

T.C.  
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ  
BİLİMSEL ARAŞTIRMA PROJELERİ  
KOORDİNASYON BİRİMİ



**SHEEHAN SENDROMUNUN ETİYOLOJİSİNDE KRANİYAL KEMİKLERİNİN  
GELİŞİMİ VE TROMBOFİLİ İLE İLGİLİ GENETİK FAKTÖRLERİN ROLÜNÜN  
DEĞERLENDİRİLMESİ**

**Proje No: TSU-12-3969**

**TIPTA UZMANLIK TEZ PROJESİ**

**SONUÇ RAPORU**

**Proje Yürütücüsü: Prof. Dr. Fahri BAYRAM**

Erciyes Üniv. Tıp Fak. - Endokrinoloji Bölümü

**Araştırmacıların Adı Soyadı:**

Uzm. Dr. Halit Diri, Prof. Dr. Munis Dünder, Araş. Gör. Elif Funda Emiroğulları

Nisan 2014

KAYSERİ

**TSU-12-3969 kodlu olan bu çalışma ‘Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Birimi’ tarafından maddi olarak desteklenmiştir.**

## İÇİNDEKİLER

Sayfa No:

İÇİNDEKİLER.....	ii
KISALTMALAR.....	iii
TEŞEKKÜR.....	v
ÖZET.....	vi
ABSTRACT.....	vii
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	12
4. BULGULAR.....	16
5. TARTIŞMA VE SONUÇLAR.....	20
6. KAYNAKLAR.....	29
7. TEZ KABUL YAZISI.....	34

## KISALTMALAR

<b>ACE</b>	: Anjiotensin konverting enzim
<b>ACTH</b>	: Adrenokortikotropik hormon
<b>ADH</b>	: Anti-diüretik hormon
<b>ADP</b>	: Adenozin difosfat
<b>BMP</b>	: Bone morphogenetic protein
<b>BT</b>	: Bilgisayarlı tomografi
<b>DIC</b>	: Dissemine intravasküler koagülasyon
<b>DLX</b>	: Distal-less homeobox
<b>DNA</b>	: Deoksi Ribo Nükleik Asit
<b>ERÜTF</b>	: Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi
<b>FGF</b>	: Fibroblast growth factor
<b>FGFR</b>	: Fibroblast growth factor reseptörü
<b>FSH</b>	: Folikül stimulan hormon
<b>FV</b>	: Koagülasyon faktörü V
<b>FVII</b>	: Koagülasyon faktörü VII
<b>FVIII</b>	: Koagülasyon faktörü VIII
<b>FIX</b>	: Koagülasyon faktörü IX
<b>GATA2</b>	: GATA binding protein-2
<b>GH</b>	: Büyüme hormonu
<b>GLI</b>	: Glioma-Associated Oncogene Homolog
<b>GST</b>	: Glukagon stimülasyon testi
<b>HESX1</b>	: HESX homeobox 1
<b>IGF-1</b>	: İnsülin benzeri büyüme faktörü-1
<b>IRMA</b>	: İmmüno radiometric assay
<b>ISL1</b>	: ISL LIM homeobox 1
<b>İTT</b>	: İnsülin tolerans testi
<b>LH</b>	: Luteinize edici hormon

<b>LHRH</b>	: Luteinizan hormon salgılatıcı hormon
<b>LHX3</b>	: LIM homeobox-3
<b>MR</b>	: Magnetik rezonans
<b>mRNA</b>	: Messenger RNA
<b>MSX2</b>	: MSH homeobox-2
<b>MTHFR</b>	: Methylenetetrahydrofolate reductase
<b>PAI1</b>	: Plasminojen aktivatör inhibitör-1
<b>PAX3</b>	: Paired box-3
<b>PCR</b>	: Polimeraz zincir reaksiyonu
<b>PLAT</b>	: Plasminogen activator, tissue
<b>POU1F1</b>	: POU class 1 homeobox-1
<b>PROP1</b>	: Prophet of PIT-1
<b>PITX1</b>	: Paired-like homeodomain-1
<b>RIA</b>	: Radioimmuno assay
<b>RNA</b>	: Ribo nükleik asit
<b>SERPINE1</b>	: Serpin peptidase inhibitor, clade E, member-1
<b>SF1</b>	: Steroidogenic factor-1
<b>SHH</b>	: Sonic hedgehog
<b>SHOX2</b>	: Short stature homeobox-2
<b>SIX3</b>	: SIX homeobox-3
<b>SS</b>	: Sheehan Sendromu
<b>sT3</b>	: Serbest Triiyodotironin
<b>sT4</b>	: Serbest Tiroksin
<b>TBX19</b>	: T-box-19
<b>TRH</b>	: Tirotropin salgılatıcı hormon
<b>TSH</b>	: Tiroid stimulan hormon
<b>TTF1</b>	: Thyroid transcription factor-1
<b>TWIST</b>	: Twist basic helix-loop-helix transcription factor
<b>WNT5A</b>	: Wingless-type MMTV integration site family, member-5A

