

T.C  
NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ  
MERAM TIP FAKÜLTESİ  
KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM ANABİLİM DALI

**METİLTETRAHİDROFOLAT REDÜKTAZ (MTHFR) GEN  
POLİMORFİZMİ, FOLAT METABOLİZMASI VE  
HOMOSİSTEİN DEĞERİ İLE DOWN SENDROMU RİSKİ  
ARASINDAKİ İLİŞKİNİN İNCELENMESİ**

UZMANLIK TEZİ  
**Dr. Refika SELİMOĞLU**

TEZ DANIŞMANI  
**Prof. Dr. Metin ÇAPAR**

**KONYA- 2012**

## İÇİNDEKİLER

İÇİNDEKİLER.....	I
KISALTMALAR.....	III
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	IV
ŞEKİLLER ve TABLOLAR DİZİNİ.....	V
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. Down Sendromu .....	4
2.2. Down Sendromunun Bulguları .....	4
2.2.1. Sitogenetik Bulgular .....	4
2.2.2. Fiziksel Bulgular .....	6
2.2.3. Eşlik Eden Major Konjenital Anomaliler .....	7
2.2.4. Göz Bulguları .....	7
2.2.5. İşitme Bozuklukları .....	8
2.2.6. Nörolojik Bulgular .....	8
2.2.7. Hematolojik Bozukluklar .....	9
2.2.8. İmmünolojik Defektler .....	9
2.2.9. Endokrin Bozukluklar .....	9
2.2.10. Büyüme Hızı ve Boy Uzunluğu .....	10
2.2.11. Üreme Fonksiyonları .....	10
2.2.12. Ürolojik Anormallikler.....	10
2.2.13. Davranış ve psikiyatrik bozukluklar.....	11
2.2.14. Obezite.....	11
2.2.15. Uyku apnesi ve Pulmoner Bozukluklar.....	11
2.2.16. Cilt Hastalıkları.....	11
2.2.17. Atlantoaksiyel İnstabilite.....	12
2.2.18. Artropati.....	12
2.3. Down Sendromunun Prenatal Tanısı .....	12
2.3.1. Prenatal tanı.....	12
2.3.2. Prenatal Tanı Yöntemleri.....	12
2.3.3. Down Sendromunda Prenatal Tarama Testleri.....	13
2.3.4. Test Sonuçlarının Değerlendirilmesi.....	19
2.3.5. Prenatal USG.....	20
2.3.6. İnvaziv Yöntemler.....	23
2.3.7. Maternal kandaki fetal hücreler.....	23
2.4. Down Sendromunun Etyolojisine Yönelik Hipotezler.....	23
2.4.1. Anne yaşı ve DS riski.....	23
2.4.2. Anne Yaşının Folat Metabolizmasıyla Down Sendromu Riski Açısından İlişki.....	26
2.4.3. Baba Yaşı, Folat Metabolizması Ve DS Riski.....	28
2.4.4. Folat, Homosistein Metabolizması ve DS riski.....	29
2.4.5. Metilentetrahidrofolat Redüktaz Polimorfizmi.....	34
2.4.6. Vitamin B12 (kobalamin) ve Down Sendromu Riski.....	37
2.4.7. B6 vitamin (piridoksal fosfat) ve Down Sendromu Riski.....	38
2.5. Down Sendromu ile ilişkili diğer genler.....	38
2.5.1. Metionin Sentaz-Metionin Sentaz Redüktaz (MTR-MTRR) .....	38
2.5.2. Folat Taşıyıcıları (RFC1 veya SLC19A1) .....	39
2.5.3. Sistatyonin Beta Sentaz .....	40
2.5.4. Timidilat sentaz (TYMS) ve Down Sendromu riski.....	40
2.5.5. Metilentetrahidrofolat dehidrogenaz (MTHFD1) ve Down Sendromu riski.....	41
2.5.6. Folat/homosistein Metabolizmasında Görevli Kromozom 21'de Lokalize Olan Diğer Genler.....	41
3. GEREÇ ve YÖNTEMLER.....	42
3.1. Araştırmanın tipi.....	42
3.2. Gönüllülerin Araştırmaya Dahil Edilme Kriterleri.....	42
3.3. Araştırma öncesi bilgilendirme.....	42

3.4.	Araştırmanın izni ve etik durum.....	42
3.5.	Araştırmanın evreni ve yeri.....	42
3.6.	Araştırma Grubu Bireylerinin Demografik Özellikleri.....	42
3.7.	MTHFR Gen Polimorfizm Ölçümü .....	43
3.7.1.	DNA İzolasyonu.....	43
3.7.2.	DNA Amplifikasyonu.....	43
3.7.3.	Bölgesel dizileme yöntemi (Pyrosequencing) .....	44
3.8.	Homosistein, B6 vitamin , B12 vitamin, ve folik asit düzeylerinin ölçümü	44
3.8.1.	Kullanılan Kimyasallar ve Kitler.....	45
3.8.2.	Homosistein Ölçümü .....	45
3.8.3.	B6 Vitamin Ölçümü .....	45
3.8.4.	B12 vitamin, folik asit Ölçümü .....	46
3.9.	Verilerin İstatistiksel Olarak Değerlendirilmesi.....	46
4.	<b>BULGULAR.....</b>	<b>47</b>
5.	<b>TARTIŞMA.....</b>	<b>62</b>
6.	<b>SONUÇ VE ÖNERİLER.....</b>	<b>74</b>
7.	<b>ÖZET.....</b>	<b>76</b>
8.	<b>SUMMARY.....</b>	<b>78</b>
9.	<b>KAYNAKLAR .....</b>	<b>80</b>
10.	<b>TEŞEKKÜR.....</b>	<b>94</b>
11.	<b>EKLER.....</b>	<b>95</b>

## SİMGELER VE KISALTMALAR

<b>AAİ</b>	: Atlantoaksiyal instabilite
<b>ACTH</b>	: Adrenokortikotropik hormon
<b>AFP</b>	: Alfa- fetoprotein
<b>ALL</b>	: Akut lenfoblastik lösemi
<b>AMKL</b>	: Akut megakaryoblastik lösemi
<b>Apo E</b>	: Apolipoprotein E
<b>AS</b>	: Amniosentez
<b>Beta-HCG</b>	: Serbest beta human koryonik gonadotropin
<b>cBS</b>	: Sistathionin-B-sentaz
<b>CBS</b>	: Sistatyonin b- sentaz
<b>cffDNA</b>	: cell free fetal DNA
<b>CRL</b>	: Baş- popo uzunluğu
<b>CVS</b>	: Koryon villus örnekleme
<b>dATP</b>	: Deoksi Adenin Trifosfat
<b>dGTP</b>	: Deoksi Guanin Trifosfat
<b>DHEA-S</b>	: Dehidroepiandrosteron sülfat
<b>DHF</b>	: Dihidrofolat
<b>DKH</b>	: Doğumsal Kalp Hastalıkları
<b>DNA</b>	: Deoksiribonükleik asit
<b>DR</b>	: Algılama hızı
<b>DS</b>	: Down Sendromu
<b>DSA</b>	: Down Sendromlu anne
<b>Dtmp</b>	: Deoksi timin monofosfat
<b>dTTP</b>	: Deoksi Timidin Trifosfat
<b>dUMP</b>	: Deoksi üridin monofosfat
<b>dUTP</b>	: Deoksi Uridin Trifosfat
<b>EDTA</b>	: Etilendaimin Tetraasetik Asit
<b>FBS</b>	: Fetal kan örnekleme
<b>FCTD</b>	: Formiminotetrahidrofolat siklodeaminaz
<b>FISH</b>	: Floresan In Stu Hibridizasyon
<b>FPR</b>	: Yabancı pozitiflik oranı
<b>FR</b>	: Folat Reseptör
<b>GART</b>	: Fosforibozil glisinamid transformilaz
<b>GSH</b>	: Glutatyon
<b>Hcy</b>	: Homosistein
<b>MAT</b>	: Metionin adenozil transferaz
<b>MPS</b>	: Masif Paralel Sekanslama
<b>ML-DS</b>	: DS'nin myeloid lösemisi
<b>Mom</b>	: Multiple of the median
<b>MSAFP</b>	: Maternal serum Alfa-fetoprotein
<b>MTHFD1</b>	: Metilentetrahidrofolat dehidrogenaz
<b>MTHFR</b>	: Metilentetrahidrofolat Redüktaz
<b>MTR</b>	: Metionin sentaz

<b>MTRR</b>	: Metionin sentaz redüktaz
<b>NADPH</b>	: Nicotinamid adenin dinükleotid fosfat
<b>NT</b>	: Ense kalınlığı
<b>OR</b>	: Odds ratio
<b>PAPP-A</b>	: Plazma protein-A
<b>PCFT</b>	: Proton- coupled Folat Transporter
<b>RFC1</b>	: Azaltılmış Folat Taşıyıcı 1
<b>RNA</b>	: Ribonükleik asit
<b>SAH</b>	: S-adenozil homosisteine
<b>SAM</b>	: S-adenozil metionin
<b>SD</b>	: Standart Deviasyon
<b>TC</b>	: Transkobalamin
<b>tHcy</b>	: Total homosistein
<b>TYMS</b>	: Timidilat sentaz
<b>TYMS</b>	: Timidilat sentaz
<b>uE3</b>	: Ankonjuge östrojen
<b>µl</b>	: Mikrolitre

## ŞEKİLLER ve TABLOLAR DİZİNİ

### ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. İnsan folat metabolik yolağı

Şekil 2. DNA Sentezi ve DNA Metilasyonu

### TABLolar DİZİNİ

Tablo 1. Down Sendromunda minor malformasyon sıklığı

Tablo 2. Down Sendromu tarama testlerinin tanımları

Tablo 3. Anne yaşı ile ilişkili olarak canlı doğumlarda ve fetüslerde Down Sendromu insidansı

Tablo 4. Hiperhomosisteinemi nedenleri

Tablo 5. Kolmogorov Smirnov testi

Tablo 6. Maternal MTHFR C677T Genotipi

Tablo 7. Maternal MTHFR A1298C Genotipi

Tablo 8. Maternal B6 Vitamini, B12 Vitamini, Folik Asit, Homosistein Düzeyleri

Tablo 9. Annelerde lojistik regresyon analizini doğrulamak için Hosmer-Lemeshow testi

Tablo 10. Maternal Logistik regresyon analizi sınıflandırma tablosu

Tablo 11. DS' da etkili olduğu düşünülen faktörlerin anneler üzerine etkisinin araştırılması

Tablo 12. Yeni Folik asit değeri ile DS' da etkili olduğu düşünülen faktörlerin anneler üzerine etkisinin araştırılması

Tablo 13. Paternal MTHFR C677T Genotipi

Tablo 14. Paternal MTHFR A1298C Genotipi

Tablo 15. Paternal B6 Vitamini, B12 Vitamini, Folik Asit, Homosistein Düzeyleri

Tablo 16. Babalarda Lojistik regresyon analizini doğrulamak için Hosmer-Lemeshow testi

Tablo 17. Paternal Logistik regresyon analizi sınıflandırma tablosu

Tablo 18. DS' da etkili olduğu düşünülen faktörlerin babalar üzerine etkisinin araştırılması

Tablo 19. Yeni Folik asit değeri ile DS' da etkili olduğu düşünülen faktörlerin babalar üzerine etkisinin araştırılması

Tablo 20. Anne ve Babalarda Lojistik regresyon analizini doğrulamak için Hosmer-Lemeshow testi

Tablo 21. Anne ve Babalarda kombine Logistik regresyon analizi sınıflandırma tablosu

Tablo 22. DS'da etkili olduğu düşünülen faktörlerin anne ve babalar üzerine kombine etkisinin araştırılması

**Tablo 23.** Yeni folik asit deęeri ile DS'da etkili olduęu dūřünölen faktörlerin anne ve babalar üzerine kombine etkisinin arařtırılması

**Tablo 24.** Sağlıklı ve Down Sendromlu çocuklarda MTHFR gen polimorfizmleri

**Tablo 25.** Sağlıklı ve Down Sendromlu çocuklarda B6 Vitamini, B12 Vitamini, Folik Asit, Homosistein Düzeyleri

**Tablo 26.** Folat/homosistein metabolizması gen polimorfizmleri arası etkileşim ve maternal DS' li çocuğa sahip olma riski çalışmaları

**Tablo 27.** DSA'da ve kontrol grubunda homosistein, folat, vitamin B12 ve ilişkili mikronutrisyonlar ve bunların folat/Hcy metabolizma gen polimorfizmleri ile aralarındaki etkileşim.

## 1. GİRİŞ

Down Sendromu insanda mental retardasyonun en sık görülen genetik nedenidir. İnsidansı 1/600~1/1000 canlı doğum olup erken gebelik kayıplarının önemli bir nedenidir. DS ayrıca en sık görülen ve en iyi bilinen kromozom hastalığıdır (1,2). Tahminlere göre 1/150 konseptus trizomi 21' lidir ve bunların %80' i erken gebelik sırasında kaybedilmektedir (3, 4, 5). İlerlemiş anne yaşı trizomi 21 için major risk oluşturmaktadır. Annelerin 35 yaş sonrasında DS'li çocuk doğurma riskleri hamilelik yaşı ile orantılı olarak artmaktadır (6). Yapılmış çalışmalar göstermiştir ki maternal mayoz sırasındaki ekstra kromozom yaklaşık %65 oranında maternal mayoz I'den, %23'ü maternal mayoz II'den ve geri kalanları yaklaşık %12 oranında paternal mayoz I veya II'den ve / veya mitotik hatalardan kaynaklanmaktadır (7,8).

Kromozom 21 nondisjunctionu olan yaşlı bir annede ilerlemiş yaşa bağlı olan mayotik mekanizmanın daha çok hataya yatkın olması sonucunda oositlerin yanlış segregasyonuna neden olduğu gösterilmiştir (9). Buna ek olarak maternal yumurtalık mozaisizminin trizomi 21 için farklı bir risk faktörü olabileceği hipotez şeklinde düşünülmektedir (10,11). Hulte'n ve arkadaşları maternal yaş etkisinin ovulasyona kadar fetal ve postnatal gelişim sürecinde bu hücrelerin farklı bir seçilimine neden olduğunu ve yüksek derecede ovaryum mozaisizminin bazı kadınların henüz genç yaşta olmalarına rağmen neden DS'li çocukları olduğunu ve sonraki gebeliklerdeki artmış insidanslarını açıklayabileceğini öne sürmektedirler (10).

Literatürde DS vakalarında mayotik ayrılmama hataları sonucu ortaya çıkan fazla 21.kromozomun paternal geçiş oranı %5 ile %20 arasında değişen oranlarda bildirilmiştir (12-14).

İlk trimester tarama testi ve ense kalınlığı ölçümü, üçlü test, ikinci düzey ultrasonografi ile DS açısından yüksek riskli olan gebelikleri tespit etmek mümkündür (15). Down Sendromlu çocukların %80' i sitogenetik inceleme için endikasyonu bulunmayan 35 yaşın altındaki kadınlardan doğmaktadır. Down Sendromlu fetüslerin sadece %20' si ileri yaş annelerden doğmaktadır. Dolayısıyla tarama yöntemleri ile Down Sendromlu gebeliklerin %80' i prenatal olarak tespit edilemediği bildirilmektedir (16). Bu durum genç annelerde farklı mekanizmaların kromozom 21'in ayrılmamasına neden olduğu şeklinde yorumlanmakta ve bu konuyu aydınlatmaya yönelik çalışmalar yapılmaktadır (9). Genç annelerde folat ve homosistein metabolizmasındaki bozuklukların kromozom 21 nondisjunctionuna neden olabileceği (9) ya da bu annelerin hücre bölünme



mekanizmalarının fizyolojik olarak yaşlandığı ve veya erken anormal kromozomal segregasyonuna genetik olarak yatkınlıklarının olduğu (17) öne sürülmektedir.

Geçtiğimiz on yıl içerisinde yapılan birçok çalışmada folat ve metil metabolizmasının DS riskindeki rolü açıklanmaya çalışılmıştır (18-42). Çeşitli çalışmalarda hücrel folat eksikliği anormal DNA metilasyonu, kromozom kırılması, micronuclei sıklığında artış, kusurlu kromozom rekombinasyonu, anormal gen ekspresyonu ve anöploidide ile sonuçlandığı bildirilmiştir (43).

Ayrıca özel olarak kültüre edilmiş insan lenfositlerinde folat yetersizliğinde kromozom 17 ve kromozom 21 anöploidileri görülmesinin arttığı (44) ve diyetdeki azalmış folat miktarının spermelerde görülen anöploidide (özellikle kromozom 21) dizomisi sıklığını arttırdığı gözlenmiştir (12).

Homosistein metabolizması ile ilişkili genler ile MTHFR gen mutasyonları hiperhomosisteinemi nedenleri arasındadır. Literatürde bazı çalışmalarda metabolik enzimlerdeki genetik polimorfizmlerle ilişkili olarak folat metabolizmasındaki bozuklukların DS' li çocuk doğurma riskini arttırdığı belirtilmektedir (45). Bu gen polimorfizmleri ile kan hücrelerinde ölçülen kromozom hasarı ve yanlış ayrılma oranları arasında artmış deliller bulunmuştur (46- 48).

MTHFR gen polimorfizmlerinin hiperhomosisteinemi ile yakın ilişkili olduğu gösterilmiş olup en iyi tanımlanmış polimorfizmler; 677C>T mutasyonu ve 1298A>C mutasyonudur. Bu polimorfizmler varlığında enzim aktivitesi azalır ve hiperhomosisteinemi gelişimine, plazma folat düzeylerinin azalmasına neden olur (49-51).

Hiperhomosisteinemi, methionin-homosistein yolağındaki kalıtsal bir defektten ya da Vitamin B12 ve folat (B9)' tan eksik beslenmeden kaynaklanabilir. Homozigot sistathionin-B-sentaz (cBS) ya da metilen tetrahidrofolat redüktaz (MTHFR) eksikliği şiddetli hiperhomosisteinemi nedenidir ve mental retardasyon, iskelet anomalileri, prematür vasküler hastalık ya da tromboz ile sonuçlanabilir. Ayrıca homosistein düzeyinin yükselmesi nöral tüp defekti, fetal kayıp, plasental abrupsiyon ve plasental enfarkt riskini artırır (52-55).

Yapılan çalışmalarda hem folik asit hem de B12 desteğinin açlık plazma tHcy konsantrasyonlarını düşürdüğü izlenmiştir (56- 58). DS'li bir çocuğun doğumunun çeşitli genetik, epigenetik, çevresel orjinli olduğu düşünülmektedir (45), bunların yanında diyetel faktörlerin 21. kromozomun iki çiftini taşıyan yumurtaların oluşması arasında karışık bir bağlantı olduğu belirtilmektedir (2, 19, 23, 35). Bu durum bu farklı nedenler arasında

bağlantı kurulmasını güçleştirmektedir (45). Bununla birlikte anne yaşı DS'li çocuk doğurma riskinde folat metabolizmasının rolünü karmaşık hale getirmiştir (10).

Plazma homosistein ve metionin konsantrasyonu genotip üzerine ilave olmuş günlük diet paterninin yansımasıdır. Her ne kadar Down Sendromlu bir bebeğe hamile kalındığı zamanki diyetsel alımı yansıtmasa da folat ihtiyacındaki artışı genetik olarak belirleyebilir. Mevcut metabolik veriler anormal folat ve metil metabolizmasının Down Sendromu ile ilişkili olabileceğini desteklemektedir (21).

Folat ve homosistein metabolizması ve trizomi 21 arasındaki kompleks ilişki hakkında şu anki mevcut düşünce; maternal ve embriyonik kombinasyonların özellikle folat metabolizmasında rol alan genlerdeki polimorfizmlerle beraber annenin diyet ve yaşam tarzının trizomi 21'li fetüsün hayatta kalması ile ilişkili olduğudur (35). Ayrıca çoğu kromozom 21 nondisjunctionları büyükannenin vücudunda maternal embriyogenezisde meydana gelmektedir bununla birlikte büyükannenin genotipinin ve hamileliği esnasındaki nutrisyonel durumunun maternal yumurtaların iki adet kromozom 21 taşımasında etkili olabileceği düşünülmektedir (41,59). Paternal geçiş hakkında çok fazla araştırma yapılmamıştır.

Folat yolağında görevli olan gen çalışmaları kadar Down Sendromlu etkilenmiş gebeliği olan kadınlardaki folat metil metabolizmasını içeren diğer mikronutrisyonlar ile etkileşiminin sistematik çalışmalarının, Down Sendromunu önlemede halk sağlığı stratejilerinin geliştirilmesi için fırsatlar sağlayabileceği düşünülmektedir. Biz çalışmamızda literatüreki araştırmalar ışığında bozulmuş folat homosistein metabolizmasının, folat metil metabolizmasında yeralan B6 vitamini, B12 vitamini, Folik Asit gibi mikronutrisyonların eksikliklerinin, Homosistein yüksekliğinin ve MTHFR gen polimorfizmlerinin kromozom 21' in ayrılabilmesi ile ilişkisini inceledik. Bu ilişkinin Down Sendromlu çocuk doğurma açısından annelerde yaş gruplarını da dikkate alarak maternal risk faktörü olabileceğinin, paternal risk açısından ilişkisinin ve bu bozukluğun genetik olarak çocuklara geçişinin araştırılmasını amaçladık.

## **2. GENEL BİLGİLER**

### **2.1. Down Sendromu**

Mongolizm terimi ilk kez 1846 yılında Edouard Onesimus Segwin tarafından verilen bir konferansta tanımlanmıştır. Klinik bulguları ise ilk defa 1866 yılında Langon Down tarafından belirtilmiştir ve daha sonraları mongol terminolojisi yerine Down Sendromu olarak isimlendirilmesi uygun görülmüştür (60). Down Sendromu (DS) ya da trizomi 21 insanda mental retardasyonun en sık görülen genetik nedenidir ve en iyi bilinen kromozom hastalığıdır. 1/600~1/1000 doğumda bir görülür (1,2). Erken gebelik kayıplarının önemli bir nedenidir. Tahminlere göre 1/150 konseptus trizomi 21' lidir ve bunların %80'i erken gebelik sırasında kaybedilmektedir (3, 4, 5). DS için bir risk faktörü olarak sadece ileri maternal yaş kesin olarak kanıtlanmıştır, anne yaşı arttıkça bu kromozom anomalisinin görülme sıklığı artmaktadır (4, 61).

DS'nin, monozigot ikizlerin her ikisinde, dizigotik ikizlerin sadece birinde görülmesi, bazı ailelerde birden fazla kişide olması ve DS'li kadınların çocuklarında bu hastalığa %50 oranında rastlanması hastalığın genetik orjinli olduğunu düşündürmüştür. İleri anne yaşının yanında ileri paternal yaş, viral etkenler, radyasyon trizomilere neden olabilmektedir. Genel olarak DS'nin sitogenetik tipi ile klinik olarak mental retardasyonun ağırlığı arasında bir ilişki olmayıp, tüm 21 nolu kromozoma sahip vakalarda mental retardasyon eşlik etmektedir (60).

### **2.2. Down Sendromunun Bulguları**

Down Sendromunun klinik tanısında genellikle güçlük yaşanmaz. Ancak her DS'li olguya klinik olarak tanı konulsa dahi tanının doğrulanması ve genetik danışmaya temel oluşturmak üzere, DS'nin sitogenetik tipi belirlenmeli ve aileye bu sonuca göre genetik danışma verilmelidir. Belirli bir karyotipin hastanın fenotipi üzerine etkisi çok az olsa da tekrarlanma riskinin saptanması açısından bu analiz çok önemlidir (60,14). DS'nin genel tekrarlanma olasılığı %1'dir (62). DS sitogenetik olarak regüler tip, translokasyon tip ve mozaik tip olmak üzere değerlendirilir (14).

#### **2.2.1. Sitogenetik Bulgular**

##### **a. Regüler Tip (Serbest Trizomi)**

Normal bir insanda G grubuna ait 21 nolu kromozomdan iki adet bulunması gerekirken, DS' de üç tane bulunur. Sitogenetik olarak kadın genotipinde 47,XX+21, erkek genotipinde 47,XY+21 şeklinde gösterilir. Regüler trizomi 21 DS olgularının %95' inde

bulunur. Çoğu olguda (%90) maternal mayoz I evresinde meydana gelen nondisjunction sonucunda, olguların diğer kısmı da (%10) paternal mayozda meydana gelen, genellikle Mayoz II evresinde oluşan bir hatadan kaynaklanmaktadır (14).

#### **b. Robertsonyan Translokasyon**

Bu tip olguların %4- 5'nde bulunur ve bu tipte bir tanesi kromozom 21q ile diğer akrosentrik kromozomlardan birinin (genellikle 14 veya 22. kromozom) uzun kolu arasında robertsonyan translokasyon sonucu oluşmaktadır. Total kromozom sayısı 46'dır. En sık olarak 14. kromozom ile translokasyon gözlenir (61). De novo ya da ailevi taşıyıcılıklar sonucu ortaya çıkmaktadır (63). Diğer tiplerden farklı olarak translokasyonlar anne yaşı ile bağlantı göstermezler. Özellikle annenin translokasyon taşıyıcısı olduğu ailelerde göreceli olarak artmış tekrarlama riskine sebep olurlar (14). Anne bu translokasyonu taşıyorsa aile içinde tekrarlamaansı %10, baba taşıyorsa %3-8'dir. Bu nedenle anne ve babanın karyotip tayini genetik danışma için önemlidir (60).

Translokasyonların yarıdan fazlasında gametogenez sırasında "de novo" oluşur. Bu durumda anne-babanın karyotipi normal olduğundan yineleme riski önemli oranda artmamaktadır. Diğer durumda ise anne-babadan biri dengeli translokasyon taşıyıcısıdır ve yineleme riski önemli oranda artmaktadır. Translokasyon DS, otuz yaşından küçük annelerin bebeklerinde daha sık görülür (64).

#### **c. 21q21q Translokasyonu**

Bir 21q21q kromozomu, iki 21. kromozomun uzun kollarından oluşmuştur. Bunun bir robertsonyan translokasyonu olmaktan çok izokromozom olarak meydana geldiği düşünülmektedir. DS' li olguların çok az bir kısmında görülmektedir. Nadir görülmesine rağmen bu tip kromozomal translokasyon taşıyan kişinin tüm gametlerinin ya 21. kromozom materyalini çift doz bulunduran 21q21q kromozomu içermesi ya da hiç 21. kromozom materyali olmayacak şekilde oluşması nedeniyle özel önem taşımaktadır. Eşinin kromozomal bir hastalığı yok ise oluşacak gebelik kaçınılmaz olarak ya Down Sendromlu ya da monozomi 21' li olacaktır (14).

#### **d. Mozaik Tip**

Mozaik tipi postzigotik mitotik hatalarla oluşur. Görülme oranı yaklaşık %1-2' dir (44). Bu olgularda hücrelerin bir kısmı normal 46 kromozoma sahipken, bir kısmı trizomiktir. Bu hastalarda fenotipik özellikler trizomi 21'dekine göre daha hafif olabilmekle birlikte, erken gelişim safhasında embriyodaki trizomi 21'li hücrelerin oranına bağlı olarak geniş bir fenotipik değişkenlik söz konusudur (14).

### e. Kısmi trizomi 21

Çok nadir olarak 21. kromozom uzun kolunun sadece bir kısmının üç kopya halinde bulunduğu Down Sendromlu olgular tanımlanmıştır, daha da nadir olarak sitogenetik olarak görülebilen bir kromozom bozukluğu olmayan Down Sendromlu olgular da saptanabilmektedir. Bu olgular 21. kromozomun hangi bölgelerinin Down Sendromu fenotipinin hangi komponentlerinden sorumlu olabileceği ve hangi bölgelerin 3 kopya olmasının bu fenotipik özelliğe etkisi olmayacağı belirlenmesi açısından önem taşırlar. İnsan Genom Projesinden elde edilen dizi bilgilerinin 21. kromozomda sadece birkaç yüz gen olduğunu göstermesine rağmen, belli genlerin 3 dozda bulunmasıyla belli Down Sendromu fenotipik özellikleri arasında ilişki kurmaya yönelik girişimler bugüne dek başarısız olmuştur (14).

### 2.2.2. Fiziksel Bulgular

Down Sendromu tipik yüz görünümü ile yenidoğan evresinden itibaren her yaşta kolaylıkla tanınabilir. DS'de minör anomalilerinin tanımı Smith, Berg ve Pueschel tarafından yapılmıştır (2,65). DS'nin her bir karakteristik dismorfik özelliği olguların %47-%82'nde mevcuttur (66).

**Tablo 1.** Down Sendromunda minor malformasyon sıklığı (2,65)

Minor malformasyonlar	Görülme sıklığı (yüzde)
Oblik palpebral fissürler	%82
Ense derisi kalınlığı	%81
Küçük ağız	%76
Brakisefali	%75
Hiperflexibilite	%73
Sandal gap	%68
Küçük el ve kalın parmaklar	%68
Burun kökü basıklığı	%64
Kısa boyun	%61
Diş anomalileri	%61
Epikantus	%59
Klinodaktili	%58
Brushfield lekeleri	%56
Skrotal dil	%55
Smian çizgisi	%53
Küçük ve displastik kulak	%50
Dilin dışarıda olması	%47

Bu bulgular ek olarak DS'a özgü dermatoglifik özellikler, kulak uzunluğu ve yapısı (kısa, displastik), 1. ve 2. ayak parmakları arasında geniş mesafe (sandal gap), iki meme

arasındaki mesafenin uzunluğu, iristeki Brushfield lekeleri, ensedeki deri bolluğu ile beraber değerlendirildiğinde klinik tanı % 99,9'a ulaşır (2,65). Ayrıca Down Sendromuna eşlik eden anomalilerin anne yaşı ile ilişkili olduğu saptanmıştır (67).

### **2.2.3. Eşlik Eden Major Konjenital Anomaliler**

#### **a. Doğumsal Kalp Hastalıkları (DKH)**

Down Sendromunda en sık rastlanan major konjenital anomali doğumsal kalp hastalıklarıdır. DS'li olgularda yaşam süresini etkileyen faktörlerin başında DKH gelmektedir. DKH'nın erken tanı ve tedavisi, DS'li olgularda prognozu ve yaşam kalitesini etkileyen önemli bir faktördür (68). Türkiye'de yapılan bir çalışmada DS'de DKH sıklığı %40 olarak bulunmuştu (69). Bu çalışmaya göre DS' de kalp anomalisi tipleri sıklık sırasına göre; % 45 Atrioventriküler kanal defekti, %35 Ventriküler septal defekt, %8 Atrial septal defekt, %4 Fallot tetralojisi, %7 Patent duktus arteriosus, %1 Diğer görülebilen kalp anomalileri şeklinde saptanmıştır.

DS' li olgularda ilk 2 yıllık yaşamda mortalitenin başlıca sebebi kardiyak malformasyonlardır. DS' li vakaların postmortem çalışmalarında aort ve pulmoner kapakta çok miktarda fenestrasyon ve senil vasküler değişiklikler rastlanmıştır. Bu nedenle DKH bulunmayan DS' li hastalarında düzenli aralıklarla kardiyolojik yönden değerlendirilmesi önerilmektedir (68).

#### **b. Gastrointestinal Sistem Anomalileri**

Down Sendromlu olguların %5'inde gastrointestinal sistem (GİS) anomalileri saptanmıştır (70). En sık rastlanan GİS anomalileri şu şekilde sıralanmaktadır: %2,5 duodonal atrezi veya stenoz (annular pankreas ile beraber olabilir), %1 imperfore anüs, %0,56 Hirschsprung hastalığı, %0,43 trakeaözefagial fistül ya da özefagial atrezi. Ayrıca Hirschsprung hastalığı olan süt çocuklarının % 5,9'u, duodonal atrezi veya stenozu olanların %25'i DS'lidir (71).

### **2.2.4. Göz Bulguları**

Down Sendromunda göz bulguları oldukça sık karşımıza çıkar. Gözde strabismus, katarakt, iriste beyaz lekeler (brushfield) ve nistagmus dikkati çeker. Bazı bulgular doğuştan olmasına karşın, bazı bulgular gelişim sürecinde ortaya çıkmaktadır. DS' li bireylerde % 88,6 mongoloid göz aksı, % 47,7 epikantus, %9 blefarit ve blefarokonjonktivit, % 31,8 içe şaşılık (esotropia), %35,8 myopi ve %20,5 hipermetropi (kırılma kusurları), %15,5 katarakt, %38,6 iriste brushfield noktaları, % 40,9 iriste

hipoplazi ve değişik oranlarda göz kapağı anomalileri (pitozis, ektropion), keratokonus ve fundus (venöz dolgunluk: %10,5; periferik retina distrofisi: %10,5; fovea fefleksinde siliklik: %,2; perikapiller pigment atrofisi: %5,2; optik disk solukluğu: %2,6) bulguları şeklinde göz bulguları görölmektedir (72).

### **2.2.5. İşitme Bozuklukları**

Down Sendromlu olgularda kulak enfeksiyonlarına sık rastlanmaktadır. Bunun başlıca nedenlerinden birincisi, DS' li olgularda immun sistemin yetersiz olmasıdır. İkincisi ise basık yüz yapıları, kafa kemiklerinde farklılıklar ve sinüslerinin küçüklüğü nedeniyle seröz otite daha sık oranda yakalanmalarıdır (60). Bir çalışmada 30 DS' li çocuğun işitme düzeyi incelenmiş %60' ında hafif, %13' ünde orta derecede işitme kaybı tespit edilmiştir (73).

### **2.2.6. Nörolojik Bulgular**

Down Sendromlu yenidoğan ve süt çocuklarında en önemli özellik hipotonidir. Kas tonusu gelişimini olumsuz etkileyen önemli faktörlerden biri de doğumsal kalp hastalığının mevcudiyetidir (74). Ayrıca bu olgularda yenidoğan reflekslerinin kaybolması gecikebilir. Gelişme geriliği genellikle ilk birkaç ay içinde belirginleşir. Gelişim evreleri gecikmiştir. Down Sendromlu bireylerdeki mental retardasyonun patogenezi tam olarak bilinmese de, 3 tane 21. kromozom üzerinde ki süperoksit dismutaz, S100 ve fosfofruktokinaz gibi enzimlerini kodlayan genlerin sayıca fazlalığından kaynaklanmış olabileceği iddia edilmektedir (75). Down Sendromlu bireylerin beyinlerindeki gelişme geriliği, olgunlaşma kusuru ve kortikal disgenezi, büyük bir ihtimalle fazla olan 21. kromozom tarafından oluşturulmaktadır. Ancak bundan sorumlu gen henüz tanımlanmamıştır (61). IQ 'ları ise %50-60 arasında değişmektedir (76).

Fakat düşük IQ düzeylerine rağmen öğrenme performansları oldukça iyidir. Genellikle mutlu, neşeli ve taklitçi karakterleri vardır. Müzikten hoşlanırlar. Son yıllarda geliştirilen uygulamalarla yenidoğan döneminden itibaren fizyoterapi ve özel eğitim uygulandığında, çoğu DS'li bireyin okuryazar duruma geldiği, kendi hayatını kendi kendine sürdürecekten yetenekleri geliştirebildiği görölmüştür (61).

DS' li olguların %9' unda konvülsiyon görölmektedir (60). Down Sendromunda Alzheimer hastalığının normalden daha sık olduğu ve erken yaşta başladığı bilinmektedir, 30 yaşın üzerindeki DS' li bireylerin beyinlerinde senil plaklar saptanmış ve beyin ağırlığının ortalama -2 SD altında olduğu gösterilmiştir (77).

