

**TEKRARLAYAN GEBELİK KAYBI OLAN KADINLARDA  
FAKTÖR V G1691A, FAKTÖR II G20210A, MTHFR C677T ve  
FAKTÖR V H1299R MUTASYONLARININ DEĞERLENDİRİLMESİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

Münevver Nisa CAN

Danışman

Prof. Dr. Mustafa YILDIZ

İkinci Danışman

Prof. Dr. Müjgan ÖZDEMİR ERDOĞAN

**MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI**

Şubat 2022

Bu tez çalışması 19.FEN.BİL.35 numaralı proje ile Afyon Kocatepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir.

**AFYON KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**TEKRARLAYAN GEBELİK KAYBI OLAN KADINLARDA**  
**FAKTÖR V G1691A, FAKTÖR II G20210A, MTHFR C677T VE**  
**FAKTÖR V H1299R MUTASYONLARININ**  
**DEĞERLENDİRİLMESİ**

**Münevver Nisa CAN**

**Danışman**

**Prof. Dr. Mustafa YILDIZ**

**İkinci Danışman**

**Prof. Dr. Müjgan ÖZDEMİR ERDOĞAN**

**MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI**

**Şubat 2022**

## TEZ ONAY SAYFASI

Münevver Nisa CAN tarafından hazırlanan “Tekrarlayan Gebelik Kaybı Olan Kadınlarda Faktör V G1691A, Faktör II G20210A, MTHFR C677T ve Faktör V H1299R Mutasyonlarının Değerlendirilmesi” adlı tez çalışması lisansüstü eğitim ve öğretim yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca 17/02/2022 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından **oy birliği** ile Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü **Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı**’nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

**Danışman** : Prof. Dr. Mustafa YILDIZ

**İkinci Danışman** : Prof. Dr. Müjgan ÖZDEMİR ERDOĞAN

**Başkan** : Prof. Dr. Mustafa YILDIZ  
Afyon Kocatepe Üniversitesi,  
Fen Edebiyat Fakültesi

**Üye** : Dr. Öğr. Üyesi Elçin Latife ASLAN  
Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi,  
Şuhut Sağlık Hizmetleri MYO

**Üye** : Dr. Öğr. Üyesi Hakan TERZİ  
Afyon Kocatepe Üniversitesi,  
Fen Edebiyat Fakültesi

Afyon Kocatepe Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu’nun  
...../...../..... tarih ve

..... sayılı kararıyla onaylanmıştır.

.....  
Prof. Dr. İbrahim EROL

Enstitü Müdürü

**BİLİMSEL ETİK BİLDİRİM SAYFASI**  
**Afyon Kocatepe Üniversitesi**

**Fen Bilimleri Enstitüsü, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;**

- Tez içindeki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda ilgili eserlere bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu,
- Atıfta bulunduğum eserlerin tümünü kaynak olarak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı,
- Ve bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya başka bir üniversitede başka bir tez çalışması olarak sunmadığımı

**beyan ederim.**

**17 / 02 / 2022**

**Münevver Nisa CAN**

## ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

### TEKRARLAYAN GEBELİK KAYBI OLAN KADINLARDA FAKTÖR V G1691A, FAKTÖR II G20210A, MTHFR C677T VE FAKTÖR V H1299R MUTASYONLARININ DEĞERLENDİRİLMESİ

Münevver Nisa CAN

Afyon Kocatepe Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı

**Danışman:** Prof. Dr. Mustafa YILDIZ

**İkinci Danışman:** Prof. Dr. Müjgan ÖZDEMİR ERDOĞAN

Tekrarlayan gebelik kaybı, birbirini izleyen en az iki ya da daha fazla gebeliğin 20. gebelik haftasından önce spontan sonlanması olarak tanımlanmaktadır. Tekrarlayan gebelik kayıplarının etiolojisinde genetik faktörler, %20 oranında rol oynamaktadır. Bu faktörler arasında kromozomal anomaliler, tek gen hastalıkları, tromboza yatkınlık genlerindeki mutasyonlar ve multifaktöriyel değişiklikler bulunmaktadır. Tekrarlayan gebelik kayıpları görülen ailelerde trombofili insidansı %60 oranında görülebilmektedir. Maternal koagülasyon faktörlerindeki mutasyonlar, hemostatik sistemde bozulmalara neden olmakta ve plasental mikrosirkülasyon da tromboza yol açarak abortusla sonuçlanabilmektedir. Çalışmamızda 2013-2018 yılları arasında Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı polikliniğine tekrarlayan gebelik kaybı endikasyonu ile başvuran 215 vakada ve 40 kontrolde, Faktör V G1691A, Faktör II G20210A, MTHFR C677T ve Faktör V H1299R mutasyonlarının dağılımı incelenmiştir. Çalışma sonuçlarımıza göre, Faktör V G1691A, Faktör II G20210A, MTHFR C677T ve Faktör V H1299R mutasyonları açısından vaka ve kontrol grubu arasında fark bulunmamıştır ( $p>0.05$ ). Faktör V geni G1691A polimorfizmi genotip dağılımı, vaka grubunda %12,6 GA heterozigot ve kontrol grubunda %90,0 GG homozigot normal genotip en yüksek oranda saptanmıştır. Faktör II geni G20210A polimorfizmi genotip dağılımı, vaka grubu ve kontrol grubunda

sırasıyla %94,5 ve %97,5 GG homozigot normal genotip en yüksek oranda belirlenmiştir. MTHFR geni C677T polimorfizmi genotip dağılımı, vaka grubunda %43,7 CC homozigot normal ve kontrol grubunda %40,0 CT heterozigot genotip en yüksek oranda gözlenmiştir. Faktör V geni H1299R polimorfizmi genotip dağılımı, vaka grubunda %87,4 AA homozigot normal ve kontrol grubunda %80 AA heterozigot genotip en yüksek oranda gözlenmiştir. Faktör V geni G1691A polimorfizmi risk aleli olan A alel sıklığı, vaka grubunda %6,8 ve kontrol grubunda %5,0 oranında belirlenmiştir. Faktör II geni G20210A polimorfizmi risk aleli olan A alel sıklığı, vakalarda %3,0 ve kontrolde %1,3 oranında belirlenmiştir. MTHFR geni C677T polimorfizmi risk aleli olan T alel sıklığı, vaka grubunda %35,9 ve kontrol grubunda %42,5 oranında belirlenmiştir. Faktör V geni H1299R polimorfizmi risk aleli olan G alel sıklığı, vaka grubunda %6,5 ve kontrol grubunda %16,6 oranında belirlenmiştir. Vaka grubunun %60,46'sında 2 gebelik kaybı belirlenmiştir. Çalışma sonuçlarımız değerlendirildiğinde Faktör V G1691A, Faktör II G20210A, MTHFR C677T ve Faktör V H1299R mutasyonları ile tekrarlayan gebelik kayıpları arasında ilişki belirlenmemiştir.

**2022, xi + 70 sayfa**

**Anahtar Kelimeler:** Tekrarlayan gebelik kaybı, Faktör V, Faktör II, MTHFR, Mutasyon.

## **ABSTRACT**

M.Sc. Thesis

### **EVALUATION OF FACTOR V G1691A, FACTOR II G20210A, MTHFR C677T AND FACTOR V H1299R MUTATIONS IN WOMEN WITH RECURRENT PREGNANCY LOSS**

Münevver Nisa CAN

Afyon Kocatepe University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Molecular Biology and Genetics

**Supervisor:** Prof. Mustafa YILDIZ

**Co-Supervisor:** Prof. Müjgan ÖZDEMİR ERDOĞAN

Recurrent pregnancy loss is defined as the spontaneous termination of at least two or more consecutive pregnancies before 20 weeks of gestation. Genetic factors play a role in the etiology of recurrent pregnancy loss at a rate of 20%. These factors include chromosomal abnormalities, single gene diseases, mutations in thrombosis susceptibility genes, and multifactorial changes. The incidence of thrombophilia can be seen at a rate of 60% in families with recurrent pregnancy loss. Mutations in maternal coagulation factors cause disruptions in the hemostatic system, and placental microcirculation can also lead to thrombosis, resulting in abortion. In our study, the distribution of Factor V G1691A, Factor II G20210A, MTHFR C677T and Factor V H1299R mutations in 215 cases and 40 control groups who applied to Afyonkarahisar Health Sciences University Faculty of Medicine Medical Genetics Department outpatient clinic with the indication of recurrent pregnancy loss between 2013 and 2018 were investigated. According to our study results, there was no difference between the case and control groups in terms of Factor V G1691A, Factor II G20210A, MTHFR C677T and Factor V H1299R mutations ( $p>0.05$ ). Factor V gene G1691A polymorphism genotype distribution was found with the highest rate of 12.6% GA heterozygous in the case group and 90.0% GG homozygous normal genotype in the control group. Factor II gene G20210A polymorphism genotype distribution, 94.5% and

97.5% GG homozygous normal genotype was determined at the highest rate in the case group and control group, respectively. Genotype distribution of MTHFR gene C677T polymorphism, 43.7% CC homozygous normal in the case group and 40.0% CT heterozygous genotype in the control group were observed with the highest rate. Factor V gene H1299R polymorphism genotype distribution was observed with the highest rate of 87.4% AA homozygous normal in the case group and 80% AA heterozygous genotype in the control group. The frequency of A allele, which is the risk allele for factor V gene G1691A polymorphism, was determined as 6.8% in cases and 5.0% in controls. The frequency of A allele, which is the risk allele for factor II gene G20210A polymorphism, was determined as 3.0% in the case group and 1.3% in the control group. The frequency of T allele, which is the risk allele for MTHFR gene C677T polymorphism, was determined as 35.9% in case group and 42.5% in the control group. The frequency of the G allele, which is the risk allele for the factor V gene H1299R polymorphism, was determined as 6.5% in the case group and 16.6% in the control group. In 60.46% of the cases, 2 pregnancy losses were determined. When our study results were evaluated, no relationship was found between Factor V G1691A, Factor II G20210A, MTHFR C677T and Factor V H1299R mutations and recurrent pregnancy losses.

**2022, xi + 70 pages**

**Keywords:** Recurrent pregnancy loss, Factor V, Factor II, MTHFR, Mutation.



## TEŞEKKÜR

Bu araştırmanın konusunun belirlenmesi, deneysel çalışmaların yönlendirilmesi, sonuçların değerlendirilmesi ve yazımı aşamasında yapmış olduğu büyük katkılarından dolayı tez danışmanım Sayın Prof. Dr. Mustafa YILDIZ'a ve ikinci danışmanım Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı'ndan Sayın Prof. Dr. Müjgan ÖZDEMİR ERDOĞAN'a teşekkürü bir borç bilirim. Araştırma ve yazım süresince yardımlarını esirgemeyen Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı'ndan Sayın Prof. Dr. Saliha Handan YILDIZ'a öneri, eleştiri ve yardımlarından dolayı teşekkür ediyorum. Moleküler biyoloji ve moleküler genetik konusunda laboratuvar teknikleri ve öğretilerinde yardımlarından dolayı Sayın Öğr. Gör. Cem KARAOSMANOĞLU'na ve öneri ve yardımlarıyla her zaman yanımda olan Sayın Doktora Öğrencisi Nermin AKÇALI'ya teşekkür ederim.

Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü'nden Sayın Dr. Öğr. Üyesi Hakan TERZİ ve Sayın Doktora Öğrencisi Emre PEHLİVAN'a ders dönemi ve tez yazım süresince yardımlarından dolayı teşekkür ederim.

Bu çalışmayı 19.FEN.BİL.35 nolu proje ile destekleyen Afyon Kocatepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ne katkılarından dolayı en içten dileklerle teşekkür ederim.

Bu araştırma boyunca maddi ve manevi desteklerinden dolayı özellikle sevgili aileme teşekkür ederim.

Münevver Nisa CAN  
Afyonkarahisar 2022

## İÇİNDEKİLER DİZİNİ

	<b>Sayfa</b>
ÖZET .....	i
ABSTRACT .....	iii
TEŞEKKÜR .....	v
İÇİNDEKİLER DİZİNİ.....	vi
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ .....	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	x
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	xi
1. GİRİŞ.....	1
2. LİTERATÜR BİLGİLERİ .....	2
2.1 Tekrarlayan Gebelik Kaybı.....	2
2.2 Tekrarlayan Gebelik Kaybı Etiyolojisi .....	4
2.2.1 Genetik Etmenler .....	5
2.2.2 Otoimmün Faktörler.....	6
2.2.3 Anatomik Nedenler .....	7
2.2.4 Enfeksiyonlar .....	8
2.2.5 Endokrin Faktörler .....	8
2.2.6 Önceki Gebelik Kayıplarının Zamanı .....	9
2.2.7 Paternal Faktörler .....	9
2.2.8 Trombotik Nedenler .....	10
2.3 Hemostaz Mekanizması .....	10
2.4 Tromboz.....	11
2.4.1 Trombofili Etiyolojisi.....	12
2.4.2 Trombotik Faktörler .....	14
2.4.2.1 Faktör V Leiden (G1691A) Polimorfizmi.....	14
2.4.2.2 Faktör II G20210A (Protrombin) Polimorfizmi.....	17
2.4.2.3 Metilentetrahidrofolat Redüktaz C677T (MTHFR C677T) Polimorfizmi .....	21
2.4.2.4 Faktör V H1299R Polimorfizmi.....	25
2.5 Eş-zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu.....	26
3. MATERYAL ve METOT .....	27
3.1 Materyal .....	27
3.1.1 Vaka ve Kontrol Gruplarının Belirlenmesi .....	27

3.1.2 Kan Örneklerinin Alınması .....	27
3.1.3 Araştırmada Kullanılan Teçhizatlar .....	27
3.2 Metot .....	28
3.2.1 Örneklerden DNA Eldesi .....	28
3.2.2 Mutasyonların ve Genotiplerin Analizi.....	28
3.2.3 Vaka Grubunun Retrospektif Analizi .....	33
3.2.4 Verilerin İstatistiksel Analizi .....	33
4. BULGULAR .....	34
4.1 Faktör V Geni G1691A Polimorfizminin Genotip ve Alel Sıklıkları.....	34
4.2 Faktör II Geni G20210A Polimorfizminin Genotip ve Alel Sıklıkları.....	35
4.3 MTHFR Geni C677T Polimorfizminin Genotip ve Alel Sıklıkları.....	36
4.4 Faktör V Geni H1299R Polimorfizminin Genotip ve Alel Sıklıkları.....	37
4.5 Farklı Yaş Aralıklarında Faktör V G1691A, Faktör II G20210A, MTHFR C677T ve Faktör V H1299R Polimorfizimleri Açısından Vaka Sayısı.....	38
4.6 Tekrarlayan Gebelik Kayıplarına Ait Sıklıklar.....	40
5. TARTIŞMA ve SONUÇ .....	41
6. KAYNAKLAR.....	51
EKLER .....	69

## SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

### Simgeler

---

aa	Aminoasit
B12	B12 vitamini
rpm	Dakikadaki devir sayısı
Tm	Erime noktası
Ca <sup>+2</sup>	Kalsiyum
kb	Kilobaz
kD	Kilodalton
p	Kromozomun kısa kolu
µL	Mikrolitre
mL	Mililitre
nm	Nanometre
OD	Optik yoğunluk

### Kısaltmalar

---

APC	Aktif Protein C
AFP	Alfa Fetoprotein
ACOG	İnsan Koryonik Gonadotropin (Beta Human Chorionic Amerikan Kadın Hastalıkları ve Doğum Koleji (The American College of Obstetricians and Gynecologists)
ASRM	Amerikan Üreme Tıbbı Derneği (American Society for Reproductive Medicine)
R	Arjinin Amino Asidi
ESHRE	Avrupa İnsan Üreme ve Embriyoloji Derneği (European Society of Human Reproduction and Embryology)
β-HCG	Beta-Gonadotropin
dUMP	Deoksi-üridilat
EDTA	Etilen Diamin Tetraasetik Asit
FAD	Flavin Adenin Dinükleotid
G	Guanin
GPIIIa	Glikoprotein IIIa
Q	Glutamin
H	Histidin Amino Asidi
HELLP	HELLP Sendromu (Hemolizis, artmış karaciğer enzimleri, trombositopeni)
NVOG	Hollanda Kadın Doğum ve Jinekoloji Derneği (Dutch Society of Obstetrics and Gynaecology)
FI	Koagülasyon Faktör I
FII	Koagülasyon Faktör II
FV	Koagülasyon Faktör V
FVL	Koagülasyon Faktör V Leiden
FVII	Koagülasyon Faktör VII
FVIII	Koagülasyon Faktör VIII
FIX	Koagülasyon Faktör IX

---

---

FX	Koagülasyon Faktör X
F XII	Koagülasyon Faktör XII
FXIII	Koagülasyon Faktör XIII
RCOG	Kraliyet Kadın Doğum ve Jinekoloji Koleji (Royal College of Obstetricians and Gynaecologists)
MTHFR	Metilentetrahidrofolat Redüktaz
PAI-1	Plazminojen Aktivatör İnhibitörü 1
PCR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu (Polymerase Chain Reaction)
Pro	Prolin
SLE	Sistemik Lupus Eritematöz
C	Sitozin
SPSS	Sosyal Bilimler İçin İstatistik Paketi (Statistical Package for the Social Sciences)
TGK	Tekrarlayan Gebelik Kaybı (Recurrent Pregnancy Loss)
SNP	Tek Nükleotid Polimorfizmi (Single Nucleotid Polymorphism)
T	Timin
Th1	Tip 1 Helper Hücreler (Antagonistik Hücreler)
Th2	Tip 2 Helper Hücreler (Antagonistik Hücreler)
Th17	Tip 17 Helper Hücreler (Antagonistik Hücreler)
IBM	Uluslararası İş Makineleri (International Business Machines)
Val	Valin

---

## ŞEKİLLER DİZİNİ

### Sayfa

Şekil 2.1 Hemostaz mekanizması.....	11
Şekil 2.2 Kromozom 1 üzerinde kırmızı çizgi ile gösterilen Faktör V Leiden .....	14
Şekil 2.3 Aktif protein C inaktivasyonu .....	15
Şekil 2.4 Kromozom 11 üzerinde kırmızı çizginin olduğu bölgede Faktör II G20210A mutasyonu .....	17
Şekil 2.5 Fibrinojenin fibrine dönüşümü.....	18
Şekil 2.6 Kromozom 1 üzerinde kırmızı çizginin olduğu yerde bulunan MTHFR geni	21
Şekil 2.7 Folik asit ve türevlerinden metiyonin, homosistein ve sistein oluşumu .....	22
Şekil 3.1 Erime eğrisi analizi görüntüsü. ....	30
Şekil 3.2 Faktör V Leiden G1691A ve Faktör II G20210A mutasyonlarındaki erime eğrisi görüntüsü.....	31

## ÇİZELGELER DİZİNİ

	<b>Sayfa</b>
<b>Çizelge 2.1</b> Trombofilik Etkenler.....	13
<b>Çizelge 3.1</b> Teçhizatlar.....	28
<b>Çizelge 3.2</b> İncelenen genler, polimorfik varyantları ve problemlerin işaretlendiği floroforlar .....	29
<b>Çizelge 3.3</b> Reaksiyon karışımı.....	29
<b>Çizelge 3.4</b> Eş-zamanlı PCR aşamaları.....	30
<b>Çizelge 3.5</b> Faktör V G1691A mutasyonunun genotip Tm ilişkisi.....	32
<b>Çizelge 3.6</b> Faktör II G20210A mutasyonunun genotip Tm ilişkisi.....	32
<b>Çizelge 3.7</b> MTHFR C677T mutasyonunun genotip Tm ilişkisi.....	32
<b>Çizelge 3.8</b> Faktör V H1299R mutasyonunun genotip Tm ilişkisi.....	33
<b>Çizelge 4.1</b> Vaka ve kontrol gruplarında FV G1691A polimorfizminin genotip ve alel sıklıkları.....	34
<b>Çizelge 4.2</b> Vaka ve kontrol gruplarında Faktör II G20210A polimorfizminin genotip ve allel sıklıkları .....	35
<b>Çizelge 4.3</b> Vaka ve kontrol gruplarında MTHFR C677T polimorfizminin genotip ve allel sıklıkları .....	36
<b>Çizelge 4.4</b> Vaka ve kontrol gruplarında Faktör V H1299R polimorfizminin genotip ve allel sıklıkları .....	37
<b>Çizelge 4.5</b> Farklı yaş aralıklarında Faktör V Leiden polimorfizmi açısından vaka sayısı ve oranı (%).....	38
<b>Çizelge 4.6</b> Farklı yaş aralıklarında Faktör II G20210A polimorfizmi açısından vaka sayısı ve oranı (%).....	39
<b>Çizelge 4.7</b> Farklı yaş aralıklarında MTHFR C677T polimorfizmi açısından vaka sayısı ve oranı (%).....	39
<b>Çizelge 4.8</b> Farklı yaş aralıklarında Faktör V H1299R polimorfizmi açısından vaka sayısı ve oranı (%).....	40
<b>Çizelge 4.9</b> Düşük yapan vaka sayıları ve düşük oranları (%).....	40

## 1. GİRİŞ

İnsan üreme döngüsü her defasında doğumla sonuçlanmamaktadır. Tıbbi olarak tespit edilen gebeliklerin %15-20'si abortus (düşük) ile sonuçlanmaktadır (Örgül vd. 2017). Gebelik kayıpları ve bu durumun ardışık tekrar etmesi reproduktif dönemdeki çoğu kadının sıklıkla karşılaştığı jinekolojik sorunlardan birisi olmakla birlikte hem tıbbi hem de psikolojik sorunlara neden olmaktadır.

Tekrarlayan gebelik kaybı (TGK), ardışık meydana gelen en az iki ya da daha çok gebeliğin 20. gebelik haftasına ulaşmadan beşyüz gramın altında embriyo ya da fetusun bir kısmı ya da tamamının uterin boşluktan dışarı atılarak gebeliğin sonlanması şeklinde tanımlanmaktadır (Kong vd. 2010, Deniz vd. 2016). TGK'lar, döllenme ve üremenin gerçekleşebildiği; fakat gereken gestasyon (gebelik; uterus içinde embriyo gelişmesi süreci) haftaları tamamlanamadan, implantasyon sırasında ya da gelişmeden kaynaklanan sorun ile gebeliğin kendiliğinden sonlanması şeklinde başarısız gebeliklerdir (ASRM 2008).

Gebelik ve üreme fizyolojisi bakımından trombofilik genlerin önemli olduğu ortaya çıkarılmıştır (Regan ve Rai 2000). Yaşamsal faaliyetlerimizin devamı için kan dolaşımı ve damarlardaki kan kaybını önleyen koagülasyon mekanizması, gebeliklerin doğuma kadar sorunsuz biçimde devamı için oldukça önemlidir. Koagülasyon faktörlerinde oluşan anormal durumlar, fetusun anne rahmine yerleşimini ve plasental damarlanmayı etkileyerek olumsuz gebelik sonuçlarına ve abortuslara neden olabilir. Trombofili, fibrinojeni fibrine çeviren trombin oluşumunda artış ve hiperkoagülasyona neden olan durumlar için kullanılan tanımlamadır (Durmaz vd. 2011). Bu bağlamda, herediter trombofililer ilk trimesterden ziyade ikinci trimester düşükleriyle alakalı bulunduğundan (Li vd. 2002), gebe kadınların takibinde, özellikle düşük öyküsü olan kadınlar için trombofili paneli önemlidir.



## 2. LİTERATÜR BİLGİLERİ

### 2.1 Tekrarlayan Gebelik Kaybı

Tekrarlayan gebelik kayıpları (TGK) yıllardır çalışılan ve dünyada %1-3 oranında görülen bir konudur (Berkay ve Başaran 2020). TGK, 2 veya daha fazla düşük, 20 haftadan önce istemsiz gerçekleşmiş gebelik sonlanmaları olarak tanımlanır (El Hachem vd. 2017). Gebelik haftası bilinmiyorsa, 400 g bir embriyo/fetusun kaybı gebelik kaybı olarak tanımlanır (Zegers-Hochschild vd. 2009). Amerikan Üreme Tıbbı Derneği tarafından yapılan tanımlamalara göre ise bu sayı en az iki veya daha fazla düşük olarak değiştirilmiş, hastaların 2 düşükten sonra tekrar yeni bir travma yaşamaması için araştırma yapılması önerilmiştir (ASRM 2008). TGK, Amerikan Kadın Hastalıkları ve Doğum Koleji tarafından iki veya daha fazla ardışık düşük (ACOG 2002) ve Avrupa İnsan Üreme ve Embriyoloji Derneği tarafından ise üç veya daha fazla ardışık düşük (Jauniaux vd. 2006) olarak tanımlanmaktadır. Bu yönergelerin aksine, TGK, Kraliyet Kadın Doğum ve Jinekolog Koleji tarafından üç veya daha fazla ardışık olmayan düşük (RCOG 2011) ve Hollanda Toplum Derneği Kadın Hastalıkları ve Doğum tarafından iki veya daha fazla düşük olan, ancak ardışık olmayan olarak tanımlar (NVOG 2007).

