

T.C.  
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ

SEREBRAL PALSİLİ ÇOCUKLARDA APOLİPOPROTEİN E  
GENOTİPİ VE İNTERLÖKİN-6 POLİMORFİZMİNİN  
DEĞERLENDİRİLMESİ

Dr. Evren GÜMÜŞ

Tıbbi Genetik Anabilim Dalı  
TIPTA UZMANLIK TEZİ

ESKİŞEHİR  
2016



T.C.  
ESKİŞEHİR OSMANGAZI ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ

SEREBRAL PALSİLİ ÇOCUKLARDA APOLİPOPROTEİN E  
GENOTİPİ VE İNTERLÖKİN-6 POLİMORFİZMİNİN  
DEĞERLENDİRİLMESİ

Dr. Evren GÜMÜŞ

Tıbbi Genetik Anabilim Dalı  
TIPTA UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŐMANI  
Doç. Dr. Beyhan DURAK ARAS

ESKİŞEHİR  
2016

**TEZ KABUL VE ONAY SAYFASI****T.C.****ESKİŞEHİR OSMANGAZI ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞINA,**

Dr. Evren GÜMÜŞ'e ait "Serebral Palsili Çocuklarda Apolipoprotein E Genotipi ve İnterlökin-6 Polimorfizminin Değerlendirilmesi" adlı çalışma jürimiz tarafından Tıbbi Genetik Anabilim Dalı'nda Tıpta Uzmanlık Tezi olarak oy birliği ile kabul edilmiştir.

Tarih: 09.06.2016

Jüri Başkanı Doç. Dr. Beyhan Durak ARAS

Tıbbi Genetik Anabilim Dalı

Üye

Prof. Dr. Meral YİRMİBEŞ KARAOĞUZ

Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi

Tıbbi Genetik Anabilim Dalı

Üye

Yrd. Doç. Dr. Hüseyin ASLAN

Tıbbi Genetik Anabilim Dalı

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Fakülte Kurulu'nun .....Tarih ve ...../..... Sayılı Kararıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr. Enver İHTİYAR  
Dekan

## TEŞEKKÜR

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı'nda yapmış olduğum uzmanlık eğitimim süresince, her konuda bana yardımcı olan danışman hocam Doç. Dr. Beyhan DURAK ARAS'a teşekkür ederim. Bilgi ve deneyimleriyle yol gösteren, Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Sevilhan ARTAN başta olmak üzere, Doç. Dr. Muhsin ÖZDEMİR'e, Yrd. Doç. Dr. Oğuz ÇİLİNGİR'e ve Yrd. Doç. Dr. Hüseyin ASLAN'a; hasta ve kontrol gruplarını temin etmemdeki rolleri, destekleri ve çalışmaları için Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Çocuk Nörolojisi Bilim Dalı öğretim üyeleri Prof. Dr. Coşkun YARAR'a, Doç. Dr. Kürşat Bora ÇARMAN'a ve yan dal araştırma görevlisi Uzm. Dr. Sibel ATİKER'e; Uzm. Dr. Zafer YÜKSEL'e ve Arş. Gör. Ebru ERZURUMLUOĞLU'na; Arş. Gör. Sevgi IŞIK başta olmak üzere tüm çalışma arkadaşlarıma, tez sonuçlarımın istatistiksel olarak değerlendirilmesi ve yorumlanmasında bilgi ve katkılarını sunan Biyoistatistik Anabilim Dalı Arş. Gör. Hülya YILMAZ'a yardımları ve destekleri için sonsuz teşekkür ederim.

## ÖZET

**Gümüş, E. Serebral palsili çocuklarda apolipoprotein E genotipi ve interlökin-6 polimorfizminin değerlendirilmesi. Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı Tıpta Uzmanlık Tezi, Eskişehir, 2016.** Serebral palsy gelişmekte olan beyinde progresif olmayan bir lezyon sonucu gelişen ama yıllar içinde progresyonu değişebilen, aktivite kısıtlılığına yol açan, kalıcı motor işlev, postür ve hareket bozukluğudur. Bu motor bozukluğa duysal, bilişsel, davranışsal sorunlar, konvülsiyon ve sekonder kas iskelet sorunları eşlik edebilir. Son yıllarda serebral palsy ile ilgili çok sayıda genetik araştırma yapılmıştır. Çalışmamızda serebral palsy ile ilgili olduğu düşünölen Apolipoprotein E ve İnterlökin-6 genlerindeki polimorfizmleri araştırdık. Çalışmamıza toplam 78 serebral palsili olgu ve 60 kontrol dahil edildi. Tüm olgular hazırlanan değerlendirme formu doğrultusunda değerlendirildi ve genetik analizler gerçekleştirildi. Olguların klinik özellikleri ile polimorfizmler arasındaki olası ilişkiler tartışıldı. Çalışmamızda Apolipoprotein E polimorfizminin serebral palsy ile ilişkili olabileceği sonucuna ulaştık.

Anahtar Kelimeler: Serebral Palsy, Apolipoprotein E, İnterlökin-6, Polimorfizm

Destekleyen Kurumlar: Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu, Proje No 2015-629

## ABSTRACT

**Gumus, E. The analyse of apolipoprotein E genotype and IL-6 polymorphism in children with cerebral palsy. Eskisehir Osmangazi University, Medicine Faculty, Medical Genetics Department, Medical Specialty Thesis, Eskisehir, 2016.** Cerebral palsy (CP) is a neurological disorder affecting movement and posture that develops as a complication of a non-progressive brain lesion which although can progress with time. The motor dysfunction of CP may be accompanied with sensory, cognitive, behavioral problems, convulsion, secondary muscle and bone diseases. Recently there has been an interest in genetic researches about CP. This research is about the apolipoprotein E genotype and IL-6 polymorphism that has been thought to be related with CP. 78 patients with CP and 60 healthy individuals were analysed in the research. The control group and the patients were evaluated by a form and then went through genetic analysis. The clinical presentations and the polymorphisms were compared and discussed. The research concluded that CP could be related with apolipoprotein E polymorphism.

**Key Words:** Cerebral Palsy, Apolipoprotein E, Interleukin-6, Polymorphism

**Supporting Institutions:** Scientific Research Project Commission, Eskisehir  
Osmangazi University, Project No 2015-629

**İÇİNDEKİLER**

	Sayfa
TEZ KABUL VE ONAY SAYFASI	iii
TEŞEKKÜR	iv
ÖZET	v
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	x
ŞEKİLLER DİZİNİ	xii
TABLOLAR DİZİNİ	xiii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Serebral Palsi	3
2.1.1. Tanım	3
2.1.2. Epidemiyoloji	3
2.1.3. Etiyoloji	4
2.1.4. Patofizyoloji	7
2.1.5 Tanı	8
2.1.6 Sınıflama	9
2.1.7. SP'ye Eşlik Eden Sorunlar	13
2.1.8 Tedavi	15
2.1.9. SP'de Ayırıcı Tanı	15
2.2. Apolipoprotein E	19
2.2.1. Apolipoprotein E Geni ve Proteini	20
2.2.2. Apolipoprotein E Geninin Eksprese Edildiği Dokular	22
2.2.3. Apolipoprotein E Proteinin Fonksiyonu ve İlişkili Olduğu Hastalıklar	23
2.3. İnterlökin-6	23
2.3.1. İnterlökin-6 Geni ve Proteini	23
2.3.2. İnterlökin-6 Geninin Eksprese Edildiği Dokular	24



	Sayfa
2.3.3. İnterlökin-6 Fonksiyonu ve İlişkili Olduğu Hastalıklar	24
2.4. Genetik Varyasyonları Saptamak İçin Kullanılan Yöntemler	24
2.4.1. Tek nükleotid polimorfizmi (TNP)	25
2.4.2. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR)	25
2.4.3. Restriksiyon Fragment Uzunluk Polimorfizmi (RFLP)	26
2.4.4. Gerçek Zamanlı Kantitatif PZR Yöntemi ve Light Cycler Sistemi	26
3. GEREÇ VE YÖNTEM	27
3.1. Hasta Grubu	27
3.2. Kontrol Grubu	27
3.3. Kullanılan Aletler ve Sarf Malzemeleri	27
3.3.1. Kullanılan Aletler	27
3.3.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Kitler	28
3.4. Yöntemler	29
3.4.1. Periferik Kan Örneklerinden DNA Elde Edilmesi	29
3.4.2. Genomik DNA'nın Niceliksel ve Niteliksel Analizi	30
3.5. Apolipoprotein E Gen Polimorfizminin Belirlenmesi	30
3.5.1. Apolipoprotein E Gen Polimorfizminin RT-PZR Hibridizasyon Problemi	31
Yöntem ile LightCycler Cihazında Belirlenmesi	
3.5.2. Verilerin Değerlendirilmesi	33
3.6 İnterlökin-6 -174 C/G Polimorfizminin RFLP Yöntemi ile Belirlenmesi	36
3.6.1. %2'lik Agaroz Jel Hazırlanması	37
3.6.2. 20XTBE Stok Solüsyon Hazırlanması	37
3.6.3. İnterlökin-6 -174 C/G Polimorfizmi İçin Yapılan PZR Reaksiyonu	37
3.6.4. Restriksiyon Enzimi	38
3.6.5. Restriksiyon Enzimi ile Kesim İşlemi	38
3.6.6. Kesim Ürünlerinin Kontrolü	39
3.7. Araştırma Planı ve Takvimi	39
3.8. Araştırma Verilerinin İstatiksel Analizi	40
4. BULGULAR	41
4.1. Araştırma Verilerinin İstatiksel Analizi	41
4.2. Olgu ve Kontrol Gruplarına Ait Bulgular	43

	Sayfa
5.TARTIŞMA	47
5.1. Çalışmamıza Ait Etiyolojik, Epidemiyolojik, Klinik ve Demografik Verilerin Literatür ile Karşılaştırılması	47
5.2. Çalışmamıza Ait Polimorfizm Verilerinin Literatür ile Karşılaştırılması	50
5.2.1. Çalışmamıza Ait APO E Genotipi Verilerinin Literatür ile Karşılaştırılması	50
5.2.2. Çalışmamıza Ait IL-6 Polimorfizmi Verilerinin Literatür ile Karşılaştırılması	54
6.SONUÇ VE ÖNERİLER	57
KAYNAKLAR	58

## SİMGELER VE KISALTMALAR

A $\beta$	Amiloid $\beta$
AD	Anabilim Dalı
Apo E	Apolipoprotein E
bç	Baz Çifti
BD	Bilim Dalı
BOS	Beyin Omurilik Sıvısı
BT	Bilgisayarlı Tomografi
CRP	C-Reaktif Protein
DMSO	Dimetil Sülfoksit
DNA	Deoksi Ribo Nükleik Asit
dNTP	Deoksi Nükleotid
EDTA	Etilen Diamin Tetraasetik Asit
EEG	Elektroensefalografi
EMG	Elektromyografi
FISH	Florasın In Situ Hibridizasyon
gDNA	Genomik Deoksi Ribo Nükleik Asit
GMFCS	Kaba Motor Fonksiyon Sınıflama Sistemi
gr	Gram
HIV	İnsan İmmünyetmezlik Virüsü
IL	İnterlökin
IVF	Invitro Fertilizasyon
MBL	Mannoz Bağlayan Lektin
MECP	Metil CpG Bağlayıcı Protein
MELAS	Mitokondriyal Ensefalomyopati-Laktik Asidoz-Felç Benzeri Nöbetler Sendromu
MRG	Manyetik Rezonans Görüntüleme
MTHFR	Metilentetrahidrofolat Redüktaz
nm	Nanometre
NOS	Nitrik Oksit Sentaz
PET	Pozitron Emisyon Tomografisi

PVL	Periventriküler Lökomalazi
PZR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
RFLP	Restriksiyon Fragment Uzunluk Polimorfizmi
RT-PZR	Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu
sn	Saniye
SP	Serebral Palsi
TE	Tris Edta
TNF	Tümör Nekrozis Faktör
TNP	Tek Nükleotid Polimorfizmi
USG	Ultrasonografi
V	Volt
$\mu$ L	Mikro Litre

**ŞEKİLLER**

	Sayfa
2.1. 6-12 yaş arasındaki çocuklar için Kaba Motor Fonksiyon Sınıflama Sistemi	13
2.2. Apo E $\epsilon 3$ ün amino asit dizisi	21
3.1. Apolipoprotein $\epsilon 2/\epsilon 2$ Görüntüsü	34
3.2. Apolipoprotein $\epsilon 2/\epsilon 3$ Görüntüsü	34
3.3. Apolipoprotein $\epsilon 2/\epsilon 4$ Görüntüsü	35
3.4. Apolipoprotein $\epsilon 3/\epsilon 3$ Görüntüsü	35
3.5. Apolipoprotein $\epsilon 3/\epsilon 4$ Görüntüsü	36
3.6. Apolipoprotein $\epsilon 4/\epsilon 4$ Görüntüsü	36
3.7. PZR Ürününün Agaroz Jelde Kontrol Görüntüsü	39
4.1. Olgu ve Kontrol Grubuna Ait Cinsiyet Dağılımı	43

## TABLOLAR

	Sayfa
2.1. SP Etiyolojisinde Rol Alan Prenatal Faktörler	4
2.2. SP Etiyolojisinde Rol Alan Natal Faktörler	5
2.3. SP Etiyolojisinde Rol Alan Postnatal Faktörler	5
2.4. Avrupa Serebral Palsi İzleme Grubu Çalışmayı Sınıflaması	10
2.5. Kaba Motor Fonksiyon Sınıflama Sistemi	12
2.6. SP Ayırıcı Tanısında Ek Tetkik İstenmesi Gereken Durumlar	19
2.7. Apo E Varyantlarının Amino Asid Farklılıkları	22
3.1. Apolipoprotein E Real-Time PZR Master Mix Karışımının Hazırlanması	31
3.2. Apolipoprotein E Denatürasyon Program Protokolü	32
3.3. Apolipoprotein E Amplifikasyon Program Protokolü	32
3.4. Apolipoprotein E Erime Eğrisi Program Protokolü	32
3.5. Apolipoprotein E Soğutma Program Protokolü	33
3.6. Apolipoprotein E Genotip Değerlendirme Tablosu	33
3.7. İnterlökin-6 Polimorfizmi İçin Kullanılan Forward ve Reverse Diziler	37
3.8. İnterlökin-6 Polimorfizmi İçin Kullanılan PZR Bileşenleri	37
3.9. PZR Koşulları	38
3.10. Restriksiyon Enzimi İçin Kesim Protokolü	38
3.11. Araştırma Planı ve Takvimi	39
4.1. Serebral Palsi Hasta Değerlendirme Formu	42
4.2. Olgu ve Kontrol Grubuna Ait Annenin Doğumdaki Yaş Dağılımı	43
4.3. Olgu ve Kontrol Grubuna Ait Gestasyonel Yaş Dağılımı	44
4.4. Olgu ve Kontrol Grubuna Ait Doğum Kilosu Dağılımı	44
4.5. Olgu ve Kontrol Grubuna Ait Doğum Baş Çevresi Dağılımı	44
4.6. Olgu ve Kontrol Grubuna Ait Güncel Baş Çevresi Dağılımı	44
4.7. Olgu ve Kontrol Grubu Apo E Genotip Dağılımı	45

## 1. GİRİŞ

Serebral palsi (SP), beyin gelişiminde hasar sonucu oluşan, ilerleyici olmayan motor fonksiyon bozukluğu ile karakterize bir hastalıktır (1). Hareket ve postür bozukluğu, iletişim sorunları, davranışsal anomaliler, bilinç bozukluğu ve nöbetlerden bir veya birkaçının kombinasyonu şeklinde kendini gösterir. 1-2/1000 oranında gözükürken, çocukluk çağının en sık karşılaşılan fiziki özürüllük nedenidir (2).

Serebral palsi, benzer lokasyonda ve benzer beyin hasarları sonucu meydana gelmiş olmasına rağmen klinik etkileri değişkenlik göstermektedir. Bu değişkenliğin nedeni serebral palsinin multifaktöriyel bir hastalık olmasıdır (3). Serebral palsi etyolojisinde preterm doğum ve intrauterin büyüme-gelişme geriliği gibi klinik risk faktörleri iyi tanımlanmış olmasına rağmen genetik ilişkiler ile ilgili raporlar yakın zamanda ortaya çıkmaya başlamıştır (4). Günümüzde de bu faktörlerden birinin genlerdeki polimorfik değişiklikler olduğunu gösteren çalışma sayısı giderek artmaktadır (3). Bu çalışmalarda elde edilen sonuçlara göre, genetik polimorfizmler bireyin serebral palsi duyarlılığı için değişken riskler göstermektedir. Apolipoprotein E (Apo E), interlökin-6 (IL-6), interlökin-8, tümör nekroz faktör- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), indüklenebilir nitrik oksit sentaz (i-NOS), lenfotoksin 60, Faktör V *Leiden*, metilentetrahidrofolat redüktaz (MTHFR), protrombin ve plaket aktivatör inhibitör genlerindeki polimorfizmler en çok araştırılan genetik polimorfizmlerdir (5). Biz de çalışmamızda serebral palsili çocuklarda Apolipoprotein E ve İnterlökin-6 gen polimorfizmlerini değerlendirmeyi ve hastalık etiyolojisine katkı sağlamayı amaçladık.

Apolipoprotein E, sinir sisteminde temel olarak astrositler tarafından sentezlenir, kolesterol ve fosfolipidlerle paketlenir ve lipoprotein kompleksler şeklinde ekstraselüler matrikse salınır. Bu kompleksler sinir hücrelerinin yüzeyindeki reseptörlere bağlanır ve hücre içine taşınır. Hücre içine giren apolipoprotein E'nin nöron onarımında ve inflamatuvar cevapta rol aldığı bilinmektedir (6).

Apolipoprotein E, 19. kromozomda yer alan Apo E geni tarafından 112. ve 158. pozisyondaki tek nükleotit farkları nedeniyle üç farklı izoform şeklinde kodlanan bir lipoproteindir. Bu izoformlar  $\epsilon_2$ ,  $\epsilon_3$  ve  $\epsilon_4$  dür (7). Coğrafik ve etnik orijine göre bu üç izoformun sıklıkları arasında farklılıklar gözlenmektedir (3).

Polimorfizm nedeniyle oluşan bu varyantların, beyin hasar mekanizmasındaki farklı fonksiyonlarının immatur beyinde yapabilecekleri etkiler nedeniyle serebral palsi etyolojisinde araştırmaya değer bulunmuştur (7). Apolipoprotein E izoformlarının beyin hasarı tamir mekanizmasındaki rolü farklı coğrafi ve etnik özellikteki toplumlarda geniş bir örneklemde ortaya konabilirse ileride Apo E mimetikleri terapötik ajanların klinik uygulamada kullanımı mümkün olabilecektir (3).

İnterlökin-6, pleitrofik bir sitokin olup, akut faz reaktanlarının düzenlenmesi, hematopoez, iskemik hasar ve beyin gelişiminde önemli rol oynamaktadır (8). İnterlökin-6 immün regülasyon ve inflamasyondaki biyolojik aktivitelerin düzenlenmesinde çok önemli bir role sahiptir (9). Yenidoğanlarda IL-6 düzeylerinin intrauterin enfeksiyon ve inflamasyon nedeniyle yükseldiği ispatlanmıştır. Bu fetal inflamatuvar cevap sendromu serebral palsi ile sonuçlanan beyin hasarının nedenlerinden biridir (10).

İnterlökin-6 geninde keşfedilen 174. pozisyondaki C-G polimorfizmi göstermiştir ki neonatal monositlerdeki in-vitro lipopolisakkarid stimüle interlökin-6 sentezi CC genotipi taşıyanlarda G alleli taşıyanlara göre daha yüksek bulunmuştur. Bu polimorfizmin yenidoğanlarda sepsise duyarlılık, beyaz cevher hasarı ve intraventriküler hemoraji ile ilgili olduğu ve bunun sonucu olarak SP'ye yatkınlık oluşturduğu düşünülmüştür (10).

Serebral palsinin multifaktöriyel ve heterojen bir hastalık olması sebebiyle altta yatan genetik faktörlerin aydınlatılması önem taşımaktadır. Bunun yanı sıra hastalığın nitelik ve nicelik özelliklerinin genotiple korelasyonunun kurulması ve literatürde ortak bir birlikteliğin sağlanması ile birlikte bu genetik değişiklikler prognostik öneme sahip olabilir.

Serebral palsili hastalarda gözlenen bu genetik değişikliklerin görülme oranları coğrafi ve etnik özelliklere göre popülasyonlar arası farklılık göstermektedir. Yapacağımız bu çalışma sayesinde hastalığa özgü genetik belirteçler ortaya konulmaya çalışılacak ve bu değişikliklerin fenotipe yansımaları saptanacak, bununla birlikte ESOĞÜ Tıp Fakültesi Çocuk Nöroloji Bilim Dalı'nda SP tanısı almış çocuklardaki sıklığı belirlenecektir.



## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Serebral Palsi

Serebral Palsi, ilk olarak 1860'larda ortopedist Dr. Little tarafından doğum komplikasyonları neticesinde meydana gelen spastisite olarak tanımlanmıştır (11). Sonraki yıllarda Sigmund Freud, William Osler ve Winthrop Phelps, SP tanımına katkılarda bulunmuştur (12).

#### 2.1.1. Tanım

Uluslararası Serebral Palsi Tanım ve Sınıflandırma Kongresi'nde, SP; 'İmmatür fetüs veya bebek beyinde prenatal, natal ve postnatal çeşitli etyolojik nedenler sonucu oluşan kalıcı, progresif olmayan ancak yaşla birlikte şiddeti değişebilen, hareketlerde kısıtlılığa neden olan, motor fonksiyon kaybı, postür ve aktivite bozukluğudur. Temel ögesi motor işlev kaybıdır ancak etiyolojik nedenin sebebine göre motor işlev kaybına kognitif, görsel, işitsel ve davranışsal bozukluklar ile nöbetler eşlik edebilir.' şeklinde tanımlanmıştır (13).

Serebral palsy, serebrum, serebellum ve beyin sapını içine alan bir motor fonksiyon bozukluğudur. Spinal kord, periferik sinirler ve kaslardaki primer motor bozukluklar SP tanımı içine girmez (14). Beynin erken gelişim süreci ilk 18 ay olmakla birlikte, 6 yaşa kadar oluşan ve progresif olmayan beyin lezyonlarının tamamı SP olarak adlandırılabilir (15). Bu dönemde beyindeki lezyon ile motor fonksiyon kaybı arasındaki ilişki yaş ile değişebildiğinden, SP tanısının 2 yaşından önce konulmaması gerekir (16).

#### 2.1.2. Epidemiyoloji

Serebral palsy, çocukluk çağının en sık nörogelişimsel özür lülük nedenidir (17). Avrupa ülkelerini kapsayan çok merkezli bir çalışmada SP sıklığının %0.13-0.3 arasında değiştiği tespit edilmiştir (18). Dünyanın farklı ülkelerinde yapılan çalışmalarda, İsveç'te %0.218, Norveç'te %0.21, Finlandiya'da %0.25, Birleşik Krallık'ta %0.21, Çin'de %0.192, Amerika Birleşik Devletleri'nde %0.2 olarak bulunmuştur (19-24). Ülkemizde 1996-2009 yılları arasında yapılan farklı çalışmalarda sıklık %0.11-0.44 olarak bulunmuştur (25-27).

Serebral palsi sıklığı, tıp teknolojisinde yaşanan ilerleme, gebe izlem etkinliğinin artması, antenatal-natal-postnatal bakımdaki gelişmelere rağmen yıllar içinde azalma göstermemiştir. Bunun nedenleri arasında yaşama şansı az olan prematür ve düşük doğum ağırlıklı bebeklerin yaşatılabilmesi ve SP kayıtlarının daha iyi derlenmesi sayılabilir. Serebral palsi sıklığını etkileyen bir başka neden de SP tanısının koyulduğu yaştır. Çocuklarda beyindeki lezyon ile motor fonksiyon kaybı arasındaki ilişki yaş ile değişebilir. Postür ve hareket bozuklukları ilerleyebilir, sabit kalabilir ya da azalabilir. Yapılan bir çalışmada SP şüphesiyle takipli bebeklerde 1 yaşında SP sıklığı %0.5 iken 7 yaşında yapılan değerlendirmede olguların yarısında motor fonksiyon kayıplarının düzeldiği görülmüş ve hastaların ancak yarısında SP tanısı doğrulanmıştır (28).

### 2.1.3. Etiyoloji

Serebral palsi etiyojisi multifaktöriyeldir. Beyin gelişiminde defekt bulunan birçok hastalık ve olay SP'ye neden olabilmektedir. Etiyolojide %80 prenatal, %10 perinatal ve %10 postnatal risk faktörleri mevcuttur. Olguların bir kısmında ise etiyojik neden tam olarak gösterilemez (29). Tablolarda SP etiyojisinde rol alan prenatal, perinatal ve postnatal faktörler gösterilmiştir (14, 25, 30-32).

Tablo 2.1. SP Etiyojisinde Rol Alan Prenatal Faktörler.

