

T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI
ANABİLİM DALI

**DOWN SENDROMLU ÇOCUKLARDA
GLUTATYON S- TRANSFERAZ POLİMORFİZMİ
VE FENOTİPİK ÇEŞİTLİLİK ÜZERİNE ETKİLERİ**

DR. BİRSEN BAYSAL

UZMANLIK TEZİ

İZMİR-2011

T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI
ANABİLİM DALI

**DOWN SENDROMLU ÇOCUKLARDA
GLUTATYON S- TRANSFERAZ POLİMORFİZMİ
VE FENOTİPİK ÇEŞİTLİLİK ÜZERİNE ETKİLERİ**

DR. BİRSEN BAYSAL

UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN ÖĞRETİM ÜYESİ

DOÇ. DR. ÖZLEM GİRAY BOZKAYA

TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın planlanması, yürütölmesi ve yazımında yardımını esirgemeyen, aynı zamanda manevi destek sağlayan değerli tez hocam Doç. Dr. Özlem Giray Bozkaya'ya, uzmanlık eğitimim süresince yetişmemde emeği geçen başta Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Hale Ören olmak üzere tüm değerli anabilim dalı öğretim üyelerine, uzmanlara, çalışma arkadaşlarıma; tezimin yürütölmesi sürecinde yardım ve desteklerini esirgemeyen Prof. Dr. Ayfer Ülgenalp'e, Dr. Sezin Canbek'e, Dr. Bülent Uyanık'a ve laborant Orkide Eyllener'e teşekkür ederim.

İyi ve kötü günlerimde hep yanımda olan, desteklerini esirgemeyen, emeklerinin karşılığını hiçbir zaman ödeyemeyeceğim aileme ve varlığı ile hayatımıza renk katan ailemizin minik üyesi Defne'ye...

Dr. Birsen BAYSAL

Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı

AraŐtırma Görevlisi

İzmir 2011

İÇİNDEKİLER

TABLO DİZİNİ.....	IV
GRAFİK DİZİNİ.....	V
RESİM DİZİNİ.....	VI
ŞEKİL DİZİNİ.....	VII
KISALTMALAR.....	VII
ÖZET	X
İNGİLİZCE ÖZET	XII
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1 Trizomi: Tanımı ve Sınıflandırılması.....	3
2.2 Trizomi 21 - Down Sendromu	4
2.2.1 Genel Bilgiler	4
2.2.2 Down Sendromu Tekrarlama Riski	8
2.2.3 Prenatal Tanı.....	8
2.2.4 Down Sendromunda Fenotipik Çeşitlilik	9
2.2.5 Down Sendromunda Genlerin Etkileşim Mekanizmaları.....	10
2.2.6 Down Sendromlu Hastaların Klinik Değerlendirmesinde Dismorfik Bulguların Belirlenmesi.....	16
2.2.7 Down Sendromunda Fenotipik Bulgular, Sistemik Tutululum/Genotip İlişkisi	21
2.2.8 Prognoz ve Mortalite Sebepleri	35
2.3 Ksenobiyotikler ve Metabolizmaları	36
2.3.1 Glutasyon ve Ksenobiyotik İlişkisi	37
2.3.2 Oksidatif Stres ve Etkileri.....	39
2.3.3 Glutasyon-S-Transferaz (GST) Enzimleri	40
2.3.4 GST Polimorfizminin Kaynağı.....	43
3. GEREÇ VE YÖNTEMLER	48
3.1 Çalışma Grupları	48
3.2 Çalışmada Kullanılan Araç ve Gereçler	48
3.3 Yöntem.....	49
3.3.1 DNA İzolasyonu	49

3.3.2 Polimeraz Zinir Reaksiyonu Analizi (PCR)	49
3.3.3 Revers Hibridizasyon ile Glutathion –S- Transferaz Polimorfizminin Araştırılması	51
3.4 Değerlendirme	53
4. İSTATİSTİK.....	56
5. BULGULAR	57
6. TARTIŞMA	70
7. KAYNAKLAR.....	79

TABLO DİZİNİ

Tablo 1: Down Sendromu gelişiminde yer aldığı tahmin edilen genler	16
Tablo 2: Grup I ve Grup II'deki çocukların GSTM1 polimorfizmi sıklıkları	59
Tablo 3: Grup I ve Grup II'deki çocukların GSTT1 polimorfizmi sıklıkları	59
Tablo 4: Grup I ve Grup II'deki çocukların GSTP1 kodon 105 polimorfizm sıklıkları	60
Tablo 5: Grup I ve Grup II'deki çocuklarda GSTP1 kodon 114 polimorfizm sıklıkları	60
Tablo 6: Grup III ve Grup IV'deki annelerin GSTM1 polimorfizmi sıklıkları	61
Tablo 7: Grup III ve Grup IV'deki annelerin GSTT1 polimorfizmi sıklıkları	61
Tablo 8: Grup III ve Grup IV'deki annelerde GSTP1 kodon 105 polimorfizm sıklıkları	62
Tablo 9: Grup III ve Grup IV'deki annelerde GSTP1 kodon 114 polimorfizm sıklıkları	62
Tablo 10: Kardiyak defekt görülen ve görülmeyen çocuklarda, GSTP1 kodon 105'de polimorfizm görülme sıklıkları	63
Tablo 11: Kardiyak defekt görülen ve görülmeyen çocuklarda, GSTP1 kodon 114'de polimorfizm görülme sıklıkları	63
Tablo 12: İşitme azlığı saptanan ve saptanmayan çocuklarda, GSTM1 polimorfizmi görülme oranları	64
Tablo 13: İşitme azlığı saptanan ve saptanmayan çocuklarda, GSTT1 polimorfizmi görülme oranları	64
Tablo 14: İşitme azlığı saptanan ve saptanmayan çocuklarda,	

GSTP1-105 polimorfizmi görülme oranları	65
Tablo 15: İşitme azlığı saptanan ve saptanmayan çocuklarda, GSTP1-114 polimorfizmi görülme oranları	65
Tablo 16: Göz muayenesinde patoloji saptanan ve saptanmayan çocuklarda, GSTM1 polimorfizmi görülme oranları	66
Tablo 17: Göz muayenesinde patoloji saptanan ve saptanmayan çocuklarda, GSTT1 polimorfizmi görülme oranları	66
Tablo 18: Göz muayenesinde patoloji saptanan ve saptanmayan çocuklarda, GSTP1 105 polimorfizmi görülme oranları.....	67
Tablo 19: Göz muayenesinde patoloji saptanan ve saptanmayan çocuklarda, GSTP1 114 polimorfizmi görülme oranları.....	67
Tablo 20: Hipotiroidi saptanan ve saptanmayan çocuklarda, GSTM1 polimorfizmi görülme oranları	68
Tablo 21: Hipotiroidi saptanan ve saptanmayan çocuklarda, GSTT1 polimorfizmi görülme oranları	68
Tablo 22: Hipotiroidi saptanan ve saptanmayan çocuklarda, GSTP1 105 polimorfizmi görülme oranları.....	69
Tablo 23: Hipotiroidi saptanan ve saptanmayan çocuklarda, GSTP1 114 polimorfizmi görülme oranları.....	69

GRAFİK DİZİNİ

Grafik 1: Down Sendromlu hastalarımızda görülen kardiyak defektlerin dağılımı.....	57
Grafik 2: Down Sendromlu hastalarımızda görülen göz patolojilerinin dağılımı.....	58

RESİM DİZİNİ

Resim 1-2: Down Sendromlu bir hastanın tipik yüz görünümü ve başka bir hastada hipotoni görünümü.....	17
Resim 3: Brushfield lekelerinin görünümleri	17
Resim 4: Kısa boyun görünümü	19
Resim 5: Dişlerde düzensizlik görünümü.....	19
Resim 6: Metakarp ve falankslarda kısalık, 5. Parmakta klinodaktili ve simian çizgisi	19
Resim 7: ‘Furrow oluğu’ ve 1-2. parmaklar arasında açıklık	20
Resim 8: Revers hibridizasyon ile işlemi sonrasında striplerin görünümleri	52

ŞEKİL DİZİNİ

Şekil 1: Trizomi 21'den sorumlu mayotik bölünme hatasının şeması	3
Şekil 2: Regüler trizomili bir hastanın sitogenetik görüntüsü	5
Şekil 3: Translokasyon tipi Down Sendromlu bir hastanın sitogenetik görüntüsü	6
Şekil 4: A: Mitoz bölünmenin basamakları, B: Mitozda oluşan ‘nondisjunction’a bağlı olarak, trizomik ve monozomik hücreler	7
Şekil 5: DS kritik bölgesi (DSCR)	11
Şekil 6: HSA21 üzerindeki DS kritik bölgesi (DSCR=DS critical region)	12
Şekil 7: Down Sendromu fenotipinin oluşum mekanizması	15
Şekil 8: Hiper/hipotelorizm, telekantus, filtrum uzunluğu gibi parametrelerin değerlendirilmesi için kullanılan yüz ölçüm cetvelleri.....	18
Şekil 9: Dermatoglikofik paternde değişiklikler	20
Şekil 10: Faz II reaksiyonlarda görev alan detoksifikasyon enzimleri	36
Şekil 11: Kimyasal toksisite yolu.....	37
Şekil 12: Glutasyon sentezi	38
Şekil 13: GST aracılığı ile GSH'un konjuge formatının oluşumu	39
Şekil 14: GST'lerin üç boyutlu yapısı.....	41
Şekil 15: GSTM1-5 lokus haritası.....	44
Şekil 16: GSTP1 lokus haritası	45
Şekil 17: GSTT1 lokus haritası	47
Şekil 18: GenID®GmbH stripi ve reaksiyon sonrası oluşan bantlar	53

KISALTMALAR

DS	Down Sendromu
KKH	Konjenital Kalp Hastalıkları
AML	Akut Myeloid Lösemi
GSH	Glutasyon
GST	GSH S-Tansferaz
DNA	Deoksiribonükleik Asit
AFP	Alfa Fetoprotein
β -hCG	Human Koryonik Gonodotropin
HSA21	Human Kromozom 21 HSA21
DSCR	Down Sendromu Kritik Bölge
ArrayCGH	Dizi Analizi Karşılaştırmalı Genomik Hibridizasyon
SAGE	Seri Gen Ekspresyonu Analiz Yöntemi
RNA	Ribonükleik Asit
AVSD	Atriyoventriküler Septal Defekt
VSD	Ventriküler Septal Defekt
ASD	Atriyal Septal Defekt
PDA	Patent Duktus Arteriozus
FISH	Floresan İn Situ Hibridizasyon
STRP	Kısa Tandem Tekrar Polimorfizmi
CRELD1	“Cysteine-Rich Protein With EGF-Like Domains 1”
EGF	Epidermal Büyüme Faktörü
NFATc1	Aktive T Lenfositlerin Nükleer Faktörü
VEGF	Vaskülo-Edotelyal Büyüme Faktörü
GIS	Gastrointestinal Sistem
T4	Tiroksin
TRH	Tirotropin Salgılatan Hormon
TSH	Tiroid Salgılatıcı Hormon
T1D	Tip 1 diyabet
ROS	Reaktif Oksijen Türleri
ALL	Akut Lenfoblastik Lösemi
KML	Kronik Miyeloid Lösemi

PCR	Polimeraz Zinir Reaksiyonu
SOD	Süperoksit Dismutaz
GPx	Glutasyon Peroksidaz
GR	Glutasyon Redüktaz
MTHFR	Methylentetrahydrofolate Redüktaz

ÖZET

Down Sendromlu Çocuklarda Glutasyon S- Transferaz Polimorfizmi ve Fenotipik Çeşitlilik Üzerine Etkileri

Dr. Birsen Baysal,

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı,
İzmir

Amaç: Down Sendromlu çocuklarda glutasyon s-transferaz (GST) polimorfizm sıklığını, bu polimorfizmin fenotipik çeşitlilik üzerine ve bunun yanında da Down Sendromlu çocuk doğurma riski üzerine etkilerini araştırmayı planladık. Bu amaçla, Down Sendromlu çocuklarda ve annelerinde GSTM1, GSTT1 ve GSTP1 genlerindeki polimorfizm oranlarını belirleyerek, hastalığın şiddeti ve oluşum riski arasındaki ilişkiyi belirlemeyi amaçladık.

Metod: Çalışma, Dokuz Eylül Üniversitesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Çocuk Genetik Hastalıkları Bilim Dalının izleminde olan, klinik ve sitogenetik olarak Down Sendromu tanısı almış hastalar ve bu hastaların anneleri ile yapıldı. Kontrol grubu olarak herhangi bir polikliniğe başvuran sağlıklı çocuklar ve sağlıklı çocuk sahibi erişkin kadınlar kullanıldı. Çalışma Ocak-Temmuz 2010 tarihleri arasında yürütüldü. Rutin hasta viziti için başvuran Down Sendromlu hastaların demografik özellikleri, sitogenetik analiz sonuçları, fizik muayene bulguları, göz muayene bulguları, işitme testi, elektrokardiyografi, çölyak antikor, hemogram, tiroid fonksiyon test sonuçları kaydedildi. GST genlerindeki polimorfizmleri taramak için 2 cc EDTA'lı kan örneği alındı ve PCR ile çalışıldı.

Bulgular: Çalışmada 52'si Down Sendromlu hasta çocuk ve onların anneleri, 70'i sağlam çocuk, 69 sağlam kadın olmak üzere dört grup oluşturuldu ve toplam 243 olgu çalışmaya dahil edildi. **Grup I** (Down Sendromlu hastalar); 52 hastanın 24'ü kız, 28'i erkekti. Yaşları 1 ay - 17 yaş (ortalama $6,13 \pm 4,86$ yaş) arasındaydı. Elli iki hastanın 26'sında (%50) kardiyak patoloji, 12'sinde (%23,1) işitme kaybı, 20'sinde (%38,5) göz patolojisi, 4'ünde (%7,7) GIS patolojisi, 23'ünde (%44,2) hipotroidi vardı. Down Sendromlu hastaların 23'ünde (%44,2) GSTM1 geninde, 22'sinde (%42,3) GSTT1 geninde homozigot

delesyon (null genotip) saptandı. Bu hastaların 4 (%8,9)'ünde GSTP1 geninin 105. kodonunda her iki allelde ile/val değişimi, 23 (%44,2)'ünde ise sadece bir allelerinde polimorfizm vardı; GSTP1-114 val/val genotipi hastaların hiçbirinde saptanmazken, 10 (%19,2) hastanın birer allellinde polimorfizm (ala/val) mevcuttu. **Grup II** (sağlam çocuk); 70 çocuğun 37 (%52,9)'si kız, 33 (%47,1)'ü erkekti. Yaşları 1 - 17 yaş (ortalama 9,09± 4,98 yaş) arasındaydı. Sağlam çocukların 30'ünde (%42,9) GSTM1 null genotip, 30'ünde (%42,9) GSTT1 null genotip, 5'inde (%7,1) GSTP1 105 val/val genotipi, 1'inde (%1,4) GSTP1 114'de val/val polimorfizmi saptandı. Bu değerler Grup I'deki çocukların değerleri ile karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç elde edilemedi (Sırasıyla p= 0.88; 0.95; 0.95; 0.68). **Grup III** (Down Sendromlu hasta anneleri); Yaşları 23-56 yaş (ortalama 37,27± 6,77yaş) arasındaydı. Down Sendromlu hasta annelerinin 33'ünde (%63,5) GSTM1 geninin, 22 (%42,3)'sinde GSTT1 geninde homozigot delesyon, 6'sında (%11,5) GSTP1'in her iki allelde, 17 (%32,7)'sinde ise sadece bir allelde ile105val değişimi görülürken, 6 (%11,5) annenin birer alleleri GSTP1 ala114val polimorfizmi vardı. Her 2 allelde de ala114val değişimi bulunan anne yoktu. **Grup IV** (Sağlıklı çocuk sahibi kadınlar); Yaşları 22-50 yaş (ortalama 28,25± 6,54yaş) arasındaydı. Sağlam kadınların 40 (%58)'inde GSTM1 null allel, 34 (%49,3)'ünde GSTT1 null allel, 3 (%4,3)'ünde GSTP1-105'in her iki alleli de polimorfik, 7 (%10,1)'sinde tek allelde GSTP1 114. kodonda değişim saptandı. Bu değerler Down Grup III'deki annelerle karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç elde edilemedi (Sırasıyla p= 0.54; 0.44; 0.32; 0.80).

Sonuç: Bizim yaptığımız çalışmada Down Sendromlu hastalarda GST polimorfizm sıklığı normal popülasyon ile uyumluydu. Bu oran çalışmaya alınan sağlam çocuklar ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı. GST polimorfizminin Down Sendromunda görülen fenotipik çeşitlilik üzerine etkisi gösterilemedi. Yine Down Sendromlu hasta anneleri ve sağlam çocuk sahibi kadınların GST polimorfizm sıklığı normal popülasyon ile benzer bulundu ve iki grup arasında fark saptanmadı. Bu polimorfizmin Down Sendromlu çocuk doğurma üzerine etkisi olmadığı düşünüldü.

Anahtar Kelimeler: Down Sendromu, Glutasyon S- Transferaz polimorfizmi, konjenital kalp hastalığı, işitme kaybı, göz patolojileri, hipotroidi, gastrointestinal patolojiler

ABSTRACT

Glutathione S-Transferase Polymorphisms in Children with Down Syndrome and Its Influences on Phenotypic Diversity

Dr. Birsen Baysal, Department of Pediatrics, Dokuz Eylul University School of Medicine,
Izmir

Aim: We aimed to investigate the frequency of glutathione-S-transferase (GST) gene polymorphisms in children with Down syndrome, and the influences of these polymorphisms on the phenotypic diversity, and also on giving birth to a child with Down syndrome. For this purpose, we aimed to determine the relationship between disease severity and risk of occurrence of the disease by identifying the rates of polymorphism in the GSTM1, GSTT1 and GSTP1 genes in children with Down syndrome and their mothers.

Methods: This study has been carried out with children clinically diagnosed and cytogenetically confirmed as Down Syndrome and with their mothers, who have been followed-up in the discipline of Pediatrics Genetics, Department of Pediatrics, Dokuz Eylul University. Healthy children and their adult mothers have been used as the control group. The study was conducted in the period between January to July, 2010. Of the children with Down Syndrome who have admitted to the hospital for routine controls, demographic characteristics, results of the cytogenetic analysis, physical examination, ophtalmologic examination, hearing test, electrocardiogram, celiac antibodies, complete blood count, thyroid function test were recorded, furthermore 2 cc EDTA blood samples were taken for testing GST polymorphisms.

Results: A total of 243 subjects, as four different groups composed of 52 children with Down syndrome, 70 healthy children, 52 mothers of the children with Down Syndrome, and 69 healthy mothers, were enrolled in the study. Of the 52 patients participated in Group I (children with Down syndrome) 24 were girls and 28 were boys, aged between 1 month and 17 years (mean, 6.13 ± 4.86 years). With regard to additional pathologies, 26 (50%) of the fifty-two patients reported a cardiac disease, while 12 (23.1%) hearing loss, 20 (38.5%) ophtalmic pathologies, 4 (7.7%) gastrointestinal system pathologies, and 23 (44.2%) hypothyroidism. Homozygous deletion (null genotype) at the GSTM1 and GSTT1 loci were detected in 23 (44.2%) and 22 (42.3%) of the patients with Down syndrome, respectively. Ile/Val exchange was found at both two alleles of codon 105 of the GSTP1 gene in 4 (8.9%) of these patients, but only at one allele of 23 (44.2%) patients; GSTP-114 homozygous mutation was detected in none of the patients, while 10 (19.2%) patients displayed

polymorphism at only one allele. Group II (healthy children) consisted of totally 70 patients, 37 (52.9%) girls and 33 (47.1%) boys, and they aged from 1 to 17 years (mean, 9.09 ± 4.98 years). GSTM1 null genotype was identified in 30 (42.9%) of the healthy children, also GSTT1 null genotype in 30 (42.9%) of the cases, while GSTP1-105 val / val genotype was detected in 5 (7.1%), and GSTP1-114 val / val polymorphism in 1 (% 1.4) of the healthy children of Group II. In comparison of the data achieved from Group I and Group II, statistically significant results could not be obtained ($p = 0.88, 0.95, 0.95, 0.68$, respectively). Group III (mothers of the children with Down) participants aged from 23 to 56 years (mean, $37,27 \pm 6,77$ years). Homozygous deletion was detected at GSTM1 gene in 33 (63.5%), and at GSTT1 gene in 22 (42.3%) of the subjects, while 105 val exchange was found at both alleles of GSTP1 gene in 6 (11.5%), but only at one allele in 17 (32.7%) of the subjects, also 6 (11.5%) mothers carried ala114val polymorphism at one allele. None of the mothers in this group found to have ala114val exchange at both two alleles. Group IV (mothers of the healthy children) aged between 22-50 (mean, $28,25 \pm 6,54$ years). Of these healthy mothers, 40 (58%) had GSTM1 null allele, 34 (49.3%) had GSTT1 null allele, 3 (4.3%) had polymorphism at both alleles of GSTP1-105, while 7 (10.1%) cases displayed a change at one allele of GTSP1-144. When the data achieved from analysis of Group III and Group IV mothers were compared, no statistically significant difference was evaluated ($p = 0.54; 0.44; 0.32; 0.80$, respectively).

Conclusion: According to our study data, the frequency of GST gene polymorphisms in the patients with Down syndrome was found compatible with normal population. When compared with the healthy children participating in the study, no statistically significant difference was determined. The effects of GST gene polymorphisms on the phenotypic characteristics generally seen in the patients with Down Syndrome, could not be demonstrated. Similarly, GST gene polymorphisms detected in the mothers of children with Down and mothers of healthy children were found compatible with normal population, no significant difference was to be mentioned between the two groups. Consequently, we conclude that GST gene polymorphisms may be considered ineffective on giving birth to a child with Down syndrome.

Key words: Down syndrome, Glutathione-S-Transferase polymorphisms, congenital heart disease, hearing loss, ophtalmic pathologies, hypothyroidism, gastrointestinal pathologies

1. GİRİŞ VE AMAC

Down Sendromu kromozomal hastalıklar arasında en sık görülenidir (1,2). Fenotipik özellikleri ve ilişkili sistemik patolojiler ile kolaylıkla tanınabilmekle beraber, hastalar arasında çeşitli klinik varyasyonlar mevcuttur. Tipik yüz görünümü, mental retardasyon, hipotoni gibi tüm Down Sendromlu çocuklarda mevcut olan bulgular yanında, konjenital kalp hastalıkları (KKH), duodenal atrezi/stenoz, hirschsprung, sağırılık, konuşma bozukluğu, immün yanıtta yetersizlik, katarakt, atlanto-aksiyel eklem instabilitesi gibi bu çocukların sadece bir kısmında bulunan özellikler de mevcuttur. Ayrıca akut myeloid lösemi (AML), gluten sensitif enteropati gelişme riski de normal çocuklardan daha fazladır. Sendromda görülebilen tüm bu patolojilerin, kliniğe yansıma şiddetleri de değişkendir (2-4).

İnsan genomunun %1-1,5'ünü taşıyan 21. kromozom, otozomal kromozomların en küçüğüdür. Down Sendromu kliniğinin oluşmasında, bu kromozomun üzerindeki genlerin hangilerinin etkili olduğu, fenotipik etki yaratmayan ve iyi tolere edilebilen gen aşırı ekspresyonlarının varlığı, 21. kromozom üzerinde ya da diğer kromozomlarda yer alan hangi genlerin sendromla ilişkili olduğu konusunda halen çeşitli tartışmalar bulunmaktadır.

Yirmi birinci kromozom üzerinde bulunan genlerin trizomisinin, gen-doza etkisi nedeniyle aşırı ekspresyonlarının dokuların gelişim, matürasyon ve yaşlanmaları üzerinde farklı etkilere neden olduğu ileri sürülmektedir (2,5,6). Bunun yanında 21. kromozom üzerinde olmayan bazı genlerin polimorfizmlerinin de sendromun çeşitli özelliklerinin oluşumunda ve kliniğe yansıma şiddetinde etkili olabileceği gösterilmiştir (7,8).

Down Sendromlu bireylerde görülme sıklığı artan ve sendromla ilişkili 80'in üzerinde klinik özellik rapor edilmiştir. Bu farklı özelliklerin oluşmasında rol oynayan faktörlere yönelik pek çok çalışma yapılmış, klinik bulguların çeşitliliğini açıklamak için çeşitli teoriler ortaya atılmıştır (4,9,10).

Glutatyon (GSH), kanser (mide, akciğer, lösemi vb), inflamasyon, Alzheimer hastalığı, miyokart enfarktüsü, katarakt, diyabet ve erken yaşlanma gibi pek çok patolojinin gelişmesinde anahtar rol oynadığı bilinen, intrasellüler homeostazis mekanizmasında bulunan pek çok kaskatta yer alan, düşük moleküler ağırlıklı bir tripeptiddir. Lipid, glukoz, aminoasid metabolizmalarında rol oynar. Serbest radikallerin, tek karbon metabolizmasının ürünü karsinojen bir ajan olan formaldehitin detoksifiye edilmesinde, T lenfositlerin aktivasyonunda, viral hastalıklara karşı direncin sağlanmasında etkilidir. GSH, ksenobiyotikleri (dışarıdan alınan ya da vücutta oluşan, organizmanın normal metabolizması

için gerekli olmayan kimyasal maddeler) ve ağır metalleri, GSH S-tansferazlar (GST) tarafından katalizlenen bir reaksiyon ile detoksifiye eder. GST, major endojen antioksidan enzimlerden biridir (11,12).

GSH metabolizmasında etkili GST genlerindeki polimorfizmlerin kansere, inflamatuvar hastalıklara, katarakta yatkınlığı arttırdığı, immun yanıtta bozukluğa neden olduğu bilinmektedir (13-15). GST genlerindeki pek çok polimorfizm GST enzim aktivitesinde azalmaya neden olur. Örneğin; GSTM1 ve GSTT1 genlerinin her iki allellerinde de delesyon varsa (GSTM1-0 ve GSTT1-0) elektrofilik karsinojenleri detoksifiye edecek olan GST aktivitesi azalır ya da hiç saptanamaz (12-14).

Down Sendromlu çocuklarda artmış oksidatif stresin, özellikle “tek karbon metabolizmasında” bozukluklara neden olduğu bilinmektedir (11).

Nedeni belirlenememiş olsa da, **GST’in katalitik aktivitesinin Down Sendromlu çocuklarda normale göre azalmış olduğu** daha önce gösterilmiştir (16).

Ayrıca, Ishibashi ve arkadaşları 1997 yılında yaptıkları bir çalışma ile oksidatif stresin, farelerde **GSH eklenmesi ile düzelen doğumsal anomalilere** yol açtığını bildirmişlerdir (17).

Biz de bu verilerden yola çıkarak Down Sendromlu çocuklarda glutatyon s-transferaz polimorfizm sıklığını, bu polimorfizmin fenotipik çeşitlilik üzerine ve bunun yanında da Down Sendromlu çocuk doğurma riski üzerine etkilerini araştırmayı planladık. Bu amaçla, Down Sendromlu çocuklarda ve annelerinde GSTM1, GSTT1 ve GSTP1 genlerindeki polimorfizm oranlarını belirleyerek, hastalığın şiddeti ve oluşum riski ile aralarındaki ilişkiyi belirlemeyi amaçladık.

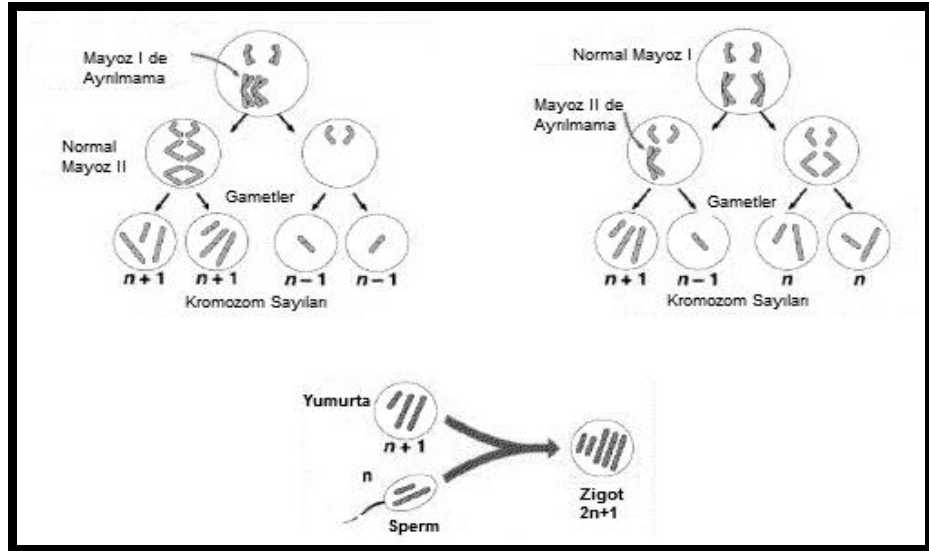
2. GENEL BİLGİLER

2.1 Trizomi: Tanımı ve Sınıflandırılması

Trizomi, mayotik ya da mitotik 'non-disjunction' (ayrılmama) nedeniyle oluşan, insan embriyolarında en sık görülen ve herhangi bir kromozomun tamamının ya da bir parçasının fazlalığı anlamına gelen genetik anomalidir (Şekil 1). Trizomiler dört kategoride toplanabilir.

- I. Tam kromozom trizomileri
- II. Parsiyel trizomiler
- III. Mikrotrizomiler
- IV. Tek gen ya da tek fonksiyonel genomik elementlerin tripplikasyonu

Tam kromozom trizomileri (=komplet trizomiler); mayotik ya da mitotik 'non-disjunction' (ayrılmama) sonucu oluşan ve insanlarda en sık görülen kromozom anomalileridir. Canlı doğumların yaklaşık % 0,3-0,5'inde karşımıza çıkarlar. Yaklaşık 750 canlı doğumda bir oranında görülen Trizomi 21 bunlar arasında en sık görülendir. Spontan abortusların büyük çoğunluğunda da trizomiler tesbit edilebilmektedir. Örneğin; trizomi 21 spontan abortuslarda 1:43; trizomi 16 1:13 oranında saptanmaktadır.



Şekil 1: Trizomi 21'den sorumlu mayotik hata sıklıkla maternaldir (%90-95) ve daha çok mayoz I'de oluşur. Paternal mayoz hataları ise (%5-10) sıklıkla mayoz II'de oluşur.

Parsiyel trizomiler (=segmental trizomiler); birden çok kromozom bandını kapsayan, sıklıkla **5 Mb'dan büyük** bir genomik bölgeyi içerirler. Tam kromozom trizomilerinden daha az sıklıktadır. Genellikle mayoz bölünme sırasında dengesiz ayrılma nedeniyle ya da dengeli yapısal kromozomal anomalisi olan bireylerin (örneğin dengeli translokasyon taşıyıcısı bireylerin) çocuklarında anormal segregasyon sonucu oluşur.

Mikrotrizomiler; Kromozomun **3-5 Mb'dan daha küçük** bir parçasının pasiyel trizomisi olarak tanımlanır. Bu fazlalık, rutin kromozom analizlerinde saptanamayacak kadar küçüktür. Segmental duplikasyon olarak da bilinmektedir. Günümüzde mikrotrizomilerin gerçek insidansı bilinmemektedir. Çoğu mayoz bölünme esnasında dengesiz cross-over sonucu oluşur. Örneğin; on yedinci kromozom üzerindeki bir bölgenin mikrotrizomisi (17p12), Charcot-Marie-Tooth Tip IA hastalığına yol açar (18).

Tek gen ya da tek fonksiyonel genomik bölge triplikasyonu; sadece bir genin ya da bir fonksiyonel genomik elementin fazlalığıdır.

Kliniğe yansıyan ve insanlarda en sık (1:750 canlı doğum) görülen trizomi, Down Sendromu yani 21. kromozomun komplet trizomisi (2).

2.2 Trizomi 21 - Down Sendromu

2.2.1 Genel bilgiler

Down Sendromu, ilk kez 1846'da **Edouard Onesimus Seguin** tarafından tanımlanmıştır ancak, ilk yazılı bilgiler zeka özürlü çocuklar için bir bakım evinin müdürü olarak çalışan **John Langdon Down** tarafından 1866 yılında sunulmuştur. John Langdon Down, mental retarde çocuklar arasında davranış ve fizik bulgular bakımından belirgin farklılıklar gösteren bu hastaları 'mongoloid idiotlar' diye tariflemiştir (1).

