TC

TRAKYA ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TRAKYA BÖLGESİNDE YAŞAYAN, TEKRARLAYAN GEBELİK KAYBI ÖYKÜSÜ OLAN ÇİFTLERDE SAYISAL VE YAPISAL KROMOZOM ANOMALİLERİ VE TROMBOFİLİ RİSKİNİN ARAŞTIRILMASI

ESRA EREN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BİYOTEKNOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI

TEZ DANIŞMANI

DOÇ. DR. HAKAN GÜRKAN

EDİRNE-2018

Esra EREN'in hazırladığı " Trakya Bölgesinde Yaşayan, Tekrarlayan Gebelik Kaybı Öyküsü Olan Çiftlerde Sayısal ve Yapısal Kromozom Anomalileri ve Trombofili Riskinin Araştırılması" başlıklı bu tez, tarafımızca okunmuş, kapsam ve niteliği açısından Biyoteknoloji ve Genetik Anabilim Dalında bir Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Doç. Dr. Hakan GÜRKAN

Dr. Öğr. Üyesi Bahadır BATAR

Doç. Dr. Jülide TOZKIR

Tez Savunma Tarih: 06/07/2018

Bu tezin Yüksek Lisans tezi olarak gerekli şartları sağladığını onaylarım.

Doç. Dr. Hakan GÜRKAN

Tez Danışmanı

Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitü onayı

Prof. Dr. Murat YURTCAN

Fen Bilimleri Enstitü Müdürü

T.Ü.FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOTEKNOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI YÜKSEK LİSANS PROGRAMI

DOĞRULUK BEYANI

Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitü, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmasında, tüm verilerin bilimsel ve akademik kurallar çerçevesinde elde edildiğini, kullanılan verilerde tahrifat yapılmadığını, tezin akademik ve etik kurallara uygun olarak yazıldığını, kullanılan tüm literatür bilgilerinin bilimsel normlara uygun bir şekilde kaynak gösterilerek tezde yer aldığını ve bu tezin tamamı ya da herhangi bir bölümünün daha önceden Trakya Üniversitesi ya da farklı bir üniversitede tez çalışması olarak sunulmadığını beyan ederim.

27./07./2018

Esra EREN

Yüksek Lisans Tezi

Trakya Bölgesinde Yaşayan, Tekrarlayan Gebelik Kaybı Öyküsü Olan Çiftlerde Sayısal ve Yapısal Kromozom Anomalileri ve Trombofili Riskinin Araştırılması

T. Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoteknoloji ve Genetik Anabilim Dalı

ÖZET

Tekrarlayan gebelik kaybı, ard arda yaşanan 20. hafta ve öncesinde, uterus dışında gelişimini devam ettiremeyen fetusun spondan kaybı olarak ifade edilmektedir. Ebeveyn kromozomal anomalileri ve trombofili gibi fetomaternal dolaşımı yetersizleştiren pıhtı sorunları yanında pek çok etken bu kayıplardan sorumlu tutulmaktadır. Kromozom anomalilerine sahip fetusların büyük bir kısmı doğuma ulaşmadan spontan abortusla sonuçlanmaktadır. Ebeveynlerin somatik hücrelerinde dengeli olan yapısal kromozomal anomalileri üreme hücrelerinin dengesiz segregasyona uğrayarak önemli bir risk faktörü oluşturabilmektedir.

Aynı zamanda gebeliğin devamı için sağlıklı fetomaternal dolaşım birçok otoritenin kabul ettiği önemli bir etkendir. Yeterince perfüzyonu sağlanamayan fetus gelişemez, yeterli implantasyonu sağlanamaz ve spontan olarak kaybedilmeye adaydır.

Tez çalışmamızda Nisan 2014 ile Temmuz 2017 tarihleri arasında Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi (TÜTF) Tıbbi Genetik Anabilim Dalı-Genetik Hastalıklar Tanı Merkezi'ne tekrarlayan gebelik kaybı öyküsü ile başvuran 726 çift geriye dönük

olarak değerlendirildi. Hasta dosya verileri taranarak pedigrileri üzerinden akrabalık ilişkileri olmadığı belirlenen toplam 258 kişinin karyotip sonuçları değerlendirildi. Çalışmanın devamında 129 tekrarlayan gebelik kaybı öyküsü olan kadın güncel kaynaklarda belirtilen trombofili paneli gen varyasyonları taşıyıcılık açısından değerlendirildi. Trombofili panelinde anlamlı kabul edilen varyasyonlar ile sayısal ve/veya yapısal kromozomal anomali sıklığı çalışmaya dahil edilen hastalarda istatistiksel olarak belirlendi.

Çalışmaya dahil edilen 129 çiftten %2,33'ünde yapısal kromozomal anomali, %0,39'unda sayısal kromozomal anomalisi saptandı. %20,93 hastada farklı kromozomal polimorfik varyantlar belirlenirken, en sık (%7,75) saptanan kromozomal polimorfik varyant 9qh+ olarak saptandı.

Trombofili panelinde yer alan Protrombin (20210 G>A), Faktör V Leiden (1691G>A), metilentetrahidrofolat redüktaz (MTHFR) 677C>T ve 1298A>C, PAI-1 4G/4G, Beta Fibrinojen -455G>A, Faktör XIII Val34Leu, GPIIIa Leu33Pro gen varyasyonları değerlendi. 129 kadın hastada en sık PAI-1 4G/4G (%27,13) varyasyonu saptandı. Homozigot Faktör XIII Val34Leu varyasyonu %5,43, homozigot GPIIIa Leu33Pro varyasyonu %1,55, heterozigot Faktör V Leiden varyasyonu %12,40 ve heterozigot protrombin 20210 G>A varyasyonu %6,98, homozigot MTHFR 677C>T varyasyonu %9,30, homozigot MTHFR 1298 A>C varyasyonu %9,30, homozigot beta fibrinojn -455 G>A varyasyonu ise %4,65 olarak saptandı.

Yıl : 2018

Sayfa Sayısı : 89

Anahtar Kelimeler : Tekrarlayan Gebelik Kaybı, Kromozomal Anomaliler, Herediter Trombofili, Polimorfizm.

Master Thesis

Investigation of Numerical, Structural Chromosomal Abnormalities and Thrombophilic Risks in Repeated Loss of Pregnancy in Trakya Region

Trakya University Institute of Natural Sciences

Department of Biotechnology and Genetics

ABSTRACT

Recurrent pregnancy loss is expressed as the loss of spontaneous of the fetus which can not continue to develop outside the uterus at 20 weeks and before. Many factors are responsible for these miscarriage, as well as clot problems that defeat fetomaternal circulation such as parental chromosomal anomalies and thrombophilia. Most fetuses with chromosomal anomalies result in spontaneous abortion without reaching birth. Structural chromosomal abnormalities, which are balanced in the somatic cells of parents, can be a significant risk factor for reproductive cells undergoing unbalanced segregation.

At the same time, the healthy fetomaternal circulation for the continuation of your pregnancy is an important influence that many authorities have adopted. The fetus, which is not perfused enough, can not develop, can not be adequately implanted and is spontaneously lost.

In our thesis study, 726 couples who were referred to Trakya University Medical Faculty (TÜTF) Medical Genetics Department-Genetic Diseases Diagnosis Center with recurrent pregnancy loss story were evaluated retrospectively between April 2014 and

July 2017. Patient files were scanned and karyotype results were evaluated for a total of 258 patients who were found to have no kin relationship through their pedigrees. The thrombophilia panel gene variants mentioned in the current sources of women with recurrent pregnancy loss narratives in the continuation of the study were evaluated for carriage. Significantly accepted variations in the thrombophilia panel and numerical and/or structural chromosomal anomalies were statistically determined in the patients included in the study.

Structural chromosomal anomaly and numerical chromosomal anomaly in 0.39% were detected in 2.33% of the 129 pairs included in the study. While 20.93% of patients had different chromosomal polymorphic variants, the chromosomal polymorphic variant detected as 9qh + was the most common (7.75%).

Prothrombin (20210G>A), Factor V Leiden (1691G>A), methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) 677C>T and 1298A> C, PAI-1 4G/4G, Beta Fibrinogen -455G>A, Factor XIII Val34Leu, GPIIIa Leu33Pro gene variants were assessed. The most frequent PAI-1 4G/4G (27,13%) variation was detected in 129 female patients. Homozygote Factor XIII Val34Leu 5,43% homozygote GPIIIa Leu33Pro 1,55% heterozygote Factor V Leiden variation 12,40% heterozygous prothrombin 20210 G>A variation 6,98% homozygote MTHFR 677C>T variation 9% 30, homozygous MTHFR 1298 A>C variation of 9.30%, homozygous beta fibrinogen-455 G>A variation of 4.65% was detected.

Year : 2018

Number of Pages : 89

Keywords : Recurrent Pregnancy Loss, Chromosomal Anomalies, Hereditary Thrombophilia, Polymorphism.

TEŞEKKÜR

Tez çalışmamın konusunun belirlemesi ve hazırlanma sürecinin her aşamasında engin bilgi ve tecrübelerini benden esirgemeyen, kendisine ne zaman danışsam değerli vaktini ayırarak her fırsatta çalışmamla yakından ilgilenenerek yol gösteren, birikim, tecrübe ve duruşuyla bana birçok katkısı olan, değerli danışman hocam Doç. Dr. Hakan GÜRKAN'a sonsuz saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Yol gösterici ve destekleyici tutumlarını ve bilgi ve tecrübelerini esirgemeyen sayın hocam Doç. Dr. Hilmi TOZKIR'a teşekkür ve saygılarımı sunarım.

Tez çalışmam boyunca güler yüzlerini, bilgi ve tecrübelerini sunan her türlü yardım ve ilgiyi gösteren, Trakya Üniversitesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı-Genetik Hastalıklar Tanı Merkezinde görevli gönlü geniş tüm, öğretim görevlileri, uzman ve laboratuvar çalışanlarına sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Son olarak bugünlere gelmemde en büyük katkıları olan, eğitim hayatım boyunca maddi manevi desteklerini üzerimden esirgemeyen, her konuda yanımda olan ve her türlü fedakarlıkta bulunan, emeklerini asla ödeyemeyeceğim, sevgili annem Müsebbiye, babam Mustafa ve kardeşim Kerem EREN'e sonsuz teşekkürlerimle.

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY SAYFASI ...……..I

DOĞRULUK BEYANI.....II

ÖZET..... III

ABSTRACT.....V

TEŞEKKÜR VII

İÇİNDEKİLER VIII

SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ XII

ÇİZELGELER DİZİNİ XIV

ŞEKİLLER DİZİNİ XV

GİRİŞ VE AMAÇ 1

GENEL BİLGİLER.....4

1. Tekrarlayan Gebelik Kayıpları Ve İnsidansı.....4

2.Tekrarlayan Gebelik Kayıpları Etiyolojisi 6

2.1. Ebeveyn Kromozomal Anomalileri.....8

2.2. İmmunolojik Faktörler.....11

2.3. Uterin Anomalileri.....14

2.4. Endokrin Faktörler.....16

2.5. Trombofili.....19

2.6. Çevresel Faktörler ve Enfeksiyonlar....20

3. Hemostaz....21

3.1. Ekstrensek Koagülasyon Yolu (Doku Faktörü Yolu)....22

3.2. İntrensek Koagülasyon Yolu (Kontakt Aktivasyon Yolu)....23

3.3. Ortak Koagülasyon Yolu....24

4. Güncel Koagülasyon Mekanizması....25

5. Gebelik Ve Hemostaz....26

6. Kalıtsal Trombofiliye Sebep Olan Bazı Gen Varyasyonları....27

6.1.Faktör V Leiden Gen Varyasyonu....27

6.2. Protrombin Gen Varyasyonu....29

6.3. PAI-1 Gen Varyasyonu....30

6.4. MTHFR 677 Gen Varyasyonu....31

6.5. MTHFR 1298 Gen Varyasyonu....32

6.6. Beta Fibrinojen -455 G>A Gen Varyasyonu....33

6.7. Glikoprotein IIIa Gen Varyasyonu....34

6.8. Faktör XIII Gen Varyasyonu....35

7. Trombofili Nedeni Olarak Belirlenen Yeni Aday Genler....36

MATERYAL VE YÖNTEM....38

1. Malzemeler....38

1.1. Trombofili Paneli Çalışılırken Kullanılan Cihazlar Ve Solüsyonlar....38

1.1.1. Kullanılan Cihazlar....38

1.1.2. Kullanılan Solüsyonlar....39

1.2. Kromozom Analizi Sırasında Kullanılan Cihazlar ve Solüsyonlar....40

1.2.1. Kromozom Analizi İçin Kullanılan Cihazlar....40

1.2.2. Kromozom Analizinde Kullanılan Solüsyonlar....41

2.Trombofili Çalışması İçin Yöntemler....42

2.1. Trombofili Paneli Çalışılacak Kanların DNA İzolasyonu....42

2.2. İzole Edilen gDNA Örneklerinin Saflık Ve Konsantrasyon Ölçümleri....42

2.3. Tromboz Paneli Çalışma Protokolü....43

2.3.1. PCR Aşamaları....44

2.3.2. Pyro Sekans 46
2.3.3. Run Dosyası Oluşturma Aşamaları 46
2.3.4. PCR Ürünlerinin Streptavidin Sepharose Bilyelerine Bağlanması 47
2.3.5. Pyro Sekans İçin Örnek Hazırlama Aşamaları 48
2.3.6. Pyromark Q24'ün Çalıştırılması 49
3. Kromozom Analizi İçin Yöntemler 50
3.1. Periferik Kandan Hücre Kültürünün Yapılması 50
3.2. Kromozomları Lamlara Yayma Ve Boyanma Aşaması 51
3.3.Kromozomların Mikroskop Altında İncelenmesi ve Analiz Edilmesi 52
4.Kromozom Analizinde Kullanılan Malzemeleri Hazırlanışı 53
4.1. RPMI Besiyeri Hazırlanışı 53
4.2. Timidin Çözeltisi Hazırlanışı 54
4.3. PBS Tampon Çözeltesi Hazırlanışı 54
4.5. Fiksatif Çözeltisi Hazırlanışı 55
4.6. Boya Çözeltisi Hazırlanışı 55
4.7. Leichman Boya Çözeltesi Hazırlanışı 56
4.8. Gurr Buffer Solüsyonu Hazırlanışı 56
SONUÇLAR 57
TARTIŞMA 63
KAYNAKÇA 68
EKLER 81
EK-1: Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu 81
EK- 2: Etik Kurul Formu 88
ÖZGEÇMİŞ 89

SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ

µl : Mikrolitre

A : Adenin Bazı

APC : Aktive Protein C

APS : Antifosfolipit Antikor Sendromu

ASRM : American Society for Reproductive Medicine (Amerikan Üreme Tıbbı Derneği)

b-HCG : Beta Human Chorionic Hormon (İnsan Koryoik Hormon)

C : Sitozin Bazı

Ca^{2+} : Kalsiyum

db : Dalga Boyu

DES : Dietilstilbesterol

DNA : Deoksiribonükleik Asit

dNTP : Deoksi Nükleotid Trifosfat

EDTA : Etilendiamintetraasetik Asit

ESHRE : European Society of Human Reproduction and Embryology (Avrupa İnsan Üreme ve Embriyoloji Derneği)

F II : Koagülasyon Faktörü II (Protrombin)

F XIII : Koagülasyon Faktörü 13

F V : Koagülasyon Faktörü 5

G : Guanin Bazı

gDNA : Genomik DNA

GP IIIa : Aktif Halde Bulunan Glikoprotein III

HLA : Human Leukocyte Antigens (İnsan Lökosit Antjenleri)

HMWK : High Molecular Weight Kininogen (Yüksek Mol Ağırlıklı Kininojen)

HSG : Histerosalpingografi

IFN : İnterferon

IL : İnterlökin

kb : Kilobaz

KCL : Potasyum klorür çözeltisi

kD : Kilodalton

Leu : Lösin aminoasidi

M : Molar

MBL2 : Mannoz Bağlayıcı Lektin 2

MHC : Major Histokompatibilite Kompleksi

ml : Mililitre

mRNA : Mesajcı Ribonükleik asit

MTHFR : Metilen tetrahidrafolat redüktaz

ng : Nanogram

NK	: Natural Killer (Doğal öldürücü)
nm	: Nonometre
PAI-1	: Plazminojen Aktivatör İnhibitörü 1
PBS	: Phosphate Buffered Saline
PCOS	: Polikistik Over Sendromu
PCR	: Polimerase chain reaction Polimeraz zincir reaksiyonu
PL	: Fosfolipit
Pro	: Prolin aminoasidi
RNA	: Ribonükleik Asit
rpm	: Revolutions per minute (Dakikadaki devir sayısı)
RPMI	: Roswell Park Memorial Institute Medium
SNP	: Single Nucleotide Polymorphism (Tek Nükleotit Polimorfizmi)
T	: Timin Bazı
TF	: Tissue Faktör (Doku Faktörü)
TFPI	: Tissue Factor Pathway Inhibitor (Doku Faktör Yolu İnhibitörü)
TGK	: Tekrarlayan Gebelik Kayıpları
Th1	: Tip-1 yardımcı T hücresi
Th2	: Tip-2: yardımcı T hücresi
tPA	:Tissue Plasminogen Activator (Doku Plazminojen Aktivatörü)
Treg	: Regülatör T hücresi
TÜTF	: Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi
Val	: Valin aminoasidi

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1. Trombofili çalışmasında kullanılan cihazlar 39
Çizelge 2. Sitogenetik laboratuvarında kromozom analizi sırasında kullanılan cihazlar 40
Çizelge 3. PCR Reaksiyon Kompozisyonu 44
Çizelge 4. PCR Aşamaları 45
Çizelge 5. Pyro sekans reaksiyonu 47
Çizelge 6. Çalışılan kadın ve erkeklerin yaş ortalamaları 57
Çizelge 7. Çalışmada bulgulanan polimorfik varyantlar 58
Çizelge 8. Çalışmada belirlenen yapısal ve sayısal kromozom anomalileri 59
Çizelge 9. Protrombin 20210 G>A - F V Leiden gen varyasyonları genotip frekansları 60
Çizelge 10. MTHFR 677 C>T - MTHFR 1298 A>C gen varyasyonları genotip frekansları 60
Çizelge 11. PAI-1 4G/5G - Beta Fibrinojen -455G>A gen varyasyonları genotip frekansları 61
Çizelge 12. Faktör XIII Val34Leu - GP IIIa Leu33Pro gen varyasyonları genotip frekansları 61

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. TGK'ya etki eden faktörlerin pasta diyagramı şeklinde gösterimi 7
Şekil 2. Ekstrensek koagülasyon yolu 23
Şekil 3. İnterensek koagülasyon yolu 24
Şekil 4. Ortak koagülasyon yolu 25
Şekil 5. 1. kromozom üzerine yerleşimli F5 gen bölgesi 27
Şekil 6. 11. kromozom üzerine yerleşimli F2 gen bölgesi 29
Şekil 7. 7. kromozom üzerine yerleşimli PAI-1 gen bölgesi 31
Şekil 8. 17. kromozom üzerine yerleşimli ITGB3 gen bölgesi 34
Şekil 9. 6. kromozom üzerine yerleşimli F13A1 gen bölgesi. 35
Şekil 10. Nanodrop 2000C spektrofotometrik ölçüm cihazı 43
Şekil 11. Pyromark PCR kiti 44
Şekil 12. 8'li PCR tüpleri 45
Şekil 13. Çalışmalarda kullanılan Euroclone markasına ait ısı bloğu 46
Şekil 14. PyoMark Q24 Vacuum Workstation cihazı 49
Şekil 15. Analiz edilmek üzere kromozom preparatları 52
Şekil 16. Metafaz bulucu sistem 53
Şekil 17. Metafaz bulucu sistemin bilgisayar ekranı 53
Şekil 18. Toz haldeki Multicell marka deoksi timidin 54
Şekil 19. Biomatik markasına ait PBS tabletleri 55

BÖLÜM 1

GİRİŞ VE AMAÇ

İnsan üreme döngüsü sanılanın aksine her defasında doğuma kadar başarılı bir biçimde sonuçlanmaz. Tıbbi olarak tespit edilen gebeliklerin %15-20'si abortus ile sonuçlanmaktadır (Örgül, Soyak, Aydın, Tanaçan, Çağan, & Beksaç, 2017, s.67). Gebelik kayıpları ve bu durumun ardışık tekrar etmesi reprodüktif dönemdeki çoğu kadının sıklıkla karşılaştığı jinekolojik sorunlardan birisi olmakla birlikte hem tıbbi hem de psikolojik olumsuz sonuçlar yaşatmaktadır. Tekrarlayan gebelik kayıpları (TGK), ardışık meydana gelen en az iki ya da daha çok gebeliğin 20. gebelik haftasına ulaşamadan beşyüz gramın altında embriyo ya da fetusun bir kısmı ya da tamamının uterin boşluktan dışarı atılarak gebeliğin sonlanması şeklinde tanımlanmaktadır (Kong, Chung, Lai, & Lok, 2010 , Deniz, Baykuş, & Kavak, 2016, s. 130).

TGK; bebek sahibi olmaya çalışan her 100 çiftten 1 ila 3'ünü etkileyen infertiliteden farklı bir gebelik sorunudur (Rai & Regan, 2006). Gebelik kaybında; döllenme ve üremenin gerçekleşebildiği fakat gereken gestasyon haftaları tamamlanamadan, implantasyon sırasında ya da gelişmede kaynaklanan sorun ile gebeliğin kendiliğinden sonlanması şeklinde başarısız gebeliklerdir (Amerika Üreme Sağlığı Derneği Uygulama Komitesi, 2013, s. 63).

TGK'nın literatürde kabul görmüş etiyolojisinde, anne-baba kromozomal anomalileri, hormomal bazı faktörler, anatomik uterin bozukluklar, immun bazı problemler, kogülasyon proteinlerinde hasarlar ve trombofili, bazı enfeksiyonlar ile çevresel bazı faktörler rapor edilmiştir. Uzun yıllardır yapılan çalışmalara ve

değerlendirmelere rağmen TGK öyküsü olan çiftlerin sadece yarısında etiyoloji aydınlatılıp sorun bir nedene bağlanabilmiştir (Ford & Schust, 2009).

Yaşamsal faaliyetlerimizin devamı için temel taşları oluşturan kanın dolaşımı ve damarlardaki kan kaybını önleyen koagülasyon mekanizması gebeliklerin doğuma kadar sorunsuz biçimde devamı için oldukça önemlidir. Koagülasyon faktörlerinde oluşan anormal durumlar fetusun anne rahmine yerleşimini ve plasental damarlanmayı etkileyerek olumsuz gebelik sonuçları ve abortuslara sebep olabilir. Trombofili, fibrinojeni fibrine çeviren trombin oluşumunda artış ve hiperkoagulasyona neden olan durumlar için kullanılan tanımlamadır (Durmaz, Kozan, Torun, Bahçe, & Güran, 2011). Protrombin 20210 G>A, Faktör V Leiden 1691 G>A, metilentetrahidrofolat redüktaz (MTHFR) 677 C>T ve 1298 A>C, Faktör XIII Val34Leu, Beta Fibrinojen -455 G>A, PAI-1 4G/5G, GPIIIa Leu33Pro genetik değişiklikler ile protein S ve C, antitrombin III eksiklikleri literatürde belirtilen herediter trombofili sebepleri olarak bildirilmiştir (Işık, Alptekin, Selimoğlu, Cengiz, Küçükkapan, & Alptekin, 2016 , Chatzidimitriou vd., 2017). Edinsel trombofili nedenlerinde ise antifosfolipid sendromu lupus antikoagülan ve antikardiyolipin antikorları varlığı olabilmektedir Maternal trombofililer fetus ve plasenta arasındaki dolaşımı ve damar gelişimini etkileyerek intrauterin gelişme geriliği ve abortuslara neden olabileceği literatürde bildirilmiştir (Işık, Alptekin, Selimoğlu, Cengiz, Küçükkapan, & Alptekin, 2016).

Farklı popülasyonlarda değişik prevalans gösteren varyasyon sıklığı için farklı örneklem grupları ile farklı etnik köken ve ırkta bireylerle çalışmalar yapılmalıdır. Risk altındaki popülasyonlar belirlenmeli ve uygun tedavi ve danışmanlık sağlanmasının önemi literatürde yer alan bazı çalışmalarda bildirilmiştir (Şahin, Ataç, Yılmaz, & Zeyneloğlu, 2009).

Abortusların önemli nedenlerinden bir tanesi de fetal kromozomal anomalilerdir. Trizomi, anöploidi, poliploidi gibi kromozomal kusurlar mayoz bölünme ya da döllenmeden sonraki aşamalarda bazı mitoz bölünme hatalarından kaynaklı de novo meydana gelebilmektedir. Bu şekilde anormal kromozom dizilimine sahip embriyo ya da fetusun kaybına sebep olabilmektedir (Yakut vd., 2015). Ebeveynlerin genomlarında taşıdıkları bazı dengeli kromozom anomalileri, kendi fenotiplerinde anormal bir duruma neden olmasa da yapısal ya da sayısal kromozomal anomaliye

sahip fetusların oluşmasına neden olabilir. Tekrarlayan gebelik kaybı öyküsü olan çiftlerde, dengeli kromozom anomalilerinin üreme hücrelerinde dengesiz olarak segrege olabileceği unutulmamalıdır (Ford & Schust, 2009).

Tez çalışmamızda Trakya Bölgesi'nde yaşayan, birbirleri ile akrabalık ilişkisi olmayan, TGK öyküsü olan çiftlerde sayısal ve/veya yapısal kromozomal anomaliler ile olası trombofili riskleri araştırılacaktır. Bugüne kadar Trakya bölgesi'nde TGK öyküsü olan çiftlerde herediter trombofili varyasyonları, sayısal ve/veya yapısal kromozomal anomali prevalansı araştırılmamış olup, tez çalışmamızın sonuçları ile bu konuda literatüre katkı sağlayacağımız öngörüsündeyiz.

BÖLÜM 2

GENEL BİLGİLER

1. Tekrarlayan Gebelik Kayıpları Ve İnsidansı

Abortus; henüz beşyüz gramdan daha düşük ağırlığa sahip fetusun 20. gestasyon haftasını tamamlayamadan uterin boşluktan atılması şeklinde tanımlanmaktadır. Bu durumun art arda iki ve daha fazla sayıda yaşanması klinikte tekrarlayan gebelik kaybı (TGK) olarak isimlendirilmektedir (ESHRE, 2017, s. 15-16 , Deniz, Baykuş, & Kavak, 2016, s. 130). Amerikan Üreme Sağlığı Kurumu (ASRM) da aynı şekilde iki ve daha fazla ardışık yaşanan abortusları TGK tanımlamasına dahil etmektedir (Amerika Üreme Sağlığı Derneği Pratik Komitesi, 2012). Fakat bu tanımlamalar annede gebelik belirteci hormonları arttıran ve halk arasında üzüm gebeliği olarak bilinen molar gebeliği ve dış gebelikleri kapsamamaktadır (Van den Boogaard vd., 2010).

Farklı ülkelerde sözü geçen mevcut sağlık kuruluşlarının bir kısmı TGK için en az üç ve daha fazla sayıda gebelik kaybını kriter almaktadırlar. Fakat yapılan bir takım çalışmalar her iki gruplandırmadaki kadınların obstetrik özelliklerinin ve gebelik sonuçlarının farklılık göstermediğini belirtmektedir (Rai & Regan, 2006 , Bashiri, Rotzan, Amar, Serjienko, & Mazor, 2012). Van derBoogard vd. (2010) yapmış oldukları çalışmada benzer şekilde iki ya da üç kez ardışık abortus yaşayan kadınların arasında fark bulunmadığını ve vakit geçirmeden en az iki abortus öyküsü yer alan kadınlarda da araştırma yapılması gerektiğini belirtilmektedir (Van den Boogaard vd., 2010).

Spontan bir şekilde 12. gestasyon haftasına ulaşamadan gerçekleşen abortuslar erken abortus olarak tanımlanırken, 12. ve 20. gestasyon haftaları arasında gerçekleşen spontan abortuslar geç abortus olarak tanımlanmaktadır (Özdemir, Balcı, Göktepe, Görkemli, Taşçı, & Acar, 2010, s. 94). Aynı şekilde başka bir sınıflandırmayla ise konsepsiyondan sonra ilk altı hafta içinde gerçekleşen spontan kayıplar erken embriyonel kayıp olarak adlandırılmaktadır. Altı ve dokuzuncu gestasyon haftaları arasındaki kayıplar ise embriyonik kayıp olarak sınıflandırılmaktadır. 20. gestasyon haftasından sonra meydana gelen spontan kayıplar ise infant mortaliti olarak tıbbi terminolojide yer almaktadır (Kutteh, 2015, s. 163).

İleriki gebelik sonuçlarını etkileyen bir başka etken ise geçmiş obstetrik deneyimlerdir. Bilinen iki abortus sonrası olası gebeliklerde tekrar abortus yaşanma riski %24, üç abortustan sonra ise tekrar abortus riski %30'lara çıkmaktadır. Klinik olarak belirtilen üç ve daha fazla sayıda abortus yaşayan kadınlarda ise sayısı artsa bile bir sonraki gebeliklerinde tekrar abortus riski %30 ila %40 kadardır (Özdemir, Balcı, Göktepe, Görkemli, Taşçı, & Acar, 2010, s. 94)

Her üremenin başarılı bir doğumla sonuçlanmayacağı gibi spontan abortus her 100 gebeliğin 15 ila 25 kadarında rastlandığı literatürde bildirilmektedir (ESHRE, 2017). TGK arka arkaya iki ve üzeri sayıda gebelik kaybı olarak değerlendirildiğinde bebek sahibi olmak isteyen çiftlerin % 3-5'ini (Karaman & Uluğ, 2013, s. 30) etkilerken, farklı popülasyonlarda sıklıkları değişse de üç ve daha fazla gebelik kaybı olarak değerlendirildiğinde ise çiftlerin %1'lik bir kısmını etkileyen reprodüktif bir problemdir. Başka bir çalışmada ise dört ve üzeri kayıpların sıklığı %0.05, altı ve üzeri gebelik kayıpları için ise %0,001 sıklıkla hiç de azımsanamayacak oranlarda olduğu bildirilmektedir (Kutteh, 2015).