<b>Prenatal dönem</b>		
Kanama	Rh uyumsuzluğu	Çoğul gebelik
İntrauterin enfeksiyonlar	Akraba evliliği	Radyasyon
Servikal yetmezlik	Maternal hastalıklar	Teratojen maruziyeti
Serebral disgenezi	Plasental komplikasyonlar	Genetik anomaliler

Tablo 2.2. SP Etiyojisinde Rol Alan Natal Faktörler.

<b>Perinatal dönem</b>		
Asfiksi	Anormal prezentasyon	İntrakranial kanama
Prematürite	Kordon dolanması	Preeklampsi
Düşük doğum ağırlığı	Düşük APGAR skoru	Bradikardi

Tablo 2.3. SP Etiyolojisinde Rol Alan Postnatal Faktörler.

Postnatal dönem		
Hipoglisemi	Hiperbilürinemi	Koagülopatiler
Anoksi	Konvülsiyonlar	Sinir S. enfeksiyonları

Prematür doğum ve düşük doğum ağırlığı, SP için en önemli nedenlerdendir ve gelişmiş ülkelerde riskli yenidoğan bakım ve tedavisindeki olanakların artmasıyla birlikte en sık gözlenen etiyolojik faktör olmuştur. Serebral palsy gelişme riski gebelik haftası ve doğum kilosu azaldıkça artmaktadır. Bu konuda Belçika’da yapılan bir meta-analizde SP sıklığı, 22-27 haftalık doğumlarda %15, 28-31 haftalık doğumlarda %6, 32-36 haftalık doğumlarda %1 ve term bebeklerde %0.1 olarak bulunmuştur (33). Yapılan başka bir çalışmada 2500 gr’ın üzerinde doğan bebeklerde SP prevalansı %0.5-1.4, 1500-2499 gr doğanlarda %6.4-14.1, 1500 gr altı doğan bebeklerde ise bu oran %28.2-95.5 olarak bulunmuştur (24). Prematürelğe bağlı frajil beyin damar yapısı ve fiziksel stresler, serebral kan akımının etkilenmesine neden olur. Doğum tartısı 2500 gr altı doğan bebeklerde, periventriküler hemorajik infarkt insidansı artış gösterir. Kanama alanının genişlemesi neticesinde lateral ventriküllere komşu beyaz cevherde simetrik bir nekroz (periventriküler lökomalazi, PVL) meydana gelebilir. Periventriküler lökomalazi, SP’li prematür yenidoğanlarda gözlenen en belirgin bulgulardandır (34).

Preterm ve düşük doğum ağırlıklı bebeklerde önemli bir faktör de intrauterin enfeksiyonlardır. Uterin ve fetoplasental enfeksiyonların erken doğum eylemini başlattığı ve nörogelişimsel bir defekte yol açarak SP oluşumuna katkıda bulunduğunu gösteren yayınlar mevcuttur (25,35). En önemli intrauterin enfeksiyon etkenleri; rubella, sitomegalovirüs, toksoplazma, herpes simpleks 2, hepatit B ve İnsan İmmünyetmezlik Virüsü (HİV) dir (36).

Serebral gelişim bozuklukları ve nöronal gelişim bozuklukları term doğmuş SP’li bebeklerde önemli bir etiyolojik faktördür. Term doğmuş SP’lerde en sık lizensefali, şizensefali ve kortikal displazi görülür iken, prematürlerde kompleks serebral gelişim anomalileri dikkati çeker (17).

Çoğul gebeliklerde daha sık görülebilen kordon dolanması, vasküler yapı problemleri, diğer bebeğin intrauterin ölümü, preterm eylem riski ve düşük doğum

ağırlığı gibi komplikasyonlar nedeniyle SP riski artmıştır. Fetüs sayısı arttıkça SP insidansı da artmaktadır. Yapılan farklı çalışmalarda SP sıklığı, tekil gebeliklerde %0.16-0.2, ikiz gebeliklerde %0.73-1.5, üçüz gebeliklerde %2.8-8, dördüz gebeliklerde ise %42.9 olarak bulunmuştur. Bu çalışmalarda SP riskinin normal doğum tartısına sahip çoğul gebeliklerde daha fazla olması da dikkat çekicidir (37-39).

Son yıllarda in vitro fertilizasyon (IVF) uygulamalarının artması da SP gelişiminde önemli rol oynamaktadır. Yapılan IVF uygulamasında birden fazla embriyo transferi sonucu oluşan çoğul gebelikler bu durumun en önemli sebebidir. IVF gebeliklerde gözlenen komplikasyonların daha fazla olması da SP gelişimine katkıda bulunmaktadır (40).

Bilirubin ensefalopatisine bağlı gelişen, postnatal erken dönemde beslenme bozukluğu, spastisite ve rijidite bulguları ile seyreden kernikterus tablosu da SP gelişiminde önemli bir faktördür. Bazal ganglialarda biriken bilirubin sonucu meydana gelen bu durum tedavi edilmezse uzun dönemde mikrosefali, mental retardasyon ve işitme kaybı gibi sorunlara yol açabilir (41).

Son yıllarda yapılan farklı çalışmalarda yeni epidemiyolojik ve etiyolojik faktörler ortaya konmuştur. Bunlar; postnatal deksametazon kullanımı, uzamış omuz distosisi, annede iyot eksikliği, uzun süreli tokolitik tedavi ve erkek cinsiyet (erkek/kız oranı (1.3/1)) dir (42-44).

Ülkemizde 2008 yılında yayımlanan 623 SP'li çocuğun katıldığı bir çalışmada, ülkemizde gözlemlenen en önemli risk faktörleri; düşük doğum ağırlığı (%45), preterm doğum (%40), asfiksi (%35), akraba evliliği (%24) ve neonatal nöbetler (%22) olarak bulunmuştur. Bu çalışmada SP'li çocuklarda, %63 oranında birden fazla etiyolojik faktör tespit edilirken, %21 oranında herhangi bir etiyolojik faktör tespit edilememiştir (27).

#### **2.1.4. Patofizyoloji**

Nörogelişimsel süreçte beyin lezyonu veya anormal gelişimi herhangi bir zaman dilimi içinde meydana gelebilir ve SP ile sonuçlanabilir. Embriyolojik dönemde lezyonun tipi ve şiddeti beyin bulunduğu gelişim evresine göre farklılaşır. Beynin adaptasyon yeteneği gelişiminin ilk dönemlerinde en yüksektir ve gebeliğin

sonuna doğru azalma gösterir. Serebral iskemide intrauterin 20. haftadan önce meydana gelmiş ise migrasyon defekti ile, 26-34. haftalar arasında meydana gelmiş ise PVL ile, 34. haftadan sonra meydana gelmiş ise beyaz cevherden daha çok gri cevher etkilenerek fokal ya da multifokal serebral zedelenme ve talamus lezyonları ile sonuçlanır (45,46). Serebral palsi ile ilişkili beyin lezyonları birçok vakada gözlenmektedir. Bu beyin lezyonları hipoksiye duyarlı bölgelerde meydana gelmekte ve hipoksik iskemik ensefalopati terimi başlığı altında toplanabilmektedir. Bu grupta gözlenen temel patofizyolojik değişiklikler; selektif nöron nekrozu, parasagittal serebral lezyon, status marmoratus, fokal ve multifokal serebral nekroz ve PVL'dir (30,47).

Selektif nöron nekrozu, en sık gözlenen patolojidir. Term bebeklerde daha sık gözlenir. Konvülsiyonlar ve mental retardasyon sıklıkla tabloya eşlik eder. Uzun dönemde tabloya kas tonus değişiklikleri, motor kayıplar, ataksi, oromotor disfonksiyon ve dikkat eksikliği hiperaktivite bozukluğu eklenebilir (47).

Parasagittal serebral lezyonda, büyük arterlerin beslediği alanlarda oluşan hipoksi ve iskemiyeye bağlı olarak korteksin parasagittal alanlarında nekroz gözlenir. Lezyonda etkilenen alanda üst ekstremitelerin motor korteks bölgesi yer aldığı için, üst ekstremiteler alt ekstremitelerden daha çok etkilenir (47).

Status marmoratus, asfiksi nedeniyle etkilenmiş bebeklerde gözlenen, bazal ganglia ve talamusa sınırlı gliozis, nöron kaybı ve hipermyelinizasyondur. Özellikle term doğmuş bebekleri etkileyen bu patolojide uzun dönemde mental retardasyon, tremor ve distoni görülebilir (47).

Fokal ve multifokal serebral nekrozda kollateral yetersizliğe bağlı olarak orta serebral arterde oluşan lezyon tromboembolizm ile sonuçlanır. Term infantlarda daha sık görülen bu nekroz sonucunda uzun dönemde multikistik ensefalomalazi gözlenebilir (47).

Periventriküler lökomalazi, sıklıkla preterm bebeklerde gözlenen, periventriküler bölgedeki perfüzyon azalması sonucu oluşan, uzun dönemde gözlenen myelin kaybı, gliozis ve ventriküler genişleme olarak tanımlanabilir. Bu bölgeden alt ekstremiteler motor kontrol liflerinin geçmesi sebebiyle alt ekstremitelerde spastisite gözlenebilir. Uzun dönemde mental retardasyon ve görme sorunları gelişebilir (47).

### 2.1.5. Tanı

Serebral palsi tanısı klinik bir tanıdır. Tanıda prenatal, perinatal ve postnatal ayrıntılı öykü alma, aile hikayesinin sorgulanması ve fizik muayene önemli rol oynar. Özellikle gelişim basamaklarında geri kalma, derin tendon reflekslerinde artma, patolojik refleksler, progresif olmayan ama zamanla değişim gösterebilen motor gerilik, postür sorunları ve istemsiz hareketler varsa SP tanısı akla gelmelidir. İşitme ve görme problemleri, mental retardasyon, beslenme bozukluğu ve nöbetler tanıya yardımcı parametrelerdir (48).

Nörolojik muayenede hastanın kas gücü ve tonusu, refleksleri, mental durumu, görme ve işitme değerlendirmeleri yapılır. Ortopedik ve fonksiyonel muayenede postür, denge, eklem hareket açıklığı, el becerisi, deformite ve kontraktürler değerlendirilir (30).

Serebral palsi tanısını doğrulamak için zamana ve tekrarlayan muayenelere ihtiyaç olabilir. Hafif ataksik vakaların tanısındaki zorluk, bebeklerde olabilecek geçici anormallikler, atetoid hareketlerin 2 yaş civarında belirginleşmesi, spastisitenin 6. aydan önce saptanmasında yaşanabilecek sıkıntılar nedeniyle, 2 yaşından önce SP tanısı koymak zordur. Avrupa Serebral Palsi Çalışma Grubu olan SCPE'ye göre tanıyı doğrulamak için ideal yaş 5 yaş civarıdır (15).

Serebral palsiyi değerlendirirken amaç, motor tutulumun tipini belirlemek, SP'yi çocukluk çağında görülen diğer nörogelişimsel hastalıklardan ayırmak, fonksiyonel durumu tespit etmek, eşlik eden sekonder ve tersiyer deformiteleri saptayarak hastanın tedavi planını oluşturabilmektir. Bu değerlendirmeler yapılırken klinik olarak nörolojik muayenin yanı sıra ek tetkikler ile de tanı desteklenebilir. Manyetik rezonans görüntüleme (MRG), bilgisayarlı tomografi (BT), kraniyal ultrasonografi (USG), elektroensefalografi (EEG), elektromyografi (EMG), idrar ve kan aminoasitleri, tiroid fonksiyon testleri, biyokimyasal testler, işitme ve görme muayeneleri, dil ve konuşma becerilerinin değerlendirilmesi, zeka testleri, kas enzimleri, koagülasyon testleri ve genetik araştırmalar tanıya yardımcıdır (49).

Serebral palsi tanısında görüntüleme yöntemlerinin önemi büyüktür. Görüntüleme yöntemleri ile SP'li çocukların %70-90'ında patoloji saptanabilir (50). Prematürelde non-invaziv olması, uygulama kolaylığı ve ventriküler sistem, korpus

kallozum, arteriyovenöz malformasyonlar ve bazal gangliolar hakkında bilgi verdiği için sık kullanılan görüntüleme yöntemi kraniyal USG'dir. Bilgisayarlı tomografi, kraniyal USG'ye göre intrakraniyal kanamaları, konjenital malformasyonları ve beyin anatomisini göstermede daha üstündür. Pozitron emisyon tomografisi (PET) perinatal asfiksi şüphesi ile bölgesel kan akımının değerlendirilmesinde yararlı bir tetkiktir. Genel SP populasyonunda ise tanıya en fazla yardımcı olan görüntüleme tetkiği MRG dır. Lezyonun anatomik lokalizasyonunu ve tipini belirlemekle beraber lezyonun oluşum zamanı hakkında da fikir veren MRG serebral palsi tanısı için çok değerlidir. Serebral palside beyin MRG'sinde %90 anormallik gözlenir. Beyin MRG'sinde en sık saptanan bulgular özellikle pretermelerde PVL'dir. Bunun dışında bazal ganglia lezyonları, beyin malformasyonları, multikistik ensefalomalazi, korpus kallozum disgenezisi, hidrosefali, kortikal hasar, infarkt ve hemoraji alanları gözlenebilir (30,51).

Serebral palside tanının erken konulması, terapiye erken başlanması, motor bozukluğun yerleşmesini önlemek, sekonder ve tersiyer problemlere önceden müdahale açısından önemlidir (14,32).

### **2.1.6. Sınıflama**

Serebral palsi tanımı farklı klinik prezentasyonlar ve değişik düzeylerde aktivite kısıtlamasını içermektedir. Bu nedenle SP'li olguları sınıflama ihtiyacı olmuştur. Bu sınıflandırmaların ilki 1800'lü yılların sonunda Sachs tarafından etiyolojik faktörlerin etki zamanına göre (prenatal, natal, postnatal) yapılmış daha sonra çeşitli sınıflandırma tipleri yapılmaya devam edilmiştir. Zaman içinde sınıflandırmada tek bir yaklaşımın yeterli olmadığı görülmüş ve çeşitli sınıflandırma tiplerinin birlikte kullanılması benimsenmiştir. Kombine olarak yapılan bu sınıflamalarda en çok, etkilenen beyin bölgesine, hareket kısıtlılığının tipine, etkilenen vücut kısmına ve fonksiyonel seviyeye dikkat edilmiştir (52).

Günümüzde en yaygın olarak, bizim de çalışmamızda kullandığımız Avrupa Serebral Palsi İzleme Grubu Çalıştayı'nın yapmış olduğu sınıflama kullanılmaktadır. Bu sınıflama Tablo 2.4 de gösterilmiştir (18).

Tablo 2.4. Avrupa Serebral Palsi İzleme Grubu Çalışmayı Sınıflaması.

<b>SPASTİK</b>	<b>ATAKSİK</b>	<b>DİSKNETİK</b>	<b>SINIFLANAMAYAN</b>
Bilateral		Distonik	
Unilateral		Koreatetoik	

Spastik tip SP, en sık görülen (%70-75) ve en fazla nörolojik bulgu saptanan tiptir. Kas tonusu ve derin tendon reflekslerinde artma, patolojik refleks pozitifliği ve spastisite ile karakterizedir. Motor korteks ve piramidal sistemi tutan lezyonlarda görülür. Hastalarda nöromotor gelişim gecikir. Primitif refleksler sona ermesi gereken zamanda sonlanmaz. Bir yaş civarında belirginleşen spastisite zamanla eklem kontraktürleri ve dislokasyonlar ile sonuçlanır. İstemli hareketlerin şiddet ve kontrolünü ayarlama sorunları ve kas güçsüzlüğü belirgindir (30,45).

Spastik unilateral SP, çoğunlukla vasküler hasar ve travma sonrası meydana gelir. Vücudun bir yarısındaki kol ve bacak etkilenir. Sıklıkla üst ekstremiteler alt ekstremitelerden daha şiddetli olarak etkilenir. En sık gözlenen patoloji orta serebral arter tıkanıklığına bağlı infarkt. Olguların %53-58'inde sağ taraf etkilenmiştir. El tercihinin erken olması ve yakalama refleksinin tek taraflı olması bu hastalarda dikkat çekici bir özelliktir. Yürümeye başladığında etkilenen tarafta parmak ucu üzerinde oraklayarak yürüme paterni tipiktir. Piramidal etkilenmeye bağlı olarak etkilenen tarafta klonus ve pozitif babinski gözlenebilir. Derin tendon refleksleri ve kas tonus artışı belirgindir. Mental retardasyon ve epilepsi görülebilir. Term doğmuş SP'li çocuklarda daha sık görülür. Term doğan SP'lilerin %44'ünde, preterm bebeklerin %9'unda görülür. Term bebeklerde annedeki hemodinami sorunları, plasenta embolileri, fetal dolaşım problemleri, ikizden ikize transfüzyon, asfiksi, polisitemi ve tromboz sorunları sık görülür. En dirençli nöbetler bu tipte gözlenir. Kranial sinir tutulumları, eklem pozisyon his kaybı, astereognozi ve etkilenen tarafta büyüme geriliği gözlenebilir. Beyin MRG'sinde tutulan ekstremitenin karşı hemisferinde atrofi ve lateral ventriküler genişleme saptanır. Orta serebral arter tıkanıklığında ise o bölgede infarkt görünümü saptanır (30, 53, 54).

Spastik bilateral SP, genellikle düşük doğum ağırlıklı term bebeklerde enfeksiyon veya gelişimsel santral sinir sistemi bozuklukları gibi etiyolojik



sebeplerle görülür. Primitif refleksler kaybolmaz ve vazomotor değişiklikler gözlenebilir. Hastaların yarısında mental retardasyon gözlenir. Konuşma bozukluğu, mikrosefali, yutma sorunları, beslenme güçlüğü ve malnütrisyon eşlik eden bulgulardır. Beyin MRG'sinde sıklıkla parasagittal kortikal lezyonlar, serebral perfüzyon azlığı, porencefalik kist, PVL ve ventriküler dilatasyon gözlenir (45,55).

Ataksik SP en nadir görülen formdur. Motor geriliğe eşlik eden serebellar bulgular mevcutsa akla gelmelidir. Özellikle hareket halindeyken belirginleşen diskordinasyon mevcuttur. Erken dönemde hipotoni gözlenebilir. İnce motor becerilerde gerilik, nörolojik muayenede tespit edilen Romberg bulgusu, nistagmus ve dismetri önemli bulgulardır. Kranial görüntüleme çoğunlukla patoloji göstermez. Çocukluk çağında ataksi ile giden hastalıklar ve genetik hastalıklar ile ayırıcı tanısının yapılması hastaya yanlış tanı konulmaması anlamında dikkat edilmesi gereken bir husustur (45,55).

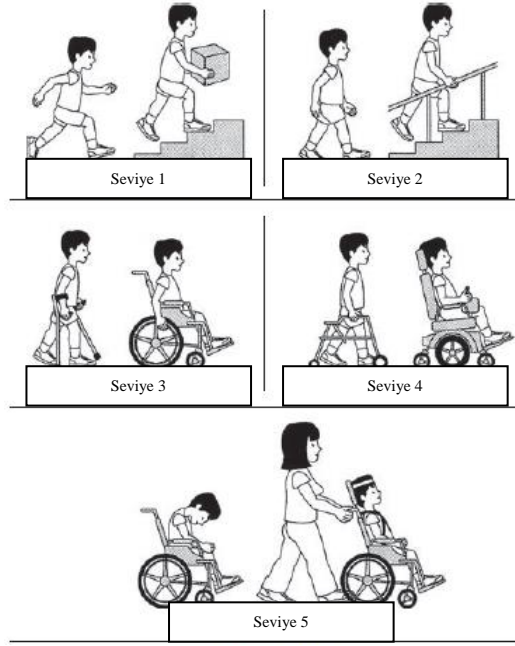
Diskinetik SP'de ekstrapiramidal bulgular ön plandadır. Kas tonusunda gözlenen sorunlar, peşi sıra yapılan hareketlerde diskordinasyon ve postür bozukluğu mevcuttur. Hasta yenidoğan döneminde hipotoniktir. Üst ekstremitte tutulumu ön plandadır. Ballismus, distoni, korea ve ateatoz şeklinde gözlenen hareket bozuklukları mevcuttur. Bir ile üç yaş arasında belirginleşen istemsiz hareketler uykuda düzelerken heyecan, yorgunluk ve stres ile artar. Derin tendon refleksleri normal veya hafif artmıştır. Hareket sırasında oluşan kas spazmı ve fasiyal kaslardaki spazm sonucu oluşan yüz ifadesinin değişmesi ve patlar tarzda konuşma hastalık için tipiktir. Bu hastalardaki ani hareketler resiprokal inervasyon mekanizmasındaki sorunlardan kaynaklanır (30, 45, 55). Koreatetozik tipte koreiform ve ateatoik hareket özellikleri beraber gözlenir. Hiperbilirubinemi ve asfiksi en önemli etiyolojik faktörlerdir. Anormal mimikler, yutma problemleri, işitme kaybı, konvülsiyon, strabismus ve dil becerilerinde gerilik sık gözlenen bulgulardır. Distonik tipte ise daha ağır bir klinik seyir vardır. Artmış kas tonusu ve istemli hareketlerde artış gösteren kasılmalar ve anormal postür mevcuttur. Etiyolojik neden olarak sıklıkla düşük doğum ağırlıklı bebeklerde gözlenen perinatal asfiksi karşımıza çıkmaktadır. Bu hastalarda bazal gangliaların ve korteksin beraber tutulumu gözlenir (45).

Sınıflanamayan tipte ise spastik, koreatetoid ve ataksik SP bulguları değişen oranlarda bir arada gözlenir. Hastaların %10'u bu gruptadır. Piramidal ve ekstrapiramidal alanlarının ikisinin birden hasarı sonucu oluşur (45,55).

Fonksiyonel yeterliliğe dayanan bir sistem olan Kaba Motor Fonksiyon Sınıflama Sistemi ( The Gross Motor Function Classification System- GMFCS) de günümüzde işlevselliğin değerlendirilmesi anlamında en değerli sınıflandırma sistemlerinden biridir. Bu sistem hastanın kendisinin başlattığı fiziksel aktivitelere dayanan, özellikle gövde kontrol becerisinin ve yürümünün değerlendirildiği bir sistemdir. Motor fonksiyon seviyeleri arasındaki klasifikasyon, fonksiyonel kısıtlılıklar, hareket becerisi ve yardımcı mobilite teknolojisine ( baston, koltuk değneği, tekerlekli sandalye) bağlı olarak yapılır. Bu sınıflama erken yaşlarda yapılırken çocuğun bulunduğu yaş itibarıyla yapabilecekleri göz önünde bulundurulmuş, buna istinaden değişik yaş gruplarında ( 2 yaş altı, 2-4 yaş, 4-6 yaş ve 6-12 yaş) farklı tanımlamalar yapılmıştır. Bu sistem kullanılarak değerlendirilen çocuklarda motor işlev fonksiyon düzeyi belirlenmekte ve ilerleyen dönemde seçilecek tedavi yaklaşımı hakkında fikir edilebilmektedir (56,57).

Tablo 2.5. Kaba Motor Fonksiyon Sınıflama Sistemi.

<b>Seviye 1</b>	Kısıtlama olmadan yürür. Gelişmiş kaba motor yeteneklerde kısıtlılık vardır.
<b>Seviye 2</b>	Yardımcı cihaz olmaksızın yürür. Toplum içinde yürürken kısıtlılık vardır.
<b>Seviye 3</b>	Yardımcı cihaz ile yürür. Toplum içinde yürürken kısıtlılık vardır.
<b>Seviye 4</b>	Kendi kendine yürürken kısıtlılık vardır. Toplum içinde yardımcı cihazlarla hareket ederler.
<b>Seviye 5</b>	Yardımcı cihazlar kullanılsa bile kendi kendine hareketleri ileri derecede kısıtlıdır.



Şekil 2.1. 6-12 Yaş Arasındaki Çocuklar İçin Kaba Motor Fonksiyon Sınıflama Sistemi- Palisano ve ark. (57)' ndan uyarlanmıştır.

### 2.1.7 SP'ye Eşlik Eden Sorunlar

Serebral palside temel etkilenme motor işlevlerde olmasına rağmen hastalarda etkilenen beyin bölgesine bağlı olarak birden fazla organ ve sistem etkilenebilir. En sık karşılaşılan sorunlar, mental reterdasyon, nöbet, konuşma problemleri, görme ve işitme sorunları, konuşma güçlüğü, solunum yolu problemleri ve ortopedik problemlerdir. Eşlik eden sorunların erken tespiti ve tedaviye başlanması bu çocuklardaki prognoz açısından çok önemlidir (41).

Mental reterdasyon, SP'ye en sık eşlik eden sorunların başında gelmektedir ve insidansı çeşitli çalışmalarda %30-60 arasında bulunmuştur (58). Spastik bilateral SP'lerde %25-75 oranında gözlenirken, spastik unilateral ve diskinetik tiplerde bu oran daha azdır. Epileptik nöbet geçirme sıklığı fazla olanlarda zeka geriliği daha belirgindir (59).

Epilepsi, SP'nin tipine göre %15-90 oranlarında hastalığa eşlik eder. Atetoid tip SP'de nöbet sık görülen bir bulgu değildir. Erken yaşlarda başlayan nöbetler tedaviye daha dirençlidir. Nöbetler, parsiyel, kompleks parsiyel, tonik-klonik, myoklonik, tonik ve atonik tiplerde görülebilir (60).