Spontan bir şekilde 12. gestasyon haftasına ulaşmadan gerçekleşen abortuslar erken abortus olarak tanımlanırken, 12. ve 20. gestasyon haftaları arasında gerçekleşen spontan abortuslar geç abortus olarak tanımlanmaktadır (Özdemir vd. 2010). Aynı şekilde başka bir sınıflandırmada ise gebelikten (konsepsiyondan) sonra ilk 6 hafta içinde gerçekleşen spontan kayıplar erken embriyonal kayıp olarak adlandırılmaktadır. Altıncı ve 9. gestasyon haftaları arasındaki kayıplar ise embriyonik kayıp olarak sınıflandırılmaktadır. Yirminci gestasyon haftasından sonra meydana gelen spontan kayıplar ise infant mortaliti (bebek ölüm oranı) olarak tıbbi terminolojide yer almaktadır (Kutteh 2015).

Gebelik sonuçlarını geçmiş doğum (obstetrik) deneyimleri de etkiler. Bilinen iki abortus sonrası olası gebeliklerde tekrar abortus görülme riski %24, üç abortustan sonra ise tekrar abortus riski %30'lara çıkmaktadır. Klinik olarak belirtilen üç ve daha fazla

sayıda abortus yaşayan kadınlarda ise abortus sayısı artsa bile bir sonraki gebelikte bu risk %30-40 kadardır (Özdemir vd. 2010).

Reprodüktif dönemde tekrarlayan ve problem oluşturan abortuslar, tıp dünyasının dikkatini çekmiş ve araştırmaların yapılmasına neden olmuştur (Sergi vd. 2015). Tekrarlı abortuslarda, sorumlu tutulan nedenler genellikle çok etkenlidir. Bununla birlikte, tedavi edilebilir odaklı bir sorun belirlenmesi, fetal kayıp riskini önlemek için var olan durumu iyileştirmek adına gereklidir (Ford ve Schust 2009).

Primer TGK, ardışık 3 veya daha fazla gebelikte 20. gebelik haftasından önce gerçekleşen gebelik kaybı olarak tanımlanmaktadır. Sekonder TGK ise 20. gebelik haftasından sonra canlı doğum, ölü doğum veya neonatal ölümle sonuçlanmış bir gebeliği takiben TGK olarak tanımlanmaktadır. Üçüncül TGK, normal gebelikler arasındaki çoklu gebelik kayıplarını ifade eder (Silver vd. 2011, Kolte vd. 2015). Her gebelik kaybı sonrası bir sonraki gebeliğin düşükle sonlanma ihtimali artmaktadır. Abortus sayısı arttıkça bir sonraki gebeliğin canlı doğum ile sonuçlanma olasılığı azalmaktadır. İlk abortusu izleyen bir gebeliğin canlı doğumla sonuçlanma olasılığı %80 iken, bu olasılık iki ardışık gebelik kaybindan sonra %70-80, üç ardışık gebelik kaybindan sonra %50-60, dört ardışık gebelik kaybindan sonra %45, beş ardışık gebelik kaybindan sonra %41, altı ardışık gebelik kaybindan sonra %13 olmaktadır (Christiansen 2014).

Birçok durumda TGK'nın altta yatan kesin patogenezi belirsizliğini korumaktadır (Diejomaoh 2015). TGK durumunda, yaşanan gebelik kayıpları genellikle aynı gebelik haftasında olmasının nedeni gebelik kaybında aynı mekanizmanın etkili olmasıdır (Greer 2003). Trombofili ve hipofibrinoliz ile ilişkili gebelik komplikasyonları için plasental eksiklikler yaygındır (Estellés vd. 1998, Grandone vd. 1998). Düşükleri olan vakada bir sonraki gebelikteki düşük riski, toplumdaki diğer bireylere göre artmaktadır. Daha öncesinde fark edilmiş ikinci kayıp ile takip eden gebelikteki düşük riski %24, üçüncü kayıptan sonraki risk ise %30 olarak hesaplanmıştır (Tepeli vd. 2007). Dört düşüğü olan bir anne adayının tekrar düşük yapma riski %40 iken, bu oran beş düşüğü olan bir anne adayında %69'dur (Regan vd. 1989).

Abortus etiyojisi multifaktöriyel nitelik göstermektedir. Abortus insidansı anne, baba yaşları, obstetrik öykü, gen ve kromozom düzensizliklerinden etkilenebilmektedir (Beksaç vd. 2001). Anne yaşının <18 veya 35< olması, önceki gebelik kayıplarının sayısı ve artan doğum sayısı abortus riskini arttırmaktadır. Anne yaşı 35< olduğunda, oosit yaşlanmasına bağlı olarak anöploidi oranı arttığından gebelik kaybı riskide artmaktadır. Kaybedilen her gebelikle birlikte bir sonraki gebeliğin kaybedilme riski artar ve 5–6 abortus sonrasında %50'nin üzerine çıkar (Clifford vd. 1997). Reprodüktif öyküsünde hiç canlı doğumu olmayan, TGK hikayesi bulunan kadınların canlı bebeğe sahip olma şansı %55-60, en az bir canlı doğumu olan ancak TGK öyküsü de bulunan vakalarda ise bu olasılık %70 dolaylarındadır. Kuşkusuz, ileri anne yaşıyla birlikte sağlıklı çocuk doğurma şansı azalmaktadır (Kutteh 2015).

Alkol tüketimi, sigara, uyuşturucu, stres, bazı ilaçlar, annenin geçmiş abortus hikayesi, günde 3 fincandan fazla kahve tüketimi ya da fazla kafein alımı, obezite gibi bazı yaşam tarzı ve alışkanlıkları gibi faktörler de TGK ile ilişkilendirilmiştir (ASRM 2008, Giakoumelou vd. 2015).

## **2.2 Tekrarlayan Gebelik Kaybı Etiyojisi**

Kendiliğinden gebelik kaybı, oldukça yaygın bir olaydır. Klinik olarak tanınan tüm gebeliklerin yaklaşık %15'i spontan kayıpla sonuçlanırken, klinik olarak tanınmadan önce başarısız olan daha birçok gebelik vardır (Macklon vd. 2002). Annenin yaşı 35'in altında ise spontan abortus riski %10, kırk üç ise spontan abortus riski %50 civarındadır (Kutteh 2015). Babanın yaşı olmasının da spontan abortus için önemli risk olabileceği bildirilmiştir (Yatsenko ve Turek 2018). Tüm gebeliklerin %30 ve klinik olarak tanısı konan gebeliklerin ise %10 kadarı abortusla sonuçlanmaktadır. Tekrarlayan gebelik kayıpları, kadınların %5 kadarında gözlenmektedir (Ford ve Schust 2009). Ford ve Schust (2009) tarafından ebeveyn kaynaklı kromozomal bozukluklar %2-5, anatomik uterin anomalileri %10-15, immunolojik bozukluklar %20, çeşitli enfeksiyonlar %0,5-5, endokrin faktörler %17-20, edinsel ve herediter trombofili ise %15 oranlarında tespit edilirken, herhangi bir nedenin belirtilmediği çiftlerde görülme sıklığı %40-50 olarak bildirilmiştir (Ford ve Schust 2009). Sayılabilecek tüm nedensel faktörlerin sıklığı

toplumlar arasında değişkenlik göstermektedir (Ford ve Schust 2009). Halen daha nedenlerini ve çoğu zaman işleyişini anlayamadığımız birçok tekrarlı abortus yaşayan bireyler için genetik ve genetik olmayan etmenler, risk grupları araştırılmalı ve yeni çalışmalar hızla arttırılmalıdır (Arias-Sosa vd. 2018).

Edinsel trombofili nedenleri; antifosfolipid sendromu, lupus, antikoagülan ve antikardiyolipin antikoru varlığı olabilmektedir. Maternal trombofililer fetus ve plasenta arasındaki dolaşımı ve damar gelişimini etkileyerek intrauterin gelişme geriliği ve abortuslara neden olabileceği bildirilmiştir (Işık vd. 2016). TKG etiyojisinin bilinen nedenleri arasında genetik etmenler, otoimmün faktörler, anatomik nedenler, enfeksiyonlar ve endokrin faktörler sayılabilir. TKG vakalarının %50'sinde etiyojik nedenler belirlenmemektedir (RCOG 2011, Goddijn vd. 2017).

### **2.2.1 Genetik Etmenler**

TKG; kromozomal faktörler, kalıtsal trombofililer ve tek gen hastalıklarına bağlı olarak meydana gelmektedir (Berkay ve Başaran 2020). TKG'ya yol açan faktörler içinde bilinen genetik nedenler %2-5 oranında yer tutmaktadır (Lensen vd. 2000). TKG yaşayan her 100 kadından yaklaşık 5'inde, kadın veya eşinin kromozomlarının birinde anormallik belirlenmiştir. Her ne kadar bu anormallik kadın veya eşi için sorun olmasada, bebeğe geçtiği takdirde bazen problemlere neden olabilmektedir (Lensen vd. 2000). Anormal kromozomal yapıya sahip embriyoların yaklaşık %90'ı sebebi tam olarak bilinmemekle birlikte abortusa uğramaktadır. Abortus materyallerinde en sık trisomiler, monosomi X ve daha az sıklıkla triploidiler bulunmaktadır (Simon vd. 1998, Munné vd. 1999). TKG nedeniyle başvuran 20 çiftten birinde parental kromozomal düzensizliğe rastlanmaktadır. En sık rastlanan kromozomal düzensizlik dengeli translokasyonlardır. Homolog olmayan iki kromozom arasında segment değişimini ifade eden 'resiprokal translokasyonlar' bu grubun yarısından daha fazlasını oluşturur (Alataş 2004). Kromozomal anomaliler, klinik gebeliklerde en sık saptanan düşük sebebidir. Gerçek embriyo-fetal doku elde edilebilirse bu vakaların %50'sinde kromozomal anomaliler saptanabilir (Byrne ve Ward 1994). 2. trimester kayıplarının %30'unda kromozomal anomali bulunmaktadır (Hassold ve Chiu 1985, Warburton vd.

1986). Düşüklerde gösterilen kromozom anomalliklerinin %90'ından fazlası sayısal anomaliler (anoploidi, poliploidi), geri kalanı ise yapısal anomaliler (translokasyon, inversiyon) ve mozaisizmdir (Philipp vd. 2003). Önceki düşük materyalinde anöploidi olması olumlu prognostik faktörlerden birisidir. Anöploidi saptanması düşük nedeninin fetal bir sebebe bağlı olduğunu düşündürür ve bir sonraki gebelikteki yeni embriyonun öploid olma olasılığının yüksek olması nedeniyle daha iyi prognoz beklenebilir. Takip eden gebeliğin canlı doğumla sonuçlanma olasılığı öploid bir abortus sonrası %41, anöploid abortus sonrası ise %68 olarak bildirilmiştir (Carp vd. 2002).

İlerleyen gebelik haftalarındaki kayıpların genetik bileşenleri arasında kalıtsal trombofilik faktörleri etkilidir (Lensen vd. 2000). Protrombin 20210 G>A, Faktör V Leiden 1691 G>A, metilentetrahidrofolat redüktaz (MTHFR) 677 C>T ve 1298 A>C, Faktör XIII Val34Leu, Beta Fibrinojen 455 G>A, PAI-1 4G/5G, GPIIIa Leu33Pro genetik değişiklikler ile protein S ve C, antitrombin (AT) III eksiklikleri herediter trombofilik sebepleri olarak bildirilmiştir (Işık vd. 2016, Chatzidimitriou vd. 2017).

X'e bağlı olarak kalıtılan ve ölümcül etkili olan tek gen hastalıklarından çoğunlukla erkek fetuslar etkilenmektedir. Bu ölümcül mutasyon hipotezi hakkında yeterli çalışma olmadığı bildirilmiştir (Sullivan vd. 2003). DNA tamir mekanizmalarındaki hatalar, DNA replikasyon hataları, ileri paternal yaşla spermelerde meydana gelen mutasyonlar tek gen hastalıkları bakımından risk oluşturmaktadır (Yatsenko ve Turek 2018).

### **2.2.2 Otoimmün Faktörler**

Sebebi bilinmeyen tekrarlayan gebelik kaybı vakalarının yaklaşık %20'sinden immünolojik faktörlerin sorumlu olduğu bildirilmektedir (Fukui vd. 2008, Ford ve Schust 2009).

Tekrarlayan gebelik kaybıyla ilişkili otoimmün hastalıklardan biri antifosfolipid antikordur (Miyakis vd. 2006). Tekrarlayan gebelik kaybı olan her 100 kadından 15'inin kanlarında antifosfolipid antikor mevcuttur. Normal gebeliği olan her 100 kadının 2'sinden daha azı antifosfolipid antikorlarına sahiptir. Bir kadının kanında antifosfolipid

antikorları bulunuyorsa ve TGK öyküsü varsa, başarılı bir hamilelik şansı on gebelikte bir (1/10) olabilir (Miyakis vd. 2006).

Tekrarlayan gebelik kaybıyla ilişkili başka bir antikor tipi antifosfolipid antikordur (Keser 2011, İnt. Kyn. 1). Sistemik Lupus Eritematozus (SLE) genellikle antifosfolipid antikorlarla ilişkilendirilen hastalıktır. Antifosfolipid antikorlar erkenden ziyade, geç gebelik kayıpları için risk faktörüdür. SLE hastalarında gebelik kaybı oranı genel popülasyona göre daha yüksektir. Tekrarlayan gebelik kaybı yaşayan kadınların çoğunda SLE'nin klinik bulguları bulunmasada, SLE hastalarında görülenlere benzer otoimmün belirtiler görülmektedir. Bu belirtilerin gözlemlendiği kadınlarda plasentanın iltihaplandığı ve zayıfladığı belirtilmiştir (Keser 2011, İnt. Kyn. 1).

Tiroid antikorları risk altındaki gebeliklerde belirleyicidir. Anti-tiroid peroksidaz ve anti-tiroglobulin antikorları, toplu olarak anti-tiroid antikorları olarak adlandırılır (Rushworth vd. 2000). Doğurganlığa izin veren hücreleri (Th2 ve T düzenleyici) veya antagonistik hücreleri (Th1, Th17 ve doğal katil hücreleri) destekleyen yollara ilişkin bilgiler mevcuttur (Jenkins vd. 2000). Anormal immün aktivasyon yollarının azaltılması ve embriyo/fetusun kabul edilmesinin sağlanması hamilelikte bir bebeğin doğumuna kadar sağlıklı şekilde yaşaması için teşvik edilebilir.

### **2.2.3 Anatmik Nedenler**

Rahim yapısındaki düzensizliklerin tekrarlayan gebelik kaybı riskini ne kadar etkileyebileceği tespit edilmemiştir. Bu düzensizliklere sahip tekrarlayan gebelik kaybı olan kadınların sayısının yaklaşık %2-37 kadardır. Ciddi anatomik anomalileri olan ve tedavi görmeyen kadınlarda düşük görülme olasılığı daha fazla olur veya erken doğum yaparlar. Rahim yapısındaki küçük değişiklikler hamilelik kaybına neden olmaz (İnt. Kyn. 2). Tekrarlayan gebelik kaybı olan kadınlar yaşlarına göre kategorize edildiğinde, 30-34 yaş grubu ile 35-39 yaş grubu arasında bir sonraki gebeliğin abortusla sonuçlanma olasılığı benzer iken, 40-44 yaş grubunda bu oran yükselerek %70'lere ulaşmaktadır (Nybo vd. 2000).

Tekrarlayan gebelik kayıplarının yaklaşık %5 kadarından sorumlu tutulan konjenital

uterin anomalilerin yaklaşık yarısını septumun olmaması (septat) ve 2 uterus boynuzunun (bicornuat) olması uterusu oluşturur. Uterin septumun varlığı uterin kavitede daralma, plasental vaskülarizasyon ve implantasyon ortamının bozulmasına yol açması sonucunda gebelik kayıplarına sebebiyet verdiği düşünülmektedir. Bazı kadınlarda rahim girişi (rahim ağzı-serviks) hamilelikte çok erken açılır ve 3. ila 6. aylarda hamilelik kaybına neden olur. Bu durum, zayıf serviks olarak bilinir ve hamilelik kaybının bir nedeni olarak tahmin edilmektedir (İnt. Kyn. 2). Uterusun anatomik kusurları tekrarlayan gebelik kaybı vakalarının %6–38’inden sorumlu tutulmaktadır (Clifford vd. 1994, Acien 1996).

#### **2.2.4 Enfeksiyonlar**

TGK’da en az görülen etiyolojik faktörlerden olan enfeksiyonlar spontan abortusla yakından ilişkili olduğu bildirilmiştir (Kolte vd. 2014). Kan dolaşımına ciddi bir enfeksiyon girerse, hamilelik kaybına neden olabilir. Hamileliğin başında bakteriyel vajinoz adı verilen vajinal bir enfeksiyon görüldüğü durumda, 4. ila 6. ay civarında bir gebelik kaybı yaşama veya erken doğum yapma riskini arttırabilir. Ancak bu enfeksiyonların tekrarlayan gebelik kaybına neden olup olmadığı açık değildir. Enfeksiyonun olduğu durumda, enfeksiyona sebep olan bakteri veya virüsün sistem içerisinde yeterli semptomlarının gözlenmeden hayatta kalabilmesi gerekir. Bu semptomlar; kızamık, herpes (uçuk), listeria, toksoplazma ve sitomegalo virüs örnek verilebilir (İnt. Kyn. 2).

TGK yaşayan bazı kadınlar ile yapılan çalışmalarda *Toxoplazma gondii*, herpes virüsü, *Mycoplasma hominis* gibi mikroorganizmalara rastlanmıştır. Gebe olan her kadın bu enfeksiyöz ajanlar için rutin bir taramadan geçmez, fakat TGK gibi obstetrik sorunlarda bir etken olarak değerlendirilmesi gerekmektedir (ASRM 2008).

#### **2.2.5 Endokrin Faktörler**

Gebelik kayıplarının yaklaşık %10’u endokronolojik faktörlerle ilişkilidir. Luteal faz yetmezliği, hiperprolaktinemi (aşırı prolaktin salgılanması), polikistik over sendromlu gibi hiperandrojenik (androjen fazlalığı) durumlar, hipotiroidi ve diabetes mellitus,

insülin direnci gibi endokrinopatiler TKG nedenleri arasında sayılmaktadır (Clifford vd. 1994, Kolte vd. 2014). Regüle diabetes mellitüslü vakalarda abortus oranı artmazken kontrolsüz diabetes mellitüslü vakalarda spontan abortus riski 3 kat artmaktadır (Greene vd. 1989). Polikistik over sendromlu vakalarda gebelik kaybı riski artmıştır (Rai vd. 2000). Bu artıştan yüksek luteinize edici hormon ve testosteron seviyeleri ve insülin direncinin sorumlu olabileceği düşünülmektedir. Mekanizması tam olarak bilinmemekle birlikte obezitenin, birinci trimester gebelik kaybı ve TKG sıklığını arttırdığı bildirilmiştir (Lashen vd. 2004). Polikistik over sendromlu vakalarda, overler normal overlerden biraz daha büyük olup, foliküller normalden daha küçüktür. Bu durum, hormon düzensizliği ile bağlantılı olabilir. Tekrarlayan erken gebelik kaybı olan vakaların yaklaşık yarısında polikistik yumurtalıklar vardır. Polikistik yumurtalık varlığı tekrarlayan gebelik kaybının direkt bir nedeni değildir ve daha fazla gebelik kaybı riski altında olduğu anlamına gelmez. Luteal faz yetmezliği TKG'ların tartışmalı nedenleri arasındadır (Tulppala vd. 1991). Polikistik overleri ve tekrarlayan gebelik kaybı olan birçok vakada luteinize edici hormon yüksek düzeyde olduğu belirlenmiştir. Ancak hamilelikten önce luteinize edici hormonun seviyesini düşürmek başarılı doğum şansını arttırmaz (İnt. Kyn. 2).

## **2.2.6 Önceki Gebelik Kayıplarının Zamanı**

Tekrarlayan pre-embriyonik ve embriyonik gebelik kaybı olan vakalarda prognozun tekrarlayan fetal kayıp vakalarına göre daha iyi olduğu bildirilmiştir (Goldenberg vd. 1993, Oyen vd. 1996). Erken TKG yaşayan kadınlarda takip eden gebeliğin canlı doğumla sonuçlanma olasılığının %70'e ulaştığı bildirilirken, 16-27. gebelik haftasındaki fetal kaybın tekrarlanma riskini 20 kat, 28. haftadan sonraki fetal ölüm riskini 5 kat arttırdığı bildirilmiştir (Oyen vd. 1996, Clifford vd. 1997).

## **2.2.7 Paternal Faktörler**

Gebelik kayıplarında paternal faktörler üzerindeki araştırmalar halen yetersizdir. Spermiumdaki anomalilerin veya paternal kromozom anomalilerinin gebelik kayıplarında artışa neden olduğu bilinmemektedir. Bugüne kadar kendiliğinden oluşan



gebelik kayıplarıyla ilişkisi ortaya konmuş tek paternal faktör babanın kromozomal translokasyon taşıyıcısı olmasına bağlı gelişebilecek olan düzensiz gamettir (Yusuf ve Naeem 2004). İleri paternal yaş ile spermatogenez sırasında mitoz ve mayoz bölünmelerde kromozomal segregasyonda sorun oluşabileceği ve kromozomal anomaliler açısından risk artışı olduğu gösterilmiştir (Wang vd. 2012).

### **2.2.8 Trombotik Nedenler**

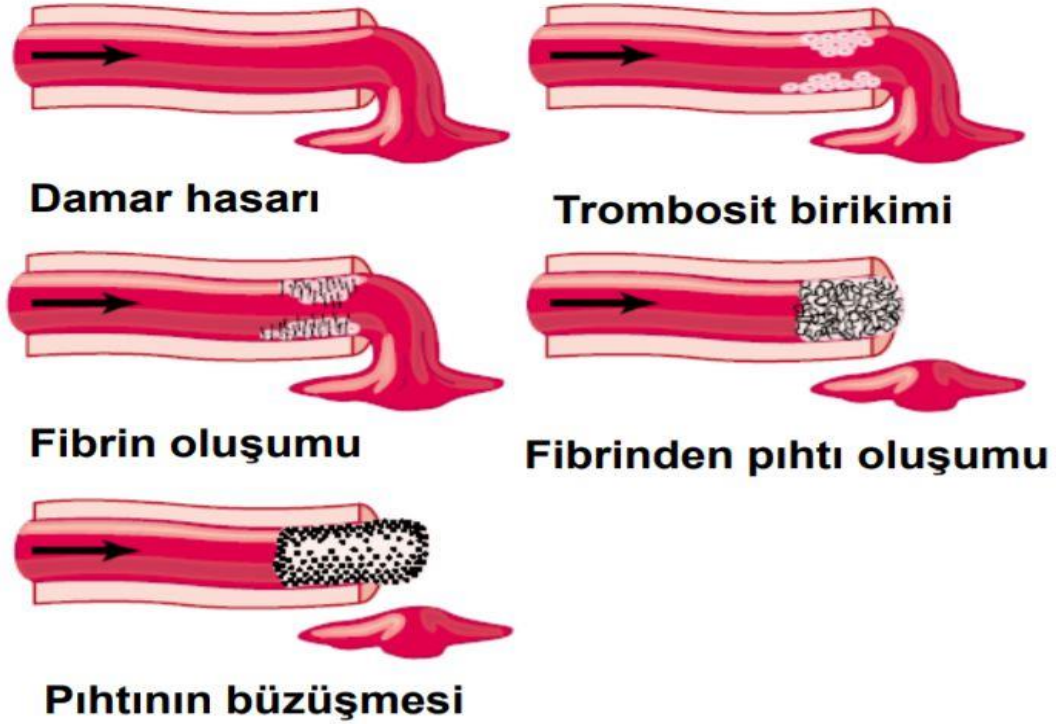
Kalıtsal trombofililer, kan pıhtılaşma yollarındaki bir takım genetik bozukluk sonucu, anormal kan pıhtısı oluşumuna (tromboz) yol açar (İnt. Kyn. 1). Kan pıhtılaşma yollarından biri de aktif protein C (APC) adı verilen doğal bir antikoagulanın aktivasyonu yoluyla gerçekleşir. Tromboz, gebelik kaybına, intrauterin fetal ölüme, preeklampsiye (gebelikte kan basıncı bozukluğu) ve kan hücrelerinin hemolizi ile karakterize edilen ağır bir preeklampsi şekli olan HELLP sendromuna (hemolitik anemi, artmış karaciğer enzimleri, trombositopeni sendromu), karaciğer enzimlerinin yüksek seviyelere çıkmasına ve trombositopeni (düşük trombosit sayısı) gibi pek çok komplikasyonlara neden olduğu çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir. Desidual damarlardaki trombozun, fetal beslenmeyi bozarak, intrauterin gelişme geriliği fetal ölüm ve düşüklere yol açtığı düşünülmektedir (İnt. Kyn. 1).