## **TEŞEKKÜR**

Endokrinoloji ve Metabolizma Hastalıkları yan dal uzmanlık eğitimime katkılarından dolayı hocalarım sayın Prof. Dr. H. Fahrettin Keleştemur, Prof. Dr. Fahri Bayram, Prof. Dr. Kürşad Ünlühızcı, Doç. Dr. Fatih Tanrıverdi ve Doç. Dr. Züleyha Karaca'ya; bu çalışmadaki maddi katkılarından dolayı Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Birimi'ne; başta test hemşiremiz Nilgün Yıldırım olmak üzere Endokrinoloji Bilim Dalı'nın birbirinden iyi niyetli, özverili ve çalışkan hemşirelerine, sekreterlerine, postalarına ve temizlik görevlilerine; bu çalışmada gönüllü olma özverisini gösteren bütün katılımcılara ve ailelerine; üzerimde emeği olan ve burada saymayı unutmuş olabileceğim herkese ve özel olarak da bugünlere gelmemde en büyük pay sahibi olan aileme çok teşekkür ederim.

**Uzm. Dr. Halit DİRİ**

**Kayseri - 2014**

## ÖZET

**Amaç:** Hiperkoagülasyon ve küçük sella tursika volümü, Sheehan Sendromu (SS)'nin etiopatogenezinde önemli rol oynadığı düşünülen faktörlerdir. Bu çalışmadaki amaç SS'nun etiopatogenezini aydınlatmak için kraniyal kemiklerin gelişimiyle ilgili olan *DLX-2*, *DLX5*, *MSX2*, *PAX3* ve trombofili ile ilgili olan *ACE*, *PLAT*, *SERPINE1*, *FV*, *MTHFR*, *FVII*, *FVIII*, *FIX* genlerinin ekspresyonlarındaki bozuklukları araştırmaktır.

**Gereç ve Yöntem:** Çalışmaya 52 SS'lu hasta ile 43 sağlıklı kadın alındı. Katılımcıların kan örneklerinin genetik analizleri real time PCR ile yapıldı. PCR'den elde edilen ekspresyon düzeyleri açısından iki grup karşılaştırıldı.

**Bulgular:** SS'lu hastaların *Faktör V* geninin ortalama ekspresyon düzeyi, sağlıklı kadınlarınkinden daha yüksek bulundu. *ACE* geninin ekspresyonu ise SS'lu hastalarda daha düşüktü. Ancak diğer genlerin ekspresyonlarında iki grup arasında anlamlı bir farklılık tespit edilmedi.

**Sonuçlar:** *ACE* geninde SS'lu hastalarda ortalama ekspresyon seviyesi daha düşük bulunsa da bu durum trombofiliye yol açabilecek bir patoloji olmadığından anlamlı kabul edilmemiştir. *FV* geninin ekspresyon seviyesi ise SS'lu hastalarda sağlıklı kadınlardan yüksek bulunmuştur. Ancak bu patolojinin tek başına tromboza kesin olarak neden olup olmadığı bilinmemektedir. Bu nedenle daha fazla hasta ve trombofili ve diğer etiyolojik faktörlerle ilgili daha fazla parametrenin değerlendirildiği yeni çalışmalarla SS'unun etiopatogenezinin netleştirilmesi gereklidir.

**Anahtar kelimeler:** Sheehan Sendromu, etiopatogenez, gen ekspresyonu, trombofili, kraniyal kemikler.

## ABSTRACT

**Aim:** Hypercoagulation and small sella turcica size have been thought to play an important role in the etiopathogenesis of Sheehan's syndrome (SS). The aim of this study was investigating expression disorders in *DLX-2*, *DLX5*, *MSX2*, *PAX3* genes which are associated with development of cranial bones and *ACE*, *PLAT*, *SERPINE1*, *FV*, *MTHFR*, *FVII*, *FVIII*, *FIX* genes which are associated with development of thrombophilia to enlighten the etiopathogenesis of SS.

**Material and Method:** 52 patients with SS and 43 healthy women were enrolled to the study. Genetic analyses of blood samples of participants were performed by real time PCR. Two groups were compared regarding the data of expression levels obtained from PCR.

**Results:** *Factor V* gene expression level was higher in patients with SS than healthy women, while expression level of *ACE* gene was lower in patients with SS. However, there were no significant differences in the expression of other genes.

