



T.C.
AFYONKARAHİSAR SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

TEKRARLAYAN GEBELİK KAYBI OLAN ÇİFTLERDE
POLİMORFİK VARYANT KABUL EDİLEN KROMOZOM
DEĞİŞİKLİKLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

NERMİN AKÇALI
TIBBİ GENETİK ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN
DOÇ.DR. S. HANDAN YILDIZ
Tez No: 007
2019 - Afyonkarahisar

T.C.

AFYONKARAHİSAR SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ

LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

TEKRARLAYAN GEBELİK KAYBI OLAN ÇİFTLERDE POLİMORFİK VARYANT KABUL
EDİLEN KROMOZOM DEĞİŞİKLİKLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

NERMİN AKÇALI

TIBBİ GENETİK ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN

DOÇ.DR. SALİHA HANDAN YILDIZ

Bu tez Afyon Kocatepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon
Birimi tarafından BAP 17.SAĞ.BİL.32 proje numarası ile desteklenmiştir.

Tez No: 007

2019 - AFYONKARAHİSAR

KABUL VE ONAY

Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi
Lisansüstü Eğitim Enstitüsü
Tıbbi Genetik Anabilim Dalı

Çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma, aşağıdaki jüri üyeleri tarafından
Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi : 28 / 12 / 2018



Prof.Dr. Mustafa YILDIZ
Jüri Başkanı

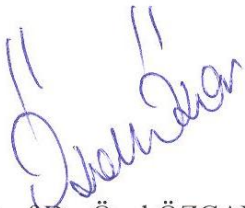


Doç.Dr. Saliha Handan YILDIZ
Danışman



Doç.Dr. Mine KANAT PEKTAŞ
Üye

Tıbbi Genetik Anabilim Dalı Yüksek Lisans programı öğrencisi Nermin AKÇALI'nın
“Tekrarlayan Gebelik Kaybı Olan Çiftlerde Polimorfik Varyant Kabul Edilen Kromozom
Değişikliklerinin Değerlendirilmesi” başlıklı tezi 28 / 12 / 2018. günü saat 13:00'da
Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca
değerlendirilerek kabul edilmiştir.



Prof.Dr. Özal ÖZCAN
Enstitü Müdürü

ÖNSÖZ

Yüksek lisans tez projemin hazırlanması, yürütülmesi ve yazımının her aşamasında değerli bilgi ve önerileri ile beni yönlendirerek destek olan yardımını esirgemeyen, hayat boyu ilgi, sevgi, şevkat ve sonsuz güven hissi ile yanımda olacağından emin olduğum danışmanım Doç. Dr. S. Handan Yıldız'a teşekkürlerimi sunarım.

Eğitim olanaklarımızı en üst seviyede oluşturan ve yönlendiren Anabilim Dalı Başkanımız Sayın Prof. Dr. Mustafa Solak başta olmak üzere akademi yolculuğumda yanımda olan tüm hocalarıma, özellikle Prof. Dr. Mustafa Yıldız ve tezimin yazımındaki katkılarından dolayı Dr. Öğr. Üy. Nuray Varol'a çok teşekkür ederim.

Çalışmalarım ve eğitimim sırasında beni yönlendiren, bilgilerini paylaştan değerli hocalarım Doç. Dr. Müjgan Ö. Erdoğan, Doç. Dr. Kadriye Avcı ve Öğr. Grv. Tevhide Fıstık'a ve çalışma arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Yolculuğumu daha renkli kılan, paylaşımlarımızı her zaman keyifle anacağım kardeşim Zeynep Sude Yıldız ve dostum Ayşen Y. Pehlivan'a teşekkür ederim.

Koşulsuz sevgi ve destekleriyle her zaman ve her durumda yanımda olan aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

ÖNSÖZ.....	i
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ	vi
TABLolar DİZİNİ.....	vii
1. GİRİŞ.....	1
1.1. Abortus.....	1
1.1.1. Spontan Abortus	1
1.1.2. Tekrarlayan Gebelik Kaybı.....	2
1.2. Tekrarlayan Gebelik Kaybı Etiyolojisi	3
1.2.1. Yaş	4
1.2.2. Stres	5
1.2.3. Mesleki ve Çevresel Faktörler	6
1.2.4. Anatomik Nedenler	7
1.2.5. Endokrin Faktörler	8
1.2.6. İnfeksiyonel Faktörler	9
1.2.7. İmmünolojik Faktörler.....	10
1.2.8. Trombolitik Faktörler	10
1.2.9. Açıklanamayan Faktörler	12
1.2.10. Genetik Faktörler	13
1.3. Kromozom Anomalileri	18
1.3.1. Kromozomlarda Sayısal ve Yapısal Anomaliler	19
1.3.3. Normal kromozom varyantları (Kromozom polimorfizmleri)	21
1.4. Kromozom Analizi	27
1.4.1. Kısa Süreli Periferik Kan Lenfosit Kültürü	28
1.4.2. G Bantlama.....	28
1.4.3. Karyotip Analizi ve Standartları.....	29
2. GEREÇ VE YÖNTEM	30

2.1. Gereç.....	30
2.1.1. Araştırma Grubu Bireyleri	30
2.1.2. Kullanılan Gereçler	30
2.1.3. Kullanılan Kimyasallar	31
2.1.4. Kullanılan Çözeltiler.....	32
2.2. Yöntem.....	33
2.2.1. Kromozom Analizi Aşamaları	33
2.2.2. Retrospektif çalışmalar	36
2.3.3. İstatistiksel Analiz.....	37
3. BULGULAR.....	37
3.1. Vaka Grubunda Polimorfizmlerin Cinsiyetler Arasındaki Dağılımının Analizi	37
3.2. Kontrol Grubunda Polimorfizmlerin Cinsiyetler Arasındaki Dağılımının Analizi	42
3.3. Polimorfizmlerin Vaka ve Kontrol Grubu Arasındaki Dağılımının Analizi.....	42
3.4. Polimorfizmlerin Vaka ve Kontrol Grubunda Çiftler Arasındaki Dağılımının Analizi ...	46
4. TARTIŞMA.....	51
5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	53
ÖZET	54
ABSTRACT.....	55
6. KAYNAKLAR.....	56

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

AgNO ₃	Gümüş Nitrat
APS	Antifosfolipid Antikor Sendromu
Ba(OH) ₂	Baryum Hidroksit
DMAH	düşük moleküler ağırlıklı heparin
DNA	Deoksiribonükleik Asit
ESHRE	The European Society of Human Reproduction and Embryology
FBS	Fetal Bovine Serum
HCl	Hidroklorik Asit
HLA	İnsan lökosit antijeni
HSG	Histerosalpingografi
HSV	Herpes Simplex Virus
IgG	İmmunoglobulin G
IgM	İmmunoglobulin M
inv(9)	Inversiyon 9
ISCN	International System for Human Cytogenetic Nomenclature
IVF	İn vitro fertilizasyon
KCl	Potasyum klorür
LFD	Luteal faz defekti
MTHFR	Metilentetrahidrofolat redüktaz
NOR	Nuclear organiser region
PBS	Phosphate buffered saline
PCOS	Polikistik Over Sendrom
PHA	Phytohaemagglutinin

PSS	Perceived Stress Scale
RPMI	Roswell Park Memorial Institute
SLE	Sistemik Lupus Eritematozus
SPSS	Statistical Package for the Social Sciences
SSC	Salin Sodyum Sitrata
TGK	Tekrarlayan Gebelik Kaybı
TSH	Tiroid Stimulan Hormon
μL	Mikrolitre
mg	Miligram
mL	Millilitre
qh+	Heterokromatin pozitif

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 1.1. Tekrarlayan gebelik kaybının nedenleri	3
Şekil 1.2. Normal erkek (A) ve dişi (B) karyotipleri.	19
Şekil 1.3. 1qh+ ve 9qh+ kromozom anomalilerini gösteren karyotipler.	23
Şekil 1.4. inv9+ ve 13ps+ kromozom anomalilerini gösteren karyotipler.	24
Şekil 1.5. 14ps+, 21ps+ ve 15ps+ kromozom anomalilerini gösteren karyotipler.....	25
Şekil 1.6. 16qh+ ve 22ps+ kromozom anomalilerini gösteren karyotipler.....	26

TABLÖLAR DİZİNİ

Sayfa

Tablo 1.1. Etiyolojiye dayalı tekrarlayan gebelik kaybının önerilen tanısal değerlendirmesi	3
Tablo 1.2. Etiyoloji temel tekrarlayan gebelik kayıplarında terapötik müdahale	13
Tablo 1.3. Spontan abortus ve canlı doğumlardaki kromozom anomalileri oranları	15
Tablo 1.4. Spontan abortus ve canlı doğumlardaki kromozom anomalileri oranları	16
Tablo 1.5. Denver Sınıflandırmasına göre kromozom grupları.....	18
Tablo 1.6. Sayısal ve yapısal kromozom anomalileri	20
Tablo 2.1. Sitogenetik analiz için kullanılan stok solüsyonlar	32
Tablo 3.1. Olgu grubunda analiz edilen bireylerde tespit edilen kromozomal polimorfizmler.....	38
Tablo 3.2. Vaka grubunda 1qh+ varyantının cinsiyete göre dağılımı	38
Tablo 3.3. Vaka grubunda 9qh+ varyantının cinsiyete göre dağılımı	39
Tablo 3.4. Vaka grubunda inv9 varyantının cinsiyete göre dağılımı.....	39
Tablo 3.5. Vaka grubunda 13ps+ varyantının cinsiyete göre dağılımı.....	40
Tablo 3.6. Vaka grubunda 14ps+ varyantının cinsiyete göre dağılımı.....	40
Tablo 3.7. Vaka grubunda 15ps+ varyantının cinsiyete göre dağılımı.....	40
Tablo 3.8. Vaka grubunda 16qh+ varyantının cinsiyete göre dağılımı	41
Tablo 3.9. Vaka grubunda 21ps+ varyantının cinsiyete göre dağılımı.....	41

Tablo 3.10. Vaka grubunda 22ps+ varyantının cinsiyete göre dağılımı.....	41
Tablo 3.11. Kontrol gurubunda analiz edilen bireylerde tespit edilen kromozomal polimorfizmler.....	42
Tablo 3.12. Vaka- kontrol grubunda 1qh+ varyant dağılımı	42
Tablo 3.13. Vaka-kontrol grubunda 9qh+ varyant dağılımı	43
Tablo 3.14. Vaka-kontrol grubunda inv(9) varyant dağılımı	43
Tablo 3.15. Vaka- kontrol grubunda 13ps+ varyant dağılımı.....	44
Tablo 3.16. Vaka-kontrol grubunda 14ps+ varyant dağılımı	44
Tablo 3.17. Vaka- kontrol grubunda 15ps+ varyant dağılımı.....	44
Tablo 3.18. Vaka-kontrol grubunda 16qh+ varyant dağılımı.....	45
Tablo 3.19. Vaka- kontrol grubunda 21ps+ varyant dağılımı.....	45
Tablo 3.20. Vaka- kontrol grubunda 22ps+ varyant dağılımı.....	45
Tablo 3.21. Vaka-kontrol grubunda çiftlerde 1qh+ varyant dağılımı	46
Tablo 3.23. Vaka-kontrol grubunda çiftlerde inv9 varyant dağılımı.....	47
Tablo 3.24. Vaka-kontrol grubunda çiftlerde 13ps+ varyant dağılımı	48
Tablo 3.25. Vaka-kontrol grubunda çiftlerde 14ps+ varyant dağılımı.....	48
Tablo 3.26. Vaka-kontrol grubunda çiftlerde 15ps+ varyant dağılımı	48
Tablo 3.27. Vaka-kontrol grubunda çiftlerde 16qh+ varyant dağılımı	49
Tablo 3.28. Vaka-kontrol grubunda çiftlerde 21ps+ varyant dağılımı.....	49
Tablo 3.29. Vaka-kontrol grubunda çiftlerde 22ps+ varyant dağılımı.....	49

Tablo 3.30. Vaka ve kontrol grubunda çiftlerde herhangi bir polimorfik varyantın dağılımı 50

Tablo 3.31. Vaka ve kontrol grubundaki bireylerde herhangi bir polimorfik varyantın dağılımı 50



1. GİRİŞ

1.1. Abortus

Gebelik kadının yaşamında ruhsal, sosyal ve bedensel değişimlerin yaşandığı, bu değişimlere uyumu gerektiren önemli bir süreçtir (Keten ve ark, 2015). Gebeliğin kendiliğinden ya da istemli olarak viabiliteden önce sonlanması gebelik kaybı yada abortus olarak tanımlanır. Genellikle 24. gebelik haftasından itibaren oluştuğu düşünölen Viabilite fetusun uterus dışında yaşayabilme yeteneğinin olmasını ifade eder. Dünya Sağlık Örgütü abortus tanımını, 20. gebelik haftasından önce, 500 gramdan daha az embriyo veya fetus eklerinin, tamamının ya da bir kısmının uterus dışına atılması olarak yapmaktadır (Yalçın-tepe, 2013). Kayıplar; preimplantasyon, pre-embriyonik, embriyonik, erken fetal, geç fetal veya ölü doğum olarak da katagorize edilir (Silver ve ark, 2011)

1.1.1. Spontan Abortus

Hastanın kendisinin veya bir hekimin müdahalesi olmadan kendiliğinden olan düşöklere spontan abortus adı verilir. Spontan gebelik kayıplarının % 80'den fazlası gebeliğın ilk 12 haftası boyunca olmaktadır. 12. gebelik haftasına kadar olan abortuslar erken abortus, 12–20. gebelik haftaları arasında olan abortuslar ise geç abortus olarak adlandırılmaktadır (Yalçın-tepe, 2013). Spontan gebelik kaybı şaşırtıcı bir şekilde sıklıkla meydana gelen bir komplikasyondur. (Keten ve ark, 2015). Klinik olarak tanımlanmış gebeliklerin yaklaşık %15'ini spontan gebelik kayıpları oluşturmaktadır. Klinik olarak tanımlanmamış gebelikleri de dahil edildiğında bu oran artmaktadır (Ford and Schust, 2009).

Spontan abortus etiyolojisinde genetik nedenler, fetusa ait malformasyonlar, anoksi, anemi, anneye ait enfeksiyonlar, sperm anomalileri, anatomik anomaliler, sistemik hastalıklar, toksik ve çevresel faktörler, travma gibi pek çok faktörden bahsedilir (Yalçın-tepe, 2013).

1.1.2. Tekrarlayan Gebelik Kaybı

Birbirini izleyen iki ya da daha fazla gebeliğin 20. gebelik haftasından önce spontan olarak sonlanmasına tekrarlayan gebelik kaybı (habituel abortus) adı verilir. tekrarlayan gebelik kaybı canlı doğumu takiben gelişirse sekonder, hiç başarılı gebelik öyküsü yoksa primer tekrarlayan gebelik kaybı olarak isimlendirilir.

Gebelik kayıplarının %1-3'ünde tekrarlayan gebelik kaybı görülür (Tekkuş, 2016). Farklı kaynaklarda ise tekrarlayan gebelik kaybı klasik olarak 20. Gebelik haftasından önce 3 veya daha fazla gebeliğin kaybı olarak tanımlanır. Bu tanım ektopik, molar ve biyokimyasal gebelikleri kapsamaz. Amerikan Üreme Tıbbi Derneği (2008) sonografi veya histopatolojik olarak doğrulanmış iki veya daha fazla gebelik kaybının TKG olarak tanımlanmasını önermektedir.

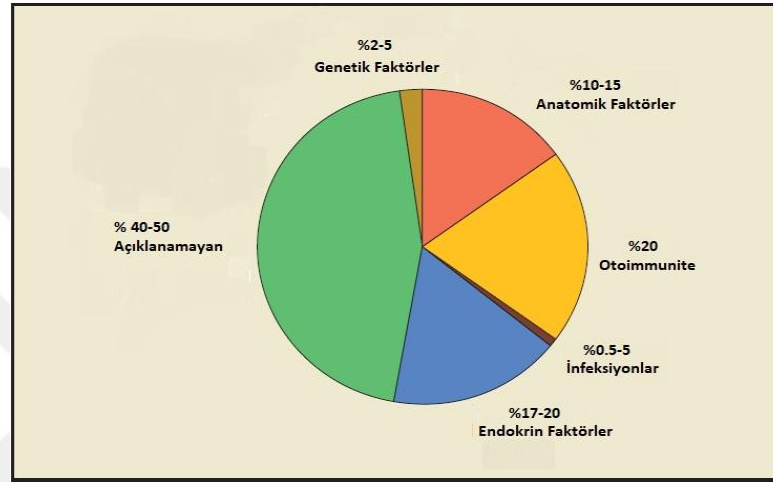
Öyküsünde iki ya da üç tekrarlayan gebelik kaybı yapmış olmanın arasında anlamlı bir fark bulunmadığını bildiren çalışmalar mevcuttur. Riskin iki ve üzeri gebelik kaybı yaşayanlarda ortalama %29 iken üç ve üzeri kaybı olanlarda %31 olduğu rapor edilmiştir (Nybo Andersen ve ark., 2000). Tekrarlayan iki veya üç abortus sonrası bir sonraki gebelikteki başarısızlık oranının benzer olması nedeni ile pek çok hekim iki gebelik kaybı halinde de araştırma yapılmasını önermektedir.

TKG olgularında çoğunlukla embriyonik ya da erken fetal kayıp söz konusudur. 14 haftadan sonra tekrarlayan gebelik kayıpları çok daha az sıklıkla olmaktadır (ESHRE, 2017).

Popülasyon temelli çalışmalarda gebelik kaybı prevalansı %13,5 civarında iken, diğer çalışmalarda ise %10-15 civarında olduğu bildirilmiştir (Nybo Andersen ve ark., 2000). Tekrarlayan gebelik kayıplarında ise prevalans daha düşük olup tam olarak tahmin etmek zordur (ESHRE, 2017). Sporadik gebelik kaybı insidansı temel alındığında, tekrarlayan gebelik kaybı insidansı yaklaşık 300 gebelikte 1'dir. Ultrason ve/veya histolojik olarak onaylanmış klinik kayıplar %0.8-1.4 iken, biyokimyasal kayıpların eklenmesi ile birlikte prevalans %2-3'lere çıkmaktadır (Larsen, 2013). 20. gebelik haftasından önce ard arda üç gebelik kaybı görülme sıklığı yaklaşık %1-2'dir (Ford and Schust, 2009).

1.2. Tekrarlayan Gebelik Kaybı Etiyolojisi

Tekrarlayan gebelik kaybının farklı tanımlamaları ve düşük materyeline ulaşımındaki kısıtlamalardan dolayı tekrarlayan gebelik kayıplarının etiyolojisinin belirlenmesi zordur. Günümüze kadar tekrarlayan gebelik kaybına yol açan az sayıda faktör tanımlanmıştır (Şekil 1.1) (Ford ve Schust, 2009).