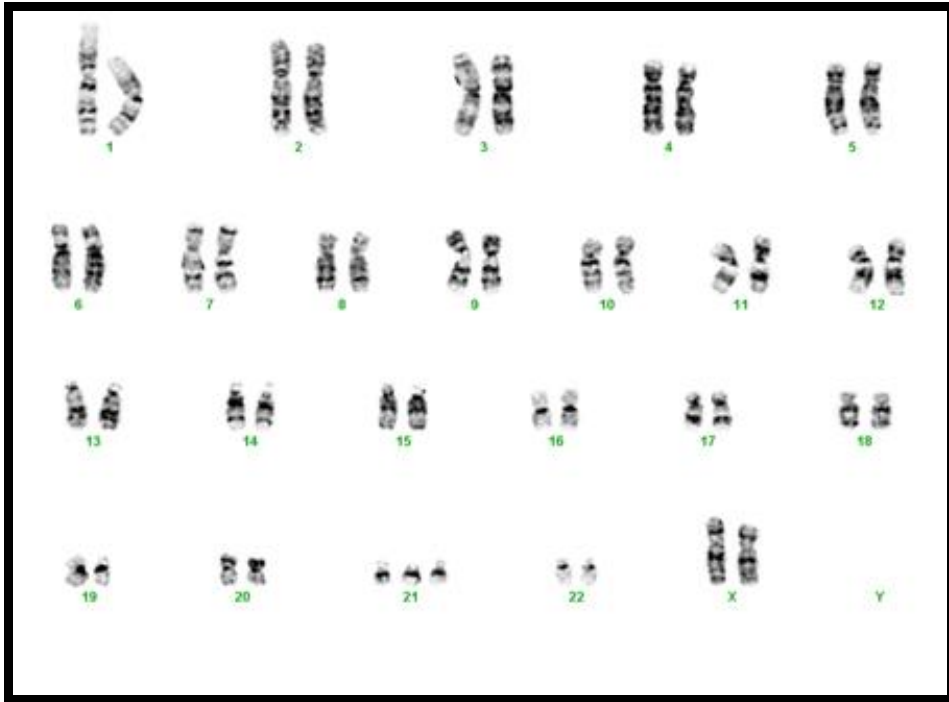
Down Sendromunun kromozomal bir anomaliye bağlı olabileceği fikri ilk kez 1930 yılında Waardenberg ve Bleyer tarafından ileri sürülmüş ve 1959 yılında çalışmalarını birbirinden habersiz olarak sürdüren iki ayrı bilim adamı; **Jerome Lejeune** ve **Patricia Jacobs** tarafından kanıtlanmıştır (19-21).

Down Sendromu, kromozomların en küçüğü olan 21. Kromozomun üç adet olmasından kaynaklanmaktadır. Yirmi birinci kromozom hücresel deoksiribonükleik asit (DNA)'in %1,7'sine ve yaklaşık 225 gene sahiptir (22).

Down Sendromu'nun, benzer klinik tablolara yol açan 3 farklı sitogenetik şekli vardır:

1. Regüler trizomi (serbest trizomi):

En sık görülen Down Sendromu tipi olup, **%90-95** oranında görülmekte, mayoz bölünme sırasında 21. kromozomdaki ayrılama kusuru sonucu ortaya çıkmakta ve sıklıkla anneden kaynaklanmaktadır. Total kromozom sayısı 47'dir ve üç tane 21. kromozom vardır. Anne ve babanın somatik hücreleri normaldir. Özellikle ileri anne yaşı ile ilişkili olduğu bilinmektedir (23) (Şekil 2).



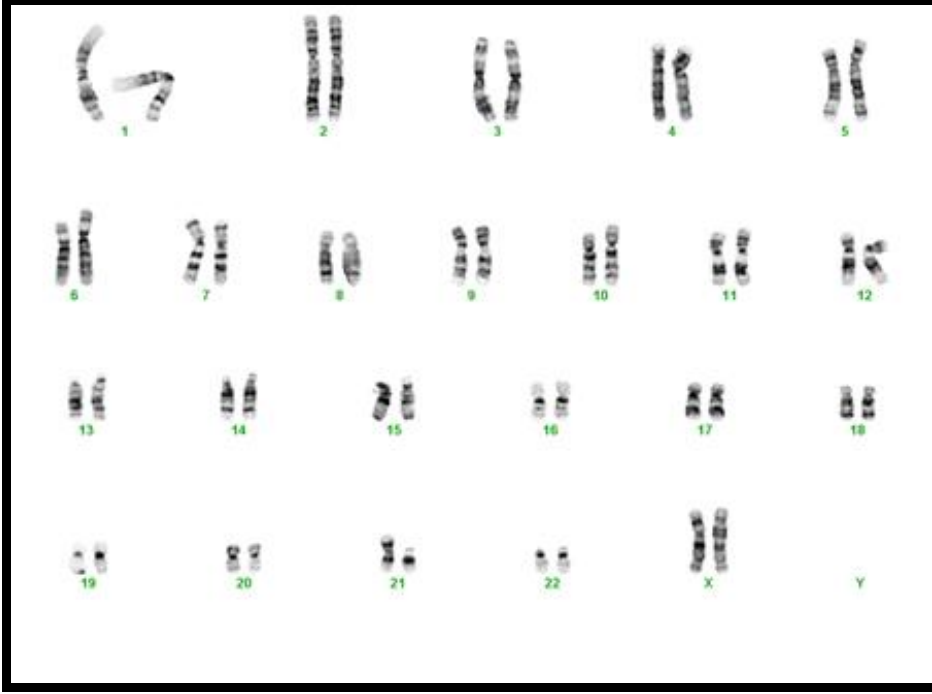
Şekil 2: Regüler trizomili bir hastanın sitogenetik görüntüsü (47,XX+21)

2. Translokasyon tipi:

Translokasyon, iki ayrı kromozom arasında parça değişimidir. Gen sayısının ve niteliğinin aynı kaldığı translokasyonlar dengeli translokasyon, gen sayısının ve niteliğinin değiştiği, klinik problemlere neden olan translokasyonlar dengesiz translokasyonlar olarak tanımlanmaktadır.

Down Sendromlu olguların **%4-6'sını** oluşturmaktadır. Translokasyon tipinde total kromozom sayısı 46 olup, iki serbest 21. kromozoma ek olarak; genelde 14, 21 veya 22.

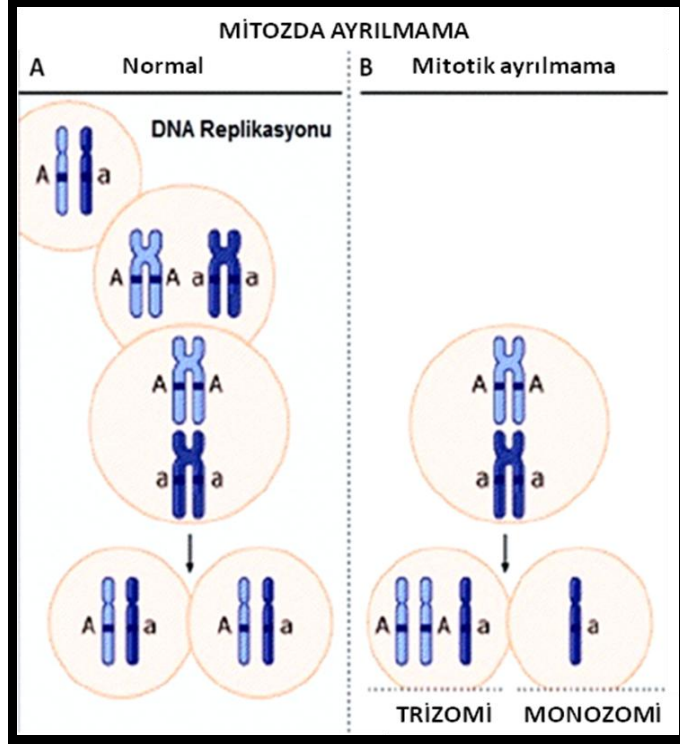
kromozomlardan birine üçüncü bir 21. kromozom transloke olmuştur (Şekil 3). Tranlokasyon tipi kalıtsal veya sporadik oluşabilmekte, kalıtsal olanı anne veya babadan geçmektedir. Anne yaşı traslokasyon tipinde etkili değildir (24). Otuz yaşından genç annelerin Down Sendromlu bebeklerinde translokasyon oranı %9'dur (25).



Şekil 3: Translokasyon tipi Down Sendromlu bir hastanın sitogenetik görüntüsü (46,XX t(21;21))

3. Mozaik tip:

Mozaik tip Down Sendrom'lu olguların hücrelerinin bir kısmı normal, bir kısmı 21. kromozom için trizomiktir. **Clark ve arkadaşları** tarafından tanımlanan mozaik tip, Down Sendromlu olguların %2-4'ünü oluşturmakta, mitotik 'non-disjunction' veya anafaz gecikmesi sonucu meydana gelmektedir (24-26) (Şekil 4).



Şekil 4: A: Mitoz bölünmenin basamakları, **B:** Mitozda oluşan ‘non-disjunction’ a bağlı olarak, trizomik ve monozomik hücrelerin oluşumu.

Trizomi 21’de, ekstra kromozom 21’in hangi parental orjinden olduğu, aile ve Down Sendromlu çocuktan alınan DNA profillerinde polimorfik DNA belirteçleri kullanılarak tesbit edilebilmektedir. Sentromere yakın DNA belirteçleri ayrılma hatasının olduğu mayoz evresini gösterir. Dörtüzdenden fazla ailede yapılan çalışmalarda;

- I.** Trizomi 21’e yol açan mayotik hatanın büyük oranda maternal orjinli olup, sadece %5-10’unun spermatogenez sırasında oluştuğu,
- II.** Maternal mayoz hatalarının büyük çoğunluğunun (%76-80) **mayoz I** sırasında oluştuğu ve bu bölünme hatalarının ortalama anne yaşıyla ilişkili olduğu ve ortalama anne yaşı 32 yaş ve bu özelliğe sahip hastaların tm regüler trizomi 21 vakaları içinde %67-73 oranında saptandığı,
- III.** Maternal **mayoz II** hataları %20-24 oranında saptanıp, bunun tüm serbest trizomi 21 vakalarının %18-20’si olduğu; bu durumun yine ileri anne yaşı ile ilişkili olarak saptandığı
- IV.** Nadiren paternal mayoz II esnasında oluşan ‘non-disjunction’ın trizomiden sorumlu olduğu,

V. Yüzde 5'e yakın vakada ekstra kromozom 21'in mitotik hata ile oluştuğu ve bunun da ileri anne yaşı ile ilişkili olmadığı, saptanmış (27).

2.2.2 Down Sendromu tekrarlama riski

Down Sendrom'lu bir bebek doğuran ya da gebeliğin erken döneminde fetal trizomi tanısı konulması sonucu gebeliği sonlandırılan bir annenin sonraki gebeliklerinde bu durumun tekrarlama riski, sendromun sitogenetik tipine bağlıdır. Serbest trizomili çocuğu olan bir annenin ikinci bir trizomili çocuğa sahip olma riski %1,2'dir (25).

Translokasyon tipi Down Sendromunun tekrarlama riski ise dengeli translokasyon taşıyıcısı tarafın anne olduğu durumlarda %10, baba olduğu durumlarda %2-4'tür (24). Anne ve babanın kromozomları normal ise spontan translokasyon söz konusudur ve tekrarlama riski %1'dir (24,25).

2.2.3 Prenatal tanı

a- Anne ve babaya kromozom analizi;

Serbest trizomili Down Sendromlu bebek sahibi bir anne ve babaya kromozom analizi yapmak mutlaka gerekli değildir. Bu çifte artmış tekrar riski nedeniyle sonraki gebeliklerinde mutlaka amniyosentez yaptırmaları önerilir.

Ancak translokasyon tipi Down Sendromu tanısı konulduğunda, anne ve baba kromozomlarının değerlendirilmesi önerilmektedir (23).

b- Fetal kromozom tayini;

Fetal kromozom tayini, amniyosentez veya koryonik villus örnekleme ile elde edilen materyallerde yapılmaktadır ve aşağıdaki durumlarda, sorunun türüne göre hangisinin yapılacağı belirlenerek önerilmektedir (25):

- 1- Otuzbeş yaş üzeri anne adaylarına,
- 2- Prenatal ultrasonografide fetusta ense kalınlığı, kısa femur, kardiyak ve gastrointestinal anomalilerin tesbitinde,
- 3- Maternal serum testlerinde anormal sonuç varlığında,
- 4- Önceden Down Sendromlu bebek sahibi olan anne adaylarına.

c- Maternal serum tarama testleri;

Yaygın kullanılan tarama testi, maternal serumda gebeliğin 15-16. haftasında bakılan üçlü test olup, düşük alfa fetoprotein (**AFP**), düşük **östradiol** ve yükselmiş human koryonik gonodotropin (**β-hCG**) düzeyleri trizomi 21 lehine değerlendirilmektedir (28,29). **İnhibin-A**'nın normale göre yüksek, **PAPPA**'nın düşük değerleri trizomi 21 riskini göstermektedir.

Nicolaidas ve arkadaşları, trizomi 21'in prenatal taraması amacıyla yaşları 13-49 arasında değişen 75.821 gebeyi dahil ettikleri çalışmalarında; ortalama 12. gebelik haftasında, fetal ultrasonografi ile fetüs ense kalınlığını ölçmüşler ve maternal serumda β-hCG ve PAPPA düzeylerine bakmışlar, sonuç olarak 325 fetüste trizomi 21 tesbit ederek trizomi 21 riskini 1/300 olarak bildirmişlerdir (30). Aynı çalışmada, kullanılan bu biyokimyasal testler için tanı oranı %75-80, yanlış pozitiflik oranı %1-2 olarak saptanmıştır.

Maternal serum üçlü tarama testi kadın doğum polikliniğine başvuran tüm anne adaylarına yapılmaktadır ve prenatal ultrasonografide anomali taraması ve ense kıvrım kalınlığı ölçümü ile desteklenmektedir. Anormal test sonuçları varlığında amniosentez ya da kord kanı incelemesi yapılarak tanının doğrulanmasına çalışılmaktadır.

Otuz beş yaş üzeri gebeliklerin artmasına rağmen, prenatal tanı yöntemlerinin etkili kullanımı ile Down Sendromlu canlı doğumlarda azalma olduğu gösterilmiştir (31).

2.2.4 Down Sendromunda fenotipik çeşitlilik

Down Sendromlu bireyler arasındaki farklılıkları özetlerken üç farklı gözlem yapılabilir:

- 1) Down Sendromu ile ilişkili **fenotipik bulgular**, hastalar arasında değişkenlik gösterir.
- 2) Mevcut fenotipik özelliğin **şiddeti** hastalar arasında değişkenlik gösterir.
- 3) Down Sendromlularda görülen fenotipik bulguların hiçbiri trizomi 21'e **özgü değildir**.

Down Sendromlu bireylerde bulunan özelliklerin, öploid bireylerde de gözlenebiliyor olması, anöploidinin yanında etiyolojide rol oynayan farklı faktörlerin varlığını düşündürmektedir (32). Down Sendromlu bireylerin aralarındaki fenotipik farklılıkların bir kısmı normal popülasyonda gözlenmesi beklenen farklılıklar, yani normalin ya da bu durumda anormalin varyasyonu şeklinde açıklanabilir. İnsan genetiğinde fenotipik

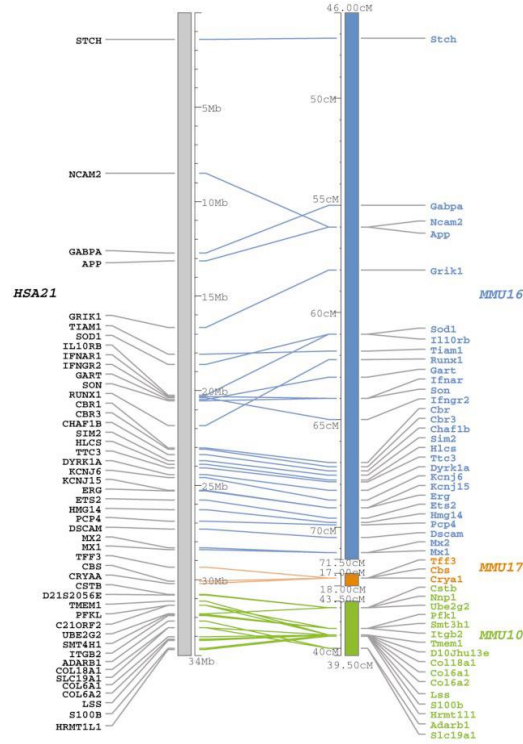
özelliklerin nasıl bir genetik mekanizmanın yansıması olduğunun ortaya çıkarılması güçtür. Down Sendromu, birden fazla embriyonik gelişimsel dönemde; sayısız hücre, yapı ve fonksiyonun bir kaskad içinde etkileşmesiyle ortaya çıkan bir fenotiptir. Kliniğe yansıyan son hali ile “Down Sendromu fenotipi” olarak adlandırılan bulguların ortaya çıkışının araştırılması başlı başına karmaşıktır (33). Bu karmaşık durumun açıklanmasında ilk aşamada; mevcut trizominin gelişimsel basamaklar üzerindeki etkisi, nihai yansımanın gözlemlendiği hücre fonksiyonları üzerindeki etkilerinden ayrılmalıdır. Gelişim aşamasındaki hücrenin fonksiyonlarını etkileyen bu iki etki elbette birbirinden bağımsız değildir. Ancak, mevcut trizominin bir hücrenin embriyogenez sürecindeki normal gelişim paternini değiştirmesi daha farklı bir deneysel yaklaşım (hatta farklı bir tedavi yaklaşımı) gerektirirken, trizominin sinyal ya da metabolik yollar, nöronal uyarılar gibi farklılaşmasını tamamlamış, son halini almış hücreler üzerindeki etkilerinin ölçülmesi daha farklı bir yaklaşım gerektirmektedir (32). Bu nedenle; olgun bir hücrenin fonksiyonlarındaki değişikliklerin, aynı hücredeki trizomik genlerin ekspresyonlarındaki artıştan çok, trizominin yol açtığı gelişimsel hataların, kaskadın devamındaki fonksiyonel etkilerinden kaynaklandığı düşünülebilir (32).

2.2.5 Down Sendromunda genlerin etkileşim mekanizmaları

Literatürdeki yeni bilgiler Down Sendromlu bireyler arasındaki fenotipik değişkenliğin gen ekspresyonu düzeyindeki farklılıklardan kaynaklanabileceğini düşündürmektedir. Down Sendromlu hastaların %95’inde 21. kromozomun tamamının trizomisi, %5’inde ise 21. kromozomun bir parçasının trizomisi (HSA21) gösterilmiştir. HSA21’in uzun kolunun (q) tam sekansı 2000 yılında yayınlanmıştır (22). Halen HSA21q’da 420 gen ve gen modelinin olduğu bilinmektedir. HSA21p’de ise 4 genin varlığından bahsedilebilir. Farelerde, insandaki 21. kromozoma identik bölgeleri içeren kromozomlar üzerindeki genlerin fonksiyonlarını ortaya koyan çalışmaların da yardımıyla, HSA21 üzerindeki bu genlerin yaklaşık 145’inin fonksiyonu aydınlatılabilmektedir (22,34).

Genel olarak; Down Sendromu fenotipinin kaynağının fazla HSA21 kopyasının varlığı ve artan gen dozajı olduğu öngörüsünde bulunulsa da, bu noktada iki geleneksel hipotezden bahsetmek gerekir. Bunların ilki; HSA21 üzerindeki spesifik bazı genlerin ve bu genlerin ekspresyonundaki doz artışının fenotipi oluşturduğudur. Buna göre; belirli bazı genlerdeki

artan ekspresyon fenotipik özelliklerin bir bölümünü açıklayabilir. Diğer hipotez ise HSA21'in neden olduğu ekstra genetik bilginin fenotipik dengesizliğe yani "instabiliteye" neden olabileceği ve bu genomik dengesizliğin belli genlerdeki ekspresyon artışından bağımsız olabileceğidir (34).

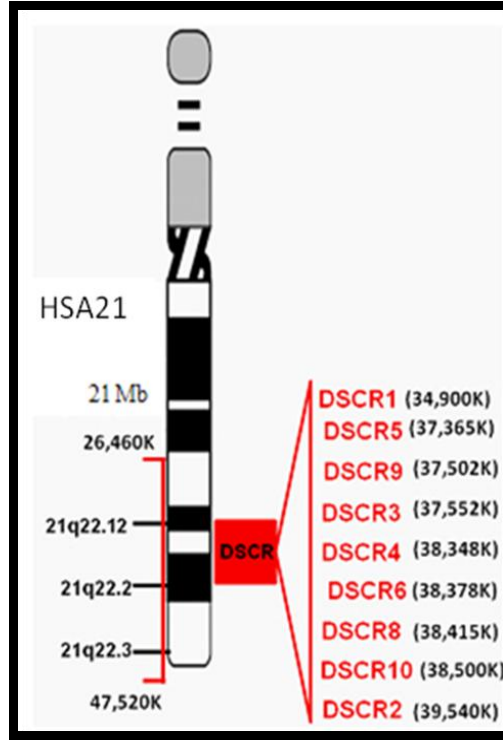


Şekil 5: İnsandaki kromozom 21-HSA21 ile farelerdeki kromozom 16-MMU16, 17-MMU17 ve 10-MMU10 üzerindeki genlerin şematik karşılaştırması

Dozaj-duyarlı etki: Down Sendromlu bireylerde görülen spesifik fenotipik özelliklerin HSA21'in belirli bölgelerindeki bazı genlerle ilişkilendirilmesi fikri "genotip-fenotip korelasyonu" HSA21'in sadece bazı bölgeleri için trizomik olan Down Sendromlu bireylerin varlığının gösterilmesi ile ön plana çıkmıştır. HSA21 üzerindeki genlerin tümünün bilinmediği dönemlerde HSA21'in sadece bir bölgesi için trizomik olmasının Down Sendromu fenotipinin o bölge ile ilgili fenotipik özelliğinin ortaya çıkmasını sağladığı fikri ortaya atılmıştır (35,36).

Daha sonra sitogenetik ve moleküler olarak parsiyel trizomik bireylerdeki fenotipik özellikler ve bununla ilişkili olarak gen miktarı nedeniyle; HSA21 için kritik bir Down Sendromu bölgesinin saptanması hedeflenmiştir. Bugün HSA21 üzerindeki Down Sendromu kritik bölgesinin (**DSCR=DS critical region**) yaklaşık 3 Mb lık bir DNA segmenti olduğu bilinmektedir (37,38). Bu kritik bölge; dilin dışarda olması, yassı yüz görünümü, kısa boy,

zeka geriliği, eklem laksitesi, kas hipotonisi, ve dermatoglik paterndeki değişiklikler gibi bulguların yer aldığı temel sayılabilecek Down Sendrom özellikleri ile ilişkilendirilmiştir (37).



Şekil 6: HSA21 üzerindeki DSCR kritik bölgesi (DSCR=DS critical region)

Bu kritik bölge hipotezine göre, bu bölgedeki bir ya da birden fazla genin üç kopya olarak varlığının bahsedilen Down Sendromu özelliklerinin ortaya çıkması için yeterli olduğu bildirilmiştir. Ancak 2009’da Lyle ve arkadaşlarının dizi analizi karşılaştırmalı genomik hibridizasyon (array-CGH) yöntemi ile parsiyel trizomili ve parsiyel monozimili 30 vakayı inceledikleri çalışmada; Down Sendromu için tek bir kritik bölgesinden bahsedilemeyeceği, zeka geriliği dahil pek çok fenotipik özellik için birden fazla bölgenin kritik önemde olduğu gösterilmiştir (38). Bu nedenle yazarlar; Down Sendromu kritik bölgesinin “Down Sendromu yatkınlık bölgesi” olarak adlandırılmasının belki de daha doğru olacağını belirtmişlerdir (38). Sonrasında yapılan pek çok çalışmanın sonucunda fenotipten sorumlu 9 DSCR bölgesinin varlığı gösterilmiştir (39).

Genler arası etkileşim: İnsanda ve farede DSCR’daki genler dışındaki trizomik genlerin ve HSA21 dışındaki öploid genlerin ekspresyonunun nasıl etkilendiğini araştıran pek çok gen ekspresyon çalışması yapılmıştır. Bu çalışmalar genel olarak trizomik genlerde mesajcı ribonükleik asit (mRNA) düzeyinde artmış ekspresyon varlığını desteklemiştir (4).

Literatürde, öploid genomun mevcut instabiliteden nasıl etkilendiğini amaçlayan araştırmalar özellikle 2007 yılından sonra artmıştır. Örneğin 2008’de Sommer ve arkadaşlarının 1-4 yaş arası Down Sendromlu çocukların lenfositlerinde seri gen ekspresyonu analiz yöntemi (SAGE) ile yaptıkları gen ekspresyon çalışmasında Down Sendromunda **öploid genlerde de disregülasyon olduğunu göstermişlerdir** (40). Bu bulgu daha önce Down Sendromlu erişkinlerin beyin dokusunda genomik mikrodizilim (microarray) ile gösterilen HSA21 üzerindeki genlerin %27’sinde saptanan artmış regülasyon ile HSA21 dışı kromozomlardaki genlerin %4.4’ündeki ekspresyon değişikliklerinin gösterildiği çalışmayı destekler niteliktedir (41). Bir başka transkripsiyonel ekspresyon çalışmasında; trizomi 21’li fetusların amniosit ve koryon villüs hücre kültürlerinde HSA21’deki genlerin Down Sendromlu fetuslarda normalden daha fazla eksprese olduğu ve bu fetuslarda diğer kromozomlar üzerindeki genler de hafif ekspresyon farklılıkları gözlemlendiği bildirilmiştir (42).

Down Sendromlu fetusların kalp dokusunda yapılan bir diğer çalışmada HSA21’deki genlerin çoğunun ekspresyonu artarken, 25 genin ekspresyonunun hiç artmadığı ve diğer kromozomlardaki genlerde belirgin disregülasyon gözlemlendiği rapor edilmiştir (43). Yine aynı çalışmada bazı mitokondriyel proteinleri kodlayan nükleer genlerin ekspresyonunda azalmanın yanısıra bazı ekstraselüler matriks proteinlerini kodlayan genlerde ekspresyonda artışın saptanmış olması; özellikle **oksidatif stres** ve mitokondriyel disfonksiyonun Down Sendromu fenotipinin bir parçası olduğu yönündeki önceki hipotezleri destekler niteliktedir (44,45).

Down Sendromlu bireylerdeki gen ekspresyon çalışmaları heyecan verici olsa da, tam bir değerlendirme yapılabilmesi ancak öploid popülasyondaki gen ekspresyon varyasyonu ile kıyaslama yapılarak mümkün olabilir. Patterson, Down Sendromlular ile öploid bireyler arasında gen ekspresyonu açısından belirgin farklılıklar gözlenen genlerin daha sıkı regüle edildiklerini ve Down Sendromu fenotipine daha fazla katkı sağladıklarını öne sürmüştü; bunun yanısıra, **ekspresyonu değişkenlik gösteren genlerin ise Down Sendromlu bireylerin kendi aralarındaki fenotipik farklılıklardan sorumlu olabileceğini belirtmiştir** (34).

HSA21’deki allelik varyasyon: Genlerin üç kopya olmasının yarattığı dozaj duyarlılığı dışında HSA21 genlerinin allelik varyantları da diploid genomla kıyaslandığında farklı fenotipik yansımalar neden olabilir. Örneğin üç kopyanın ikisinde fonksiyon kaybettirici mutasyon olan triallelik bir genotipte normal allel kompanse edici rol oynayabilir; ancak, mutant allelin etkisi fonksiyon kazandırmak ya da fonksiyon değiştirmekse normal allel trizomik bireyi korumada yetersiz kalabilir (46). Allelik

varyasyonların varlığı *COL6A1*, *COL6A2*, *COL18A1* gibi multimerik proteinleri kodlayan HSA21 üzerindeki genlerden kaynaklanabilecek “heterotrizomi”ye neden olabilir. Heterotrizomi multimer kombinasyonlarına neden olabilir.

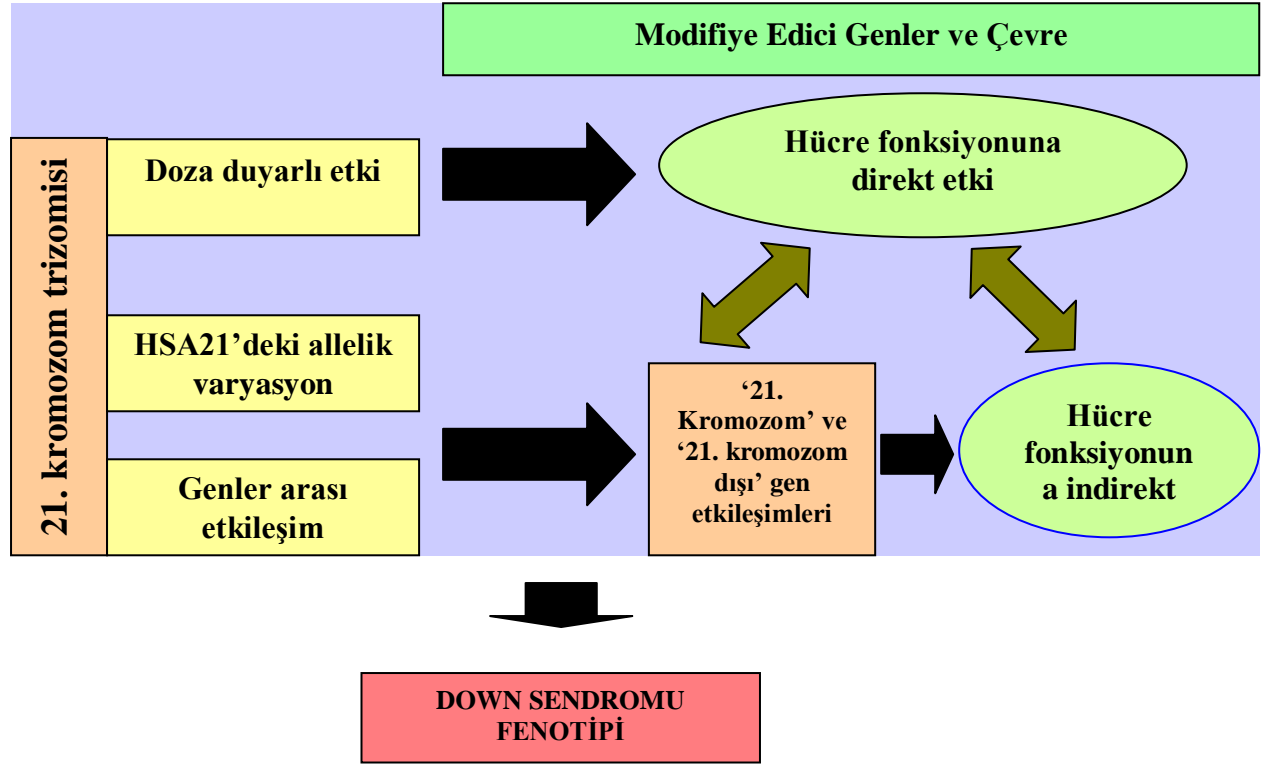
Modifiye edici genler: Down Sendromlu bireylerde görülen özelliklerin çoğunun şiddeti yani ekspresivitesi=fenotipe yansımaları ve birkaç nadir karakteristik özellik dışında, görülme sıklığı yani penetransı değişkendir. Daha önce de belirtildiği gibi, Down Sendromu fenotipini oluşturan özelliklerin hiçbiri bu sendroma ya da diğer kromozomal anormalliklere özgül değildir, hatta öploid kişilerde de görülebilirler (47). Bu geniş fenotipik varyasyonun varlığı genetik ve çevresel faktörlerin etkisini düşündürmektedir. Trizomik kromozom dışındaki genomun allelik içeriğinin Down Sendromu fenotipik özelliklerinin ortaya çıkışını ve şiddetini etkileyebileceği düşünülebilir.

Down Sendromunda görülebilen konjenital kalp hastalığına dair bazı yeni çalışmalar bu düşünceyi desteklemektedir. Down Sendromlu bireylerin yaklaşık yarısında çoğunluğu septumu ilgilendiren konjenital kalp defekti vardır. Öploid popülasyonda 1/ 10,000 sıklıkta görülen komplet atrioventriküler kanal defekti her 5 Down Sendromlu bireyden 1’inde saptanır (48). Başka bir açıdan bakarsak; Down Sendromluların %80’inde atrioventriküler kanal defekti yoktur, hatta yarısında kalp defektine rastlanmaz. Sonuç olarak; trizomi 21 konjenital kalp defekti gelişimi için tek başına yeterli değildir. Dizomik genomdaki mutasyon ve polimorfizmlerin bu varyasyona katkı yaptığı düşünülmektedir (46).

Konjenital kalp hastalığı, lösemiler ve Hirschprung hastalığı gibi tıbbi problemlerin Down Sendromlu çocuklarda öploid popülasyondan daha sık görülüyor olmasına rağmen tümünde görülmemesi, bazı ilave genetik faktörlerin varlığı düşüncesini desteklemektedir. Bu durumlara trizomi 21 tek başına neden olmamakta, ancak görülme olasılığını arttırmaktadır. Yatkınlığa neden olan modifiye edici genlerin etkileri trizomi 21 ile birleşince fenotipe yansıyabilecek eşik aşılarak yeni bir etki ortaya çıkıyor olabilir. Bu nedenle kromozomal sayıdan bağımsız olarak “sensitize” Down Sendromlu popülasyonda genetik varyasyonların saptanması bu fenotipik özelliklerin genetik mekanizmalarının aydınlatılmasına katkıda bulunabilir (46).

Down Sendromlularda görülen 21. Kromozomun trizomisinin her zaman negatif etkisi olmayabilir. Buna en iyi örnek Down Sendromlularda solid tümörlerin (49,50) ve aterosklerozun (51,52) daha az görülüyor olduğu gözlemdir. Down Sendromlu bireylerde bu koruyucu etkilerin araştırılması; Down Sendromluların izlem ve tedavisi yanı sıra, Down Sendromlu olmayan popülasyon için önemli ipuçları elde edilmesini sağlayabilir.

