T.C.

TRAKYA ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Mir-155, Let-7c VE Mir-433 Mikro-RNA EKSPRESYONLARININ DOWN SENDROMLU BİREYLERDE KONJENİTAL KALP HASTALIKLARINA ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

TUBA MARAŞ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BİYOTEKNOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Sinem YALÇINTEPE

EDİRNE-2023

Tuba MARAŞ'ın hazırladığı "**miR-155, let-7c ve miR-433 mikroRNA Ekspresyonlarının Down Sendromlu Bireylerde Konjenital Kalp Hastalıklarına Etkisinin Araştırılması**" başlıklı bu tez, tarafımızca okunmuş, kapsam ve niteliği açısından **Biyoteknoloji ve Genetik** Anabilim Dalında bir **Yüksek lisans tezi** olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri:	İmza
Doç. Dr. Sinem YALÇINTEPE	……
Prof. Dr. Hakan GÜRKAN	……
Doç. Dr. Hilmi TOZKIR	……

Tez Savunma Tarihi: 01/12/2023

Bu tezin Yüksek Lisans tezi olarak gerekli şartları sağladığını onaylarım.

İmza

Doç. Dr. Sinem YALÇINTEPE
Tez Danışmanı ……

Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü onayı

Prof. Dr. Özlem ÇETİN ERDOĞAN

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

T.Ü.FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOTEKNOLOJİ VE GENETİK YÜKSEK LİSANS PROGRAMI
DOĞRULUK BEYANI

Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü'ne sunduğum bu tez çalışmasını, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladım. Tüm veriler, bilimsel ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilmiş olup, kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapılmamıştır. Tezim, akademik ve etik kurallara uygun bir biçimde yazılmıştır. Kullandığım literatür bilgileri, bilimsel normlara uygun bir şekilde kaynak gösterilerek tez içerisinde yer almaktadır. Ayrıca, bu tez ya da herhangi bir bölümü daha önce Trakya Üniversitesi veya başka bir üniversitede tez çalışması olarak sunulmamıştır. Bu beyanı kabul eder ve onaylarım.

01/12/2023

Tuba MARAŞ

Yüksek Lisans Tezi

miR-155, let-7c ve miR-433 mikroRNA Ekspresyonlarının Down Sendromlu Bireylerde Konjenital Kalp Hastalıklarına Etkisinin Araştırılması

Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoteknoloji ve Genetik Anabilim Dalı

ÖZET

Down sendromu (DS), 21. Kromozomun tam veya kısmi bir kopyasının fazlalığından kaynaklanan bir durumdur (Trizomi 21). DS, bilişsel bozuklukların en yaygın genetik nedenidir ve kraniyofasiyal anomaliler, konjenital kalp hastalığı, gelişimsel gecikmeler, immun yetmezlik, kısa boy, hipotoni gibi geniş bir yelpaze ile karakterizedir. Ayrıca, otoimmün hastalıklar, epilepsi, işitme ve görme problemleri, hematolojik bozukluklar, hipotiroidizm ve Alzheimer gibi çeşitli tıbbi durumların artmış riski de mevcuttur. DS yaygınlığı, çalışma popülasyonuna ve kullanılan tanısal yöntemlere bağlı olarak yaklaşık 800 doğumda bir olarak tahmin edilmektedir. DS riski anne yaşıyla artar ve ileri anne yaşı yaklaşık %10 oranında DS gebeliklerinden sorumludur. Trizomi 21 gebeliklerinin çoğu düşük veya ölü doğumla sonuçlanır ve etkilenen fetüslerin yaklaşık %80'i doğum zamanına kadar hayatta kalamaz. DS'nin moleküler patogenezi karmaşıktır ve tam olarak anlaşılmamaktadır, ancak "gen dozu" hipotezi en yaygın kabul edilen teoridir. Bu hipotez, ekstra kromozom 21'in gen ekspresyon seviyelerinde %50'lik bir artışa neden olduğunu ve DS fenotipi ile ilişkili genlerin dengesini bozduğunu öne sürmektedir. Kromozom 21'de 400'den fazla gen bulunmaktadır ve bu genlerin aşırı ifadesi, DS'nin karakteristik özelliklerinden sorumlu olabilir.

Kodlamayan RNA'lar (ncRNA'lar), protein kodlamayan RNA molekülleri olup, gen ekspresyonu ve hücresel süreçlerde önemli düzenleyici roller oynarlar. Mikro-RNA'lar, gen ekspresyonunu düzenlemede önemli bir rol oynayan protein kodlamayan

RNA molekülleridir. İnsan genomunun sadece %3'ünü oluşturmalarına rağmen, yüzlerce mRNA'yı hedefleyebilirler. İnsan 21. Kromozomundan ifade edilen beş miRNA bulunmaktadır ve DS fenotipi ile ilişkili dokularda miR-99a, let-7c ve miR-125b-2'nin aşırı eksprese olduğu gösterilmiştir.

Çalışmamızda DS'lu bireylerin en yaygın fenotipi olan konjenital kalp hastalığının oluşmasında etkili olduğu varsayılan 3 mikro-RNA'nın (miR-155, miR-433 ve let-7c) Real-Time PCR yöntemi kullanılarak ekspresyonlarının araştırılması amaçlanmıştır. Trakya Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Çocuk Kardiyoloji Bilim Dalı'ndan ve Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı'ndan DS'lu konjenital kalp hastalığı olan (Grup A) ve DS'lu ancak konjenital kalp hastalığı olmayan (Grup B) hastalardan ve kontrol grubu (Grup C) olarak sağlıklı bireyler çalışmamıza dahil edilmiştir. Çalışmamız sonucunda istatistiksel analizler, Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyoistatistik ve Tıbbi Bilişim Anabilim Dalı'nda SPSS 20.0 (Lisans No: 10240642) paket programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. İstatistiksel anlamlılık sınır değeri olarak $p<0.05$ kabul edilmiştir.

miR-155 ve let-7c'nin plazma ifade düzeyleri Δct değerleri kullanılarak hesaplandı. Ancak, miR-433'ün plazmada yeterli miktarda ifade edilmediği gözlemlendi. İstatistiksel analiz sonuçlarına göre, miR-155 ekspresyonu açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ($p=0,392$). Aynı şekilde, let-7c'nin ifadesi de gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark göstermedi ($p=0,248$). Bu nedenle, A grubu ile B ve C grupları arasında mikro-RNA'ların ifade düzeyleri açısından anlamlı bir fark tespit edilmedi.

Çalışmamızda, miR-433'ün Δct değerlerinin hesaplanamamasının, bu mikro-RNA'nın plazmada yeterli miktarda ifade edilmediği olasılığını gösterdiğini düşünüyoruz. miR-433'ün kalp gelişimini etkileyebileceği ve kalp dokusunda ifade edildiği literatürde bildirilmiştir. Ancak, plazmada ifade edilmediği veya çok düşük düzeyde ifade edildiği tahmin edilmektedir. Çalışmamızda, DS'lu bireylerin konjenital kalp hastalığı gelişiminde etkili olduğu düşünülen miR-155 ve let-7c'ye odaklandık.

Ancak, bu mikro-RNA'ların ifade düzeylerinde çalışma gruplarımız arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı. Bu bulgular, çalışmamıza dahil edilen

mikro- RNA'ların DS'lu bireylerde kalp gelişimi üzerinde doğrudan etkisinin önemini vurgulamak için yeterli olmamakla birlikte daha ileri ve kapsamlı çalışmalar gerekmektedir.

Yıl : 2023

Sayfa Sayısı : 91

Anahtar Kelimeler : Down Sendromu, Kodlanmayan RNA'lar, Konjenital Kalp Hastalığı, miR-155, let-7c, miR-433

Master’s Thesis

Investigation of the Effect of miR-155, let-7c and miR-433 microRNA Expressions on Congenital Heart Diseases in Down Syndrome Individuals

Trakya University Institute of Natural and Applied Sciences

Department of Biotechnology and Genetics

ABSTRACT

Down syndrome (DS), also known as Trisomy 21, is a condition resulting from the complete or partial duplication of chromosome 21. DS is the most common genetic cause of cognitive impairments and is characterized by a broad spectrum of features, including craniofacial anomalies, congenital heart disease, developmental delays, immunodeficiency, short stature, and hypotonia. Additionally, there is an increased risk of various medical conditions such as autoimmune diseases, epilepsy, hearing and vision problems, hematological disorders, hypothyroidism, and Alzheimer's disease. The prevalence of DS is estimated to be approximately one in 800 live births, depending on the study population and diagnostic methods. The risk of DS increases with maternal age, and advanced maternal age accounts for about 10% of DS pregnancies. Most Trisomy 21 pregnancies result in miscarriage or stillbirth, with approximately 80% of affected fetuses not surviving until birth. The molecular pathogenesis of DS is complex and not fully understood, but the "gene dosage" hypothesis is the most widely accepted theory. This hypothesis suggests that the extra copy of chromosome 21 leads to a 50% increase in gene expression levels, disrupting the balance of genes associated with the DS phenotype. Chromosome 21 contains over 400 genes, and the overexpression of these genes may be responsible for the characteristic features of DS.

Non-coding RNAs (ncRNAs) are non-protein-coding RNA molecules that play important regulatory roles in gene expression and cellular processes. MicroRNAs

(miRNAs) are a class of ncRNAs that play a crucial role in regulating gene expression. Despite constituting only 3% of the human genome, miRNAs can target hundreds of mRNAs. Five miRNAs are expressed from human chromosome 21, and overexpression of miR-99a, let-7c, and miR-125b-2 has been shown in tissues associated with the DS phenotype.

In our study, we aimed to investigate the expressions of three miRNAs (miR-155, miR-433, and let-7c), assumed to be effective in the development of congenital heart disease, the most common phenotype in individuals with DS, using the Real-Time PCR method. Participants included individuals with DS and congenital heart disease (Group A), individuals with DS without congenital heart disease (Group B), and a control group of healthy individuals (Group C) from the Department of Pediatric Cardiology and the Department of Medical Genetics at Trakya University Faculty of Medicine. Statistical analyses were performed using the SPSS 20.0 package program from the Biostatistics and Medical Informatics Department at Trakya University Faculty of Medicine, with a significance threshold set at $p<0.05$.

Plasma expression levels of miR-155 and let-7c were calculated using Δct values. However, it was observed that miR-433 was not adequately expressed in plasma. According to the statistical analysis results, there was no statistically significant difference in miR-155 expression among the groups ($p=0.392$). Similarly, the expression of let-7c did not show a statistically significant difference among the groups ($p=0.248$). Therefore, no significant difference in the expression levels of miRNAs was detected between Group A and Groups B and C.

In our study, the inability to calculate Δct values for miR-433 suggests that this miRNA may not be sufficiently expressed in plasma. Literature reports indicate that miR-433 may influence heart development and is expressed in cardiac tissue. However, it is hypothesized that it is either not expressed or expressed at very low levels in plasma. Our study focused on miR-155 and let-7c, believed to be influential in the development of congenital heart disease in individuals with DS.

However, there was no statistically significant difference in the expression levels of these miRNAs among our study groups. While these findings may not be sufficient to

emphasize the direct impact of the included miRNAs on heart development in individuals with DS, further and more comprehensive studies are needed.

Year : 2023

Number of Pages : 91

Keywords : Down Syndrome, Non-coding RNAs, Congenital Heart Disease, miR-155, let-7c, miR-433

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim ve tez çalışmalarım süresince bilgisi ile bana yol gösteren, desteğini ve sabrını esirgemeyen danışman hocam Doç. Dr. Sinem YALÇINTEPE'ye, çalışma süreci boyunca bilgileriyle yoluma ışık tutan Prof. Dr. Hakan GÜRKAN'a ve Doç. Dr. Selma DEMİR'e, Çalışma örneklerinin toplanmasında destek sağlayan Çocuk Kardiyoloji Bölümü'nden Dr. Öğr. Üyesi Murat DEVECİ'ye, Biyoistatistik ve Tıbbi Bilişim Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Necdet SÜT'e ve tüm çalışma arkadaşlarıma çok teşekkür ederim.

Çalışma sürecim boyunca bana bilgilerini sunan ve desteğini esirgemeyen Uzm. Bio. Hazal SEZGİNER GÜLER ve Uzm. Bio. Ebru GÖNCÜ'ye, birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum yüksek lisans eğitimim ve tez çalışma sürecimde desteğini ve yokluğunu hissetmediğim değerli arkadaşlarım Fulya DÜŞENKALKAN, Cansu AYDIN, Muhammedsemi MEMEDİ ve Trakya Üniversitesi Tıbbi Genetik Anabilim dalı bünyesi çalışanlarına,

Sevgisini ve desteğini her zaman gösteren ve her zaman yoluma ışık tutan bana inanan sevgili arkadaşım Muhammed Fettah KAYA'ya, her zorlukta yanımda olup beni destekleyen seçtiğim yollarda kendime inanmamı sağlayan başta değerli annem olmak üzere sevgili aileme ve son olarak bu tez çalışmasını seçmemde ve çalışma sürecinde motivasyonumu arttıran ve kim olduğumu hatırlatan rahmetli kardeşim ve ilham meleğime teşekkür ederim…

Tuba MARAŞ

Bu proje TÜBAP-Trakya Üniversite Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi (2022/81) tarafından bilimsel araştırma projesi olarak desteklenmiştir.

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....iv
ABSTRACT vii
TEŞEKKÜR x
İÇİNDEKİLER xi
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ xiv
ŞEKİLLER DİZİNİ xvii
ÇİZELGELER DİZİNİ.....xviii
BÖLÜM 1 1
GİRİŞ..... 1
BÖLÜM 2 4
GENEL BİLGİLER 4
2.1.Down Sendromu'nun tarihçesi.....4
2.2.Epidemiyoloji.....5
2.3.Down Sendromu risk analizi.....6
2.4.Genetik Özellikler 7
2.5.Down Sendromu (Trizomi 21) çeşitleri.....10
2.5.1.Serbest (Regular) Trizomi.....10
2.5.2.Mozaik Tip Trizomi.....10
2.5.3.Translokasyon Tip Trizomi.....11
2.5.3.1.Resiprokal Translokasyon.....11
2.5.3.2.Robertsonion Translokasyon.....12
2.5.4.Kısmi Trizomi.....14
2.6.Down Sendromunun Klinik Özellikleri.....14
2.6.1.Dismorfik Özelleri.....14
2.6.2.Büyüme ve Gelişme.....15
2.6.3.Kardiyovasküler Sistem.....16

2.6.4.Nörolojik Sistem.....18
2.6.5.Immün Sistem.....19
2.6.6.Duyular.....19
2.6.7.Kas-İskelet Sistemi.....20
2.6.8.Kanser.....21
2.6.9.Endokrin Sistem.....22
2.6.10.Gastrointestinal Sistem.....22
2.7.Prenatal Tanı.....23
2.7.1.Prenatal Tanı Endikasyonları.....24
2.7.2.Prenatal Tanı Yöntemleri.....25
2.7.2.1.Amniyosentez.....26
2.7.2.2.Koryon Villus Örneklemesi (CVS) 27
2.7.2.3.Kordosentez.....28
2.8.Postnatal Tanı.....29
2.8.1.Karyotip Analizi.....30
2.8.2.QF-PCR Yöntemi.....30
2.8.3.FISH Yöntemi.....31
2.9.Tedavi ve İzlem.....32
2.10.Mikro-RNA.....33
2.10.1.Mikro-RNA Biyogenezi.....33
2.11.21.Kromozom Üzerinde Bulunan miRNA'lar.....35
2.12.Kardiyak İlişkili Mikro-RNA'lar 36
2.13.Real-Time PCR.....37
2.14.Revers Transkriptaz (Cdna) 39
BÖLÜM 3 40
MATERYAL VE YÖNTEM 40
3.1.Materyal.....41
3.2.Yöntem 43
BÖLÜM 4 48
BULGULAR 48
BÖLÜM 5 56
TARTIŞMA 56

KAYNAKLAR 60
EKLER 67
ÖZGEÇMİŞ 72

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ABD	Amerika Birleşik Devletleri
AFP	Alfa-Fetoprotein
ALL	Akut Lenfoblastik Lösemi
Ang II	Anjiyotensin II
ASD	Atrial Septal Defektler
AVCD	Atrioventriküler Kanal Defektleri
AVSD	Atrioventriküler Septal Defekt
BACE1	Beta Secretase 1
CDC	Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezleri
cfDNA	Cell-Free DNA
CHD	Konjenital Kalp Hastalıkları
cvDNA	Cell-Free DNA
DIA	Inhibin-A
DS	Down Sendromu
DSGS	Down Sendromu Büyüme Çalışması
DSCR	DS Kritik Bölgesi
DS	Down Sendromu
EZH2	Enhancer of Zeste Homolog 2
FISH	Floresan İn Situ Hibridizasyon
GH	Büyüme hormonu
GIS	Gastrointestinal Sistem
GPL	Giemsa Tripsin Bantlama
HCG	İnsan Koryonik Gonadotropin
Hsa21	İnsan Kromozomu 21
JNK1	c-Jun N-terminal kinaz 1
LPA	Left Pulmonary Artery
MX1	DS-CHD bölgesindeki genlerden biri

MRG	Manyetik Rezonans Görüntüleme
mRNA	Messenger RNA
miRNA	Mikro RNA
ncRNA	Protein Kodlamayan RNA
Nkx2.5	NK2 homeobox 5
NT	Nuchal Translucency (Nöral Tüp)
NTD	Nöral Tüp Defektleri
OFT	Outflow Tract
PAPPA	İlk Trimesterde Gebelik-İlişkili Plazma Protein-A
PCR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
PHA	Fitohemaglutinin
piRNA	Piyano-interacting RNA
PLAC4	Plasental Chorionic 4
PDA	Patent Duktus Arteriyozus
PUBS	Percutaneous Umbilical Blood Sampling
Q-PCR	Real-Time PCR (Real-Time Quantitative Polymerase Chain Reaction)
QF-PCR	Kantitatif Floresan PCR
QRT-PCR	Gerçek Zamanlı Floresan Kantitatif PCR
rRNA	Ribozomal RNA
RNA	Ribonükleik Asit
RPL	RNA Protect Lysis
RPP	RNA Purification
snoRNA	Small Nucleolar RNA
T-UCR	Transcribed Ultra-Conserved Region
Tbx5	T-box transcription factor 5
TFAM	Transcription Factor A, Mitochondrial
TGF-β	Büyüme faktörü-beta
TSH	Tiroid Stimüle Edici Hormon
tRNA	Transfer RNA
UE3	Konjuge Olmayan Estriol
UTR	Untranslated Region

VSD	Ventriküler Septal Defektler
VEGF-A	Vascular Endothelial Growth Factor A

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Yıllara göre DS canlı doğan bebeklerin hayatta kalma oranları.....6
Şekil 2.2. Öploidi ve Anöploidi.....9
Şekil 2.3. Resiprokal translokasyon.....12
Şekil 2.4. Robertsonion translokasyon.....13
Şekil 2.5. DS'lu bireylerin dismorfik özellikleri.....15
Şekil 2.6. 21. Kromozom üzerinde DS ile ilişkili kritik bölge.....16
Şekil 2.7. Amniyosentez işlemi.....26
Şekil 2.8. Koryon villus örneklemesi (CVS) 28
Şekil 2.9. Kordosentez işlemi.....29
Şekil 2.10. 47, XY, +21 ve 47, XX, +21 sahip olguların kromozom analizleri.....30
Şekil 2.11. FISH Yöntemi.....32
Şekil 2.12. miRNA Biyogenezi.....34
Şekil 2.13. let-7c, miRNA-99a, miRNA-125b, miRNA-155 ve miRNA-802 mikro RNA'ların 21. Kromozom üzerinde konumlanması.....35
Şekil 2.14. Real-Time PCR cihazının görünümü.....38
Şekil 2.15. Real-Time PCR'da SYBR Green 1 ve Taqman probun çalışma mekanizması.....39
Şekil 2.16. Revers Transkriptaz (RT) ile Cdna sentezi.....39
Şekil 4.17. Çalışmamızdaki grupların ekspresyon düzeyleri.....49
Şekil 4.18. A grubu olgularında mikro-RNA ekspresyon düzeyleri.....50
Şekil 4.19. B grubu olgularında mikro-RNA ekspresyon düzeyleri.....50
Şekil 4.20a. C grubu olgularında mikro-RNA ekspresyon düzeyleri.....51
Şekil 4.20b. C grubu olgularında mikro-RNA ekspresyon düzeyleri.....51
Şekil 4.21. A grubuna ait miR-155 ve let-7c ekspresyonlarında Kruskal Wallis testi kullanılarak hesaplanan $p<0.05$'e göre değerleri.....54
Şekil 4.22. miR-155 ekspresyonunun gruplar arası karşılaştırılması.....55
Şekil 4.23. let-7c ekspresyonunun gruplar arası karşılaştırılması.....55

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1. İnsan genomunda en sık gözlenen ve işlevleri bilinen kodlanmayan RNA örnekleri 2
Çizelge 2.2. Prenatal Tanı Yöntemlerinin sınıflandırılması.....25
Çizelge 3.3. Çalışmada kullanılan malzeme ve cihaz listesi.....40
Çizelge 3.4. Çalışmaya dahil edilen gruplar.....41
Çizelge 3.5. A ve B gruplarına dahil edilen bireylerin demografik özellikleri ve KKH bilgileri.....41
Çizelge 3.6. RT reaksiyon miktarları.....45
Çizelge 3.7. RT PCR protokolü.....45
Çizelge 3.8. Real Time PCR reaksiyonu için gerekli malzemeler ve miktarları.....46
Çizelge 3.9. Real-Time PZR çalışma protokolü.....46
Çizelge 4.10. Çalışmada mikro RNA'larda ekspresyon elde edilen olgular.....48
Çizelge 4.11. Olguların mikro-RNA ifade değerleri.....52
Çizelge 4.12. Kontrol grubu için mikro-RNA ifade değerleri.....53

BÖLÜM 1

GİRİŞ

Down Sendromu (DS), 800 canlı doğumda bir görülmekle birlikte çeşitli nedenlerle düşükle sonlanan gebelikler ve ölü doğumlar değerlendirildiğinde bu oran 450 doğumda bire çıkmaktadır (Vicic vd., 2017). Amerika Birleşik Devletleri'nde her yıl DS olarak yaklaşık 5100 çocuk doğmaktadır (de Graaf vd., 2017). Entelektüel yetersizliğin en yaygın görüldüğü genetik hastalık olan DS, 21.kromozomun tamamının veya bir parçasının üç adet bulunması durumundan (trizomi 21) kaynaklanır ve ismi 1866'da sendromun ilk klinik bulgularını tanımlayan Down'dan gelmektedir (Down, 1995). Avrupa'da yapılan güncel çalışmalarda artan anne yaşının DSlu gebeliklerin %10 oranında artmasına neden olduğu belirtilmiştir (Loane vd., 2013). Trizomi 21'li bebeklerin yaklaşık %80'i kaybedilmektedir.

21. Kromozom, genomun yaklaşık %1,5'ni oluşturan ve 48 milyon nükleotidi bulunan en küçük otozomal kromozomdur. 21.kromozom üzerinde tanımlı yaklaşık 400'den fazla gen bulunmaktadır. Trizomi 21'in moleküler patogenezini açıklayan en yaygın teori ''gen dozaj'' hipotezidir. Bu teori 21. kromozomdan kaynaklı RNA gen ekspresyon seviyelerindeki %50'lik artışın DS fenotipiyle ilişkili genlerin dengesizliğine yol açtığını varsaymaktadır. 21q22'de yer alan genetik bölgenin; kraniofasial anormallikler, konjenital kalp hastalıkları, beyin gelişimindeki aksamalar, immun yetersizlik, boy kısalığı, kas hipotonisi gibi DS'lu bireylerin fenotipine neden olduğu düşünülmektedir. Bu fenotipik bulgulara ek olarak DS'lu bireylerin otoimmün hastalıklar, epilepsi, işitme ve görme sorunları, hematolojik bozukluklar, hipotiroidizm, tekrarlayan enfeksiyonlar ve Alzheimer hastalığı (AD) gibi hastalıkları geliştirme olasılığı daha yüksektir (Antonarakis vd., 2020).

Genomda santral dogma ile DNA'daki bilgiyi depolayıp proteinlere aktaran molekül RNA'dır. Genomun %1,5-2'si protein kodlayan genlerden oluşurken %90'ı protein kodlamayan RNA'lardan (ncRNA) oluşmaktadır. Bu RNA'lar hücre gelişiminde ve ekspresyon ürünlerinin düzenlenmesinde rol almaktadır. Kodlamayan RNA'lar DNA'daki bilginin transkribe olması ancak proteine çevrilmemesi sonucu oluşan düzenleyici dizilerdir. NcRNA'lar transkript uzunluklarına göre (kısa ncRNA, uzun ncRNA) ve fonksiyonlarına göre (tRNA, rRNA, mRNA), düzenleyici fonksiyonlarına göre (mikro-RNA ve uzun ncRNA), hücrede içinde bulunma durumlarına (snRNA ve snoRNA) göre ve sitoplazmada bulunma yerlerine göre (piRNA ve siRNA) sınıflandırılabilir (Çizelge 1.1).

Çizelge 1.1. İnsan genomunda en sık gözlenen ve işlevleri bilinen kodlamayan RNA örnekleri

ncRNA Tip	**Boyut(bp)**	**Lokasyon**	**İşlevi**	**Önek**
Kısa ncRNA'lar				
miRNA	19-24	Tüm genomda	mRNA'yı hedeflemek	miR-15/16, miR-124a, miR-200
PiRNA	26-31	Demetler halinde intragenik	Transpozon baskılama, DNA metilasyonu	*RASGRF1* ve *LINE1* hedefleri
SnoRNA	60-300	İntronik	RNA modifikasyon	U50, *SNORD*
Uzun ncRNA'lar				
lincRNA	>200	Yaygın lokuslarda	DNA kıvrılması, kromotin kompleksleri	*HOTAIT*, *HOTTIP*, lncRNA-p21

T-UCR	>200	Yaygın lokuslarda	miRNA ve miRNA düzeylerinin regülasyonu	Uc283+, Uc338, Uc160+
Diğer lncRNA'lar	>200	Yaygın lokuslarda	X inaktif, imprint, telomer regülasyon	XIST, TSIX, TERRA, H19, P15AS, *HYMAI*

miRNA'lar 22-24 nükleotid uzunluğunda gen ekspresyon ürünlerini düzenleyen protein kodlamayan RNA molekülleridir. miRNA' lar gen ekspresyonunu, mRNA'nın 3' UTR bölgesine bağlanarak düzenlemektedir. miRNA'lar tüm genomun %3'ünü oluşturmakla beraber her bir miRNA'nın yüzlerce hedefi vardır.