Şekil 1.1. Tekrarlayan gebelik kaybının nedenleri

Bunlar arasında ebeveyn kromozom anomalileri, tedavi edilmemiş hipotiroidizm, kontrolsüz diyabet mellitus, uterusun anatomik anomalileri ve antifosfolipid antikor sendromu (APS) sayılabilir. Diğer olası etiyolojik faktörler arasında endokrin bozukluklar, kalıtsal ve/veya edinilmiş trombofili, immünolojik anormallikler, enfeksiyonlar ve çevre faktörleri bulunmaktadır (Tablo 1.1). Buna karşın, tekrarlayan gebelik kayıplarının hemen hemen yarısının nedeni halen açıklanamamaktadır (Ford ve Schust, 2009).

Tablo 1.1. Etiyolojiye dayalı tekrarlayan gebelik kaybının önerilen tanısal değerlendirilmesi

Etiyolojiye Dayalı Tekrarlayan Gebelik Kaybının Önerilen Tanısal Değerlendirmesi	
Etiyoloji	Önerilen tanısal değerlendirilmesi
Genetik	Parental karyotip
Anatomik	HSG veya ofis histeroskopisi 2D veya 3D ultrason

	Tuzlu-infüzyon sonohisterografi
Endokrin	TSH* Olası İnsülin direnci için test, serum test prolaktin düzeyi, yumurtalık rezerv testi, antitiroid antikorlar
İnfeksiyon	Muayenede kronik endometritis / servisit kanıtı veya bağışıklık yetersizliği
Otoimmünite	Antikardiyolipin antikor düzeyleri (IgG* ve IgM*) Lupus antikoagülan
APS olmayan trombofili	Homosistein, faktör V Leiden, protrombin promoter mutasyonu, aktive protein C direnci

IgG, İmmünoglobulin G; IgM, İmmünoglobulin M; TSH, Tiroid uyarıcı hormon.

1.2.1. Yaş

Subfertilite, fetal anomali, ölü doğum ve obstetrik komplikasyonlar için ileri anne yaşı iyi bilinen bir risk faktörüdür. Bilgisayar simülasyonlu doğurganlık modelini temel alan bir çalışmaya göre 31 yaşında veya daha küçük olan kadınların en az % 90'nı iki çocuklu aile olma olasılığına sahiptir (Nybo Andersen ve ark., 2000; Sauer, 2015). Bu çalışmaya göre çiftlerin IVF şansı varsa 32 veya 35 yaşından önce denemeye başlaması gerekirken, IVF bir seçenek değilse en geç 27 yaşından önce başlamaları gerekmektedir (Habbema ve ark., 2015). İleri anne yaşı ve tekrarlayan gebelik kaybı arasındaki ilişki, çeşitli çalışmalarda tutarlı bir şekilde gösterilmiştir. Cauchi ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışma, 30 yaşın altında tekrarlayan gebelik kaybı yaşayan kadınlarda, sonraki gebelikte başarı oranı ile anlamlı bir korelasyon olduğu ve 30'un üzerindeki kadın yaşının gebelik kaybı için bir risk faktörü olduğu sonucuna varmışlardır (Cauchi ve ark., 1991). Beş yıllık takip döneminde 987 tekrarlayan gebelik kaybı çiftinde canlı doğum olasılığını değerlendiren tanımlayıcı bir kohort çalışmasında, canlı doğma oranında kadın yaşının artması ile anlamlı bir azalma olduğu bulunmuştur (Lund ve ark., 2012).

İskoçya'da yapılan bir epidemiyolojik çalışmada ise (n = 151.021), önceki obstetrik öyküye bakılmaksızın, 30 yaşından sonra düşük yapma riskinin önemli ölçüde arttığı ifade edilmiştir (Bhattacharya ve ark., 2010).

Retrospektif bir kohort çalışmasında, kadın yaşının (35 yaşından büyük) ve kromozom anomalisi riskinin sporadik ve rekürren gebelik kaybının istatistiksel olarak anlamlı tek belirleyicisi olduğu sonucuna varılmıştır (Grande ve ark., 2012).

Erkek yaşını değerlendiren çalışmalarda, artan erkek yaşı ile düşük yapma insidansı arasında anlamlı ilişki olduğu bildirilmiştir (Sharma ve ark., 2015). Bildiğimiz kadarıyla, erkek yaşının tekrarlayan gebelik kaybı üzerine etkisine ilişkin çalışma bulunmamaktadır (ESHRE, 2017).

Tekrarlayan gebelik kaybı için anne yaşı önemli bir risk faktörüdür. 40 yaşından büyük kadınlarda daha yüksek tekrarlayan gebelik kaybı riski vardır ve genç kadınlara göre daha kötü prognoza sahiptir. Tekrarlayan gebelik kaybı tanısı konan çiftlerde, yaşın bir risk faktörü olduğu bilgisi, teşhis prosedürlerini, tedavi yaklaşımını veya beklenti yönetiminin karar verme sürecini etkileyebileceğinden oldukça önemlidir (ESHRE, 2017).

1.2.2. Stres

Hamilelik süresince maternal stresin, gebelik üzerine olumsuz etkileri olduğunu gösteren çalışmalar bulunmaktadır. Bununla birlikte stresin düşük yapma veya tekrarlayan gebelik kaybı riski üzerindeki etkisi tam olarak bilinmemektedir.

Tekrarlayan gebelik kaybı yaşayan kadınlarda stresi değerlendiren pek çok çalışma bulunmaktadır. Bunlardan biri vaka-kontrol çalışmasıdır. Bu çalışmada tekrarlayan gebelik kaybı yaşayan kadınlar (n=45) ile kontrol (n=40) karşılaştırıldığında açıklanamayan tekrarlayan gebelik kaybı bulunan kadınlarda algılanan stres ölçeğinde (the perceived stress scale, PSS) önemli ölçüde yüksek toplam skor elde edilmiştir ve bunun sonucunda stresin tekrarlayan gebelik kaybı için bir risk faktörü olduğu sonucuna varılmıştır (Li ve ark., 2012). Diğer bir çalışmada ise 301 tekrarlayan gebelik kayıplı kadın ile 1813 gebelik kaybı olmayan ve gebe kalmaya çalışan kadın arasında PSS ölçeği kullanılarak stres ve depresyon değerlendirilmiştir (Li ve ark., 2012). Yüksek risk düzeyi (PSS ölçeğinde ≥ 19 , yüksek risk düzeyi olarak tanımlanmıştır).

Stres faktörü tekrarlayan gebelik kaybı olan kadınlarda (% 41.2) kontrollere (% 23.2) göre daha yaygın olduğu belirlenmiştir. Ayrıca, tekrarlayan gebelik kaybı olan

kadınlarda orta dereceli, şiddetli depresyon olasılığının beş kattan fazla olduğu ifade edilmiştir (Kolte ve ark., 2015). Bu çalışmalara dayanarak tekrarlayan gebelik kaybı ve stres arasında ilişki olduğu düşünülebilir, ancak stresin tekrarlayan gebelik kaybından mı, yoksa bir sonraki gebelik kaybının düşüncesinden mi kaynaklandığı net değildir.

Gebelikte; gebelik kaybı ve stres üzerine yapılan bir çalışmada (22 gebelik) maternal stres ile gebelik kaybı arasında bir ilişki olduğu gösterilmiştir ve bu durum muhtemelen daha yüksek kortizol düzeyinden kaynaklanmaktadır (Nepomnaschy ve ark. 2006). Ancak bu konuda yapılan çalışmalarda, stresin gebelik kaybına yol açan bir faktör olup olmadığına ilişkin farklı sonuçlar rapor edilmiştir. (Nelson ve ark., 2003, Plana-Ripoll ve ark., 2016).

Çalışmalar genellikle stres ile gebelik kaybı arasında bir ilişki olduğunu göstermektedir. Ancak stresin tekrarlayan gebelik kaybının bir sonucu olup olmadığı veya stresin tekrarlayan gebelik kaybında nedensel bir faktör olup olmadığı hakkında net bir bilgi bulunmamaktadır. Konuya ilişkin olarak yüksek stresin bir sonraki gebeliğin sonucu üzerindeki etkisini değerlendiren prospektif çalışmalar yapılmalıdır (ESHRE, 2017).

1.2.3. Mesleki ve Çevresel Faktörler

Mesleki veya çevresel streslere maruz kalma, tekrarlayan gebelik kaybı için risk faktörü olarak değerlendiren çok az sayıda çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmalardan birinde serum çinko, bakır ve E vitamini düzeyleri, tekrarlayan gebelik kaybı olan kadınlarda düşük olmasına karşın; serum selenyum, kurşun ve kadmiyum, düzeyleri ise kontrol ile karşılaştırıldığında anlamlı derecede daha yüksek bulunmuştur. Bu çalışma sonucunda ağır metaller ve mikro besin elementlerinin yetersizliğinin tekrarlayan gebelik kaybına neden olabileceği vurgulanmıştır (Ajayi ve ark., 2012). Organochlorine pestisitler ile tekrarlayan gebelik kaybı arasındaki ilişkiyi inceleyen diğer bir çalışmada ise tekrarlayan gebelik kaybı bulunan kadınların kanında kontrole nazaran yüksek düzeyde organoklorin pestisitleri tespit edilmiştir (Pathak ve ark., 2010).

Sadece birkaç çalışmaya dayanarak, mesleki ve çevresel faktörlere (ağır metaller, pestisit, mikrobisim eksikliği vb) maruz kalma, gebelik kaybı riskinin artmasıyla

ilişkilendirilemez. Gebelik sırasında (tüm gebeler için) olası tehlikeli maddelere maruz kalmaktan kaçınılmasına rağmen, tekrarlayan gebelik kayıplı kadınlarda belirli bir mesleki veya çevresel faktöre karşı koruma önermek için yeterli veri yoktur.

Çevresel maruziyetler de tekrarlayan gebelik kaybına neden olabilmektedir. Retrospektif veya ilave çevresel maruziyetlerden dolayı çalışmaların yapılması zor olmasına karşın sporadik ve/veya tekrarlayan gebelik kaybı ile mesleki ve çevresel maruziyet arasında bir bağ bulunmaktadır (The American College of Obstetricians ve Gynecologists, 2001; Fox ve Schust, 2007). Üç özel maruziyete (sigara kullanımı, alkol ve kafein) sık kullanımı ve yapısının modifiye edilebilir olmasından dolayı özellikle dikkat edilmelidir. Maternal alkolizm, yüksek oranda spontan gebelik kaybıyla yakın ilişkilidir (Abel, 1997). İlk trimesterde haftada 3-5 kadehten daha fazla alkol tüketildiğinde gebelik kaybı için risk artmaktadır (Windham ve ark., 1997; Rasch, 2003). Sigara kullanımı, nikotin alımından dolayı spontan abortus için riski arttırmaktadır. Nikotin, kuvvetli vazokonstrüktördür ve bu nedenle uterusu ve plasentaya kan akışının azalmasına neden olur. Bununla birlikte, sigara kullanımı ve gebelik kaybı arasındaki bağlantı tartışmalıdır, bazı çalışmalar ikisi arasında ilişki bulmuştur (Ness, 1999; Rasch, 2003). Halen tartışma konusu olmasına karşın günlük 3-5 fincan kafein alımının doz-bağımlı olarak spontan gebelik kaybına neden olabileceğine dair bazı kanıtlar bulunmaktadır (Domínguez-Rojas, 1994; Mills, 1993; Rasch, 2003). Tekrarlayan gebelik kaybı ile kafein, alkol ve nikotinin ilişkisi, sporadik kayıplarla olan ilişkilerine göre daha zayıftır.

1.2.4. Anatomik Nedenler

Anatomik anomaliler, tekrarlayan gebelik kayıplarının %10 ila %15'inde görülmektedir. Bu anomaliler endometriumun vaskülatitesini sekteye uğratarak, anormal ve yetersiz plasenta oluşumuna ve böylece tekrarlayan gebelik kaybı oluşumuna yol açar. Bunların içinde konjenital uterin anomaliler, intrauterin adezyonlar, rahim fibroidleri veya polipler yer almaktadır.

İkinci trimester kayıpları veya erken doğum ile ilişkili olmasına rağmen doğuştan rahim anomalileri de tekrarlayan gebelik kaybında rol oynar. Uterin septum, konjenital

uterin anomalidir ve tekrarlayan gebelik kaybı ile oldukça bağlantılıdır, etkilenmiş bireyler arasında spontan gebelik kaybı riski %76 civarındadır (Lin, 2004). Diduktus, unikollis ve bikornuat uterusun içerisinde yer aldığı diğer müllerian anomaliler, RPL için küçük artmış bir risk oluşturmaktadır (Lin, 2004 ; Raga ve ark., 1997). Tekrarlayan gebelik kaybı için arkuat uterusun rolü tam olarak bilinmemektedir. İntrauterin adezyonların varlığı, bazen Asherman sendromu ile ilişkilidir ve önemli ölçüde plasentasyonu etkileyebilir, bu durum erken gebelik kaybıyla sonuçlanır (Bajekal ve Li, 2000). Uterin anatomik anomalilerin tanısını koymak için histeroskopi veya histerosalpingografi (HSG) kullanılmalıdır. İntrauterin adezyonlarının ve intrauterin septanın histeroskobik rezeksiyonu anatomik anomalileri belirler. Histeroskobik septum rezeksiyonu sonucu iyi olan bireylerin normal gebelik geçirme olasılığı %75 ve canlı doğum olasılığı ise %85'dir (Grimbizis ve ark., 2001). Submukozal fibroidlerin veya herhangi bir tip fibroid 5 cm'den büyük ise miyomektomi olmalıdır. Reseksiyon, canlı doğum oranını %57'den %93'lere çıkarmaktadır (Bajekal ve Li, 2000). Miyomektomi, açık laparotomi, laparoskopi ve histeroskopi ile yapılmaktadır.

1.2.5. Endokrin Faktörler

Luteal faz defekti (LPD), polikistik yumurtalık sendromu (PCOS), diyabet mellitus, tiroid hastalığı ve hiperprolaktinemi, endokrinolojik hastalıklar arasında yer almaktadır ve tekrarlayan düşüklerin yaklaşık % 17-20'sinden sorumludur (Grimbizis ve ark., 2001; Ford ve Schust, 2007). Geleneksel olarak, korpus lüteum aracılığıyla progesteron üretiminde yetersizlikte ve plasentasyon için endometrial maturasyondaki defektler LPD'yi işaret etmektedir. Menstrüel siklusun gününe göre endometriyumun histolojik gelişiminde 2 günden uzun süren kalıcı bir gecikme olduğunda tanı konur. Bugün, LPD'nin tekrarlayan gebelik kaybındaki rolü tartışmalıdır ve LPD teşhisi için endometriyal biyopsiler nadiren yapılmaktadır. Bazı çalışmalarda, lüteinleyici hormon ve androjen düzeyinde (her iki faktör özellikle PCOS ile ilişkilidir) anormal artışların RPL'ye neden olabileceği vurgulanmaktadır. Bu durum gösteriyorki bu anomaliler oositin premature yaşlanmasına ve/veya endometriyumun diskronize maturasyonuna yol açmaktadır (Bussen ve ark., 1999; Watson ve ark., 1993). Bu hipotez araştırılmamıştır. RPL'li kadınların en az %40'ı polikistik yumurtalık

sendromuna sahiptir (Rai ve ark., 2000). İnsülin direnci ve sonucunda hiperinsülinemi (yani sıra Tip II diyabet mellitus) sıklıkla PCOS durumunda görülmektedir ve ayrıca tekrarlayan gebelik kaybında rol oynamaktadır. Hastalar, insülin sensitizasyon ilacı metformin ile tedavi edildiğinde spontan gebelik kayıplarında azalma görülmektedir (Glueck ve ark., 2002). Ayrıca tip 1 diabetes mellitus, spontan düşüklük için bir risk faktörüdür (Mills ve ark., 1988). Tedavi edilmemiş hipertiroidizm açıkça spontan düşüklük ve tekrarlayan gebelik kaybı ile ilişkilidir (Vaquero ve ark., 2000). Ötiroid hastalarda antitirois antikorumları ve RPL arasındaki bağlantı son zamanlarda büyük tartışma konusudur (Kutteh ve ark., 1999; Rushworth ve ark., 2000). Bu veriler gösteriyor ki, özellikle fertilité tedavisi gören antitiroid antikorlu ötiroidli kadınların, hamileliğin başlangıcından hemen sonra klinik olarak hipotiroid olma olasılığı yüksektir (Poppe ve ark., 2008). Endokrin hastalıkların değerlendirilmesinde tiroid uyarıcı hormon (TSH) düzeyi de dikkate alınmalıdır. Hastanın durumuna göre insülin direnci testi dahil yumurtalık rezerv testi, adet düzensizliğinde serumda prolaktin, antitiroid antikor testi ve çok nadiren luteal faz endometriyal biyopsiler yapılabilir. PCOS'un varlığında insülin duyarlaştırıcı ajanların tekrarlayan gebelik kaybın tedavisinde kullanımı son zamanlarda popülerite kazanmıştır.

1.2.6. İnfeksiyonel Faktörler

Listeria monocytogenes, *Toxoplasma gondii*, rebecca, herpes simplex virus (HSV), kızamık, sitomegalovirus ve koksakivirüsün içinde yer aldığı bazı infeksiyonların spontan gebelik kaybında rol oynadığı veya yatkınlık sağladığı bilinmektedir. Bununla birlikte, tekrarlayan kayıplarda infeksiyon ajanlarının rolü hakkında çok bilgi vardır ve insidansının %0.5-5 civarında olduğu öngörülmektedir (Fox ve Schust, 2007). Gebelik kaybına neden olan infeksiyonlar için olası mekanizmalar şunlardır: direkt olarak, fetus, uterus veya plasentanın infeksiyonu (Macklon ve ark., 2002), plasental yetmezlik (Stephenson ve ark., 1996), kronik endometritis veya endoservisit (The American College of Obstetricians and Gynecologists; 2001), amniyonit (Lin, 2004) veya infekte intrauterin (Raga ve ark., 1997). Bunların çoğu izole olaylardır ve bu infeksiyonların tekrarlayan gebelik kaybı gelişiminde sınırlı rolü bulunmaktadır. Özellikle, mikoplazma, ureaplazma, *Chlamydia trachomatis*, *L*

monositogens ve HSV'i içeren infeksiyonların tekrarlayan gebelik kaybının gelişimindeki rolü spekülatiftir (Summers, 1994). İmmun sistemi baskılanmış hastalarda ikincil infeksiyon olan kronik infeksiyonlar tekrarlayan gebelik kaybı için risk oluşturabilir. Bazı bireysel durumlarda infeksiyonların tekrarlayan gebelik kaybına neden olabileceği düşünülebilir. Örneğin, gebelik kaybı yaşayan hastanın immün sistemi zayıflaması veya geçmişte cinsel yolla bulaşan bir hastalık geçirmesinde kronik infeksiyonların değerlendirilmesi gerekmektedir. Üremeyi etkilediği düşünülen rutin olarak değerlendirilebilecek infeksiyon ajanına karşı bir kanıt henüz bulunmamıştır (Ford ve Schust, 2009)

1.2.7. İmmünolojik Faktörler

Fetüs, genetik olarak tamamen anne ile özdeş değildir, bu nedenle fetüsü reddetmeden gerçekleşecek gebelikte bir takım immünolojik olaylar meydana gelmektedir. Bu durum için önerilen en az on mekanizma vardır (Thellin ve ark., 2000). Bu nedenle, hem sporadik hem de tekrarlayan gebelik kayıplarına yol açabilecek bu immünolojik mekanizmalarda anomaliler olabilir. Tekrarlayan gebelik kaybına neden olan bu immünolojik faktörlere karşı yoğun ilgi olmasına karşın bu konuda uygun tanı ve tedavi konusunda bir fikir birliği bulunmamaktadır. Lökosit immünizasyonu, intravenöz immün globulin, üçüncü parti donör hücre bağışıklığı ve trofoblast membran infüzyonları gibi tedaviler canlı doğum oranına önemli derecede katkı sağlamamaktadır (Porter ve ark., 2006; The American College of Obstetricians ve Gynecologists, 2001).

