

T.C.
HATAY MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOKİMYA (TIP) ANABİLİM DALI



**MKÜ SAĞLIK UYGULAMA VE ARAŞTIRMA HASTANESİNE
TEKRARLAYAN DÜŞÜK ŞİKÂyetİYLE BAŞVURAN SURİYELİ
KADINLARDA RETROSPEKTİF KOAGULASYON VE
TROMBOFİLİ PANELİ DEĞERLENDİRİLMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Sevil IŞIK

Danışman

Dr. Öğr. Üyesi Serdar DOĞAN

HATAY-2019

T.C.
HATAY MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOKİMYA (TIP) ANABİLİM DALI

**MKÜ SAĞLIK UYGULAMA VE ARAŞTIRMA HASTANESİNE
TEKRARLAYAN DÜŞÜK ŞİKÂyetİYLE BAŞVURAN SURİYELİ
KADINLARDA RETROSPEKTİF KOAGULASYON VE
TROMBOFİLİ PANELİ DEĞERLENDİRİLMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Sevil IŞIK

Danışman

Dr. Öğr. Üyesi Serdar DOĞAN

HATAY-2019

Kabul ve Onay

T.C.
MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BIYOKİMYA (TIP) ANABİLİM DALI

MKÜ SAĞLIK UYGULAMA VE ARAŞTIRMA HASTANESİNE TEKRARLAYAN DÜŞÜK ŞİKÂyetİYLE BAŞVURAN SURİYELİ KADINLARDA RETROSPEKTİF KOAGULASYON VE TROMBOFİLİ PANELİ DEĞERLENDİRİLMESİ

Yüksek Lisans Tezi

Sevil IŞIK

Bu tez aşağıda isimleri yazılı tez jürisi tarafından 23/07/2019 günü sözlü olarak yapılan tez savunma sınavında ~~oyekluğu~~/oybirliği ile kabul edilmiştir.

Tez Jürisi: Jüri başkanı: Prof. Dr. Abdullah Arpacı
Üye: Dr. Öğr. Üyesi Serdar DOĞAN
Üye: Dr. Öğr. Üyesi Fatih DAVRAN

Bu tez, Enstitümüz Biyokimya (Tıp) Anabilim Dalında hazırlanmıştır.

..../..../2019

Prof. Dr. İbrahim Halil ÇERÇİ
Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Tez çalıőmamın konusunun belirlenmesi ve yürütülmesinde bana her türlü desteği veren, engin bilgi ve tecrübelerini benden esirgemeyen, eğitimime büyük katkıda bulunan, bana her daim yol gösteren ve beni teşvik eden Prof. Dr. Abdullah ARPACI'ya ve danışman hocam Dr. Öğr. Üyesi Serdar DOĞAN'a sonsuz saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Beni yetiőtiren, sevgi, sabır ile bugünlere gelmemi sağlayan, her türlü fedakârlıkta bulunan, emeklerini asla ödeyemeyeceğim anneme, babama ve kardeşlerime sonsuz şükranlarımı sunarım.

Tez çalıőmam boyunca bana her konuda destek olan, bu zorlu dönemde gösterdiği özveri ve anlayışı ile bana güç veren Hasan AKPAK'a teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

Kabul ve Onay	II
TEŞEKKÜR.....	III
İÇİNDEKİLER	IV
ŞEKİLLER DİZİNİ	VII
ÇİZELGELER DİZİNİ	VIII
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ.....	IX
ÖZET	XII
ABSTRACT.....	XIII
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Gebelik Haftasına Göre Gebelik Kaybı	2
2.2. Düşük Nedenleri	2
2.2.1. Çocuğa ait nedenler:.....	2
2.2.2. Babaya ait faktörler	3
2.3. Düşük Şekilleri.....	3
2.3.1. Düşük Tehditi (Abortus imminens)	3
2.3.2. Önlenemez Düşük (Abortus insipiens)	3
2.3.3. Tamamlanmış Düşük (Komplet abortus).....	3
2.3.4. Tamamlanmamış Düşük (Inkomplet abortus).....	3
2.3.5. Unutulmuş Gebelik (Missed abortus)	3
2.3.6. Septik Düşük	4
2.4. Tekrarlayan Düşük	4
2.4.1. Tekrarlayan Gebelik Kaybında Etiyolojik Faktörler	4
2.4.1.1. Genetik Nedenler:	6
2.4.1.2. Endokrin Nedenler:	7
2.4.1.3. Enfeksiyona Bağlı Nedenler:	7
2.4.1.4. Anatomik Faktörler:	8
2.4.1.5. İmmunolojik Nedenler:	8
2.4.1.6. Trombofili:	9

2.4.1.7. Diğer:	10
2.5. Hemostaz Mekanizması ve Koagülasyon Sistemi	10
2.5.1. Koagülasyon (Hemostaz) Mekanizmaları.....	10
2.5.1.1. Primer Hemostaz:.....	10
2.5.1.2. Sekonder Hemostaz:	11
2.5.1.3. Koagülasyon Kaskadı	12
2.5.1.4. Aktive parsiyel tromboplastin zamanı (aPTT).....	13
2.5.1.5. Protrombin zamanı (PT).....	13
2.5.1.6. Uluslararası normalleştirilmiş oran (INR)	14
2.5.1.7. Fibrinolitik Sistem.....	14
2.6. Gebelikte Trombofilik ve Hematolojik Değişiklikler	15
2.6.1. Antitrombin Eksikliği	15
2.6.2. Protein S Eksikliği	16
2.6.3. Protein C Eksikliği.....	17
2.6.4. Faktör II (Protrombin) Gen Mutasyonu	18
2.6.5. Aktif Protein C Rezistansı ve Faktör V Leiden G1691A Mutasyonu.....	19
2.6.6. Metilentetrahidrofolat Redüktaz (MTHFR) ve Hiperhomosistinemi	21
2.6.7. Faktör XIII Gen Mutasyonu.....	23
2.6.8. PAI-1 Gen Mutasyonu	25
2.6.9. Beta Fibrinojen -455 G>A Gen Mutasyonu.....	26
2.6.10. Glikoprotein IIIa Gen Mutasyonu.....	27
3. GEREÇ VE YÖNTEM	29
3.1. Malzemeler.....	30
3.1.1. Trombofili Paneli Çalışılırken Kullanılan Cihazlar Ve Solüsyonlar	30
3.1.1.1. Kullanılan Cihazlar	30
3.1.1.2. Kullanılan Solüsyonlar.....	31
3.2. Trombofili Çalışması İçin Yöntemler	31
3.2.1. Trombofili Paneli Çalışılacak Kanların DNA İzolasyonu	31
3.2.2. İzole Edilen gDNA Örneklerinin Saflık Ve Konsantrasyon Ölçümleri.....	32
3.2.3. Trombofili Paneli Çalışma Protokolü	32
3.2.3.1. PCR Aşamaları.....	33

3.3. Pyro Sekans Aşaması	34
3.3.1. Cihaza Yükleme Aşaması	34
3.3.2. PCR Ürünlerinin Streptavidin Sepharose Bilyelerine Bağlanması.....	35
3.3.3. Pyro Sekans İçin Örnek Hazırlama Basamakları	35
3.3.4. Pyromark Q24'ün Çalıştırılması.....	36
3.4. Koagülasyon faktörleri Çalışılırken Kullanılan Cihazlar Ve Solüsyonlar	37
3.4.1. Malzemeler.....	37
3.4.2. Solüsyonlar.....	37
3.4.3. Koagülasyon Faktörleri İçin Çalışma Aşamaları	37
3.4.4. Koagülasyon Cihazı Kontrol ve Kalibrasyon	38
3.5. İstatistiksel Analiz.....	39
4. BULGULAR.....	40
5. TARTIŞMA	53
6. SONUÇ.....	64
7. KAYNAKLAR	65
EKLER.....	70
EK-1.....	70
ÖZGEÇMİŞ	71

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa No
Şekil 2.1. Hemostaz mekanizması.....	12
Şekil 2.2. Koagulasyon kaskadı.....	13
Şekil 2.3. 11. kromozom üzerine yerleşimli F2 gen bölgesi	18
Şekil 2.4. 1. kromozom üzerine yerleşimli FV gen bölgesi	20
Şekil 2.5. Aktive Protein C'nin koagulasyon sistemindeki rolü.....	21
Şekil 2.6. Folat yolu ve homosistein metabolizması	22
Şekil 2.7. 6. kromozom üzerine yerleşimli F13A1 gen bölgesi.	24
Şekil 2.8. 7. kromozom üzerine yerleşimli PAI-1 gen bölgesi.....	25
Şekil 2.9. 4. kromozom üzerindeki fibrinojen bölgesi.	26
Şekil 2.10. 17. kromozom üzerine yerleşimli ITGB3 gen bölgesi	27



ÇİZELGELER DİZİNİ

	Sayfa No
Çizelge 2.1. Tekrarlayan gebelik kayıplarının etiyojisi.....	5
Çizelge 2.2. Kalıtsal trombofili ile olumsuz gebelik sonuçları arasındaki ilişkilerin özeti. 18	18
Çizelge 3.1. PCR Reaksiyon Kompozisyonu.	33
Çizelge 3.2. PCR Aşamaları.	34
Çizelge 3.3. Pyro sekans reaksiyonu için hazırlanan karışım.....	35
Çizelge 4.1. Trombofili ile İlişkili Polimorfizmlerin Görülme Sıklığı.....	40
Çizelge 4.2. Suriyeli Tekrarlayan Gebelik Kaybı hastalarında görülen mutasyon gruplarına göre yaş ortalamalarının karşılaştırılması.....	41
Çizelge 4.3. Suriyeli Tekrarlayan Gebelik Kaybı hastalarında Protrombin 20210G>A, Faktör V Leiden 1691 G>A, Faktör XIII Val34Leu,ve PAI-1 4G/5G mutasyonlarının prevalansı ve mutasyon gruplarına göre karşılaştırılması. ..	42
Çizelge 4.4. Suriyeli Tekrarlayan Gebelik Kaybı hastalarındaki Protrombin 20210G>A, Faktör V Leiden 1691 G>A, PAI-1 4G/5G ve Faktör XIII Val34Leu mutasyonlarının prevalansı ve yaş gruplarına göre karşılaştırılması.....	43
Çizelge 4.5. Suriyeli Tekrarlayan Gebelik Kaybı hastalarındaki MTHFR C677T, MTHFR A1298C, Beta Fibrinojen -455G>A ve GPIIIa Leu33Pro mutasyonlarının prevalansı ve yaş gruplarına göre karşılaştırılması.....	44
Çizelge 4.6. Protrombin 20210G>A mutasyona sahip Tekrarlayan Gebelik Kaybı hastalarında koagulasyon parametrelerinin mutasyon tipine göre karşılaştırılması.	45
Çizelge 4.7. Faktör V Leiden 1691 G>A mutasyona sahip Tekrarlayan Gebelik Kaybı hastalarında koagulasyon parametrelerinin mutasyon tipine göre karşılaştırılması.	46
Çizelge 4.8. Faktör XIII Val34Leu mutasyona sahip Tekrarlayan Gebelik Kaybı hastalarında koagulasyon parametrelerinin mutasyon tipine göre karşılaştırılması.	47
Çizelge 4.9. PAI-1 4G/5G mutasyonuna sahip Tekrarlayan Gebelik Kaybı hastalarında koagulasyon parametrelerinin mutasyon tiplerine göre karşılaştırılması.	48
Çizelge 4.10. MTHFRC677T mutasyona sahip Suriyeli Tekrarlayan Gebelik Kaybı hastalarında koagulasyon parametrelerinin mutasyon tiplerine göre karşılaştırılması.	49
Çizelge 4.11. MTHFR A1298C mutasyona sahip Suriyeli Tekrarlayan Gebelik Kaybı hastalarında koagulasyon parametrelerinin mutasyon tiplerine göre karşılaştırılması.	50
Çizelge 4.12. Beta Fibrinojen -455G>A mutasyonuna sahip Suriyeli Tekrarlayan Gebelik Kaybı hastalarında koagulasyon parametrelerinin mutasyon tiplerine göre karşılaştırılması.....	51
Çizelge 4.13. GPIIIa Leu33Pro mutasyona sahip Suriyeli Tekrarlayan Gebelik Kaybı hastalarında koagulasyon parametrelerinin mutasyon tiplerine göre karşılaştırılması.	52

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

α	:Alfa
APC	:Aktive Protein C
APC-D	:Aktive Protein C Direnci
APS	:Antifosfolipit Antikor Sendromu
aPTT	:Aktive Parsiyel Tromboplastin Zamanı
AT	:Antitrombin
β	:Beta
C	:Sitozin Bazı
Ca²⁺	:Kalsiyum
db	:Dalga Boyu
DES	:Dietilstilbesterol
DNA	:Deoksiribonükleik Asit
DHFR	:Dihidrofolat Redüktaz
dNTP	:Deoksi Nükleotid Trifosfat
EDTA	:Etilendiamintetraasetik Asit
FGR	:Fetal Growth Restriction (Fetal Büyüme Kısıtlaması)
F I	:Fibrinojen
F II	:Koagülasyon Faktörü II (Protrombin)
F XIII	:Koagülasyon Faktörü 13
F V	:Koagülasyon Faktörü 5
γ	:Gamma
G	:Guanin Bazı
gDNA	:Genomik DNA
GP IIIa	:Aktif Halde Bulunan Glikoprotein III
H₂O	:Su Molekülü
HLA	:Human Leucocyte Antigen
HMKÜ	:Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi
HMWK	:Yüksek Mol Ağırlıklı Kininojen

Ig	:İmmünoglobülin
INR	:Uluslararası Normalleştirilmiş Oran
ISI	:Uluslararası Hassasiyet Endeksi
İFN	:İnterferon
İL	:İnterlökin
Leu	:Lösin aminoasidi
LH	:Luteinleştirici Hormon
M	:Molar
Mg⁺²	:Magnezyum
ml	:Mililitre
MTHFR	:Metilen tetrahidrafolat redüktaz
MTR	:Metiyonin Sentaz
MTRR	:Metiyonin Sentaz Redüktaz
ng	:Nanogram
nm	:Nanometre
PA	:Plazminojen Aktivatörleri
PAI-1	:Plazminojen Aktivatör İnhibitörü 1
PC	:Protein C
PCOS	:Polikistik Over Sendromu
PCR	:Polimeraz Zincir Reaksiyonu
Pro	:Prolin aminoasidi
PS	:Protein S
PT	:Protrombin Zamanı
rpm	:Dakikadaki devir sayısı
SAMe	:S-adenosil metiyoninin
SERPINE	:Serin Proteaz İnhibitör Proteini
SLE	:Sistemik Lupus Eritematöz
SNP	:Tek Nükleotit Polimorfizmi
SYCP	: Synaptonemal complex protein (Sinaptonemal kompleks proteini)
T	:Timin Bazı
TF	:Tissue Faktör (Doku Faktörü)

TFPI	:Doku Faktör Yolu İnhibitörü
TGF	:Transforming Growth Factor (Transformeedici büyüme faktörü)
TGK	:Tekrarlayan Gebelik Kaybı
Th1	:Tip-1 yardımcı T hücresi
Th2	:Tip-2: yardımcı T hücresi
TNF	:Tümör Nekroz Faktör
tPA	:Doku Plazminojen Aktivatörü
uPA	:Ürokinaz Tipi Plazminojen Aktivatörü
Val	:Valin aminoasidi
VTE	:Venöz Tromboembolizm
WHO	:Dünya Sağlık Örgütü
UNHCR	:Birleşmiş Milletler Mülteci Yüksek Komiserliği
TAFI	:Thrombin Activatable Fibrinolysis Inhibitor (Trombin Aktive Edilebilir Fibrinoliz İnhibitör)

ÖZET

MKÜ Sağlık Uygulama Ve Araştırma Hastanesine Tekrarlayan Düşük Şikâyetiyle Başvuran Suriyeli Kadınlarda Retrospektif Koagulasyon Ve Trombofili Paneli Değerlendirilmesi

Tekrarlayan gebelik kaybı (TGK), gebelik yaşının 20. haftasının tamamlanmasından önce (fertilizasyondan 18 hafta sonra) veya eğer gebelik yaşı bilinmiyorsa, 400 gr'dan küçük embriyo/fetüsün kaybı olarak tanımlanır. Tekralayan gebelik kaybı, tüm gebeliklerin yaklaşık %15'ini etkilemektedir. Başlıca etyolojik nedenler arasında hemostaz bozukluklarına bağlı hematolojik nedenler, anatomik nedenler, endokrin nedenler, genetik nedenler, enfeksiyöz, immünolojik ve çevresel faktörler yer almaktadır.

Bu çalışmanın amacı, tekrarlayan düşük şikâyetiyle takip edilen Suriyeli kadınlarda trombofili ve kaogulasyon faktörlerinin görülme sıklığını ve birbiriyle olan ilişkisini saptamaktır.

Yapılan bu çalışmaya 01.01.2013 -01.01. 2018 tarihleri arasında Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi (HMKÜ) Sağlık Uygulama ve Araştırma Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum polikliniğine tekrarlayan düşük şikayeti ile başvuran Suriyeli kadın hastalar dahil edildi. Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Sağlık Uygulama ve Araştırma Hastanesi Merkez Laboratuvarı'nda bulunan hasta dosyalarından kalıtsal trombofili paneli için güncel kaynaklarda önerilen Faktör V Leiden 1691 G>A, Protrombin 20210 G>A, MTHFR 677 C>T, MTHFR 1298 A>C, PAI1 4G/5G, GPIIIA Leu33Pro, Beta Fibrinojen -455 G>A, Faktör XIII Val34Leu varyasyonları ile protein S, protein C, antitrombin III, PT, aPTT, INR koagulasyon faktörlerinin analiz sonuçları tarandı.

Bu çalışma Suriyeli TGK hastalarında sekiz polimorfizmi inceleyen ve ATIII, PC ve PS eksikliği oranlarını gösteren ilk çalışmadır. Suriyeli kadın hastalarda en sık heterozigot MTHFR 1298A>C polimorfiziminde (%47,7) saptandı. Homozigot mutasyonu en sık PAI-1 4G/4G (%29,6) polimorfiziminde saptandı. Protrombin 20210 G>A gen polimorfizmi homozigot genotipi hiçbir hastada saptanmadı. FII geni heterozigot saptanan kadınlarda Protein C aktivitesinin istatistiksel olarak anlamlı ($p=0.04$) derecede yüksek olduğu bulundu. Faktör XIII heterozigot mutasyonu olanlarda yabani tip olanlara göre aPTT düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu ($p=0.01$).

Literatürde, bu tür çalışmaların sonucunda farklı sonuçlar ortaya çıkmıştır. Bu durum, popülasyonlardaki etnik farklılıklardan kaynaklanmış olabilir. Trombofili ve koagülasyon faktörlerinin birbirleriyle olan ilişkide daha net sonuçlar elde edebilmek için daha fazla hasta sayısı içeren yeni çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar Kelimeler: Tekrarlayan gebelik kaybı, trombofili, koagulasyon faktörleri.

ABSTRACT

Evaluation of Retrospective Coagulation and Thrombophilia Panel in Syrian Women Presenting to MKU Health Application and Research Hospital with Recurrent Pregnancy Loss

Recurrent pregnancy loss (RPL) before the 20th week of gestational age (18 weeks after fertilization) or if the gestational age is not known, it is defined as the loss of an embryo/fetus smaller than 400 g. RPL affects about 15% of all pregnancies. The main etiological causes include hematological factors related to hemostatic disorders, anatomic factors, endocrine factors, genetic factors, infectious, immunological and environmental factors.

The aim of this study was to determine the frequency and the relationship between thrombophilia and coagulation factors in Syrian women with recurrent miscarriage.

Syrian female patients who applied to Hatay Mustafa Kemal University (HMKU) Health Application and Research Hospital Gynecology and Obstetrics Clinic between 01.01.2013 -01.01.2018 dates, with recurrent miscarriage complaint were included in this study. Hatay Mustafa Kemal University Health Application and Research Hospital Central Laboratory patient files were scanned for recommended in current sources for hereditary thrombophilia panel which are factor V Leiden 1691 G> A, Prothrombin 20210 G> A, MTHFR 677 C> T, MTHFR 1298 A> C, PAI1 4G / 5G, GPIIIA Leu33Pro, Beta Fibrinogen -455G> A, Factor XIII with variations of Val34Leu and protein S, Protein C, antithrombin II, PT, aPTT, INR coagulation factors analysis results.

This is the first study examining eight polymorphisms and showing the rates of ATIII, PC and PS deficiencies in Syrian RPL patients. The most common heterozygote polymorphism observed in Syrian female patients was MTHFR 1298A> C (47.7%). The most common homozygous mutation was found in PAI-1 4G/4G (29.6%) polymorphism. Prothrombin 20210 G> A gene polymorphism homozygous genotype was not detected in any patient. Protein C activity was statistically significant ($p=0.04$) in FII heterozygote gene detected females. The aPTT levels were found to be significantly higher in patients with factor XIII heterozygote mutations than wild type ($p=0.01$).

In the literature, different results have emerged as a result of such studies. This situation, may be due to ethnic differences in populations. In order to obtain clearer results in the relationship between thrombophilia and coagulation factors, new studies involving more patients are needed.

Keywords: Recurrent pregnancy loss, thrombophilia, coagulation factors

1. GİRİŞ

Toplumsal, siyasal, ekonomik nedenlerle bireylerin ya da toplulukların buldukları, oturdukları yerleşim yerini bırakarak başka bir yerleşim yerine ya da başka bir ülkeye gitme eylemine göç denir. Göç edenleri; göçmen, sığınmacı veya mülteci olarak sınıflayabiliriz. Gönüllü olarak başka bir ülkeye ekonomik gerekçelerden dolayı terkederek göç ettiği ülkenin yetkililerinin izni ve bilgisiyle yerleşenlere göçmen; dini, sosyal yapısı, ulusu, siyasi görüşü nedenleriyle ülkesinden ayrılan ve o ülke tarafından kabul edilen kişilere mülteci; henüz mülteci statüsü için başvuru sonucu netleşmemiş kişilere de sığınmacı denir (Kara ve Nazik 2018).

Birleşmiş Milletler Mülteci Yüksek Komiserliği'nin (UNHCR) Mayıs 2019 verisine göre Türkiye'de 3,6 milyon Suriyeli mülteci bulunmaktadır. Bu mültecilerin; %45,1'ini 18 yaş altı kız ve erkek çocukları, %44'ünü kadınlar oluşturmaktadır (Syria Regional Refugee Response-Situations-UNHCR). Göçün sonucu olarak zor yaşam koşulları, yetersiz beslenme, dil engeli, gelir düzeyi yetersizliği, sağlık güvencesinin olmaması mültecilerde ve sığınmacılarda sağlık problemlerini ortaya çıkarmaktadır (Kara ve Nazik 2018). Ayrıca üreme çağına gelmiş göçmen kadınların doğurganlık durumunu etkilemekle beraber erken doğum yapma, düşük doğum ağırlıklı bebeğe sahip olma, antenatal mortalite ve konjenital malformasyonlar açısından da daha fazla risk taşımaktadır. Kayıt dışı göçmenlerle yapılan bir çalışmada, malprezentasyon, plasenta previa, fetal anomali ve amniyotik sıvı anomalileri görülme ihtimalinin daha yüksek olduğu belirlenmiştir (Suarez ve ark. 2000).

Tekrarlayan düşükler önemli bir sağlık sorunu olup halk sağlığı sorunu haline gelmiştir. Ülkelerinden göç etmek zorunda kalan; beslenmenin yetersiz kaldığı, sağlık sorunları ve doğurganlığın fazla olduğu, zor çevresel koşullar altında yaşayan Suriyeli kadınlarda tekrarlayan düşüklere sebebebiyet veren genetik ve koagülasyon faktörlerinin araştırılması amaçlanmıştır. Bu çalışmada 2013-2018 yılları arasında Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Kadın Hastalıkları ve Doğum polikliniğine iki veya daha fazla tekrarlayan gebelik kaybı (TGK) öyküsü nedeniyle başvuran Suriyeli kadınların analiz sonuçları değerlendirilmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

Düşük (vajinal kanama), gebelik sürecinde en sık karşılaşılan istenilmeyen bir durumdur. Bilinen tüm gebeliklerin % 15-20'si düşük ile sonlanmaktadır (Örgül ve ark. 2017, Ford ve Schust 2009). Bu durum, anne ve etrafındaki birçok bireyi olumsuz olarak etkileyebilmektedir (Örgül ve ark.2017, Turki ve ark. 2016). Gebelik yaşının 20. haftasının tamamlanmasından önce (fertilizasyondan 18 hafta sonra) veya eğer gebelik yaşı bilinmiyorsa, 400 gr'dan küçük embriyo/fetüsün kaybı durumu klinik gebelik kaybı olarak tanımlanır. Başka bir kaynakta, hamileliklerin %15-25'inde gebelik kaybı belirtilirken, hamilelik yaşı arttıkça bu oranın arttığı belirtilmiştir. 35 yaş ve altı olan gebelerde düşük riski %9-12 oranında değişkenlik gösterirken, 40 yaş ve üzeri olan gebelerde bu oran %50'ye çıkmaktadır (El Hachem ve ark. 2017).

2.1. Gebelik Haftasına Göre Gebelik Kaybı

- 1. Erken Gebelik Kaybı:** 12. gebelik haftasından önce meydana gelen düşüklere dir. Fetüsün veya embriyonun canlılık belirtisi olmayıp gebelik kesesinin boş olması durumudur (Keyhan ve ark. 2016).
- 2. Geç Gebelik Kaybı:** Gebelik döneminin 12. haftasından 20-24. haftasına kadar gerçekleşen gebelik kaybıdır (Garrido-Gimenez ve Alijotas-Reig 2015).

2.2. Düşük Nedenleri

2.2.1. Çocuğa ait nedenler:

Tekrarlayan düşüklere genetik bozukluklar veya malformasyonlar gebeliğin ilk 6–8 haftasında %50-80 oranında görülmektedir. Bu oran gebeliğin 8. ve 12. haftaları arasında %25'e kadar düşmektedir. Erken düşüklere, kromozom anomalisi ve ona bağlı gelişen malformasyon oranı ortalama olarak %50' yi bulmaktadır. Erken düşüklere atılan gebelik kesesi içinde genellikle gözle görülebilir bir embriyo bulunmaz. Küçük ve anormal embriyolar, yapılan mikroskopik diseksiyonlarla tespit edilebilmektedir. Malformasyon durumu söz konusu olan fetüsler geç gebelik haftalarında bile olsa uterus dışına atılmaya eğilimlidir (Taşhan 2007).

2.2.2. Babaya ait faktörler

Genomik içeriğin yarısını sağlamakta olan erkeğin değerlendirilmesinin bu denklemin içinde nerede yer alması gerektiği sorusu geçmişten günümüze uzanan bir sorun haline gelmiş ve birçok olası faktörler göz önünde bulundurulmuştur. Kromozomal anomaliler, sperm faktörleri, sperm kalitesi, gen mutasyonları (HLA-G polimorfizmi, trombofili mutasyonları), Y kromozom mikrolezyonlar, paternal yaş ve diğer bu faktörler içerisinde yer alır (Yenice ve Tuğcu 2016). Kromozomal anormallik, normal sperm sayısı olan erkeklerde %2,3'ünde bulunurken azospermik erkeklerin %15,2'sinde bulunur. TGK yaşayan çiftlerden erkek partnerlerin sperm DNA fragmentasyonunda artış tespit edildiğinden TGK yaşayan kadınların partnerlerinin sperm kalitesinin önemi bakımından incelenmesi gerektiğini göstermektedir (Duz 2016, Dul ve ark 2012).

2.3. Düşük Şekilleri

2.3.1. Düşük Tehditi (Abortus imminens)

Düşük tehditini ifade eder. Abortus imminenste uterus krampları hafif şekilde eşlik edebilir, vajinal kanama hafiftir, serviks kapalıdır (Gezginc ve Dalkılıç 2011).

2.3.2. Önlenemez Düşük (Abortus insipiens)

Kaçınılmaz düşük anlamına gelir. Vajinal kanama çöktür. Servikal açıklık, silinme mevcuttur (Gezginc ve Dalkılıç 2011).