Down Sendromu fenotipi; triploid ve diploid genlerin, çevre ve modifiye edici genlerle etkileşiminin, farklılaşmasını tamamlamış matür hücreler ve bu hücrelerin etkilediği hücrelerle oluşan genomik atmosferin bir sonucu olarak kliniğe yansır. Yukarıda bahsi geçen olası mekanizmalar Şekil 7’de özetlenmiştir.



Şekil 7: Down sendromu fenotipinin oluşum mekanizması (Roper ve arkadaşlarından modifiye edilmiştir) (46).

21. kromozom üzerinde bulunan ve sendromun klinik özellikleriyle ilişkili olabildiği düşünülen genler tablo 1 de gösterilmiştir (9,53).

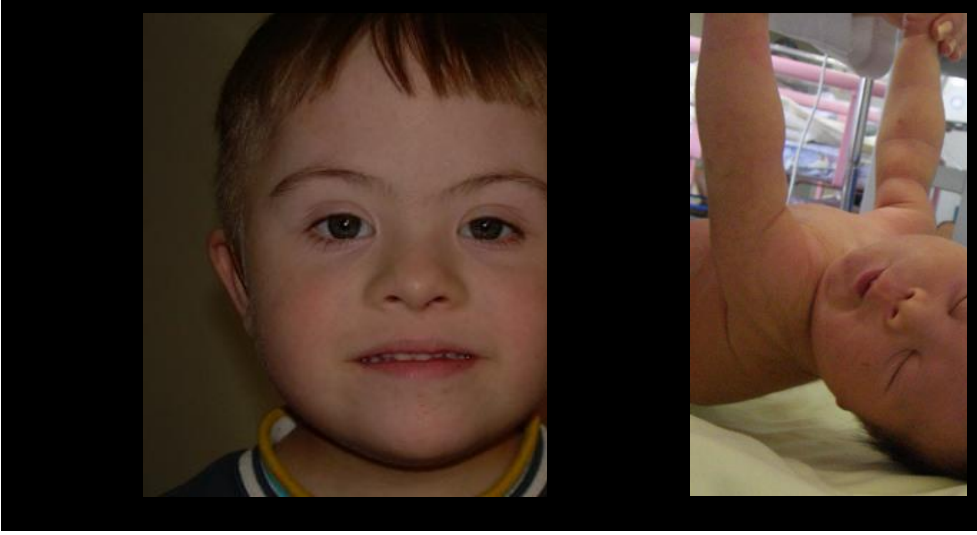
Genler	Gen isimleri	Bulgular
SOD1	‘Superoxide dismutase 1’	Erken yaşlanma ve bağışıklık sistemi bozuklukları
COL6A1	‘Collogen 6 Alfa 1’	Kalp anomalileri
ETS2	‘Erythroblastosis 2’	İskelet anomalileri ve lösemi
CAF1A	‘Chromatin assembly factor 1A’	DNA sentezinde hatalar
CBS	Sistation β sentaz	DNA metabolizması ve tamirinde bozukluk
DYRK	‘Dual specificity tyrosine phosphorylation regulated kinaz’	Zeka geriliği
CRYA1	‘Alpha 1-crystallin’	Katarakt
GART	‘Glycinamide phosphoribosylformyl transferase’	DNA sentezi ve tamirinde hatalar, beyin gelişimi; prenatal beyin gelişimi
SIM2	‘Single minded homolog 2’ (drosophila)	Beyin gelişimi, senkronize hücre bölünmesi
DYRK1A	‘Dual specificity tyrosine-(Y)- phosphorylation regulated kinase 1A’	Beyin gelişimi ve hücre bölünmesi sırasında hücre-siklus kinetiğinin regülasyonu
PCP4	‘Purkinje cell protein 4’	Beyin gelişimi? Fonksiyonu tam bilinmiyor, ama beyinde ve özellikle serebellumda bulunmaktadır
DSCAM	‘Down syndrome cell adhesion molecule’	Beyin gelişimi ve konjenital kalp hastalıkları için olası aday gen: beynin tüm moleküler bölgelerinde bulunur ve sinir sistemi gelişimi sırasında aksonal gelişimde rolü olduğuna inanılır
GRIK1	‘Glutamate receptor, ionotropic, kainite 1’	Nöronal kayıp? Fonksiyonu bilinmiyor, fetal ve erken postnatal hayatta kortekste bulunur, çoğu korteksin piramidal hücrelerinde konsantredir
APP	‘Amyloid beta (A4) precursor protein (protease nexin-II)’	Alzheimer tip nöropati: spastisite, sinir gelişimi ve nöroproteksiyon
S100B	‘S100 calcium binding protein, beta (neural)’	Alzheimer tip nöropati: glial çoğalmı uyarır

Tablo 1: Down Sendromu gelişiminde yer aldığı tahmin edilen genler

2.2.6 Down Sendromlu hastanın klinik değerlendirmesinde dismorfik bulguların belirlenmesi

Sendromların klinik tanısında, dismorfik bulguların doğru ve sistematik bir biçimde kaydedilmesi önemlidir. Down Sendromu, en sık görülen ve fenotipik bulgularıyla en kolay tanınan sendromlardan biridir.

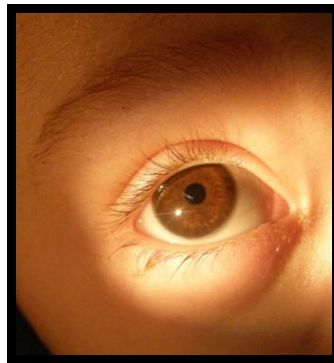
Karakteristik yüz görünümü, mental retardasyon, yaygın hipotoni, buna bağlı olarak ağzın genellikle açık ve dilin dışarıya doğru sarkmış olması en tipik bulgularıdır. Kaslardaki bu gevşeklik ayrıca, diastazis rekti, eklem hipermobilitesi, yürüyüş bozukluğu gibi bulgulara da yol açabilir (Resim 1-2).



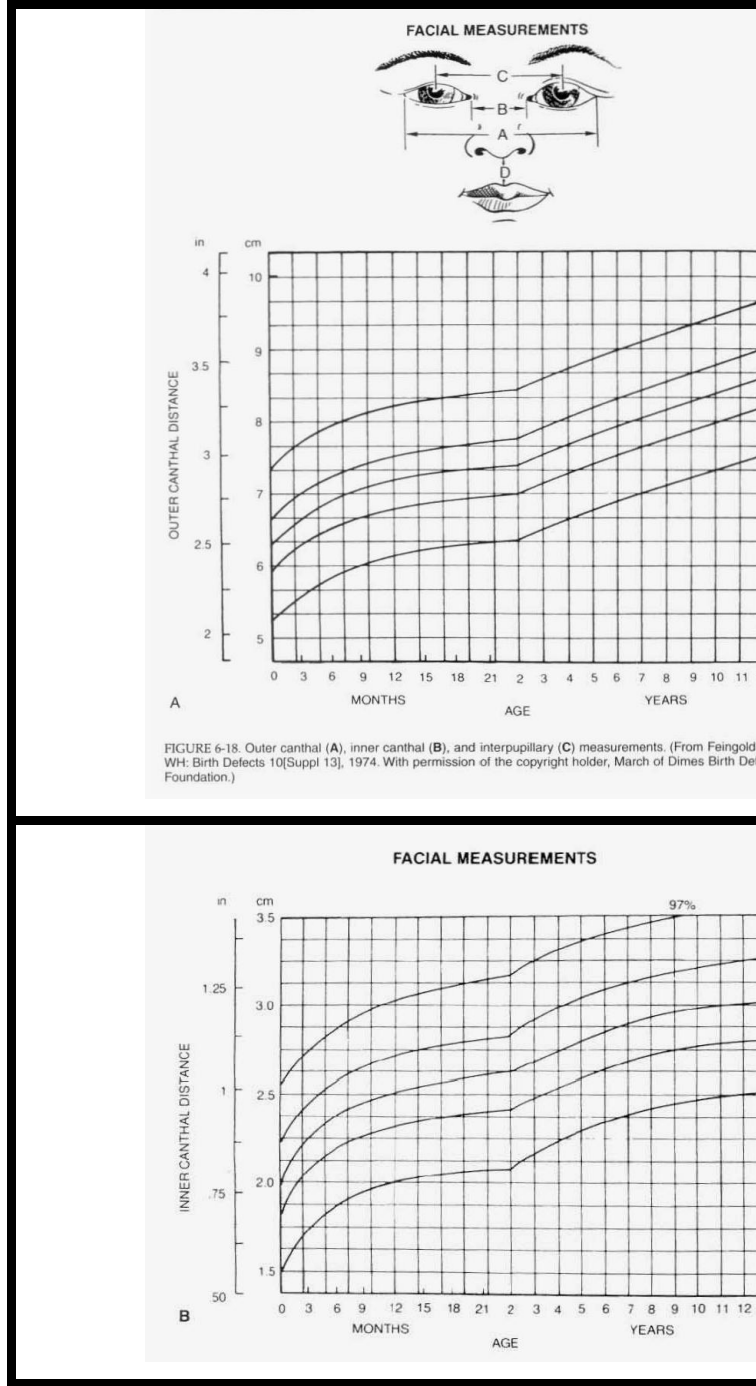
Resim 1-2: Down Sendromlu bir hastanın tipik yüz görünümü ve başka bir hastada hipotoni görünümü

Hafif bir oksipital düzleşme ile beraber mikro-brakisefali, ince kranium ve fontanellerin geç kapanması, frontal sinus hipoplazisi, epikantus, yukarı çekik gözler, kısa sert damak, basık burun kökü ile birlikte küçük burun **kraniofasial muayenede** not edilmesi gereken özellikleridir.

Brushfield lekeleri (iriste lekelenme), hipertelorizm, başta miyopi olmak üzere kırma kusurları (%70), nistagmus (%35), strabismus (%45), gözyaşı kanalında tıkanıklık, opak lens (%59) taranması gereken **göz bulgularıdır** (Resim 3), (Şekil 8).



Resim 3: Brushfield lekeleri



Şekil 8: Hiper/hipotelorizm, telekantus, filtrum uzunluğu gibi parametrelerin değerlendirilmesi için “**yüz ölçüm cetvelleri**” kullanılır. **A;** dış kantuslar, **B;** iç kantuslar ve **C;** pupiller arası uzaklık.

Helikste katlanma ile birlikte küçük kulaklar, lobul anomalileri, işitme kaybı (%66), orta kulakta sıvı birikimi (%60-80), kısa boyun, dişlerde hipoplazi ve düzensizlik görülebilir (Resim 4, 5).



Resim 4: Kısa boyun

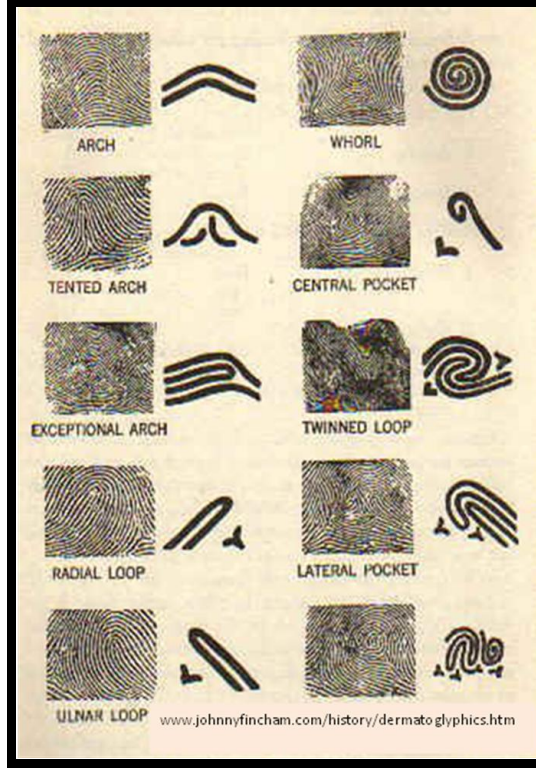


Resim 5: Dişlerde düzensizlik

Metakarp ve falankslarda kısalık, 5. parmakta orta falanks kısalığı (%60) ve buna bağlı klinodaktili (%50), simian çizgi (%40), dermatoglifik paternde değişiklikler (parmaklarda ulnar loop paterni), ayakta; 1 ve 2. parmaklar arasında açıklık, 'frown oluğu' görülür (Resim 6,7), (Şekil 9).



Resim 6: Metakarp ve falankslarda kısalık, 5. parmakta klinodaktili ve simian çizgisi



Şekil 9: Dermatogliflik paternde değişiklikler
(Down Sendromlu çocuklarda ulnar loop paterni)



Resim 7 : ‘Furrow oluğu’ ve 1-2. parmaklar arasında açıklık

Ense kıvrımlarında silinme, deride zamanla artan hiperkeratoz (%75), özellikle ekstremiteelerde gözlenen kutis marmaratus, adölesan dönemde perigenital, gluteal ve kasık bölgesinde folliküler püstüller şeklinde başlayan infeksiyonlar (%50-60) görülür.

2.2.7 Down Sendromunda fenotipik bulgular, sistemik tutulum/genotip ilişkisi

Herhangi bir Down Sendromlu olguda, beklenen fenotipik bulgulardan birçoğu bulunabilir ve kolayca tanısı konulabilir ise de, bulguların hepsini taşıyan Down Sendromlu hasta sayısı oldukça azdır. Diğer taraftan hiçbir fenotipik özellik Down Sendromu için patognomonik değildir bu nedenle fenotipik özelliklerin bir kısmını taşıyan olgularda genetik çalışma yapılmaksızın Down Sendromu tanısının konulması uygun değildir.

Sendrom klinik varyasyonlar dahilinde, karakteristik özellikleri ve ilişkili sistemik malformasyonlarıyla kolayca tanınabilmektedir. Sendroma ait problemlerle mücadelede sendromun ve oluşturduğu klinik problemin erken tanısı çok önemlidir. Özellikle mevcut somatik ve entelektüel gelişimi olumsuz yönde etkileyebilecek; hipotroidi, konjenital kalp defektleri, otolojik ve oftalmolojik sorunlara erken müdahale hastaların tedavisinde daha olumlu yanıtlar alınmasını sağlamaktadır. Gelişmekte olan ülkelerde sendromun prenatal tanısı için yapılan değerlendirmeler (prenatal tarama testleri) sınırlı olup, pek çok vaka postnatal periyotta tanı almaktadır.

Yenidoğan döneminde sendrom özelliklerinin tanımlanmasındaki güçlük tanıda gecikmelerin başlıca nedeni olmaktadır (54). Hall ve ark, Down Sendromlu yenidoğanların klinik özellikleri arasında hipotoni, zayıf moro refleksi, eklem hiperfleksibilitesi, kalın ense deri katlantısı, basık yüz profili, yukarı eğimli palpebral fissürler, aurikula anomalileri, pelvis displazisi, beşinci orta falanksta displazi ve simian çizgisi gibi özelliklere dikkat çekmişlerdir. Daha büyük yaştaki Down Sendromlu çocukların klinik değerlendirmeleri sonucunda ise vakaların çoğunluğunda mongoloid yüz görünümü, hipotoni, kulak anomalileri, epikantus, basık yüz ve simian çizgisi gibi bulgular ön plandadır (55).

Down Sendromlu bir yenidoğan mutlaka konjenital kalp defektleri, otolojik ve oftalmolojik patolojiler açısından değerlendirilmelidir (9).

Konjenital kalp hastalıkları

Down Sendrom'lu olgularda en sık görülen major malformasyon konjenital kalp hastalığıdır. Down Sendromu'nda KKH görülme sıklığının %30-60 olduğu, KKH olan olguların % 4-6'sını Down Sendrom'lu olguların oluşturduğu, KKH olan Down Sendrom'lu olguların yaşam sürelerinin daha kısa olduğu bilinmektedir (56,57-60).

Ekokardiyografik inceleme yapılan bir çalışmada 227 Down Sendromlu olgunun %44'ünde, başka bir çalışmada 275 olgunun %58'inde, bir diğer çalışmada 51 olgunun %58.8'inde KKH tespit edilmiştir (61,62,63). Ekokardiyografi, kardiyak kateterizasyon ve otopsi sonuçlarına göre yapılan bir çalışmada 95 olgunun %61.3'ünde; ekokardiyografi ve kardiyak kateterizasyon ile yapılan başka bir çalışmada 5581 olgunun %26'sında KKH saptanmıştır (64,65).

Yenidoğan döneminde ekokardiyografi ile değerlendirilen 114 Down Sendromlu olgunun %68'inde kardiyak patoloji rapor edilmiş, fizik muayenenin yanı sıra ekokardiyografi ile Down Sendromlu olguların neonatal periyotta KKH'nın erken tespiti için tetkik edilmesi tavsiye edilmiştir (66).

Yapılan bir çalışmada KKH olan Down Sendromlu olgularda %45 oranında atriyoventriküler septal defekt (AVSD), %35 oranında ventriküler septal defekt (VSD), %8 oranında izole atriyal septal defekt (ASD), %7 oranında izole patent duktus arteriozus (PDA) saptanmış (61). Başka bir çalışmada KKH saptanan olguların %24'ünde ASD, %22'sinde VSD, %21'inde PDA, %8.7'sinde AVSD saptanmış, en sık görülen klinik bulgunun kalp yetmezliği olduğu rapor edilmiş (62). Yapılan diğer iki çalışmadan birinde KKH tanısı alan olguların %33.3'ünde VSD, %22.8'inde AVSD, %21.1'inde ASD, %14'ünde PDA, %5.3'ünde fallot tetralojisi; diğer çalışmada KKH tanısı alan olguların %63.3'ünde ASD, %10'unda VSD, %10'unda fallot tetralojisi, %5'inde AVSD rapor edilmiş (64,63).

Down Sendromlu olgularda ekokardiyografik değerlendirme ile tespit edilen perikardiyal efüzyon, genellikle viral enfeksiyonlar ve hipotiroidiye bağlı olarak bildirilmiş olup, geçici myeloproliferatif sendrom, çölyak hastalığı ile de birlikteliği gösterilmiştir (67,68,69). Perikardiyal efüzyonun fetal ultrasonografi ile trizomi 21'li fetüslerde saptandığı da bildirilmiş, perikardiyal efüzyon gösterilen fetüslere kromozom tayini yapılması önerilmiştir (70,71). Concolino ve arkadaşları, yaşları 1 ay-19 yıl arasında değişen 86 Down Sendromlu olgunun %28'inde ekokardiyografi ile KKH olmaksızın asemptomatik perikardiyal efüzyon saptamışlar, olgulardan sadece birinde hipotiroidi, üçünde çölyak hastalığı göstermişler, %41'inde perikardiyal efüzyonun iki yıllık takipte spontan olarak gerilediğini rapor etmişlerdir (68).

Down Sendromlu fetüslerin otopsisinde canlı doğan Down Sendromlulardan daha yüksek oranda KKH saptanmıştır. Hyett ve arkadaşları, Down Sendromu tanısı almış 60 fetüsün otopsisinde %44 oranında VSD veya AVSD, diğerlerinde büyük damar patolojileri saptamışlar, intrauterin ile postnatal hayatta saptanan KKH oranlarındaki farkın, KKH olan

Down Sendromlu fetüslerin daha sık kaybedilmesinden veya bazı septal defektlerin doğuma kadar kapanmasından kaynaklanmış olabileceği üzerinde durmuşlardır (72).

KKH Down Sendrom'lu kız olgularda daha yüksek oranlarda bulunmuş, cinsiyet ile KKH sıklığının araştırıldığı bir çalışmada KKH tanısı almış Down Sendromlu 210 olgudan %40.4'ünün erkek, %59.3'ünün kız olduğu rapor edilmiştir (73).

Down Sendromlu çocuklarda, anne yaşı ile KKH sıklığı arasında anlamlı bir ilişki bulunmamıştır (61).

Down Sendromunda, 21. kromozom üzerinde; KKH'na neden olan bölge moleküler genetik yöntemlerle araştırılmakta, KKH oluşmasından 21. kromozomun uzun kolu üzerindeki 22.2-22.3 bantları arasındaki bir bölge sorumlu tutulmaktadır (74).

Yirmibirinci kromozomun trizomisi dışında, KKH'ları ile ilişkili bazı gen polimorfizimleri, mutasyonlar ve 22q11.2'de duplikasyon gösterilmiştir. 22q11.2'de mikroduplikasyon taşıyan kişiler şiddetli ve normal arasında değişen fenotip görüntülerler. Hatta aynı aile içinde çok farklı klinik bulgularla karşımıza çıkabilirler. Örneğin Hu ve arkadaşlarının Nisan 2011'de bildirdikleri bir yayında; VSD, triküspit atrezisi, PDA ve aortik ark anomalisine sahip ağır konjenital kalp kusuru olan bir fetus ile başvuran normal fenotipe sahip bir gebe vakasında; fallot tetralojisi ile arka arkaya üç anormal gebelik öyküsü saptanmış, dizi karşılaştırmalı genomik hibridizasyon (arrayCGH) analizi fetus genomu içinde 22q11.2 mikroduplikasyonunu ortaya koyarken, Floresan in situ hibridizasyon (FISH) ve kısa tandem tekrar polimorfizmi (STRP) testlerinde etkilenen fetusün, anneden interstisyel 22q11.2 mikroduplikasyonunu aldığı, sağlıklı ebeveynlerinden biri tarafından taşınan bu delesyonun tekrarlayan fetal kalp kusurlarına katkıda bulunduğu gösterilmiştir (75).

CRELD1 (Cysteine-Rich Protein with EGF-like Domains 1) bilinen önemli bir hücre adezyon molekülü olarak kalp gelişiminde çok önemli rol oynar, Down Sendromunda atriyoventriküler septal defekte ve ayrıca sporadik AVSD'e neden olduğu bilinmektedir. KKH tanısı almış 100 hasta ve 50 sağlıklı kontrol grubuna tek nükleotid polimorfizmi (SNP) genotipleme yapılmış. Analizde hastaların ikisinde CRELD1'de bir SNP c.985 C> T oluşumu saptanırken, kontrol grubundaki bireylerin hiçbirinde saptanmamış. CRELD1'deki bu nükleotid değişiminin ikincil yapı içinde β -sheet değişimine yol açarak KKH'na yatkınlığa neden olduğu öne sürülmüştür (76).

Ayrıca, aktive T lenfositlerin nükleer faktörü (NFATc1), valvüler ve septal gelişim sırasında kritik bir rol oynamaktadır. Genetik varyantlar proteinin biyolojik fonksiyonlarını etkilemekte ve böylece valvuloseptal defektlere karşı yatkınlıkta rol oynamaktadır. Ardışık tekrar polimorfizimleri ve NFATc1 ortak non-sinonim polimorfizmi (Cys751Gly) için,

hastane tabanlı bir vaka-kontrol çalışmasında valvuloseptal kalp anomalili 241 hasta ve 557 kişilik kontrol grubuna genotiplendirme yapılmış. Varyant homozigot (LL) ile ilişkili valvuloseptal defekt riski önemli ölçüde mild-tip homozigottan daha fazla bulunmuş. LL genotipine sahip bireylerde perimembranöz ventriküler septal defekt riski daha yüksek kabul edilmiş. Perimembranöz ventriküler septal defekt yatkınlığında NFATc1 ardışık tekrar polimorfizminin bir belirteç olarak kullanılabilceği belirtilmiş (77).

NKX2.5 (NK2 HOMEBOX 5) omurgalılarda kalp gelişiminin septalı düzenlenme ile kardiyak şekillenmesinde ve olgunlaşmasında ve yaşam boyunca atriyoventriküler düğümün bakımında rol oynayan önemli bir transkripsiyon faktörüdür. KKH ile ilişkili NKX2.5 tek nükleotid polimorfizmleri (SNP) hakkında birçok çalışmada; sadece SNP c.608A> G (p.E203G) ve c.852G> A (p.N226D), KKH'lı bireylerde saptanmış ve ilişkisi gösterilmiştir (78).

Endokardiyal yastık defekti en sık görülen doğumsal kalp hastalıklarından biridir. VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor) endokardiyal yastık oluşumu için gereklidir ve VEGF sentez düzensizliği endokardiyal yastık defektine yol açar. VEGF genindeki üç fonksiyonel tek nükleotid polimorfizmi; (SNP) -2578 C> A, -1154 G> A ve -634 G> C kardiyogeneziste etkili olmaktadır. VEGF genindeki bu tek nükleotid değişimlerinin endokardiyal yastık defektine yatkınlık yarattığı gösterilmiştir (79).

Down Sendromlu olgularda saptanan konjenital kalp hastalıklarını üç ana gruba ayırmak mümkündür:

- 1- Atriyoventriküler septal defektler
- 2- Konotrunkal defektler
- 3- Pozisyon bozuklukları

Diğer trizomilerde gözlenen hipoplastik sol kalp sendromu, trunkus arteriozus ve dekstrokardi anomalilerinin Down Sendromunda görülme sıklıkları artmamıştır (56) .

Atriyoventriküler septal defektler iki grupta incelenmektedir:

a- Komplet AVSD; ostium primum ASD, inlet VSD, anterior mitral kapakçıkta yarık (kleft), triküspit kapağın septal kapakçığında yarık anomalilerini içermektedir.

b- Parsiyel AVSD; Atrial septumun alt kısmında, atriyoventriküler kapağın yanında bir defekt vardır. Patofizyolojisi ostium sekundum ASD'ye benzer.

Atrioventriküler septal defektler tüm kardiyak anomalilerin %3'ünü oluşturmakla ve her iki cinsi eşit etkilemekle birlikte Down Sendromunda kız cinsiyette fazlalığı (kız/erkek: 1.3/1) dikkat çekmektedir (80). Atrioventriküler septal defektler tedavi edilmediğinde konjestif kalp yetmezliği ve akciğer infeksiyonu nedeniyle ölümlerle sonuçlanmaktadır. Takipte ortaya çıkan irreversibl pulmoner hipertansiyon kötü prognoz göstergesidir (80,81). Tedavide dijital, diüretik, vazodilatatörler ve 3-6 ay arasında cerrahi ile düzeltme operasyonu önerilmektedir (80,82). Cerrahi girişim uygulamanın yüksek riskli olacağı düşünülen infantlarda pulmoner artere 'banding' yapılarak, pulmoner kan akımının ve pulmoner arter basıncının azaltılması, konjestif kalp yetmezliğinin ve pulmoner vasküler hastalık gelişiminin önlenmesi amaçlanmaktadır. Ciddi atrioventriküler kapak yetmezliği olanlarda bu operasyon uygulanamamakta, hastanın yaşı, preoperatif ciddi kapak yetmezliği olması ve ek kardiyak malformasyonların bulunması risk faktörleri olarak kabul edilmektedir. Primer AVSD düzeltilmesinde genel mortalitenin %5-10'dan düşük olduğu, uzun süreli izlemde prognozun iyi olduğu, cerrahi uygulanan olguların %85-95'inin yeni bir operasyona gereksinim duymadığı bildirilmiştir (80).

Beş AVSD, iki AVSD+PDA, beş VSD, dört VSD+PDA anomalisi olan 16 Down Sendrom'lu olguya yaşamlarının ilk iki ayında pulmoner banding operasyonu, bir yıl sonra intrakardiyak düzeltme operasyonu uygulanmış, olgulardan her iki operasyon öncesi ve sonrasında akciğer biyopsisi alınarak olgular pulmoner vasküler hastalık açısından değerlendirilmiş ve pulmoner artere erken 'banding' uygulanması ile pulmoner vasküler hastalık gelişiminin önlenildiği gösterilmiştir (83).

Gastrointestinal sistem anomalileri

Down Sendrom'lu olgularda gastrointestinal sistem (GİS) ile ilgili anomali görülme sıklığı normal populasyondan 20 kat fazladır (26). Gastrointestinal sistem anomalileri olarak duodenal atrezi, hirschsprung hastalığı, omfalosel, duodenal bandlar, anüler pankreas, ileal ve jejunal atrezi, anal atrezi, malrotasyon ve diyafragma hernileri görülmektedir. Anomali olmaksızın sık görülen problemler kronik konstipasyon, kusma, karın şişliği ve solunum yoluna ait semptomlara neden olan gastroözofageal reflüdür (57).

Bir çalışmada, 98 Down Sendromlu olgunun 22'sinde (%22.4) GİS anomalisi olduğunu ve sekiz olguda görülen duodenal atrezinin en sık görülen gastrointestinal anomali olduğu,

diğer bir çalışmada ise 5581 Down Sendromlu olguda anüler pankreas ve duodenal atrezi sıklığının 300 kat, megakolon ve koanal atrezi sıklığının 100 kat arttığı rapor edilmiştir (64,65).

Kılıç ve arkadaşları, 51 olgudan 20'sinde (%39,2) GİS anomalisi saptamışlar, olguların büyük kısmında (%80) inguinal ve umbilikal herni, tekrarlayan akciğer enfeksiyonu olan üç olguda (%15) morgagni hernisi bulunduğunu rapor etmişlerdir (63).

Down Sendromlu olgularda lyak hastalığı birlikteliği de gösterilmiş olup, risk %7-16 olarak belirlenmiştir (57). Bir alışmada, 71 Down Sendromlu olgudan serolojik testleri pozitif dört olguya ince barsak biyopsisi ile lyak hastalığı tanısı konularak, sıklığı %5.6 olarak rapor edilmiştir (84).

Çölyak hastalığı olan Down Sendromlu olgularda boy ve ağırlık, lyak hastalığı olmayan Down Sendrom'lu olgulara göre daha geride olup, iki yaş üzerinde olan Down Sendromlu olgulara lyak hastalığı açısından tarama yapılması önerilmektedir (9).

Tiroid hastalıkları ve Otoimmunit

Etiyolojisi tam olarak aydınlatılamamış olsa da, Down Sendromu ve hipotiroidi arasında güçlü bir ilişki olduğu bilinmektedir (26). Down Sendrom'lu yenidoğan ve infantlarda primer konjenital hipotiroidizm, yenidoğan döneminden sonra subklinik hipotiroidi görülmekte, ileri yaşlarda otoimmun tiroidit ve hipertiroidi insidansı yükselmektedir.

Konjenital hipotiroidi sıklığı 1/3000-4000 olarak bildirilmekte, Down Sendrom'lu olgularda normal populyasyona göre 100 kat daha fazla görülmektedir. Tiroid hormon yetersizliği ile karakterize klinik bir durum olup, etyolojiden %80-85 oranında tiroid disgenezisi sorumlu tutulmaktadır (85).

Down Sendromlu olgularda tiroid disgenezisi hipotalamus ve hipofiz ekseninden kaynaklanan konjenital hipotiroidizm de görülmektedir (85,86).

Serbest tiroksin (T4) düzeyinin normal, tiroid stimüle edici hormonun (TSH) yüksek saptandığı subklinik-kompanse hipotiroidi de Down Sendrom'lu olgularda görülmektedir. Tirotropin salgılatan hormona (TRH) artmış TSH cevabı gösterilmekte, artmış TSH cevabı saptanan subklinik hipotiroidili olgulara düşük doz levotiroksin tedavisi verilmesi önerilmektedir (85,87,88).

Down Sendromlu yenidoğanlarda konjenital primer hipotiroidi sıklığı, normal populasyondan 28 kat daha yüksek bulunmuştur (89). Yapılan bir çalışmada yaşları 4 ay ile 3 yaş arasında değişen 49 Down Sendrom'lu olguda % 27 oranında TSH yüksekliği saptanmıştır (90).

Yetişkin Down Sendrom'lu olgularda % 66 oranında tiroid disfonksiyonu, tiroid disfonksiyonu saptananların %57'sinde TSH yüksekliği (5 mcIU/mlW), %28'inde tiroid otoantikörlerinin pozitif olduğunu rapor edilmiştir (91).

Seksen beş Down Sendrom'lu olgunun 30'unda (%35.2) tiroid disfonksiyonu tespit edilen bir çalışmada yaşı sekizden büyük olan hipotiroidili olguların büyük kısmında tiroid otoantikör pozitifliği, iki kız olguda graves hastalığı ve hipertiroidi, ötiroidik olan yaşları 2-11 yıl arasında olan sekiz olguda tiroid otoantikörlerinde (Antitiroglobulin, antitiroid peroksidaz) yükseklik tespit edilmiş, cinsiyet ile hipotiroidi sıklığı arasında anlamlı fark bulunmamıştır. Ayrıca; hipotiroidisi olup tiroksin tedavisi başlanan sekiz olguda yıllık boy uzamasında belirgin artış belirlenmiş, tiroksin tedavisi ile Down Sendromlu olgularda büyüme ve gelişmenin olumlu etkilendiği Trotsenburg ve arkadaşlarının çalışması da bu bulguyu desteklemiştir (92,93).

Down Sendrom'lu olgularda %29-40 oranında tiroid otoantikörleri saptandığı, olgulardaki tiroid disfonksiyonunun sebebinin otoimmün bir temeli olduğu, Down Sendromu ile diğer otoimmün hastalıklar arasındaki ilişkinin bu temeli desteklediği üzerinde durulmaktadır (26). Down Sendromlu olgular ile birinci derece akrabalarında alopesi areata, vitiligo, gluten enteropatisi, diabetes mellitus, jüvenil idyopatik artrit, psoriasis ve poliartrit gibi otoimmün hastalıklara da daha sık rastlanmaktadır (26).