Spesifik bir otoimmün bozukluk olan antifosfolipid antikor sendromuna (APS) özellikle dikkat edilmelidir. Bu bozukluk tekrarlayan gebelik kaybının da içinde yer aldığı birçok kötü obstetrik sonuç ile bağlantılıdır.

1.2.8. Trombolitik Faktörler

Hem kalıtılmış hem de kazanılmış trombofili yaygın olarak görülür ve beyaz popülasyonun %15'inden fazlası kalıtılmış trombofili mutasyonu taşımaktadır (Greer, 2003). Bunlar

içerinde en yaygın olanları faktör V Leiden mutasyonu, protrombin geninin promotor bölgesindeki mutasyon ve metilentetrahidrofolat redüktaz (MTHFR) genini kodlayan gendeki mutasyonlardır. Bu genel mutasyonlar hafif trombotik risklerle ilişkilidir ve halen tartışma konusu olan MTHFR mutasyonları ise vasküler hastalıklarla ilişkilidir (Lane ve Grant, 2000). Buna karşın, antitrombin ve protein S gibi ciddi trombofilik eksiklikler popülasyonda daha az yaygındır. Tekrarlayan gebelik kaybı ve kalıtsal trombofili arasındaki potansiyel ilişki plasental gelişim ve fonksiyon bozukluklarına dayanır ve ikinci olarak venöz ve/veya arteriyel tromboz düşüklere yol açabilir. Çalışmalar temel alındığında gebeliğin 10. haftasından itibaren anneden intravillöz alanlardan kan akışı başlar. Bu nedenle, 10. haftadan sonra meydana gelen gebelik kayıpları geniş ölçüde trombofili ile bağlantılı kabul edilir. Bununla birlikte, maternal kandan fetal dokuya besin transferinde uterindeki kan akışına bağlıdır. Bu nedenle burada meydana gelen trombofilik olaylardan fetus etkilenir. Gebelik kaybında trombofilinin etkisi annenin yaşından bağımsızdır (Burton ve ark., 2001). Kalıtsal trombofili, MTHFR mutasyonundan kaynaklanan hiperhomosisteinemi, faktör V Leiden mutasyonu ile ilişkili aktif protein C direnci, protein C ve protein S eksikliği, protrombin promotor mutasyonu ve antitrombin mutasyonlarını içeren RPL ile sıklıkla ilişkilidir. Kazanılmış trombofili ise hiperhomosisteinemi ve aktif protein C direncinide kapsayan RPL'lerle ilişkilidir. Kalıtsal ve kazanılmış trombofili için en uygun tedavi hastalığın teşhisi ile başlar. Terapi, hastalık spesifiktir; (Macklon ve ark., 2002) hiperhomosistenemialı hastalarda ek folik asit alınmalı, (Stephenson, 1996) kişisel veya ailesel trombotik komplikasyon hikayesi olmayan izole defektlerde profilaktik antikoagulasyon ve (The American College of Obstetricians and Gynecologists, 2001) kombine trombofilik defekt durumunda terapötik antikoagulasyon. Homosistein düzeyleri, başlangıç tedavisinden sonra tekrarlanabilir olmalıdır ve diyet ile tedavisi güç hiperhomosisteinemia'larda profilaktik antikoagulasyon dikkate alınmalıdır (De la Calle ve ark., 2003).

1.2.9. Açıklanamayan Faktörler

Tekrarlayan gebelik kaybının etiyojisi, çiftlerin yarısından azında tanımlanabilmektedir. Yapılan tüm genetik, anatomik, endokrin ve immün değerlendirmelere sonuçlar normal olarak geldiğinde açıklanamayan tekrarlayan gebelik kaybı olarak kabul edilir.

Tekrarlayan gebelik kaybı, çiftlerin olumsuz psikolojik durumları ile önemli derecede ilişkilidir. Her bir düşüğü takiben sonraki pozitif gebelik testi ile kaygı ve güvensizlik baş gösterir. Bununla birlikte çiftler, gelecekteki başarılı bir hamilelik şansının % 50-70 gibi yüksek bir orana sahip olabileceği ve çoğunlukla anne yaşına ve önceki kayıpların sayısına bağlı olabileceği konusunda bilgilendirilmelidir. Bir çalışmaya göre, iki yıl içerisinde 30 yaşın üzerindeki kadınlarda canlı doğum oranı %75 iken, 40 yaşın üzerindeki kadınlarda %40'dır. Ayrıca, üç düşüklü kadınlar için, iki yıl içerisinde gelecekteki canlı doğum ihtimali %70 iken; altı düşüğü takiben %45'dir (Lund ve ark., 2012).

Tekrarlayan gebelik kaybı için önerilen tedaviler Tablo 1.2'de özetlenmiştir. Bununla birlikte, tekrarlayan gebelik kaybının bilinen ve potansiyel nedenleri hastaların ancak yarısında ortaya konabilmekte iken, diğer yarısında ise kesin tanı konamamaktadır. Bu hastaların yönetimi zordur. Üç ve daha fazla düşüğü olan bayanlarda progesteronunun düşük oranını azalttığı bildirilmiştir (Haas ve Ramsey, 2008). 13. haftadan sonra gebelik kaybı taşıyan bayanlarda, hamilelik öncesi ve süresince kullanımının canlı doğum oranını arttırdığı kanıtlanmıştır (Tulppala ve ark., 1997; Rai ve ark., 2000). Aslında, açıklanamayan tekrarlayan gebelik kaybı için etkin tedavi oldukça basittir: Doğum öncesi danışmanlık ve psikolojik destek. Bu önlemler hamilelik oranını arttırmaktadır. Doğum öncesi danışmanlık alan kadınlar, danışmanlık almayan bayanlarla karşılaştırıldığında hamile kalma başarıları %86'lara çıkmaktadır (Stray-Pedersen ve Stray-Pedersen, 1984).

Tablo 1.2. Etiyoloji temel tekrarlayan gebelik kayıplarında terapötik müdahale

Etyoloji Temel Tekrarlayan Gebelik Kayıplarında Terapötik Müdahale	
Hastalık	Terapi
Genetik	Genetik Danışma Preimplantasyon genetik tanı ile IVF*
Dengeli translokasyon	Donör gametler
Anatomik	
Müllerien anomaliler	Septal, adezyon ve submukozal fibroidlerin histeroskopik rezeksiyonu
Asherman Sendromu	5 cm'den büyük intramural ve postrosal fibroidler için miyomektomi
Leyomyom	
Endokrin	
PCOS*	Metformin
Hipotiroidizm	Tiroid hormonu replasmanı
Luteal faz bozukluğu /açıklanamayan	Progesteron takviyesi
Şeker hastalığı	Dişabetin uygun yönetimi, insülin eğer belirtiliyorsa
İnfeksiyonlar	Endometrit veya altta yatan enfeksiyon için antibiyotikler
Otoimmün	SLE* gibi sistemik otoimmün hastalığı öyküsü olmayan veya tromboz öyküsü olan kadınlarda düşük doz aspirin artı profilaktik DMAH*
APS*	
Diğerleri	Kombine trombofilik defektler - terapötik antikoagülasyon
Non-APS trombofililer	İzole defektler ve kişisel veya güçlü aile öyküsü olmayan trombotik komplikasyonlar- profilaktik antikoagülasyon
Çevresel maruziyet	Hiperhomosisteinemi — takviye edici folik asit (0.4-1.0 mg / d), vitamin B6 (6 mg / d) ve muhtemelen B12 vitamini (0.025 mg / d) Profilaktik antikoagülasyonu, eğer diyetle tedavisi güç olan Hiperhomosisteinemi ise Sigara, alkol ve kafein gibi faktörlere sınırlı maruziyet

*APS, antifosfolipid antikor sendromu; IVF, in vitro fertilizasyon; DMAH, düşük moleküler ağırlıklı heparin; PCOS, polikistik yumurtalık sendromu; SLE, sistemik lupus eritematoz.

1.2.10. Genetik Faktörler

Birçok gebelik kaybı, tekrarlayandan ziyade sporadiktir. Aslında, gebelik kayıplarının ancak %30'u tekrarlar ve klinik olarak gebe kabul edilenlerin %10'unda görülür. Sporadik kayıpların genetik nedenlerinin çoğu, bazı tekrarlayan gebelik kayıplarında da görülür. Bu nedenle sporadik kayıplar tekrarlayan gebelik kayıplarının genetik nedenlerini

yansıttığından önemlidir. Gebelik kayıpları değerlendirilirken gebelik yaşı ve gebelik kaybı gelişim evresi önemlidir. Kayıplar; preimplantasyon, preembriyonik, embriyonik, erken fetal, geç fetal veya ölü doğum olarak kategorize edilebilir. Benzer şekilde, tanı sırası veya klinik semptomlarda gebelik yaşından ziyade kaybın gelişimsel evresi belgelenmelidir.

Tekrarlayan gebelik kaybına neden olan faktörlere ilişkin bilgilerimiz, önleme ve tedavi yaklaşımları açısından hala sınırlıdır. Oluşmuş bir gebeliğin miyadında sağlıklı doğumla sonuçlanmasını engelleyen genetik nedenler arasında kromozom anomalileri, inflamatuvar ve otoimmün düzensizlikler ile bazı pro-trombofili genlerindeki polimorfizmler sayılabilir (Ford ve Schust, 2009).

Standart karyotip analizi ile elde edilen veriler gestasyonel kayıp gestasyonun ne kadar erken döneminde olursa genetik anomali olasılığının o kadar yüksek olduğunu göstermektedir. Teknolojinin gelişmesi ile kullanıma giren mikrodizin ve dizileme gibi yöntemler aracılığıyla gebelik kaybı ve genetik etyolojisine ilişkin bilgilerimiz artmaktadır (Page ve Silver, 2016).

Erken gebelik kayıplarının büyük bir kısmına (%50-60) kromozomal anomaliler neden olmaktadır. Bunların nedeni parental orjinli olabildiği gibi normal karyotipe sahip ebeveynlerin de novo kromozom anomalisi gösteren embriyoları da olabilir.

Tekrarlayan gebelik kayıplarında en yaygın ebeveyn anomalileri dengeli translokasyonlardır. Dengeli translokasyonların genel populasyonda görülme sıklığı %2-4'tür. Bunlar resiprokal (~%60) veya Robertson tipi (~%40) translokasyonlardır. Parasentrik ve perisentrik inversiyonlar daha nadirdir; fakat tekrarlayan gebelik kaybı için artmış risk ile ilişkilendirilir. Bu ve benzeri kromozomal değişiklikler, ebeveynlerin karyotip analizi ile ortaya konabilir (Gersen ve Keagle, 2005) (Tablo 1.3).

Tablo 1.3. Spontan abortus ve canlı doğumlardaki kromozom anomalileri oranları

Anomali	Spontan abortus (%)	Canlı doğum(%)
Otozomal trizomi		
13	1.10	0.01
16	5.58	0.00
18	0.84	0.02
21	2.00	0.11
Diğer	11.81	0.00
Total trizomiler	21.33	1.34
Monozomi X	8.35	0.01
Seks kromozom trizomileri	0.33	0.15
Triploidi	5.79	0.00
Tetraploidi	2.39	0.00
Total (%)	41.52	0.60
Total (n)	3,353	31,521

Dengeli translokasyon taşıyıcısı ebeveynler genellikle asemptomatiktir. Onların gebelik ürünlerinin karyotipi bütünüyle normal, dengeli veya dengesiz translokasyona sahip olabilir. Dengesiz translokasyon taşıyan bir embriyoyu barındıran gebelikler genellikle düşük ile sonuçlanır. Bu durum ölü doğuma veya büyük konjenital defektli canlı doğuma da neden olabilir. Her bir olasılığın yüzdesini tahmin etmek zordur çünkü düşük materyallerinde karyotipleme rutin olarak yapılmaz. Ancak çalışmalar dengesiz translokasyonları yaklaşık %25-39 olarak belirtmektedir. Ayrıca, embriyo biyopsilerinden elde edilen datalar bu embriyolarda yüksek kromozomal anomaliler bulunduğunu teyit etmektedir. Genel olarak, gebelik kaybı riski artmasına rağmen, dengeli translokasyon taşıyıcısı çoğu çift sağlıklı bebek sahibi olabilmektedir (Gersen ve Keagle, 2005) (Tablo 1.4.).

Tablo 1.4. Spontan abortus ve canlı doğumlardaki kromozom anomalileri oranları

Anomali	Spontan abortus (%)	Canlı doğum(%)
Otozomal trizomi		
13	1.10	0.01
16	5.58	0.00
18	0.84	0.02
21	2.00	0.11
Diğer	11.81	0.00
Total trizomiler	21.33	1.34
Monozomi X	8.35	0.01
Seks kromozom trizomileri	0.33	0.15
Triploidi	5.79	0.00
Tetraploidi	2.39	0.00
Total (%)	41.52	0.60
Total (n)	3,353	31,521

Embriyonik anöploidiler, 10. haftadan önce oluşan erken gebelik kayıplarının başlıca nedenidir. Kısaca, kromozomal olarak anormal embriyoların %90'dan fazlası spontan olarak düşükle sonuçlanır. En yaygın bulunan anomaliler, trizomi, poliploidi ve monozomi X gibi sayısal kromozomal hatalarıdır. Anöploidi oluşma riski ileri maternal yaş ile önemli derecede artmaktadır.

Birçok çalışmada, açıklanamayan tekrarlayan gebelik kaybında genetik yatkınlık ve hastaların kardeşlerinde artmış risk bildirilmiştir. Çeşitli genetik ilişkili çalışmalar yapılmış ve aday genler tanımlanmıştır. 428 vaka-kontrol içeren bir meta analiz çalışmasında 13 gende 21 varyant için ilişki bulunmuştur (Pereza ve ark., 2017). Genlerin çoğunu immun cevap genleri oluştururken, bunu koagülasyon, metabolizma ve anjiyogenez genlerinin takip ettiği bildirilmiştir. Bununla birlikte kuvvetli epidemiyolojik ilişki olmadığı rapor edilmiştir (Pereza

ve ark., 2017). Bir diğer, farklı kriter kullanılarak yapılan meta analizde ise 37 gene ait 53 genetik polimorfizmde önemli ilişki bulunmuştur (Shi ve ark., 2017). İnterlökin genlerindeki mutasyonların, tekrarlayan gebelik kaybı ile oldukça yaygın bir ilişkisi vardır, özellikle IL1beta, IL-6, IL-10 ve IL18 öne çıkmaktadır. Kısaca, başarılı bir gebelik, immün dengeye bağlıdır ve immün hücreler tarafından salgılanan interlökinler implantasyonun farklı aşamalarındaki dengede önemli rol oynar. Bu genlerin varyantlarına karşılık genlerin protein ekspresyon düzeyindeki değişimler implantasyona yardımcı olabilir veya bozabilir.

Maternal insan lökosit antijen (HLA) allelleri (HLA sınıf I 8HLA-C2), HLA sınıf II (DRB1, DQA1, DQB1, ve DBP), HLA-E, HLA-G) ve açıklanamayan tekrarlayan gebelik kaybı arasındaki ilişkiye odaklanan çalışmalarda da literatürde farklı sonuçlara rastlanmaktadır ve TGK için HLA fenotiplerine dayalı yöntemlerin kullanılması için yeterli kanıt bulunmamaktadır (ESHRE, 2017).

Bu ve benzeri birçok çalışmalarda tekrarlayan gebelik kaybında genetik yatkınlığı desteklemektedir. Bununla birlikte, çeşitli raporlarda kullanılan tanımlamalarda ve dahil etme kriterlerinde farklılıklar vardır. Bu yüzden, tekrarlayan gebelik kaybındaki genetik varyantların rolünü daha iyi tanımlamak için genom genişliğindeki ilişkilendirme çalışmalarına ve çiftleri değerlendiren çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

1.3. Kromozom Anomalileri

İnterfaz nükleusunda bulunan DNA, RNA, histon ve non histon proteinlerden oluşan yapı kromozom olarak adlandırılır. DNA molekülü kendini eşledikten sonra oktomer adı verilen H2A, H2B, H3 ve H4 histonlarından oluşan yapının etrafına iki kez sarılır, H1 tarafından sabitlenerek nükleozomu meydana getirir. Ard arda gelen nükleozomlar kıvrılarak solenoid yapıyı oluşturur. Solenoid interfaz nükleusunda izlenen kromatini oluşturur. Kromatin ağı profazda ilmekleri, bobin yapısını oluşturur ve kısalıp kalınlaşarak kromozomu meydana getirir. İnterfaz evresinde çözülmeden kalan bölgelere heterokromatin bölge adı verilir ve bu bölge yoğun olarak inaktif gen bölgelerini içerir. Nükleik asitçe daha zengin olan ve G bant paterninde açık boyanan iplikli kısımlar eukromatin olarak adlandırılır. Eukromatin bölgeler guanin ve sitozin bazları bakımından zengin aktif gen bölgelerinden oluşur. Heterokromatin yapıda özel DNA dizisi taşıyan sentromer adı verilen özel bölgeler kromozomu iki parçaya uzun (q) ve kısa (p) kolu olmak üzere iki kola ayırır.

Kromozomlar (Şekil 1.2) sentromer lokalizasyonlarına göre metasentrik (sentromer merkezi pozisyonundadır, p ve q kollarının uzunlukları eşittir), submetasentrik (sentromer pozisyonu merkeze yakın p kolunun distaline kaymıştır), akrosentrik (sentromer p kolunun distaline çok yakındır) ve telosentrik (sentromer uçta) olmak üzere sınıflandırılır. İnsanda telosentrik kromozom bulunmaz (Tablo 1.5).

Tablo 1.5. Denver Sınıflandırmasına göre kromozom grupları

Kromozom Grubu	İçerdiği kromozom numarası	Kromozom türü
A	1, 2 ve 3	Metasentrik
B	4 ve 5	Submetasentrik
C	6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, X	Submetasentrik
D	13, 14 ve 15	Akrosentrik
E	16, 17, 18	Submetasentrik
F	19 ve 20	Metasentrik
G	21, 22, Y	Akrosentrik



Şekil 1.2. Normal erkek (A) ve dişi (B) karyotipleri.

1.3.1. Kromozomlarda Sayısal ve Yapısal Anomaliler

Kromozom anomalileri sayısal veya yapısal olabilir. Otozomal ve/veya gonozomal kromozomlarda görülebilir. Anöloidlerde fenotip daima etkilenir. Yapısal kromozom anomalileri genetik materyal kaybı olup olmasına göre “dengeli” veya “dengesiz” olarak

sınıflandırılmaktadır. Dengeli kromozom anomalilerinde fenotipin etkilenmesi beklenmemektedir (Tablo 1.6.)