**Conclusions:** Although, mean expression level of *ACE* gene was lower in patients with SS, this state was not considered to be significant, because it does not lead to thrombophilia. Furthermore, *Factor V* gene expression level was higher in patients with SS than healthy women. However it is not known whether that pathology solely lead to thrombophilia. Thus, larger studies with further parameters associated with thrombophilia and other etiological factors are required to clarify the etiopathogenesis of SS.

**Keywords:** Sheehan's Syndrome, etiopathogenesis, gene expression, thrombophilia, cranial bones.



# 1. GİRİŞ

Sheehan Sendromu (SS), doğum sırasında veya postpartum dönemdeki aşırı uterus kanamaları sonucu gelişen hipofizer infarktüse bağlı hipofiz yetmezliğini tanımlar [1]. SS, hastaların az bir kısmında doğumdan sonra akut ve ağır bir panhipopituitarizm şeklinde başlasa da, birçok hastada kronik ve ağır olmayan parsiyel hipopituitarizm kliniği göstermekte ve bu nedenle uzun yıllar tanı ve tedavisi gecikebilmektedir [2].

SS'unun gelişmesinde hipofiz bezinin gebelik sırasındaki fizyolojik büyümesi önemli bir rol oynar, çünkü kadınlarda gebelik dışı zamanlarda gelişen aşırı kanamalar hipofiz yetmezliğine yol açmaz. Her ne kadar SS'unun etiyopatogenezi tam olarak aydınlatılamamış olsa da temel patolojinin ön hipofiz bezinde arteriyel kan akımının kesilmesi sonucu gelişen infarktüs ve iskemik nekroz olduğu kesinleşmiştir [3]. Ancak kan akımındaki kesintinin nedeni belli değildir. İnmede görülene benzer bir arteriyel tromboz, aşırı kanamaya bağlı gelişen ağır hipotansiyon sonucu arteriyel spazm gelişmesi ve gebelikteki hipofizer genişlemeyle ilişkili olarak göreceli küçük sella tursika volümünün neden olduğu damarsal yapılara bası potansiyel mekanizmalar olarak düşünülmektedir [2]. Diğer taraftan, hipofiz bezine karşı gelişmiş olan antikorların birçok hastada gösterilmiş olması otoimmüitenin de patogeneze katkısının olabileceğini göstermektedir [4].

Kısacası SS'unun etiyopatogenezi henüz tüm yönleriyle ve tamamen anlaşılammıştır. Bu çalışmadaki amaç SS'lu hastalarda kranial kemiklerin gelişimiyle ilgili olan *Distal-less homeobox-2 (DLX2)*, *DLX5*, *MSH homeobox-2 (MSX2)*, *Paired box-3 (PAX3)* ve *trombofili ile ilgili olan Angiotensin I converting enzyme (ACE)*; *Plasminogen activator, tissue (PLAT)*; *Serpin peptidase inhibitor, clade E, member-1 (SERPINE1)*; *Koagülasyon faktörü V (FV)*; *methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR)*; *Koagülasyon faktörü FVII (FVII)*; *Koagülasyon faktörü FVIII (FVIII)*; *Koagülasyon faktörü FIX (FIX)* genlerinin ekspresyonlarındaki bozuklukları araştırmaktır. Bu bağlamda daha önce çalışılmamış bir konu olan kranial kemiklerin gelişimi ve böylece sella tursika volümüyle ilgili olabilecek genlerin ve trombofiliye neden olabilecek genlerin SS'nun etiolojisindeki rollerinin araştırılması planlandı. SS'na genetik bir yatkınlığın tespit