Yaşanan tüm tekrarlayan abortusların insidansının belirlenmesi konusunda karşılaşılan en büyük sorun, tanımlamalarda en az iki ya da üç kez ardışık gebelik kaybının hangisinin kriter alınacağı konusunda ortak bir görüşün sağlanamamasıdır. Karşımıza çıkan bir başka zorluk ise tespit edilip kayıt altına alınamayan anne adayının bile farkına varamadığı gebelik kayıplarının mevcut olmasıdır (Roepke, Mattıhiesen, Rylance, & Christiansen, 2017).

Embriyolar 6 gün içinde uterus duvarına yerleşmeye başlamaktadır. Bununla birlikte klinik öncesi gebelikler beta-HCG (beta-karyonik gonadotropin hormonu) yükselmesi ile belirlenebilmektedir. Zigotların çoğu uterin duvara yerleşemeden kaybedilirler. Bu tür gebeliklerin varlığı yalnızca artan beta-HCG seviyeleri ölçülerek anlaşılmaktadır. Wilcox ve ark.'ları çalışmalarında tıbbi olarak kanıtlanan gebeliklerin fetal kayıp oranlarını 100 gebelikte 22 olarak saptamışlardır (Simpson & Carson, 2013).

2.Tekrarlayan Gebelik Kayıpları Etiyolojisi

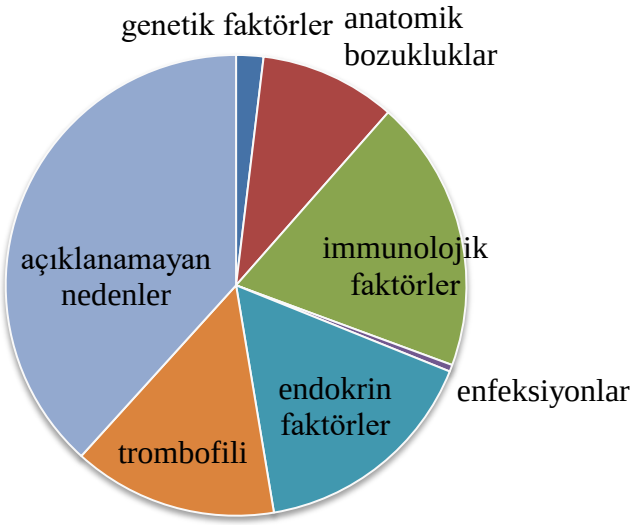
Gebelik kayıpları geri dönüşümü mümkün olmayan sonuçlar doğurur. Bu gibi durumlarda etiyolojiyi ve risk faktörlerini iyice belirleyip önlemler almak, ileride başarılı doğumlar için sorunlara müdahalede önem arz etmektedir. Ailenin gelecekte planladıkları gebeliklerde de aynı sorunların yaşanmaması için iyi bir değerlendirme, risk analizi ve tedavi planlaması önemlidir (Nilsson, Andersen, Strandberg-Larsen, & Nybo Andersen, 2014, s. 1375).

Yakın tarihli psikoloji alanında gerçekleştirilen bir çalışmada, iki ve daha fazla abortus geçmişi bulunan 25 kadının içinde bulundukları psikolojik durum değerlendirilmiştir. Çalışma sonucunda bu kadınların depresif, karamsar ve umutsuz bir psikolojik durum içerisinde olduklarını rapor edilmiştir (Düzen, 2016, s. 73). Aynı şekilde Kolte vd. (2015) tekrarlayan abortus gibi jinekolojik problemler yaşayan kadınların suçluluk, psikolojik olumsuz durumlar ve bir sonraki gebeliklerini sağlıklı sonuçlanacağına dair endişeler yaşadıklarını bildirmektedir (Kolte, Olsen, Mikkelsen, Christiansen, & Nielsen, 2015, s. 780). Psikolojik ve yıpratıcı etkileriyle tekrarlı abortuslar anne adayları kadar ve erkekler içinde olumsuz sonuçlar yaşatmaktadır (Nilsson, Andersen, Stranberg- Larsen, & Nybo Andersen, 2014, s. 1375).

Reprodüktif dönemdeki birçok kadının yaşadığı bir problem olan tekrarlı abortuslar, birçok araştırmacı ve tıp dünyasının dikkatini çekmiş ve çok sayıda araştırma yapmaya yöneltmiştir (Sergi, Jishi, & Walker, 2015). Tekrarlı abortuslarda sorumlu tutulan nedenler genellikle çok etkenli olmakla birlikte tedavi edilebilen sorun odaklı bir neden belirleyip fetal kayıp riskini önlemek var olan durumu iyileştirmek son derece gereklidir (Ford & Schust, 2009). İmmun sistem değişiklikleri, endokrin

bazı sorunlar, ebeveynlerin genomlarında taşıdıkları bazı kromozomal anomaliler, uterusta anatomik bazı değişiklikler, edinsel ya da herediter trombofili, maternal alışkanlıklar, yaşam tarzı ve bazı enfeksiyöz ajanlar tekrarlayan abortuslardan sorumlu tutulmaktadır (Heidari, Sheikholeslami, Yavari, Khatami, & Seyedhassani, 2017, s. 1 , Lee vd., 2013, s. 399). Yapılan çeşitli tıbbi araştırmalar, testler ve gözlemlere rağmen bu durumu yaşayan çiftlerin çoğunda geçerli bir neden belirtilememektedir (Aksin & Andan, 2017, s. 323).

Literatürde; ebeveyn kaynaklı kromozomal bozukluklar %2-5, anatomik uterin anomalileri %10-15, immunolojik bozukluklar %20, çeşitli enfeksiyonlar %0.5-5, endokrin faktörler %17-20, edinsel ve herediter trombofili ise %15 oranlarında tespit edilirken, herhangi bir nedenin belirtilemediği çiftlerin sıklığı %40-50 olarak bildirilmiştir. Sayılabilecek tüm nedensel faktörlerin sıklığı toplumlar arasında değişikenlik göstermektedir (Ford & Schust, 2009, s. 77). Halen daha nedenlerini ve çoğu zaman işleyişini anlayamadığımız birçok tekrarlı abortus yaşayan bireyler için genetik ve genetik olmayan etmenler, risk grupları araştırılmalı ve yeni çalışmalar hızla arttırılmalıdır (Arias-Sosa, Acosta, Lucena-Quevedo, Moreno-Ortiz, Esteban-Pérez, & Forero-Castro, 2018).



Şekil 1. TGK'ya etki eden faktörlerin pasta diyagramı şeklinde gösterimi

2.1. Ebeveyn Kromozomal Anomalileri

Anormal embriyoların genetik kaynaklı nedenlerden oluştuğuna dair ilk çalışmalar 1970-1980 yıllarına dayanmaktadır. *Drosophilae ve* fareler ile yapılan laboratuvar çalışmaları bize monozomi, trizomi ve anöploidi gibi kromozomal anomali taşıyan embriyoların çoğu zaman doğuma ulaşmadan doğal seçilimle elendiğini göstermektedir. İnsan embriyoları üzerine yürütülen sitogenetik çalışmalar, mayoz bölünme sırasındaki hataların fetal kromozom anomalileri ve abortuslar için risk oluşturabileceğini göstermektedir (Simpson & Carson, 2013 , Sullian, Silver, LaCoursiere, Porter, & Branch, 2004). Teles vd. (2017) 884 abortus materyali ile yürüttükleri çalışmalarında 368 abort materyalinde farklı kromozom anomalileri saptamışlardır (Teles vd., 2017).

Uzun yıllardır yapılan çalışmalar kaybedilen fetusların çoğunda trizomi gibi sayısal kromozom anomalilerinin rastlandığını belirtmektedir. Trizomileri takiben X kromozomu monozomiler ve anöploidiler sıkça görülmektedir (Teles vd., 2017). Literatürdeki sitogenetik çalışma verileri, yaşanan fetal kayıpların %86'sında sayısal anomalilerin, %6'sında ise yapısal kromozomal anomalilerin olduğunu göstermektedir. Mozaizmlerin sıklığı ise %8 olarak literatürde rapor edilmiştir (Van den Berg, Van Maarle, Van Wely, & Goddjin, 2012 , Dhillon vd., 2014, s. 11).

Anne ve babanın genomunda taşıdığı dengeli translokasyon gibi yeniden düzenlemeler fetusun erken kaybına neden olabilmektedir. TGK geçmişi olan ebevenylerin %2 ve %4'lük kısmı genomlarında dengeli translokasyon taşımaktadır. Translokasyon; iki ayrı kromozomdan kopan bölgelerin karşılıklı değişimi ile oluşmaktadır. Diğer bir sık rastlanan yeniden düzenleme ise robersonian translokasyonudur (Kabessa vd., 2017). Robertsonian translokasyonlar; akrosentrik iki kromozomun uzun kollarının sentromer bölgelerinden birleşerek oluşmaktadır. Bu şekilde bir yeniden düzenlemede akrosentrik kromozomların kısa kolları genelde kaybedilir. Fakat bu kayıp sorun oluşturmamaktadır. Çünkü, akrosentrik kromozomların kısa kolları ribozomal RNA kodlayan tekrar dizileri içermektedir (Nussbaum, Mclnnes. Willard, 2005, s. 149). Goddijn ve Leschot çalışmalarında abortus materyallerinde yapmış oldukları sitogenetik analiz sonucunda, sayısal kromozom anomalilerini %96, yapısal kromozom anomalilerini %3 ve diğer

kromozom anomalileri %1 sıklıkla saptadıkları bildirilmişlerdir (Goddjin & Leschot, 2000).

Literatürde abortuslarda rastlanan sayısal kromozomal anomalilerden, %56 sıklıkla trizomi, %20 poliploidi, %18 monozomi ve X kromozomunun sayısal anomalileri, %4 sıklıkla ise dengesiz translokasyonlar belirtilmektedir. Trizomiler en fazla 16. kromozom ve akrosentrik kromozomlarda (13., 14., 15., 21., 22.) görülmektedir. Trizomi görülen embriyoların çoğu gebeliğin erken dönemlerinde kaybedilmektedir (Stephenson & Kutteh, 2007, s. 133 , Nussbaum, Mclnnes, Willard, 2005, s. 14).

Fakat bazı durumlarda trizomiye sahip fetus kaybedilmez gelişimini doğuma kadar sürdürebilir. Bu durum en sık trizomi 21, Down Sendromunda geçerlidir. Down Sendromuna göre daha az sıklıkla rastlansa da 18. ve 13. kromozom trizomileri belirli yaşlardaki bireylerde karşımıza çıkmaktadır (Stephenson & Kutteh, 2007, s. 134 , Choi, Lee, Park, Jeong, & Moon, 2014). Aynı zamanda 46 insan kromozomunda trizomiler gibi herhangi bir kromozom için monozomilerde görülmektedir. Otozomal ve Y kromozomu monozomileri bulunan embriyolar genelde abortusla elenmektedirler. Genomumuzda her kromozomdan iki kopya halinde bulunmaktadır. Kopya sayısısın herhangi bir kromozom için üç tane bulunması trizomi olarak adlandırılmaktadır. Monozomi ise herhangi bir kromozom için tek kopya içermesi olarak tanımlanmaktadır (Nussbaum, Mclnnes, Willard, 2005, s. 140).

Tekrarlayan abortus yaşayan her 100 çiftten yaklaşık 4'ünde görülen kromozom anomalilerinin genel popülasyondaki görülme oranı %0.2 kadardır. Ancak gestasyon haftası ne kadar erkense kromozomal bozukluk riskide okadar artmaktadır. Gestasyonun ilk 3 aylık kısmında yaşanan spontan abortuslar incelendiğinde yarısında, ikinci 3 aylık kısım içinde yaşananlarda ise %20'sinde sayısal ya da yapısal kromozom anomalilerine rastlanmaktadır (Li, Makris, Tomsu, Tuckerman, & Laird, 2002 , s. 463-464 , Choi, Lee, Park, Jeong, & Moon, 2014).

Literatürde ebevenylerde en sık görülen ve abortuslara neden olabilen anomaliler inversiyon ve dengeli translokasyonlar olarak belirtilmektedir (Kcprzak, Chrzanowska, Skoczylas, Moczulska, Borowiec, & Sieroszewski, 2016, s. 722). İnversiyon; herhangi kromozom yapısında iki farklı kırık nokta ve ayrılan bu parçanın 180^0 dönmesi ile

ayrıldığı parçaya tekrar oturması ile oluşan yapısal anomalidir. Sentromer bölgesini içerip içermemesi esas alınarak inversiyonlar iki ayrı gruba ayrılmaktadır. Parasentrik olarak isimledirilen inversiyonlar sentromeri ihtiva etmeyen inversiyonlardır. Perisentrik olarak isimlendirilen inversiyonlar ise sentromer bölgesinide kapsayan ters dönmelerdir (Nussbaum, Mclnnes, Willard, 2005, s. 146).

Bu tip dengeli genetik rekombinasyon taşıyan bireyler taşıdıkları genetik bilgi açısından eksiksizdirler. Fakat genomlarındaki dengeli kromozom anomalileri sonucu gen ürünü açısından dengesiz gametler oluşturmaları için yüksek oranda risk taşımaktadırlar (Kacprzak, Chrzanowska, Skoczylas, Moczulska, Borowiec, & Sieroszewski, 2016 , Lee, Chen, Lin, Tzeng, & Chen, 2017).

Dengeli kromozomal translokasyonlar mayoz sırasında dörtlü yapı oluşturmaktadır. Gametleri oluşturmak için ayrılan bu dörtlü yapı, adjacent 1 ve 2 ile alternate şeklinde üç farklı durum meydana getirmektedir. Alternate gametlerin yarısı normal kromozomlar diğer yarısı ise dengeli kromozom değişimleri taşımaktadır. Adjacent 1 ve 2 durumundaki gametler ise dengesiz kromozom içeriğine sahiptir. Dengesiz kromozoma sahip gametler döllendiğinde monozomi ya da trizomi gibi sayısal anomalilerin görüldüğü embriyolar oluşmaktadır (Akbaş vd., 2012, s. 292). Bu ebeveynlerin ya kromozomları kendileri gibi dengeli translokasyonların görüldüğü ya da normal karyotipte yavruları dünyaya gelebilmektedir. Bir başka ve sıkça karşılaşılan durum ise genetik ürünün eksik ya da fazla olduğu embriyolar oluşturarak abortus yaşamaktadırlar. Başka bir olasılık ise çeşitli derecelerde entelektüel yetersizliği, dismorfik bulguları ve gelişim geriliği olan bebekler dünyaya getirebilmektedirler (Goddjin & Leschot, 2000).

Abortuslar anne ve baba kaynaklı dengeli translokasyonlar ile gelişebildiği gibi artan anne yaşı gibi nedenlerle de novo olarak da oluşabilmektedir. Maternal yaşın artmasıyla birlikte yumurta rezevleri ve kalitesi düşmektedir. Mayoz sırasında hata olasılığını arttıran bu gibi durumlar kromozomal anomaliye sahip embriyo ve/veya abortus riskini de arttırmaktadır (Li, Makris, Tomsu, Tuckerman, & Laird, 2002 , Chen vd., 2017). Tekcan vd. (2012) arka arkaya 6 tane düşük geçmişi olan eşinde ve ailesinde kromozomal anomali gözlenmeyen anne adayında yapılan çalışma sonucu abortus materyalinde de novo t(8;13)(p12;q14) saptamışlardır. Tekcan vd. (2012) çalışmalarında

parantel kromozomal anomaliler yanında, de novo resiprokal translokasyonların da oluşabileceğini rapor etmişlerdir (Tekcan, Elbistan, Kara, & Koçak, 2012).

Genetik teknolojilerin her geçen gün giderek gelişmesi ile birlikte yüksek kalitede daha verimli sitogenetik analizlerle daha ayrıntılı incelemeler yapmak mümkün hale gelmektedir (Stephenson, 2011, s. 461). Kromozomal mikroarray yöntemi sayesinde çok daha küçük boyutlarda tüm genomdaki anöploidi, poliploidi, duplikasyon ve inversiyonların incelenmesi sağlanmaktadır. Nedeni belirleyip ve ileride planlanan gebelikler için danışmanlık sağlanması açısından kromozom analizi ve gelişen yeni yöntemler önem taşımaktadır (Sahoo vd., 2017). Translokasyon taşıyıcısı olup aynı zamanda sağlıklı gebelik sonucu elde etmek isteyen ebevenyler için preimplantasyon genetik tanı ile kayıp oranları büyük ölçüde azaltılabilir (Stephenson & Kutteh, 2007, s. 140).

TGK değerlendirilmesi için şimdilik tüm genomda risk bölgeleri bilinmemektedir. Ancak TGK'ları için risk faktörü olabilecek bazı polimorfizmler olduğu bildirilmiştir. HLA-G ve HLA-DRB1 gen polimorfizmleri, sitokin genlerindeki bazı polimorfik varyantlar, mannoz bağlayıcı lektin 2 (MBL2) genindeki +874 A>T polimorfizmi gibi bazı çalışmalarla desteklenmiş veriler bulunsa da rutin değerlendirmeye alınmamış ve nedensel ilgisi tartışmalıdır (Christiansen, Steffensen, Nielsen, & Varming, 2008).

9qh+ çeşitli popülasyonlarda sıkça karşılaşılan kromozomal polimorfizmlerdendir. Genin kodlama yapmayan heterokromatin bölgesinde bulunmaktadır. Bu sebeple fenotip üzerinde herhangi bir anomaliye neden olmamakla birlikte gametogenez esnasında hatalara yol açarak gebelik kayıplarına ortam hazırladığı düşünülmektedir (Güngör vd., 2016). Birçok çalışmada yüksek bir oranda gözlenen 9qh+ gibi kromozomal değişiklikler ardışık tekrarlı abortuslar ile ilişkisi tartışmalıdır (Obut vd., 2013).

2.2. İmmunolojik Faktörler

Aslında gebelik genetik açıdan bir kısmı farklı olan fetusun sağlıklı bir anne

adayının sorunsuz olan bağışıklık sistemi tarafından reddedilmeden kabulü ile mümkün olabilen bir süreçtir (Sharma, 2014). Genetik bilginin yarısı kendi için farklı olan fetusun maternal kabulü çoğu kez sağlanamayıp abortuslar yaşanmaktadır. Bu sebeple çoğu kez tekrarlayan gebelik kayıpları için araştırma konusu olmaktadır (Kutteh, 2015, s. 166 , Laird, Tuckerman, Cork, Linjawi, Blakemore, & Li, 2003). Gebeliğin devamını sağlayan süreçte sitokinlerin dengesi son derece önemli bir mekanizmadır (Mutluay & Öner, 2016).

Sitokinler ve fetal kabul, spontan abortus çalışmalarında çoğu kez konu edilmiştir. Trofoblast isimli özelleşmiş hücrelerin uterin arterlere yayılımıyla plasenta ve fetus oksijen alışverişi ve fetal implantasyon sağlanmaktadır. Bu yayılım sırasında maternal kan ile temas eden trofoblastlar immun sistemin cevabına yol açabilir. T hücreleri tarafından tanınarak hedef olarak algılanan trofoblastların uterin NK (doğal öldürücü) hücreler ile yıkımı sağlanmaktadır (Moffett & Colucci, 2014).

T hücre lenfosit hücreleri (CD8+), makrofajlar ve NK hücreleri (CD56+) bulunduran amniyon zarındaki trofoblast ve lenfomiyeloid hücreler tarafından sitokinlerin yapımı sağlanır. T yardımcı hücreleri bağışıklık sistemi için çeşitli antikorlar üretmede görevlidir ve ürettikleri sitokine göre Th1 (tip-1 yardımcı T hücresi) ve Th2 (tip-2 yardımcı T hücresi) olarak iki kategoriye aittir. Th1 hücreleri, interferon (IFN) gama ve interlökin (IL)-2 yapımı sağlayarak hücresel bağışıklık mekanizmasında rol alırken, Th2 hücreleri ise IL-4, IL-5 ve IL-13 üreterek hümoral bağışıklıkta rol almaktadır. Th1 doku uyumu sürecinde rol aldığından gebelik kayıplarıyla ilişkilendirilmiştir (Saini, Arora, Yadav, & Bhattacharjee, 2011).

Doğru bir implantasyon, plasentasyon süreci için Th1/Th2 arasındaki denge önemli bir mekanizmadır. Th1 sitokinlerinin artışı sonucunda trofoblast oluşumu yetersiz kalır ve fetal kayıplar yaşanır. Th2 yönündeki sitokin artışı ise uterin implantasyonda ve gebeliğin devamında etkilidir. TGK yaşayan kadınlarda Th2 yönündeki bağışıklık cevabının azaldığı rapor edilmiştir. Yapılan araştırmalar Th1/Th2 etkileşimi yanı sıra proinflamatuvar Th17 hücrelerinin ve bağışıklık düzenleyici Treg (düzenleyici T hücreleri) hücrelerinin de tekrarlayan gebelik kayıplarındaki rolünü belirtilmiştir. Treg hücrelerinin azalması durumunda Th1 tipi immun yanıtın arttığı ve implantasyon başarısının düşerek gebelik kayıplarına yol açtığı öngörülmektedir. Son

yıllarda literatürde Th17 hücrelerin spontan ve TGK yaşayan anne adaylarının kanlarında arttığı rapor edilmiştir (Mutluay & Öner, 2016 , Saini, Arora, Yadav, & Bhattacharjee, 2011).

Ayıca NK hücreler uterus bağışıklığı ve fetusun immun kabulü sırasında etki etmektedir. Çeşitli parazitler tarafından infekte edilen hücreler ile kanser hücrelerini öldürmekle görevli NK hücreleri, uterin tabakada fetusun implantasyonunu sağlayıcı görev almaktadır. Uterin NK hücrelerinin ve Treg hücrelerinin görevi immun tolerans ve plasenta büyümesi embriyonun implantasyonu sırasında trofoblastların yerleşimini sağlayarak başarılı gebelik sürecine ortam hazırlamaktır. Yapılan çalışmalarda implantasyon başarısızlığı ve sonucunda gebelik kayıpları yaşayan kadınların kanlarında NK ve Treg hücrelerinde sayısal ve fonksiyonel değişiklikler gözlemlenmiştir (Sharma, 2014).

Fetal kabul ve tekrarlayan abortuslar ile ilişkilendirilen başka faktör ise HLA (insan lökosit antijenleri)'dır (Kutteh, 2015). Genel bir tanılamayla major histokompatibilite kompleksi (MHC) immun sistemde etkin ve tüm hücre, doku yapısında bulunmaktadır. MHC moleküllerinin sınıf I ve II olarak gruplandırılan iki türü bulunur. MHC sınıf I molekülleri organizmadaki neredeyse tüm hücrelerin yüzeyinde bulunurken sınıf II molekülleri ise lenfosit ve makrofaj hücreleri ile sınırlandırılır. Genler tarafından kodlanan doku antijenleri sayesinde kişiler arsında alloantijenik durum söz konusu olabilmektedir. Herkesin protein ürünü HLA proteinleri herediter bağ dışında çok az kişi ile uyumludur (https://www.britannica.com). Bu MHC sınıf I antijenlere ait HLA-A ve HLA-B'nin ve MHC sınıf II'nin fetal trofoblast hücrelerinde etkinliklerinden dolayı gebelik kayıplarında rol alabileceği öngörülmektedir (Craenmehr, Heidt, Eikmans, & Claas, 2016).

Maternal immun sistem tarafından tespit edilen paternal MHC antijenleri antikor üretimini başlatarak fetal implantasyonu engellemektedir (http://www.erdemhastahanesi.com.tr). HLA-C trofoblastlar üzerinde sentezlenebilen tek antijendir. Maternal dokuyla uyuşmayan fetusta ifade edilen paternal HLA-C immun cevap oluşturur ve tekrarlayan abortuslara neden olmaktadır. Meuleman vd. (2017) TGK öyküsü olan 100 kadın, eş ve çocuklarının dahil edildiği çalışmalarında, çiftler

arasındaki HLA-C uyuşmazlığının TGK ile ilişkili olduğu sonucuna varmışlardır (Meuleman, Haasnoot, Van Lith, Verdujin, Bloemenkamp, & Claas, 2017).

Otoimmun bozukluk ile ilişkili antifosfolipit antikor sendromu (APS), TGK öyküsü olan anne adaylarında %20 oranında görülürken, genel toplumda bu oran %5 kadardır (Gönüllü R., 2013). APS vücudun bağışıklık sisteminin kendi doku ve hücrelerine saldırarak onlara zarar verecek antikorlar oluşturması ile ortaya çıkan otoimmün bir bozukluktur. Vücut kendi hücrelerine ve kan damarlarını çevreleyen fosfolipitlere saldıran antikorlar üretir. Bu durum hücreleri parçalayarak olumsuz sonuçlara yol açabilen pıhtı birikiminini tetiklemektedir (http://www.kanhastaliklari.org.tr). Oluşan anormal pıhtı eğilimi TGK'na neden olmaktadır. Ayrıca antifosfolipit antikorları fetusu tehdit olarak algılayıp maternal vücuda kabulünü engellemektedirler (Deniz, Baykuş, & Kavak, 2016, s. 134).

2.3. Uterin Anomalileri

TGK ya da diğer obstetrik problemler yaşayan kadınlarda kapsamlı değerlendirmeler ve araştırmalar sonucu altta yatan nedenlerden bir tanesi de uterus anomalileri olabilmektedir (Jauniaux, Farquharson, Christiansen, & Exalto, 2006). Uterin anatomik durumu, endometriyumun damarlanma ve beslenmesi ve uterin kavitenin genişlik ve şekli embriyonun yerleşimini ve gebeliğin devamını etkileyen başlıca faktörlerdendir. Anne adayının sahip olduğu doğuştan uterin bozukluklar fetal gelişim ve implantasyonu olumsuz etkileyerek abortuslara neden olabilmektedir (Kupesic, 2001). Konjenital ve edinsel olabilen uterus anomalileri laparoskopi, histerosalpingografi (HSG) ya da histeroskopi ve ultrason gibi görüntüleme yöntemleri kullanılarak tespit edilmektedir (Sugiura-Ogasawara vd., 2015, s. 158). İlerleyen yeni teknolojiler sayesinde cerrahi girişimler olmadan da ağrısız, acısız yöntemler ile görüntüleme kalitesi artmıştır (Saravelos, Cocksedge, & Li, 2008).

Amerikan üreme derneği (ASRM) tarafından yapılan sınıflandırma uterin anomalinin oluşum biçimi hakkında bize bazı bilgiler vermektedir. Şöyle ki; uterin yokluğu ve gelişmemesi, unikornuat, didelfik, bikornuat, septat, arkuat uterus ve dietilstilbesterol (DES) sonucu gelişen uterin anomalilerdir. Daha sonraları farklı sağlık

toplulukları tarafından çeşitli sınıflandırmalar yapılsa da bu sınıflandırmalar tüm uterin anomalileri kapsamayıp rehber birer çerçeve niteliğindedirler (Tokmak & Sarıkaya, 2015, s. 84 , Saravelos, Cocksedge, & Li, 2008).

Fetusun yerleşmesi ve büyüyüp gelişmesi için yeterince alan sağlanamadığı T ya da Y biçimli uterin değişimler abortuslara neden olduğu bilinmektedir. Bu tür anomaliler DES gibi bazı ilaçlara kız çocuklarının maruz kalması sonucu oluşabilen değişimlerdir (http://hamileler.org).

Literatürdeki bazı meta analiz çalışmalarına göre TGK öyküsü olan kadınların uterin anomali sıklığı %13'tür (Aksin & Andan, 2017, s. 324). Salim vd (2003) 509 TGK öyküsü olan kadın ile yaptıkları çalışmalarında %23,8 sıklıkla uterin anatomik anomaliler saptamışlardır (Salim, Regan, Woelfer, Backos, & Jurkovic, 2003, s. 164).

Konjenital olarak uterin gelişim sırasında çeşitli seviyelerde perde oluşumu ile karakterize uterin septum diğer uterin anomalilere kıyasla TGK öyküsü olan kadınlarda sıkça gözlenmektedir. Doğuştan var olan uterin anomaliler dışında sonradan gelişen rahim içi polipler ve kürtaj ya da diğer kaynaklı rahim içi yapışmaları da tekrarlı abortuslar için risk faktörü olabilmektedir. (Deniz, Baykuş, & Kavak, 2016, s. 133). Konjenital uterin anomalilerinin büyük bir kısmı anne karnındayken dişi organların gelişimini sağlayan müller kanallarının gelişimi sırasında gerçekleşen hatalardan kaynaklanmaktadır (Saravelos, Cocksedge, & Li, 2008).

Organ gelişimi sırasında onuncu gestasyon haftasına yaklaşırken müller kanallar dişilerde iç genital organlar ve uterus oluşumunu sağlamaktadır. Müller kanal birleşim aşamasında gelişen bazı hatalar sonucu değişen uzunluk ve pozisyonlarda uterin septum oluşabilir. Perde şeklinde oluşan bu yapı uterusu çeşitli derecelerde ve şekillerde bölerek fetus için yeterince alan bırakmaz. Yeterli alan bulamayan fetuslar TGK'ları ile sonuçlanmaktadır. Uterusunda çeşitli derece ve boyutlarda perde barındıran vakalarda %67 oranında abortuslar, %28 oranında sağlıklı sonuçlanan gebelikler ve %33 erken doğum görülebileceği literatürde rapor edilmiştir. Gelişen septum sonucu fetal gelişim için yeterli alan sağlanamayıp gebelikler abortus ile sonuçlanmaktadır (Kupesis, 2001).