Tablo 1.6. Sayısal ve yapısal kromozom anomalileri

Anomali		Mekanizma	
Sayısal Anomaliler	Öploidi	Kromozom haploid sayısının ($n=23$) katları halinde artışı ile ortaya çıkan (triploidi= $3n$, tetraploidi= $4n$) sayısal kromozom anomalilerine poliploidi denir.	
	Anöploidi	Diploid bir hücrede tek bir kromozomun sayısının artması ($2n+1$ =trizomi) ya da eksilmesi ($2n-1$ = monozomi) ile oluşur	
Yapısal Anomaliler	Translokasyon	Resiprokal	Homolog olmayan iki kromozom arasında karşılıklı parça değişimi olur. Genellikle en az iki kromozom arasında, iki kırık oluşumu ile meydana gelir ve toplam kromozom sayısı değişmez.
		Transpozisyon	Homolog olmayan iki kromozomdan birinde iki noktadan, diğerinde bir noktadan kırılma gerçekleşir. İki kırık arasında kalan parça homolog olmayan diğer kırık kromozoma giderek eklenir.
		Robertsonian	İki akrosentrik kromozomun kısa kollarını kaybederek sentromer veya sentromere yakın bölgelerinden birleşmesidir.
	İnversiyon	Parasentrik	Kromozomda iki kırık sonucu oluşan parça ters dönerek, aynı bölgeye yerleşir. Sentromer içermez.
		Perisentrik	Kromozomda, iki kırık sonucu oluşan parça ters dönerek, aynı bölgeye yerleşir. Sentromer içerir.
	Delesyon	Bir kromozom parçasının kaybı ile kısmi monozomi oluşmasıdır. Klinik etkileri genellikle, delesyona uğrayan parçanın büyüklüğü ve bu parçadaki genlerin sayısı ve işlevine bağlıdır.	
	Duplikasyon	Homolog kromozomlar arasında gerçekleşen bir transpozisyon sonucu oluşur. Homolog kromozomlardan birinde iki kırık, diğerinde tek kırık oluşur. İki kırık arasında kalan parça, homolog kromozomdaki tek kırıklı bölge arasındaki kalan kısma yerleşir.	
	Ring	Bir kromozomun iki kolunun terminal kısmında oluşan iki kırık noktasının birleşmesiyle oluşan halka şeklinde kromozomlardır. Sonuç olarak her iki kolunda terminal uçlarının delesyonu söz konusudur ve delesyona uğrayan bu uç kısımlar kaybolur	
	İzokromozom	Mayoz II'de gerçekleşen, sentromerin her iki tarafında aynı kromozom kolunun gözlendiği kromozomlardır. Yapısal görüntü kromozomun kollarından birinin olmaması, diğerinin ise duplikasyonu biçimindedir	
	Disentrik kromozom	Disentrik kromozomlar, sentromer içeren iki kromozom parçasının (farklı kromozomlardan veya bir kromozomun iki kromatidinden) sentromeri bulunmayan parçalarını kaybederek uç uca eklenmesiyle oluşan kromozomdur.	
Marker	Normal kromozom setine ek olarak görülen klasik sitogenetik tetkiklerle kaynağı belirlenemeyen kromozom veya kromozom parçasına denir. Bir veya birkaç kromozomun yeniden düzenlenmesiyle oluşabilirler.		

1.3.3. Normal kromozom varyantları (Kromozom polimorfizmleri)

Polimorfizm ortak olmayan herhangi bir lokusa en az iki farklı alelin bulunmasıdır. Başka bir ifade ile polimorfizm, birbirinden kesinlikle ayrılabilen fakat aynı lokustaki genlerle oluşturulan iki yada daha çok seçenekli genotipin aynı toplumda birlikte bulunmasıdır (Şaylı 1977; Başaran, 1996).

Kromozomlar homologları ile karşılaştırıldığında belli bölgelerin bireyler arasında değişken olduğu gözlenir. Türler içinde, aynı türün bireyler arasındaki genetik varyasyonlar polimorfizm olarak adlandırılır. Kromozomal heterokromatin bölgelerde izlenen bu varyasyonlar kromozom polimorfizmlerinin büyük bir kısmını oluşturur (Şekil 1.3) (Miller ve ark., 1990; Surralles ve ark., 1997).

Heterokromatik bölgeler, ard arda tekrar dizileri içeren ve aktif gen kodlamayan yapılar oldukları için varyasyonların fenotipik yansımaları beklenmez ve normal karyotip varyasyonları olarak değerlendirilirler (Wyandt ve Tonk, 2011). Heterokromatin bölgelerin büyüklüğü kişiden kişiye farklılık gösterebilir ve bu da heterokromatin polimorfizmlerinin oluşmasına neden olur. Bu polimorfizmlerin eşit olmayan crossing over, replikasyon hatası sonucu oluşan duplikasyon, heterokromatinin dekonpensasyonu ile oluşabileceği öngörülmektedir (Wyandt ve Tonk, 2011; Guo ve ark., 2012).

En sık rastlanan kromozom polimorfizmleri 1, 9, 16. kromozomların perisentrik kısımları, Y kromozomunun uzun kolundaki heterokromatik varyant, akrosentrik kromozomlardaki satellit artışları ile 9. kromozom inversiyonlarıdır.

Y kromozomuun uzun kolu transkripsiyona uğramayan tekrar dizilerinden oluşur. Populasyondaki erkeklerin yaklaşık %10'unda normalden kısa veya uzun bir q kolu bulunur (Thompson ve ark., 2001).

1, 9 ve 16. kromozomlar sentromere yakın sekonder bir bölge (qh) içerirler. Bu qh bölgeleri 9. kromozomda 9q12 ve 16. Kromozomda 16p11.1-q11.1 bölgeleridir (Neas ve ark., 2005). 1qh+'in polimorfizmi, tekrarlayan gebelik kayıpları ve malign hastalıklar ile ilişkilendirildiği çalışmalar bildirilmiştir (Saran ve ark., 2017).

Akrosentrik kromozomlardaki satelit büyüklükleri farklı olabilir. Satelit artışın mayoz sırasında yanlış eşlemelere ve eşit olmayan crossing-over'a sebep olabileceği düşünülmektedir (Thompson ve ark., 2001).



9qh+

Şekil 1.3. 1qh+ ve 9qh+ kromozom anomalilerini gösteren karyotipler.



inv9

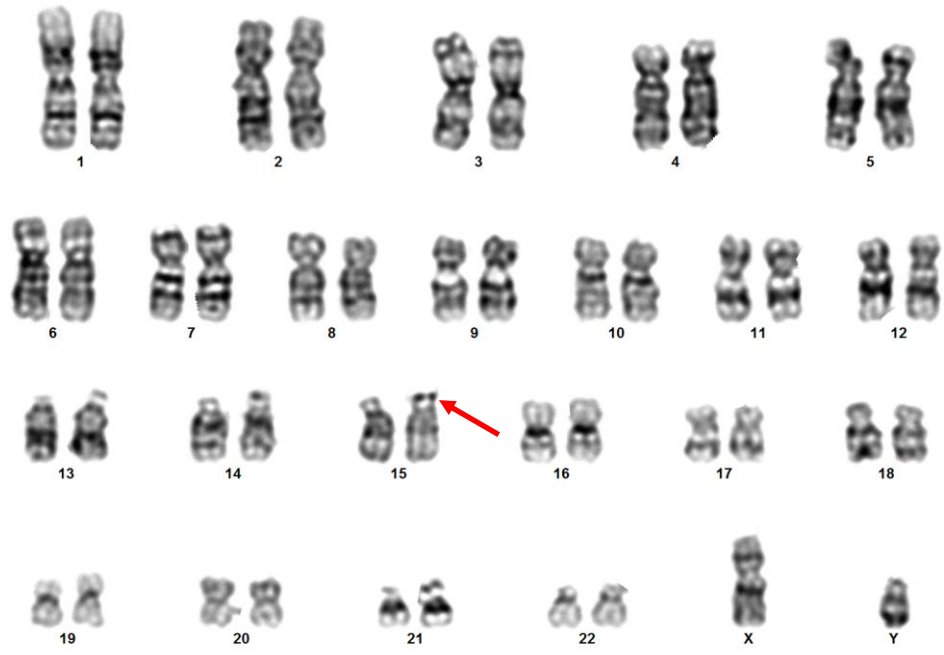


13ps+

Şekil 1.4. inv9+ ve 13ps+ kromozom anomalilerini gösteren karyotipler.



14ps+ ve 21ps+

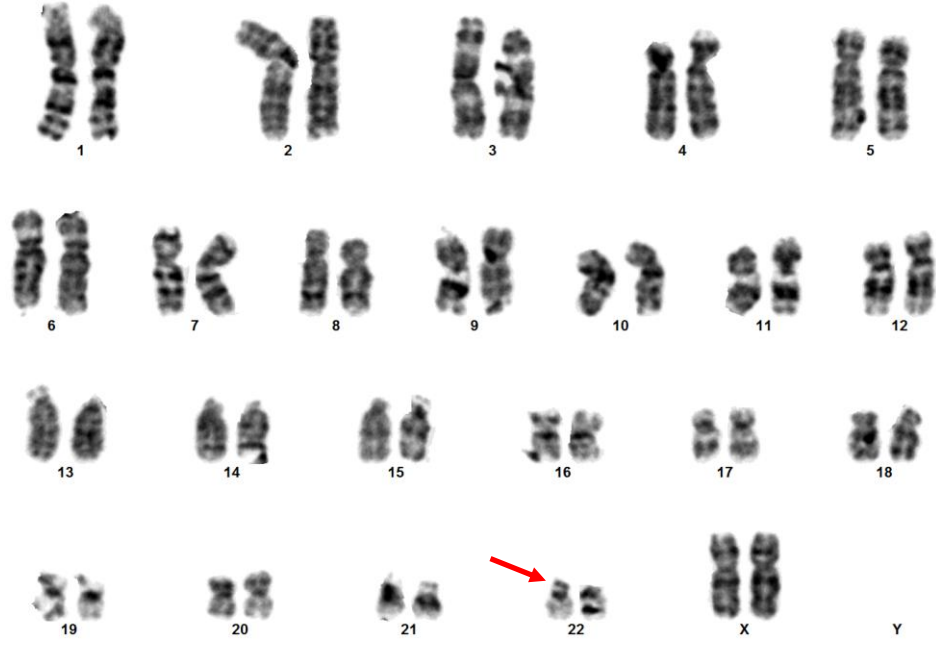


15ps+

Şekil 1.5. 14ps+, 21ps+ ve 15ps+ kromozom anomalilerini gösteren karyotipler.

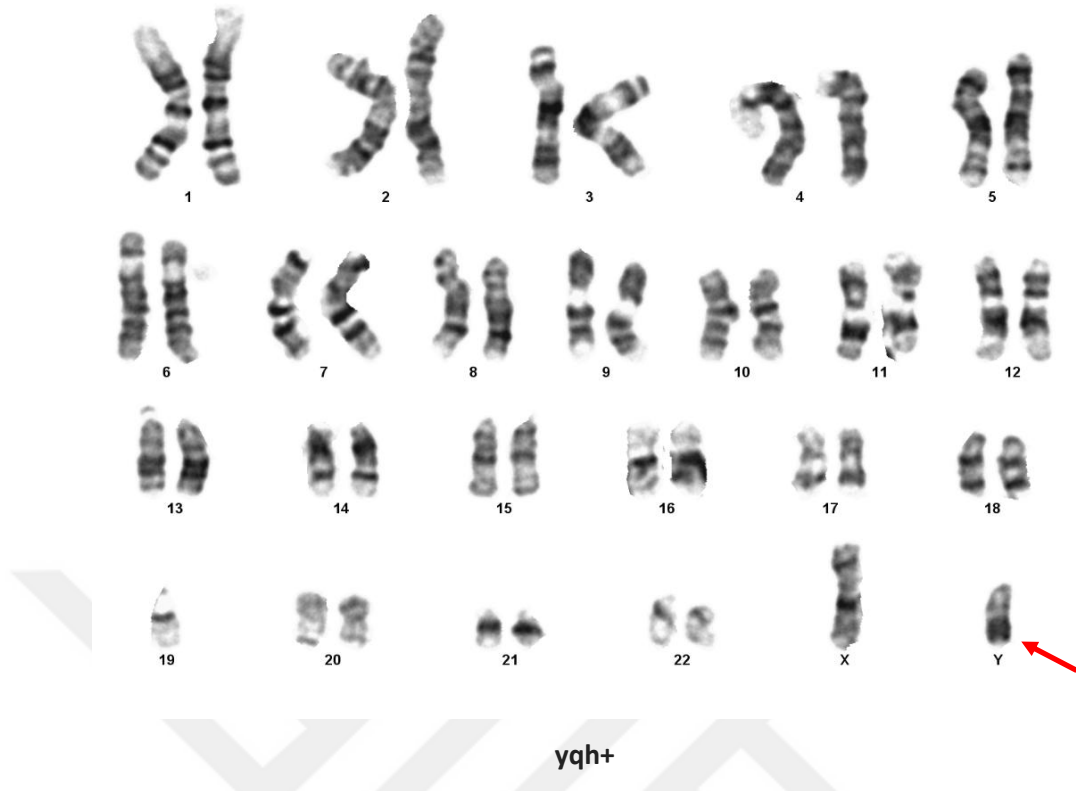


16qh+



22ps+

Şekil 1.6. 16qh+ ve 22ps+ kromozom anomalilerini gösteren karyotipler.



Şekil 1.7. yqh+ kromozom anomalilerini gösteren karyotipler.

9. kromozomun heterokromatin bölgesindeki perisentrik inversiyon [inv(9)(p11q13)] popülasyonda %1-3 oranında bulunan polimorfik bir değişimdir (Jeong ve ark., 2010). Genellikle ailesel geçişli olan fenotipe yansımayan bu kromozomal değişimin normal bir varyant olarak kabul edilmekle birlikte bazı çalışmalarda infertilite, düşükler, konjenital anomaliler, mental retardasyon gibi anomalilerle ilişkisi olabileceği rapor edilmiştir (Cockwell ve ark., 2003; Gardner ve Hill, 2004; Gersen ve Keagle, 2005; Kerketta ve ark., 2007). İnversiyonlar, tersine çevrilmiş segmentin, asinapsis veya erken desinapsis dahil olmak üzere sinapsis bozukluklarına neden olabilir (Saran ve ark., 2017).

1.4. Kromozom Analizi

Olgun eritrositler hariç tüm hücrelerin nükleusunda bulunan kromozomlar, hücre döngüsünün mitoz aşamasında katlanıp paketlenerek kısalıkları için mikroskopa

değerlendirilebilir hale gelir. Bu nedenle, kromozom analizi amaçlandığında hücrelerin in vivo veya in vitro mitoz bölünme geçirmesi gerekmektedir.

1.4.1. Kısa Süreli Periferik Kan Lenfosit Kültürü

Kısa süreli periferik kan lenfosit kültürleri kaliteli ve yeterli sayıda metafaz elde edilmesine olanak sağlayan postnatal kromozom analizlerinde güvenilir bir yoldur. Kısa süreli lenfosit kültürü fetal kort kanı örneklerinde de uygulanır. Kısa süreli hücre kültürü, 1-2 heparinize steril periferik kan örneğindeki T-lenfositlerinin fitohemaglutinin gibi bir mitojen ile uyarılması ve bu hücrelerin, tüm kimyasal gereksinimlerini karşılayan 3-5 mL besiyerinde 37°C'de inkübe edilme sürecidir. Uyarılan lenfositlerle 72 saatte maksimum hücre sayısına ulaşılır, bundan sonra hücre ölümleri başlayacağından kültür süresi sınırlıdır. Bu kültürlerle 70-71. saatte kolşisin gibi mitotik ağın oluşumunu bozan bir ajan ilave edilerek hücre bölünmesi metafaz aşamasında durdurulur ve metafazdaki hücre sayısı artar. Kültür süresinin sonunda süspansiyon santrifüj edilir ve süpernatant atıldıktan sonra çökelen hücrelerin üzerine hipotonik bir çözelti eklenerek hücrelerin ozmotik olarak şişmesi ve nükleus içindeki kromozomların arasına sıvı girerek ayrışması sağlanır. Ortam koşullarına bağlı olarak değişen kontrollü bir süre sonunda hipotonik çözelti uzaklaştırılır ve hücreler Carnoy fiksatif adı verilen (3 metanol: 1 asetik asit) bir solüsyon ile fiks edilerek preparatlar hazırlanır. Preparatlar kurutularak kromozom /metafazlar boyama ve bantlama veya moleküler sitogenetik tekniklerin uygulanması için hazır hale gelir.

1.4.2. G Bantlama

G bantlama bugün dünyada klinik sitogenetik laboratuvarlarında en yaygın kullanılan bantlama tekniğidir. G bantlama, Q bantlama ile hemen hemen aynı bant kalıbını verir. Bu bantlamada kromozomlara önce denatüre edici bir ajan veya bir proteolitik enzim (trypsin, pankreatin) ile muamele edilir ve DNA'nın histon/nonhiston kılıfı uzaklaştırılır, sonra Giemsa boya ile boyanır. Giemsa, çift; zincirli DNA'nın boşluklarına girer ve takip eden yıkamalarla DNA'nın yoğun sarmalları içindeki Giemsa partikülleri kalırken gevşek sarmal bölgelerindeki partiküller uzaklaştırılarak G bantları ortaya çıkarılır. G pozitif bölgelerin özellikle daha az

aktif gen içerdiği, G negatif bölgelerin ise daha fazla klinik önem taşıdığı bilinmektedir. Bu nedenle, prometafaz kromozomlarında uygulanarak ara bantların da ortaya çıkarılması tanıda önemlidir.

1.4.3. Karyotip Analizi ve Standartları

Her kromozomun bant kalıbı özgündür ve homolog kromozom çiftleri aynı bant kalıbını gösterir. Kromozom ya da karyotip analizi bu bant kalıbının homologlar arasında ve "normal" kalıp ile karşılaştırılması ile yapılır. Bantlanmış kromozomların standardize edildiği haritalar "idiyogram" olarak adlandırılır. Bantlamalarla insan kromozomlarının tanımlanması "International Standing Committee on Human Cytogenetic Nomenclature, İSCN" sistemi uyarınca yapılır. Bu sisteme göre kromozomların p ve q kollarında bantlama teknikleri (G) ile oluşturulan bantlar, büyüklüklerine göre sentromerden telomere doğru numaralandırılır. Kromozom boyu uzadıkça kısa kromozomda tek bir bant olarak algılanan bölgelerdeki ara bantlar görünür hale gelir ve bunlar ikinci basamak olarak numaralanır. Örneğin; 1. kromozomun q kolunda distalde bir bant tanımlanacak ise lq42.13 olarak kısaca formüle edilir. Bu standardizasyon sistemi kromozomların ve kromozom anomalilerinin tam ve doğru olarak tanımlanmasını mümkün kılar ve düzenli aralıklarla yenilenir (Dündar,2016).