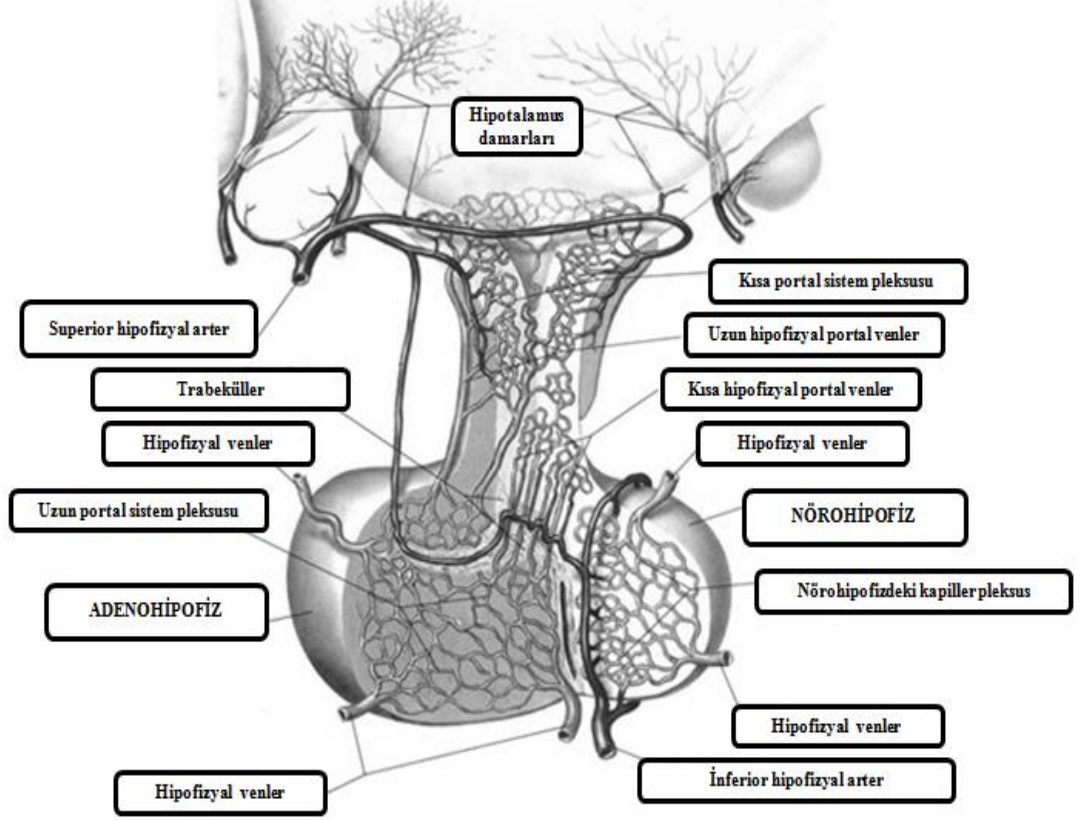
edilmesi, gelecekte hastalara genetik tedavi verilmesini veya genetik açıdan riskli kişilerin önceden belirlenerek hastalığın ortaya çıkmasını önleyici tedbirlerin alınmasını mümkün kılabilir.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. HİPOFİZ BEZİNİN ANATOMİSİ:

Hipofiz bezi erişkinlerde 1.2-1.5 cm çapında ve 0.5-0.6 gr ağırlığındadır. Ancak, kadınlarda hipofizin hacmi ve ağırlığı gebelik boyunca artış gösterir [5]. Hipofiz bezi, beynin altında kafa kaidesinde 'sella tursika' (Türk eyeri) olarak adlandırılan kemik yapı içerisinde bulunur. Sella tursika, kafa kaidesinde bulunan sfenoid kemiğe ait yapıların meydana getirdiği bir oluşumdur [6]. Sella tursikanın ön duvarı yani tuberkulum sella, sfenoid kemik kanatlarının uzantıları olan anterior klinoid süreçler ile oluşmuştur. Dorsum sella ise sella tursikanın arka duvarını oluşturur ve üst köşelerinde posterior klinoid süreçler bulunur. Dorsum sella oksipital kemikle birlikte klivusu oluşturur. Sella tursikanın yan duvarlarında ise karotik sulcuslar, optik kanallar ve anterior klinoid süreçler bulunur. Sella tursika, hipofiz bezinin şekil ve büyüklüğüne uyum sağlama özelliğine sahiptir. Bu nedenle çok doğum yapmış kadınlarda veya hipofizer makroadenom durumlarında normalden daha geniş izlenebilir.

Hipofiz bezi sella tursika içerisinde dura mater tarafından sarılmıştır ve üzerini dura uzantısı olan diaphragma sellae örter. Diaphragma sellae beyin-omurilik sıvısının sella tursikaya geçmesini engellerken ortasındaki foramen diaphragmaticus adlı açıklıktan hipofiz stalkı (infundibulum) ve kan damarları geçer. Foramen diaphragmaticustan geçen stalk aracılığıyla hipofiz hipotalamusta median eminense bağlanır. Ön hipofiz (adenohipofiz) daha çok median eminense gelen superior hipofizyal arterin dalları ile beslenmekte iken, arka hipofiz (nörohipofiz) ise daha çok inferior hipofizyal arterin dalları ile beslenir [7]. İnternal karotid arterden köken alan bu iki ana hipofiz arteri arasında hipofizin orta-arka kısımlarında anastomozlar bulunmaktadır. Önemli olarak, superior hipofizyal arterin dalları infundibulumdan hipofize girmekte iken inferior arter infundibulumdan girmemektedir (Şekil-1).



**Şekil-1:** Hipofiz bezinin anatomisi ve damarlanması

## 2.2. HİPOFİZ BEZİNİN EMBRİYOLOJİSİ:

Fetusta ön hipofizin ilk taslağı gestasyonun 4-5. haftalarında görülür ve esas olarak Rathke kesesi adı verilen orofarinksin ektodermal çıkıntısından kaynaklanır. Bu ilk ön hipofiz taslağı göç ederek embriyolojik olarak ventral diensefalon kaynaklı arka hipofizle birleştikten sonra, hızlı bir gelişim ile 20. haftada matür hipotalamus-hipofiz birimi oluşur [8]. Söz konusu göç çift taraflı olup, hipotalamusun köken aldığı bölge olan ventral diensefalon uzantısının Rathke kesesine uzanan kısmı hipofizin stalk kısmını da oluşturacaktır.