Gebeliğin ilk 12 haftasında meydana gelen spontan gebelik kayıpları nedensel olarak incelendiğinde %0.2 sıklıkla servikal yetmezliklerinde bir başka etken olduğu

bildirmiştir. 12 ve üzeri gestasyon haftalarındaki gebelik kayıpları incelendiğinde ise daha fazla oranda servikal yetmezlik görülmektedir (Deniz, Baykuş, & Kavak, 2016, s. 133). Uterusun giriş kısmı serviks olarak isimlendirilmektedir. Bu kısmın güçsüzlüğü ve açılması halinde bazı jinekolojik sorunlar gelişmektedir. Uterus ağzında gelişen açılma kanaldan uterusun iç kısmına kadar devam ederek erken doğum ya da abortusların oluşmasına neden olmaktadır. Kişinin başından geçmiş cerrahi girişimler ya da kendi organ gelişimi sürecinde yapay bir östorojen olan DES'e maruziyeti ya da konjenital olarak servikal yetmezlik gerçekleşebilmektedir (http://www.dr-hsenyurt.com).

2.4. Endokrin Faktörler

Sağlıklı bir fetal gelişim ve sonucunda canlı sağlıklı bir doğum için endokrin faktörler son derece önem taşımaktadır. TGK yaşayan kadınlarda farklı birçok etmen belirlenmiş olsada %8 ila %12'lik kısmında endokrin faktörler sorumlu tutulmaktadır (Pluchino vd., 2014, s. 314 , Kaur & Gupta, 2016). Yaşı henüz ilerlememiş olsa bile otoimmun tiroid bozuklukları 100 kadının 4'ünde görülür ve abortuslara yol açabilir (Sarkar, 2012, s. 350). Embriyonun uterusa implantasyonu sırasında etkin rol oynayan bazı hormonların daha iyi belirlenmesi reprodüktif çağdaki kadınların yaşadığı problemleri ve gebelik kayıplarını çözmek için önemli bir adım olacaktır (Baştu, Mutlu, Dural, & Buyru, 2012 , Smith & Schust 2011).

TGK öyküsü olan anne adaylarında sıkça görülen endokrin problemler; tiroid hormonu düzensizlikleri, polikistik over sendromu (PCOS), luteal faz yetersizliği, prolaktin seviyesinde artma (hiperprolaktinemi), progesteron hormonunun yetersiz salgılanması, artan androjen miktarı, insülin direnci ve diabetes mellitus'dur (Baştu et. al., 2012 , Pluchino vd., 2014 , Smith & Schust, 2011, Kaur & Gupta, 2016).

Literatürde polikistik over sendromu rastlanan pek çok kadın çeşitli desteklerle bile başarılı gebelik sonuçlarına ulaşamadıkları rapor edilmiştir. Bu tür endokrin bozukluk tanısı koyulan 100 hastanın yaklaşık 40'ında spontan abortuslar meydana gelmektedir. Aslında bu tanının konulduğu kadınlarda kombine bir sendrom olduğundan olası tabloları ortaya koymak zordur, aynı zamanda literatürde yer alan verilerde bu kadınların kromozomları hakkında veriler yer almadığından kıyaslama

yapmak oldukça zordur (Kaur & Gupta, 2016 , Pluchino vd., 2014, s. 318). Çeşitli sağlık örgütlerinin baz aldığı ölçütlere göre genel toplumda ortaya çıkma sıklığı %2,2 ila %26 arasında değişmektedir. Kişide diabetes mellitus varlığı bu sendroma yatkınlık sağlamaktadır. Sözü geçen sendrom overlerde çeşitli sayıda kistler, yumurtlama sırasında değişiklikler, hiperandrojenizm, obezite, mens düzensizliği ile kombine bir rahatsızlıktır (Aydos, Öztemur, & Gur-Dedeoğlu, 2016 , Düz, 2016, s. 584). Luo vd. (2017) PCOS gözlenen 67 kadın ile yaptıkları çalışmalarında; PCOS'lu kadınlarda blastokistlerin oluşmasında belirgin bir azalma saptamışlardır (Luo vd., 2017).

Progesteron, endometriyumu olası bir gebelik süreci için yapısal ve vasküler yönden fetal yerleşim için hazırlayan hormondur. Progesteron hormonu fetusun yumuşak doku hücreleri ve büyümeyi tetikleyen hücrelerin oluşumunu düzenlemektedir. Th1/Th2 dengesinini kurulmasında ve plasenta gelişim sürecinde de etkin hormondur. Bu hormonun yetersizliği sonucunda luteal faz yetersizliği adı verilen klinik durum meydana gelir. Bu durum endometrial gelişimde yetersizliği yol açarak TGK'na sebebiyet verebilmektedir (Pluchino vd., 2014 , Kaur ve Gupta, 2016).

Kadınların üreme sistemi üzerinde ve endometriyuma fetusun implantasyonu sırasında son derece önemli bir başka hormon ise prolaktin hormonudur. Prolaktin hormonu fetusun uterin tabakaya yerleşerek büyüyüp gelişmesi yanı sıra doğum sonrasında da anneyi hazırlama konusunda da önemli rol oynar. Prolaktin salgısını beyindeki hipofiz bezi kontrol etse de süt salgılayan bezler ve gebelikle beraberde bu hormonun salgı miktarı artmaktadır. Yumurtalıklardaki folikül hücrelerinde prolaktin hormon seviyeleri arttığında ihtiyaç duyulan progesteron miktarının da neredeyse tamamen azaldığı gözlenmiştir. Literatürde prolaktininin fazla salgılanması durumunun TGK için risk oluşturabileceği rapor edilmiştir. 122 TGK öyküsü olan kadın ile yapılan yakın zamanlı bir çalışmada prolaktin hormonunda artış saptanmıştır (Pluchino vd., 2014 ; Kaur & Gupta, 2016).

Artan androjen hormonunun endometriyal gelişim ve oosit oluşumuna negatif etkisi olduğu bildirilmiştir. Literatürdeki yer alan bazı verilerde TGK yaşayan kadınlarda androjen hormonu etkisi tartışmalıdır. Bazı çalışmalar foliküler faz aşamasında androjen miktarının TGK yaşayan kadınlarda daha fazla bulunduğunu gösterse de kanıtlar yetersizdir (Pluchino vd., 2014).

Bir başka endokrin faktör olarak tiroid hormonu bozukluklarının gebelik sürecini olumsuz etkileyebileceği bildirilmiştir. Tiroid hormonu bozuklukları gebe kalmayı engelleyip, fetal gelişim bozuklukları ve sonucunda anormal gelişim gösteren fetusun kaybına sebep olabilmektedir. Bu endokrin faktörün anormalliği aynı zamanda dişi ve erkek üreme hücrelerinin oluşum sürecini ve konsepsiyonu olumsuz etkilemektedir (Sarkar, 2012). Tiroit hormonlarının gerektiğinden az üretilmesi "hipotroidi" adı verilmektedir. Hipotroidi hamilelerde sık rastlanan bir durumdur. Hamilelik süreci ya da öncesinde müdehale edilmeyen hipotiroidinin, fetal sinirsel gelişim sürecini olumsuz etkilediği literatürde bildirilmiştir. Ayrıca hipotiroidi olumsuz gebelik sonuçları yanında etki mekanizması net bilinmemekle birlikte TGK ile ilişkilendirilmektedir. Hipertiroidi ise tam tersine tiroit hormonu fazlığı için verilen klinik isimdir. Hipertiroidi, hipotiroidiye kıyasla gebe kadınlarda daha az sıklıkla rastlanmaktadır (Kaur & Gupta, 2016). TGK'ları ile ilişkilendirilmemekle birlikte ileride yapılacak çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır. Bununla birlikte tiroid hormonu fazla salgılanması erken doğum, gebelik zehirlenmesi, fetusta görülen gelişme gerilikleri ve ölü doğumlara neden olduğu bildirilmiştir (Pluchino vd., 2014 , Kaur & Gupta, 2016). Her anne adayı tiroid salgısının değişiklikleri için kabul edilen evrensel rutin bir taramadan geçmemekte fakat bu tür endokrin sorunlar reprodüktif çağdaki kadınlarda sıkça rastlanmaktadır. Üreme başarısını arttırmak için tiroid fonksiyonları taraması ve gerekli tedaviler özellikle de hipotiroidisi olan TGK 'ında olumlu sonuçlarının olabileceği öngörülmektedir (Sarkar, 2012)

Gebelik sürecinde ya da öncesinde belirlenen tanısı konan diyabet fetusun gelişimi ve doğuma kadarki süreci olumsuz etkilemektedir. Annede insülin yetersizliği ya da kullanımındaki deformasyonlar sonucu; aşırı kilolu ve doğuştan insülin metabolizması bozuk bebeklerin doğumuna ve organogenez sırasında aksaklıklara neden olmaktadır. Ayrıca diyabetli kadınlar üzerinde olumsuz gebelik komplikasyonlarının araştırıldığı bir takım çalışmalarda, TGK 'ları ve ölü doğumlar gibi olumsuz gebelik sonuçları için diyabetli kadınların risk grubu oluşturdukları bildirilmiştir (Aksu & Yurtsev, 2009, s. 52 , Murphy, Bell, Dornhorst, Forde, & Lewis-Barned, 2018, s. 294).

Tanısı ilk olarak hamilelik sürecinde konulduğu diyabet şekli, gestasyonel diyabet olarak adlandırılmaktadır. Gebelikle birlikte anne vücudu bu duruma adapte

olmaya çalışır ve bazı değişiklikler meydana gelir. Plasenta oluşumu ile salgılanan çeşitli endokrin faktörler insülin direncine sebep olmaktadır. Tıpkı konsepsiyon öncesi gözlenebilen diyabet türlerinde geçerli olan bazı riskler gestasyonel gebelik için de geçerlidir (Metin, 2017). Gebelikte görülen hiperglisemi organogenezi olumsuz etkilemektedir. Bu sebeple pregestasyonel dönemde ya da gestasyon haftalarında iyi bir izlem ve kontrol altına alınan hiperglisemi ile fetal sorunlar ve abortuslar önlenebilir (Pluchino vd., 2014).

2.5. Trombofili

Damarlarımızdaki kanın sağlıklı bir biçimde dolaşımı için koagülasyon ve antikoagülasyon dengesi oldukça önemlidir. Koagülasyon öncüsü faktörlerindeki artış hemostaz dengesini hiperkoagülasyon tarafına kaydırarak, tromboz oluşumuna neden olarak damar duvarının tıkanmasına ve kan akışının bozulmasına neden olmaktadır. Trombofili; bu gibi durumların yaşandığı hemostaz mekanizmasının pıhtılaşma yönüne kaydığı ve tromboz oluşumuna eğilim gösteren klinik tablolar için kullanılan tanımlamadır. Trombofililer gebeliğin devamında etkin rol almaktadır. Anneden fetusa oksijen ve besin taşımak, fetustan anneye bazı metabolik atıkları taşımak suretiyle görevini yerine getiren plasenta bu durumdan olumsuz etkilenmektedir. Fetus ve maternal dolaşımın bir parçası olan koryon villuslarında ve maternal damarlarda oluşan pıhtı fetal beslenmeyi bozarak implantasyon başarısızlığına ve abortuslara sebep olmaktadır. Maternal trombofili aynı zamanda ablasyo plasenta ve fetal gelişim sürecinde aksaklıklar gibi kusurlara da yol açmaktadır (Özdemir, Balcı, Göktepe, Görkemli, Taşçı, & Acar, 2010, s. 94 , Yokuş vd., 2010, s. 169).

Trombofililer herediter olarak ebeveynlerden miras kalıtılabildiği gibi yaşamın herhangi bir evresinde de meydana gelebilmektedir. Herediter trombofilinin görülme sıklığıda ilgili genlerdeki polimorfizmlere bağlı olarak popülasyonlar arasında farklılık gösterebilir. Herediter trombofililer koagülasyon için gerekli bir kısım protein yapıdaki faktörlerin artışı ya da antikoagülan faktörlerinin bloke olması sonucu gelişmektedir (Zonouzi vd., 2013). Faktör V Leiden, Protrombin 20210 G>A, MTHFR 677 C>T, MTHFR 1298 A>C, PAI-1 4G/4G, Beta Fibrinojen -455 G>A, Faktör XII Val34Leu,

GP IIIa Leu33Pro varyasyonları ile koagülasyonu düzenleyen bazı bileşenlerin eksiklikleri herediter trombofili etiyopatogenezinde rol alırlar (Chatzidimitriou vd., 2017). İlgili genlerdeki varyasyonlar yanı sıra kötü huylu tümörler, dışarıdan alınan hasarlar, hamilelik, orak hücre anemisi, doğuştan kalp yetmezliği gibi hastalık ve durumlar trombofiliye yol açabilmektedir (Kafkas, Samet, & Kadıköylü, 2005, s. 44).

Abortuslar başta olmak üzere birçok gebelik komplikasyonuna sebebiyet veren koagülasyon bozukluğunun büyük bir kısmı herediter trombofililerdir. Anne vücudu gebeliğe alışırken koagülasyon dengesi hiperkoagülasyon yönüne bir miktar kaymaktadır. Bu durumun birtakım maternal koruyucu faktörler ile sağlanmaktadır. Doğum gerçekleştikten kısa süre sonra pıhtılaşma öncüsü protein ve enzimler gebelik öncesi seviyelerine ulaşmaktadır. Fakat herediter ya da başka sebeplerle oluşan trombofililer gebelikte hem anne hemde fetus için tehlike oluşturmaktadır. Maternal damarlarda pıhtı birikmesine beraberinde annenin yaşamsal tehlikesine, fetusun uterusa implantasyon başarısızlığına, gebelik zehirlenmesine, ölü doğumlara ve fetal kayıplar zemin hazırlayabilir (Kafkas, Samet, & Kadıköylü, 2005, s. 44).

Sezer vd. (2010) TGK öyküsü olan 108 anne adayı ve fertil ve abortus geçirmemiş 72 kadın dahil ederek, MTHFR667 C>T / 1298A>C, Faktör V Leiden ve protrombin genlerindeki tek nükleotit polimorfizmlerini (SNPs) araştırdıkları çalışmalarında, TGK ile ilgili genlerdeki SNPs arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptamamışlardır (Sezer vd., 2011). Farahmand vd. (2016) TGK öyküsü olan 330 kadında Faktör V Leiden, protrombin, MTHFR 667C>T / 1298A>C ile SNPs ilişkisini araştırdıkları çalışmalarında ise istatistiksel anlamda ilişki rapor edilmiştir (Farahmand vd., 2016, s. 1310). Yapılan birçok çalışmaya rağmen bu çiftlerde kalıtsal trombofililer risk faktörü oluşturup oluşturmadığı konusu halen tartışmalıdır. Daha çok sayıda ve farklı popülasyolarda herediter trombofili varyasyonarının görülme sıklıkları belirlenmelidir (Sezer vd., 2011).

2.6. Çevresel Faktörler ve Enfeksiyonlar

Bazı bakteriler yaşamımızın vazgeçilmezi ve işlevsellik açısından olmazsa olmazdır. Tıpkı kadınların üreme sistemindeki *Lactobacillus* cinsi bazı bakteriler gibi

bu bakteriler normal florada bulunur ve bir sorun teşkil etmezler. Fakat olması gereken normal yapıyı bozmakla birlikte Ph değişikliği, hastalık yapıcı bazı virüs ve bakteriyel etkenler erken doğum ve abortuslarlara sebebiyet verebilmektedir. HIV virüsü, influenza virüsü, sıtma, *brusella* gibi enfekte etkenlerin neden olduları enfeksiyonlar sonucu abortus riski bildirilmiştir (Giakoumelou, Whellhouse, Cuschieri, Entrican, & Howie, 2016).

TGK yaşayan bazı kadınlar ile yapılan çalışmalarda *Taksoplazma gondii, herpes* virüsü, *Mycoplasma hominis* gibi virüslere rastlanmıştır. Fakat eldeki mevcut veriler TGK etiyolojisi için yeterli değildir. Gebe olan her kadın bu enfeksiyöz ajanlar için rutin bir taramadan geçmez fakat TGK gibi obstetrik sorunlarda bir etken olarak değerlendirilmelidir (ASRM, 2012).

Kesin kanıtlar mevcut olmamakla birlikte çevresel bazı faktörlerin TGK'ya yol açtığı bazı çalışmalarda belirtilmiştir (Deniz, Baykuş, & Kavak, 2016). Alkol tüketimi, sigara, uyuşturucu, stres, bazı ilaçlar, annenin geçmiş abortus hikayesi, günde 3 fincandan fazla kahve tüketimi ya da fazla kafein alımı, obezite gibi bazı yaşam tarzı ve alışkanlıkları gibi faktörlerde TGK ile ilişkilendirilmiştir (Giakoumelou, Whellhouse, Cuschieri, Entrican, & Howie, 2016 , ASRM kominitesi, 2012).

3. Hemostaz

Pıhtılaşma damar bütünlüğün bozulması halinde sağlam fibrin ağı ve trombosit yığılmasının gerçekleştiği ve birçok protein yapıdaki koagülasyon faktörlerinin devreye girdikleri bir süreçtir. Hemostaz mekanizması organizmanın damar bütünlüğü sağlamak için hayati önemi olan bir sistemdir. Sağlıklı bir endotel tabakası aynı zamanda trombosit oluşumunu engellemek için bir dizi mekanizmayı devreye sokmaktadır (Key, 2017).

Hemostaz; vücutta meydana gelen olası bir yaralanmada pıhtı oluşturarak kan kaybını engelleyen ve aynı zamanda kanın damarlarda akışı için gereksiz pıhtı oluşma durumlarını kontrol altına alarak işlev göstermektedir. Yaşam için oldukça önemli olan bu mekaniza pıhtılaşmayı engelleyen antikoagülan maddeler ve pıhtılaşmaya öncülük eden prokoagülanlar arasındaki olması gereken denge ile gerçekleşmektedir. Denge

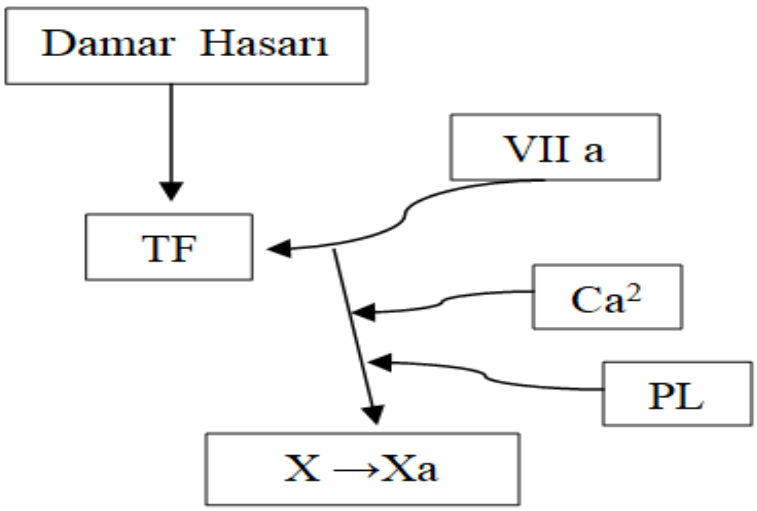
bozulacak olursa aşırı kan kayıpları yüzünden kişinin hayatı riske girebilir ya da aşırı koagülasyon kusurları yüzünden kan damarlarda rahatça akamaz ve yaşamsal faaliyetler tehlikeye girebilir.

Primer hemostaz, damar hasarından hemen sonra ilk olarak damar büzülmesi sonucu gerçekleşen vasküler yanıt ile trombositlerin etkinliği ile meydana gelen aşamadır. Bu aşamada damar duvarında ani kasılmalar ve pıhtı oluşturan diğer faktörler hasar alan bölgede birikir. Damar iç yüzeyinde trombosit tıkacı oluşturacak von Willebrand faktör, kolajen, fibrinojen, trombosit aktive eden faktör gibi glikoproteinler bulunmaktadır. Sekonder hemostaz aşamasında ise fibrin ağ oluşmaktadır (Atalan, 2013, s. 110).

Asıl koagülasyonun gerçekleştiği aşama ise faktör X'in aktive edildiği intrensek ve ekstrensek koagülasyon yolu ile fibrin oluşumu ile devam eden ortak koagülasyon aşamalarıdır. Koagülasyon mekanizması üç aşamalı ard arda kademeli olarak etkinlik gösteren kaskad şeması ile modellenmiştir (Palta, Saroa, & Palta, 2014 , Gailani & Renne, 2007).

3.1. Ekstrensek Koagülasyon Yolu (Doku Faktörü Yolu)

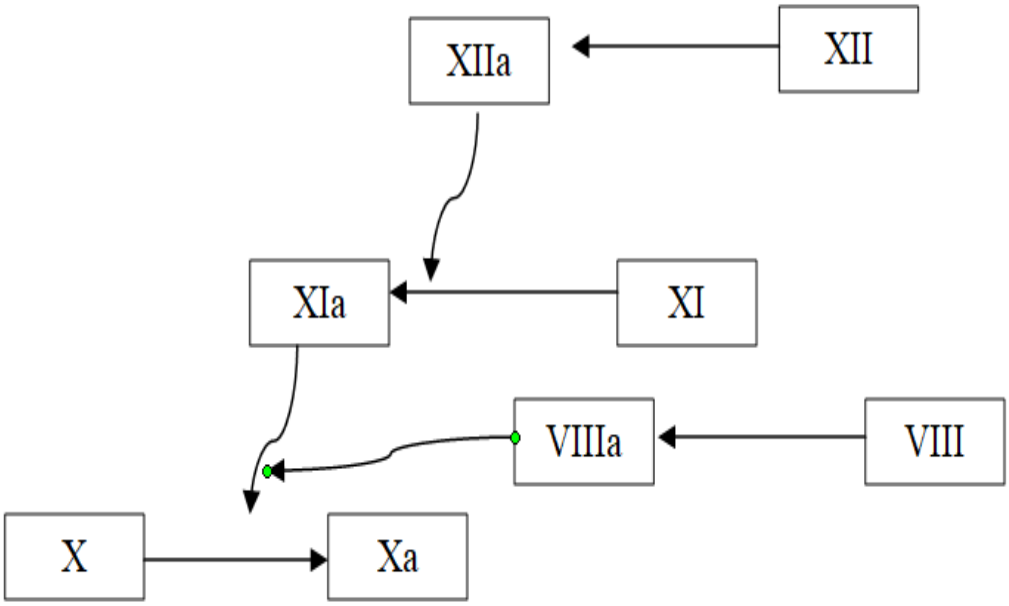
Dış ortamdan alınan hasar sonucu damar yüzeyince salgılanan TF (doku faktörü) ile doku faktörü yolu başlamaktadır. Bir sonraki aşamada koagülasyon faktörlerinden VII ve TF birleşerek kompleks oluşturur. Oluşan bu komplekse Ca^{2+} ve fosfolipit (PL) katılan biyolojik bir tepkime ile faktör X aktifleştirilmektedir. Bu aşamadan sonra kaskad protrombinden (II) trombine dönüşüm sağlayan ortak yol ile devam etmektedir (http://www.turkcerrahi.com ; Wheeler & Gailani , 2016, s. 1102 , Palta, Saroa, & Palta, 2014).



Şekil 2. Ekstrensek koagülasyon yolu

3.2. İntrensek Koagülasyon Yolu (Kontakt Aktivasyon Yolu)

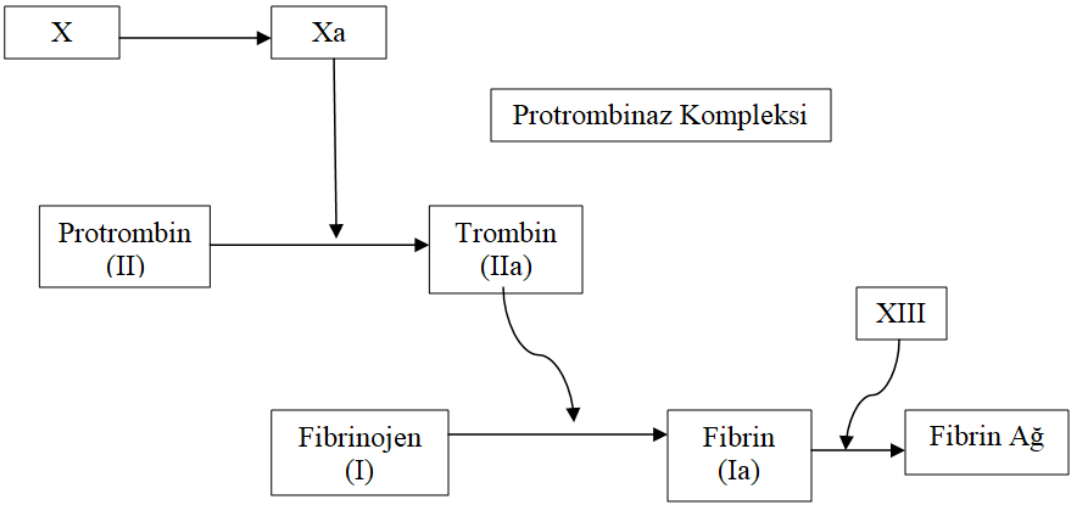
İntrensek koagülasyon yolu ekstrensek yol aksine damar hasarı gibi dışsal yol ile değil, kan dolaşımındaki mevcut faktörlerin süreci başlatması ile gerçekleşir. Kaskadın ilk aşaması HMWK'nın (yüksek mol ağırlıklı kininojen) tetiklediği tepkime ile plazmadaki prekallikrein aktif hali kallikreine dönüştürülür. Burada HMWK kofaktör olarak görev almaktadır. Oluşan kallikrein koagülasyon faktörü XII'nin aktivasyonunu katalizlemektedir. Aynı zamanda hageman faktör olarak da bilinen faktör XII'nin aktive olmuş şekli XIIa kaskadın diğer aşamaları için gereklidir. Kaskad faktör XI'nin aktivasyonu için gerekli olan faktör XIIa'nın katıldığı bir diğer tepkimeler dizisi ile devam etmektedir. Bu aşamaya gelindiğinde tenaz kompleks olarak adlandırılan IXa ve VIII kompleksinden meydana gelen yapının Ca^{2+} ve fosfolipit varlığında faktör X'in aktivasyonu gerçekleştirilir. Faktör X koagülasyonda önemli bir faktördür kaskadın diğer aşamaları protrombin trombin çevrimi yani ortak yol ile devam etmektedir. Amaç fibrin oluşumunu sağlayarak sağlam pıhtı ile damar hasarı ve kan kaybını önlemektir (http://www.turkcerrahi.com , Wheeler & Gailani , 2016 , 1102).



Şekil 3. İnterensek koagülasyon yolu

3.3. Ortak Koagülasyon Yolu

Gerek interensek gerekse ekstrensek koagülasyon yolları ile oluşan faktör Xa, koagülasyonun tamamlanabilmesi için faktör V ile birlikte Ca^{2+} varlığında protrombinaz kompleksini oluşturur. Oluşan kompleks fibrinojenin fibrine dönüşümünde etkin rol alan trombin oluşumunu katalizler. Protrombinin, pıhtı için gerek duyulan trombosit aktivatörü olan trombine dönüşümünü protrombinaz kompleksi sayesinde katalizlenmektedir. Protrombin aynı zamanda faktör II olarak da adlandırılır. Aktif hali trombin yani aktive olmuş faktör II, damar sistemimizde halihazırda var olan fibrinojenin fibrine dönüşümünü gerçekleştirmektedir. Fibrinlerin çapraz bağlarla sağlam zincir yapısı haline gelmesini sağlayan faktör XIII'ün de etkisi ile sağlam bir koagülasyon gerçekleştiren fibrin ağ meydana getiririlir (http://www.turkcerrahi.com , Palta, Saroa, & Palta, 2014 , Wheeler & Gailani , 2016).



Şekil 4. Ortak koagülasyon yolu

4. Güncel Koagülasyon Mekanizması

Koagülasyon kaskad şeması zaman geçtikçe eksikleri görülerek üzerinde çalışılmaya devam edilmiştir. Yapılan çalışmalar sonucu belirlenen mevcut koagülasyon aşamaları dışında doku faktör yolu inhibitörü (TFPI) adı verilen kogülasyonu regüle eden yeni bir molekül yapısı keşfedilmiştir. Oluşturulan bu güncel modelde kaskad şemaları aksine antikoagülan etkide sağlanmaktadır. TFPI, faktör X üzerinden TF/VIIa kompleksinin oluşumunu engellemektedir. Bu sayede pıhtı oluşumu engellenmektedir.

Alfa ve beta olmak üzere iki izomeri bulunan TFPI molekülünün %10-%30 kadarı alfa izomeri meydana getirmektedir. TFPIα ayrı ayrı üç kunitz bölgeden oluşmaktadır. K1, K2 ve K3 kunitz alanlar dışında birde baz C terminal kısmı bulunmaktadır. K1 ve K2 bölgeleri faktör VIIa ve X'e bağlanarak etkilerini engeller. Aktifleşemeyen TF+FVIIa kompleks işlevini yerine getirememektedir (Wood, Ellery, Maroney, & Mast, 2014, s. 2934 , Puy vd., 2016, s. 2).

