585dupT)		618insT	Exon 4	Frameshift	I	1	Clermont et al. 1997; Wirth 2000
IVS4_IVS6del			Intron 4 den intron 6	Deletion	I	2	Wirth et al. 1999
683T→A	L228X		Exon 5	Nonsense	I veya II	1	Tsai et al. 2001
734C→T	P245L	767C→T	Exon 6	Missense	III	1	Rochette et al. 1997
740_741insC (veya 740dupC)		773insC	Exon 6	Frameshift	III	1	Martin et al. 2002
768_778dupTGCTGATGCTT (veya 770_780dupCTGATGCTTTG)		813ins/dup11,800ins11	Exon 6	Frameshift	I, II	8	Clermont et al. 1997; Martin et al. 2002; Parsons et al. 1996, 1998b; Wirth 2000
785G→T	S262I	818G→T	Exon 6	Missense	III	2	Hahnen et al. 1997; McAndrew et al. 1997
815A→G	Y272C	848A→G	Exon 6	Missense	I, II, III	9	Lefebvre et al. 1995; Rochette et al. 1997; Wirth 2000; Wirth et al. 1999
821C→T	T274I	854C→T	Exon 6	Missense	II, III	4	Hahnen et al. 1997; Parsons et al. 1998b; Wirth et al. 1999
823G→A	G275S		Exon 6	Missense	III	1	Skordis et al. 2001
834+2T→G (veya IVS6+2T→G)		c.867+2T→G	Intron 6	Splice site	I	1	Martin et al. 2002
IVS6-18_IVS6-12delCCTTTAT		c.868-11del7	Intron 6	Splice site	I	1	Lefebvre et al. 1995; Wirth 2000
835G→T	G279C	868G→T	Exon 7	Missense	II, III	2	Wang et al. 1998
836G→T	G279V	869G→T	Exon 7	Missense	I	2	Talbot et al. 1997

IVS7+4_IVS7+7delAGTC		c.922+3del4	Intron 7	Splice site	II	1	Lefebvre et al. 1995; Wirth 2000
IVS7+6T→G		c.922+6T→G	Intron 7	Splice site	III	1	Wirth et al. 1999
EX8del			Exon 8	Delesyon	II, III	2	Gambardella et al. 1998

Çizelge 5. SMN1 ve SMN2 geninde tanımlanan polimorfizimler ²⁷

Pozisyon	Nükleotid pozisyonu	Polimorfizm	Referanslar
Promotor	-3366	-/G	Monani et al., 1999
	-2252	C/A	Monani et al., 1999
	-2020	C/T	Monani et al., 1999
	-1990	C/T	Monani et al., 1999
	-1805	C/G	Monani et al., 1999
	-1438	A/T	Monani et al., 1999
	-1427	C/G	Monani et al., 1999
	-1317	C/G	Monani et al., 1999
	-1155	G/A	Monani et al., 1999
	-893	A/G	Monani et al., 1999
	-769	GAG/ -	Monani et al., 1999
-318	GCC/ -	Monani et al., 1999	
Intron 1	+8451	T/C	Monani et al., 1999
Exon 2a	+14035 (kodon 28) ^a	C/T	Hahnen and Wirth et al., 1996
Exon 3	+17739 (kodon 154)	A/G	Brahe et al., 1996
Intron 6	+21851	G/T	Monani et al., 1999
	+22872	A/G	Monani et al., 1999
	+23117	G/A	Monani et al., 1999
	+23505	A/G	Monani et al., 1999
	+25239	T/C	Monani et al., 1999
	+25379	G/A	Monani et al., 1999
	+25381	T/C	Monani et al., 1999
	+25519	G/A	Monani et al., 1999
	+25683	G/A	Monani et al., 1999
	+25729	C/G	Monani et al., 1999
	+26156	G/A	Monani et al., 1999
	+26236	-/AGGCA	Monani et al., 1999
	+26287	A/C	Monani et al., 1999
	+26587	G/A	Monani et al., 1999
	+26658	T/C	Monani et al., 1999
	+26769	C/A	Monani et al., 1999
+27092 ^b	G/A	Bürglen et al., 1996a	
Exon 7	+27147 (kodon 280) ^b	C/T	Lefebvre et al., 1995
Intron 7	+27289 ^b	A/G	Bürglen et al., 1996a
	+27404 ^b	A/G	Bürglen et al., 1996a
Exon 8	+27869 ^b	G/A	Lefebvre et al., 1995

a : Bu polimorfizm yalnızca SMN2 için tanımlanmıştır.

b : SMN1 ile SMN2'yi birbirinden ayıran nükleotid değişiklikleri.

