

T.C
HARRAN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

DOWN SENDROMLU ÇOCUKLARDA DNA HASARI
VE TOTAL OKSİDAN ANTİOKSİDAN DURUMUN
DEĞERLENDİRİLMESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ
HATİCE YILDIRIM

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. NURTEN AKSOY

ŞANLIURFA
2013

**T.C.
HARRAN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI**

**DOWN SENDROMLU ÇOCUKLARDA DNA HASARI
VE TOTAL OKSİDAN ANTİOKSİDAN DURUMUN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
HATİCE YILDIRIM**

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. NURTEN AKSOY**

Bu tez, Harran Üniversitesi Araştırma Fonu Saymanlığı tarafından 13018 nolu proje numarası ile desteklenmiştir

ŞANLIURFA

2013

HARRAN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜNE

Hatice YILDIRIM'ın hazırladığı "Down Sendromlu Çocuklarda DNA Hasarı, Total Oksidan ve Antioksidan Durum değerlendirmesi" konulu çalışma 19.11.2013 tarihinde jüri üyeleri tarafından değerlendirilerek Biyokimya Anabilim Dalında **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Nürten AKSOY
Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi
Tıbbi Biyokimya A.B.D. Başkanı
Prof. Dr. Nürten AKSOY (Danışman)

Harran Üniversitesi

BAŞKAN

Yrd. Doç. Dr. Hatice SEZEN

Harran Üniversitesi

ÜYE

Yrd. Doç. Dr. Halit AKBAŞ

Harran Üniversitesi

ÜYE

ONAY
19.11.2013
Prof. Dr. Nürten AKSOY
Enstitü Müdürü

İÇİNDEKİLER

SAYFA NO

KISALTMALAR DİZİNİ	I
ŞEKİLLER DİZİNİ	II
TABLolar DİZİNİ	III
ÖZET	IV
ABSTRACT	V
TEŞEKKÜR	VI
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Tarihçe	2
2.2. Etyoloji	2
2.3. Tıbbi Tanı	3
2.4. Tipleri	4
2.4.1. Trizomi 21	4
2.4.2. Yer değiştirme(Translokasyon Tipi)	4
2.4.2.1. Karşılıklı Translokasyon	5
2.4.2.2. Sentrik Kaynaşma Tipi Translokasyon	5
2.4.2.3. İnsersiyonel Translokasyon yada Transpozisyon	7
2.4.3. Eksilme(Deletion)	8
2.4.4. Artma(Duplikasyon)	8
2.4.5. Mozaik Tip	9
2.5. Klinik Özellikleri	9
2.5.1. Fenotip	9
2.5.2. Nörolojik Sorunlar	10
2.5.3. Kas-İskelet Sorunları	11

2.5.4. Kardiak Sorunlar	11
2.5.5. Gastrointestinal Sorunlar	12
2.5.6. Görme Bozuklukları	12
2.5.7. Büyüme ve Gelişme Sorunları	12
2.5.8. Malignite	13
2.5.9. Prognoz	13
2.6. Down Sendromu ve Gelişim	13
2.6.1. Mental Gelişim	13
2.6.2. Psikomotor Gelişim	15
2.6.2.1. Hipotoni	15
2.6.2.2. Postural Kontrol ve Denge	15
2.6.2.3. Kaba Motor Gelişim	16
2.6.2.4. İnce Motor Gelişim	17
2.7. Down Sendromunda Sitogenetik Çeşitlilik	20
2.8. Literatür Özetleri	21
2.9. Serbest Oksijen Radikalleri	23
2.9.1. Serbest oksijen radikallerinin oluşumu	23
2.9.1.1. Süperoksit Radikali (O ₂ ⁻)	24
2.9.1.2. Hidrojen Peroksit (H ₂ O ₂)	25
2.9.1.3. Hidroksil Radikali (HO ⁻)	25
2.9.1.4. Singlet Oksijen (O ₂ ^{↑↓})	25
2.9.2. Serbest Oksijen Radikallerinin Hücreye Zararlı Etkileri	26
2.9.3. Membranların Lipid Peroksidasyonu	26
2.9.4. Proteinlerin Oksidatif Modifikasyonu	28
2.9.5. DNA Lezyonları	28
2.9.6. Karbonhidratlara Etkileri	29
2.9.7. İnsan Vücudunda Serbest Radikallerinin Hedef Organları	29

2.9.8. Serbest Oksijen Radikallerine Karşı Savunma Mekanizmaları	29
2.9.9. Antioksidan etki tipleri	29
2.9.10. Antioksidan Sistemler ve Çeşitleri	30
2.9.10.1. Antioksidan Sistemler	30
2.9.10.2. Enzimatik Antioksidanlar	31
2.9.10.2.1. Süperoksit Dismutaz (SOD)	31
2.9.10.2.2. Katalaz (CAT)	31
2.9.10.2.3. Glutasyon Peroksidaz (GPx)	31
2.9.10.2.4. Glutasyon-S-Transferazlar (GST)	32
2.9.10.2.5. Glutasyon Redüktaz (GR)	32
2.9.10.2.6. Mitokondrial Sitokrom Oksidaz	32
2.9.11. Total Antioksidan Seviye (TAS)	32
2.9.12. Vücutta Serbest Radikallere Karşı Savunma	33
3. GEREÇ VE YÖNTEMLER	34
3.1. Gereçler	34
3.1.1. Kullanılan Cihazlar	34
3.1.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler	35
3.2. Hasta ve Kontrol Gruplarının Oluşturulması	35
3.3. Kan Örneklerinin Alınması	36
3.4. DNA Hasarı Yöntem Prensipleri	36
3.5. Yöntemin uygulanışı	36
3.5.1. Slaytların Hazırlanması	36
3.5.2. Lizis Aşaması	36
3.5.3. Elektforez tamponu	37
3.5.4. Elektforezde yürütme	37

3.5.5. Nötralizasyon	37
3.5.6. Boyama	37
3.6. Comet Assay Tekniği(Single Cell Gel Electrophoresis Technique) ve Kullanım Alanları	38
3.7. Comet Yönteminde DNA Hasarının Değerlendirilmesi	41
3.8. Total Antioksidan Seviye (TAS)	45
3.9. Total Oksidant Seviye (TOS)	45
3.10. Oksidatif Stres İndeksi (OSİ)	45
3.11. İstatistiksel Analiz	46
4. BULGULAR	47
5. TARTIŞMA	52
6. SONUÇLAR	56
7. KAYNAKLAR	57

KISALTMALAR DİZİNİ

Kısaltma	Açıklama
DS	Down Sendromu
DNA	Deoksiribonükleik Asit
ml	Mililitre
gr	Gram
KCl	Potasyum Klorür
Na ₂ HPO ₄	Sodyum Fosfat
KH ₂ PO ₄	Mono Potasyum Fosfat

ŞEKİLLER DİZİNİ

SAYFA NO

Şekil 1. Karşılıklı yer değiştirme olgusunun şematik açıklanması	5
Şekil 2. Sentrik kaynaşma tipi translokasyonun oluş mekanizması ve 14/21 Translokasyonu	6
Şekil 3. Dengeli translokasyon taşıyıcısı bir kadının verebileceği gametler ve normal Erkekle evliliğinden doğacak çocukların olası genotipleri	7
Şekil 4. Transpozisyon tipi yer değiştirme	8
Şekil 5. DNA 'nın hasar düzeyine göre sınıflandırılması	38
Şekil 6. Comet yöntemi ile hasarlı, az hasarlı ve hasarsız hücre örnekleri	40
Şekil 7. Comet yöntemi ile “hasarlı” hücre örneği	40

TABLolar DİZİNİ**SAYFA NO**

Tablo 1: Hasta ve Kontrol grubunun demografik verilerinin ve Oksidatif Stres Parametrelerinin karşılaştırılması	48
Tablo 2: Hasta ve Kontrol grubunun DNA Hasarı Düzeyinin karşılaştırılması	48
Tablo 3: Hasta ve kontrol gruplarının TAS düzeylerinin arasındaki fark, dağılım ve standart sapmalar	49
Tablo 4: Hasta ve kontrol gruplarının TOS düzeylerinin arasındaki fark, dağılım ve standart sapmaları	49
Tablo 5: Hasta ve kontrol gruplarının OSİ düzeylerinin arasındaki fark, dağılım ve standart sapmaları	50
Tablo 6: Hasta ve kontrol gruplarının DNA Hasarı düzeylerinin arasındaki fark, dağılım ve standart sapmaları	50
Tablo 7: Oksidatif-antioksidatif parametrelerle DNA hasarı arasındaki Korelasyon analizi	51
Tablo 8: DNA Hasarı ve OSİ arasındaki korelasyon analizi	51

ÖZET

DOWN SENDROMLU ÇOCUKLARDA DNA HASARI VE TOTAL OKSİDAN ANTIOKSİDAN DURUMUN DEĞERLENDİRİLMESİ

Hatice Yıldırım

Biyokimya Yüksek Lisans Tezi

Down sendromu (trizomi 21. veya trizomi G), 21. kromozomun tamamının veya bir parçasının fazladan bulunmasının sebep olduğu kromozomal bir hastalık olup, canlı doğumların 1/700'inde rastlanmaktadır. Doğum sonrasında görülen mental ve gelişim bozuklukları ve atipik yüz yapısı gibi karakteristik anomalilerle tanımlanan Down sendromu, sitogenetik karyotip analiziyle kesin olarak doğrulanmakta ve sendroma neden olan kromozomal anomali tespit edilmektedir. Bu çalışmada; Amacımız Down sendromlu çocuklarda TAS, TOS değerlendirilmesi ve DNA hasarı olup olmadığını, varsa anlamlı olup olmadığını araştırmaktır. 30'u kontrol 30'u Down sendromu klinik tanısı almış olan toplam 60 kişinin DNA hasarı, total oksidan ve antioksidan durumunun değerlendirilmesi hedeflenmiştir.

Sonuç olarak Oksidatif stres vücut üzerinde proteinler, lipitler, karbonhidratlar, nükleik asitler ve DNA üzerinde etkili olmaktadır. DNA üzerinde meydana gelen hasar hücre disfonksiyonunu ve hücre ölümünü meydana getirir. Down sendromlu hasta grubu ve kontrol gruplarında demografik özellikleri ele alınarak incelendiğinde istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmayan çalışmalar yapılmıştır. Çalışmamızda ise down sendromlu hasta grubu ile kontrol grubu karşılaştırıldığında; Down sendromlu grubunun Toplam Antioksidan Status (TAS), Toplam Oksidan Status (TOS) ve Oksidatif Stres İndex (OSİ) düzeyleri kontrol grubuna göre yüksek olmasına karşın istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır. Ancak Toplam Antioksidan Status (TAS)'un p değeri, Toplam Oksidan Status (TOS) ve Oksidatif Stres İndex (OSİ) düzeylerindeki p değerinden yüksek çıkmıştır. Bunu nedeni olarak ailelerin sosyo-ekonomik düzeyleri, down sendromlu çocukların bağışıklık düzeyinin düşük olması, konjenital kalp hastalıklarının olması ve kronik başka hastalıklarının olmasıyla ilişkilendirilebilir. Yapmış olduğumuz bu çalışmada istatistiksel olarak kontrol grubu ile anlamlı farklılık tespit etmemiş olsak da bu konuda daha çok çalışmaya ihtiyaç olduğunu düşünmekteyiz.

Anahtar Kelimeler: Down Sendromu, DNA Hasarı, Oksidatif ve Antioksidatif Stres

ABSTRACT

SITUATION ASSESSMENT OF DNA DAMAGE TOTAL OXIDANT AND ANTIOXIDANT IN CHILDREN WITH DOWN SYNDROME

Hatice Yıldırım

Biochemistry Master Thesis

Down syndrome (trisomy 21, or trisomy 6), being a chromosomal disease caused by having all or extra piece of 21th Chromosome, prevails among 1/700 in live births. Down syndrome, defined as mental and development disorders seen in post-natal period and atypical facade construction characteristics, is verified accurately with cytogenetic karyotype analysis and chromosomal anomaly which causes the syndrome, is identified. It is aimed to evaluate the DNA damage, total oxidant and anti-oxidant of 60 people which contains a control group of 30 people and an experimental group of 30 people with Down syndrome, and a total number of 60 features were analyzed. Oxidative Anti-oxidative Stress becomes effective on proteins, lipids, carbohydrates, nucleic acids on the body and DNA. Damage taken place on DNA generates cell dysfunction and cell death.

When Down syndrome group and control group are examined with the demographical features, statistically significant difference couldn't be found. In the study in which statistically significant difference couldn't be found, when Down syndrome patient group is compared to control group although Down syndrome group's levels of Total Antioxidant Status (TAS) Total Oxidant Status (TOS) levels were found to be higher than the control groups, any statistically significant difference was not found. However, P rate of Total Antioxidant Status (TAS) was found higher than P rates of Total Oxidant Status (TOS) and Oxidative Stress Index levels. The cause of this can be correlated with parents' socio-economic levels, low immunity levels of children with Down syndrome, having congenital cardiac diseases and other chronic diseases. In this study, even if statistically significant difference couldn't be confirmed with control group, a further study is required on this subject.

Keywords: Down syndrome , DNA damaged. Oxidative antioxidant stress

TEŞEKKÜR

Harran Üniversitesi Tıp Fakóltesi Biyokimya Anabilim Dalı'nda eğitimim süresince benden hiçbir konuda desteğini esirgemeyen, beni bu çalışmaya teşvik edip yönlendiren değerli danışman hocam ve Biyokimya Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Nurten AKSOY'a teşekkür ederim. Ayrıca benimle tecrübe ve birikimini paylaşan, benden yardımlarını esirgemeyen Öğr. Gör. Abdullah TAŐKIN'a, Mehmet DOĖAN'a teşekkür ederim. Ayrıca sevgili mesai arkadaşlarım Uzm. Dr. Ali EYNALLI, Osman CANPOLAT ve Halil GÜLER'e teşekkür ederim. Tez çalışmalarımdaki yardım ve desteklerinden dolayı laboratuvar çalışmalarım esnasında yardımlarını esirgemeyen Biyokimya Anabilim Dalı çalışanlarına gönülden teşekkür ederim. Bu tezin yapılmasında maddi destek sağlayan Harran Üniversitesi Bilimsel Akademik Kurulu Kurumuna teşekkür ederim.

Bütün eğitim hayatım boyunca maddi ve manevi desteğini esirgemeyen sevgili aileme teőekkürlerimi sunarım.

Hatice YILDIRIM

2013

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Down sendromu (DS), 21. kromozomun fazladan bir kromozom ya da parça içermesinden kaynaklanan, bireylerin mental ve motor gelişimlerini etkileyen kromozomal bozuklukların en sık görülenidir (1-3). DS'da gelişim geriliği en belirgin olarak, motor, kognitif ve dil gelişimlerinde görülmektedir. Bu sorunlar öğrenme bozuklukları ile birlikte DS'lu çocuklarda karmaşık tablolar oluşturarak bağımsızlığı etkiler (4). DS'lu bireylerin kaba ve ince motor becerilerinin sağlıklı bireylere kıyasla geri olduğu ve gelişimlerinin yavaş olduğu bilinmektedir (5). İlk aylarda ince motor gelişim, kaba motor gelişime paralel gelişir. İlerleyen yaşla birlikte ince motor becerilerdeki gerilik daha belirginleşir. İnce motor beceri gelişim için, stabilizasyon, koordinasyon ve duyu algılarının koordineli bir şekilde gelişmesi gerekmektedir. DS'nun tipik özelliklerinden olan mental gerilik, öğrenme bozuklukları ve bilgi kullanma bozuklukları gibi durumlar ince motor becerilerin gelişimini olumsuz etkiler (6). Motor gelişimin geri olması, bireylerin eğitimini, sosyal ilişkilerini olumsuz etkiler (7). DS'lu bireylerin kaba ve ince motor becerilerinde gelişim sağlanması, günlük yaşamda bağımsızlık kazanmaları açısından önem taşır (6). İnce motor becerilerin gelişmesi, kişisel bakım, akademik beceriler, beslenme gibi alanlarda çocukların bağımsızlığının artmasına ve ailelere olan ihtiyacın azalmasına katkıda bulunması açısından önem taşımaktadır.

Bu araştırmanın amacı 18 yaş altı down sendromlu çocuklarda DNA hasarı ve total oksidan antioksidan durumun değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Amaç Down sendromlu çocuklarda TAS,TOS değerlendirilmesi ve DNA hasarı olup olmadığını, varsa anlamlı olup olmadığını araştırmaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Tarihçe

Down Sendromuna ait bilinen en eski gösterge 1505 yılında Almanya'nın Aachen şehrinde yapıldığı düşünülen ve DS'lu bireylerin tipik dış görünüşlerini gösteren bir kabartmaya aittir. İlk klinik tanımlama ise 1866 yılında John Langdon Down tarafından yapılmıştır (1). Down " Observations on an ethnic classification of idiots" isimli makalede özellikle yüzdeki dismorfik bulguları ile mongol ırkına benzeyen mental retarde bireylerden bahsetmiştir (8). 1876 yılında Fraser ve Mitchell tarafından konjenital bir hastalık olduğu bildirilmiştir. Daha sonra Shuttleworth 1909 yılında DS'nin ileri anne yaşı ile arasındaki ilişkiyi saptamıştır (9). Takip eden yıllarda 25 yaş altı gebeliklerde DS görülme tehlikesi düşükken, 40 yaş üzeri gebeliklerde 1:100 olduğu belirtilmiştir (10). Tijo ve Levan'nın 1956'da normal insan diploid kromozom sayısının 46 olduğunu göstermesinin ardından Lefenue Down Sendromlu bireylerde fazladan bir kromozomun olduğunu göstermiştir (11-12).

2.2. Etiyoloji

Down Sendromu, tüm etnik grupları içine alan değerlendirmede yaklaşık olarak 1:700 ila 1:800 oranında görülür ve dünyada her yıl 6000 DS'li çocuk doğduğu bildirilmektedir (1-13). Down Sendromunun etiyojisi ile ilgili yapılan çalışmalarda ileri anne yaşı, önceki çocuklarda DS ya da farklı bir kromozomal hastalık öyküsü, annede dengeli translokasyon varlığı, anne-babada kromozomal bozukluk oluşu ile doğru orantılı istatistiksel ilişki saptanmışken; ilaçlar, toksinler, vitamin eksiklikleri, hormonal ya da viral sebepler ve sigara kullanımı ile ilgili anlamlı bir ilişki bulunmamıştır (14-15). Her kadın kromozom defektli bebek doğurma riskine sahiptir. Bu risk bazı faktörlere bağlı olarak kişiye özgüdür. Anne yaşı, gebelik haftası ve kromozom defektli öyküsünü içeren unsurlar kişiye özgü temel riski oluşturur. Gebeliğin farklı dönemlerinde yapılan tarama testleri ile ortaya çıkan yeni risk

unsurları bu temel risk ile çarpılarak son risk hesaplanır (9). Anne yaşı 1970'lerden beri yaygın olarak kullanılan bir tarama yöntemidir (16).

DS görülme sıklığı çalışmaları 30-40 yaş grubundaki kadınlarda DS riskini $1/880$, 35-40 yaş grubundaki kadınlarda ise bu değerin 4 kat fazla olduğunu göstermiştir. 35 yaşında 16 haftalık gebe bir kadın için $1:300$ olan risk, 45 yaşında ve aynı haftalık hamile bir kadın için $1:22$ 'ye kadar yükselmektedir (17). DS'li bebeklerin % 70'inin 35 yaşın altındaki annelere ait olmasına rağmen, anne yaşı dünyada halen yaygın olarak kullanılan tarama testidir. 35 yaş eşik değeri alındığında toplumlar arasında farklılık görülmekle birlikte gebe popülasyonunun % 5-10'unu riskli grup oluşturacaktır ve bu gruba amniyosentez önerilecektir. Anne yaşı kullanılarak yapılan taramada DS saptama oranı % 30'dur (9). Morris ve arkadaşları DS'li bebek sahibi olma riskinin 40 yaşındaki bir kadın için, 25 yaşındaki bir kadından 16 kat fazla olduğunu bildirmiştir (18). Başka bir çalışmada Morris DS'li bebek sahibi olan anne yaşlarının ortalamasının 1989-90 yıllarında 30.6 iken, 2007-8 yıllarında 34.4 yaşa çıktığını göstermiş ve artmış anne yaşının 1989-91 ve 2005-2007 yıllarında görülen DS sıklığı üzerinde % 48'lik bir artışa sebep olduğunu göstermiştir (9). Baba yaşının ise anlamlı bir etkisinin olmadığı bildirilmiştir(19). Risk anne yaşına bağlı olarak artarken gebelik yaşına bağlı olarak azalır; çünkü etkilenmiş olan fetüslerin % 31'i 10. gebelik haftasından terme kadar, % 18'i ise 16. gebelik haftasından terme kadar geçen süre içinde kaybedilecektir.(9-20). Örnek olarak; 20 yaşındaki bir kadında Down Sendromlu bebek sahibi olma riski, gebeliğin 12.haftasında $1/1068$, 16. haftasında $1/1200$, 20. haftasında $1/1295$ ve doğumda $1/1527$ iken 45 yaşındaki bir kadında bu değerler sırası ile $1/16$, $1/18$, $1/19$ ve $1/23$ 'tür (9).

2.3. Tıbbi Tanı

Doğum öncesi tanı amaçlı ilk amniyosentez 1966 yılında yapılmış ve trizomi 21,1969 yılında bulunmuştur. Bugün hamileliğin 14-16. haftaları arasında amniyosentez materyalinden yapılan kromozom analizi DS'nun kesin tanı yöntemidir. Ayrıca koriyonik villus örnekleme,

hamileliğin daha erken dönemlerinde yapılarak DS'nun tanısının daha erken konulabilmesinde kullanılmaktadır (17). Amniyosentez ve koriyonik villus örnekleme invaziv tetkikler olduğundan enfeksiyon, kanama ve düşük riski taşır (21). Bu nedenle daha genç yaştaki gebeliklerde anne serumunda biyokimyasal işaretleyiciler ve ultrasonografi uygulaması DS taraması için yeterlidir. Anne serumunda alfa fetoprotein ve konjüge östriol düzeylerinin düşük, insan koriyonik gonadotrin düzeyinin yüksek oluşu ve ultrasonografide fetal ense kalınlığında artış saptanması DS için risk göstergeleridir. Riskin arttığı gebeliklerde fetal koryotipleme önerilmelidir (22). Ense kalınlığının, anne yaşının ve maternal serumun serbest insan koriyonik gonadotrin ve alfa fetoprotein düzeyleri birlikte değerlendirildiğinde DS saptama oranını % 5 yalancı pozitiflikle % 90'a yükseltir (9-23).

2.4. Tipleri

Down sendromu 21. kromozomun bir segmentinin veya tümünün trizomisi sonucu oluşur (24) DS olgularının % 95'i serbest trizomi, % 4'ü Robertsonian tipinde translokasyon, % 1'i ise mozaik yapıdadır (22).

2.4.1. Trizomi 21

Toplam kromozom sayısı 47 olup 3 tane 21. kromozom vardır. Bu durumun, % 86'sı annedeki mayoz bölünme hatasından, % 9'u babadaki mayoz bölünme hatasından ve % 5'i mitoz bölünme hatasından kaynaklandığı bildirilmiştir (25). 21. kromozomdaki bozukluk birçok organ sisteminde sorunlara neden olur (13).