Güncel koagülasyon mekanizması birkaç aşama ile açıklanmaktadır. İlk olarak başlangıç aşamasında; TF ile VIIa'nın oluşturduğu kompleksin faktör IX ve X'i aktivasyonu başlatılır. Protrombinden trombin oluşumunu katalizleyen Xa bu aşamada sağlanmaktadır. Fakat oluşan trombinler sağlam değildir ve TFPI aracığıyla baskılanabilir. Başlangıç aşamasını takip eden aşama amplifikasyon olarak adlandırılan çoğalma aşamasında yetersiz ve dayanıksız trombositler için birçok geri bildirim

mekanizması bilinmektedir. İlk aşamada üretilen trombin oluşumu faktör V ile VIII'in katılmasıyla artmaktadır. Üçüncü aşamada ise bir takım kompleks bileşenler sayesinde trombin oluşumu desteklenir. Xa+V (protrombinaz) ile IXa+VIII (tenaz) komplekleri aracılığıyla trombin oluşumu arttırılmaktadır. Son aşama olan stabilizasyon sağlam fibrin ağlarının oluşumunun gerçekleştiği kısımdır. Faktör XIII'ün katalizörlüğünde sağlam fibrin ağları oluşturulur. Trombin bir yandan fibrinleri oluştururken diğer yandan da trombin aktive edilebilir fibrinoliz inhibitörü (TAFI) aktifleştirerek fibrinleri parçalayan mekanizmadan korumaktadır (Palta, Saroa, & Palta, 2014).

Koagülasyonu inhibe etme özelliği olan TFPI eksikliği sonucu hemostaz dengesi bozularak hiperkoagülan durumların oluşacağı yapılan çalışmalar ile destelenmektedir (Wood, Ellery, Maroney, & Mast, 2014, s. 2934 , Puy vd., 2016, s. 2).

5. Gebelik Ve Hemostaz

Konsepsiyon ile birlikte maternal koruyucu bir takım faktörlerinin etkinleştirdiği düşünülen doğal bir mekanizma ile hiperkoagülasyona yatkınlık gelişmektedir. Artan hiperkoagülasyona herediter yatkınlık da eklenince tromboz riski kaçınılmazdır (Choi & Pai, 2002, s. 611 , Işık, Alptekin, Selimoğlu, Cengiz, Küçükkapan, & Alptekin, 2016, s. 30).

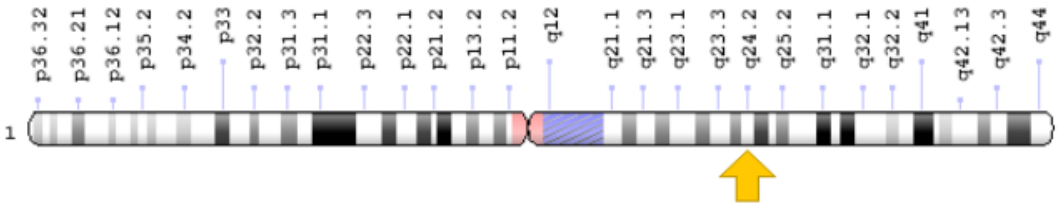
Ayrıca hamile bir kadında venöz tromboz tehlikesi nullipar bir kadına göre beş kata kadar daha fazladır. Doğumu takiben 12 hafta içinde koagülasyon faktörleri eski durumuna geri dönmektedir (Gülen, 2016). Gebelik sürecinde koagülasyonda etkin faktörlerden von willebrand ile II, VII, VIII, X, XII, PAI-1,2'nin miktarlarının arttığı, antikoagülan özellikteki protein S, XI ve XII'nin azaldığı literatürde bildirilmişdir. Plazminojenin aktivitesini baskılayan bazı faktörler gebelikte artmakta ve buna bağlı olarak da damar sıvılarında azalan plazminojen ven trombozu için tehlike oluşturmaktadır. Fetusun besin ve oksijen ihtiyacını karşılayan plasenta da pıhtılaşma öncüsü proteinler içermektedir. Bu sebeple hemostaz mekanizmasında meydana gelen her türlü değişim plasental dolaşımı yakından etkilemektedir (Çağlayan & Üstün, 2015, s. 49 , Ormesher, Simcox, Tower, & Greer, 2016, s. 433 , Reitsma, Versteeg, & Middeldorp, 2012, s. 566).

Literatürde gebelikte trombofilinin preeklampsi, fetal gelişme geriliği, ölü doğumlar ve hatta fetal kayıplara neden olabildiği rapor edilmiştir. Materal trombofililer fetusun uterin duvara tutunması ve fetusun perfüzyonunu ve gelişimini olumsuz etkilenmektedir (Prıtchard, Hendrıx, & Paıdas, 2016). Hemosistein birikimi ile hemostazı bozan aynı zamanda fetal gelişimde önemli bir role sahip olan MTHFR 677C>T / 1298A>C SNP'leri gebelik kayıplarından sorumlu tutulmaktadır (Balasubramaniam, Kotalawa & Amarasekara, 2017). Gebelikte maternal tromboz geçiren kadınların %44'ünde Faktör V Leiden, %17'sinde protrombin20210 G>A varyasyonları rapor edilmiştir (Battinelli, Marshal, & Connors, 2013).

6. Kalıtsal Trombofiliye Sebep Olan Bazı Gen Varyasyonları

6.1.Faktör V Leiden Gen Varyasyonu

F5 (* 612309 Coagulation Factor V) geni, kromozom 1q24.2'de lokalize, 7024 baz çifti ve 2224 aa'lik koagülasyon faktör V'yi kodlar.



Şekil 5. 1. kromozom üzerine yerleşimli F5 gen bölgesi (https://ghr.nlm.nih.gov)

Karaciğerde sentezlenen yaklaşık 330-kD ağırlığındaki faktör V, F5 geni tarafından kodlanmaktadır (*612309 Coagulation Factor V). Faktör V, koagülasyon kaskadında trombin oluşumunu sağlayan protein yapıda bir pıhtı elemanıdır. Trombin ise sağlam fibrin örtüyü meydana getiren temel bir faktördür. İlk olarak Dahlback ve ark.'nın keşfettiği aktive protein C (APC), aktif haldeki faktör V'yi özgül bölgelerinden ayırarak inaktive eder. Bu sayede gereksiz trombin oluşumu kontrol altına alınarak organizma da hemostaz sağlıklı bir biçimde sağlanmaktadır.

Aynı zamanda Faktör V Leiden olarak da adlandırılan patojenik varyasyon, FV geninin transkripsiyonu sonucu oluşan mRNA'daki 506. aminoasit olan arginin yerine glutamin isimli aminoasidin kodlanmasını sağlamaktadır. Koagülasyon faktörü V 506.

sıradaki argininin aktive protein C tarafından tanınarak bölünmeye başlar. Oluşan bu aminoasit değişimi sonrası yerleşen glutamin bu bölünme mekanizması tarafından tanınmadığından direnç kazanarak dolaşımda varlığını sürdürmektedir. Dolaşımda uzun süre ve ihtiyaç fazlası miktarlarda aktif haldeki bulunan faktör V için koagülasyon kaskadı devam etmektedir. Bu sayede dolaşımda tıkanmalar meydana gelmektedir (Van Cott, Khor, & Zehnder, 2016 , Mahmutbegovic vd., 2017 , Ekim, Ekim, & Yılmaz, 2015, s. 309). Daha sonraları birçok çalışmada konu edinilmiş Faktör V Leiden, FV geninin 1691. baz diziliminde G>A değişimi ile oluşmaktadır. Bu değişim sayesinde kişinin koagülasyon faktörü V'i inaktivasyonu %10 azalmaktadır (Ekim, Ekim, & Yılmaz, 2015).

Faktör V Leiden patojenik varyasyonu herediter trombofilinin en sık görülen sebeplerindendir. Meydana gelen faktör V inaktivasyonu, ven trombozu yaşayan tüm hasta grubunda %60 sıklıkla neden olarak karşımıza çıkmaktadır (Van Cott, Khor, & Zehnder, 2016, s. 46). Literatür verileri FV geni için AA genotipine sahip bireylerde tromboz için 80 kat artan tehlikeye sahip olduklarını göstermektedir. 1691. baz sırasında GA genotipli olanlarda ise tromboz riski beş ila on kata kadar düşmektedir (Kafkas & Kadıköylü, 2005, s. 45 ; Mahmutbegovic vd., 2017 , s. 309 , Vurkun vd., 2002, s. 288). Bunun yanında TGK'ları için Faktör V Leiden patojenik varyasyonu taşıyan kadınlarda üç kat daha fazla risk taşımaktadırlar (https://ghr.nlm.nih.gov).

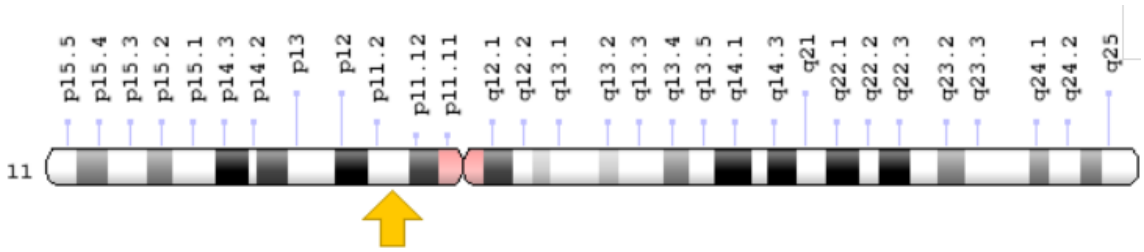
Faktör V leiden sıklığı tıpkı diğer gen varyasyonları gibi farklı ırk ve etnik kökene göre değişiklik göstermektedir (Sergi, Al Jishi, & Walker, 2015). İsveç'li bireylerde %7, Hollanda'lı bireylerde ise %2-4 sıklıkla Faktör V Leiden varyasyonu sıklığı bildirilmiştir (*612309 Coagulation Factor V). Ukrayna nüfusunda %1,5, Bosna Hersek'de ise %6 sıklıkla belirtilmiştir (Mahmutbegović vd., 2017). Literatürde sağlıklı Avrupa toplumundaki Faktör V Leiden varyasyon sıklığı %3-12 olarak bildirilirken, aynı çalışmada TGK öyküsü olan kadınlarda Faktör V Leiden varyasyonu sıklığını %0.2-0.25 olarak bildirilmiştir (Kaskas & Kadıköylü, 2005). Öztuzcu vd. (2014) Türkiye popülasyonunda Faktör V Leiden sıklığını araştırdıkları bir çalışmada AA genotip sıklığı %0,57, GA sıklığı ise %7,43 olarak saptamışlardır (Öztuzcu vd., 2014, s. 3673). Vurkun vd. (2002) sağlıklı Edirne toplumunda Faktör V Leiden varyasyon sıklığını %4,28 olarak bildirmişlerdir (Vurkun vd., 2002, s. 288). Yunanistan'da 200 sağlıklı birey ile yürütülen çalışmada Faktör V Leiden varyasyonu sıklığı %5 olarak

rapor edilmiştir (Yapijakis vd., 2012, s. 1097). Kabukçu vd. (2007) Ege bölgesinde yaşayan sağlıklı kadın nüfustaki Faktör V Leiden varyasyonu sıklığını %8,3 olarak bildirmektedirler (Kabukçu, Keskin, Keskin, & Atalay, 2007). N. Akar yaptığı derlemede ülkemizde sağlıklı Türk toplumundaki Faktör V Leiden dağılımını %3,5-%15 olarak rapor etmiştir (Akar, 2009).

6.2. Protrombin Gen Varyasyonu

F2 (*176930 Coagulation Factor II) geni, kromozom 11p11.2'de lokalize, 2023 baz çifti ve 622aa'lik koagülasyon faktör II'yi kodlar.

Karaciğer tarafından oluşumu sağlanan 70 kD kütleli protrombin (*176930 Coagulation Factor II) koagülasyon sürecinde trombini oluşturmaktadır. Hemostaz gibi yaşamsal önemi olan bir denge mekanizmasında oldukça önemli bir yeri olan protrombin sağlam pıhtı oluşumuna öncülük etmektedir (Ge vd., 2014, s. 117).



Şekil 6. 11. kromozom üzerine yerleşimli F2 gen bölgesi (https://ghr.nlm.nih.gov)

F2 geni üzerinde faktör II'nin kodlanmasında farklılık sağlayan bazı herediter değişimler bildirilmiştir. Fakat bu değişimlerin hiçbiri protrombini tamamen ortadan kaldırmamakla birlikte nicel değişimler söz konusudur. Protrombin gibi fibrin oluşumunda oldukça etkin bir rol oynayan faktörün tamamen ortadan kalkması yaşamı tehlikeye sokacağından, böyle bir mutasyonun söz konusu olamayacağını göstermektedir. İlgili genin translasyonunun gerçekleşmediği 3' bölgesinde meydana gelen G>A değişimi sonucu meydana gelen nokta mutasyonu protrombin seviyesinde artış ile birlikte hiperkoagülasyona neden olmaktadır (https://ghr.nlm.nih.gov). Oluşan değişim sayesinde protrombin aktivasyonu 1/5 ve 1/2 oranlarında artmaktadır (Prat vd., 2014, s. 334). Protrombin 20210 G>A değişimi venöz tromboza herediter yatkınlık sağlayan en sık rastlanan ikinci faktör olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu değişimi GA

genotipinde taşıyan bireylerde taşımayan bireylere göre tromboz için 2-3 kat risk oluşturmaktadır (Brand, 2017, s. 16). Ayrıca 20210 G>A genotipindeki kadınlarda abortus riskinin 2 ila 5 kata kadar arttığı literatürde bildirilmektedir (Mahmutbegovic vd., 2017, s. 309).

Popülasyonlar arasında polimorfik farklılıklar bulunabileceğinden protrombin 20210 G>A değişimini taşıyan bireylerin sıklığı da popülasyonlar arasında farklılıklar göstermektedir. Dziadosz vd (2016)'ları farklı popülasyonlarda Faktör II 20210G>A taşıyıcılık durumunu araştırdıkları meta analiz çalışmalarında, Japonya, Çin, Hindistan, Güney Kore popülasyonlarında Protrombin 20210 G>A gen varyasyonunu saptamazken, Mısır, Güney Avrupa ve ABD popülasyonlarında sırasıyla %1.4, %3, %5 sıklıkla saptamışlardır (Dziadosz & Baxi, 2016, s. 484). Öztuzcu vd (2014)'ları Güneydoğu Anadolu bölgesinde Protrombin 20210 G>A varyasyon sıklığını araştırdıkları çalışmalarında, AA genotipini %0,25, GA genotipini ise %3,44 olarak saptamışlardır (Öztuzcu vd., 2014, s. 3674).

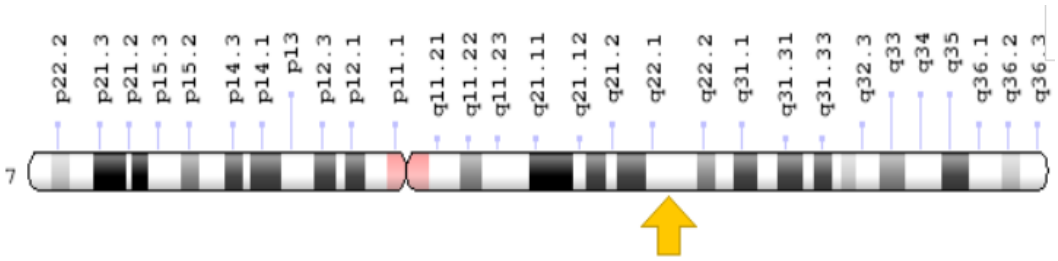
6.3. PAI-1 Gen Varyasyonu

PAI-1 (* 173360 Serpin Peptidase Inhibitor, Clade E (Nexin, Plasminogen Activator Inhibitor Type 1), Member 1; Serpine1) geni, kromozom 7q22.1'de lokalize, 3190 baz çifti ve 402aa'lik serpine genini kodlar.

Plazminojen; doku plazminojen aktivatörü (tPA) ya da ürokinaz adı verilen enzimler tarafından plazmine çevrilerek fibrin sistemin kontrolü sağlamaktadır. Bu kontrol mekanizması fibrinoliz olarak adlandırılmaktadır. Plazmin; gereksiz pıhtıları uzaklaştırmak için fibrinleri parçalayarak hemostaz dengesinin korunmasını sağlar. Fibrinoliz bloke edilecek olursa dolaşımda biriken aşırı fibrinler tromboza neden olabilmektedir. PAI-1 (plazminojen aktivatör inhibitörü) plazmada bulunan tPA ya da ürokinaz yolunu inhibe ederek fibrin yıkımını engellemektedir. PAI-1 miktarının arttığı durumlarda plazmin oluşamaz ve hemostaz mekanizmasının koagülasyon tarafına kayması beklenir (Gezer, 2012, s. 118-119).

Kromozomlarda meydana gelen bazı değişim ve mutasyonların protein sentezlerini etkiledikleri bilinmektedir. PAI-1 genininde transkripsiyon başlangıç

noktasına göre konumlandırılan - 675 bölgesindeki G insersiyon ve delesyonu sonucu PAI-1 aktivitesi artmakta ve fibrinolizin negatif etkilemektedir. Bu durum yaşamsal organlarda tromboza ve fetal kayıp, ölü doğum gelişme geriliği gibi sorunlarına yol açmaktadır. 4G/4G genotipi PAI-1 aktivitesinin en fazla arttığı (1/4) durumdur. Wild tip olan 5G/5G genotipinde fibrinoliz normal seyirlidir (Salazar vd.,2016, s. 70 ; Öztuzcu vd.,2014, s. 3672 , Morgan, Bombell, & McGuire, 2013 , Subrt vd., 2013, s. 55). PAI-1 yalnızca fibrinolizi düzenlemekle kalmaz aynı zamanda overlerin oluşması, fetusun uterusa implantasyonu gibi gebelik için uygun ortam sağlamaktadır. Tekrarlayan abortuslar içinde çoğu toplumda risk olarak belirlenmiştir (Li, Liu, Zhang, Tan, Chen, & Liu, 2015).



Şekil 7. 7. kromozom üzerine yerleşimli PAI-1 gen bölgesi (https://ghr.nlm.nih.gov)

Öztuzcu vd. (2014) Türkiye'nin doğusundaki PAI-1 4G/5G genotipi görülme sıklığı %45,66, 4G/4G genotipi görülme sıklığı ise %24,27 olarak rapor etmişlerdir (Öztuzcu vd.,2014, s. 3674). 4G/5G genotipi sıklığı, Beyaz ırk popülasyonunda %42, Avusturya popülasyonunda ise %58 olarak bildirilmiştir (Giurgea, Brunner-Ziegler, Jilma, Sunder-Plassmann, Koppensteiner, & Gremmel, 2017).

6.4. MTHFR 677 Gen Varyasyonu

MTHFR (* 607093 5,10-Methylenetetrahydrofolate Reductase; MTHFR) geni, kromozom 1p36.22'de lokalize, 7094 baz çifti ve 656aa'lik MTHFR genini kodlar.

Tromboza neden olan durumlardan bir tanesi de damar sıvısında biriken homosisteindir. Sülfür içerikli bu aminoasit vitamin B12'nin de işlevsel olarak katıldığı homosistein döngüsünde rol almaktadır. Metilentetrahidrofolatredüktaz (MTHFR) enzimi ise bu döngüde regülatör olarak görev almaktadır. Homosistein, 5- metil TFH'ın kendisine metil (CH_3) sağlamasıyla, DNA sentezi ve onarımında rol alan metiyonine

dönüşür. 5- metil THF ise MTHFR enzimi vasıtasıyla 5,10 MTHFR'nin redüksiyonu ile meydana gelmektedir. MTHFR enzim etkinliğindeki bozulmalar, homosistein metiyonine dönüşümünü engellemektedir. Dönüşümü sağlanamayan homosisteinler kan plazmasıda birikerek hemostaz dengesini hiperkoagülasyon tarafına çevirmektedir. Literatürde bildirilen MTHFR gen bölgesinde 14 ayrı tek nükleotit değişiminin MTHFR enzim aktivitesi ile doğrudan etkili olduğu bildirilmiştir. Damar sıvısında biriken homosistein ven trombozuna yatkınlık yarattığı gibi aynı zamanda gebelik sürecinde de TGK, fetal gelişim problemleri, erken doğumlara yol açabilmektedir (Liew & Gupta, 2015). Aynı zamanda bozulan folat mekanizması metiyonin değişiklikleri hücre bölünmesi sırasında bazı hatalara neden olarak dengesiz kromozom içeriğine sahip embriyoların gelişimine zemin hazırlayabilir (Madjunkova, Volk, Peterlin, & Plaseska-Karanfilska, 2012, s. 259).

MTHFR geninin kodlama yapan 4. bölgesinde 677 dizilimli sitozin nükleotidi yerine timin yerleşmesi sıkça çalışılmış bir transisyon varyasyonudur. İlgili varyasyon ile transkripsiyon sonunda mRNA'nın 222. kodonuna karşılık gelen alanin aminoasidi yerine valin kodlanması enzim aktivitesini değiştirmektedir. Böylece enzimin ısıl dayanıklılığı azalarak etkinliği yarı yarıya düşmektedir (Liew & Gupta, 2015). Bahsedilen genomik pozisyonda wild tip olan CC genotipi ile karşılaştırıldığında ise CT genotipini taşımak enzim aktivitesini %30, TT genotipini taşımak %70 düşürmektedir (Balasubramaniam, Kotalawa & Amarasekara, 2017).

Ülkemizde Güneydoğu Anadolu bölgesinde MTHFR 677 CC genotipi görülme sıklığı %13,78, CT genotipi görülme sıklığı ise %44,94 olarak rapor edilmiştir (Öztuzcu vd., 2014, s. 3674). Yozgat ve çevresinde yaşayan sağlıklı toplumda MTHFR 677 CC genotipi görülme sıklığı %8,8, CT genotipi görülme sıklığı ise %33,3 olarak rapor edilmiştir (Ekim, Ekim, & Yılmaz, 2015 , s. 310).

6.5. MTHFR 1298 Gen Varyasyonu

Literatürde damar duvarında duvarında kan akışını engelleyen daralmalara yol açarak inme, tromboz ve çeşitli gebelik kusurları ile ilişkilendirilen bir başka genetik değişim ise MTHFR geninin 7. Ekzonundaki 1298 A>C varyasyonudur. MTHFR 1298

A>C varyasyonunun herediter olarak dolaşımda homosistein birikmesine yol açtığı rapor edilmiştir. Enzim azalması MTHFR 677 C>T varyasyonunda olduğu gibi belirgin olmasa da, glutamat yerine kodlanan alanin aminoasidi de enzim etkinliğini azaltmaktadır (Keser, Pazarbaşı, & Özpak, 2014 , s. 248).

Irk ve popülasyonlarda genetik özellikler farklı olabileceğinden varyasyonların görülme sıklıkları farklılık gösterebilmektedir. Öztuzcu vd. (2014) çalışmalarında 1298 AC genotip sıklığı %44,94, CC genotip sıklığı %13,78 olarak bildirilmişlerdir (Öztuzcu vd.,2014 , s. 3674). Yozgat ve çevresinde yaşayan sağlıklı bireylerde MTHFR 1298 CC genotip sıklığı %13,3, AC genotip sıklığı ise %33,3 olarak rapor edilmiştir (Ekim, Ekim, & Yılmaz, 2015 , s. 310). MTHFR 1298 A>C varyasyonu sıklığı, Hollanda popülasyonunda %33, Lübnan popülasyonunda %49, Japonya popülasyonunda %16 olarak bildirilmiştir (Perera, Chandrasena, Indrakumar, & Hemantha, 2017).

6.6. Beta Fibrinojen -455 G>A Gen Varyasyonu

Beta Fibrinojen (* 134830 Fibrinogen, B Beta Polypeptide; FGB) geni, kromozom 4q31.3'de lokalize, 1975 baz çifti ve 491aa'lik FGB genini kodlar.

Fibrinojen, karaciğerde üretilen üç farklı polipeptit zincirinden oluşmuş trombinin katalizlediği bir tepkime ile fibrin yapımını sağlayan proteindir. Sağlam fibrin ağlarını oluşturarak dayanıklı pıhtı oluşturmakla görevlidir. Molekül ağırlığı toplam 340 kD kadar olan, alfa, beta ve gama olmak üzere üç farklı polipeptit zincirlerinin tamamı kandaki fibrinojen seviyeleri ile bağlantılıdır (Hoppe, 2014). Fibrinojenin damar sıvısındaki miktarı az ya da çok olması durumunda yaşamsal tehlike başlamaktadır (Korte, Poon, Iorio, & Makris, 2017, s. 72). Fibrinojen sentezi ve dokudaki miktarını interlökin-6 (IL-6)'nın aracı olduğu yol düzenlenmektedir. Beta fibrinojen kodlayan gende meydana gelen varyasyonların bu yolu etkileyip gen ekspresyonunu arttırdığı düşünülmektedir (Hoppe, 2014).

FGB genin transkripsiyon başlangıcına göre upstream kısmında 455. baz diziliminde gerçekleşen G>A varyasyonu fibrinojen miktarını anormal derecelerde artırmaktadır. Kapsamlı olarak araştırılan bu artış hemostaz dengesini bozarak

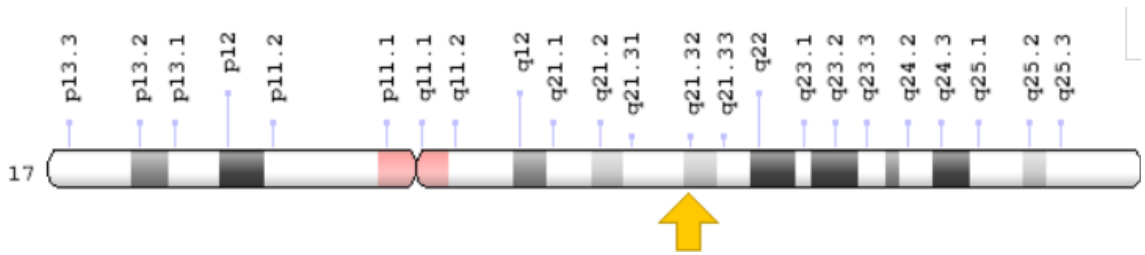
hiperkoagülasyona sebep olmaktadır (https://ghr.nlm.nih.gov). Literatürde bu değişim sonrasında fibrinojen oranının %7 ila %10 kadar arttığı rapor edilmiştir (Li, Wu, Chen, Wu, Xu, & Li, 2015). Artan fibrinojen miktarları trombofili, koroner arter hastalıkları ile aynı zamanda tekrarlı abortuslar ile ilişkilendirilmiştir (Gu vd., 2014, s. 994 , Li, Wu, Chen, Wu, Xu, & Li, 2015, s. 818).

6.7. Glikoprotein IIIa Gen Varyasyonu

Glikoprotein IIIa (* 173470 Integrin, Beta-3;ITGB3) geni, kromozom 17q21.32'de lokalize, 3995 baz çifti ve 788aa'lik ITGB3 genini kodlar.

Damar duvarı dışarıdan hasar aldığı anda primer koagülasyon sistemi devreye girerek trombositlerin bölgeye kümelenmesi ve geçici pıhtı duvarı oluşması sağlanır. Glikoprotein (GP) IIIa trombositlerin damar endoteline adezyonunu sağlayan bir reseptör moleküldür. Koagülasyon sırasında fibrin ağı ve diğer prekoagülasyon molekülleri damar duvarına bağlayan başka molekülere ihtiyaç duyulmaktadır. Bu görevi GP IIb ve GP IIIa yerine getirerek almaç görevi görmektedir. GP IIb/IIIa kompleks halinde işlevseldir. Bu kompleksin neden olduğu değişimler hasarlı bölgede trombosit toplanmasını ve pıhtı oluşumunu sağlamaktadır (Verdoia vd., 2014 , s. 79).

Kompleksi oluşturan GP IIIa'yı kodlayan gen ITGB3 iken GP IIb kısmını kodlayan gen ise ITGA2B'dir.



Şekil 8. 17. kromozom üzerine yerleşimli ITGB3 gen bölgesi (https://ghr.nlm.nih.gov)

Reseptör GP IIIa'yı kodlayan genin 2. ekzon bölgesindeki varyasyon (196T>C) fibrinojen miktarını değiştirmektedir. Baz değişimi gen ürününü değiştirmekte ve prolin yerine lösin kodlanmaktadır. Alleller kodlanan aminoaside göre isimlendirilmektedir. Prolin kodlanan gen A2, lösin kodlanan gen se A1 alleli olarak tanımlanmaktadır. 33. sırada A2 alleli varlığı bu reseptörün wild tipe göre sık ve gereksiz uyarılmasına ve kan

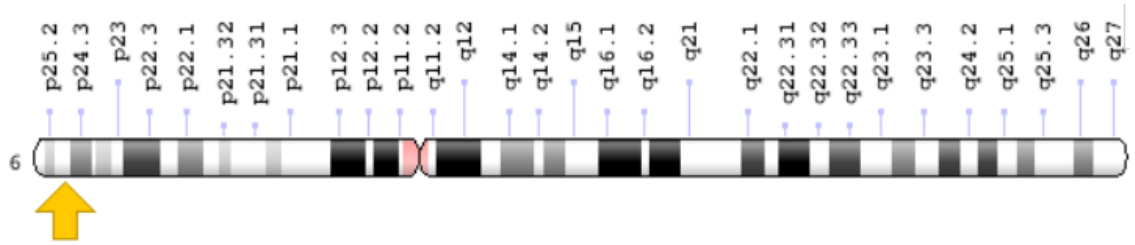
akımını zorlaştıran pıhtı oluşumuna sebebiyet vermektedir (Papp vd., 2005, s. 1014 , Floyd, Mustafa & Ferro, 2014 , Güner vd., 2017, s. 69).

6.8. Faktör XIII Gen Varyasyonu

Faktör XIII A1(* 134570 Factor XIII, A1 subunit;F13A1) geni, kromozom 6p25.1'de lokalize, 3999 baz çifti ve 732aa'lik F13A1 genini kodlar.