NAIP (Nöral Apoptozis İnhibitör Protein)

Genomik uzunluğu 60 kb olan ve 16 ekzonu bulunan NAIP geni⁴³; 1232 amino asit uzunluğundaki 140 kD'luk bir proteini kodlar⁹. NAIP geni 1995 yılında SMA hastalarında delesyona uğrayan ikinci aday gen olarak tespit edilmiştir⁴⁴. NAIP gen ekspresyonu doku özgüllüğü göstermez. Bu genin bir tam ve birden fazla kesikli kopyası vardır⁴⁵. Hastalarda sadece tam kopyanın 5. ve 6. ekzonlarında delesyon bulunması^{28,46} nedeniyle delesyon analizi için tam kopyadaki ekzon 5 ve 6'nın multipleks PCR ile amplikasyonu yapılır ve delesyon varlığı araştırılır¹².

Tip I hastalarda %15-67, tip II ve III hastalarda ise %10-20 sıklığında 5. ve 6. ekzon delesyonu bulunmaktadır. Ülkemizde NAIP geni ekzon 5 ve 6 delesyon oranının tip I'de %72 iken tip II'de %18 ve III'te %10'a kadar düştüğü ve delesyonu olan tüm hastalarda ekzon 5 ve 6'nın birlikte delesyona uğradığı görülmüştür¹².

Hastalık belirtisi göstermeyen taşıyıcı bireylerde, NAIP gen delesyonu %2-3 sıklıkla bildirilmiştir. Ayrıca hastalarda tek başına NAIP delesyonunun bulunmaması, hastalık oluşturabilmek için NAIP genindeki delesyonun yeterli olmayacağını göstermektedir⁸. Ancak NAIP genindeki delesyonun tip I SMA'da sık görülmesi bu delesyonun hastalık şiddetini arttırdığını düşündürmektedir^{12,41}.

p44 geni (BTfP44)

Transkripsiyon faktör II H'nin (TFIIH)^{47,46} alt birimlerinden biri olan 44 kD'luk bir proteini kodlayan bu gen, 1997 yılı Ocak ayında Melki ve grubu tarafından yeni aday gen olarak bildirilmiştir. TFIIH; RNA polimeraz II transkripsiyonu, DNA tamiri ve hücre döngüsünün düzenlenmesinde rol oynamaktadır. P44 geninin de sentromerik ve telomerik 2 kopyası bulunur ve bu kopyalar 3 kodon farklılığı ile birbirinden ayrılırlar. Genin 133., 151. ve 236. kodonlarındaki nükleotid farklılığı sırasıyla MbolI, AluI ve DdeI restriksiyon endonükleaz enzimleri için kesim bölgesi yaratmaktadır. Bu özelliklerinden yararlanılarak 2 kopya birbirlerinden ayrılabilirler. Ayrıca telomerik kopyadaki

1939. pozisyonda (3' ucu) bulunan guaninin (G) yerini sentromerik kopyada timin (T) alır ve bu fark SSCP yöntemi uygulanarak gösterilebilir¹².

SMA tip I grubunda yapılan 151. kodon ve 3'ucu 1939. nükleotid değişimi analizleri telomerik gende %53.5 oranında homozigot delesyon olduğunu göstermiştir¹². Ancak, p44 geninde delesyon bulunduran hastaların tamamında SMN, bir kısmında da SMN ve NAIP genlerinde delesyon olması p44 genindeki mutasyonların hastalığın esas nedeni olmadığını düşündürmüştür. Bugüne kadar sadece p44 gen delesyonu bulunan bir SMA vakasının gösterilememiş olması genin tanı amaçlı olarak kullanılmasını ve önemini azaltmıştır^{12,27}.

H4F5 (SMA Modifiye Edici Gen 1)

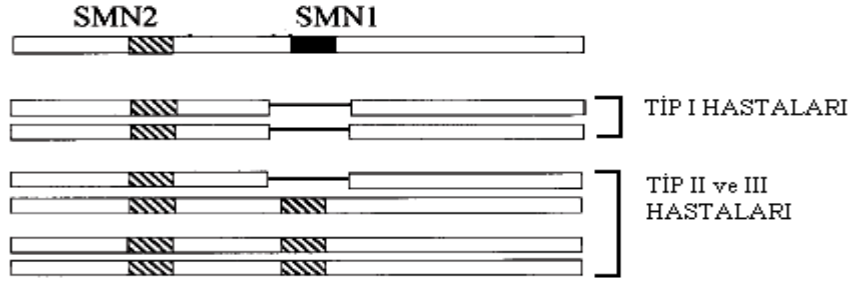
Scharf ve ark. tarafından 1998'de çok kopyalı mikrosatellit markır (C212) kullanılarak yapılan çalışmada, Tip I hastalarının %90'ında H4F5 gen bölgesinin delesyona uğradığı saptanmıştır. H4F5 geni tek başına SMA hastalığına yol açmazken hastalığın şiddeti üzerine etkili olmaktadır^{8,26,27}.