2.4.2. Translokasyon Tipi

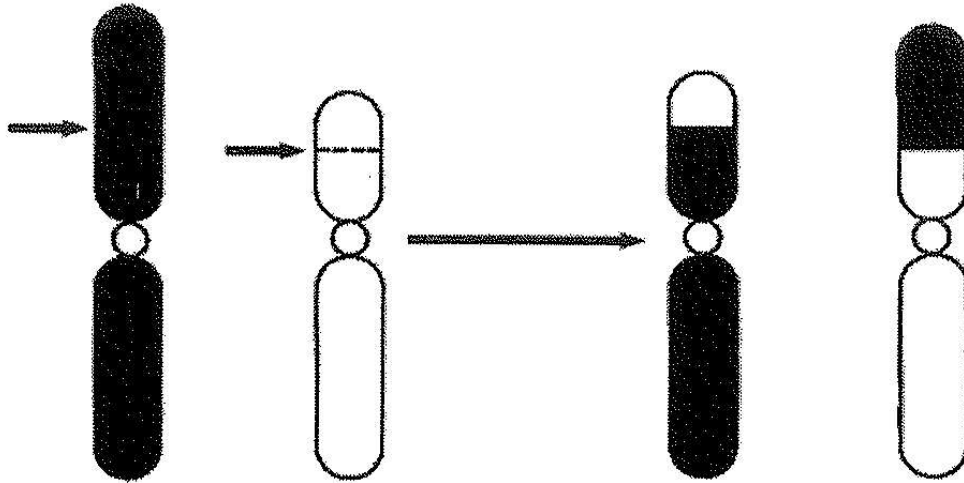
Kırılma gösteren heterolog iki kromozomdan birinin kırılan parçasının, diğer kromozomun kırılan parçasının üzerine yapışmasına translokasyon denir. Translokasyon tipinde toplam kromozom sayısı 46'dır. Ancak serbest durumda bulunan 21. kromozoma ek olarak, 14. kromozom, 21. kromozom ve nadiren 22. kromozoma transloke olmuş bir 21. kromozom bulunmaktadır. En sık rastlanan translokasyon, 14q ve 21q arasındadır. Bu tip vakaların % 90'ında gametogenez sırasında de novo oluşur. Bu durumda anne veya babanın

karyotipi normal olduğundan yineleme riski önemli oranda artmamıştır. Vakaların % 10'unda ise anne-babadan biri translöke kromozomu dengeli olarak taşıyordur. Bu durumda yineleme riski önemli oranda artar (13-22).

Translokasyon tipinin belirlenmesi açısından DS'lu çocuklara kromozom testlerinin yapılması önemlidir, çünkü translokasyon tipindeki çocukların 1/3'ünün anne ya da babalarında 21. kromozom translokasyonu gözlenmiştir. Serbest Trizomi 21 tipinde, ikinci çocukta DS görülme riski ileri anne yaşı ile bağlantılıyken translokasyon tipinde ikinci çocuğun DS'li olma riski, eğer taşıyıcı olan anne ise 1:8, baba ise 1:40 oranındadır. Erkeklerde daha seyrek görülmesi sperm sayısının çok fazla olmasından kaynaklanmaktadır (1).

Translokasyonlar üç grup içerisinde incelenebilir;

2.4.2.1. Karşılıklı translokasyon: Bir kırılma sonucu, homolog ya da homolog olmayan kromozomlardan kopan parçaların karşılıklı yer değiştirmesine denir (Şekil 1).



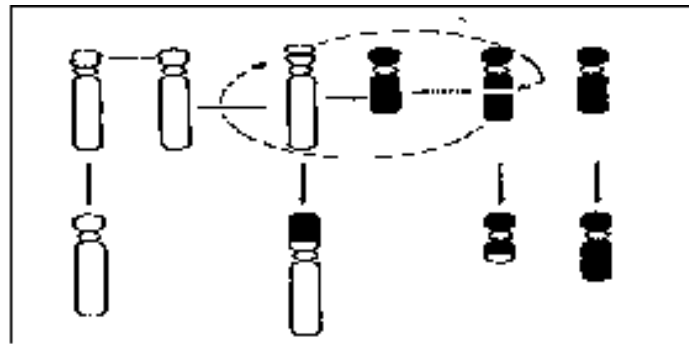
Şekil 1. Karşılıklı yer değiştirme olgusunun şematik açıklanması (133).

2.4.2.2. Sentrik Kaynaşma Tipi Translokasyon: Kromozomlardan birinde sentromere yakın kısa kolunda, diğesinde ise yine sentromere yakın fakat uzun kolunda birer kırılma olması ve bu kromozomların uzun ve kısa kollarının birleşmesi sonucu oluşur. Ancak, ortaya çıkan bu

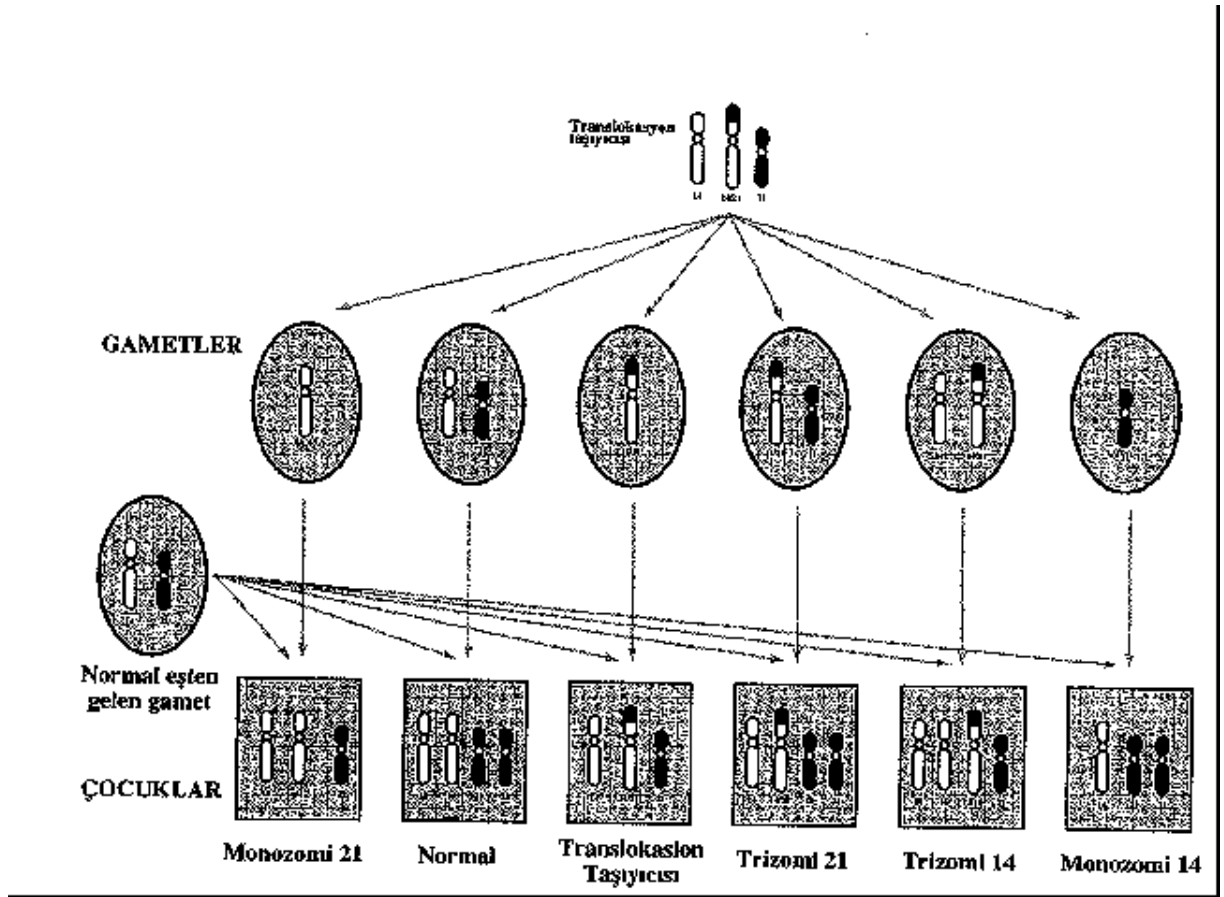
anormal kromozomlardan küçük olanı çoğunlukla bir sonraki bölünmede dejenere olarak kaybolup gider (Şekil 2). Bu translokasyona **Robertsonian tipi translokasyon** da denmektedir.

Gerek resiprokal translokasyonda gerekse sentrik kaynaşma tipinde, translokasyonun oluşmasını sağlayan kırılmalar büyük bir parça kaybına neden olmamaktadır. Dolayısıyla kişide fazla bir gen kaybı olmayacak ve böyle bir kromozom taşıyan kişinin, genetik yapısında ve fenotipinde bir değişiklik görülmeyecektir. Böyle translokasyonlara dengeli translokasyon (balanced translocation), bu translokasyon kromozomu taşıyan kişiye de dengeli translokasyon taşıyıcısı denir.

14 ve 21 numaralı kromozomların uzun kollarının birleşmesi sonucu ortaya çıkan 14/21 dengeli translokasyon kromozomu taşıyan bir kadın olgu incelenecek olursa; bu olgu gerekli tüm kalıtsal maddeyi hücrelerinde normalden değişik olarak, fakat eksiksiz taşıdığı için fenotipik bakımdan normal olur. Böyle bir olgunun karyotipi şöyle yazılabilir: 45, XX, -14, -21, +t(14q21q). Bu olgu 6 tür yumurta hücresi oluşturabilir ve eğer bu yumurta hücreleri normal eşin normal spermiumları ile birleşecek olursa kromozom kuruluşları bakımından değişik 6 tür çocuk doğabilir .

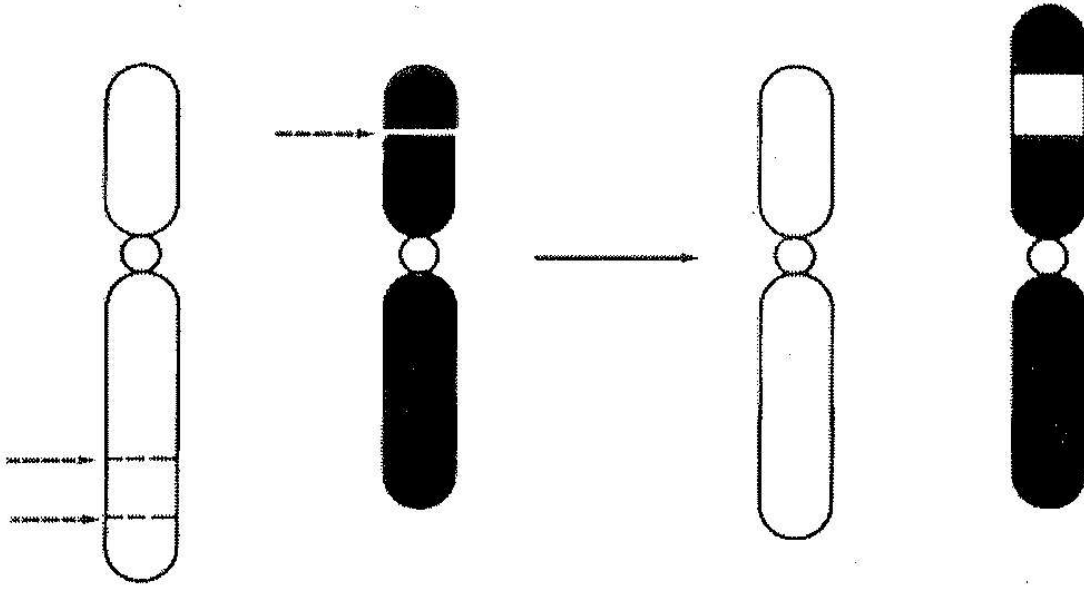


Şekil 2. Sentrik kaynaşma tipi translokasyonun oluş mekanizması ve 14/21 translokasyonu (133).



Şekil.3. Dengeli translokasyon taşıyıcısı bir kadının verebileceği gametler ve normal erkekle evliliğinden doğacak çocukların olası genotipleri (133).

2.4.2.3. İnsersiyonel translokasyon ya da transpozisyon: Homolog olmayan iki kromozomdan birinde iki noktada, diğerinde ise bir noktada kırılma olur. İki kırılma olan kromozomdaki parça tek kırılma olan kromozoma gider ve kaynaşır. Bu tür dengeli kromozom taşıyıcıları sağlıklı olurlar, fakat çocuklarına artma ya da eksilme gösteren kromozomlarını aktarabilirler ve onların kromozom anomalisi göstermelerine neden olabilirler (133) (Şekil 5).



Şekil 4. Transpozisyon tipi yer değiştirme (133).

2.4.3. Eksilme (Deletion)

Bir kırılma sonucu kromozomun bir kısmının kaybolmasına denir. Delesyonlar terminal veya interstisyel olabilir; ya bir darbe sonucu kırılan kromozom parçası kopar (terminal delesyon) ya da iki darbe sonucu kopan parça aradan çıktıktan sonra iki parça yeniden kaynaşır (interstisyel delesyon). Ancak terminal delesyon pek olası değildir. Çünkü kopan kromozom kolu yapışkan durumda kalır ve yeni bir parçanın buraya eklenmesi beklenir fakat bu delesyondan sonra bir translokasyon görülmez (133).

2.4.4. Artma (Duplikasyon)

Homolog iki kromozomdan birinde çift darbe sonucu kopan parça, diğerinde tek darbe sonucu kopan aralığa girerek kaynaşacak olursa artma ya da duplikasyon olgusu ortaya çıkar. Ancak duplikasyon daha çok mayoz bölünmede görülür ve bir kromozom segmentinin iki kopya halinde bulunmasını anlatır. Mayoz bölünme sırasında bir eşit olmayan krosing over sonucu ortaya çıkar ve mayotik kromozomlardan birisinde duplikasyon varken diğerinde delesyon görülür. Duplikasyonlar translokasyon, inversiyon ya da izokromozomlu eşlerdeki

mayotik olaylar sonucu da ortaya çıkabilir. Duplikasyonlar delesyonlardan daha sık görülmelerine karşın daha az zararlıdır.

Homolog kromozomdaki artmada, gen duplikasyonu olur. Fakat duplikasyon kendini iki tipte gösterir.

Tandem Duplikasyon: Genler ardı ardına dizilmiştir.

Ters Tandem Duplikasyon: Artan parça tersine dönerek yeni yerine eklenmiştir.

2.4.5. Mozaik Tip

Mozaik tipteki DS'lu çocuklarda post zigotik bölünme hatası sonucu normal ve trizomik hücre dizileri (46 XX/ 47 XX + 21) bir arada bulunur (22). Bu çocuklar DS'ye ait tipik özellikleri trizomi 21 veya translokasyon tipindeki kadar belirgin taşımazlar ancak gelişimleri benzerdir (26). Fishler ve arkadaşları Trizomi 21 tipe sahip 30 çocuğu, mozaik tipe sahip 30 çocukla karşılaştırdıkları bir araştırmada, mozaik tip DS'lu çocukların IQ değerlerinin istatistiksel olarak anlamlı yüksek çıktığını (mozaik tipte IQ 64, trizomi 21'de IQ 52) ve mozaik tip DS'lu çocukların dil becerilerinin daha iyi olduğunu bildirmişlerdir (27).

2.5. Klinik Özellikleri

2.5.1. Fenotip

DS'de görülen tipik fenotipik özellikler basık yüzle birlikte mikrobrakiosefali, yukarı doğru çekik palpebral fissürler, epikantik kıvrım, normalden küçük ve şekilsiz kulaklar, küçük ve düz burun, küçük ağız yapısı ve buna bağlı dışarı sarkan dil, yumuşak ve düz saçlar, kısa geniş bir boyun, ensede gevşek deri kıvrımları, kısa ve kalın parmaklar, simian çizgisi, klinodaktili, küçük ayaklar ve tabanlarda görülen oluk, hipotoni, normalden kısa boy ve normalin üzerinde kilodur (13-14-26-28).

2.5.2. Nörolojik Sorunlar

Down Sendromu, bireylerin fiziksel ve zihinsel gelişimlerinde anlamlı geriliğe neden olan bir durumdur (13). Mental gerilik, seviyesi değişmekle birlikte her çocukta görülen önemli bir sorundur (29). Mental gerilik, azalmış motor yeteneğin de önemli sebeplerinden biridir (5).

Hipotoni, tüm olgularda görülen ve gelişimi olumsuz etkileyen diğer bir önemli nörolojik bulgudur (29). Literatürde hipotoni, koordinasyon bozukluğu ve denge kaybı gibi motor bozuklukların nedeninin serebral korteksteki kıvrımların az olması, özellikle serebellum ve frontal lobla ilişkili nöronların myelinizasyonunun yetersiz olmasıyla ilişkili olduğundan söz edilmektedir. DS'de görülen karakteristik motor gelişimle, doğumdan sonra sinaps sayılarının artması arasında doğru bir orantı olduğu düşünülmektedir (5).

Epilepsi, DS'de görülen önemli nörolojik durumlardan biridir. Mc Dermott ve arkadaşları gelişim geriliği olan çocuklarda epilepsi görülme sıklığını % 1 ve DS'da ortalama % 13.6 olarak bildirmiştir (30). Başka bir araştırmada Johannsen ve arkadaşları DS'li çocuklarda epilepsi görülme sıklığını % 8 oranında, yetişkinlerde ise % 24 oranında bildirmişlerdir (31). DS'lu bireylerde epilepsi, bebeklik döneminde ve yaşlılık döneminde en sık görülür (32). Bebeklik döneminde nöbetler sıklıkla infantil spazm tipinde, yaşlılık döneminde ise tonik-klonik kasılma tipinde görülmektedir (14). Trotsenburg ve arkadaşları infantil spazm görülen DS'lu bebeklerin motor ve mental gelişimlerinin daha yavaş olduğunu bildirmişlerdir (33). Literatür incelendiğinde 40 yaş ve üzeri DS'lu yetişkinlerin neredeyse hepsinde yetenek kayıpları ve yapılan MR ve EEG incelemelerinde Alzheimer hastalığının belirtisi olan değişiklikler görülmektedir. Alzheimer hastalığından kaynaklanan klinik demans belirtileri hastalığın son dönemlerinde ortaya çıkar (32). Yapılan beyin otopsilerinde DS'da da Alzheimer hastalığına özgü amiloid plaklar bulunmuştur. Amiloid prekürsör protein genin 21. kromozomda da taşındığı bilinmektedir (34). Literatürde Alzheimer hastalığı ile nöbet

görülme sıklığında anlamlı artış olduğu bildirilmektedir (35). Elli yaşın üzerindeki DS'lu olgularda % 80 oranında nöbet görülür (36).

Çalışmalar DS'lu bireylerde beyin ağırlığının azaldığını, beyin sapı ve serebellumun normalden küçük olduğunu bildirmektedir (5).

2.5.3. Kas – İskelet Sorunları

DS'lu olguların % 10-20'sinde 2. servikal vertebrayla atlas arasında bulunan transvers ligamanda ve atlanto-oksipital eklemden gevşeklik görülür. Atlantoaksiyal instabilitenin kesin tanısı lateral vertebra grafisi ile konulur. Olguların % 1-2'sinde omuriliğe baskı şeklinde belirtiler görülür (37-39). Lateral vertebra grafisinde densin odontoid çıkıntısıyla atlasın anterior arkusu arasındaki uzunluk sağlıklı çocuklarda 4.5 mm, yetişkinlerde 3 mm'den azdır. DS'lu olgularda bu uzunluk, hiçbir belirti vermeden 10 mm olabilmektedir. Ancak 4.5 mm'den daha uzun olduğu belirtilen olguların ani ve zorlayıcı hareketlerden kaçınmaları gerekmektedir (14-40). Msall ve arkadaşları atlantoaksiyal instabilite riskini belirlemek üzere 6 yaşın altında olan DS'lu çocukların nörolojik ve radyolojik olarak değerlendirilmesi gerektiğini belirtmiştir (41).

Ayrıca DS'lu çocuklarda kalça, patella instabilitesi ve düztabanlık sık görülen diğer ortopedik bulgulardır (41).

2.5.4. Kardiak Sorunlar

DS'lu olmayan yenidoğanların yaklaşık % 0.5-1.0'inde görülen konjenital kalp hastalıkları, DS'lu yenidoğanların yaklaşık % 40-50'sinde görülür (13-36-37-42). Kromozomal bozukluklar içinde ilk 2 yılda görülen ölümlerin en önemli sebebidir (13). En sık görülen anomaliler; atrioventriküler septal defekt (% 35-45), interventriküler septal defekt (% 25-35), patent duktus arteriosus (% 7-10), interatrial septal defekt (% 8) ve fallot tetralojisidir (% 4) oranlarındadır (42). Son yıllarda kardiak anomalilerin cerrahi girişimle

düzeltilmesiyle mortalite anlamlı oranda azalmıştır ve uygulanan tedavilerin uzun dönemli prognozları iyi bulunmuştur. Bu nedenle kardiyak anomalilerin erken tanısı çok büyük önem taşımaktadır (44).

2.5.5. Gastrointestinal Sorunlar

Gastrointestinal sorunlar, DS'lu bireylerin % 5-6'sında görülür. En sık görülen sorunlar; duodenal stenoz (% 4), anal stenoz (% 1), Hirschsprung hastalığı (% 1), esofajial atresi (% 0.4) ve pilor stenozudur (% 0.4) (36-43-44). Freeman ve arkadaşları gastrointestinal sorunların görülme sıklığına cinsiyet, ırk, anne yaşı ve konjenital kalp hastalıkları varlığının bir etkisinin olmadığını bildirmişlerdir (44).

2.5.6. Görme Bozuklukları

DS'lu bireylerde ışığı kırma sorunları (% 30-34), strabismus (% 23-37), katarakt (% 11-33) ve keratokonus (% 15) en sık görülen göz sorunlarıdır (32-45-46). DS'lu bireylerde görme bozuklukları ve göz anomalileri ilerleyen yaşla birlikte artar. Literatürde Down sendromlu bireylerde görülen görme bozuklukları 30-39 yaşları arasında % 17.7, 40-49 yaşları arasında % 27.8, 50-59 yaşları arasında % 44.8 olarak bildirilir (45). Görme keskinliğinin, DS'li bireylerde sağlıklı bireylere kıyasla daha kötü olduğu bilinmektedir (47).

2.5.7. Büyüme-Gelişme Sorunları

DS'lu çocuklar düşük bir büyüme hızı gösterirler (1). Hipotoni Down sendromunda görülen önemli bir bulgudur. Yürümeyi, koşmayı, dengeyi olumsuz etkiler (48). DS'lu çocukların çoğu ayakta durmayı, yürümeyi 18 ay-3 yaş arası öğrenir (49). Çocukluk çağında ve erken gençlik döneminde DS'lu bireylerin % 50'si obezitesorunu ile karşılaşır (36). Literatürde erkeklerin % 45-79'u, kadınların % 56-96'sı aşırı kilolu olarak belirtilmektedir (50-52). Ancak Praser, 201 DS'lu olgu ile yaptığı bir çalışmada erkeklerin % 31'inin aşırı

kilolu (BMI 25 - 29), % 48'inin obez (BMI>30); kadınların ise % 22'sinin aşırı kilolu, % 47'sinin obez olduğunu bildirmektedir (51). Ayrıca Rubin ve arkadaşları kilo artışının 30 yaşa kadar devam ettiğini, 31-70 yaş arası yavaşladığını ve azalmaya başladığını bildirmiştir (52).

2.5.8. Malignite

DS'lu bireylerin yaklaşık % 3'ünde akut lenfositik lösemi (ALL) ve % 5-8'inde akut myeloid megakaryoblastik lösemi (AMKL) görülür(36). DS'lu bireylerde ALL ve AMKL görülme sıklığı genel popülasyona göre 26 kat, diğer kromozom ayrışma bozukluğu görülen bireylere göre 500 kat daha sık görülür (53-54). Literatürde testis kanseri dışında diğer kanser türlerinde anlamlı bir artış olmadığı görülmektedir (55).