2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. Gereç

2.1.1. Araştırma Grubu Bireyleri

Bu çalışmada, 2007-2017 yılları arasında Afyon Kocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı'na fetal kayıp öyküsü ile başvuran 939'u kadın ve 749'u erkek olmak üzere toplam 1688 olgunun (bu olgulardan 706'sı çift olarak da değerlendirildi) konvansiyonel sitogenetik analiz sonuçları kromozomal polimorfizmler açısından retrospektif olarak değerlendirilmiştir. Vaka grubu ile birlikte bilinen herhangi bir kalıtsal hastalığı olmayan, akraba evliliği yapmamış, sağlıklı çocuk sahibi olabilen, düşük ve/veya ölü doğum öyküsü bulunmayan 40 çiftin sitogenetik analiz sonuçları değerlendirildi.

Retrospektif çalışma Anabilim Dalımız arşivinde hasta dosyaları üzerinden yapılmıştır. Kontrol grubuna ait örnekler, çalışma için bilgi verilmesinin ardından Afyon Kocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Etik Kurulu'nun onayladığı gönüllü olur formunun imzalatılmasını takiben çalışmaya dahil edildi. Kapalı lenfosit kültürü yapıldıktan sonra karyotipleri belirlendi.

Kromozom analizleri periferik kan lenfosit kültürleri ile elde edilen metafazlardan GTL bantlama tekniği uygulanarak yapıldı. Tüm vakalar ve kontrol grubu üyelerinin pedigrigri analizleri yapılmıştır.

2.1.2. Kullanılan Gereçler

Sıra No	Cihaz veya Gereç	Markası
1.	Santrifüj	Rotofix 32A

2.	Etüv	Incucell
3.	Vorteks	Velp Scientifica
4.	Elektronik hassas terazi	Sartorius BP 221S
5.	Sınıf II Kabin	Thermo Scientific MSC Advantage
6.	Mikroskop	Olympus BX50
7.	Karyotip analiz yazılımı	Cytovision
8.	Mikropipetler	Thermoscientific Discovery comfort
9.	Buzdolabı	Arçelik
10.	Enjektörler	
11.	Heparinli tüp	
12.	15 mL'lik konik santrifüj tüpleri	
13.	Cam malzemeler (şale, mezür, lam, lamel, pipet)	

2.1.3. Kullanılan Kimyasallar

Sıra No	Kimyasal	Markası
1.	RPMI 1640 Medium	Multicell
2.	Fetal Calf Serum	Capricorn Scientific
3.	L-Glutamin	Wisent Bioproducts
4.	Phytohemagglutinin	Capricorn Scientific
5.	Penisilin/Streptomisin	BI Biological Industries
6.	Colsemid Solution	Capricorn Scientific
7.	Hipotonik Solüsyonu	Multicell

8.	Methanol	LiChrosolv
9.	Asetik asit	Emsure
10.	PBS	Amresco
11.	Gurr tablet	BDH Lab. Supp.
12.	Leishman Boya	Sigma
13.	Tripsin	Biological Industries
14.	Entellan	Merc
15.	İmmersiyon yağı	Merc
16.	Ksilol	Sigma

2.1.4. Kullanılan Çözeltiler

72 saatlik periferik kandan lenfosit kültürü yapılırken kullanılan çözeltiler aşağıda verilen reçetelere göre hazırlandı.

Tablo 2.1. Sitogenetik analiz için kullanılan stok solüsyonlar

Periferik kan lenfosit kültür solüsyonları	
RPMI 1640 bazal medyum	100 mL
Fetal Bovine Serum (FBS)	25 mL
Penisilin Streptomisin	0.5 mL
Phytohemagglutinin (PHA)	1 mL
Kolsemid	3 damla
KCl (0.075 M) Solüsyonu	
KCl	1,398 g
Distile su	250 mL

Carnoy's Fiksatif Solüsyonu	
Metanol	3 birim
Asetik asit	1 birim
Boyamada kullanılan Solüsyonlar	
Fosfat Tampon Solusyonu (PBS)	1 tablet
Distile su	100 mL
TRİPSİN SOLUSYONU	
Tripsin	0,05 g
PBS	80 mL
LEISHMAN BOYA	
Leishman	0,2 g
Metanol	100 mL
Gurr Tablet	1 tablet
Distile Su	1 litre

2.2. Yöntem

2.2.1. Kromozom Analizi Aşamaları

Sitogenetik inceleme için her olgudan uygun koşullarda alınan lityum heparin içeren 4 mL'lik steril tüpe 2 mL periferik kan örneği alındı. Laboratuvara getirilen periferik kan örneği ekim süresine kadar +4°C'de muhafaza edildi. Alınan örnekler 72 saatlik kapalı lenfosit kültürünü takiben analize alındı.



- **Kapalı Lenfosit Kültürü**

1. Steril falcon tüplerine olgunun adı soyadı, ekim tarih ve saati yazıldı.
2. Hazırlanan besiyerinden 5'er mL konuldu.
3. Tüplere 150 µL fitohemaglutinin solüsyonu eklendi.
4. Üzerine 5 mL'lik enjektör ile olguya ait 10 damla periferik kan konuldu.
5. Hazırlanan kültür 37°C'lik etüve yaklaşık 45⁰'lik açıyla yerleştirilerek 72 saatlik inkübasyona alındı.

- **Harvest**

İnkübasyon süresi dolan kültürler aşağıdaki protokole göre işleme alınmıştır.

1. 71. saatin sonunda etüvde inkübe edilen kültür tüplerine 120 µL kolsemid ilave edildi.
2. 72. saatin sonunda tüpler 1900 rpm'de 10 dakika santrifüj yapıldı.
3. 1 ml'ye kadar süpernatant uzaklaştırıldıktan sonra pellet homojenize edildi.
4. Tüpteki hacim 8 ml olana kadar hipotonik solüsyonu (0,075 M KCl) eklendi.
5. Tüpler 1 saat 37 °C etüvde inkübe edildi
6. Tüpler 1900 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi.
7. Süpernatant kısmı uzaklaştırıldıktan sonra fiksatif solüsyonu ile hacim 8 mL'ye tamamlandı.
8. Bu işlem 4 kez tekrarlandı.
9. Son santrifüj işleminin ardından süpernatant kısım atıldıktan sonra tüpte 0.5-1 mL kadar hücre süspansiyonu bırakıldı.

- **Preparat hazırlama**

1. Tüplerin içinde bırakılan pellet pipetaj yapılarak homojenize edildi.
2. Şaleye dizilerek ethanol içinde -20 °C'de bekletilen soğuk lamalar kurulandı.
3. Hücre süspansiyonu, soğuk lamalar üzerine nefes ile buhar verilip nemli yüzey oluşturulmasını takiben cam pastör pipeti ile yaklaşık 20 cm mesafeden 45° açıyla damlatıldı.

4. Oda ısısında, düz bir zemine kurutulan lamaların rodajlı kısımlarının üzerine kurşun kalemle hasta adı, protokol numarası, tarih ve preparat numarası yazılarak etiketlendi.
5. Hazırlanan preparatlar bir gece 65 °C ve ardından 4 saat 80 °C etüvde yaşlandırıldı.
6. Preparatlar G bant paterni gösteren yöntemle boyandı.
7. Gerekli görüldüğü durumlarda diğer bantlama yöntemleri (C bantlama ve NOR bantlama) uygulandı.

- **Bantlama**

1. Preparatlar önce dikey şaledaki tripsin solüsyonunda 4-10 sn kadar muamele edildi.
2. Daha sonra dikey şaledaki PBS solüsyonunda tripsinde tutulan sürenin 2 katı kadar süre ile muamele edildi.
3. Lamalar yatay şalenin üzerine dizilerek, her bir lamın üzerini kaplayacak kadar (yaklaşık 3 mL) Leishman boyasıyla kaplandı. 1-3 dk muamele edildi ve suyla yıkandı.
4. Preparatlar beherde distile suyla yıkandı.
5. İlk boyamanın ardından preparatlar mikroskopta bant kalitesi yönünden değerlendirilerek diğer preparatların en iyi bant kalitesinde olması için tripsin solüsyonunda ve Leishman boyada tutulma süreleri belirlendi.
6. Bantlandıktan sonra kurutulan preparatlar entellan damlatılarak lamel ile kapatıldı.

- **C bantlama**

1. HCl solüsyonunda 30 dk bekletilen preparatlar iki kez distile su ile yıkandı.
2. 37 °C'de Ba(OH)₂ (baryum hidroksit) solüsyonunda 10 dk. bekletildi ve 3 kez distile su ile yıkandı.
3. Daha sonra 60 °C'de 2xSSC (saline-sodyum citrate) solüsyonunda 2 saat tutuldu ve tekrar distile su ile yıkandı.
4. Bu işlemden sonra şale içindeki Giemsa'da 45 dk-1 saat bekletildi.
5. Distile su ile yıkanan ve kurutulan preparatlar mikroskopta incelendi.

- **NOR bantlama**

1. Kurutma kağıdı yerleştirilip içi distile su ile nemlendirilen Petri kabına lamalar yerleştirildi.
2. Üzerlerine 3 damla % 50'lik AgNO₃ (gümüş nitrat) damlatılarak lamelle kapatıldı.
3. 60°C'de 3 saat hibridize edildi.
4. Sürenin sonunda lameller distile su yardımıyla yıkanarak uzaklaştırıldı.
5. Lamaların üzerine 1 damla %3'lük formalin, 1 damla amonyaklı gümüş damlatılarak karışması sağlandı ve tekrar lamelle üzerleri kapatıldı.
6. Mikroskopta incelemeye alındı, altın-kahverengi renk oluştuğunda distile su ile yıkanarak lamel uzaklaştırıldı ve lam kurutularak incelendi.

- **Analiz**

1. Bantlama yapılmış preparatlara Olympus BX50-51 ışık mikroskopunda x10'lük objektifte tarama yapıldı.
2. Değerlendirilmeye uygun metafaz alanları x100'lük objektif ile analiz edildi.
3. Her vaka için en az 25 metafaz alanı incelenerek analizi yapıldı.
4. Analizi yapılan metafaz alanları otomatik görüntüleme sistemine (Applied Imaging Cytovision) aktarılarak en az 5 metafaz alanına karyotipleme işlemi yapıldı.
5. Analiz sonuçları International System For Human Cytogenetic Nomenclature (ISCN) 2009'a göre rapor edildi ve preparatlar arşivlendi.

2.2.2. Retrospektif çalışmalar

Tıbbi Genetik Anabilim Dalında 1999 yılından itibaren çalışılan tüm vakalara ait dosyalar tarih sırasına göre arşivlenmiştir. Çalışmamızda 2007-2017 yılları arası değerlendirilmiştir. Dosyalarda hastalara ilişkin kimlik bilgileri, pedigrî analizleri, en az iki farklı metafaz plağına ait karyotip çıktıları ile hasta raporları bulunmaktadır. Arşiv taraması en yakın tarihli dosyadan başlayarak geriye doğru yapıldı. Tüm dosyalardaki karyotip çıktıları aynı göz tarafından tekrar incelendi. Veriler excel dosyasında kayıt altına alındı.

2.3.3. İstatistiksel Analiz

Elde edilen veriler SPSS istatistik programı 20 kullanılarak χ^2 testi ile karşılaştırıldı. $P < 0.05$ düzeyi istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

3. BULGULAR

Bu çalışmada 2007-2017 yılları arasında Afyon Kocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı'na fetal kayıp öyküsü ile başvuran 939'u kadın ve 749'u erkek olmak üzere toplam 1688 olgunun (bu olgulardan 706'sı çift olarak da değerlendirildi) konvensiyonel sitogenetik analiz sonuçları kromozomal polimorfizmler açısından retrospektif olarak değerlendirilmiştir. Olgu grubunda demografik ya da diğer verilerin tam olup olmaması dikate alınmamış; çalışma kromozom polimorfizmleri üzerinde yoğunlaşmıştır.

Vaka grubu ile birlikte bilinen herhangi bir kalıtsal hastalığı olmayan, akraba evliliği yapmamış, sağlıklı çocuk sahibi olabilen, düşük ve/veya ölü doğum öyküsü bulunmayan 40 çiftin sitogenetik analiz sonuçları yine bu tez çalışmasında kromozom varyasyonları açısından değerlendirildi.

Retrospektif çalışma Anabilim Dalımız arşivinde hasta dosyaları üzerinden yapılmıştır. Kontrol grubuna ait örnekler, çalışma için bilgi verilmesinin ardından Afyon Kocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Etik Kurulu'nun onayladığı gönüllü olur formunun imzalatılmasını takiben çalışmaya dahil edildi. Kapalı lenfosit kültürü yapıldıktan sonra karyotipleri belirlendi.

3.1. Vaka Grubunda Polimorfizmlerin Cinsiyetler Arasındaki Dağılımının Analizi

Retrospektif olarak değerlendirilen toplam 1688 olgunun yaş aralığı 17-54 olup ortalaması 28 yıldır. Toplam 80 kontrol bireyin yaş aralığı 26-70 olup ortalaması 41 yıldır. Olgu grubunda analiz edilen bireylerde tespit edilen kromozomal polimorfizmler tabloda görüldüğü gibidir (Tablo 3.1).

Tablo 3.1. Olgu grubunda analiz edilen bireylerde tespit edilen kromozomal polimorfizmler

Polimorfizm	Kadın (n=939)	%	Erkek (n=749)	%
1qh+	3	0,3	8	1,1
9qh+	170	18,1	129	17,2
inv9	11	1,2	7	0,9
13ps+	20	2,1	19	2,5
14ps+	29	3,1	19	2,5
15ps+	24	2,6	15	2,0
16qh+	3	0,3	4	0,5
21 ps+	42	4,5	32	4,3
22 ps+	18	1,9	23	3,1
Yqh+	-	-	1	0,1

Vaka gurubunda 1qh+ polimorfizmi 749 erkek bireyden 8'inde ve 939 kadın bireyden 3'ünde tespit edildi. 1qh+ varyantının varlığı yokluğu açısından tekrarlayan gebelik kaybı bulunan bireylerde kadın ve erkekler arasında fark yoktu (Tablo 3.2).

Tablo 3.2. Vaka grubunda 1qh+ varyantının cinsiyete göre dağılımı

	1qh+		Toplam	p
	Var	Vok		
Erkek	8	741	749	0,58
Kadın	3	936	939	
Toplam	11	1677	1688	

Vaka gurubunda 9qh+ polimorfizmi 749 erkek bireyden 129'ünde ve 939 kadın bireyden 170'ünde tespit edildi. 1qh+ varyantının varlığı yokluğu açısından tekrarlayan gebelik kaybı bulunan bireylerde kadın ve erkekler arasında fark yoktu (Tablo 4.3).

Tablo 3.3. Vaka grubunda 9qh+ varyantının cinsiyete göre dağılımı

	9qh+		Toplam	p
	var	yok		
Erkek	129	613	749	0,79
Kadın	170	758	939	
Toplam	299	1371	1688	

Vaka gurubunda inv9 polimorfizmi 749 erkek bireyden 7'sinde ve 939 kadın bireyden 3'ünde tespit edildi. inv9 varyantının varlığı yokluğu açısından tekrarlayan gebelik kaybı bulunan bireylerde kadın ve erkekler arasında fark yoktu (Tablo 3.4).

Tablo 3.4. Vaka grubunda inv9 varyantının cinsiyete göre dağılımı

	inv9		toplam	p
	var	yok		
Erkek	8	741	749	0,58
Kadın	3	936	939	
Toplam	11	1677	1688	

Vaka gurubunda 13ps+ polimorfizmi 749 erkek bireyden 19'unda ve 939 kadın bireyden 20'ünde tespit edildi. 13ps+ varyantının varlığı yokluğu açısından tekrarlayan gebelik kaybı bulunan bireylerde kadın ve erkekler arasında fark yoktu (Tablo 3.5).

Tablo 3.5. Vaka grubunda 13ps+ varyantının cinsiyete göre dağılımı

	13ps+		Toplam	p
	var	yok		
Erkek	19	730	749	0,58
Kadın	20	919	939	
Toplam	39	1649	1688	

Vaka gurubunda 14ps+ polimorfizmi 749 erkek bireyden 19'unda ve 939 kadın bireyden 29'ünde tespit edildi. 14ps+ varyantının varlığı yokluğu açısından tekrarlayan gebelik kaybı bulunan bireylerde kadın ve erkekler arasında fark yoktu (Tablo 3.6).

Tablo 3.6. Vaka grubunda 14ps+ varyantının cinsiyete göre dağılımı

	14ps+		Toplam	p
	var	yok		
Erkek	19	730	749	0,49
Kadın	29	910	939	
Toplam	48	1640	1688	

Vaka gurubunda 15ps+ polimorfizmi 749 erkek bireyden 15'inde ve 939 kadın bireyden 24'ünde tespit edildi. 15ps+ varyantının varlığı yokluğu açısından tekrarlayan gebelik kaybı bulunan bireylerde kadın ve erkekler arasında fark yoktu (Tablo 3.7).

Tablo 3.7. Vaka grubunda 15ps+ varyantının cinsiyete göre dağılımı

	15ps+		Toplam	p
	var	yok		
Erkek	15	734	749	0,45
Kadın	24	915	939	
Toplam	39	1649	1688	

Vaka gurubunda 16qh+ polimorfizmi 749 erkek bireyden 4'ünde ve 939 kadın bireyden 3'ünde tespit edildi. 16qh+ varyantının varlığı yokluğu açısından tekrarlayan gebelik kaybı bulunan bireylerde kadın ve erkekler arasında fark yoktu (Tablo 3.8).

Tablo 3.8. Vaka grubunda 16qh+ varyantının cinsiyete göre dağılımı

	16qh+		Toplam	p
	var	yok		
Erkek	4	745	749	0,49
Kadın	3	936	939	
Toplam	7	1681	1688	

Vaka gurubunda 21ps+ polimorfizmi 749 erkek bireyden 32'sinde ve 939 kadın bireyden 42'sinde tespit edildi. 21ps+ varyantının varlığı yokluğu açısından tekrarlayan gebelik kaybı bulunan bireylerde kadın ve erkekler arasında fark yoktu (Tablo 3.9).

Tablo 3.9. Vaka grubunda 21ps+ varyantının cinsiyete göre dağılımı

	21ps+		Toplam	p
	var	yok		
Erkek	32	717	749	0,84
Kadın	42	897	939	
Toplam	74	1614	1688	

Vaka gurubunda 22ps+ polimorfizmi 749 erkek bireyden 23'ünde ve 939 kadın bireyden 18'inde tespit edildi. 22ps+ varyantının varlığı yokluğu açısından tekrarlayan gebelik kaybı bulunan bireylerde kadın ve erkekler arasında fark yoktu (Tablo 3.10).

Tablo 3.10. Vaka grubunda 22ps+ varyantının cinsiyete göre dağılımı

	22ps+		Toplam	p
	var	yok		
Erkek	23	726	749	0,12
Kadın	18	921	939	
Toplam	41	1647	1688	

3.2. Kontrol Grubunda Polimorfizmlerin Cinsiyetler Arasındaki Dağılımının Analizi

Kontrol gurubunda analiz edilen bireylerde tespit edilen kromozomal polimorfizmler (Tablo 3.11) görüldüğü gibidir.