Görme sorunları SP'li çocuklarda %50-80 oranında gözlenen önemli bir problemdir. Strabismus, kırma kusurları, nistagmus ve optik atrofi sık gözlenen göz ile ilgili sorunlardır. Erken dönemde rutin göz muayeneleri ile bu bulguların erken tespit edilmesi hastaların günlük yaşama olan uyumlarını artırma anlamında son derece önemlidir (60).

İşitme sorunları yaklaşık olarak her 10 SP'li çocuktan 1'inde gözlenmektedir. İşitme kaybının erken dönemde tanımlanması, konuşma ve bilişsel işlevlerin de etkilenmemesi açısından değer taşımaktadır. İşitme kaybı iletim tipi, sinirsel tip ve mikst tipte olabilir (61).

Konuşma sorunları genellikle oral motor bozukluk ile beraber seyredir. Hastaların %38'inde konuşma problemleri gözlenmektedir. Mental retardasyonu ve işitme kaybı bulunan SP'li çocuklarda konuşma sorunları daha ciddidir (58).

Solunum problemleri, tekrarlayan aspirasyonlar, tekrarlayan alt ve üst solunum yolu enfeksiyonları, obstrüksiyonlar, mukosilyer klirensin bozulması ve vertebra şekil bozuklukları nedeniyle oluşmakta ve hastaların morbidite ve mortalitesine etki etmektedir (62).

Ortopedik sorunlarda, postural ve yürüyüş bozukluklarına ek olarak osteoporoz ve buna bağlı meydana gelebilen kırıklar sonucu sakatlıklar oluşmakta ve yaşam kalitesi ciddi anlamda bozulmaktadır. Osteoporozun önlenmesi için kemik mineral yoğunluğunu artıracak olan ilaçlar kullanılmalı ve fiziksel egzersizlere ağırlık verilmelidir (63).

Beslenme sorunları erken çocukluk döneminde SP'li çocuklardaki büyüme-gelişme geriliğinin en önemli nedenlerinden biridir. Gastroözofagal reflü, yutma sorunları, konstipasyon, diş problemleri ve anatomik problemler beslenme sorunlarından karşımıza en sık çıkanlardır. Motor etkilenme ne kadar fazla ise beslenme sorunları ve malnütrisyon o kadar ciddi olur. Bu çocuklarda büyüme-gelişme değerlendirilirken kilo ve boy ölçümleri yapılırken karşılaşılan zorluklar sebebiyle triseps deri kıvrım kalınlığının da önemli bir parametre olduğunu unutmamak gerekir (30).

Üriner sistem sorunları olarak, primer inkontinans ve enfeksiyonlar sık görülmektedir (64).

### 2.1.8. Tedavi

Serebral palsili hastalarda tedavi planlaması hastanın yaşı ve işlevselliğine göre belirlenmelidir. Serebral palsi temelde motor işlev bozukluğu olmasına rağmen çeşitli organ ve sistemleri etkilemesi nedeniyle tedaviye multidisipliner olarak yaklaşılmalıdır. Serebral palsili bir çocuğun tedavisi, pediatrik nöroloji, fizik tedavi ve rehabilitasyon uzmanı, ortopedi ve travmatoloji uzmanı, çocuk psikiyatri uzmanı, özel eğitim uzmanı ve sosyal hizmet uzmanından oluşan bir ekip tarafından planlanmalıdır. Tedavide öncelikli amaç hasarı geri çevirmek değil, ek komplikasyonları önlemek ve mevcut fonksiyonel durumu en üst düzeye çıkarmaktır. Tedavinin ana başlıkları, medikal tedavi, fizyoterapi ve cerrahi tedavilerdir (53).

Medikal tedavide, benzodiazepin türevleri, baklofen, botulinum, dantrolen ve tizanidin kullanılır (53).

Fizyoterapi, spastisite durumunun tedavisinde çok önemlidir. Kontraktür gelişimini önlemek, anormal kas fonksiyonunu engellemek ve aktif-pasif hareket aralığını artırmak fizyoterapide temel hedef olmalıdır. Bobath yöntemi, Vojta yöntemi ve nörogelişimsel tedavi yöntemi uygulanan tedavi yöntemlerinden en önemli olanlarıdır (45).

Cerrahi tedavi yöntemi olarak uygulanan selektif dorsal rizotomide amaç kas tonusunu azaltarak ağrı ve rahatsızlık hissini ortadan kaldırmak, postür ve yürüyüşü düzenleyebilmektir (45).

### 2.1.9. SP'de Ayırıcı Tanı

Serebral palsi multisistem ve nörogelişimsel bir hastalık olması nedeniyle birçok hastalıkla karışabilmektedir. Serebral palsinin ayırıcı tanısı için detaylı anamnez, fizik muayene, laboratuvar ve görüntüleme yöntemlerinden yararlanmak gereklidir. Serebral palsi ayırıcı tanısında akılda tutulması gereken ana başlıklar; genetik hastalıklar, metabolik bozukluklar, periferik sinir hasarları, santral sinir sistemi malformasyonları, diskinetik hastalıklar, nöromusküler hastalıklar, spinal kord lezyonları, ataksi ile giden hastalıklar ve yavaş ilerleyen nörodejeneratif hastalıklardır (65,66).

Katekolamin metabolizması bozukluklarından olan aromatik asit dekarboksilaz eksikliğinde infantil başlangıçlı distonik postür, okülogirik krizler,

ptozis ve ağır dizartri bulguları gözlenmektedir. Kraniyal MRG'de frontal boynuzlarda belirginleşme dikkat çekicidir. Artmış 3-O- metildopa düzeyine karşılık azalmış homovalinik asit ve 5-hidroksiindol asetik düzeyi laboratuvar bulgusu olarak karşımıza çıkar. Bu hastalar piridoksal fosfat, folinik asit ve pramipeksol tedavisinden dramatik bir şekilde yarar görürler (67).

Glikoz transporter defekti tip 1'de hastalıkta gözlenen infantil nöbetler, postnatal mikrosefali, gelişme geriliği ve intermitant ataksi nedeniyle SP ayırıcı tanısında yer alan bir hastalıktır. SLC2A1 geninde gözlenen mutasyon ile hastalığa tanı konur. Ketojenik diyet bu hastalarda semptomların gerilemesi açısından çok değerlidir (68).

Ağır ilerleyici distonik bulgular varlığında çekilen MRG'de 'kaplan gözü' bulgusunun görülmesi durumunda akla Hallervorden-Spatz hastalığı gelmelidir. Bu hastalıkta beyinde demir birikimine bağlı gelişen nörodejenerasyon ön plandadır (69).

Bir mitokondriyal hastalık olan, 'Mitokondriyal Ensefalomyopati-Laktik Asidoz- Felç Benzeri Nöbetler Sendrom' u (MELAS) ise distonik serebral palsy ile benzer bulgular sergilemesinden dolayı ayırıcı tanıda akılda tutulması gereken bir başka hastalıktır (70).

İdrar ve plazmada artmış glutarik asit ile seyreden glutarik asit tip1 ve tiroid transportunda sorunla seyreden 'Monokarboksilat Transporter 8 Eksikliği' de nörogelişimsel defekte yol açan hastalıklar olması nedeniyle ayırıcı tanıda önemli yer tutmaktadır (71,72).

Alt ekstremitelerden başlayan, progresif dejeneratif spastisite ile seyreden heterojen bir grup olan 'Hereditör Spastik Parapleji' de nöbetler ve periferik nöropati olması nedeniyle SP ayırıcı tanısında yer almaktadır (73).

X'e bağlı kalıtılan, PLP gen defekti sonucu oluşan myelinizasyon sorunu ile seyreden nörodejeneratif bir hastalık olan 'Pelizaeus-Merzbacher Sendromu' global bir büyüme-gelişme geriliği, hipotoni, ve nistagmus ile karakterizedir. MRG' de hipomyelinazyon ve anamnezde herhangi bir doğum veya gebelik komplikasyonu olmamış olması ayırıcı tanıda ipucu olan bulgulardır (74).

GALC geninde oluşan mutasyon sonucu oluşan Krabbe Sendromu olarak da bilinen 'Globoid Hücre Lökodistrofisi'nde ise klinik tablo çok ağırdır. Hastaların

%90'ı 2 yaşından önce kaybedilirler. Yapılan MRG'de global bir serebral volüm kaybı söz konusudur. Lökosit enzim testinde anormal derecede düşük olan galaktoserebrosidaz aktivitesinin gösterilmesi ile tanı konur (75).

Nöronal migrasyon bozuklukları içinde sık görülen bir hastalık olan lizensefali de SP ayırıcı tanısında yer almaktadır. Hastalıkta belirgin mikrosefali ve girusların yokluğu dikkat çekicidir. Ek olarak global bir büyüme-gelişme geriliği, hipotoni, ekstansör hipertoni ve dismorfik bulgular gözlenmesi durumunda akla 'Miller-Dieker Sendromu' gelmelidir. Yapılan EEG'de modifiye hipsaaritmi konfigürasyonunun gözlenmesi tanıya yardımcıdır. Kesin tanı LIS1 genini de içine alan 17p13.3 bölgesinin delesyonunun Florasan İn Sutu Hibridizasyon (FISH) yöntemi ile gösterilmesi sonucu konur (76).

Metil CpG Bağlayıcı Protein (MECP2) geninin hem delesyonu hem de duplikasyonu SP ayırıcı tanısında yer almaktadır. MECP2 duplikasyonunda fasiyal hipotoni, spastisite, ataksi, otistik davranışlar ve ağır mental yetersizlik dikkat çekmektedir. MECP2 delesyon sendromu daha sık bilinen adıyla RETT Sendromunda ise 6-18. aylara kadar normal gelişimi olan çocuklarda kazanılmış yeteneklerin kaybı ve motor gerileme gözlenmektedir (77).

Joubert sendromu ise serebellar vermiste gözlenen hipoplazi ve displazi ile karakterizedir. Çekilen MRG'de 'molar diş' görünümü ve dördüncü ventriküldeki 'yarasa kanadı' görünümü hastalık için tanı koydurucudur (78).

Angelman sendromu ise hastalarda gözlenen epilepsi, skolyoz, alt ekstremitte spastisitesi, klonus, mikrosefali, trunkal ataksi ve mental retardasyon nedeni ile ayırıcı tanıda yer almaktadır. Dil gelişiminin belirgin geriliği ve 'mutlu kukla' görünümü hastalık tanısı için ipucudur. Özellikleri itibarı ile Angelman sendromu en çok ataksik SP ile karışabilir (79).

Ekstrapiramidal belirtilerin belirgin olduğu, motor gelişme geriliği, hipotoni ve spastisite ile seyreden Lesch-Nyhan sendromu da SP ayırıcı tanısında yer almaktadır. Ortalama 2 yaş civarında başlayan kendine zarar verme davranışı ve laboratuvar bulgusu olarak karşımıza çıkan hiperürisemi ve hiperürikozüri hastalığın SP ile ayırıcı tanısının yapılması için değerlidir (80).

Serebellar ataksi, myopatiye bağlı ilerleyici kas güçsüzlüğü, nöromotor gelişme geriliği, mikrosefali, hipotoni ve spastisite ile seyreden Marinesco-Sjögren

sendromu da SP ile ayırıcı tanıda yer alan bir hastalıktır. Konjenital katarakt, hipergonadotropik hipogonadizm ve kas biyopsisinde myopatik değişikliklerin gözlenmesi nedeniyle SP ile ayırıcı tanısı yapılabilir (81).

Nöbetler, distoni, ataksi ve serebellar kortikal dejenarasyon ile giden Ataksi-Telenjektazi ise laboratuvar ve kutanöz telenjektazi bulguları ile SP grubundan ayırıcı tanısı yapılabilen bir hastalıktır (82).

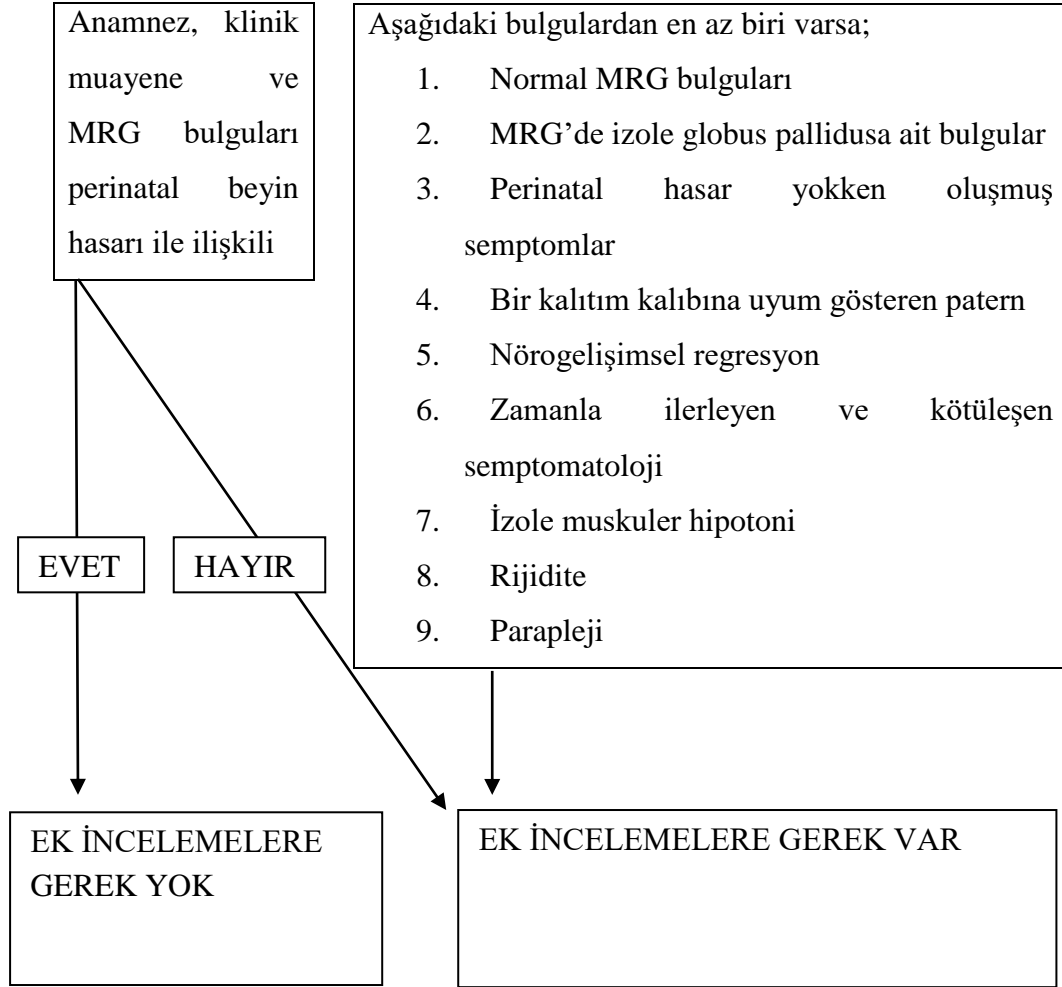
Hiperrefleksi, ataksi, spastisite, mental retardasyon ve piramidal bulgular ile seyreden Behr Sendromu da SP ayırıcı tanısında yer almaktadır. OPA1 geninin neden olduğu bu otozomal resesif hastalığın SP ile ayırıcı tanısının yapılması son derece zordur (83,84).

Bu hastalıklar dışında SP ile sık karışabilen hastalıklar; arjinaz eksikliği, Sjögren-Larsson sendromu, Dandy-Walker sendromu, metakromatik lökodistrofi, Chiari tip 1 malformasyonu, siringomyeli, holoprozensefali, brakial pleksus zedelenmeleri, serentidinöz ksantomatozis ve heksoaminidaz eksiklikleridir (66).

Serebral palsi doğası gereği multisistem bir hastalık olması ve özellikle genetik ve metabolik hastalıklar ile ortak özellikler barındırması nedeniyle ayırıcı tanısının dikkatli yapılması gereken bir hastalıktır. Serebral palsi düşünölen hastalarda ek tetkiklere ihtiyaç duyulması gereken durumlar tabloda gösterilmiştir (66).



Tablo.2.6. SP Ayırıcı Tanısında Ek Tetkik İstenmesi Gereken Durumlar.



## 2.2. Apolipoprotein E

Suda çözünmeyen lipidlerin, plazma sıvısında çözünebilir lipid ve protein kompleksleri şeklinde taşınabilmesi için oluşturulan küresel partiküllere lipoprotein denir. Lipoproteinler, kolestorel esterleri ve trigliseritten oluşan hidrofobik bir çekirdek ile fosfolipid, kolesterol ve spesifik proteinlerin kapladığı yüzeyel tabakadan oluşan makromoleküllerdir. Lipoproteinlerin içerdikleri spesifik proteinlere de apolipoprotein denmektedir (85).

Apolipoprotein E, düşük yoğunluklu lipoprotein reseptörleri için ligand görevi yapmakta ve enzim kofaktörü olarak çalışmaktadır. Diyet ile alınan veya karaciğerde sentezlenen lipid transportu ve metabolizmasında, özellikle de trigliseritten zengin lipoprotein kalıntılarının plazma sıvısından uzaklaştırılmasında önemli rol oynamaktadır. Periferik dokulardan karaciğere kolesterol taşınmasında

görevli olan HDL'nin, periferik dokulardaki kolesterol içeriğinin artmasında da rol oynadığı gösterilmiştir. Ancak insanlarda bu transportta görevli başka moleküller olması nedeniyle bu etki minimaldir (86). Apo E'nin lipid transportundan bağımsız birçok fonksiyonu da bulunmaktadır. Bunlar arasında en önemlileri, nörotrofik bir faktör olması, düz kas gelişim ve farklılaşması üzerine olan etkileri ve immunoregülasyonda rol aldığı görevlerdir (87).

### **2.2.1. Apolipoprotein E Geni ve Proteini**

Apolipoprotein E, 1970'li yılların başında trigliseritten zengin lipoproteinlerin yapısında bulunan bir protein olarak keşfedilmiş ve kolesterol metabolizmasında rol oynadığı gösterilmiştir (86).

Apolipoprotein E, moleküler ağırlığı 34.2 kilodalton olan, 299 aminoasitten oluşan bir plazma lipoproteinidir (88,89).

Apolipoprotein E geni, 19. kromozomun uzun kolunda 19q13.2 bölgesinde yer almakta, 4 ekzon ve 3 introndan oluşmaktadır. Uzunluğu 3.6 kilobaz olan Apo E geni 317 amino asitten oluşan öncü proteini kodlamakta ve 18 amino asitlik prepropeptid kısmının ayrılması ile 299 aminoasitlik matur proteini oluşturmaktadır (88,89).

**H2N** –Lys-Val-Glu-Gln-Ala-Val-Glu – Thr – Glu – Pro – Glu – Pro – Glu – Leu – Arg –Gln –Gln –Thr –Glu – Trp – Gln – Ser – Gly – Gln – Arg – Trp – Glu – Leu – Ala – Leu – Gly – Arg – Phe – Trp – Asp – Tyr – Leu Arg –Trp –Val –Gln –Leu – Ser –Glu –Gln –Val –Gln –Glu –Glu –Leu –Leu –SerSer-Gln –Val –Thr –Gln –Glu –Leu –Arg –Ala –Leu –Met –Asp –Glu –Thr –Met –Lys –Glu –Leu – Lys –Ala –Tyr –Lys –Ser –Glu –Leu –Glu –Glu –Gln –Leu –Thr –Pro –Val –Ala –Glu –Glu –Thr – Arg –Ala –Arg –Leu –Ser –Lys –Glu –Leu –Gln –Ala –Ala –Gln –Ala –Arg –Leu – Gly –Ala –Asp – Met –Glu –Asp –Val –**Cys (112. aa)** –Gly –Arg –Leu –Val –Gln – Tyr –Arg –Gly –Glu –Val –Gln –Ala –Met –Leu – Gly –Gln –Ser –Thr –Glu –Glu – Leu –Arg –Val –Arg –Leu –Ala –Ser –His –Leu –Arg – Lys –Leu –Arg –Lys –Arg – Leu –Leu –Arg –Asp –Ala –Asp –Asp –Leu –Gln –Lys –**Arg (158. aa)** – Leu –Ala – Val –Tyr –Gln –Ala –Gly –Ala –Arg –Glu –Gly –Ala –Glu –Arg –Gly –Leu –Ser – Ala –Ile –Arg –Glu –Arg –Leu –Gly –Pro –Leu –Val –Glu –Gln –Gly –Arg –Val – Arg –Ala –Ala –Val –Gly – Ser –Leu –Ala –Gly –Gln –Pro –Leu –Gln –Glu –Arg – Ala –Gln –Ala –Trp –Gly –Glu –Arg –Leu – Arg –Ala –Arg –Met –Glu –Glu –Met – Gly –Ser –Arg –Thr –Arg –Asp –Arg –Leu –Asp –Glu –Val – Lys –Glu –Gln –Val – Ala –Glu –Val –Arg –Ala –Lys –Leu –Glu –Glu –Gln –Ala –Gln –Gln –Ile –Arg – Leu –Gln –Ala –Glu –Ala –Phe –Gln –Ala –Arg –Leu –Lys –Ser –Trp –Phe –Glu – Pro –Leu –Val – Glu –Ash –Met –Gln –Arg –Gln –Trp –Ala –Gly –Leu –Val –Glu – Lys –Val –Gln –Ala –Ala –Val – Gly –Thr –Ser –Ala –Ala –Pro –Val –Pro –Ser – Asp –Asn –His –**COOH**

Şekil 2.2. Apo E  $\epsilon 3$  ün amino asit dizisi.

Polimorfik bir yapıya sahip olan Apo E geninin üç yaygın kodominant izoformu bulunmaktadır. Bu üç allel ( $\epsilon 2$ ,  $\epsilon 3$ ,  $\epsilon 4$ ),  $\epsilon 2/\epsilon 2$ ,  $\epsilon 2/\epsilon 3$ ,  $\epsilon 2/\epsilon 4$ ,  $\epsilon 3/\epsilon 3$ ,  $\epsilon 3/\epsilon 4$ ,  $\epsilon 4/\epsilon 4$  şeklinde 6 farklı genotip oluşturmaktadır. Ülkemizde yapılan bir çalışmada allel sıklıkları,  $\epsilon 3$  için %80.3,  $\epsilon 2$  için %11.6 ve  $\epsilon 4$  için %8.1 olarak bulunmuştur (90). Ülkemizde 1995 yılında yapılan bir çalışmada ise genotip oranları;  $\epsilon 3/\epsilon 3$  %74.2,  $\epsilon 3/\epsilon 4$  %12.9,  $\epsilon 2/\epsilon 3$  %10.6,  $\epsilon 4/\epsilon 4$  %1.1,  $\epsilon 2/\epsilon 4$  % 0.8,  $\epsilon 2/\epsilon 2$  %0.4 olarak bulunmuştur (91). Tüm popülasyonlarda genel olarak en sık gözlenen allel  $\epsilon 3$ , en sık gözlenen genotip de  $\epsilon 3/\epsilon 3$  dür (92).

Apo E genindeki izoformlar, 112. ve 158. pozisyonlardaki sistein ve arjinin değişimlerinden kaynaklanır.  $\epsilon 3$ ; 112. pozisyonda sistein, 158. pozisyonda arjinin,  $\epsilon 2$  hem 112. hem de 158. pozisyonda sistein içermekte,  $\epsilon 4$  ise 112. ve 158. pozisyonda arjinin amino asidinin içermektedir. Bu amino asit değişiklikleri, izoformların yapısını, reseptör ve lipidlere bağlanma kapasitesini etkiler (93). Yaygın tip  $\epsilon 3$  tür ve bilinen tüm fonksiyonlarında normal izoform olarak değerlendirilirken,  $\epsilon 2$  varyantı ateroskleroz ve hiperlipoproteinemi ile,  $\epsilon 4$  varyantı ise ateroskleroz ve bozulmuş kognitif fonksiyon ile ilişkilidir (94).

Tablo 2.7. Apo E Varyantlarının Amino Asit Farklılıkları.

Allel	112. aa	158. aa	112. Kodon	158.Kodon	Yük
$\epsilon 2$	Sistein	Sistein	TGC	TGC	0
$\epsilon 3$	Sistein	Arjinin	TGC	CGC	+
$\epsilon 4$	Arjinin	Arjinin	CGC	CGC	++

Apo E de genetik polimorfizm dışında başka polimorfizmler de tanımlanmıştır. Bunlardan en önemlisi post-translasyonel polimorfizmdir. Protein sentezinden sonra, 194. pozisyondaki treonine sialik asitin eklenmesi ile gerçekleşen glikolizasyon işleminde eklenen sialik asit miktarına göre farklı polaritelere sahip Apo E varyantları oluşmaktadır. Sialik asit bağlanmış bu varyantlar, plazma Apo E'sinin yaklaşık %10-20'sini oluşturmaktadır (95,96) .