2.5.9. Prognoz

Literatür incelendiğinde, 1929 yılında yapılan bir çalışmada DS'lu bireylerin yaşam sürelerinin 9 yıl olarak bildirildiği, 1949 yılında 12 yıl olduğu, 1982 yılında 35 yıla uzadığı, günümüzde ise ortalama 55-60 yıl olduğu görülmektedir (19-36-56-58). Avusturalya'da 1953-2000 yılları arasında 1332 DS'lu bireyin katıldığı bir çalışmada, ortalama yaşam sürelerinin 60 yıl olduğu ve erkeklerin kadınlara göre 3.3 yıl daha uzun yaşadıkları bildirilmektedir (59). Ancak Janicki ve arkadaşları erkekler için ortalama yaşı 54.4 ve kadınlar için ortalama yaşı 57.4 olarak belirtirken, kadınların erkeklerden ortalama 3 yıl daha uzun yaşadıklarını belirtmiştir (57). DS'lu bireylerin kontrollü egzersizler, iyi bir diyet programı, düzenli sağlık kontrolleriyle yaşam sürelerinin ve yaşam kalitelerinin artırılabilceği bildirilmektedir (60). En sık ölüm nedeni olarak literatürde, konjenital kalp hastalıkları, lösemi, sindirim sistemi hastalıkları, demans ve Alzheimer hastalığı bildirilmiştir (53-61-62).

2.6. Down Sendromu ve Gelişim

2.6.1. Mental Gelişim

IDS'lu bireylerde çeşitli derecelerde mental gerilik görülür (5-13-63). Yüzyirmibir DS'lu çocuğun bilişsel becerilerinin değerlendirildiği bir çalışmada; olguların %19'unda hafif, % 30'unda orta, % 33'ünde ağır ve % 18'inde ileri ağır derecelerde mental retardasyon görüldüğü ve yetişkinlerde görülen mental retardasyonun, gençlerde görülen mental retardasyona kıyasla daha ağır olduğu bildirilmiştir (64). Başka bir çalışmada ise kadınlarda görülen zihinsel geriliğin, erkeklere kıyasla daha hafif, öğrenme becerisinin ise daha hızlı olduğu bildirilmiştir (65).

Yapılan çalışmalar incelendiğinde, DS'lu bireylerin IQ değerinin 20-80 arasında olup, ortalama IQ değerinin 50-60 arası olduğu görülmektedir (13-26-67). Yapılan araştırmalarda, erken eğitim alan çocukların okul çağına geldiklerinde yapılan IQ testlerinde, % 20 daha yüksek değer kazandıkları görülmüştür (1). İlk dönemlerde motor gerilik, algısal geriliğe göre daha baskındır ancak okul dönemine gelindiğinde bu durum tersine döner. Erken çocukluk döneminde DS'lu bireyler, hafif mental geriliğe sahip gibi gözükürler ancak ilerleyen dönemlerde mental gerilik daha belirgin hale gelir (IQ 40 - 54) (28). DS'lu bireylerde mental gerilikle ilişkili olarak sözcüklerle ifade etme sorunları, sözdizim bozuklukları, sözcüklerin anlaşılır olmaması ve hız sorunları görülür (68).

Chappman ve Hesketh çocukluk çağında söylenen ve işitilen sözcüklerin hafızada kısa süreli tutulması ile ilgili sorunlar yaşandığını ve ifade edici dil gecikmesinin bilişsel süreçle paralel bir gelişim gösterdiğini bildirmiştir (69). Bilginer, Down sendromlu çocukların doğuştan sahip oldukları hipotoninin motor gelişim üzerinde olduğu gibi dil gelişimi üzerinde de önemli engelleyici rol oynadığını bildirmektedir (70). DS'lu bir çocuğun ilk anlamlı sözcük söyleme yaşı ortalama 23 ay iken iki kelimededen oluşan basit cümle kurma yaşı 2-7 yaş arasındadır (1). Määttä ve arkadaşları konuşma sorunlarını değerlendirdikleri ortalama yaşları 34.1 olan 115 DS'li bireyin % 43'ünün kısa cümle kurabildiğini, % 35'inin basit birkaç kelime söyleyebildiğini ve % 22'sinin konuşamadığını bildirmiştir (64). DS'da görülen

duyusal iletim bozukluğu, öğrenme ve bilişsel gelişimi etkileyen önemli faktörlerden biridir (37-65). Tiepel ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada DS'lu grubun hippokampus yoğunluğunun sağlıklı insanlara göre daha az olduğunu ve korpus kallosum bölgesinin de yoğunluğunun azaldığını ortaya koymuşlardır (71). Raz ve arkadaşları toplam beyin ağırlığı ve kognitif beceriler arasında anlamlı ilişki olmadığını göstermiştir (7).

2.6.2 Psikomotor Gelişim

2.6.2.1 Hipotoni

DS'IU bebeklerde değişen oranlarda ve zaman içerisinde azalan hipotoni, Down sendromuna özgü önemli diğer bir bulgudur ve yaşamın ilk 10 ayında en belirgin olarak görülür (5-66).

Nörolojik gelişimin takip edildiği 97 DS'lu olgunun tamamında hipotoni bulgusu bildirilmiştir. DS'lu 229 olgu ile yapılan bir çalışmada hipotonin eklem ve kaslardaki proprioseptif yapılar üzerine önemli etkisi olduğu; DS'da görülen artmış eklem mobilizasyonunun yaşla birlikte gelişiminin, sağlıklı çocuklardaki eklem mobilizasyon gelişimiyle kıyaslanarak yapılan diğer bir çalışmada ise 5-10 yaş arasında daha belirgin olmak üzere artan yaşla birlikte eklemlerdeki gevşekliğin azaldığı ve bu durumun da hipotoninin azalmasıyla ilişkili olabileceği bildirilmiştir (5). Hipotoninin ayrıca sindirim sistemindeki düz kasları da içine alan tüm kas gruplarını etkilediği; kaba ve ince motor becerilerde sebep olduğu geriliklerin yanında konstipasyon ve özofagiyal reflü gibi sorunların da nedeni olabileceği düşünülmektedir (29).

2.6.2.2 Postüral Kontrol ve Denge

Postüral kontrol, vücudun motor hareketler esnasında koordinasyonundan sorumlu sistemdir. Etkili bir postüral kontrol mekanizması; vücudun proksimal kısımlarının fiksasyonun sağlanmasının yanında, distal hareketlerin düzgün postür ve hareket paternleriyle, kontrollü olarak yapılmasının mümkün kılınmasını sağlar. DS'lu çocuklarda

denge bozuklukları, anormal hareket paternleri gibi hareket bozuklukları görülür. DS'lu çocukların hareket kalitesi, zayıf kas tonusunun bir sonucu olan eklem stabilizasyonu eksikliğinden anlamlı etkilenmiştir. DS'lu çocuklarda motor yeteneklerin gelişmesine bağlı olarak postüral tonus artar (5). Postüral reaksiyonlardaki kas aktivitesinin EMG kullanılarak değerlendirildiği çalışmalarda kas aktivitesi sağlıklı kişilerle kıyaslandığında anlamlı olarak az bulunmuştur (73-74). Haley tarafından motor becerilerin kazanılması ve postüral kontrol ile ilgili 2-24 aylık bebeklerin sağlam çocuklarla kıyaslanarak yapıldığı bir araştırma, postüral kontrolün yaşa bağlı olmadığı ancak motor becerilerin kazanılmasıyla yakından ilişkili olduğu gösterilmiştir (75).

Weber ve arkadaşları gözler açık ve kapalı iken postüral dengeyi ve salınımı değerlendirerek DS'lu grubu sağlıklı grupla kıyaslamışlar ve DS'lu olgularda her iki durumda da postüral kontrolün arttığını ancak gözlerin kapalı ve açık oluşu arasında anlamlı bir fark olmadığını belirtmişlerdir (76). DS'lu çocukların postüral reaksiyon gelişimlerinin belirgin şekilde anormal olduğu ve denge reaksiyonlarındaki eksikliğin yerine, destekleme reaksiyonlarının oldukça hızlı geliştiği öne sürülmektedir (5).

2.6.2.3 Kaba Motor Gelişim

DS'nin tipik bulgularından olan gecikmiş motor gelişmeye, azalmış postüral tonus, yetersiz postüral reaksiyon, hipermobilité ve propriosepsiyon duyu kaybı eşlik eder (5). DS'lu bireylerin motor gelişimleri üzerinde hipotoniye ilave eklem laksitesi, kısa ekstremite ve azalmış güç, mental gelişim, sosyal gelişim ve genel sağlık sorunlarının yavaşlatıcı etkisi görülür (5-77). Konjenital kalp hastalıkları ya da görme bozuklukları gibi sağlık problemlerinin de motor becerilerin gelişimini, bilişsel ve sosyal gelişimi etkilediği belirtilmiştir (5).

Çeşitli araştırmacılar DS'lu çocukların, karakteristik motor beceri engellerini araştırmışlardır. Yapılan bir çalışmada azalmış postüral kas tonusunun etkileri, yetersiz

postüral reaksiyonlar, propiosepsiyon sorunları belirtilmiştir (5). Bebeklik döneminde motor gelişim, mental gelişime kıyasla daha baskındır. Yaşları 0-2 arası değişen 47 DS'lu çocukla yapılan bir çalışmada mental yaşın kronolojik yaşa yakın olduğu ancak motor yaşın kronolojik yaşa göre istatistiksel olarak geri olduğunu bildirilmiştir. Bayley motor ve mental gelişim skalası uygulanarak, 6-10 aylık DS'lu çocuklar ile yapılan bir araştırma sonucunda, bu dönemdeki motor geriliğin mental gerilikten daha baskın olduğu belirtilmiştir (5).

Zeka seviyesi bağımsız yürüme yaşını etkileyen önemli bir faktördür (78). Zihinsel engel, sıklıkla motor becerilerin gelişiminde sapmalar ve böylelikle düşük seviyedeki motor beceriyi beraberinde getirir. Buna ilişkin iki olasılığın altını çizilmiştir. Azalan keşifsel davranışlar hareket isteksizliğine neden olabilir ve motor becerilerin gecikmesinde rol oynayabilir. Motor beceri gelişim aktiviteleri sırasındaki hızın belirgin şekilde daha yavaş olduğu belirtilmektedir. Ancak sıralama, normal çocuklardaki motor becerilerinin gelişimine kıyasla aynıdır ve bundan dolayı gelişim gecikmesi olarak sonuçlanmaktadır (5). Kaminer ve Jedrysek 200 mental geriliği olan olgu ile yaptığı bir çalışmada bağımsız yürüme üst yaşını 30-60 ay olarak belirtmiştir (78). Palisano ve arkadaşları 132 DS'lu olgu ile yaptıkları çalışmada DS'lu çocukların ortalama 18 ay-3 yaş arası ayakta durabildiklerini ve yürüyebildiklerini, 3-6 yaş arası koşabildiklerini, bağımsız merdiven inip çıkabildiklerini ve zıplayabildiklerini bildirmişlerdir. DS'lu çocukların % 14'ünün 18. ayda, % 40'ının 24. ayda, % 78'inin 30. ayda yürüyebildiklerini belirtmiştir (49).

DS'lu çocuklarda, motor becerilerin gelişimi sırasında anormal hareket paternleri görülmektedir. 104 DS'lu olgunun kaba motor becerilerinde görülen hareket paternlerinin ve postürlerinin incelendiği bir çalışmada oturma pozisyonunda % 46.1 olguda anormal hareket paterni, yürüyebilen % 70 olgunun % 34.7'sinde anormal yürüme paterni bulunmuştur. Yaşları 10-16 arası değişen 99 DS'lu olgu ile yapılan bir çalışmada, tüm olgularda denge kaybı olduğu belirtilmiştir (5).

2.6.2.4 İnce Motor Gelişim

Yenidoğan DS’lu bebekler sağlıklı çocuklar gibi, birkaç ay içerisinde iki ellerini birleştirirler, ancak kazanımlarındaki kontrolleri zayıftır ve ellerini ağızlarına götürmekte zorlanırlar. On iki ayın sonuna geldiklerinde, nesnelere iki elleriyle tutabilirler, elden ele geçirebilirler. Yirmi dördüncü aylara geldiklerinde, “çengel tutuş”la küçük nesnelere tutabilir, atabilir ve işaret parmaklarıyla nesnelere gösterebilirler. Nesnelere birbirine veya duvara vurarak ses çıkarabilir, oyuncağın eksik parçasını arayabilirler. Yirmi dördüncü ayın sonunda ellerindeki hassasiyetin ve algının artmasıyla, nesnelere ağızına götürmezler ve elin propriyoseptif duygusu gelişmeye başlar (6). Otuzaltıncı ayda oyuncaklardan kule yapabilir, bir kaptan diğer kaba suyu dökmeyi boşaltabilirler. Üçüncü yaşın sonunda düz bir çizgiyi kopyalayabilirler, sayfa çevirebilirler. Dördüncü yaşa geldiklerinde ipe boncuk dizebilir, yüksek kuleler yapabilir, 5. yaşta çember çizebilir seviyeye gelirler. On yaşına gelmiş DS’lu bir çocuk, düzgün bir insan resmi çizebilir. Kağıt katlama, ipe boncuk dizme gibi beceriler bu yaşlarda düzgün hale gelir. On-on iki yaş arasında daha zor ve karmaşık şekiller çizilebilir, birkaç harf ve birkaç kelime rahatlıkla tanınır ve yazılabilir (1). 5-8 yaş arasında giyinme gibi günlük yaşam becerileri gelişmeye başlar. Bu becerilerin gelişmesi için eller, parmaklar, omuzlardaki kasların gücü ve koordinasyonu artar. Bu yaştan sonra top oynamaktan daha keyif alınır, 9-12 yaş arasında hareketlerin hızı artar. Bilgisayar oyunları oynama ve müzik aleti çalma becerisi gelişir (6). İlk aylarda kaba motor gelişim, ince motor gelişimle paralel gelişir. İnce motor beceri gelişimi için, stabilizasyon, bilateral koordinasyon ve duyu algılarının koordineli bir şekilde gelişmesi gerekmektedir. İnce motor becerilerin gelişimi için, vücut, omuz ve el stabilizasyonunun gelişmesi gerekmektedir. Boyama ya da ipe boncuk dizme gibi karışık bir becerinin yapılabilmesi için, aynı anda hem hareket, hem de iyi bir el stabilizasyonu gerekmektedir. Uygun bir el stabilizasyonu için de öncelikli olarak iyi bir omuz ve gövde stabilizasyonunun kazanılmış olması çok önemlidir. Ayrıca propriyosepsiyon duygusu çok önem taşımaktadır (6). DS’lu çocukların oturma dengesini geç kazanmalarının, ince motor beceriler üzerinde olumsuz etkileri olduğu bildirilmektedir. Çünkü oturma

pozisyonunda bir el ile destek alma ihtiyacı olduğundan, sadece bir el ile nesnelere uzanır, nesnelere kavrar ve oyun oynarlar. Oturma pozisyonu oyun oynamayı tetikleyecek birincil postürdür. Denge sağlamak üzere bir elden destek alma durumunun, el tercih etmeye de etkisi olabileceği belirtilmektedir. Oturma pozisyonu yüzyüze iletişim kurmayı sağladığından erken kazanılması önemlidir.

DS'lu çocuklarda görülen hipotoni, ince motor becerilerin gecikmesinin önemli bir sebebidir. Kol ve el kaslarında görülen hipotoni, nesnelere tutmak, büyük bir düğmeye basmak gibi basit eylemleri dahi zorlaştırır. Ayrıca DS'lu bireylerin sahip oldukları küçük el ve küçük parmaklar, büyük nesnelere kavranması ve tutulmasının yanısıra, gitar çalmak, bilgisayar kullanmak gibi koordinasyon ve beceri gerektiren aktivitelerin yapılmasını da zorlaştırabilir. DS'lu çocukların el kemiklerinin gelişimi, genellikle ergenlik döneminde tamamlanır. Bu durum da özellikle DS'lu bebekler ve çocuklarda, elde stabilizasyon sorunlarına yol açar. Klinodaktili ve simian çizsinin ise ince motor beceriler üzerinde bir etkisi olmadığı bilinmektedir. DS'lu çocuklarda yavaş gelişen sinir sistemi, eldeki duyu gelişimini de yavaşlatır, bundan dolayı DS'lu çocuklar ellerini daha uzun süre ağızlarına götürürler. Bazı araştırmalarda duyu-motor ileti sorunlarına bağlı olarak, DS'lu çocukların nesnelere tutma sırasında gereğinden fazla güç harcadıkları ve nesnelere ağırlık, doku gibi özelliklerinin algılanmasında sorun yaşadıkları bildirilmiştir (6). DS'lu çocuğun el kullanımı, bilişsel becerileriyle yakından ilgilidir. DS'lu çocuklar ince motor becerilerini edinmek için, sözlü ve görsel uyarana ve motive edilmeye ihtiyaç duyarlar (6). DS'lu bireylerin büyümesi ve gelişimi devam eder ancak, beceri gerektiren işleri yapmakta yaşlarına göre zorlanırlar (7). İnce motor becerilerin gelişimi, akademik becerilerin, günlük yaşamdaki becerilerin, kişisel bakım ve temizliğin sağlanması için önemlidir. Akademik becerilerin gelişimi için, kalem tutma, karalama, çizgi çizme ve yazı yazma gibi kazanımlar önemlidir. Günlük yaşamda yemek yemek üzere çatal-kaşık tutma ve çatal-kaşığın ağza doğru şekilde götürülmesi, sıcak içecekleri içme; giyinme, düğme ilikleme, fermuar açıp kapatma, ayakkabı

bağcığı bağlama gibi becerilerin kazanılması kişisel bakım için ise, diş fırçalama, tırnak kesme gibi yeteneklerin kazanılması; aileye olan bağımlılığın azalması ve dolayısıyla bağımsızlık kazanılması açısından önem taşımaktadır.

2.7.Down Sendromunda Sitogenetik Çeşitlilik

Trizomi 21 (47, XX ya da XY,+21): G grubundaki 21 numaralı kromozomun iki yerine üç tane bulunması sonucu ortaya çıkan bu düzensizliğe klasik trizomi 21, klasik mongolizm, primer mongolizm, standart mongolizm, regüler mongolizm, G21 trizomisi, mutant trizomi 21 ya da mutant mongolizm de denmektedir. Şekil de oluş mekanizması ve türleri gösterilen regüler trizomi 21 büyük çoğunlukla (%85) maternal mayozdaki kusurdan kaynaklanır. Bu olgu, anne yaşı ilerledikçe kendini daha çok gösterir. Çünkü anne yaşının önemi çifter çifter yan yana gelmiş kromozomların oogoniumdaki özel durumundan ileri gelir. Diakinez evresindeki çevresel (radyasyon, kimyasal mutajenler, enfeksiyon etkenleri, anormal metabolik etkenler ya da kalıtsal etkenler, kromozomların normal dağılmasını önler. Genellikle mayoz I (%80), bazen de mayoz II deki kromozom ayrılmaması ya da anafazda geri kalma sonucu maternal yaşa bağlı trizomi 21 olguları oluşmaktadır. Down sendromlu hastalardaki fazla kromozomun % 85 kadarı anne kökenli, % 15 kadarı da baba kökenlidir. Fakat yaşa bağlı trizomi 21 de, paternal kromozom ayrılamamasının da sorumlu olabileceği henüz gösterilememiştir. Anne yaşının ileri kutuplara çekilme gücünde azalmaya neden olduğu sanılmaktadır. Eğer çifte kromozom ayrılamaması olursa, bazen Klinefelter sendromu Down sendromuna eşlik edebilir (%0,25). Mayoz bölünmedeki kromozom ayrılamaması otozomlardan hangi kromozomu tutarsa tutsun iki tür ovum ortaya çıkar: Birinde iki tür kromozom varken diğerinde bu kromozomdan, örneğin 21 numaralı kromozomdan hiç bulunmaz. Birinci yumurta ya da dizomik yumurta normal spermiumla birleştiği zaman klasik 21 trizomili çocuk doğarken, ikinci tür yumurta ile oluşan çocuklarda ilgili kromozom bir eksiktir ve karyotipte 45 kromozom bulunur. Bunlar genellikle yaşamazlar (133).

2.8. Literatür Özetleri

Down sendromu (trisomy 21) 21. kromozomun tamamının veya bir parçasının ekstrasından bulunmasının sebep olduğu kromozomal bir hastalık olup, canlı doğumların 1/700'inde rastlanmaktadır. Doğum sonrasında görülen mental ve gelişim bozuklukları ve atipik yüz yapısı gibi karakteristik anomalilerle tanımlanan Down sendromu, sitogenetik karyotip analiziyle kesin olarak doğrulanmakta ve sendroma neden olan kromozomal anomali tespit edilmektedir. Down sendromu ön tanısı almış ya da tanısı konmuş olgularla ilgili ülkemizde ve yurtdışında çok sayıda çalışma yapılmış ve çalışmalar sonucu çeşitli kromozomal düzensizlikler ortaya konmuştur. Down Sendromu, dismorfik yüz özellikleri ve farklı özel fenotipi ile klinik olarak kolay tanımlanabilir olmasına rağmen, tanının olguların tümünde konulamadığı, bu nedenle kesin tanı için kromozom analizinin gerekli olduğu bildirilmiştir. Down sendromlu hastaların bazı klinik tanısında görülen farklılıklarda olduğu gibi bu hastaların genetik kökenlerinde de (sitogenetik çeşitlilik) farklılıklar bulunmaktadır. Örneğin yapılan bir çalışmada Down sendromlu olguların 432'sinde (%94.7) regüler tip, 14'ünde (%3.1) translokasyon tipi [8 t(14;21), 6 t(21;21)], 4'ünde (%0.9) mozaik tipi ve 6'sında (%1.3) inv (9) ile asosiyel regüler tip Down sendromu karyotipi saptanmıştır. Ayrıca 14/21 tipi translokasyonların 4'ünün (%50.0) ailesel, diğer 14/21 ve 21/21 tipi translokasyonların de novo olduğu aynı kişiler tarafından belirlenmiştir. Benzer şekilde Yüce ve ark. (2006) yaptıkları çalışmalarında 167 olguyu değerlendirmeye almışlardır. Olguların 162'si (%97) klasik tip Down sendromu gösterirken, 2 olgu (%1.1) mozaik, 3 olgu (%1.7) translokasyon tipi Down sendromudur. Translokasyon tipi 1 olguda t(21;21), 2 olguda t(14;21) şeklindedir. Ortalama anne yaşı 34.04 olarak bildirilmiştir. Olguların %51.5 (86) yaş <35 ve %48.5' inde >35 olarak tespit edilmiştir. Chandra ve ark. 1020 Down sendromlu olgu üzerinde çalışmışlardır. Bu olguların 855' inde (%83.82) regüler tip trizomi 21, 51' inde translokasyon tipi trizomi 21(%5), 110 olguda (%10.78) mozaik tip trizomi 21 ve 4 olguda (%0.39) ise trizomi 21'e başka kromozomal anomalilerin de eşlik ettiği bulgulara rastlamışlardır. Literatürde bu konuyla ilgili benzer sonuçlar alınmış çok sayıda çalışma rapor edilmiştir (Owens ve ark., 1983; Verma ve ark., 1990, Cortes ve ark., 1990, Mutton ve ark., 1993, Türkyılmaz ve ark., 1997, Kılıç ve ark., 2003, Solak ve ark., 2007, Jyothy ve ark., 2002, Catovic ve ark., 2005). Down sendromunda klinik bulgular ve sitogenetik bulguları inceleyen bu çalışmalar ile sitogenetik analizinin Down sendromunun kesin ve erken tanısında ki önemi ve Down sendromunun farklı tiplerindeki kromozomal anomalilerin erken teşhisinin genetik danışmada ki önemi bir kez daha vurgulanmaktadır. Down sendromu tanısı konan bireylerin

cinsiyetleri değişkenlik göstermektedir. Bununla birlikte Down sendromunun erkek çocuklarda daha sık görüldüğü rapor edilmektedir. Alp ve ark. 456 olguda cinsiyet oranını 1.64: 1 (283 erkek:173 kız), anne yaş ortalamasını 34.25 ± 7.76 ve translokasyon tipi Down sendromu olguların anne yaş ortalamasını da 28.29 ± 5.0 olarak saptamışken, Kılıç ve ark. yaptıkları çalışmada olguların 33'ünün erkek (%64.7), 18'inin kız (%35.2), hastaların yaş ortalamasının da $1.9 \pm 3(0-16)$ olduğunu rapor etmişlerdir.