HASTALIĞIN MEKANİZMASI

SMN1 geninin kaybından birden fazla farklı mekanizma sorumludur. Bunlardan birincisi; duplikasyon ve inversiyonla oluşmuş tekrarlayan üniteler arasındaki dengesiz krossing-overler den dolayı paternal mayoz sırasında ortaya çıkan de novo mutasyonlardır⁸. SMA hastalarında %2 oranında de novo mutasyon gözlenmektedir. Bu durum genellikle çeşitli büyüklükteki delesyonlara yol açmaktadır. İkinci mekanizma ise, SMN1 geninin SMN2 genine dönüşmesiyle ortaya çıkan gen değişimidir (konversiyon)^{27,47}. Bu durumda SMN2 kopya sayısı artmaktadır. Bazı SMA hastalarında SMN1 geninin yalnızca bir kromozom üzerinde bulunduğu tesbit edilmiştir. Diğer kromozom üzerinde ise sebebi bilinmeyen bir SMN1 değişikliği (genellikle küçük intragenik mutasyonlar) olduğu kaydedilmiştir^{15,27,47}. Bu tip durumlar ise compound (birleşik) heterozigot olarak tanımlanmaktadır. SMA tip I hastalarının büyük çoğunluğu homozigot SMN1 delesyonuna sahipken tip II

ve tip III hastalarında daha çok gen değişimi ile sayısı 3-4 arasında değişen SMN2 kopyasına sahiptir. Bu yüzden bu tip hastalarda SMN2 sayısı arttıkça hastalığın şiddeti de azalmaktadır^{7,8,15,27,29,32,33,47} (Şekil 5).

SMA taşıyıcılarında kromozomun birinde SMN1 geni mevcut iken diğer kromozom üzerinde ya SMN1 delesyonu ya da diğer mutasyonlardan birisi (nokta mutasyonları, duplikasyonlar, kısa delesyonlar gibi) bulunmaktadır¹⁵.



Şekil 5. Tip I, II ve III hastalarında görülen mutasyonların genel olarak şematize edilmesi²⁷

SMA ve KÜRESEL CİSİMCİKLER

Bindokuzyüz üç (1903) yılında ilk kez nöronlarda nükleolus benzeri yapılar tanımlanmış ve bu yapılara "accessory body" adı verilmiştir. Elektron mikroskobu ile 1960'lı yılların sonlarında yapılan çalışmalarla aynı yapılar "coiled body" (küresel cisimcik) olarak adlandırılmıştır. Küresel cisimcikler, birçok somatik hücrenin nükleusunda yer alan küçük ve yuvarlak yapılardır. Bu küreciklerin içinde "coilin" başta olmak üzere mRNA kesiminde rol oynayan bazı proteinler (fibrilinin gibi) bulunmaktadır. Bu küresel cisimcikler mitoz bölünme sırasında dağılıp, hücre bölünmesinin G1 evresinde tekrar belirgin dinamik yapılardır¹². Son yıllarda snRNP (small nuclear ribonucleoprotein) biyogenezinde ve posttranskripsiyonel RNA işlenmesinde aracı olarak rol aldıkları gösterilmiştir^{12,17,47,48}. Ökaryotik hücrelerde görülen mRNA kesimi (splicing); DNA'dan genetik bilgiyi alarak oluşan premRNA'nın proteine

çevrilmeyecek olan bölgelerinin (intron) çıkartılıp sadece proteine çevrilecek olan bölgelerinin (ekzon) bırakılması için yapılan kesme çıkarma işlemidir. Fare embriyolarıyla yapılan çalışmalar, embriyonik gen ekspresyonu başlamadan önce küresel cisimciklerin oluştuğunu göstermiştir¹².