Biyoinformatik veriler sonucunda insan 21. Kromozomundan eksprese olan 5 mikro-RNA (miR-99a, let-7c, miR-125b-2, miR-155 ve miR-802) mevcuttur. Yapılan çalışmalarda özellikle miR-99a, let-7c ve miR-125b-2 miRNA'ların DS fenotipiyle ilişkili dokuların, beyin ve kalp dokusu da dahil olmak üzere aşırı ekspresyonu mevcuttur (Elton vd., 2010). Özellikle let-7c ve miR-155 miRNA'ları doğuştan gelen kalp kusurlarıyla ilişkili olan genleri (*NOTCH1, HAND1, GATA3 ve ZFM2*) hedefledikleri için konjenital anormalliklerin ve ventriküler septal defektlerin altında yatan neden olabileceği düşünülmektedir (Mirzadeh Azad vd., 2020). Çalışmamızda, Down sendromunun en yaygın fenotiplerinden biri olan konjenital kalp hastalığının oluşmasında miR-155, let-7c ve miR-433 kodlanmayan RNA'ların ekspresyonlarını gerçek zamanlı floresan kantitatif PCR (QRT-PCR) ile araştırmayı amaçladık. Çalışmamızı, çoğaltılmak istenilen bölgeye spesifik olarak üretilen ya da tasarlanan prob sistemlerinin hedef bölgeye hibridizasyonunun gerçek zamanlı olarak monitör yardımıyla izlenmesine olanak tanıyan bir yöntem kullanarak gerçekleştirdik.

BÖLÜM 2

GENEL BİLGİLER

2.1. Tarihçe

Down Sendromu (DS) kromozomal hastalıkların başında gelen entellektüel yetersizliğin en yaygın görüldüğü, 21.kromozomun trizomi durumundan kaynaklanan bir anomalidir. DS'lu bireylere 1515 yıllarında o dönemin Çizelge ve resimlerinde de rastlanmıştır. Çok eskiden beri gözlenmekte olan bu durumun bireylerinin klinik bulgularını (entellektüel yetersizlik, çekik gözler, büyüme ve gelişme de gerilik) sınıflandırmış ve 1866 yılında Down BY J. LANGDON H. tarafından Down Sendromu ilk olarak ortaya konulmuştur (Down, 1995). Gelişim geriliğine sahip olan kişilerin dismorfik özellikleri dikkate alındığında Moğollara benzediği için ilk olarak Mongolizm olarak adlandırılmıştır. Ancak DS fenotipi ile 21. Kromozomun trizomisi (47 kromozom) arasındaki ilişki ilk olarak 1959 yılında raporlanmıştır (Lejeune vd., 1959).

1961 yılında bir grup genetik araştırmacı grubu bu kromozomal farklılığı Mongolizm teriminden farklı olarak değerlendirip Trizomi 21 anomalisi olarak isimlendirmişlerdir. DS'nun genetik çalışmalarını devam ettirmek için oluşturulan ilk fare modelleri 1990 yılında yapılmıştır (Davisson vd., 1990). Genetik çalışmaların ilerlemesiyle 2000 yılında DS ilişkili olarak değerlendirilen 21. Kromozomun uzun kolunun tam nükleotid dizisi ulusal araştırmacıların yer aldığı bir konsorsiyomda yayınlanmıştır (Hattori vd., 2000).

20 yıl içerisinde yapılan çalışmalar DS'yla ilişkili farklı fenotiplerin moleküler patofizyolojisinin geliştirilmesinde önemli bilgiler sunmaktadır. DS fenotipiyle ilişkili yapılan genetik çalışmalara ek olarak DS'lu bireylerin prenatal tanı konulmasında güncel

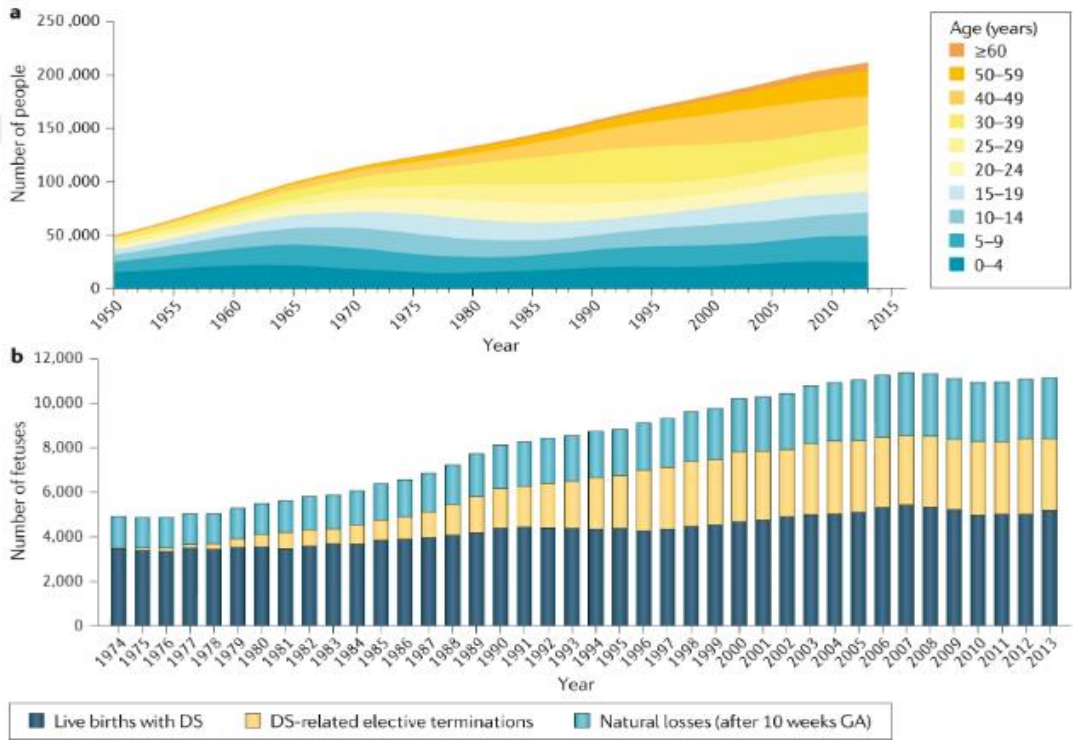
çalışmalar sürmektedir. Bu çalışmalar doğrultusunda DS'lu bireylerin hayat standartları kalitesi yükseltilmiş ve yaşam süreleri uzamıştır.

2.2. Epidemiyoloji

DS, insanlarda en sık görülen kromozom anomalilerinden biridir. Epidemiyolojik çalışmalar, DS'nun dünya genelinde yaklaşık 700-800 canlı doğumda bir görüldüğünü bildirmektedir. DS, genellikle anne yaşıyla ilişkili olarak sıklığı artan bir durumdur. 35 yaşından sonra annelerde DS bebek doğurma riski artmaktadır. 20 yaşındaki bir kadının DS bir bebek doğurma olasılığı yaklaşık 1/1667 iken, 40 yaşındaki bir kadının bu riski yaklaşık 1/100'dür. DS, tüm ırklarda ve etnik gruplarda görülebilir. Ancak bazı etnik gruplarda daha sık görülür. Örneğin, Avrupa kökenli kadınların DS bebek doğurma riski, Afrika kökenli kadınların riskinden daha yüksektir. Amerika Birleşik Devletleri'nde yapılan bir çalışmada DS popülasyon yaygınlığı, DS'li bireylerin çocuklukta hayatta kalma oranlarının artması nedeniyle 1950'de ~50.000'den, 2013'teki verilere göre ~212.000'e kadar artmıştır (Şekil 2.1). ABD'deki DS'li bireylerin hayatta kalma öngörüsü, 1950'de 26 yıl olarak tahmin edilmiştir ve 2010 verilerine göre sırasıyla 53 yıl ve 58 yaşına kadar artmıştır (de Graaf vd., 2017). Bu çalışmalar ışığında DS popülasyon yaygınlığını değerlendirebilmek için daha fazla doğum kaydı oluşturulmalı ve dünya üzerindeki diğer ülkelerdeki DSlu bireylerin tarihsel olarak ve güncel olarak hayatta kalma verileri araştırılana kadar güvenilir bir hesaplama yapılamaması öne sürülmektedir (Antonarakis vd., 2020).

DS, bütün popülasyonlarda görülebilen bir durumdur ve prevalansı, her ülkede ve etnik grupta değişen gebelik yaşına bağlıdır. Hamileliğin 10. haftasında yaklaşık olarak her 1/365 fetüste görülmektedir (Şekil 2.1b). Bu gebeliklerin bir kısmı spontan düşük ile sonuçlanacak, İngiltere ve Galler'deki araştırma raporlarına göre, gebeliğin 10. haftası ile beklenen doğum tarihi arasındaki dönemde yaklaşık olarak %32, gebeliğin 16. haftası ile beklenen doğum tarihi arasındaki dönemde yaklaşık %25 oranlarında fetüsün düşme riski vardır. Gebeliği sonlandırma oranı, o ülkenin prenatal tarama testlerinin kullanılırlığı ve doğruluğuna, bu tarama seçeneklerini seçen ailelerin sayısı ile tanı aldıktan sonra ailelerin kararlarına bağlıdır. ABD'de 2013 yılında yaklaşık 3400 Down Sendromu tanısı almış gebeliklere onaylı olarak sonlandırma işlemi gerçekleştirilmiştir. Bunun sonucunda ABD'de o dönem doğacak olan Down Sendromlu birey sayısında %33 oranında azalma

gözlenirken, Avustralya'da 2004 yılı için tahmini %55, Avrupa'da 2010-2015 döneminde (Doğu Blok eski ülkeleri hariç) %54 ve Doğu Blok eski ülkelerinde %32 azalma görülmüştür. Ayrıca Çin'de 2003-2011 yıllarında, Down Sendromu tanısı alan fetüslerin sonlandırılma oranı, genel perinatal prevalansında %55 azalmaya neden olmuştur. Bununla beraber gebelik yaşının artmasıyla sonlandırılan gebelikler birlikte düşünüldüğünde 1950'den beri Down Sendromu doğum oranı dengelenmektedir ve hatta azalma meydana geldiği düşünülmektedir (Antonarakis vd., 2020).



Şekil 2.1 A, B. A: 1950-2015 yılları arasındaki DS canlı doğan bebeklerin hayatta kalma oranları verilmiştir. B: 1947-2013 yılları arasında DS tanısı alan ebeveynlerin gebeliklerinin sonlandırma sıklığı verilmiştir (Antonarakis vd., 2020).

2.3. DS risk analizi

DS'nun en yaygın etkilerinden biri anne yaşının önemidir. İleri anne yaşı, sahip olunan çocuklarda da DS riskini arttırmaktadır. Bunun nedeni oositlerin oluşumu esnasında meydana gelen mayoz bölünmede homolog kromozomların ve kardeş kromotidlerin eşit olarak ayrılmaması olarak düşünülmektedir. Ayrılmama durumu gebelik kaybının, zekâ geriliğinin ve doğum kusurlarının önde gelen nedeni olarak öngörülmektedir (Antonarakis vd., 2020).

DS‘nun bir diğer risk etmeni ise çevresel faktörlerdir. Buradaki çevresel etmenler gebelikte sigara kullanımı (tütün vs), radyasyona maruz kalmak, kontrolsüz ilaç kullanımı, madde bağımlılığı ve çevre kirliliği olarak niteleyebileceğimiz birçok etmen de DS oluşumunda risk faktörü olarak düşünülmektedir. Çevresel faktörlerin etkileri göz önüne alındığında bu faktörlere maruz kalma süresinin de DS’nu etkilemektedir (Elbasan, 2016).

Yapılan bir takip çalışması, anne mesleğini bir risk faktörü olarak ele almış ve belirli iş sınıflandırma kategorilerinde çalışan annelerin, kromozomal anormalliği veya majör doğum kusuru olmayan bebeklere sahip annelere göre daha yaygın olarak bazı maruziyetlere maruz kaldığını bulmuştur. Bu maruziyetler, belirli mayotik hata türleriyle ilişkilendirilmiştir.

Bu sonuçlar, belirli işlerde çalışan annelerin bebeklerinin sağlık durumu üzerindeki potansiyel etkilerini ortaya koymaktadır. Ancak, bu bulguların kesin neden-sonuç ilişkisini belirlemek için daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır. Ayrıca, diğer faktörlerin (genetik, çevresel, yaşam tarzı vb.) rolünü de dikkate almak önemlidir. Çevresel kirleticilere örnek olarak vereceğimiz bisfenol a maddesine hem iş yerlerinde hem de evlerde maruz kalınabilir. Bu endokrin sistemi etkileyici kimyasal ajan hem kadınlarda hem de erkeklerde üreme sistemini etkilemektedir (Antonarakis vd., 2020).

Gebelik sırasında annenin beslenmede folik asit tüketim durumu da aslında DS olma olasılığını arttırmaktadır. Folik asit folat yolağında etkili olup kullanılmadığı durumda kromatidlerde ayrılmama durumu ile epigenetik modifikasyonlar olarak karşımıza çıkmaktadır. DS nedenini açıklayamadığımız bazı klinik özellikleri arkasındaki mekanizma epigenetik modifikasyonlar olarak açıklanmaktadır (Coppede, 2015).

2.4. DS Genetik Özellikleri

2.4.1. Kromozom Anomalileri

Kromozomal sayısal anomaliler, bir hücrenin normal diploit kromozom sayısından (2n) farklı bir kromozom sayısıyla karakterize edilen genetik bozukluklardır. Bu anomaliler, bir hücrenin normal diploit kromozom sayısından daha fazla veya daha az sayıda kromozoma sahip olduğu durumlarda ortaya çıkar. Kromozomal sayısal anomaliler, meydana geldikleri zamana ve tipine bağlı olarak farklı sonuçlar doğurabilir.

Bazı anomaliler, embriyo öncesi dönemde spontan düşüklere neden olabilirken, diğerleri hayatta kalmayı ve normal bir yaşam sürdürmeyi mümkün kılabilir. Ancak bazı anomaliler, hayatı tehdit eden durumlar da dahil olmak üzere çeşitli sağlık sorunlarına neden olabilir. Örnek olarak, DS, üç adet 21. kromozom (trizomi 21) nedeniyle oluşan bir kromozomal sayısal anomalidir. Klinefelter sendromu, bir erkek ekstra bir X kromozomuna (XXY) sahip olduğunda meydana gelir. Turner sendromu ise kadınlarda bir X kromozomunun eksikliği (monozomi X) ile karakterizedir. Hücrede meydana gelen sayısal kromozom anomalilerin nedenleri arasında genetik mutasyonlar, epigenetik, çevresel faktörler ve yaş faktörü yer almaktadır.

2.4.2. Gen Dozaj Dengesi

Gen dozaj dengesi, normal diploit kromozom sayısından farklı bir kromozom sayısı nedeniyle genlerin normalden farklı bir sayıda kopyasına sahip olması durumudur. Normalde bir genin iki kopyası olan bir hücrede bir genin fazladan üç veya dört kopyası olması gibi durumlar oluşabilir. Bu gen dozajı dengesi, dengesiz gen dağılımı durumunda hücrelerin normal fonksiyonunu etkileyebilir. Örneğin, DS gibi trizomi 21 durumunda, üç adet 21. kromozom olduğundan, bazı genler normalden üç kopya alır ve bu da bazı hücresel fonksiyonların işlevlerini yerine getirmede normalden farklı olmasına neden olabilir. Ayrıca, Turner sendromu gibi monozomi X durumunda, bir X kromozomunun eksikliği nedeniyle bazı genlerin sadece bir kopyası bulunur, bu durum dengesiz gen dağılımı nedeniyle hücresel fonksiyonların normalden farklı olmasına neden olabilir. Gen dozaj dengesi, çoğu durumda hücresel fonksiyonlarda önemli değişikliklere neden olur ve bu nedenle birçok kromozomal anomalinin açıklanmasına katkıda bulunur.

2.4.3. Sayısal Anormallikler

İnsan kromozom sayısı toplamda 46 olmak üzere bunu 22 çift otozom (1-22 numaraya sahip kromozomlar) olan somatik hücreler ve bir çift cinsiyet kromozomu (X ve Y) olan eşey hücreleri oluşturmaktadır. Çift kromozomların sayılarında meydana gelen azalmalar (örn: monozomi) ya da artışlar (örn: trizomi) bireylerin fenotipinde etkisini göstermektedir.

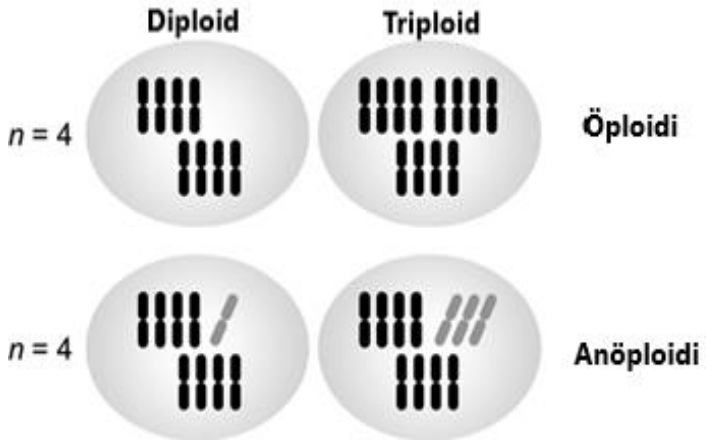
2.4.3.1. Öploidi

Öploidi, bir hücrenin kromozom sayısı ile ilgilidir. Diploit bir hücre, yani iki takım kromozoma sahip bir hücre, 2n öploidi olarak belirtilir. Örneğin, insan somatik hücreleri 2n öploiddir ve 46 kromozom içerir. Diğer yandan, haploit bir hücre, yani bir takım kromozoma sahip olan bir hücre, n öploidi olarak belirtilir. Örneğin, insan gametleri (sperm ve yumurta hücreleri) n öploidi olarak adlandırılır ve 23 kromozom içerir. Bununla birlikte, bazı organizmaların farklı öploidileri vardır. Örneğin, bazı bitki türleri tetraploid (4n) veya daha yüksek öploidilerdir (Şekil 2.2).

2.4.3.2. Anöploidi

Anöploidi, normal kromozom sayısından (diploit) farklı bir kromozom sayısıyla karakterize edilen bir durumdur. Anöploidiler, bir hücrenin belirli bir kromozom veya kromozom setinde fazla veya eksik kromozoma sahip olduğu durumlardır. Bu durum, bir hücrenin doğru şekilde bölünmesi sırasında kromozomların ayrılması sırasında bir hata meydana geldiğinde ortaya çıkar. Bu hata, bir hücrenin n öploid (haploit) veya 2n öploid (diploit) hale gelmesine neden olur.

Anöploidi, insanlarda Down sendromu (trizomi 21), Turner sendromu (monozomi X) ve Klinefelter sendromu (trizomi XXY) gibi bazı genetik anomalilere neden olmaktadır. Anöploidiler aynı zamanda kanser hücrelerinde de yaygın olarak görülmektedir (Şekil 2.2).



Şekil 2.2. Öploidi ve Anöploidi

2.5. Trizomi 21 çeşitleri

2.5.1. Serbest (Reguler) Trizomi 21 (%95)

DS'nun oluşmasında en yaygın olarak görülen trizomi çeşididir. Normalde, insan hücreleri 23 çift kromozomdan oluşurken (Antonarakis vd., 2020), DS olan bireylerde üç adet 21. kromozom vardır. Sitogenetik analizler sonucunda kadın kromozom sayısı 47+XX, +21 genotipli ve erkek kromozom sayısı 47+XY, +21 genotipli olarak belirlenmektedir.

Serbest (regüler) trizomi, bu ekstra kromozomun doğrudan bir kromozom çiftinin bir parçası olarak en yaygın görülen durumudur. Yani, hücrelerde mayoz I aşamasında kromozomlarda ayrılmama durumu (nondisjuction) sonucu oluşmaktadır (Avcı Durmuşalioğlu, E. vd, 2021). Bu durum gebelik yaşının artması ile doğru orantılı olarak artmaktadır. Down sendromu olan bireylerin çoğu serbest trizomi şeklindeki kromozomal anomaliden kaynaklanır. Serbest trizomi durumunda, genellikle hafif ve orta derecede mental gerilik, kas hipotonisi, karakteristik yüz özellikleri ve kalp, gastrointestinal sistem ve diğer organlarda sağlık sorunları gibi çeşitli klinik belirtiler görülebilir.

2.5.2. Mozaik Tip ile DS (%1)

Mozaik DS, DS'nun bir türüdür ve genellikle bir kişinin vücudunda bazı hücrelerin normal kromozom sayısına sahip olması, diğer hücrelerin ise üç tane 21. kromozoma sahip olması sonucu oluşur. Bu nedenle, mozaik DS genellikle "çeşitli hücre tipleri" anlamına gelen "mozaik" terimi ile adlandırılır. Mozaik DS, tipik DS'ndan farklıdır çünkü tüm hücrelerde üç tane 21. kromozom yoktur. Bu nedenle, mozaik DS olan kişilerin semptomları, tam trizomik DS olan kişilerden daha hafif veya daha az belirgin olabilir. Mozaiklik iki şekilde ortaya çıkabilir; ilk olarak fertilizasyondan sonra mitozda kaynaklanan sorunlardan dolayı 46 kromozomlu zigotun erken mitoza girmesiyle bazı hücrelerin trizomi 21'li olmaları, ikinci olarak fertilizasyondan sonra mitotik hata sonucu trizomi 21'li zigotun erken mitoza girmesiyle bazı hücrelerin normal 46 kromozomlu olmaları diğerlerinin 47 kromozoma sahip olmalarıdır. Mozaikliğin klinik bulguları 46 kromozoma sahip olmayan hücrelerin yoğunlaştığı dokulara bağlı olarak değişmektedir (Avcı Durmuşalioğlu, E. vd, 2021).

Mozaik DS, tipik DS kadar yaygın değildir ve yaklaşık olarak DS olan bireylerin %2'sinde görülür. Mozaiklik, tipik DS gibi, genetik bir bozukluktur ve DS diğer türleri gibi bir kromozom anomalisi sonucu oluşur. Bu nedenle, mozaik DS olan kişilerin de belirli sağlık sorunlarına yatkınlıkları vardır ve tıbbi takipleri önem taşımaktadır.

2.5.3. Translokasyon ile DS (%2-3)

Translokasyon bir kromozomun kaybolan parçasının ya da kopan bir parçasının başka bir kromozoma yapışması şeklinde görülen kromozom anomalileridir. Kromozom üzerindeki parça değişimlerinin gen içeriklerinin dengeli olarak değişmesi durumunda ‘’dengeli translokasyon’’ meydana gelmektedir. Değişen parçaların gen içeriği dengeli olarak değişmiyorsa bu durumda ‘’dengesiz translokasyon’’ oluşmaktadır. DS anne yaşından bağımsız olarak meydana gelen ve kalıtım sonucu oluşan trizomi 21’in bir diğer nedeni de translokasyondur. 21. Kromozomun hücreden kopup 14, 21 ve 22. kromozomlarından birine yapışıp bağlanarak hücre bölünmesi sırasında aktarılması ile meydana gelmektedir. Bu durumda, 21. kromozomun parçaları başka bir kromozoma bağlanır ve normal diploit kromozom sayısı korunurken, genetik materyal hala üç kopya 21. kromozom içerir. Yani, bireyin kromozom sayısı normaldir, ancak 21. kromozomun genetik materyal içeriği normalden farklıdır. 21. kromozom en fazla 14. kromozom ile birbirine bağlanarak karşımıza çıkmaktadır. Bu translokasyon genellikle ebeveynlerden birinden kalıtılır ve ailede daha önce DS vakaları varsa risk daha yüksek olabilir. Ancak, bazı vakalarda translokasyon spontan olarak da oluşabilir (Avcı Durmuşalioğlu, E. vd, 2021).

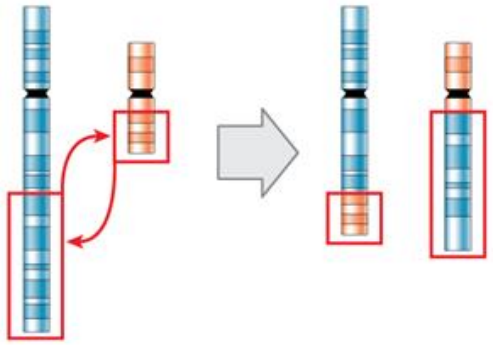
Translokasyon DS, serbest (regüler) trizomiye göre daha az yaygın olsa da, belirtileri benzerdir. Genellikle hafif ila orta derecede zekâ geriliği, karakteristik yüz özellikleri, kalp, gastrointestinal sistem ve diğer organlarda sağlık sorunları gibi çeşitli belirtiler görülür.

2.5.3.1. Resiprokal Translokasyon

Resiprokal translokasyon, kromozomların birbirleriyle parçalarını değiştirdiği bir tür kromozomal anomali olarak tanımlanır. Bu anomali, kromozomların belirli bölgelerinde kırıkların meydana gelmesi ve bu kırıkların farklı kromozomlar arasında değiş tokuş edilmesi sonucunda oluşur (Şekil 2.3). Resiprokal translokasyon, normal

diploit kromozom sayısını korur, ancak kromozomların yapısında değişiklikler meydana getirir. Resiprokal translokasyon taşıyıcılarında, mayoz esnasındaki bölünmeye bağlı olarak alternate: adjacent oranı 3:1 ve 4:0 olarak gametler oluşmaktadır. Bu değişiklikler, genetik materyalin dengeli ya da dengesiz düzenlenmesine neden olabilir ve genetik materyaldeki kusurlar veya bozukluklar sonucu çeşitli sağlık sorunlarına yol açabilir.

Resiprokal translokasyon, birçok kişide hiçbir belirti veya semptom göstermez ve sadece kromozom analizi yoluyla teşhis edilebilir. Ancak, translokasyon kromozomlarının tamamen normal kromozomlardan farklı şekilde bölünmesi veya birleşmesi durumunda, çocuklarda sağlık sorunları ortaya çıkabilir. Resiprokal translokasyon sıklığı 500 canlı doğumda 1 olarak görülmektedir. Resiprokal translokasyonun önemi sonraki nesillere dengesiz kromozom içeriğini aktararak erken gebelik kayıplarına ya da farklı kromozom anomalilerine sahip bebek doğumlarında kendini daha net olarak göstermektedir. Down sendromu gibi bazı kromozomal hastalıkların ortaya çıkmasına da neden olabilir.



