



**T.C.**

**CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
TIBBİ BİYOLOJİ BÖLÜMÜ**

**EKLEMSİLİ VE HELLP SENDROMLU HASTALARDA  
FGFR4 GENİNDE Gly388Arg POLİMORFİZMİNİN  
ARAŞTIRILMASI**

**DANIŞMAN  
PROF. DR. ERGUN PINARBAŞI**

**HAZIRLAYAN  
UĞUR KARTAL**

**SİVAS  
2012**

Bu çalışma Cumhuriyet Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanmış ve jürimiz tarafından Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı'nda yüksek lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan Prof. Dr. Ergün PINARBAŞI

Üye Prof. Dr. Celal KALOĞLU

Üye Yrd.Doç.Dr.İzzetYELKOVAN

Üye (Danışman) Prof. Dr. Ergün PINARBAŞI

ONAY

Bu tez çalışması, 20/06/2012 tarihinde Enstitü Yönetim Kurulu tarafından belirlenen ve yukarıda imzaları bulunan jüri üyeleri tarafından kabul edilmiştir.

---

Doç. Dr. Ali Altuğ BIÇAKCI  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
MÜDÜRÜ

Bu tez Cumhuriyet Üniversitesi Senatosu'nun 24.09.2008 tarihli ve 007 sayılı toplantısında kabul edilen Sağlık Bilimleri Enstitüsü Lisansüstü Tez Yazım Kılavuzu adlı yönergeye göre hazırlanmıştır.

*Tüm bilim dünyasına ve aileme...*

## ÖZET

### EKLEMSİLİ VE HELLP SENDROMLU HASTALARDA FGFR4 GENİNDE Gly388Arg POLİMORFİZMİNİN ARAŞTIRILMASI

Çalışmamızda FGFR4 (Fibroblast büyüme faktör reseptör 4) geni Gly388Arg polimorfizminin eklampsi ve HELLP sendromu gelişiminde bir risk oluşturup oluşturmadığı amaçlanmıştır. Çalışmada eklampsi ve HELLP sendromu tanısı konulmuş 80 hasta kadın ile 163 sağlıklı kadın incelenmiştir.

FGFR4 geni Gly388Arg polimorfizminin genotiplendirilmesi, izole edilen DNA'lar kullanılarak PCR-RFLP (Polymerase Chain Reaction ve Restriction Fragment Length Polymorphism ) yöntemleriyle gerçekleştirilmiştir.

$X^2$  testi kullanarak yapılan istatistiksel analizde Gly388Arg polimorfizmi dağılımı eklampsi ve kontrol grubu arasında karşılaştırıldığında anlamlı bir fark bulunmuştur ( $x^2$ : 16.634,  $p<0.05$ ). HELLP sendromu ile kontrol grubu Gly388Arg polimorfizmi yönünden karşılaştırıldığında istatistiksel olarak da anlamlı bir fark bulunmuştur ( $x^2$ : 11.966,  $p<0.05$  ). İstatistiksel değerlendirme sonucunda, hastalığa yatkınlık riskinin 82 Arg/Arg alleleline sahip bireylerde kontrol grubuna göre (109Gly/Gly ve 109 Gly/Arg) hastalığın meydana gelme riski, eklampsi hastalarında 5.76 kat ( $x^2$ : 16.634,  $p<0.05$ ) HELLP sendromlu hastalarda ise 3.52 kat ( $x^2$ : 11.966,  $p:0.05$ ) daha fazla olduğu tespit edildi.

Sonuç olarak çalışmamızda eklampsi ve HELLP sendromu ile FGFR4 geni Gly388Arg polimorfizmi arasında anlamlı bir ilişki bulunmuştur. FGFR4 geni Gly388Arg polimorfizmi ile eklampsi ve HELLP sendromunun tanısı ve tedavisinde belirteç olarak kullanılabileceği düşünülebilir.

Anahtar Kelimeler: Eklampsi, HELLP sendromu, FGFR4 geni, Polimorfizm

## **ABSTRACT**

### **STUDY OF Gly388Arg POLYMORPHISM IN FGFR4 GENE IN PATIENTS WITH ECLAMPSIA AND HELLP SYNDROME**

In our study, we evaluated the risk of Gly388Arg polymorphism in FGFR4 (Fibroblast Growth Factor receptor 4) gene for the pathogenesis of eclampsia and HELLP syndrome. We included 80 women with eclampsia and HELLP syndrome and 163 healthy women.

Genotyping of Gly388Arg polymorphism in FGFR4 gene are done using isolated DNAs with PCR-RFLP (Polymerase Chain Reaction and Restriction Fragment Length Polymorphism) methods.

In statistical analysis using  $\chi^2$  test distribution of Gly388Arg polymorphism in eclampsia group statistically significant difference. When compared with control group ( $\chi^2$ : 16.634,  $p < 0.05$ ). Statistically significant difference was also showed between HELLP syndrome and control group ( $\chi^2$ : 11.966,  $p < 0.05$ ). As result of statistical analysis, susceptibility to disease risk estimate in patients with 82Arg/Arg allele was 5.76 times higher in eclampsia patient with 109Gly/Gly and 109Gly/Arg alleles and statistical analysis, susceptibility to disease risk estimate in patients with 82Arg/Arg allele was 11.966 times higher in HELLP syndrome patient with 109Gly/Gly and 109Gly/Arg alleles.

In conclusion, significant association between Gly388Arg polymorphism in FGFR4 gene and eclampsia and HELLP syndrome was identified in our study. FGFR4 gene Gly388Arg polymorphism may be suggest as a marker in diagnosis and treatment of eclampsia and HELLP syndrome.

Key words: Eclampsia, HELLP syndrome, FGFR4 gene, polymorphism

## TEŞEKKÜR

Bilimsel düşünme yetisi kazanmamda ve düşündüklerimi daha anlamlı kılmamda bana yardımcı olan, bilgi birikimini hiçbir zaman benden esirgemeyen ve doğru düşünmemi sağlayan değerli danışmanım Prof. Dr. Ergün Pınarbaşı'na gösterdiği sabır ve anlayıştan dolayı teşekkür ederim.

Bilime farklı bir pencereden bakmamı sağlayan, bilgi birikimime daha çok şey katabilmem için elinden gelen bütün yardım ve desteği esirgemeyen Tıbbi Biyoloji A.D öğretim üyesi değerli hocam Yrd. Doç. Dr. İzzet Yelkovan'a teşekkür ederim.

Deney aşamalarında bütün bilgi birikimini ve yardımını benden esirgemeyen Tıbbi Biyoloji A.D Araştırma Görevlisi Gonca Dönmez'e teşekkür ederim.

Dünyada evlatları olduğum için mutlu olduğum canımdan çok sevdiğim Annem ve kıymetli Babama, bana eğitim hayatımda maddi ve manevi yardımlarını ve desteklerini hiçbir zaman esirgemedikleri için çok teşekkür ederim.

## İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	I
ABSTRACT.....	II
TEŞEKKÜR.....	III
İÇİNDEKİLER .....	IV
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	VI
TABLolar VE RESİM DİZİNİ.....	VII
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER .....	2
2.1. Pre-eklampsi, Eklampsi ve HELLP Sendromu.....	2
2.2. Pre-eklampsi, Eklampsi ve HELLP Sendromu'nun Tarihsel Geçmişi .....	3
2.3. Pre-eklampsi, Eklampsi ve HELLP Sendromu İnsidansı ve Risk Faktörleri .....	3
2.4. Pre-eklampsi, Eklampsi ve HELLP Sendromunun Etiyolojisi .....	4
2.5. Pre-eklampsi, Eklampsi ve HELLP Sendromu İle İlgili Genetik Çalışmalar.....	6
2.6. Hücre Yüzey Reseptörleri .....	13
2.6.1. Reseptör Protein-Tirozin Kinazlar .....	13
2.6.2. Fibroblast Büyüme Faktörü Reseptörü 4 (FGFR4).....	14
2.6.3. Fibroblast Büyüme Faktörü Reseptör 4 İle İlgili Yapılmış Çalışmalar .....	15
2.7. Polimorfizmin Tanımı ve Genetik Polimorfizmin Saptanmasında Kullanılan Yöntemler.....	17
2.7.1. SNP (Single Nucleotide Polymorphism) .....	17
2.7.2. PCR (Polymerase Chain Reaction).....	18
2.7.3. RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism).....	19



2.7.4. Agaroz Jel Elektroforezi .....	21
3.1. Kullanılan Cihazlar.....	22
3.4. Örneklerin Alınması .....	25
3.5. DNA İzolasyonu.....	25
3.6. FGFR4 Geni Genotipinin Belirlenmesi.....	26
3.7. Jel Elektroforezi .....	28
3.7.1. Jelin Hazırlanması.....	28
3.7.2. Jelde DNA'nın koşturulması.....	28
3.8. İstatiksel Analiz.....	29
3.9. Solüsyonların Hazırlanması .....	29
3.9.1. Genomik DNA Eldesinde Kullanılan Solüsyonların Hazırlanması.....	29
3.9.2. Yükleme Tamponunun (Loading Dye) Hazırlanması.....	29
3.9.3. PCR Çalışma Solüsyonlarının Hazırlanması .....	30
4. BULGULAR.....	30
4.1. Çalışma Grubunda Yer Alan Bireylerin Demografik ve Klinik Özellikleri .....	30
4.2. FGFR4 geni Gly388Arg Polimorfizminin Genotip Dağılımları .....	32
8. KAYNAKLAR .....	40
EK-1 .....	49
EK-2 .....	50

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.6. 1. Fibroblast Büyüme Faktörü Reseptör 4'ün yapısı .....	15
Şekil 4.2. 1. Hasta gruplarının DNA'larından PCR yöntemi ile amplifiye edilen FGFR4 geni Gly388Arg bölgesinin RFLP yöntemi ile yapılan genotiplenmesi.....	34

## TABLolar VE RESİM DİZİNİ

Tablo 3. 1. PCR amplifikasyonu için kullanılan primer dizileri.....	26
Tablo 3. 2. PCR koşulları.....	27
Tablo 3. 3. PCR Programı.....	27
Tablo 3. 4. RFLP koşulları.....	28
Tablo 4.1.1. Hasta ve Kontrol Grubunda Yer Alan Bireylerin Demografik ve Klinik Özellikleri (* $\pm$ SD: Standart Sapma)30	
Tablo 4.2.1. FGFR4 Geninin 388 Bölgesinde Polimorfik Allel Dağılımı.....	33
Tablo 4.2.2. Hastalığın çıkmasında eklampsi ve HELLP sendromunun kontrol grubuna göre taşıdığı risk oranı .....	34

## **KISALTMALAR**

FGFR: Fibroblast büyüme faktörü reseptörü

FGFR4: Fibroblast Büyüme faktör reseptör 4

Glisin: Gly

Arjinin: Arg

HELLP: Hemoliz, Elevated Liver Enzymes, Low Platelet count

ödem: su tutulumu

Primigravidite: ilk gebelik

PREG-1 : Pre-eklampsi geni-1

M: Methionin

T: Treonin

ACE : Anjiotensin-Converting Enzimini kodlayan gen

eNOS : Endotelial Nitrik oksid sentaz

MTHFR : Metilen Tetrahidrofolat Redüktaz

PAI-1 : Plazminojen aktivator inhibitör tip 1

GPIIIa : Plazminojen aktivator inhibitör tip III

IGF-II : İnsilün Büyüme Faktörü II

TNF : Tümör Nekroz Faktör

HDL : Yüksek dansiteli hipertrigiliserit

LDL: düşük dansiteli lipoprotein

EPHX: Epoksid hidrolaz enzimi

IGFBP-1 : İnsilün-benzeri Büyüme Faktör Bağlayıcı Proetin-1

TNM: tümör nod metastazı

PCR : Polimeraz Zincir Reaksiyonu

RFLP: Restriksiyon Fragment uzunluk Length Polimorfizmi

RE: Restriksiyon endonükleaz

## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Anne ve bebek ölüm nedenlerinin ilk sıralarında yer alan pre-eklampsi, eklampsi ve HELLP sendromu gebeliğin 20. haftasından sonra proteinüri ile birlikte hipertansiyonun ve yaygın ödemin gelişmesi olarak tanımlanan gebeliğe özgü sendromlardır (1).

*Poli ve morfizmos* kelimelerinden oluşan ve eski Yunanca'da "çok şekillilik" anlamı taşıyan polimorfizm, türlerin buldukları ortama adaptasyonlarını kolaylaştırarak, evrimsel süreçte ayakta kalabilmelerine olanak sağlar. Ayrıca tıp alanında yapılan polimorfizm çalışmalarından elde edilen bulgular, hastalıklara yatkınlığın belirlenmesinde ve tedavinin yönlendirilmesinde önem taşır.

Polimorfizm ve hastalıklar arasındaki ilişkisinin araştırıldığı çalışmalar arasında eklampsi ve HELLP sendromu da yer almaktadır.

Fibroblast büyüme faktörü reseptörü (FGFR) ailesi birçok biyolojik süreçte görev alan önemli bir reseptör ailesidir. Hücre döngüsünün düzenlenmesi ve hücrenin çoğalması gibi birçok hücreyel olaydan sorumlu olan bu ailenin üyelerinden FGFR4 (Fibroblast Büyüme faktör reseptör 4) bireyler arasındaki etnik farklılıklara, yaşam şekli ve çevresel faktörlere bağlı olarak, değişik polimorfik formlar oluşabilmekte ve bunların sıklıklarında da farklılıklar meydana gelmektedir. Genotipte meydana gelen değişiklikler fenotipe yansıyabilmekte ve reseptör aktivitesinde değişikliğe neden olabilmektedir. Bu değişikliklerden en yaygın olanı 388. kodondaki Glisin (Gly) yerine Arjinin (Arg) amino asitinin geçtiği polimorfizmdir. Bu polimorfizmin çeşitli hastalıkla ilişkili olabileceği düşünülmüş ve son zamanlarda bu alanda birçok araştırma yapılmıştır.

Bizde çalışmamızda, FGFR4 geni Gly388Arg polimorfizminin, yüksek oranda maternal mortalite ve morbiditeye neden olan, FGFR4 geni Gly388Arg polimorfizminin eklampsi ve HELLP sendromunun gelişmesinde bir risk faktörü olup olmadığını araştırmayı amaçladık.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Pre-eklampsi, Eklampsi ve HELLP Sendromu

Pre-eklampsi, eklampsi ve HELLP sendromu gebeliğin 20. haftasından sonra proteinüri ile birlikte hipertansiyon ve yaygın ödemin gelişmesi olarak tanımlanan gebeliğe özgü hastalıklardır (1).

Pre-eklampsi; gebeliğin 20. haftasından sonra görülen hipertansiyon (6 saat aralıklarla yapılan ölçümlerde, sistolik kan basıncının 140 mmHg'nın, diastolik kan basıncının 90 mmHg'nın üzerinde olması veya gebelik öncesi sistolik kan basıncının 30mmHg, diastolik kan basıncının 15 mmHg'nın üzerinde yükselme göstermesi), proteinüri (24 saatlik idrarda 300 mg'ın üzerinde protein bulunması veya en az altı saat arayla alınan iki rastlantısal idrar örneğinde idrar protein konsantrasyonunun en az 1g/L olması) ve ödem (su tutulumu) ile karakterizedir (2). Ağır pre-eklampside ise, 6 saat arayla iki ayrı ölçümde kan basıncı 160/110 mmHg' den yüksektir. Ayrıca 24 saatlik idrarda proteinüri 5 g'dan fazladır. Karaciğer enzimlerinde yükselme, trombosit miktarının düşmesi (trombositopeni), 24 saatlik idrarın 500 ml'den az olması (oligoüri), serebral veya görme ile ilgili rahatsızlıklar, akciğer ödemi veya siyanoz, epigastrik veya karının sağ üst bölgesinde ağrı ve fetal büyüme geriliği gözlenebilmektedir (2).

Eklampsi; şiddetli pre-eklampsi bulgularına şuur kaybı, tonik-klonik kasılmalar ve kanamanın eklenmesiyle ortaya çıkan klinik bir tablodur. Bu tablo gebelikte nörolojik bir hasar olmadan gelişen konvülsiyon ve/veya koma durumu olarak da ifade edilebilir. Baş ağrısı, görme bozukluğu, sağ üst karın bölgesinde meydana gelen ağrı eklampsiye özgü belirtilerdir(2).

**HELLP (Hemolysis Elevated Liver Enzymes Low Platelets Count)** ise Hemoliz (periferik kan yaymasında anormal eritrositler görülmesi, total bilirubin düzeyinin 1.2mg/dl, laktat dehidrogenaz düzeyinin 600 IU/L olması, ilerleyici anemi bulgularının olması), Yüksek karaciğer enzimleri (AST = serum aspartat aminotransferaz ve ALT = serum alanin aminotransferaz 40 IU/L olması) ve düşük trombosit sayısı (Trombositopeni, trombosit miktarının 150.000/mm<sup>3</sup> olması) ile karakterizedir.

## **2.2. Pre-eklampsi, Eklampsi ve HELLP Sendromu'nun Tarihsel Geçmişi**

18. ve 19. yüzyılın sonlarına kadar kan basıncı ölçüm tekniğinin geliştirilememesi ve proteinürinin saptanamaması, hastalığın nöbet ve koma durumu oluşuncaya kadar tespit edilememesine ve buna bağlı olarak, eklampsi sendromunun pre-eklampside daha eski bir tarihte tanınmasına neden olmuştur. Eklampsi Hipokrat zamanından beri korkulan bir komplikasyon olmuştur. Hipokrat, gebe kadınlarda uyuşukluk, koma ve nöbet şeklinde ciddi bulgular bildirmiştir. Varandaeus 1619 yılında, gebe kadınların nöbet öncesi parlayan ışıklardan sık sık söz etmesinden dolayı ilk kez orijinali yunanca bir terim olan "eklampsi" adını kullanmıştır (3).