İlginç olarak, snRNP'lerin hücrede ilişki kurdukları proteinler araştırılırken SMN proteini bulunmuştur. Monoklonal antikolarla yapılan immüno lokalizasyon çalışmaları SMN proteinin küresel cisimciklerle benzer sayıda ve çapta (0.1-1.0 mikron, 2-6 adet) olduklarını, küresel cisimciklere çok yakın bulduklarını hatta bazen de onlarla ilişkili olduklarını göstermiştir¹⁶. "Gem" adı verilen SMN protein yapıları küresel cisimciklere sadece yapısal değil fonksiyonel olarak da benzemektedir^{36,41}. Hücrenin metabolik durumu değişince "gem" büyüklüğü ve organizasyonunun da değiştiği, beyin, böbrek, karaciğer ve omurilikte yüksek, iskelet ve kalp kasında orta, fibroblast ve lenfositte düşük düzeyde SMN proteini bulunduğu gösterilmiştir. Hem nükleus hem de sitoplazmada bulunan SMN proteinin izoformlarının farklı subselüler kompartmanlara dağılmış olabileceği düşünülmektedir^{32,38}. SIP1 (SMN interacting protein) (Gemin2) nükleus ve sitoplazmada SMN ile birlikte bulunan ve snRNP biyogenezinde rol oynayan bir proteindir^{32,33,38}. *Xenopus* oositi sitoplazmasına anti-SIP1 antikorunu enjekte edilince snRNP oluşumu ve transportunun inhibe olduğu görülmüştür. SMN proteini en fazla embriyonel dönemdeki hücrelerde bulunur. Postnatal, bölünmeyen, tamamen farklılaşmış nöronlarda sadece sitoplazmik SMN proteini bulunur¹⁶. Protein düzeyi ve hastalığın ciddiyeti arasında ters ilişki vardır^{12,47} Tip 1 SMA hastalarında "gem" hemen hemen hiç bulunmazken Tip II ve III hastalarında oldukça az miktarda bulunur^{32,38}. Hastalarda telomerik gende delesyon olunca sentromerik gen tarafında oligomerizasyon domaini bozuk olan SMN transkripti oluşmaktadır¹².

SMN proteininin "gem" adı verilen küresel yapılar halinde bulunduğu, posttranskripsiyonel RNA metabolizmasında özellikle RNA splicing ve transportunda rol oynadığı gösterildikten sonra, spinal müsküler atrofi'nin RNA metabolizmasına ilişkin bir hastalık olduğu anlaşılmış ve çalışmalar bu yönde

yoğunlaştırılmıştır^{12,32,49}.

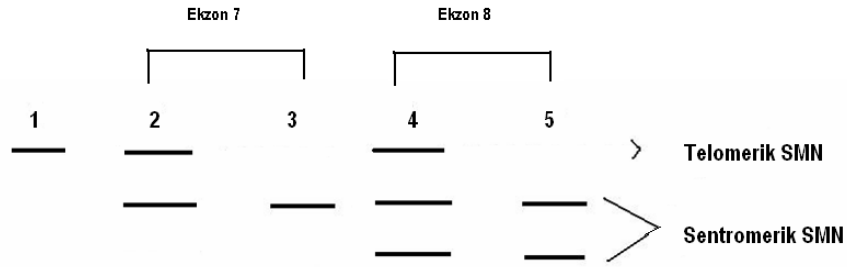
HASTALIĞIN MOLEKÜLER TEŞHİS VE TANI YÖNTEMLERİ

Bin dokuz yüz doksan beş (1995) yılında hastalarda kaybolan aday genlerin bulunmasından sonra SMA'nın moleküler genetik tanısı telomerik gen delesyonlarının araştırılmasıyla yapılmaktadır. Ancak SMA, diğer kalıtsal tek gen hastalıklarından oldukça farklıdır. Çünkü hastalarda birden fazla gende mutasyon bulunur ve her bir genin en az 2 kopyası vardır. Genetik tanı için; periferik kan lenfositleri, biyopsi materyali, amniyon ve koriyon hücreleri en çok kullanılan örneklerdir. Bu örneklerden saflaştırılan DNA molekülünde SMN, NAIP, p44 genlerinde sıklıkla delesyon gösteren bölgelerde delesyon taraması yapılır¹².

Spinal müsküler atrofinin moleküler düzeyde teşhis edilmesinde SMN1 geninde ekzon 7 ve 8 delesyonlarının gösterilmesi vazgeçilmez bir tanı yöntemi haline gelmiştir^{8,11}. Bu moleküler test, hastalığın konsorsiyom kriterlerine göre belirlenmesi halinde, %95 hassasiyete ve %99 özgünlüğe (yani ekzon 7 delesyonuna sahip olan birinin SMA hastası olma olasılığının %99 olması) sahiptir^{13,15}. Hastalık nedeni olan bu delesyonların analizleri SSCP (Single Strand Conformational Polimorphism) veya RLFP (Restriction Length Fragment Polimorphism) yöntemleriyle yapılabilmektedir⁵⁰.