2.3.3. Tamamlanmış Düşük (Komplet abortus)

Tam düşük demektir. Ağrılı vajinal kanama ve parça düşürme şikâyeti vardır. Hastaya hemen revizyone küretaj uygulanır, gebelik materyali temizlenerek hastanın kanaması durdurulur ağrı ve vajinal kanama azalır (Gezginc ve Dalkılıç 2011).

2.3.4. Tamamlanmamış Düşük (Inkomplet abortus)

Tam olamayan düşük demektir. Gebelik ürünü uterus kontraksiyonları ile tamamen atılır. Düşük sonrasında vaginal kanama ve ağrı azalır (Taşhan 2007).

2.3.5. Unutulmuş Gebelik (Missed abortus)

Bir aydan uzun bir süre boyunca uterin kavitede ölü fetüsün kalması durumudur. Ağrı ve hassasiyet gözlenmezken vajinal akıntı vardır (Taşhan 2007).

2.3.6. Septik Düşük

Minimal kanama mevcuttur fakat hastanın şikâyeti yoktur. Ultrasonografi ile tanı konular hastalara gecikmeden küretaj yapılmalıdır (Gezginc ve Dalkılıç 2011).

2.4. Tekrarlayan Düşük

Uluslararası toplumlar arasında TKG tanımı farklılık göstermekte ve uzun süredir tartışılmaktadır (El Hachem ve ark. 2017). TKG, 20 haftalık gebeliğin öncesinde 2 veya daha çok ardışık klinik gebelik kaybı olarak tanımlanır. Tüm dünyadaki fertil kadınların %1-2'sini etkileyen karmaşık bir durumdur (Arias-Sos 2018). Kadın Doğum Uzmanları ve Jinekologlar Kraliyet Koleji (RCOG), saptanamayanlarda dâhil olmak üzere üç gebelik kaybını TKG olarak kabul etmiştir. Ancak; Amerikan Üreme Tıbbı Derneği (ASRM), TKG'yi en az iki ardışık düşük olarak tanımlamaktadır (Kacprzak ve ark. 2016). Hastalığın etiolojisinde farklı faktörler rol oynar.

2.4.1. Tekrarlayan Gebelik Kaybında Etiyolojik Faktörler

Tekrarlayan gebelik kayıplarını yaygın biçimde kabul gören etiyolojik nedenler aşağıda sıralandığı gibidir.

- 1. Genetik Nedenler:** Gebelik ürününe ait kromozom bozukluklar, parental yapısal kromozom bozukluklar yer almaktadır.
- 2. Endokrin Nedenler:** Polikistik over sendromu (PCOS), hiperprolaktinemi, diabetüsmellitus, luteal faz defekti, hipo/hipertiroidi.
- 3. Enfeksiyona Bağlı Nedenler:** U. urealyticum, T. gondii, M. hominis, Rubella, Herpetikvirüsler, Coxackie.
- 4. Anatomik Nedenler:** İn utero DES maruziyeti, Konjenital uterin anomaliler, Servikal yetmezlik, Ascherman sendromu.
- 5. İmmunolojik Nedenler:** Otoimmun, alloimmun nedenler.
- 6. Trombofili:** Kalıtsal, edinsel.
- 7. Diğer:** Sigara, kimyasallar, radyasyon alkol (Aksin 2017).

Kwak-Kim ve arkadaşları (2009) tarafından yapılmış olan tekrarlayan gebelik kayıplarının etyolojisini gösteren sınıflandırma Çizelge 2.1' de sunulmuştur.

Çizelge 2.1. Tekrarlayan gebelik kayıplarının etiyolojisi.

Etiyoloji Hastalık	
Epidemiyolojik	Hasta yaşı
	Hastanın üreme öyküsü
Beslenme	Hiperhomosisteinemi
	Folat eksikliği
	Vitamin B12 eksikliği
Jinekolojik	Servikal yetmezlik
	Myoma uteri
	Uterus yapısal bozuklukları (uterin septum, uterus didelphis, bikornuat uterus)
	In utero DES maruziyeti
	Primer endometrial bozukluk (Asherman send., endometrial fibrzis)
Enfeksiyon	Ureoplasma urealyticum
	Mycoplasma hominis
	Toxoplasmosis
	Cytomegalovirus
	Listeria monocytogenes
	Parvovirus B19
Endokrin	Hipertroidizm
	Hipotroidizm
	Diabetes mellitus
	Hiperglisemi ve insülin rezistansı
	LH hipersekresyonu
	Hiperprolaktinemi
Genetik	Polikistik over sendromu
	Fetus veya düşük materyaline ait kromozomal anomaliler (dengeli translokasyonlar, inversiyon)
	SYCP3 gen mutasyonu
	Oosit mitokondri mutasyonu
	HLA G polimorfizmi
	Sitokin gen polimorfizmi
	TNF- α gen polimorfizmi
	IFN- γ gen polimorfizmi
	IL-1 β gen polimorfizmi
	IL-1 reseptör antagonist polimorfizmi
	IL-6 gen polimorfizmi
	IL-10 gen polimorfizmi
	TGF- β gen polimorfizmi
	İmmunolojik
Otoimmün	Antifosfolipid antikor sendromu
	Otoimmün tiroiditis
	Romatooid Artrit
	SLE Sjögren hastalığı
	Behçet hastalığı
	Otoimmün trombositopenik purpura
	Otoimmün hemolitik anemi
	Miyastenia Gravis
	Ig M gamopatisi
	Alloimmün
ABO uyumsuzluğu	
Hematolojik	Trombofili (akkiz ve konjenital)
	Homozigot orak hücreli anemi

2.4.1.1. Genetik Nedenler:

Tekrarlayan gebelik kaybı olanlarda düşük materyalinde kromozom anomalisi sıklığı yaklaşık %50-60 dolayındadır. Kromozomal anomallikler, gebeliklerin daha erken haftlarında daha sık görülür ve 6. haftadan önceki kayıpların % 70'inde sitogenetik anormallikler saptanır (Pinar ve ark. 2018).

Ebeveyn; genetik materyalindeki değişiklikler, karyotip anormallikleri, resesif ve dominant hastalıkların taşıyıcı durumu, pıhtılaşma ve folat metabolizmasından sorumlu genlerdeki mutasyonlar, gebeliklerde düşük yapma riskine katkıda bulunur. Gebeliği takiben tekrarlayan düşük riski veya çocuğun karyotip anomalisi ile doğması riski, kromozom sapma tipine göre değişir. Genetik problem otozomal resesif bir hastalık durumudur ve art arda olan gebelikte tekrarlayan anormallik riski %25'tir (Kacprzak ve ark. 2016). Ebeveyn anormalliklerinde en yaygın olanı dengeli translokasyonlardır ve tekrarlayan düşük vakalarının %2-4'ünü oluşturur. Genel popülasyonda ise bu oran %0,7'dir (El Hachem ve ark. 2017).

Bir kromozomdan diğerine genetik materyal alışverişi yaklaşık %60 oranında karşılıklı değişim ile olur. Yaklaşık %40 oranında ise Robertsonian translokasyonu şeklinde meydana gelir. Tüm dengeli translokasyonlar ebeveynlerde periferik karyotipleme ile tespit edilebilir. Dengeli translokasyonlar taşıyan ebeveynler genellikle asemptomatiktir. Translokasyon sonucu oluşan karyotip tamamen normal de olabilir, dengeli veya dengesiz bir translokasyona da sahip olabilir. Dengesiz translokasyonlu gebelikler genellikle düşükle sonuçlanır ki bu genellikle doğal bir seçim mekanizması olarak görülür. Ancak aynı zamanda ölü doğumlara ve hatta doğumsal kusurlarla birlikte canlı doğumlara da yol açabilir. Her olasılığın yüzdesini tahmin etmek zordur ancak çalışmalar yaklaşık % 25-39'unun dengesiz translokasyonlara sahip olduğunu tahmin etmektedir (El Hachem ve ark. 2017).

Genel olarak, gebelik kaybı riskinin artmasına rağmen, dengeli translokasyonlu çoğu çift sağlıklı canlı doğumlarla sonuçlanmaktadır. Erken gebelik kaybının en sık nedenlerinden birisi ise embriyonik anöploididir. Düşüklerde tespit edilen kromozomal anomalilerinin %90'ından fazlası sayısaldır (anöploidi, poliploidi). Bu durumda olan embriyolar kendiliğinden sona erdirilir, bu da başka bir doğal seçim mekanizmasıdır. En

yaygın bulunan anormallikler trizomi, poliploidi ve monozomi X gibi sayısal kromozom hatalarıdır. Anöploid riski maternal yaşla belirgin olarak artmaktadır (El Hachem ve ark. 2017).

2.4.1.2. Endokrin Nedenler:

Gebelik süreci fetüsün sağlıklı büyümesine ve gelişmesine yol açan sayısız endokrinolojik faktörlere bağlıdır. Her ne kadar gebe kadınların büyük çoğunluğu önceden var olan endokrin anormalliklere sahip olmasa da, kadınların küçük bir bölümü potansiyel olarak sporadik veya tekrarlayan düşükle sonuçlanabilecek endokrin değişiklikler geliştirebilir. Tüm TKG vakalarının yaklaşık %8-12'sinin endokrin hastalıklardan kaynaklandığı tahmin edilmektedir. Korpusluteum, hiperprolaktinemi, diabetes mellitus ve polikistik over sendromu gebeliği etkileyen bazı endokrin bozukluk örnekleridir. Bu arada, son zamanlarda TKG ile ilişkili endokrinolojik anormalliklere hiperinsülinemi ve artmış androjen düzeyleri eklenmiştir (Pluchino ve ark. 2014).

2.4.1.3. Enfeksiyona Bağlı Nedenler:

Tekrarlayan düşüklerin enfektif nedenleri tam olarak ortaya konmamıştır. Enfeksiyöz bir ajanın TKG'na yol açabilmesi için genital kanalda tespit edilemeden sürekli kalabilmesi ve kadında bazı semptomlara yol açması gerekir. Toksoplazma, rubella, sitomegalovirus, herpes ve listeria bu kritere uymadığından ve bu hastalıklar için rutin taramalar önerilmemektedir. Erken doğumun diğer bir nedeni olan bakteriyel vajinozis için tekrarlayan gebelik kayıpları arasında ilişki olabileceği öne sürülmüş fakat kanıta dayalı böyle bir ilişki ortaya konamamıştır. Ancak gebeliğin ilk üç ayında bakteriyel vajinozun varlığı art arda geç doğum ve erken doğum için bir risk faktörü olarak teyit edilmiştir (Rai ve Regan 2006).

Düşük riskli obstetrik popülasyonda, erken gebeliğin erken dönemlerinde kontrollü bir çalışma ile bakteriyel vajinozis taraması ve tedavisinin tekrarlayan gebelik kaybı ve erken doğum riskinde azalma gösterdiği ortaya konmuştur. Bununla birlikte yapılan bazı kontrolsüz çalışmalardan sonra araştırmacılar, erken doğumun önlenmesi için tüm gebe kadınların bakteriyel vajinozis taraması ve tedavi edilmesinde hiçbir yararın olmadığı sonucuna varmışlardır. Buna karşılık yapılan başka bir çalışmada, gebeliğin erken

dönemlerinde bakteriyel vajinozozun saptanması ve tedavisinin, erken doğum geçmişi olan kadınlarda erken doğumu önleyebileceğini ileri sürmüştür (Rai ve Regan 2006).

2.4.1.4. Anatomik Faktörler:

Konjenital uterin malformasyonlar, tekrarlayan düşük yapan kadınların yaklaşık %10-15'inde görülür. Gebelik kaybı, uterin septumdaki vaskülaritenin azalması ile ilişkili olabilir. TKG ile ilişkili en sık görülen konjenital anomali uterus septumdur ve uterus anomalilerin %3,5'ini oluştururken genel popülasyonda tüm major malformasyonların %80-90'ını oluşturur. Daha uzun septum, daha kötü prognoza sebep olsada kavisli uteruslu kadınlar ikinci trimesterde daha sık düşük yapma eğilimindedirler, bu nedenle tekrarlayan düşüklere katkısı tartışmalıdır (Garrido-Gimenez ve Alijotas 2015).

Servikal yetmezlik, gerçek insidans bilinmemekle birlikte, geç tekrarlayan düşüklere bilinen bir nedenidir. Risk altındaki kadınlar arasında servikal travma öyküsü (örn. Konisiyasyon), kollajen bozuklukları veya uterus/serviksın konjenital anomalileri yer alır. Asherman sendromu/intrauterin sineşi, endometriyal polipler ve endometriozisin tekrarlayan düşüklere katkıda bulunup bulunmadığı tartışmalıdır (Garrido-Gimenez ve Alijotas 2015).

2.4.1.5. İmmunolojik Nedenler:

Gebelik, anne bağışıklık sistemi için önemli zorluklar sunan bir biyolojik olaydır. Embriyonun rahim duvarına yerleştirilmesi, adezyonu ve implantasyonu, insan gebeliğinin kritik aşamalarıdır. Gebeliği korumak ve desteklemek için çeşitli bağışıklık hücreleri plasental yatağa geçer. Bu nedenle desidua, anne bağışıklık sisteminin fetal antijenlere karşı tolerans geliştirmesi gereken önemli bir bölgedir. İnsan desiduasında bu immün hücrelerin anormal frekansları ve fonksiyonları, tekrarlayan gebelik kayıpları preterm doğum ve preeklampsi gibi çeşitli obstetrik komplikasyonlarda bildirilmiştir (Liua ve ark. 2017).

Otoimmün hastalık, bir hastanın düşük yapma riskini artırır. Antijenlerin kendiliğinden toleransı ve artmış enflamatuvar yanıtın her ikisi de negatif gebelik sonuçlarıyla ilişkilidir. Antifosfolipid sendromu (APS) antikorları, trofoblastik apoptozisi indükler, spiral arterlerin anormal oluşumuna yol açar ve vasküler endoteli hedefler. Bu durum tromboza,

spontan düşüklere, fetal kayıplara yol açar. Sistemik lupus eritematöz (SLE), inflamatuvar barsak hastalığı ve otoimmün tiroiditi olanlar, kontrollerine göre TGK riskinde istatistiksel olarak anlamlı bir artışa sahiptir. SLE uzun bir süredir ve ayrıca tanı kriterleri olarak TGK'yi içeren APS ile ilişkili bulunmuştur. Yapılan çalışmalarda, TGK olan hastalarda antikorların oranlarında artış gözlemlenmiştir (Grimstad ve Krieg 2016).

2.4.1.6. Trombofili:

Trombofili, uteroplasental damarlarda tromboz durumu oluşturmakta ve bunun da fetomaternal beslenmeyi etkileyerek dekolman plasentaya, intrauterin gelişme geriliğine ve düşüklere neden olduğu sanılmaktadır. Kanama bozuklarına göre trombofilik bozuklukların daha fazla TGK'ye neden olduğu tespit edilmiştir (Bick ve Hoppensteadt 2005).

Trombofili, kalıtsal ve edinsel trombofili olarak ikiye ayrılır. Kalıtsal trombofili, pıhtılaşma kaskadının kalıtsal işlev bozukluğu ile gebelikteki durumun bir bileşik etkisi ile sonuçlanır. Bazı pıhtılaşma faktörlerinin miktarını ve/veya işlevini etkileyerek, kalıtsal trombofililer koagülasyon sistemini bozabilir. Kalıtsal trombofili ile kendiliğinden düşük, fetal kayıp, preeklampsi, fetal büyüme geriliği ve plasental abrupsiyon dahil olmak üzere olumsuz gebelik sonuçları arasındaki bağlantı ile ilgili tartışmalar devam etmektedir (Pritchard ve ark. 2016).

Gebelik kaybına neden olan başlıca kalıtsal trombofilik faktörler arasında Faktör V Leiden (FVL), metilen tetrahidrofolatredüktaz (MTHFR) C677T, protrombin gen G20210A mutasyonları yer almaktadır. Bunlarla birlikte protein C-S ve antitrombin III eksiklikleri de görülmektedir. Bu konuda çok sayıda araştırma yapılmış olmakla birlikte çelişkili sonuçlar bildirilmiştir (Özdemir ve ark. 2010, Bilici ve ark. 2015).

Edinsel trombofili terimi ise sonradan kazanılan trombofili nedenlerini ifade etmektedir. LDL kolesterol yüksekliği, obezite, antifosfolipid sendromu, ateroskleroz, atriyal fibrilasyon, cerrahi girişim, diabetes mellitus, gebelik, hipertansiyon, immobilizasyon, ileri yaş, nefrotik sendrom, lipoprotein (a) yüksekliği, oral kontraseptif kullanımı, orak hücreli anemi, hipertrigliseridemi, konjestif kalp yetmezliği, lökostazis sendromları, östrojen kullanımı, travma, myeloproliferatif hastalıklar, sol kalp yetmezliği, vaskülitik sendromlar, varisler, sigara kullanımı, trombotiktrombositopenik purpura, atipik hemolitik üremik sendrom, dissemine intravasküler koagülasyon, paroksizmal noktürnal

hemoglobüri, edinsel protein S eksikliği, edinsel protein C eksikliği, edinsel antirombin eksikliği gebelik kayıplarıyla ilişkilidir (Erkurt ve Berber 2016, Rosendaal 1999).

2.4.1.7. Diğer:

Sigara içiminin, trofoblastik fonksiyon üzerinde olumsuz bir etkiye sahip olduğu ve sporadik gebelik kaybı riskinin artmasıyla ilişkili olduğu ileri sürülmüştür. Obezitenin, doğal olarak gebe kalan kadınlarda artmış TKG riski ile ilişkili olduğu da gösterilmiştir. Kokain kullanımı, alkol tüketimi (haftada 3 ile 5 içecek) ve kafein tüketiminin artması gibi diğer yaşam tarzı alışkanlıkları >3 fincan kahve (günlük) düşük yapma riskiyle ilişkilendirilmiştir (Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine 2012).

2.5. Hemostaz Mekanizması ve Koagülasyon Sistemi

Hemostaz; fizyolojik bir savunma mekanizması olup vücudun kan kaybını önlemektedir. Kanın damar içinde tutulmasını, vücut onarım süreçleri ile kanamanın durmasını sağlar. Kanın akışkanlığını yeniden kazandıran, pıhtı oluşumunu engelleyen sistemleri de içermektedir. Hemostaz kanın akışkanlığı ile pıhtılaşma arasındaki hassas dengeyi korur. Endotel hasarı oluşan sağlıklı bireylerde düşük düzeyde koagülasyon yanıtı oluşurken denge bozulduğunda ise aşırı kanama ya da istenmeyen koagülasyon durumu meydana gelebilir (Schenone ve ark. 2007).

Damar hasarından hemen sonra hemostaz süreci başlar. Normal hemostaz, vasküler endotel yanıtı, trombosit tıkaçının oluşması ve koagülasyon olmak üzere üç aşamada oluşur. Hemostazın normal olarak sürdürülebilmesi için bu aşamalar uygun biçimde çalışmalıdır. Vasküler yanıt ve trombosit tıkaçının oluşması primer hemostazı, koagülasyon sistemi ise sekonder hemostazı ifade eder. Çünkü günlük yaşamda oluşan endotel hasarının onarımında vasküler ve trombosit tıkaçın oluşum mekanizmaları yeterli olurken, daha geniş hasarlarda ve kan kaybını engellemede koagülasyon sürecine ihtiyaç vardır (Atalan 2013).

2.5.1. Koagülasyon (Hemostaz) Mekanizmaları

2.5.1.1. Primer Hemostaz:

Vasküler yaralanma olmadığında normal damar duvarını, sıvıyı kanda tutan trombositleri, pıhtılaşma mekanizmasının aktivasyonunu önleyen antiplatelet ve

antikoagülan aktiviteleri primer hemostazı ifade eder. Kan damarı duvarının yaralanmasıyla, subendotelyal bölgedeki kollejene glikoprotein reseptörleri ile Von Willebrand faktörü bağlanır. Glikoprotein (GP) Ib, trombositlerin yapışması için gerekli olan endoteldeki von Willebrand faktörü reseptörüdür. Trombosit aktivasyonu, fibrinojen ve reseptörü, trombosit GP IIBIIIa'nın aracılık ettiği trombosit agregasyonuna yol açar. Bu nedenle, primer hemostazda kanamaya yol açabilecek nedenler arasında trombosit GP Ib veya GP IIBIIIa eksikliği, von Willebrand faktörü (von Willebrand hastalığı), trombositopeni veya trombosit fonksiyon bozukluğu olabilir (Rodgers 2018).

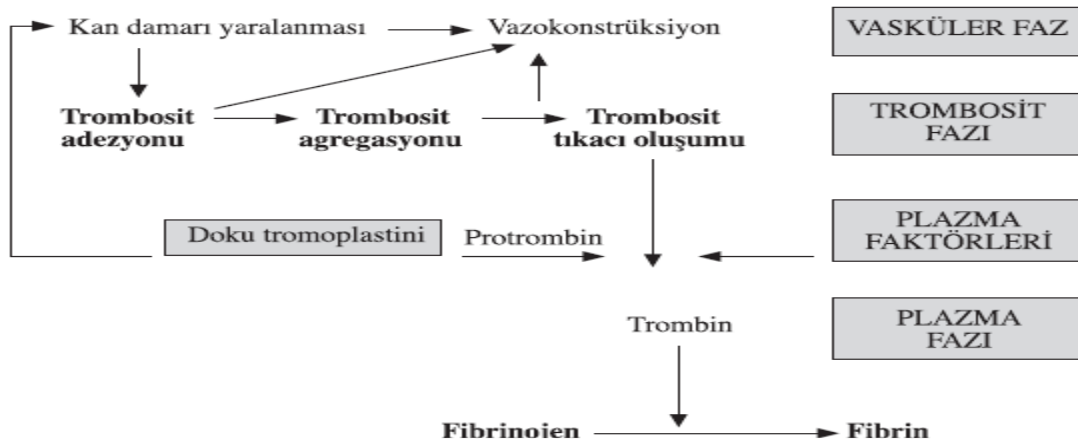
Hasarlı damar duvarında trombositler kümeleşerek tıkaç oluştururlar. Primer hemostazla düşük volümlü kanamalar ve basit damar yaralanmaları durdurulabilirken; tromboz tıkaçı oluşmasıyla koagülasyon kaskadının ve fibronolitik sistemin bulunduğu sekonder hemostaz devreye girer (Panteleev ve ark. 2015).

2.5.1.2. Sekonder Hemostaz:

Pıhtılaşma faktörlerinin ardışık olarak aktive olmasını takiben fibrinojenin fibrine dönüşümü ve fibrinin polimerize olarak fibrin pıhtısını oluşturmasını kapsar. Pıhtılaşma kaskadı, bir faktörün aktivasyonunun bir diğerinin aktivasyonuna neden olup ilerlemesi durumudur. Pıhtılaşma faktörlerinin aktif olanlarında "a" harfi yer alır ve pıhtılaşma faktörleri Romen rakamları ile gösterilir. İntrensek, ekstrensek ve ortak yol olmak üzere aktivasyon gösterir. İnhibitör sistemleri, pıhtılaşma kaskadının çeşitli basamaklarında devreye girerek aşırı aktivasyonu engelleyip sistemde denge sağlar (Turan 2016, Paterson ve Stein 2014). Hemostaz mekanizması Şekil 2.1'te gösterilmiştir.

Kan damarı zedelenmesiyle yanıt olarak aşağıdaki basamaklar devreye girer:

1. Vazokonstriksiyon (vazküler faz),
2. Trombosit tıkaçı oluşumu (primer hemostatik mekanizma-trombosit fazı),
3. Fibrin trombüsü oluşumu (sekonder hemostatik mekanizma-plazma fazı).



Şekil 2.1. Hemostaz mekanizması (Tutar ve ark. 2000).

2.5.1.3. Koagülasyon Kaskadı

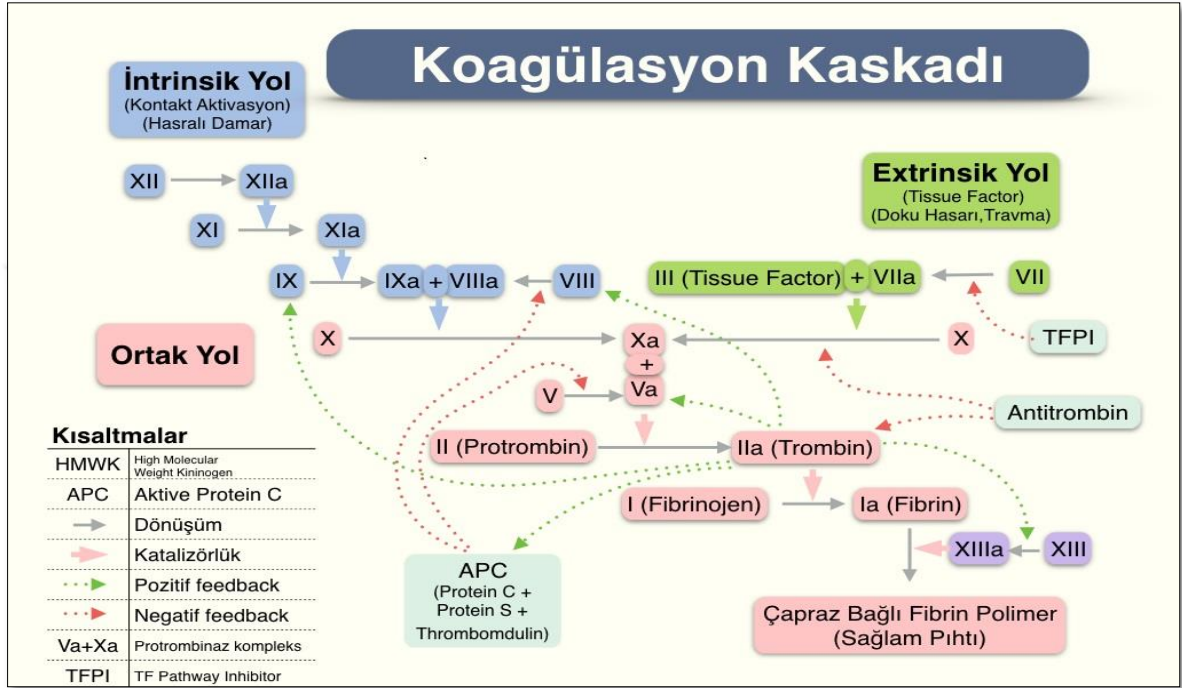
Her bir pıhtılaşma faktörünün aktivasyonunun bir diğerinin aktivasyonuna neden olduğu ileri sürülen ilk pıhtılaşma modeli olan “kaskad” ve “şelale” kavramı 1960 yılında ortaya çıkmıştır.

Aktive trombositler tarafından salgılanan polianyonlar ile teması sonucunda FXII'nin FXIIa'ya dönüşümü intrinsek yolu başlatır. Ekstrensek yol; doku faktörü(TF), fosfolipit ve kalsiyum sitrat ile antikoagüle edilmiş plazmaya eklendiğinde başlar. Dolaşımdaki FVII / FVIIa yüksek afinite ile TF'ye bağlanır. FVII, FVIIa'ya aktive edilir, TF-FVIIa kompleksi; Faktör IX'u (FIX) FIXa'ya ve Faktör X'u (FX) FXa'ya ve ortak yolu aktive ederken doku faktörü inhibitörü (TFPI) ile hızlı bir şekilde inhibe edilebilir (De Luca ve ark. 2017).

Antitrombin III, FXa ve trombinini bloke edebilir. Trombosit yüzeyindeki trombin, ayrılan von Willebrand faktörü FVII i serbest bırakırken, Faktör XI'u (FXI) FXIa'ya ve Faktör V'i (FV) FVa'ya ayırır. Ayrıca, dolaşımdaki kalsiyum iyonlarının eklenmesi hem FX'un hem de FIX'un aktivasyonunu indükleyen bir üçüncül kompleks (TF / FVIIa / Ca²⁺) oluşumuna yol açar (Cimmino ve ark. 2017).