Pre-eklampsi ile ilgili bilgiler 1843 yılında Lewer tarafından netlik kazanmıştır. Lewer pre-eklampsinin, albuminuri, hipertansiyon ve bazen aşırı ödemin görüldüğü ve nöbetlerin meydana gelmesinden önceki önemli zamanı anlatan sendrom olarak tanımlamıştır (4).

Damar içi kanama, karaciğer fonksiyon bozukluğu, pıhtılaşma bozuklukları ve trombositopeni bulgularının görüldüğü HELLP sendromu uzun yıllar ağır preeklampsi olarak değerlendirilmiş ancak sonradan bu bulguların ağır preeklampsi ve eklampside bağımsız olduğu anlaşılacak hastalık HELLP sendromu olarak adlandırılmıştır. (Hemoliz, Elevated Liver Enzymes, Low Platelet count)" olarak adlandırılmıştır (5).

## **2.3. Pre-eklampsi, Eklampsi ve HELLP Sendromu İnsidansı ve Risk Faktörleri**

Pre-eklampsi insidansının, coğrafik ve ırksal farklılıklara göre değişiklik gösterdiğine dair ifadeler vardır. Buna rağmen tüm gebelikler içinde % 0.2-0.8 oranında izlenmektedir. Sendromun ilk gebelikte görülme oranı ise %85'tir. İleri yaşlarda daha çok gebeliğin tetiklediği hipertansiyon şeklinde kendini göstermektedir (6).

Eklampsi insidansı ise doğum öncesi dönemde %60 oranındadır. Ayrıca tüm doğumların % 0.2-0.5'inde görülmektedir. HELLP sendromunun görülme sıklığı ise % 0.3-0.8 oranındadır. Pre-eklampsi ile birlikte veya proteinüri ve hipertansiyon bulguları olmadan da %20 oranında izlenmektedir. Bu üç klinik tablonun ortaya

çıkmasında birçok faktör rol oynadığı için pre-eklampsi, eklampsi ve HELLP sendromu, multifaktöriyel hastalıklar olarak değerlendirilmektedir (7).

Pre-eklampsi oluşumunda, obstetrik ve non-obstetrik risk faktörleri önem taşımaktadır.

Primigravidite (ilk gebelik), yeni eş, önceki gebeliklerde pre-eklampsi öyküsü olması, pre-eklampsi, eklampsi veya HELLP sendromu aile öyküsü, çoğul gebelik, mol hidatiform, fetal hidrops, trizomi- 13 obstetrik risk faktörleri arasındadır.

Obezite, böbrek ve damar hastalıkları, esansiyel hipertansiyon, diabetes mellitus, otoimmün hastalıklar (sistemik lupus eritematozus ve antifosfolipid sendromu), trombofilik durumlar, 35 veya üzeri ya da 15 yaşından daha küçük yaşlar, siyahi ırk ise obstetrik olmayan risk faktörleri arasındadır.

#### **2.4. Pre-eklampsi, Eklampsi ve HELLP Sendromunun Etiyolojisi**

Pre-eklampsinin etiyolojisini açıklamaya yönelik çalışmalar büyük bir karmaşa yaratmıştır. Bu karmaşayı anlatmak amacıyla da yıllarca pre-eklampsi "teorilerin hastalığı" olarak adlandırılmıştır. 1900'lerin başında yer alan bu tanım, hala geçerliliğini korumaktadır. Bu konuda ileri sürülen bazı teoriler şunlardır; anormal trofoblast invazyonu, damar endotel hasarı, pıhtılaşma anormalliği, kalp-damar maladaptasyonu, immünolojik fenomen, diyetle bulunan bazı elemanların eksikliği veya fazlalığı, oksidatif stres ve genetik yatkınlıktır. İleri sürülen bu mekanizmalardan bir veya birkaçının bir arada olması pre-eklampsi eklampsi ve HELLP sendromunun fizyopatolojik semptomlarının oluşmasını sağlamaktadır (8,9).

Birkaç yıl önce, pre-eklampsi eklampsi ve HELLP sendromunun fizyopatolojisini çok yönlü açıklayabilecek bir hipotez geliştirilmiş, yapılan diğer çalışmalarla da bu hipotez desteklenmiştir. Buna göre bu hastalıklar; plasentanın anormal trofoblast invazyonu sonucunda plasental perfüzyonun zayıflamasıyla meydana gelmektedir (10).

Normal insan gebeliğinde trofoblast, uterusun içine kadar (birinci trimesterde desidual segmente kadar, ikinci trimesterde myometrial segmente kadar) baştan başa invaze olarak yayılmaktadır. Maternal spiral arterler fetüse besin ve oksijen sağlamak için yüksek dirençli damar kapasitesinden düşük dirençli damar kapasitesine değişmektedir. Bu hastalıklarda yüksek dirençli uterus spiral arterlerinde, yüzeysel



veya yetersiz trofoblast invazyonu meydana gelmektedir. Bu da plasental yatağın perfüzyonunun yetersiz olmasına, fetüse sağlanan oksijen ve besin miktarının azalmasına neden olmaktadır. Birinci ve ikinci trimesterde gözlenen plasantanın iskemisine bağlı olarak oksidan-antioksidan madde dengesizliği oluşmakta ve sonuçta bazı toksik maddelerin (serbest oksijen radikalleri, lipid peroksidleri vb.) ortaya çıktığı varsayılmaktadır. Bu maddeler dolaşıma katılarak endotel hücre hasarına ve aktivite değişikliğine neden olmaktadır. Kan damarlarının basınç yapıcı ajanlara ve damar geçirgenliğine karşı hassasiyeti artmakta, büyük organlara giden kan akımı azalmakta ve birçok sistemi ilgilendiren bozukluklar ortaya çıkmaktadır. Ayrıca endotel hücre hasarının pıhtılaşma bozukluklarına da neden olduğu ifade edilmektedir (11). Meydana gelen bu fizyopatolojik değişikliklerde çevresel etmenlerinde katkısının olabileceğine dair Chesley ve Davies gibi araştırmacılar tarafından dikkat çekici açıklamalar yapılmıştır (12, 13).

Bazı araştırmalar ise, pre-eklampsi, eklampsi ve HELLP sendromunun patolojisinde immünolojik teoriler üzerine dikkati çekmektedir. Yapay dölllenme yaptıran ya da oosit bağıışı alan, kollejen-damar hastalığı olan kadınlarda ve ilk gebelikte hastalığın daha sık görülmesi bu yöndeki teorileri desteklemektedir (14,15).

Bir yüzyıldan daha fazla süreden beri pre-eklampsi ve eklampsiye yönelik yapılan tüm araştırmalarda üzerinde durulan diğer bir nokta da, hastalığa yatkınlıkta genetiğin rolüdür(16).

Yapılan aile çalışmaları pre-eklampside genetik faktörlerin rol oynadığını göstermektedir. Bu konudaki araştırmalarıyla dikkat çeken isimlerden biri Elliot Lara'dır. Lara, beşinci gebeliğinde eklampsiden ölen bir kadının, sahip olduğu dört kızından üçünün de yine eklampsiden öldüğünü bildirmiş ve ilk kez eklampsinin ailesel insidansını rapor etmiştir. Daha sonraları araştırma tekniklerinin geliştirilmesiyle, 1960 yılında anne-kız çiftlerini çalışan Humphries tarafından pre-eklampsi ile ilgili ilk sistematik çalışma yapılabilmektedir (17).

Bundan sonra yapılan sistematik çalışmalarla pre-eklampsinin kalıtım modelleri tayin edilmeye çalışılmış, alternatif gen modelleri olarak, mitokondrial kalıtım ve genetik imprinting düşünülmüştür (18).

## 2.5. Pre-eklampsi, Eklampsi ve HELLP Sendromu İle İlgili Genetik Çalışmalar

Yapılan aday gen çalışmaları, pre-eklampsiye yatkınlık genlerinin farklı olduğunu göstermiştir. Bu çalışmaların birçoğu hasta ve kontrol grubu çerçevesi içerisinde yapılmış, ayrıca anneye ait yatkınlık genlerinin mutasyon ve polimorfizm yönünden araştırılması esasına dayandırılmıştır. Bunun sonucunda, çalışmalardan bazıları anlamlı bulunurken, bazılarında anlamlı bir sonuç elde edilememiştir. Geniş çapta birbirinden farklı ilk genom taraması 1992 yılında Hayward, tarafından İskoçya'da yapılmıştır. Hayward bu çalışmanın sonucunda pre-eklampsinin gelişmesinde aday genlerin 1, 3, 9 ve 18 nolu kromozomlar üzerine lokalize olduğunu gösteren bir harita çizmiştir (19).

İkinci genom taraması, Avustralya popülasyonunda Harrison tarafından yapılmıştır. Harrison, 4q kromozomu üzerinde pre-eklampsi için aday bir bölgenin varlığını ileri sürmüştür. Arngrimsson İzlanda popülasyonunda, 2p12 üzerinde yer alan D2S286 ve 2q23 üzerinde yer alan D2S321 lokuslarının hastalıkla ilişkili olabileceğini ileri sürülmüştür(15). Yine 2000 yılında Moses benzer kriterleri kullanılarak, Avustralya ve Yeni Zellanda popülasyonlarında 34 ailede 121 risk grubu kadın üzerinde yaptığı taramada, 2 nolu kromozom üzerinde bir Pre-eklampsi lokusunun bulunduğunu net olarak göstermiştir. Bu gen PREG-1 (Pre-eklampsi geni-1) olarak adlandırılmıştır (20).

Daha sonra Lachmeijer 2001 yılında Hollanda popülasyonunda yaptığı bir çalışmada, 2p kromozomu üzerinde pre-eklampsi ile ilgili bir bölge saptayamazken, 12q kromozomu üzerinde HELLP sendromu ile bağlantılı bir lokusun olabileceğini belirtmiştir (16). Finlandiya ve Çin popülasyonları üzerine yapılan genom tarama çalışmalarında 2p25 kromozomu (D2S168 markırına yakın bir lokus) ve 9p13 kromozomu üzerinde (D9S169 markırına yakın bir lokus) bulunan lokusların pre-eklampsiye yatkınlık genlerini bulduran lokuslar olabileceği ileri sürülmüştür. Bu çalışmaların toplamında 1, 2p, 3p, 4q, 9, 19q, 11q, 12q, 15q, 18 ve 22q kromozomları üzerinde hastalığa yatkınlık oluşturabilecek birçok aday gen ve lokus bulunmuştur (21).

Pre-eklampsi, eklampsi ve HELLP sendromunun fizyopatolojisine uyumlu olan bu aday genler, gebeliğin hemodinamik değişliklerinde, trombofilide, immünojenetikte ve oksidatif strese yer alan aday genler olarak gruplandırılmaktadır (22).

Pre-eklampsi ile anjiotensinojen gen birlikteliğini ve maternal M235T (M: Methionin, T: Treonin) anjiotensinojen geninde meydana gelen moleküler bir değişiklik ilk olarak 1993 yılında tanımlamıştır. Beyaz ırk ve Japon populasyonlarında yapılan çalışmalarda, ayrıca İzlanda/İskoçya'da kardeş çiftleri ile yapılan bağlantı çalışmalarında pre-eklampsi ile M235T mutasyonu arasında anlamlı bir birliktelik olduğu rapor edilmiştir (4, 5, 23).

Ayrıca Kore populasyonunda, anjiotensinojen geninin promotor bölgesinde G(-6)A (G: Guanin, A: Adenin) mutasyonu sonucunda ortaya çıkan AA genotipinin gebelik sonucu ortaya çıkan hipertansiyon ile bağlantısı gösterilmiştir. Kore populasyonunda yapılan diğer bir çalışmada da, ACE (Anjiotensin-Converting Enzimini kodlayan gen) geninde meydana gelen moleküler bir değişikliğin pre-eklampsi ile bağlantılı olduğu gösterilirken, bu populasyonda anjiotensinojen geni ile pre-eklampsi arasında anlamlı bir birliktelik bulunamamıştır. Benzer çalışmalar, T235 allelinin HELLP sendromu için de bir risk faktörü olabileceğini göstermiştir (24).

Bu bulgulara karşıt olarak, Procopciuc ve arkadaşları, Avustralya ve Çin populasyonunda hasta-kontrol çalışmasında pre-eklampsi-eklampsi ile M235T polimorfizmi arasında anlamlı bir birliktelik olmadığını göstermişlerdir. Ayrıca Romanya populasyonunda hamile kadınlar ile yapılan bir çalışmada da, M235T polimorfizminin orta ve ağır pre-eklampsi için bir risk faktörü oluşturduğu tespit edilmiştir (25).

1997 yılında İskoç/İzlanda ortak çalışmasında Arngrimsson ve arkadaşları, eNOS (endotelial Nitrik oksid sentaz) geni ile pre-eklampsi arasında bir bağlantı olabileceğine dair kanıtlar bulmuşlardır. Bununla birlikte, Lewis, Amsterdam ve İngiltere' de benzer markırları kullanılarak yaptığı araştırmada Arngrimsson ve arkadaşlarının elde ettiği bulguları onaylamamaktadır. Çin ve Avustralya populasyonlarında eNOS geninin polimorfik allel dağılımı, hasta ve kontrol grupları arasında farklılık göstermezken, iki etnik grup arasında bulunan fark anlamlı

bulunmuştur. Aynı şekilde, Japon ve Beyaz-Fransız populasyonları arasında yapılan karşılaştırma çalışmasında da benzer sonuçlar bulunmuştur. Ayrıca Japon populasyonunda yapılan diğer bir çalışmada bu polimorfizm ile pre-eklampsi arasında anlamlı bir birliktelik tespit edilmiştir (26, 27, 28). Bu birliktelik Doğu Finlandiya populasyonunda net olarak gösterilememiştir (29).

Hispanik populasyonunda ise, anjiotensinojen gen polimorfizmi hastalık için risk olarak gösterilmezken, eNOS geninin sadece küçük gebelik yaşında yüksek kan basıncı ile ilgili olduğu tespit edilmiştir (30).

Yapılan bazı çalışmalarda, pre-eklamptik kadınların plazma homosistein miktarının yüksek olduğu görülmüştür. Hiperhomosisteineminin en yaygın nedeni, N<sup>5</sup>, N<sup>10</sup> Metilen Tetrahidrofolat Redüktaz'ın (MTHFR) termolabil bir formunun oluşmasıdır. Avrupa ve Japon populasyonlarında MTHFR geninin C677T polimorfizminin pre-eklampsili ve eklampsili hastalarda risk faktörü olabileceği buna karşın, İngiliz, Amerikan, Fin ve Güney Afrika populasyonlarında ise, risk faktörü olamayacağı rapor edilmiştir (31, 32, 33).

Son zamanlarda Avustralya populasyonunda yapılan bir çalışmada, C677T ve A1298C polimorfizmleri ile pre-eklampsi/eklampsi arasında anlamlı bir birliktelik bulunamamıştır (34).

Türkiye'de pre-eklampsili hastalarda yapılan bir çalışmada elde edilen hafif hiperhomosisteinemia bulgusunun, genetik orjinli, bağımsız bir faktörden daha çok damarsal bir hasar ve hipertansiyonun sonucunda meydana geldiği tespit edilmiştir (35).

Faktör V Leiden'in, gebelikte fizyolojik hiperkoagülasyonun yanı sıra plasentada trombüs artışına neden olduğu düşünüldüğünde, bu mutasyonun pre-eklampsi için kalıtsal bir risk faktörü olabileceği yargısına varılmaktadır. Beyaz ırk populasyonlarında yapılan bir çalışmada pre-eklampsi ile faktör V Leiden mutasyonu birlikteliği rapor edilmiştir (36, 37).

İncelenen beyaz ırk populasyonlarında (Alman, Hırvat ve Endonezyalı) pre-eklampsi risk artışı ile Leiden mutasyonu arasında bir birliktelik tespit edilmiştir. Bu birliktelik Alman ve Hırvat populasyonlarında anlamlı bulunurken Endonezya populasyonunda anlamlı bulunmamıştır (38).

Anglikan ve A.B.D. popülasyonunda faktör V Leiden ve MTHFR 677T mutasyonları birlikte incelenmiş, sonuç olarak kontrol ve hasta grubu arasında her iki gen polimorfizmi açısından fark olmadığı görülmüştür (39).

Obstetrik komplikasyonlar açısından beyaz kadınlar arasında trombofiliye neden olan diğer gen mutasyonları (MTHFR C677T, FVL, -455G/A beta-fibrinojen geni) ile protrombin G20210A mutasyonu birlikte incelendiğinde, pre-eklampsi ve kontrol grupları arasında allel sıklıklarının benzer olduğu bulunmuştur. Sonuç olarak, bu polimorfizmlerin gebelik komplikasyonlarının ortaya çıkmasında etkin olup olmadığı net olarak gösterilememiştir (40).

Pre-eklamptik kadınların plasenta ve plazmasında mRNA ekspresyonunda artışa bağlı olarak, PAI-1 (Plazminojen aktivator inhibitör tip 1) miktarında artış olduğu tespit edilmiştir. Japon popülasyonunda PAI-1 geninin 4G/4G genotipinin pre-eklampsi için bir risk faktörü olabileceği rapor edilmiştir (41).

İtalya'da hafif pre-eklampsisi olan kadınlar arasında PAI-1 geninin -6754G/5G ve -844G/A genotip polimorfizmleri ile yapılan bir çalışmada, -6774G/5G allel dağılımı anlamlı olarak farklı iken, -844G/A allel dağılımında anlamlı bir farka rastlanmamıştır. Ayrıca hipofibrinolitik genotiplerin (4G/4G ve A/A) MTHFR, protrombin ve FVL'nin bulunduğu trombofilik mutasyonlardan bağımsız olarak hafif pre-eklampsi ile birliktelik gösterdiği bildirilmiştir (42).