### **2.2.7. Hematolojik Bozukluklar**

Down Sendromunda lösemi riskinin arttığı ilk kez 1957 yılında yayınlanmıştır (78). Erken çocukluk döneminde lösemi riski yüksektir fakat yaşla birlikte azalmaktadır. DS' li olgularda lösemi en çok hayatın ilk 4 yılında ortaya çıkmaktadır (79). DS' li yenidoğanların %10' undan fazlasında kanda blastlar görülmektedir. Bu durum klinik ve morfolojik olarak konjenital lösemiden ayrılamayabilir. Kendiliğinden remisyon çoğu olguda ilk 3 ayda meydana gelir, hayatı tehdit eden komplikasyonlar nadir olarak gözlenebilir. Bu durum geçici anormal miyelopoez, geçici lösemik reaksiyon veya geçici myeloproliferatif hastalık olarak adlandırılmaktadır (80). Ve neredeyse sadece DS'li yenidoğanları etkileyen lösemi şeklidir. Olguların antenatal ve postnatal kombine insidansı yaklaşık DS'li yenidoğanların %20 si olarak tespit edilmiş. Yenidoğanların çoğunluğu asemptomatiktir, DS'li geçici lösemili bebeklerin % 26'sında daha sonra akut megakaryoblastik lösemi (AMKL) veya DS'nin myeloid lösemisi (ML-DS) olarak bilinen akut myeloid lösemisinin alt tipi olan FAB M7 (AML-M7) gelişir (81). Akut lenfoblastik lösemi (ALL) gelişme riski DS olmayan çocuklara kıyasla DS' lilerde yaklaşık 10 ila 20 kat daha fazladır ve tüm ALL'lerin %1-3' ünü oluşturur (82).

### **2.2.8. İmmünolojik Defektler**

DS'lilerde enfeksiyon, otoimmün hastalıklar ve malinite sıklığında artış ile ilişkili olduğu düşünülen çok çeşitli immunolojik bozukluklar tespit edilmiştir. Bu konu üzerine yapılan araştırmalar bu defektin oldukça karmaşık olduğunu ve bireyler arasında farklı özellikler gösterdiğini ortaya koymaktadır (83). DS' li bireyler humoral ve hücre aracılı immun sistemle ilgili birçok eksikliğe sahiptirler. DS' li bireylerin timuslarında birçok morfolojik anormallik olduğu tespit edilmiştir. DS' de immunolojik bozukluklara neden olan mekanizmalar tam açıklanamamakla birlikte immun sistemin değişik kademelerini içeren yetersizliklerin mevcut olduğu bilinmektedir (84).

### **2.2.9. Endokrin Bozukluklar**

#### **a)Tiroid Fonksiyon Bozuklukları ve Otoimmünite**

Down Sendromunda hipotiroidi ve hipertiroidi artmıştır. Yenidoğan tarama programı çalışmasında DS' li olguların %1,1' inde konjenital hipotiroidi saptanmıştır. Bu çalışmada ayrıca konjenital hipotiroidi insidansı DS' li olgularda normal popülasyona göre 28 kat fazla bulunmuştur (85). DS' li bireylerde yaşa bağımlı olarak tiroid antikorları oluşumu ve tiroid hastalık sıklığı artmaktadır. DS' li bireylerde tiroid disfonksiyonunun artan sıklığının



sebebi bilinmemektedir ancak immun sistemdeki defektler bu durumdan sorumlu tutulmaktadır. DS' li bireylerde ayrıca çölyak hastalığı, alopesia areata, vitiligo, diabetes mellitus, adrenal disfonksiyon ve kronik aktif hepatit gibi otoimmun hastalıklara sık rastlanılmaktadır (86)

**b)Diabetes** DS'lilerde tip I diyabet riski artmıştır. Genel popülasyona göre 8 yaş üstü çocuklarda 8 kat, 14 yaş üstü'nde 3 kat artmış tip I diyabet riski saptanmıştır (87).

### **2.2.10. Büyüme Hızı ve Boy Uzunluğu**

DS' de genellikle intrauterin gelişim geridir. Bu olgularda ilk 6-9 ay büyüme hızları iyidir ancak 3 yaşından sonra belirgin yavaşlama gözlenir. DS' li bireylerde boy -3 SD' nin altındadır ve final boyları ise 140-160 cm arasında değişmektedir. Bu olgularda büyüme hormonu eksikliği yoktur ancak büyüme hormonu tedavisine iyi yanıt vermektedirler (88). DS' li bireylerde büyüme gelişmenin takibi için Down Sendromuna özgün skalalar geliştirilmiştir (89). DS'lilerde ortalama beklenen yaşam süresi, ağır anomaliler nedeni ile ölümleri dışlanırsa yaklaşık 55 yıldır (76).

### **2.2.11. Üreme Fonksiyonları**

DS 'li erkek olgularda fertilité çok azalmıştır ve genel olarak infertil oldukları bilinmektedir (60). Erkek olgularda birincil ve ikincil seks karakterlerinin gelişiminin, spesifik pitüiter ve testiküler hormon seviyelerinin iyi olduğu tespit edilmiştir, pubik kıllanmanın ve penis boyutunun normal adolesanlardan belirgin bir farkının olmadığını belirlenmiştir. Genel olarak DS' li erkeklerin fertilité oranları düşük olmakla beraber, literatürde az sayıda da olsa çocuk sahibi olabilenlerine rastlanmaktadır (90). Erkeklerde ki bu total steriliteye rağmen kadın DS' li bireyler üreme fonksiyonuna sahiptirler ancak üreme fonksiyonları düşüktür. Geç menarş olur ve erken menapoza girerler. Down Sendromlu kadınlarda gebelik oluşabilir ve tek bir gebelikte Down Sendromlu çocuk doğurma olasılıkları %50'dir (91).

### **2.2.12. Ürolojik Anormallikler**

Çalışmalar DS'li bireylerde ürolojik anormalliklerin görülme sıklığında artış vardır. Bunlar; hipospadias (250 erkekde 1), inmemiş testis (% 14 – % 27 ), testis kanseri ve böbrek malformasyonlarıdır (% 3,5) (92).

### **2.2.13. Davranış ve psikiyatrik bozukluklar**

Davranış ve psikiyatrik bozukluklar, normal çocuklara oranla DS' lilerde daha sık görülür, ancak mental retardasyonun diğer nedenlerine oranla daha az yaygındır. Otizm DS'li çocukların %7' sini etkileyen en yaygın komorbidedir. Tanı genellikle DS olmayan çocuklara kıyasla gecikmeli konulur (93).

### **2.2.14. Obezite**

DS'li olgularda genel popülasyona göre obezite insidansı daha fazladır. Bunun DS' li çocuklarda ve yetişkinlerde azalmış istirahat metabolizma hızından kaynaklandığı düşünülmektedir. Genel olarak, DS'li bebekleri ağırlıkları boylarına göre beklenenden azdır, sonradan orantısız bir artış olur ve çocukların çoğunluğu 3-4 yaştan sonra obez olur (94).

### **2.2.15. Uyku apnesi ve Pulmoner Bozukluklar**

Obstrüktif uyku apnesi obez olmayanlar da dahil olmak üzere DS'li çocuklarda en az %30-75 görülür. Mekanizması üst solunum yolu obstrüksiyonuna neden yumuşak doku ve iskelet değişiklikleri içerir. Aralıklı hipoksemi pulmoner hipertansiyona yol açabilir ve zihinsel bozukluğa katkıda bulunabilir (95).

2004 kişilik bir ankette DS' li 208 çocuğun %60 'ının ebeveynleri tarafından uyku apnesi ve astım'ı içeren solunum problemleri olduğu bildirilmiştir (96). DS'li çocuklarda daha yaygın görünen diğer pulmoner komplikasyonlar; pulmoner damar bozuklukları, akciğer parankim hastalığı, üst ve alt solunum yolları anormallikleri ve kronik aspirasyondur. DS olmayan çocuklara göre solunum yolu enfeksiyonları da daha sık ve çoğunlukla daha şiddetli olur (97).

### **2.2.16. Cilt Hastalıkları**

DS'li çocukların çoğunluğu benign kabul edilen cilt bozuklukları ile ilişkilendirilmiştir (98). Bunlar;

- Palmoplantar hiperkeratoz - %41
- Seboreik dermatit - %31
- Çatlak dil - % 20
- Kutis marmorata - %13
- Coğrafi dil - %11
- Cilt kuruluğu - %10
- Alopesi areata - % 8

Ergenlerde, dermatolojik problemleri özellikle rahatsız edici olur. Bu yaş grubunda en sık görülen durum folikülitir (%50 - %60 ) (99).

### **2.2.17. Atlantoaksiyel İnstabilite**

Atlas (C1) ve eksen (C2) ekleminin aşırı hareketliliği olarak tanımlanan atlantoaksiyel instabilite (AAİ), servikal omurga subluksasyonuna yol açabilir. AAİ' li DS' lilerin yaklaşık %13'ü asemptomatikken, yaklaşık % 2'si bozukluk nedeniyle spinal kord kompresyonundan etkilenmektedir (100).

### **2.2.18. Artropati**

Down Sendromunda artropati prevalansı genel popülasyona göre her 1000 kişide 8 ila 10 bir yaygınlık var, veya yaklaşık altı kat artmış jüvenil idiyomatik artrit prevalansı vardır (101).

## **2.3. Down Sendromunun Prenatal Tanısı**

### **2.3.1. Prenatal Tanı**

Prenatal tanı denilince, fetüsteki normal dışı bulguların gebeliğin mümkün olduğu kadar erken döneminde test edilmesi ve gerekiyorsa gebeliğin sonlandırılması akla gelmektedir. Söz konusu problemler kalıtsal geçiş gösteren hastalıklar olabildiği gibi, değişik nedenlerle oluşan malformasyonlar, intrauterin enfeksiyonlar, teratojenik etkenler ve benzeri patolojileri de kapsamaktadır (102). Literatürde gebeliklerin %96' sının sağlıklı bebek ile sonuçlandığı ancak %4' ünün risk taşıdığı belirtilmektedir. Bu risk faktörlerinin belirlenmesinde prenatal tanı yöntemleri kullanılmaktadır. Gebeliklerin % 8' inde genetik amaçlı prenatal tanı endikasyonu söz konusu olmaktadır (103).

### **2.3.2. Prenatal Tanı Yöntemleri**

#### **Non invaziv Yöntemler**

- 1.Fetal ultrasonografi
2. Maternal kanda bakılabilen markerlar
3. Pre-implantasyon genetik tanı

## **İnvaziv Yöntemler**

1. Amniyosentez
2. Koryon villus örnekleme (CVS)
3. Fetal kan örnekleme (Kordosentez)
4. Fetal vücut doku örnekleme

### **2.3.3. Down Sendromunda Prenatal Tarama Testleri**

Mental retardasyon yapması ve erken yaşta ölüme neden olması nedeniyle önde gelen toplumsal sorunlardan olan Down Sendromu olgularının tümü olmasa da önemli bir kısmı, gebelik döneminde çeşitli tanı yöntemleriyle tanınabilmektedir ve böylelikle ailelere gebeliği devam ettirme ya da sonlandırma seçenekleri sunulabilmektedir (104). İlk trimester tarama testi ve ense kalınlığı ölçümü, üçlü test, ikinci düzey ultrasonografi ile DS açısından yüksek riskli olan gebelikleri tespit etmek mümkündür (15). Down Sendromlu çocukların %80' i sitogenetik inceleme için endikasyonu bulunmayan 35 yaşın altındaki kadınlardan doğmaktadır. Down Sendromlu fetüslerin sadece %20' si ileri yaş annelerden doğmaktadır. Dolayısıyla tarama yöntemleri ile Down Sendromlu gebeliklerin %80' i prenatal olarak tespit edilemediği bildirilmektedir (16).

Trizomi 21 taramasına ilk olarak 1970' li yılların başında ileri anne yaşı kullanılarak başlanmıştır. Ancak Down Sendromlu çocukların %85' inin 35 yaş altındaki annelerden dünyaya geldiği görülmüştür. Yine de, bir kadının Down Sendromlu bir çocuk doğurma olasılığı, yaşıyla birlikte artmaktadır. Örneğin, 20 yaşında 12 haftalık gebeliği olan bir kadında bu olasılık 1068 de 1 iken, 35 yaşındaki bir kadında 249 da 1'e, 40 yaşındaki bir kadında da 68 de 1'e çıkmaktadır (105).

Günümüzde Down Sendromu tarama stratejileri birinci trimester testlerini (sonografik belirteçler, anne yaşı ve serum biyokimyasının kombinasyonu) , ikinci trimester serum biyokimya testlerini, ve birinci ile ikinci trimester belirteçlerinin entegrasyonunu içermektedir. Ortaya çıkan değişkenin trizomi insidansı ile güçlü bir ilişki içinde olduğu gösterilmiştir (106),( tablo 2 ).

#### **a)Kombine Test**

Birinci trimester tarama testidir. Kombine test en sık gebeliğin 11 ve 13. haftalar arasında yapılır ve aşağıdaki belirteçleri içerir (107);

- Maternal serum total veya serbest beta human koryonik gonadotropin (beta-hCG)
- Maternal serum gebelikle ilişkili plazma protein-A (PAPP-A)

- Ultrason ölçümü Ense kalınlığı (NT)

*Ense kalınlığı ( NT)* — Ense kalınlığı servikal omurga arkasındaki deri ve yumuşak dokular arasında bulunan hipoekoik bölgedir. Bu hipoekoik alanın mezenkimal ödemi temsil ettiği kabul edilir ve sık sık şişmiş boyun lenfatikleri ile ilişkilidir, küçük ama ölçülebilir bir miktarda ense sıvısı, gebeliğin 10. ve 14. haftaları arasında neredeyse tüm fetuslarda tespit edilebilir ve belirli bir eşiğin altında ise normal bir bulgu olarak kabul edilir. Öte yandan artmış bir NT, son ortak nokta olarak nukal sıvıda artış ile sonlanan farklı patofizyolojik yollar ile oluşan geniş bir yelpazede anormallikler ile ilişkilidir. Olası nedenleri şunlardır (108,109);

- Değişmiş dermal kollajen yapısı (örn. Down Sendromu)
- Anormal ense lenfojeniz (örn. Turner sendromu)
- Hemodinamik değişiklikler ve kardiyak disfonksiyon (örn. kalp kusurları)
- Anormal endotelial hücre farklılaşması

İkinci trimesterdeki DS taraması için tek başına kullanılacak en sensitif belirteç NT'dir (110). Anormal ölçüm değerleri olarak 5-6 mm üzerindeki değerler kabul edilir (111). DS'lilerde NT persiste kalırken, normal fetuslarda NT'nin normal sınırlara dönmesi izlenmektedir (112). Bir tarama belirteci olarak NT performansı, muhtemelen operatörün tecrübesindeki ve ekipman kalitesi değişkenlik nedeniyle çalışmadan çalışmaya tutarlı olmamıştır (113).

*Beta-HCG* — Beta-HCG seviyeleri, ortalama olarak, fetal Down Sendromu olan etkilenen gebeliklerde artar. Beta-hCG, serbest veya total şeklinde test edilebilir. Gebeliğin 9 ve 13. haftaları arasında gestasyonel yaşla birlikte seviyeleri artar. Down Sendromu taraması için gebeliğin 11 ve 13. haftalar arasında, PAPP-A ve ense kalınlığı ölçümü ile birlikte yorumlandığında serbest beta-hCG'nin total beta-hCG'den önemli ölçüde daha iyi performansı olduğuna dair görüş birliği yoktur (114,115).

*PAPP-A* — PAPP- A (pregnancy associated plasma protein A), yüksek molekül ağırlıklı kompleks bir glikoproteindir. İlk defa 1991 yılında gebeliğin 8.-13. haftaları arasında ölçülen serum PAPP-A düzeylerinin Down Sendromlu gebeliklerde gestasyonel yaşla birlikte Beta-hCG'nin aksine anlamlı düzeyde düştüğü gözlenmiştir. İlginç bir şekilde,

serum PAPP-A değerleri gebeliğin 17.-19. haftaları arasında normal d zeylelere dönmektedir ( 115,116).

Bu  c belirteç anne yaşı ile birlikte hastaya özgü riski belirtir (117). Kombine test Down Sendromu'nun yaklaşık % 85'ini tespit eder (yani, algılama hızı [DR] = sensitivitesi = % 85), % 5 yalancı pozitiflik oranı (FPR) vardır (114). Kombine testi ikinci trimester dörtlü testten biraz daha iyi bir performans sergiler (yani, DR daha yüksek ve / veya FPR daha düşük) fakat entegre testten daha az yeterlidir. Bu karşılaştırma birinci ve ikinci trimester arasındaki DS'li fetusların beklenen doğal kayıpları için düzeltme yapıldıktan sonra hesaplanmıştır (116,118).

### **b)  c l  Test**

İkinci trimester tarama testidir. Türkiye' de trizomi 21 riski belirlemede kullanılan en yaygın test halen  c l  testtir. Birçok ülkede de  c l  testin ulusal prenatal anöploidi tarama programında en önemli test olarak kullanıldığını bilinmektedir (119,120).

Down Sendromunda AFP (alfa-fetoprotein) ve uE3 (ankonjuge östrojen) gebelik haftasına göre olması gerekenden düşük, hCG ise olması gerekenden yüksektir. Burada en önemli nokta testin yapıldığı anda gebelik haftasının ultrasonografi ile teyit edilmiş olmasıdır  nk n  l c m  yapılan hormonların MoM değerleri gebelik haftasına göre değişkenlik göstermektedir. Bu tarama metodu tek başına anne yaşından daha etkilidir ve %50-70 doğruluk değeri ile trizomi 21' li fetüsü saptayabilmektedir (119, 121). 35 yaş altı annelerde DR oranı %60, FPR oranı %5, 35 yaş üstü bayanlarda DR oranı %75'tir, ayrıca bazı anöploidileri de tespit etmektedir (122). Maternal kilo, ırk, diyabet, fetüs sayısı  c l  test risk hesaplamalarını etkilemektedir. Gestasyonel haftanın doğru saptanması gerekir (111),

### **c) Dörtlü Test**

Günümüzde en popüler ikinci trimester tarama testi dörtlü testtir. Dörtlü test anne serumundaki AFP, uE3, hCG, ve İnhinin A seviyelerinin  l c lmesini içerir ve ideal  l c m aralığı hamileliğin 15-18 haftaları arasındadır. Down Sendromundan etkilenen hamileliklerde AFP ve uE3 seviyeleri ortalama olarak %25-30 oranları arasında d ş ktir (123) , hCG ve inhibin A seviyeleri de ortalama olarak etkilenmemiş kadınlara göre 2 kat fazladır (124,117).

*Inhibin A* — Inhibin-A, 11 ve 13. gebelik haftaları arasında etkili bir Down Sendromu belirteçidir (114-116). Araştırmalarda bebekte DS olması durumunda kan inhibin-A düzeylerinin daha yüksek olduğu bulunmuştur. Bu yükseklik nedeni ile inhibin-A düzeylerinin DS için tarama testi olarak kullanılabilmesi düşünülmüştür. Ancak tek başına değerlendirildiğinde inhibin-A Down Sendromlu olguların sadece %41' ini tanıyabilmektedir (125).

*Alfa-fetoprotein (AFP)*— Alfafetoprotein fetusun temel proteindir. Fetal zarlar ve plasenta aracılığı ile maternal kana geçer. Gebelik boyunca düzeyi artar. Düşük maternal serum AFP (MSAFP) düzeyi ile Down Sendromu da dahil olmak üzere fetal kromozomal anomaliler arasında ilişki olduğu saptanmıştır. Sadece MSAFP kullanıldığında Down Sendromu saptama oranı %20, yanlış pozitiflik oranı ise %5'tir. MSAFP anne yaşı ile birlikte değerlendirildiğinde saptama oranı %33, yanlış pozitiflik oranı ise %5.1'e yükselir (126).

*Ankonjuge östrojen (uE3)* — Estriol'ün kaynağı plasenta olmasına rağmen, bu hormon fetal steroidogenezi yansıtır. Fetal adrenal bezlerin ürettiği dehidroepiandrosteron sülfat (DHEA-S), fetal karaciğer tarafından hidrosillenerek plasentaya taşınır. Burada steroid sülfataz tarafından desülfate edilerek estriol'e aromatize olur. Gebeliğin erken döneminde fetal adrenal DHEA-S üretimi fetal ACTH'dan bağımsız iken, ikinci trimester'de adrenal fonksiyon için ACTH'a gereksinim vardır. Bundan dolayı DHEA-S kaynaklı estriol üretiminin %90'ı fetal adrenal bezler tarafından sentezlenir. Hatta ankonjuge estriolün, tamamına yakını fetal plasental birim tarafından üretildiği için fetus sağlığının total estriol'den daha duyarlı bir indikatörüdür. Down Sendromlu gebeliklerde maternal serum ankonjuge estriol düzeyleri, amniyotik sıvı ve plasental doku düzeyleri anlamlı derecede düşüktür (126).

4'lü test ikinci trimesterde başvuran kadınlara Down Sendromu taraması için elimizdeki en iyi testtir. Bu amaçla daha önce kullanılan tekli, çiftli, üçlü, testlerin üzerine eklenmiştir. Dörtlü testin DR' si %85, FPR' si % 7 dir (116,118).

#### **d) Entegre Test**

Entegre test DS'li gebelik riskini tek bir tahminde bulunmak için ilk ve ikinci trimesterde ölçülen belirteçleri kullanır. DS taramasında en iyi performansa sahip olan

testtir. İlk trimesterdeki, 9 ve 13. hafta arasında serumda ölçülmüş PAPP-A , 10 ve 13. hafta arasında ölçülmüş NT ultrason ölçümü ve baş-popo uzunluğu (CRL) ile tahmin edilen gebelik yaşı bilgileri bir dosyada saklanır.ikinci trimesterde 4'lü test için serum örneği alınır, alfa fetoprotein [AFP], ankonjuge estriol [uE3], inhibin A, beta-hCG çalıştırılır. Beta-hCG ya birinci ya da ikinci trimesterde markır olarak kullanılabilir, ancak rutin olarak performansı daha iyi olduğunda ikinci trimesterde ölçülür. Tek bir DS riski hesaplamak için altı belirteç değerleri ile birlikte anne yaşı kullanılır ve bir rapor oluşturulur. Entegre test %85 DR ve % 1 FPR' ye ulaşır. Eğer hedef %90 DR olursa, FPR % 2 olacaktır (116).

Entegre Testin avantajı, kombine veya dörtlü teste göre DR'nin eşdeğer, FPR 'nin bir ölçüde daha düşük olmasıdır (127). Tarama testlerinde FPR' de bir azalma son derece arzu edilen bir durumdur. DR yüksekliği korunurken yanlış pozitiflikte bir azalma tarama yönteminin güvenilirliğini artırır çünkü belirlenen DS'li gebelik başına daha az işleme bağlı düşükler olacak. Daha düşük FPR yanlış pozitif sonuç nedeniyle endişeli olan hastaların sayısını azaltacaktır çünkü böyle bir anksiyete sonraki gebelikte DS taramasına katılımı azaltabilir. Entegre testin dezavantajı ise testin sonuçları ikinci trimestere kadar alınamaz. Bu problem ya adım adım veya şartta bağlı sıralı bir yaklaşım kullanılarak azaltılabilir (128).

#### **e) Serum Entegre Test**

Serum entegre testi (ilk trimester PAPP-A, ikinci trimester AFP, uE3, beta-hCG, ve inhibin A) tıpkı tam entegre test gibidir, ancak NT ölçümü olmaz. Bu test araştırmacıya NT ölçümünün yapılamadığı durumlarda bir seçenek sağlar. Tarama testleri arasında yüksek tanı oranına sahiptir. İkinci trimester dörtlü testten daha verimlidir; aynı DR oranına fakat daha düşük FPR oranına sahiptir (106).

#### **f)Adım Adım Ardışık Tarama**

Adım adım ardışık tarama entegre testin ilk trimester kısmını içerir, etkilenmiş fetus açısından oldukça yüksek risk taşıyan ( $\geq 1/50$ ) kadınlara danışmanlık sunar ve koryon villus örnekleme önerir. Sonuçlara göre yüksek risk taşımayan kadınlar sonuçları alamaz ve testin 2. trimester kısmını tamamlar. Bu grubun sonuçlarını öğrenememesinin sebebi testin FPR değerini artırabileceğindedir. Bir araştırmaya göre adım adım ardışık tarama testinin DR'sini %85, FPR'sini %2, invaziv test önermek için cut-off değerini 1/40 ve entegre testin cutt-off değeri 1/110 olarak belirlendi (129).



FASTER çalışmasında adım adım ardışık tarama %5 FPR değeri ( %2.5 ilk trimester kısmında,%2.5 entegre test kısmında) ile DS'li fetus yakalama oranı %95 dir (118). Bu oranlar entegre testin sonuçlarına yakındır fakat yüksek riskli hastalar için erken sonuç alma imkanı sağlar (130). İlk trimester ve 2. trimester test sonuçlarını birbirinden bağımsız olarak vermek uygun bir uygulama değildir. İlk trimester riskini total riske katmadan ayrı ayrı sonuç vermek %98' in üzerinde yüksek bir tanı sağlar fakat FPR'si yaklaşık %17 civarındadır (131).

### **g) Şartlı Sıralı Tarama**

Şartlı ardışık tarama testi aşağıda tanımlanan 3 gruba önerilir (132):

- (1)ilk trimester taramasından sonra DS' li fetus için yüksek riske sahip ( $>1 / 50$ ) olup hemen invaziv test önerilenlere
- (2) ilk trimester taramasından sonra düşük riske sahip olanlara (  $<1/ 2000$ ) ( risk tahmin etme ve ek hiç bir teste ihtiyaç duymama olanağı sağlar)
- (3) ara riskte olan (  $1 / 50$  ve  $1 / 2000$  arası ) entegre testi tamamlamak için 2. trimester kan örneği verecekler

Teoriye göre, bu model entegre test ile karşılaştırıldığında tüm FPR'ler içinde sadece küçük bir artışı olan birçok gebelik için erken bir sonuç sağlar ve maliyet-etkin bir yaklaşım olabilir. Orta riskli kadınlar "geçici" bir tarama pozitif grup olarak kabul edilebilir bu nedenle onlara ek test önerisinde bulunulur. ilk trimester testinden sonra yüksek ve düşük risk eşik değeri için bir fikir birliği yoktur. Bu yöntemin rutin klinik testler içine girmesi düşünülmeden önce uygun risk cut-off değeri ve hasta uyumu konularının ayrıntılı analizi gereklidir (133).

**Tablo 2.** Down Sendromu tarama testlerinin tanımları (SURUSS, 2005)(106).

Ense kalınlığı (NT) ölçümü
Fetal boynun arkasındaki ultrason ile tespit edilen saydam alanın genişliği
Kombine Test
Geç dönem birinci trimester (11.-14. haftaları tamamlamış) testi olup, ense kalınlığı ölçümü ile serbest b hCG (veya total hCG), PAPP-A ve anne yaşı birlikte değerlendirilir.
Üçlü Test
Erken dönem (14.-20. haftaları tamamlamış) ikinci trimester testi olup, a-fetoprotein, ankonjuge estriol (uE3), human koryonik gonadotropin (hCG) (serbest b hCG veya total hCG) ölçümleri ile birlikte anne yaşı değerlendirilir.
Dörtlü Test
Erken dönem (14.-20. haftaları tamamlamış) ikinci trimester testi olup, a-fetoprotein, uE3, serbest b hCG (veya total hCG) ve inhibin A ölçümleri ile birlikte anne yaşı değerlendirilir.
Entegre Test
Gebeliğin farklı evrelerinde ölçülen çeşitli tarama belirteçlerinin tek bir test sonucu şeklinde entegrasyonudur. Birinci trimester'deki ense kalınlığı ve PAPP-A ölçümünün ikinci trimester'deki dörtlü test ile entegrasyonudur. Anne yaşı da birlikte değerlendirilir.
Serum Entegre Testi
Entegre testin sadece serum belirteçlerini (birinci trimester'de PAPP-A ve ikinci trimester'de dörtlü test) kullanan farklı bir şeklidir. Anne yaşı da birlikte değerlendirilir

#### 2.3.4. Test Sonuçlarının Değerlendirilmesi

Tarama testi pozitif demek bir kadının DS'li bebek sahibi olma riskinin tarama testinin performans özellikleri ile önceden belirlenmiş belirli bir cut-off seviyesine eşit ya da bu seviyeyi aşmış demektir. Örneğin kombine test için Down Sendromu riskinin tipik cut-off değeri  $\geq 1/300$ 'dür. Bu % 5 FPR oranı ile 20' de 1 DS olasılığı ile ilişkilidir, entegre test için Down Sendromu riskinin tipik cut-off değeri  $\geq 1/100$  'dür ve bu % 1-2 FPR oranı ile 10' da 1 veya 52 de 1 DS olasılığı ile ilişkilidir. Bu hesaplanan risk hastaya bildirilmelidir. Hastaya tanı ve tedavi seçenekleri, DS hakkında bilgi için genetik danışmanlık hizmeti verilmelidir. Kombine tarama testi pozitif olan bayanlara koryon villus örnekleme (CVS) ile kesin fetal karyotip tayini teklif edilmelidir. Eğer CVS yapılamıyorsa ilk trimester kombine test veya adım-adım ardışık tarama teklif edilmemelidir. İkinci trimester tarama

testi pozitif olan bayanlara amniyosentez ile kesin fetal karyotip tayini teklif edilmelidir (134).

Tarama testi negatif demek bir kadının DS'li bebek sahibi olma riskinin tarama testinin performans özellikleri ile önceden belirlenmiş belirli bir cut-off seviyesinin altında bir değere sahip demek. Tarama negatif demek fetus tamamen normal karyotipe sahip demek değildir. Bu hastaya anlatılmalıdır. Kombine testi negatif gelen bayanlara başka ek bir tarama testi önerilmez, ikinci trimester tarama testleri önerilir. İkinci trimester tarama testi negatif gelen bayanlara ek tarama testi önerilmez(124).

Sonuç olarak; Birinci trimester'de başvuran gebeler için entegre test en etkili ve güvenli test olarak öne sürülmektedir. ikinci sırada serum entegre test yer almaktadır. ilk defa ikinci trimester'de kliniğe başvuran hastalarda dörtlü test en iyi test olarak kabul edilmektedir. Down Sendromu açısından antenatal taramada tek başına üçlü testin uygulanması ya da tek başına ense kalınlığına bakılması desteklenmemektedir (106).

### **2.3.5. Prenatal USG**

İkinci trimesterde Down Sendromlu fetüslerin belirlenmesinde, özellikle son zamanlarda bazı ultrasonografik belirteçler kullanılmaktadır. İkinci trimesterdeki bu ultrasonografik belirteçler minör (soft marker) ve major (hard marker) olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır. Minör dismorfik ultrasonografik belirteçler tek başlarına anomali olmayan ve normal fetüslerde de belli bir oranda görülen ancak anöploidili fetüslerde daha sık görülen belirteçlerdir (135).

#### **Minör belirteçler (111,135,136) ;**

- Nazal kemik yokluğu veya hipoplazisi
- Artmış ense kalınlığı
- Ekojen barsak
- Renal pyelektazi
- Uzun kemiklerde kısalma (humerus, femur)
- Ekojenik intrakardiyak odak
- Koroid pleksus kistleri
- Beşinci parmağın orta falanks hipoplazisi
- Klinodaktili
- Sandal gap (ayak 1. Ve 2. Parmak arasının daha geniş olması, TEP)

- Genişlemiş iliak açığı
- Kısa kulak
- Kısa frontal lob
- Umblikal kordda iki damar anomalisi

Minör belirteçler önemi belirsiz bulgulardır. Çoğu sıklıkla normal fetusla ilişkilidir, genelde klinik sekel bırakmaz, geçicidir, doğumdan sonra veya gebeliğin ilerleyen dönemlerinde kaybolur. İzole minör belirteçler normal fetusların %11-17' sinde tespit edilir. Anöploidili fetuslarda prevalansı daha fazladır ve birden fazla belirteç varlığı anöploidi riskini önemli ölçüde artırmıştır, hastanın biyokimyasal risk durumu ile korelasyonu gerekir (137). Soft belirteçleri kullanarak fetal anöploidi var demek veya dışlamak yeterli değildir fakat bir veya daha fazla minör belirteç varlığı ayrıntılı fetal anatomik ultrason incelemesini gerektirir (136). DS'li fetusların sadece %25' nde majör anomaliler tespit edilebilmiş (138). 20. gebelik haftasından önce yapılan ultrasonografi de ise %16-17 arasında yapısal anomali tespit edilmiş (139).

#### **Majör belirteçler(111,135);**

- Kardiak anomaliler,
- Kistik higroma
- Duodenal atrezi,
- Omfalosel
- Hidrosefali, ventrikulomegali
- Özefageal atrezi/ trakea-özefageal fistül

Major ultrasonografik belirteçlerin her biri, Down Sendromu tanısında düşük risk grubunda bulunan hastalarda dahi çok yüksek spesifisiteye bağlı olarak yüksek pozitif prediktif değere sahiptir (135). Fetüste ki bu major ve minör ultrasonografik dismorfik bulguların belirli bir yöntem içinde (skorlama sistemi veya bilgisayar programı gibi) incelenmesine Genetik Sonogram da denilir. Genetik sonogram sonucunda % 4-15 yalancı pozitiflik oranıyla Down Sendromlu fetusların % 65-75 kadarının belirlenebileceği gösterilmiştir (140).

Genetik sonografi yüksek riskli gebeliklere (ileri anne yaşı, anormal ikinci trimester biyokimyası, anormal birinci trimester sonucu olanlar) önerilir. Yüksek riskli grupta ilk tercih olan amniyosentez yerine genetik sonogram ile birlikte kişiye özel hesaplanmış risk

ile karar verenlerin sayısı artmaktadır. Bu popülasyonda genetik sonogram normal ise amniyosentez oranı %3' tür. Genetik sonogramda saptanan anomali sayısı arttıkça, amniyosentez oranları artmaktadır. Bu oran 4 anomali saptandığında %100' e ulaşmaktadır (141). 1995'ten 2006 yılına kadar yapılmış 10 ayrı çalışmada 500'ün üzerinde DS'li gebeye ve binlerce yüksek risk taşıyan normal gebeye DS' nin majör ve minör belirteçleri açısından ikincil ultrason taraması yapılmış. Bir veya daha fazla belirteç varlığında tüm DR oranı (sensitivite) %79 (%50-91 arası), FPR oranı %12 (%9-14 arası) olarak tespit edilmiş. Bu, yüksek riske sahip vakaların %21 'inin negatif ultrason bulgularına göre hareket edilmesi ile kaçırılabilceği anlamına gelmektedir (142-144).

Major ve minör belirteçlerin yanı sıra dopler akım hızlarındaki değişikliklerin DS taramasında kullanılabileceğini bildiren yayınlar vardır. Bu değişiklikler;

- Ters diyastol sonu akım
- Anormal duktus venozus akımı
- Trikuspit regurjitasyonu

*Ters diyastol sonu akım;* Gebeliğin erken dönemlerinde güvenilirliği bilinmediği için dopler akım hızı genelde ölçülmez. Bununla birlikte fetuslerde persiste eden ters end diastolik umbilikal arter akımı NT artışı ile birlikte anöploidi için yüksek prediktif değere sahip olduğunu bildiren yayınlar vardır (145,146).

*Anormal duktus venozus akımı;* Anöploidili fetuslarda anormal duktus venozus akım hızı izlenmiş olup öploid fetuslarda da bu akıma rastlanmış (147, 148). Normal fetuslarda bu akımın kardiyak anomalilere eşlik ettiği bildirilmiştir (149). Bir çalışmada normal fetuslarda %3, tirizomi 21'lilerde %66, tirizomi 13'te %55, tirizomi 18'de %58 oranında anormal duktus venozus akımı izlenmiş (150).

*Trikuspit regurjitasyonu;* Trikuspit regurjitasyonu ilk trimesterde anöploidi taramasında kullanılabilir. Bir çalışmada 11-13 gebelik haftası arasındaki normal fetusların %0.9' nda, DS' lilerin %55.7' nde, tirizomi 18' lilerin %33.3' nde, tirizomi 13' lülerin %30' nda, turner sendromluların % 37.5 2' nde trikuspit regujitasyonu izlenmiştir (151).