### 2.2.2. Apolipoprotein E Geninin Eksprese Edildiği Dokular

Apolipoprotein E birçok farklı doku tarafından eksprese edilmektedir. Plazmada bulunan Apo E'nin %75-80' i karaciğerdeki hepatositlerden üretilir. Karaciğerden sonra en yüksek Apo E sentezi beyindedir. Merkezi sinir sisteminde astrositler, oligodendrositler, glial hücreler ve schwann hücreleri tarafından sentezlenirler. Serebrospinal sıvıda önemli miktarda beyin kaynaklı Apo E bulunduğu çalışmalarda gösterilmiştir. Arterlerdeki düz kas hücrelerinde ve derideki keratinositlerde de Apo E sentezi yapılmaktadır. Bunun dışında adrenal bezler, akciğer, dalak, over ve böbreklerde de Apo E sentezi yapıldığı bilinmektedir (97,98).

### **2.2.3. Apolipoprotein E Proteinin Fonksiyonu ve İlişkili Olduğu Hastalıklar**

Apolipoprotein E, lipid metabolizmasını yönlendiren birkaç apolipoproteinden biridir. Apolipoprotein E, bu yönlendirmeyi farklı organların hücreleri arasında lipid dağılımı yaparak ya da bir organdaki farklı hücreler arasındaki lipid dağılımı etkileyerek gerçekleştirir. Bunun dışında kardiyovasküler sistem, immün sistem, kas-iskelet sistemi, nörolojik gelişim, üriner sistem ve endokrin sistem dahil olmak üzere birçok sistemde fonksiyonları bulunmaktadır. Apolipoprotein E'nin bu nedenle çok farklı sistemlerde çok farklı hastalıklarla ilişkili olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur. Ateroskleroz, hiperlipidemi, obstruktif uyku apne sendromu, Alzheimer hastalığı, enfeksiyon hastalıkları, beyin hasarı sonrası inflamasyon ve oküler hastalıklar bunlardan sadece birkaçıdır (99-102).

### **2.3. İnterlökin-6**

Sitokinler, inflamatuvar cevapta ve kanser patogeneğinde rol oynayan, hücreler arasında sinyal iletiminde görevli, glikoprotein veya peptit yapısında, molekül ağırlıkları 20-30 kilodalton arasında değişen, çözünebilir biyolojik mediyatörlerdir. İnterlökin-6, birçok inflamatuvar ve immün sistem aracılı yanıtta önemli rol oynayan bir sitokindir. İnflamatuvar ve immün olayların oluşumunda anahtar rolü üstlenen TNF ve IL-1'e yanıt olarak üretilir. Diğer akut faz reaktanları gibi karaciğerde sentezlenen IL-6, lipoprotein lipaz aktivitesini, yağ asitlerinin depolanmasını ve sentezini azaltır (103).

#### **2.3.1. İnterlökin-6 Geni ve Proteini**

Beta hücre diferansiyasyon faktörü, hepatosit stimülatör faktör, hidroma büyüme faktörü ve interferon beta 2 gibi birçok ad ile bilinen IL-6 geni, 1986 yılında haritalanmış olup, 7p21'de yer almaktadır. İnterlökin-6'nın matür formu 26 kilodalton olup, 184 aminoasitten oluşur. İnterlökin-6 geninin promotor bölgesindeki -174. pozisyonunda tanımlanan C-G değişikliği fonksiyonel bir öneme sahiptir (104).

### 2.3.2. İnterlökin-6 Geninin Eksprese Edildiği Dokular

İnterlökin-6, B ve T lenfositler, monositler, makrofajlar, endotelial hücreler, epitelyal hücreler, mast hücreleri, nöronal hücreler, osteoblastlar, epidermal langerhans hücreleri, keratinositler, dendritik hücreler, fibroblastlar, mesane ve serviks tümörleri ve kardiyak miksomalardan salgılanır (105).

### 2.3.3. İnterlökin-6 Fonksiyonu ve İlişkili Olduğu Hastalıklar

İnterlökin-6'nın B ve T hücre fonksiyonlarının ayarlanması, immunglobülin sekresyonu, hematopoez ve akut faz yanıtı olarak birçok fonksiyonu vardır. Sepsis ve septik şokta düzeyi yükselir. B lenfositlerin antikor üreten hücrelere farklılaşmasını sağlar, hepatositlerden C-reaktif protein (CRP), mannoz bağlayan lektin (MBL) ve kompleman komponentleri gibi akut faz reaktanlarının salınımına neden olur. T lenfosit ve timositler üzerinde stimülatördür. Diğer sitokinlerle kemik iliğindeki hematopoetik kök hücre gelişimini uyarır. İnterlökin-1 ile beraber T-helper hücreleri aktive eder (106-108).

Son yıllarda yapılan çalışmalarda IL-6 birçok hastalıkla ilişkili bulunmuştur. Bunlardan en önemlileri; osteoporoz, obezite, diabet, ateroskleroz, kalp krizi, pulmoner hipertansiyon, irritabl bağırsak hastalıkları, Alzheimer hastalığı, juvenil kronik artrit ve meme, kolon, mesane, prostat kanseri başta olmak üzere bir çok kanser türüdür (109-111).

## 2.4. Genetik Varyasyonları Saptamak İçin Kullanılan Yöntemler

İnsan genom projesinin tamamlanmasıyla iki insan arasındaki nükleer DNA dizisinin %99.9 benzer olduğu kanıtlanmıştır. DNA dizisindeki değişimler sonucu çeşitliliğe neden olan olaylar mutasyonlar ve polimorfizmlerdir. DNA dizisindeki varyasyonlar popülasyonun %1'inden fazlasında görülüyorsa polimorfizm, %1'inden daha azında görülüyorsa mutasyon olarak adlandırılır. Mutasyonlar genetik hastalıklarından sorumluyken polimorfizmler daha çok kompleks genetik bozukluklarla ilişkilidir (112,113).

İki farklı birey arasında DNA'nın yaklaşık 1000-1200 baz çifti (bç) uzunluğundaki herhangi bir kısmında ortalama sadece bir baz çifti değişimi mevcuttur. Polimorfizm, popülasyonda yaygın olarak iki veya daha çok alleli

bulunan bir geni tanımlamak için kullanılan bir kavramdır. İnsan genomunda yaklaşık 20000-25000 gen vardır ve bu genlerin en az üçte birinin polimorfik olduğu bilinmektedir (112-114).

#### **2.4.1. Tek nükleotid polimorfizmi (TNP)**

Polimorfizmlerin yaklaşık %90'nını oluşturan ve çeşitliliğinin sebebi olarak gösterilen tek nükleotid polimorfizmleri kardiyovasküler sistem hastalıkları, osteoporoz, Alzheimer ve diabet gibi bazı hastalıklara olan yatkınlıkla ilişkili bulunmuştur. Bazı gen polimorfizmleri bir hastalık riskini artırırken bazıları azaltabilmekte, bazı polimorfizmler ise yalnızca dış bir faktörün etkisi altındayken riski etkileyebilmektedir (115). Tek nükleotid polimorfizmleri, genomdaki dizide meydana gelen tek nükleotidlik (A, T, G veya C) değişim sonucu meydana gelir. Her üç TNP'den ikisi sitozinin ( C ) timinle ( T ) yer değiştirmesi sonucu oluşur. Tek nükleotid polimorfizmleri genin kodlanan ya da kodlanmayan bölgesinde bulunabilir. İnsan genomunda yaklaşık olarak 27 milyon TNP bulunduğu bilinmektedir (112,116).

#### **2.4.2. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR)**

Polimeraz zincir reaksiyonu, spesifik bir DNA parçasının primerler tarafından yönlendirilerek, enzimatik olarak sentezlenmesi şeklinde tanımlanan in vitro bir yöntemdir (117). Polimeraz zincir reaksiyonu ile DNA segmentleri çoğaltılabilir ve çok az miktardaki örneklerden analizler için yeterli miktar elde edilebilir. Polimeraz zincir reaksiyonu için gerekli bileşenler; sentezde kalıp olarak kullanılacak DNA, iki tane tek iplikli sentetik DNA oligonükleotidi, dört tip deoksiribonükleotid trifosfat (dNTPs), uygun tampon çözelti, yüksek ısıda sentez yapabilecek bir DNA polimerazdır. Polimeraz zincir reaksiyonu üç ana döngünün tekrarlarından meydana gelir; denatürasyon, 94°C'de çift iplikçikli DNA'nın iki tek iplikçiğe ayrılması, primer eşleşmesi, 52-62°C'de primerlerin tek iplikçik halindeki kalıp DNA'ya spesifik olarak bağlanmaları, primer uzaması, 72°C'de primerlerden başlayarak kalıp DNA üzerinden sentez yapılarak primerlerle sınırlandırılmış olan bölgenin çoğaltılması (117,118).

### **2.4.3 Restriksiyon Fragment Uzunluk Polimorfizmi (RFLP)**

Bu yöntem, DNA'yı restriksiyon enzimi ile parçalara ayırarak incelemeye olanak veren bir yöntemdir. Restriksiyon enzimleri, bakterilerden elde edilen, bakteri genomunu bakteriyofaj enfeksiyonuna ve yabancı genetik materyallere karşı koruyan endonükleazlardır. DNA polimorfizmlerinin çoğunu tek baz çifti değişimleri oluşturur. Bunlar restriksiyon enziminin tanıma bölgesini oluşturan değişimlerdir. DNA sarmalı özgül restriksiyon enzimleri ile kesildiği zaman farklı uzunluklarda fragmentler oluşur ve bu fragmentler, elektroforetik davranışlarındaki farklılıklar ile jel elektroforezinde gözlemlenebilirler. Etidyum bromür ile boyanan jelde oluşan DNA bantlarının yeri ve sayısı kıyaslanarak genotip tayini yapılır (112).

### **2.4.4. Gerçek Zamanlı (Real-Time) Kantitatif Polimeraz Zincir Reaksiyon Yöntemi ve Light Cycler Sistemi**

Bu yöntemle spesifik bir hedef sekans amplifiye edilmekte ve floresan teknolojisi kullanılarak amplifikasyonun ilerleyişi eş zamanlı olarak görüntülenmektedir. Bu yöntemin klasik PZR'a göre avantajları, hız, kopyalama oranında artış, kontaminasyon riskinde azalma, otomasyon imkanı, mikro levhalarda yüksek işlem hacmi ve bütün PZR reaksiyonunu eş-zamanlı olarak gözlemeye izin vermesidir. Ayrıca klasik yöntemlerdeki gibi, başlangıç materyalinin miktarını tam olarak ölçmeye de imkan verir (117, 119, 120).

Light cycler sistemi ise polimeraz zincir reaksiyonunu floresan ölçüm sistemi ile birleştirerek, DNA amplifikasyonunun eş zamanlı izlenmesini sağlamaktadır (121).



### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

#### 3.1. Hasta Grubu

Çalışmamıza Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anadilim Dalı Çocuk Nörolojisi Polikliniği'ne Aralık 2014-Aralık 2015 tarihlerinde başvuran, poliklinik değerlendirmesi sonucu SP tanısı alan 78 olgu dahil edilmiştir. Hastalardan alınan periferik kan örnekleri EDTA'lı tüp içerisine alınarak laboratuvarımıza ulaştırılmıştır.

Çalışmamız Ocak 2016 - Nisan 2016 tarihleri arasında Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı'nda gerçekleştirilmiştir. Serebral palsi tanısı alan olguların periferik kan hücrelerinden elde edilen DNA'lardan, Apo E ve IL-6 gen polimorfizmleri RT-PZR ve RFLP yöntemleri kullanılarak incelenmiştir.

Hasta grubu örnekleri toplanırken, muayene bilgilerini içeren SP değerlendirme formu doldurulmuş ve aydınlatılmış onam formu hasta velisi tarafından okunmuş ve imzalanmıştır.

Çalışmamız için Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu'ndan 06.11.2014 tarih ve 2014/13 sayılı onay alınmıştır.

#### 3.2. Kontrol Grubu

Çalışmamıza Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anadilim Dalı Sağlam Çocuk Polikliniği'ne Aralık 2014-Aralık 2015 tarihlerinde başvuran, poliklinik değerlendirmesi sonucunda herhangi bir nörolojik hastalığa sahip olmadığı tespit edilen 60 kontrol dahil edilmiştir.

Kontrol grubu örnekleri toplanırken, muayene bilgilerini içeren değerlendirme formu doldurulmuş ve aydınlatılmış onam formu kontrol olgu velisi tarafından okunmuş ve imzalanmıştır.

#### 3.3. Kullanılan Aletler ve Sarf Malzemeleri

##### 3.3.1. Kullanılan Aletler

Pipet Takımı (Gilson)

Jel Görüntüleme ve Dökümantasyon Sistemi (Gene Genius)

Masaüstü Santrifüj (Sigma)

Isı döngüleyicisi (PE GenAmp PCR System 9700)  
Light Cyclers 480 (Roche)  
Çeker Ocak (LaminAir)  
Vorteks (Heidolph)  
Beher (250'lik ve 500'lük)  
Derin dondurucu (Arçelik)  
Mikrodalga Fırın (Arçelik)  
-20 Derece Buzdolabı (Arçelik)  
+4 Derece Buzdolabı (Arçelik)  
PZR tüpleri (strip) (Perkin Elmer)  
Spektrofotometre (NanoDrop ND-1000)  
Elektroforez Tankı (Clever)  
Güç Kaynağı (Clever CS300V)  
Distile Su Cihazı (Millipore)  
Otomatik Pipetler (Eppendorf)  
Hassas Terazı (Setra Model 2000L)  
Manyetik Karıştırıcı (Heidolph)  
Mezür (100'lük ve 1000'lik)  
Falkon Tüpü (50'lik)  
Eppendorf (1.5 ml'lik)  
EDTA'lı tüp (Vakukep)  
DNA Robotik İzolasyon Cihazı ( MagNA Pure Compact Roche)

### **3.3.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Kitler**

DNA Ekstraksiyon Kiti (MagNa Pure Compact Nucleic Acid Isolation Kit 1)  
LightMix Kit ApoE C112R R158C (Tıb Molbiol)  
Agaroz (Lonza SeaKem)  
DNA Ladder (Thermo)  
Borik Asit (Sigma)  
Enjektörlük Bidistile Su (Organon)  
Etidyum Bromid (Applichem)  
6X Jel yükleme tamponu (Sigma)

1 × TE (Tris Edta) (pH 8.0) (Promega p/n V6231)  
 Distile Su  
 Taq DNA Polimeraz (Vivantis)  
 dNTP seti (Vivantis)  
 10XPZR Buffer S (vivantis)  
 MgCl<sub>2</sub> (Vivantis)  
 NlaIII Restriksiyon Enzimi (Thermo)  
 Agaroz (Life Tech)  
 DMSO (Tıb Molbiol)  
 2XProbe Master Mix (Roche)  
 Probe 32XApo E112/158 (Tıb Molbiol)  
 IL-6 -174 C/G Polimorfizmi Forward Dizisi  
 IL-6 -174 C/G Polimorfizmi Reverse Dizisi

### 3.4. Yöntemler

#### 3.4.1. Periferik Kan Örneklerinden DNA Elde Edilmesi

Çalışmamızda olgu ve kontrol grubu periferik kan örneklerinden DNA eldesinde ‘MagNA Pure Compact’ ekstraksiyon robotu ve ‘MagNA pure Compact Nucleic Acid Isolation Kit’ kullanılmıştır.

Temel olarak 5 bölümden oluşan bu robotik sistemde ilk aşama ‘parçalama’ aşamasıdır. Bu aşamada tam kandaki lökositler parçalanır ve DNA hücre dışına çıkmış olur. İkinci aşama, bu açığa çıkan DNA’ya bağlanması için manyetik boncukların eklendiği ‘bağlanma’ aşamasıdır. Üçüncü aşama olan ‘yıkama’ aşamasında tekrarlayan yıkamalar ile manyetik boncuklara bağlanan istenmeyen nükleik asitler, tuzlar ve diğer moleküller uzaklaştırılır. Tekrarlayan yıkamalardan sonra temizlenen nükleik asitlerin manyetik boncuklardan ayrıldığı ‘ayırma’ aşaması dördüncü aşamadır. Son aşama olan ‘DNA eldesi’nde de manyetik bilyelerden ayrılmış olan nükleik asit eldesi tamamlanmış olur.

Periferik kan örnekleri için robotik sistemdeki üretici firmanın protokolü aynen uygulanmıştır. Periferik kan örnekleri direkt olarak robotik sisteme yüklenmiştir. ‘Sample Volume’ 400 mikrolitre, ‘Elution Volume’ 200 mikrolitre olarak ayarlanmış ve ‘DNA Isolation Blood’ protokolü seçilmiştir. Robotik sistemde

proteinaz K, yıkama solüsyonları ve DNA'yı tutmak için manyetik boncukların ve pipetaj için boş kuyucukların bulunduğu bir kartuş sistemi, pipet uçlarının yerleştirilmesi için tablalar, örnek ve elüsyon tüpleri için bir rak bulunmaktadır. Robotik sisteme kartuş ve pipet uçları yerleştirilip örnek ve elüsyon tüpleri koyulduktan sonra bütün işlemler otomatik olarak gerçekleştirilmiştir. İşlem yaklaşık 25-30 dk sürer. İşlem tamamlandıktan sonra elde edilen DNA örnekleri kullanılıncaya kadar -20 derecede saklanır.

### 3.4.2. Genomik DNA'nın Niceliksel ve Niteliksel Analizi

Çalışmamızın başarısı için genomik DNA'nın (gDNA) niceliksel ve niteliksel değerlendirmesinin doğru biçimde yapılması son derece önemlidir. Yüksek kalitede gDNA karbohidratlar, proteinler ve organik çözücüler gibi atıklardan arınmış olmalı ve minimal degradasyona uğramış olmalıdır. gDNA konsantrasyonunun ve saflığının değerlendirilmesi için NanoDrop ND-1000 UV-VIS Spektrofotometresi kullanılmıştır:

- NanoDrop Program menüsünden Nükleik Asit Ölçümü seçildikten sonra örnek tipi DNA-50 olarak ayarlanmıştır.

- Cihazın ölçüm ayarını sıfırlamak için elüsyon tamponundan 1.5 µL kullanılmıştır.

- Her gDNA örneğinden 1.5 µL kullanılarak her örneğin DNA konsantrasyonu ölçülmüştür. Ürün miktarları aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanmıştır:

$$\text{Ürün } (\mu\text{g}) = \frac{\text{DNA konsantrasyonu (ng/}\mu\text{L)} \times \text{Örnek Hacmi } (\mu\text{L})}{1000 \text{ ng/} \mu\text{g}}$$

- Yüksek kalitedeki gDNA'nın A260/A280 oranı 1.8-2.0 arasında olması kontamine proteinlerin yokluğuna işaret etmektedir, dolayısı ile A260/280 oranı kaydedilmiştir.

### 3.5. Apolipoprotein E Gen Polimorfizminin Belirlenmesi

Real Time Polimeraz Zincir Reaksiyonu (RT-PZR) yöntemi (DNA'nın amplifikasyonu ile elde edilen ürünün ışımadaki artışın gerçek zamanlı olarak

izlendiği yöntem) ile amplifikasyon aşamasından sonra oluşan PZR ürünlerinin ayrıntılı erime eğrisi analizi ile gen polimorfizmi belirlenmiştir.

Apolipoprotein E gen polimorfizmi saptanırken hibridizasyon prob yöntemi kullanılmıştır. Bu yöntem, tespit edilmek istenen bölgeye spesifik proplar kullanılarak o bölgeye propların bağlanmasıyla ortaya çıkan ışımanın ölçülmesi esasına dayanır ve DNA'nın amplifikasyonu ile elde edilen ürünün ışımasındaki artış gerçek zamanlı olarak izlenerek oluşan PZR ürünlerinin ayrıntılı erime eğrisi analizi ile gen polimorfizmi belirlenir.

### 3.5.1. Apolipoprotein E Gen Polimorfizminin RT-PZR Hibridizasyon Probu yöntem ile LightCycler Cihazında Belirlenmesi

Çalışmamızda Apo E gen polimorfizmini belirlemek için, hibridizasyon prob yöntemi ile ölçülen ticari (LightMix Kit ApoE C112R R158C Tıp Molbiol) kiti ile Roche LightCycler cihazı kullanılmıştır.

Her bir cam kapiller tüpe toplam 15 µl master mix ve 5 µl gDNA eklenir. Santrifüjde hızlı bir şekilde santrifüj edildikten sonra LightCycler cihazına yerleştirilir. Analiz programından uygun denatürasyon, amplifikasyon, erime eğrisi ve soğutma program değerleri seçilerek işlem başlatılır.

Tablo 3.1. Apolipoprotein E Real-Time PZR Master Mix Karışımının Hazırlanması.

İçerik	Hacim(µl)
Steril ddH <sub>2</sub> O	6,2
MgCl <sub>2</sub>	1,6
Apo E Belirteç Karışımı	4
Dimetil Sülfoksit (DMSO)	1,2
FastStart DNA Master HybProbe	2
DNA Miktarı	5
<b>Toplam Hacim</b>	<b>20</b>

Tablo 3.2. Apolipoprotein E Denatürasyon Program Protokolü.

Siklus Sayısı	1
Analiz Modu	Denatürasyon
Segment	1
Hedef Sıcaklık, °C	95
İnkübasyon Zamanı, sn	600
Sıcaklık Geçiş Oranı, °C/sn	4,4
Belirleme Modu	Yok

Tablo 3.3. Apolipoprotein E Amplifikasyon Program Protokolü.

Siklus Sayısı	45		
Analiz Modu	Ölçme		
Segment	1	2	3
Hedef Sıcaklık, °C	95	60	72
İnkübasyon Zamanı, sn	5	10	15
Sıcaklık Geçiş Oranı, °C/sn	4,4	2,2	4,4
Belirleme Modu	Yok	Tek	Yok

Tablo 3.4. Apolipoprotein E Erime Eğrisi Program Protokolü.

Siklus Sayısı	1		
Analiz Modu	Erime Eğrisi		
Segment	1	2	3
Hedef Sıcaklık, °C	95	40	85
İnkübasyon Zamanı, sn	20	20	0
Sıcaklık Geçiş Oranı, °C/sn	4,4	1,5	-
Belirleme Modu	Yok	Yok	Sürekli

Tablo 3.5. Apolipoprotein E Soğutma Program Protokolü.

Siklus Sayısı	1
Analiz Modu	Soğutma
Hedef Sıcaklık, °C	40
İnkübasyon Zamanı, sn	30
Sıcaklık Geçiş Oranı, °C/sn	1,5

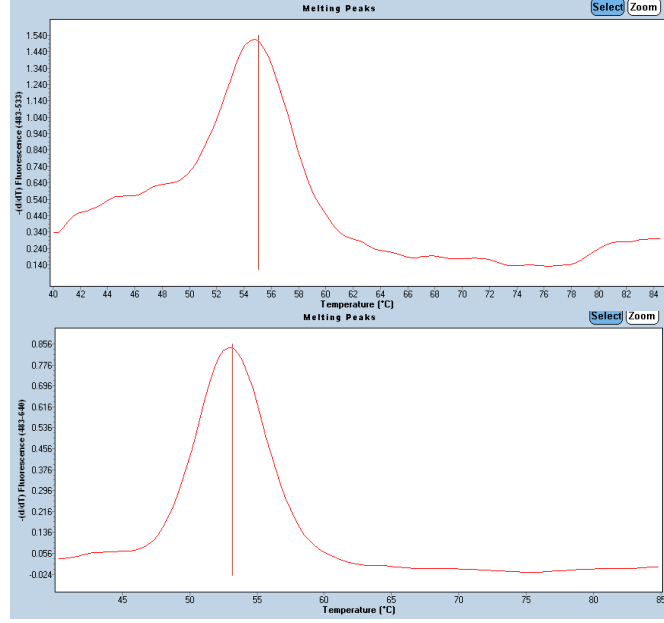
### 3.5.2. Verilerin Değerlendirilmesi

Veri sonuçları 530 nanometre (nm) ve 640 nm dalga boyunda değerlendirilir. 530 nm dalga boyunda 112. kodondaki polimorfizm tespit edilmektedir. 112. kodon *wild type* (yabani tip) genotipe sahip olması durumunda yani sistein (C) aminoasiti bulunuyorsa erime değeri (Tm) değeri 55°C olmaktadır. Eğer *wild type* genotipe sahip değil ise, yani arjinin (R) aminoasiti mevcut ise Tm değeri 64°C olmaktadır.

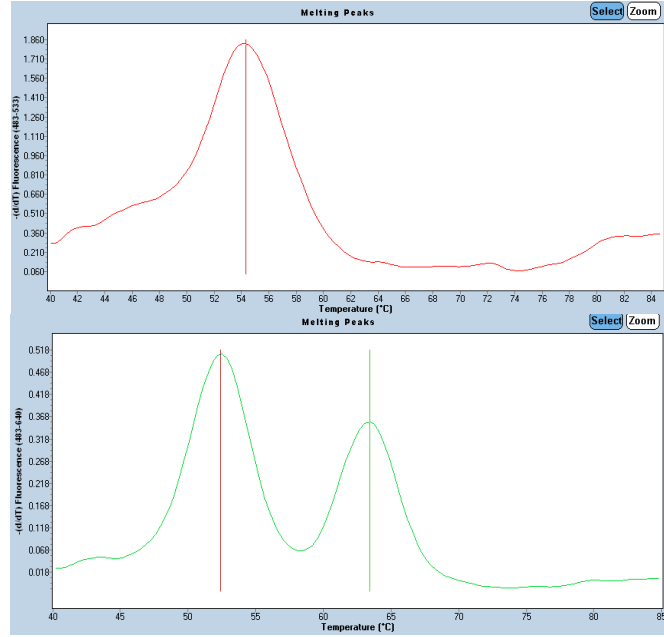
Heterozigot genotip durumunda ise her iki sıcaklıkta da Tm değeri elde edilir. 640 nm dalga boyunda 158. kodondaki polimorfizm tespit edilmektedir. 158. kodon *wild type* genotipe sahip olması durumunda yani arjinin aminoasiti bulunuyorsa Tm değeri 63°C olmaktadır. Eğer *wild type* genotipe sahip değil ise, yani sistein aminoasiti mevcut ise Tm değeri 53°C olmaktadır.

