

**Down Sendromu
Ön Tanısı Alan Bazı Hastalarda Sitogenetik İncelemeler**

Seda OCAKLI
Yüksek Lisans Tezi
Biyoloji Anabilim Dalı
Doç.Dr. Hüseyin ASLAN
Doç.Dr. Şaban TEKİN
2010
Her Hakkı Saklıdır

T.C.
GAZIOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Down Sendromu
Ön Tanısı Alan Bazı Hastalarda Sitogenetik İncelemeler

Seda OCAKLI

TOKAT
2010

Her hakkı saklıdır

Doç.Dr. Hüseyin ASLAN ve Doç.Dr. Şaban TEKİN danışmanlığında, Seda OCAKLI tarafından hazırlanan bu çalışma 14/09/2010 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Biyoloji Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan: Doç.Dr. Hüseyin ASLAN

İmza:

Üye: Doç.Dr. Şaban TEKİN

İmza :

Üye: Yrd. Doç.Dr. Hacı Ömer ATEŞ

İmza :

Üye: Yrd. Doç.Dr. Ahmet BURSALI

İmza :

Üye: Yrd. Doç.Dr. Emel TURGUT

İmza :

Yukarıdaki sonucu onaylarım

Prof.Dr. Metin YILDIRIM

Enstitü Müdürü

21./10./2010

TEZ BEYANI

Tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu tezin yazılmasında bilimsel ahlak kurallarına uyulduğunu, başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunulduğunu, tezin içerdiği yenilik ve sonuçların başka bir yerden alınmadığını, kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapılmadığını, tezin herhangi bir kısmının bu üniversite veya başka bir üniversitedeki başka bir tez çalışması olarak sunulmadığını beyan ederim.

Seda OCAKLI

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Down Sendromu Ön Tanısı Alan Bazı Hastalarda Sitogenetik İncelemeler

Seda OCAKLI

Gaziosmanpaşa Üniversitesi

Biyoloji Anabilim Dalı

Danışmanlar

Doç.Dr. Hüseyin ASLAN

Doç.Dr. Şaban TEKİN

Down sendromu (trizomi 21, veya trizomi G), 21. kromozomun tamamının veya bir parçasının fazladan bulunmasının sebep olduğu kromozomal bir hastalık olup, canlı doğumların 1/700'inde rastlanmaktadır. Doğum sonrasında görülen mental ve gelişim bozuklukları ve atipik yüz yapısı gibi karakteristik anomalilerle tanımlanan Down sendromu, sitogenetik karyotip analiziyle kesin olarak doğrulanmakta ve sendroma neden olan kromozomal anomali tespit edilmektedir. Bu çalışmada 2'si kontrol (Down sendromu) 18'i Down sendromu klinik tanısı almış olan toplam 20 kişinin sitogenetik analizinin yapılması ve bunların sitogenetik kökeninin belirlenmesi hedeflenmiştir ve toplam 20 olguya ait periferik kan örnekleri rutin sitogenetik analiz (kromozom bantlama) yöntemleriyle analiz edilmiştir. Çalışmanın sonuçlarına göre, metafaz elde edilen 16 olgudan sadece 6'sında Down sendromu (Regüler trizomi) tanısı konurken, 1 olgunun Klinifelter sendromu (47, XXY) olgusu olduğu belirlenmiştir. Çalışmanın sonuçları Down sendromu gibi kromozom düzensizliklerin kesin tanısını koymak için sitogenetik analiz ile desteklenmesi gerektiğini göstermektedir.

2010, 41 sayfa

Anahtar Kelimeler: Kromozom Bantlama, Down Sendromu, Karyotip, Sitogenetik

ABSTRACT

Master Thesis

Cytogenetic Research On Patients With Down Syndrome Early Diagnosis

Seda OCAKLI

Gaziosmanpasa University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Biology

Supervisors

Assoc.Prof.Dr.Hüseyin ASLAN

Assoc.Prof.Dr. Şaban TEKİN

Down syndrome (trisomy 21 or trisomy G), is a chromosomal disorder characterized by the presence of an extra whole or a part of chromosome 21, seen in 1/700 live birth. Down syndrome is described by development of common mental disorders, and characteristic atypical facial anomalies and verified by cytogenetic karyotype analysis. In the present study, cytogenetic analysis of 20 cases (18 prediagnosed Down syndrome and 2 Down syndrome control cases) were planned to confirm the prediagnosis. Peripheral blood samples from 18 prediagnosed and 2 Down syndrome control cases were analysed by using a common cytogenetic test, Chromosome Banding. Cytogenetic analysis results showed that 6 out of 16 cases were Down syndrome (Regular Trisomy) and 1 case was Klinefelter Syndrome (47,XXY). Results indicate that prediagnosis must be supported by cytogenetic analysis to confirm chromosomal disorders like Down syndrome.

2010, 41 pages

Keywords: Chromosome banding, Down Syndrome, Karyotyping, Cytogenetic

TEŐEKKÖR

Çalıőmalarım sırasında her tŒrlŒ desteğini benden esirgemeyen değerli hocalarım Doç. Dr. HŒseyin Aslan'a, Doç.Dr. Şaban Tekin'e, Prof. Dr. Őefik GŒran'a, Doç.Dr. Menderes Suiçmez'e ve her zaman her konuda destek veren eőim Ekrem Ocaklı'ya sonsuz teőekkŒrlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZET	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜR	iii
KISALTMALAR DİZİNİ	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ	ix
1. GENEL BİLGİLER	1
1.1. Kromozom Düzensizlikleri.....	1
1.1.1. Kromozomlardaki Sayısal Düzensizlikler.....	1
1.1.1.1. Öploidi (Euploidy).....	1
1.1.1.2. Anöploidi(Aneuploidy).....	2
1.1.2. Kromozomlardaki Yapısal Düzensizlikler.....	4
1.1.2.1. Yer değiştirme(Translocation).....	4
1.1.2.2. Eksilme (Deletion).....	7
1.1.2.3. Artma (Duplikasyon).....	7
1.1.2.4. Ters dönme(İnversiyon).....	8
1.1.2.5. Halka(Ring) Kromozom.....	9
1.1.2.6. İzokromozom.....	9
1.2. Kromozom 21.....	9
1.2.1. Kromozom 21 Düzensizlikleri.....	10
1.2.1.1. Trizomi 21.....	10
1.2.1.2. Monozomi 21, Monozomi 21q ⁻ ve r(21) Sendromu.....	14
1.2.2. Kromozom 21 Üzerinde Bulunan Genler.....	15
2. LİTERATÜR ÖZETLERİ	17
3. MATERYAL VE METOD	20
3.1. Materyal.....	20

3.1.1. Kullanılan Cihazlar.....	20
3.1.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler.....	20
3.2. Kullanılan Olgu Örnekleri	21
3.2. Metod.....	21
3.2.1. Kullanılan Solüsyonlar Ve Solüsyonların Hazırlanması.....	21
3.2.2. Test Prosedürü.....	23
3.2.2.1. Konvansiyonel Yöntem.....	23
3.2.2.2. MTX (Methotraxte) Yöntemi.....	25
4. BULGULAR.....	28
5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	35
6. KAYNAKÇA.....	38
ÖZGEÇMİŞ.....	41

KISALTMALAR DİZİNİ

Kısaltma

DS
MTX
BrdU
DNA
ml
g
KCl
NA₂HPO₄
KH₂PO₄

Açıklama

Down Sendromu
Methotraxte
Bromodeoxyuridine (5-bromo-2-deoxyuridine)
Deoksiribonükleik Asit
Mililitre
Gram
Potasyum Klorür
Sodyum Fosfat
Mono Potasyum Fosfat

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
Şekil 1.1. Kromozomların normal ve hatalı bölünmesi.....	3
Şekil 1.2. Karşılıklı yer değiştirme olgusunun şematik olarak açıklanması.....	4
Şekil 1.3. Sentrik kaynaşma tipi translokasyonun oluş mekanizması ve 14/21 translokasyonu.....	5
Şekil 1.4. Dengeli translokasyon taşıyıcısı bir kadının verebileceği gametler ve normal erkekle evliliğinden doğacak çocukların olası genotipleri.....	6
Şekil 1.5. Transpozisyon tipi yer değiştirme.....	6
Şekil 1.6. İki kırılma sonucu kopan parçanın kaybolması, delesyon (kromozom II). Kopan parçanın araya girmesiyle oluşan artma (kromozom I).....	7
Şekil 1.7. Artma ve artma tipleri. Tandem(üstte) ve ters tandem (altta).....	8
Şekil 1.8. Parasentrik tersdönme.....	8
Şekil 1.9. Perisentrik tersdönme.....	8
Şekil 1.10. Halka kromozomun oluşumu.....	9
Şekil 1.11. İzokromozomun oluşumunun şematik olarak gösterilmesi.....	9
Şekil 1.12. Regüler ya da klasik trizomi 21 ve mozaik mongolizmin oluş nedeni..	12
Şekil 1.13. Üstte regüler trizomiye ilişkin kısmi karyotip ve altta 14/21 Robertsonian translokasyon trizomi 21 parsiyel karyotipi.....	12
Şekil 1.14. 15/21 translokasyonu oluşumunun şematik gösterimi.....	13
Şekil 1.15. “Familiyal” Down sendromu.14/21 Robertsonian.....	14
Şekil 1.16. G-bantlama ile elde edilen insan 21 numaralı metafaz kromozomu ve idiyogram.....	16
Şekil 3.1. Periferik kandan kromozom eldesinin şematik gösterimi.....	27
Şekil 4.1. 3 no’lu olguya ait bir metafaz alanı (47, XY+21) ve 21 no’lu kromozomlar.....	32

<u>Sekil</u>	<u>Sayfa</u>
Şekil 4.2. 8 no'lu olguya ait bir metafaz alanı (47, XX+21) ve 21 no'lu kromozomlar.....	33
Şekil 4.3. 10 no' lu olguya ait bir metafaz alanı (47, XX+21) ve 21 no'lu kromozomlar	33
Şekil 4.4. 9 no'lu hastaya ait MTX yöntemi kullanılarak elde edilmiş bir metafaz alanı (46,XX).....	34
Şekil 4.5. 11 no'lu hastaya ait konvansiyonel yöntem kullanılarak elde edilmiş bir metafaz alanı (46, XX).....	34

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge

Sayfa

Çizelge 4.1. Analize alıp sonuç elde ettiğimiz olguların cinsiyet, yaş, aile öyküsü, ön tanı, muayene bulguları ve sitogenetik analiz sonuçları.....	30
---	-----------

1. GENEL BİLGİLER

Sitogenetik kromozomların sayısal ve yapısal değişikliklerini inceleyen bilim dalıdır. Günümüzde daha yüksek çözünürlük ve kesinlikle yapılan kromozom analizi tıbbın birçok alanında giderek önem kazanan tanısal bir yöntemdir. Kromozom hastalıkları genetik hastalıkların temel kategorilerinden birini oluşturur.

1.1. Kromozom Düzensizlikleri

Normalde 46 olan ($2n=46$) insan kromozomları kimi zaman hem sayı, hem şekil ve yapı bakımından değişiklik göstererek kromozomal hastalıkların ortaya çıkmasına neden olur. Kromozomal hastalıkları oluşturan düzensizlikler 2 sınıfa ayrılırlar;

1.1.1. Kromozomlardaki Sayısal Düzensizlikler

1.1.1.1. Öploidi (Euploidy)

Kromozom sayısındaki artış ya da azalışların kromozom sayısının ($n=23$) tam katları kadar olmasına öploidi denir. Bu durumda hücrelerdeki kromozom sayısı, o organizma türü için normal olan haploid sayısının tam katı kadar artmıştır. Başlıca öploidi tipleri;

Haploidi ($n=23$): Eşey hücrelerindeki temel kromozom sayısını gösterir.

Diploidi ($2n=46$): Fertilizasyon sonucu, insan hücrelerinde ulaşılan kromozom sayısıdır ve böyle hücrelere diploid denir.

Triploidi ($3n=69$): Temel kromozom sayısının üç kat artması durumu olup böyle hücrelere triploid hücreler denir.

Tetraploidi ($4n=92$): Hücrede temel kromozom sayısının 4 katı kromozom bulunması durumudur ki böyle hücrelere tetraploid hücre adı verilir.

Diğer ploidiler: Kuramsal olarak temel kromozom sayısını sonsuza kadar artırmak olasıdır, fakat bu ploidiler insan için henüz gösterilememiştir.

Miksoploidi ya da Mozaisizm: Aynı zigottan kaynaklanan organizma ya da herhangi bir dokunun değişik hücrelerinde, değişik kromozom kuruluşuna rastlanması durumudur. Örneğin, bir hücrede $2n$ kromozom bulunurken bir diğerinde $3n$ kromozom bulunmaktadır (Başaran, 2003).

Öploidi eşey hücresinde zaten var olan poliploididen dolayı ya da hücre bölünmesi sırasındaki kusurdan dolayı ortaya çıkar. Öploide temel kusur, hücrede çekirdek bölünmesi olduğu halde sitoplazma bölünmesinin olmamasıdır. Öploidi durumları 2 şekilde olmaktadır;

Endomitoz: Hücre bölünmesine hazırlık olarak kalıtsal madde, yani kromozomlar katı kadar çoğalır, mitoz bölünmenin ilk iki evresi gerçekleşir, fakat anafaz ve telofaz olmaz, hücre ve sitoplazma bölünmesi oluşmaz. Böylece kromozom sayıları her bölünmede katı kadar artmış olur.

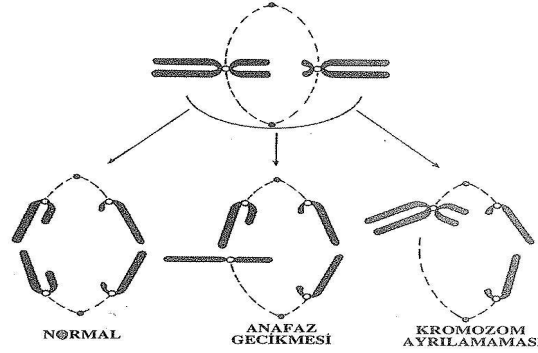
Endoredüplikasyon: Endomitozda olduğu gibi kromozomlar katı kadar artar ya da diğer bir deyişle kromatidler bölünür, fakat hücre bölünmesi gerçekleşmediği için, sentromerlerinden birbirine tutunmuş durumdaki çok sayıda kromatidden oluşmuş olan (4-8) kromozomlar ortaya çıkar (Başaran, 2003).