Şekil 2.3. Resiprokal Translokasyon

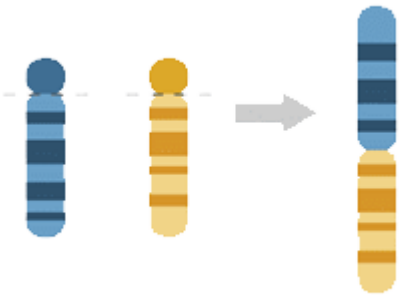
2.5.3.2. Robertsonian translokasyon

Robertsonian translokasyonlar, kromozomların yapısal bir düzenlenmesidir. Bu düzenlenme, iki akrosentrik kromozomun (kısa kolları neredeyse yok denecek kadar küçük olan kromozomlar) sentromer bölgelerinin birleşmesiyle oluşur (Şekil 4). Robertsonian translokasyonlar, insanlarda sık görülen kromozomal düzenlenmelerdir ve Down sendromu gibi zihinsel gelişme geriliğinin oluşmasına önemli katkı sunarlar. Down sendromlu bireylerin yaklaşık %5'inde, kromozomlardaki anöploidi (ekstra veya eksik kromozom) bir Robertsonian translokasyondan kaynaklanır. Bu translokasyonların %95'

i Rob(14q21q) ve (21q21q) arasında gerçekleşir (Bandyopadhyay R., 2003). (21q21q) yeniden düzenlenmeleri genellikle *de novo* olarak ortaya çıksa da, rob(14q21q) translokasyonlarının yaklaşık yarısı taşıyıcı bir ebeveynden kalıtılır (Baltacı V, Akyol D, Kadanalı S., 1999).

Robertsonian translokasyonlar, akrosentrik kromozomlar arasında tüm kol değişimi sonucunda oluşur. İnsanlarda 13, 14, 15, 21 ve 22 numaralı kromozomlar arasında gerçekleşirler. Bu translokasyonlar genel populasyonda 1000 kişide bir sıklıkla görülür. İki homolog olmayan kromozom arasında gerçekleşen translokasyonlar en yaygın olanlardır ve genellikle 13 ve 14 numaralı kromozomlar arasında meydana gelir. Bu durumda translokasyon tipi trizomi 13'e yol açar. Translokasyon tipi trizomi 14 ise genellikle gebeliğin erken döneminde kayba neden olur (Scriven PN, Flinter FA, Braude PR, Ogilvie CM., 2001).

Robertsonian translokasyon taşıyıcıları fenotipik olarak normal olabilirler, ancak anöploid yavruların doğum kusurlarına yol açma riski yüksektir. Down sendromlu vakaların yaklaşık %5'inde Robertsonian translokasyonlar görülür. Down sendromunda en yaygın olarak görülen iki anomali, rea(21q21q) ve rob(14q21q) translokasyonlarıdır ve eşit sıklıkta ortaya çıkarlar. Homolog olmayan kromozomlar arasındaki rob(14q21q) translokasyonu ROB vakalarının %82'sinde görülür. Homolog translokasyonlardan rea(21q21q) ise %95'ten fazlası de novo olarak gelişir. 21;21 translokasyon kromozomu, 21 numaralı iki kromozomun iki uzun kolunun birleşmesi sonucunda oluşur ve genellikle Down sendromlu bireylerde veya translokasyon taşıyıcılarında görülür (Bandyopadhyay R., 2003).



Şekil 2.4. Robertsonian Translokasyon

2.5.4. Kısmi Trizomi (nadir)

Kısmi trizomi 21, 21. kromozomun bir kısmının fazladan bir kopyasının olduğu genetik bir bozukluktur. 21. Kromozom, genetik bilgimizi içeren 23 çift kromozomdan biridir. DS kişilerde, trizomi 21 olarak adlandırılan normal iki yerine üç kromozom 21 kopyası bulunur. Kısmi trizomi 21'de, 21 kromozomun sadece bir kısmı üç kopya halinde bulunur.

Kısmi trizomi 21'in spesifik semptomları ve şiddeti, 21. kromozomun fazladan parçasının boyutuna ve konumuna bağlıdır. Kısmi trizomi 21'e sahip bazı kişilerde zihinsel engellilik, gelişimsel gecikmeler, fiziksel anormallikler ve diğer sağlık sorunları olabilir. Kısmi trizomi 21 kendiliğinden ortaya çıkabilir veya 21. kromozomu içeren dengeli bir translokasyon taşıyan bir ebeveynden miras alabilir. Kısmi trizomi 21 veya diğer kromozom anormallikleri öyküsü olan aileler için genetik danışmanlık önerilir (Lyle vd., 2009).

2.6. Down Sendromunun Klinik Bulguları

2.6.1. Dismorfik Özellikler

DS doğan bebeklerde farklı bir görünüşe sahip yüz görünümleri mevcuttur. Baş küçük, yassı, kısa ve geniş ense görünümleri vardır. Enselerinde genellikle boğumlar mevcuttur. Burun kökü yassı, gözler çekik ve birbirinden ayrık durur, kulaklar küçük ve katlanmış görünüme sahiptir. Dil yapısı konuşmayı etkileyecek derecede geniş bir yapıya sahiptir. Geniş el yapısına, kısa ve tombul parmak yapısı görünümüne sahiptir. Avuç içlerinin birinde ya da ikisinde ‘’Simian çizgisi’’ olarak tanımlanmış çizgilerden tek bir çizgi vardır. Serçe parmakları genellikle içe dönüktür. Mental yetersizlik ve zayıf kas tonusu veya gevşek eklem dokusu görülmektedir.

Ayrıca Alzheimer hastalığı (AD), konjenital kalp hastalığı, metabolik bozukluklar, tiroid hastalığı gibi otoimmün bozukluklar, çocukluk çağı lösemisi, uyku bozukluğu, Tip 1 diyabet, çölyak hastalığı, romatoid artrit ve otizm riskinde artış vardır (Hendrix vd., 2021). Hayatta kalım süreleri iyi bakım durumları sonucunda geçmiş dönemden günümüze doğru artış göstermektedir (Şekil 2.5).



Şekil 2.5. DS'lu bireylerin dismorfik özellikleri

2.6.2. Büyüme

DS'lu bireylerde büyüme geriliğinin görülmesi yaygındır. Cronk ve ark.'larının yaptığı bir araştırmada DS'lu çocukların büyüme paterni doğumdan ergenliğe ve özellikle 6 ay-3 yaş aralığında ve ergenlik döneminde bozulduğunu göstermektedir. Ayrıca DS'lu çocuklarda ergenlik dönemlerinde büyüme ataklarının azalması büyüme gelişiminin gerilemesini açıklamaktadır (Anneren vd., 1990; Cronk vd., 1988). Sunulan raporlarda DS'lu çocuklarda büyüme hormonu (GH) eksikliği olmadığı ancak DS'lu çocuklara GH verilmesi durumunda büyüme hızını arttırdığı belirtilmiştir (Tuysuz vd., 2012).

1988 yılında ABD'de yapılan geriye dönük bir araştırmaya göre, DS'lu çocukların büyüme çizelgeleri, DS'li çocukların yavaş büyümesini ve boylarının kısa olduğunu göstermektedir (Zemel vd., 2015). 1988 yılından günümüze kadar DS'lu çocukların genel bakım imkanlarının artırılması çocukların büyüme ve gelişmesini olumlu yönde etkilemektedir.

Avrupa'da da DS'lu çocuklar için büyüme çizelgeleri kullanılmıştır. Özellikle Birleşik Krallık ve İrlanda'da DS'lu çocukların büyüme çizelgelerini incelemek için Down Sendromu Büyüme Çalışması (DSGS), Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezleri

(CDC) ile ortak bir proje yürüterek, sistematik büyüme ölçümlerine ve referans yüzdelik değerleri geliştirmek için modern istatistiksel tekniklere dayanan büyüme eğrileri geliştirilmiştir (Styles vd., 2002).

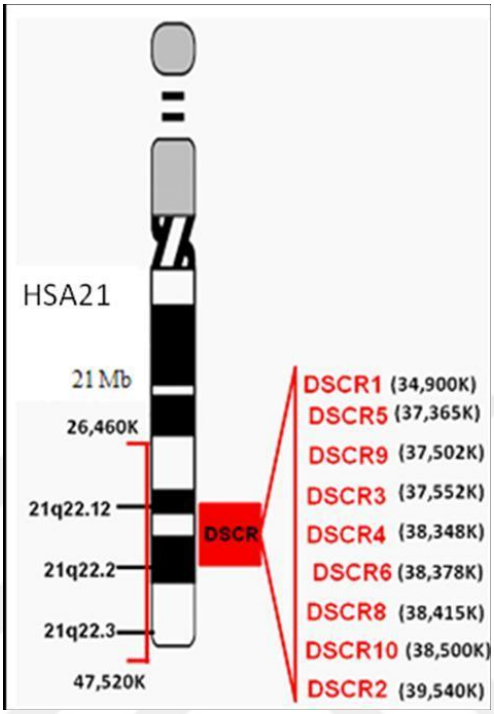
DS'lu çocukların her kontrollerinde baş çevresi, boy, ağırlık ve boya göre ağırlık izlemi ilk aylardan 1 yaşına kadar 3 ayda 1, 2 yaş içerisinde 6 ayda 1 ve 2 yaşından itibaren yılda 1 kez kontrollerinin yapılması gerekmektedir (Avcı Durmuşalioğlu, E. vd, 2021).

2.6.3. Kardiyovasküler sistem

Konjenital Kalp Hastalıkları (CHD), canlı doğan bebeklerin yaklaşık %1'inde görülen kalp gelişimsel anomalilerini ifade eder (Fahed vd., 2013; van der Linde vd., 2011). Bu tür hastalıklar Down sendromu (DS) hastalarında %50 oranında tekrarlanır (Stoll vd., 2015). DS'de en sık rastlanan CHD türleri, Atrioventriküler Kanal Defektleri (AVCD), Ventriküler Septal Defektler (VSD), Atriyal Septal Defektler (ASD), Patent Duktus Arteriyozus (PDA) ve Fallot Tetralojisi (ToF) gibi endokardiyal yastık defektleridir (Mollo vd., 2023). Bu anormalliklerden bazıları, kalp ve büyük damarlarla ilgilidir ve doğum öncesi ve doğum sonrası dönemde fark edilebilir. Bazıları ise daha hafif veya gecikmeli semptomlar gösterebilir ve daha ileri yaşlarda fark edilebilir (Avcı Durmuşalioğlu, E. vd, 2021). DS'lu bireylerde en sık görülen kardiyovasküler anormallik, AVSD olarak bilinen bir kalp defektidir. Bu defekt, kalp duvarının üst ve alt odacıkları arasında bir açıklık veya delik oluşmasına neden olur. Bu delik, kanın yanlış yönde akmasına ve kalbin normalden daha fazla çalışmasına neden olabilir. AVSD'den sonra sırayla VSD, Sekundum Atrial Septal Defekt ve ToF görülme olasılıkları yüksektir (Avcı Durmuşalioğlu, E. vd, 2021).

DS'de CHD'nin bu kadar yaygın görülmesi, kromozom 21'e (Hsa21) haritalanan genlerin kalp gelişiminde rol oynayabilecek şekilde ifadelerinin değişikliğe uğramış olabileceği ihtimalini doğurmaktadır. Araştırmalar, DS fenotipinin çoğunun kromozom bandı 21q22.2-22.3'te bulunan üç kopyasıyla ilişkili olduğunu göstermiştir. Bu bölgeye DS kritik bölgesi (DSCR) adı verilir (Korenberg vd., 1990; Rahmani vd., 1989) (Şekil 2.6). DS hastalarındaki kalp fenotipinden sorumlu kritik bir bölge de DS-CHD olarak adlandırılır. DS-CHD bölgesi, D21S55'ten MX1'e kadar olan 4 Mb'lik bir alanda bulunur ve bu bölgede birkaç önemli gen yer alır, örneğin DSCAM, BACE1 ve PLAC4. DS

fenotipini anlamak ve tedavi etmek için fare modelleri de kullanılmaktadır. Bu modeller, DS-CHD'nin patolojisini ve genetiğini daha iyi anlamada yardımcı olmaktadır (Mollo vd., 2023).



Şekil 2.6. 21. Kromozom üzerinde DS ile ilişkili kritik bölge (DSCR) (Mollo vd., 2023)

Trizomi 21, özellikle AVSD olmak üzere CHD riskini artırır, ancak CHD'ye neden olmak için yeterli değildir. Değiştirilmiş hipotez (Li vd., 2016), fazladan bir kromozom 21'e sahip olmanın anormal kalp gelişimine yatkınlık oluşturduğunu, ancak CHD'ye yol açmak için bir duyarlılık eşiğini aşmak için ek nadir varyantların veya çevresel tetikleyicilerin gerekli olduğunu öne sürer. DS'de AVSD riskine katkıda bulunan nadir varyantlar, genom boyunca bulunur ve değiştirilmiş yollar arasında siliyom, Notch sinyali, VEGF-A ve folat/homosistein metabolizması bulunur (Hendrix vd., 2021).

DS bireylerde ayrıca PDA olarak bilinen bir diğer kalp anomalisi de sık görülür. PDA, doğum öncesi dönemde doğru şekilde kapanmayan bir damardır ve doğum sonrası dönemde kanın doğru şekilde dolaşmasını engelleyebilir.

Diğer kardiyovasküler anormallikler arasında, kalp kapaklarındaki anormallikler, pulmoner hipertansiyon, hipertansiyon ve koroner arter hastalığı gibi durumlar yer alabilir. Moyamoya hastalığı, DS'lu kişilerde de ortaya çıkabilir ve özellikle kan basıncı

daha yüksek ancak normal aralıkta olan kişilerde yaşam boyu inme riskinin artmasına neden olmaktadır (Hendrix vd., 2021).

DS'deki kalp defektlerinin tek bir genin aşırı ifadesiyle meydana gelmediği ancak birden fazla genin etkisiyle meydana geldiği düşünülmektedir (Venegas-Zamora vd., 2021). DS'lu bireylerde kardiyovasküler anormalliklerin tedavisi, semptomlara, anormalliğin türüne ve erken teşhisine bağlı olarak değişebilir. Bazı durumlarda, cerrahi müdahale gerekebilir. DS'lu bireylerde konjenital kalp hastalığı kontrolünün sağlandığı durumlarda 1973'te 30 yıl olan yaşam beklentisinin, 2002'de 60 yıla çıkması sağlanmıştır (Glasson vd., 2014).

2.6.4. Nörolojik Sistem

DS'lu bireylerde nörolojik sistemde çeşitli anormallikler görülebilir. Bu anormallikler, beynin normal işlevlerini etkileyebilir ve bireylerin gelişimini, öğrenme kabiliyetlerini ve davranışlarını etkilemektedir. DS bireylerde beynin normal gelişiminde gecikme yaşanması durumunda bireylerin öğrenme, hafıza, dikkat ve dil becerilerinde zorluk yaşanmasına neden olabilir. Bunun yanı sıra anatomik olarak yapılan çalışmalar, DS bireylerin daha küçük bir korteks ve serebellum ile ilişkili olduğunu, nöron sayısında azalma ancak glia hücre sayısında artış olduğunu göstermektedir. Nöronlar, dendritik omurga defektlerine ve değişmiş sinaptik plastisiteye sahipken, glial kusurlar, değişmiş miyelinizasyonu göstermektedir.

Bilişsel yapıların ölçümüne yönelik daha fazla dikkat, sosyal biliş, duygu tanıma ve bilişsel testlerin değerlendirilmesi üzerine odaklanmıştır. Bu bilişsel yapıların işlevsel sonuçlar üzerinde gösterdiği aşağı yöndeki etki, öncelikle DS'li çocukların, örgün eğitim üzerindeki etkiyi ve uyumlu günlük yaşam becerilerini anlayarak dikkate alınmıştır (Hendrix vd., 2021).

21. kromozomdaki genlerin, nöral gelişiminde ve gelişimsel sinyal yollarını düzenleyen ve çoklu stres mekanizmalarını etkilediği düşünülmüştür. Gelişim basamaklarının kazanım zamanları, normal popülasyonun yaklaşık 2 katı olarak düşünülebilir. Örneğin literatürde belirtildiği üzere nörogelişimsel gecikme, yaşamın ilk yılında belirgin hale gelir. Bireyin oturması, ortalama 11. ayda, yürümesi ortalama 26. ayda gerçekleşir. Ayrıca, otizm, hiperaktivite, depresyon, artmış nöbet riski, infantil

spazmlar, Moyamoya hastalığı ve kaygı bozuklukları gibi nörolojik sorunlar da daha sık görülebilir. Moyamoya hastalığı, DS'nda insidansı artmış, nadir görülen bir vasküler anormalliktir. Çocuklarda genellikle hemipleji çizelgesi görülürken, yetişkinlerde daha çok beyin kanaması olur (Avcı Durmuşalioğlu, E. vd, 2021).

2.6.5. Immun Sistem

Down sendromlu bireylerde bağışıklık sistemi yapısı önemli ölçüde değişir. Lökopeni (düşük lökosit sayısı), daha düşük B hücresi frekansları ve artmış oranda hafıza T hücreleri, proinflamatuar T hücre alt grupları ve proinflamatuar sitokin üreten hücreler gibi proinflamatuar değişimler yaygın olarak gözlenir (Schoch vd., 2017). Bu proinflamatuar ortamla uyumlu olarak, DS'lu kişilerde tiroid hastalığı, tip 1 diyabet, çölyak hastalığı, romatoid artrit, sistemik lupus eritematozus ve atopi dahil olmak üzere otoimmün hastalıkların görülme riski oldukça yüksektir. DS'li bireylerde meydana gelen bu artmış bağışıklık tepkisine rağmen, bulaşıcı hastalıklara karşı daha hassas oldukları belirtilmiştir ve DS'li bireylerdeki ölümlerin %50'sinden sorumlu olduğu ifade edilmiştir (Bull, 2020). DS'lu çocuklarda özellikle solunum yolu enfeksiyonları görülmektedir ve hastalığın seyrine bağlı olarak hastaneye yatış işlemleri gerçekleştirilmektedir (Huggard vd., 2022).

Otoimmünite riski yaşla birlikte arttığı için, bağışıklıkla ilişkili genlerin tam veya kısmi trizomisinin genomik doğrulamasıyla birlikte uzunlamasına çalışmalara da ihtiyaç vardır. Otoimmünite gelişmeden önce örneklem almak, kimin daha yüksek risk altında olduğunu ve bu riskin nasıl hafifletilebileceğini daha iyi anlamamıza olanak sağlar (Hendrix vd., 2021). İlk olarak 1969 yılında DS ile otoimmün tiroidit arasında ilişki olduğu gözlemlenmiştir (Ferrari & Stagi, 2021). Risk analizlerinin yapılması ve anlaşılabilmesi için otoimmünite geliştirmeden önce örnekleme gereklidir. DS'lu bireylerin bağışıklık sistemi, normal bireylere göre daha zayıf olmaktadır. Bu durum, özellikle solunum yolu enfeksiyonlarına ve kalp damar hastalıklarına karşı daha yüksek risk taşıyan DS'lu bireyler için önemli bir sorundur. DS'lu bireylerin bağışıklık sistemi anormallikleri, yaşlarına, semptomlara ve belirtilere göre tedavi edilebilir.

2.6.6. Duyular

DSlu bireylerde, çeşitli duyusal anormallikler görülebilir. Bu anormallikler, bireylerin çevreleriyle etkileşimlerini etkilemektedir. Bu bireyler, makroglosi (büyük dil), hipoplastik kaslar (zayıf kaslar), dış kulak yolu stenozu (daralmış dış kulak yol), dar orofarenks ve nazofarenks (dar boğaz ve burun boşluğu), kısa yapıdaki östaki tüpü (kulak ve boğaz arasındaki tüpün kısa olması) ve onun sert damakla yaptığı dar açı nedeniyle işitme kaybına yatkındırlar. Bu durumda, bu bireylerin dil büyüklüğü, kas zayıflığı, daralmış dış kulak yolundan dolayı işitme sorunları yaşama eğilimleri vardır. Ayrıca, dar boğaz ve burun boşluğu ile kısa östaki tüpü ve sert damak arasındaki dar açı da işitme kaybına katkıda bulunabilir (Kreicher vd., 2018). DS'lu kişilerin zihinsel engelli kişilere göre 2,6 kat daha fazla orta düzeyde iletişim güçlüğü yaşama olasılığı ve 1,9 kat daha fazla ciddi iletişim güçlüğü yaşama olasılığı bulunmaktadır (Hendrix vd., 2021).

DSlu bireylerde dil gelişiminde yaşanan zorluklar, gelişim aşamasının çok erken dönemlerinde ortaya çıkmakta ve erken dönemden yetişkinliğe kadar da devam etmektedir. Gelişimdeki gecikmeler, erken dönemden başlayarak günlük yaşam içerisinde aktif rol alma ve sosyal hayatında da dilin kullanımı da dahil olmak üzere yetişkinliğe kadar devam etmektedir (Hendrix vd., 2021). Araştırmalar, Down sendromlu (DS) bireylerin fiil kullanımının sınırlı olduğunu ve bunun da dil karmaşıklığının azalması ve zayıf konuşma becerilerine sahip olmalarıyla ilişkili olduğunu göstermektedir. Ancak, erken müdahale ile zaman içinde DS'lu bireylerin yaşam standartlarında olumlu değişiklikler meydana gelmektedir (Hendrix vd., 2021).

Durmuşalioğlu ve ark.'nın derlediği bir raporda DS'lu bireylerde, görme problemlerinin sıklığı %56,8 olarak bildirilmiştir (Avcı Durmuşalioğlu, E. vd, 2021). DS'lu çocukların ilk 6 ayda katarakt, nistagmus, şaşılık ve kornea anormallikleri gibi göz hastalıkları geliştirme ihtimalleri yüksektir. Bu bozukluklar varsa, anormal görsel gelişimsel ve muhtemelen retina, kornea ve optik sinirdeki yapısal farklılıklar ile ilişkisi nedeniyle uzmana danışılmalıdır. Göz hastalıkları uzmanı çocukları, 1-5 yaş arasındaki çocukları yılda bir, 5-13 yaş arası 2 yılda bir ve 13-21 yaş arası 3 yılda bir değerlendirmesi önerilir. DS'lu çocukların %50'sinde, 3-5 yaş arasında refraksiyon kusuru gelişir (Hendrix vd., 2021).

2.6.7. Kas-İskelet Sistemi

Down sendromlu bireylerde kas iskelet sistemi sorunları sık görülebilir ve atlantoaksiyel instabilite, özellikle tehlikeli bir komplikasyon olarak karşımıza çıkabilir. Atlantoaksiyel instabilite, servikal kord kompresyonuna yol açarak ciddi sonuçlara neden olabilir.

Görüntüleme çalışmaları ile miyelopati riski ilişkili bulunmadığından, asemptomatik hastalarda rutin radyolojik değerlendirme önerilmez. Ancak erken tanı, nörolojik muayene ve hasta yakınlarının değişen belirtileri fark etmesi ile mümkündür.

Hasta yakınları, atlantoaksiyel instabilite ile ilişkili semptomlar konusunda bilgilendirilmeli ve yakın temas sporlarının (örneğin futbol, jimnastik gibi) ve trambolin kullanımının spinal kord yaralanması riskini arttırdığı konusunda uyarılmalıdır. Ayrıca, DS'lu bireylerin kas iskelet sistemleri ile ilgili diğer sorunları da takip edilmeli ve uygun tedaviler uygulanmalıdır (Avcı Durmuşalioğlu, E. vd, 2021).

2.6.8. Kanser

İlk olarak 1957 yılında rapor edildiği şekliyle, erken bebeklik döneminde yüksek lösemi insidansı gözlenirken ilerleyen yaşlarda bu risk azalmaktadır (Krivit & Good, 1957). DS'lu bireylerde lösemi çoğunlukla hayatın ilk 4 yılında ortaya çıkmaktadır (Hasle, 2001). DS'lu bireylerin solid tümör geliştirme riski, normal bireylerden daha düşüktür ancak lösemi geliştirme insidansının artmasının ilişkili olduğu düşünülmektedir (Hendrix vd., 2021). Ayrıca DS'lu bireylerde bazı kanser türleri daha sık görülür. *GATA1* genindeki mutasyonlardan kaynaklanan ve yenidoğan DS'luların %10'unda geçici anormal myelopoez oluşmaktadır. Hematolojik anormallikler olarak belirtilen durum, yenidoğan bebeklerde demir eksikliği ve lösemi insidansının artışına neden olabilir.

Ayrıca, yapılan literatür taramasında Down sendromlu (DS) bireylerde lösemi gelişme ihtimalinin %2-3 oranında olduğu belirtilmiştir (Avcı Durmuşalioğlu, E. vd, 2021). Trizomi 21, fetal karaciğer hematopoietik kök ve progenitör hücrelerde bozulmuş hematopoeze neden olarak megakaryosit-eritrosit progenitörlerinde artışa neden olmaktadır. Bir başka neden olarak da *GATA1* genindeki genetik mutasyonlar ve epigenetik değişiklikler DS'unda myeloid löseminin ilerlemesine neden olmaktadır. DS'lu bireylerde akut lenfoblastik lösemi (ALL) ve akut myeloid lösemi (AML) gelişme

riskinin genel popülasyona göre sırasıyla 33 ve 150 kat daha fazla olduğu tahmin edilmektedir (Gupte vd., 2022).

2.6.9. Endokrin sistem

DS'lu bireylerde hipertiroidi ve konjenital hipotiroidi risklerinde artış meydana gelmektedir ve literatürde bu oran %1-2 olarak belirtilmiştir (Avcı Durmuşalioğlu, E. vd, 2021). Yapılan çalışmalarda aynı zamanda konjenital hipotiroidi insidansı DS'lu bireylerden normal populasyona oranla 28 kat daha fazla bulunmuştur (Fort vd., 1984). Hipotiroidi, yavaş metabolizma, yorgunluk, kilo alma ve diğer belirtilere neden olabilir. Bu nedenle, Down sendromlu bireyler tiroid stimüle edici hormon (TSH) ve serbest T4 açısından değerlendirilmelidir (Avcı Durmuşalioğlu, E. vd, 2021).

2.6.10. Gastrointestinal sistem

DS'lu bebeklerde gastrointestinal sistem (GİS) anomalileri sıklıkla görülmektedir. Bu anomaliler arasında duodenal atrezi, Hirschsprung hastalığı, omfalosel, duodenal bandlar, anüler pankreas, ileal ve jejunal atrezi, anal atrezi, malrotasyon ve diyafragma hernileri yer almaktadır. Ayrıca, çocukluk döneminde diyare, uzun süreli kabızlık, büyüme geriliği, anemi, karın ağrısı ve inatçı davranış problemleri varsa çölyak hastalığı da düşünülmelidir (Avcı Durmuşalioğlu, E. vd, 2021). GİS anomalisi olmayan DS'lu vakalarda ise kronik konstipasyon, kusma, karın şişliği, gastroözofageal reflü sık görülen sorunlardır.

Yapılan çalışmalar, DS'lu vakalarda GİS anomali görülme sıklığının sağlıklı popülasyona göre 20 kat daha yüksek olduğunu göstermektedir (Tolmie JL; 1996). Örneğin, 5581 DS'lu olguda anüler pankreas ve duodenal atrezi sıklığının 300 kat, megakolon ve koanal atrezi sıklığının ise 100 kat arttığı bildirilmiştir (Kallen vd., 1996). Birçok çalışmada da GİS anomalilerinin çeşitli tiplerine sık rastlandığı gözlemlenmiştir. Bu nedenle, DS'lu bebeklerde GİS sorunlarına yönelik erken teşhis ve tedavi önemlidir.