### **2.3 Hemostaz Mekanizması**

Hemostaz kan kaybının önlenmesi anlamına gelir. Bir damar zedelendiğinde veya yırtıldığında bir seri mekanizma ile hemostaz sağlanır. Bu mekanizmalar damar spazmı, trombosit tıkaç oluşumu, kanın koagülasyonu ve fibröz dokunun pıhtı içine doğru büyümesiyle damardaki deliğin kalıcı olarak kapatılmasıdır (Çavuşoğlu ve Çağ 2007). Kanın sıvı haldeki durumundan katı hale geçmesine koagülasyon denir. Bu mekanizmada yer alan koagülasyon proteinleri başlıca üç grup altında toplanabilir:

- 1) Kontakt grubu proteinler: FXI, FXII, prekallikrein, yüksek molekül ağırlıklı kininojen
- 2) Protrombin grubu proteinler: FII, FVII, FIX, FX
- 3) Fibrinojen grubu proteinler: FI, FV, FVIII, FXIII

Tüm faktörler normal koşullarda inaktiftir. Aktifleştiğinde proteolitik özellik kazanan faktörler, diğer faktörlerin aktivasyonuna neden olan reaksiyonu katalize ederler. Fetusun besin ve oksijen ihtiyacını karşılayan plasenta da pıhtılaşma öncüsü proteinler içermektedir. Bu sebeple hemostaz mekanizmasında meydana gelen her türlü değişim plasental dolaşımı yakından etkilemektedir (Şekil 2.1) (Çağlayan ve Üstün 2015). Döllenme ile birlikte maternal koruyucu birtakım faktörlerinin etkinleştirdiği düşünülen doğal bir mekanizma ile hiperkoagülasyona yatkınlık gelişmektedir. Artan hiperkoagülasyona herediter yatkınlık da eklenince tromboz riski kaçınılmazdır (Choi ve Pai 2002, Işık vd. 2016).



Şekil 2.1 Hemostaz mekanizması (Çavuşoğlu ve Çağ 2007).

## 2.4 Tromboz

Trombofili, thrombo ve philia (trombozu sevme) kelimelerinden türemiş ve tromboza neden olan tabloları tanımlamak için kullanılmaktadır (Ceelie vd. 2004). Trombofili, fibrinojeni fibrine çeviren trombin oluşumunda artış ve hiperkoagülasyona neden olan

durumlar için kullanılan tanımlamadır (Durmaz vd. 2011).

Tromboz damar içinde kan elemanlarından oluşan anormal bir kitledir. Prokoagülan, antikoagülan ve fibrinolitik faktörler arasındaki hassas dengelerdeki bozukluk sonucunda oluşur (Lanzkowsky 2005). Tromboz oluşumunda;

- 1) Kan akımındaki değişiklikler (reoloji, staz),
- 2) Damar duvar değişiklikleri ve
- 3) Pıhtılaşma faktör ve bunların inhibitörlerinin kan düzeylerindeki değişiklikler söz konusudur.

Tromboza eğilimi ortaya çıkaran durumlar; kandaki pıhtılaşma faktörlerindeki değişiklikler, kan akımındaki yavaşlama ya da damara ait bozukluklar sonucu oluşabilmektedir (Keser vd. 2014). Faktör V Leiden (FVL) G1691A, Faktör II (FII) G20210A ve metilentetrahidrofolat redüktaz (MTHFR) C6677T mutasyonları tromboza yatkınlığın değerlendirilmesinde çok önemli yer tutan moleküler belirleyicilerdir (Kahraman 2013).

#### **2.4.1 Trombofili Etiyolojisi**

Maternal trombofililer fetus ve plasenta arasındaki dolaşımı ve damar gelişimini etkileyerek intrauterin gelişme geriliği ve abortuslara neden olabileceği bildirilmiştir (Işık vd. 2016). Trombotik bozukluklar, kanama bozukluklarıyla karşılaştırıldığında TGK'ya daha fazla yol açmaktadır (Bick ve Hoppensteadt 2005). Tromboz multifaktöriyel bir gelişim gösterir. Trombofili, kalıtsal ya da kazanılmış (Çizgelge 2.1) nedenlerle olabilir (Şahin vd. 2009).

Gebeliğin özellikle ovulasyon, implantasyon ve plasentasyon aşamasında hemostatik sistem çok önemlidir. Gebelikte plazma hacim artışı en fazla 1. ve 2. trimesterde olmak üzere 24. haftada en yüksek düzeye ulaşmaktadır. Artan plazma hacmine ek olarak hemostatik sistemde de önemli değişiklikler meydana gelmekte ve hemostatik mekanizmalar ile tromboz oluşumuna yatkın olan yeni bir denge oluşmaktadır. Gebelik kendi doğal seyirinde hiperkoagülatif bir durumdur. Bunun nedenleri;

- 1) Prokoagulan faktörlerin düzeyindeki artış,
- 2) Doğal antikoagulanların düzeylerindeki azalma,
- 3) Fibrinolizdeki azalmadır.

**Çizelge 2.1** Trombofilik etkenler.

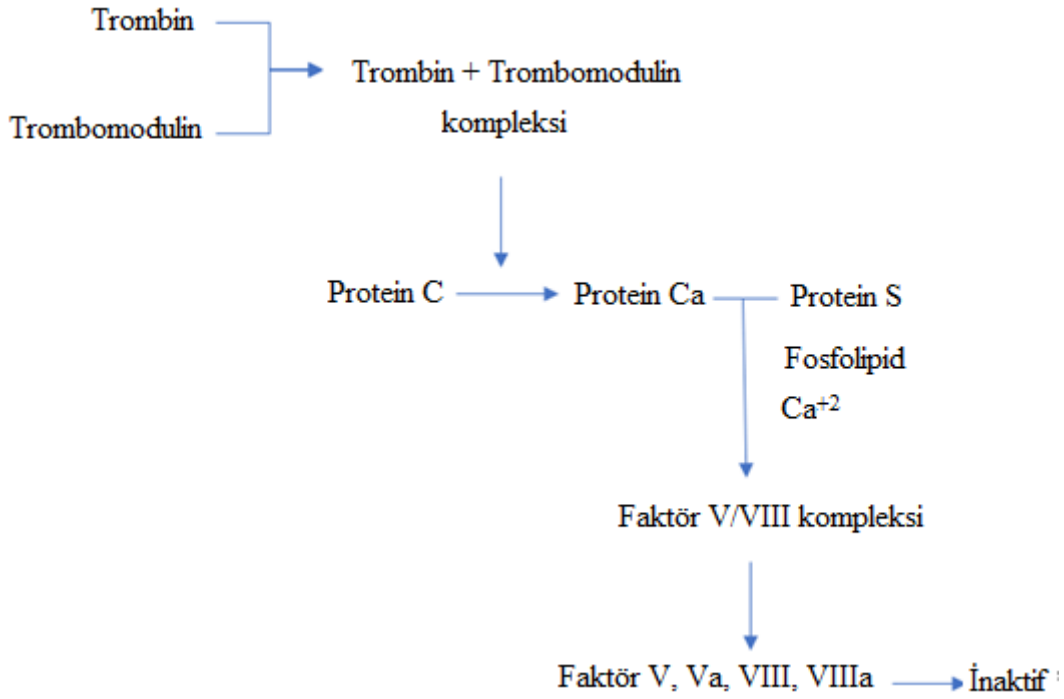
<b>Kalıtsal Etkenler</b>	<b>Kazanılmış Etkenler</b>
Faktör V Leiden mutasyonu	Kanser
Protrombin G20210A mutasyonu	Gebelik
Protein C eksikliği	İmmobilizasyon
Protein S eksikliği	Majör cerrahi girişim
Antitrombin eksikliği	Oral kontraseptif kullanımı
Hiperhomosisteinemi	Antifosfolipid sendromu
Disfibrinojenemiler	Kronik miyeloproliferatif hastalıklar
FVIII yüksekliği	Nefrotik sendrom
Plazminojen eksikliği	Paroksizmal noktürnal hemoglobinüri
Faktör XII eksikliği	İnflamatuvar bağırsak hastalığı

Gebeliğin koagülasyon faktörleri üzerindeki etkisi gebeliğin 3. ayından itibaren belirgin hale gelmektedir. Fibrinojen, FVII, FVIII, FIX, FX, FXII, yüksek molekül ağırlıklı kininojen ve prekallikrein gebelik sırasında artış göstermektedir (Hellgren 1996, McColl vd. 1999). Bu artış, FVII, FVIII, FX açısından çok belirgin olmaktadır. FVII, 2. trimesterde %200'lere varan bir artış göstermekte ve gebeliğin sonuna kadar bu yüksek seviyelerini korumaktadır. FVIII gebeliğin son trimesterinde en yüksek değerlerine ulaşırken, FX gebeliğin son trimesterinde %200'lük bir artış gösterir. FII ve FV düzeyleri ile ilgili çelişkili raporlar olmakla birlikte önemli bir değişiklik göstermedikleri söylenebilir (McColl vd. 1999). Koagülasyon proteinlerinde, gebelikte görülen bu artıştan çeşitli hormonların, özellikle östrojenin sorumlu olduğu düşünülmektedir (Stirling vd. 1984, Hellgren 1996).

Sezer vd. (2011), TGK öyküsü olan 108 anne adayını, fertil ve abortus geçirmemiş 72 kadını dahil ederek, MTHFR667 C>T / 1298A>C, Faktör V Leiden ve Protrombin genlerindeki tek nükleotit polimorfizmlerini (SNP) araştırdıkları çalışmalarında, TGK ile ilgili genlerdeki SNP'ler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptamamışlardır (Sezer vd. 2011). Fazelnia vd. (2016), TGK öyküsü olan 330 kadında Faktör V Leiden, Protrombin, MTHFR 667C>T/1298A>C ile SNP'lerin ilişkisini



Genin bu bölgesi, aktive protein C (APC)'nin bağlanarak Faktör V'in aktivasyonunun sağlanmasında görev aldığı için bu noktada meydana gelen değişim Faktör V'in etkili bir şekilde inaktive olmasını önlemekte (protein C rezistansı) ve kişide pıhtılaşmaya karşı artan eğilim meydana getirmektedir (Goyette vd. 1994). APC, koagülasyon mekanizmasında Faktör V'i ve Faktör VIIIa'yı inaktive etmektedir (Şekil 2.3). Faktör V mutasyonu varlığında bu inhibisyon gerçekleşmemekte, proteininin pıhtılaşma faktörlerini parçalayan doğal antikoagülan olan APC'ye karşı direnç kazanmasına ve koagülasyon mekanizmasının kontrolsüz olarak devam ederek trombin düzeyinin artmasına ve pıhtı oluşumuna neden olmaktadır (Sibani vd. 2000, İnt. Kyn. 4).



Şekil 2.3 Aktif protein C inaktivasyonu (İnt. Kyn. 5).

Dolaşımda uzun süre ve ihtiyaç fazlası miktarlarda aktif haldeki bulunan faktör V için koagülasyon kaskadı devam etmektedir. Bu sebeple dolaşımda tıkanmalar meydana gelmektedir (Ekim vd. 2015, Van Cott vd. 2016, Mahmutbegović vd. 2017). Daha sonraları birçok çalışmada konu edinilmiş Faktör V Leiden, GG (atasal-homozigot normal), GA (heterozigot) ve AA (homozigot mutant) olmak üzere 3 ayrı genotipi bulunmaktadır. FV geninin 1691. baz diziliminde G>A değişimi ile oluşmaktadır. Bu

değişim sayesinde kişinin koagülasyon faktör V'in inaktivasyonu %10 azalmaktadır (Ekim vd. 2015).

Trombofilinin kalıtsal nedenlerinden biri olan Faktör V Leiden, genel popülasyonda %3-5 arasında, tromboembolizm hastalarında ise yaklaşık %20-40 oranlarında görülmektedir. Faktör V Leiden prevalansı İsveç'te %8-15 arasında, Güney Avrupa'da %2-4'den daha düşük iken kuzey Avrupa ülkelerinde daha yüksektir. Amerika Birleşik Devletleri'nde yayılışının %5-8 arasında olduğu bildirilmiştir (İnt. Kyn. 4). Kalıtsal trombofili %10'luk bir prevalansla en sık Kafkas popülasyonunda görülmektedir. Türkiye'deki prevalansı ise %3,5-15 arasında değişmektedir (Akar vd. 1997, Vurkun vd. 2002).

Kanın pıhtılaşma riski genel olarak kişinin bu mutasyonu homozigot veya heterozigot olarak taşımasıyla değişmektedir. Sağlıklı insanlara göre bu mutasyon açısından heterozigot olan bireylerde 5-10 kat, homozigot olan bireylerde ise 50-100 kat fazla tromboz riski bulunmaktadır (Durmaz vd. 2011).

Gebelikte pıhtı oluşumu durumuyla karşılaşan hastaların %30-50'sinde mutasyon belirlenmiştir (Kafkas ve Kadıköylü 2005). Faktör V Leiden geni için AA genotipine (homozigot genotip) sahip bireylerde tromboz riski 80 kat artar iken, 1691. baz sırasında GA genotipli (heterozigot genotip) olanlarda ise tromboz riski 5 ila 10 kata kadar düşmektedir (Vurkun vd. 2002, Mahmutbegović vd. 2017).

Rosendaal ve Reitsma (2009), heterozigot 1691GA değişiminin, venöz tromboz emboli riskini 3-8 kat arttırdığını ve homozigot 1691AA'nın, venöz tromboz emboli riskini 9-80 kat arttırdığını bulmuşlardır (Rosendaal ve Reitsma 2009). Heterozigot durumdaki Faktör V Leiden mutasyonu, hamilelik sürecinde venöz tromboz emboli riskini 8 kat, gebelik kaybı, fetal büyüme gerilikleri ve preeklampsi riskini 2-3 kat arttırmaktadır (Robertson vd. 2006). Homozigot 1691AA, gebeliğe bağlı gelişen venöz tromboz emboli riskini yaklaşık olarak 9-41 kat arttırmaktadır (Martinelli vd. 2001). Heterozigot Faktör V Leiden mutasyonu tromboz riskini 5-10 kat arttırırken, homozigot olanlarda bu risk 50-100 kat artmaktadır (Friedline vd 2001).

Faktör V Leiden sıklığı diğer gen varyasyonları gibi farklı ırk ve etnik kökene göre değişiklik göstermektedir (Sergi vd. 2015). İsveçli bireylerde %7, Hollandalı bireylerde ise %2-4 sıklıkla Faktör V Leiden varyasyonu sıklığı bildirilmiştir. Ukrayna nüfusunda %1,5, Bosna Hersek'te ise %6 sıklıkla belirtilmiştir (Mahmutbegović vd. 2017). Sağlıklı Avrupa toplumundaki Faktör V Leiden varyasyon sıklığı %3-12 olarak bildirilirken, TKG öyküsü olan kadınlarda Faktör V Leiden varyasyonu sıklığı %0,2-0,25 olarak bildirilmiştir (Kafkas ve Kadıköylü 2005). Öztuzcu vd. (2014), Türkiye popülasyonunda Faktör V Leiden sıklığını araştırdıkları bir çalışmada AA genotip sıklığı %0,57, GA sıklığı ise %7,43 olarak saptamışlardır. Vurkun vd. (2002), sağlıklı Edirne toplumunda Faktör V Leiden varyasyon sıklığını %4,28 olarak bildirmişlerdir (Öztuzcu vd. 2014). Kabukçu vd. (2007), Ege Bölgesinde yaşayan sağlıklı kadın nüfustaki Faktör V Leiden varyasyonu sıklığını %8,3 olarak bildirmektedir (Kabukçu vd. 2007). Akar (2009), sağlıklı Türk toplumundaki Faktör V Leiden dağılımını %3,5-15 olarak rapor etmiştir (Akar 2009).

#### 2.4.2.2 Faktör II G20210A (Protrombin) Polimorfizmi

Faktör II geni, kromozom 11p11.2'de lokalize (Şekil 2.4), 2023 baz çifti ve 622 aa'lık koagülasyon faktör II'yi kodlar. Karaciğer tarafından oluşumu sağlanan 70 kD kütleli protrombin (OMIM: 176930 Coagulation Factor II) koagülasyon sürecinde trombini oluşturmaktadır.

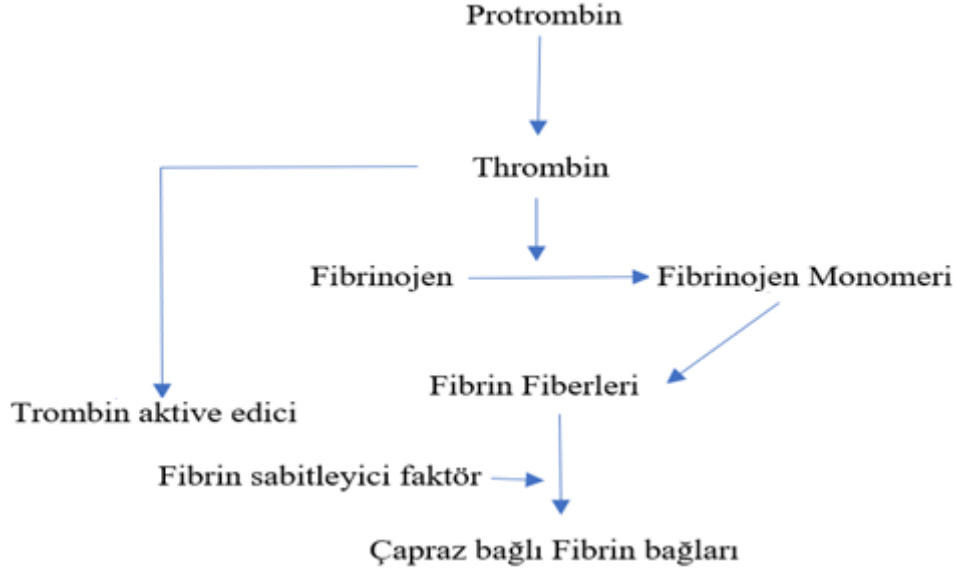


**Şekil 2.4** Kromozom 11 üzerinde kırmızı çizginin olduğu bölgede Faktör II G20210A mutasyonu (İnt. Kyn. 6).

Faktör II olarak bilinen protrombin, kanda bulunan pıhtılaşma mekanizmasında görevli bir proteindir. Kanın pıhtılaşması için gerekli olan fibrin oluşumunda rol alır. Faktör II, insan kan pıhtılaşması yolundaki en önemli faktörlerden biridir. Protrombin veya Faktör



II, K vitaminine bağımlı, karaciğer tarafından üretilen ve fibrinojenin fibrine dönüşümünde rol alan (Şekil 2.5) çok önemli olan bir zimojendir (Çavuşoğlu 2003).



Şekil 2.5 Fibrinojenin fibrine dönüşümü (Guyton ve Hall 2008).

Protrombin G20210A mutasyonu 1996'da ailelerde trombotik ataklara aday genlerin araştırılması sırasında keşfedilmiştir. GG (atasal-homozigot normal), GA (heterozigot) ve AA (homozigot mutant) olmak üzere 3 ayrı genotipi bulunmaktadır. Poort vd. (1996) vakaların %18'inde, 3'-transkribe edilmeyen bölgede 20210. pozisyonda tek nükleotit değişimi (G>A) belirlemiştir. G>A değişimi sonucu meydana gelen nokta mutasyonu protrombin seviyesinde artış ile birlikte hiperkoagülasyona neden olmaktadır (İnt. Kyn. 7). Oluşan değişim nedeniyle protrombin aktivasyonu 1/5 ve 1/2 oranlarında artmaktadır (Prat vd. 2014). Protrombin 20210 G/A mutasyonu açısından heterozigot olan bireylerde sağlıklı bireylere göre tromboz için 2-3 kat risk oluşturduğu bildirilmektedir (Şahin vd. 2009, Brand 2017). Ayrıca yapılan bir çalışmada heterozigot kadınlarda abortus riskinin 2 ila 5 kata kadar arttığı bildirilmektedir (Mahmutbegović vd. 2017). Bu değişim genin poliadenilasyon kısmını değiştirmekte ve sonucunda mRNA sentezini arttırarak, protein ekspresyonunu arttırmaktadır. Bu mutasyon artan protrombin seviyesi ve trombofili rahatsızlıklar riski ile ilişkilendirilmektedir (Pollak vd. 2002, Ceelie vd. 2004). Protrombin gen mutasyonunun, pıhtılaşma bozukluğu nedeniyle fetal kayıp yaşayan kadınların %7,8'inde olduğu gösterilmiştir. Venöz

trombozun ikinci kalıtsal risk faktörü olduğu bildirilmiştir (Giglio vd. 2003). Protrombin 20210 G/A mutasyonunun görülme sıklığı, sağlıklı insanlarda %2,3, tromboz öyküsü olanlarda %6,2 ve ailesinde tromboz öyküsü olanlarda %18 olarak saptanmıştır (Van der Meer vd. 1997, Altıntaş vd. 2007). İlk venöz tromboz emboli atağı geçiren kişilerde trombofili taraması yapıldığında, vakaların %15-20'sinde Faktör V Leiden, %5-7'sinde ise protrombin gen mutasyonu saptanmaktadır (Liem ve De Loughery 2008).

Faktör V Leiden'a benzer şekilde, Kafkas halkı dışındaki G20210A mutasyonunun prevalansı çok düşük bulunmuştur. Genel olarak, Faktör V Leiden Kuzey Avrupa'da, protrombin mutasyonu Güney Avrupa'da, özellikle de Akdeniz Bölgesi'nde daha yaygındır (Rosendaal vd. 1998, Nguyen 2000). Plazma protrombin düzeyini arttırmakta ve venöz tromboz eğilimine neden olmaktadır (Welch ve Loscalzo 1998). Protrombin mutasyonu; fetal kayıpları, plasental ablasyonu, ağır preeklampsi ve intrauterin gelişme geriliği görülme riskini artırmaktadır (Roque vd. 2001).

Rey vd (2003), gebeliğe bağlı gelişen venöz tromboz emboli riskini 15 kat, tekrarlayan birinci trimester fetal kayıpların görülme riskini 3 kat, tekrarlamayan ikinci trimester gebelik kayıp riskini 9 kat bulmuştur (Rey vd. 2003). Tüm trimesterlerde ise fetal kayıpların görülme riskini 2-3 kat artırmaktadır (Robertson vd. 2006). Yapılan çalışmalarda sağlıklı bireylere göre protrombin 20210 G/A mutasyonunu taşıyan heterozigot bireylerde pıhtılaşma riskini 2-3 kat, venöz tromboz emboli riskini 2-5 kat arttığı bildirilmiştir (Andreassi vd 2006, Lijfering vd. 2009, Ar 2010). Homozigot 20210AA, venöz tromboz emboli riskini 10 kat (Andreassi vd. 2006), gebeliğe bağlı olarak gelişen venöz tromboz emboli riskini ise 26 kat artırmaktadır (Robertson vd. 2006).

Dziadosz ve Baxi (2016), farklı popülasyonlarda Faktör II 20210G>A taşıyıcılık durumunu araştırdıkları meta analiz çalışmalarında, Japonya, Çin, Hindistan, Güney Kore popülasyonlarında Protrombin 20210 G>A gen varyasyonunu saptamazken; Mısır, Güney Avrupa ve Amerika Birleşik Devletleri popülasyonlarında sırasıyla %1,4, %3, %5 sıklıkla saptamışlardır (Dziadosz ve Baxi 2016). Öztuzcu vd. (2014), Güneydoğu

Anadolu Bölgesi'nde Protrombin 20210 G>A varyasyon sıklığını araştırdıkları çalışmalarında, AA genotipini %0,25; GA genotipini ise %3,44 olarak saptamışlardır (Öztuzcu vd. 2014).

Foka vd. (2000), tekrarlayan düşüğü olan 80 hasta üzerinde yaptıkları çalışmada FV Leiden ve FII G20210A mutasyonu varlığının fetal kayıp hikayesi olan 4 hastadan birinde görüldüğünü, 2. trimester düşüklerinde prevalansın daha belirgin olduğunu belirtmişlerdir. FII G20210A mutasyonu fetal kaybı olan hastalarda kontrol grubuna göre daha sık olarak rastlanmıştır. Fetal kayıplar açısından bu hastaların 4 kat artmış riske sahip olduğunu belirtmişlerdir (Foka vd. 2000). Martinelli vd. (2000), 20 hafta ve üzerindeki fetal kayıp vakalarında kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek oranda FV Leiden ve F II G20210A gen mutasyonu (sırasıyla %7 ve %9) saptamış ve bu mutasyonların taşıyıcısı olmanın fetal kayıp riskini 3 kat arttırdığını belirtmiştir (Martinelli vd. 2000). Sigara veya alkol içen kadınlarda ve ayrıca protrombin G20210A mutasyonu taşıyıcılarında arter hastalığı riskinin arttığı gösterilmiştir (They-They vd. 2012).