İnvaziv işleme bağlı fetal kayıp oranını azaltmak için yüksek riskli gruba öncelikle genetik sonogram, sonrasında hastanın isteğine ve risk durumuna göre amniyosentez

önerilmesi veya Down Sendromu için yeterince tanı oranına sahip olmadığından ve 18. - 20. gebelik haftalarında yapıldığı için tanısız testi geciktirdiğinden dolayı ikincil bir tarama aracı olarak ultrasonun yeri tartışmaya açık bir konudur (111,152).

### **2.3.6. İnvaziv Yöntemler**

DS için veya diğer anöploidiler için tek kesin prenatal tanı invaziv testler ile konur. Fetal DS' nu taramak için ilk kez 1970 yılında maternal yaş kullanılmış ve 35 yaş üzerindeki kadınlara amniyosentez önerilmiş. Sınırın 35 yaş olarak kabul edilmesinin sebebi amniyosenteze bağlı fetal kayıp oranının (1/270) , fetal DS riski ile eşitlenmiş olmasıdır (153). Birinci trimesterde “koryon villus örnekleme” (CVS), ikinci trimesterde, amniosentez (AS) ve “fetal kan örnekleme” (FBS, Kordosentez) uygulanmaktadır. İnvaziv testlerin % 0.5 - % 1 oranında gebeliğin sonlanması riski taşımaları nedeniyle invaziv olmayan tarama testleri öncelikle tercih edilmektedir (154).

### **2.3.7. Maternal kandaki fetal hücreler**

Son yıllarda yapılan çalışmalarda fetal kromozom anomalileri tespitinde annedeki kan örneklerinden gebeliğin erken döneminde serbest dolaşan fetal DNA' nın (cffDNA) saptanması ideal bir yöntem olarak gösterilmektedir. Tanı fetal hücreler kültüre edilmeden yapılabilir. Föetal nükleuslu hücrelerin izolasyonunda flow sitometrenin kullanımı ile kabul edilebilir sonuçlar elde edilebilmeye başlamıştır (155- 159). Bazı gruplar maternal kanda serbest dolaşan fetal DNA' nın Masif Paralel Sekanslama (MPS) yöntemi ile dizileme yapılarak fetal anöploidilerin non-invazif prenatal tespitinin mümkün olduğunun gösterdi (155, 156, 159). Bir çalışmada sensitivite %95 ve spesifite % 99.5 olarak bildirildi (155). Ancak bu konuda yapılan az sayıda çalışma olması ve çok pahalı bir yöntem olması nedeni ile henüz yaygın kullanıma geçilmemiştir.

## **2.4. Down Sendromunun Etyolojisine Yönelik Hipotezler**

### **2.4.1. Anne yaşı ve DS riski**

Down Sendromunun kromozomal temelleri iyi biliniyor olmasına rağmen kromozomal bozukluğun mekanizması henüz çok iyi anlaşılamamıştır (7,14). Gebelikte ilerlemiş anne yaşı trizomi 21 için bilinen tek major risk faktörüdür (160). Annelerin 35 yaş sonrasında DS' li çocuk doğurma riskleri hamilelik yaşı ile orantılı olarak artmaktadır (6,160) (tablo 3). Trizomi 21 çalışmalarında, mayoz I ve II' de görülen maternal nondisjunction sonucu

oluşan farklı rekombinasyon seviyeleri tespit edilmiştir. Bundan dolayı, ilerlemiş anne yaşına ek olarak genetik rekombinasyonun yeri kromozom 21 ayrılama durumu için iki önemli risk faktörü olarak bildirilmiştir. Çalışmalar ekstra kromozomun yaklaşık %65'inin maternal mayoz I evresinde, %23'nün maternal mayoz II'de ve geri kalanının paternal mayoz I veya II ve veya mitotik hatalar sonucu olduğunu gösteriyor. Lamb ve arkadaşları maternal mayoz I ve II'deki kiazmal dağılımın anne yaşının artması ile ilişkili olduğunu doğruladı (7,8).

Olasılıklardan biri “yaşlı yumurta” modelidir. Yumurta yaşlandıkça kromozomların uygun olarak ayrılmasında hata oluşma olasılığının arttığı düşünülmektedir. Araştırmalarda, rekombinasyon olayının sayısı ve veya yerleşiminin kromozom çiftinin iki mayoz bölünme esnasında uygun olarak ayrılıp ayrılamayacağını belirleyicisi olduğunu göstermiştir. Yaşlı yumurtalar, rekombinasyon mekanizmasından kaynaklanan nondisjunction eğilimine cevap vermekte daha etkisiz kalabilirler. Bu modelin önemli bir özelliği bugün DS' li bir bebeğin doğumuna neden olan etyolojik olayın, bundan 35-40 yıl önce DS'li bebeğin annesi henüz bir fetüsken ve oositleri 1. mayoz bölünmenin profazında iken meydana gelmiş olmasıdır. Rekombinasyon kalıpları ve kromozom segregasyonu arasındaki önemli ilişki biliniyor olmasına rağmen 21. kromozomun ayrılama ve anne yaşı etkisi konusu henüz aydınlatılamamıştır (14).

Hulte'n ve arkadaşları maternal ovaryum 21. kromozom trizomi mozaizmini (farklı genetik yapıdaki en az 2 hücre dizisinin bir arada olması) DS'li gebeliğe neden olabilen başka bir faktör olarak göstermişlerdir. Bu araştırmacılar FISH (Fluoresan İn Situ Hibridizasyon) yöntemiyle 14 - 22 haftalık sekiz dişi fetüste 21. kromozoma özgü prob kullanarak yumurta hücrelerinde 21. kromozomun kopya sayılarını incelemişler. Sekiz fenotipik olarak normal dişi fetüsün hepsinde ovaryum hücrelerinin mozaik olarak ekstra kromozom 21 taşıdığını belirlemişlerdir. Trizomi 21, premayotik ve ovaryum mezenkimal stroma hücrelerinde mayoza giren hücrelerdeki gibi aynı sıklıkta meydana gelmiştir. Bu yüzden araştırmacılar kromozom 21'den iki kopya taşıyan trizomik 21 hücrelerinin ovaryumun premayotik hücrelerinden köken aldığını düşünmüşlerdir (11). Hulte'n ve arkadaşları ayrıca maternal yaş etkisinin ovulasyona kadar fetal ve postnatal gelişim sürecinde bu hücrelerin farklı bir seçilimine neden olduğunu ve yüksek derecede ovaryum mozaizminin bazı kadınların henüz genç yaşta olmalarına rağmen neden DS 'li çocukları olduğunu ve sonraki gebeliklerdeki artmış insidanslarını açıklayabileceğini öne

sürmektedirler (10). Son zamanlarda yapılan retrospektif bir analizde 151 DS' li bebek sahibi ailenin 8' inde gonadal mozaizm taşıyıcılığı saptanmıştır. Taşıyıcılık saptanan ailelerin tümünde anne yaşının 35'in altında olduğu tespit edilmiş ve genç çiftlerde parental mozaizm prevelansı yaklaşık olarak % 6,5 olarak saptanmıştır (161). Diğer bir çalışmada Hulte'n ve arkadaşlarının bulgularına paralel olarak 35 yaş öncesi doğum yapmış DSA (Down Sendromlu anne)' ların periferik lenfositlerinde, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında 13 ve 21. kromozomun her ikisinde segregasyon bozukluklarının sıklığında önemli bir artış gözlenmiştir. Bu bulgular somatik hücrelerde de meydana gelen nondisjunction olaylarının mayotik ve mitotik işlemlerde anormal kromozomal segregasyona yatkınlığın nedeni olabileceğini göstermektedir (162).

Birleşik Devletler ve Kanada'da 35 yaş ve üzerindeki gebelerin % 50 veya daha fazlasına prenatal tanı amaçlı fetal kromozom analizi yapılmaktadır ancak analiz edilen fetüslerin sadece % 1'inde trizomi 21 saptanmaktadır (14). Bununla birlikte çoğu DS vakasında anne yaşı 35' in altındadır ve bu da yaşlı annelere oranla genç annelerde farklı mekanizmalar üzerinde durulmasına neden olmuştur. Yapılan bazı çalışmalarda Apolipoprotein E (apo E) aleli epsilon 4'ün (163), sigara içen annelerde oral kontraseptif kullanımının (164), presenilin-1 intronik polimorfizmin (165) genç annelerde mayoz'daki ayrılmama için bir faktör olabileceğini öne sürülmüştür. Son çalışmalar folat ve homosistein metabolizmasındaki bozuklukların kromozom 21 nondisjunctionuna neden olabileceği üzerine yoğunlaşmış olup (7,21) diğer bir neden olarak bu annelerin hücre bölünme mekanizmalarının fizyolojik olarak yaşlandığı ve veya erken anormal kromozomal segregasyonuna genetik olarak yatkınlıklarının olduğu (17) öne sürülmektedir. Çoğu DS vakasında anne yaşının 35 altında olmasını bu yaş grubundaki annelerin doğum hızlarının çok daha fazla olmasına bağlayan (14) görüşlerin yanı sıra, doğum sayısının fazla olmasının veya cinsiyet farklılığının DS riskini artırmadığını ortaya koyan çalışmalar da vardır (13).



**Tablo 3.** Anne yaşı ile ilişkili olarak canlı doğumlarda ve fetüslerde Down Sendromu insidansı (166).

Tamamlanmış anne yaşı	Down Sendromu riski (1:n)		
	Term*	16 haftalık	10 haftalık
20	1477	1211	1152
21	1461	1184	1125
22	1441	1168	1110
23	1415	1147	1090
24	1382	1120	1064
25	1340	1085	1032
26	1287	1029	978
27	1221	977	928
28	1141	901	856
29	1047	827	775
30	939	733	686
31	821	632	591
32	696	536	494
33	572	435	401
34	456	346	315
35	353	265	240
36	267	197	179
37	199	147	131
38	148	108	96
39	111	80	71
40	85	60	53
41	67	47	41
42	54	38	32
43	45	31	27
44	39	26	22
45	35	23	19

#### **2.4.2. Anne Yaşının Folat Metabolizmasıyla Down Sendromu Riski Açısından İlişkisi**

Maternal yaş ve değişmiş kromozom 21 rekombinasyon paternleri arasında ilişki olup olmadığını belirlemek için Lamb ve arkadaşları 21. kromozomu maternal mayoz I orijinli olan 400 hastayı maternal yaşa göre gruplamışlar. Bu çalışma ile kromozom 21 nondisjunctionu olan yaşlı bir annede ilerlemiş yaşa bağlı olan mayotik mekanizmanın daha çok hataya yatkın olması sonucunda oositlerin yanlış segregasyonuna neden olduğu gösterilmiştir. Buna karşılık genç annelerde eksik veya değişmiş rekombinasyon yeri

(sentrome ya da telomere yakın) sonucunda meydana gelen kromozom 21 nondisjunctionu saptanmıştır (7). Mayoz II hatalarını incelemek amacıyla yapılmış diğer bir çalışmada ise 21q perisentromerik bölgesi değişiminin anne yaşı ile ilgili risk faktörü oluşturduğu saptanmıştır. Buna zıt olarak maternal mayoz I' deki hataların analizi nondisjunction için aynı riski oluşturmaktadır, fakat burada oositin yaşından bağımsız bir durum söz konusu bulunmuştur (8). Sentromerik DNA kromatini, spesifik sentromerik metilasyon paternlerinin epigenetik kalıtımıyla ve spesifik metil duyarlı proteinlerin kinetikor oluşumunun sağlanması için düzgün DNA yapısının devam ettirilmesi sayesinde stabilitesini koruduğu düşünülmüştür (167). Bu yüzden DNA metilasyonundaki bir hatanın mayotik nondisjunction için potansiyel bir mekanizma olduğu düşünülmektedir. Perisentromik hipometilasyon hipotezinde açıklanan bozulmuş folat/hcy metabolizması sonucu meydana gelen kinetikor anormallikleri yüzünden bozulmuş kromozom segregasyonu gözlenmektedir (21). Çeşitli çalışmalarda folat yetersizliği ve insan anöploidileri ile bağlantılı bulunmuş, ayrıca özel olarak, kültüre edilmiş insan lenfositlerinde folat yetersizliğinin kromozom 17 ve kromozom 21 anöploidileri görülmesinin arttığı (44) ve diyetdeki azalmış folat miktarının spermelerde görülen anöploidi (özellikle kromozom 21) dizomisi sıklığı arttığı gözlenmiştir (12). DSA'larda kan hücrelerinde MTHFR 677C>T ve 1298 A>C polimorfizmleri ve kromozomal hasarlar arasında bağlantı gözlenmiş, genç yaşta DS' li çocuk sahibi olan annelerde folat metabolizmasının anormal kromozomal segregasyon için artmış bir yatkınlık oluşturduğu tespit edilmiştir (40).

İlginç olarak, Waterland ve Jirtle gestasyon aşamasında maternal metil alıcısı ilavesinin daha sonraki kuşağın fenotipini, epigenomu metilleyerek değiştirdiğini göstermişlerdir. Bundan dolayı büyük olasılıkla büyükannenin gebeliği sırasında azalmış folat alımının veya folat metabolik yolağındaki bozuklukların kromozom rekombinasyon bölgelerini ve perisentromerik bölgelerini içeren bazı kromozom bölgelerinde metilasyon paternini değiştirebilmesi ve böylece anöploidili gamet formasyonunda bir artışın söz konusu olabileceği belirtilmektedir (168). Primordial germ hücrelerinin CpG adalarındaki DNA metilasyonu, bir organizmanın hayatı boyunca bazı genleri imprinte etmesi sayesinde onların monoalelik ekspresyon göstermelerini sağlar örneğin dişilerde bir X kromozomunun inaktivasyonu gibi, ayrıca bu durum retrotranspozonlarında inaktif durumda kalmalarını da sağlamaktadır. Bunun yanında son çalışmalardaki kanıtlar DNA metilasyonunun rekombinasyonu baskılayıcı bir rolü olduğunu göstermektedir. Crossing over bilindiği gibi mayoz ve seleksiyonun gelişmesi açısından oldukça önemlidir. Crossing

over rastgele değildir, spesifik ve de özel hot spot bölgelerde meydana gelir. Bu hotspot bölgeler, bireyden bireye ve popülasyonlara göre farklılık gösterir. DNA metilasyonunun crossing over oluşumunu engellediği gösterilmiştir bu da memelilerdeki CG miktarı ve rekombinasyon oranının korelasyon göstermesi ile açıklanabilir (169). Böylece folat/hcy metabolizmasındaki bozukluk sonucu değişmiş DNA metilasyon paterni mayozda hatalı kromozom 21 rekombinasyonu meydana getirebilir ve artmış Down Sendromu riski oluşturabilir. Ayrıca genç ve yaşlı kadınlarda farklı mekanizmalar kromozom 21 nondisjunctionuna neden oluyorsa folat metabolizmasında görevli genlerdeki polimorfizmlerin etkisi de yaş gruplarına göre farklı olabilir (24, 34, 170). DS riski ile maternal yaş bağlantısı konusunda yapılan çalışmalarda tutarsızlık bu nedenle olabilir. Bununla birlikte anne yaşı DS' li çocuk doğurma riskinde folat metabolizmasının rolünü karmaşık hale getirmiştir (171).

#### **2.4.3. Baba Yaşı, Folat Metabolizması Ve DS Riski**

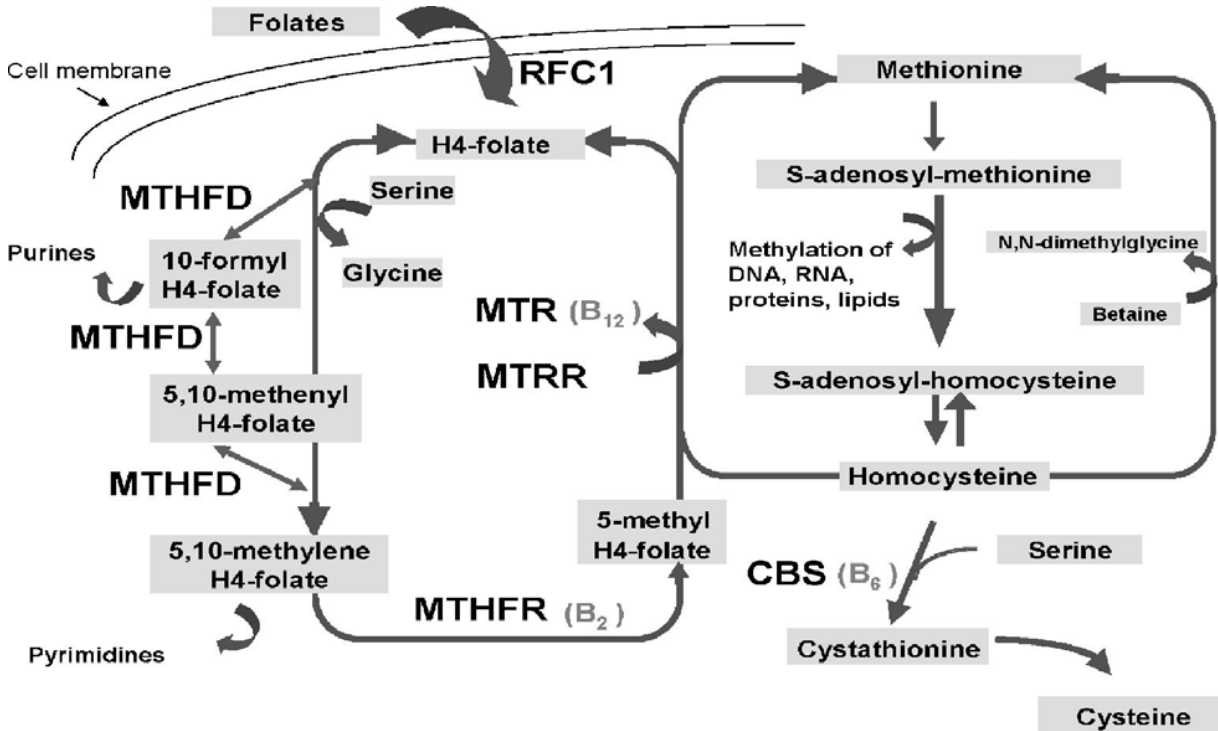
Stene ve ark.(172) 1977 yılında yaptıkları bir araştırmada, anne yaşından bağımsız olarak baba yaşının ileri olmasıyla DS arasında da bir ilişki olduğunu öne sürmüş, 55 yaş baba için kritik yaş kabul etmiş ve bu yaş sonrası oluşan gebeliklerde DS sıklığında anlamlı bir artma olduğunu söylemişlerdir. Buna karşılık Cross ve ark. (173) 15 yıllık çalışma sonuçlarının DS sıklığına baba yaşının bir etkisinin bulunduğunu göstermekten uzak olduğunu rapor etmişlerdir. Başka bir çalışmada 35 yaş üstü DS'li annelerin eşlerinin yaş ortalaması  $38.49 \pm 8.67$  olarak bulunmuştur. Bu da ileri baba yaşına genellikle ileri anne yaşının eşlik ettiğini, artan baba yaşının artan anne yaşına sekonder olabileceği ve artan baba yaşıyla birlikte artan anne yaşının anlamlı olarak DS görülme sıklığını etkileyebileceği şeklinde yorumlanmıştır (174). Değişik çalışmalarda mayotik ayrılmama hataları sonucu ortaya çıkan fazla 21. Kromozomun paternal geçiş oranı %5 ile %20 arasında değişen oranlarda bildirilmiştir (7,8,12-14).

Literatürde diyetsel faktörlerin sperm anöploidisine etkisi hakkında çok az bilgi bulunmaktadır. Folat yetersizliği ve insan anöploidileri ile ilgili yapılan bir çalışmada diyetdeki azalmış folat miktarının spermelerde görülen anöploidi (özellikle kromozom 21) dizomisi sıklığını arttırdığı gözlenmiş olup, yüksek folat alımı olan erkeklerin spermelerinde ki monozomi 21 oranının düşük folat alan erkeklerle karşılaştırıldığında daha az olduğunu ortaya koymaktadır. Ayrıca folat metabolizmasının insanda ki nondisjunction olayına etkisinin bir kanıtı olarak da bu bilgi sunulmaktadır (12). Bu çalışma folat-homosistein metabolizmasındaki bozuklukların DS açısından paternal geçişin önemini ortaya

çıkarmıştır. Özetle insanda kromozom nondisjunctionu multifaktöriyel bir mekanizma şeklinde vurgulanmaktadır ve bu duruma neden olan daha spesifik risk faktörlerinin incelenmesi gerekliliği üzerinde durulmaktadır (10,9,171).

#### 2.4.4. Folat, Homosistein Metabolizması ve DS riski

B9 vitamini ailesi üyeleri genel olarak folatlar olarak bilinmektedirler. Folatlar tek karbon biyosentezi ve epigenetik işlemler için gereklidirler (45). Folatlar diyetel kaynaklardan özellikle yeşil sebze ve meyvelerin tüketilmesiyle vücuda alınmaktadır. Folik asit ise folatların yiyeceklere ve ek diyet maddelerine sentetik olarak eklenmiş formudur. Folatın bağırsakta emildikten sonra karaciğerde 5- metil tetrahydrofolat (5-metil THF) formunu alması için redüksiyon ve metilasyon reaksiyonları geçirmesi gerekmektedir. Daha sonra kana salınır ve hücreler tarafından alınır. Hücresel folatlar, hem nükleik asit prekürsörlerinin sentezinde kullanılabilirler hem de homosisteinin metionine çevriminde kullanılırlar. Metionin ise başlıca DNA, RNA, protein ve fosfolipidler için metil grubu sağlayan ve 115 farklı hücresel reaksiyonda metil transfer eden ajan olan SAM'ı oluşturmakta kullanılır (175-178) (şekil 1).

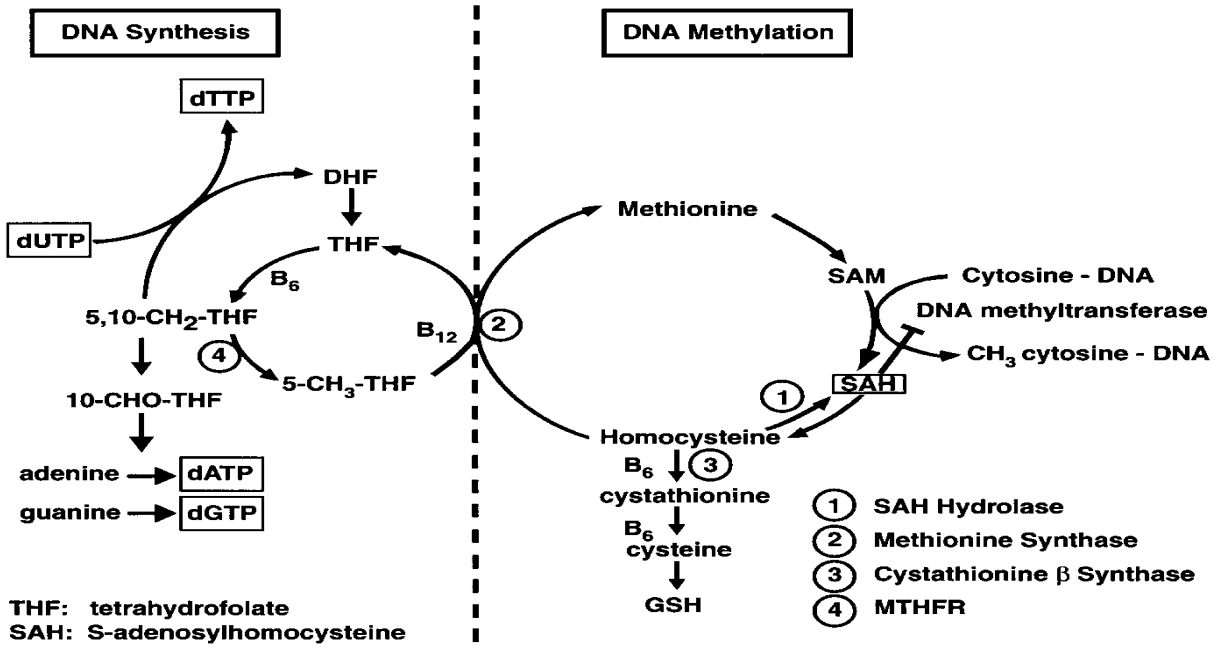


Şekil 1. İnsan folat metabolik yolağı (176)

**Enzimler:** CBS: Sistatyonin b-sentaz; MTHFD: Metilentetrahydrofolatdehidrogenaz; MTHFR: Metilentetrahydrofolatredüktaz; MTR: Metioninsentaz; MTRR: Metioninsentazredüktaz RFC1: Reduced folate carrier; **Kofaktörler:** B12: Vitamin B12 veya kobalamin. B6 (Pridoksal Fosfat), B2 (Riboflavin)

Metilentetrahidrofolatreduktaz (MTHFR), DNA metilasyonunun düzenlenmesinde düzenleyici bir rol oynamaktadır. MTHFR homosisteinin metionine remetilasyonunda bir karbon alıcı olan 5-metil-THF' nin sentezlenmesinde görev alır. Bu remetilasyon reaksiyonu MTR ( Metioninsentaz ) enzimi sayesinde gerçekleşir. MTR enzimi metionin döngüsünde anahtar bir enzimdir. MTR bir metil grubunu 5 metil-THF'den Homosisteine metionin ve tetrahidrofolat oluşturmak üzere transfer eder ( transmetilasyon). B12 vitamini (kobalamin) bu reaksiyonda kofaktör olarak görev yapar. Metioninsentazredüktaz (MTRR) ise MTR'nin aktif olmasını sağlar. Metionin, metioninadenoziltransferaz (MAT) tarafından katalizlenen reaksiyonda SAM' ın oluşumunda gerekli bir aminoasittir. Bu şekilde oluşturulan SAM'ın çoğu, S-adenozilhomosisteine (SAH) dönüştürülerek transmetilasyon reaksiyonlarında kullanılır. SAH metil grubunu DNA gibi çeşitli biyolojik akseptörlere transfer eder, bu reaksiyonlar metiltransferaz tarafından katalizlenir. SAH daha sonra SAH hidrolaz tarafından homosistein ve adenozeine dönüştürülür. Böylece homosistein MTR aracılığıyla metionine dönüştürülebilir. Alternatif olarak homosistein serinle kondense olur ve sistatyonin formunu alır, vitamin B6 (piridoksal fosfat)'ın kofaktör olarak kullanıldığı bu reaksiyon sistatyonin b- sentaz (CBS) tarafından katalizlenir. Sistatyonin ise daha sonra bir antioksidan olan glutatyonun (GSH) yapımında kullanılmaktadır. SAM allosterik olarak CBS aktivitesinin düzenlenmesinde kullanılır. MTR etanole maruz kaldığında metil grubu betainden homosisteine metionin oluşturmak üzere transfer edilir ve bu reaksiyon betain-homosistein metiltransferaz tarafından katalizlenir (11).

DNA metilasyonunda MTHFR' nin substratı olan 5,10-MTHF, moleküler ihtiyaçlara bağlı olarak DNA sentezinde kullanılır. Timidilatsentaz (TYMS) deoksiüridinmonofosfat (dUMP) ve 5,10-MTHF' yi deoksi timin monofosfat (dTMP) ve dihidrofolata (DHF) dönüştürür. Metilentetrahidrofolat dehidrogenaz (MTHFD1) üçlü fonksiyona sahip bir enzimdir ve tetrahidrofolatın pürin, metionin ve timidilat dönüşümünü katalizler. Enzimin bu 3 fonksiyonu, 5,10-MTHF dehidrogenaz, 5,10-metilen tetrahidrofolatsiklohidrolaz ve 10 formil tetrahidrofolatsentetaz olarak görev yapmak ve sıralı olarak bir dizi reaksiyonu katalizlemek şeklindedir. Birinci reaksiyon 10-formil tetrahidrofolatsentetaz aktivitesi sayesinde gerçekleştirilir, 10-formil tetrahidrofolat, fosforibozil glisinamidtransformilaz (GART) enzimi tarafından pürinlerin yapımında kullanılabilir (179). Özetle folat metabolizması birkaç enzime ihtiyaç duyar ve burada görevli kofaktörler hücrel metabolik ihtiyaçları karşılarlar (şekil 1, şekil 2).



Şekil 2. DNA Sentezi ve DNA Metilasyonu (180)

Araştırmalarda temel olarak folat metabolizmasının DS' li çocuk sahibi olma riskindeki muhtemel rolünü incelemek amaçlanmıştır. Bu maksatla farklı ülkelerde birçok çalışma yapılmasına rağmen kesin bir sonuca ulaşılamamıştır ( 18-41 ). İlk olarak 1999' da rapor edilen folat homosistein metabolizmasındaki genetik polimorfizmler nedenli bozuklukların Down Sendromlu çocuk sahibi olma riskini arttırdığı ortaya konulmuştur (45). Elde edilen farklı sonuçlardan ortaya çıkan bilgiler ışığında bu Tek Nükleotid Polimorfizim'leri bağımsız bir risk faktörü olarak değerlendirilmiştir ve folate / Hcy metabolik yolağının bozulmasıyla ilişkili genetik polimorfizmlerin tek başlarına DS' li çocuk sahibi olma riski oluşturması için yeterli olamayacağıdır. Bununla beraber bu polimorfizmlerin kombine olarak genomda bulunmaları ise DS' li çocuk sahibi olma riskini arttırmaktadır (10, 18-20, 23, 24, 26, 29, 40). Hcy metabolizmasında görev alan MTHFR enziminin 677T ve 1298C allellerinin ayrıca hücre içine folat taşınmasında görev alan RFC1, MTR (170) ve MTRR mutasyonların DS için bir risk faktörü olduğu gösterilmiş olup bununla birlikte 3 veya daha fazla polimorfizm varlığında DS riskinin arttığı saptanmıştır (40).

Bazı araştırmacılar genetik ve çevresel faktörlerin yanında diyetel faktörlerin 21. kromozomun iki çiftini taşıyan yumurtaların oluşması arasında karışık bir bağlantı olduğunu belirtmektedirler. Alkol kullanımı düşük serum folat seviyeleriyle ve bozulmuş MTR aktivitesi ile ilişkili bulunmuştur. Dolayısıyla DS' li çocuk riski çalışmalarında alkol kullanımı diğer bir diyetel faktör olarak göz önünde bulundurulmalıdır (45).

Homosistein, metionin metabolizması esnasında oluşan, yapısında sülfür bulunduran bir ara aminoasittir (181). Homosistein vitamin B6 bağımlı CBS enziminin katalizlediği bir reaksiyonla sistatiyona transsülfürlenebilir. Sistatyon, glutatyon gibi hücre içi tiol içeren birçok majör biyolojik bileşiğin sentezinde gerekli olan sistinin kaynağıdır. En sonunda, sistatyon ve diğer sülfür içeren aminoasitler su ve sülfata metabolize edilerek idrarla atılırlar (182). Total plazma homosisteinin yaklaşık % 80' i disülfid köprüleriyle albümine bağlıdır. Bağlı olmayan homosistein türleri ise başlıca "Homosistein-Sistin" ve "Homosistein - Homosistein" disülfidleri şeklinde bulunur. Dolaşımdaki tüm homosisteinin yalnızca %1' i serbest homosistein şeklinde bulunur. Total homosistein (tHcy) bütün bu serbest ve bağlı biyokimyasal homosistein türlerinin toplamını tanımlar (183).

Homosistein transsulfuration ve remetilasyon yollarından birini kullanarak metabolize olur. Homosisteinin Sisteine transsülfürasyonu CBS tarafından katalize edilir, kofaktör olarak piridoksal fosfat (B6 vitamin) gereklidir. Homosisteinin metyonine remetilasyonu MTR veya betain-homosistein metiltransferaz tarafından katalize edilir. Vitamin B12 (kobalamin) metyonin sentazın kofaktörü olan metilkobalaminin prokürsörüdür. Hcy metabolizması hcy remetilasyonunda ve transsülfürasyonunda yeralan enzimlerin down veya up regülasyonu ile düzenlenir (184).

Metabolize hcy hüsresel kapasiteyi aştığı zaman intraselüler seviye normale gelene kadar bu amino asid ekstraselüler kompartmana taşınır. Eğer hcy'nin hücre içi metabolizması kesintiye uğrarsa, taşınma devam eder ve kanda birikerek hiperhomosisteinemiye neden olur (185).

Homosistein metabolizmasında görev alan enzimlerdeki genetik bozukluklar, beslenme yetersizlikleri nedeniyle vitamin kofaktörlerdeki eksiklikler, ilaçlar veya diğer kronik medikal hastalıklar nedeniyle plazma homosistein konsantrasyonunda yükselme oluşabilir (52-55, 186, 187).

**Tablo 4.** Hiperhomosisteinemi nedenleri: (52-55,186,187).

<b>1-) Edinsel sebepler</b>	<b>2-)Kalıtsal sebepler</b>
Vitamin eksiklikleri	●Cystathionine $\beta$ -synthase eksikliği
●Folik asit	●Methylene tetrahydrofolate reductase eksikliği ve defekti
●B6 vitamini	●Methionine synthase defekti
●B12 vitamini	●Vitamin B12 transport defekti
Kronik hastalıklar	●Vitamin B12 koenzim sentez defekti
●Kronik böbrek yetmezliği	
●Hipotiroidi	
●Psöriazis	
●Maligniteler (akut lenfoblastik lösemi vb.)	
İlaçlar	
●Antiepileptikler	
●Metotreksat	
●Nitroz oksit	

Hiperhomosisteinemi metioninin transmetilasyonu sırasında metil gruplarını indirek olarak inhibe eder. DNA metilasyon bozukluğu ile sonuçlanarak birçok fizyolojik süreci etkiler (188).Ayrıca altta yatan sebepten bağımsız olarak vasküler yapıya ve fonksiyonuna birçok mekanizma ile zarar vermektedir. Bu mekanizmalardan bazıları; endotelial disfonksiyon, trombosit aktivasyonu ve trombüs formasyonu, sitotoksik reaktif oksijen radikalleri oluşumu, lipid peroksidasyonu, LDL-kolesterolün oksidasyonu ve vasküler düz kas proliferasyonudur (189). Hiperhomosisteinemi mental retardasyon, iskelet anomalileri, prematür vasküler hastalık ya da tromboz ile sonuçlanabilir, inmeye yatkınlık sağlar. Kanda homosistein düzeyinin yükselmesi nöral tüp defekti, fetal kayıp, plasental abrupsiyon ve plasental enfarkt riskini arttırır (52-55).

Normal homosistein konsantrasyonları açlıkta 5 - 15  $\mu\text{mol/L}$  aralığındadır. Hiperhomosisteinemi aşağıdaki gibi sınıflandırılmıştır (190).

- hafif (15 - 30  $\mu\text{mol/L}$ )
- orta (30- 100  $\mu\text{mol/L}$ )
- ağır (>100  $\mu\text{mol/L}$ )



DNA metilasyonu, gen ekspresyonu ve regulasyonunda kritik rol oynayan DNA'nın önemli bir epigenetik özelliğidir (191). Hücrel folat ve metil donörlerinin eksikliği veya folat metabolizmasındaki bozukluklar hatalı DNA metilasyonu, nokta mutasyonları, kromozom kırıkları, anormal kromozom segregasyonu, artmış mikronükleus, hatalı rekombinasyon ve anöploidilere neden olmaktadır (43,45).

Plazma homosistein ve metionin konsantrasyonu genotip üzerine ilave olmuş günlük diet paterninin yansımasıdır. Her ne kadar Down Sendromlu bir bebeğe hamile kaldığı zamanki diyetsel alımı yansıtmasa da folat ihtiyacındaki artışı genetik olarak belirleyebilir. Mevcut metabolik veriler anormal folat ve metil metabolizmasının Down Sendromu ile ilişkili olabileceğini desteklemektedir (21).