Tablo 3.6. Apolipoprotein E Genotip Değerlendirme Tablosu.

	$\epsilon 2/\epsilon 2$	$\epsilon 2/\epsilon 3$	$\epsilon 2/\epsilon 4$	$\epsilon 3/\epsilon 3$	$\epsilon 3/\epsilon 4$	$\epsilon 4/\epsilon 4$
112 C (55°C-530 nm)	X	X	X	X	X	
112 R (64°C-530 nm)			X		X	X
158 C (53°C-640 nm)	X	X	X			
158 R (63°C-640 nm)		X	X	X	X	X

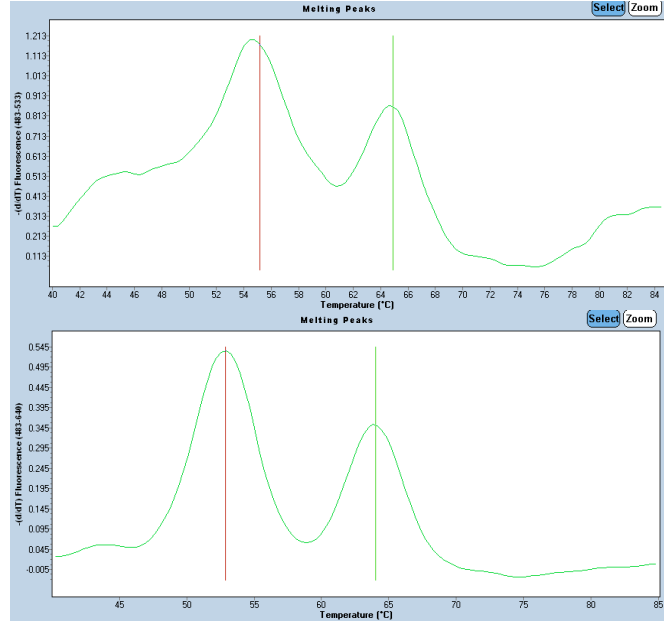


Şekil.3.1. Apolipoprotein  $\epsilon 2/\epsilon 2$  Görüntüsü.

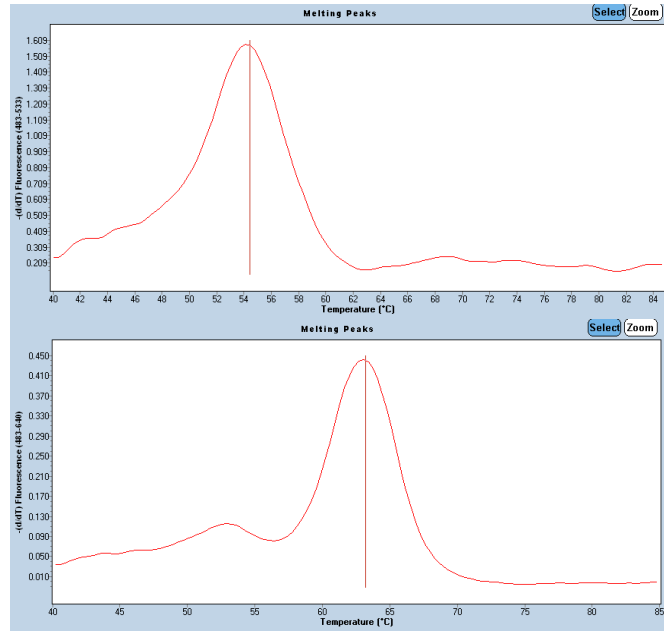


Şekil.3.2. Apolipoprotein  $\epsilon 2/\epsilon 3$  Görüntüsü.

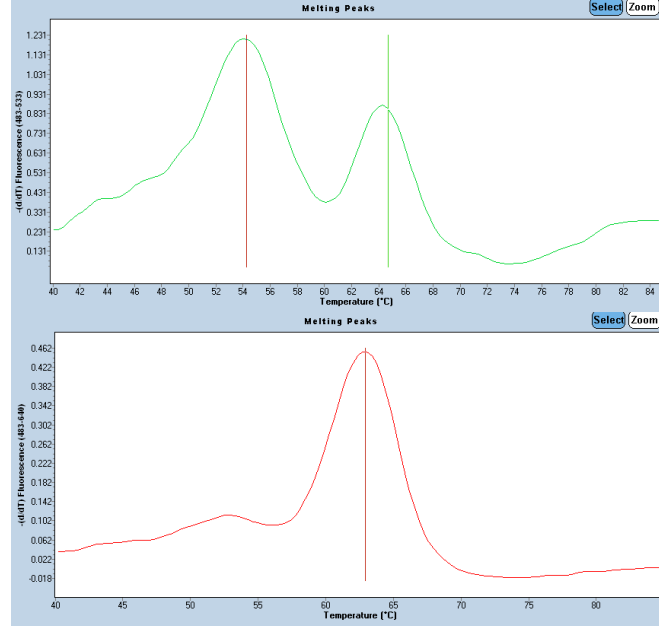




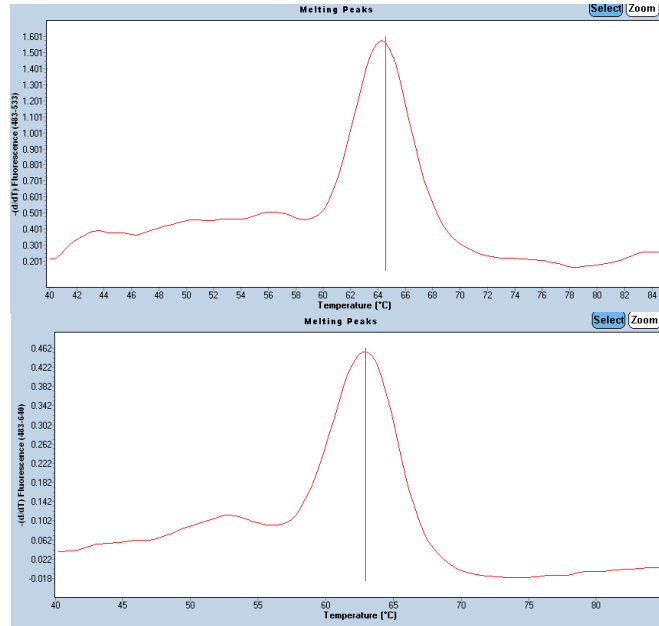
Şekil.3.3. Apolipoprotein  $\epsilon_2/\epsilon_4$  Görüntüsü.



Şekil.3.4. Apolipoprotein  $\epsilon_3/\epsilon_3$  Görüntüsü.



Şekil.3.5. Apolipoprotein ε3/ε4 Görüntüsü.



Şekil.3.6. Apolipoprotein ε4/ε4 Görüntüsü.

### 3.6. İnterlökin-6 -174 C/G Polimorfiminin RFLP Yöntemi ile Belirlenmesi

Deneyimizde PZR ile çoğaltılan DNA bölgesi restriksiyon enziminin kesimine tabi tutulmuştur. Temel mekanizması, polimorfik değişimlerin enzimin kesim noktasını ortadan kaldırması ya da yeni bir kesim noktası oluşturması ve buna bağlı olarak da fragment sayısı ve uzunluğunu değiştirmek olan RFLP deneyimizde,

kesim sonucu oluşan DNA fragmentlerinin jel elektroforezinde yürütülmesiyle genotiplendirme yapılmıştır.

### 3.6.1. %2'lik Agaroz Jel Hazırlanması

Hassas terazide tartılan 2.25 gr agaroz bir beher içinde 1XTBE solusyonu ile 112.5 ml'ye tamamlanmış ve mikrodalga fırında %100'lük güçten %70'lik güce düşürülerek 3 dakika kaynatılmıştır. Kaynamış çözeltinin içine %7'lik etidyum bromür eklenerek, tarakları yerleştirilmiş jel küvetine dökülmüş ve jelin soğuyarak hazır hale gelmesi için bir saat beklenmiştir. Hazır hale gelen jelden yükleme kuyucukları oluşturmak için yerleştirilmiş olan taraklar dikkatlice çıkarılmış ve jel deneyde kullanılmak üzere +4°C'de saklanmıştır.

### 3.6.2. 20XTBE Stok Solüsyon Hazırlanması

Hassas terazide tartılan 7.44 gr EDTA (20mM), 121 gr Tris (1M) ve 61.7 gr borik asit (1M) toplam hacim 1000 ml'ye tamamlanarak distile su içinde çözündürülmüştür.

### 3.6.3. İnterlökin-6 -174 C/G Polimorfizmi İçin Yapılan PZR Reaksiyonu

- İlgili gen bölgesini çoğaltmada kullanılan primerlerin nükleotid dizisi aşağıdaki tabloda gösterilmiştir.

Tablo 3.7. İnterlökin-6 Polimorfizmi İçin Kullanılan Forward ve Reverse Diziler.

Forward	ATGCCAAGTGCTGAGTCACTA
Reverse	TCGAGGGCAGAATGAGCCTC

- PZR bileşenleri aşağıdaki tabloda gösterilmiştir.

Tablo 3.8. İnterlökin-6 Polimorfizmi İçin Kullanılan PZR Bileşenleri.

Bileşenler	Miktar (µl)
10XPZR Buffer S	5 µl
dNTP Mix	0,4 µl
Forward ve Reverse Primerler	5 µl
Taq Polimeraz	0,1 µl
DNA	5 µl

- PZR işlemi için uygun koşullar aşağıda gösterilmiştir.

Tablo 3.9. PZR Koşulları.

Evre	Sıcaklık (°C)	Süre (sn)
İlk Tam Denatürasyon	95	120
<b>PZR Döngüsü</b>		
Denatürasyon	96	30
Bağlanma Isısı	58	30
Sentez Isısı	72	30
Son Uzama Sentez Isısı	72	420
Döngü Sayısı	30	

#### 3.6.4. Restriksiyon Enzimi

NlaIII restriksiyon enzimi (Thermo) (5 U/μl), 10X Buffer G ile birlikte kullanıldı. Enzimin tanıdığı dizi ve kesim yeri aşağıda gösterilmiştir.



#### 3.6.5. Restriksiyon Enzimi ile Kesim İşlemi

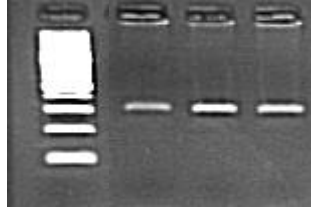
Bileşenler Tablo 3.8' de belirtilen miktarlarda kullanılarak, kesim işlemi, enzim için optimum sıcaklık olan 37 °C ve 16 saatlik inkübasyon süreci sonunda gerçekleştirilmiştir.

Tablo 3.10. Restriksiyon Enzimi İçin Kesim Protokolü.

Bileşenler	Miktar (μl)
PZR Ürünü	10
Buffer	2
NlaIII Restriksiyon Enzimi	1,5
ddH <sub>2</sub> O	18

### 3.6.6. Kesim Ürünlerinin Kontrolü

Ürünün tamamı alınıp, üzerine 6X'lik yükleme tamponundan 2.5 µl eklenerek pipetaj yapılarak karıştırılmış ve jeldeki kuyucuklara sırayla yüklenmiştir. Her jelin ilk kuyusuna 100 bç marker yüklenmiş olup, tüm kuyucuklara yükleme işlemi yapıldıktan sonra elektrodlar takılarak 40 dk süreyle, 80 mili amper, 90 Volt (V)'luk akım ile jelde yürüme işlemi sağlanmıştır. Elektroforez işlemi tamamlandıktan sonra jel görüntüleme ve dökümantasyon sistemi (Gene Genius) kullanılarak inceleme yapılmıştır. PZR ürünlerinin uzunlukları ve koyulukları ilk kuyucuğa eklenen marker ile karşılaştırılmıştır.



Şekil 3.7. PZR Ürününün Agaroz Jelde Kontrol Görüntüsü.

### 3.7. Araştırma Planı ve Takvimi

Araştırmanın plan ve takvimi Tablo 3.11' de gösterilmiştir.

Tablo 3.11. Araştırma Planı ve Takvimi.

Başlıca Aşamalar	Ayrıntılı Bilgi	Zamanlama
Nörolojik Değerlendirme ve Tanı	ESOGÜ Tıp Fakültesi Çocuk Nörolojisi BD tarafından değerlendirilip serebral palsi tanısı alan olguların nörolojik değerlendirmelerinin yapılması.	1 - 6
Sarf Malzemelerinin Temin Edilmesi	Amaçlara uygun sarf malzemelere ilişkin tekliflerin alınarak teknik şartnameye uygun olanların seçilmesi.	1 - 3
Kontrol Grubu Seçimi	Herhangi bir nörolojik hastalık tanısı almamış çocuklar kontrol grubu olarak seçilebilir.	1 - 6
Kontrol ve Olgu Grubunun Onam Formlarının Alınması	Çalışmanın detaylı olarak anlatılarak "Hasta Onam Formlarının" alınması.	1 - 6
Örneklerin Toplanması ve DNA İzolasyonlarının Yapılması	Kan örneklerinin toplanması ve toplanan kan örneklerinden DNA izolasyonunun yapılması.	6 - 9
Örneklerin Kontrollerinin Yapılması	İzole edilen DNA örneklerinin spektrofotometrik yöntemle kalite ve miktar kontrolünün yapılması.	6 - 9
Moleküler Analizlerin Yapılması	DNA izolasyonu yapılan kan örneklerinden PCR-RFLP analizlerinin yapılması ve sonuçlarının değerlendirilmesi.	9 - 12
Sonuçların Değerlendirilmesi ve Hasta Analiz Sonuçlarını Raporlandırma	İstatistik analizler, sonuçların yorumlanması, olgu ve kontrol grubu karşılaştırması, sonuçların literatür ile karşılaştırılması, hasta analiz sonuç raporlarının yazımı, teslimi.	12 - 15
Bilimsel Araştırma Projesinin Sonuçlandırılması ve Projenin Araştırmacılar Tarafından Değerlendirilmesi	Tüm araştırmacıların katılımıyla projenin değerlendirilmesi, proje sonuç raporunun yazılması ve araştırma sonuçlarının makale haline getirilmesi.	15 - 18
Proje Aşamalarının Takibi	Proje aşamalarının hedeflenen şekilde ve zamanda tamamlanmasının denetimi.	1 - 18

### 3.8. Araştırma Verilerinin İstatiksel Analizi

Apolipoprotein E ve IL-6 polimorfizmlerinin hasta ve kontrol gruplarındaki allel dağılımları, SP gelişimi ve ek bulguların görülmesi açısından olası riskleri lojistik regresyon analizi (çoklu değişken analizi) kullanılarak hesaplanmıştır. Tüm analizler için SPSS 21 paket versiyonu kullanılmıştır. Sürekli değişkenlerin normal dağılıma uygunluğu Shapiro-Wilk testi ile araştırılmıştır. Normal dağılıma uymayan (sadece yaş) iki grup arasındaki karşılaştırma Mann-Whitney U testi ile araştırılmıştır. Sürekli değişkenlere ilişkin özet değerler medyan (Q1-Q3) ya da ort ± standart sapma olarak verilmiştir. Kategorik değişkenler arası ilişki ki kare analizi ile araştırılmıştır. Kategorik değişkenler frekans ve yüzde olarak gösterilmiştir. Uygulanan istatiksel analizlerde anlamlılık değer olarak  $p < 0,05$  kabul edilmiştir.

## 4. BULGULAR

### 4.1. Araştırma Verilerinin İstatiksel Analizi

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakóltesi Hastanesi Çocuk Nörolojisi Bilim Dalı'nda değerlendirilip SP tanısı alan hastalar olgu grubunu oluşturmaktadır. Kontrol grubu ise herhangi bir nörolojik hastalığı olmayan sağlıklı çocuklardan oluşmaktadır.

Olguların, cinsiyet, yaş, anne doğum yaşı, gestasyonel yaş, doğum ağırlığı, doğum baş çevresi, güncel baş çevresi, perinatal dönem bulguları (acil sezaryen, pre-eklampsi, mekonyum aspirasyonu, asfiksi), SP'ye eşlik eden bulguları (konvülsiyon, görme problemi, konuşma-işitme problemleri, öğrenme-davranışsal problemler), GMFCS düzeyi, SP alt tipi ve MRG bulguları olgular için hazırlanmış olan SP hasta değerlendirme formundan temin edilmiştir. Kontrol olguların, cinsiyet, yaş, anne doğum yaşı, gestasyonel yaş, doğum ağırlığı, doğum baş çevresi, güncel baş çevresi kontrol grubu için hazırlanmış değerlendirme formundan temin edilmiştir.

Tablo 4.1. Serebral Palsi Hasta Değerlendirme Formu.

**ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ HASTANESİ**

Tıbbi Genetik AD - Çocuk Nörolojisi BD

**SEREBRAL PALSİ HASTA DEĞERLENDİRME FORMU**

<b>Adı-Soyadı/Dosya Numarası</b>	
<b>Cinsiyeti</b>	Erkek Kız
<b>Yaşı</b>	
<b>Telefon Numarası 1</b>	
<b>Telefon Numarası 2</b>	
<b>Adres</b>	

<b>Annenin Doğum Yaşı</b>	<35	≥35	
<b>Gestasyonel Hafta</b>	<37	≥37	
<b>Doğum Ağırlığı</b>	≤2000 g	2000-3500 g	≥3500 g
<b>Doğum Baş Çevresi</b>	Mikro	Normo	Makro
<b>Güncel Baş Çevresi</b>	Mikro	Normo	Makro

<b>Perinatal Dönem</b>	<b>SP ye eşlik eden</b>
Acil Sezaryen	Konvülsiyon
Pre-Eklampsi	Görme Problemi
Mekonyum Aspirasyonu	Konuşma-İşitme Problemi
Asfiksi	Öğrenme-Davranışsal Problemler

<b>GMFCS Düzeyi</b>	1	2	3	4	5
---------------------	---	---	---	---	---

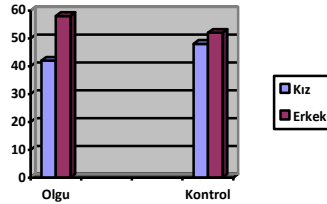
<b>SP Alt Tip</b>	Spastik Bilateral	Spastik Unilatarel	Ataksik	Distonik Diskinetik	Koreatotik Diskinetik	Sınıflanamayan
-------------------	-------------------	--------------------	---------	---------------------	-----------------------	----------------

<b>MRG Bulguları</b>	
----------------------	--



#### 4.2. Olgu ve Kontrol Gruplarına Ait Bulgular

Çalışmaya katılan 78 olgu ve 60 kontrol, toplam 138 çocuğun 76'sı (%55) erkek, 62'si (%45) kızdır. Çalışmaya katılan 78 olgunun, 45'i (%58) erkek, 33'ü (%42) kızdır. Çalışmaya katılan kontrol grubundaki 60 çocuğun, 31'i (%52) erkek, 29'u (%48) kızdır. Olgu ve kontrol grubundaki çocuklarda cinsiyet dağılımı açısından anlamlı bir fark bulunmamaktadır.



Şekil.4.1. Olgu ve Kontrol Grubuna Ait Cinsiyet Dağılımı.

Olgu ve kontrol grubuna ait yaş dağılımının geniş bir yelpazede olması nedeniyle aritmetik ortalama yerine ortanca değeri kullanılması istatistiksel olarak daha anlamlı bulunmuştur. Hasta grubunun ortanca değeri 6 yaş, kontrol grubunun ortanca değeri 5 yaş olarak bulunmuştur.

Olgu ve kontrol grubuna ait anne doğum yaşı, gestasyonel yaş, doğum ağırlığı, doğum ve güncel baş çevresi verileri tablolarda gösterilmiştir. Bu parametrelerden anne doğum yaşı ve gestasyonel yaş için gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır. Doğum ağırlığı, doğum ve güncel baş çevresi parametleri için olgu ve kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmiştir. Doğum ağırlığı 2000 gr altı olan bebeklerde, 3500 gr üstü olan bebeklere göre SP olma riski 6.4 kat artmış olarak bulunmuştur.

Tablo 4.2. Olgu ve Kontrol Grubuna Ait Annenin Doğumdaki Yaş Dağılımı.

Annenin Doğumdaki Yaşı	<35	≥35
Olgu	%93	%7
Kontrol	%83	%17

Tablo 4.3. Olgu ve Kontrol Grubuna Ait Gestasyonel Yaş Dağılımı.

<b>Gestasyonel Yaş</b>	<b>&lt;37</b>	<b>≥37</b>
<b>Olgu</b>	%74	%26
<b>Kontrol</b>	%71	%29

Tablo 4.4. Olgu ve Kontrol Grubuna Ait Doğum Kilosu Dağılımı.

<b>Doğum Kilosu</b>	<b>&lt;2000</b>	<b>≤2000-3500</b>	<b>≥3500</b>
<b>Olgu</b>	%41	%46	%13
<b>Kontrol</b>	%12	%65	%23

Tablo 4.5. Olgu ve Kontrol Grubuna Ait Doğum Baş Çevresi Dağılımı.

<b>Doğum Baş Çevresi</b>	<b>Mikro</b>	<b>Normo</b>	<b>Makro</b>
<b>Olgu</b>	%31	%68	%1
<b>Kontrol</b>	%5	%92	%3

Tablo 4.6. Olgu ve Kontrol Grubuna Ait Güncel Baş Çevresi Dağılımı.

<b>Doğum Baş Çevresi</b>	<b>Mikro</b>	<b>Normo</b>	<b>Makro</b>
<b>Olgu</b>	%31	%67	%2
<b>Kontrol</b>	%0	%90	%10

Olgu grubunda değerlendirilen 78 hastanın 38'inde (%49) perinatal dönem bulgularından en az birine rastlanılmıştır. Perinatal dönem bulgularından acil sezaryen bulgusu hastaların %31'inde, pre-eklampsi %6'sında, mekonyum aspirasyonu %1'inde, asfiksi %30'unda gözlenmiştir.

Olgu grubunda değerlendirilen 78 hastanın 70'inde (%90) SP'ye eşlik eden en az bir bulguya rastlanılmıştır. Serebral palsiye eşlik eden bulgulardan konvülsiyon hastaların %62'sinde, görme sorunları %39'unda, konuşma ve işitme problemleri %54'ünde, öğrenme problemleri %53'ünde gözlenmiştir.

Olgu grubundaki bireylerin matür ya da prematür olması SP'ye eşlik eden problemlerden görme sorunları ile istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki göstermiştir.

Olgu grubundaki bireylerin matür ya da prematür olması SP alt tipleri arasından spastik tip ile istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki göstermiştir.

Hastaların GMFCS seviyeleri incelendiğinde, seviye 2 %18, seviye 3 %9, seviye 4 %11, seviye 5 %62 oranında gözlenmiştir. Hastaların GMFCS seviyeleri arttıkça eşlik eden bulgulardan sadece konuşma-ışitme bulgusunun eşlik etme oranı istatikselsel olarak anlamlı düzeyde artmış olarak bulunmuştur.

Olgu grubunda değerlendirilen SP alt tipi dağılımı; spastik bilateral %64, spastik unilateral %32, ataksik %2, distonik diskinetik %1, sınıflanamayan %1 şeklinde gözlenmiştir. Olgu grubunda koreatotik diskinetik alt tipe rastlanmamıştır.

Olgu grubundaki MRG bulguları; %65 PVL, %5 myelinizasyon sorunları, %15 serebral atrofi, %15 kortikal displazi şeklinde gözlenmiştir.

Apolipoprotein E genotipi değerlendirmesinde,  $\epsilon 2$  alleleline kontrol grubunda %20, hasta grubunda %40 oranında rastlandı ve bu durum istatikselsel olarak anlamlıydı.

Apolipoprotein E genotipi değerlendirmesinde,  $\epsilon 3$  alleleline kontrol grubunda %97, hasta grubunda %67 rastlandı ve bu durum istatikselsel olarak anlamlıydı.

Apolipoprotein E genotipi değerlendirmesinde,  $\epsilon 4$  alleleline kontrol grubunda % 18, hasta grubunda %42 oranında rastlandı ve bu durum istatikselsel olarak anlamlıydı.

Apolipoprotein  $\epsilon 2$  allelini taşıyanların taşımayanlara göre 2,64 kat,  $\epsilon 4$  allelini taşıyanların taşımayanlara göre 3,27 kat SP için risk taşıdığı tespit edilmiştir. Apolipoprotein  $\epsilon 3$  allelini taşımayanların taşıyanlara göre 14,5 kat SP için risk taşıdığı tespit edilmiştir.

Tablo 4.7. Olgu ve Kontrol Grubu Apo E Genotip Dağılımı.