Faktör XIII B (* 134580 Factor XIII, B subunit;F13B) geni, kromozom 1q31.3'de lokalize, 2217 baz çifti ve 661aa'lik F13B genini kodlar.

Koagülasyon mekanizmasının son aşaması olarak fibrinojenlerden sağlam fibrin ağları ile pıhtı meydana getirilir. Kolay parçalanmayan dayanıklı fibrin ağları oluşumu faktör XIII'ün katıldığı biyolojik süreç sonunda gerçekleşmektedir. Ancak bu dönüşüm için faktör XIII aktif forma getirilmelidir. Bu aktifleşme Ca^{+2} ve trombinin katılımı ile gerçekleşen süreçte tamamlanmaktadır. Faktör XIII, A ve B olarak adlandırılan iki alt parçadan oluşmaktadır. Bu iki alt parçadan A kısmı koagülasyon faktörü XIII'ü aktifleştirmek için yapısına katılmaktadır. B alt parçası ise sağlam fibrin ağların yapısına katılmaktadır. Bu parçalar F13A1 ve F13B olmak üzere iki ayrı gen tarafından kodlanmaktadır. Faktör XIII otozomal resesif kalıtılmaktadır. Faktör XIII aktivasyonunu etkileyen defektler genellikle F13A1 geninde meydana gelen mutasyonlardan kaynaklanmaktadır (https://ghr.nlm.nih.gov , Shi & Wang, 2017).



Şekil 9. 6. kromozom üzerine yerleşimli F13A1 gen bölgesi (https://ghr.nlm.nih.gov).

Herediter Faktör XIII patojenik varyasyonlar yaşamsal tehdit oluşturabilecek pıhtı oluşumuna neden olabilir, plasental perfüzyonu etkileyerek tıkanıklık sonucu organogenez sırasında sorunlara ve fetal kayıplara yol açabilir (https://ghr.nlm.nih.gov).

Fibrinlerin çapraz bağlanmaları sonucu oluşan fibrin ağları hasarlı damar tamir edildikten sonra fibrinoliz gibi özel bir mekanizma ile parçalanmaktadır. Faktör XIIIA1 34. aminoasit olan valin yerine lösin substitusyonu (Val34Leu) wild tipe göre enzim aktivitesi iki buçuk kat artmaktadır. Transkripsiyon sonucu 34. aminoasidin lösin olarak kodlanması sonucu fibrin ağlarını daha az gözenekli ve ince hale gelmektedir. Bu yapıdaki fibrinler parçalanmaya karşı daha dayanıklı durumdadır (Dodt, Volkers, & Seitz, 2013 , Lino, Traina, Barreto, Moron, & Mattar, 2015 , Yıldırım vd., 2017).

Aynı zamanda enzim aktivitesinin azaldığı bazı varyasyonlarda literatürde bildirilmiştir. En ufak bir damar hasarında dahi fibrin ağının örülemediği ya da geç kalındığı durumlar ortaya çıkmaktadır. F13A1 geni 14. ekzon bölgesindeki varyasyon sonucu arjininden histidine değişim, 3. ekzon bölgesinde 60. dizilimdeki asparajin yerine lizin aminoasidi kodlanması ve 414. aminosit diziliminin valin yerine fenilalanin yerleşmesi gibi değişimler faktör XIII'ün eksikliği ve durdurulamayan kanamalara neden olan bazı varyasyonlardandır (* 134570 Factor XIII).

Faktör XIII Val34Leu varyasyonu, İngiltere popülasyonunda %45,8 sıklıktayken İtalya popülasyonunda %45,1, ABD popülasyonunda %43, Japonya popülasyonunda %2,5 olarak bildirilmiştir. Yıldırım vd. (2017) bir prevalans çalışmalarında bu varyasyonu sağlıklı popülasyonda görülme oranı %29,2 olarak saptamışlardır (Yıldırım vd., 2017). Öztuzcu vd. (2014) Türkiye'nin Orta ve Doğu bölgesini kapsayan çalışmalarında Val34Leu homozigot varyasyon sıklığını %24,91, heterozigot varyasyon sıklığını ise %2,61 olarak bildirmişlerdir (Öztuzcu vd.,2014, s. 3674).

7. Trombofili Nedeni Olarak Belirlenen Yeni Aday Genler

Gelişen teknolojik gelişmelere bağlı olarak genetik araştırmalar hızla ilerlemekte ve tek nükleotit polimorfizmleri (SNPs) üzerine araştırmalar artmaktadır. İnsan genomunda protein değişikliğine yol açan birçok nükleotit değişim saptanmış ve sayıları hızla artmaktadır (Morange, Suchon & Tregouet, 2015, s. 912). Herediter trombofili için mevcut paneller nedensellik açısından bir kısım genler içermekte ve yetersiz kalmaktadır (Martin-Fernandez vd., 2017). Bu gelişmeler ışığında bilim insanları trombofili için risk oluşturduğu düşünülen yeni gen bölgeleri belirlemekte ve

tıp dünyasına yeni umutların kapılarını aramaktadırlar (Morange, Suchon & Tregouet, 2015, s. 912).

Yakın tarihli bir çalışmada trombin öncüsü protrombini kodlayan geninin 1778. sıralı nükleotidinde G>A değişimi belirlenmiştir. Gen ürünü olan aminoasit dizilimini değiştiren bu varyasyonun 596. sıradaki arginin yerine glutamin kodlanmasına neden olarak antitrombine karşı direnç oluşumunu tetiklediği rapor edilmiştir. Gelişen bu direncin kalıtsal tromboza neden olduğu bildirilmiştir (Miljic, Bodrozic, Pruner & Djordjevic, 2016). FV geninde herediter trombofiliye neden olduğu öngörülen bir başka varyasyon 1299. aminoasit olan histidin yerin arjinin kodlanması sonucu tromboza iki-üç kat artan yatkınlık sağlayan varyasyondur (Arabkhazaeli, Ghanaat & Hashemi-Soteh, 2016, s. 332 , Zhao, Liu & Li, 2015, s. 101). Ayrıca literatürde FV geni 1090A>G, 1091G>C, 1250T>C gibi bazı varyasyonların venöz tromboza yatkınlığa neden olduğu bildirilmiştir (Zhao, Liu & Li, 2015, s. 101).

Morange vd. (2017) meta analiz çalışmalarında FV, FIX, KNG1, PROC, PROCR, PROS1, SERPINC1, STXBP5 gibi genlerle ilgili yapılan çalışma sonuçlarının venöz tromboza yatkınlık oluşturduklarını rapor etmişlerdir (Morange, Suchon & Tregouet, 2015, s. 910). KNG1 gen ürünlerinin de koagülasyon sürecinde rol alan HMWK'yı kodladığı belirlendikten sonra araştırmalar daha da hızlanmıştır. Gen ürünü değişimine sebep olan tek bir nükleotidin değişimi 581. sırada izolösin yerine tronin kodlanması trombofiliye herediter yatkınlık sağlamaktadır (Martin-Fernandez vd., 2017).

Yakın tarihli bir başka çalışmada ise ORM1 geni üzerinde pıhtılaşmaya eğilim yaratan yeni bir gen lokusu tanımlanmıştır. Kodladığı orosomukoid isimli enzimin trombin üretiminde etkili olduğu ve gende meydana gelen mutasyonun hemostazı hiperkoagülasyon yönüne kaydırabileceği bildirilmiştir (Rocanin-Arjo vd., 2014, s. 785). Son yıllarda renin ve anjiyotensin mekanizmasında etkili olan ACE genindeki varyasyonların hemostazı hiperkoagülasyon yönüne kaydırabileceği bildirilmiştir (Hedari, Sheikholeslami, Yavari, Khatami, & Seyedhassani, 2017, s. 2).

MATERYAL VE YÖNTEM

Çalışmaya Nisan 2014 - Temmuz 2017 tarihleri arasında Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi (TÜTF) Tıbbi Genetik Anabilim Dalı Genetik Hastalıklar Tanı Merkezi'ne gebelik kaybı şikayeti ile başvuran 726 çiftten çalışmaya dahil etme kriterlerine uyan 129 çift dahil edildi. Çalışmaya en az üç kuşaktır Trakya Bölgesinde yaşayan, birbirleriyle akrabalık ilişkisi bulunmayan, 20 ve daha önceki gebelik haftalarında en az iki ve daha fazla ardışık gebelik kaybı öyküsü olan çiftler dahil edilmiştir.

Çalışma 129 kadının Genetik Hastalıklar Tanı Merkezi'nde bulunan hasta dosyalarından kalıtsal trombofili paneli için güncel kaynaklarda önerilen Faktör V Leiden 1691 G>A, Protrombin 20210 G>A, MTHFR 677 C>T, MTHFR 1298 A>C, PAI1 4G/5G, GPIIIA Leu33Pro, Beta Fibrinojen -455 G>A, Faktör XIII Val34Leu varyasyonları ve 129 çiftin (kadın, erkek) karyotip analizi sonuçları taranarak retrospektif olarak değerlendirildi.

Çalışmanın etik kurul onayı "Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi (TÜTF) Dekanlığı Bilimsel Araştırmalar Etik Kurulu Edirne, Türkiye" tarafından 25.10.2017 tarihinde incelenerek 2017/271 protokol numaralı yazı ile verilmiştir (Karar No: 18/14) (Ek-1).

1. Malzemeler

1.1. Trombofili Paneli Çalışılırken Kullanılan Cihazlar Ve Solüsyonlar

1.1.1. Kullanılan Cihazlar

Çizelge 1. Trombofili çalışmasında kullanılan cihazlar

DNA izolasyon cihazı	Qiagen EZ1 Advanced XL
Nanodrop	Thermo Scientific
Vortex	Thermo Scietific
Termo çalkalayıcı	Euro Clone
Spin cihazı	Biosan FVL-2400N
PCR cihazı	Sensoquest
Pyrosekans cihazı	Qiagen Pyromark Q24
Buzdolabı +4 (Kan örneklerini muhafaza üzere)	Arçelik
Buzdolabı -20 (Kit içeriği solüsyonları ve genomik DNA'ları muhafaza etmek üzere)	Arçelik

1.1.2. Kullanılan Solüsyonlar

- DNA izolasyon kit içeriği → Qiagen
- Pyromark PCR kit içeriği → Qiagen
  - Master mıx (2X→1X)
  - Primerler (Her bir gen bölgesi için özel reverse ve forvard)
  - Distile H_2O
  - DNA

- Pyrosekans kit içeriği → Qiagen
  - Streptavidin sepharose
  - Binding buffer (bağlayıcı) (Final konsantrasyon 0,3µM)
  - Distile H_2O
- Annealing buffer
- Washing buffer (10X'den → 1X'e seyreltilir)
- Denatürasyon solüsyonu
- %70'lik etanol

1.2. Kromozom Analizi Sırasında Kullanılan Cihazlar ve Solüsyonlar

1.2.1. Kromozom Analizi İçin Kullanılan Cihazlar

Çizelge 2. Sitogenetik laboratuvarında kromozom analizi sırasında kullanılan cihazlar

Çeker ocak	EuroClone S@Femate Eco 1.2
Etüv	Thero Scientific Heratherm Incubatör
Su banyosu	Lauda Aqualine AL12
Santrifüj	Nüve NF 1200R
Hassas terazi	Radwag AS 220/C
Pipet ve pipet uçları	Eppendorf

Vorteks	Heidolph
Buzdolabı +4 (Kan ve bu sıcaklıkta muhafaza edilen diğer solüsyonlar için)	Beko
Buzdolabı -20 (Fikstif ve aynı sıcaklıkta muhafaza gerektire solüsyonlar için)	Beko
Mikroskop (Kromozom analizini gerçekleştirmek için)	Argenit
Lam ve lamel	Thermo scientific Superfrost

1.2.2. Kromozom Analizinde Kullanılan Solüsyonlar

- Antibiyotik
- Asetik asit (Fiksatif çözeltisi için)
- Entellan
- Fetal bavin serum
- Fitohemaglutinin
- Gurr tablet
- Kolsemid
- L- glutamin
- Leichman boya solüsyonu
- Metanol (Fiksatif çözeltisi için)
- Pankreatin
- PBS (Phosphate Buffered Saline) tablet
- Potasyum klorür çözeltisi (KCL)
- RPMI 1640, 1X ticari besi yeri
- Timidin

2.Trombofili Çalışması İçin Yöntemler

2.1. Trombofili Paneli Çalışılacak Kanların DNA İzolasyonu

2ml'lik EDTA'lı tüpe hastalardan alınan periferik venöz kanlar çalışma aşamasına kadar buz dolabında +4 ^{0}C'de muhafaza edilir. Hastalardan alınan periferik kan örnekleri lökositlerinden genomik DNA (gDNA) elde edilmek üzere Qiagen marka EZ1 DNA Blood kitleri (Qiagen, Hilden, Almanya) kullanılmaktadır. Yine aynı markanın EZ1 Advanced XL nükleik asit izolasyon cihazı (Qiagen, Hilden, Almanya) kullanılmıştır. Kitlerin içeriğinde gDNA izolasyonu için gerekli etanol, elüsyon buffer, taq polimeraz, bead, liziz buffer, wash buffer, proteinaz K gibi solüsyonlar hazır olarak bulunmaktadır. Kan örneği sayısı kadar kitlerin ilk bölmesine yerleştirilen 1,5 ml'lik tüplere 200 µl periferik venöz kan eppendorf marka pipetler kullanılarak aktarılır. Kitler cihazın uygun bölmelerine yüklenerek cihazın çalışma prensiplerine göre ekrandan işlem başlatılır. Cihaz işlemi tamamlandığında elimizde 100 µl izole edilmiş gDNA örneği bulunduğu konik tüplerin üzerine hasta isimleri ve ölçülen konsantrasyon ve 260/280 değerleri not edilerek çalışılacağı süreye kadar -20 ^{0}C'de muhafaza edilir.

2.2. İzole Edilen gDNA Örneklerinin Saflık Ve Konsantrasyon Ölçümleri

Elde edilen gDNA örneklerinin saflığını belirlemek için Thermo Scientific (USA) marka Nanodrop 2000/2000C spektrofotometre cihazında 260 - 280 nm dalga boyunda ölçüm yapılır. Ölçüme başlamadan önce ampul su ile blank yapılarak cihaz kaidesi temizlenir. Cihazın ölçüm kaidesine 2 µl gDNA örneği eppendorf marka pipetlerle bırakılır ve kapak kapatılır. Cihazla bağlantılı bilgisayar yazılımı üzerinden önce "measure" yazan ölçüm yerine daha sonra "nükleik asit" ibaresine tıklanır, açılan pencerede yeşil kısımda DNA seçilerek ölçüm başlatılır. Cihaz otomatik olarak ng/µl cinsinden konsantrasyonunu ve 260/280 db değerlerini okumaktadır.



Şekil 10. Nanodrop 2000C spektrofotometrik ölçüm cihazı

2.3. Tromboz Paneli Çalışma Protokolü

Tromboz paneli FII 20210 G>A (Protrombin), FV 1691 G>A (Leiden), MTHFR 677 C>T, MTHFR 1298 A>C ve PAI-1 4G/5G, Beta Fibrinojen -455 G>A, Faktör XIII Val34Leu, GPIIIa Leu33Pro varyasyonlarını kapsamaktadır (Qiagen, Pyromark PCR kiti, Almanya).

Tromboz paneli pyrosekans primerleri ile her bir varyasyon analizi için bir PCR reaksiyonu yapılır ve bu reaksiyon kullanılarak her bir varyasyona özgü sekans primerleriyle sekans analizi gerçekleştirilir. Okunan dizilimler şablonla karşılaştırılarak varyasyonlar saptanır. 8'li stripte ilgili genlerin sırası aşağıdaki gibidir,

1. kuyu: FII 20210 G>A,
2. kuyu: FV Leiden1691 G>A
3. kuyu: MTHFR 667 C>T,
4. kuyu: MTHFR 1298 A>C,
5. kuyu: PAI-1 4G/5G,
6. kuyu: Beta Fibrinojen -455 G>A,
7. kuyu: Faktör XIII Val34Leu,
8. kuyu: GPIIIa Leu33Pro şeklindedir.

2.3.1. PCR Aşamaları

PCR reaksiyonu için Qiagen marka Pyromark PCR kiti kullanılmıştır. Her bir varyasyon için ayrı ayrı aynı PCR protokolü uygulanır.



Şekil 11. Pyromark PCR kiti

Başlamadan önce yapılan işlemler;

Reaksiyon başlamadan önce tüm kullanılacak malzemeler (Pyromark PCR Mastermiks, PCR primer çifti) hafifçe vorteks-spin yapılır.

1. DNA hariç diğer bileşenler Çizelge 3'de belirtilen değerler ve içerikler ile her bir mutasyon için ayrı bir PCR miks hazırlanır.

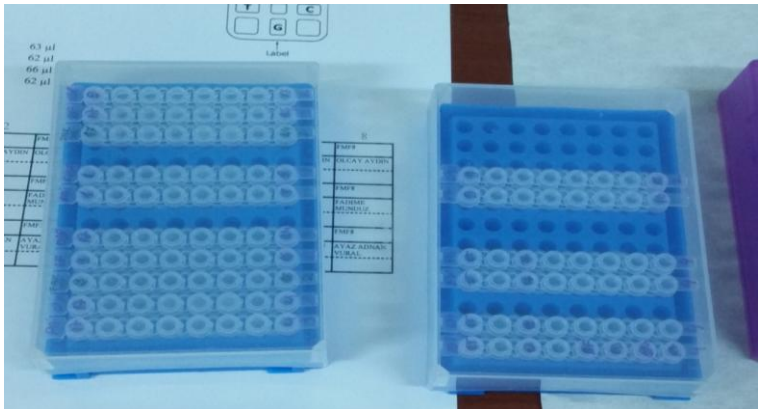
Çizelge 3. PCR Reaksiyon Kompozisyonu

Bileşen	**Hacim/reaksiyon**	**Final Konsantrasyon**
Reaksiyon miks		
Pyromark PCR Mastermiks	12.5 µl	1X
Mutasyona özgü PCR primer çifti (forvard ve reverse)	1 µl	200µM^{+}
dH_2O	6.5 µl	
Kalıp DNA		

DNA	5 µl	10ng
Toplam	25 µl	

2. Reaksiyon miksleri hazırlandıktan sonra 20'şer µl 8'li PCR tüplerine ilgili kuyularına dağıtılır

3. Her bir PCR tüpüne, konsantrasyonu yaklaşık 2 ng/µl ayarlanan DNA örneğinden 5'er µl aktarılır. Bu şekilde ilgili DNA örneğinden 25 µl'lik reaksiyon başına yaklaşık 10 ng aktarılmış olur.



Şekil 12. 8'li PCR tüpleri

4. Reaksiyon Çizelge 2'deki aşamalara göre gerçekleştirilir. Her bir PCR çalışmasında kontrol grubu olarak DNA'sız negatif örnek hazırlanır. Bunun için DNA yerine aynı miktarda distile su kullanılır.

Çizelge 4. PCR Aşamaları

Aktivasyon Basamağı	95^0C	15 dakika
3 Aşamalı Döngü		
Denatürasyon	94^0C	30 saniye
Annealing	60^0C	30 saniye
Extension	72^0C	30 saniye

45 döngü yapılır		
Son Uzatma	72^0C	10 dakika

2.3.2. Pyro Sekans

İşleme başlanmadan önce dNTP'lerin (final konsantrasyonu 10mM), enzim ve substrat koyulan kartuş ultra distile su ile yıkanır ve kurumaya bırakılır. Filter prob el ünitesi ultra saf su içeren kaba daldırarak vakum pompası ve ünitenin vakum anahtarı açılarak kapta bulunan 70 ml suyu çektirerek ünitenin yıkanması sağlanır. Isı bloğu 80^0C'ye ayarlanarak üzerine plate tutacağı yerleştirilir. Solüsyonlar, nükleotitler, enzim ve substrat, sekansı primerleri ve PCR reaksiyon ürünleri oda sıcaklığına çıkarılır.



Şekil 13. Çalışmalarda kullanılan Euroclone markasına ait ısı bloğu

2.3.3. Run Dosyası Oluşturma Aşamaları

1. Pyromark Q24 programı açılarak yeşil işaretli "New run" tıklanır.
2. "Instrument Method" yazan kısımdan kartuş numarası seçilir çalışılan kuyucuklar işaretlenir.

3. Q24 şemasına çalışılan sıra ile "Example Files" kısmından kopyalanarak FII 20210 G>A FV 1691 G>A (Leiden), MTHFR 677 C>T, MTHFR 1298 A>C ve PAI-1 4G/5G, Beta Fibrinojen -455 G>A, Faktör XIII Val34Leu, GPIIIa Leu33Pro ilgili gen bölgeleri sürüklenerek çalışılacak ilgili bölmelere bırakılır.
4. Plate kutucukları üzerinde bulunan ikinci ve üçüncü satırlara örnek numarası ve isimleri yazılır ve kaydedilir.
5. Daha sonra Q24 programı araç çubuğunda "Tolls" seçeneği tıklayıp "Pre Run Information" seçilir ve açılan sayfa yazdırılır.
6. Hazırladığımız run dosyası bilgisayarda çalışılan tarih ve gen bölgeleri şeklinde uygun isimlerle adlandırılır ve kaydedilip dosya kapatılır. Run dosyası Q24 cihazında kullanmak üzere USB'ye kaydedilir.

2.3.4. PCR Ürünlerinin Streptavidin Sepharose Bilyelerine Bağlanması

1. Streptavidin Sephosore bilyelerini içeren şişe çabuk çökme özelliğinden dolayı elde nazik bir şekilde alt üst edilerek homojen bir solüsyon elde edilir.
2. Çizelge 5'de belirtilen miktarlarda mastermiks hazırlanır.
3. Hazırlanan mastermıks 24 kuyucuklu PCR plate'in her bir kuyucuğuna 70'er µl olacak şekilde dağıtılır.
4. Run dosyasında hazırdığımız sıra ile her bir kuyucuğa 10µl ilgili PCR ürünü eklenir.
5. PCR plate'in üzeri sızdırma olmayacak şekilde bantlanır.
6. Oda sıcaklığında 1400 devirde 5-10 dakika T-Shakker cihazında çalkalanır.

Çizelge 5. Pyro sekans reaksiyonu

Bileşen	Miktarlar/ Örnek	24 örnek için
Streptavidin Sepharose Bilyeler	2 µl	2x26=52 µl
Bağlayıcı Buffer	40 µl (0,3µM)	40x 26= 1040 µl

Ultra saf H_2O	28 µl	28x26= 728 µl
Toplam		70 µl

2.3.5. Pyro Sekans İçin Örnek Hazırlama Aşamaları

7. Q24 plate'in her bir kuyucuğunda run dosyasında hazırlanılan şekilde 2.5 µl sekans primeri (final konsantrasnyonu 10µM) ve 22.5 µl annealing buffer (final konsantrasnyon 0,3µM) eklenir.

8. PCR plate'in ve Q24 plate'i aynı döngü sırasıyla olmasına dikkat edilerek vakum çalışma alanında ilgili yerlere yerleştirilir. 24 kuyucuklu plate üzerindeki bant dikkatlice çıkartılır.

9. Vakum pompasının düğmesi ve el ünitesinin üzeride bulunan vakum anahtarı açılır.

10. Filtre problarını PCR plate'in üzerine ya da striplerin üzerinde getirerek içine daldırılır ve 15 saniye kadar tutularak bilyeler yıkanır. Daha sonra PCR plate ve üzerindeki yapışkan çöpe atılır (Çok çabuk çökme özelliği olan sepharose bilyeler PCR plate ya da striplerin çalkalanmasını takiben 1 dakika içerisinde bu işlem yapılmalıdır).

11. El ünitesi %70'lik hazırlanan 50 ml alkol (etanol) solüsyonunda 5 saniye kadar bekletilir.

12. El ünitesi 40 ml Denatürasyon Solüsyonuna daldırılarak 5 saniye beklenir.

13. Daha sonra el ünitesi 50 ml Wahing Buffer içeren kaba daldırılarak 10 saniye kadar beklenir (Washing buffer 10x→1x'e düşürülerek kullanılır).

14. El ünitesi dikey biçimde kolumuzu yukarı kaldırarak 5 saniye bekletilir ve filtre problarının sıvıyı tamamen vakumlayıp uzaklaştırması sağlanır.

15. El ünitesi Q24 plate üzerine getirilerek vakum anahtarı ve vakum pompası motoru kapatılarak hafifçe sallatılır ve bilyeleri sekans primerlerini içeren buffer'a iyice bırakması sağlanır.

16. El ünitesi 50 ml kadar distile su dolu kabın içine daldırılır 10 saniye çalkalanır. Daha sonra el ünitesi distile su içeren diğer kaba daldırılarak 70 ml suyu çekmesi sağlanır.

17. El ünitesi kolumuzu 90^0'yi geçen bir açıyla yukarı kaldırılarak 5 saniye kadar tutulur ve filtre problarınından suyun vakumlanması sağlanır. El ünitesi anahtarı ve vakum pompası düğmesi kapatılır.

18. Q24 plate önceden hazır edilmiş olan 80^0'deki plate tutacağı üzerine yerleştirilerek 2 dakika beklenir. Süre tamamlandıktan sonra 5 dakika oda sıcaklığında ve karanlıkta bekletilir.



Şekil 14. PyoMark Q24 Vacuum Workstation cihazı

2.3.6. Pyromark Q24'ün Çalıştırılması

Pre Run information raporunda yazılan miktarlardaki enzim, nükleotit ve substratı kartuşa eklenir. Kartuş yuvasına etiketi bize bakacak şekilde yerleştirilir ve kapağı kapatılır. Plate için ayrılan bölmeye Q24 plate yerleştirilir. Cihazın USB giriş

yerine USB takılır. Menüye girilerek Run seçilir ve Ok tuşuna basılır. Hazırladığımız run dosyası seçilir işlem yaklaşık 14 dakika sürmekle birlikte PAI 4G/5G gen varyasyon çalışması diğer gen bölgelerine göre biraz daha uzun sürebilmektedir. Biten run sonrası USB'ye kayıt edilir ve çıkış yapılır. Çalışılan run dosyası USB yardımıyla bilgisayara takılarak analiz işlemi gerçekleştirilir.

3. Kromozom Analizi İçin Yöntemler

3.1. Periferik Kandan Hücre Kültürünün Yapılması

1. Çalışılacak hasta sayısı kadar 15 ml'lik steril falkon tüplere 5'er ml ticari RPMI (Roswell Park Memorial Institute Medium) besiyeri hazırlanır RPMI. Tüplerin üzerine hasta isimleri etiketlenir.
2. 2 ml'lik yeşil kapaklı (heparinli) tüplerdeki hasta kan örnekleri iyice çalkalandıktan sonra enjektör yardımıyla çekilerek 10'ar damla (0,2 ml) besiyerleri içerisine damlatılır. Besiyeri ve kan iyice karışması için tüp alt üst edilir.
3. Ekimi yapılan besiyerleri 37 ^{0}C etüve kaldırılır.
4. Ekim yapıldıktan 48 saat sonra besiyerleri içerisine 150'şer µl timidin eklenir. Hücre kültürleri etüve kaldırılır.
5. Ekim sonra hüre kültürlerinin 67. saatleride timidinin fazlasını ortamdan uzaklaştırmak için yıkama işlemi yapılır.
6. Yıkama işlemi için hücre kültürlerinin olduğu tüpler 1200 rpm'de 10 dakika santrifüj edilir. Tüp üzerinde biriken süpernatant vakum makinesi yardımıyla uzaklaştırılır. Tüpün dibinde kalan pellete 5 ml PBS eklenerek 1200 rpm de 10 dk santrifüj edilir.
7. Önceden hazırlanmış ve etüvde 37 ^{0}C'de bekletilen RPMI besi yerinden PBS ile yıkama yapılan hücre kültürlerinden 5'er ml eklenir ve etüve kaldırılır.
8. Hücre kültürleri 70. saatlerinde etüvden alınarak 100'er µl iğ ipliği inhibitörü olan kolsemid eklenir. Yaklaşık 2 saat sonra harvest işlemi yapılmak üzere hücre kültürleri 37 ^{0}C etüve kaldırılır.

9. Hücre kültürleri 72. saatlerine 1200 rpm'de 10 dakika santrifüj edilir. Pellet tüpün dibinde kalacak şekilde süpernatant vakum makinesi ile uzaklaştırılır.
10. Pellet vortekslenerek 5 ml (0,075M) KCl hipotonik çözeltisi eklenir. Hücrelerin iyice parçalanması için 4 dakika oda sıcaklığında inkübe edilir.
11. 4 dakika sonra hücre kültürü örneği 1200 rpm'da 10 dakika santrifüj edilir. Santrifüj sonrasında tekrardan üst kısımdaki biriken süpernatant vakum makinesi yardımıyla uzaklaştırılır.
12. Tüpün dibinde kalan yaklaşık 0.5 ml pellet içeren sıvı vortekslenerek 5 ml fiksatif solüsyonu eklenir. Tekrar 1200 rpm'de 10 dakika santrifüj edilir. Süpernatant vakum makinesi yardımıyla uzaklaştırılır. Fiksatif ile muamele işlemi 3 kez ard arda tekrarlandıktan sonra elde edilen beyaz renkli bolca kromozom ihtiva eden sıvı preparat hazırlanmak üzere +4 ^{0}C'ye kaldırılır.