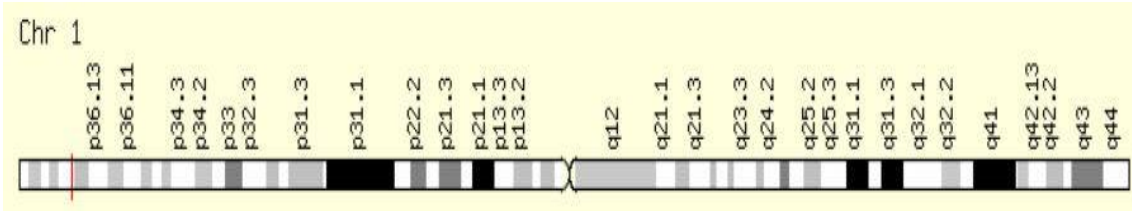
Protrombin G20210A mutasyonu en sık görülen kalıtsal trombofililerden biridir ve Faktör V Leiden mutasyonundan sonra ikinci sıklıkta görülür. Türkiye'de trombofil hastalarında yapılan bir çalışmada, hastaların %0,7'sinde protrombin 20210A mutasyonunu belirlenmiştir (Yirmibeşoğlu vd. 2011). Son yıllarda, venöz tromboz riskine katkıda bulunan çeşitli kalıtsal hemostatik anomalilerin, özellikle protrombin G20210A ve FV G1691A mutasyonlarının, protein C, protein S ve antitrombin eksikliğinin veya fonksiyonel kaybının veya modifikasyonunun ilişkileri iyi kurulmuştur (Junker vd. 1999). Trombofilinin Faktör V Leiden (FVL) ve protrombin gen mutasyonu gibi artan sayıda anormalliklerin 1990'lı yıllarda keşfedilmesiyle birlikte ilgi çektiği bildirilmiştir (Lanzkowsky 2005, Cohn vd. 2008).

Tanımlanmış kalıtsal trombofililerin hemen hepsi otozomal dominant geçiş göstermektedir (Ar 2010). Bu nedenle, kalıtsal defektleri taşıyan hastaların aileleri de belli oranlarda venöz tromboz emboli riskine maruz kalırlar. Hastaların çoğu heterozigottur. Heterozigot FV Leiden veya protrombin G20210A mutasyonlarına sahip

hastaların, göreceli risk açısından önemsenmeyecek düzeyde artışa neden olabileceği gösterilmiştir. Homozigot hastalarda ise venöz tromboz gelişme riski genel olarak daha yüksektir. Örneğin, homozigot antitrombin eksikliği erken trombozlarda daha erken zamanda ölüme yol açar. Her ne kadar kalıtsal etkenlerin varlığı hastada ve sağlıklı bireyde artmış venöz tromboz emboli riskini akla getiriyorsa da yapılan çalışmalar tek başına trombofilinin tromboza neden olamayacağını ve trombozun birçok çevresel ve kalıtsal etkenin bir araya gelmesiyle oluştuğunu ortaya koymaktadır (Ar 2010).

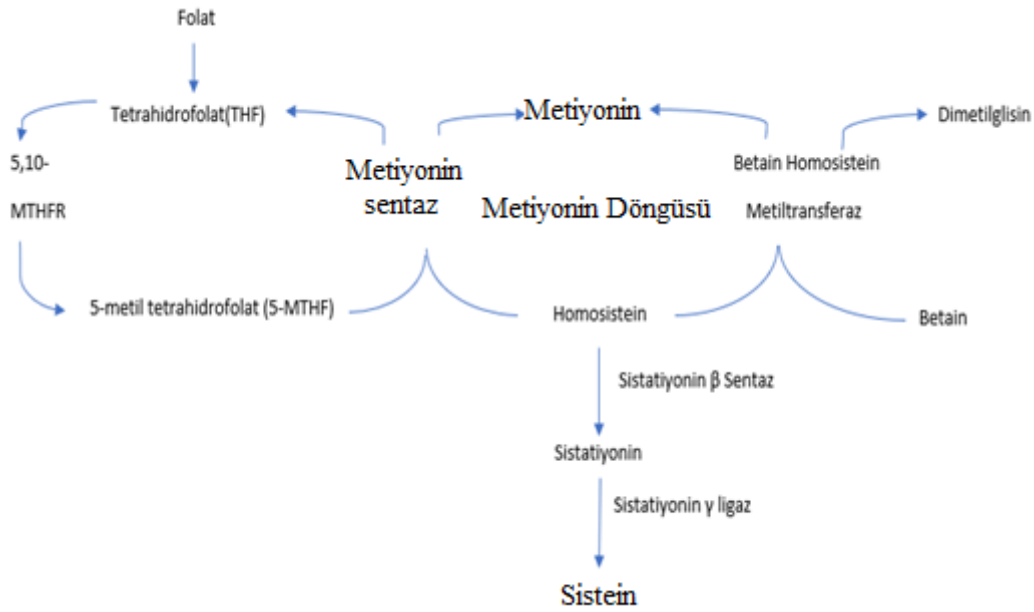
#### 2.4.2.3 Metilentetrahidrofolat Redüktaz C677T (MTHFR C677T) Polimorfizmi

Metilentetrahidrofolat redüktaz (MTHFR), folik asit metabolizmasının önemli enzimlerinden biridir. Bu proteinin geni, 1 numaralı kromozomun kısa kolunda (1p36.13) lokalize olmuştur (Şekil 2.6). MTHFR enzimi, 7094 baz çiftinin kodladığı 656 aminoasitten oluşur (Homerger vd. 2000). MTHFR enzimi, folik asit, nükleotid sentezi (DNA, RNA) gibi pek çok reaksiyonu içeren hücre metabolizmasında kilit rol oynar ve metiyoninden elde edilir.



Şekil 2.6 Kromozom 1 üzerinde kırmızı çizginin olduğu yerde bulunan MTHFR geni (İnt. Kyn. 8).

Folik asit ve türevleri metiyonin ve sisteine dönüşür. Bu dönüşümü MTHFR, sistatyonin beta sentaz ve metiyonin sentaz katalizlemektedir (Şekil 2.7). Sitozolik MTHFR enzimi NADPH bağımlı olarak 5,10-MTHF'ı 5-metil THF'a katalizlemektedir (Günel 2007). Oluşan 5-metil THF, homosisteinin metiyonine metilasyonu için gereklidir (Eskes 2006). 5-metil THF, DNA metilasyonu ve metiyonin sentezi için metil grubu sağlar. 5,10-metilen THF ise deoksi-üridilatın (dUMP), timidilata dönüşümünde kullanılırken, bir taraftan da pürin sentezi için 10-formil THF'a okside olmaktadır (Keser vd. 2014). Homosistein, 5-metil TFH'nin kendisine metil (CH<sub>3</sub>) sağlamasıyla, DNA sentezi ve onarımında rol alan metiyonine dönüşür.



**Şekil 2.7** Folik asit ve türevlerinden metiyonin, homosistein ve sistein oluşumu (Temel ve Özerol 2002).

MTHFR etkinliğindeki bozulmalar, homosisteinin metiyonine dönüşümünü engellemektedir. Dönüşümü sağlanamayan homosisteinler kan plazmasında birikerek hemostaz dengesini hiperkoagülasyon tarafına çevirmektedir. Damar sıvısında biriken homosistein, ven trombozuna yatkınlık yarattığı gibi aynı zamanda gebelik sürecinde de TGK, fetal gelişim problemleri, erken doğumlara yol açabilmektedir (Liew ve Gupta 2015). Aynı zamanda bozulan folat mekanizması metiyonin değişiklikleri hücre bölünmesi sırasında bazı hatalara neden olarak dengesiz kromozom içeriğine sahip embriyoların gelişimine zemin hazırlayabilir (Madjunkova vd. 2012).

MTHFR eksikliği, hiperhomosisteinemi (kanda yüksek düzeyde homosistein bulunması) ve homosisteinüri (sistatyonin beta sentaz eksikliğiyle karakterize olan otozomal resesif hastalık) ile sonuçlanmaktadır. Diğer taraftan MTHFR eksikliğinin metilentetrahidrofolatı arttırarak timidilat sentezi için daha fazla tek karbon grubu sağlayabileceği de düşünülmektedir (Rosenblatt 2001). MTHFR eksikliğinden pürin ve pirimidin biyosentezi etkilenmediği için megaloblastik anemi oluşmamaktadır. MTHFR eksikliği, plazma homosistein seviyesinin yükselmesine bu da kardiovasküler hastalıkları ve nöral tüp defekti riskinin artmasına neden olmaktadır (Donnelly 2001).

MTHFR geninde görülen bazı mutasyonlar, kardiyovasküler ve serebrovasküler hastalıklar için önemli bir risk faktörü olan hiperhomosisteinemi ve homosisteinüri oluşmasına neden olur (Keser vd. 2014). MTHFR geninde mutasyonların meydana gelmesi, bu enzimin üretilmesini engellemekte ve sonuçta kan plazmasında normalden fazla homosistein seviyesine sebep olmaktadır. Homosistein normalde kan dolaşımında düşük seviyelerde bulunur. Fazla homosistein seviyesi, hiperhomosisteinemi adı verilen bu durum özellikle kardiyoserebrovasküler hastalıklar için önemli bir risk faktörü sayılmaktadır (Stern vd. 2000). Homosisteinüri çocukluk çağında bile kan pıhtılaşması ve atardamarların sertleşmesiyle sağlık problemlerine (tromboembolizm, ateroskleroz, koroner arter hastalığı, preeklampsi, oklüzif vasküler hastalıklar, kolon kanseri, nöral tüp defekti, akut lösemi, Down sendromu, meme ve endometrial kanser vb.) sebep olduğu bildirilmiştir (Savlı ve Hatırnaz 2004). B6, B12 vitaminleri ve folik asitin eksikliği durumu ağırlaştırır.

MTHFR geni üzerinde yapılan çalışmalar sonucunda belirlenen polimorfizmlerden, vasküler hastalıklar, nöral tüp defektleri ve kolon kanseri ile yakından ilişkili olduğu açıklanan C677T polimorfizmi, enzimin katalitik bölgesinde, özellikle nöral tüp defektlerinde etkili olan A1298C polimorfizmi ise enzimin regülatör bölgesinde ortaya çıkmaktadır (Bagley ve Selhub 1998). MTHFR 677 C>T polimorfizmi, genin 4. ekzonunda meydana gelir ve 222. kodondaki alaninin valine dönüşümüne neden olur. Bu bölge enzimin amino terminal katalitik bölgesini oluşturur ve tam da bu bölgeye MTHFR'nin kofaktörü olan flavin adenin dinükleotid (FAD) bağlanır. Bu bölgede normalde olması gereken alanin, bölgenin fiçı benzeri bir yapı oluşturmasını sağlamaktadır. Ancak, 677 C>T polimorfizmi sonucunda alanin aminoasiti yerine valin aminoasitinin geçmesiyle fiçı benzeri yapı oluşmadığı için FAD'ın enzime bağlanması etkilenmekte ve MTHFR enzim aktivitesinin %55-65 daha az olmasına neden olmaktadır (İzmirli vd. 2014). Diğer bir deyişle, alanin aminoasidi yerine valin kodlanması enzim aktivitesini değiştirmekte ve böylece enzimin ısıl dayanıklılığı azalarak etkinliği yarı yarıya düşmektedir (Liew ve Gupta 2015). Azalan MTHFR aktivitesi sonucunda, 5-metil tetrahidrofolat düzeyi azalmakta, 5,10-metilen tetrahidrofolat miktarı ile plazma homosistein düzeyi artmaktadır (Keser vd. 2014).

677 C>T polimorfizmi termolabil (sıcaklıkla değişime uğrayabilen) varyant olarak isimlendirilir. CC (atasal-homozigot normal), CT (heterozigot) ve TT (homozigot mutant) olmak üzere 3 ayrı genotipi bulunmaktadır. C677T polimorfizmi açısından, MTHFR aktivitesi, homozigot mutant TT genotipinde, heterozigot CT ve homozigot normal CC genotiplerine göre azalırken, homosistein seviyesi önemli oranda yükselir (Bagley ve Selhub 1998, Lievers vd. 2001).

Yapılan çalışmalarda MTHFR mutasyonlarının birlikte (C677T ve A1298C) tekrarlayan gebelik kayıplarına %35 oranında sebep olabileceği, sadece C677T mutasyonunun %50 ve sadece A1298C mutasyonunun da %15 oranında sebep olabileceği bildirilmiştir. Homozigot C677T mutasyonunun oranı Çin ve Asya toplumlarında daha da yüksek oranda bulunmaktadır. 1298 A>C polimorfizmi klinik etkileri 677 C>T'ye göre daha hafiftir. Her iki polimorfizmin heterozigot olarak bağımsız taşınması normal ya da hafif artmış homosistein seviyesine neden olur. Fakat her iki polimorfizm açısından heterozigot olan bireylerin (birleşik heterozigotluk) kliniği, 677 C>T homozigot olanlar ile aynıdır. 677 C>T polimorfizmi açısından homozigot normal tip (yabani tip) olan CC genotipi ile karşılaştırıldığında, CT heterozigot genotipini taşımak enzim aktivitesini %30, TT homozigot mutant genotipini taşımak ise enzim aktivitesini %70 düşürmektedir (Balasubramaniam vd. 2017). Homozigot mutant genotip, venöz tromboz riskinde de 2-4 kat artışa yol açmaktadır. Homozigot mutant genotip sonucunda oluşan homosisteinemi, arteriyel tromboz riskinde de artışa yol açmaktadır. Ayrıca 50 yaş üstündeki sigara içen kadınlarda koroner tromboz riskinde belirgin artışa yol açmaktadır. Bu nedenlerle bu vakalara arteriyel tromboz riskinden korunmak için sigara, hipertansiyon, hiperlipidemi ve hiperkolesterolemi, obezite ve fiziksel aktivesiz hayat şeklinden korunmaları önerilmelidir. Hiperhomosisteinemili kadınlarda folik asit eksikliği bulunur, ayrıca MTHFR C677T homozigot bireylerdeki pıhtılaşma oranı da iki kat artış gösterir (Govindaiah vd. 2009, Cosmi vd. 2013).

Ülkemizde Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nde MTHFR 677CC genotipi görülme sıklığı %13,78; CT genotipi görülme sıklığı ise %44,94 olarak rapor edilmiştir (Öztuzcu vd. 2014). Yozgat ve çevresinde yaşayan sağlıklı toplumda MTHFR 677CC genotipi görülme sıklığı %8,8; CT genotipi görülme sıklığı ise %33,3 olarak rapor edilmiştir

(Ekim vd. 2015). MTHFR geni C677T polimorfizmi TT homozigot mutant genotipinin gebe kadınlarda tromboz riskini 2-3 kat arttırdığı (Andreassi vd. 2006) ve bunun da tekrarlayan gebelik kayıplarında önemli rol oynadığı bildirilmiştir (Özdemir vd. 2012).

#### **2.4.2.4 Faktör V H1299R Polimorfizmi**

Faktör V geninde Leiden (G1691A), R2 (A4070G ya da H1299R) ve A5279G olmak üzere üç polimorfizm vardır (Torabi vd. 2009). Faktör V geninin Leiden (G1691A) polimorfizminin yanı sıra Faktör V H1299R polimorfizminin de trombofiliye neden olabileceği ve pıhtılaşma faktörü eksikliğinde rol oynayacağı, fakat Faktör V Leiden (G1691A)'in daha önemli bir risk faktörü olduğu bildirilmiştir (Lunghi vd. 1996).

Faktör V H1299R polimorfizmi, genin 13. ekzonu 4070. pozisyonunda tek nükleotit değişimi (A>G) sonucunda meydana gelir ve 1299. kodondaki histidin aminoasiti yerine arjinin amino asitinin geçmesine (His1299Arg) neden olur (Ulu vd. 2005). FV H1299R polimorfizminin AA (atasal homozigot normal), GA (heterozigot) ve GG (homozigot mutant) olmak üzere 3 ayrı genotipi bulunmaktadır. Zammiti vd. (2006), Faktör V H1299R polimorfizmi açısından GG homozigot mutant genotip ile 8 haftalık gebelikten sonra tekrarlayan düşük riski arasında ilişki belirtmiştir (Zammiti vd. 2006). Ayrıca Faktör V H1299R polimorfizmi AG heterozigot mutant genotipi de tekrarlayan gebelik kayıplarında kritik bir role sahip olup, risk faktörü olarak değerlendirilmesi önerilmektedir (Pollak vd. 2002).

Faktör V H1299R polimorfizmi açısından GG homozigot mutant genotipinin APC direncini arttırarak venöz trombo emboliye neden olduğu bildirilmiştir (Faioni vd. 1999). APC direncinin, tekrarlayan gebelik kayıplarında kalıtsal trombozun en sık nedeni olduğu gösterilmiştir. Heterozigot Faktör V Leiden (G1691A) mutasyonu venöz tromboz emboli riskini 7 kat arttırırken, Faktör V A4070G mutasyonu ile birlikte görüldüğünde venöz tromboz emboli riski 10 kat artmaktadır (Faioni vd. 1999). Bileşik heterozigozite, bir çift kromozomun belirli bir gen lokusunda iki farklı mutant alelin varlığının bulunması durumudur (İnt. Kyn. 9). Faktör V Leiden (G1691A) ve Faktör V A4070G mutasyonunun birlikte tespit edilmesi de birleşik heterozigoziteye örnektir.



Çalışmamızda birleşik mutasyonlar olgu grubunda 215 vaka içerisinde 3 olguda bulunmuştur (%1,4). Kontrol grubunda ise 1 kişide %2,5 oranında elde edilmiştir. Faktör V Leiden ve MTHFR C677T literatür ışığında bakıldığında bir arada yani birleşik olarak bulunması risk artışına sebep olabilmektedir.

Lunghi vd. (1996), Faktör V A4070G (H1299R) polimorfizmi bakımından TGK ve kontrol grupları arasındaki A alel sıklığını sırasıyla %97,5 (0.975) ve %95,5 (0.955) ve G alel frekansını ise sırasıyla %2,5 (0.025) ve %4,5 (0.045) olarak hesaplamış ve iki grup arasında farkın önemsiz olduğunu bildirmiştir ( $p=0.4$ ,  $p\leq 0.05$ ) (Lunghi vd. 1996). Coulam vd. (2006) ve Arabkhazaeli vd. (2016) tarafından A4070G (H1299R) polimorfizminin heterozigot mutasyonu için hasta grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar bulmuşlardır (Coulam vd. 2006, Arabkhazaeli vd. 2016).

## **2.5 Eş-zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu**

Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR), herhangi bir organizmaya ait genomik DNA'da dizisi bilinen herhangi bir bölgenin in vitro şartlarda enzimatik olarak çoğaltılmasına (amplifikasyon) olanak veren DNA sentez yöntemidir. Eş-zamanlı PCR, moleküler genetikte PCR reaksiyonu ile eş zamanlı olarak polimorfik DNA bölgelerinin kantifikasyonunun ve tek nükleotid polimorfizm genotiplendirilmelerinin yapılabildiği yeni bir tekniktir (Reuter vd. 2005). Bu teknik kullanılarak nükleik asit amplifikasyonu ile eş zamanlı olarak artış gösteren floresans sinyalinin ölçülmesiyle kısa sürede kantitatif değerler elde edilebilmektedir. Gerçek zamanlı-PCR cihazı yüksek hızı yanında, kontaminasyon riskini de minimuma indirmektedir. Ayrıca, amplifikasyon işlemi eş zamanlı olarak bilgisayarda görüntülenebildiği için PCR döngüsü başarısız olduğunda, reaksiyon çok geçmeden sonlandırılabilen veya döngü artışı yapılabilmektedir (Reuter vd. 2005). Elektroforeze gerek kalmadan amplifikasyon ürünlerinin gözlenmesi en büyük kolaylığı sağlamaktadır.

### **3. MATERYAL ve METOT**

#### **3.1 Materyal**

##### **3.1.1 Vaka ve Kontrol Gruplarının Belirlenmesi**

Araştırmamıza Ocak 2013-Aralık 2018 tarihleri arasında Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı polikliniğine 20. gebelik haftasından önce iki veya daha fazla tekrarlayan gebelik kaybı (TGK) nedeniyle başvuran 18-40 yaş arası TGK öyküsü olan 215 kadın vaka grubu olarak araştırmamıza dahil edilmiştir. Araştırmamıza kronik hastalığı, kalıtsal hastalığı, akraba evliliği ve fetüs ölüm hikayesi olmayan, en az 2 düşük öyküsü olan kadın bireyler vaka grubu olarak değerlendirilmiştir. Kontrol grubu olarak kronik hastalığı, kalıtsal hastalığı, akraba evliliği ve düşük veya ölüm hikayesi olmayan, en az iki çocuğu bulunan ve yaşları 24-55 arasında değişen sağlıklı 40 kadın birey değerlendirilmiştir. Bu tez çalışması için Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu Başkanlığından 02.08.2019 tarihli ve 2019/263 sayılı etik kurul onayı alınmıştır.

##### **3.1.2 Kan Örneklerinin Alınması**

Tez çalışması kapsamında 40 sağlıklı kadın bireyden kan örneği alınmıştır. Etilendiamintetraasetik asit (EDTA)'li tüplere alınan 2 mL periferik kan örnekleri DNA ekstraksiyonu için kullanılmıştır.

##### **3.1.3 Araştırmada Kullanılan Teçhizatlar**

Araştırmada kullanılan teçhizatlar Çizelge 3.1'de verilmiştir.

**Çizelge 3.1** Teçhizatlar.

<b>Cihaz Adı</b>	<b>Marka-Model</b>
Eş Zamanlı PCR	Rotor-Gene Q, Qiagen
DNA izolasyon cihazı	Qiagen EZ1 Advanced XL
Spektrofotometre	Nanodrop ND-1000
Santrifüj	ThermoFisher SL16
Buzdolabı	Arçelik
Derin dondurucu	Arçelik
Mikropipetler	Eppendorf, Thermo

## **3.2 Metot**

### **3.2.1 Örneklerden DNA Eldesi**

Çalışmada kullanılan 40 sağlıklı kadın bireye ait EDTA'lı tüplere alınan 2 mL periferik kan örnekleri Qiagen EZ1 DNA Blood Kit kullanılarak DNA ekstraksiyonu yapılmıştır. Elde edilen DNA örnekleri kullanılıncaya kadar  $-20^{\circ}\text{C}$ 'de saklanmıştır. Qiagen EZ1 DNA Blood Kiti içerisinde bulunan lizis kimyasalları (200  $\mu\text{l}$ ) ile DNA elde edilmiş ve lizatlar manyetik olarak ayrıştırılmıştır. Bu yöntem ile akyuvar hücrelerinden DNA eldesi sağlanmıştır.

Elde edilen DNA örneklerinin saflığını belirlemek için Thermo Scientific (USA) marka Nanodrop 1000 spektrofotometre cihazında 260-280 nm dalga boyunda ölçüm yapılmıştır. DNA saflığı ortalama 1,84 olarak hesaplanmıştır.

### **3.2.2 Mutasyonların ve Genotiplerin Analizi**

Kontrol grubuna ait DNA örneklerinde, eş-zamanlı PCR (Rotor-Gene Q) cihazı kullanılarak NML marka CVD6 Multiplex Real Time kiti ile erime eğrisi (melting curve) analizi ile genotiplendirme yapılmıştır. Erime eğrisi analiz sonucunda, floresan şiddetinin düşüşüne neden olan sıcaklık derecesine göre değerlendirilerek kontrol bireylerine ait genotiplendirme yapılmıştır. Buna göre, kontrol bireylerine ait DNA örneklerinde Faktör V G1691A, Faktör II G20210A, MTHFR C677T ve Faktör V H1299R mutasyonları bakımından homozigot mutant, heterozigot ve homozigot normal

(yabanıl tip) genotiplemesi yapılmıştır.

Kullanılan kit, araştırılan gen bölgelerinde çalışılan polimorfizmleri genotiplendirmektedir. Kit, polimorfizm noktalarına komplementer ve farklı floroforlara bağlı spesifik probler kullanılmaktadır. Araştırılan genler, polimorfik varyantlar ve problemlerin işaretlendiği floroforlar Çizelge 3.2’de verilmiştir.

**Çizelge 3.2** İncelenen genler, polimorfik varyantları ve problemlerin işaretlendiği floroforlar.

<b>Genler ve polimorfik varyantlar</b>	<b>Problemlerin işaretlendiği floroforlar</b>
FV G1691A	ROX
FII G20210A	ROX
MTHFR C677T	FAM
FV H1299R	CY5.5

CVD6 Multiplex Real Time Kit (NML Diagnostici, Italy) içeriğinde farklı vialde kullanıma hazır çözeltiler bulunmaktadır. Reaksiyon karışımı Çizelge 3.3’de verilmiştir. Toplamda 22 µL hazırlanan her bir 0,1 µL’lik Strip Rotor-Gene Strip tüplerine 10-100 µL Thermo Scientific marka pipetle konulur ve üzerine elde edilen hasta DNA’larından 3,5 µl eklenerek Rotor-Gene Q (Qiagen, Germany) cihazına yerleştirmeye hazır hale gelmiş olur.