Tüysüz ve arkadaşları, yaşları 5 gün ile 10 yaş arasında değişen Down Sendromlu 320 olgunun tiroid fonksiyon testlerini inceledikleri çalışmada, olguların %28'inde (n=90) anormallik tespit ettiklerini rapor etmişler, anormal test sonucu olan altı (%1.8) olgunun primer konjenital hipotiroidi, iki olgunun yenidoğanın geçici TSH yüksekliği, bir olgunun akkiz hipotiroidi, 16 olgunun TSH yüksekliği ile seyreden kompanse (subklinik) hipotiroidi tanısı aldıklarını bildirmişlerdir. TSH düzeyinde orta derecede yükseklik saptanan olgulara düşük doz levotiroksin tedavisi verdiklerini bildirmişler ve verilmesini önermişlerdir (94).

Yenidoğan döneminde yapılan tiroid fonksiyon testleri taramalarında, hafif biyokimyasal bozukluklar saptanan Down Sendromlu olgularda ileri yaşlarda otoimmün tiroid disfonksiyonu gelişebilmektedir. Down Sendromlu olguların tiroid fonksiyonlarının yılda bir kez kontrol edilmesi önerilmektedir (91,95).

Son yıllarda yapılan çalışmalarda FOXE1 polyalanine yolu (FOXE1-polyAla) uzunluk polimorfizmi ve konjenital hipotiroidiye neden olan tiroid disgenezisine genetik yatkınlık arasında ilişki ortaya konulmuş. 12 alanin içeren FOXE1-polyAla kısa varyantı, kontrol grubunda 5 (%5,6) kişide saptanmış, ancak tiroid hemiaenezisi bulunan grupta saptanmamıştır. FOXE1-polyAla uzun varyantlarının sıklığı sporadik tiroid hemiaenezisi ve kontrol grubu ile karşılaştırıldığında tiroid hemiaenezisi ailesel formu olan hastalarda daha yüksek bulunmuştur (96).

Genotipik IL5-746 C/T, IL6-572 C/G ve IL13-1112 C/T polimorfizmlerinin, fonksiyonel polimorfizmi bu sitokinleri düzenleyen genlerin promotör bölgelerindedir. Elli yedi inatçı Graves hastalıklı, 52 remisyonda Graves hastalıklı, 52 ağır Hashimoto hastalıklı, 56 ılımlı Hashimoto hastalıklı ve 91 sağlıklı kişi çalışmaya alınmış. IL-13 yüksek üretilebilirlik ile korele IL13-1112 T alleli, inatçı Graves hastalığı olanlara göre remisyonda Graves hastalığı olan hastalarda daha sık olarak gösterilmiştir. IL-5 düzeyi düşüklüğü ile ilişkili IL5-746 T alleli, kontrol grubuna göre remisyonda Graves hastalığı olan hastalarda daha sık olarak gösterilmiş. IL-6 yüksek üretilebilirliği ile ilişkili IL6-572 G alel taşıyıcıları kontrol grubuna göre özellikle remisyonda Graves hastalığı ve ağır Hashimoto hastalığı gibi otoimmün tiroid hastalıklarında daha sık olarak gösterilmiştir. Th2 sitokinlerini kodlayan genlerdeki fonksiyonel polimorfizm, otoimmün tiroid hastalık geliştirme ve prognozu birbirinden farklı ile ilişkidir (97).

Tip 1 diyabet (T1D) oto-reaktif T hücreleri, pro-inflamatuar sitokinler, reaktif oksijen türleri (ROS) ve insülin kaybı içeren pankreatik beta hücre yıkımı ile karakterize otoimmün bir hastalıktır. GST null genotip, kronik pankreatite karşı yatkınlık ile ilişkili bulunmuştur. T1D hastalarda ve 0-35 yaşındaki kontrol grubunda GSTM1 ve GSTT1 polimorfizmine bakılmış, sonuçlar GSTM1 varlığı ve null genotip saptanmamasının 14-20 yaşında T1D bir yatkınlık faktörü olabileceğini göstermiştir (98).

Kore'de yapılan bir çalışmada, GSTM1, GSTT1 ve GSTP1 polimorfizmlerinin, romatoid artrit şiddet ve riskine olan etkilerini belirlemek için yapılan çalışmada, GSTM1 ve delesyon polimorfizminin artmış yatkınlık ile ilişkili olduğunu düşündürmüştür (99).

Nöromuskuler problemler

Down Sendromlu olgularda zeka geriliği, kaslarda hipotoni, konuşma bozukluğu, mikrosefali, holoprosensefali, konvulziyonlar, atlantoaksiyel instabiliteye bağlı spinal kord basısı, alzheimer hastalığı, demans gibi nörolojik problemler görülebilmektedir (26).

Down Sendromlu hastaların en dikkat çekici özelliği hipotoni ve zeka geriliğidir. Ortalama 70 IQ (intelligence quotient) ile doğan Down Sendromlu hastalar eğitilebilir zeka geriliği grubu içerisinde yer almakta, eğitimle okuma ve yazma becerilerini kazanabilmektedirler (24).

Melyn ve arkadaşları, 612 Down Sendrom'lu olgunun 20 yıllık takiplerinde IQ düzeylerinin yaş ile azaldığını saptamışlardır (100).

Down Sendromlu hastalarda zeka geriliğinin nedeni tam olarak bilinmemekle birlikte, 21. kromozom üzerinde bulunan süperoksit dismutaz, S100 beta protein, amiloid prekürsör proteinin anormal ekspresyonunun nörodejenerasyona neden olduğu ileri sürülmüş, nörolojik tutulumun temelinde kortikal disgenezisin, nöronlardaki migrasyon kusurunun veya nörogenezisteki prenatal geriliğin rolü olabileceği üzerinde durulmuştur (101,102).

Down Sendrom'lu olguların tamamında nedeni tam olarak bilinmeyen kas hipotonisitesi vardır. KKH olanlarda özellikle ilk bir yıl içinde kas hipotonisitesi daha ağır gözlenmektedir (24).

Atlantoaksiyel instabilite, fleksiyon-ekstansiyon hareketleri sırasında, birinci ile ikinci servikal vertebra arasında bulunan atlantoaksiyel eklemden artmış mobilite olarak tanımlanmakta, Down Sendrom'lu olgularda %15-21 oranında görülmekte, ileri yaşlarda spinal kord basısına ve yaralanmasına neden olabilmektedir (25,103).

Adolesan Down Sendromlu olguların nörolojik incelemelerinde, ince ve kaba motor koordinasyonlarının ve nöromotor fonksiyonlarının azalmış olduğu, serebellar fonksiyonlarında herhangi bir bozulma olmadığı belirlenmiştir (26).

Down Sendromlu olguların %1-13,6'sında konvulziyonlar görülmekte, konvulziyonların nedeni neonatal hipoksi, KKH ya da enfeksiyona bağlı iskemi olarak bildirilmekte, anormal nöronal gelişimin de konvulziyonlara zemin hazırladığı üzerinde durulmaktadır (104). Epileptik nöbetlerin de normal bireylerden daha sık olduğu, değişik nöbet tiplerinin görüldüğü rapor edilmiştir (26).

Down Sendromlu 350 çocuk ve adolesan olgudan %8'inde epileptik nöbet, epileptik nöbet geçirenlerden %47'sinde parsiyel nöbet, % 32'sinde infantil spazm ve %21'inde generalize nöbet görüldüğü rapor edilmiştir (105).

Down Sendromlu olgularda ileri yaşlarda Alzheimer hastalığı gelişme riskinin arttığı saptanmış, Mori ve arkadaşları, otuz yaşından genç Down Sendrom'lu hastaların otopsilerinde, beyinde Alzheimer hastalığına özgü değişikliklerin ortaya çıktığını, nöron ve astrositlerde abeta amyloid depolanmasıyla senil plakların oluştuğu rapor etmişlerdir (106).

Göz bulguları

Down Sendromu'lu olgularda epikantus, mongoloid göz aksı, iriste brusfield lekeleri gibi fonksiyonel bozukluğa neden olmayan minör anomaliler ile birlikte fonksiyonel kayba yol açan konjenital katarakt, glokom, strabismus, kırılma kusurları gibi ciddi oküler anomaliler de görülebilmektedir (26).

Down Sendromu'nda göz bulgularının bir kısmı doğumda mevcut iken, bir kısmı çocuk büyüdükçe ortaya çıkmaktadır. Bir çalışmada, Down Sendromu tanısı almış, yaşları bir ay ile 17 yaş arasında değişen 60 olgudan %96,7'sinde epikantus, %33,3'ünde nistagmus, %26,7'sinde strabismus, %13,3'ünde bilateral konjenital katarakt, %10'unda blefarokonjuktivit, %6,7'sinde göz kapağı anomalileri, %6,7'sinde glokom, %3,3'ünde nasolakrimal kanal obstruksiyonu, %1,7'sinde bilateral retinoblastom, %1,7'sinde kronik üveit saptanmıştır (107). Başka bir çalışmada hastaların %33,9'unda hipertelorizm, %3,2'sinde nistagmus, %3,2'sinde brushfield lekeleri, %2,7'sinde şaşılık, %1,9'unda katarakt tespit edilmiştir (108).

Down Sendromlu olgulara yaşamlarının ilk altı ayında göz muayenesi yapılması ve yıllık kontroller ile takip edilmeleri önerilmektedir (57).

İnsanlarda, GSTT1 ve GSTM1 null genotip (T0M1, T1M0 ve T0M0) bazı göz hastalıkları ile ilgili süreçlerin patolojisi ile ilişkilendirilmiştir. Yapılan bir çalışmada glokomlu 107 Arap hasta (29 Psödoeksfolyasyonlu glokom, 49 primer açık açılı glokom ve 29 primer kapalı açılı glokom) ve 120 aynı yaş, cinsiyet, etnik kökklü kontrol grup arasında GSTT1 ve GSTM1 null genotip sıklığı karşılaştırılmış. Her üç GST polimorfizmi kontrollere göre tüm glokom grubunda ($p < 0,0167$) belirgin olarak daha sık görülmüş. Ancak, glokom tipine göre sınıflandırıldığında T0M0, herhangi bir glokom türü ile ilişkisi bulunmamış. Azalmış GST fonksiyonu oksidatif ara metabolizması ile etkileşebilir ve optik sinir üzerinde

oksidatif stresin doğrudan ya da dolaylı zararlı etkileri şiddetlendirebilir. Bu GST polimorfizmlerinin glokom için risk faktörü olabileceğini düşündürür (109).

GST polimorfizmleri senil katarakt gelişimi için risk faktörleri olarak kabul edilmiştir. Ancak, sonuçlar tutarlı değildir. GSTM1 ve GSTT1 null genotip ve senil katarakt riski arasındaki ilişkiyi değerlendirmek için yapılan meta-analizde GSTM1/GSTT1 polimorfizmleri ve senil katarakt arasındaki ilişkiyi değerlendiren tüm çalışmalar dahil edilmiş. On bir tane GSTT1 (1180 olgu, 706 kontrol) ve beş tane GSTM1 (1871 vaka ve 1267 kontrol) çalışması dahil edilmiş. GSTM1 null genotip ve senil katarakt riski arasındaki ilişki istatistiksel olarak anlamlı olmadığını ve GSTT1 null genotip ve senil katarakt riski arasındaki ilişkinin önemli olmadığını gösterilmiştir. Alt grup analizi GSTM1 null genotip ve senil katarakt riski arasındaki ilişki istatistiksel olarak Asyalılarda anlamlı olduğu ancak Kafkasyalılarda anlamlı olmadığı bildirilmiştir. Benzer sonuçlar GSTT1 null genotip ve senil katarakt riski arasında ilişki de gözlenmiş, bu meta-analiz GSTM1 ve GSTT1 null genotip Asya topluluklarında senil katarakt riski ile ilişkili olduğunu göstermiştir (110).

Ayrıca senil kataraktı olan 53 hasta ve 73 sağlıklı birey arasında, polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile GSTM1 ve GSTT1 gen polimorfizmleri değerlendirilmiştir. GSTM1 pozitif genotip ve kombine "GSTM1-positive/GSTT1-positive" genotip Mısırlılar arasında senil katarakt gelişimi riski ile ilişkili bulunmuş ancak, "GSTM1-null/GSTT1-positive" genotipin koruyucu olduğu tespit edilmiştir. Bu nedenle, hastalığa yatkınlıkta belirli bir GST gen rolü değerlendirirken, farklı biyotransformasyon enzimleri de dikkate alınmalıdır (111).

İşitme problemleri

Down Sendromlu olgularda kulak infeksiyonları sık görülmekte, bu durum; immun sistemlerinin zayıf olması, basık yüz yapısı, kafa kemiklerindeki farklılıklar ve sinüslerinin dar olması ile izah edilmektedir. Down Sendrom'lu olguların % 50'den fazlasında efüzyonlu orta kulak iltihabı görülmekte, %5'i bir yıl içinde bilateral işitme kaybı ile sonuçlanmaktadır (26). Timpanostomi tüpünün yerleştirilmesi ile işitme kaybının düzelmesi, normal olgular düzeyinde olmamaktadır (112).

Gestasyon haftası 17-24 arasında olan trizomi 21'li fetüslerin temporal kemikleri incelenmiş, orta ve dış kulak yapılarında gelişimsel bozukluklar belirlendiği rapor edilmiştir (113).

Down Sendromlu olgularda mikrotubul düzeyinde silier motilite bozuklukları saptandığı ve bu bozuklukların otit ve sinüzit sıklığını artırdığı bildirilmiştir (114). Mc Lean ve arkadaşları, Down Sendromu tanısı almış 10 olgunun dördünde yapısal silia anormallikleri, beşinde nazal epitelyumda metaplazi belirlediklerini, klinik olarak kronik sinüzit, otitis media ve tekrarlayan üst solunum yolu infeksiyonları saptadıklarını rapor etmişlerdir (115).

İşitme kaybının değerlendirilmesi, entelektüel gelişimi etkilemesi nedeniyle çok önemlidir. Down Sendromlu hastaların %38-78'i bu probleme sahip olabilmekte ve hastalarda işitme kaybı iletim tipi, sensörinöral veya miks tip şeklinde saptanabilmektedir. Tekrarlayan otit media ve seröz otitin medikal tedavileri yanı sıra cerrahi önlemler (ventilasyon tüpü uygulaması, adenotonsillektomi) pek çok hasta için özellikle iletim tipi işitme kaybının önlenmesi için gerekli olabilmektedir. İşitme cihazları ve kohlea implantı gibi tedaviler konuşma terapileriyle kombine edilerek uygulandığında daha olumlu sonuçlar elde edilmektedir (116-118).

Down Sendromlu olguların yaşam kalitesini iyileştirme açısından işitme fonksiyonlarının yılda bir kez kontrolü ve infeksiyonların etkin tedavisi önerilmektedir (57).

Reaktif oksijen türlerinin, gürültüye bağlı işitme kaybı altında yatan mekanizmanın bir parçası olduğu düşünülerek, GSTT1, GSTM1 ve GSTP1 için bir çelik fabrikasından gürültüye maruz kalan 58 erkek işçide oluşan geçici eşik kayması üzerinde genetik mutasyonun etkisinin belirlenmesi amaçlanmıştır. GSTT1 null, GSTM1 null ve GSTP1 ile (105) / ile (105) tüm genotiplerini taşıyan bireylerin gürültüye bağlı işitme kaybına yatkın olduğu bulunmuştur (119).

İç kulak hasarında reaktif oksijen radikallerinin önemli bir rol oynayabileceğini varsayarak, ani sensörinöral işitme kaybının GSTM1 ve GSTT1 genotipleri ile ilişkili olup olmadığı araştırılmıştır. GSTM1 ve GSTT1 null genotip sıklığı hasta ve kontrol grup arasında farklı bulunmamıştır (120).

GSTP1, GSTM1 ve GSTT1 polimorfizmleri ve yaşa bağlı işitme kaybı arasında anlamlı bir ilişki gösterilememiştir (121).

İskelet Sistemi Bulguları

Down Sendrom'lu olgularda %15-21 oranında görülmekte olan atlantoaksiyel instabilite, olguların % 1-2 sinde spinal kord basısı bulgularına neden olmaktadır (25,26).

Yaşları 15'in üzerinde olan 44 Down Sendromlu olgu klinik ve radyografik olarak incelenmiş. %18'inde asemptomatik atlantoaksiyel instabilite, %12'sinde C1-2 de konjenital anomali, %36'sında servikal spondiloz saptanmış, yaşla birlikte dejeneratif değişikliklerin arttığı ve dejeneratif değişikliklerin normal populasyondan daha erken yaşlarda görüldüğü rapor edilmiştir (103).

İmmünolojik değişiklikler

Down Sendromlu olgularda infeksiyon hastalıkları sık görülmekte; timus anatomileri yaşlarına göre farklılıklar göstermekte; kortekste incelmeye, kortikomedüller ayırımı ile lenfoid dokuda azalma, hassal korpüskül boyutunda büyüme görülebilmekte, T lenfosit prekürsörlerinde anormal dağılım olmaktadır (26). Olguların humoral ve hücreli immün sistemlerinin yanısıra fagosit fonksiyonlarında da bozukluklar olduğu, T lenfositlerinin (özellikle CD4+T hepler hücreleri) normal populasyona göre düşük olduğu gösterilmiştir (26,122).

Hematolojik sorunlar

Down Sendromlu olgularda lösemi insidansı, normal populasyona göre 10-18 kat artmış olup, olgularda hayatın ilk bir yılında akut nonlenfoblastik lösemiler, üç yaşından sonra ise akut lenfoblastik lösemiler daha sık görülmektedir. Down Sendrom'lu yenidoğanlarda geçici myeloproliferatif sendrom ve lökomoid reaksiyonların sıklığı artmış olarak bulunmuştur (26,123). Down Sendrom'lu olguların eritrositlerinin ortalama eritrosit hacmi değerinin de, normal kontrollerine göre artmış bulunduğu bildirilmektedir (124,125).

Ksenobiyotikleri metabolize eden gen polimorfizminin frekansları, akut lenfoblastik lösemi (ALL) tanılı 332, akut myeloblastik lösemi (AML) tanılı 71 ve 490 sağlıklı donör çocuk üzerinde allel spesifik hibridizasyon kullanılarak tespit edilmiştir. GSTT1 "null" genotip ve GSTT1/GSTM1 çift "null" genotip sıklığında istatistiksel olarak anlamlı artış sağlıklı donör grubuna göre akut lösemili çocuklarda ortaya konmuştur. NAT2 genotip 341T/T, 481C/C, 590G/G sıklığında da 1.8 kat artış sağlıklı donör grubuna göre akut lösemili çocuklarda saptanmış. Gen-gen etkileşimi analizinde GSTT1 "null" ve/veya GSTM1 "null" genotip ile NAT2 genotip 341T/T, 481C/C, 590G/G birlikte değerlendirildiğinde normal populasyona göre akut lösemi hastalarında anlamlı olarak daha sık olduğunu gösterilmiştir.

MTRR genotip 66G/G sıklığında göreceli olarak azalma sağlıklı kız donörlere göre akut lösemili kızlarda saptanmıştır. Böylece polimorfik varyant genler GSTT1, GSTM1, NAT2 ve MTRR çocukluk çağı akut lösemi risk artışında etkili olabilir sonucuna varılmıştır (126).

İrk ve coğrafi olarak eşleştirilmiş kronik miyeloid lösemi (KML) tanı 81 hasta ile 123 sağlıklı kişide GSTM1 ve GSTT1 'null' genotip sıklığının karşılaştırıldığı bir çalışmada, GSTM1 null genotip frekansları KML ve kontrol grubunda sırasıyla % 28.4 ve % 27.7, GSTT1 null genotip frekansları KML ve kontrol grubunda sırasıyla % 19.8 ve % 7.3, GSTT1 null genotip sıklığı KML grubunda kontrol grubuna göre anlamlı olarak farklı bulunmuştur (127).

Büyüme ve gelişme

Down Sendromlu yenidoğanlarda normal popülasyona göre baş çevresi, ağırlık ve boy düşüktür (26). Büyüme oldukça yavaş, kemik yaşı geri, boyları normal popülasyona göre kısadır (24). Hayatın ilk bir yılında ve adolesan döneminde Down Sendromlu olguların büyüme hızlarında azalma olduğu dikkat çekmekte, nihai boyları 140-160 cm arasında değişmekte, olguların izleminde, onlara özgü oluşturulmuş büyüme persantil çizelgelerinin kullanılması önerilmektedir. Down Sendrom'lu erkekler infertil, kızlar nadiren fertil olmaktadır (9,24). KKH olan Down Sendromlu olguların boy ve ağırlıklarının, kalp hastalığı olmayan Down Sendromlu olgulara göre daha geri olduğu da gösterilmiştir (128).

Down Sendrom'lu olguların motor ve dil gelişimleri normal olgulara göre geri olup, ince ve kaba motor becerilerini kazanabilmeleri için erken fizik rehabilitasyon programlarına alınmaları önerilmektedir (57).

Önlenebilir hastalıklar

Down Sendromlu olguların metabolizmalarının yavaş olması nedeniyle obezite, normal popülasyona göre daha sık görülmektedir. Down Sendromuna ait büyüme eğrilerinin kullanılması ağırlık ve boydaki anormal değişikliklerin erken saptanmasında yararlı olmaktadır. Obeziteyi önlemek amacıyla diyet ve fiziksel aktivitenin düzenlenmesine 24 aylıktan itibaren başlanması önerilmektedir (9). Down Sendrom'lu olgularda sık görülen periodontal hastalık ve dişlerin kaybı düzenli kontroller ve bakım ile önlenilmektedir (9).

2.2.8 Prognoz ve mortalite sebepleri

Down Sendromlu olguların yaşam süreleri normal populusyona göre 10-20 yıl daha az olup, yaşam sürelerini KKH varlığı belirlemektedir (26,59).

KKH dışındaki mortalite nedenleri; alt solunum yolu enfeksiyonları, malignensi, senilite ve inme olarak bildirilmektedir (26).

Yaşları 1-18 yaş arasında değişen, %68'i bir yaşın altında olan, hastaneye yatırılarak takip edilen 620 Down Sendromlu olgunun ortalama hastanede kalış süreleri 32 gün olarak belirlenmiş. Bu hastaların %68'inde KKH, %12'sinde malignensi, %11'inde prematürite ile ilgili sorunların birlikte bulunduğu, olguların %17'sinin izlemde kaybedildiği rapor edilmiştir (129).

Ribeiro ve arkadaşları, 17'si kız, 28'i erkek olan, yaşları 1-12 yaş arasında değişen 45 Down Sendromlu olgudan 40'nın tekrarlayan enfeksiyon, beşinin sepsis tanısı aldığını ve olgulardan %62'sinde KKH'nın eşlik ettiğini rapor etmişlerdir. Tekrarlayan enfeksiyonlar arasında en sık rinofarenjit (%67,7), ikinci sıklıkta alt solunum yolu enfeksiyonu (%58) olduğunu ve tekrarlayan akciğer enfeksiyonları ile KKH saptanması arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunduğunu bildirmişlerdir (130).

Kılıç ve arkadaşları, retrospektif olarak inceledikleri 51 Down Sendromlu olgudan 37'sinde (%72,5) tekrarlayan akciğer enfeksiyonu, bunların da %81'inde KKH birlikteliği olduğunu tespit etmişler, 11 olgunun (%21,5) izlemde kaybedildiğini, kaybedilen olgulardan dokuzunun KKH, ikisinin ASD ve morgagni hernisi, iki olgunun sepsis tanısı ile takipte olduklarını rapor etmişlerdir (63).

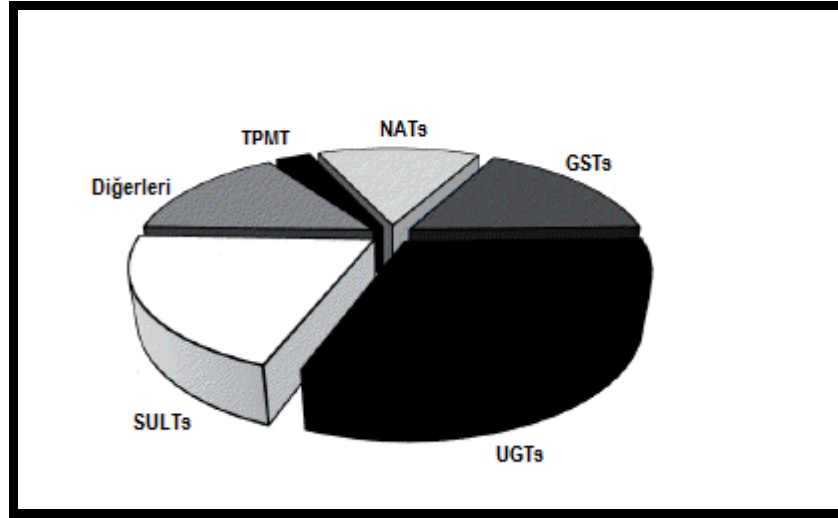
Yeterli tıbbi destek tedavileri verilmediğinde 9-10 yıl olan yaşam süreleri uygulanan tıbbi ve sosyal destek programlarının artması ile 50-60 yıla kadar çıkarılmıştır (131).

Yang ve arkadaşları, 1983-1997 yılları arasında 17.897 Down Sendromlu olguyu incelemişler, ortalama yaşam süresini, 1983 yılında 25 yıl, 1997'de 49 yıl olarak saptamışlardır. Cinsiyetin prognoz üzerine herhangi bir etkisi olmadığını, tüm yaş grupları içerisinde ölen hastalarda en sık nedenin KKH, ikinci sıklıkta akciğer enfeksiyonu olduğunu rapor etmişlerdir (132).

2.3 Ksenobiyotikler ve Metabolizmaları

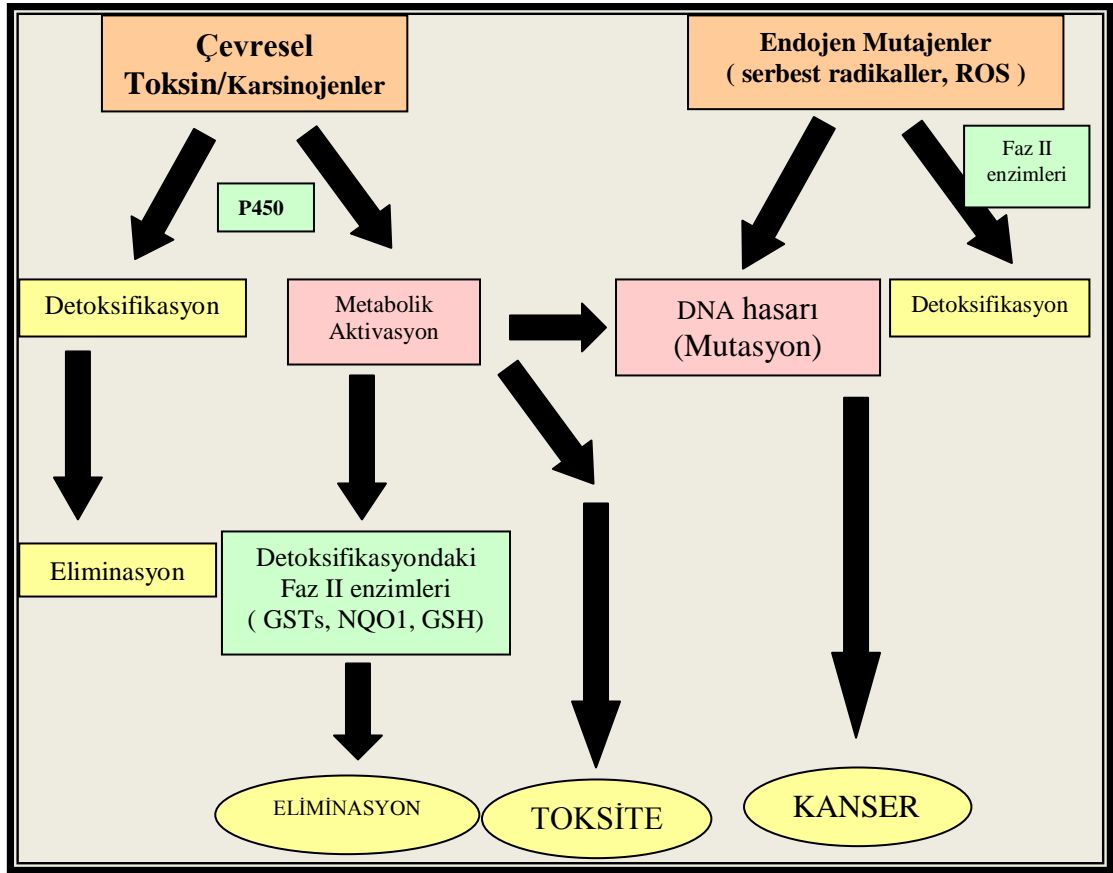
Ksenobiyotikler (Yunanca xenos = yabancı) vücuda yabancı bileşiklerdir. Kimyasal karsinojenler, ilaçlar ve çeşitli toksik bileşikler bu grup altında incelenmektedir. Bu bileşiklerin çoğu insan vücudunda metabolize olurlar.

Ksenobiyotiklerin metabolizması için faz I ve faz II reaksiyonları olmak üzere iki ayrı reaksiyon kullanılır. **Faz I**'e katılan temel reaksiyon, monooksijenazlar veya sitokrom P-450 olarak adlandırılan enzimlerce katalizlenen hidroksilasyondur. Faz I'in diğer reaksiyonları redüksiyon ve hidrolizdir. Faz I'de oluşan hidroksile bileşikler **faz II**'de çeşitli polar metabolitlere dönüştürülmektedir. Ksenobiyotik metabolizmasındaki bu iki fazın baştan sona amacı, ksenobiyotiklerin sudaki çözünürlüklerini (polarite) artırmak ve bu şekilde vücuttan atılımlarını kolaylaştırmaktır (133).



Şekil 10: Faz II reaksiyonlarda görev alan detoksifikasyon enzimleri. UGTs, UDP-glucuronosyltransferases; SULTs, sulfotransferases; NATs, N-acetyltransferases; GSTs, glutathione S-transferases; TPMT, thiopurine S-methyltransferase (134).

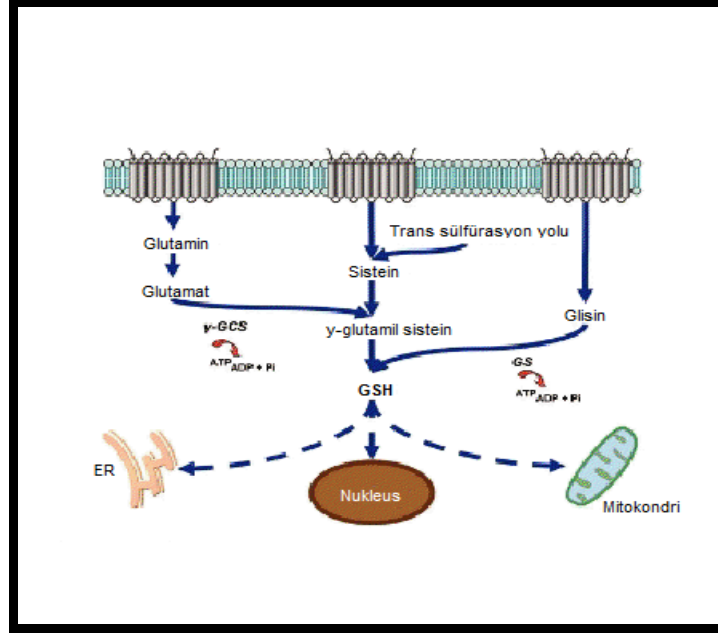
Ksenobiyotikler sitokrom P-450 metabolizmasıyla aktifleştikten sonra bir grup enzimin etkisiyle, faz II reaksiyonları olarak bildiğimiz glukoronidasyon, sulfasyon, metilasyon, asetilasyon ve **glutasyon ile konjugasyon** reaksiyonlarından biriyle metabolize edilmektedir. Böylece aktive maddeler reaktif olmayan ve suda çözünebilir ürünler olarak safra ya da idrarla atılmak üzere organizmadan uzaklaştırılır. Faz I ve Faz II enzim aktiviteleri arasındaki denge ksenobiyotiklerin organizma cevabında önemlidir (135).



Şekil 11: Kimyasal toksisite yolu, GSTs: glutatyon-s transferaz; NQO1:quinon redüktaz; GSH: redükte glutatyon; ROS; serbest oksijen radikalleri (136)

2.3.1 Glutatyon ve ksenobiyotik ilişkisi

Glutatyon (γ glutamil sisteinil glisin); glutamik asit, sistein ve glisinden oluşan bir tripeptiddir (137). İlk defa 1888'de izole edilmiş, fakat yapısı 40 sene sonra açıklanmıştır (138). Glutatyon (GSH), organizmada L-glutamik asid, L-sistein ve glisinden, γ -glutamilsistein sentetaz ve glutatyon sentetaz enzimlerinin etkisiyle iki aşamada meydana gelmektedir (139).

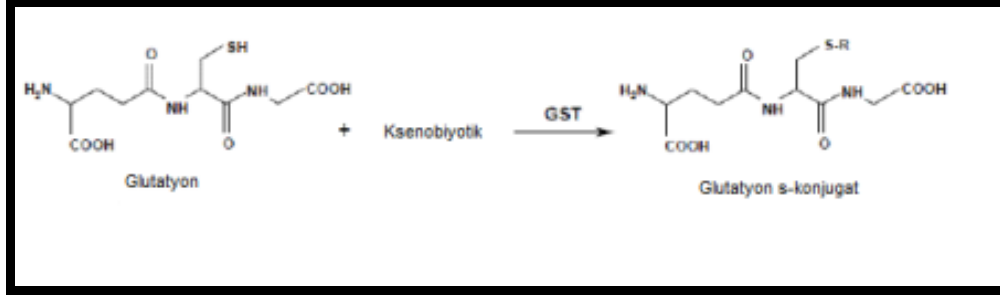


Şekil 12: Glutasyon sentezi, y-GCS: y-glutamilsistein sentetaz; GS: glutasyon sentetaz (140)

Glutasyon genelde **GSH** olarak kısaltılır; SH, sisteinin sülfidril grubuna işaret eder ve molekülün alışveriş yapan kısmıdır. Glutasyon ile ksenobiyotiklerin reaksiyonlarını katalizleyen enzimlere "*glutasyon- S-transferazlar*" (**GST**) denir (141).