Hipofiz bezinin organogenez süreci birçok genin ekspresyonu ve ilgili transkripsiyon faktörlerinin kontrolü altında ilerler [9]. Hipofizer ortak kök hücrelerden farklı hormonlar salgılayan hipofiz hücre çeşitlerinin geliştiği bu karmaşık kaskad, genetik faktörlerin sıkı kontrolü altındadır.

Hipofiz bezinin organogenezinde ilk basamak, *bone morphogenetic protein-4 (BMP4)* ve *thyroid transcription factor-1 (TTF1)* adlı transkripsiyon faktörlerinin ventral diensefalonda ekspresyonlarınınun artışı ile oral ektoderimde Rathke

kesesinin oluşumunun uyarılmasıdır [10]. Rathke kesesindeki ilk hücrel farklılaşmalar *fibroblast growth factor-8 (FGF8)* ve *-10, wntless-type MMTV integration site family, member 5A (WNT5A)* transkripsiyon faktörleriyle *Glioma-Associated Oncogene Homolog-1 (GLI1)* ve *-2, LIM homeobox-3 (LHX3), paired-like homeodomain-1 (PITX1)* ve *-2* adlı genlerin ekspresyonunun uyarılması sonucu başlar. Daha sonra *HESX homeobox-1 (HESX1)*, *ISL LIM homeobox-1 (ISL1)*, *PAX6*, *SIX homeobox-3 (SIX3)* ve *-6* genlerinin ekspresyonları ile Rathke kesesindeki hücre çoğalması ve farklılaşması ilerler. Son safhalarda ise *POU class 1 homeobox-1 (POU1F1)* ve *prophet of PIT-1 (PROP1)* genleri somatotrof, laktotrof ve tirotof hücrelerin oluşmasında görev alırlar. Diğer taraftan, *GATA binding protein-2 (GATA2)* geninin ekspresyonu ve *steroidogenic factor-1 (SF1)*'in aktivasyonu ile gonadotrof ve tirotof hücreler daha fazla farklılaşırlar. Son olarak *TBX19 (T-box-19)* gen ekspresyonunun artışı ise kortikotrof hücrelerin farklılaşması düzenlenir [10, 11].

### **2.3. SHEEHAN SENDROMU'NUN TARİHÇESİ:**

Ön hipofizin postpartum nekrozuyla ilgili ilk yayın, Glinsky tarafından 1913'te yayımlanmıştır [12]. Yayında doğum sırasında aşırı kanaması olan ve doğumdan 9 gün sonra lohasalık humması nedeniyle ölmüş bir kadın bildirilmiştir. Bu kadının otopsisinde hipofiz bezi nekrozu tespit edilmişse de bu nekroz enfeksiyon ile ilişkilendirilmiştir. Bu rapordan bir yıl sonra 1914'te Simmonds da benzer bir şekilde doğum sonrası sepsis geçiren ve yıllar sonra vefat eden bir hasta bildirmiştir [13]. Bu kadının da otopsisinde hipofiz nekrozu bulunmuştur. Simmonds, çok yaygınca okunan bir dergideki yazısında hipofiz bezindeki sözkonusu tahribatın enfeksiyon veya tromboza bağlı olabileceğini varsaymış ve hastalığı 'Simmonds Hastalığı' olarak isimlendirmiştir.

1937'de İngiltere'de çalışan bir patolog olan Harold Leeming Sheehan (1900-1988), gebeliğin geç döneminde, doğumda veya lohasalık döneminde ölmüş kadınların otopsilerindeki hipofiz bulgularıyla ilgili bir seri çalışma yayınlamaya başlamıştır [1]. Sheehan, ilk çalışmasında bu kadınların ön hipofizlerinde yaygın hasar olduğunu gözlemlemiş ve sözkonusu kadınların ortak klinik özelliklerinin sepsisten çok hemorajik şok olduğunu belirtmiştir. Sonraki yazılarda bu hastalıkta histolojik olarak son safha olan hipofiz bezinde hem fibrozis ve hem de sağlam doku

alanlarının bir arada bulunduğu safhanın diğer hipofiz yetmezliği nedenlerinden ayırıcı tanıda kullanılabileceğini bildirmiştir. Ayrıca, hipofiz bezindeki nekrozun hipofiz arterlerinde spazm veya tromboz sonucu geliştiği, bir emboli sonucu oluşmadığı da eklemiştir. Sheehan'ın söz konusu yayın serisinden sonra ön hipofizin peripartum aşırı kanamaya bağlı iskemik nekrozu sonucunda gelişen hipofiz yetmezliği, kendisi pek kabul etmese de 'Sheehan Sendromu' olarak adlandırılmaya başlanmıştır [14].