**Çizelge 3.3** Reaksiyon karışımı

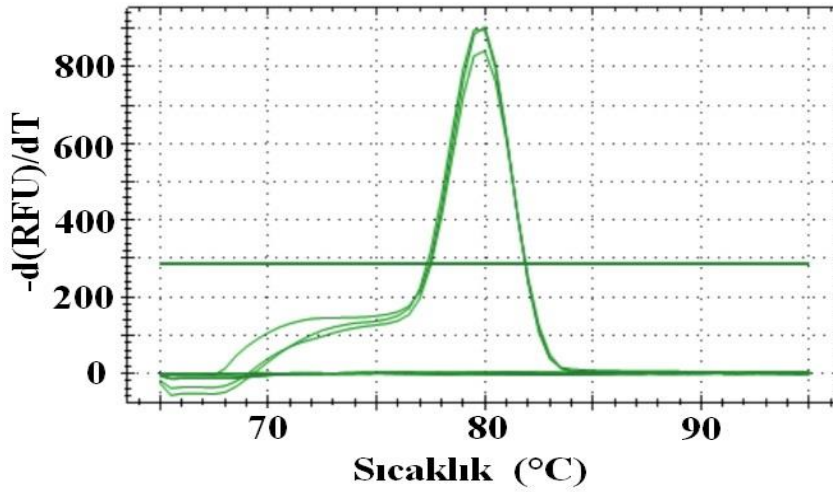
<b>Kit içeriği</b>	<b>Solüsyon</b>	<b>Hacim/Örnek</b>
<b>Karışım 1 CVD6</b> , Şeffaf kapaklı	1 mL	18,8 µL
<b>Karışım 2 CVD6</b> , Mavi kapaklı Oligonükleotidleri içeren solüsyon	160 µL	2,85 µL
<b>Karışım 3 CVD6</b> , Beyaz kapaklı	18 µL	0,25 µL
<b>Taq DNA Polimeraz</b> (5U/µL, Turuncu kapaklı)	36 µL	0,6 µL

Eş-zamanlı PCR yönteminin aşamaları Çizelge 3.4'te verilmiştir.

**Çizelge 3.4** Eş-zamanlı PCR aşamaları.

Döngü	Zaman	Sıcaklık (°C)
1	10 dakika	25
1	2 dakika	95
44	15 saniye	95
	50 saniye	60
1	45 saniye	95
1	30 saniye	37
+ Erime eğrisi		

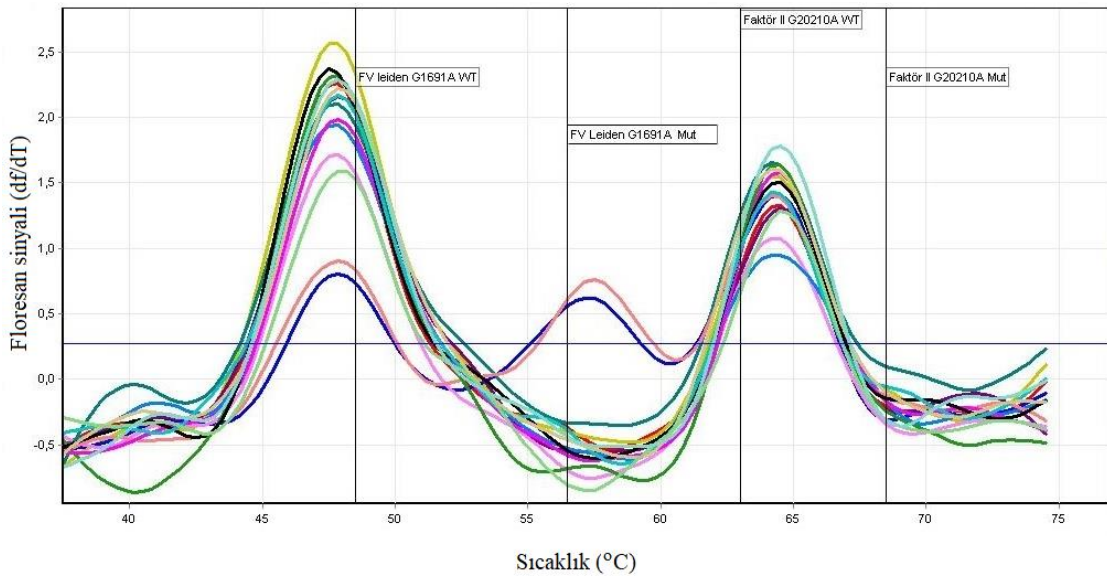
Çift iplikli DNA molekülünün %50'sinin tek iplikli hale geçmesi için gerekli olan sıcaklığa erime sıcaklığı (melting temperature= $T_m$ ) denir (Şekil 3.1).



**Şekil 3.1** Erime eğrisi analizi görüntüsü.

Bu erime sıcaklıkları öncelikle çift iplikli DNA'nın uzunluğuna (zincirin uzunluğu arttıkça  $T_m$  sıcaklığı artar), guanin-sitozin içeriğinin derecesine (guanin-sitozin yönünden zengin fragmentlerde  $T_m$  sıcaklığı yüksektir) ve zincirler arasındaki bütünlüğün derecesine (zincirlerden bir tanesinin farklı bir baz içermesi  $T_m$  sıcaklığını düşürür) bağlı olarak belirlenmektedir (Durmaz vd. 2003). Genotiplemede kullanılan erime eğrisi analizi ile amplifikasyonu eş zamanlı olarak görüntülenmektedir.

Amplifikasyondan sonra erime eğrisi analizinde diziye özgü hibridizasyon problemlerinin tek iplikli DNA'ya hibridizasyonu ile polimorfizmlerin belirlenmesi ve eş zamanlı olarak görüntülenmesi sağlanmaktadır. Bu erime eğrisi analizi sonucunda, floresan şiddetinin düşüşüne neden olan sıcaklık derecesine göre değerlendirilerek hastanın o gen için genotiplendirilmesi yapılmaktadır. Buna göre homozigot mutant genotipler düşük sıcaklıkta tek pik, heterozigot genotipler düşük ve yüksek sıcaklıkta 2 pik ve homozigot normal (yabanıl tip) genotipler ise yüksek sıcaklıkta tek pik oluşturmasına göre 3 farklı genotip belirlenebilmektedir (Şekil 3.2).



**Şekil 3.2** Faktör V Leiden G1691A ve Faktör II G20210A mutasyonlarındaki erime eğrisi görüntüsü.

Faktör V Leiden G1691A mutasyonu için erime sıcaklığı derecesi homozigot mutant genotip (AA) için  $56,5 \pm 2^\circ\text{C}$ 'de bir pik, heterozigot genotip (GA) için  $48 \pm 2^\circ\text{C}$  ve  $56,5 \pm 2^\circ\text{C}$ 'de 2 pik ve homozigot normal genotip (GG-yabanıl tip) için  $48 \pm 2^\circ\text{C}$ 'de bir pik oluşturmasına göre değerlendirilmiştir (Çizelge 3.5).

**Çizelge 3.5** Faktör V G1691A mutasyonunun genotip Tm ilişkisi.

<b>Genotip</b>	<b>Erime pikine ait Tm (°C)</b>	<b>Erime pik sayısı</b>
Homozigot mutant genotip (AA)	56,5±2°C	1
Heterozigot genotip (GA)	48±2°C ve 56,5±2°C	2
Homozigot normal genotip (GG)	48±2°C	1

Faktör II G20210A mutasyonu için erime sıcaklığı derecesi homozigot mutant genotip (AA) için 68,5±2°C’de bir pik, heterozigot genotipte (GA) 63±2°C ve 68,5±2°C sıcaklıkta 2 pik ve homozigot normal genotip (GG-yabanıl tip) için 63±2°C’de bir pik oluşturmasına göre değerlendirilmiştir (Çizelge 3.6).

**Çizelge 3.6** Faktör II G20210A mutasyonunun genotip Tm ilişkisi.

<b>Genotip</b>	<b>Erime pikine ait Tm (°C)</b>	<b>Erime pik sayısı</b>
Homozigot mutant genotip (AA)	68,5±2°C	1
Heterozigot genotip (GA)	63±2°C ve 68,5±2°C	2
Homozigot normal genotip (GG)	63±2°C	1

MTHFR C677T mutasyonu için erime sıcaklığı derecesi homozigot mutant genotip (TT) için 51±2°C’de bir pik, heterozigot genotipte (CT) 51±2°C ve 60°C (±2)’de 2 pik ve homozigot normal genotip (CC-yabanıl tip) için 60°C (±2)’de bir oluşturmasına göre değerlendirilmiştir (Çizelge 3.7).

**Çizelge 3.7** MTHFR C677T mutasyonunun genotip Tm ilişkisi.

<b>Genotip</b>	<b>Erime pikine ait Tm (°C)</b>	<b>Erime pik sayısı</b>
Homozigot mutant genotip (TT)	51±2°C	1
Heterozigot genotip (CT)	60±2°C	2
Homozigot normal genotip (CC)	51±2°C ve 60±2°C	1

Faktör V H1299R mutasyonu için erime sıcaklığı derecesi homozigot mutant genotip (GG) için 59±2°C’de bir pik, heterozigot genotip (AG) için 48±2°C ve 59±2°C’de 2 pik ve homozigot normal genotip (AA-yabanıl tip) için 48±2°C’de bir pik oluşturmasına göre değerlendirilmiştir (Çizelge 3.8).

**Çizelge 3.8** Faktör V H1299R mutasyonunun genotip Tm ilişkisi.

<b>Genotip</b>	<b>Erime pikine ait Tm (°C)</b>	<b>Erime pik sayısı</b>
Homozigot mutant genotip (GG)	59±2°C	1
Heterozigot genotip (AG)	48±2°C	2
Homozigot normal genotip (AA)	48±2°C ve 59±2°C	1

### **3.2.3 Vaka Grubunun Retrospektif Analizi**

Vaka grubu retrospektif olarak değerlendirilmiştir. 1041 adet tekrarlayan gebelik kaybı tanısı almış vakaya ait dosya incelenmiştir. Değerlendirilen dosyalardan 215 tanesi araştırmaya dahil edilme kriterlerine uygun bulunmuş ve vaka grubu oluşturulmuştur. Vaka grubunu oluşturan 215 kadın bireyde, trombofiliye yatkınlık yaptığı bilinen Faktör V G1691A, Faktör II G20210A, MTHFR C677T ve Faktör V H1299R polimorfizmleri değerlendirilmiştir.

### **3.2.4 Verilerin İstatistiksel Analizi**

Verilerin analizi, SPSS (Statistical Package for Social Sciences) 20.0 (IBM, Chicago, IL, USA) istatistik paket programı kullanılarak yapılmıştır. Vaka ve kontrol gruplarında Faktör V G1691A, Faktör II G20210A, MTHFR C677T ve Faktör V H1299R polimorfizmlerine ait genotip ve alel frekanslarının karşılaştırılması ki kare ( $\chi^2$ ) testi kullanılarak yapılmıştır.  $p<0.05$  değeri karşılaştırılan gruplar arası fark istatistiksel olarak önemli düzeyde kabul edilmiştir.



## 4. BULGULAR

Kontrol grubu 40 bireyde Faktör V G1691A, Faktör II G20210A, MTHFR C677T ve Faktör V H1299R mutasyonları trombofili paneli çalışılmıştır. Söz konusu genlere ait polimorfik varyantlar toplam 215 vakada retrospektif olarak analiz edilmiş ve değerlendirilmiştir.

### 4.1 Faktör V Geni G1691A Polimorfizminin Genotip ve Alel Sıklıkları

Faktör V geni G1691A polimorfizminin AA (homozigot mutant), GA (heterozigot) ve GG (atasal-homozigot normal) olmak üzere 3 ayrı genotipi bulunmaktadır. FV geninin 1691. baz diziliminde G>A değişimi ile oluşmaktadır.

Bu çalışmada, Faktör V geni G1691A polimorfizmi için genotip dağılımı vaka grubunda %0,4 (1/215) AA homozigot mutant, %12,6 (27/215) GA heterozigot ve %7,0 (187/215) GG homozigot normal olarak bulunmuştur (Çizelge 3.1). Kontrol grubunda ise %0 (0/40) AA homozigot mutant, %10 (4/40) GA heterozigot ve %90,0 (36/40) GG homozigot normal olarak belirlenmiştir. Gruplar arasında genotip dağılımı karşılaştırıldığında istatistiksel olarak fark önemsizdir (0,935) (Çizelge 4.1).

**Çizelge 4.1** Vaka ve kontrol gruplarında FV G1691A polimorfizminin genotip ve alel sıklıkları.

FV G1691A	Vaka	Kontrol	Toplam	p değeri
<b>Genotip Sıklıkları N (%)</b>				
AA homozigot mutant	1 (0,4)	0	1 (0,4)	
GA heterozigot	27 (12,6)	4 (10,0)	31 (12,2)	<b>0.935</b>
GG homozigot normal	187 (7,0)	36 (90,0)	223 (87,4)	
GG	187 (7,0)	36 (90,0)	223 (87,4)	<b>0.874</b>
AA + GA	28 (13,0)	4 (10,0)	32 (12,6)	
<b>Alel Sıklıkları N (%)</b>				
A	29 (6,8)	4 (5,0)	33 (6,5)	<b>0.745</b>
G	401 (93,2)	76 (95,0)	477 (93,5)	

Faktör V geni G1691A polimorfizminde G atasal alel, A ise risk alelidir. GG genotipi homozigot atasal genotipi, GA ve AA genotipleri A risk aleli açısından sırasıyla heterozigot ve homozigot mutant genotipi ifade etmektedir. Risk alelinin en az bir

kopyasını içeren grupta da (AA + GA) vaka ve kontrol grupları arasında fark bulunmamıştır (0,874) (Çizelge 4.1).

A ve G alellerinin sıklıkları vaka grubunda sırasıyla %6,8 (29/430) ve %93,2 (401/430) bulunurken, kontrol grubunda ise sırasıyla %5 (4/80) ve %95 (76/80) olarak bulunmuştur. Gruplar arasında alel sıklıkları karşılaştırıldığında istatistiksel fark önemsizdir (0,745) (Çizelge 4.1).

#### 4.2 Faktör II Geni G20210A Polimorfizminin Genotip ve Alel Sıklıkları

Faktör II geni G20210A polimorfizminin AA (homozigot mutant), GA (heterozigot) ve GG (atasal-homozigot normal) olmak üzere 3 ayrı genotipi bulunmaktadır. FII geninin 20210. baz diziliminde G>A değişimi ile oluşmaktadır.

Bu çalışmada, Faktör II geni G20210A polimorfizmi için genotip dağılımı vaka grubunda %0,4 (1/215) AA homozigot mutant, %5,1 (11/215) GA heterozigot ve %94,5 (203/215) GG homozigot normal olarak bulunmuştur (Çizelge 4.2). Kontrol grubunda ise %0 (0/40) AA homozigot mutant, %2,5 (1/40) GA heterozigot ve %97,5 (39/40) GG homozigot normal olarak belirlenmiştir. Gruplar arasında genotip dağılımı karşılaştırıldığında istatistiksel olarak fark önemsizdir (0,973) (Çizelge 4.2).

**Çizelge 4.2** Vaka ve kontrol gruplarında Faktör II G20210A polimorfizminin genotip ve alel sıklıkları.

Faktör II G20210A	Vaka	Kontrol	Toplam	p değeri
<b>Genotip Sıklıkları N (%)</b>				
AA homozigot mutant	1 (0,4)	0	1 (0,4)	<b>0.973</b>
GA heterozigot	11 (5,1)	1 (2,5)	12 (4,6)	
GG homozigot normal	203 (94,5)	39 (97,5)	242 (95,0)	
GG	203 (94,5)	39 (97,5)	242 (95,0)	<b>0.949</b>
AA + GA	12 (5,5)	1 (2,5)	13 (5,0)	
<b>Alel Sıklıkları N (%)</b>				
A	13 (3,0)	1 (1,2)	14 (2,8)	<b>0.833</b>
G	417 (97,0)	79 (98,8)	496 (97,2)	

Faktör II geni G20210A polimorfizminde G atasal alel, A ise risk alelidir. GG genotipi homozigot atasal genotipi, GA ve AA genotipleri A risk aleli açısından sırasıyla heterozigot ve homozigot mutant genotipi ifade etmektedir. Risk alelinin en az bir kopyasını içeren grupta da (AA + GA) vaka ve kontrol grupları arasında fark bulunmamıştır (0,949) (Çizelge 3.2).

A ve G alellerinin sıklıkları vaka grubunda sırasıyla %3,0 (13/430) ve %97,0 (417/430) bulunurken, kontrol grubunda ise sırasıyla %1,2 (1/80) ve %98,8 (79/80) olarak bulunmuştur. Gruplar arasında alel sıklıkları karşılaştırıldığında istatistiksel fark önemsizdir (0,833) (Çizelge 3.2).

#### 4.3 MTHFR Geni C677T Polimorfizminin Genotip ve Alel Sıklıkları

MTHFR geni C677T polimorfizminin TT (homozigot mutant), CT (heterozigot) ve CC (atasal-homozigot normal) olmak üzere 3 ayrı genotipi bulunmaktadır. MTHFR geninin 677. baz diziliminde C>T değişimi ile oluşmaktadır.

Bu çalışmada, MTHFR geni C677T polimorfizmi için genotip dağılımı vaka grubunda %15,3 (33/215) TT homozigot mutant, %41,0 (88/215) CT heterozigot ve %43,7 (94/215) CC homozigot normal olarak bulunmuştur (Çizelge 4.3). Kontrol grubunda ise %22,5 (9/40) TT homozigot mutant, %40,0 (16/40) CT heterozigot ve %37,5 (15/40) CC homozigot normal olarak belirlenmiştir. Gruplar arasında genotip dağılımı karşılaştırıldığında istatistiksel olarak fark önemsizdir (0,631) (Çizelge 4.3).

**Çizelge 4.3** Vaka ve kontrol gruplarında MTHFR C677T polimorfizminin genotip ve alel sıklıkları.

MTHFR C677T	Vaka	Kontrol	Toplam	p değeri
<b>Genotip Sıklıkları N (%)</b>				
TT homozigot mutant	33 (15,3)	9 (22,5)	42 (16,5)	<b>0.631</b>
CT heterozigot	88 (41,0)	16 (40,0)	104 (40,8)	
CC homozigot normal	94 (43,7)	15 (37,5)	109 (42,7)	
CC	94 (43,7)	15 (37,5)	109 (42,7)	<b>0.427</b>
TT + CT	121 (56,3)	25 (62,5)	146 (57,3)	
<b>Alel Sıklıkları N (%)</b>				
T	154 (35,9)	34 (42,5)	162 (31,8)	<b>0.436</b>
C	276 (64,1)	46 (57,5)	348 (68,2)	

MTHFR geni C677T polimorfizminde C atasal alel, T ise risk alelidir. CC genotipi homozigot atasal genotipi, CT ve TT genotipleri T risk aleli bakımından sırasıyla heterozigot ve homozigot mutant genotipi ifade etmektedir. Risk alelinin en az bir kopyasını içeren grupta da (TT + CT) vaka ve kontrol grupları arasında fark bulunamamıştır (0,427) (Çizelge 4.3).

T ve C alellerinin sıklıkları vaka grubunda sırasıyla %35,9 (154/430) ve %64,1 (276/430) bulunurken, kontrol grubunda ise sırasıyla %42,5 (34/80) ve %57,5 (46/80) olarak bulunmuştur. Gruplar arasında alel sıklıkları karşılaştırıldığında istatistiksel fark önemsizdir (0,436) (Çizelge 4.3).

#### 4.4 Faktör V Geni H1299R Polimorfizminin Genotip ve Alel Sıklıkları

Faktör V geni H1299R polimorfizminin GG (homozigot mutant), AG (heterozigot) ve AA (atasal-homozigot normal) olmak üzere 3 ayrı genotipi bulunmaktadır. FV geninin 4070. baz diziliminde A>G değişimi ile oluşmaktadır. Bu çalışmada, Faktör V geni H1299R polimorfizmi için genotip dağılımı vaka grubunda %0,4 (1/215) GG homozigot mutant, %12,2 (26/215) AG heterozigot ve %87,4 (188/215) AA homozigot normal olarak bulunmuştur (Çizelge 4.4). Kontrol grubunda ise %0 (0/40) GG homozigot mutant, %20,0 (8/40) AG heterozigot ve %80,0 (32/40) AA homozigot normal olarak belirlenmiştir. Gruplar arasında genotip dağılımı karşılaştırıldığında istatistiksel olarak fark önemsizdir (0,930) (Çizelge 4.4).

**Çizelge 4.4** Vaka ve kontrol gruplarında Faktör V H1299R polimorfizminin genotip ve alel sıklıkları.

<b>Faktör V H1299R</b>	<b>Vaka</b>	<b>Kontrol</b>	<b>Toplam</b>	<b>p değeri</b>
<b>Genotip Sıklıkları N (%)</b>				
GG homozigot mutant	1 (0,4)	0	1 (0,4)	<b>0.930</b>
AG heterozigot	26 (12,2)	8 (20,0)	34 (13,3)	
AA homozigot normal	188 (87,4)	32 (80,0)	220 (86,3)	
AA	188 (87,4)	32 (80,0)	220 (86,3)	<b>0.862</b>
GG + AG	27 (12,6)	8 (20,0)	35 (13,7)	
<b>Alel Sıklıkları N (%)</b>				
G	28 (6,5)	8 (16,6)	36 (7,0)	<b>0.735</b>
A	402(93,5)	72 (83,4)	474 (93,0)	

Faktör V geni H1299R polimorfizminde A atasal alel, G ise risk alelidir. AA genotipi homozigot atasal genotipi, AG ve GG genotipleri G risk aleli bakımından sırasıyla heterozigot ve homozigot mutant genotipi ifade etmektedir. Risk alelinin en az bir kopyasını içeren grupta da (GG + AG) vaka ve kontrol grupları arasında fark bulunmamıştır (0,862) (Çizelge 4.4).

G ve A alellerinin sıklıkları vaka grubunda sırasıyla %6,5 (28/430) ve %93,5 (402/430) bulunurken, kontrol grubunda ise sırasıyla %16,6 (8/80) ve %83,4 (72/80) olarak bulunmuştur. Gruplar arasında alel sıklıkları karşılaştırıldığında istatistiksel fark önemsizdir (0,735) (Çizelge 4.4).

#### 4.5 Farklı Yaş Aralıklarında Faktör V G1691A, Faktör II G20210A, MTHFR C677T ve Faktör V H1299R Polimorfizmleri Açısından Vaka Sayısı

Faktör V Leiden G1691A polimorfizmi bakımından 18-24 yaş aralığında 1 homozigot mutant (%0,4), 14 heterozigot (%6,5) ve 59 homozigot normal (%27,5) vaka; 25-32 yaş aralığında 0 homozigot mutant vaka, 10 heterozigot (%4,6), 85 homozigot normal (%39,6) vaka ve 33-40 yaş aralığında 0 homozigot mutant vaka, 3 heterozigot (%1,4), 43 homozigot normal (%20) vaka bulunmuştur (Çizelge 4.5).

**Çizelge 4.5** Farklı yaş aralıklarında Faktör V Leiden polimorfizmi açısından vaka sayısı ve oranı (%).

Yaş aralığı	Genotip					
	Homozigot mutant		Heterozigot		Homozigot normal (Yabanıl Tip)	
	Vaka sayısı	%	Vaka sayısı	%	Vaka sayısı	%
18-24	1	0,4	14	6,5	59	27,5
25-32	0	0	10	4,6	85	39,6
33-40	0	0	3	1,3	43	20

Faktör II G20210A polimorfizmi bakımından 18-24 yaş aralığında 0 homozigot mutant, 5 heterozigot (%2,2), 69 homozigot normal (%32,4) vaka; 25-32 aralığında 0 homozigot mutant, 5 heterozigot (%2,2), 90 homozigot normal (%42) vaka ve 33-40 yaş aralığında 1 homozigot mutant (%0,4), 2 heterozigot (%0,9), 44 homozigot normal (%20,4) vaka bulunmuştur (Çizelge 4.6).

**Çizelge 4.6** Farklı yaş aralıklarında Faktör II G20210A polimorfizmi açısından vaka sayısı ve oranı (%).

Yaş aralığı	Genotip					
	Homozigot mutant		Heterozigot		Homozigot normal (Yabanıl Tip)	
	Vaka sayısı	%	Vaka sayısı	%	Vaka sayısı	%
18-24	0	0	5	2,2	69	32,4
25-32	0	0	5	2,2	90	42
33-40	1	0,4	1	0,4	44	20,4

MTHFR C677T polimorfizmi bakımından 18-24 yaş aralığında 18 homozigot mutant (%8,5), 30 heterozigot (%14,2), 26 homozigot normal (%12,0) vaka; 25-32 yaş aralığında 9 homozigot mutant (%4,2), 44 heterozigot (%20,4), 42 homozigot normal (%19,5) vaka ve 33-40 yaş aralığında 6 homozigot mutant (%2,7), 14 heterozigot (%6,5), 26 homozigot normal (%12,0) vaka bulunmuştur (Çizelge 4.7).