3.2. Kromozomları Lamlara Yayma Ve Boyanma Aşaması

1. Harvest aşamasından sonra hücre kültürü 1200 rpm'de 10 dakika daha santrifüf edilir. Tüpün dibindeki pellet bırakılacak şekilde süpernatant vakum makinesi yardımıyla uzaklaştırılır. 10 ml fiksatif çözeltisi ilave edilerek 1200 rmp de tekrardan 10 dakika santrifüj edilir ve sürernatant vakum makinesi ile uzaklaştırılır.
2. Çalışılan kültür sayısı kadar lam düz bir zemine alınır. Ortam nem ve sıcaklığı lamlara yayma ve boyama aşamasında önemlidir işleme başlamadan önce kontrol edilmelidir. Ortam sıcaklığı 22-23 ^{0}C, nem ise %45-50 civarında olmalıdır.
3. Pastör pipeti ile kültürden kromozomların olduğu pellet dikkatlice alınır. Lamların dört bir kenarı ve ortasına 10'ar damla yaklaşık 80 µl olacak şekilde pellet yayılır.
4. Yayma işlemi tamamlanan lamlar 2 saat boyunca oda sıcaklığında bekletilerek kurumaları sağlanır.
5. Kuruyan lamlar 90 ^{0}C etüvde 3 saat bayatlatmaya bırakılırlar.
6. Bayatlatma süresinin bitmesine 1 saat varken su banyosu 37 ^{0}C'ye ayarlanır. Su banyosu içine içinde 100'er ml PBS çözeltisi bulunan iki tane şale yerleştirilir.

Şalelerden birinin içerisine boyama işlemi yapmadan hemen önce 0.1 gram pankreatin eklenir.

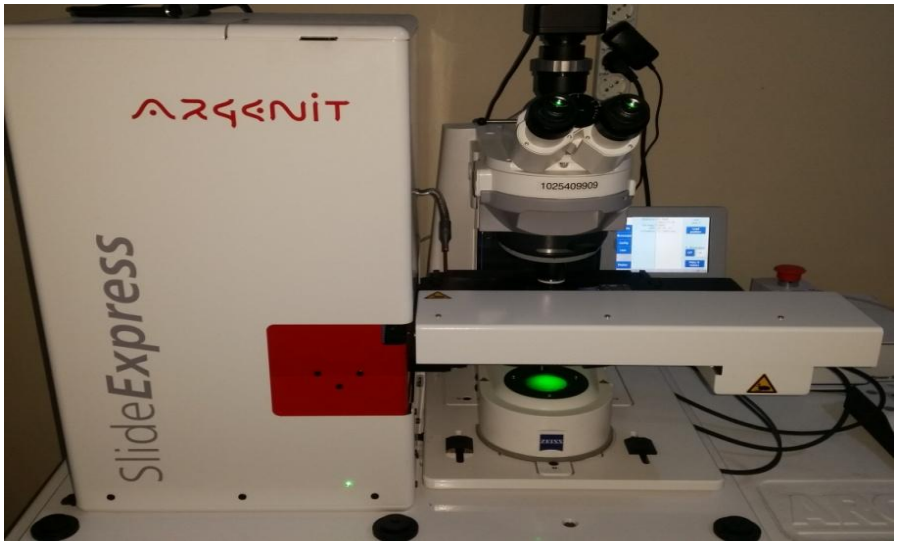
7. Etüvden alınan lamlar ilk olarak su banyosundaki içerisinde PBS ve 0.1 gram pankreatin bulunan şalede 40 saniye bekletilir.
8. 40 saniye sonunda çıkarılan lam sadece içerisinde yanlızca PBS solüsyonu bulunan diğer şaleye alınır, çalkalanır. İyice çalkalanan şale su banyosu dışındaki boya çözeltisine daldırılarak oda sıcaklığında 5 dk bekletilir.
9. Boya içerisinden çıkarılan lamlar hızlı bir şekilde çeşme suyu dolu olan 2 ayrı kapta çalkalanarak kurumaya bırakılır.
10. Kuruyan preparatlar entellan ve lamel ile kapatılarak inceleme için uygun duruma getirilir.



Şekil 15. Analiz edilmek üzere kromozom preparatları

3.3.Kromozomların Mikroskop Altında İncelenmesi ve Analiz Edilmesi

Kromozomların entellan ile kapatma işlemi sonrasında kuruyan preparatlar mikroskop altında incelenir. Argenit marka mikroskop ve bilgisayarlı görüntüleme programı kullanılarak gerçekleştirilmiş olan analizlerde G-bantlama yöntemi ile bantlanan kromozomlar en az 20 metafaz sayılarak analizi gerçekleştirilmiştir.



Şekil 17. Metafaz bulucu sistem



Şekil 16. Metafaz bulucu sistemin bilgisayar ekranı

4.Kromozom Analizinde Kullanılan Malzemeleri Hazırlanışı

4.1. RPMI Besiyeri Hazırlanışı

RPMI besiyeri kullanılmadan önce hücre kültürünün çoğalmasını destekleyici uygun ortam oluşturmak amacıyla, 5 ml RPMI besi yeri içerisine, 2 damla fitohemoglutinin ve 1 damla L-glutamin eklenir. Hazırlanan besiyerleri daha sonra hücre kültürleri ekilmek üzere 37 ^{0}C etüve kaldırılır.

4.2. Timidin Çözeltisi Hazırlanışı

Kültür için ekim yapılan hücrelere 48. saatlerinde eklenen timidin çalışma öncesi bir miktar hazırlanır. 100 ml RPMI besi yerine 1 ml L-glutamin, 1 ml antibiyotik ve 200 ml fetal bavin serum eklenerek homojen hale getirilir. Hazırlanan bu RPMI besiyerinden 6 ml alınarak içerisine 0,1 gram timidin eklenerek çözünmesi sağlanır. Besiyeri ve toz haldeki timidini karıştırıken köpürmemesine özen gösterilir. Hazırlanan bu timidin karışımı +4 ^{0}C'de muhafaza edilir.



Şekil 18. Toz haldeki Multicell marka deoksi timidin

4.3. PBS Tampon Çözeltesi Hazırlanışı

100 ml kadar distile suyun içerisine 1 tane PBS tableti atılarak homojen hale gelene kadar hafifçe çalkalanır.

Hazırlanan çözelti buzdolabına +4 ^{0}C'de muhafaza edilir.



Şekil 19. Biomatik markasına ait PBS tabletleri

4.4. KCL Hipotonik Çözeltisi Hazırlanışı

Laboratuvardaki hassas elektronik terazi ile 0,56 gram toz haldeki KCL tartılarak 100 ml distile su içerine eklenir homojen olana kadar sişesi alt üst edilir. Hazırlanan KCL hücre kültür işleminde kullanılmak üzere 37 ^{0}C etüvde muhafaza edilir.

4.5. Fiksatif Çözeltisi Hazırlanışı

3 hacim metanol (CH_3OH) ile 1 hacim asetik asit (CH_3COOH) şeklinde çalışılacak hasta sayısına göre ayarlanır. Kullanılmadan en az 2 saat öncesinde hazırlanarak buzdolabında -20 ^{0}C'de muhafaza edilir. Bir hasta çalışmasında harvest aşamasında yaklaşık 15 ml kadar fiksatif kullanılmaktadır.

4.6. Boya Çözeltisi Hazırlanışı

60 ml Gurr buffer içerisine 20 ml Leichman boya çözeltisi homojen olana kadar karıştırılır.

4.7. Leichman Boya Çözeltesi Hazırlanışı

65 ^{0}C'ye ayarlanan su banyosu içinde 100 ml kadar metanol 22 dakika bekletilir. Bekleme süresi tamamlandıktan hemen sonra toz durumda bulunan leichman boyasından 0,1 gram kadar eklenir. Metanol içerisinde iyice çözünmesi için homojen olana kadar çalkalanır. Oda sıcaklığında muhafaza edilir. G- bant boyaması yapılmadan önce en az bir gün beklemesi gerekmektedir.

4.8. Gurr Buffer Solüsyonu Hazırlanışı

100 ml kadar distile suyun içerisine 1 tane gurr tablet atılır ve homojen hale getirilir. Oda sıcaklığında muhafaza edilir.

SONUÇLAR

TGK öyküsü olan ve çalışmaya dahil edilme kriterlerine uyan 129 kadının yaş ortalaması 29,27 (18 yaş-42 yaş), 129 erkeğin yaş ortalamaları ise 32.56 (22 yaş-49 yaş) olarak saptandı.

Çizelge 6. Çalışılan kadın ve erkeklerin yaş ortalamaları

Cinsiyet	Hastaların Yaş Ortalamaları
Kadın	29,27
Erkek	32,56

Çalışmaya dahil edilen 129 çiftin %23,64 (61/258)'nün kromozom analizi sonuçları normalden farklı olarak saptandı. Normalden farklı kromozom yapısına sahip hastaların %55,74 (34/61)'ünü erkekler, %44,26 (27/61)'sını kadınlar oluşturmaktaydı. Çalışmaya dahil edilen 129 erkek hastanın %26,35'inde, 129 kadın hastanın %20,93'ünde normalden farklı kromozom yapısı mevcuttu. 7 hastada (7/258=%2,71) saptanan kromozomal anomalilerinin 6 (6/258=%2,33)'sı yapısal kromozom anomalileri, 1 (1/258=%0,39) tanesini sayısal kromozom anomalisi oluşturmaktaydı.

54 hastada (54/258=%20,93) ise kromozomlarda patojenik olarak kabul edilmeyen polimorfik varyantlar saptanmıştır (Çizelge 7). Polimorfik varyantların %44,44 (24/54)'ü kadın hasta grubunda, %55,55 (30/54)'i erkek hasta grubunda saptandı. "9qh+" en sık (20/258=%7,75) saptanan polimorfik varyanttı.

Çizelge 7. Çalışmada bulgulanan polimorfik varyantlar

NO	POLİMORFİZMLER	OLGU SAYISI n=258
1.	9qh+	20 (% 7,75)
2.	21ps+	5 (% 1,94)
3.	9qh-	4 (% 1,55)
4.	22ps+	3 (% 1,16)
5.	inv(9)(p11q13)	3 (% 1,16)
6.	16qh+	2 (% 0,77)
7.	Yqh-	2 (% 0,77)
8.	1qh+	2 (% 0,77)
9.	13ps+	1 (% 0,39)
10.	Yqh+	1 (% 0,39)
11.	15ps+	1 (% 0,39)
12.	22ps-	1 (% 0,39)
13.	21pstk+	1 (% 0,39)
14.	14pstk+	1 (% 0,39)
15.	14pss,cen+	1 (% 0,39)
16.	1qh+,9qh-	1 (% 0,39)
17.	13ps+,21ps+	1 (% 0,39)
18.	inv(9)(p11q12)	1 (% 0,39)
19.	9qh+,15qh+	1 (% 0,39)
20.	1qh+, 9qh+	1 (% 0,39)
21.	İnv(9)(p11q13),21ps+	1 (% 0,39)
Toplam	54 (% 20,93)	

Çalışmamızda 45,X[3]/46,XX[49] kromozom kuruluşuna sahip bir tane mozaik sayısal kromozom anomalisi saptanırken, yapısal kromozom anomalilerrinin %66,66 (4/6)'sı erkek hasta grubunda, %33,33 (2/6)'ü kadın hasta grubunda saptandı (Çizelge 8).

Çizelge 8. Çalışmada belirlenen yapısal ve sayısal kromozom anomalileri

No	**Yapısal Kromozom Anomalileri**	**Olgu sayısı n = 258**
1.	46,XY,t(1;2)(2pter---2p13::1q25----1pter;2qter----2q13::1q25----1qter)	1 (%0,39)
2.	46,XY,der(20)(19qter---19p13.3::20p12.1----20p13)	1 (%0,39)
3.	46,XY,del(Y)(q11.2--qter)[2]/46,XY[98]	1 (%0,39)
4.	46,XX,t(2;6)(q37.1-37.3;p21.2-21.3)	1 (%0,39)
5.	46,XY,t(7;18)(q22;q21)	1 (%0,39)
6.	46,XX,t(6;8)(p24;p12)	1 (%0,39)
	Sayısal Kromozom Anomalileri	
7.	45,X[3]/46,XX[49]	1 (%0,39)

Çalışmaya dahil edilme kriterlerine uyan 129 kadın hastada kalıtsal trombofili panelinde yer alan, Protrombin 20210G>A, Faktör V Leiden 1691 G>A, MTHFR 677C>T, MTHFR 1298A>C, PAI-1 4G/4G, Beta Fibrinojen -455 G>A, Faktör XIII Val34Leu, GPIIIa Leu33Pro gen varyasyonları genotip frekansları açısından değerlendirildi.

Çalışılan 129 hasta kadın grubunda, en sık PAI-1 varyasyonu saptadı (4G/4G genotipi: 35/129=%27,13 ve 4G/5G genotipi: 61/129=%47,29). Bunun yanında Protrombin 20210 G>A ve Faktör V Leiden gen varyasyonları homozigot genotipi hiçbir kadında saptanmadı.

Çalışmamızda, Protrombin 20210 G>A varyasyonu heterozigot genotip %6,98 (9/129), wild tip genotip %93,02 (120/129) olarak saptandı. F V Leiden 1691G>A varyasyonu heterozigot genotip %12,40 (16/129), wild tip genotip ise %87,60 (113/129) olarak saptandı (Çizelge 9).

Çizelge 9. Protrombin 20210 G>A - F V Leiden gen varyasyonları genotip frekansları

	Wild Tip n, (%)	Heterozigot Genotip n, (%)	Homozigot Genotip n, (%)
Protrombin 20210 G>A n=129	120 (%93,02)	9 (%6,98)	0
Faktör V Leiden 1691 G>A n=129	113 (%87,60)	16 (%12,40)	0

MTHFR 677C>T - MTHFR 1298A>C varyasyonları homozigot genotip ayrı ayrı %9,30 (12/129) olarak saptandı. MTHFR 677C>T varyasyonu wild tip %52,71 (68/129), MTHFR 1298A>C varyasyonu wild tip ise %44,19 (57/129) olarak saptandı. Heterozigot genotip, MTHFR 677C>T varyasyonu için %37,98 (49/129), MTHFR 1298A>C varyasyonu için %46,51 (60/129)'dur (Çizelge 10).

Çizelge 10. MTHFR 677 C>T - MTHFR 1298 A>C gen varyasyonları genotip frekansları

	Wild Tip n, (%)	Heterozigot Genotip n, (%)	Homozigot Genotip n, (%)

MTHFR 677 C>T n=129	68 (%52,71)	37,98 (49/129)	12 (% 9,30)
MTHFR 1298 A>C n=129	57 (%44,19)	60 (%46,51)	12 (%9,30)

Çalışmamızda PAI-1 4G/4G gen varyasyonunun homozigot genotip frekansı %27,13 (35/129), heterozigot genotip frekansı ise %47,29 (61/129) olarak saptandı. Wild tip PAI-1 geni 5G/5G dizilimi %25,58 (33/129)'dir. Beta Fibrinojen -455G>A varyasyonu homozigot genotip frekansı %4,65 (6/129), heterozigot genotip frekansı ise %34,11 (44/129) olarak saptandı. Beta fibrinojen geni -455 wild tip %61,24 (79/129)'tür (Çizelge 11).

Çizelge 11. PAI-1 4G/5G - Beta Fibrinojen -455G>A gen varyasyonları genotip frekansları

	Wild Tip n, (%)	Heterozigot Genotip n, (%)	Homozigot Genotip n, (%)
PAI-1 4G/5G n=129	33 (%25,58)	61 (%47,29)	35 (%27,13)
Beta Fibrinojen -455G>A n=129	79 (%61,24)	44 (%34,11)	6 (%4,65)

Faktör XIII Val34Leu varyasyonu homozigot genotip frekansı %5,43 (7/129), heterozigot genotip frekansı %33,33 (43/129) olarak saptandı. Faktör XIII kodlayan gen bölgesi wild tip %61,24 (79/129)'tür. GP IIIa Leu33Pro varyasyonu homozigot genotip frekansı %1,55 (2/129), heterozigot genotip frekansı %21,71 (28/129) olarak saptandı. GP IIIa kodlayan gen wild tip frekansı ise %76,74 (99/129)'tür (Çizelge 12).

Çizelge 12. Faktör XIII Val34Leu - GP IIIa Leu33Pro gen varyasyonları genotip frekansları

	Wild Tip n, (%)	Heterozigot Genotip n, (%)	Homozigot Genotip n, (%)
Faktör XIII Val34Leu n=129	79 (%61,24)	43 (%33,33)	7 (% 5,43)
GP IIIa Leu33Pro n=129	99 (% 76,74)	28 (%21,71)	2 (%1,55)

Çalışmamızda %17,83 (23/129) kadın hastada, güncel kaynaklarda belirtilen ve bizim çalışmamızda incelenen trombofili paneli gen varyasyonlarından en az birini homozigot ve/veya heterozigot genotip saptanırken aynı zamanda kendisi ve/veya eşinin karyotipi normalden farklı olarak saptandı.

TARTIŞMA

Başarılı bir gebeliğin en önemli gereksinimlerinden bir tanesi sağlıklı fetomaternal dolaşımdır. Trombofili gibi hemostaz dengesini bozarak pıhtı oluşumunu arttıran durumlar maternal yüzdeki plasental damarları tıkayarak trofoblast invazyonunu engellemektedir. Böylece fetus yeterince kanlanamaz ve uterusa yerleşimi ve gelişiminde problemler yaşanır. Yetersiz dolaşım intrauterin gelişme geriliği, preeklampsi ve abortuslara sebep olabilir (Rady, 2018 , Al-Astal & Sharif, 2016 , Patil, Ghosh, Vora, & Shetty, 2015).

Herediter trombofiliye yatkınlık sağlayan bir grup genetik polimorfizm olumsuz gebelik komplikasyonları ve tekrarlayan gebelik kayıplarından sorumlu tutulmaktadır (Silan vd., 2016 , Patil, Ghosh, Vora, & Shetty, 2015). Fakat çalışma sonuçları çelişkili raporlar sunmaktadır. Bazı çalışma sonuçları trombofili ilişkili genetik varyasyonların TGK ilişkili olduğu bildirirken (Rady, 2018 , Maziri, Asaadi Tehrani, Behrami Hidagi, Nejatollahi, & Asadi, 2017 , Chatzidimitriou vd., 2017 , Rodger, 2013), bazı çalışmalar ise trombofili ilişkili genetik varyasyonların TGK ile ilişkili olmadığını bildirmiştir (Mahmutbegovic vd., 2017 , Kim vd., 2014 , Zonouzi vd., 2013).

Anormal karyotipe sahip çoğu embriyo doğal seçilim ile elenmektedir yani gebelik kendiğinden abortus ile sonuçlanmaktadır. TGK yaşayan çiftlerin fetus ve konseptuslarının yarısının karyotiplerinin 46XX-46XY'den farklı görünümde olduğu bilinmektedir. Genel toplumda %0,55 oranında rastlanan sayısal ve/veya yapısal kromozomal anomaliler TGK geçmişi olan çiftler söz konusu olduğunda bu oran %5,5'e ulaşmaktadır (Kabessa vd., 2017 , Sudhir, Kaur, Beri, & Kaur, 2016).

S. Düz tarafından yürütülen yaşları 18 ila 45 arasında değişen iki ve daha fazla TGK öyküsü olan 103 kadında herediter trombofiliye yatkınlık sağlayan 3 ayrı gen bölgesi çalışılmıştır. Görülme sıklıkları sırasıyla MTHFR 677 C>T heterozigot %46,6,

homozigot ise %18,44, Faktör V Leiden G>A heterozigot %5,82, homozigot %0,97, Protrombin 20210 G>A heterozigot %2,91 olarak rapor edilmiştir (Düz, 2016).

Işık vd. (2016) iki ve daha fazla sayıda TGK öyküsü olan 143 kadın üzerinde herediter trombofili panelinde yer alan 6 ayrı gen bölgesini araştırmıştır. İlgili gen bölgelerindeki genetik varyasyonları heterozigot taşıyan bireylarin sıklığını Protrombin 20210 G>A için %5,9, Faktör V Leiden 1691 G>A için %20,6, MTHFR 677 C>T için %41,2, MTHFR 1298 A>C için %51,4, PAI-1 4G/5G için %64,7 ve Faktör XIII Val34Leu için %17,6 olarak bildirmişlerdir. Homozigot genotipe sahip bireylerin sıklıkları MTHFR 677 C>T %10,3, MTHFR 1298 A>C %17,6 ve PAI-1 4G/4G %11,8 olarak rapor edilmiştir (Işık, Alptekin, Selimoğlu, Cengiz, Küçükkapan, & Alptekin, 2016).

Bizim çalışmamızda 129 kadın hastada trombofili ilişkili 7 gende 8 ayrı varyant çalışılmış olup, heterozigot Protrombin 20210 G>A ve Faktör V Leiden %6,98 ve %12,40 olarak saptandı.

Atlı vd. (2016) 392 kadın hastada trombofili ilişkili 4 gendeki varyasyonları araştırdıkları çalışmalarında, homozigot genotipleri Faktör V Leiden (AA): 41/392 (%10,45), MTHFR 677 (TT): 40/392 (%10,20), MTHFR 1298 (CC): 56/392 (%14,28), heterozigot Faktör V Leiden (GA): 18/392 (%4,59), Protrombin 20210 (GA): 1/392 (%0,25), MTHFR 677 (CT): 168/392 (%42,85), MTHFR 1298 (AC): 184/392 (%46,94) olarak bildirilmiştir (Atlı vd., 2016).

Ocak 2010 ve Haziran 2013 tarihleri arasında TGK şikayeti ile hastaneye müracaat eden 1507 kadın ile retrospektif olarak yürütülen çalışmada 3 ayrı trombofili paneli gen bölgesi araştırılmıştır. Faktör V Leiden, Protrombin, MTHFR 677 C>T varyasyonlarını heterozigot taşıyan bireylerin sıklığı sırasıyla %5,51, %4,05, %40,61 olarak bildirilmiştir. Homozigot Faktör V Leiden varyasyon sıklığı %0,20, homozigot MTHFR 677 %8,29 olarak bildirilmiştir (İncebıyık, Hilali, Camuzcuoğlu, Akbaş, Kılıç, & Vural, 2014).

Yunanistanda benzer vaka grubu ile yürütülen çalışmada Faktör V Leiden G>A sıklığı %20,8, Faktör XIII Val34Leu (homozigot+heterozigot) sıklığı %37,5, Beta Fibrinojen -455 G>A (homozigot+heterozigot) %25, PAI-1 4G/4G sıklığı %41,6, 4G/5G %54, MTHFR 677 C>T heterozigot %37,5, MTHFR 1298 A>C homozigot ve

heterozigot ayrı ayrı %12,5 sıklıkla belirtilmiştir. Aynı anda MTHFR 677-1298 ve Faktör V Leiden varyasyonlarını taşıyan kadınların sıklığı %10,4 olarak rapor edilmiştir. PAI-1 4G/5G ve Beta Fibrinojen -455 G>A varyasyonlarını her ikisinide taşıyan kadınların sıklığı ise %14,6, MTHFR 677-1298 değişimlerini aynı anda taşıyan kadınlar ise %35,4 sıklıkla görüldüğü bildirilmiştir (Chatzidimitriou vd., 2017).

Çalışmamızda MTHFR 677 C>T ve 1298 A>C heterozigot varyasyonları %37,98, %46,51, homozigot varyasyonlar ise %9,30 olarak saptandı.

Silan vd. (2016) TGK öyküsü olan Çanakkale/Sivas ve Belarus'lu kadınlarda trombofili paneli 7 varyasyonun frekanslarını karşılaştırmışlardır. Çanakkale/Sivas popülasyonundaki kadınlarda heterozigot genotipleri, MTHFR 677 (CT): %40,0, MTHFR 1298 (AC): %48,70, PAI-1 (4G/5G): %56,33, F V Leiden (GA): %12,41, Faktör XIII 103 (GT): %38,37, homozigot genotipleri MTHFR 677 (TT): %12,0, MTHFR 1298 (CC): %13,86, PAI-1 (4G/4G): %23,04, F V Leiden (AA): %0,36, Faktör XIII 103 (TT): %1,74 olarak rapor edilmiştir. Belarus popülasyonundaki kadınlarda heterozigot genotipleri, MTHFR 677 (CT): %43,16, MTHFR 1298 (AC): %42,50, PAI-1 (4G/5G): 50,0, F V Leiden (GA): %2,11, Faktör XIII 103 (GT): %45,79, homozigot genotipleri MTHFR 677 (TT): %8,55, MTHFR 1298 (CC): %10,78, PAI-1 (4G/4G): %30,0, F V Leiden (AA): %0, Faktör XIII 103 (TT): %9,21 olarak rapor edilmiştir (Silan vd., 2016).

495 tane 20 hafta ve öncesinde iki ve daha fazla TGK öyküsü olan kadın hasta ile yürütülen çalışmada herediter trombofili panelinde 3 ayrı gen bölgesi çalışılmıştır. Faktör V Leiden 1691 G>A varyasyonunu heterozigot olarak taşıyan kadınların sıklığı %6,2, MTHFR 677 C>T varyasyonunu heterozigot olarak taşıyanların sıklığı %67,9, homozigot olarak taşıyanların sıklığı %2,5 olarak rapor edilmiştir. Protrombin 20210 G>A varyasyonunu heterozigot olarak taşıyanların sıklığı %4,9 olarak rapor edilmiştir. Çalışmada aynı zamanda kombine olarak birden fazla herediter trombofili varyasyonlarını taşıyan birey sıklığına da yer verilmiştir. Heterozigot Protrombin ve heterozigot MTHFR 677 C>T varyasyonlarını birlikte taşıyanların sıklığı %2,5, heterozigot Faktör V Leiden 1691 G>A ile homozigot MTHFR 677 C>T varyasyonlarını birlikte taşıyanların sıklığı %11,1 olarak bildirilmiştir (Ocak, Özlü, & Özyurt, 2013).

Farklı bir çalışmada TGK öyküsü ile hastaneye başvuran 92 kadında PAI-1 4G/5G polimorfizmi sıklığı %53,3 olarak rapor edilmiştir. 4G/4G genotipine sahip kadınlar ise %25 olarak rapor edilmiştir (Yıldırım, Dağ, Kurtulgan, & Karakuş, 2014).

Çalışmamızda ise PAI-1 4G/4G varyasyonunu %27,13, PAI-1 4G/5G varyasyonu ise %47,29 olarak saptadık.

Ticconi vd. (2011) çalışmalarında Beta Fibrinojen -455 G>A varyasyonu heterojen sıklığını %32,7, homozigot sıklığını %8,2 olarak bildirirken, çalışmamızda Beta Fibrinojen -455 G>A varyasyonu heterozigot sıklığı %34,11, homozigot sıklığı %4,65 olarak saptandı (Ticconi, Mancinelli, Gravina, Federici, Piccione, & Bernardini, 2011). Filistin'li TGK öyküsü olan bir grup kadında Beta Fibrinojen -455 G>A varyasyonu heterozigot sıklığı %27,5, homozigot sıklığı %3,9 olarak bildirilmiştir (Al-Astal & Sharif, 2016).

Ardışık iki ve daha fazla TGK öyküsü olan 49 Beyaz ırktan kadın ile yürütülen çalışmada Faktör XIII Val34Leu varyasyonu homozigot sıklığı %8, heterozigot ise %43 olarak rapor edilmiştir (Dossenbach-Glaninger, Trotsenburg, Oberkanins, & Atamaniuk, 2013). Çalışmamızda heterozigot Faktör XIII Val34Leu varyasyonu heterozigot %33,33, homozigot sıklığı ise %5,43 olarak saptadık.

Yaşları 20 ile 40 arasında değişen bir grup TGK öyküsü olan kadında GPIIIa Leu33Pro varyasyonu heterozigot sıklığı %16 olarak rapor edilmiştir (Fazelnia, Farazmandfar, & Hashemi-Soteh, 2016). Çalışmamızda GPIIIa Leu33Pro varyasyonu heterozigot sıklığı %21,71, homozigot sıklığı ise %1,55 olarak saptandı.

S. Düz TGK öyküsü olan 103 çiftin karyotip analizini yapmış olduğu çalışmasında, kromozomal anomali sıklığını %1,94 (4/206) olarak bildirmiştir. Yapısal kromozom anomali sıklığı %0.48 (1/206) olarak rapor edilmiştir. En sık görülen polimorfizim inv(9)(p12;q13) kadınlarda %1,94, erkeklerde ise %0,97 olarak bildirilmiştir (Düz S. , 2016).

Çalışmamızda 129 çiftin karyotipleri değerlendirildi ve kromozomal anomali sıklığı %2,71(7/258), polimorfik varyant sıklığı %20,93 (54/258) olarak saptandı. En sık saptanan polimorfik varyant 9qh+ (%7,75)'dır.

TGK öyküsü olan 114 çift ile yürütülen bir başka çalışmada çiftlerin %42,1'inde karyotip sonuçları normalden farklı görünümde saptandığı rapor edilmiştir. Ebeveynlerin %24,56 (56/228)'sında değişik kromozomal polimorfik varyantlar saptandığı bildirilmiştir. Çalışmamızda saptanan kromozomal polimorfik varyant sıklığı %20,93 (54/258)'tür. Obut vd. (2013) çalışmalarında en sık (%20,61 (47/228)) 9qh+ polimorfik varyantını rapor etmişlerdir (Obut vd., 2013).

TGK öyküsü bulunan 2428 çiftin karyotip analizinin yapıldığı çalışmada yapısal kromozom anomali sıklığı %3,5 (170/4859), sayısal kromozom anomali sıklığı %0,14 (7/4859), polimorfik varyant sıklığı ise %1,6 (78/4859) olarak bildirilmiştir (Sheth, Liehr, Kumari, Akinde, Sheth, & Sheth, 2013).

Dutta vd. (2011) benzer özelliklerde 2324 ebeveynde karyotip analizi yaptıkları çalışmalarında, kromozomal anomali sıklığını %3,35 olarak bildirmişlerdir. Polimorfik varyant görülme sıklığını %1,89 olarak bildirirken, en sık 9qh+ polimorfik varyasyonunu saptadıklarını rapor etmişlerdir. Ebeveynlerde %1,41 sıklıkla yapısal anomali, %0,04 sıklığında ise sayısal anomali bildirmişlerdir (Dutta, Rajitva, Pidugu, & Dalal, 2011).