DS'lu bebeklerin büyük bir kısmı emzirilebilir ve anne sütü alabilirler. Ancak bazı durumlarda, başarılı bir emzirme paterni geliştirilene kadar ek desteğe ihtiyaç duyulabilir. Hipotonisi belirgin olan bebeklerin yanı sıra yavaş beslenen bebekler, beslenirken

boğulma, tekrarlayan pnömoni veya solunum semptomları ve açıklanamayan gelişme geriliği olan bebekler radyografik yutma değerlendirilmesi için değerlendirilmelidir.

2.7. Prenatal Tanı

Prenatal tanı ilk olarak 1966 yılında amniyotik sıvıdan kültür edilen hücrelerden fetüsün kromozomal yapısının analizi ile başlamıştır.

Aile öyküsü veya taşıyıcılık testleriyle özgün bir genetik hastalık riski açısından belirgin bir şekilde riskle karşı karşıya olan çiftlere prenatal tanı önerilmektedir. Buna ilave olarak ileri anne yaşı veya rutin prenatal bakım esnasında yapılan tarama testleri sonucunda risk artışı öngörülen otozomal trizomiler, özellikle trizomi 21 veya nöral tüp defektleri (NTD) için prenatal tanı yapılmaktadır. Olgularda prenatal tanıyla hedeflenen durum, çiftlerin gebelikleriyle ilgili genetik hastalık veya doğumsal defekt risklerinin belirlenmesi ve bu risklerin giderilmesi üzerine çiftleri bilgilendirmesidir. Özgün bir doğumsal defekt için artmış bir risk altındaki çiftler için, gebelik esnasında yapılacak testlerle bu defektlerin varlığı ya da yokluğunu fetüs için doğrulamak, prenatal tanı kullanımının temelini oluşturmaktadır. Ciddi genetik hastalık riski altındaki pek çok çift için, prenatal tanı uygulaması ile gerekliliği halinde, gebeliği sonlandırma seçeneğinin elde edilmesi önemli bir avantaj oluşturmaktadır.

DS, prenatal tanı ile kolayca doğrulanır. DS'nin görülme insidansı yaklaşık 450 doğumda 1'e yükselmiştir. Son 20 yılda yapılan çalışmalarda, Avrupa'da DS'lu gebeliklerin sayısında %10'luk bir artış gözlenmektedir. Bu artışın nedenleri arasında anne yaşının artması, doğum öncesi taramanın gelişmesi ve yaygınlaşması ile gebeliklerin sonlandırılması gibi faktörler bulunmaktadır. Ayrıca prenatal tanı testlerinin yaygınlaşması ile canlı doğan bireylerin prevalansında artış bildirilmiştir (Vicic vd., 2017). Prenatal tanı yöntemleri, fetüsün genetik materyalini inceleyip kromozomlardaki sayısal veya yapısal farklılıkları belirlemede etkin rol almaktadır. Durmuşalioğlu ve ark. 2021 yılında sunduğu raporda DS'nun birinci trimester taraması ile tespit oranı %82-87, ikinci trimester taraması ile %80, kombine birinci ve ikinci trimester taraması ile yaklaşık %95'tir. Bu tarama testlerinin %5 yanlış pozitif oranına sahip olduğu bildirilmektedir (Avcı Durmuşalioğlu, E. vd, 2021). Down sendromunun prenatal tanısına yaklaşım, hücre dışı DNA'nın (cell-free DNA veya cfDNA) kullanımının gelişmesiyle birlikte

değişmiştir. Bu durum, Down sendromunun prenatal tarama testlerine yeni bir yaklaşım sağlamıştır.

Non-invazif prenatal taramanın kullanımı, amniyosentez veya koryon villus örneklemesi gibi invazif testlerin kullanımını azalttığı için, tarama oranlarındaki bölgesel ve kültürel farklılıklara rağmen tercih edilmektedir. DS'nun saptanması için cfDNA'nın özgüllüğü %99,7'dir. Ancak, kesin tanı için amniyosentez veya koryon villus örneklemesi ile elde edilen karyotip analizinin doğruluk oranı %99'dur (Avcı Durmuşalioğlu, E. vd, 2021).

Bu nedenle, prenatal tanı aşamasında ebeveynler, DS'nun nedeni, olası tıbbi sorunlar, etkilenen fetüs veya bebeğin potansiyel geleceği ve aile planlaması hakkında bilgi almalıdırlar. Bu hizmet genetik danışmanlık altında verilmektedir.

2.7.1. Prenatal Tanı Endikasyonları

İleri anne yaşı, prenatal tanı endikasyonlarının en yaygın olanıdır. Anne yaşı ile Down sendromu ve diğer yaşamla bağdaşan kromozomal anormallikler arasında bir ilişki bulunmaktadır. Prenatal kromozom analizi için önerilen yaş sınırı genellikle >35 olarak kabul edilir, ancak daha düşük veya daha yüksek yaşlar da endikasyon olarak düşünülebilir. Bu konuda tartışmalar devam etmektedir. Yaşa bağlı risk seviyesi olarak kabul edilen yaklaşık 1/250 oranındaki risk eşik değeri, amniyosentez veya diğer prenatal tanı yöntemleri düşünüldüğünde kullanılır. Bu değer, kromozomal anormallik riskini değerlendirmek için bir kılavuz olarak kabul edilir.

İleri yaşta hamilelik olarak kabul edilen (>35 yaş) kadınlarda Down sendromu (DS) taraması için anne serumu testleri artık tüm hamilelere önerilmektedir. Bu testler, anne serumunda AFP (alfa-fetoprotein), insan koryonik gonadotropin (HCG) beta subünitesi ve konjuge olmayan estriol (UE3) seviyelerini değerlendirir. Bu parametreler, DS riskini belirlemeye yardımcı olur. AFP ve UE3 düşük seviyeleri ile yüksek HCG seviyeleri, DS riski ile ilişkilendirilirken, bu parametrelerin düşüklüğü Edwards sendromu (trizomi 18) riskini artırabilir. Bu tarama protokolü, yaklaşık %5 yanlış pozitif sonuç riski taşırken, yaklaşık %60 genel tespit oranı sunar. Ancak, bu değişkenler, anne yaşına bağlı olarak farklılıklar gösterebilir.

Ultrasonografi, kromozomal anormalliklere eşlik edebilen fetal anormalliklerin tespitinde önemli bir prenatal tanı aracıdır. Ultrason, gebelik haftasının belirlenmesi, kromozomal anormallik taraması için yapılan işlemler öncesinde ve sırasında, genellikle fetüsün 15-20. gebelik haftalarında rutin olarak kullanılır. Ayrıca, pozitif maternal serum taraması sonucu alınan bilgilere dayanarak, daha önce nöral tüp defekti (NTD) veya kromozomal anormalliği olan çocuğu olan kadınlar ve üçüncü trimesterde fetal sağlık durumunun değerlendirilmesi amacıyla da ultrason muayenesi yapılır.

Daha önce Down sendromlu (trizomi 21'li) bir çocuğa sahip olan çiftlerin, sonraki çocuklarında Down sendromu riskinde yaklaşık %1 artış görülmektedir. Diğer sayısal kromozomal anormallikler için benzer bir veri desteklenmemektedir, ancak bu çiftlere prenatal tanı sürecinde dikkatli bir yaklaşım önerilmektedir.

Dengeli kromozomal yeniden düzenleme sonucunda genetik materyal kazanımı veya kaybı olmadığı için taşıyıcılar genellikle normal bir fenotipe sahiptirler. Ancak bu tür dengeli taşıyıcılıklar, kendiliğinden düşük yapma veya kromozomal anomalili bir çocuk sahibi olma riskini artırabilirler. Bu risk, çeşitli faktörlere bağlı olarak değişkenlik gösterir, örneğin etkilenen kromozoma, etkilenen bölgenin boyutuna ve taşıyıcının cinsiyetine bağlıdır. Down sendromu (DS) için risk %100 olabilir, özellikle 21q21q Robertsonyan translokasyonu veya izokromozom gibi durumlarda risk artar.

2.7.2. Prenatal tanı yöntemleri

Çizelge 2.2. Prenatal Tanı Yöntemlerinin sınıflandırılması

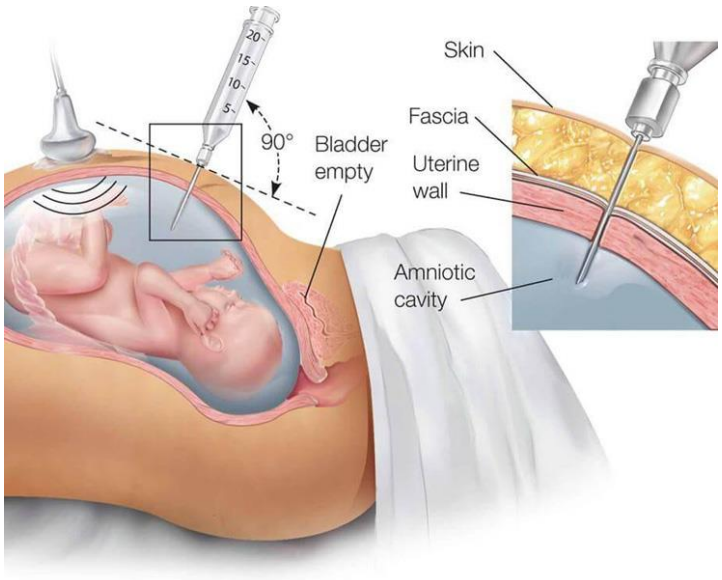
A: İnvaziv Testler	**B: İnvaziv Olmayan Testler**
Fetal Görüntüleme Fetoskopi Embriyoskopi	**Fetal Görüntüleme** Ultrasonografi Ekokardiyografi Manyetik rezonans görüntüleme (MRG) Röntgen
Fetal doku örnekleri kullanarak kromozom analizi veya moleküler çalışmalar yapma Amniyosentez	**Biyokimyasal tarama testler** **Anne serumundan** İkili tarama testi (PAPPA, fβ HCG ve NT ölçümü)

Koryon villus örneklemesi Kordosentez	Üçlü tarama testi (AFP, uE3, β HCG ölçümü) Dörtlü tarama testi (AFP, uE3, β HCG ve DIA ölçümü) **Maternal (anne) kan örneğinde fetal hücrelerin analizi**

2.7.2.1. Amniyosentez

Amniyosentez, polihidramnioz tedavisinde 1880'de kullanılmaya başlanmıştır. 1966'da Amerikalı doktorlar Steele ve Breg, başarıyla amniyotik sıvı hücrelerini kromozom analizi için kültüre etmişlerdir. Günümüzde, yüksek doğruluk ve düşük risk nedeniyle en yaygın kullanılan invaziv prenatal tanı yöntemidir. Yapılan araştırmalar, amniyosentez sonrası spontan düşük oranının %1.7 olduğunu göstermiştir, bu oran kontrol grubundan biraz daha yüksektir. 2000 yılında yayınlanan bir rapor ise amniyosentezin fetus düşük riskinin %0.6-0.68 olduğunu öne sürmüştür (Cheng vd., 2015).

Amniyosentez, amniyotik keseye bir iğne ile girerek, karın duvarı yolundan bir enjektörle amniyon sıvısından bir örneğin alınması işlemidir (Şekil 2.7).



Şekil 2.7. Amniyosentez işleminin uygulanması

Amniyotik sıvı, 10 mL'de yaklaşık 2-3 × 10^5 hücre içerir ve bu hücreler, amniyon kesesindeki fetüs hareketleri nedeniyle yutma, idrar yapma ve fiziksel hareketlerle üretilen, tanısal testler için kültüre edilebilen fetüs kaynaklı hücreler içerir (Cheng vd., 2015). Amniyosentezden önce, fetüsün canlı olup olmadığını, gebelik haftasını, amniyon sıvısının miktarını, fetal anatomik yapıların incelenmesini ve iğne ile giriş yapmak için en uygun pozisyonu saptamada, fetüs ve plesantanın pozisyonunu belirlemede ultrason taramaları kullanılmaktadır.

Amniyosentez, 15-16. Gebelik haftalarında uygulanabilir ancak bazı merkezlerde bu test 10-14. Gebelik haftaları gibi daha erken bir zamanda yapılabilmektedir. Amniyosentez, kromozomal hastalıklar ve birçok tek gen hastalığının tanısında faydalı bir yöntemdir (Cheng vd., 2015).

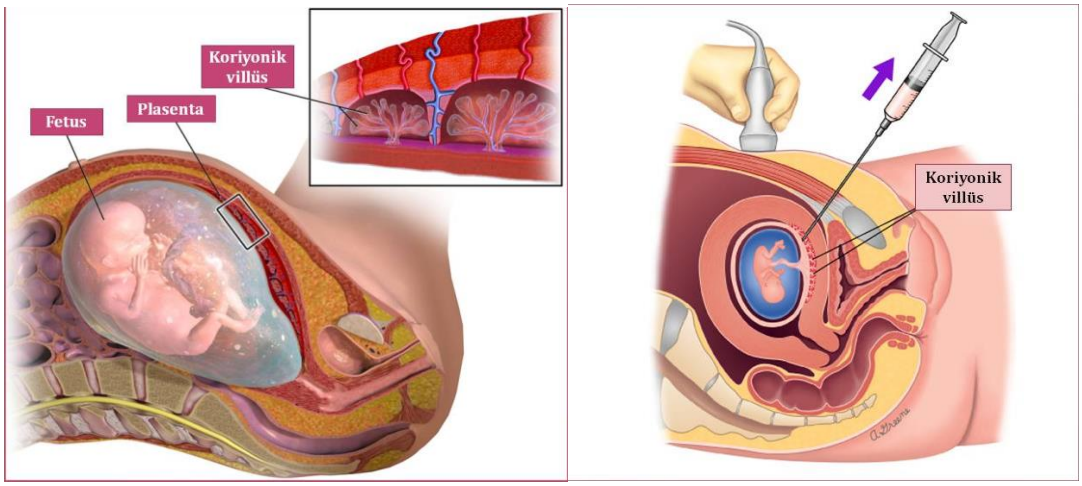
2.7.2.2. Koryon Villus Örneklemesi (CVS)

Koryon Villus Biyopsisi (CVS), prenatal tanı yöntemlerinden biridir ve fetüsten koryon villus adı verilen doku örneği alınmasıyla gerçekleştirilir. CVS işlemi, genellikle gebeliğin 10-13 haftaları arasında yapılır ve bazen özel durumlarda 8 haftadan itibaren gerçekleştirilebilir (Cheng vd., 2015). İki temel yöntemle CVS yapılabilir:

Trans abdominal yöntem: Karından (karın duvarından) ultrason rehberliğinde bir iğne kullanılarak yapılır.

Trans servikal yöntem: Serviks (rahim ağzı) yoluyla bir kateter veya ince bir tüp kullanılarak koryon villusları alınır (Şekil 2.8). Elde edilen koryon villus örneği, laboratuvarda genetik analiz için incelenir. Bu sayede, bebeğin kromozom sayısı ve yapısal anomali olup olmadığı gibi genetik hastalıkların tespit edilmesi mümkün olur.

CVS'in avantajı, erken gebelik haftalarında yapılabilmesi ve genetik bilgi sağlamasıdır. Ancak, amniyosentez gibi diğer invaziv prenatal tanı yöntemlerine kıyasla daha yüksek gebelik kaybı riskine sahip olabilir. Bu nedenle, CVS işlemi yapılacak hastalar, riskler ve faydalar hakkında dikkatli bir şekilde bilgilendirilmelidir(Cheng vd., 2015).

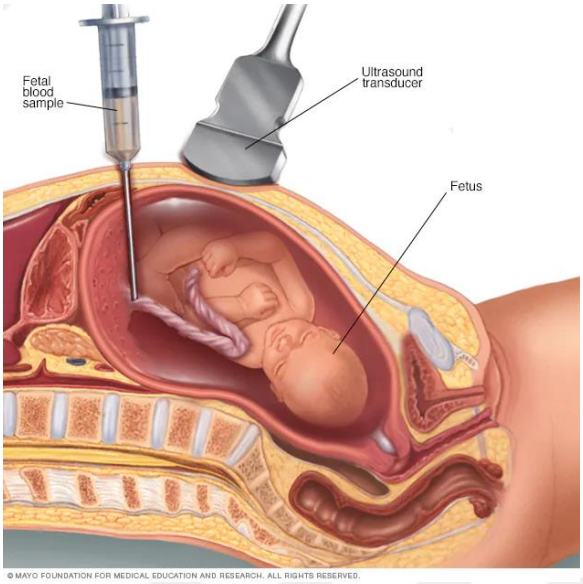


Şekil 2.8. Koryon Villus Örneklemesi (CVS) ile prenatal tanı

2.7.2.3. Kordosentez

Kordosentez, deri yoluyla umblikal kan örnekleme (PUBS) olarak da bilinir ve fetüsün kanını göbek kordonu kullanarak almayı içeren bir tıbbi işlemdir (Şekil 2.9). Genellikle 18. gebelik haftasından sonra uygulanır. Ancak, alınan kan örneğinin kesinlikle fetusa ait olduğu doğrulanmalıdır. Uluslararası rehberlere göre, Sitogenetik laboratuvar sonuçları raporlamadan önce örneklerin kordon kanına ait olduğunu onaylamalıdır.

Kordosentez, amniyosentez veya CVS gibi diğer prenatal tanı yöntemlerinde görülen kromozomal mozaikliği aydınlatmada ve ikinci trimesterde geç başvuran hastalarda daha hızlı sonuç elde etmekte kullanılır. Ayrıca, üçüncü trimesterde gebelik sonlandırma kararı hakkında hızlı tanısal bilgi elde etmek için de kullanılabilir. Sitogenetik sonuçlar, genellikle 48-72 saatlik bir süre içinde fitohemagglutininle uyarılmış kültürle elde edilir. Ayrıca, bölünmeyen interfaz hücrelerine de FISH (Floresan İn Situ Hibridizasyon) yöntemi uygulanabilir.



Şekil 2.9. Kordosentez işleminin uygulanması

2.8. Postnatal tanı

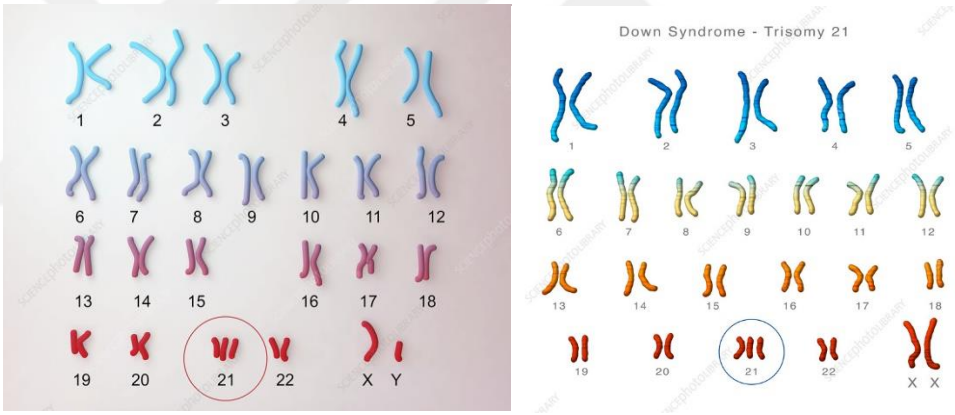
DS'lu bebeklerin ön tanısı doğum sonrası fizik muayene ile yapılmaktadır. Bu bebekler genellikle hipotoni, karakteristik dismorfik özellikler ile kolaylıkla tanınabilirler. Belirgin dismorfik özellikler arasında brakisefali, ensede kalınlaşma, yuvarlak ve geniş bir yüz, yukarı çekik palpebral fissurler, epikantus, brushfield lekeleri, hipertelorizm, küçük, düzleşmiş ve kısa burun, küçük ve düşük kulaklar, aşağı sarkık alt dudak, dilin ağız dışında bulunması, açık ağız, yüksek damak, kısa ve geniş boyun, kısa ve geniş el ve ayaklar, simian çizgi, klinodaktili, sindaktili, ekstremitelerin vücuda oranla kısa olması, ayakta 1 ve 2. parmaklar arasında açıklık (sandal gap) ve ayak tabanında 1 ve 2. parmaklar arasında yarıklanma yer alır. Bu dismorfik özellikler doğum sonrasında tespit edilebilir ve tanıyı doğrulamak için diğer testlerle de uygulanabilir (Bull vd., 2022).

DS şüphesi durumunda postnatal dönemde en uygun tanı yöntemi karyotip analizidir. Daha hızlı sonuç almak için ise DNA'nın kısa, ardışık tekrarlayan dizileri olan mikrosatellitlerin belirteç olarak kullanıldığı kantitatif floresan PCR (QF-PCR) yöntemi de tercih edilebilir. Ancak, daha güvenilir bir tanı için moleküler yöntemlerin sitogenetik yöntemle teyid edilmesi önerilmektedir. Ayrıca, tanıda kullanılabilecek yöntemler arasında 21. kromozoma yönelik floresan in situ hibridizasyon (FISH) çalışması da yer almaktadır. DS'lu çocuğu olan ebeveynlerin, tekrar DS'lu çocuk sahibi olma riski; anne yaşı, karyotip sonucu ve varsa translokasyon tipi ile ilişkilidir (Bull, 2020).

Postnatal tanı, genellikle bebekteki belirtileri ve semptomları inceleyerek başlar. Bebekte Down sendromu belirtileri arasında hipotonik kas tonusu, karakteristik yüz özellikleri (örneğin, yüzdeki yuvarlak ve basık görünüm), mikrosefali, epikantus katları (çapraz simetrik katlanmalar) ve simian çizgi yer alabilir. Genetik danışmanlar, aileleri Down sendromu hakkında bilgilendirirler.

2.8.1. Karyotip Analizi

Sitogenetik analiz için ayakta bulunan olgulardan periferik kan örneği alınır. Bu örnekler laboratuvar ortamında Fitohemaglutinin (PHA) ile uyarılan kısa süreli lenfosit kültürlerine tabi tutulur. Daha sonra Giemsa Tripsin bantlama yöntemi (GPL) kullanılarak kromozom analizi gerçekleştirilir. Yapılan karyotip analizi sonucunda, bazı olgularda erkek karyotipi 47+XY, +21 olarak tespit edilir, diğer bazı olgularda ise kadın karyotipi olan 47+XX, +21 belirlenir (Şekil 2.10).



Şekil 2.10. 47, XY, +21 ve 47, XX, +21 sahip olguların kromozom analizleri

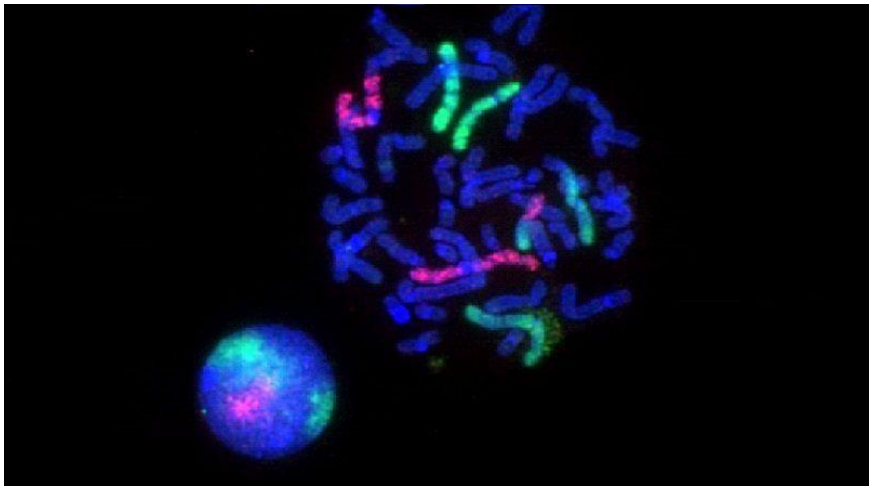
2.8.2. QF-PCR yöntemi

QF-PCR (Quantitative Fluorescent Polymerase Chain Reaction), genetik bir test yöntemidir ve özellikle fetal anöploidileri tespit etmek için kullanılır. Özellikle fetal anöploidiler, doğmamış bir bebeğin kromozom sayısındaki anormallikleri ifade eder ve Down sendromu gibi durumlarda kullanılabilir. QF-PCR, PCR (Polymerase Chain Reaction) adı verilen bir moleküler biyoloji teknolojisinin özel bir türüdür. PCR, DNA'nın milyonlarca kopyasını oluşturarak belirli genetik materyali çoğaltma yeteneği sunar. QF-PCR, bu temel prensibi kullanarak belirli kromozom bölgelerini hedef alır ve bu bölgelerdeki genetik materyali çoğaltır.

Quantitative (nicel) terimi, QF-PCR'nin genetik materyalin nicel analizini yapabilme yeteneğini vurgular. Bu yöntem, belirli kromozom bölgelerindeki DNA kopya sayısını ölçerek aneuploidileri tespit eder. Fluorescent (floresan) terimi, çoğaltılan DNA'nın belirli bir floresan etiketinin kullanılmasıyla belirlenebileceği anlamına gelir. Bu floresan etiketleri, belirli kromozom bölgelerini belirlemek için tasarlanmış olan özel prob adı verilen DNA parçacıkları üzerine bağlanmıştır. QF-PCR, diğer genetik test yöntemlerine göre daha hızlı sonuçlar alınmasını sağlar. QF-PCR genellikle bir tarama testi olarak başvurulur ve olumlu sonuçlar daha fazla inceleme gerektirir (Çitli, Ş.vd., 2011).

2.8.3. FISH Yöntemi

FISH (Floresan In Situ Hibridizasyon), hücrelerde belirli genetik veya hücresel özellikleri belirlemek için kullanılan bir moleküler sitogenetik tekniktir. Bu yöntem, özellikle kromozom anormalliklerini, gen amplifikasyonunu, gen yerleşimini ve hücresel organizasyonu incelemek için yaygın olarak kullanılır (Çitli, Ş.vd., 2011). FISH yönteminin temel prensibi, hedeflenen genetik materyali belirli bir hücre veya doku örneği içinde belirlemektir. İşlem, floresan etiketli özel DNA prob adı verilen kısa DNA parçacıklarını kullanır. Bu prob, spesifik bir genetik bölgeye veya hedefe bağlıdır ve floresan renklendirici ile işaretlenmiştir. Probun DNA dizisi, hedeflenen genetik materyal ile tamamen eşleşirse, prob hedef bölgeye bağlanır ve floresan sinyali üretir (Şekil 2.11). Bu yöntem, kanser araştırmalarında, genetik hastalıkların tanısında, kromozom anormalliklerinin tespitinde ve mikroorganizmaların belirlenmesinde önemli bir rol oynar. Ayrıca, prenatal tanıda kullanılarak kromozomal anormallikleri erken aşamalarda belirlemeye yardımcı olabilir.