#### **2.4.5. Metilentetrahidrofolat Redüktaz (MTHFR) Polimorfizmi**

*Genetik polimorfizm kavramı;* Dünyadaki birçok bireyin kromozomlarında aynı yerde bulunan DNA dizileri birbirine benzerlik gösterir. Populasyonda iki farklı birey arasında DNA'nın yaklaşık 1000 bç uzunluğundaki herhangi bir kısmı ortalama sadece bir baz çifti değişimi içerir. Bir genin belli bir lokusta yer alan alternatif kopyalarından her birine allel denir. Allellerin genel populasyonda kromozomlarda %12'den fazla bulunması genetik polimorfizm olarak tanımlanmaktadır. İntronlarda ve genler arasında lokalize olmuş DNA dizilerinde değişim gösteren bazı alleller vardır. Kodlanan dizi farklılıkları protein çeşitliliğine ve farklı fenotiplerin ortaya çıkmasına sebep olurlar. Genetik hastalığa sebep olan zararlı mutasyonların birçoğu nadir değişimlerdir. Ağır hastalığa neden olan mutant alleller genetik çeşitliliğin bir sonucudur. Birçok proteinin, farklı populasyonlarda nispeten yaygın ve ayrılabilen şekillerde olduğu tespit edilmiştir (192).

MTHFR gen polimorfizmlerinin artmış total plazma Hcy ve azalmış serum folat seviyeleri ile ilişkili olduğu gösterilmiş olup en iyi tanımlanmış polimorfizmler; 677C>T(Ala222Val) mutasyonu ve 1298A>C(Glu429Ala) mutasyonudur. 677C>T mutasyonu sonucu, MTHFR' nin katalitik domain bölgesinde Alanin amino asidi Valin amino asidine dönüşür. Bu başkalaşım, enzimi termolabil hale getirir ve in vitro koşullarda MTHFR aktivitesi homozigotlarda %70 ve heterozigotlarda % 35 oranında azalır. C677T alleleline homozigot formda sahip olan bireylerde plazma homosistein düzeyi orta şiddette

artar ki bu özellikle folat yetersizliği dönemlerinde dikkat çekicidir. Bu alleli heterozigot formda taşıyan bireylerde plazma homosistein düzeyi intermediyer aralıklardadır.

İkinci sık görülen polimorfizm, 1298A>C başkalaşımıdır ve MTHFR'nin regülatör bölgesinde yer alan Glutamat'ın Alanin'e dönüşümü izlenir. Bu başkalaşım enzim aktivitesini azaltır ama 677T allel değişimi kadar belirgin değildir. In vitro koşullarda 1298C alleli homozigot olan bireylerde enzim aktivitesi % 40 kadar azalmıştır ancak plazma homosistein düzeyleri kontrollere göre yüksek değildir. Genel populasyonun %15-20 kadarı MTHFR varyantlarının biri açısından heterozigottur (49-51,193-195).

Bununla beraber, kombine MTHFR C677T ve A1298C mutasyonlarının birlikte bulunması özellikle de her iki gen bakımından çift heterozigot mutasyon MTHFR aktivitesinin %40-50 oranında azalmasına buna bağlı olarak da hiperhomosisteinemi gelişimine ve plazma folat düzeylerinin azalmasına neden olduğu rapor edilmiştir (196). Azalmış MTHFR aktivitesi homosisteinin Metionine normal remetilasyonunu korumak için artan bir folik asit gereksinimi ile sonuçlanır. Yeterli folik asit yokluğunda, hücre içi homosistein birikir, metionin resentezi düşer ve remetilasyon reaksiyonları bozulur. sonuçta DNA metilasyonu eksik olur. DNA hipometilasyonu da DNA'nın yapım ve onarım bozukluğuna neden olur (26, 49-51, 193).

Termolabil MTHFR varyantları intervillöz veya spiral arter trombozu ve yetersiz plasental perfüzyona bağlı şiddetli preeklapsi, ablasyo plesenta, fetal büyüme kısıtlılığı, tekrarlayan düşükler, ölü doğum ve nöral tüp defekti gibi obstetrik komplikasyonlar ile ilişkili bulunmuştur (53, 54).

Türkiye'de yapılan çalışmalarda MTHFR C677T homozigot mutasyon oranı %5, heterozigot mutasyon oranı ise %35 olarak bildirilmiştir. MTHFR A1298C polimorfizmi için, çeşitli ülkelerde genotip sıklığı %1-12 arasında değişir. Türkiye'de yapılan bir çalışmada A1298C genotip sıklığı %6 olarak tespit edilmiştir (197).

#### **a) MTHFR 677C>T polimorfizmi ve Down Sendromu Riski**

1999'da anormal folat ve metil metabolizmasının DNA hipometilasyonuna ve anormal kromozomal segregasyona neden olabileceği kanıtına dayanarak James ve arkadaşları MTHFR 677C>T polimorfizminin genç annelerde maternal mayotik nondisjunctiona

neden olabileceği ve DS için bir risk faktörü oluşturabileceği hipotezini ortaya atmışlardır. Elli yedi DSA ve elli kontrol annesinde yaptıkları çalışmada DSA' larda önemli miktarda artmış plazma Hcy konsantrasyonu ve lenfosit metotreksat sitotoksitesi tespit etmişlerdir ki bu da anormal folat ve metil metabolizmasının birbiriyle ilişkili olduğunu göstermektedir. Bununla birlikte MTHFR 677C>T allelinin 2,6 kat fazla DS' li çocuk riski ile ilişkili olduğunu saptamışlardır. Bu çalışmada DSA' da folat metabolizmasının anormal olduğunu ve bunun MTHFR genindeki bir mutasyona bağlı olarak meydana geldiği gösterilmiştir (21). Geçtiğimiz on yıl içerisinde yapılan birçok çeşitli çalışma folat ve metil metabolizmasının DS riskindeki rolünü açıklamak amacıyla yapılmıştır. Bu çalışmaların hemen hemen hepsinde MTHFR 677C>T polimorfizmi araştırılmıştır (18- 41) (Tablo 16). MTHFR 677C > T polimorfizmi Amerika, Kanada, Mısır ve Çin populasyonlarında DS' li çocuklar için bağımsız bir risk faktörü olarak kabul edilmiştir (18, 21, 26, 36, 37). Benzer sonuçlar Brezilya (20, 22, 23, 24, 198) ve Hindistan' da da (30, 34, 38) saptanmıştır. Avrupada yapılan çeşitli çalışmalarda (19, 24, 25, 27- 29, 33, 35-41), Türkiye ve Japonyada ki çalışmalarda (31, 32) bu polimorfizm bağımsız bir risk faktörü olarak bulunmamıştır. Sonuçlardaki bu farklılıkların nedeninin, allel frekanslarındaki farklılıklar, farklı olgu kontrol grup çalışmaları ya da çevresel faktörlerin etkisinden kaynaklanıyor olabileceği vurgulanmıştır (45).

Akdeniz ülkelerinde yapılan çalışmalarda elde edilen sonuçlara göre sadece Mısır dışında MTHFR C677T alleli DS için bağımsız bir risk faktörü olarak görülmemiştir. Akdeniz diyetine bağlı olarak daha fazla folat açısından zengin besinler tüketilmesinin MTHFR C677T alleli için ters bir etki yaptığı düşünülmektedir (19, 25, 33). Bununla birlikte Meguid ve arkadaşlarının Mısırdaki yaptığı çalışmada MTHFR genotipi ve folat alımı arasında önemli bir ilişki ortaya konmuştur (37).

Gen-gen ilişkileri araştırılan çalışmalarda; Hcy metabolizmasında görev alan MTHFR enziminin C677T ve A1298C allellerinin ayrıca hücre içine folat taşınmasında görev alan RFC1, metionin sentaz (MTR) ve metionin sentaz redüktazdaki (MTRR) mutasyonların DS için bir risk faktörü olduğu gösterilmiştir. Bununla birlikte ayrıca 3 veya daha fazla polimorfizm varlığında DS riskinin arttığı saptanmıştır (40). Sonuçlar MTHFR C677T allelinin tek başına DS için riski arttırmaya yetmediğini göstermektedir. MTHFR C677T alleli, düşük folat alımı ve aynı metabolik yolda bulunan diğer polimorfizmler ile kombine edildiğinde DS için bir risk faktörü oluşturmaktadır (45).

### **b) MTHFR 1298A > C polimorfizmi ve Down Sendromu Riski**

Down Sendromu için bir risk faktörü oluşturması açısından MTHFR 1298A > C polimorfizmi, 677C > T polimorfizmine göre daha az çalışılmıştır (Tablo 16). MTHFR A1298C alleli ve DS arasındaki ilişki ilk olarak 2002 yılında Brezilya populasyonunda yapılan çalışma sonucunda ortaya atılmıştır (22). Bazı araştırmalarda artmış DS riski ile MTHFR 1298A > C ve 677C > T polimorfizmlerinin ilişkili olduğunu tespit edilmiştir (23, 24, 29-34, 43).

Benzer sonuçlar Hindistan (34) ve Güney İtalya'da da (24) saptanmıştır, ayrıca iki varyantın da beraberliği DS için bir risk faktörü oluşturduğuna dair veriler Mısır' da yapılan çalışmada da gösterilmiştir. Brezilya' da yapılan beş çalışmadan dördünde, MTHFR A1298C varyantı ve folat metabolizmasında rol oynayan diğer genlerdeki polimorfizmlerin beraberliğinin artmış DS riski oluşturduğu gösterilmiştir (20, 22, 23, 42, 198).

### **2.4.6. Vitamin B12 (kobalamin) ve Down Sendromu Riski**

Sadece hayvansal besinlerde bulunan B12 vitamini midede üretilen intrinsik faktör ile bağlanarak enterositlere taşınır. Orada transkobalamine bağlanarak portal sistemle karaciğere taşınır ve karaciğerde depo edilir (199). Plazma Vitamin B12; iki plazma proteini olan transkobalamin (%20'si) veya haptocorrine (%80'i) bağlanır. Transkobalamin vitamin B12'nin hücre içine alınması için gerekli olan bir transport proteindir fakat haptocorrinin görevi henüz net değildir (199,200). Vitamin B12 metil kobalamin formunda iken, metionin sentaz için koenzim olarak rol oynar ve hcy' nin metionine remetilasyonunda görevlidir. Spesifik membran reseptörleri transkobalamin-Vitamin B12 kompleksini tanır ve bu şekilde vitamin B12 hücre içine alınır (200). B12 vitamini folat/hcy metabolizmasında transmetilasyonda görevli olan MTR enziminin kofaktörü olan metilkobalaminin prokürsürüdür. Homosistein remetilasyonu B12 vitamini ve metiltetrahidrofolata sırasıyla koenzim ve kosubstrat olarak ihtiyaç duyar (22).

Yapılan çalışmalar total homosistein ile vitamin B6 ve folatın günlük diyetle alımıyla ve vitamin B6, vitamin B12, folatın plazma konsantrasyonları arasında doğrusal olmayan güçlü bir ilişki olduğunu göstermiştir (201). Yapılan çalışmalarda hem folik asit hem de B12 desteğinin açlık plazma tHcy konsantrasyonlarını düşürdüğü izlenmiştir (56-58). Sık görülen transkobalamin TC 776 C>G polimorfizmi prolinin arjinine değişimi sonucu

vitamin B12 metabolizmasını negatif olarak etkilemektedir böylece plazma hcy seviyeleri artmaktadır (202).

#### **2.4.7. B6 vitamin (piridoksal fosfat) ve Down Sendromu Riski**

Piridoksal fosfat B6 Vitaminin aktif formu olup yarı ömrü 15- 20 gündür. Suda eriyen vitaminler grubundandır. Plazma proteinlerine bağlanmaz. Homosistein metabolizmasında yer alan üç enzimin kofaktörüdür (serine hidroksimetiltransferaz; SHMT,  $\gamma$ -sistationaz, sistationin b- sentaz; CBS) (203).

Besinsel faktörler homosistein metabolizmasının önemli belirleyicileridirler. Suboptimal vitamin seviyeleri yükselmiş açlık plazma toplam homosistein düzeyleri ile ilişkilendirilmiştir. Vitamin B6 eksikliği metionin yüklenmesi sonrası hiperhomosisteinemiyle sonuçlanır (204,205). Selhub ve Millerin hipotezine göre metionin yüklenmesi sonrası yüksek hücre içi S adenzimetionin konsantrasyonları homosistein remetilasyonunu inhibe edecek ve bu sırada transsülfürasyon aktivasyonu B6 vitamini eksikliğinden dolayı devam edemeyecek (206).

Her ne kadar erken çalışmalar B6 eksikliği olan örneklerde metionin yüklenmesinden sonra yüksek idrar homosistein atılımı gösterse de (207), B6 eksikliği olan sıçanlarda yapılan son çalışmalar ciddi şekilde artmış metionin yüklenmesi sonrası kontrol grubuna göre ciddi şekilde artmış plazma tHcy konsantrasyonları bulunmuş (208). Folik asit ve B12 Vitamininin aksine Vitamin B6 desteğinin bazal tHcy üzerinde bir etkisi yoktur (57).

#### **2.5. Down Sendromu ile ilişkili diğer genler**

##### **2.5.1. Metionin Sentaz-Metionin Sentaz Redüktaz (MTR-MTRR) Kompleksi ve Down Sendromu riski**

Metionin sentaz enzimi homosisteinin metionine transmetilasyonunu katalizler. İnsan MTR enzimi amino ucundan karboksil ucuna bağlanan 4 farklı fonksiyonel modül içermektedir. Bunlar sırasıyla hcy, 5- metil THF, kobalamin ve SAM'dır. Karboksil terminal aktivasyon domaini ayrıca MTRR ile etkileşmektedir (209). NADPH bağımlı olan MTRR enzimi kobalamin bağımlı MTR enziminin aktivasyonunun azaltılması için gereklidir (210). MTR geninde sıklıkla görülen bir polimorfizm olan MTR 2756 A>G (Asp919Gly) geniş ölçekli populasyon çalışmalarında incelenmiştir ve hcy seviyelerine etkisi olabileceği düşünülmektedir (211). Ancak yapılan çalışmalarda tutarsız sonuçlardan dolayı bu polimorfizmin hcy seviyelerine etkisi olup olmadığı henüz tam olarak

anlaşılabilmiş değildir. Bu polimorfizmin folat yolağındaki diğer genlerin genotipleri ile kombine edildiğinde ve üstüne çevresel faktörler de eklendiğinde etkisinin bireyler arasında farklılık gösterdiği ileri sürülmektedir (212).

Ayrıca MTR A2756G polimorfizmi DS' lilerde artmış homosistein konsantrasyonlarıyla ilişkilendirilmektedir. MTRR geninde MTRR 66 A>G (Ile22Met) polimorfizmi sık gözlenen ve üzerinde fazla çalışılmış diğer bir polimorfizmdir. Bu polimorfizmin serum homosistein seviyesine etkisi olduğu düşünülmektedir. Bu konuda yapılan geniş kapsamlı populasyon çalışmalarında bu polimorfizmin homosistein seviyesine etkisinde bağımsız bir rolü olmadığı gözlenmesiyle MTHFR polimorfizmi ile beraberliğinde homosistein seviyesinde etkili olabileceği düşünülmüştür (211, 213).

### **2.5.2. Folat taşıyıcıları (RFC1 veya SLC19A1) ve Down Sendromu riski**

Folatlar hidrofilik moleküllerdir ve biyolojik zarlardan tek başına difüzyonla geçemezler. Bu yüzden memeli hücre ve dokularına karmaşık membran transport sistemleri sayesinde geçebilirler. Folatlar genetik ve fonksiyonel olarak farklı transport sistemleri kullanılırlar. Bunlar RFC1 (Azaltılmış Folat Taşıyıcısı ), FR (Folat Reseptör) ve PCFT (proton- coupled folat transporter)' dir. Aralarında en iyi karakterize edilmiş olanı ve en çok eksprese olanı RFC1' dir (176). RFC1 genel olarak geniş bir ekspresyon paterni gösterirken, ek folat alım sistemlerinin ekspresyonları belirli dokularla sınırlıdır. Bu yüzden RFC1 memeli hücre ve dokularında folat kofaktörlerinin kandan hücre içine alınmasında major rol oynayan transport sistemidir (202). (Şekil 1)

Bazı araştırmacılar genetik ve çevresel faktörlerin yanında diyetel faktörlerin 21. kromozomun iki çiftini taşıyan yumurtaların oluşması arasında karışık bir bağlantı olduğunu belirtmektedirler. Bu araştırmacılara göre folat metabolizmasının DS riskindeki rolünde diğer bir karışıklık folat taşıyıcıları olan SCL19A1 ve RFC1 ve CBS genlerinin rolüdür. Bu genlerin trizomilerinin folat ihtiyacını arttırabileceği ve DS'li fetüslerin oluşmasına neden olabilecek sonuçlar doğurabilecekleri öne sürülmektedir (19- 21, 23, 35).

Memelilerin hücre ve dokularında kandan hücreye folatı taşıyan en önemli transport molekülleri azaltılmış folat taşıyıcılarıdır (214). Ayrıca folat taşıyıcılarının folatın bağırsaktan emilimi, kan beyin bariyerini geçişi ve bazolateral membrandan renal tüplere transportlarında önemli görevleri vardır.

RFC1 gen polimorfizimleri ile ilgili ilk çalışma 2000 yılında Chango ve arkadaşları (30) tarafından yapılmış 80G>A dönüşümü yüksek frekansta gözlenmiştir. Araştırmalarda

homozigot RFC1 80GG/ MTHFR 677TT genotipli bireylerde serum homosistein seviyelerinde RFC1 80GG/MTHFR 677CC genotipli bireylerle kıyaslandığında az da olsa belirli bir artış tespit edilmiştir. Buna ek olarak RFC1 80AA/ MTHFR 677CT genotipli bireylerde plasma folat düzeyi RFC1 80GG/MTHFR 677CT genotiplerine kıyaslandığında daha yüksek bulunmuştur. Diğer çalışmalarla bu sonuçlar arasında tutarsızlık bulunduğundan RFC1 80GG/ MTHFR 677CT polimorfizminin plazma folat ve homosistein seviyelerindeki etkisi hala tartışmalıdır (45).

### **2.5.3. Sistatyonin b- Sentaz (CBS) ve Down Sendromu riski**

Sistatyonin beta-sentaz homosistein kondensasyonunda ve serinin sistatyonine dönüşümde görevli bir hemoproteindir. İnsan CBS proteini açıkça ayrıtılabilen üç modülden oluşmuştur. Bunlar heme domaini, katalitik çekirdek domaini ve düzenleyici domain olan C terminal domainidir. Bu enzim tam yapısıyla tetramer formunda bulunmaktadır. CBS aktivitesinin eksikliğinde hiperhomosisteinemi ve CBS aktivitesinde bir eksiliğe neden olur ve bu da homosistinüri adı verilen bir hastalığa neden olur. CBS geninde birçok missense, nonsense, insersiyon, delesyon, splice bölgesi mutasyonları olmak üzere çok sayıda mutasyon tanımlanmıştır (45).

CBS yetersizliğine bağlı bir homosistinüri hastasında ilk olarak 844ins68 insersiyonu rapor edilmiştir. Ancak daha sonra yapılan çalışmalar bu insersiyonun popülasyonda belli bir frekansta gözlenen ve hastalığa neden olmayan bir polimorfizm olduğunu göstermiştir. Çeşitli çalışmalarda CBS 844ins68 polimorfizminin tek başına homosistein seviyelerinde bir etkisi olmadığı gösterilmiştir (86, 88). Ancak CBS 844ins68 insersiyonunun, MTHFR 677 C>T, MTHFR 1298 A>C ve MTR 2756 A>G polimorfizmleri ile kombine değerlendirildiğine homosistein seviyelerine etkisi olabileceği düşünülmektedir (32, 31). Yapılan çalışmaların hiç biri CBS 844ins68 ve DS riski arasındaki bağlantıyı araştırma amaçlı yapılmamış. Sadece Silva ve arkadaşları MTHFR 677T, MTHFR 1298C, MTR 2756G, MTRR 66G ve CBS 844ins68 mutant alellerin birlikte değerlendirildiğinde DSA' ya yatkınlığa neden olabilecekleri ve Down Sendromu riski üzerine poligenik olarak etkili olabilecekleri sonucuna varılmıştır (23).

### **2.5.4. Timidilat sentaz (TYMS) ve Down Sendromu riski**

Folatlar nükleotidlerin de novo sentezi için gereklidirler. Metilasyon yolağında 5,10-MTHF, MTHFR tarafından redüklenir. Bu görevinin yanında ayrıca pirimidinlerin de novo sentezinde, timidilat sentaz tarafından MTHFR, deoksiüridin monofosfatın (dUMP)

deoksitimin monofosfata (dTMP) dönüşümünde görev alır. Böylece MTHFR enzimi ile ilgili polimorfizmler 5,10- Metil THF üzerinden DNA metilasyonunu etkilediği gibi TYMS genindeki polimorfizmlerde aynı etkiyi gösterebilmektedir. TYMS geninin promotorunda bilinen iki polimorfizmin TYMS mRNA ekspresyonu ve stabilitesini etkilediği gözlenmiştir (215). MTHFR ve TYMS genlerindeki polimorfizmlerin kombinasyonları sonucu enzim aktivitesinin bozulması sonucu DNA metilasyonunda bozukluklar ve bunun etkisiyle kromozom segregasyonu ve sonuç olarak DS riski oluşturduğu düşünülmektedir (40).

#### **2.5.5. Metilentetrahidrofolat dehidrogenaz (MTHFD1) ve Down Sendromu riski**

Metilentetrahidrofolat dehidrogenaz üç fonksiyonlu bir enzim olup tetrahidrofolatların pürine çevrilmesinde ayrıca metionin ve timidilat sentezinde görev alır. Sık gözlenen MTHFD1 1958 G>A polimorfizmi (Arg653Gln) enzimin aktivitesini ve stabilitesini azaltmakta ve bu da nöral tüp defekti, konjenital kalp defektleri ve açıklanamayan ikinci trimester gebelik kaybı gibi birçok hastalık ile ilişkili bulunmuştur (216). Scala ve arkadaşları MTHFD 1958 G>A polimorfizmini DS' li çocuk sahibi olma açısından maternal risk faktörü olarak değerlendirmişler ve kombine MTHFD1 1958 AA/ RFC1 80 GG genotipleri ile DS' li çocuk sahibi olma riski arasında pozitif ilişki bulmuşlardır (24).

#### **2.5.6. Folat /homosistein metabolizmasında görevli kromozom 21' de lokalize diğer genler**

RFC1 ve CBS ile beraber folat/ hcy metabolizmasında görevli diğer genler kromozom 21'de lokalizedirler. DS'li fetüslerde bu genlerin overekspresyonu karbon metabolitlerine olan ihtiyacı artırır ve bu durum hamilelik esnasında maternal nutrisyonu ve fetal genotipi etkiler. Kromozom 21 üstünde folat/hcy metabolizmasında görev yapan fosforibozilglisinamid transformilaz (GART), formiminotetrahidrofolat siklodeaminaz (FCTD), metil transferazlar veya metil transferaz benzeri proteinleri kodlayan diğer genler protein arjinin N-metiltransferazlar (HRMT1L1, PRMT2), DNA metil transferaz 3- like (DNMT3L) ve aday metiltransferazlar (NAMT1, PRED28) bulunmaktadır. Bu genlerin DS riski ile olası bağlantıları henüz aydınlatılmayı beklemektedir (45).



### **3.GEREÇ ve YÖNTEMLER**

#### **3.1. Araştırmanın tipi**

Araştırmanın tipi randomize vaka-kontrol çalışmasıdır.

#### **3.2. Gönüllülerin Araştırmaya Dahil Edilme Kriterleri**

Hasta grubu için kriterler; 1) En az bir Down Sendromlu çocuk sahibi olan aileler ( anne-baba- DS'li çocuk)

Kontrol grubu için; 1) Sağlıklı en az bir çocuk sahibi olan aileler ( anne- baba- çocuk), 2) Düşükle sonuçlanan veya anormal bir gebelik öyküsü olmamak, 3) Daha önceden tespit edilmiş metabolik bir hastalığı ( folat metabolizması ile ilgili ) olmamak.

#### **3.3. Araştırma öncesi bilgilendirme**

Hasta ve kontrol gruplarına öncelikle çalışmaya dahil olma kriterleri anlatılmıştır. Çalışmanın tamamen gönüllülük esasına dayandığı, istedikleri zaman çalışmadan çıkabilecekleri ve her hangi bir risk tespit edildiğinde bilgilendirilecekleri ifade edilmiştir. Bu bilgiler ışığında çalışmaya katılmak isteyen ve çalışmaya dahil edilen bireylere (anne,baba) gönüllü onam formları okutulup imzalatılmıştır (Ek 1).

#### **3.4. Araştırmanın izni ve etik durum**

Araştırma Konya Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi klinik araştırmalar etik kurulunun 29.02.2012 tarihli 2012/04 sayılı kararı ile onay almıştır (Ek 2).

#### **3.5. Araştırmanın evreni ve yeri**

Bu çalışma 2012 yılında Konya Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Çocuk Endokrinoloji ve Metabolizma Polikliniğine ve Gebe polikliniğine başvuran, klinik ve sitogenetik olarak Down Sendromu tanısı alan 48 DS' li çocuk ve anne- babası ile en az 1 sağlıklı çocuğu olan hiç abortus öyküsü olmayan 20 gönüllü anne-baba ve çocuk ile gerçekleştirilmiştir.

#### **3.6. Araştırma Grubu Bireylerinin Demografik Özellikleri**

DS'li annelerin 24 'ü 35 yaş altı olup, 24'ü 35 yaş üstü olanlardan seçilmiştir. Sağlıklı çocukların annelerinin 10 tanesi 35 yaş üzeri olup, 10 tanesi 35 yaş altı olanlardan seçilmiştir. Babalarda yaş ayrımı yapılmamıştır. DS'li çocukların sitogenetik tipleri gözardı edilmiştir.

DS'li ve kontrol grubu annelere ve babalara bilgilendirilmiş onam formu imzalatıldıktan sonra çalışmaya alınmıştır. Çalışma grubuna demografik özellikler, akrabalık, ailede genetik sendrom olup olmadığı, kan örneği alınan çocuklarda gebelik esnasında tarama testi uygulanıp uygulanmadığı, sistemik hastalıklar, abortus öyküsü ile ilişkili soruları içeren standardize bilgi formları uygulanmıştır.

Çalışmamızda amacımıza uygun olarak seçilmiş olan olgu ve kontrol grubu bireylerinden genetik analiz yapmak için EDTA' lı tüpe 2 ml venöz kan örneği, biyokimyasal analiz yapmak için EDTA' lı tüpe 2 ml ve düz tüpe 4 ml venöz kan örneği alınmıştır.

### **3.7. MTHFR Gen Polimorfizm Ölçümü**

#### **3.7.1. DNA İzolasyonu:**

Çalışma ve kontrol grubundaki her bir bireyden DNA izolasyonu için alınan kanlar +4C de saklandı. DNA izolasyonu EZ1 200 ml Kit (Qiagen, Almanya) ile Bio Robot EZ1 (Qiagen, Almanya) cihazı kullanılarak otomatik olarak yapıldı. Bu otomatik DNA izolasyon yöntemi, magnetik partikül ve silika bazlı DNA saflaştırma teknolojisine dayanmaktadır. Lizatlarla izole edilen DNA, magnetik partiküllerin silika yüzeyine tutunmakta, daha sonra mıknatıs aracılığıyla lizatlardan ve diğer maddelerden arındırılmaktadır. Bu sistem, diğer yöntemlerden daha kullanışlı, pratik ve yüksek kalitede DNA eldesini mümkün kılmaktadır.

Elde edilen DNA' ların miktarları Nanodrop 2000 spektrofotometre (Thermo Scientific, USA) cihazı ile ölçüldü. DNA konsantasyonu ortalama 50 µl /ml olacak şekilde ayarlandı ve daha sonra PCR da kullanılmak üzere -20 C de saklandı.

#### **3.7.2. DNA Amplifikasyonu:**

MHFR geninin hedef bölgelerini çoğaltmak için PCR yöntemi kullanıldı. Daha önceden elde edilen ve -20 C de saklanan DNA' lar ve PCR kiti (PCR Master Mix, PCR primerleri, RNaz içermeyen distile su ) oda ısısında eritildi. PCR primerleri hariç diğer solüsyonlar vortekslendi. PCR primer tüpleri mikrosantrifüj cihazında (MiniSpeedy MikroCentrifuge, EuroClone, İtalya) 13.000 rpm'de 4- 5 saniye döndürülüp ardından el ile hafifçe vurularak homojinize edildi.

Ardından, 12.5 µl Pyromark PCR Master Mix 2x, 1 µl PCR primeri ve 6.5 µl RNaz içermeyen distile su alınarak toplamda 20 µl olacak şekilde reaksiyon karışımı hazırlandı. Reaksiyon karışımı mikrosantrifüjde 13.000 rpm'de 4- 5 saniye döndürülüp homojinize

edildi. Elde edilen reaksiyon karışımından her birey için hazırlanmış olan 0.2 ml'lik PCR tüplerine 20 µl kondu. Bu karışım üzerine hazırlanmış DNA'dan 5 µl eklendi. Hazırlanan son karışım ısı-döngü cihazına (Thermal cycler) (Primus 96 plus, MWG AG Biotech, Almanya) kondu. Daha sonra cihaz MTHFR C677T ve A1298C için belirlenen protokole uygun olarak ayarlandı ve DNA'nın çoğalması sağlandı.

### **3.7.3. Bölgesel dizileme yöntemi (Pyrosequencing):**

DNA amplifikasyonu sonrası minidizileme için Pyromark Q24 minidizileme cihazı ve Pyromark vakum istasyonu kullanıldı.

Elde edilen MTHFR genine ait ampliconların dizilenmesi için streptavidin içeren bir stok solüsyonu oluşturuldu. Oluşturulan stok solüsyonundan 24'lük PCR kalıbında her kuyucuğa 70 µl ve önceden elde edilmiş PCR ürünlerinden 10'ar µl olacak şekilde eklendi. Bu karışım 1400 rpm'de oda ısısında orbital çalkalayıcıya kondu. Bu arada sekans primeri içeren ikinci bir solüsyon hazırlandı ve Pyromark Q24 kalıplarına her kuyucuğa 25 µl olacak şekilde dağıtıldı. Daha sonra Pyromark vakum istasyonu cihazının belirli bölgelerine gerekli solüsyonlar konuldu. Orbital çalkalayıcıda bulunan PCR kalıbı vakum istasyonundaki yerine konuldu. Vakum pompası çalıştırıldı ve cihaza uygun prosedür uygulandı. Daha sonra cihaz kapatıldı ve Pyromark Q24 kalıbına konarak nazikçe çalkalandı. Böylelikle filtre uçlarında bulunan boncuklar, sekans primeri içeren kuyucuklara döküldüler. Daha sonra ısıtma ve soğutma işlemi uygulandı ve böylece sekans primeri ile tek zincirli hale gelmiş olan PCR kalıbının birbirine bağlanması sağlandı.

Bu işlem yapılırken sekans için önceden Pyromark Q24 software ile düzenlenmiş olan bilgisayar programının (Pre Run Dosyası) olduğu USB, Pyromark Q24 cihazına takıldı. Kartuj hazırlandı. Hazırlanan kartuj cihazda ilgili bölüme yerleştirildi. Sekans primeri içeren diğer kartuj da yine ilgili bölüme yerleştirildi ve cihaz çalıştırıldı. Cihaz ortalama olarak dakikada 1 nükleotid okumaktadır. Yaklaşık 15- 20 dakikada sekans işlemi tamamlandı. Program ile yapılan sekans analiz edildi ve veriler kaydedildi.

### **3.8. Homosistein, B6 vitamin, B12 vitamin, ve Folik asit düzeylerinin ölçümü**

Hastalardan ve kontrol grubundan 10- 12 saat açlık sonrası sabah saatlerinde EDTA' lı tüplere ve düz tüplere 10 ml kan numuneleri alındı. Düz tüplere alınan kan numuneleri pıhtılaştıktan hemen sonra bekletilmeden, EDTA' lı tüplere alınan numuneler hemen 4 0C'ye ayarlı soğutmalı santrifüjde 1000 x g'de 15 dakika santrifüj edildi ve serum ve

plazmaları ayrıldı. Serum ve plazma örnekleri, plastik ve kapaklı eppendorf tüplere transfer edilerek -20 °C'de derin dondurucuda çalışma gününe kadar saklandı. Homosistein seviyeleri ELİZA yöntemi ile, B6 vitamin seviyeleri HPLC yöntemi ile, B12 vitamin ve folik asit seviyeleri ise rutin immunassay metodlarla ölçüldü.

### **3.8.1. Kullanılan Kimyasallar ve Kitler**

- Homosistein kit (Axis-Shield Diagnostic), referans aralığı; 5- 15 µmol/L
- B6 vitamin kit (Chromsystems) , referans aralığı; 3,6- 18 µg/l
- B12 vitamin, folik asit ( Beckman Coulter) , referans aralıkları sırası ile 126.5- 505 pg/ml ve 3.1- 19.9 ng/ml

### **3.8.2. Homosistein Ölçümü:**

Homosistein, enzim immunassay yöntemi ile çalışan Axis-Shield Diagnostic marka kit kullanılarak (kat no: fHCY100) ölçüldü. Testin çalışma şekli ve prensibi kısaca şu şekildedir: öncelikle serumda bulunan protein bağlı homosistein serbest homosisteine indirgenir ve S-adenozil-L-homosisteine (SAH) dönüştürüldü. Standartlar, kontrol örnekleri ve serum numuneleri insan SAH antikoru ile kaplanmış kuyucuklarda inkübe edildi. İnkübasyon ve yıkamanın ardından Streptavidin-HRP konjugatı eklendi. İnkübasyon ve son yıkamanın ardından kalan konjugata, substrat solüsyonu eklendi ve reaksiyon asidik solüsyon eklenerek durduruldu. Böylece, meydana gelen sarı rengin absorbansı 450 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçüldü. Absorbanslar homosistein konsantrasyonu ile doğru orantılıdır. Standart homosistein konsantrasyonlarına karşılık gelen absorbans değerleri ile standart eğrisi çizildi. Bu standart eğrisi kullanılarak numunelerin homosistein konsantrasyonları µmol/L cinsinden hesaplandı.

### **3.8.3. B6 Vitamin Ölçümü:**

B6 Vitamin ölçümü, Chromsystems marka ticari kit (Lot no:503) kullanılarak agilent 1100 marka HPLC cihazında firma tarafından verilen prospektüse göre aşağıdaki şekilde gerçekleştirildi: 200µl serum, 125µl presipitasyon reaktif ile karıştırıldı, kahverengi bir eppendorf tüp içerisinde 30 sn kadar vortekste karıştırıldıktan sonra 10 dakika +4 °C de bekletildi. Daha sonra 5 dakika 13000 rpm de santrifüj edildi. 250µl supernatan yeni bir kahverengi eppendorf tüp içine alındı. 250µl nötralizan, 100µl derivatizasyon reaktifi aynı eppendorfa ilave edilip, 20 dakika +60 °C de inkübe edildi. 10 dakika +4 °C de soğutuldu. 13000 rpm'de 2 dakika santrifüj edildi. Süpernatandan 50µl alınıp 20µl enjeksiyona ayarlanmış HPLC agilent 1100 cihazında ölçüm yapıldı. B6 Vitamin konsantrasyonları µg/L cinsinden hesaplandı.

### 3.8.4. B12 vitamin, folik asit Ölçümü:

B12 vitamin, folik asit analizleri, Beckman Coulter Unicel DxI- 800 marka immün analizörde orijinal Beckman Coulter marka ticari kitleri kullanılarak kemiluminesan yöntemlerle ölçüldü.