**Çizelge 4.7** Farklı yaş aralıklarında MTHFR C677T polimorfizmi açısından vaka sayısı ve oranı (%).

Yaş aralığı	Genotip					
	Homozigot mutant		Heterozigot		Homozigot normal (Yabanıl Tip)	
	Vaka sayısı	%	Vaka sayısı	%	Vaka sayısı	%
18-24	18	8,5	30	14,2	26	12,0
25-32	9	4,2	44	20,4	42	19,5
33-40	6	2,7	14	6,5	26	12,0

Faktör V H1299R polimorfizmi bakımından 18-24 yaş aralığında 1 homozigot mutant (%0,4), 12 heterozigot (%5,6), 61 homozigot normal (28,6) vaka; 25-32 yaş aralığında 0 homozigot mutant, 9 heterozigot (%4,2), 86 homozigot normal (%40) vaka ve 33-40 yaş aralığında 0 homozigot mutant, 5 heterozigot (%2,2), 41 homozigot normal (%19,0) vaka bulunmuştur (Çizelge 4.8).

**Çizelge 4.8** Farklı yaş aralıklarında Faktör V H1299R polimorfizmi açısından vaka sayısı ve oranı (%).

Yaş aralığı	Genotip					
	Homozigot mutant		Heterozigot		Homozigot normal (Yabanıl Tip)	
	Vaka sayısı	%	Vaka sayısı	%	Vaka sayısı	%
18-24	1	0,4	12	5,6	61	28,6
25-32	0	0	9	4,2	86	40
33-40	0	0	5	2,2	41	19,0

#### 4.6 Tekrarlayan Gebelik Kayıplarına Ait Sıklıklar

Retrospektif olarak incelenen vaka grubundaki 1041 hasta içerisinde gerekli düşük bilgisi bulunan ve vaka grubuna seçilen 215 vakada %60,46 (130 birey) oranında en çok 2 kez tekrar eden gebelik kaybı tespit edilmiştir (Çizelge 4.9). Elde bulunan verilere göre en fazla tekrarlayan gebelik kaybı sayısı 6 olarak kaydedilmiş ve düşük oranı %0,47 (1 birey) bulunmuştur. Toplam 215 vakadan 3 düşük yapan 75 (%34,88), 4 düşük yapan 6 (%2,79) ve 5 düşük yapan 3 (%1,40) birey saptanmıştır (Çizelge 4.9).

**Çizelge 4.9** Düşük yapan vaka sayıları ve düşük oranları (%).

Parametre	Düşük Sayısı (Adet)				
	2	3	4	5	6
Düşük yapan vaka sayısı	130	75	6	3	1
Düşük oranı (%)	60,46	34,88	2,79	1,40	0,47

## 5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Son yıllarda, tekrarlayan gebelik kayıpları ile genetik polimorfizmler arasındaki ilişkileri ortaya koyan pek çok genetik çalışma bulunmaktadır. Ancak tekrarlayan gebelik kayıplarının (TGK) patogenezinde bu polimorfizmlerin etkisine ilişkin veriler çelişkiler içermektedir. Bu çelişkiler, çalışmaya dahil edilen kontrol ve vaka grubu sayıları ile bu grupları oluşturan bireylerin seçim kriterlerinin değişkenlik göstermesini ve ayrıca etnik ve coğrafik dağılımdaki farklılıklardan dolayı alel frekansları arasındaki çeşitliliği açıklamaktadır (Bayram vd. 2015).

Çalışmamızda tekrarlayan gebelik kaybı endikasyonu olan 215 vakada ve 40 kontrolde, Faktör V G1691A, Faktör II G20210A, MTHFR C677T ve Faktör V H1299R mutasyonlarının dağılımı incelenmiştir. Çalışma sonuçlarımıza göre, Faktör V G1691A, Faktör II G20210A, MTHFR C677T ve Faktör V H1299R polimorfizmleri açısından vaka ve kontrol grubu arasında fark önemsiz bulunmuştur.

Özellikle Faktör V G1691A (Leiden), Protrombin G20210A, Faktör XIII V34L, Beta-fibrinojen -455G>A, PAI-1 4G/5G, MTHFR C677T ve MTHFR A1298C polimorfizmlerindeki mutasyonlar pıhtılaşma mekanizmasını ve dolayısıyla fetomaternal dolaşımı etkilemekte ve gebelik kayıplarına neden olabilmektedir. Nitekim Coulam ve arkadaşları tarafından 2006 yılında yapılan bir çalışmada trombofilik gen mutasyonlarının sıklığı açısından TGK vakaları ve kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamakla birlikte homozigot mutasyonların TGK endikasyonlu vakalarda kontrole göre daha fazla olduğu tespit edilmiştir (Coulam vd. 2006). Bizim çalışmamızda da Faktör V G1691A, Faktör II G20210A, MTHFR C677T ve Faktör V H1299R genleri polimorfizmleri açısından homozigot mutant genotip sıklığı vaka grubunda kontrol grubuna göre yüksek bulunmuştur.

Faktör V Leiden mutasyonu, insanlarda pıhtılaşmada görev alan pıhtılaşma faktörü Faktör V proteinini kodlayan Faktör V geninin 1691. nükleotidinin guaninden adenine değişimini (G1691A), gen ürünü protein düzeyinde ise 506. pozisyondaki arjininin glutamin (R506Q) ile yer değiştirmesini ifade eder (Küçükkaya ve Aydın 2016). Genin



bu bölgesi, aktive protein protein C (APC)'nin bağlanarak Faktör V'in aktivasyonunun sağlanmasında görev aldığı için bu noktada meydana gelen değişim Faktör V'in etkili bir şekilde inaktive olmasını önlemekte (protein C rezistansı) ve kişide pıhtılaşmaya karşı artan eğilim meydana getirmektedir (Goyette vd. 1994).

Trombofilinin kalıtsal nedenlerinden biri olan Faktör V Leiden mutasyonu, genel popülasyonda %3-5 arasında, tromboembolizm hastalarında ise yaklaşık %20-40 oranlarında görülmektedir. Kalıtsal trombofili %10'luk bir prevalansla en sık Kafkas popülasyonunda görülmektedir. Türkiye'deki prevalansı ise %3,5-15 arasında değişmektedir (Akar vd. 1997, Vurkun vd. 2002).

Kanın pıhtılaşma riski genel olarak kişinin bu mutasyonu homozigot veya heterozigot olarak taşımasıyla değişmektedir. Heterozigot bireyler normalin 5-10 katı fazlası risk altında iken homozigot bireyler normalin 50-100 katı fazla risk altındadırlar (Sibani vd. 2000). Gebelikte pıhtı oluşumu durumuyla karşılaşan hastaların %30-50'sinde mutasyon keşfedilmiştir (Kafkas ve Kadıköylü 2005). Faktör V Leiden geni için AA genotipine sahip bireylerde tromboz 80 kat artan tehlikeye sahipken, 1691. baz sırasında GA genotipli olanlarda ise tromboz riski 5 ila 10 kata kadar düşmektedir (Vurkun vd. 2002, Mahmutbegović vd. 2017).

TGK'lar için Faktör V Leiden patojenik varyasyonu taşıyan kadınlarda üç kat daha fazla risk taşımaktadırlar (İnt. Kyn. 4). Faktör V Leiden sıklığı farklı ırk ve etnik kökene göre değişiklik göstermektedir (Sergi vd. 2015). İsveçli bireylerde %7, Hollandalı bireylerde ise %2-4 sıklıkla Faktör V Leiden varyasyonu sıklığı bildirilmiştir. Ukrayna nüfusunda %1,5, Bosna Hersek'te ise %6 sıklıkla belirtilmiştir (Mahmutbegović vd. 2017). Sağlıklı Avrupa toplumundaki Faktör V Leiden varyasyon sıklığı %3-12 olarak bildirilirken, TGK öyküsü olan kadınlarda Faktör V Leiden varyasyonu sıklığı %0,2-0,25 olarak bildirilmiştir (Kafkas ve Kadıköylü 2005).

Çalışmamızda toplam 215 TGK vakası ve 40 sağlıklı birey incelenmiş olup, Faktör V geni G1691A polimorfizmi için genotip dağılımı 215 vakanın 1'inde AA (%0,4), 27'sinde GA (%12,6) ve 187'sinde GG (%87,0) olarak bulunmuştur. Çalışmamızda risk

aleli olan A aleli sıklığı vaka grubunda %6,8, kontrol grubunda ise %5,0 bulunmuştur. Şahin ve arkadaşları tarafından 205 vaka ve 100 kontrol grubunda yapılan çalışma sonuçları çalışmamızdan elde edilen verilerle uyumlu olup; bu çalışmada Faktör V geni G1691A polimorfizmi genotip dağılımı 205 vakanın 1'inde AA (%0,49), 22'sinde GA (%10,73), 182'sinde GG (%88,78) genotipi belirlenmiştir. Ayrıca çalışmamıza paralel olarak risk aleli olan A aleli sıklığı TKG vaka grubunda %5,85, kontrol grubunda ise 5,5 olarak saptanmıştır.

Faktör II, insan kan pıhtılaşması yolundaki en önemli faktörlerden biridir. Protrombin G20210A mutasyonu 1996'da ailelerde trombotik ataklara aday genlerin araştırılması sırasında keşfedilmiştir. Poort vd. (1996) vakaların %18'inde, 3'-untranslated region (transkribe edilmeyen bölge) da 20210. konumunda tek nükleotit değişimi (G>A) bulmuşlardır. G>A değişimi sonucu meydana gelen nokta mutasyonu protrombin seviyesinde artış ile birlikte hiperkoagülasyona neden olmaktadır (İnt. Kyn. 7). Oluşan değişim sayesinde protrombin aktivasyonu 1/5 ve 1/2 oranlarında artmaktadır (Prat vd. 2014). GA genotipinde taşıyan bireylerde taşımayan bireylere göre tromboz için 2-3 kat risk oluşturmaktadır (Brand 2017). Ayrıca 20210 G>A genotipindeki kadınlarda abortus riskinin 2 ila 5 kata kadar arttığı bildirilmektedir (Mahmutbegović vd. 2017). Bu mutasyon artan protrombin seviyesi ve trombofili rahatsızlıklar riski ile ilişkilendirilmektedir (Pollak vd. 2002, Ceelie vd. 2004). Protrombin (Faktör II) gen mutasyonunun, pıhtılaşma bozukluğu nedeniyle fetal kayıp yaşayan kadınların %7,8'inde olduğu gösterilmiştir (İnt. Kyn. 1).

Faktör II G20210A polimorfizminin venöz trombozun ikinci kalıtsal risk faktörü olduğu bildirilmiştir (Giglio vd. 2003). Protrombin 20210 G/A mutasyonunun görülme sıklığı, sağlıklı insanlarda %2,3, tromboz öyküsü olanlarda %6,2 ve ailesinde tromboz öyküsü olanlarda %18 olarak saptanmıştır (Van der Meer vd. 1997, Altıntaş vd. 2007).

Dziadosz ve Baxi (2016), farklı popülasyonlarda Faktör II 20210G>A taşıyıcılık durumunu araştırdıkları meta analiz çalışmalarında, Japonya, Çin, Hindistan, Güney Kore popülasyonlarında Protrombin 20210 G>A gen varyasyonunu saptamazken; Mısır, Güney Avrupa ve Amerika Birleşik Devletleri popülasyonlarında sırasıyla %1,4, %3,

%5 sıklıkla saptamışlardır (Dziadosz ve Baxi 2016). Öztuzcu vd. (2014), Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nde Protrombin 20210 G>A varyasyon sıklığını araştırdıkları çalışmalarında, AA genotipini %0,25; GA genotipini ise %3,44 olarak saptamışlardır (Öztuzcu vd. 2014). Ülkemizde trombofili hastalarında yapılan bir çalışmada, hastaların %0,7'sinde protrombin 20210A mutasyonuna rastlanmıştır (Yirmibeşoğlu vd. 2011).

Çalışmamızda Faktör II G20210A polimorfizmi genotip dağılımı TGK vaka grubunda %0,4 AA homozigot mutant, %5,1 GA heterozigot ve %94,5 GG homozigot normal, kontrol grubunda %2,5 GA ve %97,5 GG olarak belirlendi. Vaka grubunda G alel sıklığı %97,0 A alel sıklığı %3,0; kontrol grubunda ise G alel sıklığı %98,75; A alel sıklığı %1,25 olarak bulundu. Genotip sıklıklarındaki taşıyıcılık durumları arasında p değeri hesaplandığında p değeri 0.973 elde edilmiş ve A ve G alelleri arasındaki sıklıklarda ise bu değer 0.833 olarak elde edilmiştir.

Martinelli vd. (2000) 20. hafta ve üzerindeki fetal kayıp vakalarında, 67 tane TGK olan hasta ve 232 tane kontrol grubuna dahil edilen hastanın araştırıldığı çalışmada, Faktör V Leiden ve Faktör II G20210A polimorfizmleri heterozigot olarak tespit edilmiş, homozigot vaka ve kontrol tespit edilmemiş ve her iki polimorfizmi de taşıyan hastanın bulunmadığı görülmüştür. TGK grubunda Faktör V Leiden 5 (%7) ve Faktör II G20210A 6 (%9) elde edilmiş, kontrol grubunda ise Faktör V Leiden 6 (%3) ve Faktör II G20210A 7(%3) tespit edilmiştir. Çalışmamızda benzer olarak kontrol grubunda Faktör V Leiden ve Faktör II G20210A polimorfizmleri homozigot tespit edilmemiş, kontrol grubunda Faktör V Leiden 4(%10) Faktör II G20210A 1(%2,5), vaka grubunda Faktör V Leiden 27(%12,6), Faktör II G20210A 11(%5,1) tespit edilmiştir. Martinelli vd. (2000)'nin kontrol grubu Faktör II G20210A polimorfizminde çalışmalarımıza orantılı olarak saptamış ancak vaka grubunda daha büyük oranda elde edilmiştir. Çalışmamız sonucunda Faktör II G20210A polimorfizminde A (mutant) alelinin sıklığı yani Faktör II G20210A için risk aleli vaka grubunda %3,0 ve kontrol grubunda %1,2 ve G alelinin sıklığı da sırasıyla %97,0 ve %98,8 değerleri elde edilmiştir.

Çalışmamızda vaka grubunda risk aleli %3,0 ve kontrol grubunda (%1,2); G aleli için vaka grubunda %97,0 ve kontrol grubunda %98,8 elde edilmiştir. Benzer şekilde sonuç

elde edilen bir başka çalışma Hohlagschwandtner vd. (2003)'in çalışmasıdır. Araştırmalarında 145 vaka örneği ve 101 sağlıklı kontrol örneğinde trombofilik 6 polimorfizmi (MTHFR C677T, MTHFR A1298C, Faktör V Leiden G1691A, Faktör II Protrombin G20210A, HPA 1 C12548T ve APO B R3500Q) kombine olarak incelemişler, ancak Faktör II Protrombin G20210A polimorfizmi alel frekanslarının vaka ve kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark oluşturmadığını tespit etmişlerdir. Çalışmanın sonuçları vaka ve kontrol grubunda sırasıyla alel frekanslarını; A (mutant) risk aleli için %2,7 ve %1,0; G aleli için ise sırayla %97,3 ve %99 elde edilmiş ve bu açıdan çalışmamızla benzerlik göstermektedirler (Hohlagschwandtner vd. 2003). Ancak Hohlagschwandtner vd. 2003 yaptığı çalışma bizden farklı olarak Faktör V Leiden G1691A ve Faktör II Protrombin G20210A polimorfizmlerini homozigot olarak taşıyan, vaka ve kontrol grubunda homozigot genotip taşıyan birey bulunmamaktadır.

Poort vd. (1996), yaptıkları çalışmada hastaların %18'i Protrombin 20210 AG genotipine sahipken kontrol grubunda bu oran %1'e düşmüştür. Bizim elde ettiğimiz sonuçlara göre vaka grubunda 11 vakada (%5,1) ve kontrol grubunda da 1 bireyde (%2,5) tespit edilmiştir. Buna göre A alel sıklığını bizim çalışmamızdaki oranın aksine daha yüksek miktarda tespit etmişlerdir.

Çalışmamızda Faktör II Protrombin G20210A polimorfizmlerini vaka grubunda 1 homozigot mutant vaka ve kontrol grubunda da 0 homozigot mutant saptanmıştır, Şahin vd. (2009) Protrombin G20210A genotipleme sonucunda 205 hastanın 194'ü GG (Homozigot normal), 11'i GA (Heterozigot) genotipinde saptanırken homozigot mutant AA genotipi saptanmamış ve kontrol bireylerinde GG genotipi 95 bireyde, GA genotipi ise 5 bireyde saptanırken, homozigot mutant AA genotipi saptanmamıştır ancak çalışmamız bu yönüyle Şahin vd. (2009)'nin çalışmasıyla farklıdır.

C677T polimorfizmi, MTHFR proteininin N-terminal katalitik bölgesini etkiler ve genin 4. ekzonunda meydana gelir. C677T polimorfizminin proteinin sekonder yapısını ve monomerler arasındaki etkileşimi değiştirdiği düşünülmektedir. C677T polimorfizmi, MTHFR geninin 677. pozisyonundaki C (Sitozin)'in T (Timin)'e

transisyonu sonucu meydana gelir (Dikmen 2004). Bu mutasyon, genin ürünü olan proteinin 226. pozisyonunda Alanin'in yerine Valin'in geçmesine neden olur. Bunun sonucu MTHFR aktivitesi azalır. Azalan MTHFR aktivitesi, 5-metil tetrahidrofolat seviyesinde azalmaya ve bunun sonucu olarak da homosisteinin metiyonine dönüşmemesi nedeniyle plazma homosistein seviyesinde artışa neden olur (Dikmen 2004).

Çalışmamızda MTHFR C677T polimorfizmi genotip dağılımı TGK vaka grubunda %15,3 TT homozigot mutant, %41,0 CT heterozigot ve %43,7 CC homozigot normal, kontrol grubunda %22,5 TT, %40,0 CT ve %37,5 CC olarak belirlendi. Vaka grubunda T alel sıklığı %35,9; C alel sıklığı %64,1; kontrol grubunda ise T alel sıklığı %42,5; C alel sıklığı %57,5 olarak bulundu. Genotip sıklıklarında taşıyıcılık durumları arasında p değeri hesaplandığında p değeri 0.631 elde edilmiş ve T ve C alel sıklıklarında bu değer 0.436 olarak elde edildi.

MTHFR C667T polimorfizminde T alel sıklığı olgu grubunda %35,9 iken, kontrol grubunda %42,5 bulunmuştur. Aynı şekilde MTHFR C667T polimorfizminde C alel sıklığı olgu grubunda %64,1 iken, kontrol grubunda %57,5 bulunmuştur. Tepeli vd. (2007), Eskişehir İlinde Türk popülasyonunda yapmış oldukları çalışmada MTHFR geni C667T ve A1298C polimorfizmlerinin 101 tekrarlayan gebelik kaybı vakası ve 90 kontrol birey arasında yapmıştır. Tekrarlayan düşük kayıpları için bir risk oluşturmadığını, gruplar arasında genotipler ve alel frekansları açısından bir fark bulunmadığını belirtmişlerdir ancak çalışmamızda vaka grubu ve kontrol grubu arasındaki alel sıklıkları arasında kısmen de olsa bir fark vardır (Tepeli vd. 2007). Çalışmamız bu yönüyle Tepeli vd. (2007)'nin çalışmasıyla farklılık göstermiştir.

215 kişilik olgu grubu ve 40 kişilik kontrol grubuyla yaptığımız çalışmada da MTHFR C677T için istatistiksel olarak  $p=0,631$  değerini elde ederek tekrarlayan gebelik kayıpları ile MTHFR geni C677T polimorfizmi arasında bir ilişki olmadığı sonucunu elde ettik. Vettriselvi vd. (2008), Hindistanda yapmış olduğu 104 vaka ve 120 kontrol grubu ile yaptıkları çalışmada ve Carp vd. (2002), İsrail'de yaptığı çalışmada 108 vaka ve 82 kontrol grubu içeren bir çalışmada tekrarlayan gebelik kayıpları ile MTHFR geni

C677T polimorfizmi arasında bir ilişki olmadığını belirtmişlerdir (Carp vd. 2002, Vettriselvi vd. 2008).

Çalışmamız tekrarlayan gebelik kayıpları ve C677T varyantı arasında herhangi bir ilişki olmadığı yönündedir. Gökosmanoğlu vd. (2008)'nin çalışmamızın aksine MTHFR ve tekrarlayan gebelik kayıpları arasında ilişki bulunmamıştır. MTHFR mutasyonunun heterozigot olsa bile spontan düşüklere sebep olabileceğini belirtmişler ve çalışma sonucunda daha ileri araştırmaların yapılmasını önermişler ancak söz konusu çalışmanın devamında vakalar ilaç tedavisiyle (folik asit ve enoxaparin) takip edildiği için tekrarlayan gebelik kayıplarıyla MTHFR ve C677T polimorfizmini ilişkili bulmuşlardır.

MTHFR polimorfizmi için istatistiksel olarak TGK ve MTHFR polimorfizmi için yaptığımız  $\chi^2$  testi sonucunda  $p=0,631$  değeri elde edilmiştir. Rey vd. (2003) nin meta analiz sonucuna göre, retrospektif olarak yaptıkları analizde, toplam 8 çalışma ve 1818 hasta dahil edilmiştir (Rey vd. 2003). Bu çalışmada istatistiksel olarak elde edilen sonuca göre,  $p$  değeri 0,9 olarak elde edilmiştir bu sonuç yaptığımız çalışma ile orantılıdır. Ancak Rey vd. (2003)'nin FV Leiden G1691A, Faktör II Protrombin G20210A polimorfizmi için yaptığı meta analizde 14 çalışma ve 3753 vakanın değerlendirmesi sonucu tekrarlayan gebelik kayıplarıyla ilişkili olduğu tespit edilmiştir.

Sonuçlarımız arasında, TGK grubunda TT genotipi %15,3 (33/215) ve kontrol grubunda %22,5 (9/40) olarak elde edilmiş ve Ren ve Wang (2006) in 15 ülkede yaptığı 26 çalışmanın yer aldığı bir meta analiz çalışmasıyla karşılaştırılmıştır. 2120 tekrarlayan gebelik kaybı vakası ve 2949 kontrol bireyin dahil edildiği ve sadece 5 çalışma sonucunda TGK ve MTHFR C677T arasında ilişki bulunduğu tespit edilmiş, geri kalan çalışmalarda ise birbiriyle ilişkili olmadığı yönünde sonuç ortaya konmuştur. Yapılan bu 5 çalışma Çin'de araştırılmış olup TT genotipi ve T alel frekansı diğer ülkelere oranla daha yüksek çıkmıştır. TGK grubunda TT genotipi %25 (112/443) ve kontrol grubunda %15 (62/424) tespit edilmiştir, bizim çalışmamıza kıyasla bu oranlar birbiriyle farklı sonuçlar vermiştir. Bununla ilgili olarak polimorfizmler ve TGK ilişkisinde vaka ve kontrol grubunun etnik köken farklılığı sonuçları etkileyebileceğini açıklayabiliriz.

MTHFR geni C677T polimorfizmi CT alelinin genotip sıklığı vaka grubunda %41,0 ve kontrol grubunda %40,0 tespit ettik. Hohlagschwandtner vd. (2003), 145 vaka örneği ve 101 sağlıklı kontrol örneğinde 6 farklı trombofili polimorfizmi (MTHFR C677T, MTHFR A1298C, Faktör V Leiden G1691A, Faktör II Protrombin G20210A, HPA 1 C12548T ve APO B R3500Q ) kombine olarak inceledikleri çalışmada MTHFR geni C677T polimorfizmi alel ve genotip frekanslarının kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark oluşturmadığını, vaka grubunda genotip frekansı açısından; CT aleli %35,9 ve kontrol grubunda ise CT aleli %40,6 sonucunu elde etmişlerdir. Bu çalışma sonucunun değerleriyle sonuçlarımız benzerlik göstermektedir. Hohlagschwandtner vd. (2003), tüm genler kombine olarak ele alındığında da kontrol grubuna göre anlamlı farklılığın bulunmadığını bildirmişlerdir (Hohlagschwandtner vd. 2003).