Aktive olmuş trombositlerin yüzeyi negatif yüklü fosfolipitlerce zengindir ve pıhtılaşma sistemi faktörleriyle birleşerek reaksiyonun devamını sağlarlar. FXa, aktive olmuş FV, kalsiyum ve fosfolipid (protrombinaz kompleksi) varlığında protrombinini (faktör II) trombine (faktör IIa) çevirir. Trombin ise fibrinojenin fibrine dönüşmesini sağlar. Faktör

XIIIa çözünür olmayan fibrin pıhtısını oluştururken, FXIII stabil fibrin oluşmasını sağlar. Her iki yolda, FX'in aktifleşmesi ve ortak bir yoldan fibrin bakımından zengin bir pıhtı oluşumu ile sonuçlanır (Erol ve Yalçın 2011). Koagülasyon kaskadı Şekil 2.2'de gösterilmiştir.



Şekil 2.2. Koagülasyon kaskadı (www.turkcerrahi.com).

2.5.1.4. Aktive parsiyel tromboplastin zamanı (aPTT)

Pıhtılaşmanın intrinsik (VIII, IX, XI ve XII) ve ortak yolunun (X, V, II, I) değerlendirilmesinde kullanılır. Buyolaklardaki faktörlerin eksiklikleri veya onlara karşı gelişmiş antikor varlığında uzamış bulunur (İfran 2007).

2.5.1.5. Protrombin zamanı (PT)

Ekstrinsik ve ortak yolda yer alan FII, FVII, FX ve fibrinojenin eksikliklerinin saptanmasında rol alır (İfran 2007).

2.5.1.6. Uluslararası normalleştirilmiş oran (INR)

INR; hemostatik sistemin veya trombotik durumların başlangıç değerlendirilmesi için kullanılmaktadır. Ticari doku tromboplastin reaktiflerinin duyarlılığındaki nispi farklılıklar Uluslararası Hassasiyet Endeksi (ISI) ile belirtilmiştir. Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tromboplastine 1.0 ISI belirlemiştir. Ticari tromboplastinler (faktörler), WHO standardı kullanılarak dengelenir ve nispi hassasiyetlerini belirtmek için bir ISI değeri alınır. PT'nin duyarlılığı tromboplastin kaynağına göre değişkenlik gösterdiği gibi tahliller, kullanılan cihaza göre de değişmektedir ve bu farklılıkları düzeltmek için INR geliştirilmiştir.

$$[INR = \frac{PT (test)}{PT(normal)} \cdot ISI]$$

INR, hastada ölçülen PT değerinin, test normaline bölünmesinden sonra, ISI değer kuvvetine yükseltilmesiyle bulunur. Bu hesaplamanın nedeni, PT değerinin kullanılan test kitine göre farklılıklar gösterebilmesidir (Winter ve ark. 2017).

2.5.1.7. Fibrinolitik Sistem

Fibrinolitik sistem, damar onarımı yapıldıktan sonra pıhtı çıkarmak ve kan dolaşımında oluşan pıhtıları parçalamak için işlev görür. Fibrin parçalanma ürünlerini oluşturan fibrinin, plazmin ile parçalanması bu yolaktaki son adımdır. Plazmin, plazminojen aktivatörleri (PA), ürokinaz tipi plazminojen aktivatörü (uPA) ve doku tipi plazminojen aktivatörü (tPA) ile plazminojenden üretilir. İkinci olarak endotel hücrelerinde öncelikli olarak üretilir. Plazminojenin ana intravasküler aktivatörü tPA olduğu kabul edilir. Fibrin yüzeyinde yer alan plazminojen ve tPA'nın kendi kendini sınırlandırma özelliği vardır; bu, tPA'nın plazminojeni plazmaya dönüştürme yeteneğini belirgin şekilde artırır (Heesun ve ark. 2018).

Fibrinolitik sistem, birkaç inhibitör tarafından düzenlenir. Plazminojen aktivatör inhibitörü-1 (PAI-1), t-PA'yı (birincil olarak tct-PA) bağlar ve aktif olmayan bir komplekse neden olur. Normal koşullar altında, plazmadaki PAI-1 konsantrasyonu, devam etmekte olan sistemik fibrinolizi ve bunun sonucunda oluşan kanamayı plazminojen aktivatörlerinininkinden daha fazla önler. Trombin aktive edilebilir fibrinoliz inhibitörünün

(TAFIa) aktif formu, fibrin üzerinde karboksil-terminal lisinlerini ayırır, böylece t-PA-plazminojen-fibrin kompleksinin oluşumunu engeller(Ilich ve ark. 2017).

2.6. Gebelikte Trombofilik ve Hematolojik Değişiklikler

Trombofili, tromboz oluşumuna yatkınlığa sebebiyet veren kazanılmış veya kalıtsal koagülasyon bozukluklarını içeren genel bir terimdir (Şen ve ark. 2013, Kupfermanc 2003).

Gebelikte gözlemlenen normal fizyolojik pıhtılaşma durumunda artışa esas olan neden trombofilidir. Bu durum gebelik boyunca komplikasyonlara sebebiyet verebilir. Son yapılan çalışmalarla, tekrarlayan düşüklerin bir nedeninin trombofili olabileceği ileri sürülmüştür. Tekrarlayan düşüklere birçok faktör neden olmasına rağmen, %50'si hala açıklanamamıştır (Kashif ve ark. 2015). Gebelik sırasında 1/1000 doğumda venöz tromboembolizm (VTE) görülür ve gebelikte VTE'ningörülmesi hamile olmayan kadınlara göre 4,5 kat daha fazladır. VTE riski üçüncü trimesterde daha yüksektir, ancak en yüksek risk doğum sonrası görülür. Bu nedenle göreceli risk, doğum sonrasının ilk 6 hafta içinde 20 kat daha yüksektir ve bu trombotik olayların % 80'i doğum sonrası ilk üç hafta içinde meydana gelir (Coriueve ark. 2014).

Hemostaz sisteminde tromboz lehine olan değişiklikler, kötü gebelik sonuçlarına (intrauterin gelişme geriliği, preeklampsi, intrauterin fetal ölüm, dekolman plasenta) neden olabilmektedir. Trombofili, edinsel veya kalıtsal trombofili olarak ikiye ayrılır. Kalıtsal trombofili, kan pıhtılaşmasının genetik bozukluklarından oluşan bir gruptur. Kalıtsal trombofili hastalığının en yaygın nedeni FVL ve Faktör II gen mutasyonudur (Kashif ve ark. 2015). Antitrombin III (AT III), protein C (PC) , protein S (PS) eksiklikleri ve aktive protein C rezistansı (APCR) gibi nedenlere bağlı kalıtsal trombofili tanısı konmuş olan kadınlarda yapılan çalışmalarda gebelik kaybında prevelans artışı gösterilmiştir (Şen ve ark. 2013, Rai ve ark. 2001).

2.6.1. Antitrombin Eksikliği

Karaciğer ve endotelden sentezlenen AT, kan pıhtılaşma sisteminde faktör IX, X, XI ve tromboni engelleyen serpin ailesinin bir üyesidir. AT geni, 1q23-25 kromozomu üzerinde bulunur. AT eksikliğine bağlı ilk mutasyon 1983 yılında tanımlanmıştır(Sharma ve ark.

2015). AT eksikliği, sağlıklı bireylerin % 0,02'sinde, ilk VTE atağı geçirenlerin %1'inde, trombofilili hastalarının da % 4-8'inde görülmektedir. AT eksikliğinin yüzden fazla mutasyonu bildirilmiştir verelatif tromboz riskini 40 kat arttırmaktadır. VTE yanı sıra AT eksikliği olan kadınlarda oral kontraseptif kullanıldığında %27,5 ve gebe kalındığında ise %50-70 oranında VTE görülmektedir. AT eksikliği, trombofili için bilinen bir kalıtsal faktördür (Walker 2000).

Antitrombin eksikliği heterojen bir bozukluk olup iki temel tipi kabul edilmiştir:

1.Tip-I eksiklik: AT seviyelerinde ve işlevde azalmaya bağlı olarak fonksiyonel testler de bozuk bulunur.

2.Tip II eksiklik: AT miktarı normaldir ama niteliksel eksiklik vardır, ancak fonksiyonu azalmıştır. Tip II'ninde kendi içerisinde 3 tipi vardır.

2a.Tip II RS: AT'in 'reaktif site' defekti (11 mutasyon tanımlanmıştır).

2b.Tip II HBS: 'Heparin binding site' defekti (11 mutasyon tanımlanmıştır).

2c.Tip II PE: 'Pleitropic effect'. Multipl fonksiyonel defekt (9 mutasyon tanımlanmıştır) (Küçükkaya ve Aydın 2006).

2.6.2. Protein S Eksikliği

Protein S, aktive edilmiş protein C (APC) ve K vitaminine bağlı bir glikoprotein olup kan pıhtılaşmasını düzenleyici role sahiptir. Pıhtılaşma önleyici serin proteaz için kofaktör olarak görev yapmaktadır. PS, APC'nin FVa ve FVIIIa'yı inaktivasyonunda nonenzimatik kofaktördür (Küçükkaya ve Aydın 2006). Son zamanlarda yapılmış olan birçok çalışma, olumsuz gebelik sonuçları ile PS eksikliği arasındaki ilişki olabileceğini öne sürmüştür (Sato ve ark. 2018). Protein S eksikliğinin 3 tipi bulunmaktadır:

1) Tip I PS eksikliği: Total ve serbest formlarda PS miktarlarında belirgin azalma görülür.

2) Tip II PS eksikliği: Total ve serbest formlar normal miktardadır, işlevi bozuktur.

3) Tip III PS eksikliği: Total PS seviyesi normaldir, serbest PS miktarında azalma meydana gelir (Küçükkaya ve Aydın 2006).

2.6.3. Protein C Eksikliği

Protein C, kofaktör proteini S gibi, K vitaminine bağımlıdır. Pıhtılaşma sırasında, PC trombin tarafından kesilerek APC halini alır; PS ile aktive edilmiş koagülasyon kaskadının kofaktörleri FVa ve FVIIIa' yı ayırır, daha fazla trombin üretim oranını sınırlar (Walker 2000). Protein C geni 2. kromozomdadır (2q13-2q14) ve şimdiye kadar 160'dan fazla mutasyon tarif edilmiştir.

Tip I PC eksikliği: Protein C miktarı azaldığından fonksiyonel testler de bozuk sonuçlanır.

Tip II PC eksikliği: Protein C miktarı normaldir ancak protein kusurlu olduğu için, proteinin fonksiyonu düşüktür (Küçükaya ve Aydın 2006).

Genel popülasyonda heterozigot PC eksikliğinin prevalansı yaklaşık %0,3'tür ve VTE öyküsü olan seçilmemiş hastaların yaklaşık %3'ünde PC eksikliği rapor edilmekte olup, hamile olmayan hastalarda göreceli olarak VTE riskine işaret etmektedir (Walker 2000).

Genel batı popülasyonunda kalıtsal trombofilili prevalansının yaklaşık %15 olduğu tahmin edilmektedir. Bununla birlikte, bu koşulların yaygınlığında farklı coğrafi ve kabile toplulukları arasında önemli bir değişiklik olduğu görülmektedir. FVL %0,6 ile %7,0 arasında değişmekte olup, Afrika'da (%0-%0,6) en düşük ve Güney Avrupa'da (% 7) ise en yüksektir. Kuzey Avrupa'da ortalama yaygınlık % 4'tür. Protrombin (FII) G20210A mutasyonu (homozigot veya heterozigot) prevalansı %0,2 ile %3 arasında değişmekte olup, Afrika'da en düşük (%0-%0,3) ve Güney Avrupa'da (%3) en yüksektir. Kuzey Avrupa'daki ortalama değer %2'dir. Protein C (%0,2), PS (%0,03-%0,1) ve AT (%0,02) eksiklikleri çok nadir görülür (Liatsikos ve ark. 2016).

Yapılan bir çalışmada kalıtsal trombofililerin sadece VTE ile değil aynı zamanda tekrarlayan düşük ve gebelik vasküler komplikasyonları da dahil olmak üzere olumsuz gebelik sonuçlarıyla ilişkili olduğu, preeklampsili kadınların %65'i, beklenmedik ölü doğum, plasental abrupsiyon ve fetal büyüme kısıtlamasının bir çeşit trombofilili olduğu bildirmiştir. Kalıtsal trombofililer, nedensel bir ilişki kanıtlanmadığı halde doğurganlık problemleriyle ve implantasyon yetersizliğiyle de bağlantılıdır. Kalıtsal trombofililerin olumsuz gebelik üzerindeki genel etkisi birincil neden olmaktan ziyade katkıda bulunabileceğini göstermektedir (Ormesher ve ark. 2016). Kalıtsal trombofilili ile olumsuz gebelik sonuçları arasındaki ilişkilerin özeti Çizelge 2.2'de gösterilmiştir.

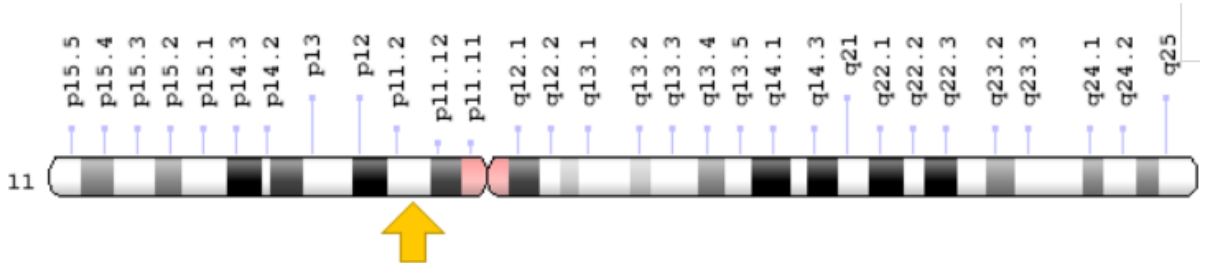
Çizelge 2.2. Kalıtsal trombofili ile olumsuz gebelik sonuçları arasındaki ilişkilerin özeti.

	VTE	Early pregnancy loss	Recurrent first-trimester loss	Second-trimester loss	Late pregnancy loss	Pre-eclampsia	Placental abruption	FGR
Factor V Leiden	↑	↑	↑/↔	↑	↑	↑	↑	↔
Prothrombin G20210A	↑	↑	↑/↔	↑	↑	↑	↑	↔
Protein C deficiency	↑	↔	↔		↔	↑	↔	↔
Protein S deficiency	↑	↔	↔		↑	↔	↔	↔
Antithrombin deficiency	↑	↔	↔		↔		↔	↔
Hyperhomocysteinemia	↔	↔	↔		↔	↑	↔	↔

VTE: Venöz tromboembolizm; FGR: Fetal büyüme geriliği.

2.6.4. Faktör II (Protrombin) Gen Mutasyonu

Protrombin (faktör II [FII]), karaciğer tarafından sentezlenen, K vitaminine bağlı bir glikoproteindir. Protrombin geni, 11. kromozom üzerinde, 11p11.2. pozisyonunda bulunur. Gen, 13 intronla ayrılmış iki tanımlanmamış bölge ile 14 ekzondan oluşur (Gao ve Tao 2015). Protrombin gen bölgesi Şekil 2.3'te gösterilmiştir.



Şekil 2.3. 11. kromozom üzerine yerleşimli F2 gen bölgesi (<https://ghr.nlm.nih.gov>).

Kanın pıhtılaşma sürecinde anahtar bir enzim olan trombinin öncülünü kodlar. Protrombin gen mutasyonu (G20210A), tanımlanmamış 3' bölgedeki 20210 (rs1799963) nükleotid pozisyonunda guanin-adenin yer değişikliğiyle ortaya çıkar ve plazmada protrombin düzeyinin artışına sebebiyet verir. Kan pıhtılaşma sisteminin dengesizliğine neden olabilir (Lancellotti ve ark 2013). Protrombin, aktif α -trombin oluşturmak üzere fosfolipidler, kalsiyum ve faktör Va varlığında faktör Xa tarafından aktive edilir. Son olarak fibrinojeni proteolize eder ve fibrin oluşturur, böylece pıhtı oluşumunu teşvik eder (Gao ve Tao 2015).

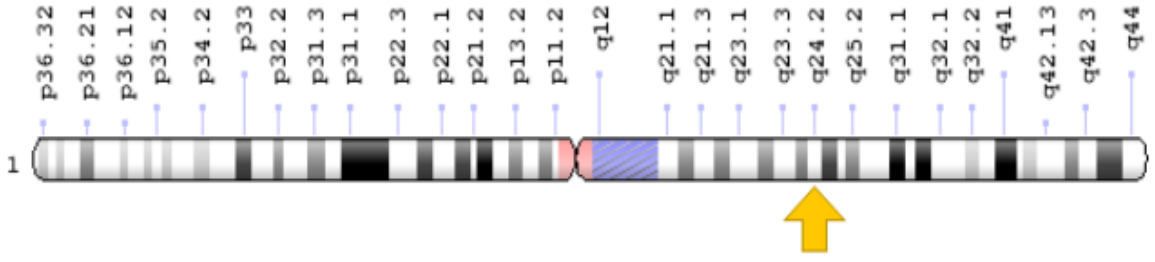
Protrombin eksikliği Kafkas, Orta Doğu ve Oryantal topluluklarda tanımlanmıştır. Akriba evliliğinin görülme sıklığının yüksek olduğu geleneksel popülasyonlarda, homozigotluktaki resesif geçişli koagülasyon bozukluklarının sıklığını 10 kat arttırmıştır. Her ne kadar konjenital protrombin eksikliği nadir olsa da, bu vakaların göçmen nüfus nedeniyle artmaya devam ettiği hem gelişmekte olan hem de gelişmiş ülkelerde dikkat çekmektedir (Lancellotti ve ark 2013).

Protrombin G20210A mutasyonu, potansiyel olarak plasental tromboz ve enfarktüsü başlatabilen venöz trombofili riskini artırır. Bu durum utero-plasental perfüzyon yetersizliği nedeniyle gebelik kaybı riskini arttırmaktadır (Gao ve Tao 2015).

2.6.5. Aktif Protein C Rezistansı ve Faktör V Leiden G1691A Mutasyonu

Aktive Protein C rezistansı (APCR) bir plazma örneğinin APC'ye azalmış antikoagülasyon yanıtı göstermesiyle ifade edilir ve PC yolundaki pek çok anomaliye bağlı olabilir. Bu anomaliler; defektif APC substratları, defektif APC kofaktörleri ve normal bir PC yoluna karşı oluşmuş antikor veya diğer ajanlardan kaynaklanabilir. APC'ye karşı dirençle ilgili kalıtımın, otozomal dominant olduğu belirtilmiştir (Richard ve ark. 1998) APCR, VTE için bir risk faktörüdür. F5 R506Q (F5 rs6025; faktör V Leiden, FVL) mutasyonu ile bu fenotip yüksek oranda ilişkilidir (Prüller ve ark. 2013).

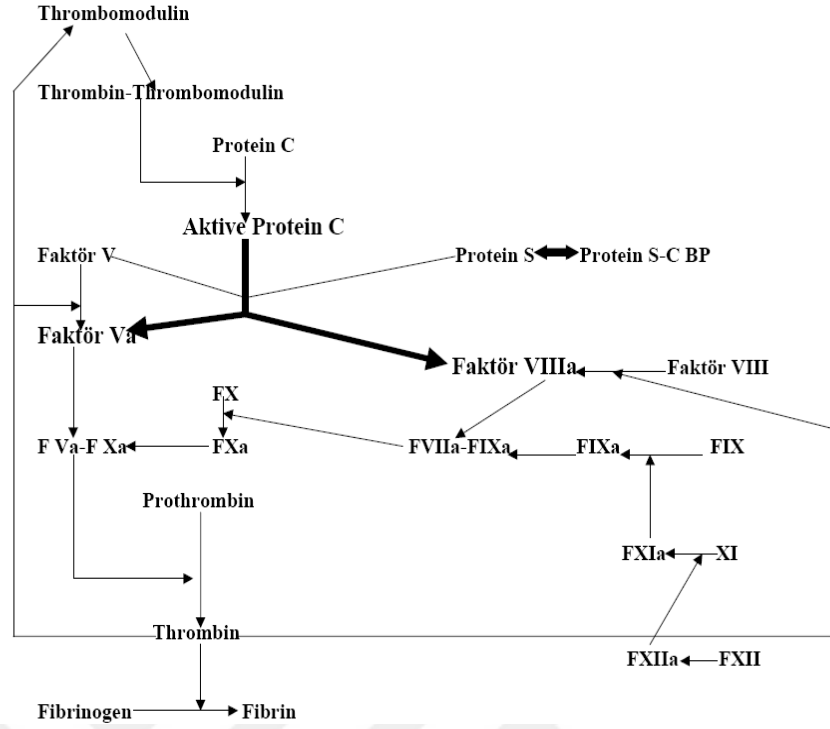
İlk kez 1993 yılında Dahlback ve ark. (1993) APCR 'den ve bundan bir yıl sonra da Greengard ve ark. (1994) kalıtsal APCR'den sorumlu olarak FVL mutasyonunu tanımlamışlardır.



Şekil 2.4. 1. kromozom üzerine yerleşimli FV gen bölgesi (<https://ghr.nlm.nih.gov>)

Faktör V’i kodlayan genin 10. ekzondaki Leiden mutasyonu; 1691. nükleotidde Adenin yerine Guanin geçmesi ve bunun Faktör V’in 506. pozisyonundaki Arjinin’in Glutamin aminoasidi ile yer değiştirmesi sonucu oluşan nokta mutasyonudur. Faktör V mutasyonu, APCR’yi indükler ve tromboz riskinin artmasına neden olur. Trombin-trombomodulin kompleksi ve PS kofaktörü ile aktive olan PC, Faktör V ve VIII’i inaktive eder. FVL mutasyonunda ise bu pıhtılaşma faktörlerinin inaktivasyonu 10 kat kadar yavaşlamaktadır (Greengard ve ark.1994). Faktör V gen bölgesi Şekil 2.4’de gösterilmiştir.

Aktive edilmiş FV, protrombinaz kompleksini dengeler ve protrombin aktivasyonunu artırır. APCR vakalarının %95’inden FV mutasyonu sorumludur. Venöz tromboz riski, heterozigot mutasyonlu taşıyıcılarda 7 kat, homozigot mutasyonlularda 80 kat artar. Çalışmalar, kadınlarda FVL mutasyonunun prevalansının tekrarlayan düşüklerde %3 ile %42 arasında değiştiğini bildirmiştir. Kafkas popülasyonunda FVL prevalansı ise %4 ile %7 arasındadır (Kashif ve ark. 2015). FVL mutasyonu Avrupa ülkelerinde daha sıktır. Sağlıklı bireylerde %3-12, ilk kez VTE geçirenlerde %18-20 sıklığında görülürken FVL tüm trombofililerin %50’sini meydana getirmektedir. 400- 500 gebede bir FVL mutasyonu görülmekteyken VTE’li gebelerin %24-46’sında FVL mutasyonu bulunmaktadır (McColl ve ark. 1997).



Şekil 2.5. Aktive Protein C'nin koagülasyon sistemindeki rolü.

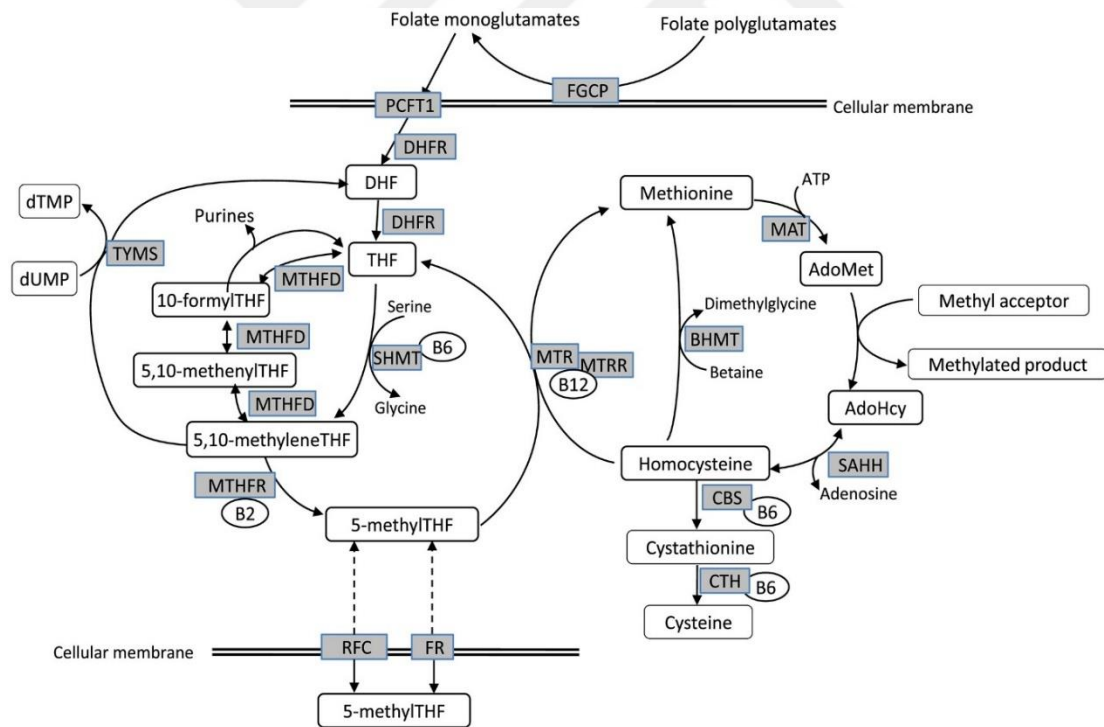
Trombin hem endotelial bir membran proteini olan trombomoduline bağlanır hem de fibrinojeni fibrine dönüştürür. Bu durum trombinin prokoagulan formdan antikoagulan bir forma dönüşmesine sebep olur. Akabinde trombin, PC'yi aktive eder. Aktive protein C, kofaktör protein S varlığında F Va'yı önce 506. pozisyondan, F VIIIa'yı da 306. ve 679. pozisyondan sırasıyla keserek inaktive eder. Aktive Protein C'nin koagülasyon sistemindeki rolü Şekil 2.5 gösterilmiştir (Walker ve ark. 1999).

2.6.6. Metilentetrahidrofolat Redüktaz (MTHFR) ve Hiperhomosistinemi

Metilentetrahidrofolat redüktaz (MTHFR), folat metabolizması yolunda yer alan bir enzimdir. Folat yolu ve homosistein metabolizması Şekil 2.6'da gösterilmiştir. Bu enzim, metilentetrahidrofolatı, folatın birincil devreden formu olan metiltetrahidrofolat'a dönüştürür. MTHFR eksikliğinin bir sonucu olarak folat işlevindeki kusurlar, kandaki folat seviyelerinin azalması ile ilişkilendirilmiştir. Devreden folat, homosisteinin metiyonine yeniden metilasyonu için bir yardımcı substrattır. Metiyonin, bir ana metil donörü olan S-adenosilmetiyoninin (SAME) bir öncüsüdür.

MTHFR genindeki ve folat durumundaki varyantların deoksibonükleik asit (DNA) metilasyonunu ve gen düzenlemesini etkilediği göstermiştir (Levenseller ve Varga 2016).

Folat, homosistein metabolizmasında çok önemli bir vitamindir. Serum folat, folat reseptörleri vasıtasıyla doku hücrelerine girer sonra dihidrofolat redüktaz (DHFR), onu tetrahidrofolat haline dönüştürür. Sonra, tetrahidrofolat, kofaktör olarak B6 vitamini ile 5, 10-metilentetrahidrofolat'a dönüştürülür. Daha sonra, metilenetrahidrofolat redüktaz (MTHFR), metiyonin sentaz (MTR) ile katalizlenen bir reaksiyonda homosisteinin metiyonine dönüştürülmesi için bir metil grubu temin ederek 5, 10-metiletetrahidrofolatı 5-metiletetrahidrofolat'a dönüştürür. MTR koenzim olarak B12 vitamini (kobalamin) gerektirir. Zamanla, MTR'nin kobalamin (I) kofaktörü, MTR'nin etkisizleşmesine yol açan kobalamin (II) oluşturmak üzere oksitlenir. Bu nedenle, MTR'nin aktivitesini korumak için oksitlenmiş kobalamin (II) 'nin CH3-kobalamine (III) ters çevrilmesi için metiyonin sentaz redüktaz (MTRR) gereklidir (Wen-Xing ve ark. 2015).