Genotip	$\epsilon 2/ \epsilon 2$	$\epsilon 2/ \epsilon 3$	$\epsilon 2/ \epsilon 4$	$\epsilon 3/ \epsilon 3$	$\epsilon 3/ \epsilon 4$	$\epsilon 4/ \epsilon 4$
Olgu	2(%3)	6(%8)	23(%29)	38(%49)	8(%10)	1(%1)
Kontrol	0(%0)	12(%20)	0(%0)	37(%62)	10(%17)	1(%1)

İnterlökin-6 -174 C/G polimorfizmi için yapılan değerlendirmede, C ve G allelini taşıma yönünden iki grup arasında istatikselsel olarak bir fark saptanmamıştır.

İnterlökin-6 -174 C/G polimorfizmi için yapılan değerlendirmede, CC, CG, GG genotipine sahip olma yönünden iki grup arasında istatikselsel olarak bir fark saptanmamıştır.

Serebral palsi değerlendirme formunda yer alan tüm veriler, Apo E ve IL-6 polimorfizmi ile hasta ve kontrol grupları arasında ya da hasta grubu içinde karşılaştırmalı olarak değerlendirilmiştirtir. Yapılan değerlendirme sonuçlarında polimorfizmler ile GMFCS seviyesi, SP alt tip dağılımı, SP'ye eşlik eden bulgular ve MRG bulguları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmemiştirtir. Apolipoprotein  $\epsilon$ 4 allelini taşıyan hastalarda,  $\epsilon$ 4 allelini taşımayan hastalara göre perinatal dönem bulgularından pre-eklampsi ile ilgili istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmiştirtir. Apolipoprotein  $\epsilon$ 4 ya da  $\epsilon$ 2 allelini taşıyan hasta grubunda  $\epsilon$ 3 allelini taşıyan hasta grubuna göre perinatal dönem bulgularından acil sezaryen görülme oranı istatistiksel olarak anlamlı ve daha fazla bulunmuşturtir.

## 5.TARTIŞMA

Çalışmamıza Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Çocuk Nörolojisi Polikliniği'ne Aralık 2014-Aralık 2015 tarihleri arasında başvuran, poliklinik değerlendirmesi sonucu SP tanısı alan 78 olgu dahil edilmiştir.

### 5.1. Çalışmamıza Ait Etiyolojik, Epidemiyolojik, Demografik ve Klinik Verilerin Literatür ile Karşılaştırılması

Serebral palsy, gelişim döneminde olan beyinde preterm, term ve postterm zedelenme sonucu gelişen, progresif olmayan ancak yaşla birlikte değişim gösterebilen, hareketi kısıtlayıcı kalıcı motor işlev kaybı, postür ve hareket bozukluğudur (13). Hastalığın görülme sıklığı özellikle bölgenin sosyal ve ekonomik gelişmişlik düzeyine göre farklılık göstermekle birlikte gelişmiş ülkelerde yaklaşık olarak 1000 canlı doğumda 2 olarak bildirilmektedir (19-24).

Ülkemizde yapılan araştırmalarda, Gürbüz ve ark. (122) tarafından yapılan çalışmada vakaların %58'i erkek, %42'si kız ve erkek/kız oranı 1.40, Erkin ve arkadaşlarının (27) yaptıkları çalışmada vakaların %59'u erkek, %41'i kız ve erkek/kız oranı 1.45, Okan ve arkadaşlarının (123) çalışmasında vakaların %61'i erkek, %39'u kız ve erkek/kız oranı 1.56 olarak bulunmuştur. İlimizde serebral palsy ile yapılan 2012 yılına ait bir çalışmada (124) erkek/kız oranı 1.3 olarak bulunmuştur. Çalışmamıza katılan olguların %58'i erkek, %42'si kız ve erkek/kız oranı 1.36 olarak tespit edilmiştir, bu anlamda çalışmamız literatür ile uyumludur.

Doğum ağırlığı azaldıkça SP gelişim risk oranı artmaktadır (33). Norveç, İskoçya ve İzlanda'da yapılan çalışmalarda hastaların %47-56'sının doğum ağırlığı 2500 gr'ın altında olduğu gözlenmiştir (20,22,125). Çalışmamızda doğum ağırlığı alt sınırı 2000 gr ve altı olarak dizayn edilmiş ve bu oran %41 olarak bulunmuştur. Literatürde bu konuyla ilgili yapılan çalışmalar çoğunlukla gen polimorfizminden bağımsız SP ile doğum ağırlığı ilişkisini araştıran çalışmalardır. Wu ve ark. (10) tarafından IL-6 polimorfizmi ve SP ilişkisini araştıran çalışmada ise doğum ağırlığı değer aralığı 2000 gr ve altı olarak seçilmiştir. Çalışmamızın dizayn olarak Wu ve ark. (10) tarafından yapılan çalışmaya benzer özellikler taşıması nedeniyle doğum ağırlığı değer aralığı alt sınırı 2000 gr ve altı olarak seçilmiştir, dolayısıyla

oranımızın literatürden düşük olmasının nedenini değer aralığımızın daha düşük bir düzey olarak belirlenmesinden kaynaklandığı düşüncesindeyiz.

Serebral palsili hastalar beyin gelişimi açısından incelendiğinde mikrosefali beklenen bir bulgudur (125). Serebral palsili olgularda, Kabakuş ve ark. (52) tarafından yapılan araştırmada %32, Kuroda ve ark. (1) tarafından yapılan araştırmada ise %21 oranında mikrosefali gözlenmiştir. Bizim çalışmamızda bu oran %31 olup ülkemiz literatür verileri ile uyumludur.

Serebral palside konuşma ve işitme sorunları beyin ve sinir sistemindeki gelişim defektlerine bağlı olarak sık gözlenmektedir. Konuşma ve işitme sorunlarının sıklığı literatürde %28-60 oranlarında bildirilmiştir (20,126,127). Bizim çalışmamızda konuşma ve işitme sorunları %54 oranında bulunmuş ve literatür ile uyumlu olarak değerlendirilmiştir.

Serebral palsili hastalarda gözlenen bir başka sorun da görme sorunlarının tespit ve tedavisidir. Bu sorunun çözümü hastaların günlük yaşamdaki aktiviteleri için değer taşımakta, ek olarak verilen fizik tedavi, özel eğitim ve rehabilitasyon gibi programlardaki başarılarını artırmaktadır (128). Literatüre bakıldığında görme problemlerinin %10-50 oranlarında SP'ye eşlik ettiği görülmüştür (6). Singhi ve ark. (129) tarafından yapılan çalışmada SP'li hastaların %41'inde görme problemleri olduğu bildirilmiştir. Bu oran bizim çalışmamızda %39 olarak bulunmuş ve literatür ile uyumlu olarak değerlendirilmiştir.

Konvülsiyon SP'li çocuklarda önemli bir sorundur ve SP'li olgularda %15-60 oranında gözlenmektedir (130). Bizim çalışmamızda bu oran %62 olarak tespit edilmiştir. Literatürün üst sınırına yakın olmamız hastanemizin üniversite hastanesi olması ve takip edilen hastaların daha komplike olgular olması ile açıklanabilir.

Öğrenme ve davranışsal problemler normal popülasyona göre SP'li çocuklarda daha sık gözlenmektedir. Yapılan çalışmalarda öğrenme ve davranışsal problemlerin görülme oranı %25 olarak tespit edilmiştir (131,132). Çalışmamızda bu oranı %53 olarak bulmamız takip edilen hastaların durumlarının komplike olması ve ek rehabilitasyon eğitimlerinin yetersiz olması ile açıklanabilir.

Beyin MRG, SP etiolojisinin belirlenmesinde kullanılan önemli bir yöntemdir. Ülkemizde ve dünyada yapılan çeşitli çalışmalarda SP'li çocukların %75-93'ünde MRG'de patoloji saptanmıştır (128,133,134). Bizim çalışmamızda bu

oran %98 olarak bulunmuştur, bu oranın literatürün üst sınırlarında olması, hastalarımızın büyük çoğunluğunun spastik grupta olması ve bu grupta MRG bulgularının sık görülmesi ile açıklanabilir. Beyin MRG’de, literatürdeki birçok çalışmada en sık saptanan patoloji; ilk sırada PVL, ikinci sırada da serebral atrofidir (135,136). Bizim çalışmamızda da %65 görülme oranıyla PVL ilk sırada, %15’lik oranı ile serebral atrofi ikinci sıradadır. Towsley ve ark. (137) tarafından yapılan çalışmada GMFCS seviyeleri ile MRG bulguları arasında ilişki tespit edilmiştir. Bizim çalışmamızda MRG bulguları ile GMFCS seviyeleri arasında herhangi bir ilişki saptanmamıştır. Tüm GMFCS seviyelerinde en sık gözlenen MRG bulgusu PVL idi. Bu çalışmada GMFCS seviyelerinin subjektif değerlendirmeye bağlı olması yanıltıcı olabilir.

Serebral palsi klinik sınıflamada, spastik, ataksik, diskinetik ve sınıflanmayan alt tiplere ayrılır ve bu tipler arasında en sık spastik tip gözlenmektedir (18). Literatürde bildirilen çalışmalarda, Dolk ve ark. (138) %94, Wichers ve ark. (139) %93.7 oranıyla spastik tipi en sık görülen SP tipi olarak belirtmişlerdir. Ülkemizde Öneş ve ark. (140) yaptığı çalışmada bu oran %89 olarak bulunmuştur. Bizim çalışmamızda bu oran %96 olup literatür ile uyumludur.

Serebral palsinin SCPE’ye göre yapılan sınıflamasında en sık spastik bilateral tip gözlenmektedir (18). Topp ve ark. (141) tarafından Danimarka’da yapılan çalışmada %65 ile spastik bilateral tip en sık gözlenen tip olmuştur. Ülkemizde İpek ve ark. (142) tarafından yapılan çalışmada da %67 oranı ile spastik bilateral tip en sık gözlenen alt tip olmuştur. Bizim çalışmamızda bu oran %64 olarak bulunmuş ve literatür ile uyumlu olarak değerlendirilmiştir.

Çalışmamızda perinatal dönem bulgularından asfiksiye hastaların %30’unda rastlanmıştır. Öneş ve ark. (140) 2008 yılında yaptığı çalışmada asfiksi için bu oranı %41 olarak bulunmuştur. Erkin ve ark. (27) tarafından yapılan çalışmada ise hastalarda asfiksi görülme oranı %35 olarak bulunmuştur. Perinatal dönem bulguları doğum şartlarını ve doğum sonrası bakımı yansıtmakta olup gelişmişlik ve bölgesel şartlar hakkında fikir vermesi anlamında değer taşımaktadır. Öneş ve ark. (140) tarafından yapılan çalışmadan daha düşük bir oran bulmamızı yıllar içinde gelişen perinatal bakım koşulları ile açıklamaktayız.

Serebral palsili hastalarımızın fonksiyonel durumlarını GMFCS'ye göre değerlendirdiğimizde %27'sinin seviye 1-2-3 de, %73'ünün seviye 4-5 de olduğu görülmüştür. Andersen ve ark. (20) tarafından yapılan çalışmada seviye 4-5 deki olguların %28 oranında olduğu görülmüştür. Bizim çalışmamızda seviye 4-5 deki olgularımızın daha fazla olmasını hafif düzeylerin takipten çıkması, üniversite hastanesi olmamız nedeniyle takip edilen hasta profili ve hastaların ikamet ettikleri bölgelerde uygulanan fizik tedavinin yetersiz olabileceği nedenleri ile açıklamaktayız.

## **5.2. Çalışmamıza Ait Polimorfizm Verilerinin Literatür ile Karşılaştırılması**

Son yıllarda mutasyon çalışmalarının yanı sıra gen polimorfizmlerinin, bazı hastalıklara olan yatkınlığı, hastalığın seyrini ve tedaviye cevabı değiştirebildiği görülmektedir. Bu polimorfizmlerin değişik populasyonlarda araştırılması önem kazanmıştır. Etiyolojisinde çeşitli genetik ve çevresel faktörlerin rol oynadığı nörogelişimsel bir hastalık olan SP ile ilgili de bu tip çalışmalar yapılmaktadır. Serebral palsy ile ilgili olarak yapılan çalışmalarda yoğunluk Apo E, IL-6, IL-8, IL-1, TNF-alfa ve MTHFR üzerine yoğunlaşmıştır. Biz de çalışmamızda Apo E gen polimorfizmi ve IL-6 promoter bölge polimorfizmi ile SP arasındaki ilişkiyi değerlendirmeyi amaçladık.

### **5.2.1. Çalışmamıza Ait APO E Genotipi Verilerinin Literatür ile Karşılaştırılması**

Bugüne kadar Apo E izoformlarının lipid metabolizması, kardiyovasküler hastalıklar, nörodejeneratif hastalıklar, parkinson, multiple skleroz, psöriazis ve alzheimer gibi hastalıklar ile ilişkisi ortaya konmuştur. Apolipoprotein E bu hastalıklar ile ilişkisini makrofaj fonksiyonlarını düzenleyerek, T hücre proliferasyonunu baskılayarak, kan beyin bariyeri ve kan sinir bariyerine integrasyon sağlayarak, düz kas hücresi proliferasyonunu inhibe ederek, platletlerden nitrik oksit üretimini artırarak ve natural killer hücelere CD1 aracılı lipid antijen sunumunu kolaylaştırarak sağlar (143-146).

Apolipoprotein E nörobiyolojide önemli roller oynamaktadır. Merkezi sinir sisteminin ana apolipoproteinlerinden biridir. Apolipoproteininin  $\epsilon 3$  ve  $\epsilon 2$  allelleri



hücrelerin yenilenmesinde ve normal faaliyetlerini devam ettirmesinde  $\epsilon 4$  allele göre daha etkilidir. Apolipoprotein E'nin izoformlarına özgü etkisi sinir hücrelerinde nörit uzaması üzerinde gösterilmiştir.  $\epsilon 3$  alleli nörit büyümesini teşvik ederken  $\epsilon 4$  allelinin inhibe ettiği gözlenmiştir.  $\epsilon 4$  allelinin nörit uzamasındaki inhibisyonunun, mikrotübül stabilizasyonu etkileyerek hücre iskeletinin değişimine yol açabilmesi ile ilgili olabileceği düşünülmüştür. Bu etkilerin mikrotübül stabilizasyon proteini olan Tau proteini nedeniyle kaynaklandığı düşünülmektedir.  $\epsilon 3$  alleli, mikrotübül stabilizasyon proteinine bağlanarak bu proteini hiperfosforilasyondan korur. Hiperfosforilasyon Tau'nun mikrotübül stabilizasyon yeteneğini inhibe eder (87). Apolipoprotein E'nin yukarıda sayılan nörobiyolojik ve nörogelişimsel görevleri sebebiyle bir nörogelişimsel hastalık olan SP ile ilişkili olabileceği öngörülmüş ve bazı allellerin serebral palsi ile ilişkili olabileceği hipotezi oluşturulmuştur.

Apolipoprotein E, lipid transportu ve kolesterol metabolizmasında, beyin gelişimi, sinaps onarımı ve travmayı takip eden nöronal hasara yanıtta rol oynamaktadır. Multipl sklerozda da demyelinizasyon patolojisinde rol oynayan mikrogial aktivasyonu baskıladığı, hidrojen peroksit toksisitesinin yanı sıra nitrik oksit yoluyla serbest oksijen radikal hasarı üzerinde etkili olduğu, lenfosit aktivasyonunu baskıladığı ve TNF-alfa salınımını baskıladığı kanıtlanmıştır. Multipl sklerozda Apo E'nin BOS'daki yoğunluğunun ve intratekal sentezinin azaldığı,  $\epsilon 4$  allelinin çok daha hızlı yetmezlik ilerleyişi ile ilgili olduğu ve daha yoğun doku yıkımı, daha az etkin doku tamiri ile ilişkili olduğu son yayınlarda belirtilmektedir. Remyelinizasyon sırasında fazla miktarda Apo E'ye ihtiyaç olduğu gösterilmiştir. Bu yüzden glial sentezde herhangi bir bozulma yavaş remyelinizasyona, daha fazla ve daha hızlı nöron dejenerasyonuna yol açabilir (147-153). Nöron dejenerasyonu ve sonrasındaki tamir süreçleri SP'nin prognozunda önemli yer tuttuğundan bu yolaktaki süreçlerin değişim göstermesi hastalığın progresyonu açısından önemlidir.

Apolipoprotein E, sinir sisteminde aktif mikrogialardan ve astrositlerden sentezlenir. Apolipoprotein  $\epsilon 4$ 'ün üç yönden zararlı etkisi olduğu düşünülmektedir. Bunlardan ilki amiloid  $\beta$  ( $A\beta$ ) üretimini artırmasıdır.  $A\beta$  bir transmembran glikoproteini olan amiloid öncü proteinden bir dizi proteolitik işlemde geçerek üretilir. Amiloid  $\beta$ , beyinde hücre dışı boşlukta senil plaklar olarak depolanır. Bu senil plak oluşumları ise beyinde alzheimer gibi bazı hastalıklarda gözlenmiştir.

Apolipoprotein  $\epsilon 4$ 'ün ikinci etkisi, A $\beta$ 'nin indüklediği lizozomal sızıntı ve apoptozis üzerinedir. Üçüncü zararlı etki ise sitoplazmada nörotoksit Apo E  $\epsilon 4$  allel fragmanlarının, nörona özgü proteolizisi arttırmasıdır ki bu da hücre iskeletinin bozulması ve mitokondrial fonksiyon bozukluğu ile ilgilidir (154). Serebral palside bu üç etkenden sonuncusunun hastalık oluşumu ile ilgili olabileceği düşünülmüştür.

Polimorfik amino asit rezidüleri Apo E'nin farklı elektroforetik formlarını oluşturur ve reseptörlere bağlanma aktivitelerini değiştirir. Apolipoprotein E içeren lipoproteinlerin, lipoprotein reseptörlerine afinitesi  $\epsilon 2$ 'den  $\epsilon 3$  ve  $\epsilon 4$ 'e doğru artış gösterir.  $\epsilon 3$  alleli bilinen tüm fonksiyonlarda normal izoform olarak değerlendirilirken  $\epsilon 2$  ve  $\epsilon 4$  alleli disfonksiyonel olarak değerlendirilmektedir (94,155). Literatüre paralel olarak biz de çalışmamızda  $\epsilon 2$  ve  $\epsilon 4$  allellerini SP açısından disfonksiyonel olarak değerlendirdik.

Blackman ve ark. (3,156) tarafından Apo E üzerine yapılan çalışmalarda Apo E nin çocuk ve erişkinlerde farklı etkileri olduğunu belirtilmiştir.  $\epsilon 4$  alleli yetişkinlerde travma sonrası zararlı etkilere sahip iken çocuklarda koruyucu etkiye sahip olarak bulunmuştur. Bu etkinin özellikle term dönemde meydana gelen travmalarda belirgin olduğunu belirtmişlerdir.  $\epsilon 2$  alleli için ise çocuklarda zararlı, yetişkinlerde koruyucu etkileri olduğunu belirtmişlerdir. Bu durumun net olarak ortaya konabilmesi için çalışmanın her iki allel için aynı deneklerde çocukluk ve yetişkinlikte ayrı ayrı değerlendirilmesi gerektiği kanısındayız.

Yapılan farklı çalışmalarda  $\epsilon 2$  alleli ile SP arasında ilişki bulunmuştur. Bu çalışmalarda aynı zamanda doğum kilosunun 4-10 kat koruyucu olduğu bulunmuştur. Biz de çalışmamızda  $\epsilon 2$  allelini SP ile ilişkili bulduk ve doğum kilosunun 6,4 kat koruyucu etkisinin olduğunu gördük. Bu anlamda çalışmamız literatür ile uyumlu bulgular göstermektedir. Yapılan çalışmalarda SP alt tipleri ile Apo E genotipleri arasında herhangi bir ilişkiye rastlanmamıştır. Aynı çalışmalarda nörolojik defisit ağırlığı ile SP alt tipleri arasında bir ilişki bulunmamıştır. Biz de çalışmamızda bu ilişkileri değerlendirdik ve literatürde olduğu gibi herhangi bir istatistiksel farklılık tespit etmedik (6,157,158).

Yapılan birçok çalışmada  $\epsilon 4$  alleli ile SP arasında ilişki bulunmuştur (1,159-161). Kuroda ve ark. (1) tarafından yapılan çalışmada hem  $\epsilon 2$  hem de  $\epsilon 4$  alleli ile SP arasında ilişki bulunmuştur. Bu çalışmada 209 hasta ve 209 kontrol etnik grupları ve

cinsiyetleri birbiri ile uyumlu olacak şekilde değerlendirilmiş,  $\epsilon 4$  alleli SP için 3-4 kat,  $\epsilon 2$  alleli ise SP için 12 kat artmış risk ile ilişkilendirilmiştir. Biz de yaptığımız çalışmada  $\epsilon 4$  alleli için 3,27 kat,  $\epsilon 2$  alleli için ise 2,64 kat risk artışı saptadık. Çalışmamız ve Kuroda ve ark. (1) tarafından yapılan çalışma  $\epsilon 2$  allelinin risk artış değeri dışında benzer oranlar göstermektedir.  $\epsilon 2$  allelinin popülasyonlar arasındaki dağılımının bu oransal farka neden olabileceği düşüncesindeyiz.

McMicheal ve ark. (162) tarafından yapılan çalışmada Apo E genotipleri ile serebral palsi arasında beyaz populasyonda bir ilişki saptanmamış ama  $\epsilon 2$  alleli ile düşük doğum doğum ağırlığı ve pre-term doğum arasında ilişki olabileceği söylenmiştir.

Jordan (163) tarafından yapılan çalışmada  $\epsilon 4$  alleli santral sinir sisteminin travmatik yaralanmasından sonraki süreçte daha az efektif olduğu gözlenmiştir. Serebral palsili hastalarda  $\epsilon 4$  allel varlığının oluşan travmaların regresyonunda yetersiz kalması bu ilişkiyi açıklayabilir.

Yapılan farklı çalışmalarda Apo E izoformlarının, santral sinir sisteminde inflamasyon modülasyonu, sinaps formasyonu, aksonal filizlenme, dendritik dallanma ve nöronlar arası bağlantıda farklı etkilere sahip olduğu gösterilmiştir (144,164-166).

Nörodavranışsal işlevlerde kötülük, beyin yaralanmalarına yetersiz cevap ve doğum komplikasyonları farklı çalışmalarda  $\epsilon 4$  alleli ile ilişkili bulunmuştur (5,167-169).

Farklı Apo E allelerinin çocuklarda beyin travması sonrası serebral iskemiye olan toleranslarının farklı olduğu gösterilmiştir.  $\epsilon 4$  allelini taşıyanlarda, taşımayanlara göre daha kötü prognoz gözlenmiştir. Homozigot  $\epsilon 3$  genotipinin diğer genotiplere göre 26 kat daha hızlı düzelme bulguları ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (170).

Stoknes ve ark. (171) tarafından yapılan çalışmada  $\epsilon 4$  ve  $\epsilon 2$  allelinin  $\epsilon 3$  allele göre serebral yaralanma sonrası intrauterin ölüm ile ilişkili olduğu gösterilmiştir.

Brichtová ve ark. (172) tarafından yapılan çalışmada  $\epsilon 4$  alleli travma sonrası uzamış iyileşme fazı ile ilişkili bulunmuştur.

Lien ve ark. (173,174) tarafından 2014 ve 2015 yıllarında yapılan iki farklı çalışmada  $\epsilon 4$  alleli ile serebral palsi, klinik yansımaları ve kötü prognoz ilişkili bulunmuştur. Lien ve ark. (7) tarafından yapılan başka bir çalışmada GMFCS ile Apo E allelleri arasında ilişki tespit edilmemiştir. Biz de yapmış olduğumuz çalışmada GMFCS ile Apo E allelleri arasında herhangi bir ilişki tespit etmedik. Aynı çalışmada unilateral SP olanlarda,  $\epsilon 4$  alleli taşıyanlar ile ince motor hareketlerde yetersizlik arasında ilişki saptanmıştır. Çalışmamızda ince motor hareket skalası yer almadığından alleller ile ince motor hareket becerileri arasındaki ilişki araştırılamamıştır.

Literatürde değerlendirdiğimiz birçok çalışmada  $\epsilon 2$  ve  $\epsilon 4$  allellerinin nörogelişimsel süreçlerde ve hastalıklarda dezavantajlı allel olarak değerlendirildiğini gördük. Çalışmamız sonuçları da Eskişehir ve çevre illerden başvuran SP'li çocuklarda  $\epsilon 2$  ve  $\epsilon 4$  allellerinin dezavantajlı allel olduğunu göstermekte ve bu anlamda bölgemizde Apo E genotipi ve SP ilişkisini araştıran ilk çalışma olma özelliğini taşımaktadır.

### **5.2.2. Çalışmamıza Ait IL-6 Polimorfizmi Verilerinin Literatür ile Karşılaştırılması**

İnterlökin-6 beyindeki majör pro-inflamatuar sitokindir (175). Spooren ve ark. (176) tarafından 'mental sitokin' olarak tanımlanmıştır.

İnterlökin-6 inflammatuar ve akut faz reaksiyon cevabı, hematopoez, iskemik zedelenme ve beyin gelişiminde önemli rol oynayan pleitrofik bir sitokindir (177).