GST'lar ve onların merkaptürik asit biyosentezindeki rolleri ilk kez 1961'de Booth ve arkadaşları tarafından tanımlanmıştır (141).

Ksenobiyotik metabolizmasında GST rolü; faz I enzimlerince oluşturulan reaktif türlerin glutasyon ile konjugasyona girmesi ve sonuçta hücre makromolekülleri (DNA, RNA, protein) ile bağlanmasını engelleyerek hücre hasarını önlemesi şeklinde gerçekleşmektedir. Ksenobiyotiğin reaktif türleri, bir proteine bağlanıp onu değişikliğe uğratarak antijenik özelliğini değiştirebilir. Ksenobiyotik bir hapten yani tek başına antikor sentezini uyarmayan bir molekül gibi davranıp, antikorla birleşip hücreyi hasara götürebilir (133).



Şekil 13: GST aracılığı ile GSH'un konjuge formatının oluşumu (134).

Glutatyon-s-transferazlar, elektrofilik ksenobiyotikleri inaktive ederek vücuttan atılmak üzere konjugasyonunu sağlayan dimerik enzimlerdir (142). Glutatyon konjugasyonu elektrofilik merkezi bulunan bir bileşikle glutatyonun bir tiyoeter bağı oluşturması esasına dayanır (132). GST, elektrofilik merkez içeren bileşiklerle GSH'u bağlama kabiliyetindedir (143). Konjugasyon reaksiyonu için gerekli elektrofilik fonksiyonel grupta bir C, bir N veya bir S atomu yer almalıdır. GST aynı zamanda pestisidlerin, çevresel kirleticilerin, oksidatif stres ürünlerinin, kemoterapide kullanılan ilaçların detoksifikasyonunda yer alır (144). GSH ve elektrofiller arasında bir bağ oluşumu ana bileşikten daha az reaktif bir konjugat oluşturur ve böylece detoksifikasyon gerçekleşir (145).

Reaktif elektrofiller, nükleik asitler ve selüler proteinlerde bulunan nükleofilik gruplarla kovalan bağ yaparak toksik etkilere, yani doku zedelenmesi, kanser oluşumu, gen yapısında bozukluk ve teratojenik etki gibi durumların ortaya çıkmasına neden olurlar (139). Glutatyon, nükleofilik sülfidril grubu ile bileşiklere bağlanarak organizmayı reaktif kimyasal bileşiklere karşı korur (138).

Çoğu dokularda mevcut olan tripeptid yapısındaki glutatyon, ksenobiyotiklere bağlandıktan sonra daha ileri bir biyotransformasyonla karaciğer ve böbreklerde bulunan mikrozomal γ -glutamiltanspeptidaz ve sisteinilglisinaz enzimleri yardımı ile peptid bağları açılır. Peptid (amid) bağlarının hidrolizi sonucu sadece sistein kalır, sisteinin mikrozomal asetilasyonu ile merkaptürik asid konjugatı oluşur (139).

2.3.2 Oksidatif stres ve etkileri

Aerobik metabolizma normal şartlarda bile reaktif oksijen türlerinin oluşmasına yol açar. Moleküler oksijenin suya indirgenmesinde ara indirgeme basamakları; süperoksit anyon radikallerinin oluşumu, hidrojen peroksit, hidroksil radikalidir. Diğer atomlar veya lipidler

gibi büyük moleküllerle birleşerek, alkil ya da peroksil radikalleri (RO; ROO) şeklinde oksijen radikalleri meydana getirirler. Bu nedenle, bu reaktif oksijen türlerinin sürekli inaktive edilmesi gereklidir. Aksi takdirde prooksidan ve antioksidan arasındaki denge bozulabilir. Prooksidanların lehine ve antioksidanların aleyhine bir dengesizlik, potansiyel olarak 'oksidatif stres' olarak adlandırılan hasara yol açar (146). Böyle bir hasar DNA, lipidler, proteinler ve karbonhidratları kapsayan bütün biyolojik membran tiplerini etkileyebilmektedir. Bu nedenle; oksidatif stresin, mutagenез, karsinogenез, membran hasarı, lipit peroksidasyonu, protein oksidasyonu ve fragmentasyon ile karbonhidrat hasarı gibi süreçlerle ilişkili olabileceği çok sayıda araştırmacı tarafından ileri sürülmektedir (147). Prensip olarak; bu tür yıkıcı etkilere karşı önleme, durdurma ve tamir yoluyla koruma sağlanabilir. Bu koruma şekillerinin hepsi biyolojik sistemlerde gerçekleşmektedir (146).

Organizmalar; solventler, diğer kimyasallar ve çevresel kirleticiler gibi eksojen ve endojen kaynaklı oksidatif strese sürekli olarak maruz kalmaktadırlar. Bu tür potansiyel faktörlerin tümü makromoleküler, hücrel ve doku hasarını indükleyebilen bileşenleri içerir. Bunlar; 1- doğrudan sitotoksik etkiler, 2- primer genotoksik olayların artması veya 3- reaktif oksijen araçlarının oluşumu yoluyla gerçekleşir (148).

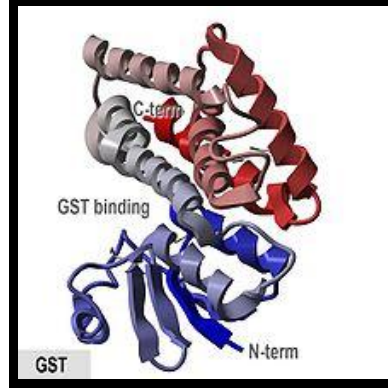
Oksidatif stresin zararlı etkilerine karşı savunma sistemlerinden biri GST'lardır. Biyolojik membranların lipit peroksidasyonu sonucunda oluşan aklenler, epoksitler, hidroperoksitler ve aldehitler gibi toksik ürünler çeşitli GST izoenzimlerin substratlarıdır. Bu nedenle GST'lar oksidatif hasardan korumada önemli rol oynamaktadır (149).

Yapılan epidemiyolojik çalışmalarda, çeşitli GST enzimleri ile oksidatif stresle ilişkili hastalıklara yatkınlığın artışı arasında bir korelasyon bulunması; ve çeşitli dokulardan elde edilen GST enzimlerinin 4-hidroksi alkenal gibi oksidatif stres ürünlerine afinite gösterdiğinin tespit edilmesi, GST'ların oksidatif strese karşı korumadaki önemini ortaya koymaktadır (150,151)

2.3.3 Glutasyon-S-transferaz (GST) enzimleri

GST'lar doğada bakteriler, maya, küf, yumuşakçalar, kabuklular, solucanlar, kurbağalar, böcekler, bitkiler, balıklar, kuşlar ve memelilerde bulunur. En çok sıçanlarda ve insanlarda çalışılmıştır (141).

GST genleri tarafından kodlanan glutatyon-s-transferaz enzimleri, çevresel kaynaklı kimyasallar ve doğal olarak oluşan birçok metabolitin detoksifikasyonundan sorumludurlar (133,137,139).



Şekil 14: GST'ların üç boyutlu yapısı (152).

GST'lar membrana bağlı ve sitozolik olmak üzere iki grupta incelenmektedirler. Vertabralılarda yedi sınıf sitozolik GST tespit edilmiştir: alfa, mü, kappa, pi, sigma, theta ve zeta. Bu sınıf ayrımları yapısal farklılıklara dayanılarak yapılmaktadır. Bir sınıf içinde farklı GST'lar en az % 40, sınıflar arası ise en az % 30 aminoasit benzerlikleri gösterirler. Türlerle göre özel sınıflara dayandırılarak yapılan insanlar ve diğer memeliler için sınıflandırma belirtilmiştir (139,141).

Sitoplazmik GST (cGST)'lar iki aynı alt üniteden homodimerler veya farklı alt üniteden heterodimerlerden oluşmuşlardır. Sınıflandırma olarak Mannervik ve ark'nın, önerdikleri sınıflandırma kullanılmaktadır. Bu sınıflandırmada türlerin belirtilmesi için bir ön ek (örneğin, insan için h) kullanılırken “A, P, M, S ve T” harfleri sırasıyla “alfa, pi, mü, sigma ve theta” yı işaret etmektedir. Bir çizgi ile ayrılan iki rakam alt üniteleri belirtmektedir (142).

Bir GST'in üç boyutlu yapısı domuz akciğerinden pi sınıf enzimi için 1991'de belirlenmiştir (Şekil 14). İnsandaki GSTP1-1'in yapısı 1992'de plasentadan purifiye edilmiştir. Daha sonra da insan GSTA1-1 ve GSTM2-2 enzimlerinin yapıları tanımlanmıştır. GST'lar her bir alt birim için katalitik bölgeye sahip globular dimerik proteinlerdir. 23.000-29.000 dalton moleküler ağırlığındadır. Her bir alt birim 200-240 aminoasitten oluşur. Her bir GST alt biriminin polipeptid zinciri kısa bağlayıcı bölgelerce birleştirilen iki domainden oluşur. N-terminal domain bir ‘ β -sheet’ ve üç α -heliks yapısında düzenlenmiş aşağı yukarı 80 aminoasitten oluşan GSH'nun bağlanma bölgesi (G bölgesi) ve hidrofobik elektrofillerin

bağlanmaları için olan H bölgesinden oluşmaktadır. C-terminal domain kalan 5 veya 6 α -heliks yapısındaki aminoasidi içerir (139).

Sıçanlar, fareler ve insanlardan izole edilen tüm sınıf α genleri 11-12 kb uzunluğunda ve 7 ekzon içerir. Sınıf μ genleri popülasyonda polimorfiktir, aşağı yukarı 5 kb uzunluğunda ve 8 ekzon içerir. Hamster 9 ekzona sahiptir. Beş alt ünitesi vardır ve aminoasit seviyesinde birbirlerine %80 benzerdir. Sınıf π genleri aşağı yukarı 3 kb uzunluğunda ve 7 ekzon içerir. Birçok ekstrahepatik organdan purifiye edilmiştir. Sınıf θ genleri insanda polimorfiktir ve 5 ekzona sahiptir.

GST aktivitesi insanda tüm dokularda bulunmaktadır. Sıçanlarda yapılan çalışmalarda cGST'ların birçok dokuda bulunmamasıyla birlikte en yüksek konsantrasyonları testislerde ve karaciğerde tespit edilmiştir. cGST'ların seviyeleri üzerinde birçok enzim indükleyicisinin (benzo(a)piren, etanol ve fenobarbitol gibi) küçük arttırıcı etkileri bulunmaktadır. Her bir dokuda spesifik GST izoenzim grupları mevcuttur. Buna ek olarak, çeşitli izoenzimler farklı miktarlarda ifade edilmektedir. Bir dokudaki hücre tiplerinde GST alt ünite profilleri özellikle gelişme döneminde değişebilmektedir, örneğin, insan ve sıçanların fetal hepatositlerinde GSTP1-1 oldukça yüksek seviyede ifade edilirken yetişkin hepatositlerinde normal olarak dahi ifade edilmemektedir (139).

Bazı tümörlerde belirli GST izoenzim seviyelerinde artış görülür (153). GSH ve ilişkili enzimlerin anti-kanser ilaçlara karşı hücresel dirençte rol oynadıklarına dair güçlü bulgular vardır. Spesifik GST formlarının aşırı ekspresyonu belirli tümör hücrelerindeki artmış sitotoksik ilaç direnci ile bağlantılıdır. GST izoenzimleri kanser hastalarının plazmalarında da bulunur (154).

Tüm GST'lar 1-kloro-2,4-dinitro-benzenden substrat olarak faydalanırlar ve GST'ların karakterizasyonunda bir araç görevi yaparlar. 2-kloro-5-nitrobenzonitrilin de GST'lar için substrat görevi yaptığı bulunmuştur. GSTT1 için diğer spesifik substratlar p-nitrobenzil klorid, diklorometan, etilen oksid ve metilbromiddir. Diklorometan boyalarda, temizlik maddelerinde, soğutucularda, kahve dekafeinizasyonunda kullanılan önemli bir endüstriyel bileşiktir. Bu bileşiğin toksisitesinde geniş türsel farklılıklar bulunur. Farelerde bu bileşiğin GSH konjugasyonu ile aktive edilerek akciğer ve karaciğer kanserlerine neden olduğu belirtilmiştir (139, 141).

2.3.4 GST polimorfizminin kaynağı

Polimorfik yapıda olan ve çok sayıda maddeyi metabolize edebilme kabiliyetlerinden dolayı oldukça fazla ilgi çeken üç gen ailesi bilinmektedir: Sitokrom P450, N-asetiltransferaz ve glutatyon-s- transferaz (135).

Polimorfizm, populasyonda bir lokus için iki ya da daha fazla alelin, mutasyonla oluşabileceğinden daha yüksek sıklıkla birlikte bulunmasıdır. Bu sıklığın 0.01'den fazla olması durumunda bu lokus polimorfik olarak kabul edilmektedir.

Kimyasal karsinojenlerin aktivasyonu ya da detoksifikasyonunda yer alan enzimler biyotransformasyon enzimleri olarak adlandırılır. Biyotransformasyon enzimlerinde polimorfizmlere sebep olan moleküler genetik mekanizmalar çeşitli şekillerde olabilir:

1. Biyotransformasyon enzimini kodlayan genin bulunmaması,
2. Genin regülatör kısımlarında olan mutasyonlardan dolayı genin kaybolması ya da zarar görmesi,
3. İntron-ekzon sınırlarındaki mutasyonlardan dolayı pre-mRNA'nın uçlarının yanlış olarak eklenmesi,
4. Proteindeki önemli olmayan aminoasitlerin mutasyona uğramış olması ve bunun sonucunda enzimin aktivitesinin değişmesi,
5. Proteindeki önemli aminoasitlerin mutasyona uğramış olması ve bunun sonucunda inaktif enzimin oluşması gibi modeller öngörülmektedir (155).

İnsanlarda GSTM1'in polimorfik olduğu ve coğrafik farklılıklar olmasına rağmen bireylerin %35-60'ında bulunmadığı gösterilmiştir. Bu enzim beyaz populasyonun %50-60'ında bulunmazken, Kuzey Amerikalı siyahların % 28'inde ve Nijeryalılarda ise %22 gibi daha düşük yüzdelerde bulunur.

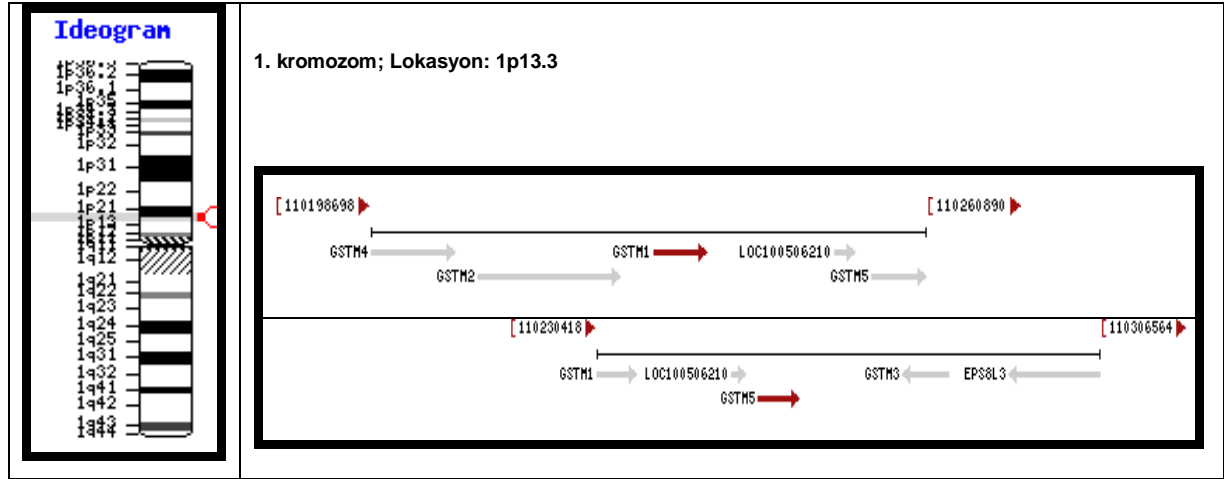
Benzer şekilde GSTT1 de polimorfiktir ve insan populasyonlarının %10-65'inde bulunmamaktadır. Amerikalı beyazların % 17'si, Nijeryalılardan % 39'u, Hindistan'da yaşayan İngilizlerin %3,2'si GSTT1-1 enzim aktivitesi bulundurmazlar. GSTM1 ve GSTT1 aktivitesinin yokluğu (null genotip) bu genlerin homozigot olarak delesyona uğramasından kaynaklanmaktadır (145,156).

Organizmanın antioksidan kapasitesinin korunması canlılığın devamı açısından çok önemlidir. Glutatyon eksikliğine bağlı olarak birçok dokuda mitokondriyal dejenerasyonla bağlantılı olarak hücre hasarı meydana gelmektedir. Normal bir hücrede, spesifik olarak hücresel kompartmanlara yerleştirilmiş olan oksidan/antioksidan sistemler dengesindeki herhangi bir

bozukluk bir çok patofizyolojik durumun (nörodejeneratif hastalıklar, yaşlanma, kanser, immün hastalıklar gibi) ortaya çıkmasına neden olmaktadır. Birçok hastalığın patofizyolojisinde yer alan glutasyonun eksikliğinin, GSH veya GSH öncülleri verilerek önlenebildiği veya geriye döndürülebildiği çeşitli çalışmalarla gösterilmiştir.

Mu sınıfı glutasyon S- transferazlar (GSTM)

İnsanlarda M1'den M5'e kadar numaralanan 5 mu sınıfı GST geni tanımlanmıştır (157,158). Bu genler 1. Kromozomun kısa kolu üzerinde bir dizi halinde bulunurlar (Şekil 19-20). Bu genlerin ekspresyonu dokular arasında geniş varyasyon gösterir. En yaygın eksprese olan gen GSTM1'dir. Kemik, beyin, akciğer, germ hücreleri, kalp, böbrek, over, paratiroid, prostat, testis ve uterus vb organlarda bulunur. GSTM2 daha çok iskelet kasıyla ilgili olup; GSTM3 ise kaslara ilaveten beyin, akciğer ve testiste bulunur. GSTM4 insan lenfoblastoid hücre soylarında, GSTM5 ise beyinde eksprese edilmektedir (159, 160).



Şekil 15: GSTM1-5 lokus haritası. Bu genler 1. Kromozomun kısa kolu üzerinde bir dizi halinde yerleşmişlerdir (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/2947>).

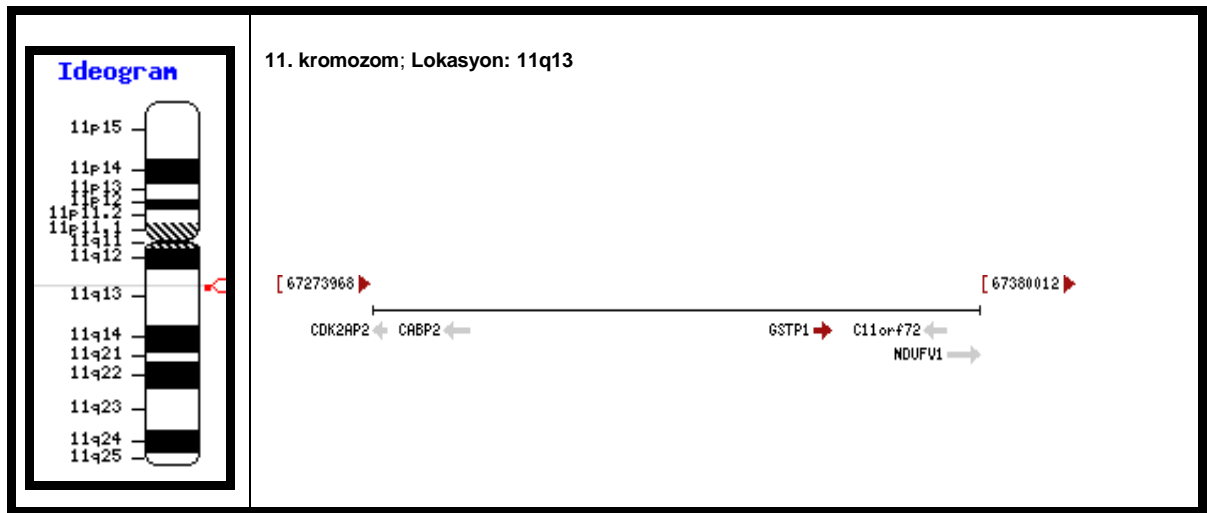
Mu gen ailesinin en ilginç özelliği GSTM1'in genetik polimorfizmi sayılabilir. GSTM1'in ekspresyonunun otozomal dominant kalıtıldığı ve popülasyonların çoğunda %40-60 arasında eksprese edildiği gösterilmiştir (161). GSTM1; 217 amino asit uzunluğunda olup, 25580 Da ağırlığında bir proteindir. GSTM1'in **GSTM1a**, **GSTM1b** ve **GSTM1*0** (null) olmak üzere 3 ayrı genotip tanımlanmıştır. GSTM1a ve GSTM1b arasında sadece 172. konumda bulunan tek bir aminoasit farkı vardır ve fonksiyonel olarak farkları

bulunmamaktadır. GSTM1*0 alleli, GSTM1 geninin tamamının delesyonu sonucu oluşur (162). Bu delesyona GSTM1 geninin her iki yanında bulunan 4.2 kb'lık tekrarlayan dizilerde meydana gelen homolog eşit olmayan bir çapraz bağlanmaya yol açmakta olup; GSTM1 geninin tamamını kapsayan 15 kb'lık kayıp hep aynı bölgede meydana gelmektedir (163).

GSTM1'in sergilediği genetik polimorfizm çeşitli ksenobiyotiklerin toksik etkilerine karşı bir şahsın yatkınlığını belirleyen bir faktörlerden biri olduğunu gösteren çalışmalar yayınlanmıştır. Karsinojenik potansiyeli olduğu bilinen polisiklik aromatik hidrokarbonların pek çok epoksit metabolitlerine karşı GSTM1'in yüksek afiniteye sahip olması büyük önem taşır (164). İnsan GSTM1a/b izoenzimlerinin, genotoksik epoksitlere ve 5-hidroksimetil urasil DNA hidroperoksit oluşturmak üzere DNA'ya saldıran reaktif oksijen türlerinin ürünlerine karşı yüksek afiniteleri vardır. Bu izoenzimler ayrıca serbest radikalın başlattığı lipit peroksidasyon sonucu oluşan 4-hidroksi alkenallerin detoksikasyonunda en yüksek katalitik etkinliğe sahiptirler (165).

Pi sınıfı glutatyon S-transferaz (GSTP)

Pi genleri arasında GSTP1 tanımlanmış ve bu gen kromozom 11q13.2'de haritalanmıştır (166). Bu enzim GST'lar arasında en yaygın olan ve karaciğer hariç pek çok dokuda en bol bulunan enzimdir. Pi sınıfı GST insan akciğer nazal dokusu ve kalın bağırsağın temel elemanıdır (167,168).



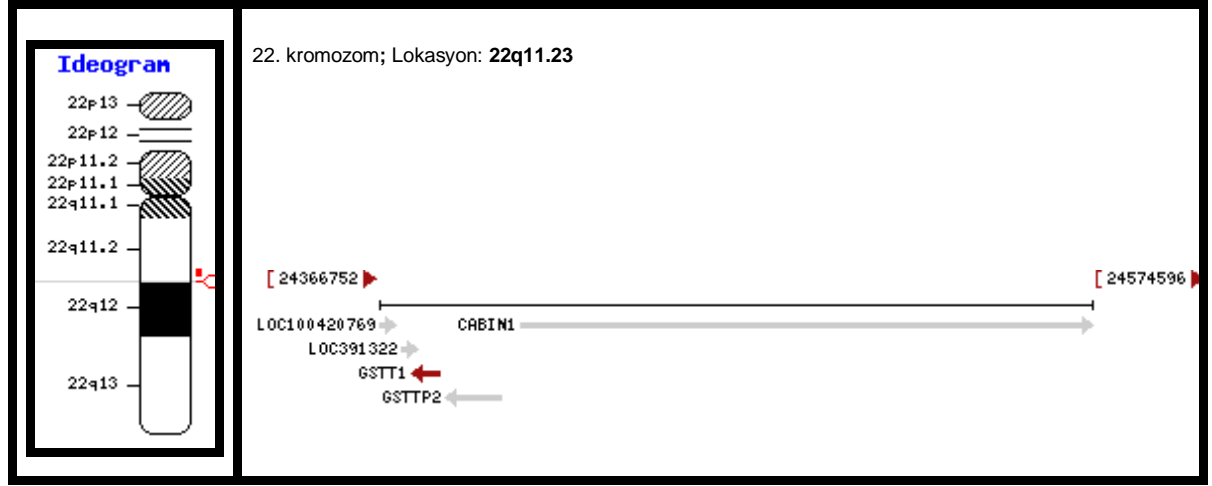
Şekil 16: GSTP1 lokus haritası

İnsanlardaki GSTP1 geni polimorfik olup; aminoasit pozisyonlarındaki değişikliklere göre nispeten düşük sıklıkla iki aleli daha bulunmaktadır. Bu izoenzimler GSTP1a-1a, GSTP1b-1b ve GSTP1c-1c'dir. Üç allel varyantı fonksiyonel olarak farklı enzimolojik karakteristiğe sahiptir. Enzim aktivitesi bireyler arasında geniş varyasyon gösterir. GSTP1 allelleri arasındaki enzimolojik farklılıkların belirli kanserlerdeki artışla ilişkili olduğu gösterilmiştir. İnsan tümörlerinde en sık olarak pi sınıfı GST'ler görülürler. Yapılmış olan bir çalışmanın sonuçlarına göre 9 insan tümör hücre soyundan 6'sında ve ölümsüz insan hepatositlerinde görülen predominant izoenzim GSTP1-1'dir (169). GSTP1 ekspresyonu akciğer, kolon, over, testis, mesane, ağız ve böbrek gibi pek çok insan tümöründe artmaktadır. Mesane kanserli hastaların çoğunda hem GSTA1-1, hem de GSTP1-1 seviyelerinde artış görülürken; böbrek kanserli hastalarda yalnızca GSTP1-1 artışı gözlenir. Bu durum birçok vakada malinite ve ilaç direnciyle doğru, hasta ömrüyle ters ilişkilidir. Bu bilgilerin aksine, prostat kanserinde GSTP ekspresyonu tamamen durur. Bunun nedeni ise gen promoterinin hipermetilasyonudur (170,171).

GST-P1 için iki polimorfizm biliniyor. A A/G değişimi, 105. kodonda izolözin valin değişimi; a C/T değişimi, 114. kodonda alanin valin değişimi ile sonuçlanıyor. Homozigot ile 105val değişimi normal popülasyonda %10-20 iken, heterozigot değişim %40-60'tır. Homozigot ala114val değişimi normal popülasyonda %0-20 iken, heterozigot değişim %10-20'dir. Ortaya çıkan alleler: GST-P1*A (ile/ala), GST-P1*B (val/ala), GST-P1*C (val/val), GST-P1*D (ile/val). Genotipik frekans *A/*A için %45, *A/*B için %30, *A/*C için %10 ve *B/*B için %72dir. *B/*C ve *C/*C yaygın değildir; *D allel ise oldukça nadir görülür (172).

Teta sınıfı glutatyon S-transferazlar (GSTT)

İnsanlarda teta sınıfı GST'lerin GSTT1-1 ve GSTT2-2 olmak üzere iki izoenzimi bulunmuştur (173). Teta sınıfı GST'ler kromozom 22q11.2 üzerinde kümelenmiş olup; 50 kb arayla sıralanmışlardır. Benzer yapıya sahiptirler ve GSTT1 8.1 kb, GSTT2 ise 3.7 kb uzunluğundadır.



Şekil 17: GSTT1 lokus haritası

İnsanlar arasında ekspresyonları çok geniş dağılım gösterir. GSTT1 239 aminoasitten oluşan, 27132 Da alt birimlerinin oluşturduğu bir homodimerdir. Tesbit edildiği başlıca organlar beyin, kolon, kalp, böbrek, omentum, overler, paratiroid, prostat, snovyal membran, testis, tonsil ve uterusur (174-176). GSTT1-1 eritrositlerde de eksprese edilmektedir ve bu enzim diklorometan gibi kimyasalların eritrosit tarafından tutularak bunların zararlarından diğer organların korunmasını sağlandığı düşünülmektedir. Eritrositlerdeki GSTT1-1'in bloke bir N-terminale sahip olması, buradaki enzimin posttranslasyonel olarak modifiye bir formu olduğunu göstermektedir (177).

GSTT1-1 geninde enzimin fonksiyonel yetersizliğine yol açan bir gen delesyon polimorfizmi vardır. Kafkas popülasyonunun yaklaşık %18'i bu delesyon polimorfizmine sahipken, bu oran Kore ve Çin toplumlarında %60 kadardır (87). GSTT1; genel olarak popülasyonunun %38'inde bulunmamaktadır. GSTT1 geninin bulunması ya da bulunmaması, konjugator veya non-konjugator fenotiplerle uyumluluk göstermektedir (178).

GSTT1 mono ve dihalometanların metabolizmasındaki belli başlı enzimlerden biridir. GSTT1-1 izoenziminin metil klorid, metil bromid, metil iyodid, diklorometan, dibromoetan, monoepoksibütan etilen oksit gibi bazı düşük molekül ağırlıklı genotoksik substratlara karşı yüksek bir aktivitesi olduğu görülüyor. Enzim; monohalometanlar ve etilen oksitin invitro detoksifikasyonunu katalizlediği için, bu bileşkinin indüklediği kardeş kromatid değişimine karşı lenfositlerin korundukları görülmektedir. GSTM1 null genotipli bireylerde olduğu gibi GSTT1 null allel için homozigot bireyler de kanser sahip olabilirler (179,180).

3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

3.1 Çalışma Grupları

Çalışma, Dokuz Eylül Üniversitesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Çocuk Genetik Hastalıkları Bilim Dalının izleminde olan, klinik ve sitogenetik olarak Down Sendromu tanısı almış hastalar ve bu hastaların anneleri ile yapıldı. Kontrol grubu olarak herhangi bir polikliniğe başvuran sağlıklı çocuklar ve sağlıklı çocuk sahibi erişkin kadınlar kullanıldı. Çalışma Ocak-Temmuz 2010 tarihleri arasında yürütüldü.

Hasta ve kontrol gruplarından aydınlatılmış katılan hasta ve kontrol gruplarından GST polimorfizmi için 2 cc EDTA'lı kan örneği alındı.

Rutin hasta viziti için başvuran Down Sendrom'lu hastaların demografik özellikleri, sitogenetik analizleri, fizik muayene bulguları, göz muayene bulguları; işitme testi, elektrokardiyografi, çölyak antikor, hemogram, tiroid fonksiyon test sonuçları kaydedildi.

3.2 Çalışmada Kullanılan Araç ve Gereçler

DNA eldesi için;

1. NucleoSpin®Dx Blood kiti
0.5 M Tris-HCl pH 8.0,
20 mM EDTA
10 M NaCl
1% SDS
0.5 mg/mL proteinase K
2. Manüel pipetler (10-100 µL'lik ve 100-1000 µL'lik)
3. Filtreli steril pipet ucu (100 µL'lik ve 1000 µL'lik)
4. Santrifüj cihazı
5. Vortex karıştırıcı
6. Isı bloğu, ***kullanıldı.***

Polimeraz zincir reaksiyonu analizi için;

1. Thermocycler (PCR cihazı)
2. Termostabil DNA polimeraz
3. Polimeraz buffer solüsyonu
4. Reaksiyon tüpleri (0,2 µL'lik)
5. Pipetler (0,5-15 µL'lik)
6. Filtreli pipet uçları (10-100 µL'lik ve 100-1000 µL'lik), ***kullanıldı.***

Revers hibridizasyon ile Glutathion –S- Transferas polimorfizminin saptanması için;

1. GenID®GmbH kiti
2. Hibridizasyon cihazı
3. Pipetler (10 µL'lik, 25 µL'lik ve 1000 µL'lik)
4. Plastik forsers
5. Absorban kurutma kağıdı, ***kullanıldı.***

3.3 Yöntem

3.3.1 DNA izolasyonu

Canlılardan elde edilen periferik kan ve doku örneklerinden, hücre ve nukleuslarının bazı kimyasal maddeler ve enzimler yardımıyla parçalanıp, nükleer DNA'nın ortaya çıkarılması işlemine **DNA izolasyonu** denir.

Hasta ve kontrol gruplarından DNA izole etmek ve sonrasında da GST-M1, GST-T1, GST-P1 polimorfizmlerini taramak amacıyla 2 cc EDTA'lı periferik kan örneği alındı.