Türkyılmaz ve ark. yaptıkları çalışmada Down sendromu tanısı konan olguların 9'unun (%39) kız, 14'ünün (%61) erkek olduğunu bildirilmiştir. Ülkemizde yapılan bazı çalışmalarda (Tayşi ve ark., 1974, Sunguroğlu ve ark.,1989, Demirel ve ark., 1998) erkek olguların kızlardan daha fazla görülmesi erkek çocukların toplumumuzda daha fazla ilgi çekmesinden ve ailelerin kız çocuklarını çevreden saklama isteklerinden olabileceği gibi, dış kaynaklı birçok çalışmada (Cortes ve ark.,1990, Jyothy ve ark., 2001, Kovaleva ve ark., 2001, Devlin ve ark., 2004, Kava ve ark., 2004, Ahmed ve ark., 2005, Catovic ve ark., 2005, Yüce ve ark., 2006) saptanan erkek olguların fazlalığı göz önüne alındığında bizim toplumumuza özgü olmayabileceği ve genel bir bulguya uygunluğundan söz edilebilir.

Down sendromu tanısı ya da ön tanısı alan bireylerin klinik bulguları hastalar arasında değişkenlik göstermektedir. Literatürde en sık görülen klinik bulgular konjenital kalp hastalığı, hipotoni, mongoloid yüz, epikantal kıvrım, simian çizgisi, basık burun kökü, kısa ve geniş boyun ve mikrosefali olarak bildirilmiştir (Türkyılmaz ve ark., 1996, Ahmed ve ark., 2005, Catovic ve ark., 2005, Yüksel ve ark., 2006, Azman ve ark., 2007). Down sendromuna özgü bazı anomaliler normal karyotipli ya da farklı anomalileri olan bireylerde de görülebilir. Bu nedenle Down sendromunun kesin tanısında klinik bulgular yetersiz kalmakta mutlaka sitogenetik analiz gerekmektedir. Aynı şekilde Devlin ve ark.(2004) 208 Down sendromlu postnatal olgu üzerinde yaptıkları sitogenetik çalışma sonucunda 197 olguda regüler tip trizomi 21, 3 olguda translokasyon tip trizomi 21 ve 8 olguda ise mozaik tip trizomi 21 olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca 268 Down sendromu ön tanısı alan olgu üzerinde yaptıkları çalışma sonucunda olguların 185'inin Down sendromlu, 77'sinin normal karyotipli 6'sının da başka anomalilere sahip olduğunu bildirmişlerdir. Down sendromlu olguların klinik bulguları arasında epikantal kıvrım, simian çizgisi, çıkıntılı dil, hipotoni, parebral çatlaklar ve sandal gap olduğunu fakat bu altı klinik bulguyu taşıyan normal karyotipli olguların da bulunduğu bildirilmiştir. Bu özelliklerinden dolayı Down sendromu öntanısı alan olguların ebeveynlerinde gereksiz stres olmuştur (Devlin ve ark., 2004). Trizomiler gametogenez sırasında oluşan mayotik nondisjunction sonucu meydana gelir. Literatürde Down sendromunun başlıca nedeninin nondisjunction olduğunu ve buna bağlı olarak da hastaların

büyük çoğunluğunda klasik trizomi 21 görüldüğü bildirilmiştir (Jyoth ve ark., 2002, Yüce ve ark., 2006, Biselli ve ark., 2008). Yüksel ve ark. (2006) yaptıkları çalışmada Down sendromlu olguların bir tanesinde ailede kalıtsal hastalık öyküsü bildirilmiş ve de olguların 37' sinde (%84.1) ileri anne yaşı saptamışlardır.

2.9. Serbest Oksijen Radikalleri

Oksijen bütün canlılar için vazgeçilmez bir element olup, organik moleküllerin temel yapısal atomlarından birisidir. Bunun yanında, aerobik canlıların enerji metabolizmasındaki rolü nedeniyle oksijen, hayati bir öneme sahiptir. Yaşamları için mutlak oksijene ihtiyaç duyan canlılarda oksijenin yer aldığı biyokimyasal tepkimelerde bazı toksik ürünler de ortaya çıkmaktadır. Oksijenin canlılardaki toksik etkileri başlıca iki tür mekanizma ile gerçekleşmektedir (79):

1. Aerobik canlılarda gözlenen oksijen toksisitesinin ilk açıklaması, moleküler oksijenin bazı enzimleri inhibe ettiği şeklindedir. Bu mekanizmaya örnek olarak oksijenin, glutamat dekarboksilaz enzimini inhibe ederek beyinde GABA düzeyini düşürmesi gösterilmektedir.

2. Oksijenin enzim inhibisyonu etkisi sınırlı ve çok zayıftır. Oksijenin canlılardaki asıl toksik etkisinin “oksijen radikalleri” olarak adlandırılan ve oksijenin vücuttaki metabolizması sırasında oluşan reaktif türlerden kaynaklandığı belirtilmektedir. Serbest oksijen radikalleri, en dış elektron yörüngelerinde bir tek çiftleşmemiş elektron bulunduran istikrarlı olmayan kimyasal bileşiklerdir. En dış yörüngede bulunan elektron çiftinin dengesi, yörüngeye bir elektron girmesi ya da çıkmasıyla bozulursa, momenti dengelenmemiş bu tek elektron atoma (ya da moleküle) büyük bir aktiflik kazandırmaktadır. En dış yörüngede eşlenmemiş bir elektronu bulunan molekül ya da molekül gruplarına “radikal” adı verilmektedir. Oksijen molekülündeki aynı yönde dönen iki elektrona sahip 2p son orbitali önemlidir. Bu orbitallerden herhangi birindeki elektronun, bir orbitali bırakıp diğerine geçmesi veya farklı yönde dönmesi durumunda “singlet oksijen” oluşmaktadır. Orbitallerden birine ters dönüşlü iki elektron veya ikisine ters dönüşlü iki elektron daha gelirse “oksijen radikali” elde edilmektedir (79).

2.9.1. Serbest Radikaller ve Oluşumu

Biyolojik sistemlerde meydana gelen serbest radikallerin en önemlisi oksijen radikalleridir. Serbest oksijen radikalleri, normal hücre metabolizmasında oksijen içeren birçok biyokimyasal indirgenme reaksiyonları sonucunda oluşabilmektedir. Bu işlemde

oksijen, elektron transport zincirinde direkt basamaklar halinde suya indirgenmektedir. İndirgenme sonucunda her bir basamakta serbest oksijen radikalleri açığa çıkmaktadır. Kontrollü enflamatuar reaksiyonun bir parçası olan fagositler tarafından, bazen iyonize radyasyon, ultraviyole ışığı, hava kirliliği, sigara dumanı, hiperoksi, fazla egzersiz ve iskemi nedeniyle de serbest radikaller meydana gelebilmektedir (79-80).

Serbest radikaller başlıca üç temel mekanizma ile oluşmaktadır:

1. Kovalent bağların homolitik kırılması ile: Yüksek enerjili elektromanyetik dalgalar ve yüksek sıcaklık kimyasal bağların kırılmasına neden olmaktadır. Kırılma sırasında bağ yapısındaki iki elektronun her biri ayrı ayrı atomlar üzerinde paylaşılmamış olarak kalmakta ve radikal formu oluşmaktadır (79-81).

2. Normal bir molekülün elektron kaybetmesi ile dış elektron yörüngelerinde paylaşılmamış elektron kalması durumunda radikal formu oluşmaktadır.

3. Normal bir moleküle elektron transferi ile dış elektron yörüngelerinde paylaşılmamış elektron oluşuyorsa da radikal oluşumuna neden olabilir. Vücutta üretilen radikaller her zaman tehlikeli kimyasal türler olarak değerlendirilmemelidir. Oksijenin biyokimyasal tepkimelerde kullanılması için reaktif formlarına çevrilmesi zorunludur. Örneğin, ksenobiyotiklerin detoksifikasyonu, steroid yapıdaki çok sayıdaki bileşiklerin ve eikozanoidler gibi biyolojik aktif moleküllerin sentezi, çok sayıdaki oksidaz ve hidroksilaz enzimleri ve sitotoksik etkilere sahip hücrelerin fonksiyonları için radikal yapımı olmazsa olmaz bir koşuldur (79-81).

En Önemli Serbest Oksijen Radikalleri Şunlardır:

1. O₂⁻ (Süperoksit) Radikali
2. H₂O₂ (Hidrojen Peroksit)
3. HO⁻ (Hidroksil Radikali)
4. Singlet Oksijen (O₂↑↓) 24

2.9.1.1. Süperoksit Radikali (O₂⁻)

Canlılarda olduğu ilk gösterilen radikal olan süperoksit zedeleyici özelliği fazla olmayan bir serbest radikal türevi olup H₂O₂ kaynağıdır. Oksitleyici ve metal iyonları redükleyici etkisi vardır. Bazı biyolojik moleküller aerobik ortamda oksitlenirken süperoksit yapımına neden olmaktadır. Mitokondrideki enerji metabolizması sırasında oksijen kullanılırken, tüketilen oksijenin %1–5 kadarı süperoksit yapımı ile sonlanmaktadır. Aktive

edilen fagositik lökositlerden bol miktarda süperoksit üretilerek, fagozom içine ve buldukları ortama verilmektedir. Antibakteriyel etki için gerekli olan bu radikal yapımı, daha reaktif türlerin oluşumunu da başlatmaktadır. Zar fosfolipidleri nedeniyle hücre zarı yüzeyleri sitoplazmaya göre daha asidiktir ve süperoksit burada daha kolayca bir proton alarak hidrojen peroksid radikalini oluşturabilmektedir. Bu radikal çok reaktif bir tür olup, hücre zarlarında lipid peroksidasyonunu başlatabilmekte ve antioksidanları oksitleyebilmektedir (82-83).

2.9.1.2. Hidrojen Peroksit (H₂O₂)

Hidrojen peroksit, oksijenin enzimatik olarak iki elektronla indirgenmesi ya da süperoksidlerin enzimatik ve enzimatik olmayan dismutasyon tepkimeleri sonucunda oluşmaktadır. Oksitleyici bir tür olarak bilinmesinin nedeni, metal iyonlarının varlığında hidroksil radikallerinin oluşumuna neden olmasındandır. Hidrojen peroksit özellikle proteinlerdeki hem grubunda bulunan demir ile tepkimeye girerek, yüksek oksidasyon düzeyindeki reaktif demir formlarını oluşturmaktadır. Bu formdaki demir çok güçlü oksitleyici özelliklere sahip olup, hücre zarlarında lipid peroksidasyonu gibi radikal tepkimeleri başlatabilmektedir (80-81).

2.9.1.3. Hidroksil Radikali (HO⁻)

Çok reaktif bir ajandır. Normal biyolojik fonksiyonlarda da kullanılmaktadır. Fagositoz ve çeşitli enzimatik katalizlerde üretilmektedir. Dokular γ radyasyona maruz kaldıklarında, enerjinin çoğu hücre içindeki su tarafından absorbe edilmekte ve radyasyon, oksijen ile hidrojen arasında kovalent bağa neden olmaktadır. H₂O₂'nin ultraviyole ışığına maruz kalması ile de hidroksil radikali oluşabilmektedir. Hidroksil radikali en reaktif radikal olarak bilinmekte ve her moleküle saldırarak hasar meydana getirebilmektedir. DNA'nın pürin ve pirimidin bazları ile etkileşebilmektedir. Özellikle, araşidonik asitler gibi doymamış yağ asit yan zincirlerinden hidrojen atomunu çıkartmakta ve sonuçta su oluşumunu sağlamaktadır. Hidroksil radikali ile oluşan en iyi tanımlanmış biyolojik hasar, lipid peroksidasyonu olarak bilinen serbest radikal zincir reaksiyonudur (84).

2.9.1.4. Singlet Oksijen (O₂^{↑↓})

Oksijenin uyarılmış şekline 'singlet oksijen' denir. Reaktivitesi çok yüksek bir oksijen türüdür. Doymamış yağ asitleri ile doğrudan tepkimeye girerek peroksil radikalini oluşturmakta ve hidroksil radikali kadar etkin bir şekilde lipid peroksidasyonunu

başlatabilmektedir. Özellikle karbon-karbon çift bağları singlet oksijenin tepkimeye girdiği bağlardır. Bu bileşiklerin başında bilirubin, tokoferoller, fenoller, karotenler, DNA, kolesterol, NADPH, triptofan, metionin, sistein ve histidin gibi bileşikler gelmektedir. Bilirubin, karotenler, histidin, metionin ve bazı kimyasal bileşikler singlet oksijeni temizleyerek ona bağlı tepkimeleri inhibe edebilmektedir (85).

2.9.2. Serbest Oksijen Radikallerinin Hücreye Zararlı Etkileri

Serbest radikaller, hücresel lipid, protein ve DNA'da çeşitli derecelerde hasara neden olabilmektedir. Oksijen, endoplazmik retikulumda, mitokondride, plazma membranında, peroksisomlarda ve sitozollerde oksidatif enzimler tarafından süperoksit anyonuna dönüştürülmektedir. Oluşan süperoksit anyonları, SOD enzimi ile hidrojen perokside dönüştürülmektedir. Cu^{++}/Fe^{++} ile katalize olan Fenton reaksiyonu yoluyla hidroksil radikalleri oluşmaktadır. Burada ayrıca süperoksit anyonları, Fe^{+++} 'in Fe^{++} 'ye indirgenmesini katalize eder ve Fenton reaksiyonu sayesinde hidroksil oluşumuna katkıda bulunmaktadırlar (81-86).

2.9.3. Membranların Lipid Peroksidasyonu

Serbest oksijen radikalleri, hücre ve organel zarlarında lipid peroksidasyonuna neden olabilmektedirler. Hücre zarlarında bulunan poliansatüre yağ asitlerinin doymamış bağları, serbest radikallerle kolayca reaksiyona girerek peroksidasyona uğrayabilmektedirler (87).

Lipid peroksidasyonu, serbest radikallerin yağ asitlerinden hidrojen atomunu çıkarmak için yaptıkları atakla başlamakta ve zincir reaksiyonu şeklinde ilerlemektedir. Lipid peroksidasyonu ile meydana gelen membran hasarı geri dönüşümsüzdür. Hidroksil radikali, fosfolipaz A₂'yi stimüle ederek araşidonik asit salınımına yol açmaktadır. Araşidonik asitten de bir hidrojen atomu çıkararak lipid peroksidasyonunu başlatabilmektedir. Başlangıçta serbest radikaller, bir lipid karbon merkezli radikalden üretilmiş olan karbon zincirinden, hidrojen atomunu açığa çıkarmaktadır. Sonuçta karbon merkezli radikal oluşmaktadır. Bu lipid radikal, moleküler oksijen ile reaksiyona girer, linoleik asit peroksidikali oluşmasını sağlar ve oksidasyon zincirini başlatabilir. Üretilen peroksidikali, elektronları ve diğer duyarlı yağ asitlerini alarak lipid radikal ve lipid hidroperoksitleri oluşturur. Bunun yanında süperoksit lipid peroksidasyonunu bitirici etki de gösterebilir. Membran fosfolipidlerinin peroksidasyonu, permeabilitede ve membran akışkanlığında değişikliklere yol açmaktadır. Permeabilite özelliklerinin değişmesi anormal Ca^{++} girişine yol açarak hücre fonksiyonlarının bozulmasına ve oksidasyonla fosforilasyonun ayrılmasına yol

açabilmektedir. Sinir lifleri etrafındaki miyelin kılıfı peroksidasyonu (demyelinizasyon) nörolojik hastalıklara neden olabilmektedir. Akciğer sürfaktanının peroksidasyonu ise atelektazi ve pulmoner disfonksiyona (ARDS) yol açabilmektedir (81-93).

Peroksiradikali, poliansatüre yağ asidi moleküllerini okside edebilmekte, radikallerin ve aldehidlerin ortaya çıkmasına neden olan hidroperoksitlerin meydana gelmesini sağlayabilmektedir. Aldehidler ise bu maddelerin yıkılması sırasında oluşmakta ve uzun ömürlü olduklarından hücre hasarının yayılmasına neden olabilmektedirler. Bu aldehidler arasında en iyi bilinenleri MDA (malondialdehit) ve 4 hidroksi alkenaldir. Üç veya daha fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin peroksidasyonu MDA oluşumu ile sonuçlanmaktadır. MDA, yağ asidi oksidasyonunun özellikli ya da kantitatif bir indikatörü değildir, ancak lipid peroksidasyonunun derecesi ile korelasyon göstermektedir. Peroksidasyonla oluşan MDA, membran komponentlerinin çapraz bağlanmasına ve polimerizasyonuna sebep olmaktadır. Bunun sonucunda da deformasyon, iyon transportu, enzim aktivitesi ve hücre yüzey bileşenlerinin agregasyonu gibi intrinsik membran özellikleri değişmektedir. Lipid peroksidasyonu sonucu açığa çıkan ürünler, membran permeabilitesini ve mikrovizkozitesini önemli ölçüde etkilemektedirler. Membranlardaki yağ asitlerinin peroksidasyonu ile oluşan kısa zincirli yağ asitleri ve aminoasitleri içeren yapısal proteinlerin oksidasyonu, membran permeabilitesinin artmasına ve membrandaki akışkanlığın azalmasına neden olmaktadır. Lipid hidroperoksidleri ve lipidperoksi radikalleri, serbest oksijen radikalleri gibi aynı hücrenin birçok komponentiyle reaksiyona girerek, hücresel ve metabolik fonksiyonlar üzerinde toksik etkilerini göstermektedirler.

Bu etkiler:

1. Membran komponentlerinin polimerizasyonuna ve çapraz bağlanmalarına neden olan MDA, iç membranın deformabilite, iyon transportu, enzim aktivitesi ve hücre yüzeyindeki determinantların agregasyonu gibi bazı özelliklerini değiştirebilmektedir.
2. Transmembran iyon gradientini bozarak, Ca⁺⁺ gibi iyonlara karşı özellikli olmayan geçirgenliği arttırabilmektedirler.
3. Mitokondride oksidatif fosforilasyonu çözerler ve mikrozomal enzim aktivitelerinde değişiklik oluşturabilirler. Subsellüler organellerin (lizozom gibi) bütünlüğünün kaybolmasına yol açabilirler.
4. Ayrıca, DNA'nın nitrojen bazlarıyla da reaksiyona girebilmektedirler (81-94).

2.9.4. Proteinlerin Oksidatif Modifikasyonu

Proteinler, serbest radikal hasarına duyarlı moleküllerdir. Serbest radikallerin etkisi ile bu moleküllerin sülfhidril gruplarında hasar meydana gelebilmektedir. Protein moleküllerinin yapısı değişmekte ve oksidasyon reaksiyonları sonucu büyük agregatlar haline dönüşebilmektedirler (81).

Serbest radikallerin protein molekülleri üzerindeki etkileri ile oluşan yapısal değişiklikler üçe ayrılır (93):

- 1) Aminoasitlerin modifikasyonu
- 2) Proteinlerin fragmantasyonu
- 3) Proteinlerin agregasyonu veya çapraz bağlanmalarıdır.

Serbest radikaller, polipeptit zincirlerinde fragmantasyona yol açabilirler. Bu şekilde oksidatif modifikasyon yolu ile sitozolik nötral proteazlar kritik enzimlerin yıkımını gerçekleştirebilirler. Aromatik aminoasitler de oksidatif ataklara çok hassas moleküllerdir. Proteinin temel yapısındaki değişme, antijenik yapıda değişmeye ve proteolize hassasiyete neden olabilmektedir. Radikaller, enzim, nörotransmitter ve reseptör proteinlerinin fonksiyonlarının bozulmasına da neden olabilmektedirler. Serbest radikallerin etkisiyle, IgG ve albuminin üç boyutlu yapıları bozulmaktadır. Yine bir protein olan α -1 proteinaz inhibitörünün, oksijen radikalleri tarafından inhibisyonu amfizem gelişimiyle sonuçlanmaktadır. Hem proteinleri de serbest radikallerden önemli oranda zarar görebilmektedir. Özellikle okside olmuş hemoglobinin O₂- veya H₂O₂ ile reaksiyonu methemoglobin oluşumuna sebep olmaktadır (93).

2.9.5. DNA Lezyonları

Nükleik asitler, serbest radikallere bağlı değişikliklere duyarlıdır. Hidroksil radikallerin DNA ile tepkimesi sonucunda baz modifikasyonları, baz delesyonları, zincir kırılmaları gerçekleşebilmektedir. Oksijen radikalleri, oksidatif yarıma ile DNA hasarına yol açabilmektedir. Özellikle pirimidinler (timin) en hassas yapılardır. DNA halatlarının kopması, DNA çift sarmalı ayrılması sonucu hücrede mutasyonlar ve ölüm gelişebilmektedir. 8-hydroxydeoxyguanosine (8-OhdG), oksidatif DNA hasarının bir göstergesidir. Yenidoğan ve hipokside kalan bebeklerde yüksek olduğu bildirilmektedir (93).

2.9.6. Karbonhidratlara Etkileri

Monosakkaritlerin otooksidasyonu sonucu hidrojen peroksid, peroksitler ve okzoaldehitler meydana gelmektedir. Enflamatuvar eklem hastalıklarında sinovial sıvıya geçen lökositlerden extrasellüler sıvıya salınan H₂O₂ ve O₂-, buradaki mukopolisakkarit olan hyalüronik asidi parçalamaktadır. Gözün vitröz sıvısında bol miktarda hyalüronik asit bulunduğundan, bunun oksidatif hasarı katarakt oluşumuna katkıda bulunmaktadır (81).

2.9.7. İnsan Vücudunda Serbest Radikallerinin Hedef Organları

Yüzden fazla hastalık, serbest oksijen radikalleri ile ilişkilendirilmektedir. Serbest radikaller, sinir sisteminde intraventriküler hemoraji, periventriküler lökomalazi ve travmatik beyin hasarı, beyin tümörleri etyopatogenezinde rol oynamaktadır. Gözlerde ise katarakt, retinopati, maküler dejenerasyon oluşumuna neden olabilmektedir. Akciğer ve solunum sisteminde astım, amfizem, respiratuvar distress sendromu, kronik obstrüktif akciğer hastalığına, böbreklerde ise glomerulonefrit ve renal yetmezlik sırasında doku hasarına neden olmaktadır. Gastrointestinal sistemde nekrotizan enterokolit ve Crohn hastalığı patogenezinde rol oynamakta, ayrıca hemoglobin ve immun sistem defektleri oluşturmaktadırlar. Serbest oksijen radikalleri ayrıca, erken yaşlanma, kanser, otoimmün hastalıklar, enflamatuvar hastalıkların etyopatogenezinde de suçlanmaktadır (93).

2.9.8. Serbest Oksijen Radikallerine Karşı Savunma Mekanizmaları

2.9.9. Antioksidan etki tipleri

Antioksidanlar dört ayrı şekilde etki ederler:

1. Toplayıcı etki (Scavenging etki): Serbest oksijen radikallerini tutma ya da çok daha zayıf yeni bir moleküle çevirme işlemine “toplayıcı etki” denilmektedir. Bilirubin, antioksidan enzimler, trakeobronşial mukus ve küçük antioksidan moleküller bu tip bir etki göstermektedirler.
2. Bastırıcı etki (Quencher etki): Serbest oksijen radikalleriyle etkileşip, onlara bir hidrojen aktararak aktivitelerini azaltan ya da inaktif biçime dönüştüren etki “bastırıcı etki” olarak adlandırılmaktadır. Vitaminler, bu tarz bir etkiye sahiptirler. Bilirubin bu tarz antioksidan etkisi de vardır.