Şekil 2.11. FISH yöntemi

2.9. Tedavi ve İzlem

DS'nun bir tedavisi yoktur. Ancak, bireylerin yaşamlarını daha kaliteli hale getirmeye yardımcı olmak için çeşitli tedaviler ve müdahaleler mevcuttur. Örneğin, DS'lu bireylerin öğrenme güçlüğü yaşayabileceği düşünülürse, özel eğitim ve öğretim programları, bu kişilerin en iyi şekilde öğrenmelerini ve gelişmelerini sağlayabilir. Bu programlar, bireysel gereksinimlere göre belirlenir ve çeşitli becerileri öğrenmek için kullanılır.

DS'lu bireylerde sık görülen sağlık sorunları da tedavi edilebilir. Örneğin, kalp problemleri veya sindirim sorunları gibi tıbbi problemler, ilaçlar veya cerrahi müdahalelerle tedavi edilebilir. DS'lu bireylerin sağlığına dikkat etmek ve uygun bakım sağlamak da çok önemlidir. Sağlıklı bir yaşam tarzı, yeterli beslenme ve egzersiz, hastalıklardan korunma, düzenli tıbbi kontroller ve psikolojik destek, DS'lu bireylerin yaşamlarını daha kaliteli hale getirebilir. Sonuç olarak, DS için spesifik bir tedavi olmasa da, bireylerin yaşam kalitesini artırmak için farklı tedavi seçenekleri vardır. Her bireyin ihtiyaçlarına özel olarak planlanan tedavi yöntemleri, onların en iyi şekilde gelişmelerine ve yaşamlarını daha mutlu hale getirmelerine yardımcı olabilir.

DS'lu bireylerin nörolojik anormallikleri, semptomlarına, yaşlarına ve belirtilerine bağlı olarak tedavi edilebilir. Bireylerin öğrenme, dil ve davranış gibi alanlardaki potansiyellerini en üst düzeye çıkarmak için erken müdahale çok önemlidir. Tedavi seçenekleri arasında ilaçlar, psikoterapi, terapötik müdahaleler ve diğer nörolojik tedaviler yer alabilir. Enfeksiyonlara karşı dirençlerini artırmak için aşılar ve profilaksi

önlemleri alınabilir. DS'lu bireylerin bağışıklık sistemlerinin sağlığını korumak için vitamin ve mineral takviyeleri, egzersiz ve diğer yaşam tarzı faktörleri önemlidir.

DS'lu bireylerde lösemi riski yüksek olmasına rağmen solid tümör geliştirme riski normal bireylere göre daha düşüktür. Lösemi riski, erken çocukluk döneminde (1-4 yaş) en yüksektir. DS-ALL tedavisi 2,5-3 yıl sürer ve uzun süreli bağışıklık yetersizliği, sosyal etkileşim fırsatlarının kaçırılmasına, erken müdahaleye ve gelişimsel kazanımları destekleyen eğitim hizmetlerine ihtiyaç duyulabilir. DS'lu bireylerde kanser gelişimi, kanserin türüne ve evresine göre değişen tedavi seçenekleri kullanılarak tedavi edilir. Kemoterapi, radyasyon tedavisi ve cerrahi müdahaleler kanserli hücreleri yok etmek için kullanılabilir. DS'lu bireylerin kanser riski düşük olsa da düzenli sağlık taramaları yaptırmaları önemlidir. Bu, kanserin erken evrelerinde tespit edilmesine ve tedavi edilmesine yardımcı olabilir.

2.10. Mikro-RNA

MikroRNA (miRNA), gen ifadesini düzenleyen, kodlamayan küçük RNA moleküleridir. İlk miRNA, 1993 yılında iki araştırma grubu tarafından keşfedildi. Bu miRNA, Caenorhabditis elegans nematodu üzerinde yapılan çalışmalarda lin-4 olarak adlandırıldı ve lin-14'ün mRNA'nın çevrilmemiş bölgesiyle etkileşime girerek gen ifadesini düzenlediği gözlendi. Bu keşiften sonra, insan genomunda birçok miRNA tanımlandı ve şu ana kadar 28,645 miRNA mir-Base veri tabanına kaydedildi (https://mirbase.org/).

MiRNA'lar genellikle 18 ila 24 nükleotit uzunluğunda olup saç tokası şeklindeki transkriptlerden türetilirler. Bu miRNA'lar, hücrelerdeki gen ifadesini düzenlemek için hedefledikleri mRNA'larla etkileşime girerler. miRNA'lar, mRNA'nın çeviri sürecini inhibe ederek veya mRNA'nın yıkımını tetikleyerek gen ifadesini etkileyebilirler.

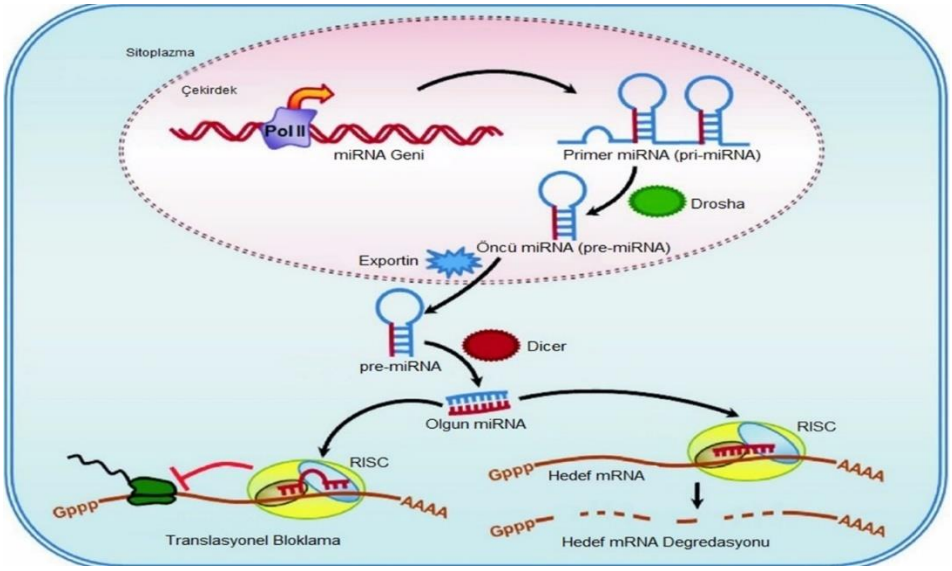
2.10.1. Mikro-RNA Biyogenezi

MikroRNA (miRNA) biyogenezi, birden çok adımı ve birkaç enzimi içeren karmaşık bir süreçtir. İşte miRNA biyogenezi aşamaları:

- Transkripsiyon: miRNA genleri, RNA polimeraz II veya III tarafından transkribe edilerek uzun bir birincil transkript olan pri-miRNA'yı oluşturur.

- Pri-miRNA işlenmesi: Pri-miRNA, Drosha enzimi ve onun kofaktörü DGCR8 tarafından tanınarak öncü miRNA (pre-miRNA) yapısını oluşturmak üzere kesilir. Pre-miRNA, saç tokası şeklinde bir yapı oluşturur ve içerisinde kök halka yapısı bulunur.
- Sitoplazmaya ihracat: Pre-miRNA, exportin-5 proteini tarafından çekirdekten sitoplazmaya taşınır.
- Pre-miRNA işlenmesi: Sitoplazmada, Dicer enzimi tarafından pre-miRNA molekülü yaklaşık 22 nükleotit uzunluğunda çift sarmallı bir RNA molekülü olan olgun miRNA'ya bölünür.
- Olgun miRNA yüklenmesi: Olgun miRNA, bir Argonaute proteinini içeren RNA kaynaklı susturma kompleksi (RISC) olarak adlandırılan bir komplekse yüklenir.
- Hedef tanıma: RISC kompleksi, hedef haberci RNA (mRNA) moleküllerindeki tamamlayıcı dizilere bağlanır. Bu etkileşim, mRNA'nın çeviri sürecini inhibe edebilir veya mRNA'nın bozulmasına neden olabilir.

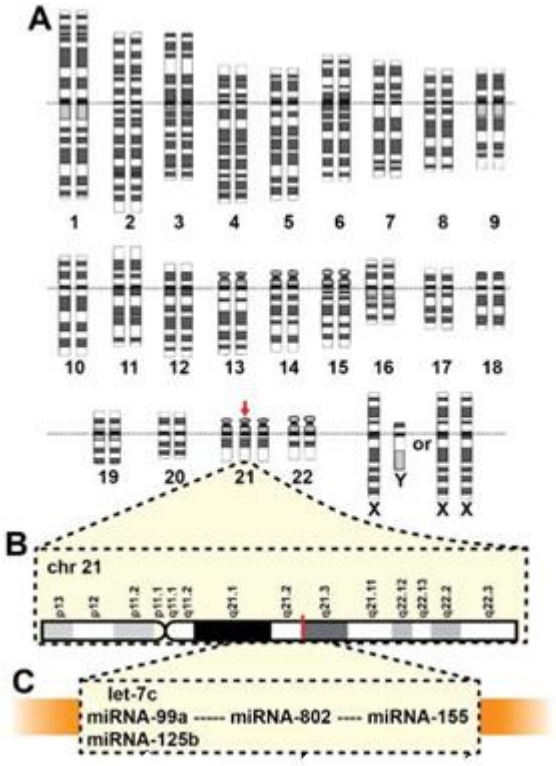
Tüm pre-miRNA'lar olgun miRNA'lara işlenmez. Bazı pre-miRNA'lar, Dicer dışındaki enzimler tarafından tanınabilir ve parçalanabilir. Bu durumda, farklı biyolojik işlevlere sahip diğer küçük RNA türleri oluşabilir. miRNA'ların ekspresyonu ve işlenmesi, diğer miRNA'lar, RNA bağlayıcı proteinler ve sinyal yolları gibi çeşitli faktörler tarafından düzenlenebilir. Bu düzenlemeler, miRNA'ların belirli hücresel süreçlerde ve patolojik durumlarda etkili olmasını sağlar. (Şekil 2.12).



Şekil 2.12. miRNA Biyogenezi

2.11. 21. Kromozom Üzerindeki miRNAlar

21. kromozomda nispeten az sayıda protein kodlayan genlerin birçok hastalığı etkilemesi sorusu üzerine, bunun kısmen chr21 kodlu beş mikroRNA (miRNA) ile açıklanabileceği düşünülmektedir. Bu chr21 kodlu miRNA'lar, let-7c, miRNA-99a, miRNA-125b, miRNA-155 ve miRNA-802'yi içerir. Bu miRNA'lar, insan 21. kromozomunun uzun kolu üzerinde kümelenmiştir ve chr21q21.1-chr21q21.3 bölgesini kapsar (Şekil 2.13).



Şekil 2.13. let-7c, miRNA-99a, miRNA-125b, miRNA-155 ve miRNA-802 mikro RNA'ların 21. Kromozom üzerinde konumlanması (Zhao vd., 2017)

Son araştırmalar, Down Sendromu (DS) hastalarında ekstra chr21 kopyası nedeniyle bu beş miRNA'nın ekstra bir dozaja sahip olduğunu göstermektedir (Mollo vd., 2023). Ayrıca, Hsa21'e haritalanan birçok mikroRNA DS'de aşırı ifade edilmektedir. MiR-99a, let-7c, miR-125b-2, miR-155 ve miR-802'nin Trizomi 21'li bireylerde kalp ve beyinde kolayca tespit edildiği bildirilmektedir. (Mollo vd., 2023; Zhao vd., 2017). Ayrıca miR-99a'nın kalpte, böbrekte, karaciğerde, beyinde ve akciğerde ifade edildiği gösterilmiştir. MiR-99a'nın ekspresyonu, organ gelişimi, doku homeostazı, bağışıklık yanıtı ve patolojik durumlar gibi çeşitli biyolojik süreçlerde rol oynayabilir (Mollo vd.,

2023). MiR-99a'nın hedefleri arasında onkogenler ve tümör baskılayıcılar olarak bilinen genler de vardır (Eniafe & Jiang, 2021).

Let-7c'nin fazla ekspresyonu, mezoderm spesifikasyonunda (T/Bra ve Nodal) ve kardiyak farklılaşmada (Mesp1, Nkx2.5 ve Tbx5) rol alan genlerin ekspresyonunu artırarak kardiyomyojenezini destekler ve aynı zamanda doğrudan hedefi olan EZH2'yi baskılamaktadır (Mollo vd., 2023). Hsa21 miR-155-5p'nin trizomik kalplerde down regüle olduğu bulunan bir gen olan mitokondriyal transkripsiyon faktörü A (TFAM) ile etkileşime girerek mitokondriyal biyogenez üzerinde etkisi olduğu bildirilmiştir (Mollo vd., 2023).

2.12. Kardiak İlişkili mikro-RNA'lar

miR-155, 21. kromozom üzerinde yer alan B-hücre Entegrasyon Kümesi'nden (BIC) transkript olan bir non-kodlayan RNA olarak ifade edilir ve evrimsel olarak korunan bir işlevi ima eder. miR-155'in hematopoezi, inflamasyonu ve bağışıklığı da içeren birçok biyolojik süreçte rol oynadığı gösterilmektedir. Ayrıca, önemli bir molekül olan tip 1 Angiotensin II reseptörü (AT1R) ile ilişkilendirilmiştir; bu molekül renal fonksiyon ve vasküler düz kas kontraksiyonuna katılır. MiR-155'in düzensizliği, çeşitli kanser türleri, kardiyovasküler hastalıklar ve viral enfeksiyonlarla ilişkilendirilmiştir. MiR-155'in işlevsel aktivitesi üzerine yapılan araştırmaların birkaç yıl önce başlaması nedeniyle, yakın gelecekte birçok başka işlevin ortaya çıkması muhtemeldir (Faraoni vd., 2009).

Let-7c, ilk keşfedilen iki mikroRNA (miRNA) olan lin-4 ve let-7, nematod Caenorhabditis elegans'ta bulunmuş ve kök hücre bölünmesi ve farklılaşmasında zamanlamayı kontrol ettiği belirlenmiştir (Roush & Slack, 2008). 21. Kromozom üzerinde yer alan C21orf34 geninin intron 6'sında bulunan bir küme içinde düzenlenmiştir ve 21q21.1'e yerleştirilmiştir (Ozsolak vd., 2008). let-7 miRNA ailesi embriyonik gelişimde aktif olarak yer alır ve let-7c, farelerde tüm vücutta yaygın olarak bulunur. let-7c, hücre büyümesi ve farklılaşması için önemlidir ve sekans ve işlev açısından yüksek düzeyde korunmuştur. İnsan kardiyak olgunlaşma sürecinde in vitro olarak let-7c yüksek seviyede ifade edilir. let-7 miRNA ailesinin aşırı ifadesi, insan embriyonik kök hücrelerinden elde edilen kardiyomiyositlerin olgunlaşmasını, hücre boyutunu, sarkomer uzunluğunu ve kasılma yeteneğini artırır. let-7 miRNA'ları, fare ve insan kalp hastalığı

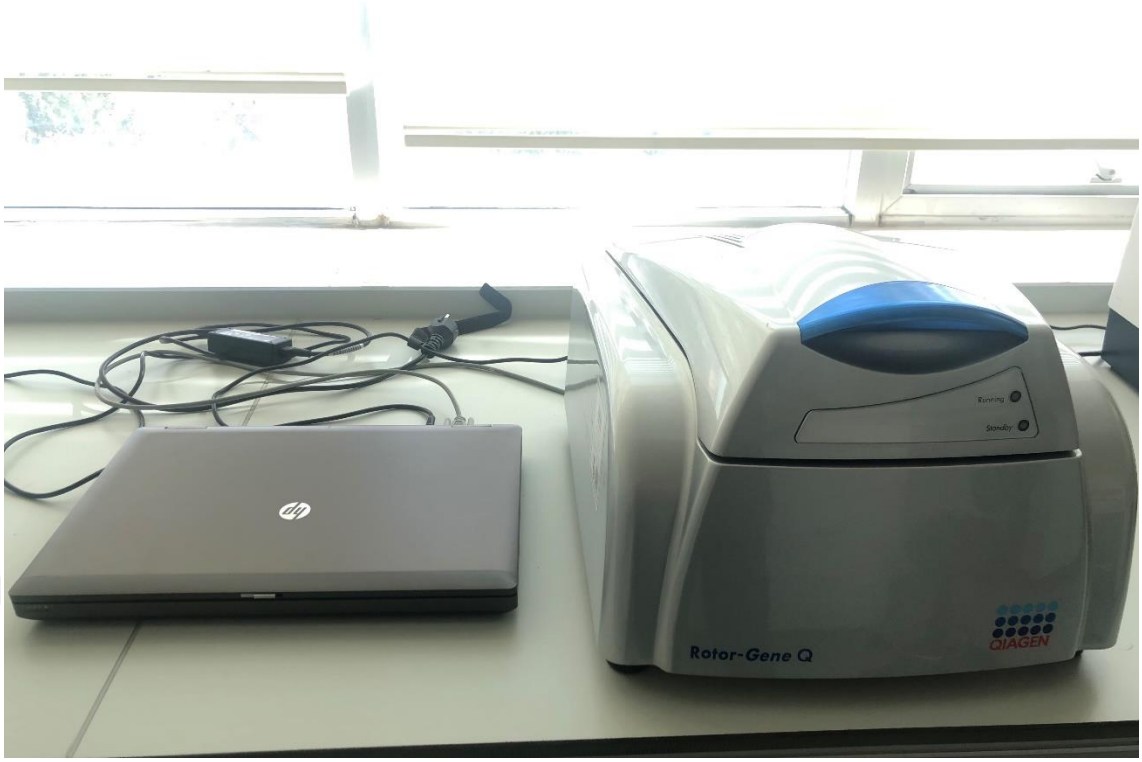
örneklerinde yüksek düzeyde ifade edilir. let-7c'nin inhibisyonu, farelerde infarktüs sonrası kardiyak remodellemeyi sağlamakta ve fonksiyonu iyileştirmektedir. Başka bir fare çalışmasında ise let-7c inhibisyonunu takiben epikard hücrelerinin artan mobilizasyonu gözlemlenmiştir (Narumanchi vd., 2019). Ayrıca let-7'nin akciğer dokusunda yüksek düzeyde ifade edildiği, akciğer hücrelerinde hücre çoğalmasını baskıladığı ve karaciğer kanseri hücre hattında hücre döngüsü ilerlemesini etkilediği gözlenmiştir (Johnson vd., 2007).

MiR-433, kromozom 12'de bulunan ve özellikle renal fibrozis ve karaciğer fibrozisi ile ilişkilendirilen bir mikro RNA molekülüdür. Bununla birlikte, miR-433'ün kalpteki rolü, özellikle kalp fibrozisi üzerindeki etkisi hakkında net bir bilgi yoktur. Yapılan çalışmalar, miR-433'ün kalp fibroblastlarının büyümesini artırarak ve miyofibroblastlara dönüşmesini teşvik ederek kalp fibrozisini etkileyebileceğini göstermektedir. Ayrıca, miR-433'ün kalp fibroblastlarında büyüme faktörü-β (TGF-β) veya Anjiyotensin II (Ang II) uyarımının neden olduğu dönüşüm tepkilerini baskılayabileceği bulunmuştur. Ayrıca, miR-433'ün iki hedef geni olan AZIN1 ve JNK1 tanımlanmıştır.

miR-433'ün yumurtalık kanseri hücrelerinde kemoterapiye karşı direncin oluşmasına neden olabileceği belirtilmektedir. miR-433'ün aşırı ifadesinin, A2780 hücrelerinde hücresel yaşlanmayı indüklediği gösterilmiştir (Weiner-Gorzel vd., 2015).

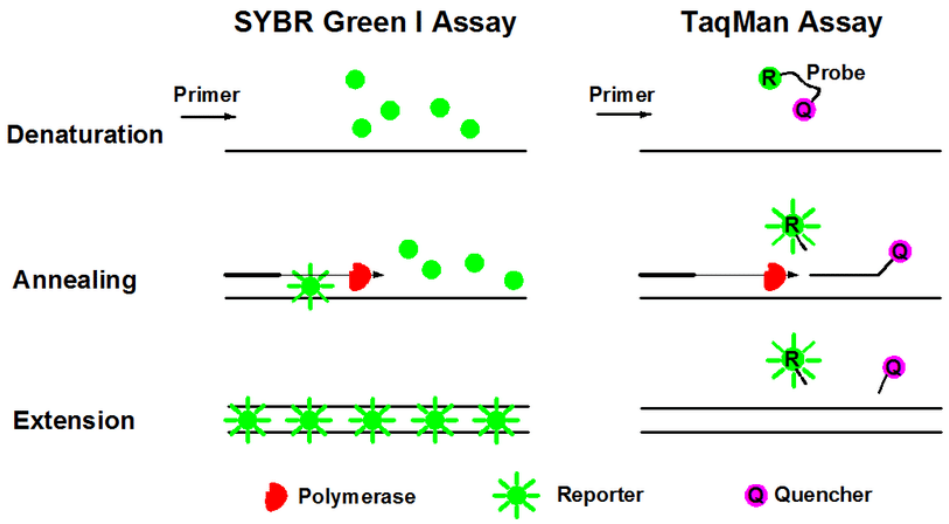
2.13. Real-Time PCR

Real-Time PCR (Q-PCR), deneysel biyoloji ve klinik araştırmaların daha ileri analitik analizlere gereksinim duyulması sonucu geliştirilmiş bir PCR teknolojisidir ve gen kopya ürünlerinin düzeylerini sayısal değerlere dönüştürme imkânı sağlar. Bu yöntemde PCR işlemi gerçek zamanlı olarak izlenebilir, reaksiyon devam ederken işlem yapılabilir ve döngü sayıları veya sıcaklık değiştirilebilir (Şekil 2.14). Bu nedenle, geleneksel PCR yöntemlerine kıyasla daha tercih edilir hale gelmiştir. Real-time PCR, amplifikasyon ve tayin işlemlerinin aynı reaksiyon tüpünde gerçekleştiği ve aynı anda yapıldığı homojen bir yöntemdir.



Şekil 2.14. Real Time PCR cihazının görünümü

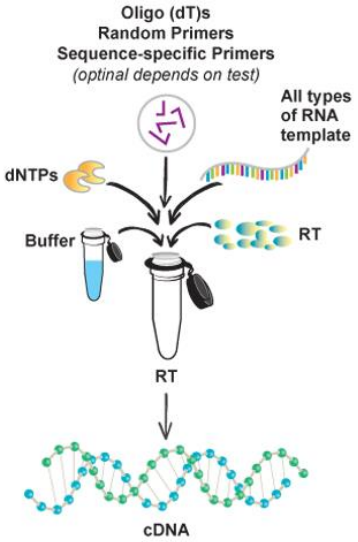
Real-Time PCR da amplifikasyon ürünleri ile orantılı olarak artış gösteren floresan sinyallerin belirlenmesi, reaksiyon karışımına ilave edilen floresan özellikli ajanların kullanılması ile gerçekleşir. Real Time PCR'da belirleme yöntemi, DNA boyaları veya diziye özgül prob kullanılarak PCR'nin her döngüsünde floresans değişimi izlenir. Real-time PCR'de kullanılan ilk boya etidyum bromürdür, ancak günümüzde sıklıkla SYBR Green I kullanılmaktadır. Her ikisi de çift sarmallı DNA'nın arasına girerek DNA'ya bağlanabilen floresan boyalardır. Ancak SYBR Green I, etidyum bromürden daha iyi çift sarmalı tek zincirden ayırt edebilir. Diğer yöntemde ise PCR ürününe özgü florofor-işaretli oligonükleotit olan problar kullanılır. Bu problardan en yaygın olanı TaqMan probudur ve gerçek zamanlı PCR işleminde hedeflenen DNA veya RNA bölgesine spesifik olarak bağlanır. Probun bağlandığı bölgede amplifikasyon gerçekleştiğinde, floresan etiket olan flurophore'un yaydığı floresan sinyali tespit edilir ve bu sayede DNA veya RNA hedefinin varlığı ve miktarı nicel olarak analiz edilebilir. TaqMan probu, 5' uçunda Flurophore (F), 3' ucunda Quencher (Q) moleküllerinden oluşmaktadır (O'Connor & Glynn, 2010) (Şekil 2.15).



Şekil 2.15. Real-Time PCR'da SYBR Green 1 ve Taqman probun çalışma mekanizması

3.7.1. Revers Transkriptaz (cDNA)

Tek zincirli RNA örneğinin komplementerini oluşturmak için Revers Transkriptaz enzimi (RT) kullanılarak yapılan PCR temelli bir yöntemdir (Şekil 2.16). Burada sadece ekzonik bölgeler yer alır, intronik bölgeler yer almamaktadır. cDNA transkribe olan mRNA'yı taşıması nedeniyle sadece ekzonik bölgeleri içerir (O'Connor & Glynn, 2010).



Şekil 2.16. Revers Transkriptaz (RT) ile cDNA sentezi

BÖLÜM 3

MATERYAL VE YÖNTEM

Çizelge 3.3. Çalışmada kullanılan malzeme ve cihaz listesi

Kullanılan Malzemeler	**Kullanılan Cihazlar**
miRNeasy Serum/ Plasma izolasyon kiti- (Qiagen-Almanya) miRCURY LNA cDNA Reverse Traskripsiyon Kit (Qiagen-Almanya) 2x miRCURY SYBR Green Master Mix (Qiagen-Almanya) miRCURY LNA miRNA PCR Assay (Qiagen-Almanya)	Safe Mate 1.2 Laminar Flow kabin (Bioair, İtalya) PCR Cihazı (Sensquest Thermal Cycler) (Labcycler, Hilden, Almanya) Gerçek zamanlı PCR cihazı (Qiagen, Rotor-Gene Q 5plex, Almanya) ThermoFisher Scientific NanoDrop (Thermo Fisher Scientific, Amerika Birleşik Devletleri) Dragon Lab Vortex (Thermo Fisher Scientific, Amerika Birleşik Devletleri) Hettich- Mikro20 Mikrosantrifüj Hermle, Wehingen, Almanya) -20°C derin dondurucu (Arçelik- Türkiye) +4°C buzdolabı (Arçelik- Türkiye) Daihan Scientific -80°C derin dondurucu (Daihan Scientific, Kore)

3.1. Materyal

Çalışma Grupları

Bu çalışmada, Trakya Üniversitesi Hastanesi Tıbbi Genetik Tanı Merkezi'ne başvuran üç farklı grup incelenmiştir (Çizelge 3.4):

A Grubu: Down sendromlu bireyler ve konjenital kalp hastalığı olanlar.

B Grubu: Down sendromlu bireyler, ancak konjenital kalp hastalığı olmayanlar.

C Grubu: Sağlıklı kontrol grubu.