Şekil 2.6. Folat yolu ve homosistein metabolizması (Hiraoka ve Kagawa 2017). AdoHcy, S-adenosilhomosistein; AdoMet, S-adenosilmetilionin; BHMT, betain-homosistein metiltransferazı; CBS, sistatyonin P-sentaz; CTH, γ -sistatyonaz; DHF, dihidrofolat; FGCP, folil poli- γ -glutamat karboksipeptidaz; FR, folat reseptörü; MAT, metiyonin adenosiltransferaz; MTHFD, metilentetrahidrofolat dehidrojenaz; MTHFR, metilentetrahidrofolat redüktaz; MTR, metiyonin sentaz; MTRR, metiyonin sentaz redüktaz; PCFT1, proton-bağlı folat taşıyıcı; RFC, indirgenmiş folat taşıyıcı; SAHH, S-adenosilhomosistein hidrolaz; SHMT, serin hidroksimetiltransferaz; THF, tetrahidrofolat; B2, vitamin B2; B6, B6 vitamini; B12, B12 vitamini.

5,10-metilentetrahidrofolat redüktaz (NAD(P)H) veya MTHFR geni için gen, kromozom 1'in kısa (p) kolunda bulunur (sitogenetik yer: 1p36.22). MTHFR geni, 656 aminoasitten yapılan ve molekül ağırlığı 74.597 kDA olan birezim metilentetrahidrofolat redüktazı (MTHFR; EC 1.5.1.20) kodlar (Nefic ve ark. 2018).

İki baskın MTHFR polimorfizmi vardır, 677C>T ve 1298A>C. Genel popülasyonda, bireylerin %60-70'i bu değişkenlerden en az biri bulunurken, 677C>T veya 1298A>C polimorfizmlerinden %8,5'i homozigot, %2,25'i bileşik heterozigota sahiptir. Genel olarak, nüfusun %10'u homozigot veya bu iki polimorfizm için bileşik heterozigottur (Long ve Goldblatt 2016). MTHFR geninde meydana gelen bir mutasyon, enzim aktivitesini azaltmaktadır.

MTHFR C677T polimorfizminde, MTHFR enzimini kodlayan genin 4.ekzondaki 677. nükleotid olan C (Sitozin)'in →T (Timin)'e değişimi sonucu meydana gelen nokta mutasyonudur. Genin ürünü olan proteinin 226. pozisyonunda Alanin'in yerine Valin'in geçmesine neden olur. Bunun sonucunda MTHFR aktivitesi azalır (Sell ve Lagemwa1999). Azalan MTHFR aktivitesi, 5-metil tetrahidrofolat seviyesinde azalmasına, homosisteinin metiyonine dönüşmemesi nedeniyle plazma homosistein seviyesinde artmaya neden olur.

MTHFR geninde belirlenen diğer bir mutasyon da, enzimi kodlayan genin 7. ekzondaki 1298. nükleotid olan Adenin (A) → Sitozine (C) değişimi sonucu, MTHFR proteinindeki Glutaminin → Alanine değişimine neden olan nokta mutasyonudur. Mutasyonluk durumda MTHFR aktivitesinde azalma meydana gelir. A1298C ve C677T polimorfizmlerinin birlikte heterozigot olduğu durumda, MTHFR enzim aktivitesi, her iki allelin normal olduğu durumdaki enzim aktivitesinin %50-60'ı kadardır (Uğuz ve ark. 2012, Botto ve Yang 2000).

2.6.7. Faktör XIII Gen Mutasyonu

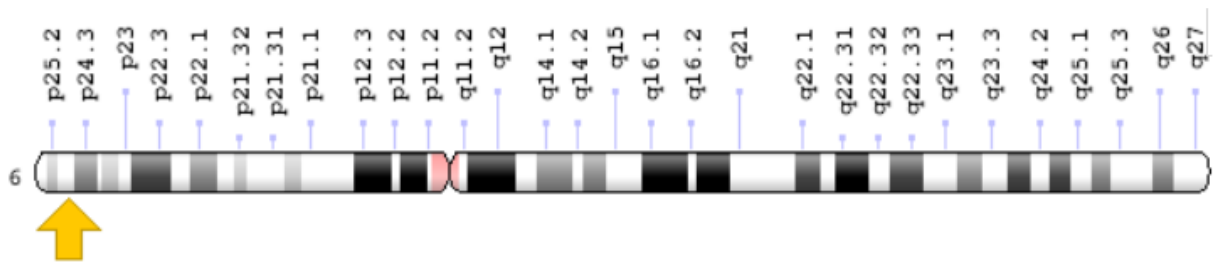
Faktör XIII (FXIII)'ün keşfi 1940'lara dayanmaktadır. Konsantre serum üre çözeltilisinde fibrin pıhtılarının çözülmez hale getirildiği bir “serum faktörü” bulunmuş ve daha sonrasında “fibrin stabilize edici faktör” olarak isimlendirilmiştir. 1960 yılında yapılan bir çalışmada, bir hastanın ciddi kanamasının, fibrin stabilize edici faktörün eksikliğinden

kaynaklandığını gösterilmiştir. Bu klinik bulgudan kısa bir süre sonra, bu tür fibrin stabilize edici faktör, resmen 1963'te FXIII olarak adlandırılmıştır.

FXIII, kanamayı durdurmak ve koagülasyonda çözünmeyen pıhtı oluşturmak için gereklidir. FXIII, Ca^{+2} yardımıyla trombin ile aktive edilmiş FXIII'e dönüştürülür ve aktive edilmiş trombin ile fibrinojenden dönüştürülen fibrinin çapraz bağlanmasını katalize eder (Shi ve Wang 2017).

FXIII, plazmadaki A alt birimleri için taşıyıcı görevi gören 2A alt birimi ve 2B alt biriminden oluşan bir protransglutaminazdır. FXIII, bir N-terminal aktivasyon peptidinin A alt ünitesinden trombin ile ayrılması ve transglütaminaz FXIII-A dimerinin kalsiyum varlığında B alt ünitelerinden ayrılmasıyla aktive edilir (Duval ve ark. 2016).

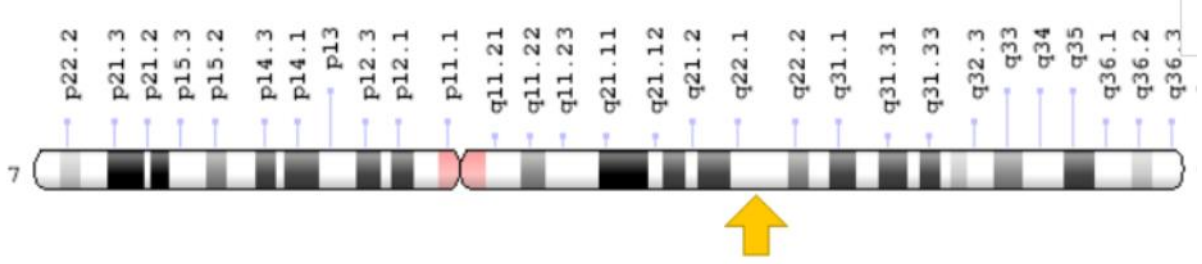
Pıhtılaşma faktörü XIII (FXIII), plasenta oluşumunda önemli bir rol oynayan ve hemostaz ve kan pıhtılaşma durumunu düzenleyen fibrin stabilize edici faktör (FSF) olarak bilinir. Kanda, FXIII glikoproteini, 2A ve 2B içeren bir A2B2 tetramer olarak bulunur. A alt birimi, fibrin ile erken çapraz bağlanma yoluyla bir anti-fibrinolitik etkiye sahip olabilen katalitik etkinliğe sahiptir ve FXIII A alt birim geni, 6p24-p25 kromozomu üzerinde bulunur. B alt biriminde katalitik aktiviteye sahip değildir ve FXIII B alt birim geni yoktur. 1q31–32 kromozomunda bulunur. FXIII Val34Leu için, ekzon 2'deki ortak bir G-T polimorfizmi, çapraz bağlama aktivitesi ve pıhtı stabilitesini etkileyebilecek Val'in Leu'ya dönüşmesine yol açar. Faktör XIII gen bölgesi Şekil 2.7'de gösterilmiştir.



Şekil 2.7. 6. kromozom üzerine yerleşimli F13A1 gen bölgesi (<https://ghr.nlm.nih.gov>).

Faktör XIII eksikliği anormal kan pıhtılaşması ve tekrarlayan spontan düşükler ile sonuçlanabilir (Li ve ark. 2015).

2.6.8. PAI-1 Gen Mutasyonu



Şekil 2.8. 7. kromozom üzerine yerleşimli PAI-1 gen bölgesi (<https://ghr.nlm.nih.gov>).

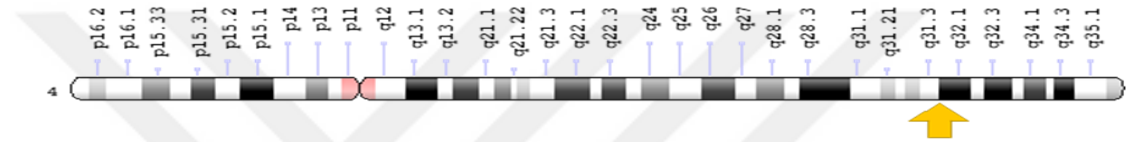
Plazminojen aktivatör inhibitörü-1 (PAI-1) geni, 7. kromozom (7q21.3-22) üzerinde bulunur ve bir serin proteaz inhibitör proteinini (SERPINE1) kodlar. PAI-1 gen bölgesi Şekil 2.8’de gösterilmiştir. PAI-1, plazminojeni proteolitik enzim plazmasına dönüştüren ana plazminojen aktivatörleri olan doku plazminojen aktivatörü (tPA) ve ürokinazın (uPA) başlıca inhibitörüdür. Fibrinolizis, fibrin parçalama işlemidir ve öncelikle PAI-1 tarafından kontrol edilir. Fibrinolizis damar açıklığını korur, hücre dışı doku matrisini parçalar ve hücre yapışmasını, göçünü ve doku şeklini düzenler (Jeon ve ark. 2013).

Dolaşımdaki PAI-1 konsantrasyonları, insanlarda ve hayvanlarda over folikülü büyümesi, yumurtlama ve embriyo implantasyonu sırasında hücre dışı proteolitik işlemlerde yer alır. PAI-1 rahim içine trofoblast istilasını kolaylaştırır ve plasental intervillous alanlarda kan akışkanlığını korur. Daha önceki çalışmalar PAI-1’in, plasentasyonun erken evresindeki fibrinolitik aktivitede ve plasentanın maternal dokudan ayrılmasında önemli rollere sahip olduğunu göstermiştir. En iyi bilinen PAI-1 genetik varyasyonu, -675 4G / 5G polimorfizmidir. PAI-1 4G aleli, promotor aktivitesini, mRNA ekspresyonunu ve immünoglobulin E üretimini artırır. PAI-1 4G/5G'nin TGK ile genetik ilişkisi incelenmiştir, ancak bildirilen veriler bu hipotezi tutarlı bir şekilde desteklememiştir. Ayrıca, yapılan bir meta-analizde PAI-1 4G/5G ve TGK arasında negatif bir ilişki olduğu göstermiştir (Jeon ve ark. 2013).

Son zamanlarda, PAI-1'deki 4G'nin homozigotluğunun TGK'nda çok önemli bir rol oynadığı ve TGK için bir risk faktörü olduğu düşünülmektedir. Bununla birlikte, PAI-1 4G gen polimorfizminin tek başına veya başka bir genetik faktörle birlikte, TGK hastalarında düşük yapma riski üzerinde herhangi bir etki göstermediği yapılan başka bir çalışmada

ortaya konmuştur (Subr ve ark. 2013). Gris ve arkadaşları ilk açıklanamayan primer erken tekrarlayan düşük şikâyeti olan kadınlarda daha yüksek PAI-1 konsantrasyonları olduğunu tanımlanmış ve bozulmuş plazmaya bağımlı proteolizin, erken plasenta sirkülasyonunda veya her ikisinde fibrin birikimini teşvik ederek, trofoblast gelişimini sınırlandırarak tekrarlayan düşükleri destekleyebileceğini iddia etmiştir (Dossenbach-Glaninger ve ark. 2003).

2.6.9. Beta Fibrinojen -455 G>A Gen Mutasyonu



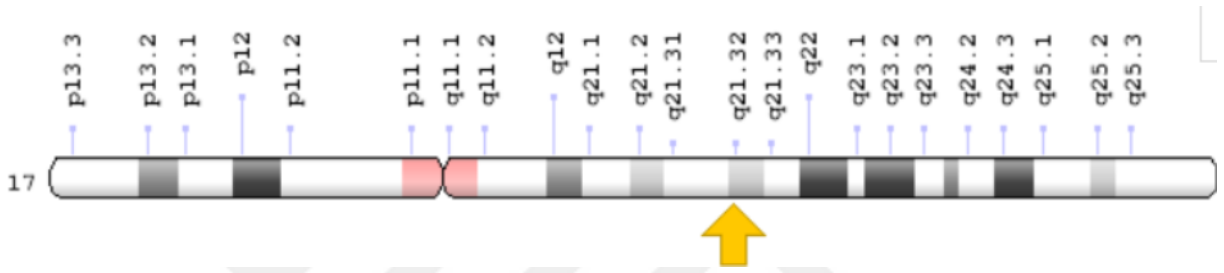
Şekil 2.9. 4. kromozom üzerindeki fibrinojen bölgesi (<https://ghr.nlm.nih.gov>).

Fibrinojen, karaciğerde üretilen üç farklı polipeptit zincirinden oluşmuş trombinin katalizlediği bir tepkime ile fibrin yapımını sağlayan proteindir. Fibrinojen gen bölgesi Şekil 2.12’de gösterilmiştir. FGB geni, fibrinojen proteinin bir parçası (alt birim) olan fibrinojen B beta (B β) zinciri olarak adlandırılan proteini yapmak için talimatlar verir. Bu protein, yaralanmadan sonra aşırı kanamayı durdurmak için gerekli olan kan pıhtılaşması (koagülasyon) için önemlidir. Fibrinojen oluşturmak için, B β zinciri her biri farklı genlerden üretilen fibrinojen A alfa (A α) ve fibrinojen gama (γ) zincirleri olarak adlandırılan diğer iki proteine bağlanır. Bu üç protein kompleksinden oluşan iki dizi, fonksiyonel fibrinojen oluşturmak için birleşir. Pıhtılaşmanın gerçekleşmesi için, trombin adı verilen başka bir protein, fonksiyonel fibrinojen proteinin A α ve B β alt birimlerinden bir parçayı çıkarır (parçalara A ve B fibrinopeptitleri denir). Bu işlem, fibrinojeni kan pıhtılaşmasındaki ana protein olan fibrine dönüştürür. Fibrin proteinleri birbirine bağlanır ve kan pıhtısını oluşturan kararlı bir ağ oluşturur. FGB geninin bir veya iki kopyasındaki mutasyonlar, kanama bozukluklarına neden olabilir. Fibrinojen proteinin fonksiyonunu değiştirir ve fonksiyonel

değişime bağlı olarak aşırı kanamaya veya anormal kan pıhtılaşmasına (tromboz) yol açabilir (<https://ghr.nlm.nih.gov>).

2.6.10. Glikoprotein IIIa Gen Mutasyonu

Glikoprotein IIIa (* 173470 Integrin, Beta-3;ITGB3) geni, kromozom 17q21.32'de lokalize, 3995 baz çifti ve 788aa'lık ITGB3 genini kodlar(<https://ghr.nlm.nih.gov>). Glikoprotein IIIa gen bölgesi Şekil 2.10'da gösterilmiştir.



Şekil 2.10. 17. kromozom üzerine yerleşimli ITGB3 gen bölgesi (<https://ghr.nlm.nih.gov>).

Glikoprotein IIb / IIIa (GP IIb / IIIa), trombosit yüzeyi, bağlayıcı fibrinojen ve von Willebrand faktörü üzerinde bulunan bir integrin reseptörüdür, trombosit agregasyonunda ve yapışmasında rol oynar. Primer koagülasyon sistemi damar duvarı dışarıdan hasar aldığı anda trombositler bölgede kümelenerek geçici pıhtı duvarı oluşması sağlar. Glikoprotein IIb / IIIa, ayrı ayrı genler tarafından kodlanan 2 alt birimden oluşur; alt ünite IIIa'da genin 1565 nükleotidinde bulunan 2. ekzon bölgesindeki varyasyon (196T>C) fibrinojen miktarını değiştirmektedir. Baz değişimi gen ürününü değiştirmekte ve prolin yerine lösin kodlanmaktadır. Glikoprotein IIIa'yı kodlayan genin 2. ekzonun 1565. pozisyonundaki tek bir nükleotit geçişi, diallelik polimorfizmine (PIA1 / A2 veya HPA-1a / b) yol açar. Allel PIA2 (Leu-33→Pro), Kafkasyalıların % 20 ± 30'unda bulunur (Verdoia ve ark. 2015).

Glikoprotein IIIa trombositlerin damar endoteline adezyonunu sağlayan bir reseptör moleküldür. Fibrin ağı ve diğer prekoagülasyon molekülleri koagülasyon sırasında damar duvarına bağlayan başka moleküllere ihtiyaç duyulmaktadır. Glikoprotein IIb ve GP IIIa bu görevi yerine getirerek almaç görevi görür. GP IIb/IIIa kompleks olduğu durumda işlevsellik

kazanır. Bu kompleksin neden olduğu değişimler hasarlı bölgede trombosit toplanmasını ve pıhtı oluşumunu sağlamaktadır (Verdoia ve ark. 2015).



3. GEREÇ VE YÖNTEM

Yapılan bu restrospektif çalışmaya 01.01.2013 -01.01. 2018 tarihleri arasında Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi (HMKÜ) Sağlık Uygulama ve Araştırma Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Polikliniği'ne TKG şikâyeti ile başvuran Suriyeli kadın hastalardahil edildi.

Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Sağlık Uygulama ve Araştırma Hastanesi Merkez Laboratuvarında bulunan hasta dosyalarından kalıtsal trombofili paneli için güncel kaynaklarda önerilen Faktör V Leiden 1691 G>A, Protrombin 20210 G>A, MTHFR 677 C>T, MTHFR 1298 A>C, PAI1 4G/5G, GPIIIA Leu33Pro, Beta Fibrinojen -455 G>A, Faktör XIII Val34Leu varyasyonları ve protein S, protein C, antitrombin, PT, aPTT, INR koagulasyon faktörleri analizi sonuçları taranarak retrospektif olarak değerlendirildi.

Hastanemizde Ekim 2013- Ağustos 2014 ve Şubat 2017-Ağustos 2017 tarihleri arasında 6 faktörlü trombofili paneli (Faktör V Leiden 1691 G>A, Protrombin 20210 G>A, MTHFR 677 C>T, MTHFR 1298 A>C, PAI1 4G/5G, Faktör XIII Val34Leu) istemi yapılan 27 hasta değerlendirildi. Ağustos 2014- Haziran 2016 ve Ağustos 2017-Ocak 2018 tarihleri arasında 8 faktörlü trombofili paneli (Faktör V Leiden 1691 G>A, Protrombin 20210 G>A, MTHFR 677 C>T, MTHFR 1298 A>C, PAI1 4G/5G, GPIIIA Leu33Pro, Beta Fibrinojen - 455 G>A, Faktör XIII Val34Leu) istemi yapılan 84 hasta değerlendirildi. Haziran 2016-Şubat 2017 tarihleri arasında 4 faktörlü trombofili paneli (Faktör V Leiden 1691 G>A, Protrombin 20210 G>A, PAI1 4G/5G Faktör XIII Val34Leu) istemi yapılan 17 hastada değerlendirildi.

Çalışmanın onayı Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Sağlık Uygulama ve Araştırma Hastanesi Başhekimliği ve Merkez Laboratuvarı Anabilim Dalı Başkanlığı" tarafından 29.05.2018 tarihinde incelenerek 15805 protokol numaralı yazı ile verilmiştir (Karar No:14096738-108.99-) (Ek-1).

3.1. Malzemeler

3.1.1. Trombofili Paneli Çalışılırken Kullanılan Cihazlar Ve Solüsyonlar

3.1.1.1. Kullanılan Cihazlar

1.DNA izolasyon cihazı	Qiagen EZ1 Advanced XL
2.Spektrometrik ölçüm cihazı	Nano Maestro Gen
3.Vortex	Velp Scientifica
4.Termo çalkalayıcı	Euro Clone
5.Spin cihazı	Biosan FVL-2400N
6.PCR cihazı	Sensoquest
7.Pyrosekans cihazı	Qiagen Pyromark Q24
8.Buzdolabı +4 ⁰ C(Kan örneklerini muhafaza etmek için)	Hotpoint/Ariston
9.Buzdolabı -20 ⁰ C Hotpoint/Ariston (Kit içeriği solüsyonları ve genomik DNA'ları muhafaza etmek için)	
10. DRY-Bath (Kuru ısı bloğu)	Euro Clone
11.PyroMark Q24	Qiagen
12. 96'lık PCR plate	
13.Pyromark Q24 Vacuum Workstation	Qiagen
14.Distile su cihazı	MilliporeSigma
15.Pyromark Q24 plate (100)	Qiagen
16. Pyromark Q24 Cartridge	Qiagen
17. Filtreli pipet ucu (10µl,100µl,200µl,1000µl)	
18. Pudrasız eldiven	

3.1.1.2. Kullanılan Solüsyonlar

- * Qiagen DNA izolasyon kit içeriği
- * Pyromark Gold Q24 Reagents
- * Qiagen Pyromark PCR kit içeriği
 - Master mix (2X→1X)
 - Primerler
 - Distile H₂O
 - DNA
- * Qiagen Pyrosekans kit içeriği
 - Streptavidin sepharose
 - 0,3µM Binding buffer (bağlayıcı)
 - Distile H₂O
- * Annealing buffer
- * Washing buffer (10X'den → 1X'e seyreltilir)
- * Denatürasyon solüsyonu
- * %70'lik etanol

3.2. Trombofili Çalışması İçin Yöntemler

3.2.1. Trombofili Paneli Çalışılacak Kanların DNA İzolasyonu

2ml'lik etilen diamin tetra asedik asitli (EDTA) tüpe hastalardan alınan periferik venöz kanlar çalışma aşamasına kadar buzdolabında +4°C'de muhafaza edildi. Hastalardan alınan periferik kan örnekleri lökositlerinden genomik DNA (gDNA) elde edilmek üzere Qiagen marka EZ1 DNA Blood kitleri (Qiagen, Hilden, Almanya) kullanıldı. Yine aynı markanın EZ1 Advanced XL nükleik asit izolasyon cihazı (Qiagen, Hilden, Almanya) kullanıldı. Kitlerin içeriğinde gDNA izolasyonu için gerekli etanol, elüsyon buffer, taq polimeraz, bead, liziz buffer, wash buffer, proteinaz K gibi solüsyonlar hazır olarak bulunmaktadır. Kan

örneği sayısı kadar kitlerin ilk bölmesine yerleştirilen 1,5 ml'lik tüplere 200 µl periferik venöz kan örnekleri Eppendorf marka pipetler kullanılarak aktarıldı. Kitler cihazın uygun bölmelerine yüklenerek cihazın çalışma prensiplerine göre ekrandan işlem başlatıldı. Bu işlemler sonucunda 100 µl izole edilmiş gDNA örneği elde edildi. Elde edilen örnekler konik tüplere konularak üzerine hasta isimleri veya hastalara verilmiş kayıt protokol numaraları yazılarak çalışma gününe kadar -20 °C'de muhafaza edildi.

3.2.2. İzole Edilen gDNA Örneklerinin Saflık Ve Konsantrasyon Ölçümleri

Elde edilen gDNA örneklerinin saflığını belirlemek için Nano Maestro Gen marka spektrofotometre cihazında 260 - 280 nm dalga boyunda ölçüm yapıldı. Ölçüme başlamadan önce hazır şekilde bulunan ampuller içerisinde bulunan su ile blank işlemi yapılarak cihaz kaidesi temizlendi. Cihazın ölçüm kaidesine 2 µl gDNA örneği eppendorf marka pipetlerle bırakıldı ve kapak kapatıldı. Cihazla bağlantılı bilgisayar yazılımı üzerinden önce "start measure" yazan ölçüm yerine daha sonra "samples (dsDNA)" ibaresine tıklandı, açılan pencerede yeşil kısımda DNA sečilerek ölçüm başlatıldı. Cihaz otomatik olarak ng/µl cinsinden konsantrasyonunu ve 260/280 dalga boyu değerlerini okumaktadır.

3.2.3. Trombofili Paneli Çalışma Protokolü

Tromboz paneli; FII 20210 G>A (Protrombin), FV 1691 G>A (Leiden), MTHFR 677 C>T, MTHFR 1298 A>C ve PAI-1 4G/5G, Beta Fibrinojen -455 G>A, Faktör XIII Val34Leu, GPIIIa Leu33Pro mutasyonlarını kapsamaktadır (Qiagen, Pyromark PCR kiti, Almanya). Tromboz paneli pyrosekans primerleri ile her bir mutasyon analizi için bir PCR reaksiyonu yapılır ve bu reaksiyon kullanılarak her bir varyasyona özđü sekans primerleriyle sekans analizi gerçekleştirilir. 8'li stripte ilgili genlerin sırası aşağıdaki gibidir:

1. kuyu: FII 20210 G>A,
2. kuyu: FV Leiden1691 G>A
3. kuyu: MTHFR 667 C>T,
4. kuyu: MTHFR 1298 A>C,
5. kuyu: PAI-1 4G/5G,

6. kuyu: Beta Fibrinojen -455 G>A,
7. kuyu: Faktör XIII Val34Leu,
8. kuyu: GPIIIa Leu33Pro şeklindedir.

3.2.3.1. PCR Aşamaları

Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) için Pyromark PCR kiti kullanıldı. Her bir mutasyon için aynı PCR protokolü uygulandı. Tüm kullanılacak malzemeler, reaksiyona başlamadan önce hafifçe vorteks-spin yapıldı.

1. DNA hariç bütün bileşenleri içeren bir reaksiyon karışımı hazırlandı. PCR reaksiyonunda kullanılan malzemeler Çizelge 3.1’de gösterilmiştir.

Çizelge 3.1. PCR Reaksiyon Kompozisyonu.

Bileşen	Hacim /Reaksiyon
Reaksiyon Karışımı	
Pyromark PCR Mastermiks	12,5µl
PCR primer çifti	1µl
dH ₂ O	6,5µl
DNA	5µl
Toplam	25µl

2. Reaksiyon miksleri hazırlandıktan sonra 20’şer µl 8’li PCR tüplerine ilgili kuyularına dağıtıldı.
3. Her bir PCR tüpüne, DNA örneğinden 5’er µl aktarıldı.

Reaksiyon Çizelge 3.2’de belirtilen aşamalara göre gerçekleştirildi. Her bir PCR çalışmasında kontrol grubu olarak DNA’sız negatif örnek hazırlandı ve bunun için aynı miktarda kit içeriğinde bulunan su kullanıldı.

Çizelge 3.2. PCR Aşamaları.

Aktivasyon Basamağı	9°C	15 dakika 1döngü
3 Aşamalı Döngü		
Denatürasyon	94°C	30 saniye
Annealing	60°C	30 saniye
Extension	72°C	30 saniye
Döngü Sayısı: 45		
Final extension	72°C	10 dakika 1döngü

3.3. Pyro Sekans Aşaması

İşleme başlanmadan önce dNTP'lerin, enzim ve substrat koyulan kartuş ultra distile su ile yıkandı ve kurumaya bırakıldı. Filter prob el ünitesi ultra saf su içeren kaba daldırarak vakum pompası ve ünitenin vakum anahtarı açılarak kapta bulunan 70 ml suyu çektirerek ünitenin yıkanması sağlandı. Isı bloğu 80°Cye ayarlanarak üzerine plate tutacağı yerleştirildi. Solüsyonlar, nükleotidler, enzim ve substrat, sekans primerleri ve PCR reaksiyon ürünleri oda sıcaklığına çıkarıldı.