3. Zincir kırıcı (Chain-breaking etki): Serbest oksijen radikallerine bağlanarak zincirlerini kırıp fonksiyonlarını engelleyici etkiye “zincir kırıcı etki” denir. Bilirubin, hemoglobin, seruloplazmin ve mineraller zincir kırıcı etki gösterirler.

4. Onarıcı etki (Repair etki): Onarıcı etki üzerinde çalışmalar devam etmektedir. Oksidatif hasar görmüş DNA molekülünü tamir eden enzimler bu guruba örnek olarak verilebilir (94).

2.9.10. Antioksidan Sistemler ve Çeşitleri

2.9.10.1. Antioksidan sistemler

Vücutta reaktif oksijen türlerinin düzeylerini kontrol altında tutmak ve oluşturabilecekleri hasarları engellemek için birçok savunma mekanizmaları bulunmaktadır. Serbest radikalleri metabolize eden, serbest radikal oluşumunu önleyen veya serbest radikallerin temizlenmesini arttıran bu maddelere antioksidan maddeler denilmektedir. Antioksidanlar, peroksidasyon zincir reaksiyonunu engelleyerek ya da reaktif oksijen türlerini toplayarak lipid peroksidasyonunu inhibe etmektedirler. Aerobik hücrelerde pek çok antioksidan sistem bulunmaktadır. Bu antioksidanlar endojen ve eksojen kaynaklı olarak ikiye ayrılmaktadır. Endojen antioksidanlar, enzim olarak görev yapanlar ve enzim olmayan antioksidanlar olarak iki grupta incelenmektedir. Enzim olan antioksidanlar, süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GPx), katalaz (CAT), glutatyon transferaz (GST), glutatyon redüktaz ve mitokondrial oksidaz sistemidir. Enzim olmayanlar ise, bilirubin, albumin, ürik asit, α -tokoferol, askorbik asit, seruloplazmin, transferrin, ferritin ve glutatyon gibi maddelerdir. Bunlar oksijen radikallerine karşı ilk savunma sistemini oluşturmaktadırlar. Eksojen antioksidan olarak da allopurinol, folik asit, C vitamini, E vitamini, asetilsistein, mannitol, adenozin, kalsiyum kanal blokerleri, non steroid antiinflamatuvar ilaçlar ve demir şelatörleri sayılabilir (94-95).

Antioksidanlar ayrıca primer, sekonder ve tersiyer olarak da sınıflandırılmaktadır. Yeni serbest radikal formasyonunu önleyen antioksidanlar primer antioksidanlar olarak adlandırılmaktadır. Örnek olarak SOD, GPx, metal bağlayan proteinler, ferritin, seruloplazmin, demir, hemopeksin, haptoglobulin gösterilebilir. Bazıları ise metal iyonları ile reaksiyona girebilecek olan peroksitleri yok ederek serbest radikallerin oluşumunu önlemektedirler. Sekonder antioksidanlar, zincir kırıcı reaksiyon ile serbest radikalleri uzaklaştırmaktadırlar. Bilirubin, E vitamini, C vitamini, β -karoten, ürik asit ve albumin gibi maddeler bu sınıfta yer almaktadırlar. Lipid peroksidasyon zincirini kıran bir antioksidan olan α -tokoferol hücre zarında bulunmaktadır. Askorbik asit suda erimekte ve radikal toplayıcı

olarak rol almakta, E vitamininin etkisini arttırmaktadır. Ürik asit ksantin oksidazı inhibe ederek serbest radikal oluşumunu azaltmaktadır. Tersiyer antioksidanlar, serbest radikaller tarafından hasar gören biyomolekülleri onarırlar. DNA'yı onaran enzimleri de bu grupta yer almaktadırlar (96).

2.9.10.2. Enzimatik Antioksidanlar

2.9.10.2.1. Süperoksit Dismutaz (SOD)

SOD, substrat olarak serbest oksijen radikallerinin kullanan ve süperoksiti hidrojen perokside çeviren bir metalloenzimdir. Bu reaksiyon “oksidatif strese karşı ilk savunma” olarak da adlandırılmaktadır. Çünkü süperoksit zincirleme radikal reaksiyonlarının güçlü bir başlatıcısıdır. Bu sistem sayesinde hücrel kompartmanlardaki süperoksit düzeyleri kontrol altında tutulmaktadır. Lösemi, iskemi, hepatit, müköler distrofi, respiratuar distres sendromu, böbrek yetmezliği, Fankoni anemisi, akciğer enfeksiyonları ve motor nöron hastalıkları gibi serbest radikal açığa çıkaran olaylarda ve hastalıklarda koruyucu rol oynadığı düşünülmektedir. Aynı zamanda SOD, lipid peroksidasyonunu da inhibe etmektedir. SOD aktivitesi, yüksek oksijen kullanan dokularda fazladır. SOD'nin ekstrasellüler aktivitesi çok düşüktür (96).

2.9.10.2.2. Katalaz (CAT)

Katalaz peroksisomlarda bulunan bir enzimdir. Hidrojen peroksidi su ve oksijene ayırmaktadır. Katalaz yapısında protoporfirin-IX, Fe (Hem) grubu içerir. Kan, kemik iliği, karaciğer, böbrek ve müköz membranda yüksek miktarda bulunmaktadır. Katalaz hücreyi kendi respiratuar patlamasına karşı koruyucu olarak hizmet etmektedir (88).

2.9.10.2.3 Glutatyon Peroksidaz (GPx)

GPx, pek çok hücrede sitozollerde bulunan bir enzimdir. Sitozol ve mitokondrilerde SOD tarafından oluşturulan hidrojen peroksit ve yağ asidi hidroperoksitlerini ortadan kaldırmaktadır. Ancak kapasitesi sınırlıdır. Düşük hidrojen peroksit konsantrasyonunda çalışmaktadır. Kofaktör olarak selenyum elementinin kullanır. Hidrojen peroksit ve organik peroksitlerin indirgenmesiyle oksitlenen glutatyon, glutatyon redüktaz enzimi ve başlıca pentoz fosfat yolundan sağlanan NADPH yardımıyla indirgenerek reaksiyonların devamını sağlar. Glutatyon peroksidaz fagositik hücrelerde önemli fonksiyonlara sahiptir. Diğer antioksidanlarla birlikte GPx, solunum patlaması sırasında serbest radikal peroksidasyonu

sonucu, fagositik hücrelerin zarar görmesini engeller. Eritrositlerde de GPx oksidan strese karşı en etkili antioksidandır. GPx aktivitesindeki azalma, hidrojen peroksidin artmasına ve şiddetli hücre hasarına yol açar. Yapılan çalışmalarda kord kanı glutatyon peroksidaz ve total antioksidan düşüklüğü olan bebeklerde DNA hasarının yüksek olduğu gösterilmiş ve doğumda oksijen radikallerinin oluşumunun arttığı ifade edilmiştir (89).

2.9.10.2.4. Glutatyon-S-Transferazlar (GST)

Organizmaya giren ksenobiyotiklerin biyotransformasyonunda görev almaktadırlar. Başta araşidonik asit ve linoleat hidroperoksitleri olmak üzere lipit hidroperoksidlere karşı glutatyon-S-transferazlar “Selenyum” bağımsız aktivite göstermektedirler. Antioksidan aktivitelerine ek olarak başka biyokimyasal fonksiyonlara da sahip olup bilirubin, hem ve bazı kortikosteroidler gibi endojen maddelere geri dönüşsüz olarak bağlanarak bunların hücre içi transportunda da görev almaktadırlar (90).

2.9.10.2.5. Glutatyon Redüktaz (GR)

Glutatyon peroksidaz tarafından hidrojen peroksit ve diğer lipit peroksitlerin yükseltgenmesi sırasında glutatyon, okside glutatyona dönüşmektedir. Oksidasyona uğramış bu yapıyı tekrar kullanmak için redükte glutatyona dönüştüren enzim glutatyon redüktazdır (90).

2.9.10.2.6. Mitokondrial Sitokrom Oksidaz

Solunum zincirinin son enzimi olan sitokrom oksidaz süperoksit radikalini suya çevirerek etki göstermektedir (90).

2.9.11. Total Antioksidan Seviye (TAS)

Normal fizyolojik koşullarda organizma, endojen veya eksojen nedenlerle oluşan serbest radikaller ve bunlara bağlı oluşan oksidatif stres ile mücadele eden kompleks bir antioksidan defans sistemine sahiptir. Vücudun oluşan oksidan durumlara karşı redoks ayarını sürdürebilmesinde kan çok önemlidir. Çünkü kan antioksidanların vücudun tüm bölümlerine taşınmasını ve dağıtımını gerçekleştirmektedir. Total antioksidan kapasiteye en büyük katkı plazmadaki antioksidan moleküllerden gelmektedir. Plazmada bilirubin, serbest demiri toplayan transferin ve seruloplazmin, ürik asit, E vitamini, C vitamini gibi proteinler yanında serbest radikalleri tutan zincir kırıcı antioksidanlarda bulunmaktadır. Albumin, ürik asit, askorbik asit insan plazmasındaki total antioksidan kapasitenin %85’inden fazlasını

oluşturmaktadır. Bunun nedeni, kanda bilirubin, glutatyon, flavinoidler, alfa tokoferol ve beta karoten gibi antioksidan sistemin komponentlerine nazaran albumin, ürik asit ve askorbik asitin seviyelerinin fazla olmasına bağlıdır (91).

2.9.12. Vücutta Serbest Radikallere Karşı Savunma Gelişmesi

Hamileliğin geç dönemlerinde fetusun akciğerlerinde antioksidan enzim miktarının artış gösterdiği bildirilmektedir. Farelerde, tavşanlarda, ratlarda, SOD, GPx ve CAT enzimlerinin hamileliğin son döneminde arttığı bilinmektedir. Yenidoğanlar göreceli olarak oksijen toksisitesine daha dirençli görünmektedir. Fakat özellikle antioksidan sistem komponentlerinin eksik olması nedeniyle, prematürelere oksijen toksisitesine çok duyarlıdır. Gestasyonun geç dönemlerinde artan SOD, GPx, CAT, E vitamini, seruloplazmin ve transferrin miktarının prematürite nedeniyle düşük olduğu tespit edilmiştir (92).

3.GEREÇ VE YÖNTEMLER

3.1. Gereçler

3.1.1. Kullanılan Cihazlar

1. Soğutmalı santrifüj (Hettich Universal® 30 RF)
2. Otoanalizör (Abbott®)
3. Floresan inverted mikroskop (Olympus®, CK X41)
4. Işık mikroskobu (Olympus®)
5. Dijital Fotoğraf Makinesi (Olympus® C 5050 Z)
6. ±4°C Buzdolabı (Profilo®)
7. -20°C derin dondurucu (New Brunswick Scientifi®, C54285)
8. -80°C derin dondurucu (Revco®)
9. Manyetik karıştırıcı (Hangping®, Variomag)
10. Vorteks (Nüve®, NM 110)
11. Hassas Terazı (Sartorius®)
12. Deiyonize Su Cihazı (Easypure RF®)
13. Distile Su Cihazı (Nüve®)
14. Elektroforez (Biolab® Midi Cell)
15. Hot plate (Thermolyne®)
16. Su banyosu (Nüve®, BM 402)
17. pH metre (Hanna®, pH 211)
18. Lam, Lamel ve Cam Malzemeler (Isolab®)
19. Otoklav (Nüve®, OT 012)
20. Mikropleyt Okuyucu (BioTek®, ELx800)

3.1.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler

1. Normal erime noktasına sahip (NMP, 65 0C) agaroz jel(Sigma®)
2. Düşük erime noktasına sahip (NMP, 37 0C) agaroz jel (Sigma)
3. Sodyum-EDTA (Carlo Erba)
4. Sodyum klorür (Merck)
5. Louril sarkozin (Sigma)
6. Trizma base (Sigma)
7. Triton X-100 (Sigma)
8. Sodyum hidroksid (Merck)
9. Disodyum hidrojen fosfat (Merck)
10. Sodyum dihidrojen fosfat (Merck)
11. Etidyum bromit (Sigma)
12. 2,4-dinitrofenilhidrazin (Sigma)
13. Hidroklorik asit (Merck)

3.2. Hasta ve Kontrol Gruplarının Olusturulması

Hasta Grubu: Bu çalışmamızda Sanlıurfa da yaşayan ve Şanlıurfa Çocuk Hastalıkları Hastanesi Polikliniklerine başvuran klinik bulgularla kesin down sendromu tanısı konulmuş 18 yaş altı, toplam 30 çocuktan 5 er ml kan alınarak yapıldı. Hasta Grubunun yaş ortalaması 4 ± 6 idi. Çalışmamız Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu tarafından onaylandıktan sonra başlatıldı. Tüm çocukların ebeveynlerinden bilgilendirilmiş onam alındı.

Kontrol Grubu: Kontrol grubu olarak da Şanlıurfa Çocuk Hastalıkları Hastanesine başvuran yaşları 18 yaş altı anamnezinde herhangi bir şikayeti olmayan, fizik muayenesinde herhangi bir patoloji saptanmayan, klinik ve laboratuvar tetkiklerinde lokal veya sistemik

hastalık tespit edilmeyen, 30 çocuktan 5'er ml kan numunesi alınarak yapıldı. Kontrol grubunun yaş ortalaması da 4 ± 6 idi.

3.3. Kan Örneklerinin Alınması

Hasta ve kontrol grubunu oluşturan kişilerden tüm kan örnekleri kan örneklerinin standardizasyonunun sağlanması amacı ile bireyler oturur veya yatar pozisyondayken alındı. Kan örneklerinin alınmasında, hem geniş hem de yüzeye daha yakın olduğundan antekübital *venler* (median kübital ven ya da sefalik ven) kullanıldı. Antekübital venden alınan 5 mL kan heparin içeren tüpe aktarıldı. Alınan kanın 1 mL'si DNA Hasarı için kullanıldı, geriye kalan 4 mL heparinize kan örnekleri 4000 rpm'de 5 dakika santrifüj edildi. Santrifüj sonrası plazmalar ayrıldı ve çalışma yapılıncaya kadar -80 derecede depolandı.

3.4. DNA Hasarı Yöntem Prensi

3.5. Yöntemin Uygulanışı:

3.5.1. Slaytların Hazırlanması; % 1,0'lik normal melting point (NMP) agaroz jel hazırlanıp eritildikten sonra 80 µl alınarak kenarları buzlanmış lam üzerine damlatılır. Lamaların üzeri lamel ile kapatılarak buzdolabında ($2-4^{\circ}\text{C}$) 5 dakika bekletildikten sonra lameller kaldırılır. Hazırlanan lamlar nemli kutularda bekletildi. PBS tamponu ile mm^3 te 10^4 hücre olacak şekilde dilüe edilmiş mononükleer hücrelerden 10 µl alınarak 80 µl %0,5'lik low melting point (LMP) agaroz jel (37°C) ile karıştırılarak birinci tabaka üzerine tabakalandırılır. Daha sonra lamel ile kapatılarak buzdolabında donması için 5 dakika bekletilir. Ardından lameller kaldırılarak slaytların hazırlanma işlemi tamamlanır.

3.5.2. Lizis Aşaması; Hazırlanan slaytlar 50 dakika yüksek konsantrasyonda tuz ve deterjan içeren soğuk lizing solüsyonunda bekletildi.

Hücre zarlarının parçalanması için önce 2,5 M Sodyum klorür, 100 mM EDTA ve 10 mM trizma base distile suda çözülerek stok lizing solüsyonu hazırlanır (pH=10). Çalışmadan

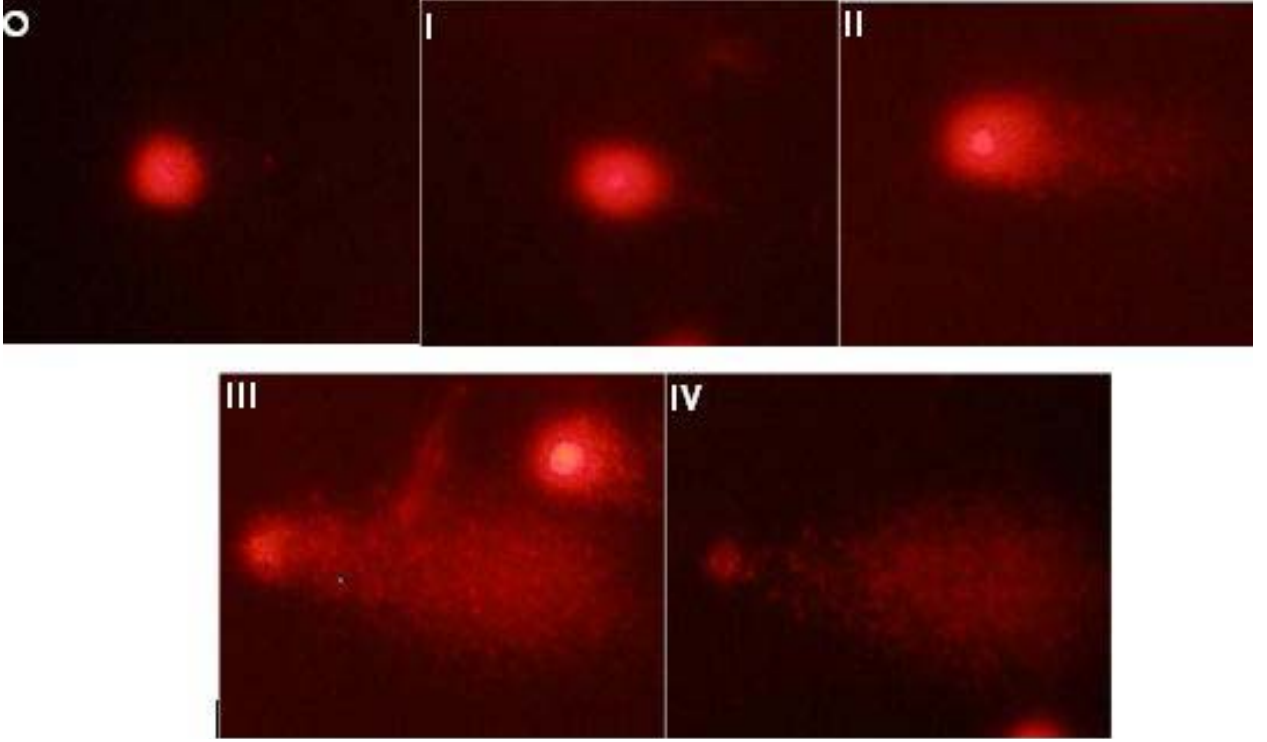
hemen önce stok lizing solüsyonuna %1 oranında triton X-100 ve %10 oranında DMSO eklendikten sonra slaytlar 50 dakika bu taze soğuk lizing solüsyonunda bekletilir.

3.5.3. Elektroforez Tamponu; Elektroforezde yürütülmeden önce DNA zincirlerinin ayrılması için slaytlar alkali elektroforez tamponunda 30 dakika inkübasyona bırakılır. Alkali elektroforez tamponu 1mM Na₂EDTA ve 300 mM NaOH'tan oluşmaktadır (pH <13).

3.5.4. Elektroforezde Yürütme; Alkali elektroforez tamponunda inkübasyon tamamlandıktan sonra DNA'lar bu tampon çözeltisi içerisinde 300 mA, 14 volt'luk elektriksel alanda ve 5–25 °C'de 30 dakika yürütülür.

3.5.5. Nötralizasyon; Elektroforezde yürütme işlemi tamamlandıktan sonra alkali elektroforez tampon çözeltisini ortamdaki uzaklaştırmak için slaytlar 3 dakika süre ile 3 kez nötralizasyon tamponu (0.4 M Tris-HCl, pH 7.4) ile yıkanır.

3.5.6. Boyama; Nötralizasyon işleminden sonra boyama yapılarak cometler sayılır veya jel oda sıcaklığında kurutularak slaytlar nemli ortamda en fazla bir hafta depolanabilir. Boyama işlemi için floresan bir boya olan etidyum bromit boyası (5 µg/ml) kullanılır. Her bir slayt için 80 µL boya slayt üzerine damlatıldıktan sonra lamel ile üzeri kapatılarak 20 büyütmeli floresan mikroskop ile (Eksitasyon DB: 546 nm, Emisyon DB: 580 nm) 100 adet DNA görüntüsü değerlendirilir. Değerlendirme işlemi için DNA'lar hasar düzeyine göre 5 evreye (0, 1, 2, 3 ve 4) ayrılır.



Şekil 5. DNA 'nın hasar düzeyine göre sınıflandırılması

3.6. Comet Assay Tekniği (Single Cell Gel Electrophoresis Technique) ve Kullanım Alanları

İnsan popülasyonlarının genetik bütünlüğü, kimyasal ve fiziksel genotoksinlere maruz kalmayla sonuçlanan endüstriyel etkinliklerden dolayı giderek artan bir tehdit altındadır. Genetik hasarı etkileyen diğer faktörler ise yaşam biçimi, çeşitli ilaçlarla uygulanan tedaviler ve iklim değişiklikleridir. Genlere hasar veren ajanların etkilerini ortaya koymak için kolay test yöntemleri aranmıştır. Sitogenetik yöntemler mutajenik ve karsinojenik bileşiklere maruz kalan toplulukların biyolojik izlenmesinde geniş ölçüde kullanılmaktadır. Metabolizma ürünleri mutajen ve karsinojen olabileceğinden ayrıca çeşitli örneklerde biyotransformasyonları farklı olduğundan inhalasyon ajanları veya diğer potansiyel mutajenik ajanlar için kullanılacak testler insan hücrelerinin analizi şeklinde olmalıdır (76).

Biyozileme çalışmalarında giderek artan şekilde sitolojik yöntemler kullanılmaktadır. İnsan çalışmalarında sitogenetik olarak gelinen son aşamalardan biri de insan lenfositlerinin incelenmesidir (77-78).

DNA hasarını araştırmada insan hücrelerinin kullanıldığı testlerden en sık başvuru olan Sister Chromatid Exchange (SCE) ve Microgel Electrophoresis (MGE) olarak da adlandırılan Comet Assay yöntemidir. Bu yöntemlerle DNA sarmal kırıklarının saptanması hassas, hızlı ve güvenilir bir şekilde gerçekleştirilebilmektedir. Genotoksik taramalarda comet yöntemi giderek daha fazla kabul görmektedir. Comet yönteminin, yaşlanmadan, genetik toksikoloji ve moleküler epidemiyolojiye kadar pek çok toksikoloji alanında uygulamaları vardır (77) .

DNA kırıklarının tayini prensibine dayanan bu yöntem, pek çok fiziksel ve kimyasal mutajenin özellikle insanlarda yol açtığı DNA hasarının tayininde, kanser hastalarında DNA hasarının derecesini ve tamirini tespit etmede, bazı kalıtsal hastalıkların prenatal tanısında, bazı hastalıklarda artmış DNA hasarını belirlemede kullanılan bir biyoizlem testidir (79-100).