Çalışmamızda Faktör V H1299R polimorfizmi genotip dağılımı TGK vaka grubunda %0,4 GG homozigot mutant, %12,2 AG heterozigot, %87,4 AA homozigot normal, kontrol grubunda %20,0 AG, %80,0 AA olarak belirlenmiştir. Vaka grubunda G alel sıklığı %6,5; A alel sıklığı %93,5; kontrol grubunda ise G alel sıklığı %16,6; A alel sıklığı %83,4 olarak bulunmuştur. Genotip sıklıklarında taşıyıcılık durumları arasında p değeri hesaplandığında 0.930 elde edilmiş ve A alel sıklıklarında G ve A aleli arasında bu değer 0.735 olarak elde edilmiştir.

Çalışmamızda vaka ve kontrol gruplarında Faktör V A4070G (H1299R) polimorfizmi ile tekrarlayan düşüklerde gruplar arasında mutasyon prevalansında fark tespit edilmemiştir. Benzer sonuç, Coulam vd. (2006)'nin en az iki gebelik kaybı olan 150 vaka ile yaptıkları çalışmada da belirlenmiştir (Coulam vd. 2006).

Arabkhazaeli vd. (2016), tarafından Faktör V A4070G (H1299R) polimorfizmi ile tekrarlayan düşük arasındaki ilişkiyi reddeden sonuçlar birbiriyle benzerdir. Arabkhazaeli vd. (2016) çalışmasında, polimorfizm ile tekrarlayan düşükler arasındaki ilişki istatistiksel olarak anlamsız çıkmıştır ( $p= 0,4$ ) (Arabkhazaeli vd. 2016).

Vaka ve kontrol grubunda, Faktör V H1299R (A4070G) polimorfizminde GG homozigot mutant genotip oranı %0,4 ve G alel sıklığı %7,0 ve A alel sıklığı da %93 olarak bulunmuştur. Lunghi vd. (1996), yaptıkları çalışmada Faktör V H1299R (A4070G) için, TGK ve kontrol grupları arasındaki A alel sıklığı sırasıyla %97,5 ve %95,5 bulunmuş ve ayrıca bu iki gruptaki G alel frekansları sırasıyla %2,5 ve %4,5 olarak gözlenmiştir. Bu sonuçlar, bizim sonuçlarımıza benzerdir. Bizim sonuçlarımızda ise A alel sıklığı vaka grubunda %93,5 ve kontrol grubunda da %83,4 bulunmuştur. G alel frekansları ise olgu grubunda %6,5 ve %16,6 olarak gözlenmiştir.

Çalışmamızda 215 tekrarlayan gebelik kaybı tanısı almış ve 40 tekrarlayan gebelik kayıpları bulunmayan kontrol grubu seçilmiştir. Coulam vd. (2006), 10 trombofili gen polimorfizmi ile tekrarlayan gebelik kayıpları arasındaki ilişkiyi belirlemek amacıyla 150 tekrarlayan gebelik kaybı tanısı almış ve 20 tekrarlayan gebelik kayıpları bulunmayan kontrol grubunda özellikle 3'den fazla genin %68 vaka ve %21 kontrol gruplarında gözlendiği trombofilik gen polimorfizmi ile tekrarlayan gebelik kayıpları arasında ilişki bulunmadığı sonucuna ulaşmışlardır. Gruba dahil edilme kriterleri ve seçilen gruplardaki kişi sayıları çalışmamıza benzer sayıda alınmıştır.

Faktör V, Faktör II ve MTHFR genlerindeki değişimin genotipte bulunuşu, fenotipe yansımaması bakımından ayrışması polimorfizmin bir sonucudur. Polimorfizm, aynı popülasyonda bir bölgedeki (lokusta) bulunan genin iki veya daha fazla alelinin belli frekansta görülmesidir. Bir değişikliği polimorfizm olarak adlandırabilmemiz için araştırıldığı popülasyondaki (örneğin, insanlar) bireylerin en az %1'inde, ilgili DNA bölgesinde farklılıklar olması gerekmektedir. Polimorfizmler kişinin hastalığa yakalanma riskinin, hastalığa verdiği yanıtın, ilaçlara karşı gözlenen yan etkilerin farklı olmasından sorumludur.

Koagülasyon sisteminin normal aktivitesini bozan genetik düzensizlikler son dönemde daha iyi anlaşılmıştır. Özellikle Faktör V, Faktör II ve MTHFR genlerinde yer alan bazı genetik değişiklikler en fazla üzerinde çalışılanlardır. Bu genetik değişiklikler ve fetal kayıp arasındaki ilişkinin ortaya çıkarılması amacıyla yapılan çalışmalarda, fetal kayıplarda gestasyon haftalarının ve seçim kriterlerinin her çalışmada farklı olması



nedeniyle bu vakalardaki trombofili prevalansı değişkenlik göstermektedir (Brenner vd. 1999, Martinelli vd. 2000). TGK'nın nedenleri etkilenen hastaların yarısında hala açıklanamamıştır (Li vd. 2002).

Açıklanamayan tekrarlayan gebelik kaybı etiyopatogenezinde halen netleşmemiş noktalar mevcuttur. Yapılan çalışmalarda TGK ile trombofiliye neden olduğu düşünölen polimorfizmler arasındaki ilişki açısından çelişkili bulgular bildirilmiştir. Nitekim çalışma sonuçlarımız ve literatürdeki benzer çalışma sonuçları birlikte değerlendirildiğinde, elde edilen çelişkili sonuçlar örneklem gruplarının etnik farklılığı, örneklem sayısının az olması ve bazı spesifik mutasyonların değerlendirilmesi ile açıklanabilir. Bu nedenlerle açıklanamayan tekrarlayan gebelik kaybı üzerinde genetik düzensizliklerin etkisi, daha geniş örneklem gruplarında ve daha fazla sayıdaki gen polimorfizmlerinin birlikte değerlendirildiği çalışmalar yapılarak ortaya konabilir.

## 6. KAYNAKLAR

- Acien P, 1996, Uterine Anomalies and Recurrent Miscarriage, Infertility and Reproductive Medicine Clinics of North America, 7, 698–720.
- ACOG 2002, American College of Obstetricians and Gynecologists, Management of Recurrent Early Pregnancy Loss, ACOG Practice Bulletin, International Journal of Gynecology and Obstetrics, 78, 179–190.
- Akar N, Akar E, Dalgin G, Sözüöz A, Ömürlü K, Cin S, 1997, Frequency of Factor V (1691 G→A) Mutation in Turkish Population, Thrombosis and Haemostasis, 78(6), 1527–1528, Ankara.
- Akar N, 2009, Factor V 1691 G-A Mutation Distribution in a Healthy Turkish Population, Turkish Journal of Hematology, 26, 9–11.
- Alataş E, 2004, Tekrarlayan Gebelik Kayıplarında Tanı ve Tedavinin Yönlendirilmesi, Türk Jinekoloji Derneği Uzmanlık Sonrası Eğitim Dergisi, 6, 19–25.
- Altıntaş A, Çil T, Kaplan M A, Yurt M, Batun S, 2007, Derin Ven Trombozu Olgularında Hereditör Trombofilik Risk Faktörleri, Uluslararası Hematoloji–Onkoloji Dergisi, 17(2), 65–69.
- Andreassi M G, Botto N, Maffei S, 2006, Factor V Leiden, Prothrombin G20210A Substitution and Hormone Therapy: Indications for Molecular Screening, Clinical Chemistry and Laboratory Medicine, 44(5), 514–521.
- Arabkhazaeli N, Ghanaat K, Hashemi-Soteh M B, 2016, H1299R in Coagulation Factor V and Glu429Ala in MTHFR Genes in Recurrent Pregnancy Loss in Sari, Mazandaran, International Journal of Reproductive Biomedicine, 14(5), 329–334.
- Ar C, 2010, Kalıtsal Trombofililer 2011: Erişkin Görüş. T.C.S.B. İstanbul Eğitim ve Araştırma Hastanesi, İstanbul. XXXVI. Ulusal Hematoloji Kongresi.
- Arias-Sosa L A, Acosta I D, Lucena-Quevedo E, Moreno-Ortiz H, Esteban-Pérez C, Forero-Castro M, 2018, Genetic and Epigenetic Variations Associated with Idiopathic Recurrent Pregnancy Loss, Journal of Assisted Reproduction and Genetics, 35(3), 355–366.
- ASRM 2008, American Society for Reproductive Medicine, Definitions of Infertility and Recurrent Pregnancy Loss, Practice Committee Report, Fertility and Sterility, 89(6), 1603p.

- Bagley P J, Selhub J, 1998, A Common Mutation in the Methylenetetrahydrofolate Reductase Gene is Associated with an Accumulation of Formylated Tetrahydrofolates in Red Blood Cells, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 95, 13217–13220.
- Balasubramaniam A, Kotalawala S, Amarasekara R, 2017, Analysis of Methylenetetrahydrofolate Reductase (MTHFR) Polymorphisms (C677T & A1298C) in Recurrent Pregnancy Loss (RPL), *Journal of Gynecology*, 1, 1–5.
- Bayram B, Kılıççı Ç, Bozarı S, Önlü H, Şahin F, 2015, Muş İlinde Tekrarlayan Gebelik Kayıpları ile MTHFR C677T ve A1298C ve PAI-1 4G/5G Polimorfizmleri Arasındaki İlişki ve Alel Frekansları, *Kocatepe Tıp Dergisi*, 12, 61–67.
- Beksaç S, Demir N, Koç A, Yüksel A, 2001, Erken Gebelik Problemleri ve Düşükler, *Obstetrik, Maternal-Fetal Tıp ve Perinatoloji*, 1.Baskı, Medikal ve Nobel, Ankara, 1076–1085.
- Berkay E G, Başaran S, 2020, Tekrarlayan Gebelik Kayıplarında Etiyolojinin Açıklanmasına Yönelik Yeni Yaklaşımlar, *İstanbul Üniversitesi Yayınevi, İstanbul Tıp Fakültesi Dergisi*, 1–10.
- Bick R L, Hoppensteadt D, 2005, Recurrent Miscarriage Syndrome and Infertility due to Blood Coagulation Protein/Platelet Defects: A Review and Update, *Clinical and Applied Thrombosis/Hemostasis*, 11(1), 1–13.
- Brand H, 2017, Potential Inheritance Patterns of a Prothrombin Gene Mutation in a 23 Year-Old Female and Ethical Considerations of a Positive Diagnosis: A Case Report, *Dentistry 3000*, 5, 16–19.
- Brenner B, Sarig G, Weiner Z, Younis J, Blumenfeld Z, Lanir N, 1999, Thrombophilic Polymorphisms are Common in Women with Fetal Loss without Apparent Cause, *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, 82(1), 6–9.
- Byrne J L, Ward K, 1994, Genetic Factors in Recurrent Abortion, *Clinical Obstetrics and Gynecology*, 37, 693–704.
- Camire R M, Bos M H, 2009, The Molecular Basis of Factor V and VIII Procofactor Activation, *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, 7(12), 1951–1961.
- Carp H, Salomon O, Seidman D, Dardik R, Rosenberg N, Inbal A, 2002, Prevalence of Genetic Markers for Thrombophilia in Recurrent Pregnancy Loss, *Human Reproduction*, 17(6), 1633–1637.

- Castoldi E, Brugge J M, Nicolaes G A, Girelli D, Tans G, Rosing J, 2004, Impaired APC Cofactor Activity of Factor V Plays a Major Role in the APC Resistance Associated with the Factor V Leiden (R506Q) and R2 (H1299 R) Mutations, *Blood*, 103, 4173–4179.
- Ceelie H, Spaargaren-Van Riel C C, Bertina R M, Vos H L, 2004, G20210A is a Functional Mutation in the Prothrombin Gene; Effect on Protein Levels and 3'-end Formation, *The Journal of Thrombosis and Haemostasis*, 2(1), 119–127.
- Chatzidimitriou M, Chatzidimitriou D, Mavridou M, Anetakis C, Chatzopoulou F, Lialiaris T, Mitka S, 2017, Thrombophilic Gene Polymorphisms and Recurrent Pregnancy Loss in Greek Women, *International Journal of Laboratory Hematology*, 39(6), 590–595.
- Choi J, Pai S, 2002, Tissue Plasminogen Activator Levels Change with Plasma Fibrinogen Concentrations During Pregnancy, *Annals of Hematology*, 81(11), 611–615.
- Christiansen O B, 2014, *Recurrent Pregnancy Loss: Causes, Controversies, and Treatment*, Second Edition, CRC Press, 1–13, Florida.
- Clifford K, Rai R, Regan L, 1997, Future Pregnancy Outcome in Unexplained Recurrent First Trimester Miscarriage, *Human Reproduction*, 12(2), 387–389.
- Clifford K, Rai R, Watson H, Regan L, 1994, Pregnancy: An Informative Protocol for the Investigation of Recurrent Miscarriage: Preliminary Experience of 500 Consecutive Cases, *Human Reproduction*, 9, 1328–1332.
- Cohn D M, Vansenne F, Kaptein A A, De Borgie C A J M, Middeldorp S, 2008, The Psychological Impact of Testing for Thrombophilia: a Systematic Review, *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, 6(7), 1099–1104.
- Cosmi B, Legnani C, Pengo V, Ghirarduzzi A, Testa S, Poli D, Prisco D, Tripodi A, Palareti G, 2013, The Influence of Factor V Leiden and G20210A Prothrombin Mutation on the Presence of Residual Vein Obstruction After Idiopathic Deep-Vein Thrombosis of the Lower Limbs, *Thrombosis and Haemostasis*, 109(3), 510–516.
- Coulam C B, Jeyendran R S, Fishel L A, Roussev R, 2006, Multiple Thrombophilic Gene Mutations Rather than Specific Gene Mutations Are Risk Factors for

- Recurrent Miscarriage, American Journal of Reproductive Immunology, 55, 360–368.
- Çağlayan E K, Üstün Y E, 2015, Gebelik ve Venöz Tromboembolizm, Jinekoloji Obstetrik ve Neonatoloji Tıp Dergisi, 12, 48–51.
- Çavuşoğlu C, 2003, *Mycobacterium tuberculosis*'de Moleküler Antibiyotik Duyarlılık Test Yöntemleri, 21. Yüzyılda Tüberküloz Sempozyumu ve II. Tüberküloz Laboratuvar Tanı Yöntemleri Kursu, 369–377.
- Çavuşoğlu H, Çağ B (Ed.), 2007, Tıbbi Fizyoloji 11.Basım, Nobel Tıp Kitabevleri, 1056–1057, İstanbul.
- Deniz R, Baykuş Y, Kavak E Ç, 2016, Tekrarlayan Erken Gebelik Kayıplarına Yaklaşım, Kafkas Tıp Bilimleri Dergisi, 6, 130–137.
- Diejomaoh M F E, 2015, Recurrent Spontaneous Miscarriage is Still a Challenging Diagnostic and Therapeutic Quagmire, Medical Principals and Practice Journal, 24, 38–55.
- Dikmen M, 2004, Metilentetrahidrofolat Redüktaz (MTHFR) Enziminin Moleküler Biyolojisi ve Hastalıklarla İlişkisi, Kocatepe Tıp Dergisi, 5(2).
- Donnelly J G, 2001, Folic acid, Critical Reviews in Clinical Laboratory Science, 38(3), 183–223.
- Durmaz R, Gunal S, Yang Z, Ozerol I H, Cave M D, 2003, Molecular Epidemiology of Tuberculosis in Turkey, Clinical Microbiology and Infection, 9(8), 873–877.
- Durmaz B, Kozan S, Torun D, Bahçe M, Güran Ş, 2011, Tekrarlayan Düşükleri Olan Ailede Herediter MTHFR C677t Mutasyonunun Olası Rolü, Cumhuriyet Tıp Dergisi, 33, 234–238.
- Dziadosz M, Baxi L V, 2016, Global Prevalence of Prothrombin Gene Mutation G20210A and Implications in Women's Health: A Systematic Review, Blood Coagulation and Fibrinolysis, 27(5), 481–489.
- Ekim M, Ekim H, Yılmaz Y K, 2015, The Prevalence of Factor V Leiden, Prothrombin G20210A, MTHFR C677T and MTHFR A1298C Mutations in Healthy Turkish Population, Hippokratia, 19(4), 309–313.
- El Hachem H, Crepaux V, May-Panloup P, Descamps P, Legendre G, Bouet P E, 2017, Recurrent Pregnancy Loss: Current Perspectives, International Journal of Women's Health, 9, 331–345.

- Eskes T K A B, 2006, Abnormal Folate Metabolism in Mothers with Down Syndrome Off Spring, *European Journal of Obstetrics and Gynecology and Reproductive Biology*, 124, 130–133.
- Estellés A, Gilabert J, Grancha S, Yamamoto K, Thinnes T, España F, Aznar J, Loskutoff D, 1998, Abnormal Expression of Type 1 Plasminogen Activator Inhibitor and Tissue Factor in Severe Preeclampsia, Thrombosis and Haemostasis, 79(03), 500–508.
- Faioni E M, Franchi F, Bucciarelli P, Margaglione M, De Stefano V, Castaman G, Finazzi G, Mannucci P M, 1999, Coinheritance of The HR2 Haplotype in the Factor V Gene Confers an Increased Risk of Venous Thromboembolism to Carriers of Factor V R506Q (Factor V Leiden), *Blood*, 94(9), 3062–3066.
- Fazelnia S, Farazmandfar T, Hashemi-Soteh S M B, 2016, Significant Correlation of Angiotensin Converting Enzyme and Glycoprotein IIIa Genes Polymorphisms with Unexplained Recurrent Pregnancy Loss in North of Iran, *International Journal of Reproductive BioMedicine*, 14(5), 323–328.
- Foka Z J, Lambropoulos A F, Saravelos H, Karas G B, Karavida A, Agorastos T, Zournatzi V, Makris P E, Bontis J, Kotsis A, 2000, Factor V Leiden and Prothrombin G20210A Mutations, but not Methylenetetrahydrofolate Reductase C677T, are Associated with Recurrent Miscarriages, *Human Reproduction*, 15(2), 458–462.
- Ford H B, Schust D J, 2009, Recurrent Pregnancy Loss: Etiology, Diagnosis and Therapy, *Reviews in Obstetrics and Gynecology* 2(2), 76–83.
- Friedline J A, Ahmad E, Garcia D, Blue D, Ceniza N, Mattson J C, Crisan D, 2001, Combined Factor V Leiden and Prothrombin Genotyping in Patients Presenting with Thromboembolic Episodes, *Archives of Pathology and Laboratory Medicine*, 125(1), 105–111.
- Fukui A, Kwak-Kim J, Ntrivalas E, Gilman-Sachs A, Lee S-K, Beaman K, 2008, Intracellular Cytokine Expression of Peripheral Blood Natural Killer Cell Subsets in Women with Recurrent Spontaneous Abortions and Implantation Failures, *Fertility and Sterility*, 89(1), 157–165.
- Giakoumelou S, Wheelhouse N, Cuschieri K, Entrican G, Howie S E M, Horne A W, 2015, The Role of Infection in Miscarriage, *Human Reproduction Update*, 22.

- Basim, 22(1), 116–133.
- Giglio S, Monis P T, Saint C P, 2003, Demonstration of Preferential Binding of SYBR Green I to Specific DNA Fragments in Real-Time Multiplex PCR, *Nucleic Acids Research*, 31(22), e136.
- Goddijn M, Christiensen O B, Elson J, 2017, Recurrent Pregnancy Loss, Guideline of European Society of Human Reproduction and Embryology, November.
- Goldenberg R L, Mayberry S K, Copper R L, Dubard M B, Hauth J C, 1993, Pregnancy Outcome Following a Second-Trimester Loss, *Obstetrics and Gynecology*, 81(3), 444–446.
- Govindaiah V, Naushad S M, Prabhakara K, Krishna P C, Devi A R R, 2009, Association of Parental Hyperhomocysteinemia and C677T Methylenetetrahydrofolate Reductase (MTHFR) Polymorphism with Recurrent Pregnancy Loss, *Clinical Biochemistry*, 42(4-5), 380–386.
- Goyette P, Sumner J S, Milos R, Duncan A M V, Rosenblatt D S, Matthews R G, Rozen R, 1994, Human Methylenetetrahydrofolate Reductase: Isolation of cDNA, Mapping and Mutation Identification, *Nature Genetics*, 7(2), 195–200.
- Gökosmanoğlu F, Cinemre H, Bilir C, 2008, Habituel Abortus Nedeniyle Takip Edilen İki Olguda MTHFR Defekti: Olgu Sunumu, *Perinatoloji Dergisi*, 31–35s.
- Greene M F, Hare J W, Cloherty J P, Benacerraf B R, Soeldner J S, 1989, First-trimester Hemoglobin A1 and Risk for Major Malformation and Spontaneous Abortion in Diabetic Pregnancy, *Teratology*, 39(3), 225–231.
- Greer I A, 2003, Thrombophilia: Implications for Pregnancy Outcome, *Thrombosis Research*, 109(2-3), 73–81.
- Grandone E, Margaglione M, Colaizzo D, D'Andrea G, Cappucci G, Brancaccio V, Di Minno G, 1998, Genetic Susceptibility to Pregnancy-Related Venous Thromboembolism: Roles of Factor V Leiden, Prothrombin G20210A and Methylenetetrahydrofolate Reductase 677T Mutations, *American Journal Obstetrics ve Gynecology*, 179(5), 1324–1328.
- Guyton A C, Hall J E, 2008, *Textbook of Medical Physiology 12*, WB Philadelphia: Saunders Co, 567–589.
- Günel T, 2007, Gen Anlatımının Kantitatif Analizi, *Türkiye Klinikleri Tıp Bilimleri Dergisi*, 27(5), 763–767.

- Hassold T, Chiu D, 1985, Maternal Age-Specific Rates of Numerical Chromosome Abnormalities with Special Reference to Trisomy, *Human Genetics*, 70, 11–17.
- Hellgren M, 1996, Hemostasis During Normal Pregnancy and Puerperium, *Seminars in Thrombosis and Hemostasis*, 29(2), 125–130.
- Hohlgeschwandtner M, Unfried G, Heinze G, Huber J C, Nagele F, Tempfer C, 2003, Combined Thrombophilic Polymorphisms in Women with Idiopathic Recurrent Miscarriage, *Fertility and Sterility*, 79(5), 1141–1148.
- Homberger A, Linnebank M, Winter C, Willenbring H, Marquardt T, Harms E, Koch H G, 2000, Genomic Structure and Transcript Variants of the Human Methylenetetrahydrofolate Reductase Gene, *European Journal of Human Genetics*, 8(9), 725–729.
- Işık H, Alptekin H, Selimoğlu R, Cengiz T, Küçükapan H U, Alptekin N, 2016, Anticoagulant Therapy in Primary and Secondary Recurrent Pregnancy Losses with Hereditary Thrombophilia and Perinatal Outcomes, *Journal of Clinical and Experimental Investigations*, 7(1), 29–34.
- İzmirli M, Aldemir Ö, Gögebakan B, Alptekin D, 2014, MTHFR 677 C>T Polimorfizmi ile İlişkili Olduğu Düşünülen Hastalıklara Dair Türk Populasyonundaki Çalışmalar, *Dicle Tıp Dergisi*, 41(1), 244–256.
- Jauniaux E, Farquharson R G, Christiansen O B, Exalto N, 2006, Evidence-based Guidelines for the Investigation and Medical Treatment of Recurrent Miscarriage, *Human Reproduction*, 21(9), 2216-22.
- C, Roberts J, Wilson R, MacLean M A, Shilto J, Walker J J, 2000, Evidence of a TH1 Type Response Associated with Recurrent Miscarriage, *Fertil Steril*, 73(6), 1206–1208.
- Junker R, Koch H G, Auberger K, Münchow N, Ehrenforth I, Nowak-Göttl U, 1999, Prothrombin G20210A Gene Mutation and Further Prothrombotic Risk Factors in Childhood Thrombophilia, Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology, 19(10), 2568-2572.
- Kabukçu S, Keskin N, Keskin A, Atalay E, 2007, The Frequency of Factor V Leiden and Concomitance of Factor V Leiden With Prothrombin G20210A Mutation and Methylene Tetrahydrofolate Reductase C677T Gene Mutation in Healthy



- Population of Denizli, Aegean Region of Turkey, *Clinical and Applied Thorombosis/Hemostasis*, 13(2), 166–171.
- Kafkas S, Kadıköylü G, 2005, Gebelik ve Kalıtsal Trombofili, *Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 6(2), 43–50.
- Kahraman H C, 2013, Enfektif Endokardit ve Yapay Kapak Trombozlarının Genetik Polimorfizmlerle İlişkisi, *Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi, Kayseri*.
- Keser G, 2011, Sistemik Lupus Eritematozus ve Gebelik, *Türkiye Klinikleri Romatoloji Özel Sayı*, 4(3),50–58.
- Keser N, Pazarbaşı A, Özpak L, 2014, Metilentetrahidrofolat Redüktaz Aktivitesi ve Folat Metabolizması, *Arşiv Kaynak Tarama Dergisi*, 23, 237–256.
- Kolte A M, Van Oppenraaji R H, Quenby S, Farquharson R G, Stephenson M, Goddijn M, ESHRE S.I.G.E.P (Special Interest Group Early Pregnancy), 2014, Non-Visualized Pregnancy Loses Are Prognostically Important For Unexplained Recurrent Miscarriage, *Human Reproduction*, 29(5), 931–937.
- Kolte A M, Bernardi L A, Christiansen O B, Quenby S, Farquharson R G, Goddijn M, Stephenson M D, 2015, Terminology for Pregnancy Loss Prior to Viability: A Consensus Statement from the ESHRE Early Pregnancy Special Interest Group, *Human Reproduction*, 30(3), 495–498.
- Kong G W S, Chung T K H, Lai B P Y, Lok I H, 2010, Gender Comparison of Psychological Reaction After Miscarriage a 1–Year Longitudinal Study, *British Journal of Obstetrics and Gynaecology (BJOG): An International Journal of Obstetrics and Gynaecology*, 117, 1211–1219.
- Kutteh W H, 2015, Novel Strategies for the Management of Recurrent Pregnancy Loss, *Seminars in Reproductive Medicine*, 33(3), 161–168.
- Küçükkaya R D, Aydın M, 2016, Trombofili Genetiği, *Türk Hematoloji Derneği, Moleküler Hematoloji Kursu*.
- Lanzkowsky P, 2005, *Manual of Pediatric Hematology and Oncology*, 4. Basım, Elsevier, 233–287, San Diego.
- Lashen H, Fear K, Sturdee D W, 2004, Obesity is Associated with Increased Risk of First Trimester and Recurrent Miscarriage: Matched Case-Control Study, *Human Reproduction*, 19(7), 1644–1646.