1982 ve 2010 tarihleri arasında TGK şikayeti ile hastaneye başvuran 3020 ebeveynin karyotiplendirildiği bir başka çalışmada anomali sıklığı %2,15 (çiftlerin %4,1'i) olarak bildirilmiştir. Çalışmada yapısal anomali sıklığı %1,92, sayısal anomali sıklığı ise %0,36 olarak bildirilmiştir (Tunç, Tanrıverdi, Demirhan, Süleymanova, & Çetinel, 2016).

Çalışmamızda dahil edilen hastalarda %2,33 sıklıkla yapısal anomalilere, sayısal kromozom anomalisi sıklığını %0,39 olarak saptadık.

Atlı vd. (2016) benzer çalışma grubu ebeveynlerdeki kromozomal anomali sıklığını %3,14 (20/635) olarak rapor etmiştir. Aynı çalışmada yapısal kromozomal anomali sıklığı %2,05 (13/635), sayısal kromozomal anomali sıklığını %1,10 (7/635), polimorfik varyant sıklığını ise %13,85 (88/635) olarak rapor edilmiş olup en fazla görülen polimorfik varyantın 9qh+ (%5,04) olduğu bildirilmiştir (Atlı vd., 2016).

KAYNAKÇA

Akar, N. (2009). Factor V 1691 G-A mutation distribution in a healthy Turkish population. *Turkısh Journal of Hematology, 26*(1), 9-11.

Akbaş, E., Şenli, H., Çayan, S., Altintaş, Z. M., Mamur, B. A., Çayan, F., vd. (2012). Tekrarlayan düşük öykülü ailede dengeli resiprokal translokasyon olgusu: 46,XY,t(4;13) (q31.3;q33)/A balanced reciprocal translocation case in family with a history of recurrent abortions: 46,XY,t(4;13)(q31.3;q33). *Journal of Clinical and Experimental Investigations, 3*(2), 290-292.

Aksin, Ş., & Andan, C. (2017). Tekrarlayan Gebelik Kayıplarının Etiyolojik Olarak İncelenmesi/ Etiologic Analysis of Recurrent Pregnancy Losses. *Van Tıp Dergisi, 24* (4), 322-327. | DOI: 10.5505/vtd.2017.49368

Aksu, H., & Yurtsev, E. (2009). Gebelik, Diyabet ve Hemşirelik Bakımı. *Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Hemşirelik Dergisi,* 50-58

Al-Astal, M., & Sharif, F. A. (2016). Beta-fibrinogen (-455 G/A) and Integrin beta-3 (PLA1/42) polymorphisms and recurrent pregnancy loss in Gaza strip- Palestine. *International Journal of Reproduction, Contraception, Obstetrics and Gynecology, 3* (1), 134-138.

American Society for Reproductive Medicine (ASRM), 2012

American Society for Reproductive Medicine (ASRM), 2013

Arabkhazaeli, N., Ghanaat, K., & Hashemi-Soteh, M. B. (2016). H1299R in coagulation Factor V and Glu429Ala in MTHFR genes in recurrent pregnancy loss in Sari, Mazandaran. *International journal of reproductive biomedicine*, *14*(5), 329-334.

Arias-Sosa, L. A., Acosta, I. D., Lucena-Quevedo, E., Moreno-Ortiz, H., Esteban-Pérez, C., & Forero-Castro, M. (2018). Genetic and epigenetic variations associated with idiopathic recurrent pregnancy loss. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics* , 1-12. | https://doi.org/10.1007/s10815-017-1108-y

Atalan. N.,(2013),Hemostaz. *Göğüs-Kalp- Damar Aneztezi ve Yoğun Bakım Derneği Dergisi, 19*(2), 109-112. | DOI:10.5222/GKDAD.2013.109

Atlı, E. İ., Gürkan, H., Tozkır, H., Özen, Y., Ulusal, S., Atlı, E., vd. (2016). Cytogenetic Analysis and Thrombophilia-Associated Gene Mutations of Couples with Recurrent Miscarriage. *Journal of Fertilization: In Vitro - IVF-Worldwide, Reproductive Medicine, Genetics & Stem Cell Biology, 4*(3), 189-200.

Aydos, A., Öztemur, Y., & Gür-Dedeoğlu, B. (2016). Polikistik over sendromu ve moleküer yaklaşımlar. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi, 73*(1),81-88.

Balasubramaniam, A., Kotalawala, S., & Amarasekara, R. (2017). Analysis of Methylenetetrahydrofolate Reductase (MTHFR) Polymorphisms (C677t & A1298c) in Recurrent Pregnancy Loss (RPL). *Journal of Gynecology, 1*(4). 1-26 (Nessa publishers)

Bashiri A, Ratzon R, Amar S, Serjienko R, Mazor M, Shoham-Vardi I. (2012). Two vs. three or more primary recurrent pregnancy losses- are there any differences in epidemiologic characteristics and index pregnancy outcome? *Journal of Perinatal Medicine, 40*(4), 365–371. | DOI 10.1515/jpm-2011-0295

Baştu, E., Mutlu, M. F., Dural, Ö., & Buyru, F. (2012). Tekrarlayan erken gebelik kayıplarında endokrinolojik hastalıkların rolü. *Journal of Dialog in Endocrinology/Endokrinolide Diyalog Dergisi, 9*(4), 179-185.

Battinelli, E. M., Marshall, A., & Connors, J. M. (2013). The role of thrombophilia in pregnancy. *Thrombosis,1-9*

Brand, H. (2017). Potential inheritance patterns of a prothrombin gene mutation in a 23-year-old female and ethical considera9 tions of a positive diagnosis: a case report. *Dentistry 3000, 5*(1), 16-19 | DOI 10.5195/d3000.2017.69

Carr, B. R., & Stephenson, M. d. (2011). Recurrent Early Pregnancy Loss. *In Seminars in reproductive medicine, 29*(6), 459-460.

Chatzidimitriou, M., Chatzidimitriou, ., Mavridou, M., Anetakis, C., Chatzopoulou, F., Lialiaris, T., vd. (2017). Thrombophilic gene polymorphisms and recurrent pregnancy loss in Greek women. *Internatıonl Journal of Laboratory Hematology, 39*(6), 590-95.

Chen, S., Liu, D., Zhang, J., Li, S., Zhang, L., Fan, J., vd. (2017). A copy number variation genotyping method for aneuploidy detection in spontaneous abortion specimens. *Pregnatal Diagnosis, 37*(2), 176-183.

Choi, J., Pai S., (2002), Tissue plasminogen activator levels change with plasma fibrinogen concentrations during pregnancy, *Ann Hematol*, 81(11), 611-615 | DOI 10.1007/s00277-002-0549-1

Choi, T. Y., Lee, H. M., Park, W. K., Jeong, S. Y., & Moon, H. S. (2014). Spontaneous abortion and recurrent miscarriage: A comparison of cytogenetic diognosis in 250 cases. *Obstetrics & Gynecology Science, 57*(6), 518-525.

Christiansen, O. B., Steffensen, R., Nielsen, H. S., & Varming, K. (2008). Multifactorial etiology of recurrent miscarriage and its scientific and clinical implications. *Gynecologic and obstetric investigation, 66*(4), 257-267.

Craenmehr, M. H., Heidt, S., Eikmans, M., & Claas, F. H. (2016). What is wrong with the regulatory T cells and foetomaternal tolerance in women with recurrent miscarriages? *HLA Immune Response Genetics, 87*(2), 69-78.

Çağlayan, E. K., & Üstün, Y. E. (2015). Gebelik ve Venöz Tromboembolizm. *Jinekoloji-Obstetrik ve Neonatoloji Tıp Dergisi, 12*(1).48-51

Datta, U. R., Rajitva, P., Pidugu, V. K., & Dalal, A. B. (2011). Cytogenetic abnormalities in 1162 couples with recurrent miscarriages in Southern region of India: report and review. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics, 28*(2), 145-149.

Deniz, R., Baykuş, Y., & Kavak, E. Ç.,(2016).Tekrarlayan Erken Gebelik Kayıplarına Yaklaşım. *Kafkas Journal of MedicalN Sciences*, *6*(2), 130-137. | DOI: 10.5505/kjms.2016.15010

Dhillon, R. K., Hillman, S. C., Morris, R. K., McMullan, R. K., Williams, D., Coomarasamy, A., vd. (2014). Additional information from chromosomal microarray analysis (CMA) over conventional karyotyping when diagnosing chromosomal abnormalities in miscarriage: a systematic review and meta-analysis. *BJOG: An International Journal of Obstetrics & Gynaecology, 121(*1), 11-21. | DOI: 10.1111/1471-0528.1282

Dodt, J., Volkers, P., & Seitz, R. (2013). Factor XIIIa generation assay: A tool for studying factor XIII function in plasma. *Analytical Biochemistry*, *439*(2), 145-151.

Dossenbach-Glaninger, A., Trotsenburg, M. v., Oberkanins, C., & Atamaniuk, J. (2013). Risk for Early Pregnancy Loss by Factor XIII Val34Leu: The Impact of Fibrinogen Concentration. *Journal of Clinical Laboratory analysis*, *27*(6), 444-449.

Durmaz, B., Kozan, S., Torun, D., Bahçe, M., & Güran, Ş. (2011). Tekrarlayan düşükleri olan ailede herediter mthfr c677t mutasyonunun olası rolü. *Cumhuriyet Medical Journal*, *33*(2), 234-238.

Düz, S. A. (2016). Recurrent Pregnancy Loss [Tekrarlayan Gebelik Kayıpları]. *Medicine Science| International Medical Journal*, *5*(2), 606-22. | doi: 10.5455/medscience.2015.04.8341

Düz, S. A. (2016). Tekrarlayan Gebelik Kaybı Etyolojisinde Kromozomal Bozuklukların ve Kalıtsal Trombofili Faktörlerinin Rolü. *Medicine Science*, *5*(1), 191-199. | DOI: 10.5455/medscience.2015.04.8349

Düzen Aylin, 2016, Tekrarlayan Düşük Yaşayan Kadınların Ruhsal Süreçlerinin İncelenmesi, Okan Üniversitesi/ Sosyal Bilimler Enstitüsü, Yayınlanmamış Yüksek Lisans Tezi, İstanbul.

Dziadosz, M., & Baxi, L. V. (2016). Global prevalence of prothrombin gene mutation G20210A and implications in women's health: a systematic review. *Blood Coagulation & Fibrinolysis*, *27*(5), 481-489.

Ekim, M., Ekim, H., & Yılmaz, Y. K. (2015). The prevalence of Factor V Leiden, prothrombin G20210A, MTHFR C677T and MTHFR A1298C mutations in healthy Turkish population. *Hippokratia, 19*(4), 309-313

ESHRE.(2017). Recurrent Pregnancy Loss. Early Pregnancy Guidline Development Group. Part C: Risk factors and health nehavior, 1.Risk factors pregnancy loss, 1.1.Age, 1-153

F XIII, A1 alt birimi * 134570, https://www.omim.org/entry/134570, Erişim Tarihi: 28.04.2018, 23:31

F13A1 geni, https://ghr.nlm.nih.gov/gene/F13A1#conditions, Erişim Tarihi: 22.01.2018,12:13.

F XIII B alt birimi ***** 134580, https://www.omim.org/entry/134580, Erişim Tarihi: 28.04.2018, 23:34

F2 geni, Koagülasyon fakörü II, trombin ,Kromozozal lokasyon, https://ghr.nlm.nih.gov/gene/F2#location, Erişim Tarihi: 11.01.2018, 20:21

F2 geni, Koagülasyon fakörü II, trombin, normal fonksiyon, https://ghr.nlm.nih.gov/gene/F2#conditions, Erişim Tarihi: 11.01.2018; 20:12.

F5 Geni, Kromozom yerleşimi, https://ghr.nlm.nih.gov/gene/F5#location, Erişim Tarihi: 11.01.2018, 23:33.

Faktör V Leiden trombofili, https://ghr.nlm.nih.gov/condition/factor-v-leiden-thrombophilia, Erişim Tarihi: 11.01.2018; 22:21.

Fazelnia, S., Farazmandfar, T., & Hashemi-Soteh, S. M. (2016). Significant correlation of angiotensin converting enzyme and glycoprotein IIIa genes polymorphisms with unexplained recurrent pregnancy loss in north of Iran. *International Journal of Reproductive BioMedicine*, *14*(5), 323-328.

FGB geni, kromozom lokalizasyonu, https://ghr.nlm.nih.gov/gene/FGB#synonyms, Erişim Tarihi: 13.01.2018; 23:03.

FGB geni ***** 134830, https://www.omim.org/entry/134830, Erişim Tarihi: 28.04.2018, 23:28

Floyd, C. N., Mustafa, A., & Ferro, A. (2014). The PlA1/A2 Polymorphism of Glycoprotein IIIa as a Risk Factor for Myocardial Infarction: A Meta-Analysis. *PLOS one*, *9*(7). | DOI: https://doi.org/10.1371/journal.pone.0100239

Ford, H. B., & Schust, D. J. (2009). Recurrent pregnancy loss: etiology, diagnosis, and therapy. *Reviews in obstetrics and gynecology*, *2*(2), 76-83

Gailani D., Renne T.,(2007),Intrinsic Pathway of Coagulation and Arterial Thrombosis, *Arteriosclerosis Thorombosis and Vascular Biology, 27*(12). 2507-2513. | DOI: 10.1161/ATVBAHA.107.155952

Gazi, Y., Yavuzcan, A., Pınar, Y., Necdet, S., & Nilgün, T. (2012). Inherited thorombophilia with recurrent pregnancy loss in Turkish women-a real phenomenon? *Ginekologia Polska*, *83*(8), 598-603.

Ge, X. H., Zhu, F., Wang, B. L., Wang, C. M., Zhu, B., Guan, S., ... & Fang, Q. B. (2014). Association between prothrombin gene polymorphisms and hereditary thrombophilia in Xinjiang Kazakhs population. *Blood Coagulation & Fibrinolysis*, *25*(2), 114-118.

Gebelikte rahim sorunları, http://hamileler.org/gebelikte-rahim-sorunlari, Erişim Tarihi: 07.12.2017, 15:20

Gezer, S., (2012). Vasküler Endotel Fonksiyonu ve Fibrinolitik Aktivite. *Türk Hematoloji Derneği,Hematolog, 2*(2).112-120

Giakoumelou, S., Wheelhouse, N., Cuschieri, K., Entrican, G., Howie, S. E., & Horne, A. W. (2015). The role of infection in miscarriage. *Human reproduction update*, *22*(1), 116-133. | DOI:10.1093/humupd/dmv041

Giurgea, G. A., Brunner-Ziegler, S., Jilma, B., Sunder-Plassmann, R., Koppensteiner, R., & Gremmel, T. (2017). Plasminogen activator inhibitor-1 4G/5G genotype and residual venous occlusion following acute unprovoked deep vein thrombosis of the

lower limb: A prospective cohort study. *Thrombosis research*, *153*, 71-75. | DOI: https://doi.org/10.1016/j.thromres.2017.03.017

Goddjin, M., & Leschot, N. J. (2000). Genetic aspects of miscarriage. *Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynaecology*, *14*(5),855-865. | https://doi.org/10.1053/beog.2000.0124

Gönüllü, R.,(2013). Tekrarlayan Gebelik Kaybı Öyküsü Olan Hastalarda Etyolojik Faktörlerin Analizi.Yayımlanmamış uzmanlık tezi. İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi/Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı. Malatya.

Gu, L., Liu, W., Yan, Y., Su, L., Wu, G., Liang, B., vd. (2014). Influence of the β-fibrinogen-455G/A polymorphism on development of ischemic stroke and coronary heart disease. *Thorombosis Research, 113*(6), 993-1005.

Gülen, Ş. T. (2016). Pulmoner Tromboemboli: Tanım ve Epidemiyoloji. *Türkiye Klinikleri Journal Pulmonary Medicine Special Topics, 9*(1), 1-5.

Günel, T., Antal, A., Şentürk, T., Özbaşak, H. Ö., Gümüşoğlu, E., Aşkın, Ö. E., vd. (2017). The Relation Between the P1A1/A2 Polymorphism of Itgb3 Gene and Myocardial Infarction in Elite Athletes. *Türkiye Klinikleri, 37*(2), 68-73.

Güngör, A. N. Ç., Sılan, F., Kılınç, N., Gencer, M., Uludağ, A., Coşar, E., ... & Özdemir, Ö. (2016). 9qh+'liği Molar Gebelik İçin Bir Risk Faktörü mü?. *Jinekoloji-Obstetrik ve Neonatoloji Tıp Dergisi*, *1*(1), 14-15.

Heidari, M. M., Sheikholeslami, M., Yavari, M., Khatami, M., & Seyedhassani, S. M. (2017). The association of renin–angiotensinogen system genes polymorphisms and idiopathic recurrent pregnancy loss. *Human Fertility*, 1-7. | ISSN: 1464-7273

Hemostaz, (Prof. Dr. Ömer Rıdvan Tarhan), http://www.turkcerrahi.com/makaleler/hemostaz-kan-urunleri transfuzyonu/hemostaz/#hemostazin-evreleri, Erişim tarihi: 08.01.2018 saat: 14:30.

Hoppe, B. (2014). Fibrinogen and factor XIII at the intersection of coagulation, fibrinolysis and inflammation. *Thrombosis and haemostasis*, *112*(04), 649-658. | https://doi.org/10.1016/j.hoc.2016.05.007

Integrın Beta-3, glikoprotein IIIa, http://omim.org/entry/173470?search=GP3a&highlight=gp3a, Erişim Tarihi: 13.01.2018; 23:20.

Işık, H., Alptekin, H., Selimoglu, R., Cengiz, T., Küçükapan, H. U., & Alptekin, N. (2016). Anticoagulant Therapy in Primary and Secondary Recurrent Pregnancy Losses with Hereditary Thrombophilia and Perinatal Outcomes. *Journal of Clinical and Experimental Investigations, 7*(1). 29-34. | DOI: 10.5799/ahinjs.01.2016.01.0566

ITGB3 gene integrin subunit beta, https://ghr.nlm.nih.gov/gene/ITGB3#sourcesforpage, Erişim tarihi: 22.01.2018;14:06

ITGB geni *****173470, https://www.omim.org/entry/173470, Erişim Tarihi: 28.04.2018, 23:33

İncebıyık, A., Hilali, N. G., Camuzcuoğlu, H., Akbaş, H., Kılıç, A., & Vural, M. (2014). Prevalnce of thoromogenic gene mutation in women with recurrent miscarriage: A retrospective study of 1507 patients. *Obstetrics & Gynecology Science, 57*(6), 513-517.

Jauniaux, E., Farquharson, R. G., Christiansen, O. B., & Exalto, N. (2006). Evidence-based guidelines for the investigation and medical treatment of recurrent miscarriage. *Human reproduction, 21*(9), 2216-2222.

Kabessa, M., Harlev, A., Friger, M., Sergienko, R., Litwak, B., Koifman, A., ... & Bashiri, A. (2017). Pregnancy outcomes among patients with recurrent pregnancy loss and chromosomal aberration (CA) without PGD. *Journal of perinatal medicine.* | DOI: 10.1515/jpm-2016-0408

Kabukçu, S., Keskin, N., Keskin, A., & Atalay, E. (2007). The Frequency of Factor V Leiden and Concomitance of Factor V Leiden With Prothrombin G20210A Mutation and Methylene Tetrahydrofolate Reductase C677T Gene Mutation in Healthy Population of Denizli, Aegean Region of Turkey. *Clinical and Applied Thorombosis/Hemostasis, 13*(2), 166-171. | DOI: 10.1177/1076029606298990

Kacprzak, M., Chrzanowska, M., Skoczylas, B., Moczulska, H., Borowiec, M., & Sieroszewski, P. (2016). Genetic causes of recurrent miscarriages. *Ginekologia Polska , 87* (10), 722-726.

Kafkas, S., & Kadıköylü, G. (2005). Gebelik ve Kalıtsal Trombofili. *Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi, 6*(2), 43-50.

Karaman, A., & Uluğ, P. (2013). Cytogenetic analysis of couples with recurrent miscarriage: A series of 316 cases. *The New Journal of Medicine, 30*(1), 30-32.

Kaur, R. & Gupta, K. (2016). Endocrine dysfunction and recurrent spontaneous abortion:An overview. *International Journal of Applied and Basic Medical Research.6*(2), 79-83.

Keser, N., Pazarbaşı, A., & Özpak, L. (2014). Metilentetrahidrofolat Redüktaz Aktivitesi ve Folat Metabolizması. *Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Arşiv Kaynak Tarama Dergisi, 23*(2), 237-256.

Key, N. S.(2017). *Practical hemostasis and thrombosis*. Makris, M., & Lillicrap, D. (Eds.). John Wiley & Sons. https://books.google.com.tr

Kim, J. J., Choi, Y. M., Lee, S. K., Yang, M. K., Paik, E. C., Jeong, H. J., vd. (2014). The PAI-1 4G/5G and ACE I/D Polymorphisms and Risk of Recurrent Pregnancy Loss: A Case–Control Study. *American Journal of Reproducitve Immunology, 72*(6), 571-576.

F2 ***** 176930, https://www.omim.org/entry/176930, Erişim Tarihi:11.01.2018, 20:13.

FV ***** 612309, http://omim.org/entry/612309, Erişim Tarihi:11.01.2018, 21:39.

Kolte, A. M., Olsen, L. R., Mikkelsen, E. M., Christiansen, O. B., & Nielsen, H. S. (2015). Depression and emotional stress is highly prevalent among women with recurrent pregnancy loss. *Human Reproduction, 30*(4),777-782. | DOI:10.1093/humrep/dev014

Kong, G. W. S., Chung, T. K. H., Lai, B. P. Y., & Lok, I. H. (2010). Gender comparison of psychological reaction after miscarriage—a 1-year longitudinal study. *BJOG: An International Journal of Obstetrics & Gynaecology, 117*(10), 1211-1219. | DOI: 10.1111/j.1471-0528.2010.02653.x

Korte, W., Poon, M.-C., Iorio, A., & Makris, M. (2017). Thrombosis in Inherited Fibrinogen Disorders. *Transfusion Medicine and Hemotherapy, 44*(70), 70-76. | DOI: 10.1159/000452864

Kupesic, S. (2001). Clinical implications of sonographic detection of uterine anomalies for reproductive outcome. *Ultrasound in obstetrics & gynecology, 18*(4), 387-400.

Kutteh, W. H. (2015). Novel strategies for the management of recurrent pregnancy loss. In *Seminars in reproductive medicine, 33*(3),161-168. | DOI: 10.1055/s-0035-1552586.

Laird, S. M., Tuckerman, E. M., Cork, B. A., Linjawi, S., Blakemore, A. I., & Li, T. C. (2003). A review of immune cells and molecules in women with reurrent miscarriage. *Human Reproduction Update, 9*(2), 163-174.

Lee, S. K., Na, B. J., Kim, J. Y., Hun, S. E., Lee, M., Gilman-Sachs, A., vd. (2013). Determination of Clinical Cellular Immune Markers in Women with Recurrent Pregnancy Loss. *American Journal of Reproductive İmmunology, 70*(5), 398-411.

Lee, Y. X., Chen, C. W., Lin, Y. H., Tzeng, C. R., & Chen, C. H. (2017). Prediction of a rare chromosomal aberration simultaneously with next generation sequencing-based comprehensive chromosome screening in human preimplantation embryos for recurrent pregnancy loss. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics,* 35(1).171-176. | DOI 10.1007/s10815-017-1044-x

Li, J., Wu, H., Chen, Y., Wu, H., Xu, H., & Li, L. (2015). Genetic association between FXIII and β-fibrinogen genes and women with recurrent spontaneous abortion: a meta-analysis. *Journal of assisted reproduction and genetics, 32*(5), 817-825.

Li, T. C., Makris, M., Tomsu, M., Tuckerman, E., & Laird, S. (2002). Recurrent miscarriage: aetiology, management and. *Human Reproduction Update, 8*(5), 463-481.

Li, X., Liu, Y., Zhang, R., Tan, J., Chen, L., & Liu, Y. (2015). Meta-analysis of the association between plasminogen activator inhibitor-1 4G/5G polymorphism and recurrent pregnancy loss. *Medical science monitor: international medical journal of experimental and clinical research, 21*, 1051-1056. | DOI:10.12659/MSM.892898

Liew, S. C., & Gupta, E. D. (2014). Methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) C677T polymorphism:. *European Journal of Medical Genetics, 58*(1), 1-10.

Lino, F. L., Traina, E., Barreto, J. A., Moron, A. F., & Mattar, R. (2015). Thrombophilic Mutations and Polymorphisms, Alone or in Combination, and Recurrent Spontaneous Abortion. *Clinical and Applied Thrombosis/Hemostasis, 21*(4), 365-372.

Luo, L., Gu, F., Jie, H., Ding, C., Zhao, Q., Wang, Q., & Zhou, C. (2017). Early miscarriage rate in lean polycystic ovary syndrome women after euploid embryo transfer–a matched-pair study. *Reproductive biomedicine online, 35*(5), 576-582.

Madjunkova, S., Volk, M., Peterlin, B., & Plaseska-Karanfilska, D. (2012). Detection of thrombophilic mutations related to spontaneous abortions by a multiplex SNaPshot method. *Genetic testing and molecular biomarkers, 16*(4), 259-264. | DOI: 10.1089/gtmb.2011.0173

Mahmutbegović, E., Marjanović, D., Medjedović, E., Mahmutbegović, N., Dogan, S., Valjevac, A., ... & Adler, G. (2017). Prevalence of F5 1691G> A, F2 20210G> A, and

MTHFR 677C> T polymorphisms in Bosnian women with pregnancy loss. *Bosnian journal of basic medical sciences, 17*(4), 309-314.

Major histocompatibility complex, genetics, https://www.britannica.com/science/major-histocompatibility-complex, Erişim Tarihi: 06.12.2017, 14:36.

Martin-Fernandez, L., Gavidia-Bovadilla, G., Corrales, I., Brunel, H., Ramírez, L., López, S., ... & Soria, J. M. (2017). Next generation sequencing to dissect the genetic architecture of KNG1 and F11 loci using factor XI levels as an intermediate phenotype of thrombosis. *PloS one, 12*(4), e0176301 | DOI:10.1371/journal.pone.0176301. eCollection 2017.

Maziri, P., Asaadi Tehrani, G., Behrami Hidagi, F., Nejatollahi, M., & Asadi, S. (2017). Association between Thrombophilic Gene Polymor-phisms and Recurrent Pregnancy Loss in Iranian Women. *Iranian Journal of Neonatology IJN, 8*(4), 13-19. | DOI: 10.22038/ijn.2017.21285.1241

Metin, S. (2017). Gestasyonel Diyabette Güncel Tedavi Yaklaşımları. *Başkent Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Dergisi-BÜSBİD, 2*(1), 1-14.

Meuleman, T., Haasnoot, G. W., Van Lith, J. M., Verdujin, W., Bloemenkamp, K. W., & Claas, F. H. (2017). Paternal HLA- C is a risk factor in unexplained recurrent miscarriage. *American Journal of Reproductive Immunology, 29*(8), 1-9.

Miljic, P., Bodrozic, J., Iva, P., & Djordjevic, V. (2016). Antithrombin resistance caused by c. 1787G> a mutation in prothrombin gene: rare but strong inherited thrombophilia. *In Journal of Thrombosis and Haemostasis,14*(111), 97

MTHFR, https://www.omim.org/entry/607093, Erişim Tarihi: 28.04.2018, 23:18

Moffett, A., & Colucci, F. (2014). Uterine NK cells: active regulators at the maternal-fetal interface. *The Journal of Clinical Investigation, 124*(5), 1872-1879.

Morange, P. E., Suchon, P., & Trégouët, D. A. (2015). Genetics of Venous Thrombosis: update in 2015. *Thrombosis and haemostasis, 114*(05), 910-919.

Morgan, J. A., Bombell, S., & McGuire, W. (2013). Association of plasminogen activator inhibitor-type 1 (-675 4G/5G) polymorphism with pre-eclampsia: systematic review. *PloS one, 8*(2), e56907. | https://doi.org/10.1371/journal.pone.0056907

Murphy, H. R., Bell, R., Dornhorst, A., Forde, R., & Lewis-Barned, N. (2018). Pregnancy in Diabetes: challenges and opportunities forimproving pregnancy outcomes. *Dıabetıc Medicine, 35*(3), 292-299.

Mutluay, D., & Öner, J. (2016). Gebelik Sürecinde Sitokinlerin Rolü. *Journal of Turgut Ozam Medical Center, 23*(1), 126-131.

Nilsson, S. F., Andersen, P., Stranberg- Larsen, K., & Nybo Andersen, A. (2014). Risk factors for miscarriage from a prevention perspective a nationwide folow- up study. *BJOG: An Internatıonal Journal of Obstetrics & Gynacology*, 121(11),1375-1385. | DOI: 10.1111/1471-0528.12694

Nussbaum, L. R., Mclnnes R. R., Willard H. F., (2005). Thompson & Thompson Genetics in Medicine (6.Baskı). Ankara/İstanbul: Güneş, Öncü

Obut, M., Evsen, M. S., Soydinç, H. E., Sak, M. E., Özler, A., Fidanboy, M., vd. (2013). Evaluation of Etiologic Causes of Recurrent Pregnancy Loss. *Journal Turkish Society of Obstetrics and Gynecology, 10*(2), 67-71.