1.1.1.2. Anöplöidi (Aneuploidy)

Temel kromozom sayısının katları kadar olmayan artma ya da eksilmelere denir. Hücrenin bölünmesi sırasında ortaya çıkan kusurlar nedeni ile anaploidiler oluşur ve başlıca iki yolu vardır;

Kromozom ayrılmaması (Nondisjunction): Bölünmeye hazırlık döneminde kendini iki katına çıkaran kalıtsal madde metafaz evresinde ekvatoriyal düzlemde toplanır, sentromerlerinden uzunlamasına ikiye bölünerek her yarım ayrı bir kutuba gider ve bölünme olgusu tamamlanır. Kimi zaman kromozomlar uzunlamasına bölünemez ve bir kutba kromozom gitmez. Kromozom ayrılmaması denen olay budur (Şekil 1.1). Kromozom ayrılmamasının çok görüleni ve önemli olanı mayoz hücre bölünmesi sırasında ortaya çıkmıştır. Kromozomun ikiye bölünüp her birinin ayrı kutuplara gidememesi sonucu hücrelerden birinde söz konusu kromozom hiç bulunmazken diğer hücrede bir yerine iki tane bulunur. İki kromozomlu gamet normal kromozomlu gamet ile birleşecek olursa, ortaya çıkacak kişi ile ilgili kromozomdan üç tane bulunduracak yani trizomik olacaktır. Örneğin; Down sendromu.

Kromozomların anafazda geri kalması (Anaphase Lagging): Normal olarak uzunlamasına bölünerek kutuplara çekilmekte olan kromozomlardan biri anafazda geri kalır. Hareket etmekte geç kalan bu kromozom ya özdeşinin bulunduğu kromozom grubuna katılır ya da bölünme sırasında ortadan kaybolur. Eğer özdeşinin bulunduğu hücrede kalacak olursa, bir hücrede aynı kromozomdan bir yerine iki tane bulunurken diğer hücrede hiç bulunmayacağı için sonuç bakımından kromozom ayrılamamasına benzer. Fakat sitoplazmanın bölünmesi sırasında kaybolacak olursa, hücrelerden biri normal kromozoma sahipken, diğerinde bir kromozom eksik olacaktır (Şekil 1.1) (Başaran, 2003).



Şekil 1.1. Kromozomların normal ve hatalı bölünmesi (Başaran, 2003).

Anöploidi kromozomlardaki artma ya da eksilmeye göre ikiye ayrılır;

Hiperploidi: İnsandaki normal diploid sayıdan bir ya da daha çok sayıda fazla kromozom bulunması durumudur. Sık rastlanan hiperploidi örnekleri trizomi ve tetrazomilerdir.

Trizomi (“trisomy”): İnsan kromozomlarından herhangi birinin iki yerine üç tane bulunması durumudur. Örneğin; Down Sendromu

Tetrazomi (Tetrasomy): Kromozomlarda gözlenen bu düzensizlik iki şekilde olmaktadır; ya belli bir homolog kromozom çiftinden iki yerine dört tane bulunmaktadır (örneğin; 48, XXXX) ya da iki ayrı homolog çiftin trizomisi vardır [(48,XX,(+1;+4)].

Hipoploidi (Hipoploidi): Karyotipteki diploid kromozom sayısından 1 ya da daha çok kromozomun eksilmesidir.

Nüllizomi (Nullisomy): Herhangi kromozom çiftlerinden birinin olmaması yani karyotipten bir çift kromozomun eksik olması durumudur. İnsan için nüllizomi örneği

bilinmemektedir; belkide nüllizominin letal etkisinden dolayı embriyo erken dönemde düşükle sonlanmaktadır.

Monozomi (Monosomi): Diploid kromozomdan 1 kromozomun eksik olmasına denir. Örneğin; Turner sendromu (45,X)

Mozaisizm: Aynı zigottan kaynaklanan bir organizmada, kromozom sayıları birbirinden farklı birden çok doku ya da hücre bulunması durumuna denir. Nedeni mitoz bölünmedeki kromozom ayrılabilmesi ya da kromozomların anafazda geri kalmasıdır.

Uniparental dizomi: Fertilize ovumda iki homolog kromozomun bir parental ebeveynden, ya anneden ya da babadan gelmesidir. İlk tanımlandığından günümüze kadar 6, 7, 11, 13, 14, 15, 16, 21, 22 numaralı kromozomlarla XY çiftini ilgilendiren uniparental dizomi olguları bildirilmiştir (Başaran, 2003).

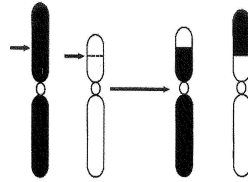
1.1.2. Kromozomlardaki Yapısal Düzensizlikler

Kromozomlardaki yapısal düzensizliklerin nedeni aynı ya da değişik kromozomlardaki kırılma ve yeniden düzenlenmelerdir.

1.1.2.1. Yer değiştirme (Translocation)

Kırılma gösteren heterolog iki kromozomdan birinin kırılan parçasının, diğer kromozomun kırılan parçasının üzerine yapışmasına translokasyon denir. Translokasyonlar üç grup içerisinde incelenebilir;

Karşılıklı translokasyon: Bir kırılma sonucu, homolog ya da homolog olmayan kromozomlardan kopan parçaların karşılıklı yer değiştirmesine denir (Şekil 1.2).



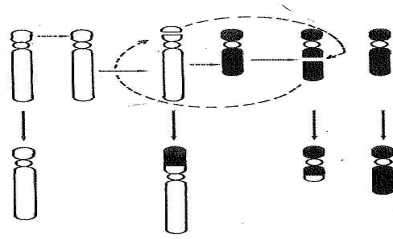
Şekil 1.2. Karşılıklı yer değiştirme olgusunun şematik açıklanması (Başaran, 2003).

Sentrik Kaynaşma Tipi Translokasyon: Kromozomlardan birinde sentromere yakın kısa kolunda, diğerinde ise yine sentromere yakın fakat uzun kolunda birer kırılma

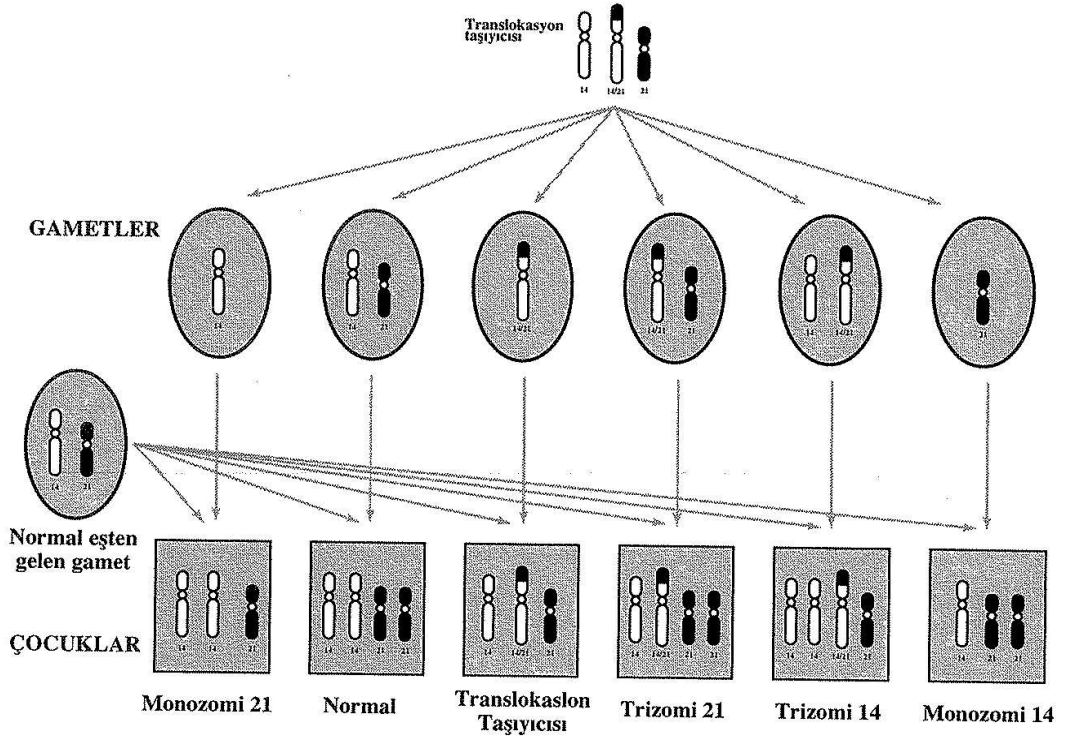
olması ve bu kromozomların uzun ve kısa kollarının birleşmesi sonucu oluşur. Ancak, ortaya çıkan bu anormal kromozomlardan küçük olanı çoğunlukla bir sonraki bölünmede dejenere olarak kaybolup gider (Şekil 1.3). Bu translokasyona **Robertsonian tipi translokasyon** da denmektedir.

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

14 ve 21 numaralı kromozomların uzun kollarının birleşmesi sonucu ortaya çıkan 14/21 dengeli translokasyon kromozomu taşıyan bir kadın olgu incelenecek olursa; bu olgu gerekli tüm kalıtsal maddeyi hücrelerinde normalden değişik olarak, fakat eksiksiz taşıdığı için fenotipik bakımdan normal olur. Böyle bir olgunun karyotipi şöyle yazılabilir: 45, XX, -14, -21, +t(14q21q). Bu olgu 6 tür yumurta hücresi oluşturabilir ve eğer bu yumurta hücreleri normal eşin normal spermiumları ile birleşecek olursa kromozom kuruluşları bakımından değişik 6 tür çocuk doğabilir (Şekil 1.4).

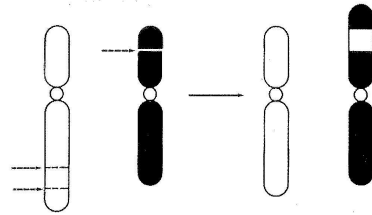


Şekil 1.3. Sentrik kaynaşma tipi translokasyonun oluş mekanizması ve 14/21 translokasyonu (Başaran, 2003).



Şekil 1.4. Dengeli translokasyon taşıyıcısı bir kadının verebileceği gametler ve normal erkekle evliliğinden doğacak çocukların olası genotipleri (Başaran, 2003).

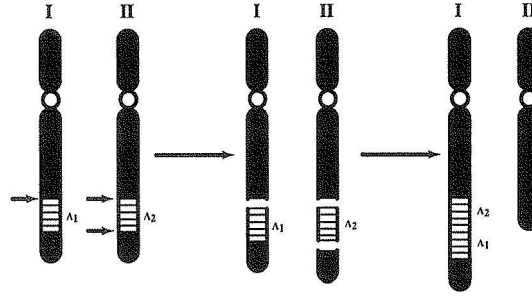
İnsersiyonel translokasyon ya da transpozisyon: Homolog olmayan iki kromozomdan birinde iki noktada, diğerinde ise bir noktada kırılma olur. İki kırılma olan kromozomdaki parça tek kırılma olan kromozoma gider ve kaynaşır. Bu tür dengeli kromozom taşıyıcıları sağlıklı olurlar, fakat çocuklarına artma ya da eksilme gösteren kromozomlarını aktarabilirler ve onların kromozom anomalisi göstermelerine neden olabilirler (Başaran, 2003) (Şekil 1.5).



Şekil 1.5. Transpozisyon tipi yer değiştirme (Başaran, 2003).

1.1.2.2. Eksilme (Deletion)

Bir kırılma sonucu kromozomun bir kısmının kaybolmasına denir. Delesyonlar terminal veya interstisyel olabilir; ya bir darbe sonucu kırılan kromozom parçası kopar (terminal delesyon) ya da iki darbe sonucu kopan parça aradan çıktıktan sonra iki parça yeniden kaynaşır (interstisyel delesyon). Ancak terminal delesyon pek olası değildir. Çünkü kopan kromozom kolu yapışkan durumda kalır ve yeni bir parçanın buraya eklenmesi beklenir fakat bu delesyondan sonra bir translokasyon görülmez (Thompson&Thompson, 2005) (Şekil 1.6).



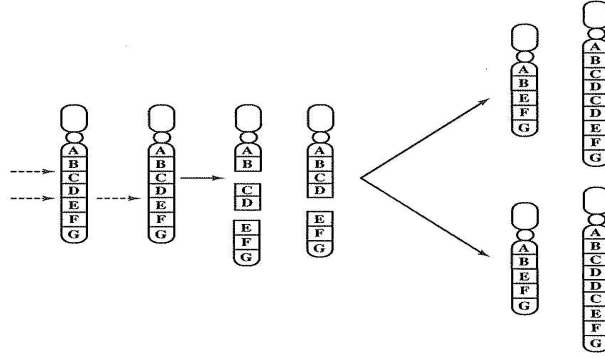
Şekil 1.6. İki kırılma sonucu kopan parçanın kaybolması, delesyon (kromozom II). kopan parçanın araya girmesiyle oluşan artma (kromozom I) (Başaran, 2003).

1.1.2.3. Artma (Duplikasyon)

Homolog iki kromozomdan birinde çift darbe sonucu kopan parça, diğerinde tek darbe sonucu kopan aralığa girerek kaynaşacak olursa artma ya da duplikasyon olgusu ortaya çıkar (Şekil 1.6 ve Şekil 1.7). Ancak duplikasyon daha çok mayoz bölünmede görülür ve bir kromozom segmentinin iki kopya halinde bulunmasını anlatır. Mayoz bölünme sırasında bir eşit olmayan krosing over sonucu ortaya çıkar ve mayotik kromozomlardan birisinde duplikasyon varken diğerinde delesyon görülür. Duplikasyonlar translokasyon, inversiyon ya da izokromozomlu eşlerdeki mayotik olaylar sonucu da ortaya çıkabilir. Duplikasyonlar delesyonlardan daha sık görülmelerine karşın daha az zararlıdır. Homolog kromozomdaki artmada, gen duplikasyonu olur. Fakat duplikasyon kendini iki tipte gösterir (Başaran, 2003).

Tandem Duplikasyon: Genler ardı ardına dizilmiştir.

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

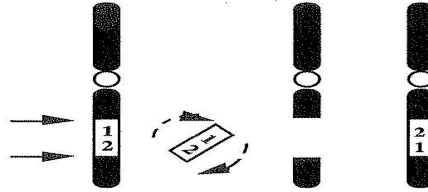


Şekil 1.7. Artma ve artma tipleri. Tandem(üstte) ve ters tandem (altta) (Başaran, 2003).

1.1.2.4. Ters dönme (İnversiyon)

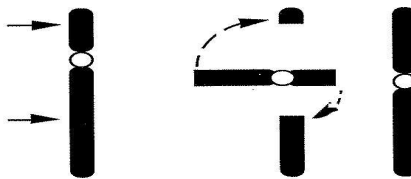
Bir kromozomda iki kırık olması ve kırıkların ortasında kalan kısmın ters dönerek tekrar birleşmesine denir (Thompson&Thompson, 2005). İnvrsiyonlar iki tiptir;

Parasentrik inversiyon: Sentromerin dışında olan ters dönmelerdir. Her iki kırıkta aynı koldadır (Thompson&Thompson, 2005) (Şekil 1.8).