Doğu Finlandiya popülasyonundan alınan pre-eklampsi ve kontrol grupları arasında polimorfik allel dağılımı (4G/5G) açısından bir farka rastlanmamıştır. Elde edilen sonuçlar bu popülasyonda, PAI-1 polimorfizminin pre-eklampsinin patogenetiğinde önemli bir katkısının olup olmadığını net olarak gösterememiştir (43).

Kuzey Avrupalı kadınlar arasında yapılan bir çalışmada, kontrol grubuna göre pre-eklampsi hastalarında GPIIIa (Plazminojen aktivator inhibitör tip III) 98T allel sıklığının daha fazla olduğu bulunmuştur. Çalışma sonucunda bu polimorfizmin pre-eklampsi için daha önce tanımlanmamış bir risk faktörü olabileceği bildirilmektedir (44).

Diğer bir çalışmada Siyahi Güney Afrikalı pre - eklampsili kadınlarda PAI-1 geni 4G alleli ve platelet glikoprotein IIIa (PGIIIa)'nin PIA2 allel polimorfizmi incelenmiş ve sonuçlar anlamlı bulunmamıştır (45).

Güney Afrikalı Zulu kadınları arasında yapılan bir çalışmada, trombomodulin geni 455C (Sitozin) veya T (Timin) polimorfizmi ile pre-eklampsi/eklampsisi olan kadınlar arasında anlamlı bir birliktelik tespit edilememiştir (46).

Yine bu grup hastalarda endotel fonksiyon bozukluğu için önemli olan apolipoprotein-E polimorfizminin, hasta ve kontrol grupları arasında allel sıklıkları açısından herhangi bir farka rastlanmamıştır. Bu popülasyonda ilgili genin pre-eklampsi için risk oluşturmadığı görülmüştür (47).

HLA-G proteinlerinin farklı oranda ekspresyonunun pre-eklampsi ve eklampsinin patogeneğinde etkin olabileceği düşüncesiyle Fransa'da yapılan bir çalışmada, pre-eklampsinin patogeneğinde HLA-G'nin anahtar rol oynadığı saptanmıştır (48).

IGF-II (İnsilün Büyüme Faktörü II) pre-eklampsinin etiolojisinde önemli rolü olduğu ileri sürülmektedir. İrlanda'da yapılan bir çalışmada, HLA-G geninin 2, 3 ve 8. ekzonları ve IGF-II polimorfizm yönünden incelenmiştir. İnceleme sonucunda, her iki gen bölgesinin de pre-eklampsi ile ilişkisinin olmadığı ortaya konmuştur (49).

Edinburg (İskoçya, Birleşik Krallık) popülasyonunda yapılan bir çalışma da HLA-sınıf II içerisinde yer alan HLA-DR4 antijenlerinin pre-eklampşik annelerde ve bebeklerinde birbirinden bağımsız olarak artış gösterdiği rapor edilmiştir. Farklı çalışmalarda anne ve fetus arasındaki HLA-DR4 antijen paylaşımı ve iddia edilen ilişki ne onaylanmış ne de bu fikir çürütülebilmıştır. Bunun dışında Amerikan-İskoç popülasyonlarının birbirinden bağımsız olarak yapılan analizlerinde, belirli B44-DR7 alleli bulunduran haplotiplerin pre-eklampsi riskini artırdığı temel düşüncesi yer almıştır. Ayrıca, pre-eklampsi için güçlü bir risk faktörü olan antifosfolipit antikor sendromu ile HLA-DR53 antijenleri arasında bir birliktelik olduğu rapor edilmiştir (50).

TNF (Tümör Nekroz Faktör) reseptörlerinin plazma konsantrasyon artışı ile pre-eklampsi arasında bir birliktelik olabileceği düşüncesiyle yapılan çalışmalarda Chen ve arkadaşları TNF'in promotör bölgesinde -308 G (Guainin)→A (Adenin) değişimi sonucu meydana gelen TNF-T1 alleli ile pre-eklampsi arasında bir birliktelik olduğunu tespit ederken, diğer bilim adamları TNF-T1 veya T2 alleli için bu birlikteliği belirleyememişlerdir. Yine, pre-eklampsi, HELLP sendromu ve

gebeliğe bağılı gelişen hipertansiyon tanısı konmuş 150 Hollanda'lı ailenin bulunduğu bir çalışmada, TNF -LT bölgesinde tespit edilen 9 adet polimorfizm değerlendirilmiş fakat bu gen polimorfizmlerinin ailesel pre-eklampsi ile herhangi bir birliktelik göstermediği belirlenmiştir. Sonuç olarak, TNF' in promotor bölgesinde yer alan polimorfizmlerin pre-eklampsi gelişimi için majör bir etken olmadığı varsayımında bulunulmuştur (51).

Finlandiya populasyonunda yapılan bir başka çalışmada da TNF geninin -850 promotor bölgesinde C (Sitozin)→T (Timin) polimorfizminin, bireysel pre-eklampsi riskini etkileyebildiği ve pre-eklampsi gelişimine karşı koruyucu olabileceği tespit edilmiştir (52).

Yine Finli eklamptik kadınlar arasında TNF geninin -307 pozisyonunda G→A polimorfizmi incelenmiş, kontrol grubuna oranla hasta grubunda TNF2 allel sıklığının anlamlı olarak daha fazla olduğu bulunmuştur. Bu populasyonda TNF2 allelinin, eklampsi gelişimine katkıda bulunduğu tespit edilmiştir (53).

Araştırmacıların bazıları, öncü interlökin-1β geninde meydana gelen polimorfizmlerin pre-eklampsi gelişimi ile ilişkili olabileceği üzerinde durmuşlardır. Hispanik populasyonunda yapılan bir çalışmada, İnterlökin-1β geninin promotor bölgesinin -511'inci pozisyonunda Sitozinin Timine transisyonu sonucu meydana gelen değişimin pre-eklampsinin patogenezisinde etkin olmamakla birlikte, pre-eklampsinin şiddetinde etkin olabileceği bildirilmiştir (54).

Pre-eklampsi gelişiminde anneye ait metabolik sorunlarında katkısı olduğu bildirilmektedir. Pre-eklampside belirginleşen ve metabolik bir sorun olan dislipidemi, endotel hücrelerinde fonksiyon bozuklarına neden olmaktadır. Pre-eklampsi süresince HDL (yüksek dansiteli hipertrigiliserit) kolesterol konsantrasyonu azalmakta ve daha küçük fakat daha arterojenik bir değişken olan LDL oranının artması (düşük dansiteli lipoprotein) hipergliserideminin bir sonucu olarak ağır basmaktadır. Bu anormal lipitler pre-eklampside endotel bozukluğu teşvik edicileridirler.

Hubel ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada dört LPL gen polimorfizmi ile pre-eklampsi birlikteliği araştırılmıştır. Bu polimorfizmlerden ilki, ekzon-2'de D9N (D; Aspartik asit, N; nükleotid), ikinci, ekzon-6'da N291S (S; serin), üçüncüsü, LPL

geninin promotore en yakın bölgesinde -93. pozisyonda T→G ve dördüncüsü ise, ekzon 9'da S447X (S; serin, X; dur kodonu) şeklindedir.

Yapılan bir çalışmada N291S, D9N ve -93T→G polimorfizmlerini taşıyan bireylerin kalp-damar hastalığına ve dislipidemiye eğilimli olduğu bulunmuştur. LPL proteininde tespit edilen tüm mutasyonları taşıyan bireylerde anlamlı olarak pre-eklampsi riskinin arttığı gözlemlenmiştir (55).

Kim ve arkadaşlarının Kore populasyonunda yaptığı D9N, -93T→G mutasyonları ile çalışma grubunda bir birliktelik bulamazken sadece hastaların küçük bir alt grubunda (doğum yapmamış kadınlar arasında) HELLP sendromu için risk artışı ile N219S mutasyonu arasında bir birliktelik tespit edilmiştir (56).

Almanya'da HELLP sendromlu kadınlarda PAI-1 geni 4G/5G polimorfizmi incelenmiştir. HELLP sendromlu hastalar ile sağlıklı hamileler arasında PAI-1 geni 4G/5G polimorfizmi açısından önemli bir fark bulunamamıştır (57).

Türkiye'de pre-eklampsi, eklampsi ve HELLP sendromlu ile EPHX geninde exon3'de Tyr113His ile exon4'de His139Arg polimorfizmleri araştırılmış genetiksel açıdan farklılık bulunmamıştır. Exon3-4'deki genetiksel değişkenliğin pre-eklampsi için bir risk faktörü olabileceği açıklanmıştır (58).

Macaristan'da 132 hasta (51 pre-eklamptik ve 81 HELLP sendromlu) ile 184 sağlıklı hamile kadından oluşan araştırmada MBL geni 54. kodondaki polimorfizm incelenmiştir. Pre-eklamptik kadınlarda MBL-54A genotipi sağlıklı bireylere göre daha yüksek oranda bulunurken, HELLP sendromlu hastalarda ise MBL-54B genotipi sağlıklı bireylere oranla daha yüksek olduğu bulunmuştur (59).

Macaristan'da yapılan çalışmada 209 hasta (140 pre-eklamptik 69 HELLP sendromlu) ile 144 normotensif kontrolden oluşan araştırmada TNF $\alpha$  G308A polimorfizmi incelenmiştir. Pre-eklamptik kadınlar ile normotensif kadınlar arasında genotipik olarak bir fark bulunamamıştır. Pre-eklamptik ve HELLP sendromlu hastalarda 308AA genotipinin önemli olduğu ve hastalığın ilerlemesinde katkısının olduğu açıklanmıştır (60).

Amerika'da yapılan bir çalışmada tirozin kinaz-1 aktivitesi ile tiroid hormonlarının seviyeleri karşılaştırılmıştır. Hipotiroidizm ile pre-eklampsi arasında anlamlı bir ilişki bulunmuştur (61).



Kanada ve İran'ın ortak yapmış oldukları çalışmada PON-1 geninde L55M ve Q192R polimorfizmleri incelenmiştir. 192R alleleline sahip bireylerde preeklampsi risk faktörüdür. Preeklampsi ile L55M polimorfizmi arasında anlamlı bir ilişki bulunamamıştır (62).

İngiltere'de yapılan bir çalışmada 60 preeklampatik kadın ile 120 sağlıklı hamile kadında IGFBP-1 (İnsülin-benzeri Büyüme Faktör Bağlayıcı Protein-1) proteini ile preeklampsi arasındaki ilişki araştırılmıştır. Preeklampsi ile IGFBP-1 arasında anlamlı bir ilişki bulunamamıştır (63).

Romanya'da yapılan bir çalışmada 33 preeklampatik kadın ile 71 sağlıklı hamile kadında AGT-Met235Thr, AGT-Thr174Met, ACE-I/D, ACE-A2350G, AT2R1-A1166C, AT2R1-C3123A ve REN-A/G<sup>83</sup> genlerinde bu polimorfizmler incelenmiştir. Bu çalışmanın sonucunda AT2R1-CC1166 ve AT2R1-AA3123 polimorfizmleri önemli bulunurken, diğer polimorfizmler açısından önemli bir sonuç bulunamamıştır (64).

## **2.6. Hücre Yüzey Reseptörleri**

Hücre-hücre sinyal iletiminden sorumlu çoğu ligand (nörotransmitterler, peptid hormonlar ve büyüme faktörleri) hedef hücrelerinin yüzeyindeki reseptöre bağlanırlar. Hücre-hücre sinyal iletimini anlamada en önemli hedeflerden birisi, hücre yüzey reseptörlerine ligand bağlanması ile başlayan sinyal iletim mekanizmalarının aydınlatılmasıdır. Peptid hormon ve büyüme faktörlerinin reseptörlerini içeren diğer hücre yüzey reseptörleri, hücre içi proteinlerin aktivitelerini düzenleyerek etki gösterirler. Bu proteinler reseptörden aldıkları sinyalleri, transkripsiyon faktörlerini de içeren bir dizi ek hücre içi hedefe iletirler ve sonuçta çekirdeğe ulaşan sinyale uygun yanıt verilir (65).

### **2.6.1. Reseptör Protein-Tirozin Kinazlar**

G proteini-eşlikli çalışan reseptörlerin aksine, diğer hücre yüzey reseptörleri doğrudan hücre içi enzimlerle bağlantılıdır. Bu gibi enzim ile bağlantılı reseptörler arasında en geniş aile, substrat proteinlerini tirozin amino asidinden fosforilleyen reseptör protein-tirozin kinazlar'dır. Bu aile birçok polipeptid büyüme faktörünün reseptörlerini içermektedir (65).

İnsan genomu EGF, NGF, PDGF, FGF, insülin ve birçok diğer büyüme faktörlerinin reseptörlerini içeren 58 reseptör protein-tirozin kinazı kodlar. Bu reseptörlerin hepsi ortak bir yapısal organizasyonu paylaşır: bir N-ucu hücre dışı ligand-bağlanma bölgesi, bir tekli transmembran  $\alpha$  heliks, ve protein-tirozin kinaz aktivitesi olan sitozoldeki bir C-ucu bölgesi. Çoğu reseptör protein-tirozin kinaz tek bir zincir içerir. Bu reseptörlerin hücre dışındaki bölümleri ile ligandlarına bağlanmaları sitozoldeki kinaz bölgesini aktive eder. Bu aktivasyonla, hem reseptörün kendisinin hem de, büyüme faktörü bağlanmasıyla başlatılan sinyalleri ileten hücre içi hedef proteinler fosforile edilir (65).

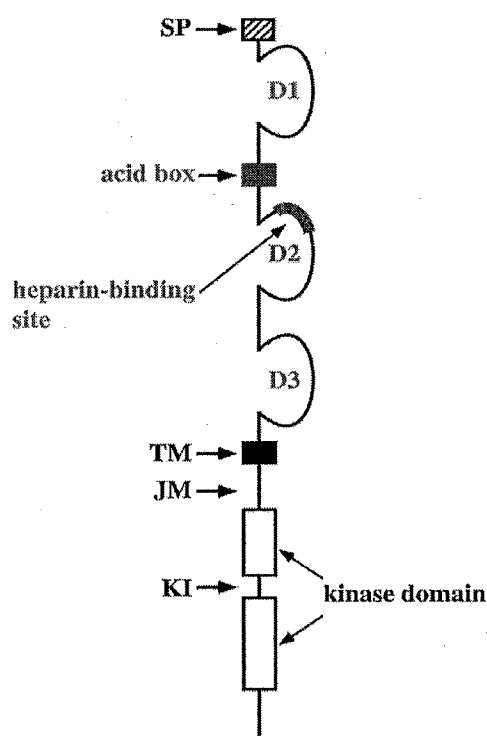
Çoğu reseptör protein-tirozin kinaz sinyal iletiminde, ilk basamak ligand tarafından uyarılan reseptör dimerizasyonudur. PDGF ve NGF gibi bazı büyüme faktörleri, özdeş iki-polipeptid zincirinden oluşan dimerlerdir, bu büyüme faktörleri iki farklı reseptör molekülüne eş zamanlı olarak bağlanarak doğrudan dimerizasyonu uyarılırlar. EGF ve FGF gibi diğer büyüme faktörleri monomerik moleküllerdir, fakat farklı reseptör polipeptidleri arasında protein-protein etkileşimlerini sağlayan konformasyonel değişikliklerin uyarılması sonucunda reseptör dimerizasyonuna giderler (65).

Ligand tarafından uyarılan dimerizasyon daha sonra, dimerize polipeptid zincirlerinin birbirlerini karşılıklı fosforillemesi ile reseptörün otofosforilasyonuna neden olur. Bu otofosforilasyon bu reseptörlerden sinyal iletiminde iki kilit rol oynar. İlk olarak, katalitik bölgedeki tirozinlerin fosforillenmesi protein kinaz aktivitesini artırır. İkincisi, katalitik bölge dışındaki tirozin birimlerinin fosforilasyonu hücre içi sinyalleri, aktif reseptörden aşağı yöndeki moleküllere iletecek ek proteinler için özgün bağlanma bölgeleri yaratır (65).

#### **2.6.2. Fibroblast Büyüme Faktörü Reseptörü 4 (FGFR4)**

Partanen ve ark. K562 lökosit hücrelerinde FGFR gen ailesine ait yeni bir üye olduğunu bulmuşlardır. Amino asit dizisi %55 oranında FGFRs ile aynı olan reseptörün, FLG (FGFR1) ile aynı karakteristik yapısına sahip olduğu, FGFR ailesi üyelerinde bulunan 3-immüoglobulin benzer hücre dışı domaini bulundurduğu belirlenmiştir. FGFR4 geni yaklaşık 11.3kb uzunluğunda 18 ekzondan oluşan bir gendir. Ekzon1 translyasyona uğramamaktadır ve karakteristik olarak TATA-free

promotere sahiptir. İntronlarında kısa tekrarlı polimorfizmler bulunmaktadır. Fibroblast büyüme faktör ailesi 18 üyeden oluşur. FGF'den aşağı doğru sinyal dört FGFR tarafından geçirilir (FGFR1, FGFR2, FGFR3 ve FGFR4). Bu reseptörlerin yapısında, hücre dışı ligand bağlayıcı immünoglobulin domainleri (D1-D3), tekli transmembran helix ve sitoplazmik tirozin kinaz domainleri bulunur (Şekil 2.6.1). Diğer tirozin kinaz reseptörler gibi FGFR'ların dimerizasyonunda reseptör aktivasyonu ile sonuçlanır. Ek olarak ligand bağlanması heparin yada proteoglikan gerektiren işlemdir (66).