### 3.9. Verilerin İstatistiksel Olarak Değerlendirilmesi

Tüm istatistiksel analizler için SPSS software 15,0 istatistik programı kullanılmıştır.  $P < 0,05$  önemlilik düzeyi olarak kabul edilmiştir. Sonuçların %95 güven aralıkları belirlenmiştir. Sürekli değişkenler için ortalama  $\pm$  standart sapma değerleri verilmiştir. Kategorik veriler için frekans dağılımı tabloları verilmiştir. Demografik özellikler belirtilmiştir. Kontrol ve olgu gruplarının arasındaki MTHFR genotip sıklıklarının karşılaştırılması için ki-kare testi kullanılmıştır. B12, B6 Vitaminleri, Folik asit ve Homosistein değerleri numerik olması nedeniyle ki kare testinin yanı sıra Kruskal-Wallis, Kolmogorov-Smirnov normallik testi, Bağımsız Mann-Whitney U Testleri kullanılmıştır. Kontrol ve olgu gruplarının arasındaki MTHFR genotiplerinin, B12, B6 Vitaminleri, Folik asit ve Homosistein değerlerinin down sendromu ile ilişkisini kombine olarak hesaplamak için Logistik regresyon analizi yapılmıştır. Kurulan modelin uyum iyiliği veya geçerliliği ise Hosmer-Lemeshow testi ile sınanmıştır. Anlamlı bulunan folik asit değişkeni için ayrıntılı Blogreg analizi yapılmıştır.

Öncelikle verilere parametrik yada parametrik olmayan bir testin uygulanabilirliğinin normallik testi gösterilmiştir. Bu aşamada bu testi Kolmogorov Smirnov testi kullanılarak karar verilmiştir ( Tablo 5 ).

**Tablo 5.** Kolmogorov Smirnov testi

DS' de etkili faktörler	Kolmogorov- Smirnov Değeri	P Değeri
B12	1,887	0,002<0,05
B6	2,319	0,000<0,05
FOLiKASiT	1,589	0,013<0,05
HOMOSiSTEiN	2,102	0,000<0,05

Ailelerden alınan vitamin B12, vitamin B6, Folikasit ve Homosistein verilerine ilişkin normallik testi yapılmıştır ve P değeri 0,05 'ten küçük olduğu için bu verilerin normal dağılıma uygun olmadığı görülmüştür ve Parametrik olmayan test uygulanabilirliğine karar verilmiştir.

#### 4.BULGULAR

##### 4.1. Maternal MTHFR C677T ve A1298C Gen Polimorfizmleri ve Down Sendromu Riski

Çalışma grubumuzda; DS'li anneler ve kontrol grubu arasında MTHFR geninin C677T polimorfizmi açısından genotip frekansları karşılaştırıldığı zaman 35 yaş altı DS' li anneler grubu arasında 677 TT ( homozigot mutant ) (%8,3 ), 677 TC ( heterozigot mutant ) (%45,8 ), 35 yaş üstü DS' li anneler grubu arasında homozigot mutant ( %4,2 ), heterozigot mutant ( %37,5 ) frekanslarının kontrol grubundaki genotip frekansları 35 yaş altı sağlıklı grupta homozigot mutant ( %10,0 ) heterozigot mutant ( %60,0 ), 35 yaş üstü sağlıklı grupta homozigot mutant ( %0,0 ) heterozigot mutant ( %70,0 ) ile benzerlik gösterdiği gözlemlendi. Genotip frekansları açısından DS' li anneler ve kontrol grupları arasında (anlamlılık düzeyi)  $P=0,541$  (  $P>0,05$  ) olduğundan istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır (Tablo 6).

**Tablo 6.** Maternal MTHFR C677T Genotipi

MTHFR C677T	35 yaş altı ds'lu anne	35 yaş üstü ds'lu anne	35 yaş altı sağlıklı anne	35 yaş üstü sağlıklı anne	Total
Normal (wild tip)	11 (%45,8)	14 (%58,3)	3 (%30,0)	3 (%30,0)	31 (%45,6)
Heterozigot	11 (%45,8)	9 (%37,5)	6 (%60,0)	7 (%70,0)	33 (%48,5)
Homozigot	2 (%8,3)	1 (%4,2)	1(%10,0)	0 (%0,0)	4 (%5,9)
Total	24 (%100)	24 (%100)	10 ( %100)	10 ( %100)	68(%100)

DS' li anneler ve kontrol grubu arasında MTHFR geninin A1298C polimorfizmi açısından genotip frekansları karşılaştırıldığı zaman 35 yaş altı DS' li anneler grubu arasında 1298 CC ( homozigot mutant ) ( %12,5 ), 1298 AC ( heterozigot mutant ) ( %45,8 ), 35 yaş üstü DS' li anneler grubu arasında homozigot mutant ( %25,0 ), heterozigot mutant ( %50,0 ) frekanslarının kontrol grubundaki genotip frekansları 35 yaş altı sağlıklı grupta homozigot mutant ( %20,0 ) heterozigot mutant ( %30,0 ), 35 yaş üstü sağlıklı grupta homozigot mutant ( %0,0 ) heterozigot mutant ( %60,0 ) ile benzerlik gösterdiği gözlemlendi. Genotip frekansları açısından DS' li anneler ve kontrol grupları arasında  $P= 0,610$  (  $P>0,05$  ) olduğundan istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır (Tablo 7).

**Tablo 7.** Maternal MTHFR A1298C Genotipi

MTHFR A1298C	35 yaş altı ds'lu anne	35 yaş üstü ds'lu anne	35 yaş altı sağlıklı anne	35 yaş üstü sağlıklı anne	Total
Normal (wild tip)	10 (%41,7)	6 (%25,0)	3 (%30,0)	4 (%40,0)	23(%33,8)
Heterozigot	11 (%45,8)	12 (%50,0)	5 (%50,0)	6 (%60,0)	34(%50,0)
Homozigot	3 ( %12,5)	6 (%25,0)	2 (%20,0)	0 (%0,0)	11 (%16,2)
Total sayı	24 (%100)	24( %100)	10 ( %100)	10 (%100)	68 ( %100)

#### **4.2. Maternal B6 Vitamini, B12 Vitamini, Folik Asit, Homosistein Düzeyleri ve Down Sendromu Riski:**

DS' li ve sağlıklı annelerde Vitamin B12 değerleri referans aralığı göz önüne alınarak karşılaştırıldığında DS açısından p: 0,137 (  $P>0,05$ ) olduğundan istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır. 35 yaş üstü DS' li annelerin %12,5'nde 35 yaş altı DS' li annelerin %4,2 'nde Vitamin B12 eksikliği izlenirken 35 yaş üstü sağlıklı annelerin %30' nda, 35 yaş altı sağlıklı annelerin % 0'nda Vitamin B12 eksikliği tespit edilmiştir (Tablo 8 ).

DS'li ve sağlıklı annelerde Vitamin B6 değerleri referans aralığı göz önüne alınarak karşılaştırıldığında DS açısından p:0,169 (  $P>0,05$ ) olduğundan istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır. 35 yaş üstü DS'li annelerin %4,2' nde, 35 yaş altı DS'li annelerin % 20,8' nde, 35 yaş üstü sağlıklı annelerin %30' unda, 35 yaş altı sağlıklı annelerin % 20' sinde Vitamin B6 eksikliği tespit edilmiştir (Tablo 8 ).

Folik asit değerleri referans aralığı göz önüne alınarak karşılaştırıldığında tüm gruplardaki annelerde normal değerler içinde bulunmuş olup istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edilmemiştir. Sadece 35 üstü DS' li grupta %4,2 oranında folik asit eksikliği tespit edilmiştir. Bu oran tüm gruplar içinde değerlendirildiğinde %1,5 oranına tekabül eder (Tablo 8 ).

**Tablo 8.** Maternal B6 Vitamini, B12 Vitamini, Folik Asit, Homosistein Düzeyleri

	35 yaş altı anneler				35 yaş üstü anneler			
	DS'li		Sağlıklı		DS'li		Sağlıklı	
	Mean	Min- Max	Mean	Min- Max	Mean	Min- Max	Mean	Min- Max
B12 Vitamini	270,17 ±157,13	124- 727	329,40 ±239,38	141- 920	224,71 ±127,26	105- 751	208,00 ±161,16	72- 607
B6 Vitamini	8,02 ±4,69	1,31- 18,97	8,78 ±5,42	1,10- 19,00	11,08 ±7,89	1,64- 35,55	5,69 ±3,60	1,51- 10,90
Folik asit	7,18 ±1,86	4,37- 11,01	12,56 ±6,76	3,71- 20,00	7,81 ±2,93	2,71- 15,00	9,21 ±3,41	4,93- 14,66
Homosistein	17,12 ±7,77	6,56- 33,61	17,51 ±10,78	7,40- 34,69	11,00 ±5,76	4,73- 28,04	16,61 ±6,97	8,55- 26,47

DS' li ve sağlıklı annelerde homosistein değerleri karşılaştırıldığında  $p:0,024$  ( $P<0,05$ ) olduğundan istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmıştır. DS' li 35 yaş altı annelerde %57.9, 35 yaş altı sağlıklı annelerde %40.0, 35 yaş üstü sağlıklı annelerde %40.0 oranında hiperhomosisteinemi saptanırken 35 yaş üstü DS' li annelerde %10,5 oranıyla anlamlı olarak daha az oranda hiperhomosisteinemi saptanmıştır. 35 yaş üstü DS' li annelerin %89,5'i normal homosistein değerlerine sahiptir. Bu istatistik analizlerdeki sonuçlara göre annelerde yaş gruplarına göre değerlendirildiğinde hiperhomosisteinemi ile DS arasında anlamlı ilişki tespit edilememiştir.

#### 4.3. Maternal Lojistik Regrasyon Analizi ve Risk Hesaplaması

DS' li annelerde ve kontrol grubunda yaş grupları göz ardı edilerek DS ile vitamin B12, vitamin B6, Folik asit eksikliği, Homosistein yüksekliği, MTHFR677 ve MTHFR1298 gen mutasyonları varlığı ile arasında ilişki olup olmadığını tespit etmek için Lojistik Regrasyon Analizi yapılmıştır. Kurulan modelin uyum iyiliği veya geçerliliği ise Hosmer-Lemeshow testi ile sınanmıştır (Tablo 9). Bu teste “ modelin verilere uygun olduğu sıfır hipotezi ” test edilmektedir. Hosmer-Lemeshow testinde ki-kare istatistiği 3,248 bulunmuştur. Bu değer anlamlılık düzeyi  $P=0.918>0.05$  olduğundan sıfır hipotezi reddedilemez ve kurulan logistik regresyon modelinin verilere uygun olduğuna karar verilir.



**Tablo 9.** Annelerde lojistik regresyon analizini doğrulamak için Hosmer-Lemeshow testi

Ki-kare testi	Serbestlik derecesi	P değeri
3,248	8	,918

Lojistik regresyon analizine dahil edilen 68 anneden, yakın bir gelecekte down sendromlu 48 annenin 46'sını ve yakın bir gelecekte down sendromlu olmayan 20 annenin 12'sini doğru tahmin ederek, down sendromlu anneler için %95,8, down sendromlu olmayan anneler için %40,0 oranında doğru sınıflandırma yapmıştır. Kurulan lojistik modelin toplam sınıflandırma başarısı %79,4 olarak elde edilmiştir ( Tablo 10 )

**Tablo 10.** Maternal Logistik regresyon analizi sınıflandırma tablosu

Lojistik Regresyon Analizi		Tahmin Edilen Grup			
		Hasta	Hasta değil	Toplam	Doğruluk Yüzdesi
Gözlenen Grup	Hasta	46	2	48	95,8
	Hasta değil	8	12	20	40,0
	Toplam	54	14	68	79,4

Logistik regresyon analizinde Folik asit değişkeninin anneler üzerinde DS açısından anlamlı olduğu ( $P=0,006<0,05$ ), diğer değişkenlerin ise anlamsız olduğu ( $P >0,05$ ) görülmüştür (Tablo 11).

**Tablo 11.** DS' da etkili olduğu düşünülen faktörlerin anneler üzerine etkisinin araştırılması

Bağımsız Değişkenler	B Katsayısı	Standart Hata	Wald İstatistiği	Serbestlik Derecesi	Anlamlılık Düzeyi (P)	Üstel B Değerleri
MTHFR677	-0,380	0,647	0,345	1	0,557	0,684
MTHFR1298	0,284	0,601	0,223	1	0,637	1,328
B12	-0,002	0,002	1,221	1	0,269	0,998
B6	0,088	0,071	1,530	1	0,216	1,092
Folik asit	-0,254	0,093	7,444	1	<b>0,006</b>	0,776
Homosistein	0,011	0,048	0,050	1	0,823	1,011
Denklemlerin sabiti	2,891	2,157	1,797	1	0,180	18,017

X1: MTHFR677, X2: MTHFR1298, X3: vitamin B12, X4: vitamin B6, X5: Folik asit, X6: Homosistein olarak yazıldığında; Lojistik model ;

$$P ( DS riski) = 1/1+e^{-Y}$$

$$Y = 2,891 - 0,380 * X_1 + 0,284 * X_2 - 0,002 * X_3 + 0,088 * X_4 - 0,254 * X_5 + 0,11 * X_6 , \quad \text{şeklinde kurulur.}$$

Anlamli bulunan Folik asit değişkeni için ayrıntılı Blogreg analizi yapılmak istendiğinde Folik asit değerinin referans aralığından farklı olarak 8,4 değerinin altında olan annelerde Down Sendromu'nun anlamli olarak fazla olduğu görüldü. Folik asit değerinin 8,4'ün altında olduğu annelere '0', folikasit değeri 8,4'ün üstünde olan annelere '1' değeri verildikten sonra yeniden Lojistik Regresyon analizi yapılmıştır ( Tablo 12 ).

**Tablo 12.** Yeni Folik asit değeri ile DS' da etkili olduğu düşünölen faktörlerin anneler üzerine etkisinin araştırılması

Bağımsız Değişkenler	B Katsayısı	Standart Hata	Wald İstatistiği	Serbestlik Derecesi	Anlamlılık Düzeyi (P)	Üstel B Değerleri
MTHFR677	-0,664	0,635	1,092	1	0,296	0,515
MTHFR1298	0,045	0,583	0,006	1	0,939	1,046
B12	-0,002	0,002	0,787	1	0,375	0,998
B6	0,109	0,075	2,107	1	0,147	1,115
Homosistein	0,005	0,047	0,011	1	0,916	1,005
Yeni Folik asit	-1,690	0,658	6,595	1	0,010	<b>0,185</b>
Denklem sabiti	2,033	2,148	0,896	1	0,344	7,639

Folik asit değeri 8,4 referans alınarak yapılan Blogreg analizi sonucunda Folik asit değeri 8,4'ün altında olan annelerde Folik asit değeri 8,4'ün üstünde olan annelere göre Down Sendromu açısından  $1/0,185=5.405$  kat (Odds Ratio (OR): 5.405) daha riskli olduğu söylenir. Buna göre Folik asit değerinin 8,4'ün altında bulunması Down Sendromu hastalığında etkilidir. MTHFR677: X1, MTHFR1298: X2, vitamin B12: X3, vitamin B6: X4, Homosistein: X5, yeni Folik asit: X6 olarak yazıldığında; Lojistik model;

$$P ( DS riski) = 1/1+e^{-Y}$$

$$Y = 2,033 - 0,664 * X_1 + 0,045 * X_2 - 0,002 * X_3 + 0,109 * X_4 + 0,005 * X_5 - 1,690 * X_6$$

şeklinde kurulur. Bu

model ile bir gebenin vitamin B12, vitamin B6, Folik asit, Homosistein değerleri, MTHFR677 ve MTHFR1298 gen mutasyonları varlığı yada yokluğu modelde yerine konulduğu zaman bu gebenin Down Sendromlu bebek doğurma olasılığı hesaplanabilir. MTHFR677 ve MTHFR1298 gen mutasyonları varlığında X '1' kabul edilir, yokluğunda '0' kabul edilir.

#### **4.4. Paternal Yaş ve Down Sendromu Riski**

DS'li çocuk sahibi babaların DS'li çocuk sahibi olduklarındaki yaş dağılımı 22 ile 50 arasında olup yaş ortalamaları  $35,06 \pm 7,667$  olarak bulunmuştur. 35 yaş altı DS'li annelerin eşlerinin ortanca değeri 29,38 (min:22, mak:43) olarak bulunmuştur. 35 yaş altı DS'li annelerin eşlerinin %20.8' i ileri yaş olarak tespit edilmiştir. 35 yaş üstü DS' li annelerin eşlerinin ortanca değeri 40,75 (min:30, mak:50) olarak bulunmuştur. Bu sonuca göre genç annelerde DS' li bebek sahibi olma etyolojisinde ileri baba yaşı bir etken olarak değerlendirilebilir.

#### **4.5. Paternal MTHFR C677T ve A1298C Gen Polimorfizmleri ve Down Sendromu Riski**

Çalışma grubumuzda; DS' li babalar ve kontrol grubu arasında MTHFR geninin C677T polimorfizmi açısından genotip frekansları karşılaştırıldığı zaman anne yaşı 35 yaş altı olan DS' li babalar grubu arasında 677 TT ( homozigot mutant ) ( 20,8% ) ya da 677 CT ( heterozigot mutant ) ( 41,7% ) anne yaşı 35 yaş üstü olan DS' li babalar grubu arasında 677 TT ( homozigot mutant ) ( 4,2% ) ya da 677 CT ( heterozigot mutant ) ( 45,8% ) frekanslarının kontrol grubundaki genotip frekansları 35 yaş altı sağlıklı grupta homozigot mutant ( 30,0% ) heterozigot mutant ( 20,0% ) , 35 yaş üstü sağlıklı grupta homozigot mutant ( 0% ) heterozigot mutant ( 80,0% ) ile benzerlik gösterdiği gözlemlendi. Genotip frekansları açısından DS' li babalar ve kontrol grupları arasında  $P=0,064$  (  $P>0,05$  ) olduğundan istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır (Tablo 13).

**Tablo 13.** Paternal MTHFR C677T Genotipi

MTHFR C677T	35 yaş altı anne grubu ds'li baba	35 yaş üstü anne grubu ds'li baba	35 yaş altı anne grubu sağlıklı baba	35 yaş üstü anne grubu sağlıklı baba	Total
Normal (wild tip)	9 (%37,5)	12 (%50,0)	5 (%50,0)	2 (%20,0)	28 (%41,2)
Heterozigot	10 (%41,7)	11 (%45,8)	2 (%20,0)	8 (%80,0)	31 (%45,6)
Homozigot	5 (%20,8)	1 (%4,2)	3 (%30,0)	0 (%0,0)	9 (%13,2)
Total sayı	24 (%100,0)	24 (%100,0)	10 (%100,0)	10 (%100,0)	68(%100,0)

Çalışma grubumuzda; DS'li babalar ve kontrol grubu arasında MTHFR geninin A1298C polimorfizmi açısından genotip frekansları karşılaştırıldığı zaman anne yaşı 35 yaş altı olan DS' li babalar grubu arasında 1298 CC ( homozigot mutant ) ( 12,5%) ya da 1298 AC ( heterozigot mutant ) ( 41,7% ) anne yaşı 35 yaş üstü olan DS 'li babalar grubu arasında homozigot mutant ( 29,2% ) ya da heterozigot mutant ( 33,3% ) frekanslarının kontrol grubundaki genotip frekansları 35 yaş altı sağlıklı grupta homozigot mutant ( 0,0% ) heterozigot mutant ( 50,0% ), 35 yaş üstü sağlıklı grupta homozigot mutant ( 20,0% ) heterozigot mutant ( 50,0% ) ile benzerlik gösterdiği gözlemlendi. Genotip frekansları açısından DS' li babalar ve kontrol grupları arasında  $P=0,326$  (  $P>0,05$  ) olduğundan istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır (Tablo 14).

**Tablo 14.** Paternal MTHFR A1298C Genotipi

MTHFR A1298C	35 yaş altı anne grubu ds'li baba	35 yaş üstü anne grubu ds'li baba	35 yaş altı anne grubu sağlıklı baba	35 yaş üstü anne grubu sağlıklı baba	Total
Normal(wild tip)	11 (%45,8)	9(%37,5)	3 (%30,0)	3 (%30,0)	26 (%38.2)
Heterozigot	10 (%41,7)	8 (%33,3)	7 (%70,0)	5(%50,0)	30 (%44,1)
Homozigot	3 (%12,5)	7 (%29,2)	0 (%0.0)	2 (%20,0)	12 (%17,6)
Total sayı	24(%100,0)	24(%100,0)	10(%100,0)	10(%100,0)	68(%100,0)

#### 4.6. Paternal B6 Vitamini, B12 Vitamini, Folik Asit, Homosistein Düzeyleri ve Down Sendromu Riski

DS' li ve sağlıklı babalarda Vitamin B12 değerleri referans aralığı göz önüne alınarak karşılaştırıldığında DS açısından p: 0,441(  $P>0,05$ ) olduğundan istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır (Tablo 15). DS' li 35 yaş üstü grubun %4,2' nde, 35 yaş altı sağlıklı grubun % 10' unda vitamin B12 eksikliği izlenirken DS' li babaların %6,25' nde yüksek değerler izlenmiştir

DS' li ve sağlıklı babalarda Vitamin B6 değerleri referans aralığı göz önüne alınarak karşılaştırıldığında DS açısından p:0,849 (  $P>0,05$  ) olduğundan istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır (Tablo 15). Sadece 35 yaş üstü DS' li babaların grubunda %4.2 oranında Vitamin B6 eksikliği bulunmuştur.

Folik asit değerleri referans aralığı göz önüne alınarak karşılaştırıldığında tüm gruplardaki babalarda normal değerler içinde bulunmuş olup istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edilmemiştir (Tablo 15 ).

**Tablo 15.** Paternal B6 Vitamini, B12 Vitamini, Folik Asit, Homosistein Düzeyleri

	35 yaş altı anne grubu				35 yaş üstü anne grubu			
	DS'li Baba		Sağlıklı Baba		DS'li Baba		Sağlıklı Baba	
	Mean	Min- Max	Mean	Min- Max	Mean	Min- Max	Mean	Min- Max
B12 Vitamini	255,75 ±86,97	130- 543	220,30 ±65,91	122- 361	242,54 ±114,63	115- 530	273,30 ±121,03	132- 494
B6 Vitamini	13,64 ±9,03	4,51- 48,98	12,52 ±65,91	7,50- 24,40	11,22 ±5,92	1,46- 22,90	21,89 ±23,29	5,10- 74,20
Folik asit	7,53 ±2,60	3,08- 12,25	9,38 ±3,20	5,02- 15,77	6,67 ±2,99	3,15- 17,80	9,62 ±5,72	4,24- 20,00
Homosistein	11,48 ±6,78	4,56- 28,85	9,15 ±2,51	7,32- 14,76	9,00 ±2,40	6,71- 14,30	8,67 ±3,700	5,27- 18,43

DS' li ve sağlıklı babalarda homosistein değerleri karşılaştırıldığında p:0,036 (  $P<0,05$ ) olduğundan istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmıştır. Homosistein değerleri 35 yaş üstü anne grubu DS' li baba da %100, 35 yaş altı anne grubu sağlıklı baba da %100, 35 yaş

üstü anne grubu sağlıklı baba da % 90,0 normal olarak saptanırken 35 yaş altı anne grubu DS' li baba da %73,7 oranında normal, %26,3 oranında yüksek oran saptanarak genç babalarda DS riski ile istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmıştır.

#### 4.7. Paternal Lojistik Regrasyon Analizi ve Risk Hesaplaması

DS'li babalarda ve kontrol grubu babalarda yaş grupları göz ardı edilerek DS ile vitamin B12, vitamin B6, Folik asit eksikliği, Homosistein yüksekliği, MTHFR677 ve MTHFR1298 gen mutasyonları varlığı ile arasında ilişki olup olmadığını tespit etmek için Lojistik Regrasyon analizi yapılmıştır. Kurulan modelin uyum iyiliği veya geçerliliği ise Hosmer-Lemeshow testi ile sınanmıştır. Bu testte “ modelin verilere uygun olduğu sıfır hipotezi ” test edilmektedir. Hosmer-Lemeshow testinde ki-kare istatistiği 6,594 bulunmuştur. Bu değer anlamlılık düzeyi  $P=0.581>0.05$  olduğundan sıfır hipotezi reddedilemez ve kurulan logistik regresyon modelinin verilere uygun olduğuna karar verilir ( Tablo 16 ).

**Tablo 16.** Babalarda Lojistik regresyon analizini doğrulamak için Hosmer-Lemeshow testi

Ki-kare testi	Serbestlik derecesi	P değeri
6,594	8	,581

Tabloya baktığımızda, lojistik regresyon analizine dahil edilen 68 babadan, yakın bir gelecekte Down Sendromlu 48 babanın 46'sını ve yakın bir gelecekte Down Sendromlu olmayan 20 babanın 5'ini doğru tahmin ederek, DS'li bireyler için %95,8, DS'li olmayan bireyler için %25,0 oranında doğru sınıflandırma yapmıştır. Kurulan lojistik modelin toplam sınıflandırma başarısı %75,0 olarak elde edilmiştir ( Tablo 17 ).

**Tablo 17.** Paternal Logistik regresyon analizi sınıflandırma tablosu

Lojistik Regresyon Analizi		Tahmin Edilen Grup			
		Hasta	Hasta değil	Toplam	Doğruluk Yüzdesi
Gözlenen Grup	Hasta	46	2	48	95,8
	Hasta değil	15	5	20	25,0
	Toplam	14	54	68	75,0

Logistik regresyon analizi yapıldıktan sonra Folik asit değişkenin anlamlı olduğu ( $P=0,035<0,05$ ) diğer değişkenlerinden anlamsız olduğu ( $P >0,05$ ) görülmüştür (Tablo 18).

**Tablo 18.** DS’da etkili olduğu düşünülen faktörlerin babalar üzerine etkisinin araştırılması

Bağımsız Değişkenler	B Katsayısı	Standart Hata	Wald İstatistiği	Serbestlik Derecesi	Anlamlılık Düzeyi (P)	Üstel B Değerleri
MTHFR677	-0,455	0,508	0,803	1	0,370	,634
MTHFR1298	-0,250	0,493	0,257	1	0,612	,779
B12	0,001	0,003	0,054	1	0,816	1,001
B6	-0,020	0,027	0,555	1	0,456	,980
Folik Asit	-0,179	0,085	4,426	1	<b>0,035</b>	,836
Homosistein	0,059	0,083	0,503	1	0,478	1,061
Denklem sabiti	3,122	2,047	2,327	1	0,127	22,690

Lojistik model aşağıdaki gibidir. MTHFR677: X1, MTHFR1298: X2, vitamin B12: X3, vitamin B6: X4, Folik Asit:X5, Homosistein:X6 olarak yazıldığında;

$$P ( DS riski) = 1/1+e^{-Y}$$

$Y = 3,122 - 0,455*X_1 + 0,250*X_2 + 0,001*X_3 - 0,020*X_4 - 0,179*X_5 + 0,059*X_6$  olarak bulunur.

Anlamlı bulunan Folik asit değişkeni için ayrıntılı Blogreg analizi yapılmak istendiğinde Folik asit değerinin referans aralığından farklı olarak 8,4 değerinin altında olan babalarda Down Sendromu’nun anlamlı olarak fazla olduğu görüldü. Folik asit değerinin 8,4’ün altında olduğu babalara ‘0’, folikasit değeri 8,4’ün üstünde olan babalara ‘1’ değeri verildikten sonra yeniden Lojistik Regresyon analizi yapılmıştır ( Tablo 19).

**Tablo 19.** Yeni Folik asit değeri ile DS’ da etkili olduğu düşünülen faktörlerin babalar üzerine etkisinin araştırılması

Bağımsız Değişkenler	B Katsayısı	Standart Hata	Wald İstatistiği	Serbestlik Derecesi	Anlamlılık Düzeyi (P)	Üstel B Değerleri
MTHFR677	-0,656	0,531	1,529	1	0,216	0,519
MTHFR1298	-0,478	0,502	0,907	1	0,341	0,620

B12	0,001	0,003	0,130	1	0,719	1,001
B6	-0,028	0,024	1,276	1	0,259	0,973
Homosistein	0,046	0,083	0,308	1	0,579	1,047
Yeni Folik asit	-1,320	0,614	4,621	1	0,032	<b>0,267</b>
Denklem sabiti	3,104	2,084	2,219	1	0,136	22,295

Folik asit değeri 8,4 referans alınarak yapılan Blogreg analizi sonucunda Folik asit değeri 8,4'ün altında olan babalarda Folik asit değeri 8,4'ün üstünde olan babalara göre Down Sendromu açısından  $1/0,267 = 3,745$  kat daha riskli olduğu (OR: 3,745) söylenir. Buna göre Folik asit değerinin 8,4'ün altında bulunması Down Sendromu hastalığında etkilidir. MTHFR677: X1, MTHFR1298: X2, Vitamin B12: X3, Vitamin B6: X4, Homosistein: X5, yeni Folik asit: X6 olarak yazıldığında;

$$P ( DS riski) = 1/1+e^{-Y}$$

$$Y = 3,104 - 0,656*X_1 - 0,478*X_2 + 0,001*X_3 - 0,028*X_4 + 0,046*X_5 - 1,320*X_6, \text{şeklinde}$$

lojistik modeli kurulur. Bu model ile bir babanın vitamin B12, vitamin B6, Folik asit, Homosistein değerleri, MTHFR677 ve MTHFR1298 gen mutasyonları varlığı yada yokluğu modelde yerine konulduğu zaman Down Sendromlu bebek sahibi olma olasılığı hesaplanabilir.

#### **4.8. Down Sendromlu annelerde - babalarda ve kontrol grubunda MTHFR gen polimorfizmlerinin, B6 Vitamini, B12 Vitamini, Folik Asit, Homosistein düzeylerinin DS açısından lojistik regresyon analizi ile kombine risk hesaplaması**

Down Sendromlu annelerde - babalarda ve kontrol grubunda yaş grupları göz ardı edilerek, kombine olarak DS ile vitamin B12, vitamin B6, Folik asit eksikliği, Homosistein yüksekliği, MTHFR677 ve MTHFR1298 gen mutasyonları varlığı arasında ilişki olup olmadığını tespit etmek için Lojistik Regrasyon analizi yapılmıştır. Kurulan modelin uyum iyiliği veya geçerliliği ise Hosmer-Lemeshow testi ile sınanmıştır. Bu testte “ modelin verilere uygun olduğu sıfır hipotezi ” test edilmektedir. Hosmer-Lemeshow testinde ki-kare istatistiği 4.998 bulunmuştur. Bu değer anlamlılık düzeyi  $P=0.758 > 0.05$  olduğundan



sıfır hipotezi reddedilemez ve kurulan lojistik regresyon modelinin verilere uygun olduğuna karar verilir ( Tablo 20 ).

**Tablo 20.** Anne ve Babalarda Lojistik regresyon analizini doğrulamak için Hosmer-Lemeshow testi

Ki-kare testi	Serbestlik derecesi	P değeri
4,998	8	,758

Tabloya baktığımızda, anne ve babalar bir birey olarak kabul edilerek lojistik regresyon analizine dahil edilen 68 bireyden, yakın bir gelecekte down sendromlu 48 bireyin 44'ünü ve yakın bir gelecekte down sendromlu olmayan 20 bireyin 6'sını doğru tahmin ederek, down sendromlu bireyler için %91,7 down sendromlu olmayan bireyler için %30,0 oranında doğru sınıflandırma yapmıştır. Kurulan lojistik modelin toplam sınıflandırma başarısı %73.5 olarak elde edilmiştir ( Tablo 21 ).

**Tablo 21.** Anne ve Babalarda kombine Logistik regresyon analizi sınıflandırma tablosu

Lojistik Regresyon Analizi		Tahmin Edilen Grup			
		Hasta	Hasta değil	Toplam	Doğruluk Yüzdesi
Gözlenen Grup	Hasta	44	4	48	91,7
	Hasta değil	14	6	20	30,0
	Toplam	58	10	68	73,5

Lojistik regresyon analizi yapıldıktan sonra Folik asit değişkenin anlamlı olduğu ( $P=0,035<0,05$ ), diğer değişkenlerin anlamsız olduğu ( $P >0,05$ ) görülmüştür ( Tablo 22 ). Lojistik model aşağıdaki gibidir. MTHFR677: X1, MTHFR1298: X2, Vitamin B12: X3, Vitamin B6: X4, Homosistein: X5, Folik asit: X6 olarak yazıldığında;

$$P ( DS riski) = 1/1+e^{-Y}$$

$Y = 3,122 - 0,455*X_1 - 0,250*X_2 + 0,001*X_3 - 0,020*X_4 + 0,059*X_5 - 0,179*X_6$ , olarak bulunur

**Tablo 22.** DS’da etkili olduğu düşünölen faktörlerin anne ve babalar üzerine kombine etkisinin araştırılması

Bağımsız Değişkenler	B Katsayısı	Standart Hata	Wald İstatistiği	Serbestlik Derecesi	Anlamlılık Düzeyi (P)	Üstel B Değerleri
MTHFR677	-0,455	0,508	0,803	1	0,370	0,634
MTHFR1298	-0,250	0,493	0,257	1	0,612	0,779
B12	0,001	0,003	0,054	1	0,816	1,001
B6	-0,020	0,027	0,555	1	0,456	0,980
Homosistein	0,059	0,083	0,503	1	0,478	1,061
Folik asit	-0,179	0,085	4,426	1	0,035	0,836
Denklem sabiti	3,122	2,047	2,327	1	0,127	22,690

Anlamli bulunan Folik asit değişkeni için ayrıntılı Blogreg analizi yapılmak istendiğinde Folik asit değerinin referans aralığından farklı olarak 8,4 değerinin altında olan bireylerde Down Sendromu’nun anlamli olarak fazla olduğu göröldü. Folik asit değerinin 8,4’ün altında olduğu bireylere ‘0’, folikasit değeri 8,4’ün üstünde olan bireylere ‘1’ değeri verildikten sonra yeniden Lojistik Regresyon analizi yapılmıştır ( Tablo 23 ).

**Tablo 23.** Yeni folik asit değeri ile DS’da etkili olduğu düşünölen faktörlerin anne ve babalar üzerine kombine etkisinin araştırılması

Bağımsız Değişkenler	B Katsayıları	Standart Hata	Wald İstatistiği	Serbestlik Derecesi	Anlamlılık Düzeyi (P)	Üstel B Değerleri
MTHFR677	-0,656	0,531	1,529	1	0,216	0,519
MTHFR1298	-0,478	0,502	0,907	1	0,341	0,620
B12	0,001	0,003	0,130	1	0,719	1,001
B6	-0,028	0,024	1,276	1	0,259	0,973
Homosistein	0,046	0,083	0,308	1	0,579	1,047
Yeni Folik asit	-1,320	0,614	4,621	1	0,032	<b>0,267</b>
Denklem sabiti	3,104	2,084	2,219	1	0,136	22,295

Folik asit değeri 8,4 referans alınarak yapılan Blogreg analizi sonucunda Folik asit değeri 8,4’ün altında olan ailelerde Folik asit değeri 8,4’ün üstünde olan ailelere göre Down Sendromu açısından  $1/0,267 = 3,745$  kat daha riskli olduğu (OR: 3,745) söylenir. Buna

göre Folik asit değerinin 8,4'ün altında bulunması Down Sendromu hastalığında etkilidir. MTHFR677: X1, MTHFR1298: X2, Vitamin B12: X3, Vitamin B6: X4, Homosistein: X5, yeni Folik asit: X6 olarak yazıldığında;

$$P ( DS riski) = 1/1+e^{-Y}$$

$$Y = 3,104 - 0,656*X_1 - 0,478*X_2 + 0,001*X_3 - 0,028*X_4 + 0,046*X_5 - 1,320*X_6,$$

şeklinde lojistik modeli kurulur. Bu model ile bir ailenin vitamin B12, vitamin B6, Folik asit, Homosistein değerleri, MTHFR677 ve MTHFR1298 gen mutasyonları varlığı yada yokluğu modelde yerine konulduğu zaman Down Sendromlu bebek sahibi olma olasılığı hesaplanabilir.