Şekil 1.8. Parasentrik tersdönme (Başaran, 2003).

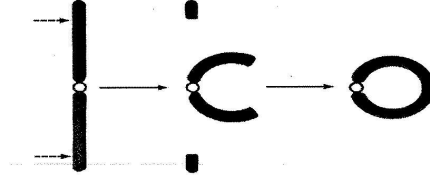
Perisentrik İnvrsiyon: Her kolda bir kırığın olduğu yani sentromerin dahil olduğu invrsiyonlardır (Thompson&Thompson, 2005) (Şekil 1.9).



Şekil 1.9. Perisentrik tersdönme (Başaran, 2003).

1.1.2.5. Halka(Ring) Kromozom

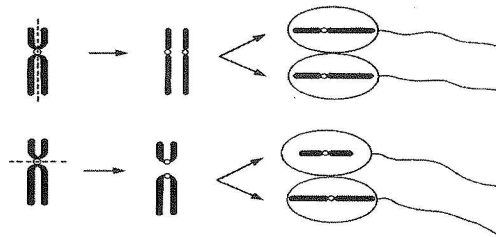
Bir kromozomun iki ucunda iki darbe sonucu iki kırılma oluşması ve bu kırık uçların halka şeklinde birleşmesi sonucu halka (ring) kromozomlar ortaya çıkar (Thompson&Thompson, 2005) (Şekil 1.10).



Şekil 1.10. Halka kromozomun oluşumu (Başaran, 2003).

1.1.2.6. İzokromozom

İzokromozom kromozomun kollarından birinin kaybolduğu ve diğerinin bir ayna hayali şeklinde duplike olduğu kromozomlara denir. İzokromozom oluşumundaki temel keskin olarak bilinmemekle beraber; 2. mayoz bölünmede sentromerden bölünememe ve daha sık olarak bir kromozomun bir kolunu ve kolun proksimal kısmında sentromere komşu olan bölgede homologunu ilgilendiren bir değişimden bahsedilmiştir (Thompson&Thompson, 2005) (Şekil 1.11).



Şekil 1.11. İzokromozomun oluşumunun şematik olarak gösterilmesi (Başaran, 2003).

1.2. Kromozom 21

Karyotipin sonuncu grup kromozomları, yani G grubu kromozomları 21 ve 22 numaralı kromozomlardan oluşur ve bunlar küçük akrosentrik kromozomlardır. G grup kromozomlarda da D grup kromozomlar gibi satellit bulunur ve iki grup kromozom

ikişer ikişer ya da üçer üçer yan yana gelerek metafazda satellit asosiasyonu gösterirler. Bu satellit asosiasyonunun nedeni, kromozomların kısa kollarının nükleolus kalıntısına tutunması olabilir. Ayrıca asosiasyon D ve G grup kromozomlar arasındaki translokasyonda rol oynayabilmektedir. G grup kromozomları morfolojik yönden birbirinden ayırma olanağı hemen hemen yok gibidir. 21 numaralı kromozom grup arkadaşından, yani 22 numaralı kromozomdan daha geç işaret almaktadır. Bu nedenle 21 numaralı kromozom parlak floresans verdiği halde 22 numaralı kromozom çok hafif floresans vermektedir. 21 numaralı kromozomun kısa kolundaki satellitler nedeniyle floresansda değişkendir. Uzun kolun proksimalinde koyu floresans veren bir segmente karşılık distalde soluk floresans veren bir segment bulunmaktadır, böylece uzun kolun orta kesiminde parlak floresans veren geniş bir bant görülmektedir(Başaran, 2003).

1.2.1. Kromozom 21 Düzensizlikleri

1.2.1.1. Trizomi 21

Down sendromu, Trizomi 21 ve Mongolizm gibi adlarda verilen bu sendromun klinik belirtileri ilk kez 1866 yılında John Langdon Down tarafından bildirilmiştir. Kromozomal düzensizlikler ise ilk kez 1959 yılında Lejeune ve arkadaşları tarafından bildirilmiştir. Çok değişik semptomları olmasına rağmen şu özelliklerin ortak olduğu bilinmektedir: Hipotoni, yuvarlak yüz, oblik palpebral fissür ve epikantus, irisin nokta nokta olması(Brush-field lekeleri), küçük ve kıvrık kulaklar, kısa ve geniş boyun, boyun derisi gevşek, küçük burun, intrauterin ve ekstrauterin gelişme geriliği, konjenital kalp hastalıkları, boy kısalığı, baş brakisefalik, fontaneller ve sütürler geç kapanır, hipotelorizm, skrotal dil, avuç içinde simian çizgisi, küçük serçe parmak (%50 klinodaktili) ve iki yerine tek fleksiyon çizgisi, ağır zeka geriliği. Kromozom düzensizliğinin durumuna göre Down fenotipide değişiklik gösterir.

Down sendromlu olgulardaki en ciddi komplikasyonlardan biri zeka geriliğidir. Bunlardaki IQ genellikle 50 ya da daha düşüktür, fakat daha yüksek bir IQ bulunacak olursa mutlaka mozaisizmden kuşkulmalıdır. Down sendromlu hastaların %40 kadarında konjenital kalp malformasyonu görülürken duadenal atrezi de bulunabilmektedir. Bunlara ek olarak, katarakt, epilepsi, hipotirodizm, akut lösemi ve atlantoaksial instabilite gibi diğer komplikasyonlar da 21 trizomili olgularda

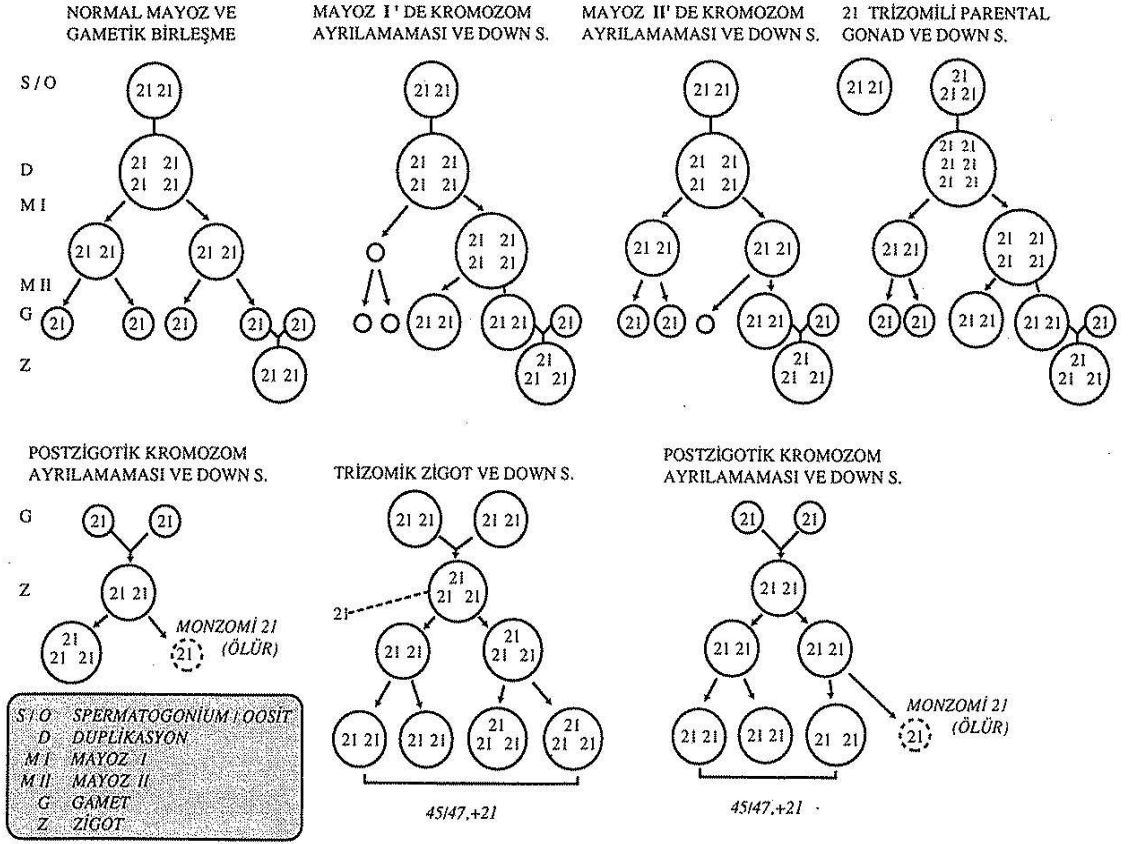
bulunmaktadır. Puberte genellikle gecikir ve inkomplettir. Erişkinlerdeki boy ortalaması 150 cm kadardır. Genellikle 40 yaşından sonra presenil demans başlamaktadır.

Down sendromlu hastaların %95 kadarı klasik 21 trizomili, % 1 kadarı normal/trizomik mozaik iken, % 4 kadarı translokasyondur (Başaran, 2003).

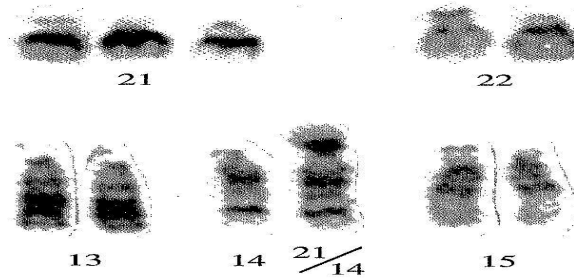
Down sendromunda sitogenetik çeşitlilik

Trizomi 21 (47, XX ya da XY,+21): G grubundaki 21 numaralı kromozomun iki yerine üç tane bulunması sonucu ortaya çıkan bu düzensizliğe klasik trizomi 21, klasik mongolizm, primer mongolizm, standart mongolizm, regüler mongolizm, G21 trizomisi, mutant trizomi 21 ya da mutant mongolizm de denmektedir. Şekil de oluş mekanizması ve türleri gösterilen regüler trizomi 21 büyük çoğunlukla (%85) maternal mayozdaki kusurdan kaynaklanır. Bu olgu, anne yaşı ilerledikçe kendini daha çok gösterir. Çünkü anne yaşının önemi çiftler çiftler yan yana gelmiş kromozomların oogoniumdaki özel durumundan ileri gelir. Diakinez evresindeki çevresel (radyasyon, kimyasal mutajenler, enfeksiyon etkenleri, anormal metabolik etkenler ya da kalıtsal etkenler, kromozomların normal dağılmasını önler. Genellikle mayoz I (%80), bazen de mayoz II deki kromozom ayrılmaması ya da anafazda geri kalma sonucu maternal yaşa bağlı trizomi 21 olguları oluşmaktadır. Down sendromlu hastalardaki fazla kromozomun % 85 kadarı anne kökenli, % 15 kadarı da baba kökenlidir. Fakat yaşa bağlı trizomi 21 de, paternal kromozom ayrılamamasının da sorumlu olabileceği henüz gösterilememiştir. Anne yaşının, ileri kutuplara çekilme gücünde azalmaya neden olduğu sanılmaktadır. Eğer çifte kromozom ayrılamaması olursa, bazen Klinefelter sendromu Down sendromuna eşlik edebilir (%0,25).

Mayoz bölünmedeki kromozom ayrılamaması otozomlardan hangi kromozomu tutarsa tutsun iki tür ovum ortaya çıkar: Birinde iki tür kromozom varken diğerinde bu kromozomdan, örneğin 21 numaralı kromozomdan hiç bulunmaz. Birinci yumurta ya da dizomik yumurta normal spermiumla birleştiği zaman klasik 21 trizomili çocuk doğarken, ikinci tür yumurta ile oluşan çocuklarda ilgili kromozom bir eksiktir ve karyotipte 45 kromozom bulunur. Bunlar genellikle yaşamazlar (Başaran, 2003).



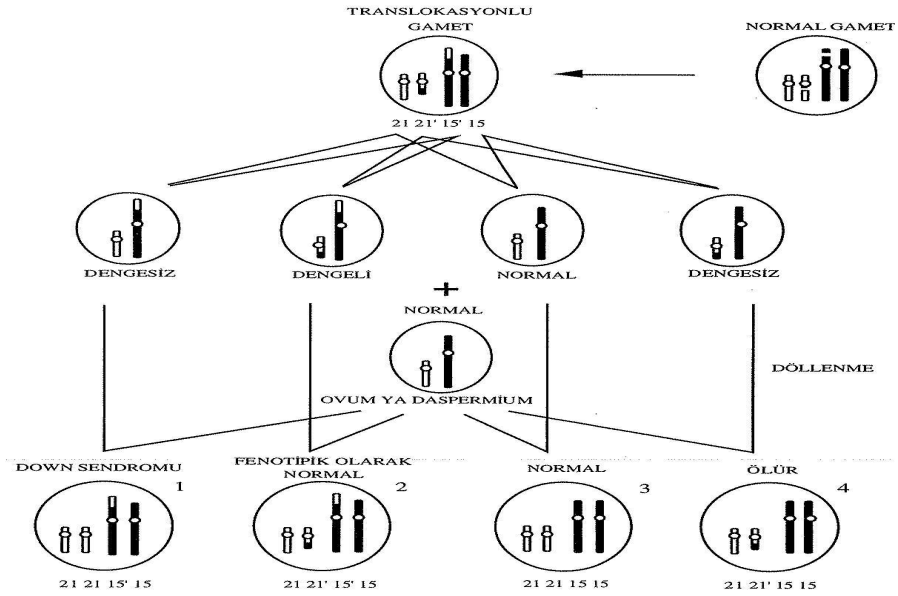
Şekil 1.12. Regüler ya da klasik trizomi 21 ve mozaik mongolizmin oluş nedeni (Başaran, 2003).



Şekil 1.13. Üstte regüler trizomiye ilişkin kısmi karyotip ve altta 14/21 Robertsonian translokasyon trizomi 21 parsiyel karyotipi (Başaran, 2003).