Sheehan, sendromu ileri hormonal incelemeler kullanılmadan yıllar önce yalnız otopsi bulgularıyla ilk olarak tanımlayan bilim insanıdır. İncelemelerinde vakaların yarısında hipofizer nekrozun bezin bütününe tutmadığını ve bezin çoğunluğunda nekroz görülen vakalarda panhipopituitarizmin var olduğunu öne sürmüştür [15]. Sheehan'ın konuyla ilgili başka birçok çalışması daha olsa da oldukça mütevazî bir bilim insanı olduğundan yazılarında 'Sheehan sendromu' ifadesini hiçbir zaman kullanmamış; daha çok 'Simmonds Hastalığı' veya 'postpartum pitüiter nekroz' terimlerini tercih etmiştir [7].

#### **2.4. SHEEHAN SENDROMU'NUN EPİDEMİYOLOJİSİ:**

Tanı konulmamış birçok hasta olduğundan sendromun prevalansı kesin olarak bilinmemekle beraber, sendromun ismiyle anıldığı kişi olan Harold Leeming Sheehan tarafından 1965'te 100,000'de 100-200 olarak tahmin edilmiştir [16]. Günümüzde modern sağlık sistemleri sayesinde, uygun tedavisi yapılmamış aşırı peripartum kanama sıklığı azalmışsa da evde doğum oranlarının yüksek olduğu gelişmekte olan ve geri kalmış ülkelerde SS'nun insidensi hala yüksektir. Hindistan'da 2005'te Zargar ve ark. yaptıkları geniş retrospektif bir çalışmada sendromun sıklığını 20 yaşından büyük kadınlarda %3.1 olarak bulmuş ve kadınların üçte ikisinin evde doğum yaptıklarını tespit etmişlerdir [17]. Nijerya'da 1992'de tek bir hastanede yapılan başka bir çalışmada her sene ortalama 2 yeni hastanın SS tanısı aldığı belirlenmiştir [18].

Gelişmiş ülkelerde yapılan prevalans çalışmalarında SS gelişmemiş ülkelere göre çok daha az sıklıkta ise de, yine de tamamen yok olmamıştır. İzlanda'da 2009'da yapılan bir araştırmada sendromun prevalansı 100.000'de 5.1 olarak

bulunmuştur [19]. Başka bir çalışmada gelişmiş ülkelerde yaşayan 1034 GH eksikliği olan hastanın %3.1'inde etiyolojinin SS olduğu tespit edilmiştir [20]. Görüldüğü gibi SS'nun sıklığı gelişmiş ülkelerde gelişmemiş ve gelişmekte olan ülkelere çok daha azdır. SS'nun gelişmiş ülkelerde çok nadir görülmesi muhtemelen bu ülkelerdeki doktorların SS ile ilgili eğitimlerinin zayıf kalmasına neden olmaktadır. Bu görüşü destekler şekilde Ramiandrasoa ve ark.'nın 2013'te yayınladıkları çalışmalarında Fransa'da 39 SS'lu hasta araştırılmış ve tanıdaki ortalama gecikme süresi dokuz yıl olarak tespit edilmiştir [21]. Başka bir deyişle SS'lu hastalarda son doğum yaşı ile tanı yaşı arasında ortalama dokuz yıl olduğu saptanmıştır.

Ülkemizde SS'unun prevalansı ile ilgili bir çalışma yapılmamışsa da, özellikle evde doğum oranının yüksek olduğu kırsal bölgelerde prevalansın yüksek olduğu tahmin edilmektedir. Tanrıverdi ve ark.'nın Türkiye genelinde yaptıkları yeni bir çalışmada hipofizer hormon eksikliği ile izlenen 773 hasta etiyolojik nedenleri açısından araştırılınca %13.8 hastada SS bulunmuştur [22]. Sözkonusu çalışmadaki kadın hastalar ayrı bir şekilde değerlendirildiğinde ise 388 kadın hastanın 107'sinde, yani %27.6'sında etiyolojik nedeninin SS olduğu sonucu çıkmaktadır.

## **2.5. SHEEHAN SENDROMU'NUN ETİYOPATOGENEZİ:**

SS'lu hastalarda genelde diabetes insipidus semptomları görülmemekte ve esas hormonal bozukluk nöropofizden çok adenohipofiz fonksiyonlarında görülmektedir [23]. Bu durum hipofizer infarktüsün superior hipofizyal arterde olduğuna işaret etmektedir [2]. Problemin inferior hipofizyal arterden çok superior hipofizyal arter ile ilgili olması, akla gebelikte infindibulumda bir arteriyel basıyı ve konjenital varyasyon veya yapısal bozuklukları getirmektedir.