Tablo 3.11. Kontrol gurubunda analiz edilen bireylerde tespit edilen kromozomal polimorfizmler

Polimorfizm	Kadın (n=40)	%	Erkek (n=40)	%
1qh+	3	7,5	2	5,0
9qh+	-	-	-	-
inv9	1	2,5	-	-
13ps+	-	-	1	2,5
14ps+	-	-	2	5,0
15ps+	-	-	1	2,5
16qh+	-	-	-	-
21 ps+	1	2,5	1	2,5
22 ps+	-	-	1	2,5
Yqh+	-	-	-	-

3.3. Polimorfizmlerin Vaka ve Kontrol Grubu Arasındaki Dağılımının Analizi

Vaka gurubunda 1qh+ polimorfizmi 1688 bireyden 11'inde tespit edildi. Kontrol grubunda ise 80 bireyden hiçbirisinde tespit edilmedi. Kontrol grubunda 1qh+ varyantına hiç rastlanmadığı için istatistik değerlendirme yapılamadı (Tablo 3.12).

Tablo 3.12. Vaka- kontrol grubunda 1qh+ varyant dağılımı

	1qh+		Toplam	p
	var	yok		
Vaka	11	1677	1688	
Kontrol	0	80	80	
Toplam	11	1757	1768	

Vaka gurubunda 9qh+ polimorfizmi 1688 bireyden 300'ünde ve kontrol grubunda 80 bireyden 5'inde tespit edildi. 9qh+ varyantının varlığı yokluğu açısından tekrarlayan gebelik kaybı bulunan bireyler ile kontrol grubu arasında fark vardı. Vaka grubunda 9qh+ polimorfizmi önemli düzeyde yüksekti ($p<0,05$)(Tablo 3.13).

Tablo 3.13. Vaka-kontrol grubunda 9qh+ varyant dağılımı

	9qh+		Toplam	p
	var	yok		
Vaka	300	1387	1688	0,028
Kontrol	5	75	80	
Toplam	305	1462	1768	

Vaka gurubunda inv9 polimorfizmi 1688 bireyden 9'unda ve 80 bireyden 1'inde tespit edildi. inv9 varyantının varlığı yokluğu açısından tekrarlayan gebelik kaybı bulunan bireyler ile kontrol grubu arasında fark yoktu (Tablo 3.14).

Tablo 3.14. Vaka-kontrol grubunda inv(9) varyant dağılımı

	inv9		Toplam	p
	var	yok		
Vaka	9	1679	1688	0,40
Kontrol	1	79	80	
Toplam	10	1758	1768	

Vaka gurubunda 13ps+ polimorfizmi 1688 bireyden 39'unda ve kontrol grubunda 80 bireyden 1'inde tespit edildi. 13ps+ varyantının varlığı yokluğu açısından tekrarlayan gebelik kaybı bulunan bireyler ile kontrol grubu arasında fark yoktu (Tablo 3.15).

Tablo 3.15. Vaka- kontrol grubunda 13ps+ varyant dağılımı

	13ps+		Toplam	p
	var	yok		
Vaka	39	1649	1688	0,53
Kontrol	1	79	80	
Toplam	40	1728	1768	

Vaka gurubunda 14ps+ polimorfizmi 1688 bireyden 48'inde ve kontrol grubunda 80 bireyden 2'sinde tespit edildi. 14ps+ varyantının varlığı yokluğu açısından tekrarlayan gebelik kaybı bulunan bireyler ile kontrol grubu arasında fark yoktu (Tablo 3.16).

Tablo 3.16. Vaka-kontrol grubunda 14ps+ varyant dağılımı

	14ps+		Toplam	p
	var	yok		
Vaka	48	1640	1688	0,85
Kontrol	2	78	80	
Toplam	50	1718	1768	

Vaka gurubunda 15ps+ polimorfizmi 1688 bireyden 39'unda ve kontrol grubunda 80 bireyden 1'inde tespit edildi. 15ps+ varyantının varlığı yokluğu açısından tekrarlayan gebelik kaybı bulunan bireyler ile kontrol grubu arasında fark yoktu (Tablo 3.17).

Tablo 3.17. Vaka- kontrol grubunda 15ps+ varyant dağılımı

	15ps+		Toplam	p
	var	yok		
Vaka	39	1649	1688	0,53
Kontrol	1	79	80	
Toplam	40	1728	1768	

Toplam	40	1728	1768
--------	----	------	------

Vaka gurubunda 16qh+ polimorfizmi 1688 bireyden 7'sinde tespit edildi, kontrol grubunda tepit edilmedi. Kontrol grubunda 16qh+ varyantına hiç rastlanmadığı için istatistik değerlendirme yapılamadı (Tablo 3.18).

Tablo 3.18. Vaka-kontrol grubunda 16qh+ varyant dağılımı

	16ps+		Toplam	p
	var	yok		
Vaka	7	1681	1688	
Kontrol	0	80	80	
Toplam	7	1761	1768	

Vaka gurubunda 21ps+ polimorfizmi 1688 bireyden 74'ünde ve kontrol grubunda 80 bireyden 2'sinde tespit edildi. 21ps+ varyantının varlığı yokluğu açısından tekrarlayan gebelik kaybı bulunan bireyler ile kontrol grubu arasında fark yoktu (Tablo 3.19).

Tablo 3.19. Vaka- kontrol grubunda 21ps+ varyant dağılımı

	21ps+		Toplam	p
	var	yok		
Vaka	74	1614	1688	0,41
Kontrol	2	18	80	
Toplam	76	1692	1768	

Vaka gurubunda 22ps+ polimorfizmi 1688 bireyden 41'inde ve kontrol grubunda 80 bireyden 1'inde tespit edildi. 22ps+ varyantının varlığı yokluğu açısından tekrarlayan gebelik kaybı bulunan bireyler ile kontrol grubu arasında fark yoktu (Tablo 3.20).

Tablo 3.20. Vaka- kontrol grubunda 22ps+ varyant dağılımı

	21ps+		Toplam	p
	var	yok		

Vaka	41	1614	1688	0,49
Kontrol	1	79	80	
Toplam	42	1726	1768	

Vaka grubunda Yqh+ polimorfizmi 749 erkek bireyden 1'inde tespit edildi.

3.4. Polimorfizmlerin Vaka ve Kontrol Grubunda Çiftler Arasındaki Dağılımının Analizi

Vaka gurubunda 665 kontrol grubunda ise 40 çift değerlendirmeye alınmıştır. Vaka grubunda 1qh+ varyantı 6 çiftte tek kopya, 2 çiftte biri kadında biri erkekte olmak üzere çift kopya halinde tespit edildi. Kontrol grubunda 1qh+ tespit edilmedi (Tablo 3.21). Kontrol grubunda 1qh+ varyantına hiç rastlanmadığı için istatistik değerlendirme yapılamadı.

Tablo 3.21. Vaka-kontrol grubunda çiftlerde 1qh+ varyant dağılımı

	1qh+			Toplam	p
	Yok	Tek kopya	Çift kopya		
Vaka	657	6	2	665	
Kontrol	40	0	0	40	
Toplam	697	6	2	705	

Vaka grubunda 9qh+ varyantı 163 çiftte tek kopya, 37 çiftte biri kadında biri erkekte olmak üzere çift kopya halinde tespit edildi. Kontrol grubunda 9qh+ 5 çiftte tek kopya tespit edildi (Tablo 3.22). 9qh+ varyantının varlığı yokluğu açısından tekrarlayan gebelik kaybı bulunan çiftler ile kontrol grubu arasında fark vardı. Vaka grubunda 9qh+ polimorfizmi önemli düzeyde yüksekti ($p<0,05$)(Tablo 3.13).

Tablo 3.22. Vaka-kontrol grubunda çiftlerde 9qh+ varyant dağılımı

	9qh+			Toplam	p
	Yok	Tek kopya	Çift kopya		
Vaka	465	163	37	665	0,046
Kontrol	35	5	0	40	
Toplam	500	168	37	705	

Vaka grubunda inv9 varyantı 8 çiftte tek kopya, biri kadında biri erkekte olmak üzere 1 çiftte iki kopya halinde tespit edildi. Kontrol grubunda bir çiftte bir kopya tespit edildi. Gruplar arasında değerlendirilen çiftlerde inv9 varyantının dağılımında fark yoktu (Tablo 3.23).

Tablo 3.23. Vaka-kontrol grubunda çiftlerde inv9 varyant dağılımı

	inv9			Toplam	p
	Yok	Tek kopya	Çift kopya		
Vaka	656	8	1	665	0,75
Kontrol	39	1	0	40	
Toplam	695	9	1	705	

Vaka grubunda 13ps+ varyantı 30 çiftte tek kopya, biri kadında biri erkekte olmak üzere 1 çiftte iki kopya halinde tespit edildi. Kontrol grubunda bir çiftte bir kopya tespit edildi. Vaka ve kontrol grubunda değerlendirilen çiftlerde 13ps+ varyantının dağılımında fark yoktu (Tablo 3.24).

Tablo 3.24. Vaka-kontrol grubunda çiftlerde 13ps+ varyant dağılımı

	13ps+			Toplam	p
	Yok	Tek kopya	Çift kopya		
Vaka	634	30	1	665	0,80
Kontrol	39	1	0	40	
Toplam	673	1	1	705	

Vaka grubunda 14ps+ varyantı 33 çiftte tek kopya tespit edildi. Kontrol grubunda iki çiftte tek kopya tespit edildi. Vaka ve kontrol grubunda değerlendirilen çiftlerde 14ps+ varyantının dağılımında fark yoktu (Tablo 3.25).

Tablo 3.25. Vaka-kontrol grubunda çiftlerde 14ps+ varyant dağılımı

	14ps+			Toplam	p
	Yok	Tek kopya	Çift kopya		
Vaka	632	33	0	665	0,99
Kontrol	38	2	0	40	
Toplam	670	35	0	705	

Vaka grubunda 15ps+ varyantı 31 çiftte tek kopya tespit edildi. Kontrol grubunda bir çiftte tek kopya tespit edildi. Vaka ve kontrol grubunda değerlendirilen çiftlerde 14ps+ varyantının dağılımında fark yoktu (Tablo 3.26).

Tablo 3.26. Vaka-kontrol grubunda çiftlerde 15ps+ varyant dağılımı

	15ps+			Toplam	p
	Yok	Tek kopya	Çift kopya		
Vaka	634	31	0	665	0,52
Kontrol	39	1	0	40	
Toplam	673	32	0	705	

Vaka grubunda 16ps+ varyantı 4 çiftte tek kopya tespit edildi. Kontrol grubunda bir çiftte bir kopya tespit edildi. Vaka ve kontrol grubunda değerlendirilen çiftlerde 16ps+ varyantının dağılımında fark yoktu (Tablo 3.27).

Tablo 3.27. Vaka-kontrol grubunda çiftlerde 16qh+ varyant dağılımı

	16ps+			Toplam	p
	Yok	Tek kopya	Çift kopya		
Vaka	661	4	0	665	-
Kontrol	40	0	0	40	
Toplam	701	4	0	705	

Vaka grubunda 21ps+ varyantı 50 çiftte tek kopya tespit edildi. Kontrol grubunda 2 çiftte bir kopya tespit edildi. Vaka ve kontrol grubunda değerlendirilen çiftlerde 21ps+ varyantının dağılımında fark yoktu (Tablo 3.28).

Tablo 3.28. Vaka-kontrol grubunda çiftlerde 21ps+ varyant dağılımı

	21ps+			Toplam	p
	Yok	Tek kopya	Çift kopya		
Vaka	613	50	2	665	0,78
Kontrol	38	2	0	40	
Toplam	651	52	2	705	

Vaka grubunda 22ps+ varyantı 32 çiftte tek kopya tespit edildi. Kontrol grubunda 1 çiftte bir kopya tespit edildi. Vaka ve kontrol grubunda değerlendirilen çiftlerde 22ps+ varyantının dağılımında fark yoktu (Tablo 3.29).

Tablo 3.29. Vaka-kontrol grubunda çiftlerde 22ps+ varyant dağılımı

	22ps+			Toplam	p
	Yok	Tek kopya	Çift kopya		
Vaka	633	32	0	665	0,50
Kontrol	39	1	0	40	
Toplam	672	33	0	705	

Vaka gurubunda çiftlerde polimorfizmlerden herhangi biri 665 çiftten 305'inde ve kontrol grubunda 40 çiftten 12'sinde tespit edildi. Herhangi bir polimorfik varyantının varlığı yokluğu açısından vaka ile kontrol grubunda çiftler arasında fark vardı. Vaka grubunda polimorfizm bulunma sıklığı önemli düzeyde yüksekti ($p<0,05$)(Tablo 3.30).

Tablo 3.30. Vaka ve kontrol grubunda çiftlerde herhangi bir polimorfik varyantın dağılımı

	Var	Yok	Toplam	p
Vaka	305	360	665	0,045
Kontrol	12	28	40	
Toplam	317	388	705	

Vaka gurubunda polimorfizmlerden herhangi biri 1688 bireyden 488'inde ve kontrol grubunda 80 bireyden 13'ünde tespit edildi. Herhangi bir polimorfik varyantının varlığı yokluğu açısından vaka ve kontrol grubu arasında fark vardı. Vaka grubunda polimorfizm bulunma sıklığı önemli düzeyde yüksekti ($p<0,05$)(Tablo 3.31).

Tablo 3.31. Vaka ve kontrol grubundaki bireylerde herhangi bir polimorfik varyantın dağılımı

	Var	Yok	Toplam	p
Vaka	488	1200	1688	0,014
Kontrol	13	67	80	
Toplam	501	1267	1768	

4. TARTIŞMA

Gebeliğin kendiliğinden ya da istemli olarak viabiliteden önce sonlanması gebelik kaybı yada abortus olarak tanımlanır. Hastanın kendisinin veya bir hekimin müdahalesi olmadan kendiliğinden olan gebelik kayıpları spontan abortus, birbirini izleyen iki ya da daha fazla gebeliğin 20. gebelik haftasından önce spontan olarak sonlanması ise tekrarlayan gebelik kaybı (habituel abortus) olarak adlandırılır. TKG canlı doğumu takiben gelişirse sekonder, hiç başarılı gebelik öyküsü yoksa primer TKG olarak isimlendirilir. Farklı kaynaklarda değişik oranlar bildirilmekle birlikte gebelik kayıplarının %1-5'inde tekrarlayan gebelik kaybı görülmektedir (Stephanson, 1996; Carrington ve ark., 2005; Sierra ve Stephenson, 2006; Ketten ve ark., 2015; Silver ve ark., 2011; Gönüllü, 2013)

Tekrarlayan gebelik kaybı, çocuk sahibi olmaya çalışan aileleri etkileyen ciddi bir sağlık sorunudur. Tekrarlayan gebelik kaybının nedenini tek bir faktörle açıklamak mümkün değildir. Birden fazla risk faktörünün bulunmasından dolayı tekrarlayan gebelik kaybı etyolojisi multifaktöryel bir patolojidir (Christiansen ve ark., 1990; Christiansen, 1997)

Spontan abortusların çoğundan fetusa ait kromozom anomalileri sorumludur. (Sierra ve Stephenson, 2006). Floresan in situ hibridizasyon (FISH) veya komperatif genomik hibridizasyon (CGH) gibi tekniklerin gelişmesi ile spontan erken gebelik kayıplarının %75'inden kromozomal anomalilerin sorumlu olduğu gösterilmiştir. Fetal kromozom anomalilerinin %90'dan fazlası sayısal anomalilerdir. Geri kalan kısmını ise yapısal anomaliler ve mozaizm oluşturmaktadır (Fritz ve ark., 2001; Philipp ve ark., 2003).

Parental kromozom anomalileri TKG etiyolojisinde yer alan önemli genetik nedenlerden biridir (Flynn Yan ve ark., 2016).

Farklı çalışmalarda tekrarlayan gebelik kaybında gözlenen kromozom anomali frekansı farklılık gösterse de genel populyasyondan daha yüksek olarak saptandığı açıktır (Ghazaey ve ark., 2015).

Çalışmamızda retrospektif olarak değerlendirilen vaka grubunda 1688 olgudan 320'si (%34,1) kadın, 256'sı erkek (%34,2) olmak üzere toplam 576 (%34,1) hastada polimorfik varyant tespit edilmiştir. Çalışmamızda tespit edilen polimorfik varyantlar, içinde

en yüksek sıklıkta karşılaşılan kadınlarda 170 (%18,1) ve erkeklerde 129 (17,1) olmak üzere 9qh+ polimorfizmi olmuştur. Bu yönüyle çalışmamız literatürdeki pek çok çalışma ile uyumlu olmakla (De la Fuente-Cortés ve ark., 2009; Akbaş ve ark., 2012; Şipek ve ark., 2014) birlikte, çalışma verilerimiz Afyonkarahisar yöresinde 9qh+ polimorfizminde bir yığılma olduğunu da ortaya koymaktadır.

Değerlendirdiğimiz tüm polimorfizmlerin sıklıklarını TGK öyküsü bulunan kadınlar ve erkekler arasında karşılaştırdığımızda fark olmadığını gördük. Çalışma verilerimiz bu yönüyle literatür ile büyük ölçüde uyumludur (Mierla ve Stoian, 2012; Şipek ve ark., 2014). Ancak Sheth ve ark.'nın çalışmasında kadınlara erkeklerde göre önemli düzeyde yüksek polimorfik varyant bildirilmiştir (Sheth ve ark., 2013). Bu durum çalışmada kadın ve erkek olgular arasındaki sayısal dengesizlikten kaynaklanmış olabilir. Bununla birlikte Akbaş ve ark.'da tekrarlayan gebelik kaybına ilişkin yaptıkları çalışmada olgu grubunda erkek bireylerde heterokromatin polimorfizmlerinin kadınlara oranla önemli düzeyde yüksek, kontrol grubunda ise farksız bulunduğunu bildirmişlerdir (Akbaş ve ark., 2012).

Çalışma verilerimiz vaka ve kontrol grubu arasında her bir kromozomal varyant açısından tek tek analiz edildiğinde herhangi bir farklılık tespit edilmemiştir. Bununla birlikte yüzdeler olarak değerlendirildiğinde polimorfik varyantların vaka grubunda kontrol grubuna oranla bir artış eğilimi gösterdiği izlenmektedir. Ancak bu artış istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç ortaya koyamamıştır. Bu durumun tez çalışmamızın kontrol grubundaki sayısal eksiklikten kaynaklandığını düşünmekteyiz. Polimorfik varyantların tekrarlayan gebelik kaybı vakalarında gösterdiği sapmaya ilişkin literatür verileri değişkendir (Yuce ve ark., 2007; Sahin ve ark., 2008). Yapılan bir çalışmada 16qh+ polimorfizmlerinin tekrarlayan gebelik kayıpları ve infertiliteye sebep olabileceği ileri sürülmüştür (Chatzimeletiou ve ark., 2006). Yine Tekrarlayan gebelik kaybı ve infertilite vakalarında yapılan bir çalışmada (842 çift) heterokromatin bölgelerdeki polimorfik varyantların vakalarda yüksek oranda tespit edildiği bildirilmiştir (Madon ve ark., 2005; Chatzimeletiou ve ark., 2006). Vaka ve kontrol grubu çiftler halinde değerlendirmeye tabi tutulduğunda ise; toplam kromozom varyasyonlarının varlığı-yokluğu açısından gruplar arasında anlamlı fark tespit edilmiştir. Vaka grubunda herhangi bir kromozomal polimorfizmin varlığı kontrol grubuna göre önemli düzeyde yüksekti ($p < 0,05$). Bu veri beklendiği üzere kromozomal polimorfizmler ile

tekrarlayan gebelik kaybının ilişkisi için kuvvetli bir kanıttır (Madon ve ark., 2005). Özellikle heterokromatin bölgedeki polimorfizmlerin gebelik kayıpları ile kuvvetli asosiasyon gösterdiğine ilişkin kanıtlar ortaya koyan pek çok çalışma bulunmaktadır (Makino ve ark., 1990; Düzcan ve ark., 2003; Sahin ve ark., 2008; De la Fuente- Cortés ve ark., 2009; Caglayan ve ark., 2010).