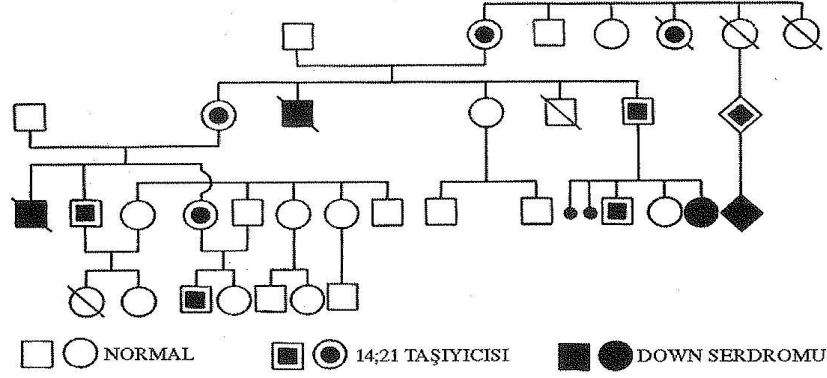
Translokasyon mongolizmi: Down sendromlu olguların % 4 kadarı, kromozomlardaki yapısal düzensizlikler nedeniyle oluşurlar. Fakat böylelerinin anneleri daha gençtir ve annelerinin yapısal düzensizlik taşıma olasılığı daha yüksektir (%15). En yaygın olan translokasyon tipi Robertsonian tipteki translokasyondur. Bu tür translokasyon mongollarının oluşumu Şekil 1.14 de görülmektedir. Robertsonian translokasyonda

kromozomun kısa kolu kaybolmuştur ve çoğunlukta $t\ rob(14q;21q)$ ya da $rob(21q;21q)$ biçimindedir. Bunlardan 14/21 translokasyonlarının yaklaşık yarısı ile 21/22 ve 21/21 translokasyonlarının yaklaşık altıda biri parental taşıyıcıdaki dengesiz kromozom ayrışımından kaynaklanır. Resiprokal translokasyonlarda, hastalıktan sorumlu olan esas parçanın uzun kolun distal parçası (21q22) olduğu sanılmaktadır. Geriye kalanlar ise de novo olarak oluşur. Translokasyon mongollarında 46 kromozom bulunurken bunların taşıyıcı olan anne ya da babalarında 45 kromozom vardır (Başaran, 2003).



Şekil 1.14. 15/21 translokasyonu oluşumunun şematik gösterimi (Başaran, 2003).

Familiyal mongolizm: Bu olguların büyük kısmı, dengeli durumdaki Robertson tipi translokasyonun familiyal olarak sonraki kuşaklara kalıtılması ile ortaya çıkar. Translokasyon trizomiklerinin klasik trizomiklerden fiziksel olarak hiçbir farkları yoktur. De novo olarak ortaya çıkan $rob(21q;21q)$ translokasyonunu 21q izokromozomundan ayırmak çok güçtür. Down sendromlu çocuğa sahip anne ya da babalarda $rob(21q;21q)$ translokasyon örneği çok az görülen bir durumdur, fakat böyle translokasyonların diğer aile bireylerinde görülmemesine karşın, translokasyonların taşıyıcısının tüm çocukları mongol olur ya da abortusla sonuçlanır (monozomi 21). Diğer tip yapısal düzensizlikler ise Down sendromlu olgularda çok seyrek görülen bir durumdur (Başaran, 2003).



Şekil 1.15. “Familiyal” Down sendromu.14/21 Robertsonian translokasyonunun geçişi (Başaran, 2003).

Mozaik mongolizm: (46, XX ya da XY/47,XX ya da XY,+21). Down sendromlu olguların %1 kadarı mozaik yapıdadır, fakat bunların anne ve babaları kromozomal bakımdan normal kişilerdir. Mozaik mongolların oluşumuna ilişkin şekil 1.12 de görülmektedir. Bu tür mozaik bireyler mitotik kromozom ayrılamaması sonucu trizomik zigotlardan(%80) ya da normal zigotlardan (%20) kaynaklanırlar. Bu olguların semptomları diğer mongollara göre daha hafif seyretmektedir (Başaran, 2003).

Nontranslokasyon(Familiyal Trizomi 21) : Bu duruma ikincil kromozom ayrılamaması (sekonder nondisjunction) da denmektedir. Genel olarak Down sendromlu kadınlarda fertilitate oldukça azalmıştır. Erkeklerde ise hemen daima hipogonaldır. Down sendromlu kadınların doğurdukları çocukların yarıya yakını trizomik, geriye kalanlar ise normal olmaktadır, fakat bu normal olanlarda da başka düzensizlikler görülmektedir. Bu olgularda görülen çok küçük dermoglifik bulgulara dayanarak, yaşla ilişkili Down sendromunun çok önemli nedenlerinin birisinin, sekonder kromozom ayrılamaması ile ortaya çıkan parental mozaizim olduğu düşünülmektedir(Başaran, 2003).

1.2.1.2. Monozomi 21, Monozomi 21q⁻ ve r(21) Sendromu

İlk kez 1964 yılında Lejeune ve çalışma arkadaşlarınınca bildirilen bu sendromdaki temel kusur, Down sendromunun aksine 21 numaralı kromozomun ya tamamen ya da kısmen eksilmesidir. Bu parsiyel delesyon doğrudan doğruya olduğu gibi (21q⁻) yüzükleşerek

de olur. Onun için bu sendroma antimongolizmde denmektedir ki fenotipik belirtiler de mongolizmdekilerin karşıtıdır: Mikrosefali, hipertoni, mental gerilik, antimongoloid palpebra yarığı, büyük kulak, çıkıntılı burun kökü vb. Bu hastalığın tanısını koyabilmek için kromozom analizi, hatta “high resolution bantlama” yöntemi kullanılması kesinlikle gereklidir (Başaran, 2003).

Parsiyel monozomi 21 ya da diğer adıyla del 21q olgularının büyük çoğunluğunda delesyonun çok farklı büyüklükte olduğu görülür ve segmentlerin farklı haplo yetmezlik dağılımı fenotipik farklılıkların gözlenmesinde neden olur. Özellikle APP (amyloid precursor protein) ve SOD I (superoxide dismutase-1) lokuslerinin bulunduğu segment kaybı çok önemlidir. Olguların büyük çoğunluğu sporadiktir, fakat bazıları parental dengeli translokasyonlardan oluşmaktadır. Bu olguların büyük çoğunluğu yaşamlarının ilk yılında ölmektedir(Başaran, 2003).

1.2.2. Kromozom 21 Üzerinde Bulunan Genler

Trizomi 21 varlığında üçüncü kez tekrarlanan genler, genin kendisini normalden fazla ifade etmesine ve sonuçta bazı maddelerin gerektiğinden fazla üretilmesine neden olur. Pek çok gen için "kendini fazla ifade etme" sorun yaratmaz ancak 21. kromozom ve taşıdığı genler için durum farklıdır. Yıllardır devam eden çalışmalar Down sendromunun ortaya çıkması için 21 numaralı kromozomun tamamının değil sadece bir kısmının 3 adet bulunmasının yeterli olduğunu ortaya koymuştur. Buna Down sendromu için kritik bölge adı verilir. Bu kritik bölge tek bir alan değildir, birbirinden ayrı noktadaki genleri ifade eder. 21 numaralı kromozomun yaklaşık 200-250 geni taşıdığı sanılmaktadır ve taşıdığı gen sayısına göre bakıldığında insandaki en küçük kromozomdur. Bununla birlikte sadece 20-50 genin Down sendromu gelişiminde rol aldığı tahmin edilmektedir (Mumcu,2010).

Down sendromu gelişiminde yer aldığı tahmin edilen genler şunlardır;

Superoxide Dismutase (SOD1): Fazlalığı erken yaşlanma ve bağışıklık sistemi bozukluklarına neden oluyor olabilir. COL6A1: Fazlalığı kalp anomalilerine neden oluyor olabilir.

ETS2: Fazlalığı iskelet anomalilerine ve lösemiye neden oluyor olabilir.

CAF1A: Fazlalığı DNA sentezinde hatalara neden oluyor olabilir.

Cystathione Beta Synthase (CBS): Fazlalığı DNA metabolizması ve tamirinde bozulmalara neden oluyor olabilir.

DYRK: Fazlalığı zeka geriliğinin nedeni olabilir.

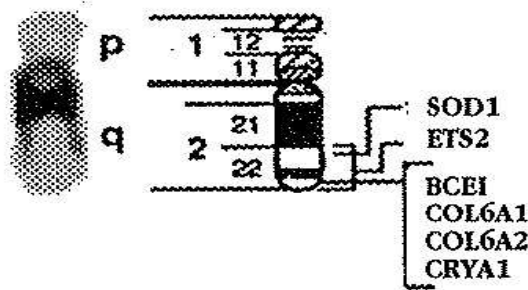
CRYA1: Fazlalığı kataraktların nedeni olabilir.

GART: Fazlalığı DNA sentezi ve tamirinde hatalara neden oluyor olabilir.

IFNAR: Fazlalığı bağışıklık sisteminde bozulmalara neden olabilir (Mumcu,2010) .

Bunlar dışında APP, GLUR5, S100B, TAM, PFKL adı verilen genlerin de Down sendromu ile ilgili olabileceği düşünülmektedir. Ancak bugüne kadar hiçbir genin Down Sendromu ile olan ilişkisi kanıtlanamamıştır (Mumcu,2010).

Down sendromu ile ilgili olarak bir başka dikkat çekici nokta ise bu hastalığa sahip bireylerde çok değişik anomalilerin görülebilmesidir. Bireylerin zeka düzeyleri ve öğrenme kapasiteleri değişkendir. Bazı bebeklerde kalp anomalileri görülürken bazılarında görülmez, bazılarında epilepsi, hipotiroidi, celiac hastalığı gibi hastalıklar ortaya çıkarken bazılarında çıkmaz. Bu değişik durumların olası nedenlerinden birincisi hangi genin 3 kere tekrarladığı olabilir. Daha önce belirtildiği gibi genler allel adı verilen değişik şekillerde bulunurlar. Genin kendini fazla ifade etmesi ile ilgili olarak ortaya çıkan bulgular hangi allelin fazla olduğuna bağlı olarak değişebilir. Bir diğer neden ise penetrans olarak adlandırılan durum olabilir. Eğer bir allel bazı bireylerde belirli bir durumun görülmesine neden oluyor diğerlerinde olmuyorsa buna değişken penetrans adı verilir ve değişken penetrans trizomi 21'deki durumu açıklayabilir.



Şekil 1.16. G-bantlama ile elde edilen insan 21 numaralı metefaz kromozomu ve İdiyogram (Başaran, 2003).

2. LİTERATÜR ÖZETLERİ

Down sendromu (trisomy 21) 21. kromozomun tamamının veya bir parçasının ekstrasından bulunmasının sebep olduğu kromozomal bir hastalık olup, canlı doğumların 1/700'inde rastlanmaktadır. Doğum sonrasında görülen mental ve gelişim bozuklukları ve atipik yüz yapısı gibi karakteristik anomalilerle tanımlanan Down sendromu, sitogenetik karyotip analiziyle kesin olarak doğrulanmakta ve sendroma neden olan kromozomal anomali tespit edilmektedir. Down sendromu ön tanısı almış ya da tanısı konmuş olgularla ilgili ülkemizde ve yurtdışında çok sayıda çalışma yapılmış ve çalışmalar sonucu çeşitli kromozomal düzensizlikler ortaya konmuştur.

Down Sendromu, dismorfik yüz özellikleri ve farklı özel fenotipi ile klinik olarak kolay tanımlanabilir olmasına rağmen, tanının olguların tümünde konulamadığı, bu nedenle kesin tanı için kromozom analizinin gerekli olduğu bildirilmiştir (Lüleci ve ark., 1986, Cortes ve ark., 1990, Devlin ve ark., 2004, Catovic ve ark., 2005).

Down sendromlu hastaların bazı klinik tanısında görülen farklılıklarda olduğu gibi bu hastaların genetik kökenlerinde de (sitogenetik çeşitlilik) farklılıklar bulunmaktadır. Örneğin yapılan bir çalışmada Down sendromlu olguların 432'sinde (%94.7) regüler tip, 14'ünde (%3.1) translokasyon tipi [8 t(14;21), 6 t(21;21)], 4'ünde (%0.9) mozaik tipi ve 6'sında (%1.3) inv(9) ile asosiye regüler tip Down sendromu karyotipi saptanmıştır (Alp ve ark., 2007). Ayrıca 14/21 tipi translokasyonların 4'ünün (%50.0) ailesel, diğer 14/21 ve 21/21 tipi translokasyonların de novo olduğu aynı kişiler tarafından belirlenmiştir. Benzer şekilde Yüce ve ark. (2006) yaptıkları çalışmalarında 167 olguyu değerlendirmeye almışlardır. Olguların 162'si (%97) klasik tip Down sendromu gösterirken, 2 olgu (%1.1) mozaik, 3 olgu (%1.7) translokasyon tipi Down sendromudur. Translokasyon tipi 1 olguda t(21;21), 2 olguda t(14;21) şeklindedir. Ortalama anne yaşı 34.04 olarak bildirilmiştir. Olguların %51.5 (86) yaş <35 ve %48.5'inde >35 olarak tespit edilmiştir. Chandra ve ark. (2010) 1020 Down sendromlu olgu üzerinde çalışmışlardır. Bu olguların 855'inde (%83.82) regüler tip trizomi 21, 51'inde translokasyon tipi trizomi 21(%5), 110 olguda (%10.78) mozaik tip trizomi 21 ve 4 olguda (%0.39) ise trizomi 21'e başka kromozomal anomalilerin de eşlik ettiği bulgulara rastlamışlardır. Literatürde bu konuyla ilgili benzer sonuçlar alınmış çok

sayıda çalışma rapor edilmiştir (Owens ve ark., 1983; Verma ve ark., 1990, Cortes ve ark., 1990, Mutton ve ark., 1993, Türkyılmaz ve ark., 1997, Kılıç ve ark., 2003, Solak ve ark., 2007, Jyothy ve ark., 2002, Catovic ve ark., 2005). Down sendromunda klinik bulgular ve sitogenetik bulguları inceleyen bu çalışmalar ile sitogenetik analizin Down sendromunun kesin ve erken tanısında ki önemi ve Down sendromunun farklı tiplerindeki kromozomal anomalilerin erken teşhisinin genetik danışmada ki önemi bir kez daha vurgulanmaktadır.