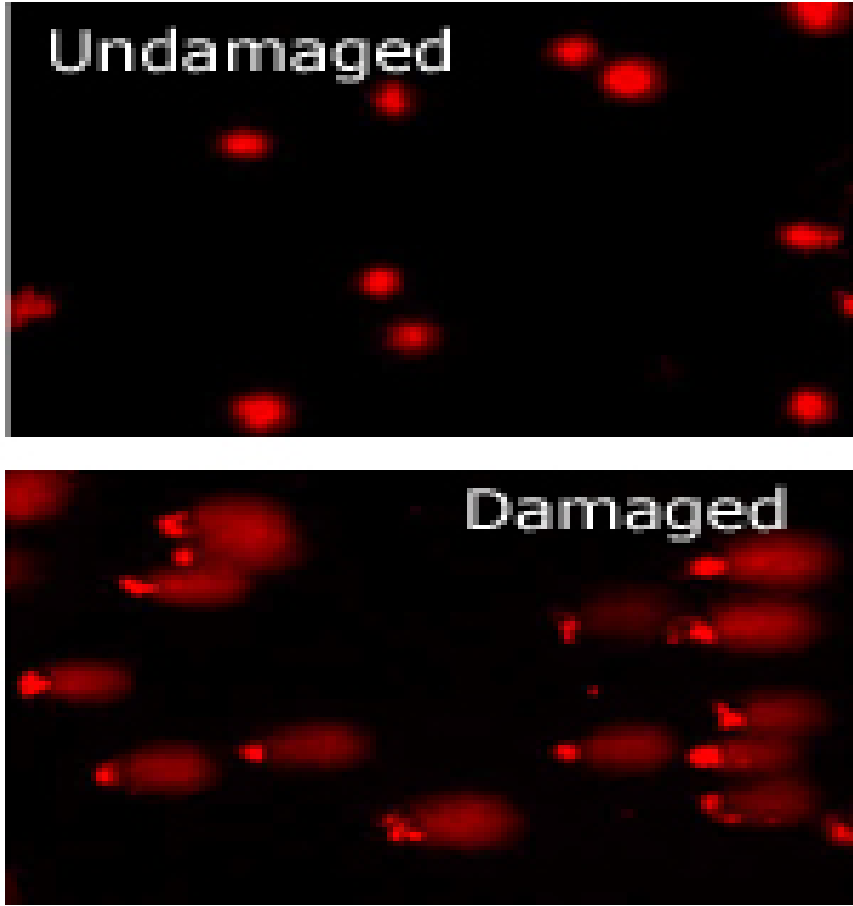
Comet yöntemi aşağıda belirtilen avantajlara sahiptir (101-102-103);

- Değişik hücre ve doku gruplarına uygulanabilir.
- Hızlı bir yöntemdir, çabuk sonuç alınır.
- Hassas ve güvenilir bir yöntemdir.
- Hücrelerdeki DNA kırıklarını görsel olarak ortaya koyar.
- Maliyeti düşüktür.
- Araç-gereç gereksinimi azdır.

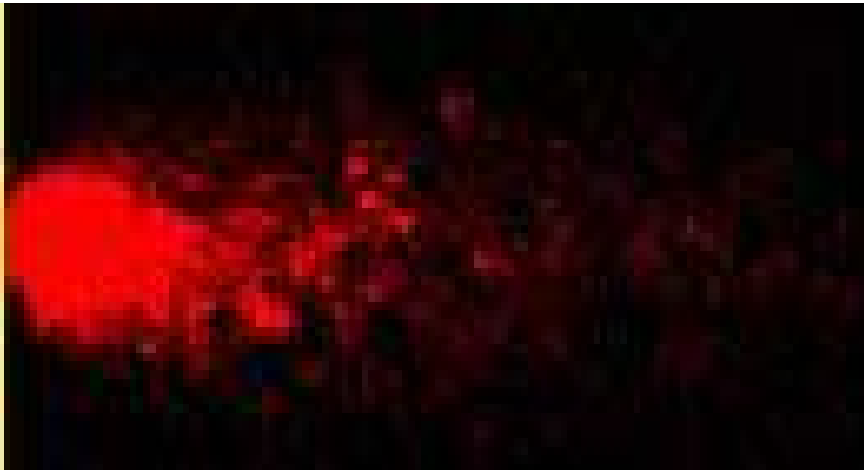
Comet yöntemi, alkali pH'da farklı moleköl ağırlıklarına ve farklı elektrik yüke sahip DNA moleküllerinin elektriksel alanda farklı göç etmeleri esasına dayanmaktadır. Bu yöneme göre, hücreler veya çekirdekçikler öncelikle agarozaya yerleştirilmekte, daha sonra lizis ve alkali elektroforez tamponunda yürütme ve nötralizasyon işlemlerinden geçirilerek floresan boya ile boyanmaktadır.

Floresan mikroskop ile incelenen preparatlarda zarar görmemiş DNA'lar comet (kuyruk) oluşturmazken, hasar görmüş DNA moleküllerindeki fragmentler farklı moleköl ağırlıklarına ve farklı elektrik yüklerine sahip olacaklarından elektriksel alanda farklı hızlarda

hareket ederek çekirdekten dışarı doğru göç etmekte ve kuyruklu yıldız görünümü oluşturmaktadırlar (Şekil 6 ve Şekil 7).



Şekil 6. Comet yöntemi ile hasarlı, az hasarlı ve hasarsız hücre örnekleri



Şekil 7 : Comet yöntemi ile “hasarlı” hücre örneği

Bu görünüm nedeniyle bu tekniğe "Comet" adı verilmiştir. Comet testi ile DNA hasarının kantitatif olarak saptanmasında; kuyruk momenti, kuyruktaki DNA yüzdesi ve kuyruk uzunluğu gibi parametreler kullanılmaktadır

İlk defa 1978 yılında Rydberg ve Johanson tarafından DNA sarmal kırıklarının ölçülmesi amacıyla kurulan, daha sonra 1984 yılında Ostling ve Johanson tarafından geliştirilen teknik nötral pH'daki *lysing* şartlarında uygulanarak DNA çift sarmal kırıklarını tayin etmede kullanılmıştır. 1988 yılında Singh ve arkadaşları tarafından protokolde birtakım değişiklikler yapılarak yöntem *alkali lysing* koşullarında uygulanmıştır. Singh ve arkadaşlarının *comet* yöntemi protokolü bugün küçük değişikliklerle dünya genelinde en yaygın kullanılan protokoldür. Yöntemin en önemli avantajlarından bir tanesi de çok çeşitli hücre tiplerinde çalışma olanağı sağlamasıdır (104).

Comet yönteminde hücreler izole edildikten sonra agar içine gömülerek mikroskopik lamlara yayılırlar. *Lysing* aşamasından sonra elektroforeze bırakılıp floresan boya ile boyanmak suretiyle değerlendirilirler. *Comet* tekniği ile DNA hasarının kantitatif olarak tayin edilmesinde gözle değerlendirmenin yanı sıra kuyruk uzunluğu, kuyruk momenti ve kuyruktaki DNA yüzdesi en yaygın kullanılan parametrelerdir. Kuyruktaki DNA yüzdesinin belirlenmesi ve sonuçların gözle değerlendirilmesi diğer parametrelere göre doz cevap ilişkisini daha iyi yansıtması sebebiyle tercih edilmektedir (104).

3.7. Comet Yönteminde DNA Hasarının Değerlendirilmesi

Comet yönteminde hasarsız hücrelerin (lenfosit) incelemesinde yuvarlak, kenarları daha az yoğun olmak üzere ortası parlak bir ışık görünümü (çekirdek) vardır. Bu hücrelerin görünümü nonmigration (NM) olarak değerlendirilir. Eğer DNA hasarı oluşmaya başlamışsa, normalde düzgün kenarlı olan görüntü DNA kırıklarının çekirdek dışına göçünün de başlaması nedeni ile düzensiz kenarlı bir görünüm alır (stretch ya da yeni adı ile low

migration). Hasar arttıkça lenfositler kuyruklu yıldız (comet high migration) şeklini alırlar. Son aşama ise apoptozistir. Hasarın şiddetine göre merkezden kenara doğru uzama olur. Bu comet (kuyruk) uzunluğu hasar ile doğrudan ilişkilidir. Ayrıca kuyruktaki floresan yoğunluğu da hasarın derecesi ile paralellik gösterir (102).

Comet yönteminde lamaların değerlendirilmesi comet görüntü analiz sistemi (comet software) ile yapılabileceği gibi gözle değerlendirme gibi farklı yöntemlerden de yararlanılabilmektedir.

Gözle değerlendirmede hücreler hasarlı ve hasarsız olarak ayrılırlar. Hasarlı hücreler ise hasar seviyelerine göre farklı kategorilere ayrılabilir. Bazı çalışmalarda hücreler; hasarsız, az hasarlı ve çok hasarlı olarak üç sınıfa ayrılabilirdiği gibi, Kobayashi ve arkadaşları hücreleri daha detaylı bir şekilde değerlendirerek 5 kategoriye ayırmışlardır. Ayrıca mikroskopun okülerine yerleştirilen mikron seviyesinde ölçüm yapabilen bir cetvelden de yararlanılabilir (44). Gözle değerlendirme; 5 dakikada 1000 hücre sayılabilecek kadar hızlı olduğundan ve bilgisayar programı gerektirmediğinden ucuz ve kolay bir yöntemdir. Bu konuda yapılan değerlendirmeler, gözle değerlendirmenin software kullanımı kadar etkili ve kullanılabilir olduğunu göstermektedir (105).

Hasarın değerlendirilmesinde “Tail Moment” denilen bir başka ölçüm yönteminden de yararlanılmaktadır. “Tail Moment” kuyruk uzunluğu ve kuyruk içindeki toplam DNA oranı olarak tanımlanmaktadır. Bu yöntemde “Tail Moment” kuyruktaki DNA yoğunluğunu göstermektedir (102).

Comet yöntemi pek çok tipte memeli hücrelerinde çeşitli ajanların indüklediği DNA hasarı ve onarım bozukluğunun saptanmasını amaçlayan in vivo ve in vitro çalışmalarda kullanılmaktadır.

DNA kırıklarının saptanması ilkesine dayanan bu yöntem, pek çok DNA hasarının ve onarımının saptanmasında biyoizlem çalışmalarında ve genetik toksikolojide yaygın olarak kullanılmaktadır. DNA hasarının indüklendiği çalışmalar, comet yöntemi ile çeşitli hücre

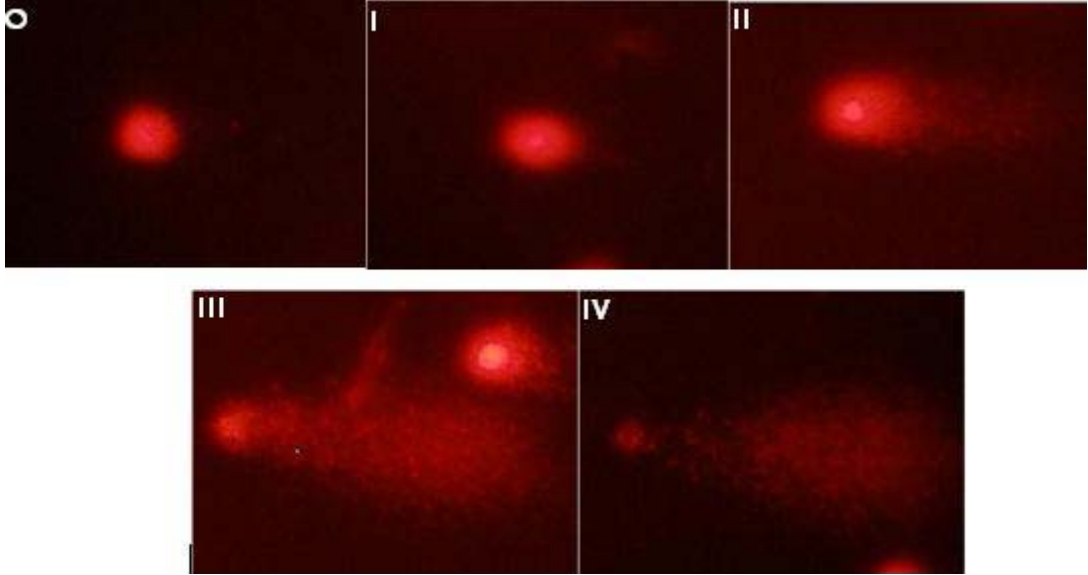
tiplerinde ve hedef organlardan alınan hücrelerde yapılabilmektedir. Comet yöntemi, duyarlılığı ve DNA hasarını tek hücre seviyesinde ölçmeye olanak sağlaması nedeniyle genotoksik etkisi merak edilen bileşiklerin toksisitelerini hızlı olarak önceden belirlemede kullanılan bir yöntem olmuştur. Bu yöntem aynı zamanda DNA onarımının belirlenmesini amaçlayan çalışmalarda da uygulanmaktadır. Bu amaçla Gedik ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada, hücreler önce DNA hasarı oluşturan kimyasal maddeye maruz bırakılmış daha sonra da onarım basamağı inhibe edilerek, onarımı gerçekleştiremeyen bölgelerde oluşan kırıklar aracılığı ile hücresel onarım kapasitesi hakkında bilgi edinilmiştir (103).

Comet yöntemi, bazı patolojik koşulların ya da kimyasal maddelere terapötik olarak maruz kalmanın ardından oluşan sonuçların araştırılması amacıyla pek çok klinik çalışmaya uygulanmıştır. Bu çalışmaların sonucunda; kötü beslenme, parazitik enfeksiyonlar, diyabet, mesane kanseri, düşük yapma gibi etkenlerin DNA hasarını anlamlı olarak artırdığı bulunmuştur. Ayrıca radyoterapi yada kemoterapi alan hastalarda, anestezi ilaçlarına maruz kalanlarda, siklofosfamid ve sisplatin alan meme kanseri hastalarında bu yöntem ile anlamlı olarak artmış DNA hasarı saptanmıştır. Comet yöntemi ile yapılan çalışmalar sadece somatik hücrelerle sınırlı kalmamış, infertil olan ve olmayan erkeklerin spermlerinde DNA hasarı araştırıldığında anlamlı bir artış bulunmamıştır (106-108).

Comet yönteminin düşük hasar seviyelerinde de duyarlı olduğu gösterildikten sonra, mesleki, yaşamsal ve çevresel maruziyetlerin biyoizlenmesinde kullanılmaya başlanmıştır. Pestisitlere, benzene, anestezi gazlarına, radyasyona ve sitirene maruz kalan bireylerde DNA hasarının arttığı gösterilmiştir. Ek olarak sigara içenlerde ve çocuklarda da DNA hasarını belirlemeye yönelik araştırmalar gerçekleştirilmiştir. Hava kirliliğinin DNA hasarı yapıp yapmadığının araştırıldığı bir çalışmada ise lenfositlerin dışında, bukkal ve nazal epitelyum hücreleri çalışılmıştır (109-110).

Comet yöntemi ile DNA çapraz bağları da belirlenebilmektedir. Bu amaçla uygulanan yöntemin temel prensibi, DNA çapraz bağ sayısının artması sonucunda, DNA migrasyonunun

engellenmesidir. Collins ve arkadaşlarının geliştirdiği bir diğer yöntem ise oksidatif DNA hasarının spesifik enzimler kullanılarak belirlenmesi olmuştur (107). Comet yöntemi; düşük hasar düzeylerini bile saptayabilen duyarlı bir yöntem olması, az miktarda hücre örneği gerektirmesi, her tür ökaryotik hücreye uygulanabilmesi, hızlı, basit ve ucuz olması, kolay uygulanabilir olduğu için geniş popülasyonlara uygulanabilmesi gibi nedenlerle yaygın olarak kullanımı giderek artmaktadır.



Şekil 5 : DNA 'nın hasar düzeyine göre sınıflandırılması

Lenfositlerin Separasyonu: Şanlıurfa Çocuk Hastalıkları Hastanesi Polikliniklerine başvuran laboratuvar ve fiziksel muayene ile down sendromlu olduğu tespit edilen 4-6 yaş aralığındaki çocuklardan alınan 5 mL heparinize kanın 1 mL'si DNA hasarı ölçümü için ayrılır. Boş steril bir tüp içine 1 ml Histopaque-1077 solüsyonu eklenir. Bunun üzerine 1 ml taze heparinize kan yavaşça konulur. Karışım, 25°C ve 2100 rpm'de 30 dakika santrifüj edilir. Santrifüj sonrası üç ayrı tabaka meydana gelir. En alt tabakada lökositler eritrositler, trombositler ve diğer şekilli elemanlar, orta tabakada lenfositlerin içinde yüzdüğü histopaque solüsyonu ve en üst tabakada ise plazma bulunur. Santrifügasyon sonrası orta tabakada biriken lenfositler 1 ml'lik pipet

yardımıyla boş bir tüpe alınır. Histopaque solüsyonunu uzaklaştırmak için lökosit içeren histopaque üzerine 1 ml, 1 M (pH=7.4) PBS (fosfat tampon solüsyonu) ile karıştırıldıktan sonra 25°C, 1600 rpm'de 10 dakika santrifüj edilir. Üstteki süpernatant atılır ve lökosit pelleti elde edilir. Lökosit pelleti, PBS tamponu ile dilüe edilip homojenizasyonu sağlandı.

3.8. Total Antioksidan Seviye (TAS)

Örneklerin total antioksidan status düzeyi ölçüm yöntemi, örnekteki tüm antioksidan moleküllerin renkli ABTS* katyonik radikalini redüklemesi sonucu renkli radikalın antioksidan moleküllerin toplam konsantrasyonlarıyla orantılı olarak dekolorize olması esasına dayanır (111-112). Kalibratör olarak E vitamininin suda çözünür bir analogu olan Trolox kullanılır. Sonuçlar mmol trolox /L olarak ifade edilir.

3.9. Total Oksidant Seviye (TOS)

Örneklerin toplam oksidan status (TOS) düzeyi, Rel Assay marka ticari kitler kullanılarak ölçülmüştür. Ölçüm testin çalışma prensibinde ifade edildiği üzere örneklerin içerdiği oksidan moleküllerin ferroz iyonu ferrik iyonla kümülatif olarak oksitlemesine dayanan, kolorimetrik yöntem kullanıldı. Sonuçlar $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Equivalent/ L olarak ifade edildi (111).

3.10. Oksidatif Stres İndeksi (OSİ)

Örneklerin oksidatif stres indeksi (OSİ), örneklerin toplam oksidan status (TOS) düzeylerinin, örneklerin toplam antioksidan status (TAS) oranına yüzdesi olarak belirtilir(93). Hesaplamadan önce TAS testinin birimindeki mmol değeri TOS testindeki gibi mikromol birimine çevrilir. Daha sonra, $OSİ(AU)=[(TOS \mu\text{mol/L})/(TAS \mu\text{mol/L})] \times 100$ formülüne göre OSİ hesaplandı. Sonuçlar Arbitrary Unit olarak ifade edildi.

$$OSİ = \frac{TOS, \mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ Equiv. / L.}}{TAS, \text{mmol trolox Equiv. / L.} \times 10}$$

3.11.İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analizler SPSS Versiyon 11.5 (SPSS® Inc. Chicago USA) bilgisayar programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Grupların normal dağılıma sahip olup olmadığını tespit etmek için Kolmogorov-Smirnov testi uygulandı. TAS, TOS ve OSİ parametreleri için grupların ortalamaları arasındaki farkın önemi Student's *t* testi ile DNA Hasarı için ise non-parametrik Mann-Whitney U testi ile karşılaştırılmıştır. Bazı demografik verilerin analizi için Chi-Square testi yapılmıştır. Parametreler arasındaki ilişki Pearson korelasyon analizi yapılmıştır. $P < 0,005$ değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir

4.BULGULAR

Tablo 1'de hasta ve kontrol grubunun cinsiyet ve yaş dağılımında; hasta grubunda 30 olgu olup bu olguların 14'ü kız, 16'sı erkek cinsiyetine sahip iken kontrol grubunda ise 28 olgu çalışmaya dahil edilmiş ve bu olguların 18'i kız, 10' u ise erkek cinsiyetine sahipti. Hasta grubunda TAS; $1,36 \pm 0,17$ mmol troloks Eq/L, TOS; $24,45 \pm 5,71$ $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Eq/L ve Oksidatif Stres İndeksi $1,82 \pm 0,49$ arbitrary unit olarak tespit edilmişken, kontrol grubunda bu degerler ise Toplam Antioksidan Status (TAS); $1,39 \pm 0,22$ mmol troloks Eq/L, Toplam Oksidan Status (TOS); $21,60 \pm 4,20$ $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Eq/L ve Oksidatif Stres Index; $1,57 \pm 0,36$ arbitrary unit olarak saptandı. Bulgularımız **Tablo 1**'de özetlenmiştir.

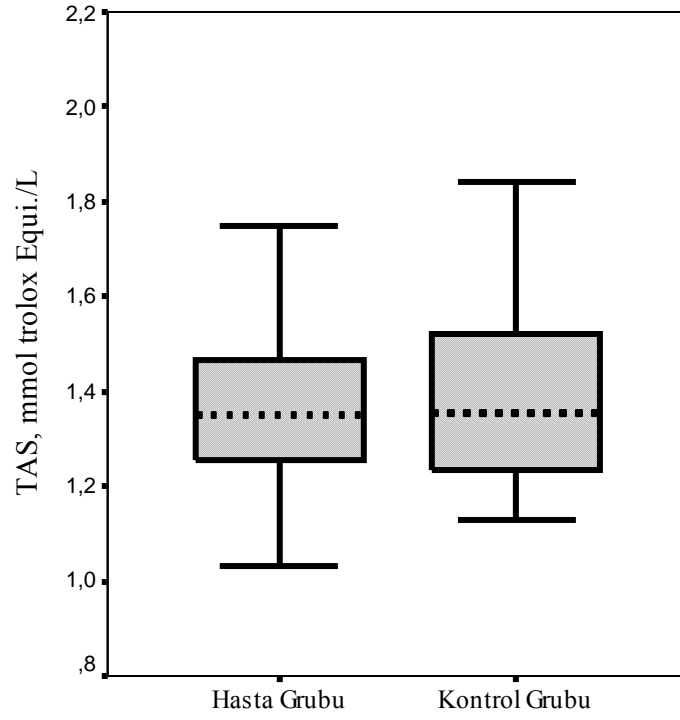
	Hasta Grubu (n=30)	Kontrol Grubu (n=30)	<i>p</i>
Cinsiyet (K/E)	14/16	18/10	0,178
TAS, mmol trolox Eq./L	1,36 ± 0,17	1,39 ± 0,22	0,524
TOS, µmol H ₂ O ₂ Eq./L	24,45 ± 5,71	21,60 ± 4,20	0,035
OSİ, Arbitrary Unit	1,82 ± 0,49	1,57 ± 0,36	0,031

Tablo 1’de hasta ve kontrol grubunun cinsiyet dağılımında anlamlı bir fark bulunamamıştır. Tablodan da görüleceği gibi hasta grubu ile kontrol grubu karşılaştırıldığında; Hasta grubunun Toplam Antioksidan Status (TAS), Toplam Oksidan Status (TOS) ve Oksidatif Stres İndex düzeyleri kontrol grubuna göre yüksek olmasına karşın istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır. (P değerleri sırasıyla, p=0.524, p=0.035, p=0,031) Hasta ve Kontrol grupları arasında DNA Hasarı düzeyleri açısından yapılan incelemede hasta grubunda DNA hasarı ; 4 ± 10,0 iken kontrol grubunda bu değer 2 ± 5,50 olarak tespit edildi.

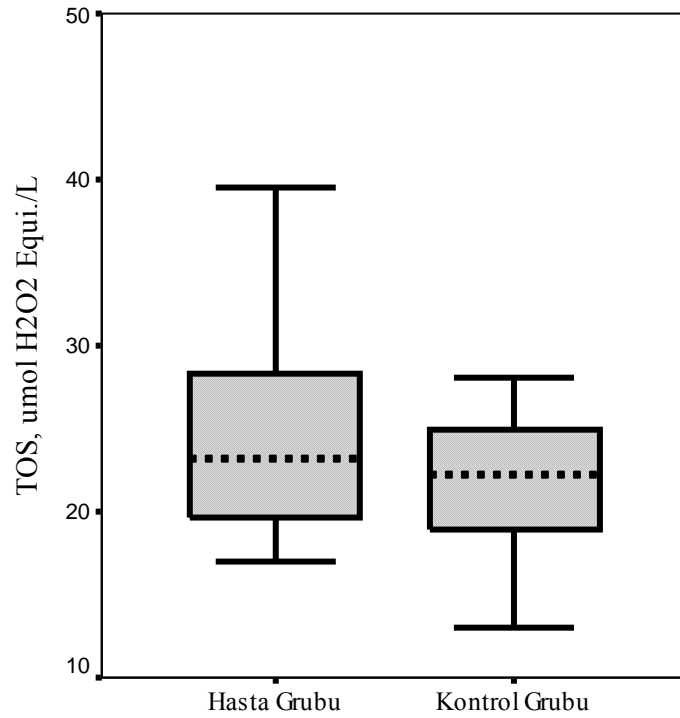
Tablo 2’de de görüleceği gibi Hasta ve Kontrol grupları arasında DNA Hasarı düzeyleri açısından herhangi bir istatistiksel anlam bulunamamıştır. Dağılım normal olmadığı için sonuçlar Median ± İnterquartile Range olarak ifade edilmiştir.