Periferik kan örneklerinden DNA izole etmek için; öncelikle 25 µL Proteinaz K solusyonu lizis tüpüne konuldu. Üzerine 200 µL kan eklenerek karıştırıldı. Ardından 200 µL Buffer B3 eklendi ve lizis tüpünün kapağı kapatılarak ritmik ve hızlı şekilde 10 saniye çalkalandı. Hazırlanan bu karışım daha sonra oda ısısında (18-25 °C) 5 dakika inkübasyona bırakıldı. Daha sonra lizis tüpü 70 °C'de 15 dakika inkübe edildi ve sonrasında ritmik ve hızlı şekilde 5 saniye çalkalandıktan sonra üzerine 210 µL etanol (%96-100) örneğe eklendi ve kapak kapatılıp ritmik olarak 5 sn karıştırıldı ve 11000 x g devirde 1 dakika santrifüj edildi. 'NucleoSpine®Dx Blood Column' yeni bir toplama tüpüne alındı ve bir önceki basamaktaki toplama tüpü atıldı. 'NucleoSpine®Dx Blood Column' üzerine 500 µL buffer BW eklendi.

11000 x g devirde 1 dakika santrifüj edildi. 'NucleoSpine®Dx Blood Column' yeni bir toplama tüpüne alındı ve bir önceki basamaktaki toplama tüpü atıldı. 'NucleoSpine®Dx Blood Column'un üzerine 600 µL buffer B5 eklendi. 11000 x g devirde 1 dakika santrifüj edildi. 'NucleoSpine®Dx Blood Column' yeni bir toplama tüpüne alındı ve bir önceki basamaktaki toplama tüpü atıldı. 11000 x g devirde 1 dakika santrifüj edildi. 'NucleoSpine®Dx Blood Column' elüsyon tüpüne alındı ve bir önceki basamaktaki toplama tüpü atıldı. NucleoSpine®Dx Blood Column'un üzerine 100 µL buffer BE eklendi. Daha sonra oda ısısında (18-25 °C) 2 dakika inkübasyona bırakıldı. 11000 x g devirde 1 dakika santrifüj edildi.

3.3.2 Polimeraz zincir reaksiyonu analizi (PCR)

Nükleik asitlerin in-vitro olarak, canlı organizmanın dışında, uygun koşullar altında çoğaltılmasına dayanmaktadır. PCR, istenilen sayıda tekrarlanabilen döngülerden oluşur. Bir PCR döngüsü sırasıyla; deoksiribonükleik asidin (DNA) iki zincirinin yüksek sıcaklıkta birbirinden ayrılması (Denatürasyon), sentetik oligonükleotidlerin hedef DNA'ya bağlanması (Hibridizasyon) ve zincirin yeni çift zincirli DNA'lar oluşturacak şekilde uzaması (Polimerizasyon) aşamalarından oluşur.

GST M1, T1 ve P1 gen amplifikasyonu için **GenID®GmbH** kiti kullanıldı.

Bir örnek için;

- 1) - 15 µL Primer Nükleotid -Mix
- 5 µL 10x polimeraz buffer
- 0,3 µL termostabil DNA polimeraz
- 5 µL hasta DNA'sı ependorf tüpüne kondu ve karıştırıldı.
- 2) Karışımın tamamı PCR tüpüne alınıp thermocycler cihazına kondu.
- 5 dk 95 °C' de bir siklus,
- 30 sn 95 °C' de ardından 2 dk 60 °C' de olacak şekilde on siklus,
- 10 sn 95 °C' de ardından 30 sn 55 °C' de ve sonra 30 sn 72 °C' de olacak şekilde 22 siklus,
- 8 dk 72 °C' de bir siklus,
- 4 dereceye kadar soğutulup işlem sonlandırıldı.

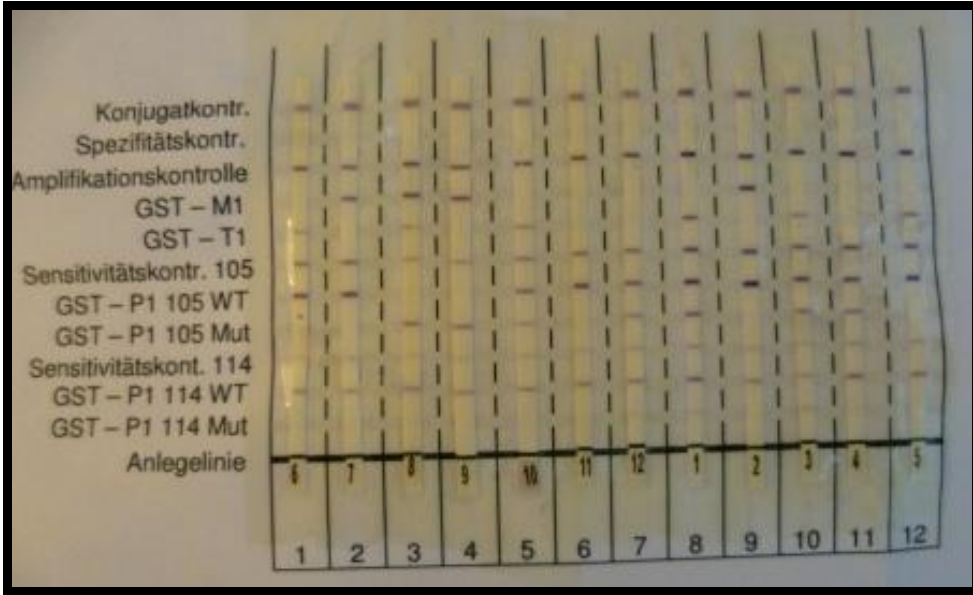
3.3.3 Revers hibridizasyon ile glutathion S- transferas polimorfizminin araştırılması

1. Hibridizasyon buffer ve stringent yıkama solusyonu önceden 47 °C kadar ısıtıldı, diğer tüm solusyonlar oda ısısında tutuldu. Örnek ve kontrollerin sayısına göre inkübasyon tablaları hazırlandı.
2. İşaretli kanallara pipet ile 20 µL denatürasyon reaktifi eklendi.
3. 20 µL PCR ürünü denatürasyon reaktifine pipet ile eklendi, iyice karıştırıldı ve oda ısısında 5 dakika inkübe edildi.
4. Önceden ısıtılmış Hibridizasyon buffer dikkatlice her bir kanala 1'er ml eklendi.
5. Forseps ile stripler tüpten çıkartıldı ve inkübasyon tablasına kondu. Stripler tam olarak sıvı ile kaplandı, üzerinde rakam olan kısmın üste gelmesine dikkat edildi.
6. İnkübasyon tablası 30 dakika 47 °C'de water bath shaker'da inkübe edilir.
7. Stripler hibridizasyon sıvısından ayrılıp, oda sıcaklığında 1 dakika sürece şekilde 2 kez önceden ısıtılmış stringent yıkama solusyonu ile yıkandı.
8. Her stripe 1 ml önceden ısıtılmış stringent yıkama solusyonu eklendi ve slightly shaken su banyosunda 15 dakika 47 °C'de inkübe edilir.
9. Bundan sonraki aşamalar oda ısısında devam edildi; striplerin her biri 1 ml dilue rinse solüsyonunda 1 dakika sürece şekilde yıkandı.
10. 1 ml konjugat (konjugat konjugat bufferı ile 1:1000 oranında dilue edilip hazırlanır) her bir stripe eklendi ve oda ısısında horizontal shaker'da 30 dk inkübe edildi.
11. Her bir strip 1 dk boyunca horizontal shaker'da 1 ml dilue rinse solusyonu ile yıkandı, (konjugattan ayırmak için)

12. 1 ml substrat eklendi, oda sıcaklığına getirildi, her bir kanala pipet ile eklendi 10 dakika inkübe edildi.

13. 1 ml distile su ile 2 kez yıkanarak reaksiyon sonlandırıldı.

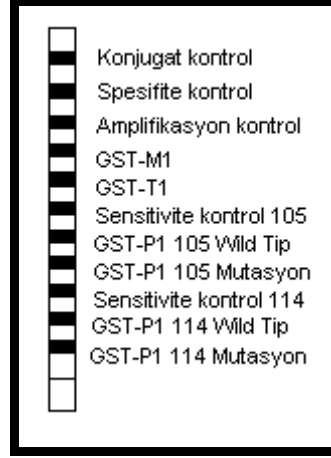
14. Kanallardan stripler forseps ile alındı ve absorban kağıt ile kurutuldu.



Resim 8: Revers Hibridizasyon ile işlemi sonrasında striplerin görünümüleri

3.4 Değerlendirme

GenID®GmbH kitinin değerlendirme kriterleri kullanıldı (Şekil 26).



Şekil 18: GenID®GmbH stripi ve reaksiyon sonrası oluşan bantlar

Konjugat kontrol bandı: Bu reaksiyon bandı konjugat solüsyonunun bağlanma yeterliliğini göstermektedir. İşlem sonrasında hibridizasyonun başarılı olduğunu göstermesi açısından mutlaka oluşması gereken bir banttır.

Spesifite kontrol bandı: Bu reaksiyon bandı hibridizasyon işlemindeki yıkama adımlarının uygun sıcaklıkta gerçekleştiğini gösteren banttır. Yıkama işlemleri uygun sıcaklıkta gerçekleşirse bu bant oluşmaz. Sadece düşük sıcaklıktaki yıkama adımlarında meydana gelir ve spesifik olmayan bağlanmaların olduğunu işaret eder.

Amplifikasyon kontrol bandı: Bu reaksiyon bandı β -Globin bölgesinin amplifikasyonu sonucu oluşur ve testin başarılı olduğunu göstermesi açısından **pozitif kontrol** olarak rol oynar. Mutlaka oluşması gereken bir banttır. Bandın oluşmaması, amplifikasyon reaksiyonunun gerçekleşmediğini veya DNA ekstraksiyonunun başarısız olduğunu gösterir.

GST-M1 bandı: Bu reaksiyon bandı kişide homozigot veya heterozigot GST-M1 geninin bulunduğunu gösterir. Bandın oluşmaması, GST-M1 açısından null-genotip olarak değerlendirilir.

GST-T1: Bu reaksiyon bandı kişide homozigot veya heterozigot GST-T1 geninin bulunduğunu gösterir. Bandın oluşmaması, GST-T1 açısından null-genotip olarak değerlendirilir.

Sensitivite kontrol 105 bandı: Bu reaksiyon bandı kodon 105'i içeren GST-P1 fragmentinin amplifikasyonu ile oluşur ve taranan mutasyon bölgesini göstermesi açısından pozitif kontrol olarak rol oynar. Mutlaka oluşması gereken bir banttır. Bandın oluşmaması, amplifikasyon reaksiyonun gerçekleşmediğini veya DNA ekstraksiyonun başarısız olduğunu gösterir.

GST-P1 105 "Wild Type" bandı: Strip üzerinde sadece bu bandın meydana gelmesi kişinin GST-P1 genindeki her 2 allelde de *ile 105 valin* değişiminin olmadığını ("Wild Type" gen durumu) gösterir. Bu bantla birlikte GST-P1 105 mutasyon bandının da oluşması kişinin allellerinin birinde değişimin oluştuğunu, diğer allelin ise sağlam olduğunu (heterozigot gen durumu) gösterir. GST-P1 105 mutasyon bandı ile birlikte değerlendirilmesi gereken bir banttır.

GST-P1 105 Mutasyon bandı: Strip üzerinde sadece bu bandın oluşması kişinin GST-P1 genindeki her 2 allelde de ile105 valin değişimini (homozigot mutasyon durumu) gösterir. Bu bantla birlikte GST-P1 105 Wild Tip bandının da oluşması kişinin allellerinin birinde değişimin oluştuğunu, diğer allelin ise sağlam olduğunu (heterozigot gen durumu) gösterir. GST-P1 105 Wild Tip bandı ile birlikte değerlendirilmesi gereken bir banttır.

Sensitivite kontrol 114 bandı: Bu reaksiyon bandı kodon 114'ü içeren GST-P1 fragmentinin amplifikasyonu ile oluşur ve taranan mutasyon bölgesini göstermesi açısından pozitif kontrol olarak rol oynar. Mutlaka oluşması gereken bir banttır. Bandın oluşmaması, amplifikasyon reaksiyonun gerçekleşmediğini veya DNA ekstraksiyonun başarısız olduğunu gösterir.

GST-P1 114 Wild Tip bandı: Strip üzerinde sadece bu bandın meydana gelmesi kişinin GST-P1 genindeki her 2 allelde de ala114val değişiminin olmadığını (Wild Tip gen durumu) gösterir. Bu bantla birlikte GST-P1 114 mutasyon bandının da oluşması kişinin allellerinin birinde değişimin oluştuğunu, diğer allelin ise sağlam olduğunu (heterozigot gen

durumu) gösterir. GST-P1 114 mutasyon bandı ile birlikte değerlendirilmesi gereken bir banttır.

GST-P1 114 Mutasyon bandı: Strip üzerinde sadece bu bandın oluşması kişinin GST-P1 genindeki her 2 allelde de ala114val değişimini (homozigot mutasyon durumu) gösterir. Bu bantla birlikte GST-P1 114 Wild Tip bandının da oluşması kişinin allellerinin birinde değişimin oluştuğunu, diğer allelin ise sağlam olduğunu (heterozigot gen durumu) gösterir. GST-P1 114 Wild Tip bandı ile birlikte değerlendirilmesi gereken bir banttır.

Hastalara ait stripler bandların oluşup oluşmamasına göre değerlendirildi. Yukarıdaki band açıklamaları doğrultusunda GSTM1, GSTT1, GSTP105, GSTP114 genlerine ait heterozigot ve homozigot mutasyonlar tesbit edildi.

4. İSTATİSTİK

İstatistiksel değerlendirme Windows SPSS 15.0 programı kullanılarak yapıldı. Parametreler T-Test, Fisher's Exact Test ve Ki-Kare Testi kullanılarak değerlendirildi ve $p < 0,05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Hasta anneleri ve sağlam kadınlar, Down Sendromlu hastalar ve sağlam çocuklar arasında ilgili gen polimorfizmi açısından fark olup olmadığına bakıldı. Ayrıca Down Sendromlu hastalarda GSTM1, GSTT1 ve GSTP1 genlerinde belirlenmiş polimorfik bölgeler ile mevcut fenotipik özellikler arasında ilişki olup olmadığı değerlendirildi. Ek olarak bu polimorfizmlerin Down Sendromlu çocuk sahibi olan anneler arasında görölme oranları belirlendi.

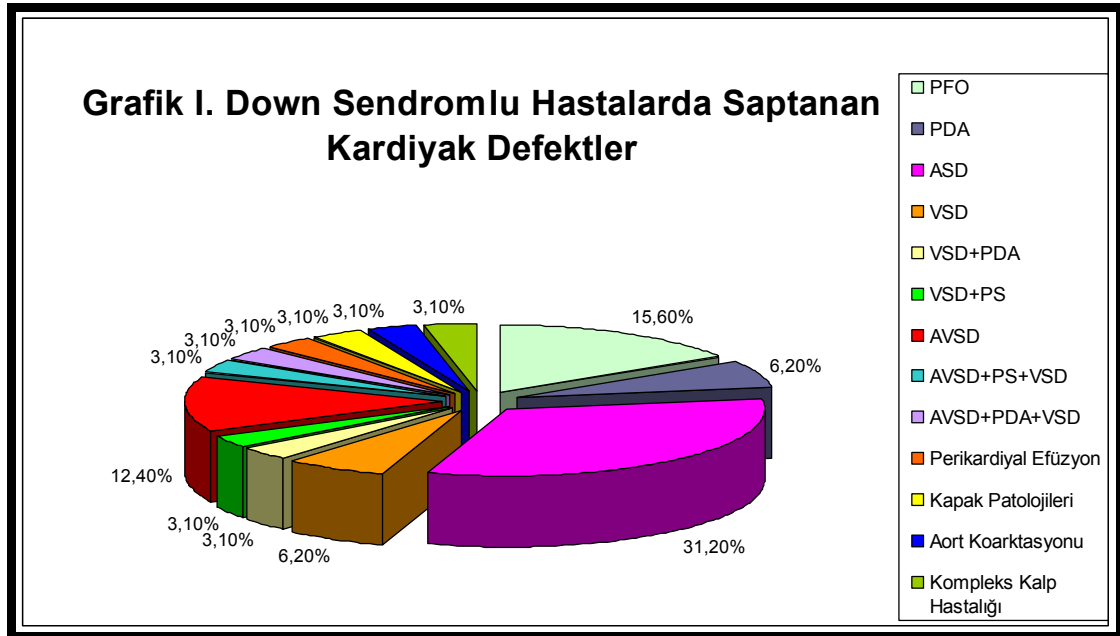
5. BULGULAR

Çalışmada 52'si Down Sendromlu hasta çocuk, 70'i sağlam çocuk, 52'si Down Sendromlu hasta annesi, 69'u sağlam kadın olmak üzere dört grup oluşturuldu ve toplam 243 olgu çalışmaya dahil edildi.

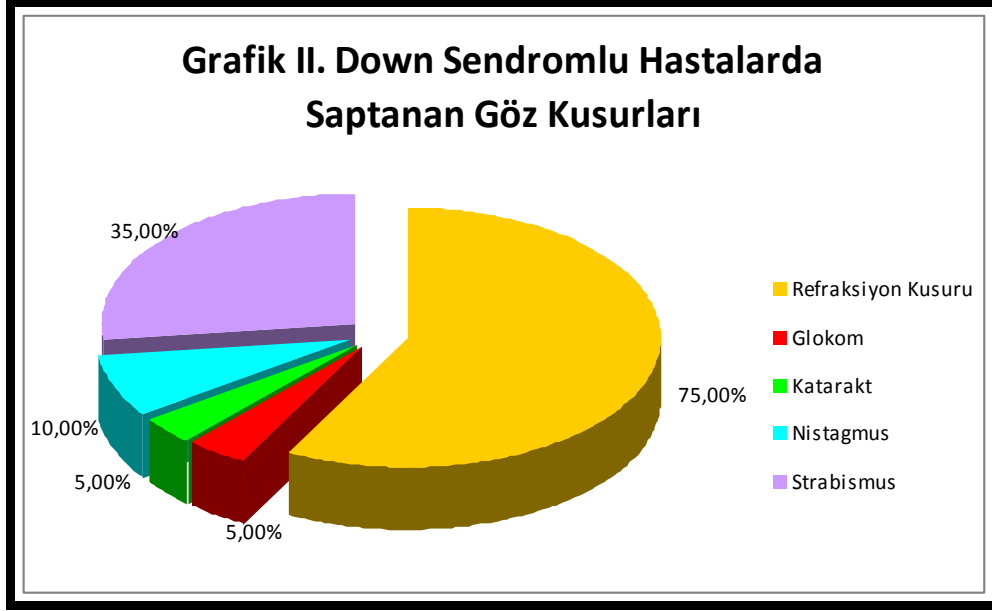
Grup I (Down Sendromlu hastalar); 52 hastanın 24'ü kız, 28'i erkekti. Yaşları 1 ay - 17 yaş (ortalama $6,13 \pm 4,86$ yaş) arasındaydı.

Down Sendromu tanısı almış olan hastalar; *kardiyak defekt* (AVSD, ASD, VSD, PDA vs), *işitme azlığı*, *göz* (kıırma kusurları, strabismus, katarakt, glokom, vs), *GİS* (duodonal atrezi/stenoz, imperfore anüs, çölyak hastalığı vs), *endokrin* (hipotroidi) patolojiler açısından değerlendirildi.

Elli iki hastanın 26'sinde (%50) kardiyak patoloji, 12'sinde (%23,1) işitme kaybı, 20'sinde (%38,5) göz patolojisi, 4'ünde (%7,7) GİS patolojisi, 23'ünde (%44,2) hipotroidi vardı.



Grafik 1: Down Sendromlu hastalarımızda görülen kardiyak defektlerin dağılımı



Grafik 2: Down Sendromlu hastalarımızda görülen göz patolojilerinin dağılımı

Down Sendromlu hastaların 23'ünde (%44,2) GSTM1 geninde, 22 (%42,3)'sinde GSTT1 geninde homozigot delesyon (null genotip) saptandı. Bu hastaların 4 (%8,9)'ünde GSTP1 geninin 105. kodonunda her iki allelde ile/val değişimi, 23 (%44,2)'ünde ise sadece bir allelerinde polimorfizm vardı; GSTP114 homozigot değişimi hiçbirinde saptanmazken, 10 (%19,2) hastanın birer allelde polimorfizm mevcuttu (Tablo 2-5).

Grup II (sağlam çocuk); 70 çocuğun 37 (%52,9)'si kız, 33 (%47,1)'ü erkekti. Yaşları 1 - 17 yaş (ortalama $9,09 \pm 4,98$ yaş) arasındaydı.

Sağlam çocukların 30'ünde (%42,9) GSTM1 null genotip, 30'ünde (%42,9) GSTT1 null genotip, 5'inde (%7,1) GSTP1 105 val/val genotipi, 1'inde (%1,4) GSTP1 114'de val/val polimorfizmi saptandı. Bu değerler Grup I'deki çocukların değerleri ile karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç elde edilemedi (Sırasıyla $p= 0.88; 0.95; 0.95; 0.68$) (Tablo 2-5).

	GSTM1		TOPLAM
	GSTM1 (-)	*GSTM1 (+)	
Grup II	30	40	70
	42,9%	57,1%	100%
Grup I	23	29	52
	44,2%	55,8%	100%
TOPLAM	53	69	122
	43,4%	56,6%	100%

Tablo 2: Grup I ve Grup II'deki çocukların GSTM1 polimorfizmi sıklıkları. *GSTM1 (+): GSTM1 geninin en az bir allelinde delesyon olmaması halini belirtir, “wild type” ile heterozigot taşıyıcıları ayırt edemez.

	GSTT1		TOPLAM
	GSTT1 (-)	*GSTT1 (+)	
Grup II	30	40	70
	42,9%	57,1%	100,0%
Grup I	22	30	52
	42,3%	57,7%	100,0%
TOPLAM	52	70	122
	42,6%	57,4%	100,0%

Tablo 3: Grup I ve Grup II'deki çocukların GSTT1 polimorfizmi sıklıkları. *GSTT1 (+): GSTT1 geninin en az bir allelinde delesyon olmaması halini belirtir, “wild type” ile heterozigot taşıyıcıları ayırt edemez.

GSTP1 kodon 105				
	val/val	ile/val	ile/ile	TOPLAM
Grup II	5 7,1%	33 47,1%	32 45,7%	70 100,0%
Grup I	4 7,7%	23 44,2%	25 48,1%	52 100,0%
TOPLAM	9 7,4%	56 45,9%	57 46,7%	122 100,0%

Tablo 4: Grup I ve Grup II'deki çocukların GSTP1 kodon 105 polimorfizm sıklıkları

GSTP1 kodon 114				
	val/val	ala/val	ala/ala	TOPLAM
Grup II	1 1,4%	14 20,0%	55 78,6%	70 100,0%
Grup I	0 0%	10 19,2%	42 80,8%	52 100,0%
TOPLAM	1 8%	24 19,7%	97 79,5%	122 100,0%

Tablo 5: Grup I ve Grup II'deki çocuklarda GSTP1 kodon 114 polimorfizm sıklıkları

Grup III (Down Sendromlu hasta anneleri); Yaşları 23-56 yaş (ortalama 37,27± 6,77yaş) arasındaydı.

Down Sendromlu hasta annelerinin 33'ünde (%63,5) GSTM1 geninin, 22 (%42,3)'sinde GSTT1 geninde homozigot delesyon, 6'sında (%11,5) GSTP1'in her iki allelinde, 17 (%32,7)'sinde ise sadece bir allelinde **ile105val** değişimi görülürken, 6 (%11,5)

anneninin birer alleleri GSTP1 ala114val polimorfizmi taşıyorlardı. Her 2 allelde de **ala114val** değişimi bulunan anne yoktu.

Grup IV (Sağlıklı çocuk sahibi kadınlar); Yaşları 22-50 yaş (ortalama 28,25± 6,54yaş) arasındaydı.

Sağlam kadınların 40 (%58)'inde GSTM1 null allel, 34 (%49,3)'ünde GSTT1 null allel, 3 (%4,3)'ünde GSTP1-105'in her iki alleli de polimorfik, 7 (%10,1)'sinde tek allelde GSTP1 114. kodonda değişim saptandı. Bu değerler Grup III'deki annelerle karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç elde edilemedi (Sırasıyla p= 0.54; 0.44; 0.32; 0.80).

GSTM1 genotip			
	GSTM1 (-)	GSTM1 (+)	TOPLAM
Grup IV	40 58,0%	29 42,0%	69 100,0%
Grup III	33 63,5%	19 36,5%	52 100,0%
TOPLAM	73 60,3%	48 39,7%	121 100,0%

Tablo 6: Grup III ve Grup IV'deki annelerin GSTM1 polimorfizmi sıklıkları

GSTT1 genotip			
	GSTT1 (-)	GSTT1 (+)	TOPLAM
Grup IV	34 49,3%	35 50,7%	69 100,0%
Grup III	22 42,3%	30 57,7%	52 100,0%
TOPLAM	56 46,3%	65 53,7%	121 100,0%

Tablo 7: Grup III ve Grup IV'deki annelerin GSTT1 polimorfizmi sıklıkları

GSTP1 105 genotip				
	val/val (G/G)	ile/val (A/G)	ile/ile A/A	TOPLAM
Grup IV	3 4,3%	25 36,2%	41 59,4%	69 100,0%
Grup III	6 11,5%	17 32,7%	29 55,8%	52 100,0%
TOPLAM	9 7,4%	42 34,7%	70 57,9%	121 100,0%

Tablo 8: Grup III ve Grup IV'deki annelerde GSTP1 kodon 105 polimorfizm sıklıkları

GSTP1 114 genotip			
	ala/val C/T	ala/ala C/C	TOPLAM
Grup IV	7 10,1%	62 89,9%	69 100,0%
Grup III	6 11,5%	46 88,5%	52 100,0%
TOPLAM	13 10,7%	108 89,3%	121 100,0%

Tablo 9: Grup III ve Grup IV'deki annelerde GSTP1 kodon 114 polimorfizm sıklıkları

Down Sendromlu hastalarda görülen sistemik patolojiler ve GST polimorfizmi arasındaki ilişkiye bakıldığında;

Kardiyak defekt saptanan 26 Down Sendromlu çocuğun; 12 (%46,2)'sinin **GSTM1** geninde homozigot delesyon saptandı. Bu çocukların 14 (%53,8)'ünün ise en az bir allelde delesyon yoktu. Kullandığımız yöntem **GSTM1** açısından heterozigot olan çocukları ile delesyon içermeyen bireylerin ayırımını yapamadığı için oranlar ayrı ayrı verilememektedir.

Bu çocukların 10 (%38,5)'unda **GSTT1** geninde homozigot delesyon tesbit edildi. Kalan 16 (%61,5) hastanın en az bir alleli "wild type" idi.

Ondört (%53,8)'ünün GSTP1 genotipinin; bir allelde ile105ile diğesinde ile105val olduğu görüldü. Kardiyak defekti olmayan Down Sendromlu çocuklarda ise bu oran % 34,6 idi (p=0.07).

Yedi (%26,9) çocukta, GSTP1 geninin bir allelde polimorfizm saptanırken, kardiyak defekti olmayan Down Sendromlu çocuklarda bu oran %11,5 olarak saptandı (p=0.15)

		GSTP1 kodon 105 genotip			
		val/val	İle/val	İle/ile	TOPLAM
Kardiyak defekt	YOK	4	9	13	26
		15,4%	34,6%	50,0%	100,0%
	VAR	0	14	12	26
		0%	53,8%	46,2%	100,0%
TOPLAM		4	23	25	52
		7,7%	44,2%	48,1%	100,0%

Tablo 10: Kardiyak defekt görülen ve görülmeyen çocuklarda, GSTP1 kodon 105'de polimorfizm görülme sıklıkları

		GSTP1 kodon 114 genotip		
		ala/val	ala/ala	TOPLAM
Kardiyak defekt	YOK	3	23	26
		11,5%	88,5%	100,0%
	VAR	7	19	26
		26,9%	73,1%	100,0%
TOPLAM		10	42	52
		19,2%	80,8%	100,0%

Tablo 11: Kardiyak defekt görülen ve görülmeyen çocuklarda, GSTP1 kodon 114'de polimorfizm görülme sıklıkları

İşitme azlığı saptanan 12 Down Sendromlu çocuğun; 4 (%33,3)'ünün GSTM1, 3 (%25)'ünde GSTT1, her 2 alleli polimorfikti. Bu oranlar işitme sorunu olmayan Down Sendromlu çocuklarda sırasıyla %47,5 ve %47,5 idi (p=0,158). Hastaların 5 (%41,7)'inin GSTP1 geni 105. Pozisyonunda tek allelde polimorfizm saptandı. GSTP1 114. Pozisyonunda 4

(%33,3) hastanın tek allelinde polimorfizm vardı (Tablo12-15). Bu oranlar işitme sorunu olmayan Down Sendromlu çocuklarla karşılaştırıldığında GSTP1 105 ve GSTP1 114 polimorfizmleri açısından aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu (GSTP1 105 için $p=0.45$, GSTP1 114 için $p=0.15$).

		GSTM1		
		GSTM1 (-)	GSTM1 (+)	TOPLAM
İşitme azlığı	YOK	19 47,5%	21 52,5%	40 100,0%
	VAR	4 33,3%	8 66,7%	12 100,0%
TOPLAM		23 44,2%	29 55,8%	52 100,0%

Tablo 12: İşitme azlığı saptanan ve saptanmayan çocuklarda, GSTM1 polimorfizmi görülme oranları

		GSTT1		
		GSTT1 (-)	GSTT1 (+)	TOPLAM
İşitme azlığı	YOK	19 47,5%	21 52,5%	40 100,0%
	VAR	3 25,0%	9 75,0%	12 100,0%
TOPLAM		22 42,3%	30 57,7%	52 100,0%

Tablo 13: İşitme azlığı saptanan ve saptanmayan çocuklarda, GSTT1 polimorfizmi görülme oranları

GSTP1 105 genotip					
		val/val (GG)	ile/val (A/G)	ile/ile (A/A)	TOPLAM
İşitme azlığı	YOK	4 10,0%	18 45,0%	18 45,0%	40 100,0%
	VAR	0 0%	5 41,7%	7 58,3%	12 100,0%
TOPLAM		4 7,7%	23 44,2%	25 48,1%	52 100,0%

Tablo 14: İşitme azlığı saptanan ve saptanmayan çocuklarda, GSTP1-105 polimorfizmi görülme oranları

GSTP1 114 genotip				
		ala/val (C/T)	ala/ala (C/C)	TOPLAM
İşitme azlığı	YOK	6 15,0%	34 85,0%	40 100,0%
	VAR	4 33,3%	8 66,7%	12 100,0%
TOPLAM		10 19,2%	42 80,8%	52 100,0%

Tablo 15: İşitme azlığı saptanan ve saptanmayan çocuklarda, GSTP1-114 polimorfizmi görülme oranları

Göz muayenelerinde patoloji saptanan 20 Down Sendromlu hastanın; 11 (%55)'inde GSTM1, 9 (%45)'unda GSTT1 polimorfizmi bulunurken, 11 (%55)'inin tek allelinde 105. Pozisyonda A/G değişimi, 4 (%20)'ünün 114. Pozisyonda C/T değişimi saptandı (Tablo 16-19). Bu oranlar grup I'de bulunan ancak göz muayeneleri normal olan hastalarla karşılaştırıldığında aralarında anlamlı bir fark olmadığı görüldü (Sırasıyla p=0.21, p=0.75, p=0.18, p=0.91).

GSTM1				
		GSTM1 (-)	GSTM1 (+)	TOPLAM
Göz muayenesinde patoloji	YOK	12 37,5%	20 62,5%	32 100,0%
	VAR	11 55,0%	9 45,0%	20 100,0%
	TOPLAM	23 44,2%	29 55,8%	52 100,0%

Tablo 16: Göz muayenesinde patoloji saptanan ve saptanmayan çocuklarda, GSTM1 polimorfizmi görülme oranları

GSTT1				
		GSTT1 (-)	GSTT1 (+)	TOPLAM
Göz muayenesinde patoloji	YOK	13 40,6%	19 59,4%	32 100,0%
	VAR	9 45,0%	11 55,0%	20 100,0%
	TOPLAM	22 42,3%	30 57,7%	52 100,0%

Tablo 17: Göz muayenesinde patoloji saptanan ve saptanmayan çocuklarda, GSTT1 polimorfizmi görülme oranları

		GSTP1 105 genotip			
		val/val (G/G)	ile/val (A/G)	ile/ile (A/A)	TOPLAM
Göz muayenesinde patoloji	YOK	4 12,5%	12 37,5%	16 50,0%	32 100,0%
	VAR	0 0%	11 55,0%	9 45,0%	20 100,0%
TOPLAM		4	23	25	52

Tablo 18: Göz muayenesinde patoloji saptanan ve saptanmayan çocuklarda, GSTP1 105 polimorfizmi görülme oranları

		GSTP1 114 genotip		
		ala/val (C/T)	ala/ala (C/C)	TOPLAM
Göz muayenesinde patoloji	YOK	6 18,8%	26 81,3%	32 100,0%
	VAR	4 20,0%	16 80,0%	20 100,0%
TOPLAM		10 19,2%	42 80,8%	52 100,0%

Tablo 19: Göz muayenesinde patoloji saptanan ve saptanmayan çocuklarda, GSTP1 114 polimorfizmi görülme oranları

GİS tutulumu olan 4 (%7,7) Down Sendromlu hastanın; 1 (%25)'inde GSTM1, 1 (%25)'inde GSTT1, 1 (%25)'inde heterozigot GSTP1 105, 1 (%25)'inde heterozigot GSTP1 114 polimorfizmleri saptandı. Bu oranlar grup I'de bulunan ancak GİS tutulumu olmayan hastalarla karşılaştırıldığında aralarında anlamlı bir fark olmadığı görüldü (Sırasıyla p=0.42, 0.46, 0.50, 0.76).