**Şekil 2.6. 1.** Fibroblast Büyüme Faktörü Reseptör 4'ün yapısı (Fibroblast büyüme faktörü reseptörleri şeması: D1,D3 immünoglobulin domainler, SP: sinyal peptid temsilcileri, TM:transmembran helix, JM: membran alt tarafı, D2: heparin bağlayıcı alan)

### 2.6.3. Fibroblast Büyüme Faktörü Reseptör 4 İle İlgili Yapılmış Çalışmalar

Almanya'da 84 meme kanseri ve 82 kolon kanseri hastasında cDNA array hibridizasyon yöntemi kullanılarak yapılan çalışmada FGFR4 geninin transkripsiyon düzeyleri incelenmiş ve homozigot ve heterozigot Arg388 genotipine sahip

hastalarda yaşam sürelerinin azaldığı gözlenmiştir. 82 kolon kanseri hastasında FGFR4 Arg388 alleliyle ilgili 62. haftadan sonra gelişen erken lenf nodu metastazı ve tümör nod metastazı (TNM) safhaları görülmüş ve FGFR4 geni Arg388 genotipine sahip hastalarda hastalığın ilerlemesi önemli derecede hızlanmıştır (67).

Japonya'da 143 hasta ve 102 sağlıklı birey ile yapılan çalışma RFLP yöntemi kullanılarak değerlendirilmiştir. Arg388 genotipine sahip hastalarda yumuşak doku sarkomunun daha hızlı geliştiği gözlenmiştir. Klinik teşhislerde FGFR4 geni Gly388Arg polimorfizminin yeni tedavi yöntemlerine katkıda bulunacak önemli bir belirteç olduğu vurgulanmıştır (68).

Almanya'da yapılan bir çalışmada 137 melanoma dokusu farklı immünokimyasal yöntemlerle büyüme faktörleri yönünden analiz edilmiştir. Melanoma'nın büyümesinde büyüme faktörlerinin önemli olduğu, FGFR4 reseptörünün önemsiz olduğu bulunmuştur(69). Sterit ve arkadaşları 185 melanoma hastasında Gly388Arg polimorfizmini PCR-RLFP yöntemi kullanarak analiz etmişlerdir. Bu analizler sonucunda FGFR4 geni Gly388Arg alleleline sahip tüm hastalarda melanomanın ilerlediği görüldüğünden bu allelin potansiyel belirteç olarak kullanılabileceği ileri sürülmüştür (69).

Amerika'da 615 akciğer kanser (NSCLC,SCLC ve Adenocarcinoma) hastası ile yapılan içeren bir araştırmada Gly388Arg polimorfizminin bu hasatlık için önemsiz olduğu bulunmuş ve FGFR4 geni 388Arg polimorfizminin akciğer kanseri tanısında belirteç olarak kullanılamayacağı öne sürülmüştür (70).

Brezilya'da 76 Cushing sendromlu hasta (60 kadın 16 erkek hasta) ile 103 sağlıklı bireyle yapılan çalışmada FGFR4 geni Gly388Arg polimorfizminin belirlenmesi ile insanda kanser teşhisi yapmanın mümkün olabileceği ileri sürülmüştür. Gly388 genotipine sahip insanların tümör baskılayıcı özelliğe sahip olduğu iddia edilmiştir. Cushing sendromundan etkilenme oranı ve yaşam sürelerinin oranıyla ilgili FGFR4 geni Gly388Arg polimorfizmi açısından önemli sonuçlar bulunmuştur. Gly/Gly<sup>388</sup> genotipine sahip hastaların daha çok hayatta kaldığı ve Arg/Arg<sup>388</sup> genotipine sahip bireylerinse daha az hayatta kaldığı açıklanmıştır (71).

Çin'de 2618 prostat kanseri ve 2305 sağlıklı bireyde FGFR4 geni Gly388Arg polimorfizmi PCR-RFLP yöntemi kullanılarak araştırılmıştır. Arg388 alleleline sahip

kişilerde prostat kanserinin ilerlemesi artmış ve bu allelin tanıda kullanılabileceği ileri sürülmüştür (72).

## **2.7. Polimorfizmin Tanımı ve Genetik Polimorfizmin Saptanmasında Kullanılan Yöntemler**

*Poli ve morfizmos* kelimelerinden birleşmesinden oluşan polimorfizm, eski Yunanca'da "çok şekillilik" anlamı taşıyan bir sözcüktür.

Genetik polimorfizm, bir populasyonda, farklı allellere bağlı olarak, genetik olarak belirlenmiş iki veya daha çok alternatif fenotipin görülmesidir.

Populasyon genetikçilerine göre, bir gen lokusu, nadir alleller için en az %1 frekansına sahip olduklarında ve bu allel için heterozigotlarının en az %2 oranında görüldüklerinde polimorfik olarak tanımlanırlar. Populasyon genetiği açısından belli bir frekansa gereksinim olmasına karşın, moleküler biyoloji açısından, frekansın önemi olmayıp, bir ailede dahi görülen varyant polimorfik adını almaktadır.

Polimorfizmler, türlerin buldukları ortama adaptasyonlarını kolaylaştırarak, evrimsel süreçte ayakta kalabilmelerine olanak verirler.

Polimorfizm, birey düzeyinde (fenotip), proteinlerin ve kan grubu bileşiklerinin varyant formlarında (biyokimyasal polimorfizm), kromozomların morfolojik özelliklerinde (kromozomal polimorfizm) veya DNA düzeyinde nükleotid farklılıkları (DNA polimorfizmi) şeklinde görülebilir.

Genetik polimorfizmlerin belirlenmesinde PCR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu), RFLP(Restriksiyon Fragment uzunluk Length Polimorfizmi), VNRT (Variable Number of Tandem Repeats: değişken ardışık tekrarlar), SSCP (Single Stranded Conformational Polimorphism: tek iplikçik yapısal çeşitlilik) laboratuvar yöntemleri kullanılmaktadır. Polimorfizm çalışmalarında elde edilen bulgular, hastalıklara yatkınlığın belirlenmesinde ve tedavinin yönlendirilmesinde önem taşımaktadır (73).

### **2.7.1. SNP (Single Nucleotide Polymorphism)**

SNP'ler yaygın olarak bir türün üyeleri arasında genomdaki tek bir nükleotit farklı olduğu zaman ortaya çıkan DNA dizisi varyasyonu olarak adlandırılır. SNP'lerin çoğu, tek bir nükleotidin bir başka nükleotidle yer değiştirmesi

şeklinde; ancak tek bir nükleotidin insersiyonu ya da delesyonu şeklinde de olabilmektedir (74, 75).

Polimorfizmler popülasyonda en az %1 sıklıktan daha az yaygın bir varyantın olduğu bölge olarak tanımlanırlar. Bu varyantlar düşük sıklıkta olmasına karşın bazı durumlarda çok önemlidirler. Bazı SNP alleleri, doğrudan bir hastalığa katkısı olan gen fonksiyonu veya düzenlenmesinde farklılığa yol açan DNA dizi varyantlarıdır. Farklı tipteki SNP'ler, bir proteinin fonksiyonu veya regülasyonu ve ekspresyonunu değiştirebilir. En yaygın tipi sinonim olmayan SNP'lerdir. Bu tipteki allelerde protein ürünündeki amino asit farklıdır. Bazı SNP'ler splay bölgesindeki polimorfizmlerdir ve ekzon içerikleri farklı varyant proteinlerle sonuçlanır. Bazı SNP'ler ise promotör bölgesindedir ve proteinin regülasyonunu ve ekspresyonunu etkilemektedir (75). SNP'lerin ortaya çıkışı, yeni bir restriksiyon bölgesinin şekillenmesine ya da var olan bir restriksiyon bölgesinin kaybolmasına neden olabilir.

### 2.7.2. PCR (Polymerase Chain Reaction)

Günümüzde canlıların genetik yapılarının çözülmesi, genlerin yerlerinin ve işlevselliklerinin anlaşılması, ilişkilerinin belirlenmesi çalışmaları tüm hızıyla devam etmektedir.

1985 yılında Henry A. Erlich, Kary Mullis ve Randall K. Saiki isimli araştırmacılar tarafından geliştirilen PCR yöntemi yaygın olarak tıbbi ve biyolojik araştırma laboratuvarlarında kalıtsal hastalıkları tanısı, genetik parmak izlerinin tanımlanması, bulaşıcı hastalıkların teşhisi, genlerin klonlanması, babalık testi ve DNA hesaplanması gibi değişik konularda yaygın bir şekilde kullanılmaktadır.

Hücrelerden arındırılmış bu yöntem, DNA molekülleri birliğinde özgül hedef DNA dizilerinin doğrudan çoğaltılmasına dayanır ve bunun için yok denecek kadar az miktardaki DNA bile yeterlidir. Belli bir hedef DNA bölgesinin çoğaltılabilmesi için, bu bölgenin nükleotit dizilerinin bilinmesi gerekmektedir. Bu bilgi PCR'da primer olarak kullanılan oligonükleotidlerin hazırlanması için gereklidir.

PCR, tek iplikli DNA'yı kalıp alan ve deoksiribonükleotitleri substrat olarak kullanan, ısıya dayanıklı bir DNA polimeraz (Taq polimeraz *Thermus aquaticus*'dan elde edilen) enzimi ile gerçekleştirilir. Taq polimeraz, diğer DNA polimeraz enzimleri gibi 5'→3' yönünde sentez yapar ve dolayısıyla senteze başlayabilmesi için

serbest 3'-OH grubuna gereksinim duyar. Bu serbest 3'-OH grubunu sağlayan PCR reaksiyonu bileşeni ise oligonükleotidler, yani primerlerdir. Kısaca ifade edilirse, kalıp DNA, Taq polimeraz, deoksiribonükleotidler ve oligonükleotitlerin bulunduğu bir karışım, uygun koşullar sağlandığında, primerlerin kalıp DNA üzerinde kendilerine komplementer bölgelerle eşlenerek, sentezi başlatıcı görev yaparlar. Enzim DNA ipliğini sentezlerken verimli çalışabilmesi için en uygun koşulların sağlanması gerekir ve koşullar tampon bir çözelti ile gerçekleşir.

PCR reaksiyonu üç basamakta gerçekleşir ve çoğaltılmış ürünün miktarı, teorik olarak, bu üç basamağın tekrar sayısına bağlıdır. İlk adımda, çoğaltılacak DNA denatüre edilerek tek zincirli hale getirilir (denatürasyon). Bu aşama genellikle 90-95°C de gerçekleşir. İkinci adımda, sıcaklık 50-70°C arasında bir değere düşürülür ve primerlerin tek zincirli hale getirilmiş DNA'ya bağlanması sağlanır (annealing). Bu sıcaklık değerleri primerden primere değişmektedir. Polimerazın zincir uzatması olan son aşama 70-75°C arasında gerçekleştirilir (extension). Bu ardıl üç adım bir döngü olarak ifade edilir. PCR bir zincir reaksiyonudur, çünkü yeni DNA zincirlerinin sayısı her döngüde iki katına çıkar ve yeni zincirler her bir döngüde kalıp görevi görürler. Her bir döngü sonunda geometrik olarak artan DNA miktarı, yirmibeş-otuz döngü sonunda yaklaşık  $10^6$  olur. İşlem thermocycler (ısı döngüsü) denilen makinelerde, önceden döngü sayısı ve sıcaklıkları belirlenen programlarla, otomatik olarak gerçekleştirilir.

Çok geniş kullanım alanı olan PCR modern genetikte çok yönlü kullanılabilen teknikler arasındadır (76, 77).

### **2.7.3. RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism)**

Restriksiyon endonükleaz (RE) enzimlerinin doğal biyolojik fonksiyonu, bakteriyel savunma mekanizmasında oynadıkları roldür. Bakteriye giren yabancı DNA'ları parçalayıp onların aktivitelerini kısıtlayan (restriksiyon) bu enzimler, intraselüler bakteriyel patojenleri inaktive edebilmekte ve bakteriyi virüslerden, yabancı DNA'lardan korumaktadırlar. 1965'de Werner Arber, bakterinin kendi endonükleazlarından kendi DNA'sını korumak için metillediğini ortaya çıkarmıştır. Bakteri bu olayı restriksiyon enzimlerin tanıdığı nükleotid dizilerindeki bazı bazlara metil grupları ekleyerek başarmaktadır.

RE'lar DNA dizilerini özgül olarak tanıyan ve bu dizilimlerden yakın bölgelerden veya bu dizilimler içindeki spesifik bölgelerden DNA'yı kesen yapılardır. Günümüzde yaklaşık 300 farklı DNA dizilimini tanıyan yaklaşık 3000'den fazla RE varlığından söz edilmektedir. RE enzimlerinin çok büyük bir kısmı bakterilerden, çok az bir kısmı da virüs ve ökaryotlardan izole edilmiştir.

1970'li yıllardan sonra restriksiyon endonükleaz kullanımına bağlı olarak rekombinant teknolojisi hızla gelişmiş ve bu gelişme seçilen bir genin çoğaltılmasını, genin kodladığı proteinin üretilmesini, genin diziliminin belirlenmesi vb. mümkün hale getirmiştir. Bu teknolojiye merkezi konumu nedeniyle, RE enzimleri özellikle klonlama çalışmalarında sıklıkla kullanılmaktadır. Rekombinant DNA elde edilmesinin yanı sıra, DNA haritası çıkarılması, polimorfizmlerin belirlenmesi, problemlerin hazırlanması ve DNA modifikasyon durumlarının analizi, RE'lerin kullanım alanlarıdır (78-79).

RE'lar metilaz aktivitelere, alt ünite yapılarına, kesim özgüllüklerine ve kofaktör ihtiyaçlarına göre sınıflandırılmışlardır (tip I, tip II, tip III, homing endonükleazlar ve nicking endonükleazlar). Tip II RE'lar genellikle 4, 5 veya 6 baz çifti (bc) uzunluğunda olan özgül bir nükleotid dizisini tanır ve bu dizilerdeki metillenmemiş çift-zincirli DNA molekülünü keserler ve izole edilen RE'ların büyük bir kısmı bu gruptandır (79, 80).

RFLP, bir restriksiyon endonükleaz ile DNA'nın kesilmesi üzerine dayandırılmış bir yöntemdir. İnsan genomu boyunca her 200 nükleotitte 1 dizi farklılığı görülür. Bu özel bölgelerdeki nükleotit değişiklikleri, tek bir nükleotit çiftindeki değişiklik, bir ya da birden fazla nükleotit çiftinin çıkarılması (delesyon), veya araya sokulması (insersiyon) şeklinde görülür ve bir restriksiyon enziminin kesim noktasını ortadan kaldırabilir ya da yeni bir kesim noktası yaratabilir. RE'lar DNA molekülü üzerindeki özel bir bölgeyi tanıyarak keserler ve fragment denilen kısa dizilerini oluştururlar. Bir şekilde yaratılan bir restriksiyon bölgesi ya da başka deyişle enzimin tanıma dizisinde birkaç nükleotit değişimi varsa, farklı kaynaklardan alınan DNA, bazı restriksiyon enzimlerle kesildiğinde farklı uzunlukta DNA fragmentleri oluşur. Bu parça uzunluklarındaki farklılıklar, Restriksiyon Fragment uzunluk (Length) Polimorfizmi olarak adlandırılır. Herhangi bir bireyin taşıdığı allel tipi, restriksiyon kesim bölgesindeki değişiklikler (polimorfizm) bu yöntemle



belirlenebilir. Elde edilen DNA parçalarının kontrolü, restriksiyon kesimini takiben jel elektroforezi uygulaması, ayrıştırılan DNA parçalarının DNA bağlayan bir membrana transferi ve uygun bir proba hibridizasyonu ile saptanabilir (81).

#### **2.7.4. Agaroz Jel Elektroforezi**

DNA molekülünün analizinde çok çeşitli yöntemler kullanılmakla beraber, tüm laboratuvarlarda rutin olarak yararlanılan en basit yöntemlerden biri jel elektroforezidir. DNA'nın elektroforetik analizinin temeli, bu molekülün elektriksel bir alanda jel üzerindeki göçüne dayanır. Bu göç hızı molekülün büyüklüğüne, yapısına, jelde kullanılan maddenin konsantrasyonuna, iyonik kuvvete ve uygulanan akıma bağlı olarak değişmektedir. Jel elektroforezinde kullanılan matriks (destekleyici madde) nişasta, poliakrilamid, agaroz ya da agaroz-akrilamid karışımı olabilir.

Agaroz jel elektroforezi, biyokimya ve moleküler biyolojide DNA, RNA ve protein moleküllerini büyüklüklerine göre ayırmada kullanılan bir metoddur. Negatif yüklü nükleik asit moleküllerinin bir agaroz matriks boyunca hareketi elektriksel bir alanla başarılmaktadır.

Agaroz, bir kırmızı alg türü olan Agar agar'dan izole edilen doğrusal bir polisakkariddir. Agaroz uygun bir tamponda çözülür, ısıtılır ve soğutulduğu zaman polimerleşir ve polimerde karşılıklı hidrojen bağları oluşumu ile jel yapısı oluşur. Bu olay geri dönüşümlüdür. Agaroz konsantrasyonu değiştirilerek jelin por çapı ayarlanabilir. Küçük DNA fragmentleri için yüksek, büyük DNA fragmentleri için düşük agaroz konsantrasyonu kullanılarak DNA'nın jelde en uygun şekilde yürütmesi sağlanabilir.

DNA'nın jelde görünür hale gelebilmesi floresan bir boya olan etidyum bromürün DNA'daki hidrojen bağları arasına bağlanarak 300-360 nm'de ışığı absorblaması sonucu floresan etki göstermesi ile gerçekleştirilir (82).