3.3.1. Cihaza Yükleme Aşaması

1. Pyromark Q24 programı açılarak yeşil işaretli "New run" tıklandı.
2. "Instrument Method" yazan kısımdan kartuş numarası seçilir çalışılan kuyucuklar işaretlendi.
3. Q24 şemasına çalışılan sıra ile "Example Files" kısmından kopyalanarak FII 20210 G>A FV 1691 G>A (Leiden), MTHFR 677 C>T, MTHFR 1298 A>C ve PAI-1 4G/5G, Beta Fibrinojen -455 G>A, Faktör XIII Val34Leu, GPIIIa Leu33Pro ilgili gen bölgeleri sürüklenerek çalışılacak ilgili bölmelere bırakıldı.
4. Plate kutucukları üzerinde bulunan ikinci ve üçüncü satırlara örnek numarası ve isimleri yazıldı ve kaydedildi.
5. Daha sonra Q24 programı araç çubuğunda "Tolls" seçeneği tıklayıp "Pre Run Information" seçildi ve açılan sayfa yazdırıldı.

6. Hazırladığımız run dosyası bilgisayarda çalışılan tarih ve bakılan test adı kaydedilip dosya kapatıldı. Run dosyası Q24 cihazında kullanmak üzere USB'ye kaydedildi.

3.3.2. PCR Ürünlerinin Streptavidin Sepharose Bilyelerine Bağlanması

1. Streptavidin Sepharose bilyelerini içeren şişe çabuk çökme özelliğinden dolayı elde nazik bir şekilde alt üst edilerek homojen bir solüsyon elde edildi.
2. Çizelge 3'de belirtilen miktarlarda mastermiks hazırlandı.
3. 24 kuyucuklu PCR plate'in her bir kuyucuğuna 70'er µl olacak şekilde hazırlanan mastermiks dağıtıldı.
4. Run dosyasında hazırlandığı şekilde her bir kuyucuğa 10µl ilgili PCR ürünü eklendi.
5. PCR plate'in üzeri sızdırma olmayacak şekilde bantlandı.
6. Oda sıcaklığında 1400 devirde 5-10 dakika T-Shakker cihazında çalkalandı.

Pyro sekans reaksiyonu için hazırlanan karışım içeriği çizelge 3.3'de gösterilmiştir.

Çizelge 3.3. Pyro sekans reaksiyonu için hazırlanan karışım.

Bileşen	Miktarlar/ Örnek	24 örnek için
Streptavidin Sepharose Bilyeler	2 µl	2x26=52 µl
Bağlayıcı Buffer	40 µl (0,3µM)	40x 26= 1040 µl
Ultra saf H ₂ O	28 µl	28x26= 728 µl
Toplam	70 µl	

3.3.3. Pyro Sekans İçin Örnek Hazırlama Basamakları

7. Q24 plate'in her bir kuyucuğunda run dosyasında hazırlanan şekilde 2,5 µl sekans primeri ve 22.5 µl annealing buffer konuldu.
8. PCR plate'in ve Q24 plate'in aynı oriyantasyonda olmasına dikkat edilerek vakum çalışma alanında ilgili yerlere yerleştirildi. 24 kuyucuklu plate üzerindeki bant dikkatlice çıkartıldı.
9. Vakum pompasının düğmesi ve el ünitesinin üzeride bulunan vakum anahtarı açıldı.

10. Filtre problemlerini PCR platein üzerine ya da striplerin üzerinde getirerek içine daldırıldı ve 15 saniye kadar tutularak bilyeler yakalandı. (Sepharose bilyelerin çok çabuk çökme özelliği olduğu için PCR plate ya da striplerin çalkalanması bittikten sonraki 1 dakika içerisinde bu işlem yapılmalıdır.)
11. El ünitesi %70'lik hazırlanan etanol solüsyonundaki kabına daldırılarak 5 saniye kadar bekletildi.
12. El ünitesi Denatürasyon Solüsyon içeren kaba daldırılarak 5 saniye beklendi.
13. Daha sonra el ünitesi Washing Buffer içeren kaba daldırılarak 10 saniye kadar beklendi (Washing buffer 10x → 1x'e düşürülerek kullanılır).
14. El ünitesi dikey biçimde kolumuzu yukarı kaldırarak 5 saniye bekletildi ve filtre problemlerinden sıvı tamamen uzaklaştırıldı.
15. El ünitesi Q24 plate üzerine getirilerek vakum anahtarı ve vakum pompası motoru kapatıldı. El ünitesi hafifçe sallanarak ve bilyelerin sekans primerlerini içeren buffere iyice bırakılması sağlandı.
16. El ünitesi distile su dolu kabın içine daldırıldı ve 10 saniye çalkalandı. Daha sonra el ünitesi distile su içeren diğer kaba daldırılarak 70 ml su çekmesi sağlandı.
17. El ünitesi kolumuzu 90°'yi geçen bir açıyla yukarı kaldırılarak 5 saniye kadar tutuldu ve filtre problemlerinden suyun vakumlanması sağlandı. El ünitesi anahtarı ve vakum pompası düğmesi kapatıldı.
18. Q24 plate önceden hazır edilmiş olan 80°C'deki plate tutacağı üzerine yerleştirilerek 2 dakika bekletildi. Süre tamamlandıktan sonra oda sıcaklığında 5 dakika bekletildi.

3.3.4. Pyromark Q24'ün Çalıştırılması

1. Pre Run information raporunda yazılan miktarlardaki enzim, nükleotid ve substratı kartuşa eklendi.
2. Kartuş yuvasına etiketi bize bakacak şekilde yerleştirilir ve kapağı kapatıldı.
3. Plate için ayrılan bölmeye Q24 plate yerleştirildi.
4. Run dosyasını içeren USB'yi cihazın üstündeki giriş yerine USB takıldı.
5. Menüye girilerek Run seçildi ve Ok tuşuna basıldı.

6. Hazırladığımız run dosyası seçildi ve bu işlem yaklaşık 14 dakika sürmektedir. Biten run sonrası USB'ye kayıt edildi ve çıkış yapıldı. Çalışılan run dosyası USB yardımıyla bilgisayara takılarak analiz işlemi gerçekleştirildi.

3.4. Koagülasyon faktörleri çalışılırken kullanılan cihazlar ve solüsyonlar

3.4.1. Malzemeler

- | | |
|---|-----------------------|
| 1. NF 4000 santrifüj | NÜVE |
| 2. Buzdolabı -20 | Hotpoint/Ariston |
| (Kit içeriği solüsyonları ve genomik DNA'ları muhafaza etmek üzere) | |
| 3. Pastör pipeti | |
| 4. Parmak tüp | |
| 5. Tüp sporu | |
| 6. Koagülasyon cihazı | Stago STA compact max |
| 7. İmmünoanalizör cihazı | VİDAS |

3.4.2. Solüsyonlar

1. Üni kalibratör kit
2. Lia-test kontrol kiti
3. Coaq kontrolü kiti
4. Cephascreen kiti
5. Neoptimal 10 kiti
6. Vidas S1 ve C1 solüsyonu

3.4.3. Koagülasyon Faktörleri İçin Çalışma Aşamaları

Protein S, Protein C, AT III, PT, APTT düzeyleri için hastaların kan örnekleri Trisodyum sitrat (Na₃-Sitrat) içeren tüplere alındı ve santrifüj cihazı (NF 4000) ile 4.000 ppm'de 10 dakika süreyle santrifüj edildi. Hasta kimlik bilgilerini içeren barkodlar yeni parmak tüplere yapıştırıldıktan sonra santrifüj edilen örneğin plazması pastör pipet ile bu tüplere aktarıldı.

3.4.4. Koagülasyon Cihazı Kontrol ve Kalibrasyon

Koagülasyon faktörleri, STA compact max koagülometre cihazı ile elektromekanik ve fotometrik yöntemlerin birlikte kullanımı prensibi ile ölçülmüştür. Pıhtı temelli koagülasyon test prensibi 2'ye ayrılır.

1. Foto-optik pıhtı tespiti: Nefelometrik, Kromojenik, İmmunolojik

2. Elektro- mekanik pıhtı tespiti: Elektriksel iletkenlikteki değişiklik, Mekanik pıhtı tespit yöntemleri.

Optik olarak pıhtı oluşumunun tespitinde fibrin ağı oluşumu esnasındaki bulanıklık değişikliğinin ölçümü optik dansitedeki değişikliklerle tespit edilir.

Mekanik olarak pıhtı oluşumunun tespitinde ise iki yöntem kullanılır:

1. Sabit ve hareketli prop arasındaki elektriksel iletkenlikteki değişiklik tespit edilir.

2. Yöntemde ise manyetik olarak ileri geri hareket eden çelik bir topun hareketinin pıhtı oluşunca durması prensibi temel alınır.

Kromojenik ölçümler bazı enzimlerin (plazmin, aktive protein C) çeşitli plazma proteaz inhibitörlerinin (antitrombin, C1 inhibitör, α 2 plazmin, PAI, tPA) ölçümünde kullanılır.

Örneklerin çalışma protokolü:

Standartlar ve hasta örnekleri hazırlandıktan sonra örnekler çalışmaya başlamadan önce STA Compact Max koagülasyon cihazına kalibrasyon ve kontrol verildi. Standartlar hazırlanırken Owren- Koller tamponu kullanıldı. AT III kalibrasyonu için Uni kalibratör, AT III kontrolü, system control solüsyonu, 2 seviyeden oluşan PS, 1. Seviye control N ve 2. Seviye control P lia-test control, PT kalibrasyonu neoptimal 10 kiti, INR ve PT kontrolü için 1. Seviye control N ve 2. Seviye control P coag kontrol solüsyonu, aPTT için Cepascree solüsyonu, PS ve INR kalibrasyonu için kit içerisinde bulunan lot numarası ve kullanılan solüsyona ait barkod STA Comptact Max cihazından tarandıktan sonra solüsyonlar cihazdaki ilgili kuyucuğa yerleştirildi. Cihaz ekranındaki kalibrasyon menüsünden kontrolleri yürüt butonu tıklanarak kalibrasyon ve kontrol verildi. Hastalara ait örneklerin tüplerin barkod etiketleri barkod okuyucudan tarandıktan sonra cihaza yüklendi.

Protein C ölçümü için Vidas cihazı kullanıldı. Cihazda, bilgisayar ünitesi analitik modül, strip tepsisi, SPR blok, kompartman durum ışığı, barkod okuyucu bölümleri bulunmaktadır. Reaktif olarak Vidas test kiti kullanıldı. Kit içeriğinde reaktif stribi, SPR (solid phase reeptale), kontrol, standart, dilüent, lot barkod kartı, kit prospektüsü bulunmaktadır. Protein reaktif stribi 10 adet kuyucuk içermektedir. İlk kuyucuk boştur ve örnek pipetlemesi içindir. İlk örnek kuyucuğundan sonra 8 adet kuyucuk reaktif veya yıkama solüsyonları içerir. Son kuyucuk ise optik küvet olarak adlandırılır ve substrat reaksiyonu sonucu oluşan flüoresan ışımının okunduğu kuyucuktur. Vidas cihazının çalışma akışı:

1. Örnekler hazırlandı.
2. Bilgisayarda çalışılacak kompartman belirlendi.
3. Örnekler pipetlenerek reaktif stripleri konuldu ve reaktif stripleri cihaza yerleştirildi.
4. SPR cihazdaki yerine yerleştirildi.
5. PC solüsyonları; S1 solüsyonu (vidas) ve C1 solüsyonu (vidas) belirtilen miktarda R1 solüsyonu veya distile su ile seyreltildi.
6. Standart solüsyonun kutusunda bulunan lot numarası belirtilen barkod cihazda okutuldu. Test çalışması başlandı. Çalışılan hasta örneklerinin sonuç değerleri bilgisayardaki ana menü ekranındaki sonuç ikonu seçilerek ulaşıldı.

3.5. İstatistiksel Analiz

Sürekli değişkenler ortalama \pm standart sapma ve ortanca (minimum-maksimum), kategorik veriler ise sayı ve yüzde şeklinde ifade edildi. Sürekli değişkenlerin gruplar arası analizinde Kolmogorov-Smirnov Uyum İyiliği Testi ile normallik analizleri yapıldı. Veriler normal dağılıma uymadığı için ikiden fazla gruplar için Kruskal Wallis Testi, iki grup karşılaştırmalarında ise Mann Whitney U Testi kullanıldı. Kategorik verilerin karşılaştırmalarında Ki-Kare Testi kullanıldı. Analizler IBM SPSS Paket Programı versiyon 24.0 (IBM Corporation, Armonk, NY, USA) ile yapıldı. İstatistiksel anlamlılık düzeyi $p < 0.05$ olarak kabul edildi.

4. BULGULAR

Çalışmamızda TGK ile ilgili sağlık sorunu yaşayan Suriyeli kadın hastalarda kalıtsal trombofili panelinde yer alan Protrombin 20210G>A, Faktör V Leiden 1691 G>A, MTHFR 677C>T, MTHFR 1298A>C, PAI-1 4G/5G, Beta Fibrinojen -455 G>A, Faktör XIII Val34Leu, GPIIIa Leu33Pro gen polimorfizmleri genotip frekansları açısından değerlendirildi. Hastalarda kalıtsal trombofili ile ilişkili polimorfizmlerin görülme sıklıkları Çizelge 4.1’de gösterilmiştir.

Çizelge 4.1. Trombofili ile ilişkili Polimorfizmlerin Görülme Sıklığı.

GÖRÜLME SIKLIĞI (%)	FII Protrombin 20210 G>A n=128	FV LEIDEN 1691 G>A n=128	PAI-1 4G/5G n=128	Faktör XIII Val34Leu n=127	MTHFR 677 C>T n= 111	MTHFR 1298 A>C n=111	Beta Fibrinojen 455 G>A n=84	GP IIIa Leu33Pro n=84
Yaygın Tip	121 (%94,5)	112 (%87,5)	37 (%28,9)	93 (%73,2)	51 (%45,9)	46 (%41,4)	57 (%67,8)	58 (%69)
Heterozigot	7 (%5,4)	14 (%10,9)	53 (%41,4)	33 (%25,9)	50 (%45)	53 (%47,7)	22 (%26,1)	22 (%26,1)
Homozigot	0	2 (%1,5)	38 (%29,6)	1 (%0,7)	10 (%9)	12 (%10,8)	5 (%5,9)	4 (%4,7)

Farklı dönemlerde çalışılan gruplarda, en sık MTHFR 1298A>C polimorfizmi heterozigot genotipi saptanmıştır (53/111=%47,7). Bunun yanında Protrombin 20210 G>A gen polimorfizmi homozigot genotipi hiçbir hastada saptanmamıştır. PAI-1 4G/4G homozigot mutasyonu diğer varyasyonlara göre daha yüksek bulunmuştur.

Çalışmamızda Protrombin 20210G>A polimorfizmi çalışılan 128 hastanın 121’nde (%94,5) yaygın tip, 7’nde (%5,4) heterozigot genotip gözlenmiştir. Bu polimorfizmde homozigot genotipe sahip olan herhangi bir hastaya rastlanmamıştır.

Faktör V Leiden 1691 G>A polimorfizmi 128 hastada çalışılmış olup yaygın tip 112 (%87,5), heterozigot 14 (%10,9), homozigot 2 (%1,5) hastada saptanmıştır.

PAI-1 4G/4G gen polimorfizmi 128 hastada çalışılmıştır ve homozigot genotip frekansı 38 (%29,6), heterozigot genotip frekansı ise 53 (%41,4) hastada saptanmıştır. Yaygın tip PAI-1 geni 5G/5G dizilimi 37 (%28,9) hastada belirlenmiştir.

Faktör XIIIVal34Leu polimorfizimi bakılan 127 hastada homozigot genotip frekansı 1 (%0,7), heterozigot genotip frekansı 33 (%25,9) hastada ve yaygın tip 93 (%61,24) hastada saptanmıştır.

MTHFR 677C>T-MTHFR ve 1298A>C polimorfizimleri 111 hastada değerlendirildi. MTHFR 677C>T polimorfizmi yaygın tip 51 (%45,9), MTHFR 1298A>C polimorfizmi yaygın tip ise 46 (%41,4) olarak saptandı. Heterozigot genotip, MTHFR 677C>T polimorfizmi için 50 (%45), MTHFR 1298A>C polimorfizmi için 53 (%47,7) 'dir. MTHFR 677C>T polimorfizmi homozigot genotip 10 (%9), MTHFR 1298A>C polimorfizmi 12 (%10,8) olarak saptanmıştır.

Beta Fibrinojen -455G>A ve GPIIIa Leu33Pro polimorfizimleri 84 hastada çalışılmıştır. Beta Fibrinojen -455G>A homozigot genotip frekansı 5 (%5,9), heterozigot genotip frekansı ise 22(%26,1) olarak saptanmıştır. Beta fibrinojen geni -455 yaygın tip 57 (%67,8) olarak bulunmuştur. GPIIIa Leu33Pro polimorfizm homozigot genotip frekansı 4 (%4,7), heterozigot genotip frekansı 22 (%26,1), GPIIIa kodlayan gen yaygın tip frekansı ise 58 (%69) olarak saptanmıştır.

Trombofili paneli ile koagulasyon faktörlerinin karşılaştırmalı olarak istatistiksel verilerine bakılmıştır. Dönemsel olarak farklı trombofili panellerinin çalışılması sebebiyle hastalar istatistiksel analiz yapılırken dört faktörlü mutasyon, altı faktörlü mutasyon, sekiz faktörlü mutasyon ve tüm grupların toplamı olacak şekilde toplam olarak değerlendirilmiştir. Hastalarda saptanan mutasyon gruplarına göre yaş ortalamalarının karşılaştırılması Çizelge 4.2'de gösterilmiştir. Çalışmaya katılan 15-43 yaş aralığındaki 128 hastanın yaş ortalaması 25,05±6,14 yıl olarak bulunmuştur.

Çizelge 4.2. Suriyeli Tekrarlayan Gebelik Kaybı hastalarında görülen mutasyon gruplarına göre yaş ortalamalarının karşılaştırılması.

	Dört Faktörlü Mutasyon (n=17)	Altı Faktörlü Mutasyon (n=27)	Sekiz Faktörlü Mutasyon (n=84)	Toplam (n=128)	<i>p</i>
Yaş (Ort±Ss)	25,53±6,07	24,33±6,61	25,00±6,23	25,05±6,14	0.849*
* Kruskal Wallis Testi					

Suriyeli Tekrarlayan Gebelik Kaybı hastalarında Protrombin 20210G>A, Faktör V Leiden 1691 G>A, Faktör XIII Val34Leu,ve PAI-1 4G/5G gen polimorfizmlerinin prevalansı ve mutasyon gruplarına göre karşılaştırılması Çizelge 4.3'te verilmiştir. Çizelgede belirtilen mutasyonlar tüm dönemlerde bakılmıştır. Dört, altı ve sekiz faktörlü mutasyon gruplarının prevalansları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır.

Çizelge 4.3. Suriyeli Tekrarlayan Gebelik Kaybı hastalarında Protrombin 20210G>A, Faktör V Leiden 1691 G>A, Faktör XIII Val34Leu,ve PAI-1 4G/5G mutasyonlarının prevalansı ve mutasyon gruplarına göre karşılaştırılması.

Mutasyon Tipi	Dört Faktörlü Mutasyon	Altı Faktörlü Mutasyon	Sekiz Faktörlü Mutasyon	Toplam	p
Protrombin 20210G>A					
Yaygın tip	17 (%100,0)	9 (%90,0)	30 (%93,8)	56(%94,9)	0.472*
Heterozigot	0 (%0,0)	1 (%10,0)	2 (%6,2)	3 (%5,1)	
Faktör V Leiden 1691G>A					
Yaygın tip	16 (%94,1)	9 (%90,0)	27 (%84,4)	52(%88,1)	0.592*
Heterozigot	0 (%0,0)	1 (%10,0)	5 (%15,6)	7 (%11,9)	
FaktörXIII Val34Leu					
Yaygın tip	15 (%88,2)	8 (%80,0)	22 (%68,8)	45(%76,3)	0.298*
Heterozigot	2 (%11,8)	2 (%20,0)	10 (%31,3)	14(%23,7)	
PAI-1 4G/5G					
Yaygın tip	5 (%29,4)	2 (%20,0)	11 (%34,4)	18 (%30,5)	0.419*
Homozigot 4G/4G	3 (%17,6)	5 (%50,0)	8 (%25,0)	16(%27,1)	
Heterozigot4G/5G	9 (%53,0)	3 (%30,0)	13 (%40,6)	25(%42,4)	
Toplam	17 (%100,0)	10(%100,0)	32 (%100,0)	59(%100,0)	
* Ki-Kare Testi					

Protrombin 20210G>A, Faktör V Leiden 1691 G>A, PAI-1 4G/5G ve Faktör XIII Val34Leu gen polimorfizmlerinin prevalansı ve yaş gruplarına göre karşılaştırılması Çizelge 4.4’de verilmiştir. Protrombin 20210G>A, Faktör V Leiden 1691 G>A, Faktör XIII Val34Leu ve PAI-1 4G/5G görülme sıklığı ile yaş grupları arasında istatistiksel anlamlı fark saptanmamıştır ($p>0.05$). Faktör V Leiden ve PAI-1 4G/4G homozigot mutasyonun en sık 21-25 yaş, 4G/5G heterozigot mutasyonun ise en sık 25 yaş üzeri grupta görülmüştür.

Çizelge 4.4. Suriyeli Tekrarlayan Gebelik Kaybı hastalarındaki Protrombin 20210G>A, Faktör V Leiden 1691 G>A, PAI-1 4G/5G ve Faktör XIII Val34Leu mutasyonlarının prevalansı ve yaş gruplarına göre karşılaştırılması.

Mutasyon Tipi	20 yaş ve altı		21-25 yaş		25 yaş üzeri		Toplam		p
	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	
Protrombin 20210G>A Yaygın tip Heterozigot	13 0	23,2 0,0	22 1	39,3 50,0	21 1	37,5 50,0	56 3	100,0 100,0	0.741*
FaktörV Leiden 1691G>A Yaygın tip Heterozigot	12 1	23,5 14,3	18 5	35,3 71,4	21 1	41,2 14,3	13 2	100,0 100,0	0.180*
PAI-1 4G/5G Yaygın tip Homozigot (4G/4G) Heterozigot(4G/5G)	3 5 5	16,7 33,3 20,0	9 6 8	50,0 40,0 32,0	6 4 12	33,3 26,7 48,0	18 15 25	100,0 100,0 100,0	0.516*
FaktörXIII Val34Leu Yaygın tip Heterozigot	8 5	18,2 35,7	17 6	38,6 42,9	19 3	43,2 21,4	44 14	100,0 100,0	0.243*
Toplam	13	22,4	23	39,7	22	37,9	58	100,0	

* Ki kare Testi

MTHFR C677T, MTHFR A1298C, Beta Fibrinojen -455G>A ve GPIIIa Leu33Pro gen polimorfizmlerinin prevalansı ve yaş gruplarına göre karşılaştırılması Çizelge 4.5’de gösterilmiştir. MTHFR C677T homozigot mutasyonu en sık 21-25 yaş grubunda, heterozigot mutasyonun ise en sık 25 yaş üzeri grupta meydana geldiği, Beta Fibrinojen -455G>A homozigot mutasyonun ile heterozigot mutasyonun ise en sık 21-25 yaş grubunda görüldüğü, GPIIIa Leu33Pro homozigot mutasyonun ile heterozigot mutasyonun ise en sık 21-25 yaş grubunda görüldüğü saptanmıştır.

Çizelge 4.5. Suriyeli Tekrarlayan Gebelik Kaybı hastalarındaki MTHFR C677T, MTHFR A1298C, Beta Fibrinojen -455G>A ve GPIIIa Leu33Pro mutasyonlarının prevalansı ve yaş gruplarına göre karşılaştırılması.

Mutasyon Tipi	20 Yaş ve altı		21-25 yaş		25 yaş üzeri		Toplam		<i>p</i>
	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	
MTHFR C677T									
Yaygın tip	2	15,4	6	46,2	5	38,5	13	100,0	0.575*
Homozigot	1	33,3	2	66,7	0	0,0	3	100,0	
Heterozigot	5	31,3	5	31,3	6	37,5	16	100,0	
MTHFR A1298C									
Yaygın tip	4	30,8	6	46,2	3	23,1	13	100,0	0.332*
Homozigot	0	0,0	0	0,0	2	100,0	2	100,0	
Heterozigot	4	23,5	7	41,2	6	35,3	17	100,0	
Beta Fibrinojen - 455G>A									
Yaygın tip	6	26,1	8	34,8	9	39,1	23	100,0	0.654*
Homozigot	1	50,0	1	50,0	0	0,0	2	100,0	
Heterozigot	1	14,3	4	57,1	2	28,6	7	100,0	
GP IIIa Leu33Pro									
Yaygın tip	6	31,6	6	31,6	7	36,8	19	100,0	0.413*
Homozigot	0	0,0	2	100,0	0	0,0	2	100,0	
Heterozigot	2	18,2	5	45,5	4	36,4	11	100,0	
Toplam	8	25,0	13	40,6	11	34,4	32	100,0	

Protrombin 20210G>A mutasyona sahip Tekrarlayan Gebelik Kaybı hastalarında koagülasyon parametrelerinin mutasyon tipine göre karşılaştırılması Çizelge 4.6'da gösterilmiştir. Protrombin 20210G>A geninde homozigot mutasyonu olan hasta saptanmadığı için değerlendirilmemiştir. Protrombin 20210G>A heterozigot mutasyonu olanlarda normal olanlara göre Protein C aktivitesinin istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğu ($p<0.05$), Antitrombin III ve Protein S aktivitesinin heterozigot mutasyonu olanlarda istatistiksel anlamlı olmasa da normal olanlara göre yüksek olduğu ($p>0.05$), aPTT ve PT düzeylerinin heterozigotlarda daha düşük düzeylerde olduğu, INR değerlerinin birbirlerine yakın düzeylerde ve istatistiksel olarak anlamlı olmadığı gözlenmiştir.

Çizelge 4.6. Protrombin 20210G>A mutasyona sahip Tekrarlayan Gebelik Kaybı hastalarında koagülasyon parametrelerinin mutasyon tipine göre karşılaştırılması.

Koagülasyon Parametreleri	Protrombin 20210G>A				
	Yaygın tip		Heterozigot		p
	n	Ortanca (Min.-maks.)	n	Ortanca (Min.-maks.)	
Antitrombin III	44	106,0 (56-200)	1	109,0	0,78*
Protein C Aktivitesi	46	90,2 (45-150)	2	149,5 (114-185)	0,04*
Protein S Aktivitesi	48	70,5 (30-154)	2	112,5 (76-149)	0,16*
aPTT	23	30,8 (25,7-35,9)	2	27,8 (26,7-28,9)	0,07*
INR	23	1,0 (0,84-1,64)	2	1,0 (1,0-1,06)	0,92*
PT	23	13,7 (12,1-18,2)	2	13,3 (12,5-14,1)	0,77*
*Mann Whitney U Testi					

Faktör V Leiden 1691 G>A Mutasyona sahip Tekrarlayan Gebelik Kaybı hastalarında koagülasyon parametrelerinin mutasyon tipine göre karşılaştırılması Çizelge 4.7’de verilmiştir. Faktör V Leiden homozigot mutasyona sahip hasta sayısı istatistiksel olarak yeterli sayıda olmadığı için değerlendirmeye alınmamıştır. Faktör V Leiden heterozigot mutasyonu olanlarda normal olanlara göre Antitrombin III ve Protein S aktivitesinin istatistiksel anlamlılığı yakın bir düzeyde daha düşük olduğu gözlenirken, Protein C aktivitesinin heterozigotlarda daha yüksek olduğu, aPTT, INR ve PT değerlerinin birbirlerine yakın düzeylerde ve istatistiksel olarak anlamlı olmadığı gözlemlendi ($p>0.05$).