Diğer taraftan hipofizin kan akımındaki herhangi bir bozukluk veya kan akım hızındaki ufak bir azalma da infarküs yapabilir, çünkü hipofiz bezinde özel bir damar yapısı bulunur ve kan akımı çok hızlıdır [24, 25]. Nitrik oksit ile hipofizde özellikle hormon salgılamakta olan bölgelerde vazodilatasyon geliştiği gösterilmiştir [25]. Doğumdaki aşırı kanama hipofizdeki bu özel kan akımını bozabilir veya yavaşlatabilir. Sonuçta bu tür durumlar, hipofiz arterlerinde vazospazm ile veya vazospazm olmadan hipofizin kan akımında bir kesintiye ve infarktüse yol açabilir.

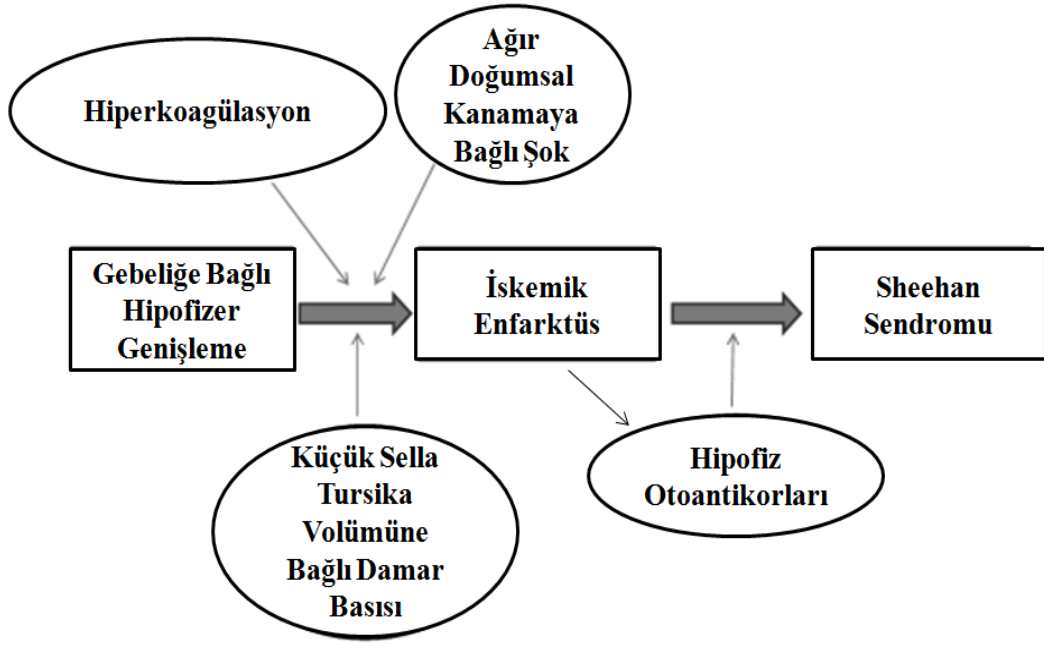
Dahası eğer altta yatan bir trombotik tıkanıklık varsa infarktüs gelişmesi daha da kolaylaşabilir.

Gebelik dışı zamanlarda gelişen aşırı kanamaların hipofiz yetmezliğine yol açmaması, SS'unun gelişmesinde hipofiz bezinin gebelik sırasındaki laktotrof hücre hiperplazisinin şart olduğunu göstermektedir. Gebeliğin sonlarına doğru hipofiz bezi, gebelik dışı döneme göre hacmen %20-36 kadar genişlemektedir [5, 26]. Bu fizyolojik büyümenin hipofiz bezini yapısal olarak iskemik nekroza hassas hale getirdiği de öne sürülmüştür [27]. Ayrıca, hipofizdeki söz konusu genişleme, sella içi basıncı attırarak bezin kan akımında bozukluk ile de bezi hipotansiyona bağlı iskemiye duyarlı hale getiriyor olabilir [7].