- Lensen R, Rosendaal F, Vandenbroucke J, Bertina R, 2000, Factor V Leiden: the Venous Thrombotic Risk in Thrombophilic Families, *The British Journal of Hematology*, 110, 939–945.
- Liem T K, DeLoughery T G, 2008, First Episode and Recurrent Venous Thromboembolism: Who is Identifiably at Risk?, *Seminars in Vascular Surgery*, 21(3), 132–138.
- Lievers K J A, Boers G H J, Verhoef P, Den Heijer M, Kluijtmans L A J, Van der Put N M J, Trijbels F J, Blom H J, 2001, A Second Common Variant in Methylene tetrahydrofolate Reductase (MTHFR) Gene and Its Relationship to MTHFR Enzyme Activity, Homocysteine and Cardiovascular Disease Risk, *Journal of Molecular Medicine*, 79(9), 522–528.
- Liew S C, Gupta E D, 2015, Methylene tetrahydrofolate Reductase (MTHFR) C677T Polymorphism: Epidemiology, Metabolism and the Associated Diseases, *The European Journal of Medical Genetics*, 58(1), 1–10.
- Lijfering W M, Brouwer J L P, Veeger N J G M, Bank I, Coppens M, Middeldorp S, Hamulyák K, Prins M H, Büller H R, van der Meer J, 2009, Selective Testing for Thrombophilia in Patients with First Venous Thrombosis: Results from a Retrospective Family Cohort Study on Absolute Thrombotic Risk for Currently Known Thrombophilic Defects in 2479 Relatives, *Blood*, 113(21), 5314–5322.
- Li T C, Makris M, Tomsu M, Tuckerman E, Laird S, 2002, Recurrent Miscarriage: Aetiology, Management and Prognosis, *Human Reproduction Update*, 8, 463–481.
- Lunghi B, Iacoviello L, Gemmati D, Dilasio M G, Castoldi E, Pinotti M, Castaman G, Redaelli R, Mariani G, Marchetti G, Bernardi F, 1996, Detection of New Polymorphic Markers in The Factor V Gene: Association with Factor V Levels in Plasma, *Thrombosis and Haemostasis*, 75(1), 45–48.
- Macklon N S, Geraedts J P M, Fauser B C J M, 2002, Conception to Ongoing Pregnancy: The “Black Box” of Early Pregnancy Loss, *Human Reproduction Update*, 8, 333–343.
- Madjunkova S, Volk M, Peterlin B, Plaseska-Karanfilska D, 2012, Detection of Thrombophilic Mutations Related to Spontaneous Abortions by a Multiplex SNaPshot Method, *Genetic Testing and Molecular Biomarkers*, 16(4), 259–264.

- Mahmutbegović E, Marjanović D, Medjedović E, Mahmutbegović N, Dogan S, Valjevac A, Czerska E, Pawińska-Matecka A, Madlani A, Adler G, 2017, Prevalence of F5 1691G>A, F2 20210G>A and MTHFR 677C>T Polymorphisms in Bosnian Women with Pregnancy Loss, *The Bosnian Journal of Basic Medical Sciences*, 17(4), 309–314.
- Martinelli I, Legnani C, Bucciarelli P, Grandone E, De Stefano V, Mannucci P M, 2001, Risk of Pregnancy-Related Venous Thrombosis in Carriers of Severe Inherited Thrombophilia, *Thrombosis and Haemostasis*, 86(3), 800–803.
- Martinelli I, Taioli E, Cetin I, Marinoni A, Gerosa S, Villa M V, Bozzo M, Mannucci P M, 2000, Mutations in Coagulation Factors in Women with Unexplained Late Fetal Loss, *The New England Journal of Medicine*, 343, 1015–1018.
- McColl M D, Walker I D, Greer I A, 1999, The Role of Inherited Thrombophilia in Venous Thromboembolism Associated with Pregnancy, *The British Journal of Obstetrics and Gynaecology*, 106(8), 756–766.
- Miyakis S, Lockshin M D, Atsumi T, Branch D W, Brey R L, Cervera R, Derksen R H W M, Groot D E P G, Koike T, Meroni P L, Reber G, Shoenfeld Y, Tincani A, Vlachoyiannopoulos P G, Krilis S A, 2006, International Consensus Statement on an Update of the Classification Criteria for Definite Antiphospholipid Syndrome (APS), *The Journal of Thrombosis and Haemostasis*, 4, 295–306.
- Munné S, Magli C, Cohen J, Morton P, Sadowy S, Gianaroli L, Tucker M, Márquez C, Sable D, Ferraretti A P, Massey J B, Scott R, 1999, Positive Outcome After Preimplantation Diagnosis of Aneuploidy in Human Embryos, *Human Reproduction*, 14, 2191–2199.
- Nguyen A, 2000, Prothrombin G20210A Polymorphism and Thrombophilia, *Mayo Clinic Proceedings*, 75, 595–604.
- NVOG 2007, Dutch Society of Obstetrics and Gynaecology, *Guideline: Recurrent Miscarriage*, The Netherlands.
- Nybo A A M, Wohlfahrt J, Christens P, Olsen J, Melbye M, 2000, Maternal Age and Fetal Loss: Population Based Register Linkage Study, *The British Medical Journal*, 320, 1708–1712.

- Oyen N, Skjaerven R, Irgens L M, 1996, Population-Based Recurrence Risk of Sudden Infant Death Syndrome Compared with Other Infant and Fetal Deaths, *The American Journal of Epidemiology*, 144, 300–305.
- Örgül G, Soyak B, Aydın E, Tanaçan A, Çağan M, Beksaç M S, 2017, 22 Haftayı Geçemeyen Gebelikler, *Jinekoloji-Obstetrik ve Neonatoloji Tıp Dergisi*, 14, 66–69.
- Özdemir S, Balcı O, Göktepe H, Görkemli H, Taşçı E, Acar H, 2010, Tekrarlayan Gebelik Kaybı Olan Hastalarda Trombofili Mutasyon Sıklığının Değerlendirilmesi, *Genel Tıp Dergisi*, 20(3), 93–97.
- Özdemir O, Yenicesu G I, Silan F, Köksal B, Atik S, Özen F, Göl M, Çetin A, 2012, Recurrent Pregnancy Loss and Its Relation to Combined Parental Thrombophilic Gene Mutations, *Genetic Testing and Molecular Biomarkers*, 16(4), 279–286.
- Öztuzcu S, Ergün S, Ulaşlı M, Nacarkahya G, Iğci Y Z, Iğci M, Bayraktar R, Tamer A, Çakmak E A, Arslan A, 2014, Evaluation of Factor V G1691A, Prothrombin G20210A, Factor XIII V34L, MTHFR A1298C, MTHFR C677T and PAI-1 4G/5G Genotype Frequencies of Patients Subjected to Cardiovascular Disease (CVD), Panel in South-East Region of Turkey, *Molecular Biolog Reports*, 41, 3671–3676.
- Philipp T, Philipp K, Reiner A, Beer F, Kalousek D K, 2003, Embryoscopic and Cytogenetic Analysis of 233 Missed Abortions: Factors Involved in The Pathogenesis of Development Defects of Early Failed Pregnancies, *Human Reproduction*, 18(8), 1724–1732.
- Pollak E S, Lam H S, Russell J E, 2002, The G20210A Mutation Does Not Affect the Stability of Prothrombin mRNA in vivo, *Blood*, 100(1), 359–362.
- Poort S R, Rosendaal F R, Reitsma P H, Bertina R M, 1996, A Common Genetic Variation in the 3'-Untranslated Region of the Prothrombin Gene is Associated with Elevated Plasma Prothrombin Levels and An Increase in Venous Thrombosis, *Blood*, 88(10), 3698–3703.
- Prat M, Morales-Indiano C, Jimenez C, Mas V, Besses C, Checa M A, Carreras R, 2014, “20209C-T” a Variant Mutation of Prothrombin Gene Mutation in a Patient with Recurrent Pregnancy Loss, *Annals of Clinical and Laboratory Science*, 44(3), 334–336.

- Rai R, Backos M, Rushworth F, Regan L, 2000, Polycystic Ovaries and Recurrent Miscarriage Reappraisal, *Human Reproduction*, 15(3), 612–615.
- RCOG 2011, Royal College Obstetricians and Gynecologists, The Investigation and Treatment of Couples with Recurrent First Trimester and Second Trimester Miscarriage, Royal College of Obstetricians and Gynaecologists, 17, 1–18, London, United Kingdom.
- Regan L, Braude P R, Trembath P L, 1989, Influence of Past Reproductive Performance on Risk of Spontaneous Abortion, *The British Medical Journal*, 299(6698), 541–545.
- Regan L, Rai R, 2000, Epidemiology and the Medical Causes of Miscarriage, *Best Practice and Research Clinical Obstetrics and Gynaecology*, 14(5), 839–854.
- Ren A, Wang J, 2006, Methylenetetrahydrofolate Reductase C677T Polymorphism and the Risk of Unexplained Recurrent Pregnancy Loss: a Meta-Analysis, *Fertility and Sterility*, 86(6), 1716–1722.
- Reuter M, Küpper Y, Schmitz A, Breuer J P, Wend U, Hennig J, 2005, Detection of New Single Nucleotide Polymorphisms by Means of Real Time PCR, *Journal of Genetics*, 84(3), 341–345.
- Rey E, Kahn S R, David M, Shrier I, 2003, Thrombophilic Disorders and Fetal Loss: a Meta-Analysis, *The Lancet*, 361(9361), 901–908.
- Robertson L, Wu O, Langhorne P, Twaddle S, Clark P, Lowe G D O, Walker I D, Greaves M, Brenkel I, Regan L, Greer I A, 2006, Thrombophilia in Pregnancy: A Systematic Review, *The British Journal Haematology*, 132(2), 171–196.
- Roque H, Paidas M, Rebarber A, Khan S, Kuczynski E, Lockwood C J, 2001, There is No Association Between Maternal Thrombophilia and Recurrent First-Trimester Loss, *American Journal Obstetrics and Gynecology*, 184, S15.
- Rosenblatt D S, 2001, Methylenetetrahydrofolate Reductase, *Clinical and Investigative Medicine*, 24(1), 56–59.
- Rosendaal F R, Doggen C J M, Zivelin A, Arruda V R, Aiach M, Siscovick D S, Hillarp A, Watzke H H, Bernardi F, Cumming A M, Preston F E, Reitsma P H, 1998, Geographic Distribution of the 20210 G to A Prothrombin Variant, *Thrombosis and Haemostasis*, 79(4), 706–708.

- Rosendaal F R, Reitsma P H, 2009, Genetics of Venous Thrombosis, *The Journal of Thrombosis and Haemostasis*, 7(1), 301–304.
- Rushworth F H, Backos M, Rai R, Chilcott I T, Baxter N, Regan L, 2000, Prospective Pregnancy Outcome in Untreated Recurrent Miscarriers with Thyroid Autoantibodies, *Human Reproduction*, 15(7), 1637–1639.
- Savlı H, Hatırnaz Ö, 2004, Sayımsal Gerçek Zamanlı-Polimeraz Zincir Reaksiyonu ve Hematolojik Gen Anlatım Analizleri, *Türkiye Klinikleri Tıp Bilimleri Dergisi*, 24(6), 653–660.
- Sergi C, Jishi T A, Walker M, 2015, Factor V Leiden Mutation in Women with Early Recurrent Pregnancy Loss: a Meta-Analysis and Systematic Review of the Causal Association, *Archives of Gynecology and Obstetrics*, 291(3), 671–679.
- Sezer S D, Küçük M, Odabaşı A R, Yüksel H, Bozkurt G, Coşkun S, Tepedelen E, Aydın A, 2011, Tekrarlayan Gebelik Kayıplarında Metilentetrahidrofolat Redüktaz (C677T, A1298C) Faktör V Leiden (G1691A) ve Protrombin (G20210A) Gen Mutasyonları Sıklığı ve İlişkisi, *The Journal of Clinical Obstetrics and Gynecology*, 21(3), 175–183.
- Sibani S, Christensen B, O'Ferrall E, Saadi I, Hiou-Tim F, Rosenblatt D S, Rozen R, 2000, Characterization of Six Novel Mutations in the Methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) Gene in Patients with Homocystinuria, *Human Mutation*, 15(3), 280–287.
- Silver R M, Branch D W, Goldenberg R, Iams J D, Klebanoff M A, 2011, Nomenclature for Pregnancy Outcomes: Time for a Change, *Obstetrics and Gynecology*, 118(6), 1402–1408.
- Simon C, Rubio C, Vidal F, Moreno C, Parilla J, Pellicer A, 1998, Increased Chromosome Abnormalities in Human Preimplantation Embryos After in vitro Fertilization in Patients With Recurrent Miscarriage, *Reproduction, Fertility and Development*, 10(1), 87–92.
- Stern L L, Bagley P J, Rosenberg I H, Selhub J, 2000, Conversion of 5-Formyltetrahydrofolic Acid is Unimpaired in Folate-Adequate Persons Homozygous for the C677T Mutation in the Methylenetetrahydrofolate Reductase Gene, *The Journal of Nutrition*, 130(9), 2238–2242.

- Stirling Y, Woolf L, North W R S, Seghatchian M J, Meade T W, 1984, Haemostasis in Normal Pregnancy, *Thrombosis and Haemostasis*, 52(2), 176–182.
- Sullivan A E, Lewis T, Stephenson M, Odem R, Schreiber J, Ober C, Branch D W, 2003, Pregnancy Outcome in Recurrent Miscarriage Patients with Skewed X Chromosome Inactivation, *Obstetrics and Gynecology*, 101(6), 1236–1242.
- Şahin F İ, Ataç B, Yılmaz Z, Zeyneloğlu H B, 2009, Tekrarlayan Gebelik Kayıplarında Trombofilik Mutasyon Sıklıkları, *Erciyes Tıp Dergisi*, 31(2), 104–109.
- Temel İ, Özerol E, 2002, Homosistein Metabolizma Bozuklukları ve Vasküler Hastalıklarla İlişkisi, *İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 9(2), 149–157.
- Tepeli E, Müslümanoğlu H M, Uludağ A, Atlı E, Uzun D, 2007, Eskişehir İlinde İdiyopatik Tekrarlayan Gebelik Kayıpları ile Metilentetrahidrofolat Redüktaz (MTHFR) C677T ve A1298C Polimorfizmleri Arasındaki İlişki, *Osmangazi Tıp Dergisi*, 29(1), 1–11.
- They-They T P, Battas O, Slassi I, Rafai M A, Katumbay D T, Nadifi S, 2012, Prothrombin G20210A and Factor V Leiden Polymorphisms in Stroke, *The Journal of Molecular Neuroscience*, 46(1), 210–216.
- Torabi R, Ostad Karampour M, Mohammadzadeh A, Arefi S, Keramatipour M, Zarei S, Zeraati H, Jeddi-Tehrani M, 2009, The Relationship between Polymorphisms of Blood Coagulation Factor V Gene and Recurrent Pregnancy Losses, *Journal of Reproduction and Infertility*, 9(4), 305–316.
- Tulppala M, Björnses U M, Stenman U H, 1991, Luteal Phase Defect in Habitual Abortion: Progesterone in Saliva, *Fertility and Sterility*, 56, 41–44.
- Ulu A, Yılmaz E, Akar E, Akar N, 2005, Factor V A4070G (His1299Arg) Mutation in Turkish Pediatric Patients with Thrombosis, *Turkish Journal of Hematology*, 4, 173–178.
- Van Cott E M, Khor B, Zehnder J L, 2016, Factor V Leiden, *The American Journal of Hematology*, 91(1), 46–49.
- Van der Meer F J M, Koster T, Vandenbroucke J P, Briet E, Rosendaal F R, 1997, The Leiden Thrombophilia Study (LETS), *Thrombosis and Haemostasis*, 78(1), 631–635.

- Vettriselvi V, Vijayalakshmi K, Solomon F D P, Venkatachalam P, 2008, ACE and MTHFR Gene Polymorphisms in Unexplained Recurrent Pregnancy Loss, *Journal of Obstetrics and Gynaecology Research*, 34(3), 301–306.
- Vurkun M, Vural Ö, Demir M, Turgut B, Gürgey A, Parlak H, Duran N, 2002, The Prevalence of Activated Protein C Resistance and FV Leiden in Healthy Population of Edirne, Turkey, *Turkish Journal of Haematology*, 19(2), 287–291, Edirne.
- Wang J, Fan H C, Behr B, Quake S R, 2012, Genome-wide Single Cell Analysis of Recombination Activity and *de novo* Mutation Rates in Human Sperm, *Cell*, 150(2), 402–412.
- Warburton D, Kline J, Stein Z, Strobino B, 1986, Cytogenetic Abnormalities in Spontaneous Abortions of Recognized Conceptions, In: Porter I H, Hatcher N, Willey A M (Eds.), *Perinatal Genetics: Diagnosis and Treatment*, Academic Press, 133–148, New York.
- Welch G N, Loscalzo J, 1998, Homocysteine and Atherothrombosis, *The New England Journal of Medicine*, 338, 1042–1050.
- Yatsenko A N, Turek P J, 2018, Reproductive Genetics and The Aging Male, *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*, 35, 933–941.
- Yirmibeşoğlu M, Vitoja S, Çalık E, Terzi C, 2011, Protrombin 20210 G/A ve MTHFR C677T Mutasyonları Nedeniyle Süperior Mezenterik Ven Trombozu: Olgu Sunumu, *Turkish Journal of Surgery*, 27(2), 111–114.
- Yusuf R Z, Naeem R, 2004, Cytogenetic Abnormalities in Products of Conception: A Relationship Revisited, *The American Journal of Reproductive Immunology*, 52(1), 88–96.
- Zammiti W, Mtiraoui N, Mercier E, Abboud N, Saidi S, Mahjoub T, Almawi W Y, Gris J C, 2006, Association of Factor V Gene Polymorphisms (Leiden; Cambridge, Hong Kong and HR2 Haplotype) with Recurrent Idiopathic Pregnancy Loss in Tunisia, A Case-Control Study, *Thrombosis and Haemostasis*, 95(4), 612–617.
- Zegers-Hochschild F, Adamson G D, de Mouzon J, Ishihara O, Mansour R, Nygren K, Sullivan E, van der Poel S, 2009, International Committee for Monitoring Assisted Reproductive Technology (ICMART) and the World Health Organiza-



tion (WHO) Revised Glossary on ART Terminology, Human Reproduction, 24(11), 2683–2687.

### **İnternet Kaynakları**

- 1–<https://crgh.co.uk/recurrent-pregnancy-loss/>, 11.11.2019
- 2–[https://www.amerikanhastanesi.org/getmedia/4e3ca526-ef2b-4bba-bb0d-89d53282c2ef/FII\\_ve\\_FV\\_Polimorfizimleri.pdf.aspx](https://www.amerikanhastanesi.org/getmedia/4e3ca526-ef2b-4bba-bb0d-89d53282c2ef/FII_ve_FV_Polimorfizimleri.pdf.aspx), 04.11.2019
- 3–[http://www.ensembl.org/Homo\\_sapiens/Gene/Summary?g=ENSG00000198734;r=1:169511951-169586588](http://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Gene/Summary?g=ENSG00000198734;r=1:169511951-169586588), 24.09.2020
- 4–<https://medlineplus.gov/genetics/condition/factor-v-leiden-thrombophilia/>, 03.09.2020
- 5–<https://slideplayer.biz.tr/amp/3195054/> , 24.03.2020
- 6–[http://www.ensembl.org/Homo\\_sapiens/Gene/Summary?g=ENSG00000180210;r=11:46719196-46739506](http://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Gene/Summary?g=ENSG00000180210;r=11:46719196-46739506), 24.09.2020
- 7–<https://medlineplus.gov/genetics/gene/f2/>, 03.09.2020
- 8–[http://www.ensembl.org/Homo\\_sapiens/Gene/Summary?g=ENSG00000177000;r=1:11785723-11806455](http://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Gene/Summary?g=ENSG00000177000;r=1:11785723-11806455), 24.09.2020
- 9–[https://www.medicinenet.com/compound\\_heterozygote/definition.htm](https://www.medicinenet.com/compound_heterozygote/definition.htm), 03.09.2020



## ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Münevver Nisa CAN  
Doğum Yeri ve Tarihi : Denizli 1996  
Yabancı Dili : İngilizce  
İletişim (Telefon / e-posta) : 05526218557 / nisacann20@gmail.com

### Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl)


Lise : Mustafa Kaynak Anadolu Lisesi (2010–2014)  
Lisans : Afyon Kocatepe Üniversitesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, (2014–2018)  
Yüksek Lisans : Afyon Kocatepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, (2018–2022)

## EKLER

### EK 1. Etik Kurul Belgesi

Handan  
Hoşca  
teşekkür  
edilecek

T.C.  
AFYONKARAHİSAR SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ  
KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU



**Birimi : Tıbbi Etik Kurul Başkanlığı** **06.08.2019**  
**Kodu : 2011-KAEK-2**  
**Sayı : 2019/ 269**  
**Konu : Tıbbi Etik Kurul Kararı**


**Sayın ; Prof.Dr.Mustafa YILDIZ**

**İlgi:** Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'nun 02.08.2019 tarih ve 2019/263 sayılı kararı.

Sorumluluğunuzda yürütülecek olan "Tekrarlayan Gebelik Kaybı Olan Kadınlarda Faktör V G1691A, Faktör II G20210A, MTHFR C677T ve Faktör V H1299R Mutasyonlarının Değerlendirilmesi" başlıklı çalışmanıza ilişkin alınan ilgi sayılı Etik Kurul Kararı ekte gönderilmiştir.

Bilgilerinizi ve gereğini rica ederim.

Prof.Dr. Dağistan Tolga ARIÖZ  
Etik Kurul Başkanı



**EK:**  
1-İlgi sayılı karar (1 sayfa)

Ali Çetinkaya kampüsü, Afyon – İzmir Yolu 8.Km 03200 / AFYONKARAHİSAR  
Ayrıntılı bilgi için irtibat: Ayşe SÜRÜÇ  
Telefon: 0. 272.2463301 – 2463304 Faks: 0. 272.2462707  
e-posta: [klinikarastirmalar@aku.edu.tr](mailto:klinikarastirmalar@aku.edu.tr)

**EK 1. (Devam) Etik Kurul Belgesi**

**T.C.**  
**AFYONKARAHİSAR SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ**  
**KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARARLARI**

Toplantı Tarihi	02.08.2019	Toplantı Numarası	2019/9	Toplantı Saati	09:00	Etik Kurul Kodu	2011-KAEK-2
-----------------	------------	-------------------	--------	----------------	-------	-----------------	-------------

263- Prof.Dr.Mustafa YILDIZ'ın sorumluluğunda yürütülecek olan "Tekrarlayan Gebelik Kaybı Olan Kadınlarda Faktör V G1691A, Faktör II G20210A, MTHFR C677T ve Faktör V H1299R Mutasyonlarının Değerlendirilmesi" konulu Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar için başvuru dosyası incelendi. Araştırma protokolüne uyularak, Sağlık Bakanlığı'nın 13.04.2013 tarih 28617 sayılı Klinik Araştırmalar Hakkındaki Yönetmeliği ve yayımlanan kılavuzlarında belirtilen hususlar dikkate alınarak, sorumluluk araştırmacılara ait olmak üzere araştırmanın yapılmasında etik sakınca olmadığına toplantıya katılan üyelerin **oy birliği** ile karar verildi.

ASLİGİBİDİR

06.08.2019  
Dr.Öğr.Üyesi Nazan **ERENOĞLU SON**  
Başkan Yardımcısı

.