Down sendromu tanısı konan bireylerin cinsiyetleri değişkenlik göstermektedir. Bununla birlikte Down sendromunun erkek çocuklarda daha sık görüldüğü rapor edilmektedir (Kovaleva ve ark., 2001). Alp ve ark. (2007) 456 olguda cinsiyet oranını 1.64: 1 (283 erkek:173 kız), anne yaş ortalamasını 34.25 ± 7.76 ve translokasyon tipi Down sendromu olguların anne yaş ortalamasını da 28.29 ± 5.0 olarak saptamışken, Kılıç ve ark. (2003) yaptıkları çalışmada olguların 33'ünün erkek (%64.7), 18'inin kız (%35.2), hastaların yaş ortalamasının da $1.9 \pm 3(0-16)$ olduğunu rapor etmişlerdir. Türkyılmaz ve ark. (1997) yaptıkları çalışmada Down sendromu tanısı konan olguların 9'unun (%39) kız, 14'ünün (%61) erkek olduğunu bildirilmiştir. Ülkemizde yapılan bazı çalışmalarda (Tayşi ve ark., 1974, Sunguroğlu ve ark.,1989, Demirel ve ark., 1998) erkek olguların kızlardan daha fazla görülmesi erkek çocukların toplumumuzda daha fazla ilgi çekmesinden ve ailelerin kız çocuklarını çevreden saklama isteklerinden olabileceği gibi, dış kaynaklı birçok çalışmada (Cortes ve ark.,1990, Jyothy ve ark., 2001, Kovaleva ve ark., 2001, Devlin ve ark., 2004, Kava ve ark., 2004, Ahmed ve ark., 2005, Catovic ve ark., 2005, Yüce ve ark., 2006) saptanan erkek olguların fazlalığı göz önüne alındığında bizim toplumumuza özgü olmayabileceği ve genel bir bulguya uygunluğundan söz edilebilir.

Down sendromu tanısı ya da öntanısı alan bireylerin klinik bulguları hastalar arasında değişkenlik göstermektedir. Literatürde en sık görülen klinik bulgular konjenital kalp hastalığı, hipotoni, mongoloid yüz, epikantal kıvrım, simian çizgisi, basık burun kökü, kısa ve geniş boyun ve mikrosefali olarak bildirilmiştir (Türkyılmaz ve ark., 1996, Ahmed ve ark., 2005, Catovic ve ark., 2005, Yüksel ve ark., 2006, Azman ve ark., 2007). Down sendromuna özgü bazı anomaliler normal karyotipli ya da farklı

anomalileri olan bireylerde de görülebilir. Bu nedenle Down sendromunun kesin tanısında klinik bulgular yetersiz kalmakta mutlaka sitogenetik analiz gerekmektedir. Aynı şekilde Devlin ve ark.(2004) 208 Down sendromlu postnatal olgu üzerinde yaptıkları sitogenetik çalışma sonucunda 197 olguda regüler tip trizomi 21, 3 olguda translokasyon tip trizomi 21 ve 8 olguda ise mozaik tip trizomi 21 olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca 268 Down sendromu ön tanısı alan olgu üzerinde yaptıkları çalışma sonucunda olguların 185'inin Down sendromlu, 77'sinin normal karyotipli 6'sının da başka anomalilere sahip olduğunu bildirmişlerdir. Down sendromlu olguların klinik bulguları arasında epikantal kıvrım, simian çizgisi, çıkıntılı dil, hipotoni, parebral çatlaklar ve sandal gap olduğunu fakat bu altı klinik bulguyu taşıyan normal karyotipli olguların da bulunduğu bildirilmiştir. Bu özelliklerinden dolayı Down sendromu öntanısı alan olguların ebeveynlerinde gereksiz stres olmuştur(Devlin ve ark., 2004).

Trizomiler gametogenez sırasında oluşan mayotik nondisjunction sonucu meydana gelir. Literatürde Down sendromunun başlıca nedeninin nondisjunction olduğunu ve buna bağlı olarak da hastaların büyük çoğunluğunda klasik trizomi 21 görüldüğü bildirilmiştir (Jyoth ve ark., 2002, Yüce ve ark., 2006, Biselli ve ark., 2008). Yüksel ve ark. (2006) yaptıkları çalışmada Down sendromlu olguların bir tanesinde ailede kalıtsal hastalık öyküsü bildirilmiş ve de olguların 37' sinde (%84.1) ileri anne yaşı saptamışlardır.

3. MATERYAL VE METOD

3.1. MATERYAL

3.1.1. KULLANILAN CİHAZLAR

- Etüv
- Laminar hava akımlı kabin
- Santrifüj
- Vorteks
- Hassas terazi
- Buzdolabı
- Otomatik pipet
- Distile su cihazı

3.1.2. KULLANILAN KİMYASAL MADDELER

- RPMI 1640
- Fetal Calf Serum
- Penicilin
- L-Glutamin
- Pyto
- Toz Tripsin
- Methotraxte
- Brdu
- Colcemid
- Giemsa
- Asetik Asit
- Methanol
- KCL
- NA₂HPO₄
- KH₂PO₄

3.2. KULLANILAN OLGU ÖRNEKLERİ

Bu çalışmada toplam 20 hastadan kan örneği alınmış, bu hastalardan 2 tanesi kargoda yaşanan olumsuzluklar nedeni ile kültüre alınamamıştır. Hastalara ait örnekler olarak Tokat (6) ve Ankara' dan (14) toplanmıştır. Sitogenetik analize alınan hastaların 6'sı yeni doğan, 7'si 1-5 yaş grubu ve 5 tanesi ise 6-13 yaş grubundadır. Sitogenetik analizi yapılan hastaların 12'si kadın, 6'sı erkektir.

3.2.METOD

3.2.1. Kullanılan Solüsyonlar ve Solüsyonların Hazırlanması

Hipotonik solüsyon: 0.075 M KCl olacak şekilde 0.56 gr KCl tartılarak 100 ml bidistile suda çözüldü, kullanılacağı saatten en az 1 saat önce hazırlanarak 37 °C'lik etüve konuldu.

Fiksatif solüsyonu: 1 birim glasiyal asetik asit üzerine 3 birim metanol ilave edilerek iyice karıştırıldı. Karışım kullanılmadan önce ve çalışma aralarında -8 °C 'de saklandı. Her deney aşamasında taze olarak hazırlandı. Bu solüsyonun taze olması içindeki alkolün uçuculuğu açısından önemlidir.

Söranson tamponu: A solüsyonu: 9.93 gr KH₂PO₄ 1000 ml bidistile suda çözüldü.

B solüsyonu: 9.1 gr Na₂HPO₄ 1000 ml bidistile suda çözüldü.

Balon jöjeye A solüsyonundan alınarak pH 6.8'e gelinceye kadar B solüsyonu eklenerek 2 solüsyon karıştırıldı (Ortalama olarak 53 ml A solüsyonu 47 ml B solüsyonu ile karıştırılarak hazırlanır).

Trypsin solüsyonu: Çözülerek 37 °C'ye kaldırılan söranson tampon solüsyonundan 80 ml alınarak şaleyeye kondu. Bu solüsyonun içerisine 0.04 gr Trypsin eklenerek solüsyon hazırlandı.

Giemsa boya solüsyonu: 5 ml Giemsa lösing, 80 ml pH 6,8'lik söransan tamponu içine ilave edilerek 85 ml'ye tamamlandı.

Zenginleştirilmiş Besiyerinin Hazırlanması: Besiyerlerinde hücreleri üretebilmek için L-Glutaminli besiyerleri kullanıldı. Ayrıca besiyerini mikrobiyal kontaminasyondan korumak için Penisilin ve Streptomisin gibi antibiyotikler, besin değerini arttırmak için Fetal Calf Serum ile hücreleri bölünmek için indükleyen Fitohemaglutinin besi ortamı içerisine konuldu.

Oluşturulan besiyerinin içeriği ve miktarları şu şekilde ayarlanmıştır;

RPMI 1640 Medium with hepes, 75 ml

Fetal Calf Serum, 20 ml

Fitohemaglutinin Solüsyon, 1,5 ml

Penisilin/Streptomisin, 1,5 ml

L- Glutamin, 1,5 ml

Fitohemaglutinin solüsyonunun hazırlanması: Ticari olarak gelen 5 ml'lik fitohemaglutinin şişesi içerisine 5 ml RPMI 1640 Medium enjekte edilerek sulandırıldı. Çözünen solüsyondan enjektörlere 1,5 ml çekilerek -8 °C' de saklandı.

Fetal Calf Serumun hazırlanması: -20 °C'de saklanması gereken Fetal calf serum çözdürüldükten sonra enjektörlere 20 ml çekilerek tekrar -20 °C 'de saklandı. Kültür ortamını zenginleştirmek ve başarı ortamını artırmak kullanılan fetal calf serum kullanılacağı zaman oda ısısında çözünmesi sağlanarak hazır hale getirildi.

Penisilin hazırlanması: Enjektörlere 1,5 ml olacak şekilde çekilerek -20 °C'de saklandı. Doku kültürü ortamına, işlemler sırasında herhangi bir mikrobik bulaşmayı önlemek amacıyla kullanılan antibiyotik kullanılacağı zaman oda ısısında çözünmesi sağlanarak hazır hale getirildi.

L-Glutamin hazırlanması: Enjektörlere 1,5 ml olacak şekilde çekilen L-Glutamin -20 °C 'de saklandı. Kullanılacağı zaman oda ısısında çözünmesi sağlanarak hazır hale getirildi. L- Glutamin çok stabil olmadığı için kullanmadan hemen önce besiyerine katılması tercih edildi.

Methotraksite solüsyonunun hazırlanması: 5 mg MTX 1 ml RPMI'da eritildi. Hazırlanan bu solüsyon -8°C 'de saklandı. Bu solüsyondan 1 ml alınarak üzerine 9 ml RPMI eklendi ve çalışmalar için hazırlanan bu solüsyon kullanıldı. Hazırlanan her iki solüsyonun konulduğu falkon tüpler ışıktan korumak amacıyla alüminyum folyo ile kaplandı.

Bromodexyurudine solüsyonunun hazırlanması: 3 mg BrdU 10 ml RPMI 'da eritildi. Hazırlanan bu solüsyon -8°C 'de saklandı. Solüsyonun konulduğu falkon tüpler ışıktan korumak amacıyla alüminyum folyo ile kaplandı.

3.2.2. Test Prosedürü

Bu çalışmada konvansiyonel yöntem ve methotrexate/high resolution yöntem olmak üzere iki farklı yöntem kullanıldı.

3.2.2.1. Konvansiyonel Yöntem

Lenfositlerin Saflaştırılması

Yaklaşık 4-5 ml periferik kan steril ortamda steril pipet ile tüpe aktarıldı. Üzerine 2 ml RPMI 1640 ekleyerek kan pipetaj edildi. Tüpe alınan kan 2000 RPM'da 7 dk santrifüj edildi. Santrifüj edilen kanın üstte kalan serum kısmı atıldı. Beyaz kısım 'lenfositler' pastör pipeti yardımıyla alındı ve içinde 6 ml zenginleştirilmiş besiyeri (RPMI 1640+ Fetal Calf Serum+ Penislin+ L-Glutamin+Pythohemaglutinin) bulunan steril tüplere aktarıldı.

Hücre Kültürü

Lenfositler içinde 6 ml zenginleştirilmiş besiyeri (RPMI+Penicilin+ L-Glutamin+, Phyto-Hemaglutunin+ Fetal Calf Serum, Moorhead ve arkadaşları (1960)) bulunan ağız steril tüplere aktarıldıktan sonra üzerine yeni doğan örnekleri için 13 damla (yaklaşık 0,5 ml), yetişkin örnekleri için ise 15 damla (0,6-0,8 ml) olacak şekilde ekim yapıldı.

Daha sonra bu tüpler ağızları sıkıca kapatılarak 37 °C'lik etüvde 72 saat inkübe edildi. Hücreler günde bir kez tüpleri yavaşça alt üst etmek suretiyle karıştırıldı.

Hücrelerin elde edilmesi

Kromozom preparasyonu için modifiye Moorhead tekniği (1960) uygulandı. Üreme için 37 °C'deki etüve bırakılan kültür tüplerine, kromozom eldesinden 2 saat önce yani 70. saatte 10 µg/ml olacak şekilde 2 damla (2 ml'lik enjektör kullanıldı) kolşisin ilave edildi ve hafifçe karıştırıldı, tekrar 1 saat 15 dakika süre ile 37 °C'ye ayarlanmış etüve kaldırıldı. Bu süre sonunda etüvden çıkarılan tüpler 2000 rpm'de 15 dakika santrifüj edildi. Süpernatant kısmı pastör pipeti ile atıldı. Çökelti ile üzerinde kalan 0.5 ml'lik sıvı vortekslendi ve bu sırada üzerine yavaşça hipotonik (0.075 M KCl) solüsyon toplam hacim 6 ml olana kadar eklendi. Tüpler 20 dakika 37 °C etüvde bekletildi. Süre bitiminde 2000 rpm'de 15 dakika santrifüj edildi, pastör pipeti ile süpernatant kısmı atıldı. Çökelti ile üzerinde kalan 0.5 ml'lik sıvı vortekslendi ve vorteksleme işlemi devam ederken tüplerin yan duvarından yavaşça fiksatif toplam hacim 6 ml olana kadar ilave edildi. Fiksatif eklendikten sonra tüpler yaklaşık 1 gün ya da en az 1 saat süreyle -8 °C'de bekletildi. Bu bekleme basamağı sadece ilk fiksatifle yıkama için önemlidir, diğer fiksatif aşamalarında bekleme yapılmadan renk şeffaf olana kadar yıkama işlemine devam edildi. Rengi açılan tüplerin üzerinden 4 ml süpernatant kısmı atıldı ve kalan 2 ml kısım yayma için kullanıldı. Kalan miktar yavaş yavaş pipetaj yapılarak karıştırıldı.

Preperat Hazırlama İşlemi

Şale içerisine yerleştirilen lamların üzerine asetik asit dökülerek bir gün bekletildi. Ertesi gün asetik asit boşaltılarak şale içerisine alkol konuldu. Bir gün de alkolde bekletilen lamlar silinerek lam kutusuna dizilerek -20 °C de bir gece bekletildi. Yayma sırasında lamlar -20 °C den alındı, temiz bir bezle silip nefes yardımıyla lamın üzerinde buğu tabakası oluşması sağlandı. Fiksatifle yıkanmış kan santrifüjde çevrildi ve tüpte kalacak olan fiksatif solüsyon miktarı tüpün dibinde kalan hücre miktarına göre ayarlanarak (yaklaşık1/3) fiksatif yaklaşık 1 ml kalana kadar atıldı. Ayrıca tüpteki

fiksatafi pipetle atarken pipetin içine hücrelerin çekilmemesine özen gösterildi. 45 derecelik açı ile 20 cm yukarıdan pastör pipeti ile soğuk ıslak lam üzerine bırakıldı. Yayma işlemi yapılan preparatlar, kapalı sistem etüvde 37 °C'de 1 gün veya oda ısısında 1-2 gece bekletildi.

Giemsa Bantlama Tekniği

İşlem için modifiye Seabright boyama yöntemi (1972) kullanıldı. Mikroskop altında 10X'lik objektifle incelenen preparatlar için tripsinde bekletme süresi kromozomların kondansasyonuna göre ayarlandı. Kromozomlar koyu ve parlak görünümlü ise preparatlar 20-30 saniye, mat ve soluk ise 5 saniye şale içinde bulunan tripsin solüsyonuna daldırıldı. Kronometre ile saptanan süre boyunca çok yavaş bir tempoda çalkalandı ve süre bitiminde soğuk suda preparatlar çalkalandı. Bu aşama preparatlar soğuk sudan geçirilmediği zaman tripsin aktivasyonu devam ettiği için önemlidir. Daha sonra preparatlar Giemsa boya solüsyonunda 3-5 dakika bekletildi ve iki kez musluk suyunda çalkalanarak kurumaya bırakıldı.