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

2007-2017 yılları arasında Afyon Kocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı'na tekrarlayan gebelik kaybı ile başvuran 1688 olgunun (bu olgulardan 706'sı çift olarak da değerlendirildi) ve herhangi bir kalıtsal hastalığı olmayan, akraba evliliği yapmamış, sağlıklı çocuk sahibi olabilen, düşük ve/veya ölü doğum öyküsü bulunmayan 40 çiftin konvensiyonel sitogenetik analiz sonuçları kromozomal polimorfizmler açısından değerlendirilmiştir. Çalışmamızda yapısal ve sayısal anomaliler değerlendirme dışı bırakılmış yalnız kromozomal varyantlar üzerine yoğunlaşmıştır.

Tekrarlayan gebelik kaybı çocuk sahibi olmak isteyen aileler için yıkıcı bir süreçtir. Pek çok etkene bağlı olarak gelişebilen bu durumu değerlendirmek ayrıntılı anamnez, fizik muayene ve gerekli tetkikler ile bütüncül bir bakış açısı gerektirir. Özellikle ilk trimesterde oluşan tekrarlayan gebelik kayıplarında genetik anormalliklerin etiyolojide en önemli etken olduğu bildirilmektedir.

Çalışmamız Afyonkarahisar bölgesinde tekrarlayan gebelik kayıplarının insidansının saptanması ve genetik bileşeninin değerlendirilmesi açısından önemlidir. Çalışma sonuçlarımız rutin olarak uygulanmakta olan tekrarlayan gebelik kayıplı çiftlerde sitogenetik analizlerin gerekliliğini ve geçerliliğini ortaya koymuştur. Elde edilen verilerin çiftlerin sonraki gebeliklerinin prognozu açısından yol gösterici olacağı düşünülmektedir. Bununla birlikte çalışmamızın daha geniş vaka ve kontrol serileri ile karşılaştırmalı olarak genişletilmesi ve yeni teknolojilerle elde edilecek olan verilerle ileri araştırmalara kaynak olabileceği kanaatindeyiz.

ÖZET

Abortus gebeliğin 20. haftasından önce embriyonun, uterustan spontan olarak atılmasıdır. Tekrarlayan gebelik kaybı (TGK) ard arda iki ya da daha fazla gebeliğin abortus ile sonuçlanmasıdır. Genel popülasyonda ilk trimester gebeliklerin yaklaşık %10-15'i spontan abortus ile sonuçlanır. Tekrarlayan gebelik kaybı ise %1-2 sıklıkla meydana gelir. Genel olarak TGK'nın etiolojisinde %2-5 arasında genetik nedenler bulunmaktadır. İlk trimester TGK'nın %60'ı, 2. Trimester TGK'nın %10-15'i, 3. trimester ölü doğumların %5'inden kromozom anomalilerinin sorumlu olduğu bildirilmiştir.

Retrospektif vaka taraması ve sağlıklı kontrol grubu ile yaptığımız çalışmamızda; 2007-2017 yılları arasında, tekrarlayan gebelik kaybı nedeniyle Afyon Kocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalına başvuran bireylerde yapılan sitogenetik analizlerin değerlendirilmesi amaçlandı. İki ya da daha fazla tekrarlayan gebelik kaybı olan 1688 olgu klinik ve sitogenetik verileriyle birlikte değerlendirildi. Vaka grubu ile birlikte bilinen herhangi bir kalıtsal hastalığı olmayan, akraba evliliği yapmamış, sağlıklı çocuk sahibi olabilen, düşük ve/veya ölü doğum öyküsü bulunmayan 40 çiftin de sitogenetik analiz sonuçları değerlendirildi.

Vaka grubunda 488 bireyin (%28.9), kontrol grubunda 13 bireyin (%16.2) polimorfik kromozom varyant taşıdığı gözlemlendi. Sonuçlarımız analiz edildiğinde tekrarlayan gebelik kaybı ile kromozom polimorfizmlerinin assosiyasyon gösterdiği belirlenmiştir. Tekrarlayan gebelik kaybı olan çiftlere karyotip analizinin yapılması çiftlerin sonraki gebeliklerinin prognozu açısından yol gösterici olacaktır.

Anahtar Kelimeler: Sitogenetik, Tekrarlayan gebelik kaybı, Polimorfik kromozom varyantları

ABSTRACT

Abortus is the spontaneous excretion of the embryo from the uterus before the 20th week of pregnancy. Recurrent pregnancy loss (RPL) is two or more consecutive pregnancies resulting in abortion. Approximately 10 -15% of first trimester pregnancies in the general population result in spontaneous abortion. And recurrent pregnancy loss occurs 1-2% frequently. Generally, there are 2 to 5% genetic causes in the etiology of RPL. It has been reported that chromosomal anomalies are responsible for 60% of first trimester RPL, 10-15% of second trimester RPL and 5% of third trimester stillbirths.

In our study with retrospective case screening and healthy control group; the aim was to evaluate the cytogenetic analysis of individuals who admitted to Afyon Kocatepe University Medical Faculty Medical Genetics Department between 2007-2017. 1688 cases with two or more recurrent pregnancies were evaluated with clinical and cytogenetic data. Cytogenetic analysis results of 40 pairs with no familial disease, no consanguineous marriages, healthy children and no history of miscarriage and / or stillbirth were also evaluated.

It was observed that 488 individuals (28.9%) had polymorphic chromosome variants in the case group and 13 (16.2%) patients in the control group. When our results were analyzed, it was determined that recurrent pregnancy loss and chromosomal polymorphisms were found to be correlated. Karyotype analysis for couples with recurrent pregnancy loss will guide the prognosis of subsequent pregnancies of couples.

Keywords: Cytogenetics, Recurrent pregnancy loss, Polymorphic chromosome variants

6. KAYNAKLAR

1. ABEL, EL. (1997). Maternal alcohol consumption and spontaneous abortion. *Alcohol and Alcoholism*, **32**:211-219.
2. AMERICAN COLLEGE OF OBSTETRICIANS AND GYNECOLOGISTS (2002). ACOG practice bulletin. Management of recurrent pregnancy loss. Number 24, February 2001. (Replaces Technical Bulletin Number 212, September 1995). American College of Obstetricians and Gynecologists. *Int J Gynaecol Obstet*, **78**(2):179-90
3. AJAYI, OO., CHARLES-DAVIES, MA., ARINOLA, OG. (2012). Progesterone, selected heavy metals and micronutrients in pregnant Nigerian women with a history of recurrent spontaneous abortion. *Afr Health Sci*, **12**: 153-159
4. AKBAS, H., ISI, H., ORAL, D., TÜRKYILMAZ, A., KALKANLI, T. S., ŞİMŞEK, S., BALKAN, M., SAKAR, M.N., FIDANBOY, M., ALP, M.N., BUDAK, T. (2012). Chromosome heteromorphisms are more frequent in couples with recurrent abortions. *Genetics and Molecular Research*, **11** (4): 3847-3851
5. RAO BABU V., KERKETTA L., KORGAONKAR S., GHOST K. (2006). Pericentric inversion of chromosome 9 [inv(9) (p12q13)]: Its association with genetic diseases. *Indian Journal of Human Genetics*, **13**(1): 26–29.
6. BAJEKAL, N., LI, TC. (2000). Fibroids, infertility and pregnancy wastage. *Hum Reprod Update* **6**:614-620.
7. BARDOS, J., HERCZ, D., FRIEDENTHAL, J., MISSMER, SA., WILLIAMS, Z. (2015). A national survey on public perceptions of miscarriage. *Obstet Gynecol*, **125**: 1313-1320.
8. BASARAN, N. Tıbbi Genetik. 6. Baskı, Eskişehir: Bilim Teknik Yayın evi, 1996
9. BHATTACHARYA, S., TOWNEND, J. (2010). Recurrent miscarriage: Are three miscarriages one too many? Analysis of a Scottish population-based database of 151,021 pregnancies. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, **150**: 24- 27.
10. BRIER, N. (2008). Grief following miscarriage: a comprehensive review of the literature. *J Womens Health (Larchmt)*, **17**: 451-464.
11. BURTON, G., HEMPSTOCK, J., JAUNIAUX, E. (2001). Nutrition of the human fetus during the first trimester—a review. *Placenta*, **22**:S70-S76.
12. BUSSEN, S., SUTTERLIN, M., STECK, T. (1999). Endocrine abnormalities during the follicular phase in women with recurrent spontaneous abortion. *Hum Reprod*, **14**:18-20.
13. CARRELL, D., WILCOX, AL., LOWY, L., PETERSON, CM., JONES, KP., ERICKSON, L., CAMPBELL, B., BRANCH, DW., HATASAKA, HH. (2003). Elevated sperm chromosome aneuploidy and apoptosis in patients with unexplained recurrent pregnancy loss. *Obstet Gynecol*, **101**: 1229–1235.
14. CARRINGTON, B., SACKS, G., REGAN, L. (2005). Recurrent miscarriage: pathophysiology and outcome. *Curr Opin Obstet Gynecol*, **17**:591-7.
15. CAUCHI, MN., PEPPERELL, R., KLOSS, M., LIM, D. (1991). Predictors of pregnancy success in repeated miscarriage. *Am J Reprod Immunol*, **26**: 72-75.

16. CHATZIMELETIOU, K., TAYLOR, J., MARKS, K., GRUDZINSKAS, J.G., HANDYSIDE, AH. (2006). Paternal inheritance of a 16qh- polymorphism in a patient with repeated IVF failure. *Reproductive BioMedicine*, **13**: 864-867.
17. CHRISTIANSEN, OB., MALTHIESEN, O., LAURITSEN, JG., GRUNNET, N. (1990). Idiopathic recurrent spontaneous abortion. Evidence of a familial predisposition. *Acta Obstet Gynecol Scand*, **69**: 597-601
18. CHRISTIANSEN, OB. (1997). Epidemiological, immunogenetic and immunotherapeutic aspects of unexplained recurrent miscarriage. *Dan Med Bull*, **44**:396-424
19. CNATTINGIUS, S., SIGNORELLO, LB., ANNEREN, G. (2000). Caffeine intake and the risk of first-trimester spontaneous abortion. *N Engl J Med*, **343**: 1839-1845.
20. COCKWELL, AE., JACOBS, PA., BEAL, SJ. (2003). A study of cryptic terminal chromosome rearrangements in recurrent miscarriage couples detects unsuspected acrocentric pericentromeric abnormalities. *Colla JA Hum Genet*. **112(3)**:298-302
21. CUNNINGHAM, F. G., LEVENO, K. L., BLOOM, S. L., HAUTH, J. C., ROUSE, D., SPONG, C. Y. (2010). Williams Obstetrics. 23 th edition. NEW YORK, NY: McGraw-Hill, Chapter 9.
22. DE LA FUENTE-CORTES, B. RICARDO, E., CERDA-FLORES, M., DAVILA-RODRIGUEZ, MI., GARCIA-VIELMA, C., DE LA ROSA, ALVARADO, RM., CORTES-GUTIÉRREZ, EL. (2009). Chromosomal abnormalities and polymorphic variants in couples with repeated miscarriage in Mexico. *Reproductive BioMedicine Online*, **18(4)**:543-8.
23. DE LA ROCHEBROCHARD, E., THONNEAU, P. (2002). Paternal age and maternal age are risk factors for miscarriage; results of a multicentre European study. *Hum Reprod*, **17(6)**:1649-56. 21
24. DE LA CALLE, M., USANDIZAGA, R., SANCHA, M. (2003). Homocysteine, folic acid and B-group vitamins in obstetrics and gynaecology. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, **107**:125-134.
25. DERKSEN, RHW. (2008). Groot PhG. The obstetric antiphospholipid syndrome. *J Reprod Immunol*, **77**:41-50.
26. DOMINGUEZ-ROJAS, V., DE JUANES-PARDO, JR., ASTASIO-ARBIZA, P. (1994). Spontaneous abortion in a hospital population: are tobacco and coffee intake risk factors? *Eur J Epidemiol*, **10**: 665-668
27. ESHRE (Early Pregnancy Guidline Development Group Guideline of the European Society of Human Reproduction and Embryology) Recurrent Pregnancy Loss November 2017
28. EDMONDS, DK., LINDSAY, KS., MILLER, JF. Early embryonic mortality in women. (1982). *Fertil Steril*, **38**:447-53.
29. EL HACHEM, H., CREPAUX, V., MAY-PANLOUP, P., DESCAMPS, P., LEGENDRE, G., BOUET, PE. (2017). Recurrent pregnancy loss: current perspectives. *Int J Womens Health*, **9**:331-345.
30. FAN, W., LI
31. LI, S., HUANG, Z., CHEN, Q. (2014). Relationship between HLA-G polymorphism and susceptibility to recurrent miscarriage: a meta-analysis of non-family-based studies. *J Assist Reprod Genet*, **31(2)**: 173-184.

32. FRANSSEN, MT., KOREVAAR, JC., LESCHOT, NJ., BOSSUYT, PM., KNEGT, AC., GERSSEN-SCHOORL, KB. (2005). Selective chromosome analysis in couples with two or more miscarriages. *BMJ*, **331**: 137–41
33. FRITZ, B., HALLERMANN, C., OLERT, J., FUCHS, B., BRUNS, M., ASLAN, M., SCHMIDT, S., COERDT, W., MUNTEFERING, H., REHDER, H. (2001). Cytogenetic analyses of culture failures by comparative genomic hybridisation (CGH)-Re-evaluation of chromosome aberration rates in early spontaneous abortions. *Eur J Hum Genet*, **9**:539-547.
34. FORD, HB., SCHUST, DJ. (2009). Recurrent pregnancy loss: etiology, diagnosis, and therapy. *Rev Obstet Gynecol*, **2**: 76- 83.
35. FOX-LEE, L., SCHUST, DJ. (2007). Recurrent pregnancy loss. In: Berek JS, ed. *Berek and Novak's Gynecology*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins;:1277-1322.
36. GERSEN, S., KEAGLE, MB. (2005). Cytogenetics of spontaneous abortion, The principles of clinical cytogenetics. Humana press, Totowa NJ, 2 nd ed.page: 327
37. GLUECK, CJ., WANG, P., GOLDENBERG, N., SIEVE-SMITH, L. (2002). Pregnancy outcomes among women with polycystic ovary syndrome treated with metformin. *Hum Reprod*, **17**:2858-2864.
38. GRANDE, M., BORRELL, A., GARCIA-POSADA, R., BOROBİO, V., MUNOZ, M., CREUS, M., SOLER, A., SANCHEZ, A., BALASCH, J. (2012). The effect of maternal age on chromosomal anomaly rate and spectrum in recurrent miscarriage. *Hum Reprod*, **27**: 3109- 3117
39. GREER, IA. (2003). Thrombophilia: implications for pregnancy outcome. *Thromb Res*, **109**:73-81.
40. GRIMBIZIS, GF., CAMUS, M., TARLATZIS, BC. (2001). Clinical implications of uterine malformations and hysteroscopic treatment results. *Hum Reprod Update*, **7**:161-174.
41. HAAS, DM., RAMSEY, PS. (2008). Progestogen for preventing miscarriage. *Cochrane Database Syst Rev*, **(2)**:CD003511.
42. HABBEMA, JD., EİJKEMANS, MJ., LERİDON, H., TE VELDE, ER. (2015). Realizing a desired family size: when should couples start? *Hum Reprod*, **30**: 2215-2221
43. KETEN, H.S., GENCOGLAN, S., DALGACI, A. F., AVCI, F., SATAN, Y., OLMEZ, S., CELIK, M. (2015). Gebelik Kaybı Sonrası Akut Stres Bozukluğunun Değerlendirilmesi. *Çukurova Medical Journal*, **40(2)**:226-232.
44. KETEN, H.S., GENCOGLAN, S., DALGACI, A. F., AVCI, F., SATAN, Y., OLMEZ, S., CELIK, M. (2015). Evaluation of Acute Stress Disorder following Pregnancy Losses. *Cukurova Medical Journal*, **40:2** 226-232
45. HYDE, KJ., SCHUST, DJ. (2015). Genetic considerations in recurrent pregnancy loss. *Cold Spring Harb Perspect Med*, **5(3)**:a023119
46. JEONG, SY., KIM, BY., YU, JE. (2010). De Novo pericentric inversion of chromosome 9 in congenital anomaly. *Yonsei Med J*, **51**:775-80
47. KAANDORP, SP., VAN MENS, TE., MIDDELDORP, S. (2014). Time to conception and time to live birth in women with unexplained recurrent miscarriage. *Hum Reprod*, **29(6)**:1146–1152.