#### 4.9. Sağlıklı ve Down Sendromlu çocuklarda MTHFR gen polimorfizmlerinin, B6 Vitamini, B12 Vitamini, Folik Asit, Homosistein Düzeylerinin karşılaştırılması

Sağlıklı ve DS' li çocuklar arasında MTHFR geninin C677T ve A1298C polimorfizmi açısından genotip frekansları karşılaştırıldığı zaman MTHFR 677 için p:0,466, MTHFR 1298 için p:0,670 ( P>0,05 ) olduğundan istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır. DS'li çocukların %45,8 'i, sağlıklı çocukların %50' si MTHFR 1298 polimorfizmi açısından heterozigot, sırasıyla %18,8 ve %10,0 oranında homozigot olarak saptanmıştır. MTHFR 677 polimorfizmi açısından sağlıklı çocukların %41,7' i, DS' li çocukların %50' si heterozigot, sırasıyla %8,3' ü ve %15' i homozigot mutasyona sahiptir (Tablo 24).

**Tablo 24.** Sağlıklı ve Down Sendromlu çocuklarda MTHFR gen polimorfizmleri

	MTHFR 1298			MTHFR 677		
	DS	Sağlıklı	Total	DS	Sağlıklı	Total
Normal (wild tip)	17	8	25	24	7	31
	%35,4	%40,0	%36,8	%50,0	%35,0	%45,6
Heterozigot	22	10	32	20	10	30
	%45,8	%50,0	%47,1	%41,7	%50,0	%44,1
Homozigot	9	2	11	4	3	7
	%18,8	%10,0	%16,2	%8,3	%15,0	%10,3
Total sayı	48	20	68	48	20	68

DS'li ve sağlıklı çocuklar Vitamin B12 değerleri açısından karşılaştırıldığında Mann-Whitney Testine göre p:0,132 ( P>0,05) olduğundan DS'li çocuklar ile sağlıklı çocuklar

arasında anlamlı farklılık izlenmemiştir ( Tablo 25 ). Ki kare testine göre DS' li çocukların % 25' inde, sağlıklıların %0' nda vitamin B12 değerleri normalin üzerinde tespit edilmiş olup, p:0,035 ( P<0,05) olduğundan istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur.

DS'li ve sağlıklı çocuklarda Vitamin B6 değerleri karşılaştırıldığında p:0, 774 ( P>0,05) olduğundan istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır (Tablo 25). Vitamin B6 değerleri sağlıklı çocuklarda %50,0 normal, % 50,0 yüksek tespit edilmiş olup yine benzer değerler ile DS' li çocuklarda % 46,8 normal, % 48,9 yüksek tespit edilmiştir.

Folik asit değerleri DS' li grupta %60,4 normal, %39,6 yüksek, sağlıklı grupta % 40,0 normal, %60,0 yüksek olarak tespit edilmiştir. p:0,151( P>0,05) olduğundan DS' li çocuklar ile sağlıklı çocuklar arasında anlamlı farklılık izlenmemiştir ( Tablo 25 ).

Homosistein düzeyleri DS' li çocukların %52,6' sında normal, %47,4' ünde yüksek olup, sağlıklı çocukların %50' sinde normal, %50' sinde yüksek tespit edilerek p:0,844 ( P>0,05) olduğundan DS' li çocuklar ile sağlıklı çocuklar arasında istatistiksel anlamlı farklılık izlenmemiştir ( Tablo 25 ).

**Tablo 25.** Sağlıklı ve Down Sendromlu çocuklarda B6 Vitamini, B12 Vitamini, Folik Asit, Homosistein Düzeyleri

	DS' li		Sağlıklı	
	Mean	Min-Max	Mean	Min-Max
B12 Vitamini	405,06±345,21	102-1521	242,55±103,41	121-490
B6 Vitamini	24,79±26,27	2,56- 172,3	28,73±24,25	4,20-77,42
Folik asit	14,12±5,92	3,20-20,00	16,1555±5,95	5,12-20,78
Homosistein	15,87±7,86	4,71-34,74	16,90±16,90	5,05-32,17

Homosistein düzeyi yüksek DS' li annelerin DS' li çocuklarında homosistein yüksekliği %40 oranında tespit edilmiş olup vitamin B12 ve vitamin B6, folik asit eksikliği %0'dır. Homosistein düzeyi yüksek normal annelerin normal çocuklarında homosistein yüksekliği %25, vitamin B12 ve vitamin B6, folik asit eksikliği %0'dır. Homosistein düzeyi yüksek DS' li babaların DS' li çocuklarında homosistein yüksekliği %16, vitamin B12 eksikliği %5 değerinde olup vitamin B6, folik asit eksikliği %0' dır. Homosistein düzeyi yüksek normal babaların normal çocuklarında homosistein yüksekliği %5 olup vitamin B12 ve vitamin B6, folik asit eksikliği %0' dır.

## 5. TARTIŞMA

Down Sendromu insanda mental retardasyonun en sık görülen genetik nedenidir. İnsidansı 1/600~1/1000 canlı doğum olup erken gebelik kayıplarının önemli bir nedenidir. DS ayrıca en sık görülen ve en iyi bilinen kromozom hastalığıdır (1,2). İlerlemiş anne yaşı ile trizomi 21 oluşumu arasındaki ilişki iyi tanımlanmıştır. Annelerin 35 yaş sonrasında DS' li çocuk doğurma riskleri hamilelik yaşı ile orantılı olarak artmaktadır (6). Yapılmış çalışmalar göstermiştir ki maternal mayoz sırasındaki ekstra kromozom yaklaşık %65 oranında maternal mayoz I' den, %23' ü maternal mayoz II' den ve geri kalanları yaklaşık %12 paternal mayoz I veya II' den ve / veya mitotik hatalardan kaynaklanmaktadır (7, 8). DS' nin sebebi olarak mayotik nondisjunction görülüyor olsa dahi hala mekanizma hakkında birçok bilinmeyen vardır. Bununla birlikte Down Sendromlu çocukların %80' i sitogenetik inceleme için endikasyonu bulunmayan 35 yaşın altındaki kadınlardan doğmaktadır (16). Bu durum genç annelerde farklı mekanizmaların kromozom 21' in ayrılmamasına neden olduğu şeklinde yorumlanmakta ve bu konuyu aydınlatmaya yönelik çalışmalar yapılmaktadır (9). Kromozom 21 nondisjunctionu olan yaşlı bir annede ilerlemiş yaşa bağlı olan mayotik mekanizmanın daha çok hataya yatkın olması sonucunda oositlerin yanlış segregasyonuna neden olduğu gösterilmiştir (9). Buna ek olarak maternal yumurtalık mozaisizminin trizomi 21 için farklı bir risk faktörü olabileceği hipotez şeklinde düşünülmektedir (10, 11). Hulte'n ve arkadaşları maternal yaş etkisinin ovulasyona kadar fetal ve postnatal gelişim sürecinde bu hücrelerin farklı bir seçilimine neden olduğunu ve yüksek derecede ovaryum mozaisizminin bazı kadınların henüz genç yaşta olmalarına rağmen neden DS' li çocukları olduğunu ve sonraki gebeliklerdeki artmış insidanslarını açıklayabileceğini öne sürmektedirler (10). DS vakalarında mayotik ayrılmama hataları sonucu ortaya çıkan fazla 21. kromozomun %5 ile %20 arasında değişen oranlarda paternal geçiş nedeniyle olabileceği bildirilmiştir (7, 8,12- 14).

Maternal yaş ve değişmiş kromozom 21 rekombinasyon paternleri arasında ilişki olup olmadığını belirlemek için Lamb ve arkadaşları 21. kromozomu maternal mayoz I orijinli olan 400 hastayı maternal yaşa göre gruplamışlar. Bu çalışma ile kromozom 21 nondisjunctionu olan yaşlı bir annede ilerlemiş yaşa bağlı olan mayotik mekanizmanın daha çok hataya yatkın olması sonucunda oositlerin yanlış segregasyonuna neden olduğu gösterilmiştir. Buna karşılık genç annelerde eksik veya değişmiş rekombinasyon yeri (sentrome ya da telomere yakın) sonucunda meydana gelen kromozom 21 nondisjunctionu

saptanmıştır (7). Mayoz II hatalarını incelemek amacıyla yapılmış diğer bir çalışmada ise 21q perisentromerik bölgesi değişiminin anne yaşı ile ilgili risk faktörü oluşturduğu saptanmıştır. Buna zıt olarak maternal mayoz I' deki hataların analizi nondisjunction için aynı riski oluşturmaktadır, fakat burada oositin yaşından bağımsız bir durum söz konusu bulunmuştur (8). Sentromerik DNA kromatini, spesifik sentromerik metilasyon paternlerinin epigenetik kalıtımıyla ve spesifik metil duyarlı proteinlerin kinetikor oluşumunun sağlanması için düzgün DNA yapısının devam ettirilmesi sayesinde stabilitesini koruduğu düşünülmüştür (167). Bu yüzden DNA metilasyonundaki bir hatanın mayotik nondisjunction için potansiyel bir mekanizma olduğu düşünülmektedir (21).

İlginç olarak, Waterland ve Jirtle gestasyon aşamasında maternal metil alıcısı ilavesinin daha sonraki kuşağın fenotipini, epigenomu metilleyerek değiştirdiğini göstermişlerdir. Bundan dolayı büyük olasılıkla büyükannenin gebeliği sırasında azalmış folat alımının veya folat metabolik yolağındaki bozuklukların kromozom rekombinasyon bölgelerini ve perisentromerik bölgelerini içeren bazı kromozom bölgelerinde metilasyon paternini değiştirebilmesi ve böylece anöploidili gamet formasyonunda bir artışın söz konusu olabileceği belirtilmektedir (168). Böylece folat/hcy metabolizmasındaki bozukluk sonucu değişmiş DNA metilasyon paterni mayozda hatalı kromozom 21 rekombinasyonu meydana getirebilir ve artmış Down Sendromu riski oluşturabilir. Ayrıca genç ve yaşlı kadınlarda farklı mekanizmalar kromozom 21 nondisjunctionuna neden oluyorsa folat metabolizmasında görevli genlerdeki polimorfizmlerin etkisi de yaş gruplarına göre farklı olabilir (24, 34, 170). Genç annelerde folat ve homosistein metabolizmasındaki bozuklukların kromozom 21 nondisjunctionuna neden olabileceği (9) yada bu annelerin hücre bölünme mekanizmalarının fizyolojik olarak yaşlandığı ve veya erken anormal kromozomal segregasyonuna genetik olarak yatkınlıklarının olduğu (17) öne sürülmektedir.

Geçtiğimiz on yıl içerisinde yapılan birçok çalışmada folat ve metil metabolizmasının DS riskindeki rolü açıklanmaya çalışılmıştır (18-42) (tablo 26, tablo 27). Çeşitli çalışmalarda hücre folat eksikliği anormal DNA metilasyonu, kromozom kırılması, micronuclei sıklığında artış, kusurlu kromozom rekombinasyonu, anormal gen ekspresyonu ve anöploidi ile sonuçlanmaktadır (43). Ayrıca özel olarak kültüre edilmiş insan lenfositlerinde folat yetersizliğinde kromozom 17 ve kromozom 21 anöploidileri görülmesinin arttığı (44) ve diyetdeki azalmış folat miktarının spermelerde görülen anöploidi

(özellikle kromozom 21) dizomisi sıklığını arttırdığı gözlenmiştir (12). DSA' larda kan hücrelerinde MTHFR 677C>T ve 1298 A>C polimorfizmleri ve kromozomal hasarlar arasında bağlantı gözlenmiş, genç yaşta DS' li çocuk sahibi olan annelerde folat metabolizmasının anormal kromozomal segregasyon için artmış bir yatkınlık oluşturduğu tespit edilmiştir (40).

**Tablo 26.** Folat/homosistein metebolizması gen polimorfizmleri arası etkileşim ve maternal DS' li çocuğa sahip olma riski çalışmaları

Yıl	Çalışma Grubu	Ülke	Gen –gen etkileşimi
2000	Hobbs ve ark.	ABD Kanada	MTHFR 677T+MTRR 66G * OR= 4.1 (1.9–8.6) c
2002	O Leary ve ark.	İrlanda	MTHFR 677T + MTRR 66G *OR = 2.9 (1.2–7.5) c
2002	Grillo ve ark.	Brezilya	MTHFR 677CT + MTHFR 1298AC* OR = N.A.
2003	Bosco ve ark.	İtalya	MTR 2756AG + MTRR 66AG *OR = 5.0 (1.1–24.1)c
2005	Da Silva ve ark.	Brezilya	MTHFR 677T + MTHFR 1298C + MTR 2756G + MTRR 66G + CBS 844 ins68 * (complex a) OR = 1.2 (1.0–1.6) c
2005	Acacio ve ark.	Brezilya	MTHFR 677CT + MTHFR 1298AC * OR = 5.7 (1.7–18.8) c
2006	Coppede` ve ark.	İtalya	MTHFR 677TT + RFC1 80GG * OR = 6.0 (1.0–35.9) c MTHFR 1298AA + RFC1 80GA/AA ^ OR = 0.4 (0.1–0.9) c
2006	Rai ve ark.	Hindistan	MTHFR 677CC + MTHFR 1298CC *OR = 4.0 (1.2–13.6) c
2006	Scala ve ark	İtalya	MTHFR 677TT + MTHFR 1298CC/CA *OR = 7.2 (1.4–47.2) c RFC1 80 GG + MTHFD 1958 AA *OR = 4.4 (1.2–17.9) c MTHFR 1298CC/CA + RFC1 80 GG/GA *OR= 2.6 (1.1–6.3) c MTHFR 677T-1298C haplotip * OR = N.A.
2008	Wang ve ark.	Çin	MTHFR 677TT/CT + MTRR 66GG *OR = 6.0 (2.0–17.5) c
2008	Biselli ve ark.	Brezilya	MTHFR 677T + MTHFR 1298C + RFC1 80G + MTR 2756G * (kompleks a) OR = 1.7 (1.0–3.0) c
2009	Coppede`	İtalya	MTHFR 677TT + MTR 2756AA *OR = 3.0 (1.0–8.5) c MTHFR 1298AC + TYMS 2R/2R ^OR = 0.11 (0.1–0.5) c

\*: DS için artmış maternal risk ile ilişkili ^: DS için azalmış maternal risk ile ilişkili a: DSA' larda kontrollere göre mutant allellerde önemli düzeyde anlamlılık gösterilmiştir. c OR = Odds ratio (Güven Aralığı %95).

Homosistein metabolizması ile ilişkili metabolik enzimlerdeki genetik polimorfizmlerle ilişkili olarak folat metabolizmasındaki bozuklukların DS' li çocuk doğurma riskini arttırdığı belirtilmektedir (45). Bu gen polimorfizmleri ile kan hücrelerinde ölçülen kromozom hasarı ve yanlış ayrılma oranları arasında artmış deliller bulunmuştur (46- 48). Azalmış MTHFR aktivitesi homosisteinin metionine normal remetilasyonunu korumak için artan bir folik asit gereksinimi ile sonuçlanır. Yeterli folik asit yokluğunda, hücre içi homosistein birikir, metionin reseptezi düşer ve remetilasyon reaksiyonları bozulur. Sonuçta DNA metilasyonu eksik olur. DNA hipometilasyonu da DNA' nın yapım ve onarım bozukluğuna neden olur (26, 49- 51, 193).

Bosco ve ark., 2003 (29); Takamura ve ark., 2004 (31); da Silva ve ark., 2005 (23) çalışmalarında kontrol grubu anneleriyle karşılaştırıldığında DS' li çocuk sahibi olan annelerde Hcy konsantrasyonlarının önemli derecede daha yüksek olduğu gözlemleri bu kadınlardaki folat metabolizmasında bir anormallik olabileceğine dair diğer bir kanıt olarak görülmektedir (Tablo 27). Sonuçta DS' nin etyolojisini açıklamaya yönelik çalışmalarda, folat/hcy metabolizmasındaki bozuklukların anormal DNA metilasyon paterni ve mayozda hatalı kromozom 21 rekombinasyonu meydana getirebileceği ve bunun da sonuç olarak artmış Down Sendromu riski oluşturabileceği ifade edilmektedir. DS riski ile maternal yaş ilişkisindeki tutarsızlığın nedeninin genç ve ileri yaş kadınlarda farklı mekanizmaların kromozom 21 nondisjunctionuna neden olması ve folat metabolizmasında görevli olan genlerdeki polimorfizmlerin etkisinin de yaş gruplarına göre farklı olabileceğinden dolayı olduğu ileri sürülmektedir (34, 24, 170). Bir çalışmada 35 yaş öncesi gebe kalan DSA' ların periferik lenfositlerinde, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında her iki 13 ve 21. kromozomunda segregasyon bozukluklarının sıklığında önemli bir artış gözlenmiştir. Bu bulgular somatik hücrelerde de meydana gelen nondisjunction olaylarının mayotik ve mitotik işlemlerde anormal kromozomal segregasyona yatkınlığın nedeni olabileceğini göstermektedir (162).



**Tablo 27.** DSA'da ve kontrol grubunda homosistein, folat, vitamin B12 ve ilişkili mikronutrisyonlar ve bunların folat/Hcy metabolizma gen polimorfizmleri ile aralarındaki etkileşim.

Yıl	Çalışma Grubu	Ülke	Plasma homocystein (Hcy) konsantrasyonu	Diğer Nutrientler
1999	James ve ark.	ABD	DSA'da artmış Hcy MTHFR C677T polimorfizmi ve Hcy düzeyi ile etkileşimi +	
2002	O' Leary ve ark	İrlanda	DSA ve kontrol annelerinde Hcy düzeyi ilişki yok MTHFR C677T polimorfizmi ve Hcy düzeyi ile etkileşimi +	Plazma folat ve Vit B12 düzeyi Hcy seviyesinin önemli belirleyicisidir
2002	Chadefaux-Vekemans ve ark.	Fransa	DSA ve kontrol arasında Hcy düzeyi arasında fark yok MTHFR C677T polimorfizmi ve Hcy düzeyi arasında etkileşim yok	
2003	Bosco ve ark.	İtalya	DSA'da artmış Hcy düzeyi + Hcy düzeyi ile MTHFR C677T, MTR A2756G ve MTRR A66G polimorfizmleri arasında etkileşim yok	DSA ve kontrol arasında Folat ve vitamin B12 düzeyinde fark yok
2003	Sheth ve Sheth	Hindistan	DSA'da artmış Hcy düzeyi +	
2004	Takamura ve ark	Japonya	DSA'da artmış Hcy düzeyi + DSA'da azalmış folik asit düzeyi +	DSA ve kontrol arasında vitamin B6 ve vitamin B12 düzeyinde fark yok
2005	Silva ve ark.	Brezilya	DSA'da artmış Hcy düzeyi + MTHFR C677T polimorfizmi ve Hcy düzeyi arasında etkileşim var +	
2006	Scala ve ark.	İtalya	DSA ve kontrol arasında Hcy düzeyi arasında fark yok	
2006	Martí nez-Fri'as ve ark.	İspanya	MTHFR A1298C ve MTRR A66G polimorfizmleri arasında kompleks etkileşim	
2007	Wang ve ark.	Çin	DSA'da artmış Hcy düzeyi + MTHFR C677T polimorfizmi ve Hcy düzeyi arasında etkileşim var +	
2008	Meguid ve ark.	Mısır		DSA ve kontrol grubunda besinlerden alınan Folat alımı günlük önerilen düzeyden önemli oranda daha düşük bulunmuş
2008	Biselli ve ark.	Brezilya	DSA'da artmış Hcy düzeyi + MTHFR A1298C polimorfizmi ve Hcy düzeyi arasında etkileşim var +	
2008	Kohli ve ark	Hindistan	DSA'da azalmış Hcy düzeyi	
2008	Santos-Reboucas ve ark.	Brezilya		DSA ve kontrol grubunda besinlerden alınan Folat alımı günlük önerilen düzeyden daha düşük bulunmuş DSA'da çinko ve metionin alımı kontrol grubuna göre anlamlı düşük bulunmuş
2009	Coppede ve ark.	İtalya	DSA ve kontrol annelerinde Hcy düzeyi ilişki yok a	DSA ve kontrol olguları arasında folat ve vitamin B12 düzeylerinde fark yok a

a: DSA ve kontrol annelerinden sınırlı sayıda bilgi elde edilmiştir

Çalışmamızda literatürdeki folat/hcy metabolizmasındaki bozuklukların anormal DNA metilasyon paterni, mayozda hatalı kromozom 21 rekombinasyonu meydana getirebileceği ve spermelerde görülen anöplöidi (özellikle kromozom 21) dizomisi sıklığını arttırdığı bunun da sonuç olarak artmış Down Sendromu riski oluşturabileceği bilgilerine dayanarak genç ve yaşlı annelerde ve babalarda homosistein yüksekliği, folat eksikliği, folat/hcy metabolizmasında yer alan enzimlerden MTHFR polimorfizminin ve kofaktör (vitamin B6, vitamin B12) eksikliklerinin DS ile ilişkisini araştırdık.

DS' li 35 yaş altı annelerde %57.9, 35 yaş altı sağlıklı annelerde %40.0, 35 yaş üstü sağlıklı annelerde %40.0 oranında hiperhomosisteinemi saptanırken 35 yaş üstü DS'li annelerde %10,5 oranıyla istatistiksel olarak anlamlı daha düşük oranda hiperhomosisteinemi saptanmıştır. 35 yaş üstü DS' li annelerin %89,5'i normal homosistein değerlerine sahiptir. Hiperhomosisteinemi ile genç ve yaşlı anne gruplarında DS ile arsında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmamıştır.

Homosistein değerleri 35 yaş üstü anne grubu DS' li baba da %100, 35 yaş altı anne grubu sağlıklı baba da %100, 35 yaş üstü anne grubu sağlıklı baba da % 90,0 normal olarak saptanırken 35 yaş altı anne grubu DS' li baba da %73,7 oranında normal, %26,3 oranında yüksek oran saptanarak literatürü destekler şekilde genç babalarda DS riski ile istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmıştır.

1999'da anormal folat ve metil metabolizmasının DNA hipometilasyonuna ve anormal kromozomal segregasyona neden olabileceği kanıtına dayanarak James ve arkadaşları MTHFR 677C>T polimorfizminin genç annelerde maternal mayotik nondisjunctiona neden olabileceği ve DS için bir risk faktörü oluşturabileceği hipotezini ortaya atmışlardır. 57 DSA ve 50 kontrol annesinde yaptıkları çalışmada DSA' larda önemli miktarda artmış plazma Hcy konsantrasyonu ve lenfosit metotreksat sitotoksitesi tespit etmişlerdir ki bu da anormal folat ve metil metabolizmasının birbiriyle ilişkili olduğunu göstermektedir. Bununla birlikte MTHFR 677 T allelinin 2,6 kat fazla DS' li çocuk riski ile ilişkili olduğunu saptamışlardır. Bu çalışmada DSA' da folat metabolizmasının anormal olduğunu ve bunun MTHFR genindeki bir mutasyona bağlı olarak meydana geldiği gösterilmiştir (21). Geçtiğimiz on yıl içerisinde folat ve metil metabolizmasının DS riskindeki rolünü açıklamak amacıyla yapılan çalışmaların hemen hemen hepsinde MTHFR 677C>T polimorfizmi araştırılmıştır (18- 41) (Tablo 26). MTHFR 677C > T polimorfizmi Amerika, Kanada, Mısır ve Çin populasyonlarında DS' li çocuklar için bağımsız bir risk faktörü olarak kabul edilmiştir (18, 21, 26, 36, 37). Benzer sonuçlar Brezilya (19, 22, 23, 42, 198) ve Hindistan' da da (30, 34, 38) saptanmıştır. Avrupada yapılan çeşitli çalışmalarda (19,

24, 25, 27- 29, 33, 35- 41), Türkiye ve Japonyada ki çalışmalarda (31, 32), Akdeniz ülkelerinde yapılan çalışmalarda elde edilen sonuçlara göre sadece Mısır dışında (19, 25, 33) bu polimorfizm bağımsız bir risk faktörü olarak bulunmamıştır. Akdeniz ülkelerinde Akdeniz diyetine bağlı olarak daha fazla folat açısından zengin besinler tüketilmesinin MTHFR C677T alleli için ters bir etki yaptığı düşünülmektedir (19, 25, 33). Bizim çalışmamızda da benzer olarak DS' li annelerde ve babalarda MTHFR C677T polimorfizminin DS için bağımsız bir risk faktörü oluşturmadığı saptanmıştır. 35 yaş altı DS' li anneler grubu arasında 677 TT (homozigot mutant) ( %8,3) , 677 TC (heterozigot mutant) ( %45,8 ) , 35 yaş üstü DS' li anneler grubu arasında homozigot mutant ( %4,2 ) , heterozigot mutant ( %37,5 ) frekanslarının kontrol grubundaki genotip frekansları 35 yaş altı sağlıklı grupta homozigot mutant ( %10,0 ) heterozigot mutant ( %60,0 ) , 35 yaş üstü sağlıklı grupta homozigot mutant ( %0,0 ) heterozigot mutant ( %70,0 ) ile benzerlik gösterdiği gözlemlendi (Tablo 6 ). Anne yaşı 35 yaş altı olan DS' li babalar grubu arasında homozigot mutant ( %20,8) ya da heterozigot mutant ( %41,7 ) anne yaşı 35 yaş üstü olan DS' li babalar grubu arasında homozigot mutant ( %4,2) ya da heterozigot mutant ( %45,8 ) frekanslarının kontrol grubundaki genotip frekansları 35 yaş altı sağlıklı grupta homozigot mutant ( %30,0) heterozigot mutant ( %20,0) , 35 yaş üstü sağlıklı grupta homozigot mutant ( %0 ) heterozigot mutant ( %80,0) ile benzerlik gösterdiği gözlemlendi ( Tablo 13 ). Genotip frekansları açısından DS' li babalar, anneler ve kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır.

Sonuçlardaki bu farklılıkların nedeninin, allel frekanslarındaki farklılıklar, farklı olgu kontrol grup çalışmaları ya da çevresel faktörlerin etkisinden kaynaklanıyor olabileceği vurgulanmıştır (45). Bununla birlikte Meguid ve arkadaşlarının Mısırda yaptığı çalışmada MTHFR genotipi ve folat alımı arasında önemli bir ilişki ortaya konmuştur (37). Gen-gen ilişkileri araştırılan çalışmalarda; Hcy metabolizmasında görev alan MTHFR enziminin 677T ve 1298C allellerinin ayrıca hücre içine folat taşınmasında görev alan RFC1, metionin sentaz (MTR) ve metionin sentaz redüktazdaki (MTRR) mutasyonların DS için bir risk faktörü olduğu gösterilmiştir. Bununla birlikte ayrıca 3 veya daha fazla polimorfizm varlığında DS riskinin arttığı saptanmıştır (40). Sonuçlar MTHFR 677T allelinin tek başına DS için riski arttırmaya yetmediğini göstermektedir. MTHFR 677T alleli, düşük folat alımı ve aynı metabolik yolakta bulunan diğer polimorfizmler ile kombine edildiğinde DS için bir risk faktörü oluşturmaktadır (45).

Down Sendromu için bir risk faktörü oluşturması açısından MTHFR 1298A > C polimorfizmi, 677C > T polimorfizmine göre daha az çalışılmıştır (Tablo 26). MTHFR

1298A alleli ve DS arasındaki ilişki ilk olarak 2002 yılında Brezilya populasyonunda yapılan çalışma sonucunda ortaya atılmıştır (22). Bazı araştırmalarda artmış DS riski ile MTHFR 1298A > C ve 677C > T polimorfizmlerinin ilişkili olduğunu tespit edilmiştir (22, 23, 28- 33, 42 ). Benzer sonuçlar Hindistan (34) ve Güney İtalya' da da (24) saptanmıştır, ayrıca iki varyantında beraberliği DS için bir risk faktörü oluşturduğuna dair veriler Mısırdaki yapılan çalışmada da gösterilmiştir. Brezilyada yapılan beş çalışmadan dördünde, MTHFR 1298C varyantı ve folat metabolizmasında rol oynayan diğer genlerdeki polimorfizmlerin beraberliğinin artmış DS riski oluşturduğu gösterilmiştir (20, 22, 23, 42, 198).

Bizim çalışmamızda DS' li anneler ve kontrol grubu arasında MTHFR geninin A1298C polimorfizmi açısından genotip frekansları karşılaştırıldığı zaman 35 yaş altı DS' li anneler grubu arasında 1298 CC ( homozigot mutant ) ( %12,5 ) , 1298 AC ( heterozigot mutant ) ( %45,8), 35 yaş üstü DS' li anneler grubu arasında homozigot mutant ( %25,0 ) , heterozigot mutant ( %50,0 ) frekanslarının kontrol grubundaki genotip frekansları 35 yaş altı sağlıklı grupta homozigot mutant ( %20,0 ) heterozigot mutant ( %30,0 ) , 35 yaş üstü sağlıklı grupta homozigot mutant ( %0,0 ) heterozigot mutant ( %60,0 ) ile benzerlik gösterdiği gözlemlendi (Tablo 7 ). DS' li babalar ve kontrol grubu arasında MTHFR geninin A1298C polimorfizmi açısından genotip frekansları karşılaştırıldığı zaman anne yaşı 35 yaş altı olan DS' li babalar grubu arasında 1298 CC (homozigot mutant) ( %12,5 ) ya da 1298 AC (heterozigot mutant) ( %41,7 ) anne yaşı 35 yaş üstü olan DS' li babalar grubu arasında homozigot mutant ( %29,2 ) ya da heterozigot mutant ( %33,3 ) frekanslarının kontrol grubundaki genotip frekansları 35 yaş altı sağlıklı grupta homozigot mutant ( %0,0 ) heterozigot mutant ( %50,0 ) , 35 yaş üstü sağlıklı grupta homozigot mutant ( %20,0 ) heterozigot mutant ( %50,0 ) ile benzerlik gösterdiği gözlemlendi (Tablo 14). Bizim çalışmamızda literatürün tersine genotip frekansları açısından DS' li babalar, anneler ve kontrol grupları arasında DS açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır.

Bununla beraber, kombine MTHFR C677T ve A1298C mutasyonlarının birlikte bulunması özellikle de her iki gen bakımından çift heterozigot mutasyon MTHFR aktivitesinin %40- 50 oranında azalmasına buna bağlı olarak da hiperhomosisteinemi gelişimine ve plazma folat düzeylerinin azalmasına neden olduğu rapor edilmiştir (196).

Besinsel faktörler homosistein metabolizmasının önemli belirleyicileridirler. Suboptimal vitamin seviyeleri yükselmiş açlık plazma toplam homosistein düzeyleri ile ilişkilendirilmiştir. Vitamin B6 eksikliği metionin yüklenmesi sonrası hiperhomosisteinemiyle sonuçlanır (204, 205). Selhub ve Millerin hipotezine göre

metionin yüklenmesi sonrası yüksek hücre içi S adenoilmetionin konsantrasyonları homosistein remetilasyonunu inhibe edecek ve bu sırada transsulfasyon aktivasyonu B6 vitamini eksikliğinden dolayı devam edemeyecek (206). Yapılan çalışmalar total homosistein ile vitamin B6 ve folatın günlük diyetle alımıyla ve vitamin B6, vitamin B12, folatın plazma konsantrasyonları arasında doğrusal olmayan güçlü bir ilişki olduğunu göstermiştir (201). Yapılan çalışmalarda hem folik asit hem de B12 desteğinin açlık plazma tHcy konsantrasyonlarını düşürdüğü izlenmiştir (56-58). Sık görülen transkobalamin TC 776 C>G polimorfizmi prolinin arjinine değişimi sonucu vitamin B12 metabolizmasını negatif olarak etkilemektedir böylece plazma hcy seviyeleri artmaktadır (202). Her ne kadar erken çalışmalar B6 eksikliği olan örneklerde metionin yüklenmesinden sonra yüksek idrar homosistein atılımı gösterse de (207), B6 eksikliği olan sıçanlarda yapılan son çalışmalarda ciddi şekilde artmış metionin yüklenmesi sonrası kontrol grubuna göre ciddi şekilde artmış plazma tHcy konsantrasyonları bulunmuş (208). Yapılan çalışmalarda hem folik asit hem de B12 desteğinin açlık plazma tHcy konsantrasyonlarını düşürdüğü izlenmiştir (56- 58). Bununla birlikte vitamin B6 desteğinin bazal tHcy üzerinde bir etkisi yoktur (57).

Literatürdeki çalışmaların aksine 35 yaş üstü DS' li annelerin %12,5'nde 35 yaş altı DS'li annelerin %4,2' nde Vitamin B12 eksikliği izlenirken 35 yaş üstü sağlıklı annelerin %30' nda, 35 yaş altı sağlıklı annelerin % 0' nda Vitamin B12 eksikliği tespit edilmiş (Tablo 8,11,12) olup istatistiksel olarak DS açısından anlamlı ilişki saptanmamıştır. Benzer şekilde DS' li 35 yaş üstü grup babaların %4,2' nde, 35 yaş altı sağlıklı grubun % 10'unda vitamin B12 eksikliği izlenirken Ds' li babaların %6,25'nde Vitamin B12 yüksekliği (Tablo15,18,19) izlenmiş olup babalarda vitamin B12 eksikliği ile DS arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmamıştır. Sadece 35 yaş üstü DS' li babaların grubunda %4.2 oranında Vitamin B6 eksikliği bulunmuştur (Tablo15,18,19). 35 yaş üstü DS' li annelerin %4,2' nde, 35 yaş altı DS' li annelerin % 20,8 'nde, 35 yaş üstü sağlıklı annelerin %30' unda, 35 yaş altı sağlıklı annelerin % 20'sinde Vitamin B6 eksikliği tespit edilmiştir (Tablo 8,11,12). Annelerde ve babalarda vitamin B6 ile DS arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmamıştır.

Stene ve ark.(172) 1977 yılında yaptıkları bir araştırmada, anne yaşından bağımsız olarak baba yaşının ileri olmasıyla DS arasında da bir ilişki olduğunu öne sürmüş, 55 yaş baba için kritik yaş kabul etmiş ve bu yaş sonrası oluşan gebeliklerde DS sıklığında anlamlı bir artma olduğunu söylemişlerdir. Buna karşılık Cross ve ark. (173) 15 yıllık çalışma sonuçlarının DS sıklığına baba yaşının bir etkisinin bulunduğunu göstermekten

uzak olduğunu rapor etmişlerdir. Başka bir çalışmada 35 yaş üstü DS' li annelerin eşlerinin yaş ortalaması  $38.49 \pm 8.67$  olarak bulunmuştur. Bu da ileri baba yaşına genellikle ileri anne yaşının eşlik ettiğini, artan baba yaşının artan anne yaşına sekonder olabileceği ve artan baba yaşıyla birlikte artan anne yaşının anlamlı olarak DS görülme sıklığını etkileyebileceği şeklinde yorumlanmıştır (174).

Çalışmamızda DS' li çocuk sahibi babaların DS' li çocuk sahibi olduklarındaki yaş dağılımı 22 ile 50 arasında olup yaş ortalamaları  $35,06 \pm 7,66$  olarak bulunmuştur. 35 yaş altı DS'li annelerin eşlerinin %20.8' i ileri yaş olarak tespit edilmiştir. Bu sonuca göre genç annelerde DS' li bebek sahibi olma etyolojisinde ileri baba yaşı bir etken olarak değerlendirilebilir.

Literatürde diyetel faktörlerin sperm anöploidisine etkisi hakkında çok az bilgi bulunmaktadır. Folat yetersizliği ve insan anöploidileri ile ilgili yapılan bir çalışmada diyetdeki azalmış folat miktarının spermelerde görülen anöploidi (özellikle kromozom 21) dizomisi sıklığını arttırdığı gözlenmiş olup, yüksek folat alımı olan erkeklerin spermelerinde ki monozomi 21 oranının düşük folat alan erkeklerle karşılaştırıldığında daha az olduğunu ortaya koymaktadır. Ayrıca folat metabolizmasının insanda ki nondisjunction olayına etkisinin bir kanıtı olarak da bu bilgi sunulmaktadır (12). Bu çalışma folat homosistein metabolizmasındaki bozuklukların DS açısından paternal geçişin önemini ortaya çıkarmıştır. Folik asit değerleri tüm gruplardaki annelerde ( tablo 7) ve babalarda ( tablo 11) normal referans aralığında bulunmuş olmasına rağmen Folik asit değerinin referans aralığından farklı olarak 8,4 değerinin altında olan annelerde ve babalarda Down Sendromu'nun anlamlı olarak fazla olduğu görüldü.