Mikroskopik İnceleme ve Görüntülerin Elde Edilmesi

Olgulardan ve kontrollerden elde edilen preparatlardan ortalama en az 15-20 metafaz sayısal açıdan değerlendirilmeye çalışılmıştır. Kaliteli olan metafazlar 100X objektifle sayısal ve yapısal olarak incelenmiş ve Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalında Stereo Investigator sistemi kullanılarak görüntüler alınmıştır.

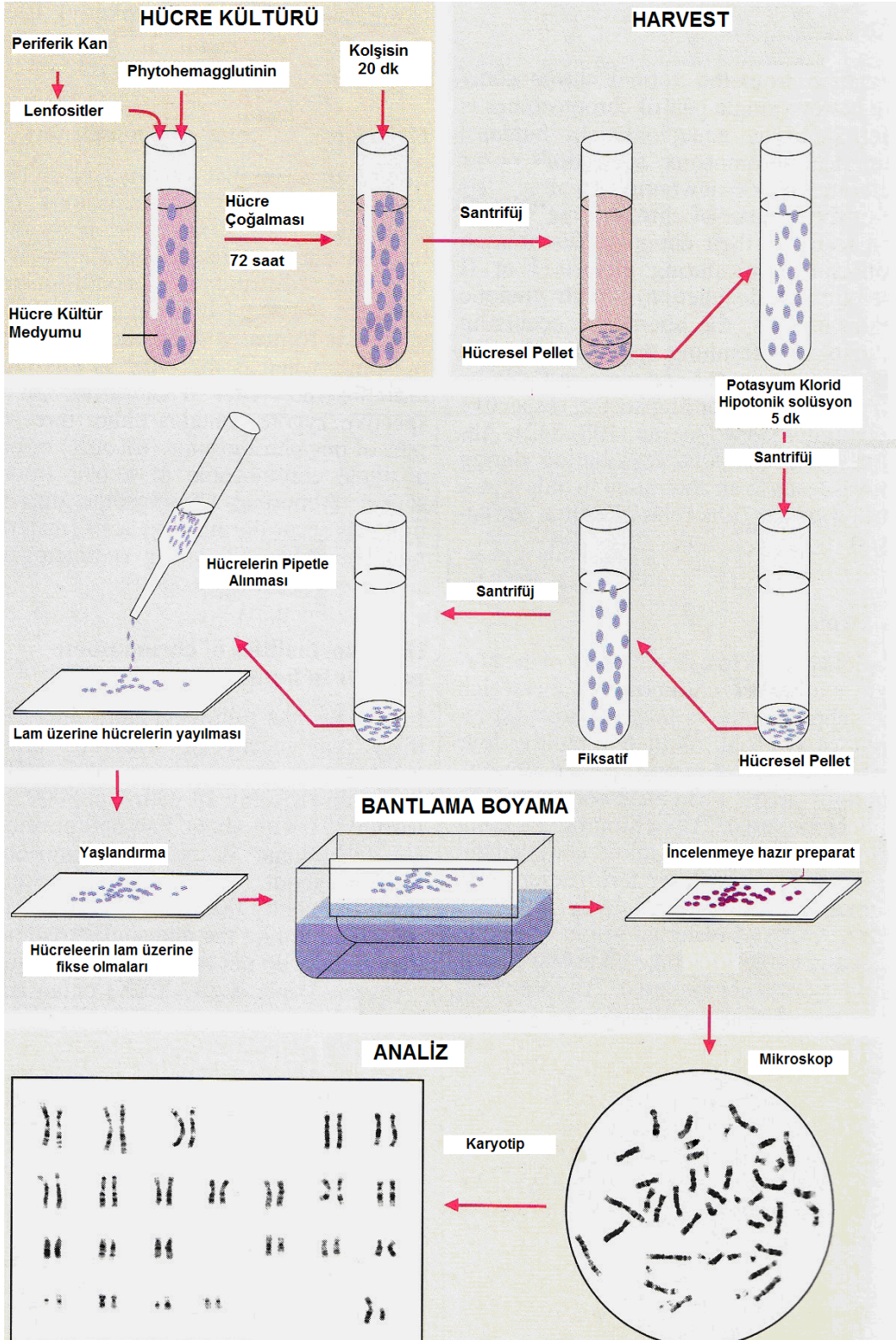
3.2.2.2. MTX (Methotraxte) Yöntemi

Bu yöntemde de kan alım, yıkama, ekim işlemleri konvansiyel yöntemle aynı şekilde uygulandı. Fakat; kan ekimi yapıldıktan yaklaşık 48 saat sonra etüvden steril ortama alınan kana MTX eklendi ve kan vortekste iyice karıştırıldı. MTX eklemesindeki amaç kromozom boylarının uzamasında etkili olmasıdır. MTX konulan kan 17 saat etüvde

bekletildi. 17 saatin sonunda yine steril ortamda kana 0.4 ml BrdU eklendi. Vorteksde 5 sn. çevrilen kan 5 h 15 min etüvde bekletildi.

72. saatin sonunda 2 damla Kolşisin damlatılan kan 20 dk. etüvde bekletildi. 20. dk sonunda kan 2000 rpm'da çevrildi ve üstte kalan sıvı kısım atıldı. Tüp sürekli vorteksde çevrilirken yaklaşık 6 ml hipotonik yavaş ve ritmik bir şekilde tüpe eklendi. Hipotonik eklenmiş kan 20 dk. etüvde bekletildi. 20.dk sonunda kan santrifüjde çevrildi ve yine üstte kalan kısmı atıldı. Tüp sürekli vorteksde çevrilirken 3 pasteur pipeti (yaklaşık 6 ml) fiksatif ilk pipet yavaş ve ritmik olmak üzere 2. ve 3. pipet hızlı olmak üzere kan fiksatifle muamele edildi. Fiksatifli kan çalışma acil ise en az 1 saat acil değilse 1 gün buzdolabında +4'te bekletildi. Böylece kan hücreleri fiksatifle yıkanmış oldu.

Bu aşamadan sonra konvansiyel yöntemde uygulanan basamaklar aynı şekilde uygulanarak kromozomlar görüntülendi.



Şekil 3.1 Periferik kandan kromozom eldesinin şematik gösterimi (Passarge E. Renkli Genetik Atlası. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, 2000: 179)

4. BULGULAR

Bu çalışmada 2009-2010 yıllarında farklı merkezlerden atipik yüz görünümü bulguları olan 20 olgu ile çalışma yapılmıştır. Hastaların bir kısmına ait kanların kargo ile farklı şehirden (Ankara) gelmesi nedeni ile 2 olguda sitogenetik analiz sonucu metafaz elde edilememiş, bu olgulardan tekrar kan alınması mümkün olmamıştır. Bu nedenle bu hastalara ait bulgular tabloya alınmamıştır. Sitogenetik analiz sonucu elde edilen 18 hastaya ait cinsiyet, yaş, aile öyküsü, ön tanı, muayene bulguları ve sitogenetik analiz sonuçları Çizelge 4.1 de toplu olarak görülmektedir. Olgu 1,5 ve 6 Tokat Karşıyaka Kadın-Doğum ve Çocuk Hastanesinden, olgu no 3 Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesinden, olgu no 7, 8, 9, 10 Ankara Düzen Laboratuvarından, kontrol grubu 2 hasta (olgu no 2 ve 4) rehabilitasyon merkezinden, diğer olgulara ait kan örnekleri ise Ankara GATA' dan gelmiştir (Çizelge 4.1).

Çizelge 4.1 de özetlendiği gibi, yapılan sitogenetik analiz sonuçlarına göre 16 olgudan 6 adedinin normal trizomi (47,XX+21 / 47,XY+21) olduğu, bir vakanın da Klinifelter (47,XXY) sendromu olduğu belirlenmiştir. Diğer olguların ise normal karyotipe sahip olduğu gözlemlenmiştir (Down sendromu ön tanısı konulmuş 18 hastadan kan alınmış ve 2 adet hemoliz olan örnek dışında kalan 16 hasta kanının sitogenetik analizi yapılmış, ayrıca 2 Down sendromu hasta da kontrol olarak kullanılmıştır).

Normalde bir hastaya rapor yazılması için en az 15-20 metafaz alanının değerlendirilmesi gereklidir. Hastalarımızın çoğunda bu oranda metafaz alanı analiz edilirken bazı hastalarda değerlendirilebilen alan sayısı bu oranın altında kalmıştır. Hasta no 14'te kromozom kalitesi iyi olmadığı için elde edilen birkaç alanda kromozomlar sayılmış, bir kromozomun fazlalığı anlaşılmış ancak hangi kromozomun fazla olduğu elde edilen kromozomun kalitesinden dolayı tespit edilmemiştir. Aile ile yapılan görüşmede fazla olan kromozomun bir X kromozomu olduğu ve buna bağlı hastanın Klinefelter sendromu tanısı aldığı öğrenilmiştir. Hasta no 12 ve 15' te ise değerlendirdiğimiz alan sayısı az olup, sonuçlar hastaların ilgili laboratuardan çıkan sonuçları ile karşılaştırılarak yazılmıştır (Çizelge 4.1).

Olgulardan 12' si kadın, diğerleri erkektir. Beş olgudan kan doğumu takip eden ilk günlerde (yenidoğan) döneminde alınmıştır (Olgu no 7, 8, 10, 12, 16). Özellikle bu dönem çocuklarda Down sendromu gibi hastalıkların tanısını hastaların muayenesi ile yapmak zordur. Bu dönemde en büyük yardımcı sitogenetik analizdir. Diğer olgular ise 1 ile 13 yaş arasında çeşitli yaşlardandır (Çizelge 4.1). Hastaların aile öykülerinde sadece 1 hastanın ailesinde Down sendromlu bir olgu olması dikkat çekicidir (Olgu no 4). Olgu no 12 ve 16' nın aile öyküsünde akrabalık bulunması dikkat çekicidir. Olgu no 16' da 33. haftada yapılan ultrason analizinde iskelet anomalisi olabileceği söylenmiş, ancak bu dönemde aile prenatal tanı yaptırmayı reddettiği için çocuk doğduktan sonra sitogenetik analize alınmıştır. Olgu no 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8 ve 10 klinik ve sitogenetik olarak Down sendromu tanısı olan olgulardır ve Çizelge 4.1 de görüldüğü gibi Down sendromuna ait tüm bulguları taşımaktadır. Olguların hemen hepsinde görülen simian çizgisi (Olgu no 1, 2, 3, 4, 6, 8), atipik yüz görünümü (Olgu no 3, 5, 8, 10) ve basık boyun yapısı dikkat çekicidir.

Down sendromunda atipik yüz karakterine ek olarak gözlenen ve en önemli ölüm nedeni olan kalp anomalileri olguların 4' ünde gözlenen önemli bir bulgudur (Olgu no 5, 6). Bu olgularda bizim elde ettiğimiz trizomi 21 sitogenetik analiz sonuçları hastaların tanılarını (atipik yüz, konjenital kalp hastalığı) desteklemiştir (Çizelge 4. 1).

Olgularda saptanan kromozomal anomalilerin hepsi kromozomun sayısal anomalileridir. Bu hastalarda klinik olarak bulunan bulguların kromozom harici bir hastalığa bağlı olması muhtemeldir.

Bu çalışmada Down sendromlu olguların ortalama anne yaşının (28.9 ± 4.8) olduğu ve Down sendromu tanısı alan olguların ortalama yaşının ise 1.4 ± 1.7 belirlenmiştir.

Çizelge 4.1. Analize alıp sonuç elde ettiğimiz olguların cinsiyet, yaş, aile öyküsü, ön tanı, muayene bulguları ve sitogenetik analiz sonuçları

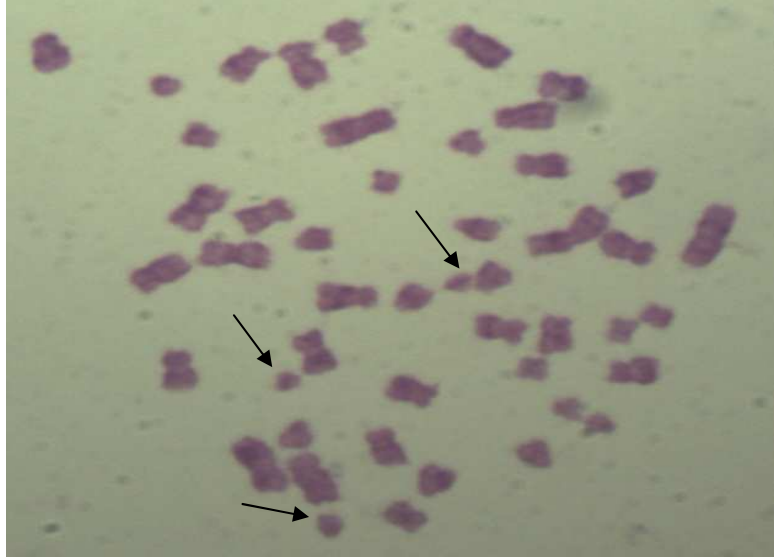
No	Cinsiyet (K/E)	Yaş	Aile Öyküsü	Ön Tanı	Anne Yaşı	Muayene Bulguları	Sitogenetik Sonuç
1.	K	5		Dismorfik yüz görünümü	28	Simian çizgisi, boy kısalığı, küçük basık burun	47, XX,+21
2.	K	5		Dismorfik yüz görünümü	29	Konjenital kalp hastalığı, simian çizgisi kısa, kısa ve geniş boyun, basık burun, zeka geriliği	47, XX,+21
3.	E	14 aylık		Dismorfik yüz görünümü	24	Simian çizgisi, atipik yüz görünümü, kısa ve geniş boyun	47, XY,+21
4.	K	7	Halasının oğlu Down sendromu, ailede 2-3 kişide zeka geriliği tarif ediliyor	Dismorfik yüz görünümü	33	Konjenital kalp hastalığı, simian çizgisi, kısa ve geniş boyun, zeka geriliği	47, XX,+21
5.	K	3	-	Dismorfik yüz görünümü	24	Mongoloid slant, burun kökü basıklığı, konjenital kalp hastalığı	47, XX,+21
6.	K	1	-	Dismorfik yüz görünümü	23	Konjenital kalp hastalığı, simian çizgisi, basık burun kökü	47, XX,+21
7.	K	0	-	Dismorfik yüz görünümü	33	-	46,XX
8.	K	0	-	Dismorfik yüz görünümü	27	Simian çizgisi, atipik yüz görünümü	47, XX,+21
9.	K	1	-	Dismorfik yüz görünümü	30	-	46,XX
10.	K	0	-	Dismorfik yüz görünümü	38	Atipik yüz görünümü	47,XX+21
11.	K	6	Akraba olmayan anne ve babanın tek çocuğu, aile öyküsünde özellik yok	Dismorfik yüz görünümü, kabızlık	-	Atipik yüz görünümü	46,XX
12.	K	0	Akraba olan ailenin tek çocuğu, aile öyküsünde özellik yok	Dismorfik yüz görünümü (küçük çene yapısı), el parmakları bitişik	-	Atipik yüz görünümü, çıkık göğüs	46,XX(**)