Yenidoğanlar maternal intrauterin enfeksiyon ve inflamasyona, plasental hipoperfüzyona, hipoksik iskemik ensefalopatiye IL-6 düzeylerini artırarak yanıt verirler. Benzer şekilde yetişkinlerde iskemik inmede aynı cevap gözlenir ve bu durum farklı olayların ortak final yolu olan inflamutuar cevap sendromu olarak değerlendirilebilir (178,179). Serebral palside sıkça gözlenen hipoksik iskemik ensefalopati nedeniyle, IL-6 gen polimorfizmlerinin gen ekspresyonunda yol açabileceği değişiklikler sebebiyle etiyolojide yeri olabileceği hipotezini oluşturduk.

İnterlökin-6'nın ratlarda ve gerbillerde yapılan çeşitli çalışmalarında gelişimsel bir nörotrofik faktör olduğu, nöronları ekzotoksik ve iskemik etkilerden

koruduğu, akson büyümesi ve ilgili bölgedeki sinaps sayısı artışı ve nöron sağkalımı ile ilgili rolleri olduğu gösterilmiştir (180-184).

Smith ve ark. (185) tarafından yapılan çalışmada preterm doğan bebeklerin doğumda amnion sıvısındaki artmış IL-6 düzeyleri PVL ve SP ile ilişkili bulunmuştur.

Bi ve ark. (186) tarafından 2014 yılında yapılan çalışmada SP'li çocuklarda IL-6 düzeyinin yüksek olduğu, özellikle spastik tipte dramatik bir yükseklik gösterdiği ve bu etkinin cinsiyet ve gestasyonel yaşa bağlı olduğu tespit edilmiştir.

Yoon ve ark. (187) ile Martin-Ancel ve ark. (188) tarafından yapılan çalışmalarda IL-6 seviyesi SP'li çocuklarda serebrospinal sıvıda yüksek bulunmuş ve SP'li hastalarda kötü prognoz ile ilişkili olduğu düşünülmüştür.

Umbilikal kord kanında ve amniotik sıvıda bulunan yüksek IL-6 seviyeleri SP için major risk faktörü olarak tanımlanmış ve MRG bulguları ile ilişkili olabileceği düşünülmüştür (189-192).

Bugüne kadar yapılan çalışmaların çoğunda IL-6 düzeyleri ile promotor bölge polimorfizmi arasındaki ilişki araştırılmıştır. Biz çalışmamızda IL-6 ürün miktarını değerlendirmedik, direkt olarak polimorfizm ile SP arasında olası bir ilişki hipotezini değerlendirdik. İnterlökin-6 miktarını ölçmemizin nedeni, sitokinlerin dokulardaki ve dolaşımdaki düzeylerinin çok çeşitli faktörlerden ( ölçüm zamanı, enfeksiyon varlığı, fetal stres varlığı) etkilenmesi sonucu, polimorfizm ile IL-6 seviyesi arasında direkt bir ilişkiden bahsedilememesidir.

IL-6 geninin promotor bölgesindeki -174 pozisyonunda tanımlanan G-C değişimi fonksiyonel öneme sahiptir. Bu değişimi içine alan -225 ile -164 arasındaki bölge, gen ekspresyonunda negatif regülatör etkiye sahiptir. DNA footprinting deneyleri, glukokortikoid reseptörünün -201 civarında bir bölgeye bağlandığını göstermiştir. 174'deki bu polimorfizm, glukokortikoid reseptör bağlanmasını etkileyebilecek kadar bu bölgenin yakınında yer almaktadır ve bu nedenle transkripsiyonel aktivasyonu baskılayabilir (111,192).

Yapılan farklı çalışmalarda IL-6 -174 G/C polimorfik bölgesinde C allelinin varlığının yüksek IL-6 düzeyleri ile, bazı çalışmalarda da C allelinin düşük IL-6 düzeyleri ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Bu nedenle bu polimorfizmin fonksiyonel net etkisi hala tartışma konusudur (109,193-200) .

Wu ve ark. (10) yaptıkları çalışmada IL-6 promoter polimorfizminin term ve terme yakın doğmuş bebeklerde SP gelişiminde bağımsız bir risk faktörü olduğunu söylemişlerdir.

Callaghan ve ark. (4) tarafından yapılan çalışmada IL-6'nın da aralarında bulunduğu serebral palsi ile ilişkili olabileceği düşünülen 35 TNP incelenmiş, ama IL-6 promoter TNP'i ile SP arasında bir ilişki bulunmamıştır.

Vidak ve ark. (9) tarafından yapılan çalışmada IL-6 polimorfizmi ile SP arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki tespit edilmemiştir.

Mooijaart ve ark. (201) tarafından yapılan çalışmada IL-6 TNP değişimlerinin IL-6 düzeyleri ile ilişkili olmadığı gösterilmiştir.

Yapmış olduğumuz çalışmada IL-6 promoter bölge TNP'si olan -174 C/G (rs1800795) polimorfizmi ile SP ve SP'ye eşlik eden bulgular arasında bir ilişki olup olmadığı hipotezini araştırdık ve yapılan istatistiksel incelemelerde ilgili polimorfizm ile değerlendirilen parametler arasında herhangi bir ilişki tespit etmedik.

Çalışmamız ve literatür verileri SP'nin etiyolojik, epidemiyolojik, demografik ve klinik özellikleri bakımından benzer özellikler taşımaktadır. Çalışmamız ve literatür verileri Apo E genotiplerinin SP ile olan ilişkisi bakımından büyük oranda benzer özellikler göstermektedir. Literatür verileri, IL-6 promoter bölge polimorfizmi ile SP arasında net bir ilişki ortaya koymamıştır. Bunun nedeni çoğu çalışmanın IL-6 promoter bölge polimorfizmi ile IL-6 düzeyleri arasındaki ilişkiye odaklanması ve bunun birçok farklı etkenden etkilenebilen dolaylı bir yol olmasıdır. Ülkemizde SP ve genetik ilişkisini araştıran araştırma sayısı sınırlıdır. Ülkemizde SP ve genetik ilişkisini araştıran çalışmaların yaygınlaştırılması ve artırılması, genetik etiyolojinin aydınlatılmasına katkı sağlamanın ötesinde bulunan ilişkilerin farklı toplumlarda da doğrulanması sonucu genetik danışmanlık ile birlikte SP'li bireylerin ve ailelerinin daha net bir şekilde bilgilendirilmesine olanak sağlayacaktır.

## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Serebral palsi, beyin gelişiminde hasar sonucu oluşan, ilerleyici olmayan motor fonksiyon bozukluğu ile karakterize bir hastalıktır (1). Serebral palsi etiyojisinde preterm doğum ve intrauterin büyüme-gelişme geriliği gibi klinik risk faktörleri iyi tanımlanmış olmasına rağmen genetik ilişkiler ile ilgili raporlar yakın zamanda ortaya çıkmaya başlamıştır (4).

Çalışmamıza dahil ettiğimiz serebral palsili çocukların klinik özellikleri ile ilgili polimorfizmlerin karşılaştırmalı olarak değerlendirilmesi çalışmamızın en önemli yanıdır. Çalışmamızda serabral palsi ile  $\epsilon 2$  ve  $\epsilon 4$  allelleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki tespit ettik. İnterlökin-6 ile serebral palsi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki gözlemedik.

Ülkemizde ve dünyada serebral palsi ile genetik ilişkisi konusunda araştırmaların yaygınlaştırılması ve artırılması, genetik etiyojinin aydınlatılmasına katkı sağlamanın ötesinde aynı zamanda farklı coğrafi ve etnik özellikteki toplumlarda geniş bir örnekleme ortaya konabilirse ilerleyen yıllarda mimetik terapötik ajanların klinik uygulamada kullanımını mümkün olabilecektir.

## KAYNAKLAR

1. Kuroda MM, Weck ME, Sarwark JF, Hamidullah A, Wainwright MS. Association of apolipoprotein E genotype and cerebral palsy in children. *Pediatrics*.2007;119:306–13.
2. Xu Y , Wang H, Sun Y, Shang Q , Chen M , Li T, Zhu D, He L, Zhu C , Xing Q.The association of apolipoprotein E gene polymorphisms with cerebral palsy in Chinese infants.*Mol Genet Genomics*.2014;289:411–6.
3. Blackman JA, Gurka MJ, Bao Y, Dragulev BP, Chen WM, Romness MJ. Apolipoprotein E and functional motor severity in cerebral palsy.*Journal of Pediatric Rehabilitation Medicine*.2009;2(1):67–74.
4. O’Callaghan ME, MacLennan AH, Gibson CS, McMichael GL, Haan EA, BroadbentJL, Goldwater PN, Painter JN, Montgomery GW, Dekker GA.Fetal and maternal candidate single nucleotide polymorphism associations with cerebral palsy: A case-control study.*Pediatrics*.2012;129:414.
5. Wu YW, Croen LA, Vanderwef A, Gelfand AA, Torres AR.Candidate genes and risk for CP: A population-based study.*Pediatric Research*.2011;70(6):642-6.
6. Braga LW, Borigato EVM, Speck-Martins CE, Imamura EU, Gorges AMP, Izumı AP, Dantas RC, Nunes LGN.Apolipoprotein E genotype and cerebral palsy. *Developmental Medicine & Child Neurology*.2010;52:666-71.
7. Lien E, Andersen GL, Yongde B, Heather G., Skranes JS, Torstein V, Blackman JA.Apolipoprotein E polymorphisms and severity of cerebral palsy: a cross-sectional study in 255 children in norway.*Developmental Medicine & Child Neurology*.2013;55:372-7.
8. Chen M, Li T, Lin S, Bi D, Zhu D, Shang Q, Wang CMH, Wang L, Zhang Y, He L, Zhu C, Xing Q.Association of Interleukin 6 gene polymorphisms with genetic susceptibilities to spastic tetraplegia in males: A case-control study.*Cytokine*. 2013;826–30.



9. Kapitonovic HV, Ivkovic TC, Jokic M, Spaventi R, Kapitanovic S. The association between proinflammatory cytokine polymorphisms and cerebral palsy in very preterm infants. *Cytokine*.2012;57–64.
10. Wu YW, Croen LA, Torres AR, Van De Water J, Grether JK, Hsu N. Interleukin-6 genotype and risk for cerebral palsy in term and near-term infants. *Ann Neurol*.2009;66:663–70.
11. Rosenbaum P, Paneth N, Leviton A, Goldstein M, Bax M, Damiano D. A report: the definition and classification of cerebral palsy. *Developmental Medicine and Child Neurology*.2007;109(2):814.
12. Morris C. Definition and classification of cerebral palsy: a historical perspective. *Dev Med Child Neurol*.2007;49:3–7.
13. Bax M, Goldstein M, Rosenbaum P, Leviton A, Paneth N. Proposed definition and classification of cerebral palsy. *Dev Med Child Neurol*.2005;47(8):571-6.
14. Yakut A. Serebral palside yeni gelişmeler. *Türkiye Klinikleri J Pediatr Sci*. 2008;4:127-38.
15. Cans C, Dolk H, Platt MJ, Colver A, Prasauskiene A, Krageloh-Mann I; SCPE Collaborative Group. Recommendations from the SCPE collaborative group for defining and classifying cerebral palsy. *Dev Med Child Neurol*.2007;49(109):35-8.
16. Nelson KB, Ellenberg JH. Children who “outgrew” cerebral palsy. *Pediatrics*. 1982;69(5):529–36.
17. Ashwal S, Russman BS, Blascoe PA, Miller G, Sandler A. Practice Parameter: Diagnostic assessment of the child with cerebral palsy: Report of the Quality Standards Subcommittee of the American Academy of Neurology and Practice Committee of the Child Neurology Society. *Neurology*.2004;62:851-63.

18. Surveillance of Cerebral Palsy in Europe. Prevalence and characteristics of children with cerebral palsy in Europe. *Dev Med Child Neurol*. 2002;44(9):633-40.
19. Himmelmann K, Hagberg G, Uvebrant P. The changing panorama of cerebral palsy in Sweden. X. Prevalence and origin in the birth-year period 1999–2002. *Acta Pædiatrica*. 2010;1337–43.
20. Andersen GL, Irgens LM, Haagaas I, Skranes JS, Meberg AE, Vik T. Cerebral palsy in Norway: Prevalence, subtypes and severity. *Eur J Paediatr Neurol*. 2008;12(1):4-13.
21. Riikonen R, Raumavirta S, Sinivuori E, Seppala T. Changing pattern of cerebral palsy in the southwest region of Finland. *Acta Paediatr Scand*. 1989;78(4):581–7.
22. Pharoah POD, Cooke T, Johnson MA, King R, Mutch L. Epidemiology of cerebral palsy in England and Scotland, 1984–9. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*. 1998;79(1):21–5.
23. Liu JM, Li Z, Lin Q, Zhao P, Zhao F. Cerebral palsy and multiple births in China. *Int J Epidemiol*. 2000;29:292-9.
24. Winter S, Autry A, Boyle C. Trends in the prevalence of cerebral palsy in a population-based study. *Pediatrics*. 2002;110(6):1220.
25. Aydın R. Serebral palsi epidemiyolojisi. *Türkiye Klinikleri J PM&R-Special Topics*. 2009;2(2):1-7.
26. Serdaroğlu A, Cansu A, Ozkan S, Tezcan S. Prevalence of cerebral palsy in Turkish children between the ages of 2 and 16 years. *Dev Med Child Neurol*. 2006;48(6):41-36.
27. Erkin G, Delialioğlu SU, Ozel S, Çulha C, Şirza H. Risk factors and clinical profiles in Turkish children with cerebral palsy: analysis of 625 cases. *Int J Rehab Res*. 2008;31(1):89-91.

28. Washburn LK, Dillard RG, Goldstein DJ, Klinepeter KL, Regnier AN, O'Shea TM. Survival and major neurodevelopmental impairment in extremely low gestational age newborns born 1990-2000: retrospective cohort study. *BMC Pediatr.* 2007;3(5):7-20.
29. Jones MW, Morgan E, Shelton JE, Thorogood C. Cerebral palsy: introduction and diagnosis. *J Pediatr Health Care.* 2007;21(3):146-52.
30. Yakut A. Serebral Palsi. Gökçay E, Sönmez M, Editörler. Çocuk Nörolojisinde. Ankara: Anıl Grup Matbaacılık; 2010. s.229-39.
31. Reddihough DS, Collins KJ. The epidemiology and causes of cerebral palsy. *Aust J Physiother.* 2003;49:7-12.
32. Dursun N. Serebral Palsi. Oğuz H, Dursun E, Dursun N, Editörler. Tıbbi rehabilitasyon. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 2000. s.957-74.
33. Himpens E, Van den Broeck C, Oostra A, Calders P, Vanhaesebrouck P. Prevalence, type, distribution and severity of cerebral palsy in relation to gestational age: a meta-analytic review. *Dev Med Child Neurol.* 2008;50(5):334-40.
34. DeLisa J, Gans BM, Walsh NE, Bockenek WL, Frontera WR. Fiziksel tıp ve rehabilitasyon ilkeler ve uygulamalar. Ankara: Güneş Kitabevi; 2007. s.1493-516.
35. Surman G, Newdick H, Johnson A. Cerebral palsy rates among low-birthweight infants fell in the 1990s. *Dev med Child Neurol.* 2003;45:456-62.
36. Stanley F, Blair E, Alberman E. Cerebral palsies: epidemiology and causal pathways. Londra: Mac Keith Press; 2000. s.242.
37. Surveillance of Cerebral Palsy in Europe Collaborative Group. Multiple birth and cerebral palsy in Europe: a multicenter study. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2004;83(6):548-53.

38. Yokoyama Y, Shimizu T, Hayakawa K. Prevalence of cerebral palsy in twins, triplets and quadruplets. *Int J Epidemiol*. 1995; 24(5):943-8.
39. Petterson B, Nelson KB, Watson L, Stanley F. Twins, triplets and cerebral palsy in Western Australia in the 1980s. *BMJ*. 1993;13:1239-43.
40. Källén AJ, Finnström OO, Lindam AP, Nilsson EM, Nygren KG, Olausson PM. Cerebral palsy in children born after in vitro fertilization. Is the risk decreasing? *Eur J Paediatr Neurol*. 2010;14(6):526-30.
41. Ostrow JD, Pascolo L, Brites D, Tribelli C. Molecular basis of bilirubin-induced neurotoxicity. *Trends Mol Med*. 2004;10(2):65-70.
42. Ann J. Prevalence and characteristics of children with cerebral palsy in Europe. *Developmental Medicine and Child Neurology*. 2002;44(9):633-40.
43. Hetzel BS. Iodine and neuropsychological development. *J Nutr*. 2000;130(2):493-5.
44. Takahashi R, Yamada M, Takahashi T, Ito T, Nakae S, Kobayashi Y. Risk factors for cerebral palsy in preterm infants early. *Hum Dev*. 2005;81(6):545-53.
45. Swaiman KF, Wu Y. Cerebral Palsy. In: Swaiman KF, Ashwal S, Ferriero DM, editors. *Pediatric neurology: principles and practice*. 4th ed. Philadelphia: Mosby; 2006. p.491-504.
46. Kułak W, Sobaniec W, Kubas B, Walecki J. Corpus callosum size in children with spastic cerebral palsy: relationship to clinical outcome. *J Child Neurol*. 2007;22: 371-4.
47. Volpe JJ. *Neurology of the newborn*. Third eds. W.B. Philadelphia Saunders Comp; 1999. s.403-63.
48. Krigger KW. Cerebral palsy: an overview. *Am Fam Physician*. 2006;73(1):p.91-100.
49. Koman L. Cerebral palsy. *Lancet*. 2004;363(9421).p.1619-31.

50. Tilton AH. Management of spasticity in children with cerebral palsy. *Semin Pediatr Neurol*.2004;11(1):58-65.
51. Bax M, Tydeman C, Flodmark O. Clinical and MRI correlates of cerebral palsy. *The European Cerebral Palsy Study*.2006;296(13):1602-8.
52. Kabakuş N. Serebral palsili hastalarımızın demografik, etiyolojik ve klinik özellikleri. *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi*.2005;48:125-9.
53. Yalçın S. Spastisite tedavisi. Yalçın S, Berker N, Dormans J, Susman M. Editörler. *Serebral palsyi tedavi ve rehabilitasyonda*. İstanbul: Mas Matbaacılık;2000. s.65–76.
54. Hagberg B, Hagberg G, Beckung E, Uvebrant P. The changing panorama of cerebral palsy in Sweden. VIII: Prevalence and origin in the birth-year period 1991–94. *Acta Pediatr*.2001;90(3):271-7.
55. Murphy N, Such-Neibar T. Cerebral palsy diagnosis and management: The state of art. *Curr Probl Pediatr Adolesc Health Care*.2003;33:146-69.
56. Heinen F, Desloovere K, Schroeder AS, Berweck S, Borggraeve I, van Campenhout A, Andersen GL, Aydin R, Becher JG, Bernert G, Caballero IM, Carr L, Valayer EC, Desiato MT, Fairhurst C, Filipetti P, Hassink RI, Hustedt U, Jozwiak M, Kocer SI, Kolanowski E, Krägeloh-Mann I, Kutlay S, Mäenpää H, Mall V, McArthur P, Morel E, Papavassiliou A, Pascual-Pascual I, Pedersen SA, Plasschaert FS, van der Ploeg I, Remy-Neris O, Renders A, Di Rosa G, Steinlin M, Tedroff K, Valls JV, Viehweger E, Molenaers G. The updated European consensus 2009 on the use of botulinum toxin for children with cerebral palsy. *Eur J Paediatr Neurol*.2010; 14(1):45-66.
57. Palisano R, Rosenbaum P, Walter S, Russell D, Wood E, Galuppi B. Development and reliability of a system to classify gross motor function in children with cerebral palsy. *Dev Med Child Neurol*.1997;39(4):214-23.
58. Sankar C, Mundkur N. Cerebral palsy- definition, classification, etiology and early diagnosis. *Indian J Pediatr*.2005;72(10):865-8.

59. Carlsson M, Hagberg G, Olsson I. Clinical and aetiological aspects of epilepsy in children with cerebral palsy. *Dev Med Child Neurol*. 2003;45(6):371-6.
60. John HM, Harvey BS, Bernard LM. *Child Neurology*. Lippincott Williams. 7th ed. Philadelphia: 2006. p.367-431.
61. Reid SM, Modak MB, Berkowitz RG, Reddihough DS. A population-based study and systematic review of hearing loss in children with cerebral palsy. *Dev Med Child Neurol*. 2011;53(11):1038-45.
62. Fitzgerald DA, Follett J, Asperen PPV. Assessing and managing lung disease and sleep disordered breathing in children with cerebral palsy. *Pediatr Res Rev*. 2009;10(1):18-24.
63. Iwasaki T, Takei K, Nakamura S, Hosoda N, Yokota Y, Ishii M. Secondary osteoporosis in long-term bedridden patients with cerebral palsy. *Pediatr Int*. 2008;50(3):269-75.
64. Roijen LEG, Postema K, Limbeek J, Kuppevelt HJM. Development of bladder control in children and adolescents with cerebral palsy. *Dev Med Child Neurol*. 2001;43(2):103-7.
65. Bass, N. Cerebral palsy and neurodegenerative disease. *Curr Opin Pediatr*. 1999;11(6).p.504-7.
66. Lee RW, Poretti A, Cohen JS, Levey E, Gwynn H, Johnston MV, Hoon AH, Fatemi A. A diagnostic approach for cerebral palsy in the genomic era. *Neuromolecular Med*. 2014;16(4):821-44.
67. Zwagerman NT, Richardson RM. Gene therapy for aromatic L-amino acid decarboxylase deficiency. *Neurosurgery*. 2012;71(4):10-2.
68. Leen WG, Klepper J, Verbeek MM, Leferink M, Hofste T, van Engelen BG. Glucose transporter-1 deficiency syndrome: the expanding clinical and genetic spectrum of a treatable disorder. *Brain*. 2010;133:655-70.

69. Kruer MC, Boddaert N. Neurodegeneration with brain iron accumulation: a diagnostic algorithm. *Semin Pediatr Neurol*. 2012;19(2):67–74.
70. Folmes CD, Martinez-Fernandez A, Perales-Clemente E, Li X, McDonald A, Oglesbee D. Disease-causing mitochondrial heteroplasmy segregated within induced pluripotent stem cell clones derived from a patient with MELAS. *Stem Cells*. 2013;31(7):1298–308.
71. Zung A, Visser TJ, Uitterlinden AG, Rivadeneira F, Friesema EC. A child with a deletion in the monocarboxylate transporter 8 gene: 7-year follow-up and effects of thyroid hormone treatment. *Eur J Endocrinol*. 2011;165(5):823–30.
72. Hedlund GL, Longo N, Pasquali M. Glutaric acidemia type 1. *Am J Med Genet C Semin Med Genet*. 2006;142(2):86–94.
73. Fink JK. Hereditary spastic paraplegia: clinico-pathologic features and emerging molecular mechanisms. *Acta Neuropathol*. 2013;126(3):307–28.
74. Hobson GM, Garbern JY. Pelizaeus-Merzbacher disease, Pelizaeus-Merzbacher-like disease 1, and related hypomyelinating disorders. *Semin Neurol*. 2012;32(1):62–7.
75. Yagasaki H, Kato M, Ishige M, Shichino H, Chin M, Mugishima H. Successful cord blood transplantation in a 42-day-old boy with infantile Krabbe disease. *Int J Hematol*. 2011;93(4):566–8.
76. Liu JS. Molecular genetics of neuronal migration disorders. *Curr Neurol Neurosci Rep*. 2011;11(2):171–8.
77. Neul JL, Kaufmann WE, Glaze DG, Christodoulou J, Clarke AJ, Bahi-Buisson N. Rett syndrome: revised diagnostic criteria and nomenclature. *Ann Neurol*. 2010;68(6):944–50.
78. Romani M, Micalizzi A, Valente EM. Joubert syndrome: congenital cerebellar ataxia with the molar tooth. *Lancet Neurol*. 2013;12(9):894–905.

79. Williams CA, Driscoll DJ, Dagli AI. Clinical and genetic aspects of Angelman syndrome. *Genet Med*.2010;12(7):385–95.
80. Fu R, Sutcliffe D, Zhao H, Huang X, Schretlen D, Benkovic S, Jinnah A. Clinical severity in disease: the role of residual enzyme and compensatory pathways. *Molec.Genet. Metab*.2015;114:55-61.
81. Hasegawa S, Imai K, Yoshida K, Okuno Y, Muramatsu H, Shiraishi Y, Chiba K, Tanaka H, Miyano S, Kojima S, Ogawa S, Morio T, Mizutani S, Takagi M. Whole-exome sequence analysis of ataxia telangiectasia-like phenotype. *J Neurol Sci*.2014; 340:86-90.
82. Saunders-Pullman R, Raymond D, Stoessl A, Hobson D, Nakamura K, Pullman S, Lefton D, Okun M, Uitti R, Sachdev R, Stanley K, San Luciano M, Hagenah J, Gatti R, Ozelius L, Bressman S. Presenting as primary-appearing dystonia in Canadian Mennonites. *Neurology*.2012;78:649-57.
83. Copeliovitch L, Katz K, Arbel N, Harries N, Soudry M. Musculoskeletal deformities in Behr syndrome. *J Pediat Orthop*.2001;21:512-4.
84. Pizzatto R, Pascual-Castroviejo I. Síndrome de Behr. Presentación de siete casos. *Rev Neurol*.2001;32:721-4.
85. Burtis CA, Ashwood ER. Fundamentals of clinical chemistry. In: Stein EA, Myers GL. (editors). *Lipids, apolipoproteins and lipoproteins*. Philadelphia: Saunders Company, 1996. p.375-401.
86. Mahley RW. Apolipoprotein E: cholesterol transport protein with expanding role in cell biology. *Science*.1988;240:622–30.
87. Mahley R, Weisgraber K, Huang, Y. Apolipoprotein E4: a causative factor and therapeutic target in neuropathology, including Alzheimer's disease. *Proc Natl Acad Sci*.2006;103(15):5644-51.