	Hasta Grubu (n=30)	Kontrol Grubu (n=30)	<i>p</i>
DNA Hasarı	4 ± 10.0	2 ± 5.50	0,158

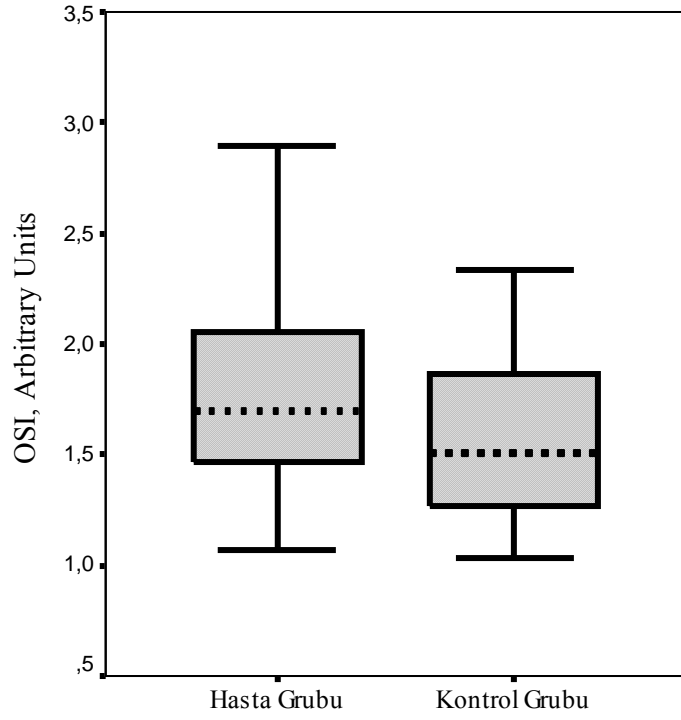
Tablo 2: Hasta ve Kontrol grubunun DNA Hasarı Düzeyinin karşılaştırılması
Median ± İnterquartile Range



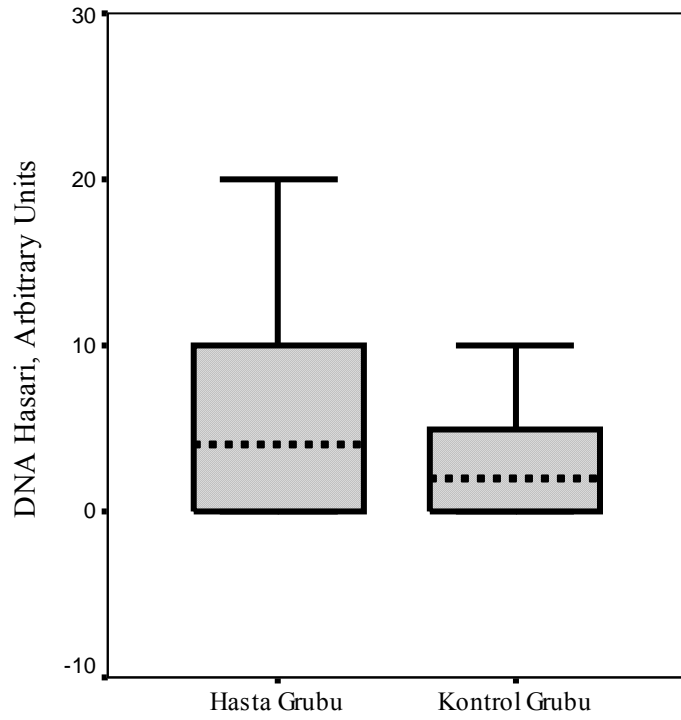
Tablo 3: Hasta ve kontrol gruplarının TAS düzeylerinin arasındaki fark, dağılım ve standart sapmaları



Tablo 4: Hasta ve kontrol gruplarının TOS düzeylerinin arasındaki fark, dağılım ve standart sapmaları



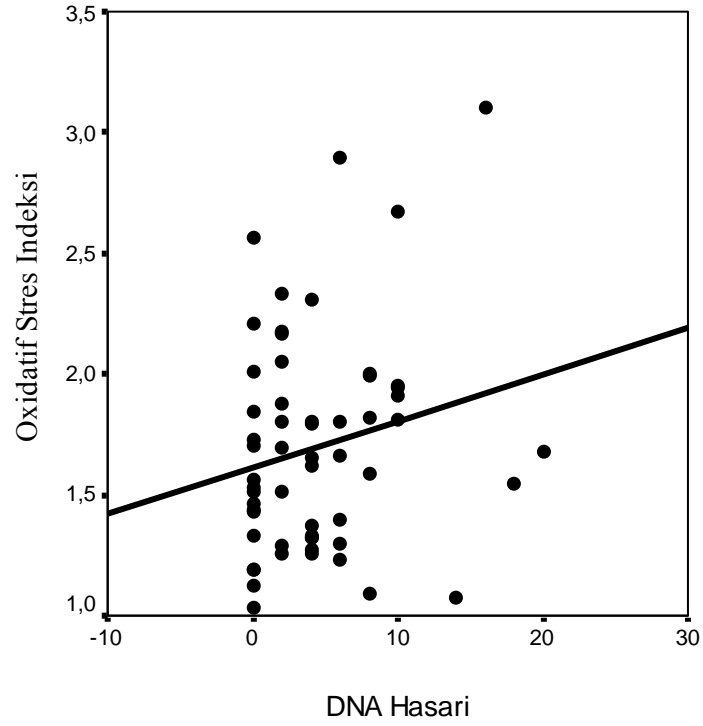
Tablo 5: Hasta ve kontrol gruplarının OSI düzeylerinin arasındaki fark, dağılım ve standart sapmaları



Tablo 6: Hasta ve kontrol gruplarının DNA Hasarı düzeylerinin arasındaki fark, dağılım ve standart sapmaları

		TOS	OSİ	DNA
TAS	r	,055	-,455	,052
	p	,682	,000	,698
TOS	r		,855	,257
	p		,000	,051
OSİ	r			,203
	p			,127

Tablo 7: Oksidatif-antioksidatif parametrelerle DNA hasarı arasındaki Korelasyon analizi



Tablo 8: DNA Hasarı ve OSİ arasındaki korelasyon analizi

5.TARTIŞMA

Down sendromu aynı bireyde 21. kromozomun 3 kez ifade olmasıyla karakterize bir genetik kusurdur. Bu fazladan kromozom birtakım yapısal ve fonksiyonel bozukluklara sebep olur. Down sendromlu olguların %50 sinde işitme ve görme bozuklukları (katarakt, yakın veya uzağı görememe, şaşılık v.s), %10 oranında gastrointestinal sistem bozuklukları (duodenal atreziler, özofagial atreziler vs), %10- 15 inde akut lenfoblastik lösemi, 40 yaşından sonra tamamına yakınında Alzheimer hastalığı ve %40- 50 oranında kalp ve dolaşım sistemi bozuklukları bulunur. Down sendromu tanısı ya da öntanısı alan bireylerin klinik bulguları hastalar arasında değişkenlik göstermektedir. Literatürde en sık görülen klinik bulgular konjenital kalp hastalığı, hipotoni, mongoloid yüz, epikantal kıvrım, simian çizgisi, basık burun kökü, kısa ve geniş boyun ve mikrosefali olarak bildirilmiştir. Yıllar içinde DS'den etkilenmiş bir fetüs taşıma olasılığı yüksek olan gebeliklerin belirlenmesi ve bu gebelere erken aşamada çeşitli seçenekler sunulabilmesi adına zaman içinde farklı prenatal tarama yöntemleri geliştirilmiş ve uygulanmıştır (5-36-37-39-41-67).

Oksidatif stres, aşırı oksidana maruz kalma ve/veya antioksidan kapasitenin azalmasıdır. Biyolojik sistemlerde bir veya daha fazla eşleşmemiş elektron ihtiva eden atom veya moleküllere oksidan veya serbest radikal denmektedir. Oksidanlar hücre yapısını, hücre dışı matriksin yapısını, silia fonksiyonunu ve DNA hasarı yaparak genetik yapıyı bozmaktadırlar. Mitokondrial, endoplazmik ve nükleer elektron transport sistemlerinde (sitokrom P-450), peroksizomlarda, monosit ve nötrofillerin fagositozu gibi normal metabolik olaylar sırasında bol miktarda serbest radikal üretilir. Serbest radikaller DNA, protein ve hücre fosfolipidlerinin çoklu doymamış yağ asitleri olmak üzere birçok organik ve inorganik bileşiklerle reaksiyona girerler. Özellikle DNA'yı etkileyen serbest radikaller önemli zararlara neden olurlar. Bu zararlarda karsinojenik mutasyonlara neden olabilmektedir. Bu radikallerin oluşumunu ve meydana getireceği hasarı önlemek için vücutta birçok savunma mekanizmaları gelişmiştir. Eğer bu radikaller savunma mekanizmalarının kapasitesini asarlarsa hücrelerin lipid, protein, DNA, karbonhidrat ve enzim gibi önemli bileşenlerinde hasara neden olurlar (87).

HücreSEL antioksidan savunma sisteminin serbest radikalleri toksik eşğin altında tutmakta ki yetersizliği veya oksidatif stres durumu hücre içi reaktif oksijen türleri seviyesinin artmasına neden olur. Oksidatif stres ve oksidatif hasar birçok patofizyolojik sürecin erken evrelerinde önemli rol oynar. Oksidatif stres enzimatik, nonenzimatik pek çok antioksidan savunma sistemleriyle önlenebilmektedir (87-88).

Günümüzde çoğunlukla tedavisi mümkün olmayan genetik hastalıklardan korunmanın tek yolu prenatal dönemde, riskli gebeliklerin saptanarak söz konusu hastalığa yönelik testlerin belirlenmesi, fetal dokularda bu testlerin uygulanması ve fetüste herhangi bir anomali saptanması durumunda aileye gebeliği sonlandırabilme olanağının sunulması ile mümkündür. Down sendromu ile de ilişkili olarak hem prenatal hemde postnatal dönemle ilgili çok çeşitli çalışmalar yapılmaktadır. Yapmış olduğumuz bu çalışmada kullandığımız TAS, TOS ve Oksidatif Stres İndex düzeylerinin tespiti bir çok farklı yayında da araştırma konusu olmuştur. Psikiyatrik ve dermatolojik hastalıklarda dahi bu konular araştırılsa da en önemli çalışma gruplarını prenatal hastalıklarla ilgili bilim dalları yapmaktadır (88).

Vural ve ark. 2010'da yaptıkları bir çalışmada nöral tüp defekti (NTD) (anensefali, spina bifida, ensefalosel) olan 36 gebe ile sağlıklı 36 gebede amniyon sıvısında oksidatif stres ve prolidaz aktivitesini değerlendirmişlerdir. NTD'li fetusların amniyon sıvısında prolidaz aktivitesi, TOS ve OSİ kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur, ancak TAS anlamlı derecede düşük bulunmuştur. NTD'li fetuslarda amniyon sıvısında prolidaz aktivitesi ve oksidatif streste artış tespit etmişlerdir (114).

Vırt ve ark. Şizofreni hastalarında kontrollerle karşılaştırıldığında TOS seviyesinde anlamlı farklılık tespit etmemiştir. Pazvantoğlu ve arkadaşları şizofreni hastalarında serum total peroksit seviyelerinde (TPEROX) kontrollere göre anlamlı bir değişiklik tespit etmemiştir (115-116).

Şizofreni hastalarında antioksidan parametrelerin incelendiği çalışmalarda genel olarak TAS düzeyi kontrollerden anlamlı olarak düşük bulunmuş ve şizofreni hastalarında antioksidan bir yetmezliğin olabileceğine işaret edilmiştir (115-117-118). Yakın zaman da yapılan bir çalışmada şizofreni hastalarında TAS düzeyleri kontrollere göre anlamlı olarak düşük bulunmuştur (119). Li ve arkadaşları ilk epizod ve hiç tedavi edilmemiş şizofreni hastalarında TAS düzeyini kontrollerden anlamlı olarak düşük bulmuş ve sonuç olarak oksidatif stresin şizofreninin erken dönemlerinde meydana geldiği, şizofreni patogenezinde ve muhtemelen negatif şizofreni semptomatolojisinde önemli rol oynayabileceği ifade edilmiştir (120).

Literatürde obstetrik risk faktörleri ile oksidatif stress parametrelerinin karşılaştırıldığı birçok makale vardır. Yiğenoğlu ve ark. nın yapmış olduğu çalışmada tekrarlayan gebelik kayıpları izlenen gebelerde anne serumunda azalmış TAS, artmış TOS ve OSI izlenmiştir(121). Safronova ve ark., tekrarlayan gebelik kayıpları hasta grubunda granulositlerde aktif oksijen türevlerinin üretimini arttığını saptamışlardır (122).

Bunlardan farklı olarak oksidatif stres mekanizmalarında herhangi bir değişiklik tespit etmeyen çalışmalar da vardır. Bunlardan birisi Şimşek ve ark. tarafından yapılmıştır.

Tekrarlayan düşüğü bulunan 40 kadın ve 40 sağlıklı kadında antioksidan olan lipoperoksidaz, glutasyon peroksidaz, vitamin A, E yönünden karşılaştırma yapılmış ve hasta grubunda kontrol grubuna göre oksidan artışı ve antioksidanlarda anlamlı derecede düşme tespit etmemişlerdir (123).

Alexa ID. ve ark. 1996'da 34 sağlıklı gebe ve 20 preeklampsili gebeyi bazı antioksidanlar ve oksidanlar açısından karşılaştırmıştır. Preeklampsi grubunda oksidanlarda artış ve antioksidanlarda azalma saptanmıştır. Bunu da plasental iskemi ve lokosit aktivasyonuna bağlı oksidasyon artışının sonucu olarak görmüşlerdir. Yani oksidan artışı ve antioksidan azalmasını bir sebep değil sonuç olarak yorumlamışlardır (124).

Czeizel ve ark.ın Macaristan'da yaptığı 1980 – 1996 yıllarını kapsayan bir vaka-kontrol çalışmasında doğum kayıtları incelenerek 781 DS'li gebelik, eşleşmiş kontrol grubuyla, 38151 kişilik sağlıklı toplum grubuyla ve 22843 kişilik konjenital anomaliye sahip hasta grubuyla karşılaştırılarak incelenmiştir. Bu araştırmanın sonuçlarına göre ilk trimesterde folik asit ve demiri birlikte kullanan annelerin DS'li bebek sahibi olma riski azalmaktadır. İlk trimesterde antioksidan vitamin desteği alma oranıysa çok düşük olarak bildirilmiştir (125).

Meguid ve ark. yaptıkları bir çalışmada daha önceden DS'li bebek dünyaya getirmiş annelerin serumlarında TBARS düzeyinin kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Buna ek olarak DS'li bebek dünyaya getirmiş annelerin in vivo antioksidan özelliklere sahip oldukları bilinen E ve C vitamini düzeyleri ile yine SOD aktivitesinde yardımcı görev üstlenen bakır ve çinko düzeyleri düşük bulunmuştur. Bu annelerin homosistein düzeylerinin de kontrole göre anlamlı derecede yüksek olduğu bildirilmiştir. Yazarlar bu verilerden yola çıkarak anormal folat ve homosistein metabolizmasının DS için risk faktörü olduğunu ve DS'li bebek dünyaya getiren annelerin oksidan/antioksidan dengesinin bozulduğunu öne sürmüşlerdir (126).

Ognibene ve ark. 1999 yılında yayınladıkları bir bildiriye, SOD enziminin alt tiplerinden CuZn-SOD'yi kodlayan genin 21. kromozomda yerleşmiş olması ve DS'de aşırı eksprese edilmesinden yola çıkarak, DS'den etkilenmiş gebeliklerde anne serumunda SOD enzim aktivitesini irdelemişlerdir. Amniyosentezle DS tanısı konulmuş gebeliklerde geriye dönük olarak maternal serumları incelemişler ve DS'den etkilenmiş fetüs taşıyan 9 annenin ortalama serum SOD enzim aktivitesini kontrol grubunu oluşturan 80 annenin ortalamasına göre anlamlı derecede yüksek bulmuşlardır (127).

Sulthana ve ark. 31 DS'li çocuk üzerinde yaptıkları araştırmanın sonucunda enzimatik olmayan antioksidanlar arasında yer alan redükte glutasyonun ve total antioksidan statusun DS'li çocuklarda, yaş ve cinsiyet bakımından eşleştirilmiş kontrol grubuna göre anlamlı

derecede düşük olduğunu bildirmişlerdir. Bu düşüklüğün DS'li çocuklarda oksidatif strese neden olduğunu öne sürmüşlerdir. Ortaya çıkan oksidatif stresin önüne geçmek adına DS'li çocuklara antioksidan desteğin mümkün olan en erken zamanda verilmeye başlanması gerektiğini bildirmişlerdir (128).

Parisotto ve ark.21 DS çocuğa 6 ay boyunca 400 mg E ve 500 mg C vitamini vermişler ve bu tedavi öncesi ile sonrası oksidatif stres durumunu karşılaştırmışlardır. Sonuç olarak down sendromunda antioksidan müdahalenin oksidatif stresi azalttığı sonucuna varmışlardır (129). Yine parisotto ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmaya benzer bir çalışmayı Garlet ve arkadaşları da yapmışlardır. Bu çalışmada DS hastalarına vitamin E vermişler bu tedavinin oksidatif stresi azalttığını, antioksidan enzim seviyesini ise arttırdığını tespit etmişlerdir (130).

Subramaniam P ve ark 34 DS çocukta yaptıkları çalışmada kontrol grubundaki sağlıklı olgulara göre daha düşük total antioksidan kapasite seviyeleri tespit etmişlerdir (131).

Giemeno A. ve ark. yapmış oldukları çalışmada ise Down sendromlu fetusların fibroblastlarında bozulmuş antioksidan kalkanı olduğunu saptamışlardır (132).

Down sendromlu hasta grubu ve kontrol gruplarında demografik özellikleri ele alınarak incelendiğinde istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmayan çalışmamızda down sendromlu hasta grubu ile kontrol grubu karşılaştırıldığında; Down sendromlu grubun TAS seviyeleri kontrol grubuna göre daha düşük bulunmuştur. TOS ve OSI düzeyleri ise kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeylerde yüksek bulunmuştur. Bu sonuçlarımıza göre DS'li hastaların maruz kaldıkları fizyopatolojik durumların, konjenital anomaliler veya sonradan edinilecek patolojiler hassasiyet gibi, onların oksidatif-antioksidatif dengeleri üzerinde oksidanlar lehine oldukça etkili olduğunu göstermektedir. Bu hastalarda yükselmiş olan oksidatif stres maalesef DNA'ları üzerinde de oksidatif hasara neden olmaktadır. Comet assay ile değerlendirdiğimiz oksidatif DNA hasarı DS'li hastalarda kontrol grubuna göre oldukça yüksek bulunmuştur. Bu da yine 21 trizominin oksidatif stresi oldukça yükselttiği ve bu stresinde lipidler, proteinler ve DNA gibi biyomoleküllere ciddi boyutlarda oksidatif hasar verdiğini göstermektedir.

6.SONUÇLAR

Çalışmamızdan elde ettiğimiz bulgular ışığında down sendromunun vücutta oksidanları artırdığı, oluşan oksidatif stresle baş edebilmek için antioksidanların tüketildiğini söyleyebiliriz. Fakat antioksidanların meydana gelen oksidatif stresi dengeleyemediğini ve dolayısıyla oluşan oksidatif stresin lipidler, proteinler ve nükleik asitler gibi biyomoleküller üzerinde oksidatif hasar oluşturmaya engel olamadığını görmekteyiz. Özellikle bu çalışmamızda comet assay ile değerlendirmeye çalıştığımız oksidatif DNA hasarını bu hastalarımızda oldukça yüksek bulduk. Fakat hasta sayımızın kısıtlı olması, mevcut hastalarımızın hepsinin aynı patofizyolojik durumlara sahip olmamaları çalışmamızdaki en önemli kısıtlılıklardı. Bunları göz önünde bulundurarak daha uzun vadeli, daha geniş bir hasta grubunda daha kapsamlı çalışmalarla sonuçlarımızı teyit etmeyi planlamaktayız.

7. KAYNAKLAR

1. Selikowitz M. Down Syndrome: *The Facts*. 3rd ed. Sidney: Oxford University Press; 2008. 6-9
2. Brill MT. *Down Syndrome*. New York: Marshall Cavendish Corporation; 2007. 62
3. Li CM, Guo M, Salas M, Schupf N, Silverman W, Zigman WB. Cell type-specific over-expression of chromosome 21 genes in fibroblasts and fetal hearts with trisomy 21. *BMC Medical Genetics* 2006; 7-24.
4. Uyanık M. Down sendromlu çocuklarda duyu bütünlüğü, vestibular stimülasyon ve nörogelişimsel tedavi yöntemlerinin karşılaştırılması. Doktora tezi, Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü 1994.
5. Lauteslager PEM. *Children with Down's syndrome motor development and intervention*. Nijkerk: Koninklijke Drukkerij C.C. Callenbach; 2000.
6. Bruni M. *Fine Motor Skills in Children with Down Syndrome*. Bethesda: Woodbine House; 1998.
7. Jobling A. Motor development in school-aged children with Down syndrome: a longitudinal perspective. *International Journal of Disability, Development and Education* 1998; 45: 283-93.
8. Down JL. Observations on an ethnic classification of idiots. *London Hospital Reports* 1866; 3: 259-6
9. Kafkaslı A. Gebelikte Down sendromu tanısı için tarama testleri ve güvenilirlikleri. *TJD Uzmanlık Sonrası Eğitim Dergisi* 2004; 6: 30-5.
10. Carter C, Maccarthy D. Incidence of mongolism and its diagnosis in the newborn. *Brit J Soc Med* 1951; 5: 83-90. 32

11. Tjio JH, Levan H. The chromosome number of man. *Hereditas* 1956; 42: 1.12. Lejenué J, Gautier M, Turpin R. Etudes des chromosomes somatiques de neuf enfants mongoliens. *Lancet* 1959; 1: 709-10.
13. Chen H. Down syndrome. Yayınladığı tarih 12.15.2008. Erişim 04.10.2011. Down syndrome: eMedicine: <http://emedicine.medscape.com/article/943216>.
14. Davidson MA. Primary care for children and adolescents with Down syndrome. *Pediatr Clin North Am.* 2008; 55: 1099-113.
15. Chen CL, Gilbert TJ, Daling JR. Maternal smoking and Down syndrome: The confounding effect of maternal age. *Am J Epidemiol.* 1999; 149: 442-6.
16. Urban MF, Stewart C, Ruppelt T, Geerts L. Effectiveness of prenatal screening for Down syndrome on the basis of maternal age in Cape Town. *S Afr Med J.* 2011; 101: 45-8.
17. Connor J, Ferguson Smith MA. *Essential Medical Genetics*. London: Blackwell Scientific Publications; 1994.
18. Morris JK, Alberman E. Trends in Down's syndrome live births and antenatal diagnoses in England and Wales from 1989 to 2008: analysis of data from the National Down Syndrome cytogenetic register. *BMJ.* 2009; 339: 1-5.
19. Penrose LS. The relative effects of paternal and maternal age in mongolism. *J Genet* 2009; 88: 219-24.
20. Snijders RJM, Sundberg K, Holzgreve W, Henry G, Nicolaides KH. Maternal age- and gestation-specific risk for trisomy 21. *Ultrasound Obstet Gynecol* 1999; 13: 167-70.
21. Dursun A, Güran Ş. I. ve II. Trimester Down Sendromu doğum öncesi tarama testi karşılaştırması. *T Klin J Med Sci* 2003; 23: 180-4. 33
22. Apak MY. *Kromozomlar ve Hastalıkları*. İçinde: Neyzi O, Ertuğrul T, editörler. *Pediatrici 2.Cilt*, 4. bas, İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, 2010; 168-169.