### **3. GEREÇ VE YÖNTEM**

#### **3.1. Kullanılan Cihazlar**

- Masaüstü Makro Santrifüj
- Hassas Tartı
- Manyetik Karıştırıcı
- Vorteks
- PH Metre
- Mikrodalga fırını
- Mikropipetler -10µl, 20µl, 200µl ve 1000µl-
- Fanlı Ekonomik İnkübatör
- Thermal Cycler
- Elektroforez Güç Kaynağı
- Elektroforez Tankı
- Jel Görüntüleme

### 3. 2. Kimyasal Maddeler

- Tris bazı
- Asetik asit
- EDTA
- Sodyum Dodesil Sülfat (SDS)
- Proteinaz K
- Amonyum Asetat
- %96'lık Absolü Alkol
- Primer dizileri
- dNTP miks
- MgCl<sub>2</sub>
- PCR tamponu
- Taq DNA Polimeraz
- Mva I Restriksiyon Endonükleaz
- B<sup>+</sup> tamponu
- Agaroz
- Bromfenol Blue
- Gene Ruler™ DNA Ladder Mix
- Gene Ruler™ 50 bp DNA Ladder
- Formamid
- Xylen Cyanol

### 3.3. Çalışma Grubu

Araştırmamızda, Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum kliniğine başvuran, Eklampsi ve HELLP sendromu kesin tanısı konmuş 18.06.2002 tarih ve 11 sayılı yerel etik kurul kararı gereğince daha önce izni alınmış ve bu çalışma için 15.02.2012 tarihinde tekrar etik kurul izni alınan DNA'lar kullanılmıştır. Primer olarak öyküsünde; karaciğer, böbrek, kardiovasküler veya hipertansiyon hastalığı olmayan 73 kadın, hasta grubu olarak değerlendirilmiştir. Hastaların 40 kişilik grubunu HELLP sendromu, 33 kişilik grubunu da eklampsi tanısı konmuş hastalar oluşturmaktadır.

Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniği tarafından eklampsi ve HELLP sendromu tanısı konulurken şu kriterler göz önünde tutulmuştur:

20. gebelik haftasından sonra altı saatlik aralarla ölçülen diastolik kan basıncının iki yada ikiden fazla ölçümde 90 mmHg'den<sup>1</sup>(faz 5 Korotkoff sesi) yüksek olması ve 24 saatlik idrarda protein düzeyinin 0.3 g/L' den fazla olması (konkordant proteinüri), tonik-klonik kasılmaların eklenmesi durumunda eklampsi olarak değerlendirilmiştir. HELLP sendromu ise ölçülen trombosit değerlerinin  $1 \times 10^{11}$  /L'den büyük ve periferik yaymada hemolizin varlığı tanı kriteri olarak kabul edilmiştir.

Kontrol grubu olarak, gebeliği iki ve üzerindeki döneme kadar devam etmiş olan, kendisinde veya ailesinde pre-eklampsi hikayesi olmayan, sigara kullanmayan, kronik hipertansiyon, diyabet ve spontan düşüğü olmayan, rastgele seçilmiş yaklaşık 161 normal kadın çalışmaya dahil edilmiştir.

### 3.4. Örneklerin Alınması

Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum kliniğine daha önceden başvurmuş, eklampsi ve HELLP sendromu kesin tanısı konan hasta ve kontrol grubunu oluşturan bireylere, Kadın Hastalıkları ve Doğum kliniği tarafından yapılacak çalışma hakkında gereken açıklamalar yapılmış, izin belgesini imzalamaları sağlanmıştır. Özgeçmişleri hakkında gerekli bilgilerin bulunduğu formları doldurmaları sağlandıktan sonra, yaklaşık olarak 5 ml olacak şekilde alınan venöz kan 15 ml'lik EDTA'lı (etilen diamin tetra asetik asit) steril tüplere konularak C.Ü. Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalına gönderilmiş ve DNA'lar izole edilmiştir.

### 3.5. DNA İzolasyonu

DNA'lar "Yüksek Tuz Konsantrasyonu ile DNA İzolasyonu" yöntemiyle izole edilmiştir (5). Bu yöntem aşağıdaki evreleri kapsamaktadır.

- Hasta ve kontrol gruplarından alınarak EDTA'lı steril tüplere konan 5 ml venöz kanın üzerine kanın üç katı oranında olacak şekilde (kan ve bidistile toplamı 15 ml olacak şekilde) steril 4°C bidistile su ilave edildi.
- Tüplerdeki kanın su ile karışmasını sağlamak için birkaç kez hızlı bir şekilde elle çalkalandı.
- 3600 rpm'de 15 dakika santrifüj edilerek kanın elemanlarının çökmesi sağlandı.
- Santrifüjden alınan tüplerin üzerinde oluşan süpernatant atılarak dipte kalan çökelti üzerine yine üç katı hacimde olacak şekilde bidistile su konularak aynı devir ve sürede santrifüj yapıldı.
- Bu işlem dört kez daha tekrarlandı.
- Son yapılan santrifüjden sonra alınan tüplerde üstte kalan süpernatant atılır, altta kalan çökelti içerisine hücre içeriğinin serbest kalabilmesi için hücre zarını yıkan 150 µl %10'luk SDS (sodyum dodesil sülfat), 30µl proteinaz K (10mg/ml) ve 700 µl lysis tamponu ilave edildi ve 2ml'lik santrifüj tüpüne alınır daha sonra bir gece boyunca 37°C'de hotblokte bekletildi.

- Ertesi gün hotbloktan çıkarılan tüplere 300 µl 6 M NaCl eklenerek 4800 rpm’de 15 dakika santrifüj edildi.
- Üstte kalan süpernatant yeni bir santrifüj tüpüne dipte kalan çökelti karışmayacak şekilde aktarıldı.
- Süpernatant 4800 rpm’de 30 dakika santrifüj edildi.
- 15ml falkon Tüpe alınan süpernatantın iki katı oranda olacak şekilde üzerine absöü alkol ilave edildi.
- Hafifçe ileri-geri çalkalandığında genomik DNA gözlendi. İnce bir pipet ucu yardımıyla sıvı içerisinde DNA alındı.
- Daha önce etiketlenen 1,5 ml’lik steril ependorf tüplere konan 250 µl TE tamponu içerisine, alınan DNA’nın tampon içerisinde çözünmesi için bir gece oda ısısında bekletildi. Çalışmada kullanılmaya kadar -20 °C’ de saklandı.

### 3. 6. FGFR4 Geni Genotipinin Belirlenmesi

FGFR4 Arg388Gly gen polimorfizmini belirlemek için PCR-RFLP yöntemi kullanıldı. PCR yönteminde kullanılan primer dizileri Tablo 3.1de, PCR koşulları ise Tablo 3. 2’de verilmiştir.

**Tablo 3. 1. PCR amplifikasyonu için kullanılan primer dizileri.**

Forward (ileri) Primer	5’-GACCGCAGCAGCGCCGAGGCCAG-3’
Revers (geri) Primer	5’-AGAGGGAAGAGGGAGAGCTTCTG-3’

**Tablo 3. 2. PCR koşulları.**

SOLÜSYONLAR	KONSANTRASYONLAR	HACİM
PCR tamponu	1X	1.5µl
dNTP karışımı	2mM	2.5µl
MgCl <sub>2</sub>	25mM	2.5µl
Forward primeri	10pmol	1µl
Reverse primeri	10pmol	1µl
Taq DNA polimeraz	5U/µl	0.5µl
dH <sub>2</sub> O	-	11µl
DNA	50ng/µl	5µl

Tablo3.2’de gösterilen oranlarda hazırlanan karışımdan 20µl alınarak 0.2µl’lik etiketlenmiş ependorf tüplerine paylaştırıldı. İzole edilmiş DNA örneklerinden 5µl alınarak bu karışımlara eklenerek, amplifikasyon işlemi için PCR cihazına yerleştirildi (toplam hacim: 25µl ). Cihaz Tablo3’de verilen programa ayarlanarak PCR tepkimesi uygulandı.

**Tablo 3. 3. PCR Programı**

<b>Ayrılma (Denatürasyon)</b>	95°C de 5 dakika 95°C de 30 saniye	1 döngü
<b>Primerlerin bağlanması (Annaeling)</b>	55°C de 30 saniye	35 Döngü
<b>Uzama (Extension)</b>	72°C de 1 dakika 72°C de 7 dakika	

**Tablo 3. 4. RFLP koşulları**

<b>PCR amplifikasyon ürünü</b>	13µl
<b>MvaI restriksiyon enzimi</b>	0.5µl
<b>B<sup>+</sup> tampon solüsyonu</b>	1.5 µl

PCR sonrası Tablo3.4’de verilen miktarlar karıştırılarak etiketlenmiş 0.2 ml’lik ependorf tüplere konuldu ve 37°C sıcaklıkta bir gece inkübe edilerek DNA parçalarının kesilmesi sağlandı.

### **3.7. Jel Elektroforezi**

PCR ve RFLP sonrasında elde edilen ürünler %2’lik agaroz jel elektroferezinde koşturuldu.

#### **3.7.1. Jelin Hazırlanması**

100 ml’lik jel tankında %2’lik agaroz jeli hazırlamak için 2 gr agaroz tartılarak 250 ml’lik erlenmayer içine kondu. Üzerine 50X yoğunlukta olan TBE (Tris-HCL, Borik asit, EDTA) tamponundan 1X (5 ml 50X TBE tamponuna 90 ml bidistile su eklenerek hazırlanır) olacak şekilde hazırlanan 100 ml TBE tamponu eklendi ve mikrodalga fırınında ısıtılarak berraklaşması sağlandı. Berraklaşan jelin el yakmayacak ısıya düşürülmesi için soğutuldu. Jel içerisine 5 µl etidium bromür eklenerek boyanması sağlandı ve 100 ml’lik agaroz jel tankına döküldü. DNA yüklenecek kuyucuk oluşturmak için taraklar yerleştirildi ve jelin donması beklendi.

#### **3.7.2. Jelde DNA’nın koşturulması**

5 µl PCR ürününe 2 µl yükleme tamponu eklendi. Toplam 7 µl karışım kuyucuklara yüklendi. DNA fragmentlerinin baz çifti uzunluklarını karşılaştırmak için 50 bç (baz çifti) DNA belirteci kullanıldı. 2 µl alınan belirteç 1 µl distile su ve 1 µl yükleme tamponu ile karıştırılarak jele yüklendi. Yüklenen DNA’lar 120 voltta 30 dakika koşturuldu ve UV altında görüntülendi.



### 3.8. İstatiksel Analiz

Çalışmamızda gruplar arasında anne yaşı, parite ve gravida sayısı, gebelik haftası diastolik kan basıncı ortalamaları Independent-Sample T testi ile değerlendirildi. Hasta grubunda bulunan bireyler; diyabet öyküsü, daha önceki gebeliklerinde hastalık öyküsünün bulunması, eşi ile ve anne-babası ile akraba olma parametrelerine göre  $\chi^2$  testi kullanılarak değerlendirildi. İstatistiksel analiz, SPSS 15.0 bilgisayar programı kullanılarak yapıldı. Ayrıca risk oranları (OR:odds ratio) ve güven aralıkları (CI: %95confidence interval)  $\chi^2$  testi ve Fisher's exact testi kullanılarak tespit edildi (83).

### 3.9. Solüsyonların Hazırlanması

#### 3.9.1. Genomik DNA Eldesinde Kullanılan Solüsyonların Hazırlanması

- Nüklei Lysis Tamponu: 10mM Tris-HCl 1.576g, 400mM NaCl 23.4g ve 2mM Na<sub>2</sub>EDTA 0.7g 1000ml bidistile su içerisinde çözdürülerek pH: 8.2'ye ayarlandı. Otoklavda steril edilerek +4°C' de saklandı.
- Sodyum Dodesil Sülfat (SDS): 10g SDS 100ml bidistile suda çözdürülerek %10'luk solüsyon hazırlandı. Sterilizasyon işlemi filtreden geçirilerek yapıldı.
- Proteinaz K Dilüsyon Tamponu: Sıvı olarak 20mg/ml hazırlanmış solüsyonu kullanıldı.
- TE Tamponu (Tris-HCl, EDTA): 10 mM Tris-HCl 0.394g, 1mM Na<sub>2</sub>EDTA 0.093g 250ml bidistile suda çözdürülerek otoklavda steril edildi.
- Sodyum Klorür (NaCl): 6M 105,2g sodyum klorür 300ml bidistile su içinde çözümlenerek hazırlandı. Bu solüsyonun steril edilmesine gerek yoktur.

#### 3.9.2. Yükleme Tamponunun (Loading Dye) Hazırlanması

- Formamid (%95) 9.5 ml
- Xylen Cyanol (%0.5) 0.05 gr
- Bromfenol Blue (%0.5) 0.05 gr

Bu üç kimyasal 15 ml'lik konik santrifüj tüpü içerisine konularak vortekste karıştırıldı. Kullanılmak üzere +4 °C' de saklandı.

### 3.9.3. PCR Çalışma Solüsyonlarının Hazırlanması

- dNTP solüsyonu: 100mM stok Adenin, Timin, Guanin, Citozin nükleotitlerinin her birinden 2µl alınarak 92µl distile su ile karıştırıldı. 2 mM'lık dNTP çalışma solüsyonu hazırlandı.
- Forward primer: 54 pmol'lük stoktan çalışma solüsyonu konsantrasyonu 100µl 10pmol olacak şekilde 81.5µl distile suya 18.5µl FGFR4 Arg388 forward primeri eklenerek hazırlandı.
- Reverse primeri: 47.7pmol'lük stoktan çalışma solüsyonu konsantrasyonu 100µl 10pmol olacak şekilde 79 µl distile suya 21µl FGFR4 Arg388 reverse primeri eklenerek hazırlandı.

## 4. BULGULAR

### 4.1. Çalışma Grubunda Yer Alan Bireylerin Demografik ve Klinik Özellikleri

Çalışmamızda Eklampsi (n=33) ve HELLP sendromu (n=47) tanısı konmuş toplam 80 (hasta grubu) ile 163 sağlıklı kontrol grubu olarak incelemeye alındı.

Eklampsi ve HELLP sendromlu bireylerin oluşturduğu hasta grubu ile kontrol grubunda yer alan bireylerin yaş, parite, gravida, gebelik haftası ve diastolik kan basıncı (demografik ve klinik özellikler) Independent-Sample T testi ve Tukey HSD çoklu karşılaştırma yöntemi kullanılarak değerlendirildi (Tablo 4.1.1).

Tablo 4.1.1. Hasta ve Kontrol Grubunda Yer Alan Bireylerin Demografik ve Klinik Özellikleri (\* ± SD: Standart Sapma)

	EKLAMPSİ GRUBU (n:33)	HELLP GRUBU (n:47)	KONTROL GRUBU (n:163)
YAŞ	23.88 ± 6.014	28.94 ± 7.382	29.9 ± 3.892
PARİTE	1.1 ± 1.1 (0-3)	2.0 ± 1.8 (0-4)	2.4 ± 0.4 (2-4)
GRAVİDA	1.9 ± 1.4 (1-4)	3.5 ± 2.3 (1-5)	2.8 ± 1 (2-4)
GEBELİK HAFTASI	33.48 ± 3.946	33.48 ± 4.532	-----
KAN BASINCI (mmHg)	106.52 ± 11.214	104.57 ± 13.304	-----

Bu değerlendirmeye göre, eklampsi grubundaki bireylerin yaş ortalamalarının kontrol grubuna oranla daha düşük olduğu bulunmuştur. Kontrol grubu ile eklampsi grubu arasındaki bu farkın anlamlı olduğu saptanmıştır (t: 5.450, p<0.05). HELLP sendromu ile kontrol grubu arasında yaş açısından fark görülmemiştir (t: 1.356, p>0.05).

Doğum sayısı (Parite) ve gebelik sayısı (Gravida) ortalamaları açısından gruplar değerlendirildiğinde, eklampsi grubu ile HELLP sendromu ve kontrol grubu arasında fark olmadığı bulundu (parite için t:0.753, p>0.05) ve gravida için (t:1.335, p>0.05).

Gebelik haftası açısından hasta grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında, gebelik haftası ortalamalarının benzer olduğu grlmştir (t:1.219, P>0.05).

Diğer bir değerlendirme, diastolik kan basıncı ölçümlerine göre yapıldı. Kontrol grubunu oluşturan bireylerin diastolik kan basıncıları normal sınırlar içerisinde (90 mmHg ve alt değerleri) olduğundan değerlendirmeye sadece hasta grubu alındı. Değerlendirme sonucunda hasta gruplarında yer alan bireylerin diastolik kan basıncı ortalamaları karşılaştırıldığında, hasta grupları arasında anlamlı bir farka rastlanmamıştır (t:1.023, P>0.05).

Eklampsi ve HELLP sendromu gruplarında yer alan bireyler diyabet öyküsü olanlar ve olmayanlar açısından değerlendirildiğinde, HELLP sendromu grubunda 47 sadece 1'inde (%2.12) diyabet öyküsü olduğu belirlenmiştir. Eklampsi grubunda yer alan bireylerin hiçbirinde diyabet öyküsü tespit edilememiştir. X<sup>2</sup> testine göre yapılan karşılaştırmada, gruplar arasında bir fark bulunamamıştır (x<sup>2</sup>: 1.851, P>0.05).

Eklampsi grubunda 33 hastanın 4'ünde (%12.2) ve HELLP sendromu grubunda 47 hastanın 9'unda (%19.14) nceki gebeliklerinde hastalık öyküsü olduğu belirlenmiştir. X<sup>2</sup> testine göre, gruplar arasında bir fark bulunamamıştır (x<sup>2</sup>: 2.486, P>0.05).