Ocak, Z., Özlü, T., & Ozyurt, O. (2013). Association of recurrent pregnancy loss with chromosomal abnormalities and hereditary thrombophilias. *African health sciences, 13*(2), 447-452. | http://dx.doi.org/10.4314/ahs.v13i2.35

Op.Dr.Hüseyin Şenyurt, Servikal Yetmezlik, http://www.dr-hsenyurt.com/servikal-yetmezlik.html, Erişim Tarihi: 10.12.2017, 22:54

Ormesher, L., Simcox, L., Tower, C., & Greer, I. A. (2016). Management of inherited thrombophilia in pregnancy. *Women's Health, 12*(4), 433-441. | DOI:10.1177/1745505716653702

Örgul, G., Soyak, B., Aydın, E., Tanaçan, A., Çağan, M., & Beksaç, M. S. (2017). 22 Haftayı Geçemeyen Gebelikler. *Jinekoloji-Obstetrik ve Neonatoloji Tıp Dergisi*, *14*(2). 66-69.

Özdemir, S., Balcı, O., Göktepe, H., Görkemli, H., Taşçı, E., & Acar, H. (2010). Tekrarlayan gebelik kaybı olan hastalarda trombofili mutasyon sıklığının değerlendirilmesi. *Genel Tıp Dergisi, 20*(3).93-97.

Öztuzcu, S., Ergün, S., Ulaşlı, M., Nacarkahya, G., Iğci, Y. Z., Iğci, M., vd. (2014). Evaluation of Factor V G1691A, prothrombin G20210A, Factor XIII V34L, MTHFR A1298C, MTHFR C677T and PAI-1 4G/5G genotype frequencies of patients subjected to cardiovascular disease (CVD) panel in south-east region of Turkey. *Molecular Biolog Reports, 41*(6), 3671-3676.

Palta, S., Saroa, R., Palta, A.,(2014), Overview of the coagulatıon system, Indian journal of anaesthesia, 58(5), 515-523. | DOI: 10.4103/0019-5049.144643

Papp, E., Havasi, V., Bene, J., Komlosi, K., üCzopf, L., Magyar, E., vd. (2005). Glycoprotein IIIA Gene (PlA) Polymorphism and Aspirin. *The Annals of Pharmacotherapy, 39*(6), 1013-1018.

Patil, R., Ghosh, K., Vora, S., & Shetty, S. (2015). Inherited and acquired thrombophilia in Indian women experiencing unexplained recurrent pregnancy loss. *Blood Cells, Molecules, and Diseases,55*(3), 200-205.

Perera, R., Chandrasena, L. G., Indrakumar, J., & Hemantha, P. (2017). MTHFR C677T and A1298C Gene Polymorphisms and Ischemic Heart Disease (IHD) in a Sri Lankan Population - A Preliminary Study. *Indian Journal of Mednodent and Allied Sciences, 5* (1), 1-8.

Pluchino, N., Panagiotis, D., Wenger, J. M., Petignat, P., Streuli, I., Genezzani, A. R. (2014). Hormonal causes of recurrent pregnancy loss. *Hormones, 13*(3), 314-322.

Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine.(2013). Definitions of infertility and recurrent pregnancy loss: a committee opinion; 99(1), 63 | DOI: http://dx.doi.org/10.1016/j.fertnstert.2012.09.023

Prat, M., Morales-Indiano, C., Jimenez, C., Mas, V., Besses, C., Checa, M. A., & Carreras, R. (2014). "20209C-T" a Variant Mutation of Prothrombin Gene Mutation in

a Patient with Recurrent Pregnancy Loss. *Annals of Clinical & Laboratory Science*, *44*(3), 334-336.

Pritchard, A. M., Hendrix, P. W., & Paidas, M. J. (2016). Hereditary Thrombophilia and Recurrent Pregnancy Loss. Clinical obstetrics and gynecology, *59*(3), 487-497.

Puy, C., Tucker, E. I., Ivanov, I. S., Gailani, D., Smith, S. A., Morrissey, J. H., ... & McCarty, O. J. (2016). Platelet-derived short-chain polyphosphates enhance the inactivation of tissue factor pathway inhibitor by activated coagulation factor XI. *PloS one*, *11*(10),1-17 | DOI: :10.1371/journal.pone.0165172

Rady, H. A. (2018). Maternal methyltetrahydrofolate reductase gene mutation in patients with missed abortions. *Journal of Taibah University Medical Sciences*, *13*(1), 93-96. | https://doi.org/10.1016/j.jtumed.2017.04.004

Rai, R., & Regan, L. (2006). Recurrent miscarriage. *The Lancet*, *368*(9535), 601-611.

Reitsma, P. H., Versteeg, H. H., & Middeldorp, S. (2012). Mechanistic view of risk factors for venous thromboembolism. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*, *32*(3), 563-568.

Rocanin-Arjo, A., Cohen, W., Carcaillon, L., Frère, C., Saut, N., Letenneur, L., ... & Germain, M. (2014). A meta-analysis of genome-wide association studies identifies ORM1 as a novel gene controlling thrombin generation potential. *Blood*, *123*(5), 777-785.

Rodger, M. A. (2013). An update on thrombophilia and placenta mediated pregnancy complications: What should we tell our patients? *Thorombosis esearcch*, *131*(1), 25-27.

Roeple, E. R., Mattıhıesen, L., Rylanc, R., & Chrıstıansen, O. B. (2017). Is the incidence of recurrent pregnancy loss increasing? A retrospective register-based study in Sweden. *Acta Obstetricia et Gynecologica Scandinavica*, *96*(11), 1365-1372.

Sahoo, T., Dzidic, N., Strecker, M. N., Commander, S., Travis, M. K., Doherty, C., vd. (2017). Comprehensive genetic analysis of pregnancy loss by chromosomal microarrays: outcomes, benefits, and challenges. *Genetics in Medicine*, *19*(1), 83-89.

Saini, V., Arora, S., Yadav, A., & Bhattacharjee, J. (2011). Cytokines in recurrent pregnancy loss. *Clinica chimica acta*, *412*(9), 702-708.

Salazar Garcia, M. D., Sung, N., Mullenix, T. M., Dambaeva, S., Beaman, K., Gilman-Sachs, A., & Kwak-Kim, J. (2016). Plasminogen Activator Inhibitor-1 4G/5G Polymorphism is Associated with Reproductive Failure: Metabolic, Hormonal, and Immune Profiles. *American Journal of Reproductive Immunology*, *76*(1), 70-81.

Salim, R., Regan, L., Woelfer, B., Backos, M., & Jurkovic, D. (2003). A comparative study of the morphology of congenital uterine anomalies in women with and without a history of recurrent first trimester miscarriage. *Human Reproduction*, *18*(1), 162-166.

Saravelos, S. H., Cocksedge, K. A., & Li, T. C. (2008). Prevalence and diagnosis of congenital uterine anomalies in women with reproductive failure: a critical appraisal. *Human reproduction update*, *14*(5), 415-429. | https://doi.org/10.1093/humupd/dmn018

Saravelos, S. H., Cocksedge, K. A., & Li, T.-C. (2008). Prevalence and diagnosis of congenital uterine anomalies in women with reproductive failure: a critical appraisal. *Human Reproduction Update, 14*(5), 415-429.

Sarkar, D. (2012). Recurrent pregnancy loss in patients with thyroid dysfunction. *Indian journal of endocrinology and metabolism*, *16*(2), 350-351

Sergi, C., Jishi, T. A., & Walker, M. (2015). Factor V Leiden mutation in women with early recurrent pregnancy loss: a meta-analysis and systematic review of the causal association. *Archives of Gynecology and Obstetrics, 291*(3), 671-679.

SERPINE1 geni ***** 173360, http://www.genome.jp/dbget-bin/www_bget?omim+173360, Erişim Tarihi: 28.04.2018, 23:11

SERPINE1 geni kromozom bölgesi, https://ghr.nlm.nih.gov/gene/SERPINE1#location, Erişim Tarihi: 12.01.2018,20:02

Sezer, S. D., Küçük, M., Odabaşı, A. R., Yüksel, H., Bozkurt, G., Coşkun, S., ... & Aydın, A. (2011). Tekrarlayan Gebelik Kayıplarında Metilentetrahidrofolat Redüktaz (C677T, A1298C) Faktör V Leiden (G1691A) ve Protrombin (G20210A) Gen Mutasyonları Sıklığı ve İlişkisi. *Turkiye Klinikleri Journal of Gynecology and Obstetrics*, *21*(3), 175-183.

Sharma., S.(2014).Natural killer cells and regulatory T cells in early pregnancy loss.*The International of Developmental Biology,58,*219-229. | DOI: 10.1387/ijdb.140109ss08.

Sheth, F. J., Liehr, T., Kumari, P., Akinde, R., Steth, H. J., & Sheth, J. (2013). Chromosomal abnormalities in couples with repeated fetal loss: An Indian retrospective study. *Indian Journal Human Genetics, 19*(4), 415-422.

Shi, D. Y., & Wang, S. J. (2017). Advances of coagulation factor XIII. *Chinese medical journal, 130*(2), 219-223. | DOI: 10.4103/0366-6999.198007

Silan, F., Mosse, I., Gonchar, A., Sedlyar, N., Kilchevsky, A. V., Yildiz, O., vd. (2016). Comparison of the thrombophilic gene polymorphisms and recurrent pregnancy loss: Results on combined gene effect of FV Leiden, FVR2, FXIII, MTHFR (A1298C and C677T), PAI-1 4G/5G and ACE I/D genes in RPL Women from Minsk/Belarus and Canakkale-Sivas/Turkey. *Biomedikal Genetics and Genomics, 1*(4), 87-93. | DOI: 10.15761/BGG.1000117

Simpson, J. L., & Carson, S. A. (2013). Genetic and neogenetic causes of pregnancy loss. *Women,3*(30),5.

Stephenson, M., & Kutteh, W. (2007). Evaluation and manageent of recurrent early pregnancy loss. *Clinical Obstetrics and Gynecology, 50* (1), 132-145.

Subrt, I., Ulcova-Gallova, Z., Cerna, M., Hejnalova, M., Slovanova, J., Bibkova, K., & Micanova, Z. (2013). Recurrent Pregnancy Loss, Plasminogen Activator Inhibitor-1 (-675) 4G/5G Polymorphism and Antiphospholipid Antibodies in Czech Women. *American Journal of Reproductive Immunology*, *70*(1), 54-58.

Sudhir, N., Kaur, T., Beri, A., & Kaur, A. (2016). Cytogenetic analysis in couples with recurrent miscarriages: a retrospective study from Punjab, north India. *Journal of Genetics, 95* (4), 887-894.

Sugiura-Ogasawara, M., Lin, B. L., Aoki, K., Maruyama, T., Nakatsuka, M., Ozawa, N., ... & Nishida, M. (2015). Does surgery improve live birth rates in patients with recurrent miscarriage caused by uterine anomalies?. Journal of Obstetrics and Gynaecology, 35(2), 155-158. | https://doi.org/10.3109/01443615.2014.936839

Sullian, A. E., Silver, R. M., LaCoursiere, D. Y., Porter, T. F., & Branch, D. W. (2004). Recurrent fetal aneuploidy and recurrent miscarriage. *Obstetrics & Gynecology , 104* (4), 784-788. | DOI: 10.1097/01.AOG.0000137832.86727.e2

Şahin, F. İ., Ataç, B., Yılmaz, Z., & Zeyneloğlu, H. B. (2009). Tekrarlayan Gebelik Kayıplarında Trombofili Mutasyon Sıklıkları. *Erciyes Medical Journal/Erciyes Tip Dergisi*, *31*(2).

Tekcan, A., Elbistan, M., Kara, N., & Koçak, İ. (2012). Dengeli resiprokal translokasyon taşıyıcısı bir olgu ve habitüel düşük. *Journal of Experimental and Clinical Medicine*, *29*(4). 312-314. | DOI: 10.5835/jecm.omu.29.04.011

TGK'ları Önlenebilir mi?, http://www.erdemhastahanesi.com.tr/tr/saglik-kosesi/tekrarlayan-gebelik-kayiplari onlenebilir-mi-136, Erişim tarihi:06.12.2017, 14:23

Teles, T. M. A., Paula, C. M. M. D., Ramos, M. G., Costa, H. B., Andrade, C. R. A., Coxir, S. A., & Penna, M. L. F. (2017). Frequency of chromosomal abnormalities in products of conception. *Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia*, *39*(3), 110-114.

Ticconi, C., Mancinelli, F., Gravina, P., Federici, G., Piccione, E., & Bernardini, S. (2011). Beta-Fibrinogen G–455A Polymorphisms and Recurrent Miscarriage. *Gynecologic and obstetric investigation, 71*(3), 198-201.

Tokmak, A., & Sarıkaya, E. (2015). Mülleryan Kanal Anomalileri. *Jinekoloji- Obstetrik ve Neonatoloji Tıp Dergisi, 12*(2), 83-88.

Tunç, E., Tanrıverdi, N., Demirhan, O., Süleymanova, D., & Çetinel, N. (2016). Chromosomal analyses of 1510 couples. *Reproductive Biomedicine Online*, *32*(4), 414-419.

Van Cott, E. M., Khor, B., & Zehnder, J. L. (2016). Factor V Leiden. *American journal of hematology*, 91(1), 46-49. | DOI: 10.1002/ajh.24222

Van den Berg, M. M., Van Maarle, M. C., Van Wely, M., & Goddjina, M. (2012). Genetics of early miscarriage. *Biochimica et Biopysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disea, 1822* (12), 1951-1959. | https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2012.07.001

Van den Boogaard, E., Kaandorp, S. P., Franssen, M. T., Mol, B. W., Leschot, N. J., Wouters, C. H., vd. (2010). Consecutive or non-consecutive recurrent miscarriage: is there any difference in carrier status? *Human Reproduction, 25*(6), 1411–1414. DOI:10.1093/humrep/deq089

Verdoia, M., Cassetti, E., Schaffer, A., Barbieri, L., Giovine, G. D., Nardin, M., ... & Luca, G. D. (2015). Relationship between glycoprotein IIIa platelet receptor gene polymorphism and coronary artery disease. *Angiology*, *66*(1), 79-85.

Vurkun, M., Vural, Ö., Demir, M., Turgut, B., Gürgey, A., Parlak, H., vd. (2002). The Prevalence of Activated Protein C Resistance and F V Leiden in Healthy Population of Edirne, Turkey. *Türk Journal Haematol, 19*(2), 287-291.

Wheeler, A. P., Gailani, D. (2016). The Intrinsic Pathway of Coagulation as a Target for Antithrombotic Therapy, *Hematology/Oncology Clinics of North America,30(5).*1099-1114.

Wood, J. P., Ellery, P. E., Maroney, S. A., & Mast, A. E. (2014). Biology of tissue factor pathway inhibitor. *Blood*, *123*(19), 2934-2943.

Yakut, S., Toru, H. S., Çetin, Z., Özel, D., Şimşek, M., Mendilcioğlu, İ., & Lüleci, G. (2015). Chromosome abnormalities identified in 457 spontaneous abortions and their histopathological findings. *Turkish Journal of Pathology*, *31*(2), 111-118. | DOI: https://doi.org/10.5146/tjpath.2015.01303

Yapijakis, C., Serefoglou, Z., Nixon, A. M., Vylliotis, A., Ragos, V., & Vairaktaris, E. (2012). Prevalence of thrombosis-related DNA polymorphisms in a healthy Greek population. *in vivo*, *26*(6), 1095-1101.

Yıldırım, M. E., Dağ, Ş., Kurtulgan, H. K., & Karakuş, S. (2014). Plazminojen aktivatör inhibitör-1 (PAI-1) 4G/4G polimorfizminin gebelik kayıplarıyla ilişkisi. *Cumhuriyet Tıp Dergisi* (36), 350-355.

Yildirim, M. S., Dal, M. S., Karakus, A., Oto, F., Goruk, M., Akdogan, M. R., ... & Ayyildiz, O. (2017). Prevalence of Factor XIII Val34Leu Polymorphısm ın Thrombosıs Cases ın The Southeast of Turkey And ıts Correlatıon Wıth Thrombosıs. *Acta Medıca Medıterranea*, *33*(1), 83-87. | DOI: 10.19193/0393-6384_2017_1_013

Yokuş, O., Balçık, Ö. Ş., Albayrak, M., Ceran, F., Yılmaz, M., Dağdaş, S., & Özet, G. (2010). Thrombophilic risk factors in women with recurrent abortion. Journal of Clinical & Experimental Investigations/Klinik ve Deneysel Arastirmalar Dergisi, 1(3).168-172. | DOI: 10.5799/ahinjs.01.2010.03.0035

Zhao, L. X., Liu, B., & Li, C. S. (2015). Progress in research into the genes associated with venous thromboembolism. *World journal of emergency medicine*, *6*(2), 100-104 | DOI: 10.5847/wjem.j.1920-8642.2015.02.003

Zonouzi, A. P., Chaparzadeh, N., Ghorbian, S., Sadaghiani, M. M., Farzadi, L., Ghasemzadeh, A., ... & Sakhinia, E. (2013). The association between thrombophilic gene mutations and recurrent pregnancy loss. *Journal of assisted reproduction and genetics*, *30*(10), 1353-1359. | DOI: 10.1007/s10815-013-0071-5

EKLER

EK-1: Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu

Bir araştırma projesine davet edilmektesiniz. Bu araştırmanın yürütülmesi, Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Bilimsel Araştırmalar Etik Kurulu'nu 25.10.2017 tarih ve 18/14 sayılı kararı ile onaylanmıştır.

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

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

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

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

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

- **Araştırmanın bilimsel adı:** Trakya Bölgesinde Yaşayan, Tekrarlayan Gebelik Kaybı Öyküsü Olan Çiftlerde Sayısal ve Yapısal Kromozom Anomalileri ve Trombofili Riskinin Araştırılması

- **Araştırmanın anlaşılabilir basit adı:** Ardışık olarak iki ve daha fazla sayıda gebelik kaybı yaşayan çiftlerde kromozom anomalileri ile trombofili riskinin araştırılması
- **Sorumlu Araştırmacının adı ve görev yeri:** Doç. Dr. Hakan GÜRKAN, Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik A.D. Balkan Yerleşkesi EDİRNE,
- **Araştırmanın amacı:** Araştırmada en az üç kuşaktır Trakya Bölgesinde yaşayan, TGK öyküsü bulunan çiftlerde, sayısal ve/veya yapısal kromozom anomalileri ile herediter trombofili genotip frekansları hesaplanarak risk analizi yapılması amaçlanmıştır.
- **Araştırmanın niteliği (klinik, laboratuvar, epidemiyolojik, tez çalışması vb.):** Yüksek Lisans Tez çalışması
- **Araştırmanın başlama tarihi ve öngörülen süresi:** 01.11.2017, 12 ay
- **Araştırmaya katılması beklenen gönüllü sayısı:** Yok
- **Araştırma sırasında uygulanacak olan invaziv yöntemler dahil olmak üzere gönüllüye uygulanacak yöntem, girişim ve tedavilerin tümü:** Çalışmaya dahil edilen hastalardan periferik venöz kanları alındı.
- **Araştırmanın deneysel kısımları:** Çalışmada Trakya Üniversitesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı-Genetik Hastalıklar Tanı Merkezi'ne başvuran TGK öyküsü bulunan 726 çift geriye dönük olarak değerlendirilecektir. Hasta dahil etme kriterlerine göre 129 çift (258 hasta) çalışmaya dahil edildi. 129 çiftten alınan 5ml periferik venöz kanlar, sitogenetik laboratuvarında uygun kromozom mediumlarına ekimleri yapılarak kan hücrelerinin çoğalmaları sağlanmıştır. Yeterince çoğalmaları mikroskop altında incelenen hücrelerin kromozomları Giemsa boyası ile boyanması gerçekleştirilmiştir. Boyası kuruyan kromozom preparatları karyotip analizi yapılmak üzere mikroskop altında incelenmiştir. Karyotipleri üzerinden çiftlerde var olan sayısal ve/veya yapısal kromozomal anomaliler incelenmiştir. Çalışmaya dahil edilen 129 kadın hastadan alınan periferik venöz kanlarından genomik DNA'ları izole edilerek pyrosekans dizi analizi yöntemi ile herediter trombofili gen varyasyonları genotipleri

incelenmiştir. Güncel kaynaklarda herediter trombofiliye neden olduğu öngörülen, FII 20210 G>A (Protrombin), FV 1691 G>A (Leiden), MTHFR 677 C>T, MTHFR 1298 A>C ve PAI-1 4G/5G, Beta fibrinojen -455 G>A, Faktör XIII Val34Leu, GPIIIa Leu33Pro gen varyasyonları için belirtilen bölgeleri dizilenmiştir. Varyasyon görülen genotiplerin frekansı hesaplanarak değerlendirilmiştir.

- **Farklı uygulama ve girişimler için gönüllülerin araştırma gruplarına rastgele atanma olasılığı:** Yok
- **Katılımcının araştırmaya dahil edilme nedeni:** Araştırmaya en az üç kuşaktır Trakya Bölgesinde yaşayan ve birbirleriyle akrabalık ilişkileri bulunmayan, en az iki ve daha fazla sayıda 20 ve daha önceki gestasyon haftalarında, gebelik kaybı öyküsü olan çiftler dahil edilmiştir.
- **Araştırmadan doğrudan gönüllü için beklenen yarar:** Son zamanlarda giderek daha da artan, çiftleri ve hekimleri kaygılandıran, geri dönüşümsüz bir problem olan gebelik kayıpları için bilimsel bir çalışmaya ve literatüre katkıda bulunacaklardır.
- **Gönüllünün sorumlulukları:** Yok
- **Gönüllünün (araştırma hamilelerde veya lohusalarda yapılacaksa ise embriyo, fetüs veya süt çocuklarının da) maruz kalabilecekleri riskler veya rahatsızlıklar:** Yok
- **Risklere karşı alınan önlemler:**
- **Gönüllüye alternatif olarak uygulanabilecek olan diğer yöntemler ve bunların olası yarar ve zararları:** Yok
- **Araştırmaya bağlı olarak bir zarar oluştuğunda verilecek tazminat ve sağlanacak tedaviler:**
- **Gönüllülere yapılacak ulaşım, yemek gibi masraflara ilişkin ödemeler:**
- **Gönüllünün araştırmaya katılımının sona erdirilmesini gerektirecek durumlar veya nedenler:**
- **Araştırma sonunda gönüllülere bilgi verilecek mi?**

- **Gönüllülerin araştırma hakkında, kendileri hakkında ya da araştırmayla ilgili herhangi bir beklenmedik olay hakkında daha fazla bilgi edinebilmesi için temasa geçebileceği kişi ve kendisine günün 24 saatinde erişebileceği telefon numarası:**
- **Gönüllülerden elde edilecek olan biyolojik materyallerin hangi amaçlarla kullanılacağı:** Yüksek Lisans Tez Çalışmasında kullanılacaktır.
- **Gönüllülerden elde edilecek biyolojik materyaller üzerinde genetik araştırma yapılabilmesi için onay:**

"Trakya Bölgesinde Yaşayan, Tekrarlayan Gebelik Kaybı Öyküsü Olan Çiftlerde Sayısal ve Yapısal Kromozom Anomalileri ve Trombofili Riskinin Araştırılması**" araştırması kapsamında alınan biyolojik örneklerimin (kan);**

☐ **Sadece yukarıda bahsi geçen araştırmada kullanılmasına izin veriyorum.**

☐ **İleride yapılması planlanan tüm araştırmalarda kullanılmasına izin veriyorum.**

☐ **Hiçbir koşulda kullanılmasına izin vermiyorum.**

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

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

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

Araştırma sırasında oluşabilecek zarar durumunda gerçekleştirilecek işlemler bana anlatıldı.

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

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

Araştırmaya hiçbir baskı ve zorlama altında olmaksızın gönüllü olarak katılıyorum.

Araştırmaya katılmayı reddetme hakkına sahip olduğum bana bildirildi.

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

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

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

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

İlgili yasal düzenlemeler gereğince kimliğimi ortaya çıkaracak kayıtların gizli tutulacağı, kamuoyuna açıklanmayacağı; araştırma sonuçlarının bilimsel toplantılarda

sunulabileceği ya da yayınlanabileceği, ancak, bu tür durumlarda kimliğimin kesin olarak gizli tutulacağı bana açıklandı.

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

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

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

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

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

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

- ***Gönüllünün; (El yazısı ile)***

Adı- Soyadı:

İmzası:

Adresi (varsa telefon ve/veya faks numarası):

.....

.....

Tarih:

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

Veli ya da Vasinin Adı- Soyadı:

İmzası:

Tarih:

Adresi (varsa telefon ve/veya faks numarası):

.....

.....

Tarih:

- ***Açıklamaları yapan araştırmacının***

Unvanı, Adı- Soyadı: (El yazısı ile)

Görev yaptığı bölüm:

İmzası:

Tarih:

EK- 2: Etik Kurul Formu

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

ARAŞTIRMA BAŞVURUSU ONAYIBAŞVURU BİLGİLERİ	PROTOKOL KODU	TÜTF-BAEK 2017/271	
	PROTOKOL ADI	Trakya Bölgesinde Yaşayan ve Tekrarlayan Gebelik Kaybı Öyküsü Olan Çiftlerde Sayısal ve Yapısal Kormozom Anomalileri ve Trombofili Riskinin Araştırılması	
	SORUMLU ARAŞTIRICI ÜNVANI / ADI	Doç. Dr. Hakan GÜRKAN	
	ARAŞTIRMA MERKEZİ		
	DESTEKLEYİCİ		
	ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	Tek Merkez Ulusal	Çok Merkez Uluslararası

KARAR BİLGİLERİ	**Karar No: 18/14** **Tarih:25.10.2017**
	Fakültemiz Tıbbi Genetik Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Doç. Dr. Hakan GÜRKAN'ın sorumluluğunda yapılması planlanan ve yukarıda başvuru bilgileri verilen Yüksek Lisans Öğrencisi Esra EREN'in tez çalışmasının araştırma başvuru dosyası ve ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş; araştırmaya ilişkin giderlerin gönüllüye ve/veya bağlı bulunduğu sosyal güvenlik kurumuna ödetilmediği koşullarda ve veri toplanacak yerlerden gerekli izinler alındıktan sonra gerçekleştirilmesinde etik bilimsel standartlar açısından sakınca bulunmadığına mevcudun oy birliği ile karar verilmiştir.
ETİK KURUL BİLGİLERİ	
ÇALIŞMA ESASI	Helsinki Bildirgesi, İyi Klinik Uygulamalar Kılavuzu, TÜTF-BAEK Yönergesi

ÜYELER

Ünvan/Ad/ Soyadı	Uzmanlık Dalı	Kurumu	Cinsiyeti	İlişki(*)	Katılım (**)	İmza
Prof. Dr. Ülfet VATANSEVER ÖZBEK Başkan	Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları	T.Ü.T.F Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları A.D	K	E (H)	(E) H	
Yrd. Doç. Dr. Rugül KÖSE ÇINAR Başkan Yardımcısı	Ruh Sağlığı ve Hastalıkları	T.Ü.T.F. Ruh Sağ. ve Has. A.D.	K	E (H)	(E) H	
Yrd. Doç. Dr. Ruhan Deniz TOPUZ Üye	Tıbbi Farmakoloji.	T.Ü.T.F Tıbbi Farmakoloji A.D	K	E (H)	(E) H	
Yrd. Doç. Dr. F. Nesrin TURAN Üye	Biyoistatistik	T.Ü.T.F. BiyoistatistikA.D.	K	E (H)	(E) H	
Doç. Dr. Hakan GÜRKAN Üye	Tıbbi Genetik	T.Ü.T.F. Tıbbi Genetik A.D.	E	(E) H	E (H)	
Prof. Dr. Hasan ÜMİT Üye	İç Hastalıkları	T.Ü.T.F. İç Hastalıkları A.D.	E	E (H)	(E) H	
Yrd. Doç. Dr. Oktay KAYA Üye	Fizyoloji	T.Ü.T.F. Fizyoloji A.D.	E	E (H)	(E) H	
Doç. Dr. Cafer Sadık ZORKUN Üye	Kardiyoloji	T.Ü.T.F. Kardiyoloji A.D.	E	E H	E H	
Prof. Dr. Muzaffer ESKİOCAK Üye	Halk Sağlığı	T.Ü.T.F. Halk Sağlığı A.D.	E	E (H)	(E) H	
Prof. Dr. Niyazi Cenk SAYIN Üye	Kadın Hastalıkları ve Doğum	T.Ü.T.F. Kadın Hastalıkları ve Doğum A.D.	E	E H	E H	
Yrd. Doç. Dr. Esin KARLIKAYA Üye	Tıp Tarihi ve Etik	T.Ü.T.F. Tıp Tarihi ve Etik A.D.	K	E H	E H	
Doç. Dr. Sevtap HEKİMOĞLU ŞAHİN Üye	Anestezi ve Reanimasyon	T.Ü.T.F. Anestezi ve Reanimasyon A.D.	K	E H	E H	
Prof. Dr. Atakan SEZER Üye	Genel Cerrahi	T.Ü.T.F. Genel Cerrahi A.D.	E	E H	E H	
Avukat Baki KURNAZ Üye		T.Ü. Rektörlüğü	E	E H	E H	
Emekli Öğretmen Sinan SEÇKİN Üye		Serbest Üye	E	E H	E H	

*Araştırma ile ilişki
**Toplantıda Bulunma

Prof. Dr. Ahmet TEZEL
Dekan a.
Dekan Yrd.

ÖZGEÇMİŞ

ESRA EREN

Doğum Tarihi: 31.10.1994

EĞİTİM

2001-2008: Cumhuriyet İlkokulu (İstanbul)

2008-2012: Haydarpaşa Sağlık Meslek Lisesi (İstanbul)

2012-2016: Trakya Üniversitesi Eğitim Fakültesi (Edirne)

2016-……: Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoteknoloji ve Genetik Anabilim Dalı (Edirne)