Çalışmada, Down sendromu ve konjenital kalp hastalığı ile ilişkilendirilen miRNA'lar incelenmiştir. Toplanan örnekler üzerinde Real-Time PCR ile miRNA ekspresyon analizi yapılacaktır. Ayrıca, çalışmada yer alan bireylerin annelerinin yaş bilgileri de toplanmıştır (Çizelge 3.5).

Çizelge 3.4. Çalışmaya dahil edilen gruplar

Gruplar	**Dahil edilen olgular**
A grubu (12 olgu)	H1, H2, H3, H4, H5, H6, H7, H8, H9, H10, H11, H12
B grubu (15 olgu)	H13, H14, H15, H16, H17, H18, H19, H20, H21, H22, H23, H24, H25, H26, H27
C grubu (17 olgu)	K28, K29, K30, K31, K32, K33, K34, K35, K36, K37, K38, K39, K40, K41, K42, K43, K44

Çizelge 3.5. A ve B gruplarına dahil edilen bireylerin demografik özellikleri ve KKH bilgileri

	Cinsiyet	**Yaş**	**Anne Yaşı**	**Konjenital Kalp Hastalığı**
H1	E	17	33	ASD
H2	K	5	43	Arkus hipoplazisi, sol superior vena kava
H3	E	3	34	PDA, Aort yetersizliği
H4	E	3	25	VSD, ASD
H5	E	2	24	ASD, VSD,

H6	E	6	36	VSD, PDA
H7	K	7	40	OFT, Pulmoner yetersizlik, Pulmoner Stenoz, Aort yetersizliği
H8	E	6	36	Fallot tetralojisi, Parsiyel Pulmoner Venöz Dönüş
H9	K	5	27	ASD, PDA, Mitral yetersizlik
H10	K	6	45	ASD
H11	E	1	29	VSD, ASD, Mitral kapak prolapsusu, mitral yetersizlik, triküspid kapak prolapsusu
H12	K	2	30	ASD, LPA, Pulmoner hipertansiyon
H13	E	1	35	-
H14	K	4	26	-
H15	K	5	34	-
H16	K	1	35	-
H17	K	6	40	-
H18	K	1	26	-
H19	E	3	36	-
H20	K	2	25	-
H21	K	1	40	-
H22	K	3	34	-
H23	K	3	43	-
H24	K	3	35	-
H25	E	1	25	-
H26	E	2	29	-
H27	K	2	31	-

Kan örneklerinin toplanması ve işlenmesi

Çalışılacak olguların her birinden EDTA'lı mor tüpe kan örneği alındı ve 10 dakika 1900 x g (3000 rpm)'de santrifüj edildi. Sandrifüjden sonra tüp içerisinde 2 ayrı faz ayrımı gözlendi. Üst (sarı) plazma fazı, ara buffy coat tabakası (beyaz kan hücreleri ve trombositler içeren) bozmadan 2 ml yeni bir tüpe (konik tabanlı) aktarıldı. Normal

koşullarda 10 ml periferik kan örneğinden 4-5 ml'lik plazma örneği elde edildi. Çalışma grupları tamamlanıncaya kadar plazma örnekleri -80 ^{0}C'de saklandı.

3.2. Yöntem

Çalışmanın prensibi

Çalışmada kullanılacak olan plazma örnekleri (QIAGEN® miRNeasy Serum/Plasma Advanced Kit (cat. no. 217204)) miRNeasy Serum/Plasma izolasyon kiti kullanılarak RNA örnekleri elde edildi. miRCURY LNA RT Kit ile elde ettiğimiz RNA örnekleri cDNA dönüştürüldü. miRCURY LNA SYBR® Green PCR Kit (cat. no:, 339346) ile elde ettiğimiz miRNA örneklerimizin ekspresyonları için Real Time PCR çalıştırıldı. PCR sonunda analizi gerçekleştirmek için ikili tekrar şeklinde çalışılacak örnekler ortalama Ct değerleri boş bir Excel tablosuna aktarıldı. Tabloda ortalama Ct ΔCt değerlerinin hesaplaması yapıldı. ΔCt değerleri saptandıktan sonra ΔΔCt değerleri hesaplandı. Her bir örnek için 2^(-ΔΔCt) değerleri hesaplanarak istatistik açıdan değerlendirildi.

RNA İzolasyonu

1. Dondurulmuş plazma örnekleri +4 ^{0}C soğuk blok üzerinde çözdürüldü. Eriyen örnekler 3000 x g de 2 dk santrifüjlendi.

2. 200 µl plazma örnekleri 2 ml'lik bir tüpe aktarıldı.

3. Üzerine 60 µl Tampon RPL eklenir. Tüp kapakları kapatıldı ve >5 s boyunca vortekslendi. Oda sıcaklığında 3 dakika inkübe edildi.

4. Üzerine 20 µl tampon RPP eklendi. Tüp kapakları kapatıldı ve >20 s boyunca şiddetli şekilde karıştırıldı. Oda sıcaklığında 3 dakika inkübe edildi.

5. Pelleti çöktürmek için oda sıcaklığında 12000 x g'de 3 dakika boyunca santrifüjlendi.

Not: Süpernatant açık ve renksiz olmalıdır.

6: Süpernatantdan ~ 230 µl yeni 2 ml bir tüpe aktarıldı. Üzerine ~230 µl izopropanol (örnek hacmi kadar) eklendi. Vorteksleyerek karıştırıldı. Tüp içerisindeki örneğin tamamı RNeasy UCP MinElute kolonuna aktarıldı. Kapağı kapatıp ≥8000 x g'de 15 saniye boyunca santrifüjlendi ve kolonaltı değiştirildi.

7: RNeasy UCP MinElute kolonuna 700 µl tampon RWT eklendi. Kapağı kapatıp ≥8000 x g'de 15 saniye boyunca santrifüjlendi ve kolonaltı değiştirildi.

8: RNeasy UCP MinElute kolonuna 500 µl tampon RPE eklendi. Kapağı kapatıp ≥8000 x g'de 15 saniye boyunca santrifüjlendi ve kolonaltı değiştirildi.

9: RNeasy UCP MinElute kolonuna %80'lik etanolden 500 µl eklendi. Kapağı kapatıp ≥8000 x g'de 2 dakika santrifüjlendi ve kolonaltı değiştirildi.

10: RNeasy UCP MinElute kolonunu üzerine bir şey eklemeden boş olarak en yüksek hızda 5 dakika santrifüjlendi ve kolonaltı atıldı.

11: RNeasy UCP MinElute dönme kolonunu yeni bir 1,5 ml toplama tüpüne yerleştirildi. Spin kolonunun merkezine 10 µl RNaz-olmayan su doğrudan eklendi ve 3 dakika inkübe edildi. Kapağı kapatıp ve RNA'yı elde etmek için en yüksek hızda 4 dakika santrifüjlendi. Daha sonra tekrardan kolon altı değiştirilmeden kolonun ortasına 10 µl RNaz-olmayan su doğrudan eklendi ve direk santrifüje yerleştirilip en yüksek hızda 4 dakika santrifüj edildi.

Genomik RNA'ların kalitelerini nanodrop (Thermo Fisher Scientific ABD) yardımıyla ölçüldü. Nanodrop da RNA-az içermeyen 2 ul su kullanılarak blank yapıldı. Daha sonra izole edilen RNA örnekleri 2'şer ul nanodrop da ölçümleri yapılıp kaliteleri değerlendirildi.

miRNA'nın cDNA'ya Çevrilmesi

1: İzole edilen RNA ve 5× miRCURY RT Reaksiyon tamponu buz üzerinde çözdürüldü. RNaz içermeyen suyu oda sıcaklığında (15–25°C) çözdürüldü. Kullanmadan hemen önce, 10x miRCURY RT Enzimi dondurucudan çıkarıldı. Tüplere hafifçe vurarak her bir solüsyonu karışması sağlandı. Kısa bir santrifüj sonrası soğuk blok üzerine alındı.

2: UniSp6 RNA spike-in'i sulandırmak için tüpe 80 µl nükleaz içermeyen su eklendi. Vorteksleyerek karıştırıldı ve spin atıldı. RNA spike-in'i tamamen çözmek için buz üzerinde 20-30 dakika bekletildi. Tekrardan vorteksleyerek karıştırıldı ve spin atıldı. Kullanımdan sonra –30 ila –15°C'de saklandı.

3: Çizelge 3.6'ya göre buz üzerinde RT reaksiyon master karışımı hazırlandı. Vortekslendi ve ardından buz üzerinde 0,2'lik tüplere dağıtıltı. Ardından her RNA örneği kendi tüplerine eklendi. Vortekslendi ve spin atıldı sonra buz üzerinde bekletildi.

Çizelge 3.6. RT reaksiyon miktarları

Malzemeler	**Miktar**
5x miRCURY RTT Reaksiyon Tamponu	2 µl
RNase-free su	4,5 µl
10x miRCURY RT Enzim Karışımı	1 µl
Sentetik RNA spikeinleri (isteğe bağlı)	0,5 µl
RNA örneği	2 µl
Toplam Reaksiyon Miktarı	10 µl

4: Çizelge 3.7'deki protokol programına göre 42ºC'de 60 dakika boyunca inkübe edildi.

5: Ters transkriptaz enzimini inaktive etmek için 95°C'de 5 dakika inkübe edildi.

6: Sonra 4ºC'ye soğutuldu.

Çizelge 3.7. RT PCR protokolü

Uygulanacak Adımlar	**Zaman**	**Sıcaklık**
Ters transkripsiyon adımı	60 dakika	42 ℃
Reaksiyon inaktivasyonu	5 dakika	95 ℃
Saklama	∞	

7: Ters transkripsiyon PCR sonunda cDNA örnekleri soğuk blok üzerine alındı ve hemen Gerçek Zamanlı PCR (Real-Time) aşamasına geçildi. Eğer çalışmaya daha sonra devam edilecekse cDNA örnekleri -30 ila -15 °C arasında saklandı.

Real-Time PCR

1: 10 µl Real-Time reaksiyonundan hemen önce, 590 µl nükleaz içermeyen su ekleyerek cDNA'yı 1:60 oranında seyreltildi.

2: Çizelge 3.8'e göre bir reaksiyon karışımı hazırlandı. PCR reaksiyonlarının sıcaklık başlangıcı nedeniyle, örnekleri reaksiyon kurulumu sırasında veya rotor tüplerini programlarken soğuk blok üzerinde tutmak gerekli değildir.

Çizelge 3.8. Real Time PCR reaksiyonu için gerekli malzemeler ve miktarları

Malzemeler	**Miktar**
2x miRCURY SYBR® Green Master Mix	5 µl

PCR primer mix	1 µl
cDNA örneği	3 µl
RNase-free water	1 µl
Total reaksiyon hacmi	10 µl

3: Reaksiyonlar iyice karıştırıldı ve 10 µl'lik PCR tüplerine Rotor-Disc 72'ye 10' µl olacak şekilde hazırlandı.

4: Tüpler oda sıcaklığında kısa süreli bir şekilde santrifüj edildi.

5: Real-Time PCR'ı Çizelge 3.9'a göre programlandı.

Çizelge 3.9. Real-Time PZR çalışma protokolü

Uygulanacak Adımlar	**Zaman**	**Sıcaklık**
PCR ilk ısı aktivasyonu	2 dakika	95 ℃
2 adımlı döngü		
Denatürasyon	10 saniye	95 ℃
Bağlanma	60 saniye	56 ℃
Döngü Sayısı	40*	
Erime eğrisi analizi		60-95 ℃

6: PCR tüpleri Real-Time PCR'a yerleştirildi ve döngü programı başlatıldı.

Elde edilen verilerden ilk önce ΔCt=miRNA Ct-House-keeping Ct değerleri hesaplandı. Daha sonra ΔΔCt ve en son 2^(-ΔΔCt) formülüyle değerler hesaplandı ve miRNA ifade düzeyleri belirlendi.

Ct (Cycle treshold) değeri, eş zamanlı PZR deneylerinde floresan sinyal miktarının, gözlenebilmesi için gereken minimum değerin (eşik değerini) geçtiği döngü sayısına verilen isimdir.

İkili tekrar şeklinde çalıştığımız miRNA'ların ortalama Ct değerleri hesaplandı. Çalıştığımız miRNA'ların Ct değerlerinden, House-keeping miRNA'nın Ct değeri çıkartılarak ΔCt değeri saptandı.

ΔCt = miRNA Ct-housekeeping miRNA Ct

ΔCt değerlerinden sonra çalıştığımız kontrollerin ΔCt ortalamaları hesaplandı. Çalıştığımız miRNA'ların ΔCt değerlerinden, kontrol gruplarımızın ortalama ΔCt değerleri çıkarılarak, ΔΔCt değeri saptandı.

ΔΔCt = Çalıştığımız miRNA'ların ΔCt değerleri – Kontrollerin ortalama ΔCt değerleri MiRNA ifade düzeyi çalışmalarında ΔΔCt değerleri hesaplandıktan sonra 2^(-ΔΔCt) değerleri hesaplandı ve sonuçlar istatistiksel olarak değerlendirildi.

İstatistiksel analizler, Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyoistatistik ve Tıbbi Bilişim Anabilim Dalı'nda, SPSS 20.0 (Lisans No: 10240642) paket programı kullanılarak gerçekleştirildi. Bu analizlerde $p<0.05$ değeri, istatistiksel anlamlılık sınırı olarak kabul edildi.

BÖLÜM 4

BULGULAR

Çalışmamızda Trakya Üniversitesi Hastanesi, Tıbbi Genetik Anabilim Dalı ve Çocuk Kardiyoloji Bilim Dalı'na başvuran Down Sendromlu ve konjenital kalp hastalığı ile gelen ve Down Sendromlu fakat konjenital kalp hastalığı olmayan olgular ile, sağlıklı kontrol grubunu karşılaştırarak Down Sendromlu bireylerin konjenital kalp hastalığı prognozunu etkileyebileceği düşünülen miR-155, let-7c ve miR-433 isimli mikro-RNA'ların ekspresyon düzeyleri ile ilişkisini araştırdık.

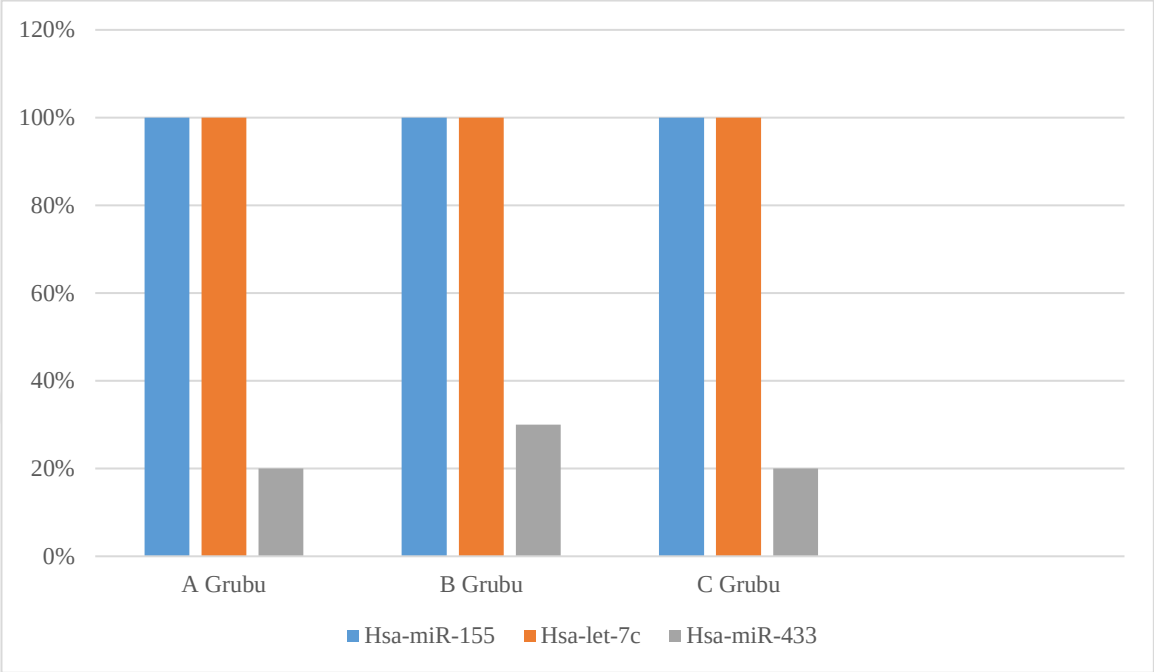
Çalışmaya karyotip analiz ve kardiyoloji sonuçları sonuçları değerlendirilerek 3 ayrı grup dahil edildi. A Grubu: Down Sendromlu ve konjenital kalp hastalığı olan 12 olgu, B Grubu: Down Sendromlu ve konjenital kalp hastalığı olmayan 15 olgu, C Grubu: Sağlıklı kontrol olarak 17 olgu dahil edildi (Çizelge 4.4).

Çalışmamızda 3 gruba ait tüm olgulara (A, B ve C) miRNA (miR-155, let-7c ve miR-433) ekspreyon analizi yapıldı (Çizelge 4.10).

Çizelge 4.10. Çalışmada mikro RNA'larda ekspresyon elde edilen olgular

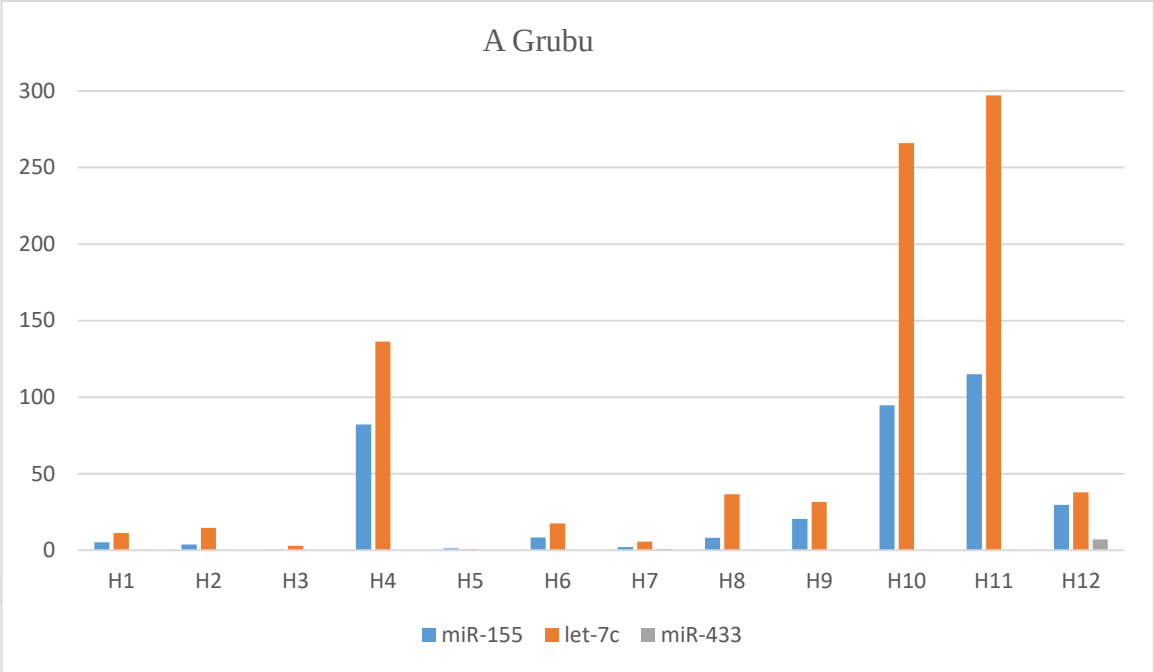
Mikro-RNA'lar	**Eksprese olan olgular**
Hsa-miR-155	H1, H2, H3, H4, H5, H6, H7, H8, H9, H10, H11, H12, H13, H14, H15, H16, H17, H18, H19, H20, H21, H22, H23, H24, H25, H26, H27, K28, K29, K30, K31, K32, K33, K34, K35, K36, K37, K38, K39, K40, K41, K42, K43, K44
Hsa-let-7c	H1, H2, H3, H4, H5, H6, H7, H8, H9, H10, H11, H12, H13, H14, H15, H16, H17, H18, H19, H20, H21, H22, H23, H24, H25, H26, H27, K28, K29, K30, K31, K32, K33, K34, K35, K36, K37, K38, K39, K40, K41, K42, K43, K44
Hsa-miR-433	H7, H12, H13, H14, H16, K30, K41

Çalışma gruplarında miR-155, let-7c ve miR-433 isimli mikro-RNA'ların ekspresyon düzeyleri belirlendi (Şekil 4.17).

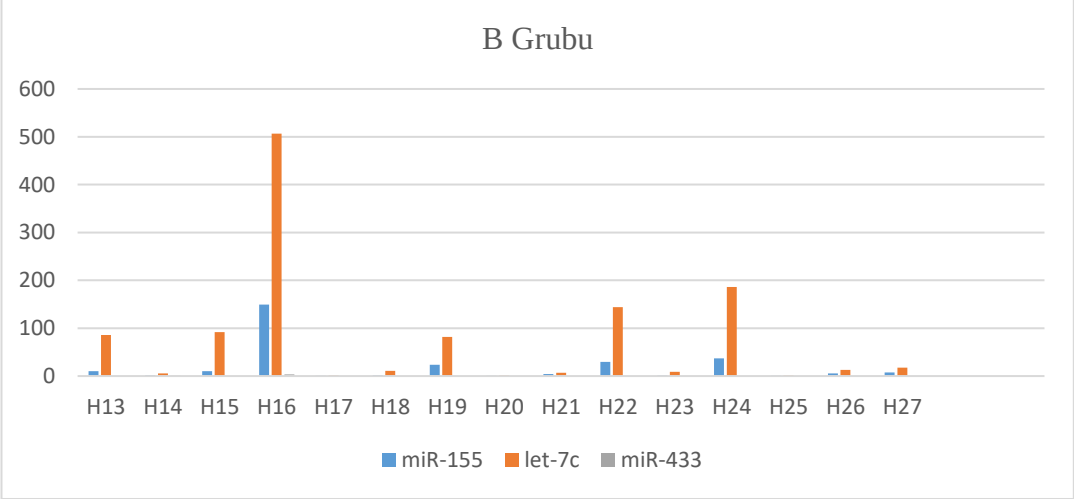


Şekil 4.17. Çalışmamızdaki grupların ekspresyon seviyeleri

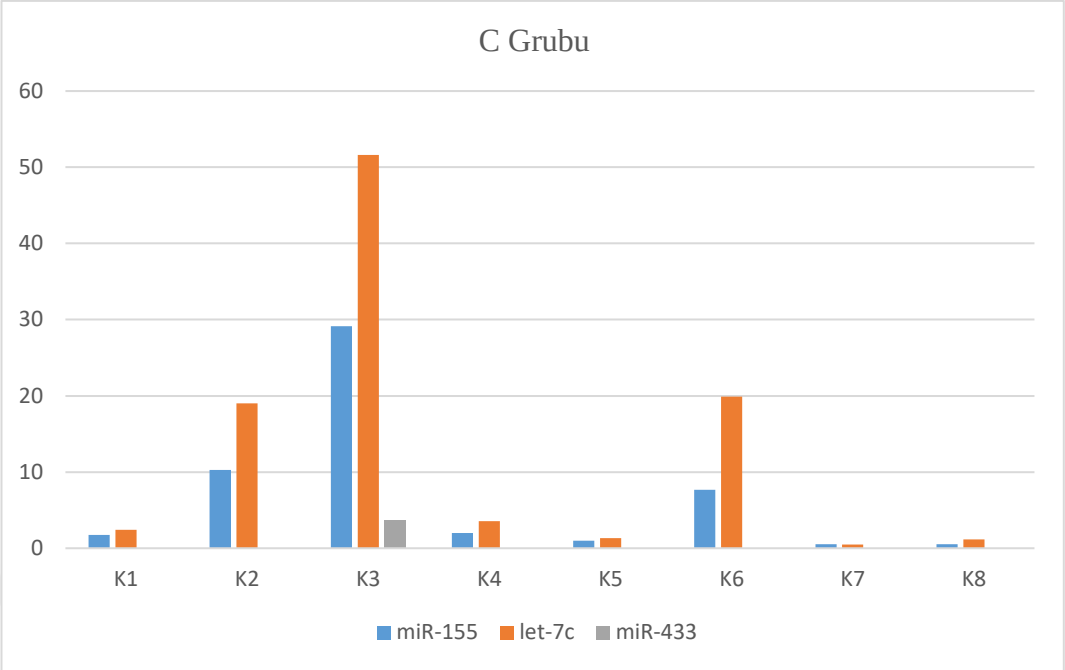
Çalışmaya katılan bireylerin miR-155, let-7c ve miR-433 mikro-RNA'larının ifade düzeyleri, gruplar arasında Real-Time PCR ile yapılan analizlerle değerlendirildi (Şekil 4.18, 4.19, 4.20).