Hasta grubunu oluşturan bireylerin eşleri ile akraba olmalarının gruplara göre dağılımı değerlendirildiğinde, eklampsi grubunda bulunan bireylerden 30'unda (%90) bu akrabalık yokken 3' (%10) eşi ile akrabadır. HELLP sendromu grubunda ise 41 bireyde (%86.7) akrabalık yokken 6 bireyde (%13.3) akrabalık vardır. Gruplar arasında yapılan değerlendirme sonucunda anlamlı bir fark bulunamamıştır (x<sup>2</sup>: 1.248, P>0.05).

Hasta grubunun anne-babalarının akraba olma durumuna göre dağılımlarında incelendiğinde, Eklampsi grubunda 33 hastanın 5'inde (%15), HELLP sendromu grubunda da, 47 bireyden sadece 5'inde (%10) anne-baba akrabalığı gözlenmiştir.  $\chi^2$  testine göre iki grup arasında bir fark bulunmadığı belirlenmiştir ( $\chi^2$ : 2.431,  $P>0.05$ ).

#### 4.2. FGFR4 geni Gly388Arg Polimorfizminin Genotip Dağılımları

FGFR4 geni 388. Kodonunda Glisinin Arjinine dönüşmesiyle meydana gelen polimorfizmin eklampsi ve HELLP sendromu hasta gruplarında dağılımı Tablo 4.2.2' de gösterilmektedir.

FGFR4 geni 388 bölgesinde Glisin amino asitini kodlayan GGG dizisinde (doğal tip) birinci sırada yer alan guanin bazının (G) yerini Adenin bazı (A) alır. Dolayısıyla 388. kodon AGG biçiminde değişir ve Arjinin amino asitini kodlar. DNA dizisindeki bu değişim MvaI Restriksiyon endonükleaz enzimi için tanıma bölgesi oluşturur. Bu enzime maruz bırakılan 168 bç'lik PCR ürünü 109 ve 82 bç uzunluğunda iki DNA fragmentinin oluşmasıyla sonuçlanmaktadır. Agaroz jel elektroforezinde 109Gly-109Gly homozigot alleli taşıyan bireylerde 109 bç uzunluğunda bir bant gözlenirken, 109Gly-109Arg heterozigot alleli taşıyan bireylerde 109, 82 ve 29 bç uzunluğunda 3 bant gözlenir. 109Arg-109Arg homozigot allelini taşıyan bireylerde de 82 ve 29 bç uzunluğunda 2 bant gözlenir (Şekil 4.1).

FGFR4 geni Gly388Arg polimorfizmi genotip yüzdeleri, eklampsi, HELLP sendromu ve kontrol gruplarında sırasıyla GG alleli için %36.3, %51.06 ve %44.78, GA alleli için %30.30, %25.53 ve %47.2, AA alleli için %33.4, 23.41 ve %7.97 olarak belirlendi. Eklampsi, HELLP sendromu ve kontrol gruplarındaki allel frekansları ise sırasıyla G alleli için 0.51 ve 0.68, A alleli için 0.49 ve 0.32 olarak belirlendi.

Eklampsi ve HELLP sendromunun yer aldığı hasta grubunda FGFR4 geni Gly388Arg meydana gelen polimorfizminin kontrol grubuna göre bir risk oluşturup oluşturmadığı  $\chi^2$  ve Fisher's exact testi ile değerlendirildi. Eklampsi ve HELLP sendromu grupları kontrol grubu ile ayrı ayrı karşılaştırıldı. Eklampsi ve kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlemlendi ( $\chi^2$ :16.634,  $P<0.0005$ ). HELLP sendromu-kontrol grubu arasındaki karşılaştırmada polimorfik allel dağılımı yönünden de istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlemlendi ( $\chi^2$ : 11.966,  $P<0.0005$ ).

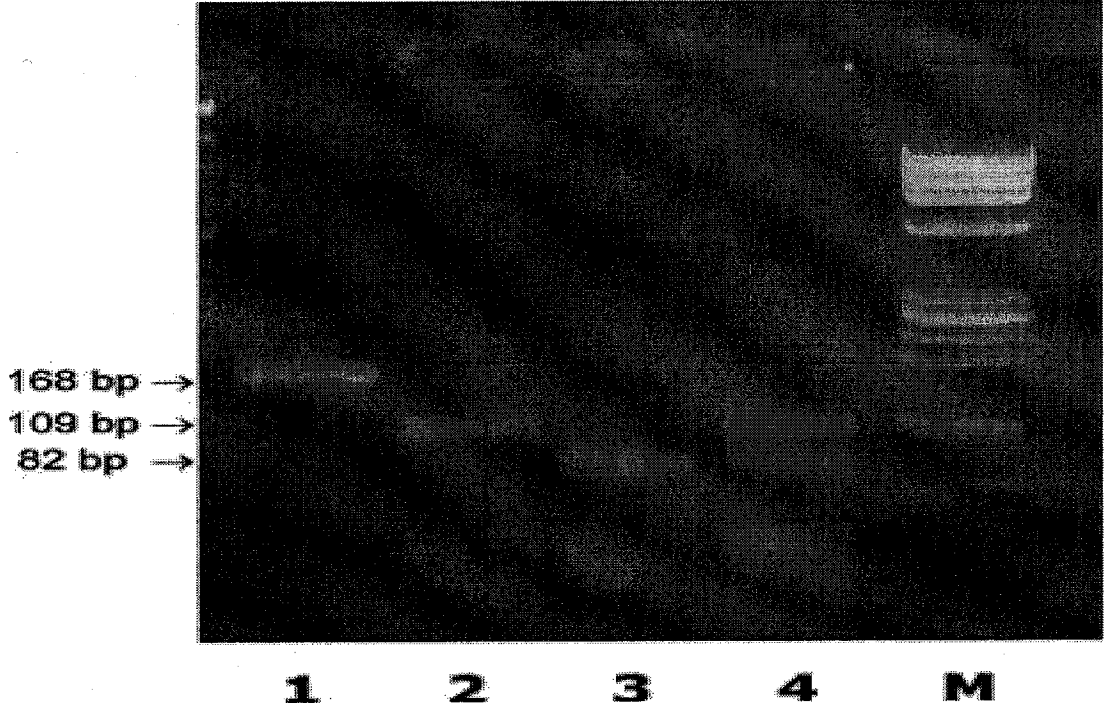
**Tablo 4.2.1. FGFR4 Geninin 388 Bölgesinde Polimorfik Allel Dağılımı**

	GENOTİPLER (ALELLER)	EKLAMPSİ (n:33) %	HELLP (n:47) %	KONTROL (n:163) %
FGFR4 Gly388Arg	GG (Gly109Gly109)	12 %36.3	24 %51.06	73 %44.78
	GA (Gly109Arg82)	10 %30.30	12 %25.53	77 %47.23
	AA (Arg82Arg82)	11 %33.4	11 %23.41	13 %7.97
ALLEL	G	0.51		0.68
FREKANSI	A	0.49		0.32

İstatistiksel değerlendirme sonucunda, 82Arg/Arg alleline sahip bireylerin olmayanlara (109Gly/Gly ve 109 Gly/Arg) göre hastalığın meydana gelme riskinin, eklampsi olan hastalarda 5.76 kat ( $\chi^2$ : 16.634,  $p<0.05$ ) HELLP sendromu hastalarda 3.52 kat ( $\chi^2$ : 11.966,  $p:0.05$ ) daha fazla olduğu tespit edildi (Tablo 4.2.2)

**Tablo 4.2.2. Hastalığın çıkmasında eklampsi ve HELLP sendromunun kontrol grubuna göre taşıdığı risk oranı**

FGFR4 geni	EKLAMPSİ (n:33)	HELLP (n:47)
P değeri	$p<0.005$	$p<0.003$
$\chi^2$ değeri	16.634	11.966
OR(%95CI)	5.76 (2.30 – 14.46)	3.52 (1.46 – 8.51)



**Şekil 4.2. 1.** Hasta gruplarının DNA'larından PCR yöntemi ile amplifiye edilen FGFR4 geni Gly388Arg bölgesinin RFLP yöntemi ile yapılan genotipleme.

- **1:** PCR sonucu elde edilen 168 bp uzunluğundaki fragment
- **2:** PCR ürününün MvaI restriksiyon endonükleaz enzimi ile kesilmesi sonucu elde edilen homozigot GG alleli.
- **3:** PCR ürününün MvaI restriksiyon endonükleaz enzimi ile kesilmesi sonucu elde edilen homozigot AG alleli.
- **4:** PCR ürününün MvaI restriksiyon endonükleaz enzimi ile kesilmesi sonucu elde edilen homozigot AA alleli.
- **M:** Gene Ruler™ DNA Ladder Mix (Belirteç)

## 5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Değişen dünya şartları ile birlikte gelişen teknoloji bizlere yeni hayat standartları sunmaktadır. Bu yeni hayat standartlarında bize kolaylık sağlayan birçok gelişmenin yanında, birçok yeni hastalığın görülmesine de neden olmaktadır. Günümüzde hâla anne- bebek ölümlerinin başında gelen Eklampsi ve HELLP sendromu birçok bireyi etkilemektedir. Gelişen teknolojiyle beraber yeni genetik bulgular, bu hastalığın tedavisinde ve tanısında yeni yöntemlerin geliştirilmesine ışık tutacak ve tutmaya devam edecektir.

Fibroblast Büyüme Faktörleri, hücre içi proteinlerin aktivelere düzenleyerek etki gösterirler. Bu proteinler reseptörden aldıkları sinyalleri, transkripsiyon faktörlerini de içeren bir dizi ek hücre içi hedefe iletirler. Bu değişiklik hücre çekirdeğine ulaşarak gen ekspresyonunda programlanmış değişikliklerin oluşumunu hedefleyen bir hücre içi reaksiyonlar zincirini başlatır. Bu reseptörlerden biri olan FGFR4'de hücrede birçok görevi üstlenmektedir. FGFR4'ün yapısında meydana gelebilecek bir değişiklik, canlının hayati fonsiyonlarında değişikliğe neden olabilecektir. FGFR4'ün yapısında bilinen en yaygın değişiklik Gly388Arg polimorfizmidir. FGFR4'ü kodlayan genin sahip olduğu polimorfizmin birçok hastalığın etiolojisinde önemli olabileceği düşünülmektedir (65).

FGFR4, önemli bir hücre yüzey reseptörüdür. Bu reseptörü kodlayan FGFR4 geninin 388. kodunda meydana gelen polimorfizm çeşitli kanserler, akciğer ve kalp-damar hastalıklarına, pre-eklampsi, eklampsi ve HELLP sendromu gibi diğer bazı hastalıklara karşı koruyuculuk ya da yatkınlık oluşturmaktadır.

Çalışmamızda, FGFR4 geni Gly388Arg polimorfizminin kadınlarda eklampsi ve HELLP sendromu gelişmesinde bir risk faktörü oluşturup oluşturmadığı değerlendirilmiştir. Pre-eklampsi, eklampsi ve HELLP sendromunun ortaya çıkmasında bazı risk faktörleri ileri sürülmektedir. Bu risk faktörlerinden biri de genç anne yaşdır (10). İngiltere'de 1992-2001 yılları arasında yapılan bir hasta-kontrol çalışmasında, pre-eklampsi insidansının üreme yaşı sınırında (<20 yaş ve >40 yaş) bulunan doğum yapmamış bayanlarda daha yüksek olduğu, ayrıca bu hastaların kontrol grubuna göre prematüre doğum oranının da daha yüksek olduğu belirlenmiştir (84). Brajenari-Mili ve arkadaşlarının yaptığı bir başka çalışmada, pre-eklamptik hastaların yaş ortalamasını  $27.9 \pm 4.3$ , kontrol grubunun yaş ortalamasını

ise  $30.6 \pm 5.1$  olarak bulmuşlardır (85). Türkiye'de Yüzüncü Yıl Üniversitesi'nde 1997-2000 yılları arasında yapılan çalışmada ise, 130 ağır pre-eklampsi, eklampsi tanısı konmuş hasta ile 30 HELLP sendromu tanısı konmuş kadından oluşan iki grubun yaş ortalamaları karşılaştırıldığında, HELLP sendromlu hastaların daha yüksek yaş ortalamasına sahip olduğu tespit edilmiştir (pre-eklampsi ve eklampsi hastaları: 29.53 ve HELLP sendromu hastaları: 32.61). Tespit edilen bu farklılığın istatistiksel olarak anlamlı olduğu gösterilmiştir ( $P=0.045$ ) (86). Bizim çalışmamızda, hasta grubunun eklampsi ve HELLP sendromunun ikisinin yaş ortalaması  $26.41 \pm 6.698$  (16-48 yaş) ve kontrol grubunun yaş ortalaması ise  $29.9 \pm 3.892$  (20-50 yaş) olarak saptanmıştır. Bu iki grubun yaş ortalamaları kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı bir farka rastlanmazken, grupların kendi aralarında karşılaştırılması sonucunda, eklampsi grubunun yaş ortalamasının ( $23.88 \pm 6.014$ ) anlamlı olarak daha düşük olduğu tespit edilmiştir ( $p<0.05$ ). Diğer çalışmalarla karşılaştırdığımızda, elde edilen genel sonuçlar uyumlu bulunmazken, eklampsi grubu değerlerinin uyumlu olduğu gösterilmiştir.

Hasta ve kontrol gruplarının parite ve gravida sayıları değerlendirildiğinde, eklampsi grubu ve HELLP sendromu grubunda yer alan bireylerin aynı oranlarda parite ve gravidaya sahip olduğu belirlenmiştir. Parite değerlendirme aralıkları dikkate alındığında (eklampsi 0-3, HELLP sendromu 0-4 ve kontrol grubu 2-4) bu farklılığın çok anlamlı olmadığı görülmektedir. Ayrıca gravida değerlendirme aralıkları da benzer anlamı taşımaktadır (eklampsi 1-4, HELLP sendromu 1-5 ve kontrol grubu 2-4). Gebelik haftası açısından hasta grupları kendi aralarında değerlendirildiğinde de sonuçlar benzer bulunmuştur. Bu kriterlerin ilgili hastalık için risk faktörü olabileceğini gösteren bir kaynağa ulaşılamamıştır.

Bu sendromların ortaya çıkmasında bazı hastalıklarında etken olabileceği düşünülmektedir. Diyabetes Mellitus (DM) ve hipertansiyon bu hastalıklardan en belirgin olanlarıdır. Yapılan bazı çalışmalarda, problemin kalbi olan plasentanın, kütlelerinin DM olan kadınlarda arttığı tespit edilmiştir. Ayrıca bu çalışmalarda daha önce varolan DM öyküsünün, pre-eklampsi gelişimi için bir risk faktörü olduğu da bildirilmektedir (87). Qiu ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, ebeveynlerde tip 2 diabet öyküsünün bulunması pre-eklampsi riskini 2 kat artırdığı ifade edilmektedir. Annede ya da sadece babada DM öyküsünün olması bu risk oranını fazla



değiştirmemekte fakat diyabetik bir kız kardeşe sahip olan kadınlarda bu oranın 4.7 kat artırdığı bildirilmektedir (88). 1992-1998 yılları arasında yapılan hasta-kontrol çalışmasında Bryson ve arkadaşları, hamilelik diyabetin, hafif-ağır pre-eklampsili, eklampsili ve hamilelik hipertansiyonu olan hastalarda (eklampsisi hastalarında %3.9, ağır pre-eklampsisi hastalarında %4.5, hafif pre-eklampsili hastalarda %4.4) kontrol grubuna oranla daha yaygın görüldüğünü bildirmektedirler. Bizim HELLP sendromu grubumuzda sadece 1 hastada DM öyküsü vardır. Eklampsisi grubunda ise DM öyküsü olan hastaya rastlanmamıştır. Eldeki verilerimiz diğer çalışmaların verileriyle uyumlu değildir (88, 89).

Diğer önemli bir risk faktörü hipertansiyondur. Çalışmamızda hipertansiyon tanısı için diastolik kan basıncı değerleri alınmıştır. Kontrol grubunda bulunan bireylerin tansiyon değerleri normal sınırlarda olduğundan sadece hasta grubundaki bireylerin diastolik kan basıncı değerleri incelenmiştir. İki grupta (eklampsisi, HELLP sendromu) yer alan hastaların diastolik kan basıncı ortalamaları  $105.54 \pm 12.259$  mmHg (90-140 mmHg) olarak belirlenmiştir. Sibai ve arkadaşlarının birçok kriterle birlikte kan basıncı ölçümlerini değerlendirdiği çalışmalarında,  $>61$  mmHg diastolik kan basıncının istatistiksel olarak pre-eklampsiiye hazırlayıcı bir etmen olacağı ifade edilmektedir (90).