DS' li ailelerde ve kontrol grubunda yaş grupları göz ardı edilerek DS ile vitamin B12, vitamin B6, Folik asit eksikliği, Homosistein yüksekliği, MTHFR677 ve MTHFR1298 gen mutasyonları varlığı ile arasında ilişkiyi tespit etmek için yapılan Lojistik Regrasyon Analizinde Folik asit değişkeninin anneler ve babalar üzerinde DS açısından anlamlı olduğu bulunmuştur. Anlamlı bulunan Folik asit değişkeni için ayrıntılı Blogreg analizi yapıldığında Folik asit değerinin referans aralığından farklı olarak 8,4 değerinin altında olan annelerde ve babalarda Down Sendromu'nun anlamlı olarak fazla olduğu görüldü. Folik asit değeri 8,4'ün altında olan annelerde Folik asit değeri 8,4'ün üstünde olan annelere göre Down Sendromu açısından  $1/0,185=5.405$  kat ( Odds Ratio (OR): 5.405) daha riskli olduğu, Folik asit değeri 8,4'ün altında olan babalarda Folik asit değeri 8,4'ün üstünde olan babalara göre DS açısından  $1/0.267=3.745$  kat daha riskli olduğu (OR: 3,745), anne ve babalar kombine olarak aile şeklinde analiz edildiğinde yine Folik asit

değeri 8,4'ün altında olan ailelerde Folik asit değeri 8,4'ün üstünde olan ailelere göre DS açısından  $1/0.267=3.745$  kat daha riskli olduğu (OR: 3,745) bulundu (Tablo 9-11, 16-18, 21-23).

Bakılan değişkenler ile bir gebenin veya babanın yada kombine olarak her ikisinin birlikte Down Sendromlu bebek sahibi olma olasılığını hesaplamak için bir model geliştirildi. Vitamin B12, vitamin B6, Folik asit, Homosistein değerleri, MTHFR677 ve MTHFR1298 gen mutasyonları varlığı yada yokluğu modelde yerine konulduğu zaman Down Sendromlu bebek sahibi olma olasılığı hesaplanabileceği bulundu.

Çalışmamızda DS' li ve sağlıklı çocuklarda MTHFR gen polimorfizmi, Folik asit, homosistein, Vitamin B6 ve B12 değerleri arasında anlamlı farklılık olup olmadığını araştırdık. DS' li çocukların % 25' inde, sağlıklıların %0' nda vitamin B12 değerleri normalin üzerinde tespit edilmiş olup,  $p:0,035$  (  $P<0,05$ ) olduğundan istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur. Vitamin B6 değerleri sağlıklı çocuklarda %50,0 normal,% 50,0 yüksek tespit edilmiş olup yine benzer değerler ile DS' li çocuklarda % 46,8 normal, % 48,9 yüksek tespit edilmiştir. Folik asit değerleri DS' li grupta %60,4 normal, %39,6 yüksek, sağlıklı grupta % 40,0 normal, %60,0 yüksek olarak tespit edilmiştir. B6 vitamini ve folik asit açısından DS' li çocuklar ile sağlıklı çocuklar arasında anlamlı farklılık izlenmemiştir (Tablo 25). Homosistein düzeyleri DS' li çocukların %52,6' sında normal, %47,4' ünde yüksek olup, sağlıklı çocukların %50' sinden normal, %50' sinden yüksek tespit edilerek DS' li çocuklar ile sağlıklı çocuklar arasında istatistiksel anlamlı farklılık izlenmemiştir (Tablo 25 ).

Homosistein düzeyi yüksek DS' li annelerin DS'li çocuklarında homosistein yüksekliği %40 oranında tespit edilmiş olup vitamin B12 ve B6, folik asit eksikliği %0' dır. Homosistein düzeyi yüksek normal annelerin normal çocuklarında homosistein yüksekliği %25, vitamin B12 ve B6, folik asit eksikliği %0' dır. Homosistein düzeyi yüksek DS' li babaların DS'li çocuklarında homosistein yüksekliği %16, vitamin B12 eksikliği %5 değerinde olup B6, folik asit eksikliği %0'dır. Homosistein düzeyi yüksek normal babaların normal çocuklarında homosistein yüksekliği %5 olup vitamin B12 ve B6, folik asit eksikliği %0'dır.

Sağlıklı ve DS'li çocuklar arasında MTHFR geninin C677T ve A1298C polimorfizmi açısından genotip frekansları karşılaştırıldığı istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır. DS' li çocukların %45,8' i, sağlıklı çocukların %50' si MTHFR 1298 polimorfizmi açısından heterozigot, sırasıyla %18,8 ve %10,0 oranında homozigot olarak saptanmıştır. MTHFR 677 polimorfizmi açısından sağlıklı çocukların %41,7' si, DS' li

çocukların %50' si heterozigot, sırasıyla %8,3' ü ve %15' i homozigot mutasyona sahiptir (Tablo 24).

Folat ve homosistein metabolizması ve trizomi 21 arasındaki kompleks ilişki hakkında şu anki mevcut düşünce; maternal ve embiryonik kombinasyonların özellikle folat metabolizmasında rol alan genlerdeki polimorfizmlerle beraber annenin diyet ve yaşam tarzının trizomi 21'li fetüsün hayatta kalması ile ilişkili olduğudur (35). Ayrıca çoğu kromozom 21 nondisjunctionları büyükannenin vücudunda maternal embriyogenezisde meydana gelmektedir bununla birlikte büyükannenin genotipinin ve hamileliği esnasındaki nutrisyonel durumunun maternal yumurtaların iki adet kromozom 21 taşımasında etkili olabileceği düşünülmektedir (41,59).

DS' li bir çocuğun doğumunun çeşitli genetik, epigenetik, çevresel orjinli olduğu düşünülmektedir (45) bunların yanında diyetsel faktörlerin 21. kromozomun iki çiftini taşıyan yumurtaların oluşması arasında karışık bir bağlantı olduğunu belirtmektedirler (19-21, 23, 35). Bu durum bu farklı nedenler arasında bağlantı kurulmasını güçleştirmektedir (45). Bununla birlikte anne yaşı DS' li çocuk doğurma riskinde folat metabolizmasının rolünü karmaşık hale getirmiştir (10).

Plazma homosistein ve metionin konsantrasyonu genotip üzerine ilave olmuş günlük diet paterninin yansımasıdır. Her ne kadar Down Sendromlu bir bebeğe hamile kaldığı zamanki diyetsel alımı yansıtmasa da folat ihtiyacındaki artışı genetik olarak belirleyebilir. Mevcut metabolik veriler anormal folat ve metil metabolizmasının Down Sendromu ile ilişkili olabileceğini desteklemektedir (21).

Özetle insanda kromozom nondisjunctionu multifaktöriyel bir mekanizma şeklinde vurgulanmaktadır ve bu duruma neden olan daha spesifik risk faktörlerinin incelenmesi gerekliliği üzerinde durulmaktadır (10, 9, 171).



## 6.SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmamızda literatüreki folat/hcy metabolizmasındaki bozuklukların, MTHFR gen polimorfizminin anormal DNA metilasyon paterni, mayozda hatalı kromozom 21 rekombinasyonu meydana getirebileceği ve spermelerde görülen anöplöidi (özellikle kromozom 21) dizomisi sıklığını arttırdığı bunun da sonuç olarak artmış Down Sendromu riski oluşturabileceği çalışmalarına dayanarak genç ve yaşlı annelerde ve babalarda homosistein yüksekliği, folat eksikliği ve folat/hcy metabolizmasında yer alan kofaktör (vitamin B6, vitamin B12) eksikliklerinin DS açısından bir risk faktörü olup olmadığını araştırdık.

Çalışmamızda Folik asit değerinin referans aralığından farklı olarak 8,4 değerinin altında olan annelerde ve babalarda Down Sendromu'nun anlamlı olarak fazla olması nedeni ile bozulmuş folat homosistein metabolizmasının Down Sendromlu çocuk sahibi olma açısından annelerde ve babalarda bağımsız bir risk faktörü olabileceği sonucuna varılmıştır. Ancak; bu çalışmanın olgu sayısının artırılması gerektiğini düşünmekteyiz. Ayrıca Homosistein'in 35 yaş altı anne grubu DS' li baba da %73,7 oranında normal, %26,3 oranında yüksek oran saptanarak literatürü destekler şekilde genç babalarda DS riski ile istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmıştır

35 yaş altı DS'li annelerin eşlerinin %20.8' i ileri yaş olarak tespit edilmiştir. Bu sonuca göre genç annelerde DS' li bebek sahibi olma etyolojisinde ileri baba yaşı bir etken olarak değerlendirilebilir

DS' li 35 yaş altı annelerde %57.9, 35 yaş altı sağlıklı annelerde %40.0, 35 yaş üstü sağlıklı annelerde %40.0 oranında hiperhomosisteinemi saptanırken 35 yaş üstü DS' li annelerde literatürün tersine %10,5 oranıyla anlamlı olarak daha düşük oranda hiperhomosisteinemi saptanmıştır. 35 yaş üstü DS' li annelerin %89,5'i normal homosistein değerlerine sahip olduğu izlenmiştir.

Bugünkü elde edilen sonuçlarla Down Sendromu ile maternal folat metabolizması arasında öne sürülen bu ilişki ile ilgili olarak bu paradigmayı değerlendirmek için daha fazla araştırmaya gereksinim olduğunu söyleyebiliriz. Farklı topluluklarda görülen tutarsız sonuçlar, folat metabolizmasına karışan genetik ve çevresel etkileşimleri yansıtıyor olabilir. Risk faktörleri, gen çevre etkileşimine bağlı olabilir. Özellikle de bu polimorfizmlerin etkileri devamı folik asit kullanımına bağlı olabilir. Maternal folik asit alımı ile genotip etkileşimlerin incelenbilmesi ve bu ilişkinin geniş örnekli çalışmalar ile gelecekteki araştırmalar içinde sorgulanması gereklidir. Sonuç olarak trizomi 21 oluşumunun nedenlerini birbirinden ayırabilecek, folat homosistein gen polimorfizimleri

ile arasındaki bağlantıları gösterebilecek daha spesifik çalışmalara ihtiyaç vardır. Özet olarak, insan nondisjunctionu multifaktöriyel tehdit oluşturmaktadır. Bu tehdit parçalarına ayrılarak bağlantılı olan risk faktörleri belirlenmelidir. Gebelikte tüm tarama yöntemlerine rağmen Down Sendromlu gebeliklerin büyük kısmı prenatal olarak tespit edilememektedir. Folat yolağında görevli olan diğer aday gen çalışmaları kadar Down Sendromlu etkilenmiş gebeliği olan kadınlardaki folat metil metabolizmasını içeren genlerin mikronutrisyonlar ile etkileşiminin sistematik çalışmalarının, DS' nu önlemede halk sağlığı stratejilerinin geliştirilmesi için fırsatlar sağlayabileceği düşünmekteyiz.

## 7. ÖZET

**Selimoğlu R, Metiltetrahidrofolat redüktaz (MTHFR) gen polimorfizmi, folat metabolizması ve homosistein değeri ile Down Sendromu riski arasındaki ilişkinin incelenmesi. Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı, Uzmanlık Tezi, Konya,2012.** Down Sendromu (DS) ya da trizomi 21 insanda mental retardasyonun en sık görülen genetik nedeni ve en iyi bilinen kromozom hastalığıdır. insidansı 1/600~1/1000 canlı doğumdur. DS oluşumu ile ilişkili risk faktörleri arasında ileri anne yaşı en iyi belirlenmiş olanıdır. Olguların çoğunda neden maternal mayoz sırasında meydana gelen anormal kromozomal segregasyon ile ilişkili ayrılamamadır. Maternal mayoz sırasındaki ekstra kromozom yaklaşık %65 oranında maternal mayoz I' den, %23' ü maternal mayoz II' den ve geri kalanları yaklaşık %12 paternal mayoz I veya II' den ve / veya mitotik hatalardan kaynaklanmaktadır. Buna karşılık çoğu DS olgusunda anne yaşı 35'in altındadır. Bu durum ileri yaştaki annelere oranla genç annelerde farklı mekanizmaların trizomi 21 oluşumuna neden olabileceğini düşündürmektedir. Down Sendromu etyolojisine yönelik çeşitli ülkelerde yapılan çalışmalarda DNA metilasyonu ve sentezini etkileyen folat metabolizmasında görevli MTHFR geni C677T ve A1298C polimorfizmlerinin Down Sendromlu çocuk sahibi olma açısından bağımsız bir maternal risk faktörü oluşturduğu ve diyetteki azalmış folat miktarının spermelerde görülen anöploidi (özellikle kromozom 21) dizomisi sıklığını arttırdığı ileri sürülmektedir. Çalışmamızda bozulmuş folat homosistein metabolizmasının, folat metil metabolizmasında yeralan B6 vitamini, B12 vitamini, Folik Asit gibi mikronutrisyonların eksikliklerinin, homosistein yüksekliğinin ve MTHFR gen polimorfizmlerinin Down Sendromlu çocuk doğurma açısından annelerde ve babalarda bağımsız bir risk faktörü olup olmadığını araştırmayı amaçladık. Çalışmamızda 48 Down Sendromlu çocuk sahibi olan anne ve baba ile abortus öyküsü olmayan, önceden tespit edilmiş metabolik (folat/hcy metabolizması) bir hastalığı olmayan, en az bir sağlıklı çocuk sahibi 20 anne ve babada, MTHFR geni C677T ve A1298C polimorfizmleri, B6 vitamini, B12 vitamini, Folik Asit ve homosistein düzeyleri incelendi. Yine bu ailelerin DS'li ve sağlıklı çocuklarda MTHFR geni C677T ve A1298C polimorfizmleri, B6 vitamini, B12 vitamini, Folik Asit ve homosistein düzeyleri karşılaştırıldı. Araştırmamızın sonucunda bozulmuş folat homosistein metabolizmasının Down Sendromlu çocuk sahibi olma açısından Türk populasyonunda annelerde ve babalarda bağımsız bir risk faktörü olabileceği sonucuna varılmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Down Sendromu, MTHFR, B6 vitamini, B12 vitamini, Folik Asit, Homosistein, Anne, Baba

## 8. SUMMARY

Evaluation of the relationship between Selimoğlu R, methyltetrahydrofolate reductase (MTHFR) gene polymorphism, folate metabolism and homocysteine value risk of Down's Syndrome. Necmettin Erbakan University, Meram Medicine Faculty, Department of Obstetrics and Gynecology, Doctoral Thesis, Konya, 2012. Down Syndrome (DS) or trisomy 21 is the most common genetic cause of mental retardation in humans and the most well-known chromosomal disorder. Its incidence of 1/600 ~ 1/1000 of the live births. Advanced maternal age is the most well-defined risk factors associated with the formation of DS. The cause in the majority of cases was associated with abnormal chromosomal segregation occurring during maternal meiosis. Extra chromosomes during maternal meiosis approximately 65% from the maternal maternal meiosis I, and 23% from the maternal meiosis II, and remainder about 12% from the rest of the paternal meiosis I or II and / or due to mitotic disease. However, in the most of DS cases the maternal age was under 35. This condition is suggested to be associated with different mechanisms may lead to the formation of trisomy 21 in young age mothers in comparison to older mothers. Concerning the etiology of Down syndrome, studies conducted in various countries shows MTHFR gene C677T and A1298C polymorphisms responsible for the folate metabolism that affects the synthesis and DNA methylation was an independent maternal risk factor in the term of having a child in Down syndromes patients and decreased folate amount in the diet suggested to increase aneuploidy ( especially kromosome 21 ) and disomy frequency in sperm. In our study, we aimed to evaluate the effect of the impaired metabolism of folate homocysteine, (lack of micro-nutrition such as vitamin B6, vitamin B12 and folic acid that associated with the methyl folate metabolism, high level of homocysteine and MTHFR gene polymorphisms) as an independent or not risk factor in terms of childbirth in the mothers and fathers with Down syndrome. In our study, 48 Down syndrome's parents who have children were studied, 20 mother and father with no history of abortion, no pre-determined metabolic disease (folate / homocysteine metabolism), having at least one healthy child included in the study, MTHFR gene, C677T and A1298C polymorphisms, vitamin B6, vitamin B12, folic acid and homocysteine levels were analyzed. Also, in these families DS and healthy children were compared in the term of MTHFR gene C677T and A1298C polymorphisms in, vitamin B6, vitamin B12, folic acid and homocysteine levels. As a result of our research, impaired metabolism of folat and homocysteine in Turkish

population in terms of having a child with Down syndrome mothers and fathers may be an independent risk factor .

**Key words:** Down syndrome, MTHFR, vitamin B6, vitamin B12, folic acid, homocysteine, mother, father.

## 9. KAYNAKLAR

1. Jyothy A, Kumar KS, Mallikarjuna GN, Babu Rao V, Uma Devi B, Sujatha M, et al. Parental age and the origin of extra chromosome 21 in Down syndrome. *J Hum Genet* 2001;46:347- 50.
2. Smith G, Berg J. *Down's Anomaly*, 2nd ed, Edinburgh and New York: Churchill Livingstone, 1995.
3. Boué J, Boué A, Lazar P, Gueguen S. Retrospective and prospective epidemiological studies of 1506 karyotyped spontaneous abortions. *Teratology* 1975;12(1):11-26.
4. Hassold TJ, Jacobs PA. Trisomy in man. *Ann Rev Genet* 1984;18(1):69-97.
5. Freeman S, Grantham M, Hassold T, Pettay D, Takaesu N. Cytogenetic and molecular studies of human spontaneous abortions. *Am J Hum Genet Suppl A* 1991;49:9-16.
6. Antonarakis SE, Petersen MB, McInnis MG, Adelsberger PA, Schinzel AA, Binkert F, et al. The meiotic stage of nondisjunction in trisomy 21:determination by using DNA polymorphisms. *Am J Hum Genet* 1992;50:544-50.
7. Lamb NE, Freeman SB, Savage-Austin A, Pettay D, Taft L, Hersey J, et al. Susceptible chiasmate configurations of chromosome 21 predispose to non-disjunction in both maternal meiosis I and meiosis II errors. *Nat Genet* 1996;14:400-405.
8. Shen JJ, Sherman SL, Hassold TJ. Centromeric genotyping and direct analysis of nondisjunction in humans: Down syndrome. *Chromosoma* 1998;107(3):166-72.
9. Lamb NE, Yu K, Shaffer J, Feingold E, Sherman SL. Association between maternal age and meiotic recombination for trisomy 21. *Am J Hum Genet* 2005;76:91-99.
10. Hultén MA, Patel SD, Tankimanova M, Westgren M, Papadogiannakis N, Jonsson AM, et al. On the origin of trisomy 21 Down syndrome. *Mol Cytogenet* 2008;18:21.
11. Purohit V, Abdelmalek MF, Barve S, Benevenga NJ, Halsted CH, Kaplowitz N, et al. Role of sadenosylmethionine, folate and betaine in the treatment of alcoholic liver disease: summary of a symposium. *Am J Clin Nutr* 2007;86(1):14-24.
12. Young SS, Eskenazi B, Marchetti FM, Block G, Wyrobek A. The association of folate, zinc and antioxidant intake with sperm aneuploidy in healthy nonsmoking men. *Hum Reprod* 2008;23:1014-22.
13. Carothers AD, Castilla EE, Dutra MG, Hook EB. Search for ethnic, geographic, and other factors in the epidemiology of Down syndrome in South America: Analysis of data from the ECLAMC project, 1967-1997. *Am J Med Genet* 2001;103:149-56.
14. Nussbaum RL, McInnes RR, Willard HF. *Thompson & Thompson Genetics in Medicine*. 6th ed. Philadelphia:WB Saunders Company, 2001:157-62.
15. Yiğiter AB, Kavak ZN. Anne karnında Down Sendromu tanısına güncel yaklaşımlar ve bir olgu sunumu. *Türk Aile Hek Derg* 2006;10(4):178-82.
16. Has R. Fetal sendromların sonografik tanısı:Yüksel A (eds). *Obstetrik ve Jinekolojide Sonografi:Prensip ve Klinik uygulamalar*. 5. baskı, İstanbul, Ulusal Tıp Kitabevi, 2000,493-571.

17. Schupf N, Kapell D, Nightingale B, Lee JH, Mohlenhoff J, Bewley S, et al. Specificity of the fivefold increase in AD in mothers of adults with Down syndrome. *Neurology* 2001;57:979–84.
18. Wang SS, Qiao FY, Feng L, Lv JJ. Polymorphisms in genes involved in folate metabolism as maternal risk factors for Down syndrome in China. *J Zhejiang Univ Sci B* 2008;9(2):93-99.
19. O’Leary VB, Parle-McDermott A, Molloy AM, Kirke PN, Johnson Z, Conley M, et al. MTRR and MTHFR polymorphism: link to Down syndrome? *Am J Med Genet* 2002;107:151–55.
20. Biselli JM, Goloni-Bertollo EM, Zampieri BL, Haddad R, Eberlin MN, Pavarino-Bertelli EC. Genetic polymorphisms involved in folate metabolism and elevated plasma concentrations of homocysteine: maternal risk factors for Down syndrome in Brazil. *Genetics and Molecular Research* 2008;7(1):33-42.
21. James SJ, Pogribna M, Pogribny IP, Melnyk S, Hine RJ, Gibson JB, et al. Abnormal folate metabolism and mutation in the methylenetetrahydrofolate reductase gene may be maternal risk factors for Down syndrome. *Am J Clin Nutr* 1999;70:495-501.
22. Grillo LB, Aca’cio GL, Barini R, Pinto Jr. W, Bertuzzo CS. Mutations in the methylenetetrahydrofolate reductase gene and Down syndrome. *Cad Saude Publica* 2002;18:1795–97.
23. Silva LR, Vergani N, Galdieri Lde C, Ribeiro Porto MP, Longhitano SB, Brusoni D, et al. Relationship between polymorphisms in genes involved in homocysteine metabolism and maternal risk for Down syndrome in Brazil. *Am J Med Genet A* 2005;135:263–67.
24. Scala I, Granese B, Sellitto M, Salomè S, Sammartino A, Pepe A, et al. Analysis of seven maternal polymorphisms of genes involved in homocysteine/folate metabolism and risk of Down syndrome offspring. *Genet Med* 2006;8:409-416.
25. Coppede` F, Marini G, Bargagna S, Stuppia L, Minichilli F, Fontana I, et al. Folate gene polymorphisms and the risk of Down syndrome pregnancies in young Italian women. *Am J Med Genet A* 2006;140:1083–1091.
26. Hobbs CA, Sherman SL, Yi P, Hopkins SE, Torfs CP, Hine RJ, et al. Polymorphisms in genes involved in folate metabolism as maternal risk factors for Down syndrome. *Am J Hum Genet* 2000;67:623-30.
27. Chadeaux- Vekemans B, Coude´ M, Muller F, Oury JF, Chabli A, Jai’s J, et al. Methylenetetrahydrofolate reductase polymorphism in the etiology of Down syndrome. *Pediatr Res* 2002;51:766–67.
28. Stuppia L, Gatta V, Gaspari AR, Antonucci I, Morizio E, Calabrese G, et al. C677T mutation in the 5.10-MTHFR gene and risk of Down syndrome in Italy. *Eur J Hum Genet* 2002;10:388–90.
29. Bosco P, Gueant-Rodriguez RM, Anello G, Barone C, Namour F, Caraci F, et al. Methionine synthase (MTR)2756(A>G) polymorphism, double heterozygosity methionine synthase 2756 AG/methionine synthase reductase (MTRR)66AG, and elevated homocysteinemia are three risk factors for having a child with Down syndrome. *Am J Med Genet A* 2003;121:219–24.
30. Sheth JJ, Sheth FJ. Gene polymorphism and folate metabolism: a maternal risk factor for Down syndrome. *Indian Pediatr* 2003;40:115–123.



31. Takamura N, Kondoh T, Ohgi S, Arisawa K, Mine M, Yamashita S, et al. Abnormal folic acid-homocysteine metabolism as maternal risk factors for Down syndrome in Japan. *Eur J Nutr* 2004;43:285–87.
32. Boduroğlu K, Alanay Y, Koldan B, Tunçbilek E. Methylenetetrahydrofolate reductase enzyme polymorphisms as maternal risk for Down syndrome among Turkish women. *Am J Med Genet A* 2004;127:5–10.
33. Chango A, Fillon-Emery N, Mircher C, Ble'haut H, Lambert D, Herbeth B, et al. No association between common polymorphisms in genes of folate and homocysteine metabolism and the risk of Down syndrome among French mothers. *Br J Nutr* 2005;94:166–69.
34. Rai AK, Singh S, Mehta S, Kumar A, Pandey LK, Raman R. MTHFR C677T and A1298C polymorphisms are risk factors for Down's syndrome in Indian mothers. *J Hum Genet* 2006;51:278–83.
35. Marti'nez-Fri'as ML, Pe' rez B, Desviat LR, Castro M, Leal F, Rodri'guez L, et al. ECEMC Working Group, Maternal polymorphisms 677C-T and 1298A-C of MTHFR, and 66A-G MTRR genes: is there any relationship between polymorphisms of the folate pathway, maternal homocysteine levels, and the risk for having a child with Down syndrome? *Am J Med Genet A* 2006;140:987–97.
36. Wang W, Xie W, Wang X. The relationship between polymorphism of gene involved in folate metabolism, homocysteine level and risk of Down syndrome. *Zhonghua Yi Xue Yi Chuan Xue Za Zhi* 2007;24:533–37.
37. Meguid NA, Dardir AA, Khass M, Hossieny LE, Ezzat A, El Awady MK. MTHFR genetic polymorphism as a risk factor in Egyptian mothers with Down syndrome children. *Dis Markers* 2008;24:19–26.
38. Kohli U, Arora S, Kabra M, Ramakrishnan L, Gulati S, Pandey RM. Prevalence of MTHFR C677T polymorphism in north Indian mothers having babies with Trisomy 21 Down syndrome. *Downs Syndr Res Pract* 2008;12:133–37.
39. Santos-Rebouc CB, Corre' a JC, Bonomo A, Fintelman- Rodrigues N, Moura KC, Rodrigues CS, et al. The impact of folate pathway polymorphisms combined to nutritional deficiency as a maternal predisposition factor for Down syndrome. *Dis Markers* 2008;25:149–57.
40. Coppede` F, Migheli F, Bargagna S, Siciliano G, Antonucci I, Stuppia L, et al. Association of maternal polymorphisms in folate metabolizing genes with chromosome damage and risk of Down syndrome offspring. *Neurosci Lett* 2009;449:15-19.
41. Pozzi E, Vergani P, Dalpra` L, Combi R, Silvestri D, Crosti F, et al. Maternal polymorphisms for methyltetrahydrofolate reductase and methionine synthetase reductase and risk of children with Down syndrome. *Am J Obstet Gynecol* 2009;200: 636.e1–636.e6.
42. Acacio L, Barini R, Bertuzzo CS, Couto EC, Annichino-Bizzacchi JM. Methylenetetrahydrofolate reductase gene polymorphisms and their association with trisomy 21. *Prenat Diagn* 2005;25:1196–99.
43. Fenech M. The role of folic acid and Vitamin B12 in genomic stability of human cells. *Mutat Res* 2001;475:57–67.

44. Wang X, Thomas P, Xue J, Fenech M. Folate deficiency induces aneuploidy in human lymphocytes in vitro-evidence using cytokinesis-blocked cells and probes specific for chromosomes 17 and 21. *Mutat Res* 2004;551:167–80.
45. Coppede F. The complex relationship between folate/homocysteine metabolism and risk of Down syndrome. *Mutation Research* 2009;682:54–70.
46. Andreassi MG, Botto N, Cocci F, Battaglia D, Antonioli E, Masetti S, et al. Methylenetetrahydrofolate reductase gene C677T polymorphism, homocysteine, vitamin B12, and DNA damage in coronary artery disease. *Hum Genet* 2003;112:171–77.
47. Kimura M, Umegaki K, Higuchi M, Thomas P, Fenech M. Methylenetetrahydrofolate reductase C677T polymorphism, folic acid and riboflavin are important determinants of genome stability in cultured human lymphocytes. *J Nutr* 2004;134:48–56.
48. Coppède F, Colognato R, Bonelli A, Astrea G, Bargagna S, Siciliano G, et al. Polymorphisms in folate and homocysteine metabolizing genes and chromosome damage in mothers of Down syndrome children. *Am J Med Genet A* 2007;143:2006–2015.
49. Wainfan E, Poirier LA. Methyl groups in carcinogenesis: effects on DNA methylation and gene expression. *Cancer Res* 1992;52:2071–7.
50. De Cabo SF, Hazen MJ, Molero ML, Fernández-Piqueras J. S-adenosyl-L-homocysteine: a non-cytotoxic hypomethylating agent. *Experientia* 1994;50:658–9.
51. Balaghi M, Wagner C. DNA methylation in folate deficiency—use of CpG methylase. *Biochem Biophys Res Commun* 1993;193:1184–90.
52. Rolland PH, Friggi A, Barlatier A, Piquet P, Latrille V, Faye MM, et al. Hyperhomocysteinemia-induced vascular damage in the minipig. Captopril hydrochlorothiazide combination prevents elastic alterations. *Circulation* 1995;91:1161–74.
53. Kupferminc MJ, Eldor A, Steinman N, Many A, Bar-Am A, Jaffa A, et al. Increased frequency of genetic thrombophilia in women with complications of pregnancy. *N Engl J Med* 1999;340:9–13.
54. Kirke PN, Mills JL, Molloy AM, Brody LC, O'Leary VB, Daly L, et al. Impact of the MTHFR C677T polymorphism on risk of neural tube defects: case-control study. *BMJ* 2004; 328:1535–6.
55. Van Meurs JB, Dhonukshe-Rutten RA, Pluijm SM, van der Klift M, de Jonge R, Lindemans J, et al. Homocysteine levels and the risk of osteoporotic fracture. *N Engl J Med* 2004;350:2033–41.
56. Brattström L, Israelsson B, Lingarde F, Hultberg B. Higher total plasma homocysteine in vitamin B12 deficiency than in heterozygosity for homocystinuria due to cystathionine beta-synthase deficiency. *Metab Clin Exp* 1988;37:175–178.
57. Ubbink JB, Vermaak WJH, Van der Merwe A, Becker PJ, Delpont R, Potgieter HC. Vitamin requirements for the treatment of hyperhomocysteinemia in humans. *J Nutr* 1994;124:1927–33.
58. Brattström LE, Israelsson B, Jeppson JO, Hultberg BL. Folic acid: an innocuous means to reduce plasma homocysteine. *Scand J Clin Lab Invest* 1988;48:215–21.

59. Patterson D. Folate metabolism and the risk of Down syndrome. *Downs Syndr Res Pract* 2008;12:93-7.
60. *Katkı Pediatri Dergisi* 1997;5:557-66.
61. Alphan Cura, *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları*, Basım 1999.
62. Levanda AF, Jabs EW. Dysmorphology: Genetic syndromes and associations. In McMillan JA, DeAngelis CD, Feigin RD, Warshaw JB (eds). *Oski's Pediatrics Principles and Practice*. 3rd ed, Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins 1999,2225-59.
63. Başaran N. *Tıbbi Genetik*. 7.baskı. Bursa: Güneş & Nobel Tıp Kitabevi 1999,180-195, 250-256.
64. Jyoty A, Rao GN, Kumar KS, Rao VB, Devi BU, Reddy PP. Translocation Down syndrome. *Indian J Med Sci* 2002;56:122-26.
65. Pueschel SM, Sassaman EA, Scola PS, Thuline HC, et al: Biomedical aspects in Down syndrome, in Pueschel SM, Rynders JE (eds): *Down Syndrome. Advances in biomedicine and the behavioral sciences*. Cambridge, MA, Ware 1982, 169.
66. Jones KL. Down syndrome. In *Smith's recognizable patterns of human malformation*, 6th ed, Elsevier Saunders, Philadelphia 2006,7.
67. Freeman SB, Taft LF, Dooley KJ, Allran K, Sherman SL, Hassold TJ, et al. Populationbased study of congenital heart defects in Down syndrome. *Am J Med Genet* 1998;80:213-7.
68. Kabbani MS, Giridhar S, Elbarbary M, Elgamal MA, Najm H, Godman M. Postoperative cardiac intensive care outcome for Down syndrome children. *Saudi Med J* 2005;6:943-76.
69. Öztürk B. *Down Sendromunda Konjenital Kalp Hastalığı: 566 Hastada Prevalansı ve Prognozu Etkileyen Faktörlerin incelenmesi*. İstanbul 2001.
70. Zitelli JB, Davis WH. *Atlas of Pediatric Physical Diagnosis*. 4th Edition.
71. Levy J: The gastrointestinal tract in down syndrome. In Epstein CJ (ed): *The Morphogenesis of Down Syndrome*. New York, Wiley-liss 1991, 245.
72. Suyugül Z. *Down Sendromu olgularında göz bulguları*. Uzmanlık Tezi. İstanbul 1990:11- 2.
73. Epstein CS. Down Syndrome. In Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D. *The Metabolic And Molecular Basis Of Inherited Disease*. CD-Ropm, 7th ed. The McGraw- Hill Companies 1997.
74. Rosner F, Ong BH, Paine RS, Mahanand D: Blood-serotonin activity in trisomic and translocation Down syndrome. *Lancet* 1965;1:1191.
75. Lejeune J. Pathogenesis of mental deficiency in trisomy 21. *Am Med Genet* 1990;7:20-30.
76. Nyberg DA, Souter VL. Chromosomal abnormalities. In Nyberg DA, McGahan JP, Pretorius HD, Pulu G (eds): *Diagnostic Imaging of fetal Anomalies*. Philadelphia, Lippincott Williams and Wilkins 2003, 86-906.

77. Wisniewski KE, Wisniewski HM, Wen GY: Occurrence of neuropathological changes and dementia of Alzheimer disease in down syndrome. *Ann Neurol* 1985;17:278.
78. Kriviz W, Good RA. Simultaneous Occurrence of Mongolism and Leukemia. *Am J Dis Child* 1957;94:289-98.
79. *Lancet Oncol* 2001;2:429-36.
80. Ravindranath Y, Abella E, Krischer JP, Wiley J, Inoue S, Harris M, et al. Acute myeloid leukemia (AML) in Down's Syndrome is highly responsive to chemotherapy: experience on Pediatric Oncology Group AML Study 8498. *Blood* 1992;80:2210-14.
81. Zipursky A. Transient leukaemia--a benign form of leukaemia in newborn infants with trisomy 21. *Br J Haematol* 2003;120:930.
82. Whitlock JA. Down syndrome and acute lymphoblastic leukaemia. *Br J Haematol* 2006; 135:595-602.
83. Cuadrado E, Barrena MJ. Immune dysfunction in Down's syndrome: primary immune deficiency or early senescence of the immune system? *Clin Immunol Immunopathol* 1996; 78:209-14.
84. Larocca LM, Libero L, Ranelletti OF, Piantelli M, Maggiano N, Ricci R, et al. Morphological and Immunohistochemical Study of Down Syndrome Thymus. *American Journal of Medical Genetics Supplement* 1990;7:225-30.
85. Fort P, Lifshitz F, Bellisario R, Davis J, Lanes R, Pugliese M, et al. Abnormalities of thyroid function in infants with Down syndrome. *J Pediatr* 1984;104:545-9.
86. Loudon NM, Day RE, Duke EM. Thyroid Dysfunction in Down's syndrome: *Arch Dis Child* 1985;60:1149-51.
87. Van Goor JC, Massa GG, Hirasing R. Increased incidence and prevalence of diabetes mellitus in Down's syndrome. *Arch Dis Child* 1997;77(2):186.
88. Günöz H, Öcal G, Yordam N, Kurtoglu S. *Pediatric Endocrinoloji*. 1. Basım 2003.
89. Cronk C, Crocker AC, Pueschel SM, Shea, AM, Pueschel SM, Shea AM, et al: Growth charts for children with Down syndrome: 1 month to 18 years of age. *Pediatrics* 1988;81:102- 10.
90. Pueschel SM, Orson JM, Boylan JM, Pezzullo JC. Adolescent development in males with Down syndrome. *American Journal of Diseases of Children*. 1985;139:236-23.
91. Castelão TB, Schiavo MR, Jurberg P. Sexuality in Down syndrome individuals. *Rev Saude Publica*. 2003 Feb;37(1):32-9.
92. Mercer ES, Broecker B, Smith EA, Kirsch AJ, Scherz HC, A Massad C. Urological manifestations of Down syndrome. *J Urol* 2004; 171:1250-3.
93. Rasmussen P, Börjesson O, Wentz E, Gillberg C. Autistic disorders in Down syndrome: background factors and clinical correlates. *Dev Med Child Neurol* 2001;43:750-4.
94. Roizen NJ, Patterson D. Down's syndrome. *Lancet* 2003;361:1281-9.