Çizelge 4.1' in Devamı

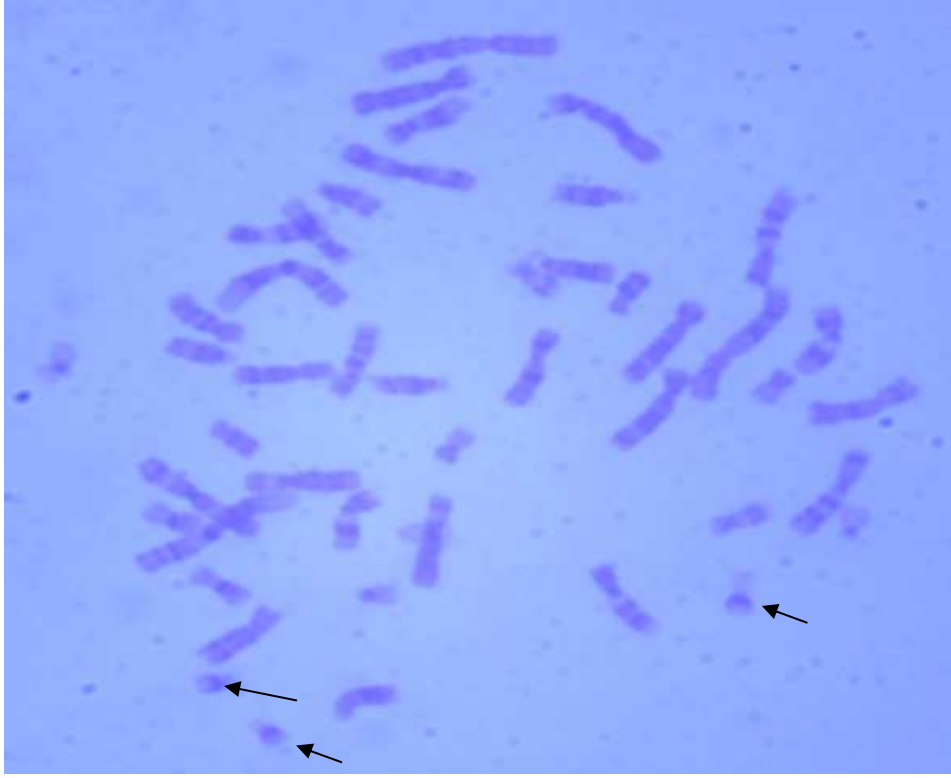
No	Cinsiyet (K/E)	Yaş	Aile Öyküsü	Ön Tanı	Anne Yaşı	Muayene Bulguları	Sitogenetik Sonuç
13.	E	13	Akrabalık olmayan ailenin 2 çocuğundan 2. çocuğu, aile öyküsünde özellik yok	Çok hareketli, boy kısa, okuma yazma problemi var	-	Kısa boy, zeka geriliği, hiperaktivite (?)	46,XY
14.	E	2	Akrabalık olmayan ailenin ikiz çocuğundan biri	İki kez sara nöbeti geçirmiş, 4 derece miyop gözlük kullanıyor. Hiperaktif	-	Hiperaktif, zeka geriliği, sara hastası	46, XXY(*)
15.	E	2	Akrabalık olmayan bir ailenin tek çocuğu, teyzesinin çocuğu sara hastası	Konuşmuyor, aşırı hareketli, 2 aylıkken sara nöbeti geçirmiş	-	Zeka geriliği, aşırı aktif, gelişme geriliği	46, XY(**)
16.	E	0	Aralarında akrabalık olan bir ailenin 2. Çocuğu	Aile 33. hafta hamile iken ultrasonda iskelet anomalisi bulguları ile gönderilmiş. Aile bu hafta yapılacak kordosentezi reddetmiş.	-	Zamanında normal olarak doğan bebekte burun kökü basık, göğüs dışı çıkık	46, XY
17.	E	6 aylık	Aralarında akrabalık olmayan bir ailenin 3. Çocuğu	Sağ elde simian hattı	-	Sağ elde simian hattı	46,XY
18.	K	6		Öğrenmede güçlük	-	Zeka geriliği, basık burun yapısı	46,XX

(*) Bu hastada kromozom analizimizde değerlendirilebilen birkaç alanda fazla bir kromozom olduğu saptanmış ancak hangi kromozomun fazla olduğu ortaya konamamıştır. Ancak aileden çocuğun sitogenetik analiz sonucunun 47, XXY (Klinefelter sendromu) olduğu öğrenilmiştir.

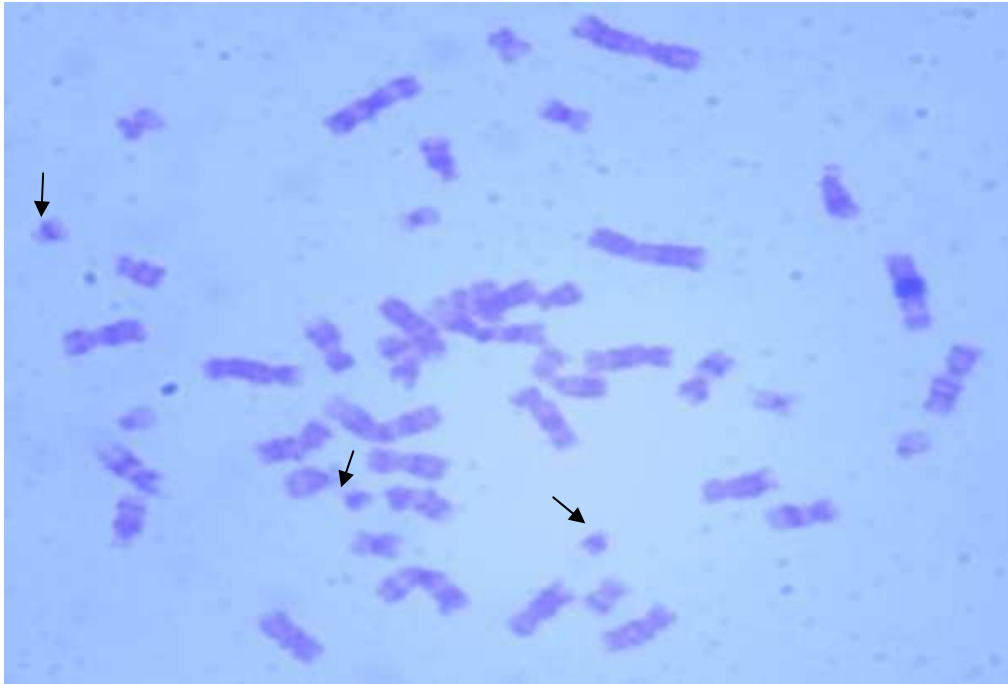
(**) Bu iki hastada analiz edilebilen metafaz alanı 3 metafaz alanının altındadır (Bir hastada sadece bir metafaz alanı, bir hastada iki metafaz alanı). Elde ettiğimiz sonuç hastaların ilgili laboratuarda aldıkları sitogenetik sonuç ile karşılaştırılarak yazılmıştır.



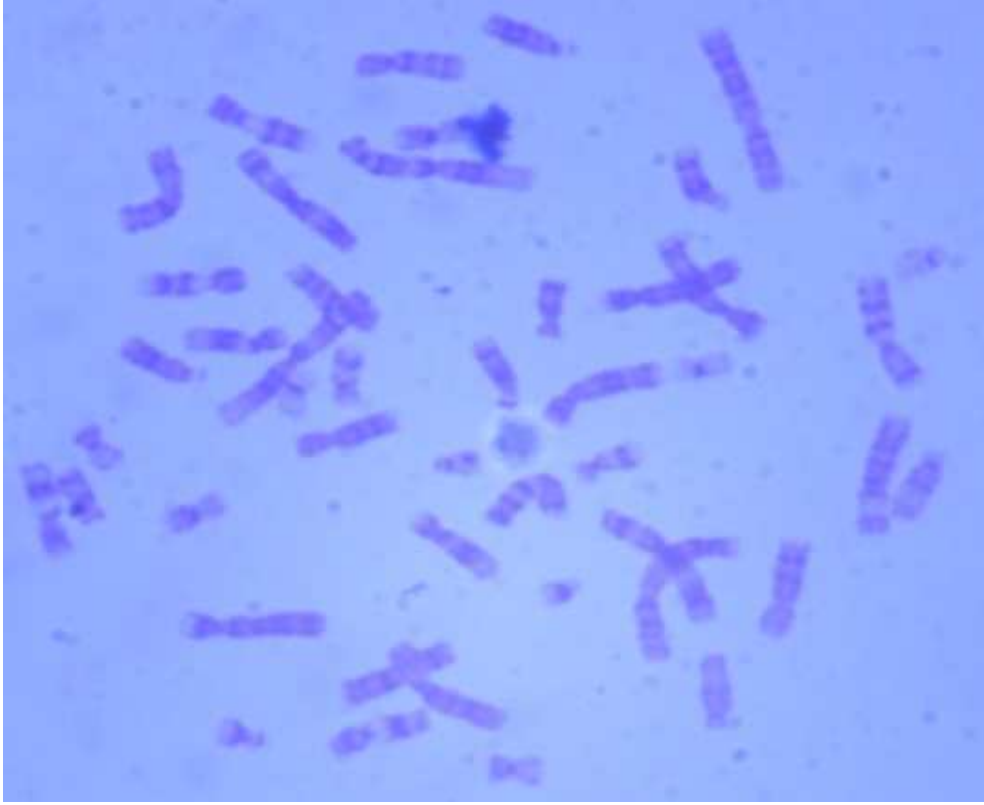
Şekil 4.1. 3 no'lu olguya ait bir metafaz alanı (47, XY+21) ve 21 no'lu kromozomlar



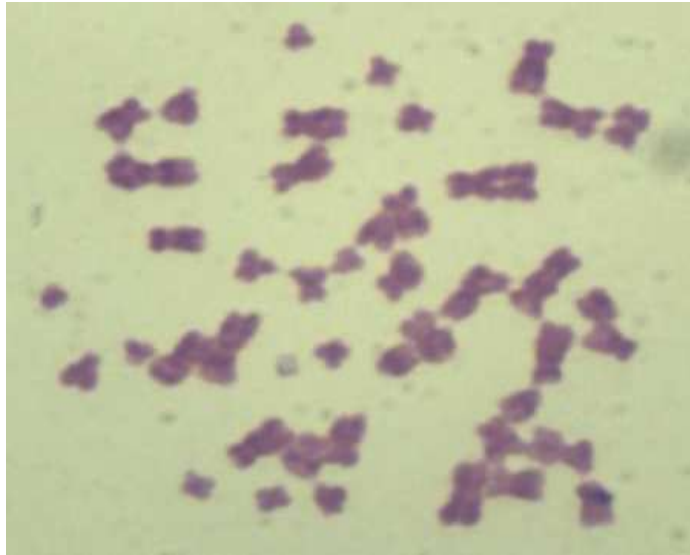
Şekil 4.2. 8 no'lu olguya ait bir metafaz alanı (47, XX+21) ve 21 no'lu kromozomlar



Şekil 4.3. 10 no' lu olguya ait bir metafaz alanı (47, XX+21) ve 21 no'lu kromozomlar



Şekil 4.4. 9 no'lu hastaya ait MTX yöntemi kullanılarak elde edilmiş bir metafaz alanı (46,XX)



Şekil 4.5. 11 no'lu hastaya ait konvansiyonel yöntem kullanılarak elde edilmiş bir metafaz alanı (46, XX)

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Down Sendromu, dismorfik yüz özellikleri ve farklı özel fenotipi ile klinik olarak kolay tanınabilir olmasına rağmen, yapılan çalışmalar olguların tümünde tanının doğru konulamadığı, bu nedenle kesin tanı için kromozom analizinin yapılması gerektiğini ortaya koymuştur (Azman ve ark., 2007). Down sendromu ön tanısı konan olguların bazılarında sitogenetik analiz sonucunda karyotiplerinin normal bulunması bu görüşü desteklemektedir. Örneğin Cortes ve ark. (1990) Down sendromu öntanıli olgularının %10.9'unun, Lüleci ve ark. (1990) %25'inin, Devlin ve ark. (2004) %22.4'ünün ve Catovic ve ark.(2005) % 13.4'ünün normal kromozom sayısına sahip olduğunu rapor etmişlerdir.

Literatüre paralel olarak bu çalışmada da 2 kontrol olgusu haricinde Down sendromu ön tanısı konan 16 olgunun sadece 6'sının (Olgu no 1, 3, 5, 6, 8, 10) sitogenetik analiz sonuçlarına göre Down sendromu olduğu doğrulanmıştır (Çizelge 4.1). Dolayısıyla bu çalışmada da Down sendromu ön tanısının kesin tanı için yeterli olmadığı mutlaka sitogenetik kromozom analizi yapılması gerekliliği görülmektedir. Çalışmamızda Down sendromu olduğu düşünülen bir olgunun (Olgu no 14) ise Klinefelter sendromu (47,XXY) tanısı konmuştur (Çizelge 4.1).

Down sendromunun regüler tip, Robertsonian translokasyonu ve mozaik olmak üzere 3 tipi bulunmaktadır ve yapılan sitogenetik analizler bu 3 Down sendromu tipinin değişik sıklıklarda görüldüğünü göstermiştir (Alp ve ark., 2007). Çok sayıda farklı araştırmacı tarafından 1983 -2007 yılları arasında Down sendromu ön tanısı almış bireylerde yapılan 17 sitogenetik çalışmada, regüler tip Down sendromu sıklığının ortalama % 93,3 (5075/5437) olduğu bildirilmiştir (Alp ve ark., 2007). Bu bulgulara paralel olarak bu çalışmada yapılan sitogenetik analizler sonucunda klinik ön tanısı doğrulanan 6 Down sendromlu olgunun tamamının regüler tip Down sendromu karyotipine sahip olduğu saptanmıştır (Çizelge 4.1). Bu çalışmada 6 olgunun tamamında regüler tip Down sendromu saptanmış olmasının olgu sayısının az olmasından kaynaklandığı şüphesizdir. Buna rağmen çalışmanın sonuçları daha önce yapılmış bir çok çalışmayla (Owens ve ark., 1983, Palka ve ark., 1990, Verma ve ark., 1991, Demirel ve ark., 1998,

Mokhtar ve ark., 2003, Devlin ve ark., 2004, Kava ve ark., 2004, Ahmed ve ark., 2005, Yüce ve ark., 2006, Alp ve ark., 2007, Azman ve ark., 2007) benzerlik göstermektedir.