Önceki gebeliklerde hastalık öyküsü olmasının sonraki gebeliklerde risk oranını artırdığı ve pre-eklampsii, eklampsii, HELLP sendromuna ailesel bir yatkınlık oluşturabilme riski değerlendirildiğinde; Norveç'te yapılan hasta-kontrol çalışmasında, hastalık öyküsü olan bir kadın ve eşinin çocuğunda, hastalık öyküsü olmayan bir eşle olan çocuğa oranla hastalığın ortaya çıkma riskinin iki kat daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca Esplin ve arkadaşları pre-eklampsii öyküsü olan kadınların torunlarında hastalığın ortaya çıkma olasılığının, hastalık öyküsü olmayanlara oranla 2 kat daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir (87). 1996-1997 yılları arasında Ternöv'de yapılan populasyon temelli bir çalışmada, probandin kız kardeşlerinde pre-eklampsii gelişme riski, taşra populasyonunda ilk doğumunu yapanlara oranla 3.7 kat olarak belirlenmiştir. Ayrıca bu çalışmada incelenen annelerin, ilk doğumlarının 40'ından 9'unda pre-eklampsii gelişmiştir. HELLP sendromu gelişmiş probandların annelerinin ilk doğumlarının 14 tanesinin 6'sında pre-eklampsii gelişmiştir (91). Utah'da 1947-1959 yıllarında yapılan bir başka

çalışmada, pre-eklampitik annelerin çocuklarında kontrol grubuna göre hastalığın görülme oranının daha yüksek olduğu bildirilmiştir. Başka bir çalışmada da, pre-eklampsi ve eklampsi insidansının pre-eklampsisi olan kadınların kızlarında %2.5 iken üvey kızlarında %1 olduğu tespit edilmiştir (92). Bu çalışmaların dışında Chesley ve arkadaşlarının yaptığı başka bir çalışmada, ailesel pre-eklampsi öyküsü risk faktörü olarak gösterilmemiştir. Çalışmamızda önceki gebeliklerinde hastalık öyküsü yönünden hasta grupları karşılaştırıldığında benzer sonuçlar elde edilmiştir. Ayrıca hasta grupları ailesel pre-eklampsi öyküsü yönünden değerlendirildiğinde de, eklampsi grubunda aile öyküsü tespit edilmezken HELLP sendromu grubunda benzer oran bulunmuştur ve hasta grupları arasında ailesel yatkınlık yönünden fark görülmemiştir. Sonuç olarak, çalışma bulgularımız açıklanan diğer çalışmalarla uyumlu bulunmazken Chesley ve arkadaşlarının yaptığı çalışma ile uyumlu bulunmuştur (93).

Çalışmamızın yapılma amacı, bir hücre yüzey reseptörü olan, FGFR4'ü kodlayan gendeki 388Gly→Arg polimorfizminin, eklampsi ve HELLP sendromu gelişmesinde risk faktörü olup olmadığını belirlemektir. İncelediğimiz bu polimorfizm reseptörün yapısında değişikliğe neden olduğu oluşan yeni formda reseptörün yapısında meydana gelen değişiklikler sonucunda bu hastalıkların fizyopatolojisinde yer alan oksidatif stres ve beraberinde endotel hücre hasarının geliştiği sorunları ortaya çıkardığı düşünülmektedir. Çalışma sonucunda polimorfik allel dağılımının hasta grubunda kontrol grubuna göre anlamlı bir fark gösterdiği tespit edilmiştir. Gruplar, polimorfik allel dağılımı yönünden ayrı ayrı değerlendirildiğinde ise, eklampsi ve HELLP sendromu grubunun kontrol grubuna göre anlamlı olarak farklı olduğu bulunmuştur. Türkiyede yapılan bir çalışmada preeklampsi olan kadınlarda FGFR4 geni Gly388Arg polimorfizmi araştırılmıştır. Bu çalışma FGFR4 geni Gly388Arg polimorfizmi ile preeklampsi arasındaki ilişkiyi araştıran ilk çalışmadır. Bu çalışmanın sonucunda hastalık ile polimorfizm arasında anlamlı bir sonuç bulunamamıştır ( $p>0.05$ , OR=1.2, 95%CI:0.47-3.22) (94). Birçok hastalıkta biyolojik belirteç olarak kullanılacak FGFR4 geni Gly388Arg polimorfizmi eklampsi ve HELLP sendromu hastalarında nispi risk oranları, hasta ve kontrol grupları arasında karşılaştırıldığında elde edilen sonuçların anlamlı olduğunu tespit ettik. Bir çok hastalıkta biyolojik belirteç olarak kullanılacak FGFR4 geni

Gly388Arg polimorfizmi eklampsi ve HELLP sendromunda da belirteç olarak kullanılabileceğini eklampside ( $p < 0.5$ , OR=5.76,95%CI: 2.30-14.46) HELLP sendromunda ( $p < 0.05$ , OR= 3.52 95%CI: 1.46-8.51) bulduk. Bunun nedeninin eklampsi ve HELLP sendromunun pre-eklampsiye oranla daha ağır birer hastalık olması olabilir (87).

Sonuç olarak, eklampsi ve HELLP sendromu ile Gly388Arg polimorfizmi arasında anlamlı bir birliktelik bulunduğu sonucuna vardık. Anne ve fetus sağlığı için büyük bir tehdit oluşturan bu sendromlar için genetik kökenin olup olmadığı sorusunu kesin olarak yanıtlayabilecek bu tür çalışmalar, çözüme yönelik çalışmaların da hız kazanmasına neden olacaktır. Ayrıca ailesel yatkınlığın anlaşılması, risk faktörlerinin belirlenmesi, genetik danışmanlık adına etkin eğitim verilmesini de sağlaması açısından önem taşımaktadır.

## 8. KAYNAKLAR

1. Sibai B.M., Usta I.M.: Chronic Hypertension in Pregnancy. In: Sciarra J.J., ed. Gynecology and Obstetrics. Philadelphia: Lippicott, 1995.
2. Ökten F., Şen S., Gebelikte Hipertansif Hastalıklar, Pre-eklampsi, Eklampsi, HELLP Sendromunda Obstetrik Anestezi. Ankara N. Vers. Tes. Tıp Fakültesi Mecmuası, Cilt: 55, Sayı: 1, 2002.
3. Diagnosis and Management of Preeclampsia and Eclampsia. ACOG Practice Bulletin 1. 99 (1): 159-66, 2002.
4. Demirkan O. Yoğun Bakımda Maternal Mortalite ve Morbidite. İ. Ü. Cerrahpaşa Tıp Eğitimi Etkinlikleri Maternal Mortalite ve Morbidite Sempozyumu, İstanbul, Sayfa: 89-112, 23.06.1999.
5. Data base. <http://www.fdg.unimaas.nl/hellp/introduction.html>.
6. Weinstein L., Syndrome of Hemolysis, Elevated Liver Enzymes and Low Platelet Count: A Severe Consequence of Hypertension in Pregnancy. Am. J. Obstet Gynecol 142: 159-67; 1982.
7. Lindheimer M.D., Roberts J.M., Cunningham F.G., Chesley L. Chesley's Hypertensive Disorders in Pregnancy, 2nd ed, Appleton & Lange. Connecticut, 1998.
8. Lachmeijer Augusta M.A., Dekker Guustaaf A., Pals G., Aarnoudse J.G., P. ten Kate L., Arngrimsson R. Searching for Pre-eclampsia Genes: The Current Position. European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology. 105: 94-113, 2002.
9. Knopp U., Kehler U., Rickmann H., Arnold H., Gliemroth J. Cerebral Haemodynamic Pathologies in HELLP Syndrome, Clinical Neurosurgery 105: 256-261, 2003.
10. Lew M., Klonis E. Emergency Management of Eclampsia and Severe Pre-eclampsia. Emergency Medicine 15, 361-368, 2003.
11. Roberts J.M., Cooper D.W. Pathogenesis and Genetics of Pre-eclampsia. Lancet 357: 53-56, 2001.
12. Sibai B. M. Eclampsia VI. Maternal-Perinatal Outcome in 254 Consecutive Cases. Am. J. Obstet Gynecol 163: 1045, 1990.

13. Merviel P., Carbillon L., Challier J-C., Rabreau M., Beaufile M., Uzan S. Pathophysiology of Pre-eclampsia: Links with Implantation Disorders. *Europ. J. of Obst. & Gyn. and Rep. Bio.* 115:134-147, 2004.
- 14.. Yamaç K., Gürsoy R., Çakır N. *Gebelik ve Sistemik Hastalıklar. M.N Medikal & Nobel. ISBN 975-567-019X, 2002.*
15. Davies AM. *Geographical Epidemiology of Toxemias of Pregnancy-Israel: Charles C Thomas, 1971.*
16. Francis Badria L., Amarin Z.O. Does Consanguinity Affect The Severity of Pre-eclampsia? *Arch Gynecol Obstet.* 268: 117-120, 2003.
- 17 Lindheimer M.D., Roberts J.M., Cunningham F.G., Chesley L. *Chesley's Hypertensive Disorders in Pregnancy, 2nd ed, Appleton & Lange. Connecticut, 1998.*
18. Hall J.G. *Genomic Imprinting: Nature and Clinical Relevance. Annu Rev Med.* 48 (35-44): 35-44, 1997.
19. Moses E.K., Lade J.A., Guo G., Wilton A.N., Grehan M., Freed K., Borg A., Terwilliger J.D., North R., Cooper D.W and Brennecke S.P. A Genom Scan in Familes from Australia and Zealand Confirms the Presence of A Maternal Susceptibility Locus for Pre-eclampsia, on Chromosome 2. *Am. J. Hum. Genet.* 67:1581-1585, 2000.
20. Moses E.K., Lade J.A., Guo G., Wilton A.N., Grehan M., Freed K., Borg A., Terwilliger J.D., North R., Cooper D.W and Brennecke S.P. A Genom Scan in Familes from Australia and Zealand Confirms the Presence of A Maternal Susceptibility Locus for Pre-eclampsia, on Chromosome 2. *Am. J. Hum. Genet.* 67:1581-1585, 2000.
21. Lachmeijer A.M.A., Arngrimsson R., Bastiaans E.J., Frigge M.L., Pals G., Sigurdardottir S., Stefansson H., Palsson B., Nicolae D., Kong A., Aanoudse J.G., Gulcher J.R., Dekker G.A., Kate L.P ten. and Stefanson K. A Genome-Wide Scan For Pre-eclampsia in The Netherlands. *Europ. J. Of Human Genetics.* 9:758-764,2001.
22. Doering T.P., Haller N.A., Montgomery M.A., Freeman E.J. and Hopkins M.P. The Role of AT<sub>1</sub> Angiotensinogen Reseptor Activation in The Pathogenesis of Pre-eclampsia. *Am. J. Obstet Gynecol.* 178: 1307-1312, 1998.
23. Morgan T., Craven C., Ward K. Human Spiral Artery Renin-Angiotensin System. *Hypertension.* 32: 683-687, 1998.

24. Choi H., Kang J.Y., Yoon H.S., Han S.S., Whang C.S., Moon I.G., Shin H.H., Park J.B. Association of Angiotensin-Converting Enzyme and Angiotensinogen Gene Polymorphisms with Pre-eclampsia. *J. Korean Med. Sci.* 19: 253-257, 2004.
25. Procopciuc L., Jebeleonu G.H., Surcel I., Puscas M. Angiotensinogen Gene M235T Variant and Pre-eclampsia in Romanian Pregnant Women. *J. Cell. Mol. Med.* 6 (3): 383-388, 2002.
26. Guanglon G., Jennifer A.L., Wilton A.N., Moses E.K., Grehan M., Qiu Y.H., Cooper D.W., Brennecke S.P. Genetic Susceptibility to Pre-eclampsia and Chromosome 7q36. *Hum. Genet.* 105:641-647, 1999.
27. Hingoran A.D. Endothelial Nitric Oxide Synthase Polymorphisms and Hypertension. *Curr Hypertens Rep.* 5 (1): 19-25, 2003.
28. Makino A., Nakanishi T., Sugiura-Ogasawara M., Ozaki Y., Suzumori N., Suzumori K. No Association of C677T Methylenetetrahydrofolate Reductase and Endothelial Nitric Oxide Synthase Polymorphism with Recurrent Pregnancy Loss. *A.J.R.I.* 52:60-66, 2004.
29. Bashford M.T., Hefler L.A., Vertrees T.W., Roa B.B., Gregg A.R., Angiotensinogen and endothelial Nitric Oxide Synthase Gene Polymorphisms Among Hispanic Patients with Pre-eclampsia. *Am. J. Obstet Gynecol.* 184(7):1345-1350, 2001
30. Hakli T., Romppanen E-L., Hiltunen M., Helisalme S., Punnonen K., Heinonen S. Endothelial Nitric Oxide Synthase Polymorphism in Pre-eclampsia. *J. Soc. Gynecol Investing.* 10 (3):154-157, 2003.
31. Larvuori H., Kaaja R., Ylikorkala O., Hiltunen T. And Kontula K. 677C→T Polymorphism of The Methylenetetrahydrofolate Reductase Gene and Pre-eclampsia. *The American College of Obstetricians and Gynecologists.* 96 (2): 277-280, 2000.
32. Sohda S., Arinami T., Hamada H., Yamada N., Hamaguchi H., Kubo T., Methylenetetrahydrofolate Reductase Polymorphism and Pre-eclampsia. *J. Med. Genet.* 34(6):525-526, 1997.
33. Pregoraro R.J., Chikosi A., Rom Lee., Roberts C., Moodley J. Methylenetetrahydrofolate Reductase Gene polymorphisms in Black South Africans and The Association with Pre-eclampsia. *Acta Obstet Gynecol scand.* 83:449-454, 2004.
34. Kaiser T., Brennecke S.P., Moses E.K. Methylenetetrahydrofolate Reductase Polymorphisms are Not A Risk Factor for Pre-eclampsia/Eclampsia in Australian Women. *Gyn. and Obst. Invest.* 50: 100-102, 2000.

35. Yılmaz H., Ünlüçerçi Y., Gürdöl F., Isbilen E., Isbir T. Association of Pre-eclampsia with Hyperhomocysteinemia and Methylenetetrahydrofolate Reductase Gene C677T Polymorphism in A Turkish Population. *Aust. and N.Z.J. of Obst. and Gyn.* 44: 423-427, 2004.
36. Bloomenthal D., Dadelszen P.V., Liston R., Magee L., Tsang P. The Effect of Factor V Leiden Carriage on Maternal and Fetal Health. *C.M.A.J.* 167 (1): 48-54, 2002.
37. Hashimoto K., Shizusawa Y., Shimaya K., Ohashi K., Shimizu T., Azuma C., Murata Y. The Factor V Leiden Mutation in Japanese Couples with Recurrent Spontaneous Abortion. *Hum. Rep.* 14 (7): 1872-1874, 1999.
38. Promusinto D., Sknablin S., Fimmers R., van der Ven K. Ethnic Differences in The Association of Factor V Leiden Mutation and The C677T Methylenetetrahydrofolate Reductase Gene Polymorphism with Pre-eclampsia. *Europ. J. of Obst. and Gyn. and Rep. Bio.* 112:162-169, 2004.
39. O'Shaughnessy K.M., Fu B., Ferraro F., Lewis I., Downing S., Morris N.H. Faktor V Leiden and Thermolabile Methylenetetrahydrofolate Reductase Gene Variants in an East Anglian Pre-eclampsia Cohort. *Hypertension.* 33 (6): 1338-1341, 1999.
40. Camileri R.S., Peebles D., Portmann C., Everington T., Cohen H. -455 G/A beta-Fibronogen Gene Polymorphism, faktor V Leiden, Prothrombin G20210A Mutation and MTHFR C677T and Placental vascular Complications. *Blood Coagul. Fibrinolysis.* 15 (2): 139-147, 2004.
41. Yamada N., Arinami T., Yamafawa-Kobayashi K., Watanabe H., Sohda S., Hamada H., Kubo T., Homoguchi H. The 4G/5G Polymorphism of The Plasminogen Activator Inhibitor-1 Gene is Assosiated with Severe Pre-eclampsia. *J. Hum. Genet.* 45 (3): 138-141, 2000.
42. Fabbro D., D'Elia A.V., Spizzo R., Driul L., Barillari G., Di Loreto C., Marchesoni D., Damante G. Association Between plazminogen Activator Inhibitor 1 Gene Polimorphisms and Pre-eclampsia. *Gynecol Obstet Invest.* 56 (1): 17-22, 2003.
43. Hakli T., Rompanen E.L., Hiltunen M., Helisalmi S., Punnonen K., Heinonen S. Plasminogen Activator Inhibitor-1 polymorphism in Women with Pre-eclampsia. *Genet. Test.* 7 (3): 265-268, 2003.

44. O'Shaughnessy K.M., Fu B., Downing S., Morris N.H. Thrombophilic Polymorphisms in Pre-eclampsia: Altered Frequency of the Function 98C>T Polymorphism of Glycoprotein IIIa. *J. Med. Genet.* 38: 775-777, 2001.
45. Pegoraro R.J., Hira B., Rom L., Moodley J. Plasminogen Activator Inhibitor Type 1 (PAI1) and Platelet Glycoprotein IIIa (PGIIIa) Polymorphisms in Black South Africans with Pre-eclampsia. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 82: 313-317, 2003.
46. Hira B., Pegoraro R.J., Rom L., Moodley J. Absence of Factor V Leiden, Thrombomodulin and Prothrombin Gene Variants in Black South African Women with Pre-eclampsia and Eclampsia. *B. J. O. G.* 110 (3): 327-328, 2003.
47. Chikosi A.B., Moodley J., Pegoraro R.J., Lanning P.A., Rom L. Apolipoprotein E Polymorphism in South African Zulu Women with Pre-eclampsia. *J. Hum. Genet.* 45 (3): 138-141, 2000.
48. O'Brien M., Dausset J., Carosella E.D., Moreau P. Analysis of The Role of HLA-G in Pre-eclampsia. *Human Immunology.* 61: 1126-1131, 2000.
49. Bermingham J., Jenkins D., McCarthy T., O'Brien M. Genetic Analysis of Growth factorII and HLA-G in Pre-eclampsia. *Biocheical Society Transactions.* 28 (2): 215-219, 2000.
50. Kilpatrick D.C. Influence of Human Leukocyte Antigen Tumour Necrosis Factor Genes on The Development of Pre-eclampsia. *Europ. Soc. of Hum. Rep. and Emb.* 5 (2): 94-102, 1999.
51. Lachmeijer A.M.A., Crusius B.A., Pals G., Dekker G.A., Arngrimsson R., tenKate L.P. Polymorphism in The Tumour Necrosis factor and Lymphotoxin- $\alpha$  Gene Region and Pre-eclampsia. *ACOG.* 98 (4): 612-619, 2001.
52. Heiskonen J., Roppanen R-L., Hiltunen M., Livonen S., Mannermaa A., Punnonen K., Heinonen S. Polymorphism in The Tumour Necrosis Factor- $\alpha$  Gene in Women with Pre-eclampsia. *J. Assist. Reprod. Genet.* 19: 220-223, 2002.
53. Kaiser T., Gerhan M., Brennecke S.P., Moses E.K. Assosiation of The TNF2 Allel with Eclampsia. *Gyn. and Obst. Invest.* 57 (4): 204-209, 2004.
54. Hefler L.A., Tempfer C.B., Gregg A.R. Polymorphisms Within The Interleukin-1 $\beta$  gene Cluster and Pre-eclampsia. *ACOG.* 97: 664-668, 2001.