Çizelge 4.7. Faktör V Leiden 1691 G>A mutasyona sahip Tekrarlayan Gebelik Kaybı hastalarında koagülasyon parametrelerinin mutasyon tipine göre karşılaştırılması.

Koagülasyon Parametreleri	Faktör V Leiden 1691 G>A				
	Yaygın tip		Heterozigot		p
	n	Ortanca (Min.-maks.)	n	Ortanca (Min.-maks.)	
Antitrombin III	39	108,0 (62-200)	6	87,9 (56-131)	0,07*
Protein C Aktivitesi	44	89,6 (45-185)	4	92,3 (88,4-120)	0,45*
Protein S Aktivitesi	46	74,0 (30-154)	4	62,5 (41-71)	0,09*
aPTT	23	30,8 (25,7-35,9)	2	29,6 (29,1-30,2)	0,36*
INR	23	1,0 (0,84-1,64)	2	1,0 (0,97-1,06)	0,88*
PT	23	13,7 (12,1-18,2)	2	13,4 (13, 1-13,8)	0,85*
* Mann Whitney U Testi					

Faktör XIII Val34Leu mutasyona sahip Tekrarlayan Gebelik Kaybı hastalarında koagülasyon parametrelerinin mutasyon tipine göre karşılaştırılması Çizelge 4.8’de gösterilmiştir. Faktör XIII Val34Leu homozigot mutasyona sahip hasta sayısı istatistiksel olarak yeterli sayıda olmadığı için değerlendirmeye alınmamıştır. Faktör XIII Val34Leu heterozigot mutasyonu olanlarda normal olanlara göre aPTT düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek iken, Antitrombin III ve Protein S aktivitesinin istatistiksel anlamlı olmamak kaydıyla daha yüksek düzeylerde olduğu gözlenmiştir. Protein C aktivitesinin heterozigotlarda daha düşük olduğu, INR ve PT düzeylerinin birbirlerine yakın düzeylerde ve istatistiksel olarak anlamlı olmadığı gözlenmiştir.

Çizelge 4.8. Faktör XIII Val34Leu mutasyona sahip Tekrarlayan Gebelik Kaybı hastalarında koagülasyon parametrelerinin mutasyon tipine göre karşılaştırılması.

Koagülasyon Parametreleri	Faktör XIII Val34Leu				
	Yaygın tip		Heterozigot		p
	n	Ortanca (Min.-maks.)	n	Ortanca (Min.-maks.)	
Antitrombin III	36	106,0 (56-200)	9	111,0 (82,8-131)	0,74*
Protein C Aktivitesi	37	92,3 (45-185)	11	80,6 (61,6-124)	0,49*
Protein S Aktivitesi	38	71,5 (35-154)	12	72,5 (30-98)	0,82*
aPTT	20	30,2 (25,7-34,4)	5	31,8 (31,3-35,9)	0,01*
INR	20	1,0 (0,84-1,64)	5	1,0 (0,91-1,07)	0,56*
PT	20	13,7 (12,1-18,2)	5	13,4 (12,2-14,1)	0,38*
* Mann Whitney U Testi					

PAI-1 4G/5G Mutasyonuna sahip Tekrarlayan Gebelik Kaybı hastalarında koagülasyon parametrelerinin mutasyon tiplerine göre karşılaştırılması Çizelge 4.9'da verilmiştir. Antitrombin III, Protein C aktivitesi ve Protein S aktivitesi düzeyleri, PAI-1 4G/4G homozigot ve 4G/5G heterozigot mutasyonu olanlarda normal olanlara göre yüksek olmakla birlikte bu yükseklik istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0.05$). aPTT, INR ve PT değerlerinin birbirlerine yakın düzeylerde ve istatistiksel olarak anlamlı olmadığı gözlenmiştir.

Çizelge 4.9. PAI-1 4G/5G mutasyonuna sahip Tekrarlayan Gebelik Kaybı hastalarında koagülasyon parametrelerinin mutasyon tiplerine göre karşılaştırılması.

Koagülasyon Parametreleri	PAI-1 4G/5G						
	Yaygın tip		Homozigot 4G/4G		Heterozigot 4G/5G		<i>p</i>
	n	Ortanca (Min.-maks.)	n	Ortanca (Min.-maks.)	n	Ortanca (Min.-maks.)	
Antitrombin III	17	105,0 (56-124)	10	109,0 (64-139)	18	106,0 (84-200)	0,55*
ProteinC Aktivitesi	15	81,1 (48,2-150)	12	87,2 (45-185)	21	96,5 (62,7-124)	0,37*
ProteinS Aktivitesi	17	70,0 (45-144)	12	71,0 (30-149)	21	74,0 (51-154)	0,55*
aPTT	6	30,8 (26,7-32,0)	7	31,1(25,7-35,9)	12	30,3 (25,9-34,4)	0,97*
INR	6	1,0 (0,91-1,11)	7	1,0 (0,84-1,07)	12	1,0 (0,92-1,64)	0,60*
PT	6	13,9 (12,2-18,2)	7	13,8(13,0-14,1)	12	13,4 (12,1-14,3)	0,67*

* Kruskal Wallis Testi (İkili grup ileri karşılaştırmalar için Mann Whitney U Testi)

MTHFR C677T mutasyona sahip Suriyeli Tekrarlayan Gebelik Kaybı hastalarında, koagülasyon parametrelerinin mutasyon tiplerine göre karşılaştırılması Çizelge 4.10'da verilmiştir. Antitrombin III ve Protein C aktivitesi düzeyleri, MTHFR C677T homozigot ve heterozigot mutasyonu olanlarda normal olanlara göre daha düşük düzeylerde olmakla birlikte bu düşüklük istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0.05$). Protein S aktivitesi homozigot mutasyonu olanlarda normal ve heterozigot olanlara göre yüksek, PT düzeyleri ise homozigot mutasyonu olanlarda normal ve heterozigot olanlara göre düşük düzeylerde olduğu tespit edildi. aPTT ve INR değerlerinin birbirlerine yakın düzeylerde ve istatistiksel olarak anlamlı olmadığı gözlenmiştir ($p>0.05$).

Çizelge 4.10. MTHFR C677T mutasyona sahip Suriyeli Tekrarlayan Gebelik Kaybı hastalarında koagülasyon parametrelerinin mutasyon tiplerine göre karşılaştırılması.

Koagülasyon Parametreleri	MTHFR C677T						
	Yaygın tip		Homozigot		Heterozigot		P
	n	Ortanca (Min.-maks.)	n	Ortanca (Min. -maks.)	n	Ortanca (Min.-maks.)	
Antitrombin III	10	110,5 (84-131)	3	97,0 (64-113)	12	107,5 (56-131)	0,52*
Protein C Aktivitesi	12	105,5 (62,7-120)	3	76,4 (68,9-88,4)	10	88,8 (62,7-120)	0,19*
Protein S Aktivitesi	13	76,0 (63-100)	3	69,0 (41-76)	11	76,0 (45-98)	0,35*
aPTT	9	30,5 (25,9-33,9)	2	30,5 (29,1-32,0)	4	30,7 (28,9-35,9)	0,95*
INR	9	1,0 (0,92-1,64)	2	1,0 (1,06-1,11)	4	0,98 (0,91-1,07)	0,32*
PT	9	13,4 (12,1-14,3)	2	16,0 (13,8-18,2)	4	12,8 (12,2-14,1)	0,23*

* Kruskal Wallis Testi (İkili grup ileri karşılaştırmalar için Mann Whitney U Testi)

MTHFR A1298C mutasyona sahip Suriyeli Tekrarlayan Gebelik Kaybı hastalarında koagülasyon parametrelerinin mutasyon tiplerine göre karşılaştırılması Çizelge 4.11’de verilmiştir. Antitrombin III düzeyleri, MTHFR A1298C homozigot ve heterozigot mutasyonu olanlarda normal olanlara göre daha düşük düzeylerde olmakla birlikte bu düşüklük istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0.05$). Protein C ve Protein S Aktivitesi, MTHFR A1298C homozigot ve heterozigot mutasyonu olanlarda normal olanlara göre yüksek olmakla birlikte bu yükseklik istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0.05$). aPTT ve PT düzeyleri homozigot mutasyonu olanlarda normal ve heterozigot olanlara göre yüksek düzeylerde olduğu, INR değerlerinin birbirlerine yakın düzeylerde ve istatistiksel olarak anlamlı olmadığı tespit edilmiştir ($p>0.05$).

Çizelge 4.11. MTHFR A1298C mutasyona sahip Suriyeli Tekrarlayan Gebelik Kaybı hastalarında koagülasyon parametrelerinin mutasyon tiplerine göre karşılaştırılması.

Koagülasyon Parametreleri	MTHFR A1298C						
	Yaygın tip		Homozigot		Heterozigot		P
	n	Ortanca (Min.-maks.)	n	Ortanca (Min.-maks.)	n	Ortanca (Min.-maks.)	
Antitrombin III	9	111,0 (64-121)	1	84,0	15	109,0 (56-131)	0,45*
Protein C Aktivitesi	8	80,7 (62,7-111)	2	92,9(76,2- 109,5)	15	96,7 (62,7-120)	0,15*
Protein S Aktivitesi	8	69,0 (41-78)	2	79,5 (74-85)	17	79,0 (45-100)	0,15*
aPTT	5	31,3 (28,9-32,0)	1	33,9	9	30,2 (25,9-35,9)	0,36*
INR	5	1,0 (0,91-1,11)	1	1,1	9	1,04 (0,92-1,64)	0,42*
PT	5	13,0 (12,2-18,2)	1	14,3	9	13,4 (12,1-14,2)	0,37*

* Kruskal Wallis Testi (İkili grup ileri karşılaştırmalar için Mann Whitney U Testi)

Beta Fibrinojen -455G>A Mutasyonuna sahip Suriyeli Tekrarlayan Gebelik Kaybı hastalarında koagülasyon parametrelerinin mutasyon tiplerine göre karşılaştırılması Çizelge 4.12’de verilmiştir. Antitrombin III düzeyleri, Beta Fibrinojen -455G>A heterozigot mutasyonu olanlarda normal olanlara göre daha düşük düzeylerde olmakla birlikte bu düşüklük istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0.05$). Protein C aktivitesi, Beta Fibrinojen -455G>A homozigot ve heterozigot mutasyonu olanlarda normal olanlara göre daha düşük düzeylerde olmakla birlikte bu düşüklük istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0.05$). Protein S aktivitesi homozigot mutasyonu olanlarda normal olanlara göre daha yüksek iken heterozigot mutasyonu olanlarda normale göre daha düşüktü ($p>0.05$). aPTT, INR ve PT düzeylerinin birbirlerine yakın düzeylerde ve istatistiksel olarak anlamlı olmadığı tespit edilmiştir ($p>0.05$).

Çizelge 4.12. Beta Fibrinojen -455G>A mutasyonuna sahip Suriyeli Tekrarlayan Gebelik Kaybıhastalarında koagülasyon parametrelerinin mutasyon tiplerine göre karşılaştırılması.

Koagülasyon Parametreleri	Beta Fibrinojen -455G>A						
	Yaygın tip		Homozigot		Heterozigot		p
	n	Ortanca (Min.-maks.)	n	Ortanca (Min.-maks.)	n	Ortanca (Min.-maks.)	
Antitrombin III	20	111,5 (82,8-131)	0	-	5	100,0 (56-113)	0,11*
Protein C Aktivitesi	19	96,5 (62,7-120)	2	88,6(80,6-96,7)	4	90,5 (76,4-114)	0,90*
Protein S Aktivitesi	20	77,0 (57-100)	2	81,0 (64-98)	5	60,0 (41-76)	0,14*
aPTT	9	31,3 (25,9-35,9)	1	31,8	5	29,1 (26,7-32,0)	0,31*
INR	9	1,0 (0,91-1,64)	1	0,9	5	1,06 (0,97-1,11)	0,76*
PT	8	13,4 (12,1-14,3)	1	13,0	5	13,8 (12,5-18,2)	0,71*

* Kruskal Wallis Testi (İkili grup ileri karşılaştırmalar için Mann Whitney U Testi)

GPIIIa Leu33Pro Mutasyona sahip Suriyeli Tekrarlayan Gebelik Kaybı hastalarında koagülasyon parametrelerinin mutasyon tiplerine göre karşılaştırılması Çizelge 4.13’de verilmiştir. Antitrombin III düzeyleri, GPIIIa L33P homozigot ve heterozigot mutasyonu olanlarda normal olanlara göre daha düşük düzeylerde olmakla birlikte bu düşüklük istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0.05$). Protein C aktivitesi ve aPTT düzeyleri GPIIIa L33P homozigot ve heterozigot mutasyonu olanlarda normal olanlara göre daha yüksek olmakla birlikte bu yükseklik istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0.05$). Protein S aktivitesinin homozigot ve heterozigot mutasyonu olanlarda normal olanlara göre daha düşük olduğu tespit edildi ($p>0.05$). INR ve PT düzeylerinin birbirlerine yakın düzeylerde ve istatistiksel olarak anlamlı olmadığı tespit edilmiştir ($p>0.05$).

Çizelge 4.13. GPIIIa Leu33Pro mutasyona sahip Suriyeli Tekrarlayan Gebelik Kaybı hastalarında koagülasyon parametrelerinin mutasyon tiplerine göre karşılaştırılması.

Koagülasyon Parametreleri	GPIIIa Leu33Pro						
	Yaygın		Homozigot		Heterozigot		p
	n	Ortanca (Min.-maks.)	n	Ortanca (Min.-maks.)	n	Ortanca (Min.-maks.)	
Antitrombin III	17	111,0 (56,0-131)	1	106,0	7	109,0 (64-118)	0,85*
Protein C Aktivitesi	15	92,6 (62,7-120)	1	96,5	9	92,3 (62,7-120)	0,97*
Protein S Aktivitesi	17	76,0 (45-98)	1	68,0	9	74,0 (41-100)	0,66*
aPTT	8	30,7 (25,9-35,9)	1	31,5	6	30,3 (26,7-33,9)	0,89*
INR	8	1,0 (0,91-1,64)	1	1,0	6	1,06 (0,92-1,11)	0,90*
PT	8	13,1 (12,2-18,2)	1	13,2	6	13,9 (12,1-14,3)	0,77*

* Kruskal Wallis Testi (İkili grup ileri karşılaştırmalar için Mann Whitney U Testi)

5. TARTIŞMA

Tekralayan gebelik kaybı, gebeliğin 20. haftasından önceki dönemde üç veya daha fazla ardışık gebelik kaybı olarak tanımlanır. Çocuk doğurma çağındaki kadınların % 1-3'ünü etkileyen önemli bir gebelik komplikasyonudur ve patogeneğinde çeşitli faktörler söz konusudur. Bunlar arasında uterusu ait anatomik anormallikler, kromozomal anomaliler, trombofili ile antifosfolipid sendromu ve immün bozukluklar, yaşam tarzı faktörleri ve maternal enfeksiyonlar bulunur. Tekrarlayan gebelik kaybına sebep olan faktörlerden değiştirilebilir ve değiştirilemez risk faktörleri tanımlanmasına rağmen, TGK'nin altında yatan kesin nedenlerin % 50'si tam olarak açıklanamamaktadır (Bahia ve ark. 2018).

Hamilelikte, pıhtılaşma ve fibrinolitik yollaklarda ortaya çıkan bazı değişiklikler pıhtılaşmayı artırıcı yönde etki gösterebilmektedir. Trombofili, hemostaz dengesini bozan, pıhtılaşma oluşumunu arttıran bir faktör olup gebelik döneminde plasental damarları tıkayarak trofoblast invazyonunu engellemektedir. Hemostaz sisteminde tromboz lehine olan değişiklikler; intrauterin gelişme geriliği, preeklampsi, intrauterin fetal ölüm ve plasenta dekolmanı gibi durumlara neden olabilmektedir.

Gebelik hormonal değişikliklere bağlı olarak tromboza eğilimi arttıran normal bir fizyolojik durumdur. Bu değişiklikler; venöz staz, vasküler duvarda hipotoni, endotelial lezyonlar ve FVII, FVIII, FX, von Willebrand faktör düzeylerinde artış ile PC ve PS aktivitelerinde azalma olarak görülmektedir. Tüm bu değişiklikler doğum sonrası 6 hafta daha devam etmektedir (Coriu ve ark.2014). Bazı çalışmalar kalıtsal trombofililer ile şiddetli preeklampsi, fetal büyüme geriliği, ölü doğum ve plasenta dekolmanı gibi artan gebelik komplikasyonları arasında bir ilişki olduğunu bildirmiştir (Mierla ve ark. 2012).

Literatürde Suriye'de TGK ve trombofili paneli ile ilişkili yapılmış olan çalışma sayısı çok kısıtlıdır. Bu nedenle çalışmamızda Suriye popülasyonu ile benzerlik gösteren Filistin, Lübnan ve İran gibi ülkelerde yapılmış olan çalışmalar ile ülkemizde Suriye sınırında bulunan ve savaş nedeniyle çok büyük oranda Suriyeli bireylerin yaşadığı Şanlıurfa ilinde yaşayan kişiler arasında yapılmış olan çalışmalar değerlendirilmiştir.

Suriye'de TGK nedeniyle takip edilen 16-41 yaş aralığındaki 100 hastada yapılan çalışmada ortalama yaş $28,2 \pm 6,7$ yıl olarak bulunmuştur (Alhalaki ve ark. 2016). Suriye'de yapılan başka bir çalışmada yine benzer şekilde TGK nedeniyle takip edilen 22-37 yaş

aralığındaki 100 hastada yapılan çalışmada ortalama yaş $30\pm 4,4$ yıl olarak bulunmuştur (Al-Achkar ve ark. 2017). Veri sonuçlarımıza göre 15-43 yaş aralığında TGK olan Suriyeli kadın hastalarının yaş ortalaması $25,05\pm 6,14$ ($p=0.849$) olarak bulunmuştur ve yaş ortalamasının diğer çalışmalara göre daha küçük olduğu görülmüştür (Çizelge 4.2). Hasta grubumuzda 15-25 yaş aralığında 75 hastanın bulunması ve ileri yaş grubunda çok az hastanın olması yaş ortalamasını düşürmüştür. Savaş nedeniyle yaşanan göçe bağlı olarak Suriyeli göçmen kadınların küçük yaşta yaptıkları evliliklerin, artışa neden olabileceği düşünülmektedir.

Bizim çalışmada trombofilik faktörlerden FII (protrombin), FVL, MTHFR C677T ve A1298C, PAI-1 (4G/5G), Beta Fibrinojen (-455G>A), Faktör XIII (Val34Leu), GPIIIa (Leu33Pro) polimorfizmlerinin TGK ile ilişkisi araştırılmıştır. Yaş gruplarına göre polimorfizmlerin genotip prevalansları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0.05$). FVL mutasyonun %71,4 ($n=5$) ile en sık 21-25 yaş grubunda meydana geldiği, PAI-1 homozigot mutasyonun %40,0 ($n=4$) ile en sık 21-25 yaş grubunda, heterozigot mutasyonun ise %48,0 ($n=12$) ile en sık 25 yaş üzeri grupta meydana geldiği saptanmıştır (Çizelge 4.4). Aynı şekilde MTHFR C677T homozigot mutasyonun %66,7 ($n=2$) ile en sık 21-25 yaş grubunda, heterozigot mutasyonun ise %37,5 ($n=6$) ile en sık 25 yaş üzeri grupta meydana geldiği, Beta Fibrinojen (-455G>A) homozigot mutasyonun %50,02'i ($n=1$) ile heterozigot mutasyonun ise %57,1'inin ($n=4$) en sık 21-25 yaş grubunda görüldüğü, GPIIIa (Leu33Pro) homozigot mutasyonun tümünün ($n=2$) ve heterozigot mutasyonun ise %45,5'inin ($n=5$) en sık 21-25 yaş grubunda görüldüğü saptanmıştır (Çizelge 4.5). Suriye'de, komşu ülkelerde ve ülkemizde yaş gruplarına göre mutasyon sıklıklarını gösteren herhangi bir çalışmaya literatürde rastlanmamıştır.

Faktör V Leiden polimorfizmi herediter trombofili nedenleri arasında en sıktır ve tüm herediter trombofili olgularının yarısından sorumludur. Heterozigot mutasyona sahip bireylerde yaklaşık 10 kat, homozigotlarda ise yaklaşık 100 kat artmış tromboz riski olduğu yapılmış olan çalışmalar ile ortaya konmuştur. Faktör V Leiden polimorfizmine bağlı olarak ortaya çıkan tromboz riskindeki artışın gebelerde, uteroplesantal yatakta tromboza sebep olabileceği yapılmış olan çalışmalarda belirtilmiştir (Gümüş 2018). Benzer şekilde yapılan başka bir çalışmada FVL'nin ikinci trimester kayıpları ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (Farahmand ve ark. 2016).

Kujovich (2011) yaptığı çalışmada Beyaz popülasyonlarda FVL için homozigotluk sıklığının yaklaşık 5000'de 1 olduğunu belirtmiştir. Beyazların, Asyalılar ve Afrikalılardan evrimsel olarak ayrılmasından sonra FV geninin haplotip analizi mutasyonun 20.000-30.000 yıl önce meydana gelen tek bir olay olduğunu ileri sürmüştür. Kujovich (2004) tarafından yapılan başka bir çalışmada FVL polimorfizminin gebelik kaybı riskini 2-5 kat artırdığı gösterilmiştir.

Hastane verilerinin sonuçlarına göre FVL polimorfizminin yaygın tip görülme sıklığı %87,5, heterozigot görülme sıklığı %10,9 ve homozigot görülme sıklığı ise %1,5 oranında bulunmuştur (Çizelge 4.1). Suriye’de TGK nedeniyle takip edilen 35 hastada yapılan bir çalışmada FVL yaygın tip %71,4, heterozigot %28,6 olarak bulunmuştur. Homozigot mutasyona rastlanmadığı rapor edilmiştir (Mohammad ve ark. 2007). Yine Suriye’de yapılmış olan başka bir çalışmada görülme sıklığı oranları bizim bulgular ile farklılık göstermektedir. Bunun nedeni çalışmamıza dahil edilen hasta sayısının çok daha az olmasından kaynaklanmış olabilir. Filistin’de trombofili genetik test taraması için başvuran 2000 hastada yapılan bir çalışmada FVL yaygın tip %85,80, heterozigot %11,40 ve homozigot %2,80 olarak bulunmuştur (Attili ve ark. 2019). Sonuçlar yapmış olduğumuz çalışma ile benzerlik göstermektedir. İran’da TGK nedeniyle takip edilen 200 hastada yapılmış başka bir çalışmada ise FVL yaygın tip %75, heterozigot %15 ve homozigot %10 olarak bulunmuştur (Bigdeli ve ark.2018). Elimizdeki verilerin sonuçlarına göre homozigot yüksekliği popülasyonlar arası etnik farklılıklardan kaynaklanmış olabilir. Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi’ne 2010 ile 2013 yılları arasında TGK şikâyetiyle başvuran 1507 hastada yapılmış bir çalışmada FVL yaygın tip %94,29, heterozigot mutasyon görülme sıklığı %5,51 ve homozigot mutasyon görülme sıklığı %0,20 olarak bulunmuştur (İncebiyık ve ark. 2014). Yine aynı üniversitede 2016-2017 yılları arasında TGK şikâyetiyle başvuran 1301 hastada yapılmış olan çalışmada FVL yaygın tip %93,3, heterozigot mutasyon görülme sıklığı %6,2 ve homozigot mutasyon görülme sıklığı %0,5 olarak bulunmuştur (Gumus 2018). Yapılan çalışmalarda da bulgularımıza benzer şekilde homozigot mutasyon sıklığı çok düşük oranda bulunmuştur.

Protrombin polimorfizminin yüksek plazma protrombin düzeylerine neden olduğu ve 3 kat artmış tromboz riskine sebep olduğu yapılan çalışmalarda ortaya konmuştur (Bilici ve ark. 2015). FII polimorfizmi FVL mutasyonundan sonra gelen ikinci en sık herediter trombofili nedenidir (Gumus 2018).

Elimizdeki verilerinin sonucuna göre FII polimorfizminin yaygın tip görülme sıklığı %94,5, heterozigot sıklığı %5,4 olarak bulunmuştur (Çizelge 4.1). Homozigot mutasyona sahip hastaya rastlanmamıştır. İran’da 2018 yılında TGK nedeniyle takip edilen 200 hastada yapılan bir çalışmada FII polimorfizmi yaygın tip görülme sıklığı %96, heterozigot sıklığı %3 ve homozigot sıklığı ise %1 oranında bulunmuştur (Bigdeli ve ark.2018). Filistin’de trombofili paneli çalışılan 2000 hastada yapılan bir çalışmada FII polimorfizmi yaygın tip görülme sıklığı %93, heterozigot sıklığı %5,30 ve homozigot sıklığı ise %0,90 oranında bulunmuştur (Attili 2019). Suriye ve Lübnan’da yapılmış olan çalışmalarda FII polimorfizminin sıklığı %1,3 olarak bulunmuştur (Irani-Hkime ve ark. 2000, Tamim ve ark. 2002). İran, Filistin, Suriye ve Lübnan’da yapılan çalışmalarda homozigot mutasyona rastlanırken bizim çalışmamızda rastlanmamıştır. Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi’ne 2010 ile 2013 yılları arasında TGK şikâyetiyle başvuran 1507 hastada yapılmış olan çalışmada FII polimorfizminde yaygın tip %95,95, heterozigot mutasyon görülme sıklığı %4,05 olarak bulunmuştur (İncebiyık ve ark. 2014). Yine aynı üniversitede 2016-2017 yılları arasında TGK şikâyetiyle başvuran 1301 hastada yapılmış olan çalışmada FII polimorfizminde yaygın tip %96 ve heterozigot mutasyon görülme sıklığı %4 olarak bulunmuştur (Gumus 2018).Yapılan her iki çalışma ile bulgularımızda benzer şekilde homozigot mutasyona rastlanmamıştır. Çalışmaların yapıldığı Şanlıurfa ilinin, Suriye ile komşu olmasından ve savaş nedeninden çok büyük oranda göç almıştır.

MTHFR gen polimorfizmlerinin homosistein yüksekliğine neden olarak abortus riskini artırdığı yapılan çalışmalarda gösterilmiştir. MTHFR C677T polimorfizmi sonucu enzim ısıya hassas hale gelmektedir ve enzimin aktivitesi %35-70 oranında azalmaktadır. MTHFRA1298C polimorfizmi sonucu ise enzim aktivitesi %40 oranında azalmaktadır ancak homosistein düzeylerinde anlamlı bir değişiklik olmamaktadır. Çalışmamızda Çizelge 4.1’de MTHFR C677T polimorfizmi yaygın tip görülme sıklığı %45,9, heterozigot sıklığı %45 ve homozigot sıklığı ise %9 olarak bulunmuştur.