- 23.** Krantz DA, Hallahan TW, Orlandi F, Buchanan P, Larsen JW, Macri JN. First-trimester Down syndrome screening using dried blood biochemistry and nuchal translucency. *Obstet Gynecol* 2000; 96: 207-13.
- 24.** Buckley F. Modelling Down syndrome. *Down Syndr Res Prac* 2008; 12:98-102
- 25.** Yoon PW, Freeman SB, Sherman SL, Taft LF, Gu Y, Pettay D, et al. Advanced maternal age and the risk of Down Syndrome characterized by the meiotic stage of the chromosomal error: A population-based study. *Am J Hum Genet* 1996; 58: 628-33.
- 26.** Feingold M, Geggel RL, Marino B, Digilio MC. Health supervision for children with Down Syndrome. *Pediatrics* 2001; 107: 442-9.
- 27.** Fishler K, Koch R. Mental development in Down syndrome mosaicism. *Am J Ment Retard* 1991; 96: 345-51.
- 28.** Hayes A, Batshaw ML. Down syndrome. *Pediatr Clin North Am* 1993; 40: 523-35.
- 29.** Cohen WI, Nadel L, Madnick ME, eds. *Down syndrome: visions for the 21st century*. New York: Wiley-Liss; 2002.
- 30.** McDermott S, Moran R, Platt T, Wood H, Isaac T, Dasari S. Prevalence of epilepsy in adults with mental retardation and related disabilities in primary care. *Am J Ment Retard* 2005; 110:48-56.
- 31.** Johannsen P, Christensen JEJ, Goldstein H, Nielsen VK, Mai J. Epilepsy in Down Syndrome-prevalence in three groups. *Seizure* 1996; 5: 121-5. 34
- 32.** Van Allen MI, Fung J, Jurenka SB. Health care concerns and guidelines for adults with Down Syndrome. *Am J Med Genet* 1999; 89: 100-10.

33. Trotsenburg PV, Heymans SAH, Tijssen JGP, Vijlder JJM, Vulsma T. Comorbidity, hospitalization, and medication use and their influence on mental and motor development of young infants with Down Syndrome. *Pediatrics* 2006; 118: 1633-9.
34. Roizen NJ, Patterson D. Down's syndrome. *Lancet* 2003; 361: 1281-9.
35. Tyrell J, Cosgrave M, McCarron M, McPherson J, Calvert J, Kelly A, et al. Dementia in people with Down Syndrome. *Int J Geriatr Psychiatry* 2001; 16: 1168-74.
36. Rondal JA, Rasore-Quartino A. eds. *Therapies and rehabilitation in Down Syndrome*. London: John Wiley and Sons Press; 2007.
37. Ali FE, Al-Bustan MA, Al-Busairi WA, Al-Mulla FA, Esbaita EY. Cervical spine abnormalities associated with Down syndrome. *Int Orthop* 2006; 30: 284-9.
38. Pueschell SM. Atlantoaxial instability and Down Syndrome. *Pediatrics* 1988; 81: 879-80.
39. Davidson RG. Atlantoaxial instability in subjects with Down Syndrome: A fresh look at the evidence. *Pediatrics* 1988; 81: 857-65.
40. Pizzutillo PD, Herman MJ. Musculoskeletal concerns in the young athlete with Down Syndrome. *Oper Tech Sports Med* 2006; 14: 135-40.
41. Mssal ME, Reese ME, DiGaudio K, Griswold K, Granger CV, Cooke RE. Symptomatic atlantoaxial instability associated with medical and rehabilitative procedures in children with Down Syndrome. *Pediatrics* 1990; 85: 447-9. 35
42. Freeman SB, Taft LF, Dooley KJ, Allran K, Sherman SL, Hassold TJ, et al. Population-based study of congenital heart defects in Down Syndrome. *Am J Med Genet* 1998; 80: 213-7.

43. Pameijer CR, Hubbard AM, Coleman B, Flake AW. Combined pure esophageal atresia, duodenal atresia, biliary atresia, and pancreatic ductal atresia: Prenatal diagnostic features and review of the literature. *J Pediatr Surg* 2000; 35: 745-7.
44. Freeman SB, Torfsb CP, Romittic PA, Royled MH, Druschele C, Hobbsf CA, et al. Congenital gastrointestinal defects in Down syndrome: a report from the Atlanta and National Down Syndrome Projects. *Clin Genet* 2009; 75: 180-4.
45. Buggenhout V, Trommelen JCM, Schoenmaker A, De Bal C, Verbeek JJMC, Smeets DFCM, et al. Down Syndrome in a population of elderly mentally retarded patients: Genetic-diagnostic survey and implications for medical care. *Am J Med Genet* 1999; 85: 376-84.
46. Praser VP. Screenin of medical problems in adults with Down Syndrome. *Downs Syndr Res Pract* 1994; 2: 59-66.
47. John FM, Bromham NR, Woodhouse JM, Candy TR. Spatial vision deficits in infants and children with Down Syndrome. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2004; 45: 1566-72.
48. Connolly BH, Michael BT. Performance of retarded children, with and without Down Syndrome, on the Bruininks Oseretsky test of motor proficiency. *Phys Ther* 1986; 66: 344-8.
- 36
49. Palisano RJ, Walter SD, Russell DJ, Rosenbaum PL, Ge'mus M, Galuppi BE, et al. Gross motor function of children with Down Syndrome: Creation of motor growth curves. *Arch Phys Med Rehabil* 2001; 82: 494-500.
50. Bell AJ, Bhate MS. Prevalence of overweight and obesity in Down's syndrome and other mentally handicapped adults living in the community. *J Intellect Disabil Res* 1992; 36: 359-64.
51. Prasher VP. Overweight and obesity amongst Down's syndrome adults. *J Intellect Disabil Res.* 1995; 39: 437-41.

- 52.** Rubin SS, Rimmer JH, Chicoine B, Braddock D, McGuire DE. Overweight prevalence in persons with Down Syndrome. *Ment Retard* 1998; 36: 175- 81.
- 53.** Hill DA, Gridley G, Cnattingius S, Mellekjaer L, Linet M, Adami HO, et al. Mortality and cancer incidence among subjects with Down Syndrome. *Arch Intern Med* 2003; 163:705-11.
- 54.** Roper RJ, Reeves RH. Understanding the basis for Down Syndrome phenotypes. *Plos Genetics* 2006; 2: 231-6.
- 55.** Yang Q, Rasmussen SA, Friedman JM. Mortality associated with Down's syndrome in the USA from 1983 to 1997: a population-based study. *Lancet* 2002; 359: 1019–25.
- 56.** Bittles AH, Glasson EJ. Clinical, social, and ethical implications of changing life expectancy in Down syndrome. *Dev Med Child Neurol* 2004; 46: 282–6.
- 57.** Janicki MP, Dalton AJ, Henderson CM, Davidson PW. Mortality and morbidity among older adults with intellectual disability: health services considerations. *Disabil Rehabil* 1999; 21: 284-94.
- 58.** Shott SR, Joseph A, Heithaus D. Hearing loss in children with Down Syndrome. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* 2001; 61(3): 199–205.
- 59.** Glasson EJ, Sullivan SG, Hussain R, Petterson BA, Montgomery PD, Bittles AH. The changing survival profile of people with Down's syndrome: implications for genetic counselling. *Clin Genet* 2002; 62: 390–3.
- 60.** Barnhart RC, Connolly B. Aging and Down Syndrome: Implications for physical therapy. *Phys Ther* 2007; 87: 1399-406.
- 61.** Day SM, Strauss DJ, Shavelle RM, Reynolds RJ. Mortality and causes of death in persons with Down syndrome in California. *Dev Med Child Neurol* 2005; 47: 171-6.

62. Hermon C, Alberman E, Beral V, Swerdlow AJ. Mortality and cancer incidence in persons with Down's syndrome, their parents and siblings. *Ann Hum Genet* 2001; 65: 167-76.
63. Schieve LA, Boulet SL, Boyle C, Rasmussen SA, Schendel D. Health of children 3 to 17 years of age With Down Syndrome in the 1997-2005 national health interview survey. *Pediatrics* 2009; 123; 253-60.
64. Määttä T, Kaski M, Taanila A, Keinänen-Kiukaanniemi S, Livanainen M. Sensory impairments and health concerns related to the degree of intellectual disability in people with Down syndrome. *Downs Syndr Res Pract* 2006; 11: 78-83.
65. Määttä T, Tervo-Määttä T, Taanila A, Kaski M, Livanainen M. Mental health, behaviour and intellectual abilities of people with Down syndrome. *Downs Syndr Res Pract* 2006; 11: 37-43.
66. Allt JE, Howell CH. Down syndrome. *British Journal of Anaesthesia* 2003; 3: 83-6. 38
67. Paterson S. Language and number in Down syndrome: the complex developmental trajectory from infancy to adulthood. *Downs Syndr Res Pract* 2001; 7: 79-86.
68. Roberts JE, Price J, Malkin C. Language and communication development in Down Syndrome. *Ment Retard Dev Disabil Res Rev* 2007; 13: 26-35.
69. Chapman RS, Hesketh LJ. Language, cognition, and short-term memory in subjects with Down syndrome. *Downs Syndr Res Pract* 2001; 7: 1-7.
70. Bilginer H. Down Sendromlu Çocuklarda Dil Gelişimi. *Hacettepe Üniversitesi Edebiyat Fakültesi Dergisi* 2002; 19: 165-79.
71. Teipel SJ, Schapiro MB, Alexander GE, Krasuski JS, Horwitz B, Moller CHH, et al. Relation of corpus callosum and hippocampal size to age in nondemented adults with Down's syndrome. *Am J Psychiatry* 2003; 160: 1870-6.

72. Raz N, Torres IJ, Briggs SD, Spencer WD, Thornton AE, Loken WJ, et al. Selective neuroanatomic abnormalities in Down's syndrome and their cognitive correlates: Evidence from MRI morphometry. *Neurology* 1995; 45: 356-66.
73. Shumway-Cook A, Woollacott MH. Dynamics of Postural Control in the Child with Down Syndrome. *Phys Ther* 1985; 65: 1315-22.
74. Almelda L, Corcos DM, Latash ML. Practice and transfer effects during fast single-joint elbow movements in subjects with Down Syndrome. *Phys Ther* 1994; 74: 1000-12.
75. Haley SM. Postural reactions in infants with Down Syndrome relationship to motor milestone development and age. *Phys Ther* 1986; 66: 17
76. Baden, J.M., Simmon, V.F.: Mutagenic Effect of Inhalation Anesthetics, *Anesthesiology*, 1980;75: 16989.
77. Betti, C., Davini, T., Gianessi, L., Loprieno, N., Baral, E.R.: Comparative Studies by Comet Tests and SCE Analysis in Human Lymphocytes From 200 Healthy Subjects, *Mutat. Res.*,1995; 343: 2017
78. Martin, V.J., Gren, M.H.L., Schmezer, P.: The Single Cell Gel Electrophoresis Assay: A European Review, *Mutat. Res.*, 1993; 288: 4763
79. Burlingame JM, Esfandiari N, Sharma RK et al: Total antioxidant capacity and reactive oxygen species in amniotic fluid. *Obstet Gynecol*, 2003; 101: 756-61.
80. Wijnberger LD, Krediet TG, Visser GH et al: Early neonatal antioxidant capacity after preexisting impaired placental function. *Early Hum Dev*, 2003; 71:111-6.
81. Gupta P, Narang M, Banerjee BD et al: Oxidative stress in term small for gestational age neonates born to undernourished mothers: A case control study. *BMC Pediatr*, 2004; 4:14.
82. Stirpe F, Ravaioli M, Battelli MG et al. Xanthine oxidoreductase activity in human liver disease. *Am J Gastroenterol*, 2002; 97: 2079-85.

- 83.** Ceran C, Sönmez K, Türkyılmaz Z et al. Effect of bilirubin in ischemia/reperfusion injury on rat small intestine. *J Pediatr Surg*, 2001; 36:1764-7.
- 84.** Buonocore G, Perrone S, Bracci R. Free radicals and brain damage in the newborn. *Biol Neonate*, 2001; 79:180-6.
- 85.** Kılınç K, Kılınç A. Oksijen toksisitesinin aracı molekülleri olarak oksijen radikalleri. *Hacettepe Tıp dergisi*, 2002; 33:110-118.
- 86.** Shuttleworth G : Mongolian imbecility *Br Med J* 2009; 2:661- 1909
- 87.** Akkus İ. Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. Akkuş İ.(Ed), Konya, Mimoza yayınları, 1995
- 88.** McCord JM. Human disease, free radicals, and the oxidant/antioxidant balance. *Clinical Biochemistry*, 1993; 26:351-357.
- 89.** Otani K, Shimizu S, Chijiwa K et al. Increased Urinary Excretion of Bilirubin Oxidative Metabolites in Septic Patients: A New Marker for Oxidative Stress in Vivo¹. *Journal of Surgical Research*, 2001; 96: 44–49.
- 90.** Minetti M, Mallozzi C, Michela AM et al: Bilirubin is an effective antioxidant of peroxynitrite-mediated protein oxidation in human blood plasma. *Arch Biochem Biophys*, 1998; 352(2):165-74.
- 91.** Stocker R: Antioxidant activities of bile pigments. *Antioxid Redox Signal*, 2004; 6:841-9.
- 92.** Lindeman JH, Lentjes EG, Houdkamp E et al. Effect of an exchange transfusion on plasma antioxidants in the newborn, 1992; 90:200-3.
- 93.** Raha S, Robinson BH. Mitochondria, oxygen free radicals, disease and ageing. *TIBS*, 2000; 25: 502-507.

94. Yamamoto Y. Role of active oxygen species and antioxidants in photoaging. *Journal of Dermatological Science*, 2001; 27:1-4.
95. Aver'yanov AA, Lapikova VP, Pasechnik TD. Active oxygen: A possible role for rice resistance to blast. *Cahiers Options Mediterraneennes*, 2010; 15(3):103-106.
96. Asad SF, Singh S, Ahmad A et al. Prooxidant and antioxidant activities of bilirubin and its metabolic precursor biliverdin: a structure-activity study. *Chem Biol Interact*, 2001;137: 59-74.
97. Cros CE, Halliwell B, Borish E et al. Oxygen Radicals And Human Disease. *Ann . Intern. Med.*, 1987; 107: 526 – 45.
98. Buonocore G. Perrone S. Longini M et al. Total hydroperoxide and advanced oxidation protein products in preterm hypoxic babies. *Pediatr Res*, 2000;47:221-4.
99. Eger, E.I., Laster, M.J., Winegar, R., Han, C., Gong, D.: Compund A Induces Sister Chromatid Exchanges in Chinese Hamsters Ovarial Cells, *Anesthesiology*, 1997; 86: 91822
100. Morgan, G.E., Mikhail, S.M.: The Practice of Anesthesiology. In “*Clinical Anesthesiology*” Appleton & Lange, Stanford, Connecticut, 2002: 114-115
101. Olive, P.L., Banath, J.B., Durand, R.E.: Heterogenicity in RadiationInduced DNA Damage and Repair and Tumor and Normal Cells Measured Using The “Comet” Assay, *Radiat. Res.*, 1990; 122: 8694
102. Fairban, D.W., Olive, P.L., O’neill, K.L.: The Comet Assay: A Comprehensive Review, *Mutat. Res.*, 1995; 339-3759
103. Gedik, C.M., Evren, S.W.B., Collins, A.R.: Single Cell Gel Electrophoresis Applied to the Analysis of UVC Damage and its Repair in Human Cells, *Int. J. Radiat. Biol.*, 1992; 62: 31320

104. Collins AR. The comet assay for DNA damage and repair: principles, applications, and limitations. *Mol Biotechnol.* 2004; 26(3): 249-61

105. <http://www.geocities.com.cometassay>

106. Kassie, F., Parzefall, W., Knasmuller, S.: Single Cell Gel Electrophoresis Assay: A New Technique for Human Biomonitoring Studies, *Mutat. Res.*, 2000; 463-1331

107. Collins, A.R., Raslova, K., Somorovska, M., Petrovska, H., Ondrusova, A., Vohnout, B., Fabry, R., Dusinska, M.: DNA Damage in Diabetes Correlation with Clinical Marker, *Free Radic. Biol. & Med.*, 1998; 25-77

108. Sardas, S., Yilmaz, M., Oztok, U., Cakır, N., Karakaya, A.E.: Assesment of DNA Strand Breakage by Comet Assay in Diabetic Patients and the Rol of Antioxidant Supplementation, *Mutat. Res.*, 2001; 490: 1239

109. Binkova, B., Lewtas, J., Miskova, I., Rossner, P., Mrackova, M.C., Mumford, S.M.: Biomarker Studies in Northern Bohemia, *Environ. Health. Perspect.*, 1996; 104: 5917

110. Erel O. A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clin Biochem.* 2005; 38: 1103-11

111. Singh PN, McCoy MT, Tice RR, Schneider EL. A simple technique for quantitation of low levels of DNA damage in individual cells, *Exp. Cell. Res.* 1988; 175: 184–191.

112. Erel O. A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation. *Clinical Biochemistry* 2004; 37: 277– 285

113. Aycicek A., Varma M., Koc A., Kocyigit A., Erel O. Maternal active or passive smoking causes oxidative stres in placental tissue. *Eur J Pediatr* 2011; 170: 645–651

114. Vural M , Camuzcuoglu H , Toy H, Aksoy N . Amniotic Fluid Prolidase Activity and Oxidative Status in Neural Tube Defects Departments of a Obstetrics and Gynecology, and b

Biochemistry, School of Medicine, Harran University, Sanliurfa , Turkey Received: Fetal Diagn Ther 2010;28:34–39

115. Vırit O, Altındağ A, yumru M, Dalıkılıç A, Savaş HA ve ark. A defect in the antioxidant defense system in schizuphrenia. 2009;60:87-93

116. Pazvantoglu O, Selek S, Okay IT, Sengul C, Karabekiroglu K, Dilbaz N, Erel O. Oxidative mechanisms in schizophrenia and their relationship with illness subtype and symptom profile. *Psychiatry Clin Neurosci.* 2009; 63(5):693-700.

117. Ustundag B, Atmaca M, Kirtas O, Selek S, Metin K, Tezcan E. Total antioxidant response in patients with schizophrenia. *Psychiatry Clin Neurosci.* 2006; 60(4):458- 464.

118. Yao JK, Reddy R, McElhinny LG, van Kammen DP. Reduced status of plasma total antioxidant capacity in schizophrenia. *Schizophr Res.* 1998; 32(1):1-8.

119. Gunes M. Şizofreni Hastalarında Oksidatif Metabolizmanın Değerlendirilmesi. Uzmanlık Tezi. Sanliurfa: Harran Üniversitesi. 2009; 47-58.

120. Li XF, Zheng YL, Xiu MH, Chen da C, Kosten TR, Zhang XY. Reduced plasma total antioxidant status in first-episode drug-naive patients with schizophrenia. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 2011; 35(4):1064-1067.

121. Özgür Yiğenoğlu, Mete Gürol Uğur, Ebru Öztürk, Özcan Balat, Özcan Erel, Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı, Gaziantep Ankara Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Ankara, *İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi* 2011;18(4):236-9.

122. Safronova VG, Matveeva NK, Avkhacheva NV, Sidel'nikova VM, Van'ko LV, Sukhikh GT. Changes in regulation of oxidase activity of peripheral blood granulocytes in women with habitual abortions. *Bull Exp Biol Med* 2003; 136: 257-60.

123. M. Simsek, M. Nazıroğlu, H. Simsek, M. Cay. Blood plasma level of lipoperoxides, glutathione peroxides, beta carotene, vitamin A, E in women habitual abortion. *Cell Biochem Funct.* 1998;16, 227-231.

- 124.** Alexa ID, Jerca L, Gheorghiu V. The role of lipid peroxidation and of the antioxidant systems in normal pregnancy and in pre-eclampsia. *Rev Med Chir Soc Med Nat Iasi*. 1996; Jul-Dec:100(3-4):84-9.
- 125.** Czeizel AE, Puho E. Maternal use of nutritional supplements during the first month of pregnancy and decreased risk of Down's syndrome: case-control study. *Nutrition*. 2005;21(6):698-704
- 126.** Meguid NA, Dardir AA, El-Sayed EM, Ahmed HH, Hashish AF, Ezzat A. Homocysteine and oxidative stress in Egyptian children with Down syndrome. *Clin Biochem*. 2010;43(12):963-967.
- 127.** Ognibene A, Ciuti R, Tozzi P, Messeri G. Maternal serum superoxide dismutase (SOD): a possible marker for screening Down syndrome affected pregnancies. *Prenat Diagn*. 1999;19(11):1058-1060.
- 128.** Sulthana SM, Kumar SN, Sridhar MG, Bhat BV, Rao KR. Levels of Non Enzymatic Antioxidants in Down Syndrome. *Indian J Pediatr*. 2012. doi: 10.1007/s12098-012-0795-8.
- 129.** Parisotto ve ark. antioxidant intervention attenuates oxidative stress in children and teenagers with DS. *PUBMED* 2014;35:1228-36
- 130.** Garlet et al. systemic oxidative stress in children and teenagers with DS. *PUBMED* 2013; 93: 558-63
- 131.** Subramaniam P et al. Assessment of salivary TAC levels and oral health status in children with DS. *PUBMED* 2013;12054
- 132.** Giemeno A. et al. Decreased cell proliferation and higher oxidative stress in fibroblasts from DS fetuses. *PUBMED* 2014;1842:116-25
- 133.** Başaran N. Tıbbi Genetik, syf. Bursa, Güneş & Nobel Tıp Kitabevi, 8. Baskı. 2003; 140-172, 180-194, 249-257.



T.C.
HARRAN ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
Etik Kurul Başkanlığı

Sayı : B.30.2.HRÜ.0.20.05.00.050.01.04-
Konu : Proje

29./03/2013

Sayın: Prof.Dr. Nurten AKSOY
Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi
Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Öğretim Üyesi

Yürüttüğünüz “Down Sendromlu Çocuklarda DNA Hasarı ve Oksidan Antioksidan Durumun Değerlendirilmesi” başlıklı çalışmaya Etik Kurul Onayı verilmesine ilişkin Etik Kurulumuzun 04.03.2013 tarih ve 03 nolu oturum 27 sayılı kararı yazımız ekinde gönderilmektedir.

Bilgilerinizi ve gereğini rica ederim.

Doç.Dr. Hakan CAMUZCUOĞLU
Etik Kurul Başkan Vekili

EK: Etik Kurul Kararı (1 Adet)

Tıp Fakültesi Morfoloji Binası Diyarbakır yolu üzeri Yenişehir Kampüsü 63300 ŞANLIURFA
Telefon : (0 414) 318 30 31 – 318 30 00 Fax: (0 414) 318 31 92 e-mail: etik.kurul@yahoo.com

HARRAN ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ Etik Kurul Kararı	
TARİH	: 04.03.2013
OTURUM	: 03
SAAT	: 13:30

03/03/27

Karar: Üniversitemiz Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof.Dr. Nurten AKSOY’un sorumlu araştırmacı olduğu “Down Sendromlu Çocuklarda DNA Hasarı ve Oksidan Antioksidan Durumun Değerlendirilmesi” başlıklı çalışmaya Etik Kurul Onayı verilmesine,
Oybirliğiyle karar verilmiştir.

ASLI GİBİDİR

Doç.Dr. Hakan CAMUZCUOĞLU
Etik Kurul Başkan Vekili