48. KLINE, J., LEVIN, B., KINNEY, A. (1995). Cigarette smoking and spontaneous abortion of known karyotype: precise data but uncertain inferences. *Am J Epidemiol*, **141**:417-427.
49. KOLTE, AM., OLSEN, LR., MIKKELSEN, EM., CHRISTIANSEN, OB., NIELSEN, HS. (2015). Depression and emotional stress is highly prevalent among women with recurrent pregnancy loss. *Hum Reprod*, **30**: 777-782
50. KOVALEVSKY, G., GRACIA, CR., BERLIN, JA. (2004). Evaluation of the association between hereditary thrombophilias and recurrent pregnancy loss. *Arch Intern Med*, **164**:558-563.
51. KUSHNIR, VA., SCOTT, RT., FRATTARELLI, JL. (2010). The impact of paternal age on aneuploidy rates in first trimester pregnancy loss. *J Med Genet Genomics*, **2**: 38-43.
52. KUTTEH, WH., YETMAN, DL., CARR, AC. (1999). Increased prevalence of antithyroid antibodies identified in women with recurrent pregnancy loss but not in women undergoing assisted reproduction. *Fertil Steril*, **71**:843-848.
53. LANE, DA., GRANT, PJ. (2000). Role of hemostatic gene polymorphisms in venous and arterial thrombotic disease. *Blood*, **95**:1517-1532.
54. LARSEN, EC., CHRISTIANSEN, OB., KOLTE, AM., MACKLON, N. (2013). New insights into mechanisms behind miscarriage. *BMC Med*, **11**: 154
55. LI, W., NEWELL-PRICE, J., JONES, GL., LEDGER, WL., LI, TC. (2012). Relationship between psychological stress and recurrent miscarriage. *Reprod Biomed Online*, **25**: 180-189.
56. LIN, PC. (2004). Reproductive outcomes in women with uterine anomalies. *J Womens Health*, **13**:33-39.
57. LUND, M., KAMPER-JORGENSEN, M., NIELSEN, HS., LIDEGAARD, O., ANDERSEN, AM., CHRISTIANSEN, OB. (2012). Prognosis for live birth in women with recurrent miscarriage: what is the best measure of success? *Obstet Gynecol*, **119**: 37-43
58. MACKLON, NS., GERAEDTS, JPM., FAUSER, BCJM. (2002). Conception to ongoing pregnancy: the "black box" of early pregnancy loss. *Hum Reprod Update*, **8**:333-343.
59. MADON, PF., ATHALYE, AS., PARIKH, FR. (2005). Polymorphic variants on chromosomes probably play a significant role in infertility. *Reproductive BioMedicine Online*, **11**:726-732.
60. MARQUARD, K., WESTPHAL, LM., MILKI, AA., LATHI, RB. (2010). Etiology of recurrent pregnancy loss in women over the age of 35 years. *Fertil Steril*, **94**: 1473-1477.
61. MEULEMAN, T., LASHLEY, LE., DEKKERS, OM., VAN LITH, JM., CLAAS FH., BLOEMENKAMP KW. (2015). HLA associations and HLA sharing in recurrent miscarriage: a systematic review and meta-analysis. *Hum Immunol*, **76(5)**:362-373.
62. MIERLA, D., STOIAN, V. (2012). Chromosomal polymorphisms involved in reproductive failure in the romanian population. *Balkan Journal of Medical Genetics*, **15(2)**: 23-28.
63. MILLS, JL., SIMPSON, JL., DRISCOLL, SG. (1988). Incidence of spontaneous abortion among normal women and insulin-dependent diabetic women whose pregnancies were identified within 21 days of conception. *N Engl J Med*, **319**:1617-1623
64. MILLS, JL., HOLMES, LB., AARONS, JH. (1993). Moderate caffeine use and the risk of spontaneous abortion and intrauterine growth retardation. *JAMA*, **269**:593-597.

65. SARAN, N., KUMAR, B., KUMAR, A. (2017). Chromosomal Heteromorphisms and Karyotype Abnormalities in Humans. *Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci*, **6(5)**: 2940-2953.
66. NELSON, DB., GRISSO, JA., JOFFE, MM., BRENSINGER, C., SHAW, L., DATNER, E. (2003). Does stress influence early pregnancy loss? *Ann Epidemiol*, **13**: 223-229.
67. NEPOMNASCHY, PA., WELCH, KB., MCCONNELL, DS., LOW, BS., STRASSMANN, BI., ENGLAND, BG. (2006). Cortisol levels and very early pregnancy loss in humans. *Proc Natl Acad Sci USA*, **103**: 3938-3942.
68. NESS RB., GRISSO JA., HIRSCHINGER N. (1999). Cocaine and tobacco use and the risk of spontaneous abortion. *N Engl J Med*, **340**: 333-339.
69. ANDERSEN, N. AM., WOHLFAHRT, J., CHRISTENS, P., OLSEN, J., MELBYE, M. (2000). Maternal age and fetal loss: population based register linkage study. *Bmj*, **320**: 1708-1712.
70. PAGE, JM., SILVER, RM. (2016). Genetic Causes of Recurrent Pregnancy Loss. *Clin Obstet Gynecol*, **59(3)**:498 -508.
71. PATHAK, R., MUSTAFA, M., AHMED, RS., TRIPATHI, AK., GULERIA, K., BANERJEE, BD. (2010). Association between recurrent miscarriages and organochlorine pesticide levels. *Clin Biochem*, **43**: 131-135
72. PEREZA, N., OSTOJIC, S., KAPOVIC, M., PETERLIN, B. (2017). Systematic review and meta-analysis of genetic association studies in idiopathic recurrent spontaneous abortion. *Fertil Steril*, **107(1)**:150–159.e2.
73. PHILIPP, T., PHILIPP, K., REINER, A., BEER, F., KALOUSEK, DK. (2003). Embryoscopic and cytogenetic analysis of 233 missed abortions: factors involved in the pathogenesis of developmental defects of early failed pregnancies. *Hum Reprod*, **18**:1724- 1732.
74. PLANA-RIPOLL, O., PARNER, E., OLSEN, J., LI, J. (2016). Severe stress following bereavement during pregnancy and risk of pregnancy loss: results from a population-based cohort study. *J Epidemiol Community Health*, **70**: 424-429.
75. PRACTICE COMMITTEE OF THE AMERICAN SOCIETY FOR REPRODUCTIVE MEDICINE. (2008). Definitions of infertility and recurrent pregnancy loss. *Fertil Steril*, **89(6)**:1603.
76. PRACTICE COMMITTEE OF THE AMERICAN SOCIETY FOR REPRODUCTIVE MEDICINE. (2012). Evaluation and treatment of recurrent pregnancy loss: a committee opinion. *Fertil Steril*, **98(5)**:1103–1111.
77. POPPE, K., VELKENIERS, B., GLINOER, D. (2008). The role of thyroid autoimmunity in fertility and pregnancy. *Nat Clin Pract Endocrinol Metab*, **4**:394-405.
78. PORTER, TF., LACOURSIERE, Y., SCOTT, JR. (2006). Immunotherapy for recurrent miscarriage. *Cochrane Database Syst Rev*, **(2)**:CD000112.
79. QUENBY, SM., FARQUHARSON, RG. (1993). Predicting recurring miscarriage:what is important? *Obstet Gynecol*, **82**:132-138
80. RAGA, F., BAUSET, C., REMOHÍ, J. (1997). Reproductive impact of congenital Müllerian anomalies. *Hum Reprod*, **12**:2277-2281.
81. RAI, R., BACKOS, M., RUSHWORTH, F., REGAN, L. (2000). Polycystic ovaries and recurrent miscarriage—a reappraisal. *Hum Reprod*, **15**:612-615.
82. RAI, R., BACKOS, M., BAXTER, N. (2000). Recurrent miscarriage—an aspirin a day? *Hum Reprod*, **15**:2220-2223.

83. RASCH, V. (2003). Cigarette, alcohol, and caffeine consumption: risk factors for spontaneous abortion. *Acta Obstet Gynecol Scand*, **82**: 182-188
84. REY, E., KAHN, SR., DAVID, M., SHRIER, I. (2003). Thrombophilic disorders and fetal loss: a metaanalysis. *Lancet*, **361**:901-908.
85. ROBERTSON, L., WU, O., LANGHORNE, P. (2006). Thrombophilia in pregnancy: a systematic review. *Br J Haematol*, **132**:171-196.
86. RUSHWORTH, FH., BACKOS, M., RAI, R. (2000). Prospective pregnancy outcome in untreated recurrent miscarriers with thyroid autoantibodies. *Hum Reprod*, **15**:1637-1639.
87. SAUER, MV. (2015). Reproduction at an advanced maternal age and maternal health. *Fertil Steril*, **103**: 1136-1143
88. SHARMA, R., AGARWAL, A., ROHRA, VK., ASSIDI, M., ABU-ELMAGD, M., TURKI, RF. (2015). Effects of increased paternal age on sperm quality, reproductive outcome and associated epigenetic risks to offspring. *Reprod Biol Endocrinol*, **13**: 35.
89. SILVER, RM., BRANCH, DW., GOLDENBERG, R., IAMS, JD., KLEBANOFF, MA. (2011). Nomenclature for pregnancy outcomes: time for a change. *Obstet Gynecol*, **118(6)**:1402-8.
90. SIPEK, A. JR., MIHALOVÁ, R., PANCZAK, A., HRCKOVA, L. , JANASHIA, M., KASPRIKOVA, N., KOHOUTOVA, M. (2014). Heterochromatin variants in human karyotypes: a possible association with reproductive failure. *Reproductive BioMedicine Online*, **29**: 245–250
91. SAHİN, FI., YILMAZ, Z., YUREGİR, O., BULAKBASİ, T., OZER, O., ZEYNELOGLU, HB. (2008). Chromosome heteromorphisms: An impact on infertility. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*, **25(5)**:191-5
92. SHETH, F.J., LIEHR, T., KUMARI, P., AKINDE, R., SHETH, H.J., SHETH, J.J. (2013). Chromosomal abnormalities in couples with repeated fetal loss: An Indian retrospective study. *Indian journal of human genetics*, **19(4)**: 415.
93. SHI, X., XIE, X., JIA, Y., LI, S. (2017). Maternal genetic polymorphisms and unexplained recurrent miscarriage: a systematic review and meta-analysis. *Clin Genet*, **91(2)**:265–284.
94. SLOTER, E., NATH, J., ESKENAZİ, B., WYROBEK, AJ. (2004). Effects of male age on the frequencies of germinal and heritable chromosomal abnormalities in humans and rodents. *Fertil Steril*, **81**: 925–943.
95. STEPHENSON, MD. (1996). Frequency of factors associated with habitual abortion in 197 couples. *Fertil Steril*, **66**:24-29
96. STEPHENSON, MD., DREHER, K., HOULIHAN, E., WU, V. (1998). Prevention of unexplained recurrent spontaneous abortion using intravenous immunoglobulin: a prospective, randomised, double blinded, placebo controlled trial. *Am J Reprod Immunol*, **39**:82-8
97. STIRRAT, GM. (1990). Recurrent miscarriage. *Lancet*, **336**:673–5.
98. STIRTZINGER, R, ROBINSON, GE. The psychologic effects of spontaneous abortion. *CMAJ* 1989;140: 799-801, 805
99. STRAY-PEDERSEN, B., STRAY-PEDERSEN, S. (1984). Etiologic factors and subsequent reproductive performance in 195 couples with a prior history of habitual abortion. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, **148**:140-146.

100. STRAY-PEDERSEN, B., STRAY-PEDERSEN, S. (1988). Recurrent abortion: the role of psychotherapy. In: Beard RW, Ship F, editors. *Early Pregnancy Loss: Mechanisms and Treatment*. New York, NY: *Springer-Verlag*, 433–440.
101. SUGIURA-OGASAWARA, M., OZAKI, Y., KATANO, K., SUZUMORI, N., KITAORI, T., MIZUTANI, E. (2012). Abnormal embryonic karyotype is the most frequent cause of recurrent miscarriage. *Hum Reprod*, **27(8)**:2297–2303.
102. SUMMERS, PR. (1994). Microbiology relevant to recurrent miscarriage. *Clin Obstet Gynecol*, **37**:722-729.
103. SAYLI, BS. (1977). *Biyokimyasal Genetik*. 2. Baskı, Ankara: Ankara Üniversitesi Basımevi,
104. The American College of Obstetricians and Gynecologists. *Management of Recurrent Early Pregnancy Loss*. Washington, DC: The American College of Obstetricians and Gynecologists; 2001. ACOG Practice Bulletin No. 24.
105. THELLIN, O., COUMANS, B., ZORZI, W. (2000). Tolerance of the fetoplacental “graft”: ten ways to support a child for nine months. *Curr Opin Immunol*, **12**:731-737.
106. TULPPALA, M., MARTTUNEN, M., SÖDERSTRÖM-ANTTILA, V. (1997). Low-dose aspirin in prevention of miscarriage in women with unexplained or autoimmune related recurrent miscarriage: effect on prostacyclin and thromboxane A2 production. *Hum Reprod*, **12**:1567-1572.
107. VAQUERO, E., LAZZARIN, N., DE CAROLIS, H. (2000). Mild thyroid abnormalities and recurrent spontaneous abortion: diagnostic and therapeutical approach. *Am J Reprod Immunol*, **43**:204-208.
108. YUCE, H., TEKEDERELI, I., ELYAS, H. (2007). Cytogenetic results of recurrent spontaneous abortions in Turkey. *Med Sci Monit*, **13**: CR286–CR289
109. WATSON, H., KIDDY, DS., HAMILTON-FAIRLEY, D. (1993). Hypersecretion of luteinizing hormone and ovarian steroids in women with recurrent early miscarriages. *Hum Reprod*, **8**:829-833.
110. WINDHAM, GC., VON BEHREN, J., FENSTER, L. (1997). Moderate maternal alcohol consumption and risk of spontaneous abortion. *Epidemiology*, **8**:509-514.
111. ZHANG, M., XU, J., BAO, X. (2017). Association between genetic polymorphisms in interleukin genes and recurrent pregnancy loss – a systematic review and meta-analysis. *PLoS ONE*, **12(1)**: e0169891.

ÖZGEÇMİŞ

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Nermin AKÇALI

Doğum Tarihi ve Yeri : 26 Nisan 1989 / Akhisar

İletişim Bilgileri : 0542 3382462 / nermin_akcali@hotmail.com

Öğrenim Durumu:

Derece	Bölüm/Program	Üniversite	Yıl
Lisans	Biyoloji Bölümü	Afyon Kocatepe Üniversitesi	2007-2011
Y. Lisans	Biyoloji Bölümü	Afyon Kocatepe Üniversitesi	2011-2014
Y. Lisans	Tıbbi Genetik	Afyon Kocatepe Üniversitesi	2014-2018
Doktora	Tıbbi Genetik	Afyon Sağlık Bilimleri Üniversitesi	2019-

1. Yüksek Lisans Tez Başlığı:

Tuz Stresi Altındaki Kanola Fidelerinde Lipoik Asit ve Salisilik Asit Uygulamalarının Bazı Biyokimyasal Parametreler ve Proteom Değişimleri Üzerine Etkilerinin Araştırılması

Tez Danışmanı:

Prof. Dr. Mustafa YILDIZ

Afyon Kocatepe Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü

2. Yüksek Lisans Tez Başlığı:

Tekrarlayan gebelik kaybı olan çiftlerde polimorfik varyant kabul edilen kromozom değişikliklerinin değerlendirilmesi.

Tez Danışmanı:

Doç. Dr. Handan YILDIZ

Sınav Puanları:

SINAV	SINAV DÖNEMİ	SINAV SONUCU
ALES	2015-SONBAHAR	67,58
YDS	2016/10 -E-YDS	58,75

ESERLER LİSTESİ

Uluslararası Hakemli Dergilerde (SCI) Yayımlanmış Makaleler

- [1] Yıldız, M., **Akçalı, N.** and Terzi, H. 2015. Proteomic and biochemical responses of canola (*Brassica napus* L.) exposed to salinity stress and exogenous lipoic acid. *Journal of Plant Physiology*, 179: 90-99.

Ulusal Hakemli Dergilerde Yayımlanmış Makaleler

- [1] Yıldız, M., Terzi, H. ve **Akçalı, N.**, 2014. Tuz stresi altındaki bitkilerin metabolik yollarındaki proteom değişimleri. *Bitlis Eren Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 3(1): 81-93.
- [2] Yıldız, M., Terzi, H. ve **Akçalı, N.**, 2014. Bitki Tuz Stresi Toleransında Salisilik Asit ve Poliaminler. *Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 14(2): 7-22.

Ulusal Sempozyum/Kongrelerde Sunulan Bildiriler:

- [1] Yıldız, M., Terzi, H., **Akçalı, N.** ve Pehlivan, E., Kanola (*Brassica napus* L.) Çeşitlerinin Tohum Çimlenmesi Üzerine Tuzluluk, Sıcaklık ve Fotoperiyodun Etkileri, 5. Uluslararası Katılımlı Tohumculuk Kongresi, 545, 2014, DİYARBAKIR.
- [2] Yıldız, M., Terzi, H. ve **Akçalı, N.**, Tuz stresi altındaki kanola (*Brassica napus* L.) fidelerinin tuza toleransında lipoik asidin etkisi, 22. Ulusal Biyoloji Kongresi, 593, 23-27 Haziran 2014, ESKİŞEHİR.

- [3] Yıldız, M., **Akçalı, N.** ve Terzi, H., Kanola (*Brassica napus* L.) Fidelerinde NaCl-Teşvikli Proteomik Değişimler Üzerine Dışsal Lipoik Asidin Etkisi, 1. Ulusal Bitki Fizyolojisi Sempozyumu, 66, 01-04 Eylül 2015, ERZURUM.
- [4] Elmas, M., **Akçalı, N.**, Söylemez, Z. ve Solak, M., Robertsonian translokasyonu ve 9. kromozomun perisentrik inversiyonun birlikte olduğu tekrarlayan gebelik kaybı olgusu, 14. Ulusal Tıbbi Biyoloji ve Genetik Kongresi 27-30 Ekim 2015, Ölüdeniz/FETHİYE
- [5] Söylemez Z., **Akçalı N.**, Avcı K., Varol N., Özdemir Erdoğan M., (2017). Down sendromlu bir olguda hemihipertrofi. XV. Ulusal Tıbbi Biyoloji ve Genetik Kongresi (Uluslararası Katılımlı), Ölüdeniz/FETHİYE
- [6] **Akçalı N.**, Elmas M., Karaosmanoğlu C., Yıldırım A., Çoban N., (2017). Trizomi X sendromlu bir olgu. XV. Ulusal Tıbbi Biyoloji ve Genetik Kongresi (Uluslararası Katılımlı), Ölüdeniz/FETHİYE

Projelerde Yaptığı Görevler:

- [1] "Afyonkarahisar endemiği *Thermopsis turcica*'dan izole edilen doğal bileşiklerin insan kanser hücre hatlarında anti-kanser potansiyellerinin araştırılması" Afyon Kocatepe Üniversitesi Projesi, 15.TEMATİK.01, **Yardımcı Araştırmacı**, Devam ediyor
- [2] "Yaşa bağlı makula dejenerasyonu ile ilişkili başlıca gen polimorfizmlerinin toplumumuzda incelenmesi" TÜBİTAK Projesi, 112S269, 2014-2015

Ulusal kongre, panel, konferans katılımları

- [1] Afyon Kocatepe Üniversitesi 1. Biyoloji Günleri, 26-27 Nisan 2012, Afyon
- [2] 22. Ulusal Biyoloji Kongresi, 23-27 Haziran 2014, Eskişehir
- [3] 1. Ulusal Bitki Fizyolojisi Sempozyumu, 01-04 Eylül 2015, Erzurum
- [4] AKÜ Kanser Günleri, 9-10 Nisan 2015, Afyon
- [5] 14.Ulusal Tıbbi Biyoloji ve Genetik Kongresi, 27-30 Ekim 2015, Ölüdeniz/Fethiye
- [6] Nadir Hastalıklar Konferansı, 2016, Afyon
- [7] Ege Tıp Günleri Çalıştayı "Sitogenetik Uygulamalar", 4-5 Mayıs 2017, İzmir

[8] Erciyes Tıp Günleri, 11-13 Mayıs 2017, Kayseri

[9] 15.Ulusal Tıbbi Biyoloji ve Genetik Kongresi, 27-30 Ekim 2017,
Ölüdeniz/Fethiye

Laboratuvar Tecrübesi

Proteomik analizler (Protein ekstraksiyonu, İki-yönlü jel elektroforezi, In-gel tryptic digestion vb.)

Postnatal Sitogenetik (Periferik kandan hucre kulturu, image analiz sistemi vb.)

Molekuler analizler (Otomatize ve manüel DNA izolasyonu, PCR ve Real-Time PCR, Pyro-sekanslama vb.)

Prenatal Sitogenetik (Amniyosentez ve tahliye materyalinden hucre kulturu)

Kemikiliği Sitogenetiği