88. Rall SC, Weisgraber KH, Mahley RW. Human apolipoprotein E. The complete amino acid sequence. *J Biol Chem.* 1982;257:4171–8.
89. Wetterau JR, Aggerbeck LP, Rall SC, Weisgraber KH. Human Apolipoprotein E3 in aqueous solution. I. Evidence for two structural domains. *J Biol Chem.* 1988;263(13):6240–8.
90. Duzenli S, Pirim I, Gepdireen A, Deniz O. Apolipoprotein E polymorphism and stroke in a population from eastern Turkey. *Journal of Neurogenetics.* 2014;18:365-75.
91. Mahley RW, Palaoğlu KE, Atak Z, Dawson-Pepin J, Langlois AM, Cheung V, Onat H, Fulks P, Mahley LL, Vakar F. Turkish Heart Study: lipids, lipoproteins, and apolipoproteins. *J Lipid Res.* 1995;36(4):839–59.
92. Farrer LA. Effects of age, sex, and ethnicity on the association between apolipoprotein E genotype and Alzheimer disease: a meta-analysis. *Journal American Medical Association.* 1997;278:1349–56.
93. Freiden C, Garai K. Structural differences between apoE3 ve apoE4 may be useful in developing therapeutic agents for Alzheimer’s disease. *Proceedings National Academy Scientific.* 2012;109:8913-8.
94. Mahley RW, Rall SC. Apolipoprotein E: far more than a lipid transport protein. *Annu Rev Genomics Hum Genet.* 2000;1:507–37.
95. Louis ST. The role of apolipoprotein E in lipid metabolism in the central nervous system. *Cellar and molecular life sciences.* 2004;(61):1896-906.
96. Zannis VI, Breslow JL. Human very low density lipoprotein apolipoprotein E isoprotein polymorphism is explained by genetic variation and posttranslational modification. *Biochemistry.* 1981;20:1033–41.
97. Bu G. Apolipoprotein E and its receptors in Alzheimer’s disease : pathway, pathogenesis and therapy. *Nature Reviews. Neuroscience.* 2009:333-4.

98. Pitas R, Boyles J, Lee S, Foss D, Mahley R. Astrocytes synthesize apolipoprotein E and metabolize apolipoprotein E-containing lipoproteins. *Biochim Biophys.* 1987;917:148–61.
99. Copin B, Brezin A, Valtot F, Dascotte C, Bechetoille A, Garchon H. Apolipoprotein E-promoter single-nucleotide polymorphisms affect the phenotype of primary open-angle glaucoma and demonstrate interaction with the myocilin gene. *Am. J. Hum. Gen.* 2002;70:1575-81.
100. Smelt A, de Beer F. Apolipoprotein E and familial dysbetalipoproteinemia: clinical, biochemical, and genetic aspects. *Neurology.* 2004;62(12):2198-202.
101. Hooijmans C, Kiliaan J. Fatty acids, lipid metabolism and Alzheimer pathology. *European Journal of Pharmacology.* 2008;585:176–96.
102. Sun X, Jiang Y. Genetic susceptibility to traumatic brain injury and apolipoprotein E gene. *Chinese Journal of Traumatology.* 2008;1(4):247-52.
103. Kemik Ö, Kemik AS, Dülger AC, Hasırcı İ, Daştan E, Bartun MK, Purisa S, Tüzün S. Karaciğer Metastazlı Kolon Kanserli Hastalarda İnterlökin-6 Düzeyleri. *Van Tıp Dergisi.* 2010;17(2):42-5.
104. Callard R, Gearing A. *The Cytokine Facts Book*. Orlando, Academic Press. 1994.
105. Kishimoto T. Interleukin-6: discovery of a pleiotropic cytokine. *Arthritis Res Ther.* 2006;8:2.
106. Tedgui A, Mallat Z. Cytokines in atherosclerosis: pathogenic and regulatory pathways. *Physiol Rev.* 2006;86(2):515-81.
107. Vanden Berghe W. Signal transduction by tumor necrosis factor and gene regulation of the inflammatory cytokine interleukin-6. *Biochem Pharmacol.* 2000;60: 1185–95.
108. Heinrich C. Principles of interleukin (IL)-6-type cytokine signalling and its regulation. *Biochem J.* 2003;374:1–20.

109. Neurath MF, Finotto S. IL-6 signaling in autoimmunity, chronic inflammation and inflammation-associated cancer. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2011;22(2):83-9.
110. Papassotiropoulos A, Bagli M, Jessen F, Bayer TA, Maier W, Rao ML, Heun R. A genetic variation of the inflammatory cytokine IL-6 delays the initial onset and reduce the risk for sporadic Alzheimer's disease. *Ann Neurol.* 1999;45:666-8.
111. Fishman D, Faulds G, Jeffery R, Mohamed-Ali V, Yudkin JS, Humphries S, Woo P. The effect of novel polymorphisms in the interleukin-6 (IL-6) gene on IL-6 transcription and plasma IL-6 levels, and on association with systemic onset juvenile chronic arthritis. *J Clin Invest.* 1998;102(7):1369-76.
112. Nussbaum RL, Meinness RR, Willard HF, Cornelius FB. Thompson & Thompson *Tıbbi Genetik*, 6. Baskı, Güneş Kitabevi Ltd. Şti. Saunders; 2005.
113. Strachan T, Read AP. *Human Molecular Genetics* 2nd Edition. Scientific Publishers. Ltd. Oxford. 1999.
114. Tebbutt SJ, James A, Pare PD. Single-nucleotide-polymorphisms and lung disease. *Chest.* 2007;131:1216-23.
115. Claustres M. Frequency and nature of mutations, and the methods to detect them, 4th HUGO Mutation Detection Training Course, Course Booklet, Newcastle. 2004.p.6-21.
116. Ota M, Fukushima H, Kulski JK, Inoko H. Single nucleotide polymorphism detection by polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism. *Nat Protoc.* 2007;2(11):285.
117. Russel PJ. *Genetics: A Molecular Approach*. Second Ed. Pearson, 2006.
118. Valasek MA, Repa JJ. The power of real-time PCR. *Adv Physiol Educ.* 2005;29:151-9.

119. Kubista M. The real-time polymerase chain reaction. *Mol Aspects Med.* 2006;27:95-125.
120. Wilhelm J. Real-time polymerase chain reaction. *Chem Bio Chem.* 2003;4:1120-8.
121. Lehmann S, Lehmann L, Tabiti K. Fast and flexible single nucleotide polymorphism (SNP) detection with the lightcycler system roche molecular biochemicals. *Penzberg. Biochemica.* Number 4.
122. Gürbüz A, Karateke A, Yılmaz U, Kabaca C. The role of perinatal and intrapartum risk factors in the etiology of cerebral palsy in term deliveries in a Turkish population. *J Maternal Neonatal Medicine.* 2006;19(3):147-55.
123. Okan N, Okan M, Eralp Ö, Aytekin AH. The prevalence of neurological disorders among children in Gemlik (Turkey). *Dev Med Child Neurol.* 1995;37:597-603.
124. Ekici A. Serebral Palsili Hastalarda Epilepsi ve Eşlik Eden Diğer Bozuklukların Kaba Motor İşlev Ölçeği ile Değerlendirilmesi. *Çocuk Nörolojisi Bilim Yan Dal Uzmanlık Tezi.* Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Eskişehir, 2012.
125. Sigurdardottir S, Thorkelsson T, Halldorsdottir M, Thorarensen O, Vik T. Trends in prevalence and characteristics of cerebral palsy among Icelandic children born 1990 to 2003. *Dev Med Child Neurol.* 2009;51(5):356-63.
126. Ukhanova TA, Gorbunov FE, Ivanova VV. Reflexotherapy combined with cortexin in the complex treatment of speech disorders in patients with cerebral palsy. *Zh Nevrol Psikhiatr Im S S Korsakova.* 2011;111:19-22.
127. Khan MS, Moyeenuzzaman M, Islam MQ. A study on patients with cerebral palsy. *Bangladesh Med Res Counc Bull.* 2006;32(2):38-42.
128. Duman Ö, İmad FM, Kızılay F, Yücel İ, Balkan S, Haspolat Ş. Serebral palsili hastaların işlevsel kapasitelerine göre görme sorunlarının değerlendirilmesi. *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi.* 2005;48(2):130-5.

129. Singhi PD, Ray M, Suri G. Clinical spectrum of cerebral palsy in North India- an analysis of 1000 cases. *J Trop Pediatr.* 2002;48(3):162-6.
130. Kulak W, Sobaniec W. Risk factors and prognosis of epilepsy in children with cerebral palsy in north-eastern Poland. *Brain Dev.* 2003;25(7):499-506.
131. Parkes J, White-Koning M, Dickinson HO, Thyenu U, Arnaud C, Beckung E. Psychological problems in children with cerebral palsy: a cross-sectional European study. *J Child Psychol Psychiatry.* 2008;49(4):405-13.
132. McDermott S, Coker AL, Mani S, Krishnaswami S, Nagle RJ, Barnett-Queen LL, Wuori DF. A population-based analysis of behavior problems in children with cerebral palsy. *J Pediatr Psychol.* 1996;21:447-63.
133. Yin R, Reddihough D, Ditchfield M, Collins K. Magnetic resonance imaging findings in cerebral palsy. *J Paediatr Child Health.* 2000;36(2):139-44.
134. Adın S, Aslan M, Doğan M, Yakıncı C, Alkan A. Term ve preterm serebral palsili çocuklarda etiyoloji, klinik ve manyetik rezonans görüntüleme bulguları. *İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi.* 2009;6(3):169-72.
135. Krageloh-Mann I, Petersen D, Hagberg G, Vollmer B, Hagberg B, Michaelis R. Bilateral spastic cerebral palsy: MRI pathology and origin. Analysis from a representative series of 56 cases. *Dev Med Child Neurol.* 1995;37:379-97.
136. Truwit CL, Barkovich AJ, Koch TK, Ferriero DM. Cerebral palsy: MR findings in 40 patients. *Am J Neuroradiol.* 1992;13:67-78.
137. Towsley K, Shevell MI, Dagenais L. REPACQ Consortium. Populationbased study of neuroimaging findings in children with cerebral palsy. *Eur J Paediatr Neurol.* 2011;15(1):29-35.
138. Dolk H, Parkes J, Hill N. Trends in the prevalence of cerebral palsy in Northern Ireland 1981-1997. *Dev Med Child Neurol.* 2006;48(6):406-12.
139. Wichers MJ, Odling E, Stam HJ, Van Nieuwenhuizen O. Clinical presentation, associated disorders and etiological moments in cerebral palsy:

- A Dutch population-based study. *Disability and Rehabilitation*.2005;27(10):583-89.
140. Öneş K, Çelik B, Çağlar N, Gültekin Ö, Yılmaz E, Çetinkaya B. Serebral palsi polikliniğine müracaat eden hastaların demografik ve klinik özellikleri. *Türk Fiz Tıp Rehab Derg*.2008;54(1):13-6.
141. Topp M, Uldall P, Greisen G. Cerebral palsy births in eastern Denmark, 1987-1990: Implications for neonatal care. *Paediatr Perinat Epidemiol*.2001;15(3):271-7.
142. İpek B, Ecevit Ç, İpek I, Kocabaş Ö, Kavaklı T, Öztürk A. The evaluation of 371 cases with cerebral palsy between January 1984 and December 2004. *J Neurol Sci*. 2007;24(4):270-9.
143. Knopman DS, Roberts RO, Geda YE. Association of prior stroke with cognitive function and cognitive impairment: a population-based study. *Archives of Neurology*.2009;66(5):614-9.
144. Kim J, Basak JM, Holtzman DM. The role of apolipoprotein E in Alzheimer's disease. *Neuron*.2009;63(3):287-303.
145. Shi J, Zhao CB, Vollmer TL, Tyry TM, Kuniyoshi SM. APOE  $\epsilon$ 4 allele is associated with cognitive impairment in patients with multiple sclerosis. *Neurology*.2008;70(3):185-90.
146. Coto-Segura P, Coto E, Alvarez V. Apolipoprotein  $\epsilon$ 4 allele is associated with psoriasis severity. *Archives of Dermatological Research*.2010;302(2):145-9.
147. Sriram S, Rodriguez M. Indictment of the microglia as the villain in multiple sclerosis. *Neurol*.1997;48:464-70.
148. Smith K, Kapoor R, Felts P. Demyelination: the role of reactive oxygen and nitrogen species. *Brain Pathol*.1999;9:615-8.

149. Lascowitz D, Matthew W, Benet E. Endogenous Apolipoprotein E suppresses LPS stimulated microglial nitric oxide production. *Neuroreport*. 1998;9:615-8.
150. Machy M, Okano Y, Cardin A, Harmony J. Suppression of lymphocyte activation of plasma lipoproteins. *Cancer Res*. 1983;43:2496-502.
151. Lascowitz D, Goel S, Bennet E, Matthew W. Apolipoprotein E suppresses glial cell secretion of TNF alpha. *J Neuroimmunol*. 1997;76:70-4.
152. Boyles JK, Notterpek LM, Anderson L. Accumulation of apolipoproteins in the regenerating and remyelinating mammalian peripheral nerve. *J Biol Chem*. 1990; 265:17:805-15.
153. Gaillard O, Gervais A, Meillet D, Plassart E, Fontaine B. Apolipoprotein E and multiple sclerosis: A biochemical and genetic investigation. *Journal of Neurol*. 1998;158:180-6.
154. Morishima-Kawashima M, Ihara Y. Alzheimer's Disease:  $\beta$ -Amyloid Protein and Tau. *Journal of Neuroscience Research*. 2012;70:392-401.
155. Poirier J, Davignon J, Bouthillier D, Kogan S, Bertrand P, Gauthier S. Apolipoprotein E polymorphism and Alzheimer's disease. *Lancet*. 1993;342:697-9.
156. Blackman JA, Worley G, Strittmatter WJ. Apolipoprotein E and brain injury: implications for children. *Developmental Medicine & Child Neurology*. 2005;47(1): 64-70.
157. Lawson RD, Badawi N. Etiology of cerebral palsy. *Hand Clin*. 2003;19:547-56.
158. Odding E, Roebroek ME, Stam HJ. The epidemiology of cerebral palsy: incidence, impairments and risk factors. *Disabil Rehabil*. 2006;28:183-91.

159. Harhangi BS, De Rijk MC, Van Duijn CM, Van Broeckhoven C, Hofman A. APOE and the risk of PD with or without dementia in a population-based study. *Neurology*.2000;54(6):1272-6.
160. Meirelles KP, Rodrigues CJ, de Barros TE, Bevilacqua RG. Presence of apolipoprotein 4 allele in cerebral palsy. *J Pediatr Orthop*.2000;20:786–96.
161. Wright RO, Hu H, Silverman EK, Tsaih SW, Schwartz J, Bellinger D. Apolipoprotein E genotype predicts 24-month bayley scales infant development score. *Pediatric Research*.2003;54(6);819-25.
162. McMicheal GL, Gibson CS, Goldwater PN. Association between apolipoprotein E genotype and cerebral palsy is not confirmed in a Caucasian population. *Hum Genet*.2008;124:411–6.
163. Jordan BD. Genetic influences on outcome following traumatic brain injury. *Neurochemical Research*.2007;32:905-15.
164. Hauser PS, Narayanaswamis V, Ryan RO. Apolipoprotein E: from lipid transport to neurobiology. *Progress in Lipid Research*.2011;50:62-74.
165. Dumanis SB, Tesoriero JA, Babus LW. ApoE4 decreases spine density and dendritic complexity in cortical neurons in vivo. *J Neurosci*.2009;29:15317–22.
166. Guo L, Ladu MJ, Van Eldik LJ. A dual role for apolipoprotein e in neuroinflammation: anti- and pro-inflammatory activity. *J Mol Neurosci*.2004;23:205–12.
167. Acevedo SF, Piper BJ, Craytor MJ, Benice TS, Raber J. Apolipoprotein e4 and sex affect neurobehavioral performance in primary school children. *Pediatr Res*.2010;67:293–9.
168. Horsburgh K, Kelly S, McCulloch J, Higgins GA, Roses AD. Increased neuronal damage in apolipoprotein E-deficient mice following global ischaemia. *Neuroreport*.1999;10(4):837-41.



169. Lynch JR, Tang W, Wang H, Vitek MP, Bennett ER, Sullivan PM. APOE genotype and an ApoE-mimetic peptide modify the systemic and central nervous system inflammatory response. *Journal of Biological Chemistry*. 2003;278(49):48529-33.
170. Lo TYM, Jones PA, Chambers IR, Beattie TF, Forsyth R, Mendelow AD. Modulating effect of apolipoprotein E polymorphisms on secondary brain insult and outcome after childhood brain trauma. *Child's Nervous System*. 2009;25(1):47-54.
171. Stoknes M, Lien E, Andersen GL. Child apolipoprotein E gene variants and risk of cerebral palsy: estimation from case-parent triads. *Eur J Paediatr Neurol*. 2015;19:286–91.
172. Bricthova E, Kozák L. Apolipoprotein E genotype and traumatic brain injury in children—association with neurological outcome. *Child's Nervous System*. 2008;24(3): 349-56.
173. Lien E, Andersen GL, Bao Y, Gordish-Dressman H, Skranes J, Blackman JA, Vik T. Gene sequences regulating the production of apoE and cerebral palsy of variable severity. *European Journal of Pediatric Neurology*. 2014;18(5):591-6.
174. Lien E, Andersen G, Bao Y, Gordish-Dressman H, Skranes JS, Blackman JA, Vik T. Genes determining the severity of cerebral palsy: the role of single nucleotide polymorphisms on the amount and structure of apolipoprotein E. *Acta Paediatrica*. 2015;104(7):701-6.
175. Hemminki K, Sundquist K, Li X. Familial risks for main neurological diseases in siblings based on hospitalizations in Sweden. *Twin Research and Human Genetics*. 2006;9(04):580-6.
176. Spooren A, Kolmus K, Laureys G, Clinckers R, De Keyser J, Haegeman G, Gerlo S. Interleukin-6, a mental cytokine. *Brain Research Reviews*. 2011;67(1):157-83.

177. Wilder RL, Manolagas SC, Chrousos GP. The pathophysiologic roles of interleukin-6 in human disease. *Annals of Internal Medicine*. 1998;128(2):127-37.
178. Shenhar S, Assayag EB, Bova I, Shopin L, Berliner S, Shapira I, Bornstein NM. Early signaling of inflammation in acute ischemic stroke: clinical implications. *Thrombosis Research*. 2008;122(2):167-73.
179. Bartha AI, Foster-Barber A, Miller SP, Vigneron DB, Glidden DV, Barkovich AJ, Ferriero DM. Neonatal encephalopathy: association of cytokines with MR spectroscopy and outcome. *Pediatric Research*. 2004;56(6):960-6.
180. Akeneya Y, Takahashi M, Hatanaka H. Interleukin-1 beta enhances survival and interleukin-6 protects against MPP + neurotoxicity in cultures of fetal rat dopaminergic neurons. *Exp Neurol*. 1995;136:44-52.
181. Hama T, Kushima Y, Miyamoto M, Kubota M, Takei N, Hatanaka H. Interleukin-6 improves the survival of mesencephalic catecholaminergic and septal cholinergic neurons from postnatal, two-week-old rats in cultures. *Neuroscience*. 1991;40:445-52.
182. Hama T, Miyamoto M, Tsukui H, Nishio C, Hatanaka H. Interleukin-6 as a neurotrophic factor for promoting the survival of cultured basal forebrain cholinergic neurons from postnatal rats. *Neurosci Lett*. 1989;104:340-4.
183. Matsuda S, Wen TC, Morita F, Otsuka H, Igase K, Yoshimura H, Sakanaka M. Interleukin-6 prevents ischemia-induced learning disability and neuronal and synaptic loss in gerbils. *Neurosci Lett*. 1996;204:109-12.
184. Loddick SA, Turnbull AV, Rothwell NJ. Cerebral interleukin-6 is neuroprotective during permanent focal cerebral ischemia in the rat. *J Cereb Blood Flow Metab*. 1998;18:176-9.

185. Smith SE, Li J, Garbett K, Mirnics K, Patterson PH. Maternal immune activation alters fetal brain development through interleukin-6. *The Journal of Neuroscience*. 2007;27(40):10695-702.
186. Bi D, Chen M, Zhang X, Wang H, Xia L, Shang Q, Wang X. The association between sex-related interleukin-6 gene polymorphisms and the risk for cerebral palsy. *Journal of Neuroinflammation*. 2014;11(1):1-12.
187. Yoon B, Park CW, Chaiworapongsa T. Intrauterine infection and the development of cerebral palsy. *BJOG: an International Journal of Obstetrics & Gynaecology*. 2003;110(20):124-7.
188. Martin-Ancel A, Garcia-Alix A, Pascual-Salcedo D, Cabanas F, Valcarce M, Quero J. Interleukin-6 in the cerebrospinal fluid after perinatal asphyxia is related to early and late neurological manifestations. *Pediatrics*. 1997;100(5):789-94.
189. Nelson KB, Dambrosia JM, Grether JK, Phillips TM. Neonatal cytokines and coagulation factors in children with cerebral palsy. *Ann Neurol*. 1998;44(4):665-75.
190. Yoon BH, Jun JK, Romero R, Park KH, Gomez R, Choi JH, Kim IO. Amniotic fluid inflammatory cytokines (interleukin-6, interleukin-1beta, and tumor necrosis factor-alpha), neonatal brain white matter lesions, and cerebral palsy. *Am J Obstet Gynecol*. 1997;177(1):19-26.
191. Martinez E, Figueroa R, Garry D. Elevated amniotic fluid interleukin-6 as a predictor of neonatal periventricular leukomalacia and intraventricular hemorrhage. *J Matern Fetal Investig*. 1998;8:101-7.
192. Duggan PJ, Maalouf EF, Watts TL, Sullivan MH, Counsell SJ, Allsop J, Al-Nakib L, Rutherford MA, Battin M, Roberts I. Intrauterine T-cell activation and increased proinflammatory cytokine concentrations in preterm infants with cerebral lesions. *Lancet*. 2001;358(9294):1699-700.

193. Brull DJ, Lesson CP, Montgomery HE, Mullen M, DeDivitiis M, Humphries S E, Deanfield JE. The effect of the Interleukin-6–174G> C promoter gene polymorphism on endothelial function in healthy volunteers. *European Journal of Clinical Investigation*. 2002;32(3):153-7.
194. Humphries SE, Luong LA., Ogg MS, Hawe E, Miller GJ. The interleukin-6–174 G/C promoter polymorphism is associated with risk of coronary heart disease and systolic blood pressure in healthy men. *European Heart Journal*. 2001;22(24):2243-52.
195. Tischendorf JJW, Yagmur E, Scholten D, Vidacek D, Koch A, Winograd R, Lammert F. The interleukin-6 (IL6)–174 G/C promoter genotype is associated with the presence of septic shock and the ex vivo secretion of IL6. *International Journal of Immunogenetics*. 2007;34(6):413-8.
196. Raunio T, Nixdorf M, Knuutila M, Karttunen R, Vainio O, Tervonen, T. The extent of periodontal disease and the IL-6–174 genotype as determinants of serum IL-6 level. *Journal of Clinical Periodontology*. 2007;34(12):1025-30.
197. Terry CF, Loukaci V, Green FR. Cooperative influence of genetic polymorphisms on interleukin 6 transcriptional regulation. *Journal of Biological Chemistry*. 2000;275(24):18138-44.
198. Bruunsgaard H, Christiansen L, Pedersen AN, Schroll M, Jørgensen T, Pedersen BK. The IL-6–174G> C polymorphism is associated with cardiovascular diseases and mortality in 80-year-old humans. *Experimental Gerontology*. 2004;39(2):255-61.
199. Kilpinen S, Hulkkonen J, Wang XY, Hurme M. The promoter polymorphism of the interleukin-6 gene regulates interleukin-6 production in neonates but not in adults. *Eur Cytokine Netw*. 2001;12:62–8.
200. Nokso-Koivisto J, Patel JA, Chonmaitree T. IL-6–174 c/c genotype is not conclusively a low IL-6 production phenotype. *J Infect Dis*. 2011;203(12):1876-8.

201. Mooijaart SP, Sattar N, Trompet S, Lucke J, Stott DJ, Ford I, Craen AJM. Circulating interleukin-6 concentration and cognitive decline in old age: the PROSPER study. *Journal of Internal Medicine*. 2013;274(1):77-85.