Down sendromu için değerlendirmeye alınan 5 olgu yenidoğan döneminde olup toplam 4 olgu ilk yaşı içinde dir. Down sendromu tanısı alan olgularımızın yaş ortalaması 1.4 ± 1.7 dir. Elde edilen bulgu ülkemizde Down sendromu tanısının erken yaşlarda konabildiğini göstermektedir. Down sendromlu olguların erken tanısı bu olguların gerekli tedavi ve özel eğitime erken yaşlarda başlaması açısından çok önemlidir. Down sendromunun farklı tiplerindeki kromozomal anomalilerin erken teşhisinin genetik danışmadaki önemi de çok fazladır (Cortes ve ark., 1990). Tüm bunlar Down sendromunda sitogenetik analizin ne kadar önemli olduğunu göstermektedir.

Down sendromu tanısı ya da öntanısı alan bireylerin klinik bulguları hastalar arasında değişkenlik göstermektedir. Literatürde en sık görülen klinik bulgular konjenital kalp hastalığı, hipotoni, mongoloid yüz, epikantal kıvrım, simian çizgisi, basık burun kökü, kısa ve geniş boyun ve mikrosefali olarak bildirilmiştir (Türkyılmaz ve ark., 1996, Ahmed ve ark., 2005, Catovic ve ark., 2005, Yüksel ve ark., 2006, Azman ve ark., 2007). Literatüre uyumlu olarak Down sendromu tanısı konan olgularımızın tümünde (%100) atipik veya dismorfik yüz görünümü, 4' ünde simian çizgisi, 2' sinde konjenital kalp hastalığı bulunmaktadır (Çizelge 4.1). Buda bizim bulgularımızın daha önce ülkemizde yapılan çalışmaların sonuçlarıyla paralellik gösterdiğini ifade etmektedir.

Down sendromuna özgü bazı anomaliler normal karyotipli ya da farklı anomalileri olan bireylerde de görülebilir. Bu nedenle Down sendromunun kesin tanısında klinik bulgular yetersiz kalmakta mutlaka sitogenetik analiz gerekmektedir. Devlin ve ark.(2004) 208 Down sendromlu postnatal olgu üzerinde sitogenetik çalışma yapmış ve sonucunda 197 olguda regüler tip trizomi 21, 3 olguda translokasyon tip trizomi 21 ve 8 olguda ise mozaik tip trizomi 21 olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca 268 Down sendromu ön tanısı alan olgu üzerinde yaptıkları çalışma sonucunda olguların 185'inin Down sendromlu, 77'sinin normal karyotipli 6'sının da başka anomalilere sahip olduğunu bildirmişlerdir. Down sendromlu olguların klinik bulguları arasında epikantal kıvrım, simian çizgisi, çıkıntılı dil, hipotoni, parebral çatlaklar ve sandal gap olduğunu fakat bu

altı klinik bulguyu taşıyan normal karyotipli olguların da bulunduğu bildirilmiştir. Bu özelliklerinden dolayı Down sendromu öntanısı alan olguların ebeveynlerinde gereksiz stres olmuştur. Tüm bu verilere uyumlu bir örnek olarak olgu no 17 simian çizgisi nedeni ile refere edildiği halde, sitogenetik analiz sonucunun 46,XY bulunması nedeni ile Down sendromu olmadığı anlaşılmıştır (Çizelge 4.1).

Down sendromlu çocuğa sahip olma ihtimali hamilelik yaşı ile doğru orantılı olarak artmaktadır. Regüler tip DS' unun etiyojisinde ileri anne yaşının etkin bir faktör olduğu, sıklığın yaşın 35 den yukarı olması durumunda arttığı ifade edilmektedir (Sunguroğlu ve ark., 1989, Tıraş ve ark., 1992, Başaran ve ark., 1999, Nussbaum ve ark.,2001 ve Young ve ark., 2005). Bu çalışmada diğer çalışmalardan farklı olarak Down sendromlu olguların ortamları anne yaşının (28.9 ± 4.8) literatürdeki ortalamasının (>35) altında olduğu belirlenmiştir. Bu durum olgu sayısının az olmasıyla alakalı olabilir.

Down sendromunda en fazla gözlenen Solak ve ark, 2007, Biselli ve ark,2008) ve bizim olgularımızın da tümünü oluşturan regüler trizominin başlıca oluşum sebebi "nondisjunction" olduğu için bu tip vakalarda genellikle kalıtsallıktan bahsedilemez. Ancak serimizde yer alan (Olgu no 4) ailede (akraba çocuğu) bir Down sendromlu çocuk olması dikkat çekicidir (Çizelge 4.1). Buna rağmen ailedeki diğer Down sendromlu bireyin sitogenetik tipi bilinmediğinden burada görülen regüler trizominin kalıtsal olarak farklı bir mekanizmayla oluşup oluşmadığını söylemek mümkün değildir. Benzer olarak Yüksel ve ark., (2006) yaptıkları çalışmalarında da Down sendromlu olguların bir tanesinde ailede kalıtsal hastalık öyküsü bildirilmiştir.

Sonuç olarak, olguların Down sendromunun tüm kraniofasial ve fiziksel özelliklerini göstermese bile klinik olarak Down sendromu olduğundan şüphelenilen her olguda kesin tanının konulabilmesi için mutlaka sitogenetik çalışma yapılmalıdır.

6. KAYNAKÇA

- Ahmed I., Ghafoor T., Samore N.A., Chattha M.N., 2005. Down Syndrome: Clinical And Cytogenetic Analysis. *J Coll Physicians Surg Pak.*, 15: 426-429.
- al-Awadi S.A., Farag T.I., Teebi A.S., Naguib K.K., Sundareshan T.S., Murthy D.S., 1990. Down Syndrome in Kuwait. *Am J Med Genet Suppl.*, 7: 87-88.
- Alp, M.N., İsi, H., Aras, N., Oral, D., Çelik, A., Budak, T., 1996. Down Sendromu Öntanısı Konmuş Olgularda Sitogenetik Bulgular. *Dicle Tıp Dergisi*, 23: 39-47.
- Alp, M.N., Oral, D., Budak, T., 2007. Down Sendromu Ön Tanılı 584 Olguda Sitogenetik Çalışma. *Dicle Tıp Dergisi*, 34: 283-289
- Azman B.Z., Ankathil R., Siti Mariam I., Suhaida M.A., Norhashimah M., Tarmizi A.B., Nor Atifah M.A., Kannan T.P., Zilfalil B.A., 2007. Cytogenetic And Clinical Profile Of Down Syndrome İn Northeast Malaysia. *Singapore Med J.*, 48: 550-554.
- Başaran N., 2003. *Tıbbi Genetik*, syf. 140-172, 180-194, 249-257. Bursa, Güneş & Nobel Tıp Kitabevi, 8. Baskı.
- Biselli J., Goloni- Bertollo E., Ruiz M., Pavarino-Bertelli E., 2006. Cytogenetic of Down Syndrome Cases Seen By A General Genetics Outpatient Service İn Brazil.
- Catovic A., Kendic S., 2005. Cytogenetic Findings At Down Syndrome And Their Correlation With Clinical Findings. *Bosn J Basic Med Sci.*, 5: 61-67.
- Chandra N., Cyril C., Lakshminarayana P., Nallasivam P., Ramesh A., Gopinath P.M., Marimuthu K.M., 2010. Cytogenetic Evaluation of Down Syndrome: A Review of 1020 Referral Cases. *Int J Hum Genet*, 10: 87-93
- Cortes F., Alliende M., Curotto B., 1990. Cytogenetic Findings İn Patients With Down's Syndrome. *Rev Chil Pediatr.* 61: 313- 316.
- Demirel S., Acar A., Çora T., Durakbaşı H.G., Zamani A., Acar H., 1998. Trizomi 21 Olgularında Karyotip Dağılımı, Cinsiyet Oranı Ve Ebeveynlerin Akraba Evliliği Sıklığı. *S.Ü.Tıp Fak Derg.*, 14: 165-168.
- Devlin L., Morrison P.J., 2004. Accuracy Of The Clinical Diagnosis Of Down Syndrome. *Ulster Med J.*, 73: 4-12.
- Jyothy A., Kumar K.S., Mallikarjuna G.N., Rao V.B., Devi B.U., Sujatha M., Reddy PP., 2001. Parental Age And The Origin Of Extra Chromosome 21 İn Down Syndrome. *J Hum Genet.*, 46: 347-350.

- Jyothy A., Rao G.N., Kumar K.S., Babu V., Uma B., Reddy P.P., 2002. Translocation Down Syndrome. *Indian J Med Sci.*, 56: 122-126.
- Kava M.P., Tullu M.S., Muranjan M.N., Girisha K.M., 2004. Down Syndrome: Clinical Profile From India. *Arch Med Res.*, 35: 31-35.
- Kılıç M., Taşkın E., Aygün D.A., Özdiller Ş., 2003. Down Sendromlu 51 Vakanın Retrospektif Değerlendirilmesi. *Türkiye Klinik Pediatri Dergisi*, 12: 222-229
- Kovaleva N.V., Butomo I.V., Korablein A., 2001. Sex Ratio İn Down Syndrome. *Studies İn Patients With Confirmed Trisomy 21. Tsitol Genet.*, 35: 43-49.
- Lüleci G., Acar A., Bağcı G., 1986. Mongolizm Ön Tanısı İle Laboratuvarımıza Başvuran 32 Hastanın Sitogenetik Değerlendirilmesi. *Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi*, III: 251-255.
- Mokhtar M.M., Abd el-Aziz A.M., Nazmy N.A., Mahrous H.S., 2003. Cytogenetic Profile Of Down Syndrome İn Alexandria, Egypt. *East Mediterr Health J.*, 9: 37-44.
- Mumcu A., 2010. Down Sendromu. www.mumcu.com/html/article.php?sid=244 (12.08.2010)
- Murthy S.K., Malhotra A.K., Mani S., Shara M.E., Al- Rowaished E.E., Naveed S., Alkhayat A.I., Alali M.T., 2007. Incidence Of Down Syndrome İn Dubai, UAE. *Med Princ Pract.*, 16: 25-28.
- Mutton D., Alberman E., Hook E.B., 1996. Cytogenetic And Epidemiological Findings İn Down Syndrome, England And Wales 1989 To 1993. *National Down Syndrome Cytogenetic Register And The Association Of Clinical Cytogeneticists. J Med Genet*, 33: 387-394
- Nussbaum R.L., McInnes R.R., Willard H.F., 2001. *Thompson & Thompson Genetics in Medicine*, 6th edn. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 157-162.
- Owens J.R., Harris F., Walker S., McAllister E., West L., 1983. The Incidence Of Down's Syndrome Over A 19-Year Period With Special Reference To Maternal Age. *J Med Genet.* 20: 90-93.
- Palka G., Ciccotelli M., Sabatino G., Calabrese G., Franchi P.G., Stup- pia L., Parruti G., 1990. Cytogenetic Study Of The Heterochromatic Polymorphisms İn 100 Subjects With Downsyndrome And Their Parents. *Am J Med Genet Suppl.*, 7: 201-203. *Cilt: 34, Sayı: 4, (283-289) 289*
- Solak M., Fıstık T., Eser B., Söylemez Z., Yıldız H., Erdoğan M.Ö., Çağlayan S., Yüksel E., Şamlı H., Erdem S., 2007. Afyonkarahisar Kocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Tıbbi Genetik Laboratuvarı'nda Sitogenetik Analizler. *Osmangazi Tıp Dergisi*, 29: 93-99

- Sunguroğlu A., Balkan G.E., Bokesoy I., 1989. Down Sendromlu 106 Bireyin Sitogenetik Ve Ailevi Özelliklerinin Değerlendirilmesi. Optimal Tıp Dergisi, 2: 59-62.
- Tayşı K.,1974. Down Sendromu (Klinik, Sitogenetik ve Dermatogliflik Çalışma). Ankara, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakóltesi: Doçentlik Tezi
- Thompson&Thompson, 2005. Tıbbi Genetik, syf 135-179. Güneş Kitapevi, 6. Baskı.
- Tıraş M.B., Bilgin O., Yücebilgin S., Karadadař N., 1992. Down Sendromu Ve Anne Yaşı Arasındaki İlişki: Kliniđimizdeki Sonuçlar. Ege Tıp Dergisi, 31: 501-503.
- Türkyılmaz C., Koç E., Atalay Y., 1997. Down Sendromlu 23 olgunun Değerlendirilmesi. Türkiye Klinik Pediatri Dergisi, 6: 93-96
- Young I.D., 2005. Medical Genetics, Oxford: Oxford University Press, 52-56.
- Yüce H., Özbey Ü., Erol D., Etem E., Deveci ř.D., Ceylan G., Kara M., 2006. Fırat Üniversitesi Tıp Fakóltesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalında 2000-2005 Yılları Arasında Saptanan Down Sendromlu Olguların Periferik Kan Sitogenetik Analiz Sonuçları ve Klinik Deđerlendirmeleri. Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi (Tıp), 20; 289- 291.
- Yüksel ř., Savacı S., Yeřilada E., Gülbay G., Otlu G., Kaygusuzođlu E., 2006. 2004-2006 Dönemi Pediatrik Hastaların Periferik Kan Sitogenetik Sonuçlarının Değerlendirilmesi. İnönü Üniversitesi Tıp Fakóltesi Dergisi, 13: 253-256
- Verma I.C., Mathew S., Elango R., Shukla A., 1991. Cytogenetic Studies İn Down Syndrome. Indian Pediatr. 28: 991-996.

ÖZGEÇMİŞ**Kişisel Bilgiler**

Adı Soyadı: Seda OCAKLI

Doğum Tarihi ve Yer: 17.07.1981/ ELAZIĞ

Medeni Hali: Evli

Yabancı Dili: İngilizce

Telefon: 0 505 4917907

e-mail : sedasmz@hotmail.com

Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet Tarihi
Yüksek Lisans	GOP Üniversitesi	2010
Lisans	GOP Üniversitesi	2004
Lise	Balakgazi Lisesi	1999

İş Deneyimi

Yıl	Yer	Görev
2004-2008	Gen-Tıp Genetik Hastalıklar ve Prenatal Tanı Merkezi	Biyolog