Restriksiyon endonükleaz enzim kesimi analizlerinde, ekzonlardaki nükleotid farklılıklarından faydalanılır. SMN geni 7. ekzon analizinde Dral ve 8. ekzon analizinde Ddel restriksiyon endonükleaz enzimleri kullanılır⁵¹. Sentromerik kopyada kesim yapan bu enzimler, nükleotid farklılığından dolayı telomerik kopyayı kesemezler, bu sayede telomerik/sentromerik kopyalar birbirinden ayrılır ve telomerik kopyadaki delesyonlar görülebilir^{11,16,43}. Dra I

(Aha III) enzimi 188 bç uzunluğundaki DNA'yı TTT/AAA nükleotid bölgesinden 149 ve 39 bç uzunluğundaki 2 parçaya böler. Ddel enzimi ise 187 bç uzunluğundaki DNA'yı 5'C/TNAG 3' bölgelerinden 123 ve 64 bç uzunluğundaki parçalara böler^{52,53}. Dra I enziminin kesimi ile oluşan 39 bç uzunluğundaki parça küçük olduğu için jelde görüntülenememektedir⁵² (Şekil 6).



Şekil 6. SMN geni ekzon 7 ve 8'in restriksiyon enzimleri kesimi sonucu oluşan band profilleri. Dra I ve Ddel enzimleri sentromerik kopyada kesim yapmakta ve bu şekilde telomerik ve sentromerik kopya birbirinden ayrılmaktadır. 1. PCR ürünü 2. Ekzon 7 delesyonu taşımayan birey 3. Ekzon 7 delesyonu taşıyan birey 4. Ekzon 8 delesyonu taşımayan birey 5. Ekzon 8 delesyonu taşıyan birey

RFLP yöntemi homozigot delesyonların belirlenmesinde oldukça güvenilir bir yöntem olmasına rağmen birleşik (compound) heterozigot hastaların belirlenmesinde yetersiz kalmaktadır. Bunun için farklı yöntemlere ihtiyaç duyulmaktadır.

SSCP yönteminde PCR (polimeraz zincir reaksiyonu) ile amplifiye edilen bölgede; telomerik ekzon 7 ve 8 mutasyonları nondenatüre poliakrilamid jel elektroforezi ile incelenir. SSCP ile birleşik (compound) heterozigot bireyler mutasyonun kesin tanısı olmaksızın, DNA iplikçiklerinin farklı şekilli yapılarından dolayı jelde farklı yürümlerine dayanılarak teşhis edilebilir¹².

İntragenik mutasyonların saptanması çok özel teknikler gerektirmektedir. Mailman ve arkadaşları⁵⁴ 2002 yılında allele spesifik multiplex PCR yöntemi

geliştirerek en sık gözlenen 7 mutasyonu taramaya başlamışlardır⁸.

SMA, doğum öncesinde de (prenatal tanı) tespit edilebilmektedir. Doğum öncesi tanıda, delesyon varlığı hastalığı kanıtlamakta ancak delesyon olmaması fetusun sağlıklı olduğunu göstermemektedir. Çünkü, SMN geninde delesyon varlığı dışında diğer intragenik mutasyonlar da SMA' ya neden olmaktadır¹².

SMN geninin iki kopyalı olması nedeniyle delesyon analizleri taşıyıcıları göstermede yetersiz kalmaktadır. Taşıyıcıların belirlenmesinde kantitatif dozaj analizi metodları kullanılmaktadır. Bu amaçla kantitatif multipleks PCR yöntemi kullanılmaktadır. Multipleks PCR amplifikasyonu ile elde edilen ürünlerin dozaj analizi yapılarak hedef gen bölgesinin (SMN1 geni ekzon 7) kopya sayısı tespit edilmektedir. Dozaj analizinde RB1(Retinoblastoma) veya CFTR (kistik fibrozis transmembran regülatör) gibi standart kopya sayısı bilinen genler internal kontrol olarak kullanılmaktadır¹⁴.

SMA TEDAVİSİNDE HDAC İNHİBİTÖRLERİ

SMN proteininin fonksiyonlarının anlaşılması, tedaviye yönelik adımların atılabilmesi açısından önemlidir. SMA hastalarında, SMN2 geninin kopya sayısındaki artışın hastalığın ciddiyetini azalttığı bilgisi tedaviye yönelik çalışmalar için yol gösterici olmuştur. Henüz tedavisi bulunmayan SMA hastalığında, tedavi stratejisi olarak SMN2 gen ekspresyonunun artırılması ve/veya "splicing"ın doğru gerçekleşmesinin sağlanması yoluyla fonksiyonel protein düzeyinin yükseltilmesine çalışılmaktadır. Bu amaçla bilinen inhibitörlerin yapıları modifiye edilerek, yüksek inhibisyon aktivitesine sahip ve hücrelere toksik etkisi olmayan yeni inhibitörlerin geliştirilmesi yönünde araştırmalar yürütülmektedir. Araştırılan bileşikler içinde, histon deasetilaz (HDAC) inhibitörleri en fazla ümit vadeden gruba oluşturmaktadır^{55,56}. SMA tedavisine yönelik etkisi araştırılan inhibitörler ve özellikleri Çizelge 6'da gösterilmiştir.