Suriye’de 2016 yılında TGK nedeniyle takip edilen 100 hastada yapılan çalışmada MTHFR C677T polimorfizmi yaygın tip %38, heterozigot %58 ve homozigot %4 olarak bulunmuştur (Alhalaki ve ark. 2016). Yine benzer şekilde Al-Achkar ve ark. tarafından 2016 yılında Suriye’de TGK nedeniyle takip edilen 100 hastada yapılmış olan bir çalışmada MTHFR C677T polimorfizmi yaygın tip görülme sıklığı %41, heterozigot %41 ve homozigot %18 olarak bulunmuştur (Al-Achkar ve ark. 2016). İran’da 2018 yılında TGK

nedeniyle takip edilen 200 hasta bakılan bir çalışmada MTHFR C677T polimorfizmi yaygın tip görülme sıklığı %45,5, heterozigot sıklığı %38 ve homozigot sıklığı ise %16,5 oranında bulunmuştur (Bigdeli ve ark.2018). Suriye’de yapılmış olan çalışmalarda homozigot görülme sıklığı farklı oranlarda bulunmuştur. Bunun nedeni yapılan çalışmaların ülkenin farklı etnik gruplarında yapılmış olmasından kaynaklanabilir. Çünkü literatürde yapılmış olan çalışmalar incelendiğinde Araplar ve Suriye popülasyonu olarak farklı çalışma gruplarının oluşturulduğu dikkati çekmektedir. Filistin’de trombofili paneli çalışılan 2000 hastada yapılan bir çalışmada MTHFR C677T polimorfizmi yaygın tip görülme sıklığı %60,1, heterozigot sıklığı %31,70 ve homozigot sıklığı ise %8,20 oranında bulunmuştur (Attili 2019). Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi’ne 2010 ile 2013 yılları arasında TGK şikâyetiyle başvuran 1507 hastada yapılmış olan çalışmada MTHFR C677T polimorfizmi yaygın tip %48,90, heterozigot %40,61, homozigot %8,29 olarak bulunmuştur (İncebiyık ve ark. 2014). Yine aynı üniversitede 2016-2017 yılları arasında TGK şikâyetiyle başvuran 1301 hastada yapılmış olan çalışmada MTHFR C677T yaygın tip %52,5 ve heterozigot %38,6 ve homozigot %9 olarak bulunmuştur (Gumuş 2018). Filistin’de ve ülkemizde Suriye’ye komuşu sınır hattında yapılmış olan çalışmalarda benzer homozigot sıklığı görülmüştür.

Veri sonucumuza göre MTHFR A1298C polimorfizmi için yaygın tip görülme sıklığı %41,4, heterozigot sıklığı %47,7 ve homozigot sıklığı ise %10,8 olarak bulunmuştur (Çizelge 4.1). Al-Achkar ve ark. tarafından 2016 yılında Suriye’de TGK nedeniyle takip edilen 100 hastada yapılmış olan bir çalışmada MTHFR A1298C polimorfizmi yaygın tip görülme sıklığı %53, heterozigot görülme sıklığı %44 ve homozigot görülme sıklığı ise %8 olarak bulunmuştur (Al-Achkar ve ark. 2016). Elde ettiğimiz veriler, Suriye’de yapılmış olan çalışma ile benzerlik göstermektedir. İran’da 2018 yılında TGK nedeniyle takip edilen 200 hastada yapılan bir çalışmada MTHFR A1298C polimorfizmi yaygın tip görülme sıklığı %71, heterozigot görülme sıklığı %24 ve homozigot görülme sıklığı ise %5 oranında bulunmuştur (Bigdeli ve ark.2018). İran’da yapılmış olan çalışmanın sonuçları bulgularımız ile uyumlu değildir, bunu nedeni Suriye ve İran popülasyonlarının etnik farklılığı olabilir. Ülkemizde Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi’ne 2016 ile 2017 yılları arasında TGK şikâyetiyle başvuran 1301 hastada yapılmış olan çalışmada MTHFR A1298C polimorfizmi yaygın tip %36,9, heterozigot %46,3, homozigot %16,8 olarak bulunmuştur (Gumus 2018).

Şanlıurfa'da yapılan bu çalışmada heterozigot görülme sıklığı çalışmamız ile benzerlik gösterirken, homozigot oranı daha yüksek bulunmuştur.

PAI-1 tPA'nın bir inhibitörü olup fibrinolizin düzenlenmesinde önemli bir rol oynamaktadır. Artmış PAI-1 aktivitesinin plazminojenin plazmine dönüşümünü bloke ederek fibrinolizi inhibe ettiği yapılmış çalışmalarda ortaya konmuştur (Gumus 2018). PAI-1 aktivitesinin daha yüksek olduğu 4G/4G homozigot polimorfizminin gebelik kayıplarıyla ilişkili olabileceği söylenmiştir (Dossenbach-Glaninger ve ark. 2003). Çizelge 4.1'de gösterilen PAI-1 polimorfizmi için 5G/5G yaygın tip görülme sıklığı %28,9, 4G/5G heterozigot sıklığı %41,4 ve 4G/4G homozigot sıklığı ise %29,6 olarak bulunmuştur. Literatürde Suriye ve Lübnan'da PAI-1 polimorfizmi ile ilgili yapılmış olan bir çalışmaya rastlanmamıştır. İran'da 2018 yılında TGK nedeniyle takip edilen 200 hastada yapılan bir çalışmada PAI-1 5G/5G yaygın tip görülme sıklığı %35, 4G/5G heterozigot sıklığı %56 ve 4G/4G homozigot sıklığı ise %9 olarak bulunmuştur. (Bigdeli ve ark.2018). İran'da TGK nedeniyle takip edilen 100 hastada yapılmış olan başka bir çalışmada PAI-1 5G/5G yaygın tip görülme sıklığı %33, 4G/5G heterozigot sıklığı %50 ve 4G/4G homozigot sıklığı ise %17 olarak bulunmuştur (Shakarami ve ark. 2015). Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi'ne 2016 ile 2017 yılları arasında TGK şikâyetiyle başvuran 1301 hastada yapılmış olan çalışmada PAI-1 5G/5G yaygın tip görülme sıklığı %31,3, 4G/5G heterozigot sıklığı %46,7 ve 4G/4G homozigot sıklığı ise %20,3 olarak bulunmuştur (Gumus 2018). Yapılan her üç çalışmada da homozigot görülme sıklığı bizim verilerimizin sonuçlarına göre daha düşük oranda bulunmuştur.

Daha önce yapılmış olan çalışmalarda FXIII Val34Leu polimorfizminin fibrin yapısı ve fibrinoliz üzerinde yaptığı etkilerle erken TGK ile ilişkili olabileceği ileri sürülmüştür (Dossenbach-Glaninger ve ark. 2013). Bulgularımızda, FXIII Val34Leu polimorfizmi için yaygın tip %73,2, heterozigot % 25,9, homozigot %0,7 olarak bulunmuştur. Literatürde Suriye ve Lübnan'da FXIII Val34Leu polimorfizmi ile ilgili yapılmış olan bir çalışmaya rastlanmamıştır (Çizelge 4.1). Filistin'de trombofili paneli çalışılan 2000 hastada yapılan bir çalışmada FXIII Val34Leu polimorfizmi yaygın tip görülme sıklığı %82,60, heterozigot görülme sıklığı %16,40 ve homozigot görülme sıklığı ise %1 oranında bulunmuştur (Attili 2019). Sajjadi ve ark (2016) tarafından yapılan bir çalışmada TGK nedeniyle takip edilen 140 hastada FXIII Val34Leu polimorfizmi bakılmıştır. Bu hastalarda FXIII Val34Leu yaygın tip görülme sıklığı %57,1, heterozigot sıklığı %33,6 ve homozigot sıklığı ise %9,3 olarak

bulunmuştur. İran'da 2018 yılında TGK nedeniyle takip edilen 200 hastada yapılan bir çalışmada FXIII Val34Leu yabancıl tip görülme sıklığı %60,5, heterozigot sıklığı %36 ve homozigot sıklığı ise %3,5 olarak bulunmuştur. (Bigdeli ve ark.2018). Filistin'de yapılan çalışmada homozigot görülme sıklığı çalışmamız ile benzerlik gösterirken, İran popülasyonunda yapılan çalışmalarda polimorfizmlerin görülme oranları çalışmamıza göre farklılık göstermiştir.

Araştırdığımız diğer bir faktör olan Beta fibrinojen -455 G>A polimorfizmi yaygın tip görülme oranı %67,8, heterozigot oranı %26,1 ve homozigot oranı %5,9 olarak bulunmuştur (Çizelge 4.1). Literatürde Suriye ve Lübnan'da Beta fibrinojen -455 G>A polimorfizmi ile ilgili yapılmış olan bir çalışmaya rastlanmamıştır. Filistin'de trombofili paneli çalışılan 2000 hastada yapılan bir çalışmada Beta fibrinojen -455 G>A polimorfizmi yaygın tip görülme sıklığı %71,80, heterozigot görülme sıklığı %23,60 ve homozigot görülme sıklığı ise %4,60 oranında bulunmuştur (Attili 2019). İran'da 2018 yılında TGK nedeniyle takip edilen 200 hastada yapılan bir çalışmada Beta fibrinojen -455 G>A yaygın tip görülme sıklığı %65,5, heterozigot görülme sıklığı %29,5 ve homozigot görülme sıklığı ise %5 olarak bulunmuştur (Bigdeli ve ark.2018). Her iki çalışmada da bizim çalışmaya benzer sonuçlar elde edilmiştir.

Daha önce yapılmış olan çalışmalarda GPIIIa Leu33Pro polimorfizminin spiral arter trombozuna ve azalmış plasental perfüzyona neden olarak TGK'na neden olabileceği söylenmiştir (Fazelnia ve ark. 2016). Çalışmamızda GPIIIa Leu33Pro polimorfizmi yaygın tip görülme oranı %69, heterozigot oranı %26,1 ve homozigot oranı %4,7 olarak bulunmuştur (Çizelge 4.1). Literatürde Suriye ve Lübnan'da GPIIIa Leu33Pro polimorfizmi ile ilgili yapılmış olan bir çalışmaya rastlanmamıştır. İran'da 2016 yılında TGK nedeniyle takip edilen 100 hastada yapılmış olan bir çalışmada GPIIIa Leu33Pro polimorfizmi yaygın tip görülme sıklığı %84 ve heterozigot %16 olarak bulunmuştur. Homozigot genotipe hastaya rastlanmamıştır (Fazelnia ve ark. 2016). Ülkemizde Sivas bölgesinde yapılan bir çalışmada TGK nedeniyle takip edilen 272 hastada yapılan bir çalışmada GPIIIa Leu33Pro polimorfizmi yaygın tip görülme sıklığı %75, heterozigot %24 ve homozigot %1 oranında bulunmuştur (Yenicesu ve ark. 2014). Çalışmamızda bulunan sonuçlar İran ve Türk popülasyonu ile farklılık göstermektedir.

Yapmış olduğumuz çalışmada bakılan tüm polimorfizmler içerisinde en az bir homozigot genotipe sahip hasta oranı %41 (53 hasta), bakılan bütün faktörlerde yaygın tipe

sahip hasta oranı % 4,6 (6 hasta) olarak bulunmuştur ve ayrıca iki ve daha fazla heterozigot mutasyona sahip 69 hasta saptanmıştır. Daha önce yapılmış olan çalışmalarda kombine trombofili kavramının önemi vurgulanmıştır ve gebelik kaybı riskini 5 ile 14 kat arasında arttırdığı belirtilmiştir (Gumus 2018, Kujovich 2004). Çalışmamızda dört hastada homozigot PAI-1 4G/4G ve MTHFR A1298C birlikteliği, üç hastada homozigot PAI-1 4G/4G ve Beta fibrinojen -455 G>A birlikteliği, bir hastada homozigot FVL ve MTHFR A1298C birlikteliği, bir hastada homozigot GPIIIa Leu33Pro CC ve MTHFR A1298C birlikteliği, üç hastada homozigot PAI-1 4G/4G ve MTHFR C677T birlikteliği, bir hastada homozigot PAI-1 4G/4G ve FXIII Val34Leu birlikteliği, bir hastada homozigot Beta fibrinojen -455 G>A ve MTHFR A1298C birlikteliği, bir hastada homozigot FVL ve Beta fibrinojen -455 G>A birlikteliği görülmüştür. Farahmand ve ark. tarafından 2016 yılında TGK nedeniyle takip edilen 330 hastada yapılan çalışmada kombine trombofilik mutasyon sıklığı bakılmış ve çalışmamız ile benzer oranlar bulunmuştur (Farahmand ve ark. 2016).

Pıhtılaşma sırasında görev alan faktörlerin konsantrasyonları hamilelik boyunca önemli derecede değişiklik göstermektedir. Tüm bu değişiklikler, gebelik döneminde artar ve pıhtılaşma aktivitesi gebe olmayan bir bireye göre yaklaşık iki kat fazladır. Hemostatik faktörler gebelik durumunda değişiklik gösterir. Faktörler II ve V' te değişim olmazken fibrinojen % 100'den fazla artar. Faktör VII % 1000'e kadar artış gösterir. Faktörler VIII, IX, X, XII ve VWF % 100'den fazla artış gösterirken FXI deşikendir. FXIII' te % 50'ye kadar azalma olur. PC'de değişim olmazken PS'te % 50'ye kadar azalma görülür. Pıhtılaşma sisteminde meydana gelen önemli değişikliklere rağmen PT, INR ve aPTT gibi standart pıhtılaşma testleri hamilelik sırasında değişmez veya çok az azalır (Katz ve Beilin 2015).

Hastane veri sonuçlarına göre 47 hastada ATIII aktivitesi bakılmış ve ortalama 105 ± 22 (referans aralık 80-120), 62 hastada PC aktivitesi çalışılmış ve ortalama $92,5 \pm 26,5$ (referans aralık 65-140), 64 hastada PS aktivitesi çalışılmış ve ortalama $72,2 \pm 23,3$ (referans aralık 60-140), 25 hastada aPTT, PT ve INR çalışılmış ve sırasıyla ortalama $30,7 \pm 2,5$ (referans aralık 24-35), $13,5 \pm 1,7$ (referans aralık 10,2-14) ve $1,04 \pm 0,15$ (referans aralık 0,8-1,2) olarak bulunmuştur. Ülkemizde Ankara'da yapılmış olan bir çalışmada ardı ardına iki düşük yapmış 198 hastada ATIII aktivite, PC aktivite ve PS aktivite değerleri sırasıyla $101,02 \pm 19,32$, $110,96 \pm 19,35$ ve $88,23 \pm 15,36$ olarak saptanmıştır. Yine aynı çalışmada üç ve üstü düşük yapmış 54 hastada ATIII aktivite, PC aktivite ve PS aktivite değerleri sırasıyla $106,02 \pm 21,36$, $115,69 \pm 23,67$ ve $94,21 \pm 32,39$ bulunmuştur. Belirtilen aynı çalışmada ardı

ardına iki düşük yapmış 198 hastada aPTT, PT ve INR değerleri sırasıyla $29,63 \pm 1,23$, $12,95 \pm 1,98$ ve $0,97 \pm 0,13$ olarak bulunmuş, üç ve üstü düşük yapmış 54 hastada ise aPTT, PT ve INR değerleri sırasıyla $31,23 \pm 4,25$, $13,58 \pm 2,15$ ve $0,95 \pm 0,23$ olarak bulunmuştur (Yeral ve ark. 2019). Suriyeli kadınlarda bakılan koagülasyon faktörlerinin ortalaması ile ülkemizde yapılan çalışmanın sonuçları benzerlik göstermektedir. Her iki çalışmada da koagülasyon değerlerinin referans aralıkta olduğu dikkati çekmektedir.

Literatürde ATIII, PS ve PC eksikliğinin TGK ile olan ilişkisi ile ilgili farklı sonuçlar yer almaktadır. Bunun nedeni belirtilen hastalıkların çok nadir görülmesi ve eksikliği olan kadınların çalışmalara dahil edilmemiş olması olabilir (Kujovich 2004). Literatürde referans değerler altında kalan sonuçlar eksiklik olarak değerlendirilmiştir. Biz de çalışmamızda benzer şekilde değerlendirme yaptık. Hastane verilerinin sonuçlarında TGK nedeniyle takip edilen hastalarda ATIII eksikliği %6 (3/47), PC eksikliği % 12,9 (8/62), Protein S eksikliği %23,4 (15/64) olarak bulunmuştur. Malatya’da 273 TGK tanısıyla takip edilen hastada yapılan bir çalışmada PC eksikliği %1,1 (n=3), PS eksikliği %5,1 (n=14) ve ATIII eksikliği %0,4 (n=1) oranında bulunmuştur (Gönüllü 2013). Kosova’da yapılan bir çalışmada TGK nedeniyle takip edilen 104 hastada yapılan çalışmada ATIII eksikliği %3, PC eksikliği %3,85 ve PS eksikliği %5,77 olarak bulunmuştur (Mekaj ve ark. 2015). Yapılan başka bir çalışmada Hindistan’da TGK nedeniyle takip edilen 580 hastada ATIII eksikliği %4,31, PC eksikliği %9,8 ve PS eksikliği %10,6 oranında bulunmuştur (Sharma ve ark. 2015). Kujovich tarafından 2004 yılında yapılan bir çalışmada TGK hikâyesi bulunan kadınlarda ATIII eksikliğinin %0-2, PC eksikliğinin %6 ve PS eksikliğinin %5-8 oranında görüldüğü belirtilmiştir (Kujovich 2004). Pakistan’da yapılmış olan bir çalışmada ise TGK nedeniyle takip edilen 315 hastada PC ve PS eksikliği %3, ATIII eksikliği ise %0,6 oranında bulunmuştur (Ali ve ark. 2014). Yine Pakistan’da yapılan başka bir çalışmada TGK şikâyetiyle takip edilen 40 hastada PC ve PS eksikliği görülme oranları %22,5 olarak bulunmuştur (Hossain ve ark. 2005). Amerika’da yapılmış olan bir çalışmada TGK şikâyeti olan hastalarda ATIII eksikliği %1,5, PC eksikliği %1,1 ve PS eksikliği ise %3,5 olarak bulunmuştur (Jaslow ve ark. 2010). Belirtilen çalışmalarda görüldüğü üzere TGK nedeniyle takip edilen hastalarda ATIII, PC ve PS eksikliği görülme oranları ile ilgili olarak çok çeşitli sonuçlar mevcuttur. Bulgularımızda özellikle PS ve PC eksikliği oranlarında görülen yükseklik dikkati çekmektedir. Özellikle Suriye popülasyonunda veya komşu ülkelerde bu eksikliklerin görülme oranlarıyla ilgili sağlıklı bir veri yoktur. Bu yüksek oran ırksal

sebeplerden veya çok nadir bir hastalık grubu olmasına rağmen eksikliği olan kadınların çalışmaya dahil edilmiş olmasından kaynaklanmış olabilir.

Literatürde TGK şikayetiyle takip edilen hastalarda koagülasyon faktörleri ile mutasyon tipleri arasındaki ilişkiler değişik çalışmalarda incelenmiştir. Yapılan çalışmalarda düşük hikayesi olmayan hastalar kontrol grubu alınarak kıyaslanmış veya TGK şikayeti ile takip edilen hastalar düşük sayısına göre gruplandırılarak, gruplar arası ilişkiye bakılmıştır. Değerlendirmeye aldığımız hastane verilerinde ise kontrol grubu olmadığı için ve Suriyeli hastalara ait düşük sayıları ile ilgili net verilere ulaşamadığı için ilgili çalışmalardakine benzer karşılaştırmalar yapılamamıştır. Ayrıca çalışmamızda koagülasyon faktörleri ile trombofili paneli çalışma birlikteliği olan hasta sayısının (n=64) çok olmaması ve homozigot mutasyon sıklığının az olması sağlıklı istatistiksel çalışma yapılmasına izin vermemiştir. Yaptığımız çalışmada, trombofili paneli bakılan hastaların koagülasyon faktörleri değerlendirilerek trombofili mutasyonları ile ilişkisi araştırılmıştır. Bu araştırma sonucuna göre; FII G20210A heterozigot mutasyonu olanlarda normal olanlara göre PC aktivitesinin istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğu, ATIII ve PS aktivitesinin heterozigot mutasyonu olanlarda istatistiksel anlamlı olmasa da normal olanlara göre yüksek olduğu, aPTT ve PT düzeylerinin heterozigotlarda daha düşük düzeylerde olduğu, INR değerlerinin birbirlerine yakın düzeylerde ve istatistiksel olarak anlamlı olmadığı gözlemlenmiştir (Çizelge 4.6). FXIII V34L heterozigot mutasyonu olanlarda normal olanlara göre aPTT düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek iken, ATIII ve PS Aktivitesinin istatistiksel anlamlı olmamak kaydıyla daha yüksek düzeylerde olduğu gözlemlenmiştir. PC aktivitesinin heterozigotlarda daha düşük olduğu, INR ve PT düzeylerinin birbirlerine yakın düzeylerde ve istatistiksel olarak anlamlı olmadığı bulunmuştur (Çizelge 4.8). Beta Fibrinojen, GPIII L33P, MTHFRA1298C, MTHFR C677T, PAI-1 4G/5G, FVL polimorfizmlerinin homozigot mutasyona, heterozigot mutasyona ve normol homozigot tipe sahip olan hastaların koagülasyon faktörleriyle olan ilişkisine bakılmış ve ATIII düzeyleri, PC aktivitesi, PS aktivitesi, aPTT, INR ve PT düzeyleri, istatistiksel olarak anlamlı olmadığı tespit edilmiştir (Çizelge 4.7, 4.9, 4.10, 4.11, 4.12, 4.13). FII polimorfizminde heterozigot saptanan kadınlarda PC aktivitesinin $p=0.04$ ($p>0.05$) istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğu (Çizelge 4.6), FVL heterozigot mutasyonu olanlarda normal olanlara göre ATIII ve PS aktivitesinin istatistiksel anlamlılığı yakın bir düzeyde daha düşük olduğu gözlemlendiği; aPTT, PT, INR faktörleri heterozigot ve homozigot görülen hastalarda yüksek

veya düşük değişkenlik gösterse de istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir (Çizelge 4.7). FXIII heterozigot mutasyonu olanlarda normal olanlara göre aPTT düzeyleri $p = 0.01$ ($p > 0.05$) istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (Çizelge 4.8).

Çalışmamızda bulunan sonuçlar ışığında daha çok hasta sayısına ulaşarak yapılacak olan çalışmalarda özellikle FVL mutasyonu olan hastalarda PS ve ATIII aktivitesinde azalmanın görülebileceği, FXIII heterozigot mutasyonun aPTT düzeylerini etkileyebileceği düşünülmektedir. Çalışmamızda özellikle PAI-1 4G/4G homozigot ve 4G/5G heterozigot mutasyonu saptanan hasta sayısının diğer mutasyon tiplerine göre çok daha fazla olmasına rağmen koagülasyon faktörleri üzerinde istatistiksel olarak anlamlı bir etkisinin olmadığı görülmüştür. Yine benzer şekilde MTHFR C677T ve MTHFR A1298C polimorfizlerinde heterozigot mutasyonu saptanan hasta sayısının çok fazla olmasına rağmen koagülasyon faktörleri üzerinde istatistiksel olarak anlamlı bir etkisinin olmadığı saptanmıştır.

6. SONUÇ

Yaptığımız bu çalışma Suriyeli TGK hastalarında Protrombin 20210G>A, Faktör V Leiden 1691 G>A, MTHFR 677C>T, MTHFR 1298A>C, PAI-1 4G/5G, Beta Fibrinojen - 455 G>A, Faktör XIII Val34Leu, GPIIIa Leu33Pro gen polimorfizmleri genotip frekanslarıyla, bu polimorfizmlerin ATIII, PC ile PS aktiviteleri, aPTT, PT ve INR koagülasyon faktörlerinin değerlendirildiği ilk çalışmadır.

Çalışmamızda bakılan varyasyonlar arasında yaygın tip görülme sıklığı en yüksek oranda Protrombin 20210G>A (% 94,5) polimorfizminde, heterozigot genotip görülme sıklığı sırasıyla en yüksek oranda MTHFR C677T (%45), MTHFR A1298C (% 47,7) ve PAI-1 4G/5G (%41,4) polimorfizmlerinde ve homozigot mutasyonu görülme sıklığı en yüksek oranda PAI-1 4G/4G (% 29,6) polimorfizmde görülmüştür. Protrombin 20210G>A homozigot genotipine hiçbir hastada rastlanmamıştır.

Literatürde yapılan çalışmalar ile ortaya çıkan farklı sonuçlar popülasyonlardaki etnik farklılıklardan kaynaklanmış olabilir. Tekrarlayan gebelik kaybına yatkınlığı arttıran genetik ve çevresel faktörler genetik polimorfizmlerle ilişkili olarak kişiye özgüdür.

Bu çalışma Suriyeli TGK hastalarında ATIII, PC ve PS eksikliği oranlarını gösteren ilk çalışmadır. Daha fazla hasta sayısına ulaşılarak yapılacak olan çalışmalarda özellikle FVL mutasyonu olan hastalarda PS ve ATIII aktivitesinde azalmanın görülebileceği, FXIII heterozigot mutasyonun aPTT düzeylerini etkileyebileceği düşünülmektedir. Bulgularımızda özellikle PAI-1 4G/4G homozigot ve 4G/5G heterozigot mutasyonu saptanan hasta sayısının diğer mutasyon tiplerine göre çok daha fazla olmasına rağmen koagülasyon faktörleri üzerinde istatistiksel olarak anlamlı bir etkisinin olmadığı görülmüştür. Yine benzer şekilde MTHFR C677T ve MTHFR A1298C heterozigot mutasyonu saptanan hasta sayısının çok fazla olmasına rağmen koagülasyon faktörleri üzerinde istatistiksel olarak anlamlı bir etkisinin olmadığı saptanmıştır.

Bu çalışmada kontrol grubunun olmaması ve Suriyeli hastalara ait düşük sayıları ile ilgili net verilere ulaşılamamış olması bir kısıtlılık olarak öne çıkmaktadır. Bu nedenle daha büyük hasta gruplarında çalışılması, çalışmaya kontrol grubunun eklenmesi ve hastalara ait klinik verilerin daha sağlıklı elde edilebildiği yeni çalışmalara ihtiyaç vardır.

7. KAYNAKLAR

1. **Aksin Ş.** Tekrarlayan Gebelik Kayıpları. Van Tıp Dergisi, **2017**, s. 24(4): 410-414.
2. **Al-Achkar W, Wafa A, Ammar S, Moassass F, and Jarjour RA.** Association of Methylenetetrahydrofolate Reductase C677T and A1298C Gene Polymorphisms With Recurrent Pregnancy Loss in Syrian Women. *Reprod Sci.* , **2017**, s. 24(9):1275-1279.
3. **Alhalaki W, Altanoukhi IA, Alhalabi M.**The association of hyperhomocysteinemia with recurrent pregnancy loss. **2016**, s. 1-8.
4. **Alhalaki W, Altanoukhi IA, Alhalabi M.**The Association of Activated Protein C Resistance (aPCR) with Recurrent Pregnancy Loss in Syrian Population. *Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res.*, 38(1), **2016**, Article No. 51, Pages: 290-295.
5. **Ali N, Bhatti FA, Khan SA.** Frequency of hereditary thrombophilia in women with recurrent pregnancy loss in Northern Pakistan. *J Obstet Gynaecol Res.* , **2014**, 40(6):1561-6.
6. **Arias-Sos LA, Acosta ID, Lucena-Quevedo E, Moreno-Ortiz H, Esteban-PérezC, Forero-Castro M.** Genetic and epigenetic variations associated with idiopathic recurrentpregnancy loss. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*, **2018**, s. 35:355–366.
7. **Atalan N.** Hemostaz. *GKDA Dergisi*, **2013**, s. 19(3):109-112.
8. **Attili R, Hussein A, Odeh H, Hejaz H.**Prevalence of Thrombophilia in Palestine and the Association of Thrombophilic Gene Polymorphisms with Recurrent Pregnancy Loss. *Research Journal of Obstetrics and Gynecology*, **2019**, s.12 (1): 6-10.
9. **Bahia W, Finan RR, Al-Mutawa M, Haddad A, Soua A, Janhani F, Mahjoub T, Almawi WY.** Genetic variation in the progesterone receptor gene and susceptibility to recurrent pregnancy loss: a case-control study. *BJOG*. **2018**, s.125(6):729-735.
10. **Behjati R, Modarressi MH, Jeddi-Tehrani M, Dokoohaki P, Ghasemi J, Zarnani AH, Aarabi M, Memariani T, Ghaffari M, Akhondi MA.** Thrombophilic mutations in Iranian patients with infertility and recurrent spontaneous abortion. *Ann Hematol*, **2006**, s. 85(4): 268-271.
11. **Beta fibrinogen geni**, kromozom yerleşimi, <https://ghr.nlm.nih.gov/gene/FGB#location>, Erişim Tarihi: **2019**
12. **Bick RL, Hoppensteadt D.** Recurrent miscarriage syndrome and infertility due to blood coagulation protein/platelet defects: A review and update. *Clin App Thromb Hemost*, **2005**, s.11:1-13.
13. **Bigdeli R, Younesi MR, Panahnejad E, Asgary V, Heidarzadeh S, Mazaheri H, Aligoudarzi SL.** Association between thrombophilia gene polymorphisms and recurrent pregnancy loss risk in the Iranian population. *Syst Biol Reprod Med.*, **2018**, s.64(4):274-282.
14. **Bilici M, Öz İİ, Uygun İlikhan S, Arslaner M, Kahraman E, Kılavuz B, Özdamar Z, Ertop Ş.** Venöz Tromboemboli Yerleşim Yeri Üzerine Faktör V Leiden, Protrombin G20210A Ve MTHFR C677T Gen Mutasyonlarının Belirleyici Rolü. *Ertop3Dicle Tıp Dergisi*, **2015**, s. 42 (4): 467-471.
15. **Botto LD, Yang Q.** 5,10-Methylenetetrahydrofolate reductase gene variants and congenital anomalies: *AmJ Epidemiol*, **2000**, s.151(7):862-77.
16. **Cimmino G, Fischetti S. and Golino P.** The Two Faces of Thrombosis: Coagulation Cascade and Platelet Aggregation Are Platelets the Main TherapeuticTarget? . Cimmino et al. , *J Thrombo Cir*, **2017**, s. 3:1.
17. **Coriu L, Ungureanu R, Talmaci R, Uscatescu V, Cirstoiu M, Coriu D, Copaciu E.** Hereditary Thrombophilia and thrombotic events in pregnancy: single-center experience. *J Med Life*, **2014**, s. 7(4):567-71.
18. **Dahlback B, Carlsson M, Svensson PJ.** Familial thrombophilia due to a previously unrecognized mechanism characterised by poor anticoagulants response to activated protein C: prediction of a cofactor to activated protein C. *Natl AcadSci*, **1993**, s. 90:1004-8.
19. **De Luca C, Virtuoso A, Maggio N, Papa M.** Neuro-Coagulopathy: Blood Coagulation Factors in Central Nervous System Diseases. *Int J Mol Sci.* , **2017**, s. 18(10).
20. **Dossenbach-Glaninger A, van Trotsenburg M, Oberkanins C, Atamaniuk J.** Risk for early pregnancy loss by factor XIII Val34Leu: the impact of fibrinogen concentration. *J Clin Lab Anal.*, **2013**, 27(6):444-9.
21. **Dossenbach-Glaninger A, Trotsenburg MV, Dossenbach M, Oberkanins C, Moritz A, Krugluger W, Huber J, and Hopmeier P.** Plasminogen Activator Inhibitor 1 4G/5G Polymorphism and Coagulation Factor XIII Val34Leu Polymorphism: Impaired Fibrinolysis and Early Pregnancy Loss. *Clinical Chemistry*, **2003**, s. 49:7 1081–1086.