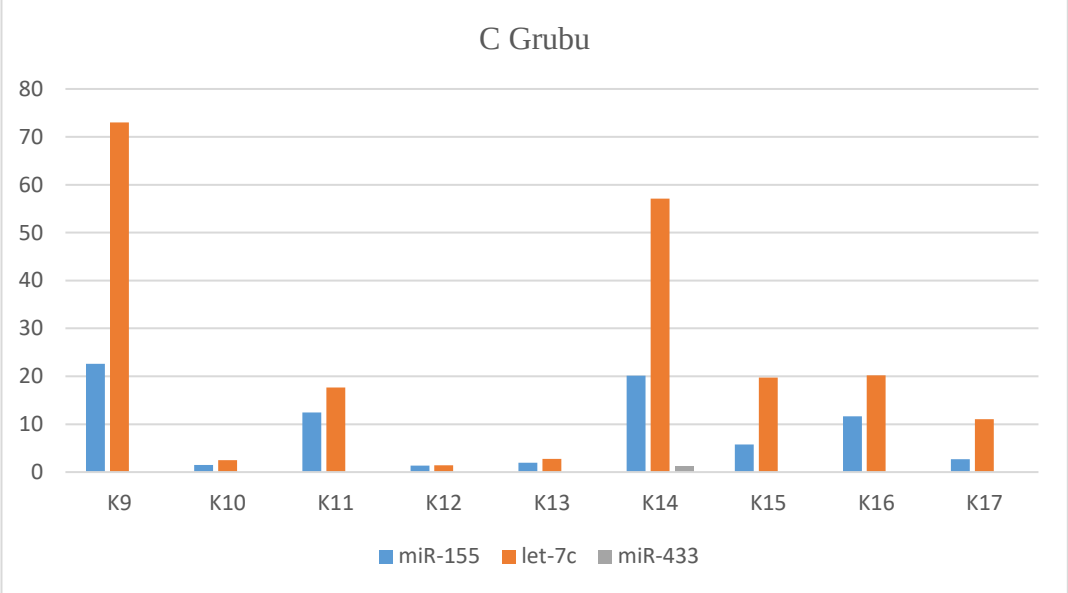
Şekil 4.18. A grubu olgularında mikro-RNA ifade düzeyleri



Şekil 4.19. B grubu olgularında mikro-RNA ifade düzeyleri



Şekil 4.20a. C grubu olgularında mikro-RNA ifade düzeyleri



Şekil 4.20b. C grubu olgularında mikro-RNA ifade düzeyleri

Çalışma gruplarının 2^(-ΔΔCt) değerleri

Çalışma gruplarında ilgili mikro-RNA'ların ifade düzeyleri her bir örneğin iki kez çalışılması ile belirlendi. Her çalışma sonunda elde edilen Ct değerleri baz alınarak her bir mikro-RNA'nın ifade düzeyleri 2^(-ΔΔCt) olarak hesaplandı (Çizelge 4.11)

Çizelge 4.11. Olguların mikro-RNA ifadelerinin 2^(-ΔΔCt) değerleri

	miR-155	let-7c	miR-433
H1	5,17	11,2	0
H2	3,68	14,57	0
H3	0,31	2,94	0
H4	82,14	136,24	0
H5	1,27	0,55	0
H6	8,4	17,45	0
H7	2,15	5,66	0,88
H8	8,03	36,63	0
H9	20,39	31,45	0
H10	94,68	265,95	0
H11	114,96	297,14	0
H12	29,65	37,79	7,0
H13	10,09	85,63	29024,83
H14	1,91	5,48	0,01
H15	10,56	91,77	0
H16	149,60	506,70	3,24
H17	0,40	1,23	0
H18	2,51	10,63	0
H19	23,67	82,14	0
H20	0,56	1,37	0
H21	4,03	6,96	0
H22	29,96	144,00	0
H23	1,38	9,09	0
H24	36,76	186,1	0
H25	1,17	1,54	0
H26	5,81	12,81	0
H27	7,86	17,69	0

Yirmi iki olguda (H1, H2, H3, H4, H5, H6, H8, H9, H10, H11, H15, H17, H18, H19, H20, H21, H22, H23, H24, H25, H26, H27) miR-433 mikro-RNA ifadesine ait Ct değeri hesaplanamadı. Bu durum miR-433 RNA molekülünün plazmada yeterli oranda ifade edilmediği şeklinde yorumlandı.

Kontrol grubunda her çalışma sonunda elde edilen Ct değerleri baz alınarak her bir miRNA'nın ifade düzeyleri, 2^(-ΔΔCt) olarak hesaplandı ve istatistiksel analizleri yapıldı (Çizelge 4.12).

Çizelge 4.12. Kontrol grubu için mikro-RNA ifadelerinin 2^(-ΔΔCt) değerleri

	miR-155	let-7c	miR-433
K1	1,73	2,41	0
K2	10,27	19,03	0
K3	29,14	51,62	3,72
K4	2,01	3,57	0
K5	0,98	1,32	0
K6	7,67	19,9	0
K7	0,53	0,47	0
K8	0,51	1,17	0
K9	22,63	73,01	0
K10	1,51	2,52	0
K11	12,47	17,69	0
K12	1,36	1,42	0
K13	1,97	2,73	0
K14	20,11	57,08	1,25
K15	5,75	19,77	0
K16	11,63	20,18	0
K17	2,66	11,08	0

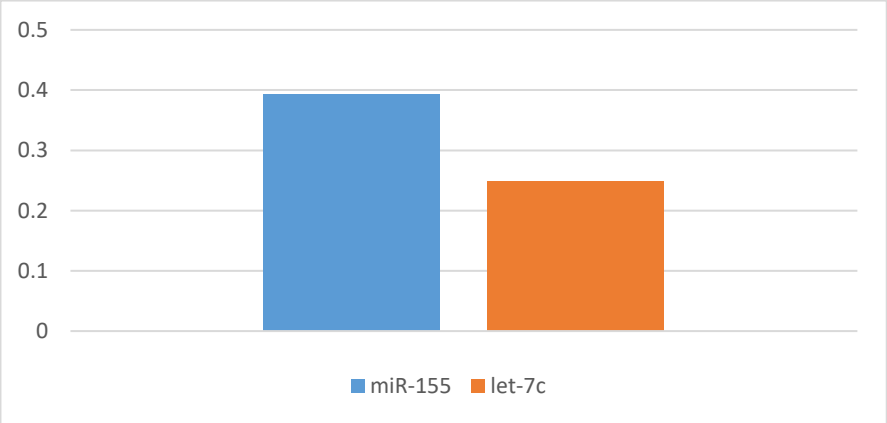
Kontrol grubunun on beş örneğinde (K1, K2, K3, K4, K5, K6, K7, K8, K9, K10, K11, K12, K13, K14, K15) miR-433 mikro-RNA ifadesine ait Ct değeri hesaplanamadı (Çizelge 12). Bu durum miR-433 RNA molekülünün plazmada yeterli oranda ifade edilmediği şeklinde yorumlandı.

Çalışmamızda sonuçlar ortalama±Std.Sapma olarak ifade edildi. Gruplar (A grubu ile B grubu ve A grubu ile C grubu) arasında ve mikro-RNA çeşitleri (miR-155, let-7c ve miR-433) arasında gen ifade düzeylerinin (miR-155, let-7c ve miR433) karşılaştırılmasında Kruskal Wallis testi kullanıldı.

İstatistiksel analizler T.Ü. Tıp Fakültesi Biyoistatistik ve Tıbbi Bilişim Anabilim Dalında SPSS 20.0 (Lisans No: 10240642) paket programı kullanılarak yapıldı. $p<0.05$ değeri istatistiksel anlamlılık sınır değeri olarak kabul edildi.

Independent-Samples Kruskal-Wallis test ile A grubu, B grubu ve C grubunun değerlendirilmesi

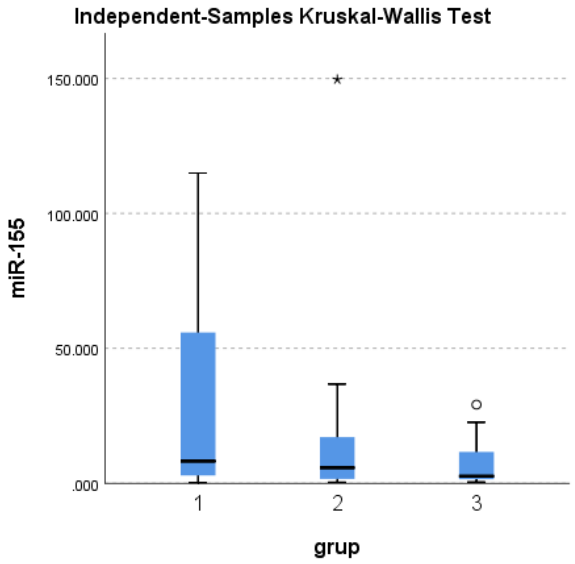
Kruskal Wallis testi kulanılarak yapılan değerlendirmede A, B ve C grupları ile miR-155, let-7c ve miR-433 ekspresyonları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır (Şekil 4.21).



Şekil 4.21. A grubuna ait miR-155 ve let-7c ekspresyonlarında Kruskal Wallis testi kullanılarak hesaplanan $p<0,05$'e göre değerleri

miR-155'in gruplar arasındaki değerlendirilmesi

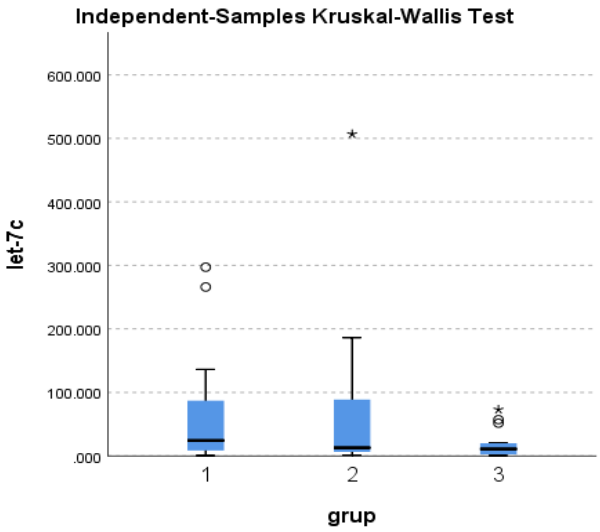
A grubu ile B ve C grupları arasında anlamlı bir fark saptanmamıştır (p: 0,392). MiR-155 mikro RNA'nın Kruskal Wallis testine göre gruplardaki ifade değerleri Şekil 4.22'de şematik olarak ele alınmıştır.



Şekil 4.22. miR-155 ekspresyonunun gruplar arası karşılaştırılması

let-7c'nin gruplar arasındaki değerlendirmesi

A grubu ile B ve C grupları arasında anlamlı bir fark saptanmamıştır (p: 0,248). Şekil 4.23'te let-7c'nin Kruskal Wallis testine göre gruplardaki ifade değerleri şematik olarak ele alınmıştır.



Şekil 4.23. let-7c ekspresyonunun gruplar arası karşılaştırılması

BÖLÜM 5

TARTIŞMA

Down Sendromu (DS), bireylerin fiziksel ve zihinsel gelişimini etkileyen, dünya genelinde birçok aileyi ve toplumu etkileyen bir durumdur. Normalde, her bireyin hücrelerinde iki adet 21. kromozom bulunurken, Down Sendromlu bireylerin hücrelerinde üç adet 21. kromozomu vardır. Bu durum, "trizomi 21" olarak adlandırılır. Genetik bir anormallik olan trizomi 21, 21. kromozom üzerinde bulunan genlerin ekstra bir kopyasına neden olur. Bu da gen dozaj dengesizliğine yol açarak çeşitli sağlık sorunlarının ortaya çıkma olasılığını artırır. Down Sendromu'na sahip bireylerde genellikle bilişsel gelişimde belirgin bir gerilik, tipik yüz özellikleri, kalp sorunları, bağışıklık sistemi sorunları gibi bir dizi belirti görülebilir.

DS'lu bireylerin tanınmasında çekik göz, basık burun yapısı, ensede kalınlık ve simian çizgisi temel belirleyici etmenlerdir. DS, mayoz bölünmedeki ayrışmama (%88), Robertsonian translokasyon (%4.5), mozaiklik (%2–3) ve duplikasyon gibi çeşitli nedenlerden kaynaklanmaktadır (Hassold ve Hunt 2001; Asim ve diğerleri 2015). DS, aynı zamanda Koroner Kalp Hastalığı (CHD), Alzheimer hastalığı (AD), kanser, konuşma, öğrenme ve bellek kusurları, Hirschsprung hastalığı (HD) ve lösemi gibi çeşitli diğer klinik durumlarla da ilişkilidir (Asim & Agarwal, 2021). DS'lu bireylerde görülen bu patolojik bulgular kliniğine farklı derecelerde yansımaktadır.

21. kromozom üzerinde bulunan ve DS'yla ilişkili hedef genler arasında *NOTCH1, HAND1* ve *NRIP1* özellikle kalp gelişiminde önemli etkileri vardır. DS'da fazladan bir 21. Kromozom bulunması sonucu CHD'nin prevalansı %40 ila %63.5 olarak tahmin edilmektedir. Alt tipler arasında AVSD (%45), ventriküler defektler (%35), izole atriyal septal defektler (%8), patent duktus arteriyozus (%7) ve Fallot tetralojisi (%4) sırasıyla yer alır (Asim, A., & Agarwal, S. (2021)). CHD, tüm DS vakalarının yarısından

fazlasını oluşturan karmaşık bir bozukluktur (Weijerman ve diğerleri 2008). DS'li bireylerdeki AVSD, doğası gereği çok çeşitli olup, tüm DS ile ilişkilendirilen alt tipler arasında en yaygın olanıdır. AVSD vakalarının yaklaşık %64'ü genetik sendromlarla bağlantılıdır, %36'sı ise sendromik olmayan vakalardır (Digilio ve diğerleri 1998).

Literatürde Down sendromlu bireylerin klinik durumları göz önüne alındığında 21. kromozom üzerinde yer alan kodlanmayan RNA'lardan özellikle miR-99a, let-7c, miR-125b-2, miR-155 ve miR-802 mikro-RNA'ların kalp ve beyin gelişiminde önemli etkileri olduğu bildirilmektedir (Zhao vd.,2007). Ancak bazı çalışmalar miR-433'ün de kalp gelişiminde etkili olabileceği öngörüsündedir (Infante vd., 2019).

Çalışmamızda Down sendromu tanısı alan bireylerin konjenital kalp hastalıkları üzerinde ve gruplardaki ifadeleri arasında etkili olacağını öngördüğümüz miR-155, let-7c ve miR-433 mikro RNA'larının ifade düzeylerini araştırdık. miR-155, let-7c ve miR-433 mikro RNA'larının konjenital kalp hastalığı olan (Grup A), olmayan (Grup B) ve sağlıklı grup (Grup C) arasında herhangi anlamlı bir istatistiksel fark saptamadık.

A grubundaki bireylerin miR-155, let-7c ve miR-433 ifadeleri, B ve C grubu bireyleri ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı (p:0,392). miR-433'ün Real-Time PCR çalışması ile Ct değeri hesaplanamaması (38 örnekte) sonucunda, çalışma gruplarının plazmalarında yeterli oranda ifade edilmediği şeklinde yorumlandı.

Down Sendromlu (DS) bireylerde ekstra bulunan 21.kromozom, bir dizi mikroRNA'nın aşırı miktarda ifade edilmesine sebep olmaktadır (Bras vd., 2018; Coppola vd., 2014). 21. kromozom genlerinin aşırı ifadesi konjenital kalp hastalıklarının patogenezindeki rolünü göstermektedir. Bu genler, embriyonik kardiyogenezde yer alan genlerin veya miRNA'ların ekspresyonunu bozarak CHD'nın oluşumunda nasıl rol oynadıklarını açıklamaktadır (Mollo vd., 2021). Çalışmamızda, özellikle Grup A'nın diğer gruplarla karşılaştırıldığında toplam 44 olguda miR-155 ve let-7c mikroRNA'ların ifadelerinde anlamlı bir fark saptamadık. A grubundaki bireyler incelendiğinde, kalp kusurlarıyla benzer bir şekilde miR-155 ve let-7c ifade düzeylerinde bir artış gözlemlemedik. Bu durum, bu mikroRNA'ların dokuda plazmadan daha yüksek bir ifade düzeyine sahip olma olasılığını düşündürmektedir.

MiR-433 H7, H12, H13, H14, H16, K30, K41 olgularının plazmalarında ifade edilirken, 38 olgunun plazmalasında ifade edilmedi. MiR-433'ün, kalp gelişimi üzerinde etkili olduğu bildirilmiştir (Li vd., 2014). Li, D., ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada VSD'li ve VSD'siz (kontrol) grubu karşılaştırmak için miRNA mikrodizin analizi kullanmışlardır. Çalışma sonunda olguların plazmalarında miR-433'ün düşük oranda ifade edilmesi bulgular arasındadır. Çalışma sonucunda miR-433'ün VSD'li bireylerde özellikle ventriküler ve kardiyak gelişimde rol oynayan *HAND1, ZFPM2*, *NOTCH1* ve *GATA3* hedef genlerini etkilediği bildirilmektedir (Li vd., 2014). Ayrıca başka bir çalışmada miR-433'ün çalışma popülasyonunda önemli bir ayırt edici güce sahip obstrüktif CHD biyobelirteci olarak güçlü bir kanıt sağlamıştır. Özellikle tıkanık CHD'nin de ayıt etme durumu bildirilmiştir (Infante vd., 2019). Çalışmamızda 7 olgunun plazmasında ifade edilen miR-433 ifadesi toplam olgu sayısından çok daha az miktarda ifade edildiği için istatistik olarak anlamlı bir sonuç saptanmadı.

Let-7c ve miR-99a'nın kardiyomyogenez üzerindeki etkileri, bu mikro RNA'ların DS fetal kalplerindeki düzenlenme durumu ve bunların CHD patogenezindeki potansiyel rolü detaylı bir şekilde ele alınmıştır (Coppola vd., 2014) .Dolaşımdaki let-7c miktarının CHD bireylerde ayırt edici özelliği bildirilmiştir (Infante vd., 2019). Let-7c'nin ekspresyonu başka bir çalışmada, mitokondriyal ve kalp anomalileriyle ilişkili olan *SLC25A4/ANT1* genini hedefleyerek bu genin düşük miktarda düzenlenmesine neden olmaktadır (Izzo vd., 2017). Çalışmamızda toplam olguların plazma örneklerinde let-7c ifadesi saptanmıştır. Let-7c'nin mikro RNA ifadesi için istatistiksel analiz verilerine göre çalışılan gruplar arasında anlamlı bir sonuç saptanmamıştır (p:0,248).

Nagy, O., ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada VSD li bireylerin mikrodizin analizi sonucunda miR-155'in aşağı regüle ifade edildiği ispatlanmıştır. Bu sonuçlara göre miR-155 aşağı ifadesi kalp gelişimiyle ilişkili hedef genlerin ifadesini etkilemektedir (Li vd., 2014). Izzo, A., ve arkadaşlarının verilerine göre MiR-155-5p'nin, DS'lu fetal kalplerde, öploid olanlara kıyasla aşağı regüle edilen otuz üç tahmin edilen hedef geni bulunmuştur. Hedeflenen genler arasında *MECP2* geni de bulunmaktadır. Ayrıca *MECP2* geni let-7c tarafından da hedeflenmektedir (Izzo vd., 2017). Çalışmamızda olguların tamamında miR-155 ekspresyonu saptandı. Ancak ekspresyon değerleri ile klinik bulgular incelendiğinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı (p:0,392).

Tez çalışmamızda, Down sendromlu bireylerde miR-155, let-7c ve miR-433 mikro RNA ekspresyonlarının konjenital kalp hastalığı açısından önemini vurgulamayı amaçladık. DS'li bireylerde konjenital kalp hastalığı olanlarla olmayanlar arasında miR-155, let-7c ve miR-433 ekspresyonları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı. Bu verilerin anlaşılabilirliğini artırmak ve daha kesin sonuçlara ulaşmak için daha fazla sayıda olgu içeren ve plazma dışı dokularda da ekspresyon analizine yer veren çalışmalara ihtiyaç bulunmaktadır.

KAYNAKLAR

Anneren, G., Gustavson, K. H., Sara, V. R., & Tuvemo, T. (1990). Growth retardation in Down syndrome in relation to insulin-like growth factors and growth hormone. *Am J Med Genet Suppl*, 7, 59-62. https://doi.org/10.1002/ajmg.1320370710

Antonarakis, S. E., Skotko, B. G., Rafii, M. S., Strydom, A., Pape, S. E., Bianchi, D. W., Sherman, S. L., & Reeves, R. H. (2020). Down syndrome. *Nat Rev Dis Primers*, 6(1), 9. https://doi.org/10.1038/s41572-019-0143-7

Asim, A., & Agarwal, S. (2021). Congenital heart defects among Down's syndrome cases: an updated review from basic research to an emerging diagnostics technology and genetic counselling. *J Genet, 100*. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/34282736

Baltacı V, Akyol D, Kadanalı S. Risk Assessment and Prenatal Diagnosis in a Recent Pregnancy in a Family with a Child with Down Syndrome due to t (21q;21q). *Tr. J. of Medical Sciences 29 (1999)* 705706 © TÜBITAK.

Bras, A., Rodrigues, A. S., Gomes, B., & Rueff, J. (2018). Down syndrome and microRNAs. Biomed Rep, 8(1), 11-16. https://doi.org/10.3892/br.2017.1019

Bull, M. J. (2020). Down Syndrome. *N Engl J Med,* 382(24), 2344-2352. https://doi.org/10.1056/NEJMra1706537

Bull, M. J., Trotter, T., Santoro, S. L., Christensen, C., Grout, R. W., Council On, G., Burke, L. W., Berry, S. A., Geleske, T. A., Holm, I., Hopkin, R. J., Introne, W. J., Lyons, M. J., Monteil, D. C., Scheuerle, A., Stoler, J. M., Vergano, S. A., Chen, E., Hamid, R., . . . Spire, P. (2022). Health Supervision for Children and Adolescents With Down Syndrome. *Pediatrics, 149(5)*. https://doi.org/10.1542/peds.2022-057010

Cheng, W. L., Hsiao, C. H., Tseng, H. W., & Lee, T. P. (2015). Noninvasive prenatal diagnosis. *Taiwan J Obstet Gynecol, 54(4),* 343-349. https://doi.org/10.1016/j.tjog.2015.05.002

Coppola, A., Romito, A., Borel, C., Gehrig, C., Gagnebin, M., Falconnet, E., Izzo, A., Altucci, L., Banfi, S., Antonarakis, S. E., Minchiotti, G., & Cobellis, G. (2014). Cardiomyogenesis is controlled by the miR-99a/let-7c cluster and epigenetic modifications. *Stem Cell Res, 12(2),* 323-337. https://doi.org/10.1016/j.scr.2013.11.008

Coppede, F. (2015). The genetics of folate metabolism and maternal risk of birth of a child with Down syndrome and associated congenital heart defects. *Front Genet,* 6, 223. https://doi.org/10.3389/fgene.2015.00223

Cronk, C., Crocker, A. C., Pueschel, S. M., Shea, A. M., Zackai, E., Pickens, G., & Reed, R. B. (1988). Growth charts for children with Down syndrome: 1 month to 18 years of age. *Pediatrics, 81(1),* 102-110. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2962062

Çitli, Ş., Köksal, B., Kurtulgan, H., Akkuş, N., Özdemir, Ö. & Sezgin, İ. (2011). Prenatal dönemde multiplex kantitatif fluoresan pcr (QF-PCR) tekniği ile yaygın kromozomal anoploidilerin tespiti: Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi deneyimi. *Cumhuriyet Medical Journal,* 33 (4), 389-395. Retrieved from http://cmj.cumhuriyet.edu.tr/tr/pub/issue/4219/55978

Davisson, M. T., Schmidt, C., & Akeson, E. C. (1990). Segmental trisomy of murine chromosome 16: a new model system for studying Down syndrome. *Prog Clin Biol Res,* 360, 263-280. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2147289

de Graaf, G., Buckley, F., & Skotko, B. G. (2017). Estimation of the number of people with Down syndrome in the United States. *Genet Med, 19(4),* 439-447. https://doi.org/10.1038/gim.2016.127

Down, J. L. (1995). Observations on an ethnic classification of idiots. 1866. *Ment Retard, 33(1),* 54-56. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7707939

Elbasan, B. (Ed.) (2016). Pediatrik fizyoterapi. Down sendromlu çocuklarda fizyoterapi rehabilitasyon. *İstanbul: İstanbul Tıp Kitabevi.*

Elton, T. S., Sansom, S. E., & Martin, M. M. (2010). Trisomy-21 gene dosage over-expression of miRNAs results in the haploinsufficiency of specific target proteins. *RNA Biol, 7(5),* 540-547. https://doi.org/10.4161/rna.7.5.12685

Eniafe, J., & Jiang, S. (2021). MicroRNA-99 family in cancer and immunity. *Wiley Interdiscip Rev RNA, 12(3),* e1635. https://doi.org/10.1002/wrna.1635

Fahed, A. C., Gelb, B. D., Seidman, J. G., & Seidman, C. E. (2013). Genetics of congenital heart disease: the glass half empty. *Circ Res, 112(4),* 707-720. https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.112.300853

Faraoni, I., Antonetti, F. R., Cardone, J., & Bonmassar, E. (2009). miR-155 gene: a typical multifunctional microRNA. *Biochim Biophys Acta, 1792(6),* 497-505. https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2009.02.013

Ferrari, M., & Stagi, S. (2021). Autoimmunity and Genetic Syndromes: A Focus on Down Syndrome. *Genes (Basel), 12(2).* https://doi.org/10.3390/genes12020268

Fort, P., Lifshitz, F., Bellisario, R., Davis, J., Lanes, R., Pugliese, M., Richman, R., Post, E. M., & David, R. (1984). Abnormalities of thyroid function in infants with Down syndrome. *J Pediatr, 104(4),* 545-549. https://doi.org/10.1016/s0022-3476(84)80544-2

Glasson, E. J., Dye, D. E., & Bittles, A. H. (2014). The triple challenges associated with age-related comorbidities in Down syndrome. *J Intellect Disabil Res, 58(4),* 393-398. https://doi.org/10.1111/jir.12026

Gupte, A., Al-Antary, E. T., Edwards, H., Ravindranath, Y., Ge, Y., & Taub, J. W. (2022). The paradox of Myeloid Leukemia associated with Down syndrome. *Biochem Pharmacol, 201,* 115046. https://doi.org/10.1016/j.bcp.2022.115046

Hasle, H. (2001). Pattern of malignant disorders in individuals with Down's syndrome. *Lancet Oncol, 2(7),* 429-436. https://doi.org/10.1016/S1470-2045(00)00435-6

Hattori, M., Fujiyama, A., Taylor, T. D., Watanabe, H., Yada, T., Park, H. S., Toyoda, A., Ishii, K., Totoki, Y., Choi, D. K., Groner, Y., Soeda, E., Ohki, M., Takagi, T., Sakaki, Y., Taudien, S., Blechschmidt, K., Polley, A., Menzel, U., . . . sequencing, c. (2000). The DNA sequence of human chromosome 21. *Nature, 405(6784),* 311-319. https://doi.org/10.1038/35012518

Hendrix, J. A., Amon, A., Abbeduto, L., Agiovlasitis, S., Alsaied, T., Anderson, H. A., Bain, L. J., Baumer, N., Bhattacharyya, A., Bogunovic, D., Botteron, K. N., Capone, G., Chandan, P., Chase, I., Chicoine, B., Cieuta-Walti, C., DeRuisseau, L. R., Durand, S., Esbensen, A., . . . Yi, J. S. (2021). Opportunities, barriers, and

recommendations in down syndrome research. *Transl Sci Rare Dis, 5(3-4*), 99-129. https://doi.org/10.3233/trd-200090

Huggard, D., Worrall, A. P., Kirkham, C., McGrane, F., Mandira, R., Casey, L., Condon, T., George, S., Lagan, N., Roche, E., Balfe, J., Leahy, T. R., & Molloy, E. J. (2022). Immune screening in children with Down Syndrome. *Acta Paediatr, 111(10),* 2025-2028. https://doi.org/10.1111/apa.16489

Infante, T., Forte, E., Punzo, B., Cademartiri, F., Cavaliere, C., Soricelli, A., Salvatore, M., & Napoli, C. (2019). Correlation of Circulating miR-765, miR-93-5p, and miR-433-3p to Obstructive Coronary Heart Disease Evaluated by Cardiac Computed Tomography. *Am J Cardiol, 124(2),* 176-182. https://doi.org/10.1016/j.amjcard.2019.04.016

Izzo, A., Manco, R., de Cristofaro, T., Bonfiglio, F., Cicatiello, R., Mollo, N., De Martino, M., Genesio, R., Zannini, M., Conti, A., & Nitsch, L. (2017). Overexpression of Chromosome 21 miRNAs May Affect Mitochondrial Function in the Hearts of Down Syndrome Fetuses. *Int J Genomics, 2017,* 8737649. https://doi.org/10.1155/2017/8737649

Johnson, C. D., Esquela-Kerscher, A., Stefani, G., Byrom, M., Kelnar, K., Ovcharenko, D., Wilson, M., Wang, X., Shelton, J., Shingara, J., Chin, L., Brown, D., & Slack, F. J. (2007). The let-7 microRNA represses cell proliferation pathways in human cells. *Cancer Res, 67(16),* 7713-7722. https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-07-1083

Kallen, B., Mastroiacovo, P., & Robert, E. (1996). Major congenital malformations in Down syndrome. *Am J Med Genet, 65(2),* 160-166. https://doi.org/10.1002/(SICI)1096-8628(19961016)65:2<160::AID-AJMG16>3.0.CO;2-O

Korenberg, J. R., Kawashima, H., Pulst, S. M., Ikeuchi, T., Ogasawara, N., Yamamoto, K., Schonberg, S. A., West, R., Allen, L., Magenis, E., & vd. (1990). Molecular definition of a region of chromosome 21 that causes features of the Down syndrome phenotype. *Am J Hum Genet, 47(2),* 236-246. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2143053

Krivit, W., & Good, R. A. (1957). Simultaneous occurrence of mongolism and leukemia; report of a nationwide survey. *AMA J Dis Child, 94(3),* 289-293. https://doi.org/10.1001/archpedi.1957.04030040075012

Latronico, M. V., Catalucci, D., & Condorelli, G. (2008). MicroRNA and cardiac pathologies. *Physiol Genomics, 34(3),* 239-242. https://doi.org/10.1152/physiolgenomics.90254.2008

Lejeune, J., Gautier, M., & Turpin, R. (1959). [Study of somatic chromosomes from 9 mongoloid children]. *C R Hebd Seances Acad Sci, 248(11),* 1721-1722. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/13639368 (Etude des chromosomes somatiques de neuf enfants mongoliens.)