Çizelge 6. SMA tedavisine yönelik etkisi araştırılan inhibitörler ve özellikleri⁵⁶

İnhibitör sınıfı	HDACi	Etkili doz (molar)	SMA tedavi potansiyeli	Klinik faz çalışmaları	FDA onayı
Kısa zincirli yağ asidi	Sodyum bütirat	mM	Var, yarı ömrü kısa	Yok	Yok
	Fenilbütirat	mM	Var	Faz I, II, III	Var
	Sodyum fenilbütirat				
	Valproat	mM	Var, hepatotoksik	Faz II	Var
Hidroksamat	TSA	nM	Var	Yok	Yok
	SAHA	nM	Var	Yok	Var
Benzamid	M344	µM	Var, toksisite yüksek	Yok	Yok

SMA: Spinal musküler atrofi, HDACi: Histon deasetilaz inhibitörleri, FDA: Food and Drug Administration.

Yukarıda bahsedilen HDAC inhibitörlerinin tamamı halen araştırma aşamasında olup henüz SMA tedavisinde kesin bir çözüm sağlanamamıştır. SMA tedavisinde diğer bir yaklaşım ise polifenolik bileşiklerin kullanımınıdır. Nörodejeneratif hastalıklarda oksidatif hasarın rol oynadığının gösterilmesi üzerine, antioksidan bileşiklerin tedavide etkili olabileceği düşünülmüş ve polifenolik bileşiklerin etkileri araştırılmaya başlanmıştır. Araştırılan polifenolik bileşiklerden resveratrolün HDAC inhibisyon aktivitesine sahip olduğu ve hasta fibroblast hücrelerine uygulanmasıyla SMN2 ekspresyonunu artırdığı bildirilmiştir. Polifenollerle ilgili araştırmalar halen devam etmektedir. Çocukluk çağı genetik hastalığı olarak 1890 yılında tanımlanmış olan SMA'nın moleküler temelini açıklamak ve SMN protein eksikliğine bağlı motor nöron

dejenerasyonunu önlemek amacıyla yapılan araştırmalar tüm dünyada devam ederken tedavi ile ilgili olarak yeni yaklaşımlara ve yeni ilaç adaylarının geliştirilmesine halen ihtiyaç duyulmaktadır⁵⁶.

Kaynaklar

1. Sarıca Y ve Özeren A. Spinal Müsküler Atrofiler. Ç. Ü. Arşiv Kaynak Tarama Dergisi, 1996; 5(3):202-19.
2. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/dispmim.cgi?id=253300> (Erişim tarih: 04.2011)
3. Lefebvre S, Bürglen L, Frézal J, et al. The role of the SMN gene in proximal spinal muscular atrophy. Hum Mol Genet 1998; 7(10):1531-6.
4. http://www.geocities.com/izkasder/spinal_muskuler_atrofi.htm (Erişim tarih: 04.2004)
5. <http://www.jtsma.org.uk/ccmimages/jtsma/nerve.gif> (Erişim tarih: 01.2012)
6. Munsat TM, Davies KE. Meeting report: International SMA consortium meeting. Neuromuscular Disord. 1992; 2:423-8.
7. Scheffer H, Cobben JM, Matthijs G et al. Best practice guidelines for molecular analysis in spinal muscular atrophy. Eur J Hum Genet, 2001; 9:484-91.
8. Ogino S and Wilson RB. SMN Genetic testing and risk assessment for spinal muscular atrophy (SMA). Hum Genet 2002; 111:477-500.
9. Brahe C and Bertini E. Spinal muscular atrophies: recent insights and impact on molecular diagnosis. J Mol Med 1996;74:555-62.
10. McAndrew PE, Parsons DW, Simard LR, et al. Identification of proximal spinal muscular atrophy carriers and patients by analysis of SMNT and SMNC gene copy number. Am J Hum Genet, 1997; 60:1411-22.
11. Xu R, Ogino S, Lip V, et al. Comparison of PCR-RFLP with allele-specific PCR in genetic testing for spinal muscular atrophy. Genetic Testing, 2003; 7(4): 277-81.
12. Erdem H. Spinal müsküler atrofinin moleküler biyolojik özellikleri. Katkı Pediatri Dergisi, 1999; 20 (Ek-2):1-10.
13. Panigrahi I, Kesari A, Fadke SR, et al. Clinical and Molecular Diagnosis of Spinal Muscular Atrophy. Neurol India, 2002; 50:117-22.
14. Scheffer H, Cobben JM, Mensink RGJ, et al. SMA carrier testing – validation of hemizygous SMN exon 7 deletion test for the identification of proximal spinal muscular atrophy carriers and patients with a single allele deletion. Eur J Hum Genet 2000; 8:79-86.
15. McAndrew PE, Parsons DW, Simard LR, et al. Identification of proximal spinal muscular atrophy carriers and patients by analysis of SMNT and SMNC gene copy number. Am J Hum Genet 1997; 60:1411-22.