55. Hubel C.A., Roberts J.M., Ferrell R.E. Association of Pre-eclampsia with Common Coding Sequence Variations in The Lipoprotein Lipase Gene. *Clin. Genet.* 56: 289-296, 1999.
56. Kim Y.J., Williamson R.A., Chen K., Smith J.L., Murray J.C., Merrill D.C. Lipoprotein Lipase gene Mutations and The Genetic Susceptibility of Pre-eclampsia. *Hypertension* 38: 992-996, 2001.
57. Phillips I.R., Shephard E.A., Povey S., Davis M.B., Kelsey G., Monteiro M., West L.F., Cowel J. A Cytochrome P450 Gene Family Mapped to Human Chromosome 19. *Ann. Hum. Genet.* 49 (4): 267-74, 1985.
58. Davis M.B., West L.F., Shephard E.A., Phillips I.R. Regional Localization of A Human Cytochrome P450 (CYP 1) to Chromosome 19q13.1-13.3. *Ann. Hum. Genet.* 50 (3): 237-40, 1986.
59. Çelik K, Armutcu F, Aker A. Human Placental Glutathione-S-Transferase: Isolation, Kinetic Properties and in vitro Interactions with Several Dugs. *C.Ü.Tıp Fakültesi dergisi.* 25(4):187-192, 20003.
60. Hirvmen A. Polymorphisms of Xenobiotic-Metabolizing Enymes and Susceptibility yo Cancer. *Enviromental Healty Perspective.* 107 (1): 37-46, 1999.
61. Standberg M., Hassett C., Adman E.T., Meijer J., Omiecinski C.J. Identification and Functional Characterization of Soluble Epoxide Hydrolase Genetic Polymorphisms. *The Journal of Biological Chemistry.* 275 (37): 28873-28881, 2000.
62. Murray K. R., Harper'ın Biyokimyası. *Żenobiyotiklerin Metabolizması.* ISBN:975-95331-1-1, 799-806, 1996.
63. Raaka S, Haset C, Omiecinski C.J. Human Microsomal Epoxide Hydrolase: 5'-Flanking Region Genetic Polymorphisms. *Carcinogenesis.* 19 (3): 387-393, 1998.
65. Geoffey M. Cooper- Robert E. Hausman Hücreye Moleküler Yaklaşım. Syf: 550, 551, 552, 553, 554, 555. İzmir Tıp Kitapevi, İzmir 2006
66. [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/omim/FGFR4\\_gene](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/omim/FGFR4_gene)
67. Bange J, Prechtl D, Chebukin Y. Cancer progression and tumor cell motility are associated with the FGFR4 Arg388 allele. 2002;62: 840-847. 2012.

68. Morimoto Y, Ozaki T, Ouchida M. Single nucleotide polymorphism in fibroblast growth factor receptor 4 at codon 388 is associated with prognosis in high soft tissue sarcoma. DOI 10.1002/ cncr.11778. 2003.

69. Sterit S, Mestel DS, Schmidt M, Ullrich A, Berking C. FGFR4 Arg388 allele correlates with tumour thickness and FGFR4 protein expression with survival of melanoma patients (2006) 94, 1879-1886. 2006.

70. Matakiodu A, Galta E. R, Rudd MF, Webb El. Further observations on the relationship between the FGFR4 Gly388Arg polymorphism and lung cancer prognosis. 96, 1904-1907. 2007.

71. Brito P. L, Lerario M. A, Bronstein D. M, Influence of the fibroblast growth factor receptor 4 expression and the G388R functional polymorphism on cushing's disease outcome. 95(10): E271-E279. 2010.

72. Xu B, Tong N, Chen Q. S, Hua X. L FGFR4 Gly388Arg polymorphism contributes to prostate cancer development and progression : A meta- analysis of 2618 cases and 2305 controls. 1471- 2407, 2011.

72. Lüleci G., Sakızlı M., Alper Ö., Renkli Genetik Atlası ISBN: 975-420-035-1, 1995.

73. Powledge T.M. The polymerase Chain Reaction. Adv. Physiol. Educ. 28: 44-50, 2004.

74. [http://en.wikipedia.org/wiki/single\\_nucleotide\\_polymorphism](http://en.wikipedia.org/wiki/single_nucleotide_polymorphism)

75. [http://yunus.hacattepe.edu.tr/mergen/WEB/derleme/d\\_snp.pdf](http://yunus.hacattepe.edu.tr/mergen/WEB/derleme/d_snp.pdf)

76. Klug W.S, Cumming M.R. (Çeviri editörü: Öner C) (2002) Genetik Kavramlar Palme Yayıncılık Altıncı baskı. ISBN:0-13-081626-4, Sayfa: 515-17

77. Yıldırım A., Bardakçı F., Karataş M., Tanyolaç B. (Editörler) (2007) Moleküler Biyoloji. Nobel Yayın Dağıtım birinci basımı. Sayfa :543-46

78. . [http://yunus.hacattepe.edu.tr/mergen/WEB/sunu/s\\_restrictions.pdf](http://yunus.hacattepe.edu.tr/mergen/WEB/sunu/s_restrictions.pdf)

79. <http://web.inonu.edu.tr/iozerol/rdurmaz/UygMolMikr/109.pdf>

80. Başbüyük H.H., Bardakçı F., Belshaw R., Quicke D.L.J. Phylogenetic Systematics: A PracticaQuide to Theory and Practice. Önder matbaa, Sivas/Turkey, 2000.

81. Klug W.S., Cummings M.R. (Çeviri editörü: Öner C.) Genetik Kavramlar. Palme yayıncılık Altıncı baskı, ISBN: 0-13-081626-4, Sayfa: 515-17, 2003.
82. Daawson L.M., Parfrey P.S., Hefferton D., Dicks E.L., Cooper M.J., Young D., Marsden P.A. Familial Risk of Pre-eclampsia in Newfoundland: A Population-Based Study. *J. Am. Soc. Nephrol.* 13: 1901-1906, 2002.
82. Esplin M.S., Fausett B., Fraser A., Kerber R., Mineau G., Carrillo J., Varner M.W. Paternal and Maternal Component of the Predisposition to Pre-eclampsia. *N. Engl. J. Med.* 344 (12): 867-872, 2001.
83. Zar J.H. Biostatistical Analysis. Fourth Edition. ISBN:013081542X, Sayfa: 489, 1998.
84. Al-Muhim A., Abu-Heija A., Al-Yamma F., El-Harith E.A. Pre-eclampsia: Maternal Risk Factors and Perinatal Outcome. *Fetal Diagnosis and Therapy.* 18:275-280, 2003.
85. Brajenari-Mili B., Tislri D., Uvi-Butorae M., Ba J, Petrovi O., Risli S., Mimica M., Kapavi M. Elevated Second-Threemestrit Free -hCG as An Isolated Finding and Pregnancy Outcomes. *Fetal Diagnosis and Therapy.* 19(6):483-497, 2004.
86. Şahin H.G., Şahin H.A., Şahin I., Onbaşı K. Risk Factors for The High Prevalence of HELLP Syndrome and The Outcome. Index. University of yuzuncu Yıl Medical Faculty, Van/Turkey, 1997-2000.
87. Pipkin F.B., Phil D. Risk Factors for Pre-eclampsia. *N Engl Med.* 344(12): 925-26, 2001.
88. Qiu C., Williams M.A., Leisenring W.M., Sorensen T.K., Frederick I.O., Dempsey J.C., Luthy D.A. Family History of Hypertension and Type 2 Diabetes in Relation top Pre-eclampsia Risk. *Hypertension.* 41: 408-413, 2003.
89. Bryson C.L., Ioanou G.N., Rulyak S.J., Critchlow C. Association Between Gestational Diabetes and Pregnancy-Induced Hypertension. *Am. J. Epidemiol.* 158: 1148-1153, 2003.
90. Sibai B.M., Ewell M., Levine R.J., Klebaneff M.A., Esterlitz J., Catalana P.M., Goldenberg R.L., Joffe G. Risk factors Associated with Pre-eclampsia in healthy

Nulliparous Women. The Calcium for Pre-eclampsia Prevention (CPEP) Study Group. *Am. J. Obstet Gynecol.* 177 (5): 1003-10, 1997.

91. Daawson L.M., Parfrey P.S., Hefferton D., Dicks E.L., Cooper M.J., Young D., Marsden P.A. Familial Risk of Pre-eclampsia in Newfoundland: A Population-Based Study. *J. Am. Soc. Nephrol.* 13: 1901-1906, 2002.

92. Esplin M.S., Fausett B., Fraser A., Kerber R., Mineau G., Carrillo J., Varner M.W. Paternal and Maternal Component of the Predisposition to Pre-eclampsia. *N. Engl. J. Med.* 344 (12): 867-872, 2001.

93. Chesley L.C., Cooper D.W. Genetics of Hypertension in Pregnancy: Possible Single Gene Control of Pre-eclampsia in The Descendants of Eclamptic Women. *Br. J. Obstet Gynaecol.* 93 (9): 898-908, 1989.

94. Gunes EG, Pinarbasi E. Fibroblast growth factor receptor 4 Gly388 Arg polymorphism is not associated with pre-eclampsia in Turkish women. *Obstet Gynaecol Res.* 2011 Dec;37(12):1824-7. doi: 10.1111/j.1447-0756.2011.01620.x. Epub 2011 Aug 10.

## EK-1

### KONTROL GRUBU

Çalışmaya Alınacak Bireylerin Özellikleri;

1. Yaş 18-35 arasında olacak,
2. Sigara içmeyecek,
3. En az iki canlı doğum yapmış olacak,
4. Spontan abortus öyküsü olmayacak, istemli D/C alınabilir,
5. Kendisi ve ailesinde (anne, teyze, kız kardeş) pre-eklampsi, eklampsi ve HELLP sendromu öyküsü olmayacak,
6. Hipertansiyon, Diyabetes Mellitus (DM), vasküler hastalık ve otoimmün hastalık olmayacak.

Adı Soyadı:

Yaşı:

Gebelik sayısı:

Doğum sayısı:

Yaşayan çocuk sayısı:

Abortus sayısı:

Küretaj sayısı:

Çalışmaya katılmayı kabul ediyorum.

İMZA

**EK-2**

**EKLAMPSİ VE HELLP SENDROMU HASTA GRUBU**

Çalışmaya Alınacak Hastalarda Uygulanan Anket;

Adı Soyadı:

Telefon no:

Protokol no:

Yaş:

Gebelik  
Sayısı

Doğum  
Sayısı:

Yaşayan Çocuk  
Sayısı:

Abortus  
Sayısı:

Diyabet öyküsü: Var Yok

Sigara kullanımı: İçiyor İçmiyor

Hastanın eşi ile akrabalığı: Var Yok

Hastanın annesi ile babası arasında akrabalık: Var Yok

Hastanın ailesinde pre-eklampsi nedeniyle maternal mortalite: Var Yok

Önceki gebelikte pre-eklampsi: Var Yok

Ailede pre-eklampsi öyküsü: Kız kardeş Anne Teyze

Sosyo-ekonomik düzey : Düşük Orta

Yüksek Organ tutulumu: Beyin Böbrek Pulmoner ödem Göz

Tanı: Eklmepsi HELLP sendromu

Gebelik Haftası:

Diastoloik kan basıncı:

Çalışmaya katılmayı kabul ediyorum.

İMZA

CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALARI ETİK KURULU KARAR FORMU

BAŞVURU BİLGİLERİ	ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	EKLEMSİLİ ve HELLP sendromlu hastalarda FGFR4 geninde Gly388Arg polimorfizminin araştırılması			
	ARAŞTIRMA PROTOKOL KODU				
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	Prof. Dr. Ergün Pınarbaşı/Uğur Kartal YL öğrencisi			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ UZMANLIK ALANI	Tıbbi Biyoloji AD			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ	Cumhuriyet Üniversitesi			
	DESTEKLEYİCİ				
	DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMSİLCİSİ				
	ARAŞTIRMANIN FAZİ	FAZ 1	<input type="checkbox"/>		
		FAZ 2	<input type="checkbox"/>		
		FAZ 3	<input type="checkbox"/>		
FAZ 4		<input type="checkbox"/>			
ARAŞTIRMANIN TÜRÜ	Yeni Bir Endikasyon	<input type="checkbox"/>			
	Yüksek Doz Araştırması	<input type="checkbox"/>			
	Diğer ise belirtiniz: Yüksek lisans tezi				
ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ <input checked="" type="checkbox"/>	ÇOK MERKEZLİ <input type="checkbox"/>	ULUSAL <input type="checkbox"/>	ULUSLARARASI <input type="checkbox"/>	

Handwritten signatures and initials of the committee members, including names like Ergün Pınarbaşı and Uğur Kartal.

**CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALARI ETİK KURULU KARAR FORMU**

DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ			Türkçe <input checked="" type="checkbox"/> İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/>
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU			Türkçe <input checked="" type="checkbox"/> İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/>
	OLGU RAPOR FORMU			Türkçe <input type="checkbox"/> İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/>
	ARAŞTIRMA BROŞÜRÜ			Türkçe <input type="checkbox"/> İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/>
DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	Belge Adı	Açıklama		
	TÜRKÇE ETİKET ÖRNEĞİ	<input type="checkbox"/>		
	SİGORTA	<input type="checkbox"/>		
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	<input type="checkbox"/>		
	BIYOLOJİK MATERYEL TRANSFER FORMU	<input type="checkbox"/>		
	HASTA KARTI/GÜNLÜKLERİ	<input type="checkbox"/>		
	İLAN	<input type="checkbox"/>		
	YILLIK BİLDİRİM	<input type="checkbox"/>		
	SONUÇ RAPORU	<input type="checkbox"/>		
	GÜVENLİLİK BİLDİRİMLERİ	<input type="checkbox"/>		
DİĞER:	<input type="checkbox"/>			
KARAR BİLGİLERİ	Karar No: 2012-02/13	Tarih: 15.02.2012		
	Yukarıda bilgileri verilen klinik araştırma başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş çalışmanın başvuru dosyasında belirtilen merkezlerde gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına toplantıya katılan Etik Kurul üye tam sayısının oy birliği ile karar verilmiştir.			

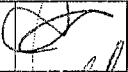


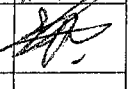
**CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALARI ETİK KURULU**

<b>ÇALIŞMA ESASI</b>	Klinik Araştırmalar Hakkında Yönetmelik, İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu
<b>BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI:</b>	Prof. Dr. Ayhan Koyuncu

Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet		Araştırma ile ilişki		Katılım *		İmza
			E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Ayhan Koyuncu	Genel Cerrahi	Cumhuriyet Üniversitesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Saadettin Kılıçkap	Medikal Onkoloji	Cumhuriyet Üniversitesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Erol Kisli	Genel Cerrahi	Cumhuriyet Üniversitesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	Katılmadı
Doç. Dr. Hülya Toker	Periodontolog	Cumhuriyet Üniversitesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Yrd. Doç. Dr. Ziyet Çınar	Biyoistatistik ABD	Cumhuriyet Üniversitesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Yrd. Doç. Dr. Gülay Yıldırım	Tıp Tarihi ve Etik Anabilim Dalı	Cumhuriyet Üniversitesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Yrd. Doç. Dr. Köksal Deveci	Biyokimya Uzmanı	Cumhuriyet Üniversitesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Yrd. Doç. Dr. Ali Kaya	Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Uzmanı	Cumhuriyet Üniversitesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Yrd. Doç. Dr. Ahmet Altun	Tıbbi Farmakoloji Uzmanı	Cumhuriyet Üniversitesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	Görevli
Yrd. Doç. Dr. Fatih Kılıçlı	Endokrinoloji Bilim Dalı	Cumhuriyet Üniversitesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	



CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALARI ETİK KURULU KARAR FORMU

Yrd. Doç. Dr. Ayşe Demirkazık	Biyofizik ABD	Cumhuriyet Üniversitesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Uzm. Dr. Mutlu Doğan	Genel Cerrahi	Sivas Numune Hastanesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Uzm. Dr. Levent Sağlam	Aile Hekimliği	Sivas Numune Hastanesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Öğr. Gör. Engin Daşlı	Avukat	Cumhuriyet Üniversitesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Öğret. Şemsettin Ağtaş,	Biyoloji Öğretmeni	Sivas Lisesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	Katılmadı

\* :Toplantıda Bulunma

## ÖZGEÇMİŞ

### Kişisel bilgiler

Adı Soyadı	Uğur KARTAL
Doğum Yeri ve Tarihi	Göksun, 10/08/1988
Medeni Hali	Bekar
Yabancı Dil	İngilizce
İletişim Adresi	Cumhuriyet Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji AD, 58140-Sivas
E-posta Adresi	ugenetik@hotmail.com

### Eğitim ve Akademik Durumu

Lise	Kocasinan Lisesi, 2004
Lisans	Cumhuriyet Üniversitesi, 2010