Li, D., Ji, L., Liu, L., Liu, Y., Hou, H., Yu, K., Sun, Q., & Zhao, Z. (2014). Characterization of circulating microRNA expression in patients with a ventricular septal defect. *PLoS One, 9(8),* e106318. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0106318

Li, H., Edie, S., Klinedinst, D., Jeong, J. S., Blackshaw, S., Maslen, C. L., & Reeves, R. H. (2016). Penetrance of Congenital Heart Disease in a Mouse Model of Down Syndrome Depends on a Trisomic Potentiator of a Disomic Modifier. *Genetics, 203(2),* 763-770. https://doi.org/10.1534/genetics.116.188045

Loane, M., Morris, J. K., Addor, M. C., Arriola, L., Budd, J., Doray, B., Garne, E., Gatt, M., Haeusler, M., Khoshnood, B., Klungsoyr Melve, K., Latos-Bielenska, A., McDonnell, B., Mullaney, C., O'Mahony, M., Queisser-Wahrendorf, A., Rankin, J., Rissmann, A., Rounding, C., . . . Dolk, H. (2013). Twenty-year trends in the prevalence of Down syndrome and other trisomies in Europe: impact of maternal age and prenatal screening. *Eur J Hum Genet, 21(1),* 27-33. https://doi.org/10.1038/ejhg.2012.94

Lyle, R., Bena, F., Gagos, S., Gehrig, C., Lopez, G., Schinzel, A., Lespinasse, J., Bottani, A., Dahoun, S., Taine, L., Doco-Fenzy, M., Cornillet-Lefebvre, P., Pelet, A., Lyonnet, S., Toutain, A., Colleaux, L., Horst, J., Kennerknecht, I., Wakamatsu, N., . . . Antonarakis, S. E. (2009). 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, 17(4),* 454-466. https://doi.org/10.1038/ejhg.2008.214

Mirzadeh Azad, F., Arabian, M., Maleki, M., & Malakootian, M. (2020). Small Molecules with Big Impacts on Cardiovascular Diseases. *Biochem Genet, 58(3),* 359-383. https://doi.org/10.1007/s10528-020-09948-z

Mollo, N., Esposito, M., Aurilia, M., Scognamiglio, R., Accarino, R., Bonfiglio, F., Cicatiello, R., Charalambous, M., Procaccini, C., Micillo, T., Genesio, R., Cali, G., Secondo, A., Paladino, S., Matarese, G., De Vita, G., Conti, A., Nitsch, L., & Izzo, A. (2021). Human Trisomic iPSCs from Down Syndrome Fibroblasts Manifest Mitochondrial Alterations Early during Neuronal Differentiation. *Biology (Basel), 10(7).* https://doi.org/10.3390/biology10070609

Mollo, N., Scognamiglio, R., Conti, A., Paladino, S., Nitsch, L., & Izzo, A. (2023). Genetics and Molecular Basis of Congenital Heart Defects in Down Syndrome: Role of Extracellular Matrix Regulation. *Int J Mol Sci, 24(3).* https://doi.org/10.3390/ijms24032918

Narumanchi, S., Kalervo, K., Perttunen, S., Wang, H., Immonen, K., Kosonen, R., Laine, M., Ruskoaho, H., Tikkanen, I., Lakkisto, P., & Paavola, J. (2019). Inhibition of let-7c Regulates Cardiac Regeneration after Cryoinjury in Adult Zebrafish. *J Cardiovasc Dev Dis, 6(2).* https://doi.org/10.3390/jcdd6020016

O'Connor, L., & Glynn, B. (2010). Recent advances in the development of nucleic acid diagnostics. *Expert Rev Med Devices, 7(4),* 529-539. https://doi.org/10.1586/erd.10.22

Ozsolak, F., Poling, L. L., Wang, Z., Liu, H., Liu, X. S., Roeder, R. G., Zhang, X., Song, J. S., & Fisher, D. E. (2008). Chromatin structure analyses identify miRNA promoters. *Genes Dev, 22(22),* 3172-3183. https://doi.org/10.1101/gad.1706508

Rahmani, Z., Blouin, J. L., Creau-Goldberg, N., Watkins, P. C., Mattei, J. F., Poissonnier, M., Prieur, M., Chettouh, Z., Nicole, A., Aurias, A., & vd. (1989). Critical role of the D21S55 region on chromosome 21 in the pathogenesis of Down syndrome. *Proc Natl Acad Sci U S A, 86(15),* 5958-5962. https://doi.org/10.1073/pnas.86.15.5958

Roush, S., & Slack, F. J. (2008). The let-7 family of microRNAs. *Trends Cell Biol, 18(10),* 505-516. https://doi.org/10.1016/j.tcb.2008.07.007

Schoch, J., Rohrer, T. R., Kaestner, M., Abdul-Khaliq, H., Gortner, L., Sester, U., Sester, M., & Schmidt, T. (2017). Quantitative, Phenotypical, and Functional Characterization of Cellular Immunity in Children and Adolescents With Down Syndrome. *J Infect Dis, 215(10*), 1619-1628. https://doi.org/10.1093/infdis/jix168

Stoll, C., Dott, B., Alembik, Y., & Roth, M. P. (2015). Associated congenital anomalies among cases with Down syndrome. *Eur J Med Genet, 58(12),* 674-680. https://doi.org/10.1016/j.ejmg.2015.11.003

Styles, M. E., Cole, T. J., Dennis, J., & Preece, M. A. (2002). New cross sectional stature, weight, and head circumference references for Down's syndrome in the UK and Republic of Ireland. *Arch Dis Child, 87(2),* 104-108. https://doi.org/10.1136/adc.87.2.104

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.

Tuysuz, B., Goknar, N. T., & Ozturk, B. (2012). Growth charts of Turkish children with Down syndrome. *Am J Med Genet A, 158A(11),* 2656-2664. https://doi.org/10.1002/ajmg.a.35710

van der Linde, D., Konings, E. E., Slager, M. A., Witsenburg, M., Helbing, W. A., Takkenberg, J. J., & Roos-Hesselink, J. W. (2011). Birth prevalence of congenital heart disease worldwide: a systematic review and meta-analysis. *J Am Coll Cardiol, 58(21),* 2241-2247. https://doi.org/10.1016/j.jacc.2011.08.025

Venegas-Zamora, L., Bravo-Acuna, F., Sigcho, F., Gomez, W., Bustamante-Salazar, J., Pedrozo, Z., & Parra, V. (2021). New Molecular and Organelle Alterations Linked to Down Syndrome Heart Disease. *Front Genet, 12, 792231*. https://doi.org/10.3389/fgene.2021.792231

Vicic, A., Hafner, T., Bekavac Vlatkovic, I., Korac, P., Habek, D., & Stipoljev, F. (2017). Prenatal diagnosis of Down syndrome: A 13-year retrospective study. *Taiwan J Obstet Gynecol, 56(6),* 731-735. https://doi.org/10.1016/j.tjog.2017.10.004

Weiner-Gorzel, K., Dempsey, E., Milewska, M., McGoldrick, A., Toh, V., Walsh, A., Lindsay, S., Gubbins, L., Cannon, A., Sharpe, D., O'Sullivan, J., Murphy, M., Madden, S. F., Kell, M., McCann, A., & Furlong, F. (2015). Overexpression of the

microRNA miR-433 promotes resistance to paclitaxel through the induction of cellular senescence in ovarian cancer cells. *Cancer Med*, 4(5), 745-758. https://doi.org/10.1002/cam4.409

Zemel, B. S., Pipan, M., Stallings, V. A., Hall, W., Schadt, K., Freedman, D. S., & Thorpe, P. (2015). Growth Charts for Children With Down Syndrome in the United States. *Pediatrics*, 136(5), e1204-1211. https://doi.org/10.1542/peds.2015-1652

Zhao, Y., Jaber, V., Percy, M. E., & Lukiw, W. J. (2017). A microRNA cluster (let-7c, miRNA-99a, miRNA-125b, miRNA-155 and miRNA-802) encoded at chr21q21.1-chr21q21.3 and the phenotypic diversity of Down's syndrome (DS; trisomy 21). *Journal of nature and science*, 3(9), e446.

EKLER

Ek-1

Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu

TRAKYA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
BİLİMSEL ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU
BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU

Bir araştırma projesine davet edilmektesiniz. Bu araştırmanın yürütülmesi, Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Bilimsel Araştırmalar Etik Kurulu'nun …… tarih ve …….. sayılı kararı ile onaylanmıştır.

Araştırmaya katılmaya karar vermeden önce araştırmanın neden ve nasıl yapılacağını anlamanız çok önemlidir.

Araştırmaya katılım tamamen gönüllülük ilkesine bağlı olup katılmayı reddetmeniz herhangi bir cezaya ya da elde edilecek herhangi bir yararın kaybedilmesine kesinlikle yol açmayacaktır.

Aynı şekilde araştırmaya katılmayı kabul ettikten sonra da araştırmanın herhangi bir yerinde hiçbir neden göstermeksizin herhangi bir zarar ya da elde edilmesi beklenen bir yarar kaybına yol açmadan araştırmadan çekilebilirsiniz.

Araştırma kapsamında yapılan işlemlerin mali giderleri araştırmacılar ya da destekleyici (Üniversite) tarafından karşılanacak olup size ya da sosyal güvenlik kurumunuza hiçbir mali yük getirmeyecektir.

Aşağıdaki bilgileri dikkatlice okuyun ve araştırmaya katılmak isteyip istemediğinize karar vermek için lütfen biraz düşünün.

- **Araştırmanın bilimsel adı:** miR-155, let-7c ve miR-433 mikroRNA Ekspresyonlarının Down Sendromlu Bireylerde Konjenital Kalp Hastalıklarına Etkisinin Araştırılması
- **Araştırmanın anlaşılabilir basit adı: mikro-RNA'ların (miR-155, let-7c ve miR-433) fazla üretilmesi durumunda** Down Sendromlu bireylerde doğuştan gelen kalp hastalığına
- **Sorumlu Araştırmacının adı ve görev yeri:** Doç. Dr. Sinem Yalçıntepe, Trakya Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik Anabilim Dalı

Araştırmanın amacı: Konjenital kalp hastalığı down sendromlu bireylerde çık sık görülmektedir. Burada Konjenital Kalp Hastalığına neden olan mikro-RNA'lar incelenecektir. Down sendromlu olup ancak Konjenital Kalp Hastalığı bulunmayan hastalarda etkili seçilmiş olan miRNA (mir-155, mir-433 ve let-7c) ekspresyonlarının değerlendirilmesi amaçlanmaktadır.

- **Araştırmanın niteliği (klinik, laboratuvar, epidemiyolojik, tez çalışması vb.):** Araştırma klinik ve laboratuvar verilerinin ileriye dönük araştırılmasına yönelik bir çalışmadır.
- **Araştırmanın başlama tarihi ve öngörülen süresi:** Mart 2022-Nisan 2023 tarihleri arasında başvuran olguların sonuçları çalışmaya dahil edilecektir.
- **Araştırmaya katılması beklenen gönüllü sayısı:** 51
- **Araştırma sırasında uygulanacak olan invaziv yöntemler dahil olmak üzere gönüllüye uygulanacak yöntem, girişim ve tedavilerin tümü:** Gönüllülerden hastalık tanıları ile ilgili laboratuar ve klinik bilgilerinin bilimsel çalışma amacı ile (hasta ismi belirtmeksizin) kullanımı için izin alınacaktır. Gönüllünün 18 yaş altı olması nedeniyle yasal varisinden izin alınacaktır.
- **Araştırmanın deneysel kısımları:** Trakya Üniversitesi Çocuk Kardiyolojisi Bölümünde Down sendromlu Konjenital Kalp hastalığı tanısı almış ve Down Sendromu klinik tanısı almış ancak Konjenital Kalp hastalığı bulunmayan hastalardan EDTA'lı mor tüpe periferik venöz

kan alınacak ve Tıbbi Genetik Anabilim Dalı'na gönderilecektir. Periferik venöz kandan **RNeasy Mini Kit izolasyon kiti** ile hasta RNA'ları izole edilir. Hasta RNA'ları **RT³ First Strand Kit** ile komplementar DNA (cDNA)'ya Polimeraz Chain Reaction (PCR) ile çevrilir. **TaqMAN Gene expression assay** ile Real Time PCR'da gen ekspresyonları incelenir. Uygun analiz programı ile gen ekspresiyon verileri elde edilecektir.

- **Farklı uygulama ve girişimler için gönüllülerin araştırma gruplarına rastgele atanma olasılığı:**
- **Katılımcının araştırmaya dahil edilme nedeni:** Katılımcı 18 yaş altı olacağı için varisine BGOF okutularak, onamı alındıktan sonra çalışmaya dahil edilecektir.
- **Araştırmadan doğrudan gönüllü için beklenen yarar:** Doğrudan bireysel bir yarar beklenmemektedir.
- **Gönüllünün sorumlulukları:** BGOF'u okuyarak çalışmaya katılıp katılmayacağına hür iradesi ile karar vermek.
- **Gönüllünün (araştırma hamilelerde veya lohusalarda yapılacaksa ise embriyo, fetüs veya süt çocuklarının da) maruz kalabilecekleri riskler veya rahatsızlıklar:** Gönüllülerin maruz kalabilecekleri herhangi bir risk veya rahatsızlıklar yoktur.
- **Risklere karşı alınan önlemler:** Kişisel verilerin korunması kanunu dikkate alınarak çalışmaya dahil edilen gönüllülerin her türlü bilgisi isim belirtmeksizin özel bir kodlama ile şifrelenecek ve şifre korumalı bilgisayarda muhafaza edilecektir.
- **Gönüllüye alternatif olarak uygulanabilecek olan diğer yöntemler ve bunların olası yarar ve zararları:** Gönüllüye herhangi bir alternatif yöntem uygulanmayacaktır.
- **Araştırmaya bağlı olarak bir zarar oluştuğunda verilecek tazminat ve sağlanacak tedaviler:** Araştırmamızda gönüllüye herhangi zarar verici bir durumun gelişmesi beklenmemektedir.
- **Gönüllülere yapılacak ulaşım, yemek gibi masraflara ilişkin ödemeler:** Gönüllülere herhangi bir ödeme yapılmayacaktır.
- **Gönüllünün araştırmaya katılımının sona erdirilmesini gerektirecek durumlar veya nedenler:** Gönüllünün yasal varisinin BGOF'u okuduktan sonra çalışmaya katılmak istemediğini beyan etmesi durumunda araştırmaya katılımı sona erdirilecektir.
- **Araştırma sonunda gönüllülere bilgi verilecek mi?** Evet, araştırma sonunda gönüllülerin varisleri araştırmada elde edilen sonuçlar ile ilgili bilgi verilecektir.
- **Gönüllülerin araştırma hakkında, kendileri hakkında ya da araştırmayla ilgili herhangi bir beklenmedik olay hakkında daha fazla bilgi edinebilmesi için temasa geçebileceği kişi ve kendisine günün 24 saatinde erişebileceği telefon numarası:** Doç. Dr. Sinem Yalçıntepe, Trakya Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik Anabilim Dalı. 05377168691
- **Gönüllülerden elde edilecek olan biyolojik materyallerin hangi amaçlarla kullanılacağı:** Gönüllülerden elde edilen örneklerle miR-155, miR-433 ve let-7c mikroRNA'ların ekspresyonlarının incelenmesi yapılacaktır.

Gönüllünün/Vasisinin imzası:

TRAKYA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
BİLİMSEL ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU
BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU

Yukarıda açıkça tanımlanan çalışmanın ne amaçla, kimler tarafından ve nasıl gerçekleştirileceği anlayabileceğim bir ifade ile bana anlatıldı.

Bu araştırmadan elde edilen bilgilerin bana ve başka insanlara sağlayacağı yararlar bana anlatıldı.

Araştırma sırasında meydana gelebilecek riskler ve rahatsızlıklar bana anlayabileceğim bir dille anlatıldı.

Araştırma sırasında oluşabilecek zarar durumunda gerçekleştirilecek işlemler bana anlatıldı.

Araştırmanın yürütülmesi sırasında olası yan etkiler, riskler ve zararlar ve haklarım konusunda 24 saat bilgi alabileceğim bir yetkilinin adı ve telefonu bana verildi.

Araştırma kapsamındaki bütün muayene, tetkik ve testler ile tıbbi bakım hizmetleri için benden ya da bağlı bulunduğum sosyal güvenlik kuruluşundan hiçbir ücret istenmeyeceği bana anlatıldı.

Araştırmaya hiçbir baskı ve zorlama altında olmaksızın gönüllü olarak katılıyorum.

Araştırmaya katılmayı reddetme hakkına sahip olduğum bana bildirildi.

Sorumlu araştırmacı / hekime haber vermek kaydıyla, hiçbir gerekçe göstermeksizin istediğim anda bu çalışmadan çekilebileceğimin bilincindeyim.

Bu çalışmaya katılmayı reddetmem ya da sonradan çekilmem halinde hiçbir sorumluluk altına girmediğimi ve bu durumun şimdi ya da gelecekte gereksinim duyduğum tıbbi bakımı hiçbir biçimde etkilemeyeceğini biliyorum.

Çalışmanın yürütücüsü olan araştırmacı / hekim ya da destekleyen kuruluş, çalışma programının gereklerini yerine getirmedeki ihmalim nedeniyle, benim onayımı almadan beni çalışma kapsamından çıkarabileceğini biliyorum.

Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Bilimsel Araştırmalar Etik Kurulu'nun gerekli gördüğünde, gizliliğimin korunması ilkesine uygun olarak, araştırma konusuyla ilişkili orijinal tıbbi kayıtlarıma doğrudan erişimde bulunabileceğini biliyorum

İlgili yasal düzenlemeler gereğince kimliğimi ortaya çıkaracak kayıtların gizli tutulacağı, kamuoyuna açıklanmayacağı; araştırma sonuçlarının bilimsel toplantılarda sunulabileceği ya da yayınlanabileceği, ancak, bu tür durumlarda kimliğimin kesin olarak gizli tutulacağı bana açıklandı.

Araştırma konusuyla ilgili olarak, çalışmaya devam etme isteğimi etkileyebilecek yeni bilgiler elde edildiğinde bana ya da yasal temsilcime zamanında bilgilendirme yapılacağı bana açıklandı.

Yukarıda yer alan ve araştırmadan önce gönüllüye verilmesi gereken bilgileri gösteren Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu adlı metni kendi anadilimde okudum.

Aklıma gelen bütün soruları sorma olanağı tanındı ve sorularımıza doyurucu cevaplar aldım.

Yukarıda konusu belirtilen araştırma ile ilgili yazılı ve sözlü açıklama aşağıda adı belirtilen araştırmacı tarafından yapıldı.

Bu koşullarla, söz konusu araştırmaya hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın gönüllü olarak katılmayı kabul ediyorum.

Gönüllünün/Vasisinin imzası:

Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu'nun tam imzalı bir kopyasını aldım.

- ***Gönüllünün; (El yazısı ile)***

Adı- Soyadı:

İmzası:

Adresi (varsa telefon ve/veya faks numarası):

.....

.....

Tarih:

- ***Velayet ya da vesayet altında bulunanlar için; (El yazısı ile)***

Veli ya da Vasinin Adı- Soyadı:

İmzası:

Tarih:

Adresi (varsa telefon ve/veya faks numarası):

.....

.....

Tarih:

- ***Açıklamaları yapan araştırmacının***

Ünvanı, Adı- Soyadı: (El yazısı ile)

Görev yaptığı bölüm:

İmzası:

Tarih:

EK-2
Etik Kurul Formu

TRAKYA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI
GİRİŞİMSEL OLMAYAN BİLİMSEL ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU Edirne, Türkiye

ARAŞTIRMA BAŞVURUSU ONAYIBAŞVURU BİLGİLERİ	PROTOKOL KODU	TÜTF-GOBAEK 2022/93	
	PROTOKOL ADI	miR-155, let-7c ve miR-433 mikroRNA Ekspresyonlarının Down Sendromlu Bireylerde Konjenital Kalp Hastalıklarına Etkisinin Araştırılması	
	SORUMLU ARAŞTIRICI ÜNVANI / ADI	Doç. Dr. Sinan YALÇINTEPE	
	ARAŞTIRMA MERKEZİ		
	DESTEKLEYİCİ		
	ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	Tek Merkez Ulusal	Çok Merkez Uluslararası
KARAR BİLGİLERİ	**Karar No:04/11**	**Tarih:21.03.2022**	
	Fakültemiz Tıbbi Genetik Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Doç. Dr. Sinan YALÇINTEPE'nin sorumluluğunda yapılması planlanan ve yukarıda başvuru bilgileri verilen çalışmasının araştırma başvuru dosyası ve ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş; araştırmaya ilişkin giderlerin gönüllüye ve/veya bağlı bulunduğu sosyal güvenlik kurumuna ödetilmediği koşullarda ve veri toplanacak yerlerden gerekli izinler alındıktan sonra gerçekleştirilmesinde etik bilimsel standartlar açısından sakınca bulunmadığına mevcudan oy birliği ile karar verilmiştir.		
ETİK KURUL BİLGİLERİ			
ÇALIŞMA ESASI	Helsinki Bildirgesi, İyi Klinik Uygulamalar Kılavuzu, TÜTF-GOBAEK Yönergesi		

ÜYELER

Ünvan/Adı Soyadı	Uzmanlık Dalı	Kurumu	Cinsiyeti	İlişki(*)	Katılım (**)	İmza
Dr. Öğr. Üyesi Fatma Gökalın ÖNAL Başkan	Tıp Tarihi ve Etik	T.Ü.T.F. Tıp Tarihi ve Etik A.D.	K	E H	E H	[redacted]
Prof. Dr. Hakan GÜRKAN Başkan Yardımcısı	Tıbbi Genetik	T.Ü.T.F. Tıbbi Genetik A.D.	E	E (H)	(E) H	[redacted]
Doç. Dr. Selçuk KORKMAZ Üye	Biyoistatistik	T.Ü.T.F. Biyoistatistik A.D.	E	E H	E H	[redacted]
Prof. Dr. Mehmet Erdal VARDAR Üye	Ruh Sağlığı ve Hastalıkl	T.Ü.T.F. Ruh Sağlığı ve Hastalıkları A.D.	E	E H	E H	[redacted]
Prof. Dr. Hasan ÜMİT Üye	İç Hastalıkları	T.Ü.T.F. İç Hastalıkları A.D.	E	E (H)	(E) H	[redacted]
Prof. Dr. Semsar UZUNOĞLU Üye	İç Hastalıkları	T.Ü.T.F. İç Hastalıkları A.D.	K	E H	E H	[redacted]
Doç. Dr. Sezgi SARIKAYA SOLAK Üye	Deri ve Zührevi Hastalıklar	T.Ü.T.F. Deri ve Zührevi Hastalıklar A.D.	K	E (H)	(E) H	[redacted]
Doç. Dr. Oktay KAYA Üye	Fizyoloji	T.Ü.T.F. Fizyoloji A.D.	E	E H	E H	[redacted]
Prof. Dr. Gülşp EKUKLU Üye	Halk Sağlığı	T.Ü.T.F. Halk Sağlığı A.D.	E	E H	E H	[redacted]
Prof. Dr. Filiz TÜTÜNCÜLER KÖKENLİ Üye	Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları	T.Ü.T.F Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları A.D.	K	E (H)	(E) H	[redacted]
Öğr. Gör. Dr. Sinan ATEŞ Üye	Kadın Hastalıkları ve Doğum	T.Ü.T.F. Kadın Hastalıkları ve Doğum A.D.	E	E H	E H	[redacted]
Prof. Dr. Sevtap HEKİMOĞLU ŞAHİN Üye	Anestezi ve Reanimasyon	T.Ü.T.F. Anestezi ve Reanimasyon A.D.	K	E (H)	(E) H	[redacted]
Dr. Öğr. Üyesi Doğan ALBAYRAK Üye	Genel Cerrahi	T.Ü.T.F. Genel Cerrahi A.D.	E	E H	E H	[redacted]
Doç. Dr. Barbaros Can ÇANAKÇI Üye		T.Ü. Diş Hekimliği Fakültesi	E	E H	E H	[redacted]
Doç. Dr. Hilal KEKLİCEK Üye		T.Ü. Sağlık Bilimleri Fakültesi	K	E (H)	(E) H	[redacted]
Avukat Emine NURLU Üye		T.Ü. Rektörlüğü	K	E H	E H	[redacted]
Emekli Öğretmen Sinan SEÇKİN Üye		Serbest Üye	E	E (H)	(E) H	[redacted]

*Araştırma ile ilişki
**Toplantıda Bulunma

ÖZGEÇMİŞ

İlkokul, ortaokul ve lise eğitimimi orada tamamladım. 2015 yılında Aksaray Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoteknoloji ve Moleküler Genetik alanında lisans eğitimime dereceyle başladım. 2019 yılında dereceyle mezun oldum. 2021 yılı Şubat ayında Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoteknoloji ve Genetik Anabilim Dalı'nda yüksek lisans eğitimime başladım.