16. Parsons DW, McAndrew PE, Monani UR, et al. An 11 base pair duplication in exon 6 of the SMN gene produces a type I spinal muscular atrophy (SMA) phenotype: further evidence for SMN as the primary SMA-determining gene. *Hum Mol Genet* 1996 ; 5:1727-32.
17. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1352/> (Erişim tarih:04.2012)
18. Munsat T L. The Spinal Muscular Atrophies. *Curr Neurology*, 1994;4(3):55-71.
19. Bradley WG, Daroff RB, Fenichel GM, et al. *Neurology in Clinical Practice Volume II.3th. Ed.*, Butterworth Heinemann., 2000; 1997-2004.
20. Brand T, Caplan LR, Dichgans J, et al. *Neurological Disorders Course and Treatment*. Academic Press USA. 1996; 814-815.
21. Bradley WG, Daroff RB, Fenichel GM, et al. *Neurology in Clinical Practice Volume II.3th. Ed.*, Butterworth Heinemann., 2000; 1997-2004.
22. Rietschel M, Rudnick-Schonborn S, Zerres K. Clinical variability of autosomal dominant spinal muscular atrophy. *J Neurol Sci* 1992; 107:65-73.
23. Pehlivan s, Topaloğlu H, Erdem H. Centromeric survival motor neuron gene deletion in congenital muscular dystrophy. *Balkan Journal of Medical Genetics (BJMG)*, 1999; 2(1):4142.
24. Migata M, Uchikoba Y, Orimo H, et al. Genetic diagnosis of Werdnig-Hoffman disease: A problem for application to prenatal diagnosis. *J Nippon Med Sch* 2003; 70 (1) :45-8.
25. http://tr.wikipedia.org/wiki/Kromozom_5 (Erişim tarih: 01. 2010)
26. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/dispomim.cgi?id=603011> (Erişim tarih: 09.2011)
27. Wirth B. An update of the mutation spectrum of the survival motor neuron gene (SMN1) in autosomal recessive spinal muscular atrophy (SMA). *Hum Mutat* 2000; 15:228-37.
28. Wirth B, Tessarolo D, Hahnen E, et al. Different entities of proximal spinal muscular atrophy within one family. *Hum Genet* 1997; 100:676–80.
29. Wirth B, Herz M, Wetter A, et al. Quantitative Analysis of survival motor neuron copies: identification of subtle smn1 mutations in patients with spinal muscular atrophy, genotype-phenotype correlation, and implications for genetic counseling. *Am J Hum Genet* 1999; 64: 1340–56.
30. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/dispomim.cgi?id=603011> (Erişim tarih: 09.2011)
31. Zhang HL, Pan F, Hong D, et al. Active transport of the survival motor neuron protein and the role of exon-7 in cytoplasmic localization. *J Neurosci*, 2003; 23(16): 6627– 37.
32. Strasswimmer J, Lorson CL, Breiding DE ,Chen JJ, Le T, Burghes A, Androphy E. Identification of survival motor neuron as a transcriptional activator-binding protein .*Human Mol Genet* 1999; 8(7):1219-26.
33. Frugier T, Nicole S, Cifuentes-Diaz C et al. The molecular bases of spinal muscular atrophy. *Curr Opin Genet Dev* 2002; 12:294-98.
34. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/dispomim.cgi?id=600354> (Erişim tarih: 06.2011)