Hipotiroidi saptanan 23 (%44,2) Down Sendromlu hastanın; 15 (%51,7)'inde GSTM1, 13 (%44,8)'ünde GSTT1 polimorfizmi vardı. Bu hastaların, GSTP1 geninin 105 ve 114. kodonlarındaki aminoasit değişimi oranları tablo 22 ve 23'te verilmiştir. Bu oranlar hipotiroidisi olmayan Down Sendromlu çocuklarla karşılaştırıldığında aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı görülmüştür (Sırasıyla p=0.22, 0.68, 0.48, 0.31).

		GSTM1		
		GSTM1 (-)	GSTM1 (+)	TOPLAM
Hipotiroidi	YOK	15 51,7%	14 48,3%	29 100,0%
	VAR	8 34,8%	15 65,2%	23 100,0%
TOPLAM		23 44,2%	29 55,8%	52 100,0%

Tablo 20: Hipotiroidi saptanan ve saptanmayan çocuklarda, GSTM1 polimorfizmi görülme oranları

		GSTT1		
		GSTT1 (-)	GSTT1 (+)	TOPLAM
Hipotiroidi	YOK	13 44,8%	16 55,2%	29 100,0%
	VAR	9 39,1%	14 60,9%	23 100,0%
TOPLAM		22 42,3%	30 57,7%	52 100,0%

Tablo 21: Hipotiroidi saptanan ve saptanmayan çocuklarda, GSTT1 polimorfizmi görülme oranları

GSTP1 105 genotip					
		val/val (G/G)	ile/val (A/G)	ile/ile (A/A)	TOPLAM
Hipotiroidi	YOK	3 10,3%	14 48,3%	12 41,4%	29 100,0%
	VAR	1 4,3%	9 39,1%	13 56,5%	23 100,0%
TOPLAM		4 7,7%	23 44,2%	25 48,1%	52 100,0%

Tablo 22: Hipotiroidi saptanan ve saptanmayan çocuklarda, GSTP1 105 polimorfizmi görülme oranları

GSTP1 114 genotip				
		ala/val (C/T)	ala/ala (C/C)	TOPLAM
Hipotiroidi	YOK	7 24,1%	22 75,9%	29 100,0%
	VAR	3 13,0%	20 87,0%	23 100,0%
TOPLAM		10 19,2%	42 80,8%	52 100,0%

Tablo 23: Hipotiroidi saptanan ve saptanmayan çocuklarda, GSTP1 114 polimorfizmi görülme oranları

5. TARTIŞMA

Down Sendromu kromozomal hastalıklar arasında en sık görülenidir (1,2). Tipik yüz görünümü, mental retardasyon, hipotoni gibi tüm Down Sendromlu çocuklarda mevcut olan bulgular yanında KKH, duodenal atrezi/stenoz, Hirschsprung, sağırılık, konuşma bozukluğu, immün yanıtta yetersizlik, katarakt, AML, gluten sensitif enteropati, atlanto-aksiyel eklem instabilitesi gibi bu çocukların sadece bir kısmında bulunan özellikler de mevcuttur. Sendromda görülebilen tüm bu patolojilerin, kliniğe yansıma şiddetleri de değişkendir (2-4).

Yirmi birinci kromozom üzerinde bulunan genlerin trizomisinin, gen-dozaaj etkisi nedeniyle aşırı ekspresyonlarının dokuların gelişim, matürasyon ve yaşlanmaları üzerinde farklı etkilere neden olduğu ileri sürülmektedir (2,5,6). Bunun yanında 21. kromozom üzerinde olmayan bazı gen polimorfizmlerin de sendromun çeşitli özelliklerinin oluşumunda ve kliniğinde etkili olabileceği gösterilmiştir (7,8).

Down Sendromlu çocuklarda artmış oksidatif stresin, özellikle de “tek karbon metabolizmasında” bozukluklara neden olduğu bilinmektedir (11). GSH metabolizmasında etkili GST genlerindeki polimorfizmlerin kansere, inflamatuvar hastalıklara, katarakta yatkınlığı arttırdığı, immün yanıtta bozukluğa neden olduğu bilinmektedir (13-15). GST genlerindeki pek çok polimorfizm GST enzim aktivitesinde azalmaya neden olur ve bu durumda elektrofilik karsinojenleri detoksifiye edecek olan GST aktivitesi azalır ya da hiç saptanamaz (12-14).

Ayrıca, Ishibashi ve arkadaşları 1997 yılında yaptıkları bir çalışma ile oksidatif stresin, farelerde GSH eklenmesi ile düzelen doğumsal anomalilere yol açtığını göstermişlerdir (17).

Kırk altı Down Sendromlu hastanın dahil edildiği bir çalışmada, GSH metabolizması ve kanda süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GPx), glutatyon redüktaz (GR) ve GST enzim aktiviteleri araştırılmış ve 64 sağlıklı çocuğun değerleri ile karşılaştırılmış. Down Sendromlu hastaların eritrositlerinde SOD/GPx aktivite oranında kontrol grubuna göre %53'lük artış saptanmış. Çünkü SOD aktivitesinde %34'lük artışa karşılık GPx aktivitesinde artış saptanmamış. Kontrol grubuna göre Down Sendromlu hastalarda GST katalitik aktivitesinde ise %13'lük düşüklük olduğu görülmüştür (181).

Başka bir çalışmada, glutatyon-S-transferaz (GSTM1, GSTT1, GSTP1) ve metilentetrahydrofolate redüktaz (MTHFR) gen polimorfizmleri 18 Down Sendromlu hasta ve 61 kontrol grubunda incelenmiş, kontrollere göre GST genotiplerin normal allel frekansları Down Sendromlu hastalarda daha düşük saptanmıştır (182).

Biz de bu verilerden yola çıkarak Down Sendromlu çocuklarda glutation s-transferaz polimorfizmini, bu polimorfizmin fenotipik çeşitlilik üzerine etkilerini ve bunun yanında da bu polimorfizmin Down Sendromlu çocuk doğurma üzerine etkilerini araştırmayı planladık.

Çalışmaya toplam 243 olgu dahil edildi. 52'si Down Sendromlu hasta çocuk, 70'i sağlam çocuk, 52'si Down Sendromlu hasta annesi, 69'u sağlam kadın olmak üzere dört grup oluşturuldu.

Down Sendromlu hastaların 23 (%44,2)'ünde GSTM1 geninde, 22 (%42,3)'ünde GSTT1 geninde homozigot delesyon (null genotip) saptandı. Bu hastaların 4 (%8,9)'ünde GSTP1 geninin 105. kodonunda her iki allelde ile/val değişimi, 23 (%44,2)'ünde ise sadece bir allellerinde polimorfizm vardı; GSTP1 geninin 114. kodonunda homozigot mutasyon hiçbirinde saptanmazken, 10 (%19,2) hastanın birer allellinde polimorfizm mevcuttu. Sağlam çocukların 30'ünde (%42,9) GSTM1 null genotip, 30'ünde (%42,9) GSTT1 null genotip, 5'inde (%7,1) GSTP1 105 val/val genotipi, 1'inde (%1,4) GSTP1 114'de val/val polimorfizmi saptandı. İki grup arasında istatistiksel olarak fark saptamadık.

Yapılan çalışmalarda insanlarda GSTM1'in polimorfik olduğu ve coğrafik farklılıklar olmasına rağmen bu oranın % 35-60 olduğu gösterilmiştir. Bu enzim beyaz popülasyonun %50-60'ında bulunmazken, Kuzey Amerikalı siyahların % 28'inde ve Nijeryalılarda ise % 22 gibi daha düşük yüzdelerde bulunur.

Benzer şekilde GSTT1 de polimorfiktir ve insan popülasyonlarının %10-65'inde bulunmamaktadır. Amerikalı beyazların % 17'si, Nijeryalıların % 39'u, Hindistan'da yaşayan İngilizlerin %3,2'si GSTT1-1 enzim aktivitesi bulundurmazlar. GSTM1 ve GSTT1 aktivitesinin yokluğu (null genotip) bu genlerin homozigot olarak delesyona uğramasından kaynaklanmaktadır (145,156). Homozigot ile105val değişimi normal popülasyonda %10-20 iken, heterozigot değişim %40-60'tır. Homozigot ala114val değişimi normal popülasyonda %0-20 iken, heterozigot değişim %10-20'dir (172). Hem Down Sendromlu hasta grubunda hem de sağlam çocuk grubundaki polimorfizm oranları literatürlerdeki oranlar ile uyumluydu.

Down Sendromlu hastalarımızın fenotipik özelliklerine baktığımızda;

Freeman ve arkadaşları (61), ekokardiyografik inceleme ile 227 Down Sendromlu olgunun %44'üne; Abbag (64), ekokardiyografi, kardiyak kateterizasyon ve otopsi ile 95 olgunun %61.3'üne; Kallen ve arkadaşları (65), ekokardiyografi ve kardiyak kateterizasyon ile 5581 Down Sendromlu olgunun %26'sına; Figueroa ve arkadaşları (62), ekokardiyografi ile 275 olgunun %58'ine KKH tanısı koymuşlardır. Kılıç ve arkadaşları (63),

ekokardiyografik inceleme ile 51 olguda, % 58.8 oranında KKH tespit etmişlerdir. Çalışmamıza dahil edilen 52 hastanın 26'sında (%50) kardiyak patoloji mevcuttu ve bu da yapılan çalışmalardaki oranlar ile uyumluydu.

Hastalarımızın % 31,2'sinde ASD, %15,6'sında PFO, %12,4'ünde AVSD, %6,2'sinde PDA, %6,2'sinde VSD, %3,1'inde VSD ve PDA, %3,1'inde VSD ve PS, %3,1'inde AVSD, PS ve VSD, %3,1'inde AVSD, PDA ve VSD, %3,1'inde perikardiyal efüzyon, %3,1'inde kapak patolojileri, %3,1'inde aort koarktasyonu ve %3,1'inde kompleks kalp hastalığı mevcuttu. Farklı çalışmalarda bu oranlar farklı olarak bulunmuş olup yapılan çalışmalar ile kıyaslandığında bizim oranlarımız da farklıydı. Örneğin; Freeman ve arkadaşları (61), KKH olan Down Sendrom'lu olgularda % 45 oranında atriyoventriküler septal defekt (AVSD), % 35 oranında ventriküler septal defekt (VSD), % 8 oranında izole atriyal septal defekt (ASD), % 7 oranında izole patent duktus arteriozus (PDA) saptamışlardır. Figueroa ve arkadaşları (62), KKH saptanan olguların %24'ünde ASD, %22'sinde VSD, %21'inde PDA, %8.7'sinde AVSD saptamış, en sık görülen klinik bulgunun kalp yetmezliği olduğunu rapor etmişlerdir. Kılıç ve arkadaşları (63), KKH tanısı alan olguların %63.3'ünde ASD, %10'unda VSD, %10'unda fallot tetralojisi, %5'inde AVSD tespit etmişlerdir. Stos ve arkadaşları (69), KKH olan 73 Down Sendrom'lu olguda %50 oranında AVSD, %27.3 oranında VSD, % 11 oranında ASD, % 8.2 oranında fallot tetralojisi, %1.3 oranında PDA saptadıklarını rapor etmişlerdir.

Kardiyak defekt saptanan 26 (%50) Down Sendromlu çocuğun; 12 (%46,2)'sinin GSTM1 geninde homozigot delesyon saptandı. Bu çocukların 14 (%53,8)'ünün ise en az bir allelde delesyon yoktu. Bu çocukların 10 (%38,5)'unda GSTT1 geninde homozigot delesyon tesbit edildi. Kalan 16 (%61,5) hastanın en az bir alleli "wild type" idi. 14 (%53,8)'ünün GSTP1 genotipinin; bir allelde ile105ile diğerinde ile105val olduğu görüldü. Kardiyak defekti olmayan Down Sendromlu çocuklarda ise bu oran % 34,6 idi (p=0.07). Yedi (%26,9) çocukta, GSTP1 geninin bir allelinde polimorfizm saptanırken, kardiyak defekti olmayan Down Sendromlu çocuklarda bu oran %11,5 olarak saptandı (p=0.159). Her iki grup karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı.

Biz GST polimorfizmi ve KKH oluşumu arasında ilişki saptamadık. Literatürde de bu gendeki polimorfizmlerle KKH'larını ilişkilendiren çalışma bulunmamaktadır. Diğer bazı genlerdeki polimorfizmlerin KKH ile ilişkili olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur. Örneğin; CRELD1 (Cysteine-Rich Protein with EGF-like Domains 1) bilinen önemli bir hücre adezyon molekülü olarak kalp gelişiminde çok önemli rol oynar, Down Sendromunda atriyoventriküler septal defekte ve ayrıca sporadik atriyoventriküler septal defekte neden

olduğu bilinmektedir. KKH tanısı almış 100 hasta ve 50 sağlıklı kontrol grubuna tek nükleotid polimorfizmi (SNP) taraması yapılmış. Analizde hastaların ikisinde gözlenen CRELD1'in SNP c.985 C> T oluşumu kontrol grubunda saptanmamış. Bu nedenle, CRELD1 bir SNP c.985 C> T, KKH ile ilişkisi bulunmuştur (76).

Yine, aktive T lenfositlerin nükleer faktörü (NFATc1), valvüler ve septal gelişim sırasında kritik bir rol oynamaktadır. Tandem tekrar polimorfizmleri ve NFATc1 ortak non-sinonim polimorfizmi (Cys751Gly) için yapılan çalışmada, varyant homozigot (LL) ile ilişkili valvuloseptal defekt riski önemli ölçüde mild-tip homozigottan daha fazla bulunmuştur. LL genotipine sahip bireylerde perimembranöz ventriküler septal defekt riski daha yüksek kabul edilmiştir (77). NKX2.5 omurgalılarda kalp gelişiminin septalı düzenlenme ile kardiyak şekillenmesinde ve olgunlaşmasında ve yaşam boyunca atriyoventriküler düğümün bakımında rol oynayan önemli bir transkripsiyon faktörüdür. KKH ile ilişkili NKX2.5 tek nükleotid polimorfizmleri (SNP) KKH'larında saptanmış ve ilişkisi gösterilmiş (78). VEGF endokardiyal yastık oluşumu için gereklidir ve VEGF sentez düzensizliği endokardiyal yastık defektine yol açar. VEGF genindeki üç fonksiyonel tek nükleotid polimorfizmleri -2578 C> A, -1154 G> A ve -634 G> C kardiyogeneziste rol oynamaktadırlar. -2578A/-1154A/-634G haplotipi endokardiyal yastık defektinde bir azalma ile ilişkili bulunmuş ve endokardiyal yastık defekti bulunan çocuklara aktarımı düşük bulunmuş (79).

Çalışmaya alınan 52 hastanın 12'sinde (%23) işitme kaybı mevcuttu. Bu oran yapılan çalışmalar ile karşılaştırıldığında düşük bulundu. İşitme kaybının değerlendirilmesi, entelektüel gelişimi etkilemesi nedeniyle çok önemlidir. Down Sendromlu hastaların %38-78'i bu probleme sahip olabilmekte ve hastalarda işitme kaybı iletim tipi, sensörinöral veya miks tip şeklinde saptanabilmektedir. Tekrarlayan otit media ve seröz otitin medikal tedavileri yanı sıra cerrahi önlemler (ventilasyon tüpü uygulaması, adenotonsillektomi) pek çok hasta için özellikle iletim tipi işitme kaybının önlenmesi için gerekli olabilmektedir. (116-118). Bizim hastalarımızda da sık üst solunum yolu ve orta kulak infeksiyonu geçirme öyküsü mevcuttu.

İşitme azlığı saptanan 12 (%23) Down Sendromlu çocuğun; 4 (%33,3)'ünün GSTM1, 3 (%25)'ünde GSTT1, her 2 alleli polimorfikti. Bu oranlar işitme sorunu olmayan Down Sendromlu çocuklarda sırasıyla %47,5 ve %47,5 idi (p=0,158). Hastaların 5 (%41,7)'inin GSTP1 geni 105. kodonunda tek allelde polimorfizm saptandı. GSTP1 114. kodonunda 4 (%33,3) hastanın tek allelinde polimorfizm vardı. Bu oranlar işitme sorunu

olmayan Down Sendromlu çocuklarla karşılaştırıldığında GSTP1 105 ve GSTP1 114 polimorfizmleri açısından aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu (GSTP1 105 için $p=0.45$, GSTP1 114 için $p=0.15$).

Reaktif oksijen türlerinin, gürültüye bağlı işitme kaybına yatkınlık yatan mekanizmanın bir parçası olduğu düşünülerek, bir çelik fabrikasında gürültüye maruz kalan 58 erkek işçide oluşan geçici eşik kayması üzerinde GSTT1, GSTM1 ve GSTP1 için genetik mutasyonun etkisinin belirlenmesi amacıyla çalışma yapılmış. GSTT1 null, GSTM1 null ve GSTP1 Ile (105) / Ile (105) tüm genotiplerini taşıyan bireylerin gürültüye bağlı işitme kaybına yatkın olduğu bulunmuştur (119).

Buna rağmen, iç kulak hasarında reaktif oksijen radikallerinin önemli bir rol oynayabileceğini varsayarak, ani sensörinöronal işitme kaybının GSTM1 ve GSTT1 genotipleri ile ilişkili olup olmadığı araştırılmış; GSTM1 ve GSTT1 null genotip sıklığı hasta ve kontrol grup arasında farklı bulunmamış (120). Yine, GSTP1, GSTM1 ve GSTT1 polimorfizmi ve yaşa bağlı işitme kaybı arasında anlamlı bir ilişki gösterilememiştir (121). Biz de çalışmamızda işitme kaybı ile GST polimorfizmi arasında bir ilişki saptamadık.

Çalışmaya alınan 52 hastanın 20'sinde (%38,5) göz patolojisi saptandı. Bu 20 hastanın %75 inde refraksiyon kusuru, %35 inde strabismus, %10 unda nistagmus, %5 inde katarakt, %5 inde glokom saptadık. Biz çalışmamızda hastalarda fonksiyonel bozukluğa neden olan göz problemlerini değerlendirdik. Sharmini ve arkadaşları, Down Sendromu tanısı almış, yaşları bir ay ile 17 yaş arasında değişen 60 olgudan %96.7'sinde epikantus, %33.3'ünde nistagmus, %26.7'sinde strabismus, %13.3'ünde bilateral konjenital katarakt, %10'unda blefarokonjunktivit, %6.7'sinde göz kapağı anomalileri, %6.7'sinde glokom, %3.3'ünde nasolakrimal kanal obstruksiyonu, %1.7'sinde bilateral retinoblastom, %1.7'sinde kronik üveit saptadıklarını rapor etmişlerdir (107).

Göz muayenelerinde patoloji saptanan 20 (%38) Down Sendromlu hastanın; 11 (%55)'inde GSTM1, 9 (%45)'unda GSTT1 polimorfizmi bulunurken, 11 (%55)'inin tek allelinde 105. Pozisyonda A/G değişimi, 4 (%20)'ünün 114. Pozisyonda C/T değişimi saptandı. Bu oranlar grup I'de bulunan ancak göz muayeneleri normal olan hastalarla karşılaştırıldığında aralarında anlamlı bir fark olmadığı görüldü (Sırasıyla $p=0.21$, $p=0.75$, $p=0.18$, $p=0.91$).

İnsanlarda, GSTT1 ve GSTM1 null genotip (T0M1, T1M0 ve T0M0) bazı göz hastalıkları ile ilgili süreçlerin patolojisi ile ilişkilendirilmiş. Yapılan bir çalışmada glokomlu hastalarda her üç GST polimorfizmi kontrollere göre glokom grubunda belirgin olarak daha

sık görülmüş. Azalmış GST fonksiyonu oksidatif ara metabolizması ile etkileşebilir ve optik sinir üzerinde oksidatif stresin doğrudan ya da dolaylı zararlı etkileri şiddetlendirebilir. Bu GST polimorfizmlerinin glokom için risk faktörü olabileceğini düşündürür (109).

Başka bir çalışmada GSTM1 ve GSTT1 gen polimorfizmleri, primer açık açılı glokomlu 144 hasta ve benzer yaştaki 121 sağlıklı kontrol grubunda incelenmiş, GSTM1 pozitif genotip ve GSTT1 null genotip gelişimi primer açık açılı glokom açısından yüksek risk taşıdığı ve GSTM1 pozitif ve GSTT1 null genotip kombinasyonu olan bireylerde glokom riski anlamlı olarak arttığı gösterilmiştir (183).

Yine, GST polimorfizmleri senil katarakt gelişimi için risk faktörleri olarak kabul edilmiştir. GSTM1 ve GSTT1 null genotip ve senil katarakt riski arasındaki ilişkiyi değerlendirmek için yapılan meta-analizde GSTM1/GSTT1 polimorfizmleri ve senil katarakt arasındaki ilişkiyi değerlendiren tüm çalışmalar dahil edilmiş. GSTM1 null genotip ve senil katarakt riski arasındaki ilişki istatistiksel olarak anlamlı olmadığını ve GSTT1 null genotip ve senil katarakt riski arasındaki ilişkinin önemli olmadığını gösterilmiştir. Alt grup analizi GSTM1 null genotip ve senil katarakt riski arasındaki ilişki istatistiksel olarak Asyalılarda anlamlı olduğu ancak içinde Kafkasyalılarda anlamlı olmadığını gösterilmiştir. Benzer sonuçlar GSTT1 null genotip ve senil katarakt riski arasında ilişkide de gözlenmiştir. Bu meta-analiz GSTM1 ve GSTT1 null genotip Asya topluluklarında senil katarakt riski ile ilişkili olduğunu göstermiştir (110).

Çalışmaya alınan 52 hastanın 4'ünde (%7,7) GİS patolojisi saptandık. Bir hastada anal atrezi, 2 hastada duodenal atrezi ve bir hastada çölyak hastalığı mevcuttu. 98 Down Sendrom'lu olgunun 22'sinde (%22.4) GİS anomalisi olduğunu bildirmiş ve sekiz olguda görülen duodenal atrezinin en sık görülen gastrointestinal anomali olduğunu rapor etmiştir (64). Down Sendrom'lu olgularda çölyak hastalığı birlikteliği de gösterilmiş olup, risk %7-16 olarak belirlenmiştir (57).

GİS tutulumu olan 4 (%7,7) Down Sendromlu hastanın; 1 (%25)'inde GSTM1, 1 (%25)'inde GSTT1, 1 (%25)'inde heterozigot GSTP1 105, 1 (%25)'inde heterozigot GSTP1 114 polimorfizmleri saptandı. Bu oranlar grup I'de bulunan ancak GİS tutulumu olmayan hastalarla karşılaştırıldığında aralarında anlamlı bir fark olmadığı görüldü.

Yaptığımız çalışmada 52 hastanın 23'ünde (%44,2) hipotroidi mevcuttu. Hastaların tamamı L-tyroksin tedavisi alıyordu. Fort ve arkadaşları (89) Down Sendrom'lu yenidoğanlarda konjenital primer hipotiroidi sıklığını, normal popülasyondan 28 kat daha

yüksek bulmuşlardır. Cutler ve arkadaşları (90) yaşları 4 ay ile 3 yaş arasında değişen 49 Down Sendrom'lu olguda % 27 oranında TSH yüksekliği saptadıklarını bildirmişlerdir. Zori ve arkadaşları (91) yetişkin Down Sendrom'lu olgularda % 66 oranında tiroid disfonksiyonu, tiroid disfonksiyonu saptananların %57'sinde TSH yüksekliği (5 mIU/mlW), %28'inde tiroid otoantikörlerinin pozitif olduğunu rapor etmişlerdir.

Hipotiroidi saptanan 23 (%44,2) Down Sendromlu hastanın; 15 (%51,7)'inde GSTM1, 13 (%44,8)'ünde GSTT1 polimorfizmi vardı. Bu hastaların, GSTP1 geninin 105 ve 114. kodonlarındaki aminoasit değişimi oranları tablo 22 ve 23'te verilmiştir. Bu oranlar hipotiroidisi olmayan Down Sendromlu çocuklarla karşılaştırıldığında aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı görülmüştür (Sırasıyla p=0.22, 0.68, 0.48, 0.31).

Konjenital hipotiroidi ile bazı genlerdeki polimorfizm arasında ilişki gösterilmiş olup; örneğin, son yıllarda yapılan çalışmalarda FOXE1 polyalanine yolu (FOXE1-polyAla) uzunluk polimorfizmi ve konjenital hipotiroidiye neden olan tiroid disgenezisine genetik yatkınlık arasında ilişki ortaya konulmuş. 12 alanin içeren FOXE1-polyAla kısa varyantı, kontrol grubunda 5 (%5,6) kişide saptanmış, ancak tiroid hemigenezisi bulunan grupta saptanmamış. FOXE1-polyAla uzun varyantlarının sıklığı sporadik tiroid hemigenezisi ve kontrol grubu ile karşılaştırıldığında tiroid hemigenezisi ailesel formu olan hastalarda daha yüksek bulunmuş (96).

Yine, genotipik IL5-746 C/T, IL6-572 C/G ve IL13-1112 C/T polimorfizmlerinin, fonksiyonel polimorfizmi bu sitokinleri düzenleyen genlerin promotor bölgelerinde vardır. 57 inatçı Graves hastalıklı (GH), 52 remisyonda Graves hastalıklı, 52 ağır Hashimoto hastalıklı (HH), 56 ılımlı Hashimoto hastalıklı ve 91 sağlıklı kişi çalışmaya alınmış. IL-13 yüksek üretilebilirlik ile korele IL13-1112 T alleli, inatçı GH olanlara göre remisyonda GH olan hastalarda daha sık olarak gösterilmiş. IL-5 düzeyi düşüklüğü ile ilişkili IL5-746 T alleli, kontrol grubuna göre remisyonda GH olan hastalarda daha sık olarak gösterilmiş. IL-6 yüksek üretilebilirliği ile ilişkili IL6-572 G alel taşıyıcıları kontrol grubuna göre özellikle remisyonda GH ve ağır HH gibi otoimmün tiroid hastalıklarında daha sık olarak gösterilmiş. Th2 sitokinlerini kodlayan genlerdeki fonksiyonel polimorfizmi, otoimmün tiroid hastalık geliştirme ve prognozu birbirinden farklı ile ilişkidir (97).

Çalışmaya alınan 52 hastanın 49'unda (%94,2) kas-skeletal patoloji saptadık. Hastaları değerlendirirken atlantoaksiyel instabilite, eklem laksitesisi, brakidaktili, klinodaktili ve sindaktili olup olmadığına bakıldı. Hastalar klinik olarak değerlendirildi, radyolojik görüntüleme yapılmadı. Down Sendrom'lu olgularda %15-21 oranında

görülmekte olan atlantoaksiyel instabilite, olguların % 1-2 sinde spinal kord basısı bulgularına neden olmaktadır (25,26). Yaşları 15'in üzerinde olan 44 Down Sendrom' lu olgu klinik ve radyografik olarak incelenmiş %18' inde asemptomatik atlantoaksiyel instabilite, %12'sinde C1-2 de konjenital anomali, %36'sında servikal spondiloz saptanmış, yaşla birlikte dejeneratif değişikliklerin arttığı ve dejeneratif değişikliklerin normal popülasyondan daha erken yaşlarda görüldüğü rapor edilmiştir (103).

Otoimmün hastalık açısından değerlendirildiğinde bir hastada vitiligo mevcuttu. Down Sendrom'lu olgular ile birinci derece akrabalarında alopesi areata, vitiligo, gluten enteropatisi, diabetes mellitus, juvenil idyopatik artrit, psoriasis ve poliartrit gibi otoimmün hastalıklara da daha sık rastlanmaktadır (26).

Çalışmaya alınan hastaların hepsinde farklı derecelerde mental retardasyon mevcuttu. Motor gelişim açısından öykü ve klinik olarak değerlendirildiklerinde hipotonilerinin olduğu ve yaşlıtlarına göre motor gelişimlerinin geri olduğu görüldü. Beş hastamız epilepsi, bir hastamız da doğum travmasına bağlı serebral palsy tanısı ile izlenmekteydi. Hastalarımızın hiçbirinde Alzheimer Hastalığı yoktu. Bunu çalışma popülasyondaki çocukların yaşlarının küçük olması ile ilişkili olduğunu düşündük.

Hiçbir hastamız lösemi tanısı almamıştı. Hastalarımızda kanıtlanmış immün yetmezlik yoktu; ama üç hastamızda tekrarlayan akciğer infeksiyon öyküsü mevcuttu.

Down Sendromlu hasta annelerinin 33'ünde (%63,5) GSTM1 geninin, 22 (%42,3)'sinde GSTT1 geninde homozigot delesyon, 6'sında (%11,5) GSTP1'in her iki allelinde, 17 (%32,7)'sinde ise sadece bir allelinde ile105val değişimi görülürken, 6 (%11,5) annenin birer alleleri GSTP1 ala114val polimorfizmi taşıyorlardı. Her 2 allelde de ala114val değişimi bulunan anne yoktu. Sağlam kadınların 40 (%58)'inde GSTM1 null allel, 34 (%49,3)'ünde GSTT1 null allel, 3 (%4,3)'ünde GSTP1-105'in her iki alleli de polimorfik, 7 (%10,1)'sinde tek allelde GSTP1 114. kodonda değişim saptandı. Bu değerler Down Grup III'deki annelerle karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç elde edilemedi (Sırasıyla p= 0.54; 0.44; 0.32; 0.80). Her iki gruptaki oranlar normal popülasyon ile benzer oranlardaydı.

Sonuç olarak; GSH metabolizmasında etkili GST genlerindeki polimorfizmlerin kansere, inflamatuvar hastalıklara, katarakta yatkınlığı arttırdığı, immun yanıtta bozukluğa neden olduğu bilinmekte ve GST genlerindeki pek çok polimorfizm GST enzim aktivitesinde azalmaya neden olmaktadır.

Bizim yaptığımız çalışmada Down Sendromlu hastalarda GST polimorfizm sıklığı normal popülasyon ile uyumluydu. Bu oranlar çalışmaya alınan sağlam çocuklar ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı.

GST polimorfizminin Down Sendromda görülen fenotipik özelliklere etkisi gösterilemedi.

Yine Down sendromlu hasta anneleri ve sağlam çocuk sahibi kadınların GST polimorfizm sıklığı normal popülasyon ile benzer bulundu ve iki grup arasında fark saptanmadı.

Bu polimorfizmlerin Down Sendromlu çocuk doğurma üzerine etkisi olmadığı düşünüldü.

KAYNAKLAR

1. Berg JM, Korossy M. Down Syndrome before Down: A retrospect. *American Journal Of Medical Genetics* 2001; 102: 205-211.
2. Antonarakis SE, Lyle R, Dermitzakis ET. Chromosome 21 and Down Syndrome: from genomics to pathophysiology. *Nature reviews* 2004; 5: 725-38.
3. Maina PK, Milind ST, Mamta N. Down Syndrome: Clinical profile from India. *Archives of Medical Research* 2004; 35: 31–35.
4. Pattreson D. Genetic mechanisms involved in the phenotype of Down Syndrome. *MRDD Research Rewievs* 2007; 13: 199-206.
5. Gardiner K, Davisson M. The sequece of human chromosome 21 and implications for research in to Down Syndrome. *Genome Biology* 2000; 1(2): reviews0002.
6. Reeves RH. Down Syndrome mouse models are looking up. *Trends in Molecular Medicine* 2006 ;12(6): 237-40.
7. Amorim MR, Zanrosso CW, Magalhães IQ, et al. MTHFR 677C-->T and 1298A-->C polymorphisms in children with Down Syndrome and acute myeloid leukemia in Brazil. *Pediatr Hematol Oncol.* 2008; 25: 744-750.
8. Biselli JM, Goloni-Bertollo EM, Haddad R, et al. The MTR A2756G polymorphism is associated with an increase of plasma homocysteine concentration in Brazilian individuals with Down Syndrome. *Braz J Med Biol Res.* 2008; 41: 34-40.
9. Roizen NJ, Patterson D. Down's Syndrome. *Lancet* 2003; 361: 1281–89.
10. Reeves RH, Baxter LL, Richtsmeier JT. Too much of a good thing: mechanisms of gene action in Down Syndrome. *Trends Genet* 2001; 17: 83-88.