95. Fitzgerald DA, Paul A, Richmond C. Severity of obstructive apnoea in children with Down syndrome who snore. *Arch Dis Child* 2007;92:423-5.
96. Thomas K, Bourke J, Girdler S, Bebbington A, Jacoby P, Leonard H. Variation over time in medical conditions and health service utilization of children with Down syndrome. *J Pediatr* 2011;158:194-200.
97. McDowell KM, Craven DI. Pulmonary complications of Down syndrome during childhood. *J Pediatr* 2011;158:319-25.
98. Daneshpazhooh M, Nazemi TM, Bigdeloo L, Yoosefi M. Mucocutaneous findings in 100 children with Down syndrome. *Pediatr Dermatol* 2007;24:317-20.
99. Pueschel SM. Clinical aspects of Down syndrome from infancy to adulthood. *Am J Med Genet Suppl* 1990; 7:52.
100. Pueschel SM, Scola FH. Atlantoaxial instability in individuals with Down syndrome: epidemiologic, radiographic, and clinical studies. *Pediatrics* 1987; 80:555-60.
101. Juj H, Emery H. The arthropathy of Down syndrome: an underdiagnosed and under-recognized condition. *J Pediatr* 2009; 154:234-8.
102. Beksaç S. Fetal Tıp, Prenatal Tanı Medical Networks Nobel, 1996.
103. Akçay P, Terzioğlu F. Amniyosentez ve Koryon Villus. Örnekleme Uygulanan Gebe Kadınların Yaşadıkları Sorunlar ve. Anksiyete Düzeyleri. *Hemşirelik Yüksekokulu Dergisi* 2007;23-34.
104. Marsk A, Grunewald C, Saltvedt S, Valentin L, Almstrom H. If nuchal translucency screening is combined with first-trimester serum screening the need for fetal karyotyping decreases. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2006;85:534-8.
105. Snijders RJ, Sundberg K, Holzgreve W, Henry G, Nicolaidis KH. Maternal age and gestation-specific risk for trisomy 21. *Ultrasound Obstet Gynecol* 1999;13:167-70.
106. Wald N, Rodeck C, Hackshaw A, Rudnicka A. SURUSS in perspective. *Seminars in perinatology* 2005;29(4):225-35.
107. Canick JA, Kellner LH. First trimester screening for aneuploidy: serum biochemical markers. *Semin Perinatol* 1999;23:359-68.
108. Bekker MN, Haak MC, Rekoert-Hollander M, Twisk J, Van Vugt JM. Increased nuchal translucency and distended jugular lymphatic sacs on first-trimester ultrasound. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2005;25:239-45.
109. Haak MC, van Vugt JM. Pathophysiology of increased nuchal translucency: a review of the literature. *Hum Reprod Update* 2003;9:175-84.
110. Benacerraf BR, Barss VA, Laboda LA. A sonographic sign for detection in the second trimester of the fetus with Down's syndrome. *Am J Obstet Gynecol* 1985;151(8):1078-9.
111. Callen PW. İkinci Trimester Genetik Sonogram, Obstetrik ve Jinekolojide Ultrasonografi, 5.baskıdan çeviri, PalmeYayıncılık, 2009;4:70-111.

112. Bromley B, Benacerraf BR. The resolving nuchal fold in second trimester fetuses: Not necessarily a reassuring finding. *J Ultrasound Med* 1995;14:253-5.
113. Schielen PC, van Leeuwen-Spruijt M, Belmouden I, Elvers LH, Jonker M, Loeber JG et al. Multi-centre first-trimester screening for Down syndrome in the Netherlands in routine clinical practice. *Prenat Diagn* 2006;26:711-8.
114. Canick JA, Lambert-Messerlian GM, Palomaki GE, Neveux LM, Malone FD, Ball RH, et al. Comparison of serum markers in first-trimester down syndrome screening. *Obstet Gynecol* 2006;108:1192-9.
115. Palomaki GE, Lambert-Messerlian GM, Canick JA. A summary analysis of Down syndrome markers in the late first trimester. *Adv Clin Chem* 2007;43:177-210.
116. Wald NJ, Rodeck C, Hackshaw AK, Walters J, Chitty L, Mackinson AM, et al. First and second trimester antenatal screening for Down's syndrome: the results of the Serum, Urine and Ultrasound Screening Study (SURUSS). *Health Technol Assess* 2003;7:1-77.
117. Haddow JE, Palomaki GE, Knight GJ, Williams J, Miller WA, Johnson A. Screening of maternal serum for fetal Down's syndrome in the first trimester. *N Engl J Med* 1998;338:955-61.
118. Malone FD, Canick JA, Ball RH, Nyberg DA, Comstock CH, Bukowski R, et al. First-trimester or second-trimester screening, or both, for Down's syndrome. *N Engl J Med* 2005;353:2001-11.
119. Ukudeeva, A, ilhan H, Kavak ZN, Pekin T, Gökaslan H. Down Sendromu taramasında ilk trimester tarama testi ile üçlü testin karşılaştırılması. *Türkiye Klinikleri Jinekoloji Obstetrik Dergisi* 2003;13:194-8.
120. Ville Y. How to improve the screening and diagnosis of fetal aneuploidy? *Bull Acad Natl Med* 2005;189:1773-84.
121. Conde-Agudelo A, Kafury-Goeta AC. Triple-marker test as screening for Down syndrome: a meta-analysis. *Obstet Gynecol Surg* 1998;53:369-76.
122. American College of Obstetricians and Gynecologists: Prenatal diagnosis of fetal chromosomal abnormalities. 2003 Compendium of Selected Publications 2003, 547-557.
123. Wald NJ, Hackshaw AK, George LM. Assay precision of serum alpha fetoprotein in antenatal screening for neural tube defects and Down's syndrome. *J Med Screen* 2000;7:74-7.
124. Hackshaw AK, Wald NJ. Repeat testing in antenatal screening for Down syndrome using dimeric inhibin-A in combination with other maternal serum markers. *Prenat Diagn* 2001; 21:58-61.
125. Nicolaidis KH. 11-14.Hafta Ultrasonu: Fetal Anomalilerin Tanısı. İstanbul, Kanaat Basımevi, 2003:7-57.
126. Yaron Y, Cherry M, Kramer RL, O'Brien JE, Hallak M, Johnson MP, et al. Second trimester maternal serum marker screening: Maternal serum  $\alpha$ -fetoprotein,  $\beta$ -human chorionic gonadotropin, estriol, and their various combinations as predictors of pregnancy outcome. *Am J Obstet Gynecol* 1999;181:968-974.
127. Wald NJ, Watt HC, Hackshaw AK. Integrated screening for Down's syndrome on the basis of tests performed during the first and second trimesters. *N Engl J Med* 1999;341:461-7.

128. Rausch DN, Lambert-Messerlian GM, Canick JA. Participation in maternal serum screening following screen positive results in a previous pregnancy. *J Med Screen* 2000;7:4-6.
129. Palomaki GE, Steinort K, Knight GJ, Haddow JE. Comparing three screening strategies for combining first- and second-trimester Down syndrome markers. *Obstet Gynecol* 2006; 107:367-75.
130. Reddy UM, Mennuti MT. Incorporating first-trimester Down syndrome studies into prenatal screening: executive summary of the National Institute of Child Health and Human Development workshop. *Obstet Gynecol* 2006;107:167-73.
131. Platt LD, Greene N, Johnson A, Zachary J, Thom E, Krantz D, et al. Sequential pathways of testing after first-trimester screening for trisomy 21. *Obstet Gynecol* 2004;104:661-6.
132. ACOG Committee Opinion #296: first-trimester screening for fetal aneuploidy. *Obstet Gynecol* 2004;104:215.
133. Gekas J, Durand A, Bujold E, Vallée M, Forest JC, Rousseau F, et al. Cost-effectiveness and accuracy of prenatal Down syndrome screening strategies: should the combined test continue to be widely used? *Am J Obstet Gynecol* 2011;204:175.e1-8.
134. ACOG Committee on Practice Bulletins. ACOG Practice Bulletin No. 77: screening for fetal chromosomal abnormalities. *Obstet Gynecol* 2007;109:217-27.
135. Benacerraf BR. Should sonographic screening for fetal Down syndrome be applied to low risk women? *Ultrasound Obstet Gynecol* 2000;15:451-5.
136. Bethune M. Literature review and suggested protocol for managing ultrasound soft markers for Down syndrome: thickened nuchal fold, echogenic bowel, shortened femur, shortened humerus, pyelectasis and absent or hypoplastic nasal bone. *Australas Radiol* 2007; 51:218-25.
137. Breathnach FM, Fleming A, Malone FD. The second trimester genetic sonogram. *Am J Med Genet C Semin Med Genet* 2007;145C:62-72.
138. Vintzileos AM, Egan JF. Adjusting risk for trisomy 21 on the basis of second-trimester ultrasonography. *Am J Obstet Gynecol* 1995;172:837-44.
139. Sohl BD, Scioscia AL, Budorick NE, Moore TR: utility of minor ultrasonographic markers in the prediction of abnormal fetal karyotype at a prenatal diagnostic center. *Am J Obstet Gynecol* 1999;181:898-903.
140. Shipp TD, Benacerraf BR. Second trimester ultrasound screening for chromosomal abnormalities. *Prenat Diagn* 2002;22:296-307.
141. Yeo L, Vintzileos AM. The use of genetic sonography to reduce the need for amniocentesis in women at high-risk for Down Syndrome. *Semin Perinatol* 2003;27:152-9.
142. Vintzileos AM, Guzman ER, Smulian JC, Yeo L, Scorza WE, Knuppel RA. Down syndrome risk estimation after normal genetic sonography. *Am J Obstet Gynecol* 2002; 187:122-9.
143. Hobbins JC, Lezotte DC, Persutte WH, DeVore GR, Benacerraf BR, Nyberg DA, et al. An 8-center study to evaluate the utility of mid-term genetic sonograms among high-risk pregnancies. *J Ultrasound Med* 2003;22:33-8.

144. Anderson NG, Luehr B, Ng R. Normal obstetric ultrasound reduces the risk of Down syndrome in fetuses of older mothers. *Australas Radiol* 2006;50:429-34.
145. Murta CG, Moron AF, Avila MA. Reversed diastolic umbilical artery flow in the first trimester associated with chromosomal fetal abnormalities or cardiac defects. *Obstet Gynecol* 2000;95:1011-3.
146. Borrell A, Martinez JM, Farre MT, Azulay M, Cararach V, Fortuny A. Reversed end-diastolic flow in first-trimester umbilical artery: an ominous new sign for fetal outcome. *Am J Obstet Gynecol* 2001;185:204-7.
147. Oh C, Harman C, Baschat AA. Abnormal first-trimester ductus venosus blood flow: a risk factor for adverse outcome in fetuses with normal nuchal translucency. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2007; 30:192-6.
148. Maiz N, Valencia C, Kagan KO, Wright D, Nicolaides KH. Ductus venosus Doppler in screening for trisomies 21, 18 and 13 and Turner syndrome at 11-13 weeks of gestation. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2009; 33:512-7.
149. Maiz N, Plasencia W, Dagklis T, Faros E, Nicolaides K. Ductus venosus Doppler in fetuses with cardiac defects and increased nuchal translucency thickness. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2008; 31:256-60.
150. Nicolaides KH. Screening for fetal aneuploidies at 11 to 13 weeks. *Prenat Diagn* 2011;31:7-15.
151. Kagan KO, Valencia C, Livanos P, Wright D, Nicolaides KH. Tricuspid regurgitation in screening for trisomies 21, 18 and 13 and Turner syndrome at 11+0 to 13+6 weeks of gestation. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2009;33:18-22.
152. Haddow JE, Palomaki GE, Knight GJ, Cunningham GC, Lustig LS, Boyd PA, et al:Reducing the need for amniocentesis in women 35 years of age or older for serum markers for secreening. *N Engl J Med* 1994;330:1114-8.
153. Egan JF, Benn P.,Borgida AF, Rodis JF, Campbell WA, Vintzileos AM. Efficiency of screening for fetal Down in the United States from 1974 to 1997. *Obstet Gynecol* 2000; 96:979-85.
154. Uludağ S. Prenatal tanı amacıyla yapılan girişimlerde komplikasyonlar ve zamanlama. *Perinatoloji Dergisi* 1999;7(4):28-89.
155. Stumm M, Entezami M, Trunk N, Beck M, Löcherbach J, Wegner RD, Hagen A, Becker R, Hofmann W. Noninvasive prenatal detection of chromosomal aneuploidies using different next generation sequencing strategies and algorithms, *Prenat Diagn.* 2012 Jun;32(6):569-77
156. Chiu RW, Chan KC, Gao Y, et al. Noninvasive prenatal diagnosis of fetal chromosomal aneuploidy by massively parallel genomic sequencing of DNA in maternal plasma. *Proc Natl Acad Sci USA* 2008; 105(51): 20458–63.
157. Fan HC, Blumenfeld YJ, Chitkara U, et al. Noninvasive diagnosis of fetal aneuploidy by shotgun sequencing DNA from maternal blood. *Proc Natl Acad Sci USA* 2008; 105(16): 266–71.



158. Ehrich M, Deciu C, Zwielfhofer T, et al. Noninvasive detection of fetal trisomy 21 by sequencing of DNA in maternal blood: a study in a clinical setting. *Am J Obstet Gynecol* 2011; 204(3): 205.e1–205.e11.
159. Sehnert AJ, Rhees B, Comstock D, et al. Optimal detection of fetal chromosomal abnormalities by massively parallel DNA sequencing of cell-free fetal DNA from maternal blood. *Clin Chem* 2011; 57(7): 1042–9.
160. Antonarakis SE. Down Syndrome. In Jameson JL (ed.), *Principles of Molecular Medicine*, Humana Press Inc, Totowa, NJ, 1998, 1069–1078.
161. Kovaleva NV, Tahmasebi-Hesari M. Detection of gonadal mosaicism in parents of children with Down syndrome. *Tsitol Genet* 2007;41:36–42.
162. Migliore L, Boni G, Bernardini R, Trippi F, Colognato R, Fontana I, et al. Susceptibility to chromosome malsegregation in lymphocytes of women who had a Down syndrome child in young age. *Neurobiol Aging* 2006;27:710–16.
163. Avramopoulos D, Mikkelsen M, Vassilopoulos D, Grigoriadou M, Petersen MB. Apolipoprotein E allele distribution in parents of Down's syndrome children. *Lancet* 1996;347:862–65.
164. Yang Q, Sherman SL, Hassold TJ, Allran K, Taft LF, Pettay D, et al. Risk factors for trisomy 21: Maternal cigarette smoking and oral contraceptive use in a population-based case control study. *Genet Med* 1999;1:80-8.
165. Petersen MB, Karadima G, Samaritaki M, Avramopoulos D, Vassilopoulos D, Mikkelsen M. Association between presenilin-1 polymorphism and maternal meiosis II errors in Down syndrome. *Am J Med Genet* 2000;93:366-72.
166. Rodeck CH, Whittle MJ. *Fetal Medicine. Basic Science and Clinical Practice*, 2nd ed, Elsevier 2009.
167. Karpen GH, Allshire RC. The case for epigenetic effects on centromere identity and function. *Trends Genet* 1997; 13: 489–96.
168. Waterland RA, Jirtle RJ. Transposable elements: targets for early nutritional effects on epigenetic gene regulation. *Mol Cell Biol* 2003;23:5293–5300.
169. Lees-Murdock DJ, Walsh CP. DNA methylation reprogramming in the germ line. *Epigenetics* 2008;3:5–13.
170. Scala I, Granese B, Lisi A, Mastroiacovo P, Andria G. Response to folate gene polymorphisms and the risk of Down syndrome pregnancies in young Italian women by Coppede F, et al. (2006), *Am J Med Genet* 2007 May 1;143A(9):1015-7.
171. Oliver TR, Feingold E, Yu K, Cheung V, Tinker S, Yadav-Shah M, et al. New insights into human nondisjunction of chromosome 21 in oocytes. *PLoS Genet* 2008;4:e1000033.
172. Stene J, Fischer G, Stene E, Mikkelsen M, Petersen E. Paternal age effect in Down's syndrome. *Ann Hum Genet* 1977;40:299-306.

173. Cross PK, Hook EB. An analysis of paternal age and 47, +21 in 35.000 new prenatal cytogenetic diagnosis data from the New York State Chromosome Registry: no significant effect. *Human Genet* 1987;77:307-16.
174. Alp MN, Oral D, Budak T. Down Sendromu Ön Tanılı 584 Olguda Sitogenetik Çalışma. *Dicle Tıp Dergisi* 2007;34(4):283-89.
175. Bailey LB, Gregory JF. Folate metabolism and requirements. *J Nutr* 1999;129:779–82.
176. Zhao R, Matherly LH, Goldman ID. Membrane transporters and folate homeostasis: intestinal absorption and transport into systemic compartments and tissues. *Expert Rev Mol Med* 2009;11:e4.
177. Frosst P, Blom HJ, Milos R, Gojette P, Sheppard CA, Mathews RG, et al. A candidate genetic risk factor for vascular disease: a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase. *Nat Genet* 1995;10:111-13.
178. Scott JM, Weir DG, Molloy A, McPartlin J, Daly L, Kirke P. Folic acid metabolism and mechanisms of neural tube defects. *Ciba Found Symp* 1994;181:180–91.
179. Hol FA, van der Put NM, Geurds MP, Heil SG, Trijbels FJ, Hamel BC, et al. Molecular genetic analysis of the gene encoding the trifunctional enzyme MTHFD (methylenetetrahydrofolatedehydrogenase, methenyltetrahydrofolatecyclohydrolase, formyltetrahydro folate synthetase) in patients withneural tube defects. *Clin Genet* 1998;53:119–25.
180. De Cabo SF, Santos J, Ferná'ndez-Piqueras J. Molecular and cytological evidence of S-adenosyl-L-homocysteine as an innocuous undermethylyating agent in vivo. *Cytogenet Cell Genet* 1995;71:187–92.
181. Ueland PM, Refsum H, Stabler SP, Malinow MR, Anderson A, Allen RH. Total homocysteine in plasma or serum:methods and clinical application.*Clin Chem* 1993;39:1764-79.
182. Brattström L, Lindgren A, Israelsson B, Andersson A, Hultberg B. Homocysteine and cysteine: Determinants of plazma levels in middle-aged and elderly subjects. *J Intern Med* 1994;263:633-41.
183. Koehler KM, Romero LJ, Stauber PM, Pareo-Tubbeh SL, Liang HC, Baumgartner RN, et al. Vitamin supplementation and other variables affecting serum homocysteine and methylmalonic acid concentrations in elderly men and women. *J Am Coll Nutr* 1996;15:364-76.
184. Mudd SH, Levy HL, Krauss JP. Disorders of transsulfuration. In Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D (eds). Childs B, Kinzler KW, Vogelstein B, assor. eds. *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease*. 8th edn, vol. 2. New York: McGraw-Hill, 2001;4:2007–2056.
185. Refsum H, Fredriksen A, Meyer K, Ueland PM, Kase BF. Birth prevalence of homocystinuria. *J Pediatr* 2004;144:830–22.
186. Gaustadnes M, Rüdiger N, Rasmussen K, Ingerslev J. Intermediate and severe hyperhomocysteinemia with thrombosis: a study of genetic determinants. *Thromb Haemost* 2000; 83:554-8.
187. D'Angelo A, Coppola A, Madonna P, Fermo I, Pagano A, Mazzola G, et al. The role of vitamin B12 in fasting hyperhomocysteinemia and its interaction with the homozygous C677T mutation of the methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) gene. A case-control study of patients with early-onset thrombotic events. *Thromb Haemost* 2000;83:563-70.

188. Van Guldener C, Stehouwer CD. Hyperhomocysteinaemia and vascular disease--a role for DNA hypomethylation? *Lancet* 2003;361:1668-9.
189. Lentz SR, Sobey CG, Piegors DJ, Bhopatkar MY, Faraci FM, Malinow MR, et al. Vascular dysfunction in monkeys with diet induced hyperhomocysteinemia. *J Clin Invest* 1996;98:24-9.
190. Kang SS, Wong PW, Malinow MR. Hyperhomocyst(e)inemia as a risk factor for occlusive vascular disease. *Annu Rev Nutr* 1992;12:279-98.
191. Friso S, Choi SW, Girelli D, Girelli D, Mason JB, Dolnikowski GG, et al. A common mutation in the 5,10- methylenetetrahydrofolate reductase gene affects genomic DNA methylation through an interaction with folate status. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002;99:5606-11.
192. Nussbaum RL, McInnes RR, Willard HF, Conelius FB. II: Thompson&Thompson Tibbi Genetik, 6. Baskı, Güneş Kitabevi Ltd. Şti., Saunders, 2005.
193. Molloy A, Daly S, Mills JL, Kirke PN, Whitehead AS, Ramsbottom D, et al. Thermolabile variant of 5-10 methylenetetrahydrofolate reductase associated with low red-cell folates: implications to folate intake recommendations. *Lancet* 1997;349: 1591-93.
194. Sibani S, Christensen B, O'ferrall E, Saadi I, Hiou-Tim F, Rosenblatt DS, et al. Characterization of six novel mutations in the methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) gene in patients with homocystinuria. *Hum Mutat* 2000;15:280-87.
195. Van der Put NM, Gabreels F, Stevens EM, Smeitink JA, Trijbels FJ, Eskes TK, et al. A second common mutation in the methylenetetrahydrofolate reductase gene: An additional risk factor for neural-tube defects. *Am J Hum Genet* 1998;62:1044-51.
196. Chango A, Boisson F, Barbe F, Quilliot D, Drosch S, Pfister M, et al. The effect of 677C-T and 1298A-C mutations on plasma homocysteine and 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase activity in healthy subjects. *Br J Nutr* 2000;83:593-96.
197. Gülec S, Aras O, Akar E, Tutar E, Ömürlü K, Avcı F, et al. Methylenetetrahydrofolate reductase gene polymorphism and risk of premature myocardial infarction. *Clin Cardiol* 2001;24(4):281-4.
198. Biselli JM, Brumati D, Frigeri VF, Zampieri BL, Goloni-Bertollo E, Pavarino-Bertelli EC. A80G polymorphism of reduced folate carrier 1 (RFC1) and C776G polymorphism of transcobalamin2 (TC2) genes in Down's syndrome etiology. *Sao Paulo Med J* 2008;126:329-32.
199. Seetharam B, Bose S, Li N. Cellular import of cobalamin (Vitamin B-12). *J Nutr* 1999;129:1761-64.
200. Carmel R. The distribution of endogenous cobalamin among cobalamin-binding proteins in the blood in normal and abnormal states. *Am J Clin Nutr* 1985;41:713-19.
201. Van Asselt D, Pasman J, Vingerhoets D. Positive effect of cobalamin supplementation on cognitive performance and cerebral function in free-living older subjects with low plasma cobalamin levels. *Neth J Med* 1998; 52:S2.
202. Von Castel-Dunwoody KM, Kauwell GP, Shelnutt KP, Vaughn JD, Griffin ER, Maneval DR, et al. Transcobalamin C776G polymorphism negatively affects vitamin B-12 metabolism. *Am J Clin Nutr* 2005;81:1436-41.

203. Castro R, Rivera I, Blom HJ, Jakobs C, Tavares I. Homocysteine metabolism, hyperhomocysteinemia and vascular disease: An overview, de Almeida. *J Inher Metab Dis* 2006;29:3–20.
204. Ubbink JB, Vermaak WJH, Van der Merwe A, Becker PJ. Vitamin B-12, vitamin B-6 and folate nutritional status in men with hyperhomocysteinemia. *Am J Clin Nutr* 1993;57:47–53.
205. Pancharuniti N, Lewis CA, Sauberlich HE, Perkins LL, Go RCP, Ahvarez JO, et al. Plasma homocyst(e)ine, folate, and vitamin B12 concentrations and risk for early-onset coronary artery disease. *Am J Clin Nutr* 1994;59:940–48.
206. Selhub J, Miller JW. The pathogenesis of homocysteinemia: interruption of the coordinate regulation by S-adenosylmethionine of the remethylation and transsulfuration of homocysteine. *Am J Clin Nutr* 1992;55:131–38.
207. Shin HK, Linkswiler HM. Tryptophan and methionine metabolism of adult females as affected by vitamin B-6 deficiency. *J Nutr* 1974;104:1348–55.
208. Stabler SP, Allen RH. Elevations of serum cystathionine and homocysteine in vitamin B-6, folate and cobalamin deficient rats. *Blood* 1994;84(Suppl. 1):118a. (Abstr.)
209. Wolthers KR, Scrutton NS. Cobalamin uptake and reactivation occurs through specific protein interactions in the methionine synthase-methionine synthase reductase complex. *FEBS J* 2009;276:1942–51.
210. Wolthers KR, Scrutton NS. Protein interactions in the human methionine synthase-methionine synthase reductase complex and implications for the mechanism of enzyme reactivation. *Biochemistry* 2007;46:6696–6709.
211. Fredriksen K, Meyer PM, Ueland SE, Vollset T, Grotmol J, Schneede. Large scale population based metabolic phenotyping of thirteen genetic polymorphisms related to one-carbon metabolism. *Hum Mutat* 2007;28:856–865.
212. Ale' ssio AC, Annichino-Bizzacchi JM, Bydlowski SP, Eberlin MN, Vellasco AP, Ho NF. Polymorphisms in the methylenetetrahydrofolate reductase and methionine synthase reductase genes and homocysteine levels in Brazilian children. *Am J Med Genet A* 2004;128:256–60.
213. Yang QH, Botto LD, Gallagher M, Friedman JM, Sanders CL, Koontz D, et al. Prevalence and effects of gene-gene and gene-nutrient interactions on serum folate and serum total homocysteine concentrations in the United States: findings from the third National Health and Nutrition Examination Survey DNA Bank. *Am J Clin Nutr* 2008;88:232–46.
214. Hou Z, Matherly LH. Oligomeric structure of the human reduced folate carrier: identification of homo-oligomers and dominant-negative effects on carrier expression and function. *J Biol Chem* 2009; 284:3285–93.
215. Ulrich CM, Bigler J, Bostick R, Fosdick L, Potter JD. Thymidylate synthase promoter polymorphism, interaction with folate intake, and risk of colorectal adenomas. *Cancer Res* 2002;62:3361–64.
216. Christensen K.E, Rohlicek C.V, Andelfinger G.U, J. Michaud, J.L. Bigras, A. Richter, R.E. Mackenzie, R. Rozen, The MTHFD1 p.Arg653Gln variant alters enzyme function and increases risk for congenital heart defects, *Hum. Mutat.* 30 (2009) 212–220.

## 10. TEŞEKKÜR

Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum ABD' daki eğitimim süresince bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım değerli hocalarıma, bu çalışmanın yürütülmesinde yol gösterici, yardımcı ve destekleyici tutumlarından dolayı tez danışmanım Prof. Dr. Metin ÇAPAR'a teşekkürlerimi ve saygılarımı sunarım.

İhtisasım süresince birlikte çalıştığım araştırma görevlisi arkadaşlarıma, Kadın Hastalıkları ve Doğum kliniği hemşire ve personellerine, ameliyathane ekibine, çalışmada emeği geçen Prof. Dr. Aynur ACAR'a, Prof. Dr. M. Emre ATABEK'e, Yrd. Doç. Dr. Aysun TOKER'e çalışmanın istatistik analizlerini yapan Prof. Dr. T. Kemal ŞAHİN'e ve Arş. Görv. Yunus AKDOĞAN'a destek ve yardımlarından dolayı teşekkür ederim.

İhtisasım süresince her zaman yanımda olan sevgili eşime, dostlarıma ve aileme sonsuz teşekkür ederim.

Dr. Refika SELİMOĞLU

## 11. EKLER

### EK 1

#### ONAM

**Onam Formu:** MTHFR gen polimorfizmi, folat metabolizması ve homosisten değeri ile Down Sendromu riski arasındaki ilişkinin incelenmesi adlı çalışmanın amacı genetik anomaliler ve besinsel eksiklikler ile Down Sendromlu bebekler arasındaki ilişkiyi tesbit etmek, ve bu şekilde toplumda önemli bir sosyolojik ve ekonomik yük teşkil eden Down Sendromunu önlemektir. Down Sendromlu çocuklardan ve anne - babalarından kan alınacak (50 çocuk, 50 anne ve 50 baba) ve bu kanda genetik testler yapılacak ( MTHFR polimorfizmleri 677C>T ve 1298A>C) , biyokimyada homosistein, Vitamin B12, Vitamin B6, Folik asit düzeyleri çalışılacak. Aynı testler sağlıklı çocuklar ve onların anne-babalarının kanında da yapılacak (20 çocuk, 20 anne ve 20 baba) ve sonuçlar karşılaştırılacaktır. Kan alınan kişi üstünde hiçbir riski yoktur, yapılan tahliller hastaya herhangi bir mali yük getirmeyecek. Hastaların kimliği gizli tutulacak yalnız bilgi ve bulguları kullanılacak, araştırmaya en az 210 gönüllü katılacak, 50 Down Sendromlu bebek annesi 25'i 35 yaş altı olacak, 25'i de 35 yaş ve üzeri olacak, 20 de kontrol anne (sağlıklı çocuklar annesi), 10'u 35 yaş altı olacak, 10'u de 35 yaş ve üzeri olacak, 50 Down Sendromlu çocuk, 20 sağlıklı çocuk, 50 Down Sendromlu çocuk babası ve 20 kontrol baba (sağlıklı çocuklar babası) alınacak. 18 yaş altı olan çocukların hem kendisinden hem velisinden onam alınacak.

Yukarıda gönüllüye araştırmadan önce verilmesi gereken bilgileri gösteren metni okudum. Bunlar hakkında bana yazılı ve sözlü açıklamalar yapıldı. Bu koşullarda söz konusu Klinik Araştırmaya kendi rızamla, hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın katılmayı kabul ediyorum

Tarih

...../...../.....

Gönüllünün Adı soyadı, İmzası, Adresi (varsa telefon/faks no.)

Velayet veya vesayet altında bulunanlar için veli veya vasinin Adı soyadı, imzası (varsa telefon/faks no.)

Açıklamaları yapan araştırmacının Adı soyadı, İmzası:

Rıza alma işlemine başından sonuna kadar tanıklık eden kişinin Adı soyadı, İmzası, Görevi.

## EK 2

## Etik Kurul Onayı

KONYA ÜNİVERSİTESİ MERAM TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR  
ETİK KURULU DEĞERLENDİRME FORMU

BAŞVURU BİLGİLERİ	
ARAŞTIRMA PROT. KODU	EUDRACT NO:
ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	"MTHFR gen polimorfizmi, folat metabolizması ve homosistein değeri ile Down sendromu riski arasındaki ilişkinin incelenmesi"
SORUMLU ARAŞTIRMACI	Prof. Dr. Metin ÇAPAR
COORD. ÜNVAN/ADI/SOYADI	UZM. ALANI: Kadın Hasta. ve Doğum
ARAŞ. MERKEZİ VE ADRESİ	UZM. ALANI:
DESTEKLEYİCİ, DESTEK NİN YAŞAL TEMSİLCİSİ VE ADRESİ	Konya Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi
ARAŞTIRMANIN AMACI	TEZ AMAÇLI <input checked="" type="checkbox"/> AKADEMİK AMAÇLI <input type="checkbox"/>
ARAŞTIRMANIN FAZİ VE TÜRÜ	FAZ 1 <input type="checkbox"/> FAZ 2 <input type="checkbox"/> FAZ 3 <input type="checkbox"/> FAZ 4 <input type="checkbox"/> BE/BY <input type="checkbox"/> DİĞER <input type="checkbox"/> Diğer ise belirtiniz:
ARAŞ. KATILAN MERKEZLER	İLAC DİŞİ ARAŞTIRMA <input checked="" type="checkbox"/> Betiriniz: Uzmanlık Tezi TEK MERKEZ <input checked="" type="checkbox"/> ÇOK MERKEZLİ <input type="checkbox"/> ULUSAL <input type="checkbox"/> ULUSLARARASI <input type="checkbox"/>

DEĞERLENDİRİLEN BELGELER			
Belge adı	Tarih/ Versiyon /Açıklama	Belge adı	Tarih/ Versiyon /Açıklama
ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ		SONUÇ RAPORU	
ARAŞTIRMA BROŞÜRÜ		YILLIK BİLDİRİM	
ARAŞTIRMA BÜTÇESİ		GÜVENLİK BİLDİRİMİ	
BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU		DİĞER BELGELER	

KARAR:	Karar No: 2012/04	Tarih: 29.02.2012
	Yukarıda bilgileri verilen klinik araştırma başvuru dosyası ve ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş, gerçekleştirilmesinde etik sakınca bulunmadığına oy birliği ile karar verilmiştir.	
	Etik bulunmama gerekçesi:	
	Karşı oy açıklaması:	
Kararın başvuru sahibince Sağlık Bakanlığına arzı:		Gerekli <input type="checkbox"/> Gerekli <input checked="" type="checkbox"/>

ETİK KURUL BAŞKAN VE ÜYELERİ				
Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Arş. ile İlişki	İmza
Prof. Dr. Rahmi ÖRS (Başkan)	Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları	K.Ü. Meram Tıp Fakültesi	Yok	
Doç. Dr. Banu BOZKURT (Başkan Yrd)	Göz Hastalıkları	K.Ü. Meram Tıp Fakültesi	Yok	
Yrd. Doç. Dr. B. Cem SONER (Raportör)	Tıbbi Farmakoloji	K.Ü. Meram Tıp Fakültesi	Yok	
Prof. Dr. Saad BODUR	Halk Sağlığı	K.Ü. Meram Tıp Fakültesi	Yok	
Prof. Dr. Sema TUNCER UZUN	Anesteziyoloji ve Reanima.	K.Ü. Meram Tıp Fakültesi	Yok	
Prof. Dr. Kurtuluş ÖZDEMİR	Kardiyoloji	K.Ü. Meram Tıp Fakültesi	Yok	
Prof. Dr. Nilset OKUDAN	Fizyoloji	K.Ü. Meram Tıp Fakültesi	Yok	
Prof. Dr. Mehmet ÇAKIR	İç Hastalıkları	K.Ü. Meram Tıp Fakültesi	Yok	
Doç. Dr. A.Sadık GİRİŞGİN	Acil Tıp	K.Ü. Meram Tıp Fakültesi	Yok	
Doç. Dr. Müslim YURTÇU	Çocuk Cerrahisi	K.Ü. Meram Tıp Fakültesi	Yok	
Doç. Dr. Figen GÜNEY	Nöroloji	K.Ü. Meram Tıp Fakültesi	Yok	
Doç. Dr. Lütfülah ALTINTEPE	İç Hastalıkları	Konya Eğitim ve Arş. Hast.	Yok	
Doç. Dr. İbrahim GÜNEY	İç Hastalıkları	Konya Eğitim ve Arş. Hast.	Yok	
Doç. Dr. M.Engin DENİZ	Sağlık İstatistikleri	K.Ü. Ahmet Keleşoğlu Eğitim Fakültesi	Yok	
Av. Orhan DÜR	Hukuk	Sorbest Avukat	Yok	

ASLI GÖRÜLÜR