35. Melki J, Lefebvre S, Burglen L, et al. De novo and inherited deletions of the 5q13 region in spinal muscular atrophies. *Science* 1994; 264:1474-77.
36. Jablonka S, Rossoll W, Schrank B, et al. The role of SMN in spinal muscular atrophy. *J Neurol* 2000; 247: 37-42.
37. Semprini S, Tacconelli A, Capon F, et al. A single strand conformation polymorphism-based carrier test for spinal muscular atrophy. *Genetic Testing*, 2001; 5: 33-7.
38. Le TT, Coovert DD, Monani UR, et al. The survival motor neuron (SMN) protein: effect of exon loss and mutation on protein localization. *Neurogenetics* 2000; 3:7-16.
39. Labrum R, Rodda J, Krause A. The molecular basis of Spinal Muscular Atrophy (SMA) in South African black patients. *Neuromuscular Disorders* 2007; 17: 684-92.
40. Amara A, Adala L, Charfeddine I B, et al. Correlation of SMN2, NAIP, p44, H4F5 and Occludin genes copy number with spinal muscular atrophy phenotype in Tunisian patients. *European journal of Paediatric Neurology*, 2012; 16:167 -74.
41. Zatl'kova A, Hahnen E, Wirth B, et al. Analysis of the SMN and NAIP genes in Slovak spinal muscular atrophy patients. *Human Heredity* 2000; 50:171-74.
42. Kocatürk-Sel S, Kasap H, Koç F. Spinal Müsküler atrofi hastalarında smn geni ekzon 7 ve 8'in moleküler analizi / molecular analysis of exon 7 and 8 of smn gene in spinal muscular atrophy patients. *Türk Nöroloji Dergisi* 2006;12(5):353-61.
43. Kim CA, Passos-Bueno MR, Marie SK, et al. Clinical and molecular analysis of spinal muscular atrophy in brazilian patients. *Genet Mol Biology* 1999; 22(4):487-92.
44. Roy N, Mahadevan MS, McLean M, et al. The gene for neuronal apoptosis inhibitory protein is partially deleted in individuals with spinal muscular atrophy. *Cell* 1995; 80:167-78.
45. Velasco E, Valero C, Valero A, et al.. Molecular analysis of the SMN and NAIP genes in Spanish spinal muscular atrophy (SMA) families and correlation between number of copies of cBCD541 and SMA phenotype. *Hum Mol Genet* 1996; 5:257-63.
46. Akutsu T, Nishio H, Sumino K, et al. Molecular genetics of spinal muscular atrophy: contribution of the NAIP gene to clinical severity. *Kobe J Med Sci*, 2002; 48: 25-31.
47. Parsons DW, McAndrew PE, Iannaccone ST, et al. Intragenic telSMN Mutations: frequency, distribution, evidence of a founder effect, and modification of the spinal muscular atrophy phenotype by cenSMN copy number. *Am J Hum Genet* 1998; 63:1712-23.
48. Desprez DG, Brun T, Rochette C, et al. The SMN genes are subject to transcriptional regulation during cellular differentiation. *Gene*, 2001; 279: 109- 117.
49. Fallini C, Bassell G J, W Rossolla. Spinal muscular atrophy: The role of SMN in axonal mRNA regulation. *Brain Res*. 2012 (Article in press)
50. Savaş S, Gokgoz N, Kayserili H, Ozkinay F, Yuksel-Apak M, Kirdar B. Screening of deletions in SMN, NAIP and BTF2p44 genes in Turkish spinal muscular atrophy patients. *Human Heredity* , 2000; 50: 162-5.

51. Şimşek M, Buluş TA, Shanmugakonar M, Barwanı HSA, Bayoumı R. Allele-Specific Amplification of Exon 7 in the Survival Motor Neuron (SMN) Genes for Molecular Diagnosis of Spinal Muscular Atrophy. *Genet Testing*, 2003; 7: 325-7.
52. Chang J-G, Jong Y-J, Lin S-P, et al. Molecular analysis of Survival motor neuron (SMN) and neuronal apoptosis inhibitory protein (NAIP) genes in spinal muscular atrophy patients and their parents. *Hum Genet*, 1997;100: 577-81.
53. <http://internalmed.wustl.edu/divisions/enzymes/comRM.htm> (Erişim tarih: 06.2005)
54. Mailman MD, Heinz JW, Papp AC, et al. Molecular analysis of spinal muscular atrophy and modification of the phenotype by SMN2. *Genet Med*, 2002; 4:20-26.
55. De-Maw Chuang, Yan Leng, Zoya Marinova, et al. Multiple roles of HDAC inhibition in neurodegenerative conditions *Trends Neurosci*. 2009; 32(11): 591–601.
56. Tatar G B, Dayangaç-Erden D, Erdem- Yurter H Spinal musküler atrofi tedavisinde histon deasetilaz inhibitörlerinin rolü. *Hacettepe Tıp Dergisi* 2010; 41:90-6.

Yazışma Adresi:

Dr. Sabriye Kocatürk Sel
Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi
Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı
Telefon: 0322 338 60 60 (3498)

E-Mail: selsabriye@gmail.com