22. **Dul EC, van Echten-Arends J, Groen H, Dijkhuizen T, Land JA, van RavenswaaijArts CM.** Chromosomal abnormalities in azoospermic and non-azoospermic infertile men: Numbers needed to be screened to prevent adverse pregnancy outcomes. *Hum Reprod.* , **2012**, s.27(9):2850-6.
23. **Duval C, Ali M, Chaudhry WW, Ridger VC, Ariëns RA, Philippou H.** Factor XIII A-Subunit V34L Variant Affects Thrombus Cross-Linking in a Murine Model of Thrombosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* , **2016**, s. 36(2):308-16.
24. **Duz SA.** Recurrent pregnancy loss. *Medicine Science*, **2016**, s. 5(2):606-22.
25. **El Hachem H, Crepaux V, May-Panloup P, Descamps P, Legendre G, Bouet PE.** Recurrent pregnancy loss: current perspectives. *Int J Womens Health.* **2017**, s. 9: 31-345.
26. **Erkurt MA, Berber İ.** Edinsel Trombofili Nedenleri. *Türkiye Klinikleri J Hematol-Special Topics*, **2016**, s. 9(4):7-12.
27. **Erol Ç, Yalçın A.** HEMATOLOJİ. Kanama ve Tromboz. 1.Baskı, **2011**, 267-281.
28. **F13A1 Geni**, <https://ghr.nlm.nih.gov/gene/F13A1#conditions>, Erişim Tarihi: **2019**
29. **F2 Geni**, Kromozomal lokasyonu, <https://ghr.nlm.nih.gov/gene/F2#location>, Erişim Tarihi: **2019**
30. **F5 Geni**, Kromozom yerleşimi, <https://ghr.nlm.nih.gov/gene/F5#location>, Erişim Tarihi: **2019**
31. **Farahmand K, Totonchi M, Hashemi M, Sabet FR, Kalantari H, Gourabi H, Meybod AM.** Thrombophilic genes alterations as risk factor for recurrent pregnancy loss. *Matern Fetal Neonatal Med*, **2016**, 29(8): 1269–1273.
32. **Fazelnia S, Farazmandfar T, Hashemi-Soteh SM.** Significant correlation of angiotensin converting enzyme and glycoprotein IIIa genes polymorphisms with unexplained recurrent pregnancy loss in north of Iran. *Int J Reprod Biomed (Yazd).* , **2016**, 14(5):323-8.
33. **Ford HB, Schust DJ.** Recurrent pregnancy loss: etiology, diagnosis, and therapy. *Rev Obstet Gynecol*, **2009**, s.2(2):76-83.
34. **Gao H, Tao FB.** Prothrombin G20210A mutation is associated with recurrent pregnancy loss: a systematic review and meta-analysis update. *Thromb Res.* , **2015**, s. 135(2):339-46.
35. **Garrido-Gimenez C, Alijotas-Reig J.** Recurrent miscarriage: causes, evaluation and management. *Postgrad Med.* **2015**, s. 0:1–12.
36. **Gezginc K, Dalkılıç EU.** Obstetrik Acillere Yaklaşım. *JAEM*, **2011**, s. 128-32.
37. **GPIIIa Geni**, Kromozom Üzerindeki Yeri, <https://ghr.nlm.nih.gov/gene/ITGB3#location> Erişim: **2019**
38. **Greengard JS, Sun X, Xu X, et al.** Activated protein C resistance caused by Arg506Gln mutation in factor Va. *Ancet*, **1994**, s. 343:1361-7.
39. **Grimstad F, Krieg S.** Immunogenetic contributions to recurrent pregnancy loss. *J Assist Reprod Genet*, **2016**, s. 33:833–84.
40. **Gönüllü R.** Tekrarlayan Gebelik Kaybı Öyküsü Olan Hastalarda Etyolojik Faktörlerin Analizi. Uzmanlık Tezi, İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları Ve Doğum Anabilim Dalı, Malatya, **2013**.
41. **Gumus E.** Güneydoğu Anadolu Bölgesi'ndeki Tekrarlayan Abortus Olgularında Protrombin, MTHFR, FV Leiden ve PAI-1 Polimorfizmlerinin Retrospektif Olarak İncelenmesi. *Dicle Tıp Dergisi / Dicle Med J*, **2018**, 45 (3) : 275-281.
42. **Heesun J, Rogers, Megan O, Nakashima, Kandice Kottke-Marchant.** Hemostasis and Thrombosis. *Hematopathology (Third Edition) Foundations in Diagnostic Pathology, Foundations in Diagnostic Pathology.* **2018**, s. 57-105.
43. **Hiraoka M, Kagawa Y.** Genetic polymorphisms and folate status. *Congenital Anomalies*, **2017**, s. 142–149.
44. **Hossain N, Shamsi T, Soomro N.** Frequency of thrombophilia in patients with adverse pregnancy outcome. *J Pak Med Assoc.* , **2005**, 55(6):245-7.
45. **Ilich A, Bokarev I, Key NS.** Global assays of fibrinolysis. *Int J Lab Hem.* **2017**, s.1–7.
46. **Incebiyik A, Hilali NG, Camuzcuoglu A, Camuzcuoglu H, Akbas H, Kilic A, Vural M.** Prevalence of thrombogenic gene mutations in women with recurrent miscarriage: A retrospective study of 1,507 patients. *Obstet Gynecol Sci.* , **2014**, 57(6):513-7.
47. **Irani-Hakime N, H Tamim, G Elias, RR Finan, JL Daccache, WY Almawi.** High prevalence of factor V mutation (Leiden) in the Eastern Mediterranean. *Clinical chemistry*, **2000**, s.46:134-136.
48. **İfran A.** Koagülasyon Testleri Ve Klinik Kullanımı. *Türk Hematoloji Derneği - Temel Hemostaz Tromboz Kursu.* Ankara, Türkiye, 8 Eylül **2007**, s.19.
49. **Jarjour RA, Ammar S, Majdalawi R.** Frequency of three prothrombotic polymorphisms among Syrian population: factor V G1691A, prothrombin G20210A and methylenetetrahydrofolate reductase C677T. *Ann Hum Biol*, **2017**, s. 44(1): 70–73.

50. **Jaslow CR, Carney JL, Kutteh WH.** Diagnostic factors identified in 1020 women with two versus three or more recurrent pregnancy losses. *Fertil Steril*, **2010**, s. 1;93(4):1234-43.
51. **Jeddi-Tehrani M, Torabi R, Zarnani H, Mohammadzadeh A, Arefi S, Zeraati H, Akhondi MM, Chamani-Tabriz L, Idali F, Emami S, Zarei S.** Analysis of Plasminogen Activator Inhibitor-1, Integrin Beta, Beta Fibrinogen, and Methylenetetrahydrofolate Reductase Polymorphisms in Iranian Women with Recurrent Pregnancy Loss. *American Journal of Reproductive Immunology* 66 (**2011**) 149–156.
52. **Jeon YJ, Kim YR, Lee BE, Choi YS, Kim JH, Shin JE, Rah H, Cha SH, Lee WS, Kim NK.** Genetic association of five plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) polymorphisms and idiopathic recurrent pregnancy loss in Korean women. *Thrombosis and Haemostasis*, **2013**, s. 110(4):742-50.
53. **Kacprzak M, Chrzanowska M, Skoczylas B, Moczulska H, Borowiec M, Sieroszewski P.** Genetic Causes Of Recurrent Miscarriages. *Ginekol Pol.* , **2016**, s. 87(10):722-726.
54. **Kara P, Nazik E.** Göçün Kadın ve Çocuk Sağlığına Etkisi. *Gümüşhane Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, **2018**, s. 7(2): 58 -69.
55. **Kashif S, Kashif MA, Saeed A.** The association of factor V leiden mutation with recurrent pregnancy loss. *J Pak Med Assoc*, **2015**, s. 65(11):1169-72.
56. **Katz D, Beilin Y.** Disorders of coagulation in pregnancy. *Br J Anaesth.* **2015**, s.115 Suppl 2:ii75-88.
57. **Keyhan S, Muasher L, Muasher SJ.** Spontaneous Abortion and Recurrent Pregnancy Loss: Etiology, Diagnosis, Treatment. In: *Comprehensive Gynecology*. Seventh Ed. Elsevier; **2016**. 329–347.
58. **Koagülasyon Kaskadı**, Erişim: <http://www.turkcerrahi.com>, **2019**
59. **Kupferminc MJ.** Thrombophilia and pregnancy. *Reprod Biol Endoc*, **2003**,s. 1: 111.
60. **Kujovich JL.** Factor V Leiden thrombophilia. *Genet Med.* , **2011** Jan;13(1):1-16.
61. **Kujovich JL.** Thrombophilia and pregnancy complications. *Am J Obstet Gynecol.* , **2004**, 191(2):412-24.
62. **Küçükaya RD, Aydın M.** Trombofili Genetiği. *Türk hemotoloji derneği - Moleküler Hematoloji*, 2006. *Klinik Hematoloji için Pratik Genetik Yaklaşım Kursu*, Antalya, 2006,s.39-43.
63. **Kwak-Kim J, Yang KM Gilman-Sachs A.** Recurrent pregnancy loss: A disease of inflammation and coagulation. *J. Obstet. Gynaecol. Res.* , **2009**, s. 609–622.
64. **Lancellotti S, Basso M, De Cristofaro R.** Congenital prothrombin deficiency: an update. *Semin Thromb Hemost.* , **2013**, s. 39(6):596-606.
65. **Levenseller B, Varga LE.** MTHFR: Addressing Genetic Counseling Dilemmas Using Evidence-Based Literature *J Genet Counsel*, **2016**, s. 25:901–911.
66. **Li J, Wu H, Chen Y, Wu H, Xu H, Li L.** Genetic association between FXIII and β -fibrinogen genes and women with recurrent spontaneous abortion: a meta-analysis. *J Assist Reprod Genet.* , **2015**, s. 32(5):817-25.
67. **Liatsikos SA, Tsikouras P, Manav B, Csorba R, Tempelhoff GFV, Galazios G.** Inherited thrombophilia and reproductive disorders. *J Turk Ger Gynecol Assoc*, **2016**, s. 17: 45-50.
68. **Liu S, Diao L, Huang C, Lia Y, Zeng Y, Kwak-Kim JYH.** The role of decidual immune cells on human pregnancy. *Journal of Reproductive Immunology*, **2017**, s. 124, 44–53.
69. **Long S, Goldblatt J.** MTHFR genetic testing: Controversy and clinical implications. Volume 45, No.4, April **2016**, s. 237-240.
70. **Lu Y, Zhao Y, G Liu, X Wang, Z Liu, B Chen, R Hui.** Factor V gene G1691A mutation, prothrombin gene G20210A mutation, and MTHFR gene C677T mutation are not risk factors for pulmonary thromboembolism in Chinese population. *Thrombosis research*, **2002**, s. 106:7-12.
71. **McColl MD, Ramsey JE, Tait RC, et al.** Risk factors for pregnancy associated venous thromboembolism. *Thromb. Haemost.* , **1997**, s. 78:11838.
72. **Mekaj Y, Lulaj S, Daci F, Rafuna N, Miftari E, Hoxha H, Sllamniku X, Mekaj A.** Prevalence and role of antithrombin III, protein C and protein S deficiencies and activated protein C resistance in Kosovo women with recurrent pregnancy loss during the first trimester of pregnancy. *J Hum Reprod Sci.* , **2015**, 8(4):224-9.
73. **Mierla D, Szmaj C, Neagos D, Cretu R, Stoian V, Jordan D.** Association of Prothrombin (A20210G) and Factor V Leiden (A506G) with Recurrent Pregnancy Loss. *Maedica A Journal of Clinical Medicine*, **2012**, 7(3):222-6.
74. **Mohammad MAM, Al-Halabi MG, Sharif Monem FM.** Prevalence of factor V Leiden mutation and its relation with recurrent spontaneous pregnancy loss in a group of Syrian women. *Middle East Fertility Society Journal*, **2007**, s. 12, No. 3.

75. Nefic H, Mackic-Djurovic M, Eminovic I. The Frequency of the 677C>T and 1298A>C Polymorphisms in the Methylenetetrahydrofolate Reductase (MTHFR) Gene in the Population. ORIGINAL PAPER | Med Arch. , 2018, s. 72(3): 164-169.
76. Ormsher L, Simcox L, Tower C, Greer IA. Management of inherited thrombophilia in pregnancy. Women's Health, 2016, s. 12(4) 433– 441.
77. Örgül G, Soyak B, Aydın E, Tanaçan A, Çağan M, Beksaç Ms. Haftayı Geçemeyen Gebelikler. Jinekoloji - Obstetrik ve Neonatoloji Tıp Dergisi, 2017; Volum:14, Sayı:2, s. 66 – 69.
78. Özdemir S, Balcı O, Göktepe H, Görkemli H, Taşçı E, Acar H. Tekrarlayan gebelik kaybı olan hastalarda trombofili mutasyon sıklığının değerlendirilmesi. Genel Tıp Dergisi, 2010, s. 20(3).
79. PAI- Geni. Kromozomal lokasyonu. <https://ghr.nlm.nih.gov/gene/SERPINE1#location> . Erişim Tarihi: 2019
80. Panteleev MA, Dashkevich NM, Atullakhanov FI. Hemostasis and thrombosis beyond biochemistry: roles of geometry, flow and diffusion. Thromb Res. 2015, s. 136: 699-711.
81. Paterson TA, Stein DM. Hemorrhage and coagulopathy in the critically ill. Emerg Med Clin North Am. 2014, s. 32: 797-810.
82. Pinar MH, Gibbins K, He M, Kostadinov S, Silver R. Early Pregnancy Losses: Review of Nomenclature, Histopathology, and Possible Etiologies. Fetal and Pediatric Pathology, 2018, s. 37(3):191-209.
83. Pluchino N, Drakopoulos P, Wenger JM, Petignat P, Streuli I, Genazzani A. Hormonal causes of recurrent pregnancy loss (RPL). HORMONES, 2014, s.13(3):314-322.
84. Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Evaluation and treatment of recurrent pregnancy loss: a committee opinion. Fertil Steril. 2012, s. 98(5):1103-11.
85. Pritchard AM, Hendrix PW, Paidas MJ. Hereditary Thrombophilia and Recurrent Pregnancy Loss. Clin Obstet Gynecol. 2016, s. 59(3):487-97.
86. Prüller F, Raggam RB, Mangge H, Truschnig-Wilders M, Matzhold EM, Weiss EC, Hasiba B, Summers KL, Renner W, Siegert G, Kostka H. A novel factor V mutation causes a normal activated protein C ratio despite the presence of a heterozygous F5 R506Q (factor V Leiden) mutation. British Journal of Haematology, 2013, s.163, 404–420.
87. Rai R, Regan L. Recurrent miscarriage. Lancet. 2006, s. 368: 601–11.
88. Rai R, Shlebak A, Cohen H, et al. Factor V Leiden and acquired activated protein C resistance among 1000 women with recurrent miscarriage. Hum Reprod, 2001, s. 16: 961-5.
89. Richard E, Bonnette, Marie A, Caudill, Anita M, Boddie. Plasma homocysteine concentrations in pregnant and nonpregnant women with controlled folate intake. Obstet Gynecol, 1998, s. 92: 167– 170.
90. Robertson L, Wu O, Langhorne P, Twaddle S, Clark P, Lowe GD, Walker ID, Greaves M, Brenkel I, Regan L, Greer IA. Thrombosis: Risk and Economic Assessment of Thrombophilia Screening (TREATS) Study. Thrombophilia in pregnancy: a systematic review. Br J Haematol, 2006, s.132(2):171-96.
91. Rodgers GM. Evaluation of Coagulation in the Neurosurgery Patient. Neurosurg Clin N Am. 2018, s. 29(4):485-492.
92. Rosendaal FR. Venous thrombosis: a multi-causal disease. Lancet, 1999, s.353:1167.
93. Sajjadi SM, Khosravi A, Pakravesh J, Soheili ZS, Samiei S, Mohammadi S, Jalali MA. Factor XIII Val34Leu polymorphism and risk of recurrent pregnancy loss in Iranian population: a case control study. Front. Biol. , 2016, 11(6): 471–475.
94. Sato Y, Sugi T, Sakai R. Antigenic binding sites of anti-protein S autoantibodies in patients with recurrent pregnancy loss. Res Pract Thromb Haemost. , 2018, s. 2(2):357-365.
95. Schenone M, Furie BC, Furie B. The blood coagulation cascade. Curr Opin Hematol, 2007, s.11:272-277
96. Sell SM, Lugenwa PR. Development of a highly accurate, rapid PCR-RFLP genotyping assay for the methylenetetrahydrofolate reductase gene. Genet Test, 1999, s.21(3):287-9.
97. Shakarami F, Akbari MT, Zare Karizi S. Association of plasminogen activator inhibitor-1 and angiotensin converting enzyme polymorphisms with recurrent pregnancy loss in Iranian women. Iran J Reprod Med., 2015, 13(10):627-32.
98. Sharma A, Bhakuni T, Ranjan R, Kumar R, Kishor K, Kamal VK, Mahapatra M, Jairajpuri MA, Saxena R. Polymorphisms in factor V and antithrombin III gene in recurrent pregnancy loss: a case-control study in Indian population. J Thromb Thrombolysis, 2015, s. 39(4):481-8.
99. Shi DY, Wang SJ. Advances of Coagulation Factor XIII. Chinese Medical Journal, 2017, s. 130(2):219-223.

100. Suarez, L, Hendricks, K. A, Cooper, S. P, Sweeney, A. M, Hardy, R. J, Larsen, R. D. Neural Tube Defects Among Mexican Americans Living on the US-Mexico Border: Effects of Folic Acid and Dietary Folate. *Am J Epidemiol*, **2000**, s. 152, 1017-1023.
101. Subrt I, Ulcova-Gallova Z, Cernal M, Hejnalova M, Slovanova J, Bibkova K, Micanova Z. Recurrent Pregnancy Loss, Plasminogen Activator Inhibitor-1 (-675) 4G/5G Polymorphism and Antiphospholipid Antibodies in Czech Women. *American Journal of Reproductive Immunology*, **2013**, s. 70 (1): 54-8.
102. Sugiura-Ogasawara M, Ozaki Y, Katano K, Suzumori N, Mizutani E. Uterine anomaly and recurrent pregnancy loss. *Semin Reprod Med*. **2011**, s. 29(6):514-21.
103. Syria Regional Refugee Response-Situations-UNHCR. Erişim: <https://data2.unhcr.org/en/situations/syria>. Erişim tarihi: **2019**
104. Szpecht D, Gadzinowski J, Seremak-Mrozikiewicz A, Kurzawińska G, Drews K, Szymankiewicz M. The role of FV 1691G>A, FII 20210G>A mutations and MTHFR 677C>T; 1298A>C and 103G>T FXIII gene polymorphisms in pathogenesis of intraventricular hemorrhage in infants born before 32 weeks of gestation. *Childs Nerv Syst*, **2017**, s. 33:1201–1208.
105. Şen S, Hızlı D, Taşçı Y, Dilbaz S. Erken Gebelik Kayıplarında Trombofilik Faktörlerin Önemi. *Fırat Tıp Derg/Fırat Med J*, **2013**, s. 18(2): 88-93.
106. Tamim H, Finan RR, Almawi WY. Prevalence of two thrombophilia predisposing mutations: factor V G1691A (R506Q; Leiden) and prothrombin G20210A, among healthy Lebanese. *Thromb Haemost.*, **2002**, 88(4):691-2.
107. TAŞHAN F. Tekrarlayan Erken Gebelik Kayıplarında Maternal Trombofililer. *Uzmanlık Tezi, Şişli Etfal Eğitim Ve Araştırma Hastanesi III. Kadın Hastalıkları Ve Doğum Kliniği, İstanbul*, **2007**.
108. Turan G. Koagülasyon Mekanizmaları ve Antikoagülan İlaçlar. *Boğaziçi Tıp Dergisi*, **2016**, s. 3(2): 71-75.
109. Tutar E, Tokuç G, Öktem S. Hemostaz. *Kartal Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıp Dergisi (Electronic Journal)*, **2000**, s.11(3): 946-949.
110. Turki RF, Assidi M, Banni HA, Zahed HA, Karim S, Schulten HJ, Abu-Elmagd M, Rouzi AA, Bajouh O, Jamal HS, Al-Qahtani MH, Abuzenadah AM. Associations of recurrent miscarriages with chromosomal abnormalities, thrombophilia allelic polymorphisms and/or consanguinity in Saudi Arabia. *BMC Med Genet*. **2016**, s. 17(Suppl 1):69.
111. Uğuz N, Erden G, Güngör O, Bal C, Yıldırım Kaya M. Determination of the frequency of MTHFR C677T and MTHFR A1298C polymorphisms in persons with polymorphic MTHFR gene. **2012**, s. 3 (4): 472-476.
112. Vetriselvi V, Vijayalakshmi K, Paul SF, Venkatachalam P. ACE and MTHFR gene polymorphisms in unexplained recurrent pregnancy loss. *J Obstet Gynaecol Res.*, **2008**, s. 34(3): 301-306.
113. Verdoia M, Casseti E, Schaffer A, Barbieri L, Giovine GD, Nardin M, Marino P, Sinigaglia F, Luca GD; Novara Atherosclerosis Study Group (NAS). Relationship between glycoprotein IIIa platelet receptor gene polymorphism and coronary artery disease. *Angiology*, **2015**, s. 66(1):79-85.
114. Walker ID. Thrombophilia in pregnancy. *J Clin Pathol*, **2000**, s. 53:573–580.
115. Walker MC, Smith GN, Perkins SL, Keeley EJ, Garner PR. Changes in homocysteine levels during normal pregnancy. *Am J Obstet Gynecol*. **1999**, s. 24: 733–6.
117. Wen-Xing L, Shao-Xing D, Jun- Juan Z, Jia-Qian L, Jing-Fei H. Homocysteine Metabolism Gene Polymorphisms (MTHFR C677T, MTHFR A1298C, MTR A2756G and MTRR A66G) Jointly Elevate the Risk of Folate Deficiency. *Nutrients*, **2015**, s. 6670-6687.
118. Winter WE, Flax SD, Harris NS. Coagulation Testing in the Core Laboratory. *Lab Med.*, **2017**, s. 48(4):295-313.
119. Yenice MG, Tuğcu V. Tekrarlayan Gebelik Kayıplarında Erkek Kaynaklı Nedenler Ve Tedavi Yöntemleri. *Androloji Bülteni* **2016**, s. 18(65): 111–114.
120. Yenicesu GI, Cetin M, Ozdemir O, Cetin A, Ozen F, Yenicesu C, Yildiz C, Kocak N. A prospective case-control study analyzes 12 thrombophilic gene mutations in Turkish couples with recurrent pregnancy loss. *Am J Reprod Immunol.*, **2010**, s. 63(2):126-36.
121. Yeral Mİ, Coşkun B, Coşkun B, Karşlı F, Cımsır C. Tekrarlayan Gebelik Kaybında Hematolojik Parametrelerin Önemi. *Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, **2019**, s. 21(1):85-89.

EKLER

EK-1

Evrak Tarih ve Sayısı: 30/05/2018-E.31773



T.C.
HATAY MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Uygulama ve Araştırma Hastanesi Başhekimliği

Sayı :14096738-108.99-
Konu :Çalışma (Prof.Dr.Abdullah
ARPACI)

SAYIN PROF.DR. ABDULLAH ARPACI
ANABİLİM DALI BAŞKANI

İlgi : Prof.Dr.Abdullah ARPACI 29/05/2018 tarihli, bila sayılı ve Etik Kurul Başvuru
Dilekçesi konulu yazı.

İlgi sayılı dilekçenizde belirtmiş olduğunuz sarf malzemelerin tarafınızca karşılanması
durumunda "MKÜ Sağlık Uygulama ve Araştırma Hastanesine Tekrarlayan Düşük
Şikayetiyle Başvuran Suriyeli Kadınlarda Retrospektif Kaagulasyon ve Trombofil Paneli
Değerlendirmesi" isimli çalışmanın yapılması uygun görülmüştür.

Gereğini bilgilerinize rica ederim.

Prof.Dr. Buket Çağla ÖZBAKIŞ AKKURT
Başhekim Yardımcısı

EK :
İlgi Dilekçe (1 Sayfa)

Elektronik İmzalar

Buket Çağla ÖZBAKIŞ AKKURT (Başhekim Yardımcılığı) - Başhekim Yardımcısı - 30/05/2018 09:44

Sağlık Uygulama ve Araştırma Hastanesi Başhekimliği - Tayfur Sökmen Kampüsü T: 03262291000 F: 03262455654
E-Posta : hastane@mku.edu.tr Web: http://www.mku.edu.tr/main.php?page=contact&inocation=hastane
İletişim: Selma Yenilad (Dahili: 3262291000)



ÖZGEÇMİŞ

Sevil IŞIK, Adıyamanda doğdu. İlköğrenimine Gaziantep’te başlayarak, ilk, orta, lise öğrenimlerini farklı illerde tamamladı. Mustafa Kemal Üniversitesi Fen- Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü’den 2013 yılında mezun oldu. Aynı yıl Mustafa Kemal Üniversitesi Sağlık Uygulama ve Araştırma Hastanesi Merkez Laboratuvar’ında çalışmaya başladı.

Halen Mustafa Kemal Üniversitesi Sağlık Uygulama ve Araştırma Hastanesi Merkez Laboratuvar’ında Biyolog olarak görev yapmaktadır.