11. Reed MC, Thomas RL, Pavisic J, et al. A mathematical model of glutathione metabolism. *Theor Biol Med Model* 2008; 5: 1-16.
12. Hayes JD, Flanagan JU, Jowsey IR. Glutathione transferases. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 2005; 45: 51-88.
13. Sekine Y, Hommura S, Harada S. Frequency of glutathione-S-transferase 1 gene deletion and its possible correlation with cataract formation. *Exp Eye Res* 1995; 60: 159-163.
14. Majumdar S, Mondal BC, Ghosh M, et al. Association of cytochrome P450, glutathione S-transferase and N-acetyl transferase 2 gene polymorphisms with incidence of acute myeloid leukemia. *Eur J Cancer Prev* 2008; 17: 125-132.
15. Vlastos A, Andreasson K, Tegerstedt K, et al. VP1 pseudocapsids, but not a glutathione-S-transferase VP1 fusion protein, prevent polyomavirus infection in a T-cell immune deficient experimental Mouse model. *J Med Virol* 2003; 70: 293-300.
16. Zatorska A, Jozwiak Z. Involvement of glutathione and glutathione-related enzymes in the protection of normal and trisomic human fibroblasts against daunorubicin. *Cell Biol Int* 2002; 26: 383-391.
17. Ishibashi M, Akazawa S, Sakamaki H, et al. Oxygen-induced embryopathy and the significance of glutathione –dependent antioxidant system in the rat embryo during early organogenesis. *Free Rad Biol Med* 1997; 22: 447-454.
18. Han LL, Keller MP, Navidi W, et al. Unequal exchange at the Charcot-Marie-Tooth disease type 1A recombination hot-spot is not elevated above the genome average rate. *Hum Mol Genet.* 2000 Jul 22; 9(12): 1881-9.
19. Waardenburg JP, Bleyer A, Karter K. Early conjectures that Down Syndrome is caused by chromosomal nondisjunction. *Bulletin Of The History Of Medicine* 2002; 76: 528-563.

20. Lejeune J, Turpin R, Gautier M. Mongolism; a chromosomal disease (trisomy). Bull. Acad Natl Med 1959; 143: 256-265.
21. Jacobs PA, Baikie AG. The somatic chromosomes in mongolism. Lancet. 1959; 1: 710.
22. Hattori M, Fujiyama A, Taylor DT, et al. The DNA sequence of human chromosome 21. Nature, 2000. 405(6784): p. 311-9.
23. Genetics Lecture 7, Cytogenetic, http://www.ucl.ac.uk/~ucbhjow/bmsi/bmsi_7.html
24. Apak MY. Genetik Bozukluklar: Neyzi O, Ertugrul T (eds), Pediatri. 3th edition. Nobel 2003, ss: 152-155
25. Hall JG. Chromosomal clinical abnormalities. in: Behrman RE, Kliegman RM, Jenson HB (eds), Nelson Textbook of Pediatrics, 17th edition. Saunders 2004, pp:384-387.
26. Tolmie JL. Down Syndrome and other autosomal trisomies. in: Connor JM, Pyertz RE, Rimoin DL (eds). Principles and Practice of Medical Genetics, Third Edition. Churchill Livingston, London. 1996, pp:925-945
27. Petersen MB, Antonarakis SE, Hassold TJ, et al. Paternal nondisjunction in trisomy 21: excess of male patients. Hum Mol Genet. 1993 Oct; 2(10): 1691-5.
28. Angela I. Scioscia. Prenatal Genetic Diagnosis. in: Creasy RK, Resnik R. (eds). Maternal Fetal Medisine. Fourth edition, WB Saunders. 1999, pp: 42-62.
29. Gülten T, Erçal D. Çocuk Sağlığı ve Prenatal Tanı. Türkiye Klinikleri Dergisi. 2005; 68-73.
30. Nicolaides KH, Spencer K, Avgidou K, et al. Multicenter study of first trimester screening for trisomy 21 in 75 821 pregnancies: results and estimation of the potential impact of individual risk-orientated two-stage firsttrimester screening. Ultrasound Obstet Gynecol. 2005; 5: 221-6.

31. Crane E, Morris JK. Changes in maternal age in England and Wales implications for Down Syndrome. *Downs Syndr Res Pract.* 2006 ; 10: 413.
32. Roper RJ, RH Reeves, Understanding the basis for Down syndrome phenotypes. *PLoS Genet*, 2006. 2(3): 50.
33. Potier MC, Rivals I, Mercier G, et al. Transcriptional disruptions in Down Syndrome: a case study in the Ts1Cje mouse cerebellum during post-natal development. *J Neurochem*, 2006; 97(1): 104-9.
34. Patterson D. Molecular genetic analysis of Down Syndrome. *Hum Genet*, 2009. 126(1): 195-214.
35. Aula P, Leisti J, von Koskull H. Partial trisomy 21. *Clin Genet.* 1973. 4(3): 241-51.
36. Niebuhr E. Down's Syndrome. The possibility of a pathogenetic segment on chromosome no. 21. *Humangenetic.* 1974; 21(1): 99-101.
37. Delabar JM, Theophile D, Rahmani Z, et al. Molecular mapping of twenty-four features of Down syndrome on chromosome 21. *Eur J Hum Genet.* 1993; 1(2): 114-24.
38. Lyle R, Bena F, Gagos S, et al. Genotype-phenotype correlations in Down syndrome identified by array CGH in 30 cases of partial trisomy and partial monosomy chromosome 21. *Eur J Hum Genet.* 2009; 17(4): 454-66.
39. Montoya JC, Soto J, Satizabal JM, et al. Genomic study of the critical region of chromosome 21 associated to Down Syndrome. *Colombia Medica.* 2010; ISSN 1657-9534 versione online.
40. Sommer CA, Pavarino-Bertelli EC, Goloni-Bertollo EM, Henrique-Silva F. Identification of dysregulated genes in lymphocytes from children with Down Syndrome. *Genome.* 2008; 51(1): 19-29.

41. Lockstone HE, Haris LW, Swatton JE, et al. Gene expression profiling in the adult Down syndrome brain. *Genomics*. 2007; 90(6): 647-60.
42. Altug-Teber O, Bonin M, Walter M, et al. Specific transcriptional changes in human fetuses with autosomal trisomies. *Cytogenet Genome Res*. 2007; 119(3-4): 171-84.
43. Conti A, Fabbrini F, D'Agostino P, et al. Altered expression of mitochondrial and extracellular matrix genes in the heart of human fetuses with chromosome 21 trisomy. *BMC Genomics*. 2007; 8: 268.
44. Lott IT, Head E, Doran E, et al. Beta-amyloid, oxidative stress and down Syndrome. *Curr Alzheimer Res*. 2006; 3(5): 521-8.
45. Helguera P, Pelsman A, Pigino G, et al. Ets-2 promotes the activation of a mitochondrial death pathway in Down's Syndrome neurons. *J Neurosci*. 2005; 25(9): 2295-303.
46. Roper RJ, Reeves RH. Understanding the basis for Down Syndrome phenotypes. *PLoS Genet*. 2006; 2(3): 50.
47. CJ E, ed. Down Syndrome (Trisomy 21). The metabolic and molecular bases of inherited disease, ed. B.A. Scriver CR, Sly WS, Valle D. Mc Graw-Hill: New York. 2002; 1223-1256.
48. Ferencz C, Neill CA, Boughman JA, et al. Congenital cardiovascular malformations associated with chromosome abnormalities: an epidemiologic study. *J Pediatr*. 1989; 114(1): 79-86.
49. Yang Q, Rasmussen SA, Friedman JM. Mortality associated with Down's Syndrome in the USA from 1983 to 1997: a population-based study. *Lancet*. 2002; 359(9311): 1019-25.
50. Hasle H. Pattern of malignant disorders in individuals with Down's Syndrome. *Lancet Oncol*. 2001, 2(7): 429-36.

51. Murdoch JC, Rodger JC, Rao SS, et al. Down's Syndrome: an atheroma-free model? *Br Med J.* 1977; 2(6081): 226-8.
52. Yla-Herttuala S, Luoma J, Nikkari T et al. Down's Syndrome and atherosclerosis. *Atherosclerosis.* 1989; 76(2-3): 269-72.
53. Patterson D. The Integrated Map Of Human Chromosome 21. In: *Etiology and Pathogenesis of Down Syndrome.* Wiley-Liss 1995; 43-55.
54. Kava MP, Tulu MS, Muranjan MN, et al. Down Syndrome: clinical profile from India. *Arch med Res.* 2004; 35: 31-35.
55. Jones KL. Down Syndrome (Trisomy 21 syndrome). In: *Smith's recognizable patterns of human malformations.* 5th ed. Philadelphia, PA, USA: W. B. Saunders Co: 1997; 8-13.
56. Lin AE. Congenital heart defects in chromosome abnormality syndromes. In: Allen HD, Moss AJ, Adams FH(eds). *Heart Disease in Infants, Children and Adolescents,* 6th ed. Philadelphia: Williams & Wilkins; 2001; pp: 638-639
57. Cohen WI. Health care guidelines for individuals with Down Syndrome: 1999 Revision. Sept. 1999; Volume 4, Number 3.
58. Lin AE, Herring AH, Amstutz KS, et al. Cardiovascular Malformations: changes in prevalence and birth status, 1972-1990. *Am J Med Genet.* 1999; 84: 102-10.
59. Rasmussen SA, Wong LY, Correa A, et al. Survival in infants with Down Syndrome, Metropolitan Atlanta, 1979-1998. *J Pediatr.* 2006 ; 148: 806-812.
60. Day SM, Strauss DJ, Reynolds RJ, et al. Mortality and causes of death in persons with Down Syndrome in California. *Dev Med Child Neurol.* 2005; 47: 171-6.
61. Freeman SB, Taft LF, Dooley K, et al. Population-based study of congenital heart defects in Down Syndrome. *Am J Med Genet.* 1998; 80: 213-7.

62. Rubens Figueroa J, del Pozzo Magana B, Pablos Hach JL, et al. Heart malformations in children with Down Syndrome. *Rev Esp Cardiol.* 2003; 56: 894-9.
63. Kılıç M, Taskin E, Aygün DA, Özdiller S. The retrospective evaluation of fifty-one cases of Down's Syndrome. *T. Klin Pediatri* 2003; 12: 222-229.
64. Abbag Fl. Congenital heart diseases and other major anomalies in patients with Down Syndrome. *Saudi Med J.* 2006; 27: 219-22.
65. Kallen B, Mastroiacovo P, Robert E. Major congenital malformations in Down Syndrome. *Am J Med Genet.* 1996; 65: 160-6.
66. McElhinney DB, Straka M, Goldmuntz E, et al. Correlation between abnormal cardiac physical examination and echocardiographic findings in neonates with Down Syndrome. *Am J Med Genet.* 2002; 113: 238-41.
67. Hirashima C, Eguchi Y, Kohmura Y, et al. Isolated pericardial effusion and transient abnormal myelopoiesis in a fetus with Down's Syndrome. *J Obstet Gynaecol Res.* 2000; 26: 303-6.
68. Concolino D, Pascuzzi A, Pietragalla E, Lia R, et al. High prevalence of isolated pericardial effusion in Down Syndrome. *Am J Med Genet A.* 2005; 132: 331-2
69. Werder EA, Torresani T, Navratil F, et al. Pericardial effusion as a sign of acquired hypothyroidism in children with Down Syndrome. *Eur J Pediatr.* 1993; 152: 397-8.
70. De Vore GR. Trisomy 21: 91% detection rate using second-trimester ultrasound markers. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2000; 16: 33-41.
71. Sharland G, Lockhart S. Isolated pericardial effusion: an indication for fetal karyotyping? *Ultrasound Obstet Gynecol.* 1995; 6: 29-32.

72. Hyett J, Moscoso G, Nicolaidis K. Great arteries in first trimester chromosomally abnormal fetuses. *Am J Med Abnormalities of the Heart and Genet.* 1997; 69: 207-16.
73. Pinto FF, Nunes L, Ferraz F, et al. Down's Syndrome: different distribution of congenital heart diseases between the sexes. *Int J Cardiol.* 1990; 27: 175-8.
74. Barlow GM, Chen XN, Shi ZY, et al. Down syndrome congenital heart disease: a narrowed region and a candidate gene. *Gen Med.* 2001; 3: 91-101.
75. Hu P, Ji X, Yang C, Zhang J, et al. 22q11.2 microduplication in a family with recurrent fetal congenital heart disease. *Eur J Med Genet.* 2011 Apr 5.
76. Kusuma L, Dinesh SM, Savitha MR, et al. Maiden report on CRELD1 single-nucleotide polymorphism association in congenital heart disease patients of mysore, South India. *Genet Test Mol Biomarkers.* 2011 Mar 17
77. Gu H, Gong J, Qiu W, et al. Association of a tandem repeat polymorphism in NFATc1 with increased risk of perimembranous ventricular septal defect in a Chinese population. *Biochem Genet.* 2011 Apr 17.
78. Dinesh SM, Kusuma L, Smitha R, et al. Single-nucleotide polymorphisms of NKX2.5 found in congenital heart disease patients of Mysore, South India. *Genet Test Mol Biomarkers.* 2010 Dec; 14(6): 873-9.
79. Smedts HP, Isaacs A, de Costa D, et al. VEGF polymorphisms are associated with endocardial cushion defects: a family-based case-control study. *Pediatr Res.* 2010 Jan; 67(1): 23-8.
80. Calabro R, Limongelli G. Complete atrioventricular canal. *Orphanet J Rare Dis.* 2006; 5: 1:8.
81. Malec E, Mroczek T, Pajak J, et al. Results of surgical treatment of congenital heart disease in children with Down's Syndrome. *Pediatr Cardiol.* 1999; 20: 351-354.

82. Masuda M, Kado H, Tanoue Y, et al. Does Down Syndrome affect the long term results of complete atrioventricular septal defect when the defect is repaired during the first year of life? *Eur J Cardiothorac Surg.* 2005; 27: 405-9.
83. Ohashi N, Matsushima M, Maeda M, et al. Two-stage procedure for pulmonary vascular obstructive disease in Down Syndrome with congenital heart disease. *Circ J.* 2006; 70: 1446-50.
84. Nisihara RM, Kotze LM, Utiyama SR, et al. Celiac disease in children and adolescents with Down syndrome. *J Pediatr.* 2005;81:357-8.
85. Hatipoglu N, Büyükkayhan D, Kurtoglu S. Yenidogan dönemi tiroid hastalıkları. *Türkiye Klinikleri Pediatrik Bilimler, Pediatrik Endokrinoloji Özel Sayısı.* 2006; 10: 63-83.
86. Genç N, Yordam N. Çocukluk ve adolesanda tiroid hastalıkları. içinde: Günöz H, Öcal G, Yordam N, Kurtoglu S (eds), *Pediatrik Endokrinoloji* 2003; ss:288-314.
87. Oliveira AT, Longui CA, Calliari EP, et al. Evaluation of the hypothalamic-pituitary-thyroid axis in children with Down Syndrome. *J Peditria.* 2002; 78: 295-300.
88. Dias MA, Nunes CR, Araujo S, et al. Etiological assesment of hyperthyrotropinemia in children with Down's Syndrome. *J Pediatr.* 2005; 81: 79-84.
89. Fort P, Lifshitz F, Bellisario R, et al. Abnormalities of thyroid function in infants with Down syndrome. *J Pediatr.* 1984; 1045: 45-9.
90. Cutler AT, Benezra-Obeiter R, Brink SJ. Thyroid function in young children with Down Syndrome. *Am J Dis Child.* 1986; 140: 479-83.
91. Zori RT, Schatz DA, Ostrer H, et al. Relationship of autoimmunity to thyroid dysfunction in children and adults with Down Syndrome. *Am J Med Genet Suppl.* 1990; 7: 238-41.

92. Karlsson B, Gustafsson J, Hedov G, et al. Thyroid dysfunction in Down's Syndrome: relation to age and thyroid autoimmunity. *Arch Dis Child*. 1998; 79: 242-5.
93. Van Trotsenburg AS, Vulsma T, van Rozenburg-Marres SL, et al. The effect of thyroxine treatment started in the neonatal period on development and growth of two- year old Down Syndrome children: A randomized clinical trial. *J Clin Endocrinol Metab*. 2005; 90: 3304-3311
94. Tüysüz B, Beker DB. Thyroid dysfunction in children with Down's Syndrome *Acta Ped*. 2001; 90: 1389-1393.
95. Gibson PA, Newton RW, Selby K, et al. Longitudinal study of thyroid function in Down's Syndrome in the first two decades. *Arch Dis Child*. 2005 Jun; 90: 557-8.
96. Szczepanek E, Ruchala M, Szaflarski W, et al. BFOXE1 polyalanine tract length polymorphism in patients with thyroid hemiagenesis and subjects with normal thyroid. *Horm Res Paediatr*. 2011; 75(5): 329-34.
97. Inoue N, Watanabe M, Morita M, et al. Association of functional polymorphisms in promoter regions of IL5, IL6 and IL13 genes with development and prognosis of autoimmune thyroid diseases. *Clin Exp Immunol*. 2011 Mar; 163(3): 318-23.
98. Bekris LM, Shephard C, Peterson M, et al. Glutathione-s-transferase M1 and T1 polymorphisms and associations with type 1 diabetes age-at-onset. *Autoimmunity*. 2005 Dec; 38(8): 567-75.
99. Yun BR, El-Sohemy A, Cornelis MC, et al. Glutathione S-transferase M1, T1, and P1 genotypes and rheumatoid arthritis. *J Rheumatol*. 2005 Jun;32(6):992-7.
100. Melyn MA, White DT. Mental and developmental milestones of noninstitutionalized Down's Syndrome children. *Pediatrics*. 1973; 52: 542-5.
101. Seidl R, Cairns N, Lubec G. The brain in Down Syndrome. *J Neural Transm Suppl*. 2001; 247-61

102. Wisniewski KE. Down Syndrome children often have brain with maturation delay, retardation of growth, and cortical dysgenesis. *Am J Med Genet Suppl.* 1990; 7: 274-819.
103. Ali FE, Al-Bustan MA, Al-Busairi WA, et al. Cervical spine abnormalities associated with Down Syndrome. *Int Orthop.* 2006; 30: 284-9.
104. Stafstrom CE, Patxot OF, Gilmore HE, et al. Seizures in children with Down Syndrome: etiology, characteristics and outcome. *Dev Med Child Neurol.* 1991; 33: 191-200.
105. Goldberg-Stern H, Strawsburg RH, Patterson B, et al. Seizure frequency and characteristics in children with Down Syndrome. *Brain Dev.* 2001; 23: 375-8.
106. Mori C, Spooner ET, Wisniewsk KE, et al. Intraneuronal A beta 42 accumulation in Down Syndrome brain. *Amyloid.* 2002; 9: 88-102.
107. Liza-Sharmini AT, Azlan ZN, Zilfalil BA. Ocular findings in Malaysian children with Down Syndrome. *Singapore Med J.* 2006; 47: 14-9.
108. Kava MP, Tullu SM, Muranjan MN, et al. Down Syndrome: Clinical profile from India. *Arch Med Res.* 2004; 35: 31-5.
109. Abu-Amero KK, Morales J, Mohamed GH, et al. Glutathione S-transferase M1 and T1 polymorphisms in Arab glaucoma patients. *Mol Vis.* 2008 Mar 4; 14: 425-30.
110. Sun L, Xi B, Yu L, et al. Association of glutathione S-transferases polymorphisms (GSTM1 and GSTT1) with senile cataract: a meta-analysis. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2010 Dec; 51(12): 6381-6.
111. Abdel Azeem AA, Mahmoud AA, Salaheldine MM, Amr K. Implication of glutathione S-transferase M1 and T1 polymorphisms in the development of senile cataract among Egyptians. *Bratisl Lek Listy.* 2009; 110(11): 678-83.

112. Iino Y, Imamura Y, Harigai S, et al. Efficacy of tympanostomy tube insertion for otitis media with effusion in children with Down Syndrome. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol.* 1999; 49: 143-9.
113. Chrobok V, Simakova E. Temporal bone findings in trisomy 18 and 21 syndromes. *Eur Arch Otorhinolaryngol.* 1997; 254: 15-8.
114. Kovesi T, Sinclair B, Mac Cormick J, Matzinger MA, et al. Primary ciliary dyskinesia associated with a novel microtubule defect in a child with Down's Syndrome *Chest.* 2000; 117: 1207-9.
115. McLean L, MacCormick J, Robb I, et al. Cilia ultrastructure in children with Down Syndrome. *Otolaryngol.* 2003; 32: 379-83.
116. Van Allen M, Fung J, Jurenka S. Health care concerns and guidelines for adults with Down Syndrome. *Am J Med Genet* 1999; 89: 100-110.
117. Smith D. Health care management of adults with Down Syndrome. *Am Fam Physician* 2001; 64: 1031-1038.
118. Liza-Sharmini AT, Azlan ZN, Zilfalil BA. Ocular findings in Malaysian children with Down Syndrome. *Singapore Med J.* 2006; 47: 14-9.
119. Lin CY, Wu JL, Shih TS, et al. Glutathione S-transferase M1, T1, and P1 polymorphisms as susceptibility factors for noise-induced temporary threshold shift. *Hear Res.* 2009 Nov; 257(1-2): 8-15.
120. Cadoni G, Boccia S, Scipione S, et al. Glutathione S-transferase gene polymorphisms in Italian patients with sudden sensorineural hearing loss. *Otol Neurotol.* 2006 Dec; 27(8): 1166-9.
121. Ateş NA, Unal M, Tamer L, et al. Glutathione S-transferase gene polymorphisms in presbycusis. *Otol Neurotol.* 2005 May; 26(3): 392-7.

122. de Hingh YC, van der Vossen PW, Gemen EF, et al. Intrinsic abnormalities of lymphocyte counts in children with Down Syndrome. *J Pediatr.* 2005; 147: 744-7.
123. Lange B. The management of neoplastic disorders of hematopoiesis in children with Down's Syndrome. *Br J Haematol.* 2000; 110: 512-24.
124. Dixon N, Kishnani PS, Zimmerman S. Clinical manifestations of hematologic and oncologic disorders in patients with Down Syndrome. *Am J Med Genet C Semin Med Genet.* 2006; 142: 149-57.
125. David O, Fiorucci GC, Tosi MT, et al. Hematological studies in children with Down Syndrome. *Pediatr Hematol Oncol.* 1996; 13: 271-5.
126. Gra OA, Glotov AS, Kozhekbaeva Zh, et al. Genetic polymorphism in GST, NAT2, and MTRR and susceptibility to childhood acute leukemia. *Mol Biol (Mosk).* 2008 Mar-Apr; 42(2): 214-25.
127. Mondal BC, Paria N, Majumdar S, et al. Glutathione S-transferase M1 and T1 null genotype frequency in chronic myeloid leukaemia. *Eur J Cancer Prev.* 2005 Jun; 14(3): 281-4.
128. Reller MD, Morris CD. Is Down Syndrome a risk factor for poor outcome after repair of congenital heart defects? *J Pediatr.* 1998; 132: 738-41.
129. Garrison MM, Jeffries H, Christakis DA. Risk of death for children with Down Syndrome and sepsis. *J Pediatr.* 2005; 147: 748-52.
130. Ribeiro LM, Jacob CM, Pastorino AC, et al. Evaluation of factors associated with recurrent and/or severe infections in patients with Down's Syndrome. *J Pediatr (Rio J).* 2003; 79: 141-8.
131. Janicki MP, Dalton AJ, Henderson CM, et al. Mortality and morbidity among older adults with intellectual disability: health services considerations. *Disabil Rehabil.* 1999; 21: 284-94.

132. Yang Q, Rasmussen SA, Friedman JM. Mortality associated with Down's Syndrome in the USA from 1983 to 1997: a population- based study. *Lancet*. 2002; 359:1019-25.

133. Board P, Coggan M, Johnston P, et al. Genetic heterogeneity of the human glutathione transferases: a complex of gene families. *Phar Ther*. 1990; 48: 357-369.

134. Jancova P, Anzenbacher P, Anzenbacherova E. Phase II drug metabolizing enzymes. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub*. 2010; 154(2):103–116. 103

135. Sinnet D, Krajinovic M, Labuda D. Genetic susceptibility to childhood acute lymphoblastic leukemia. *Leuk Lym*. 2000; 38(5-6): 447-462.

136. C. Roland Wolf. Chemoprevention: Increased potential to bear fruit. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2001 March 13; 98(6): 2941–2943.

137. Sipes IG, Mcquuen, Ganddfi AJ, Bond JA. *Comprehensive toxicology*, 1997;13.

138. Commandeur JNM, Stijntjes GJ, Vermeulen NPE. Enzymes and transportsystems involved in the formation and disposition of glutathione S-conjugates. *Phar Rev*. 1995; 47: 271-330.

139. Whalen R, Boyer TD. Human glutathione S-transferases. *Sem Liver Dis* 1998; 18(4).

140. Franco R, Schoneveld OJ, Pappa A, et al. The central role of glutathione in the pathophysiology of human diseases. *Arch of Phys and Biochem*. 2007;113(4-5): 234-258

141. Hayes J.D, Pulford D.J. The glutathione S-transferase supergene family: regulation of GST and the contribution of the isoenzymes to cancer chemoprotection and drug Resistance. *Crit Rev Biochem Mol Biol*. 1995; 30(6): 445-600.

142. Ketterer B, Harris JM, Talaska G, et al. The human glutathione S-transferase supergene family, its polymorphism, and its effects on susceptibility to lung cancer. *Env Health Persp.* 1992; 98: 87-94.
143. Katoh T, Inatomi H, Kim H, et al. Effects of glutathione S-transferase GSTM1 and GSTT1 genotypes on urothelial cancer risk. *Cancer Lett.* 1998; 132: 147-152.
144. Stroombergen MCMJ, Waring RH. Determination of glutathione S-transferase γ and 0 polymorphisms in neurological disease. *Hum Exp Toxicol.* 1999; 18: 141-145.
145. Whalen R, Boyer T.D. Human glutathione S-transferases. *Sem Liver Dis.* 1998; 18(4).
146. Sies H. Strategies of antioxidant defense. *Eur. J. Biochem.* 1993; 215: 213-219.
147. Hayes JD, Strange RC. Potential contribution of the glutathione S-transferase supergene family to resistance to oxidative stress. *Free Rad Res Commun.* 1995; 22: 193-207.
148. Chasseud LF. The role of glutathione and glutathione S-transferases in the metabolism of chemical carcinogens and other electrophilic agents. *Adv Cancer Res.* 1979; 29: 175-274.
149. Gutteridge JMC. Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clin Chem.* 1995; 41: 1819-1828.
150. Berhane K, Widersten M, Engström A, et al. Detoxication of base propenals and other α , β -unsaturated aldehyde products of radical reactions and lipid peroxidation by human glutathione transferases. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1994; 91: 1480-1484.
151. Esterbauer H. Free Radicals, Lipid peroxidation and cancer, in: McBrien, DCH, Slater, TF. eds, academic publish, London, 1982; 101-122.
152. www.enotes.com

153. Tsuchida S, Sato K. Glutathion transferases and cancer. *CRC Crit Rev Biochem Mol Biol.* 1992; 27: 337-384.
154. Cowan KH, Batist G, Tulpule A, et al. Similar biochemical changes associated with multi drug resistance in human breast cancer cells and carcinogen induced resistance to xenobiotics in rats. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1986; 83: 9328-9332.
155. Wormhoudt LW, Commandeur JNM, Vermeulen PE. Genetic polymorphisms on human N-acetyltransferase, cytochrome P450, glutathione-S transferase, epoxide hydrolase enzymes: relevance to xenobiotic metabolism and toxicity. *Crit Rev Toxicol.* 1999; 29(1): 59-124.
156. Chen CL, Liu Q, Pui CH, et al. Higher Frequency of Glutathione S-Transferase Deletions in Black Children With Acute Lymphoblastic Leukemia. *Blood,* 1997; 89(5); 1701-1707.
157. Pearson WR, Vorachek WR, Xu S, et al. Identification of class mu glutathione S-transferase genes GSTM1-GSTM5 on chromosome 1p13. *Am J Human Genet.* 1993; 53: 220-233.
158. Zhong S, Wolf CR, Spurr NK. Chromosomal assignment and linkage analysis of the human glutathione S-transferase μ gene (GSTM1) using intron specific polymerase chain reaction. *Hum Genet.* 1993; 90: 435-441.
159. Strange RC, Fryer AA, Matheroo B, et al. The glutathione S-transferases: comparison of isoenzyme expression in normal and astrocytoma brain. *Biochem Biophys Acta.* 1992; 1139: 222-228.
160. Takahashi Y, Champbell EA, Hirata Y, et al. A basis for differentiating among the multiple human mu-glutathione S-transferases and molecular cloning of brain GSTM5. *J Biol Chem.* 1993; 268: 8893-8898.

161. Strange RC, Faulder CG, Davis BA, et al. The human glutathione S-transferases: studies on the tissue distribution and genetic variation of the GST1, GST2 and GST3 isozymes. *Ann Hum Genet.* 1984; 48: 11-20.
162. Seidegard J, Pero RW. The hereditary transmission of high glutathione transferase activity towards trans-stilbene oxide in human mononuclear leukocytes. *Human Genet.* 1985; 69: 66-68.
163. Xu SJ, Wang YP, Roe B, et al. Characterization of the human class mu glutathione S-transferase gene cluster and the GSTM1 deletion. *J Biol Chem.* 1998; 273(6): 3517-3527.
164. Pemble SE, Taylor JB. An evolutionary perspective on glutathione transferases inferred from class-θ glutathione transferase cDNA sequences. *Biochem J.* 1992; 287: 957-963.
165. Van Poppel G, de Vogel N, van Balderen PJ, et al. Increased cytogenetic damage in smokers deficient in glutathione S-transferase isoenzyme mu. *Carcinogenesis.* 1992; 13: 303-305.
166. Moscow JA, Townsed AJ, Goldsmith ME, et al. Isolation of the human anionic glutathione transferase cDNA and relation of its gene expression to estrogen receptor content in primary breast cancer. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1988; 85: 6518-6522.
167. Fields WR, Morrow CS, Doss AJ, et al. Overexpression of stably transfected human glutathione S-transferase P1-1 protects against DNA damage by Benzo[a]pyrene diol-epoxide in human t47d cells. *Mol Pharmacol.* 1998; 54: 298-304.
168. Hirvonen A. Polymorphisms of xenobiotic-metabolizing enzymes and susceptibility to cancer. *Environ Health Prospect.* 1999; 107: 37-47.
169. Hao XY, Castro VM, Bergh J, et al. Isoenzyme-specific quantitative immunoassays for cytosolic glutathione transferases and measurement of the enzymes in blood plasma from cancer patients and in tumor cell lines. *Biochim Biophys Acta.* 1994; 1125: 223-230.

170. Henderson CJ, Smith AG, Ure J, et al. Medical Sciences increased skin tumorigenesis in mice lacking Pi class glutathione S-transferases. *Proc Natl. Acad Sci USA*. 1998; 95: 5275-5280

171. Sluis-Cramer N, Naidoo N, Dirr H. Class-pi glutathione S-transferase is unable to regain its native conformation after oxidative inactivation by hydrogen peroxide. *Eur J Biochem*. 1996; 241: 644-648.

172. Ali-Osman F, Akande O, Antoun G, et al. Molecular cloning, characterization, and expression in *Escherichia coli* of full-length cDNAs of three human glutathione S-transferase Pi gene variants. Evidence for differential catalytic activity of the encoded proteins. *J Biol Chem*. 1997 Apr 11; 272(15): 10004-12.

173. Coggan M, Whitbread L, Whittington A, et al. Structure and organization of the human theta-class glutathione S-transferase and D-dopachrome tautomerase gene complex. *Biochem. J*. 1996; 318: 297-303.

174. Pemble S, Schroder KR, Spencer SR, et al. Human glutathione S-transferase theta (GSTT1): cDNA cloning and the characterization of a genetic polymorphism. *Biochem. J*. 1994; 300: 271-276.

175. Meyer DJ, Coles B, Pemble SE, et al. Theta, a new class glutathione S-transferase purified from rat and man. *Biochem. J*. 1991; 274: 409-414.

176. Mainwaring GW, Williams SM, Foster JR, et al. The distribution of theta-class glutathione S-transferases in the liver and lung of mouse, rat and human. *Biochem. J*. 1996; 318: 297-303.

177. Sherratt PJ, Pulford DJ, Harrison DJ, et al. Evidence that human class theta glutathione s-transferase T1-1 can catalyse the activation of dichloromethane, a liver and lung carcinogen in the Mouse. *Biochem J*. 1997; 326: 837-846.

178. Tong Z, Board PG, Anders MW. Glutathion transferase zeta catalysed biotransformation of dichloroacetic acid and other alpha-haloacids. *Chem res Toxicol*. 1988; 11(11): 1332-1338.
179. Arand M, Muhlbauer R, Hengstler J, et al. A multiplex polymerase chain reaction protocol for the simultaneous analysis of the glutathione S-transferase GSTM1 and GSTT1 polymorphisms. *Anal. Biochem*. 1996; 236; 184-186.
180. Mainwaring GW, Nash J, Davidson M, et al. Isolation of a mouse theta glutathione s-transferase active with methylene chloride. *Biochem. J*. 1996; 314: 445-448.
181. Pastore A, Tozzi G, Gaeta LM, et al. Glutathione metabolism and antioxidant enzymes in children with Down Syndrome. *J Pediatr*. 2003 May;142(5):583-5.
182. Kuz'mina NS, Ushenkova LI, Shagirova ZhM, et al. Gene polymorphisms in patients with Down's Syndrome. *Zh Nevrol Psikhiatr Im S S Korsakova*. 2009; 109(4): 50-4.
183. Unal M, Güven M, Devranoglu K, et al. Glutathione S transferase M1 and T1 genetic polymorphisms are related to the risk of primary open-angle glaucoma: a study in a Turkish population. *Br J Ophthalmol*. 2007 Apr;91(4):527-30.
184. Sun L, Xi B, Yu L, et al. Association of glutathione S-transferases polymorphisms (GSTM1 and GSTT1) with senile cataract: a meta-analysis. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2010 Dec;51(12):6381-6.