SS'unun etiopatogenezinde başka bazı faktörler de etkili görünmektedir. Bunlardan biri hastaların sella tursika volümünün küçük olmasıdır. Sağlıklı kadınlarla SS'lu kadınlar sella tursika volümleri açısından karşılaştırılınca, SS'lu kadınların ortalama sella volümleri daha küçük bulunmuştur [28, 29]. Diğer bir faktör de hipofiz bezine karşı gelişmiş otoimmünitedir. SS'lu kadınların %63'ünde postpartum kanamadan yıllar sonra anti-hipofizer antikolar tespit edilmiştir [4]. Bu otoimmünitenin nedeninin hipofizer iskemik nekroz sırasında periferik kana sızan hipofiz bezi antijenleri olduğu düşünülmüştür [30]. Anti-hipofizer antikolar, iskemik nekrozdaki sağlam kalmış hipofiz hücrelerinde tahribata ve böylece sendromun ilerleyici bir hipofizer hormon eksikliği geliştirmesine neden olabilirler [4].

Diğer taraftan doğumda aşırı kanaması olan bütün gebelerde SS gelişmemektedir. Ayrıca bazı hastalarda aşırı bir doğumsal kanama olmadan SS geliştiği gösterilmiştir [27, 31]. Bütün bu bilgiler birlikte değerlendirilince, SS'unun etiopatogenezinde birden çok faktör etkili gibi görünmektedir (Şekil-2). Ayrıca sözkonusu faktörlerin farklı hastalarda farklı derecelerde rol oynadığı da düşünülebilir.





**Şekil-2:** Sheehan sendromunun etiyopatogenezi

## 2.6. SHEEHAN SENDROMU'NUN KLİNİK BULGULARI:

SS'lu hastaların klinik bulguları oldukça fazla çeşitlilik gösterebilmektedir. Postpartum akut hipotansif şok ve koma şeklinde başlayabileceği gibi, son doğumdan yıllar sonra parsiyel hipofiz yetmezliği şeklinde de tespit edilebilir. Postpartum hipotansiyon, hiponatremi ve/veya hipoglisemisi olan kadın hastalarda SS'unun mutlaka ayırıcı tanıda düşünülmesi gerekir. Çünkü bu durumlarda glukokortikoid tedavinin geciktirilmesi hastanın hayatını tehlikeye sokacaktır.

SS'unun ağır seyretmediği kronik vakaların anamnezinde postpartum adet ve emzirmenin olmaması tanıda önemli bir bulgu olabilir. Bu hastalarda parsiyel hipofiz yetmezliği sık görülen bir bulgu olmakla birlikte, eksik hormonlar hastadan hastaya değişkenlik gösterebilir. Türkiye'den Sert ve ark. yayınladıkları 28 hastalık çalışmada hastaların hepsinde TSH, ACTH, FSH-LH ve GH eksikliği saptanmış, 2 hastada ise prolaktin eksikliğinin olmadığı bildirilmiştir [32]. Dökmetaş ve ark. ise 20 hastalık çalışmada bütün hastalarda GH, FSH-LH ve prolaktin eksikliği, %90 hastada TSH eksikliği ve %55 hastada sekonder adrenal yetmezlik bulmuşlardır [33]. Fransa'dan Ramiandrasoa ve arkadaşları ise 39 hastalık çalışmalarında hiçbir hipofiz hormonunun eksikliğini %100 olarak tespit etmemişlerdir [21].

Aslında Sheehan daha 1961'de hipofiz adenomlarındaki panhipopituitarizmin aksine postpartum pitüiter nekrozda bazı hipofiz hormonlarının sağlam kalabileceğini belirtmiştir. Sheehan, bu görüşünü otopsisini yaptığı kadınların dosyalarındaki özgeçmişlerinde bulunan aşırı kanamalı doğumdan sonra uzun yıllar adet görme ve hatta gebe kalma yönündeki bilgilere dayandırmıştır. Bu noktadan hareketle izole ve/veya parsiyel hormon yetmezlikli ancak hastalık hafif seyrettiği için tanı almamış birçok SS'lu hastanın olduğu varsayılabilir. Bu hasta grubunda en tehlikeli olan grup parsiyel adrenal yetmezlikli olanlardır, çünkü bu hastalar ağır enfeksiyon veya cerrahi müdahale gibi durumlarda ağır adrenal yetmezlik bulguları gösterebilirler. Ancak daha önce tanı almadıkları için teşhis ve tedavileri gecikebilir. Bu bağlamda Dökmetaş ve ark.'nın Sivas'ta yaptıkları çalışmada 28 SS'lu hastada ortalama tanı gecikme süresi yaklaşık 27 yıl olarak bulunmuştur [33].

SS'lu hastaların hipofiz görüntüleme yöntemlerinde bezde komplet empty sella görülebileceği gibi parsiyel empty sella da görülebilir. Empty sella her ne kadar SS tanısı için zorunlu olsa da hastalığın akut döneminde tam tersi bir şekilde gebeliğin etkisiyle hipofiz bezinin boyutlarında genişleme bildirilmiştir [34]. Diğer taraftan SS'unun empty sella sendromunun nadir bir nedeni olduğunun da unutulmaması gerekir [35].

## **2.7. SHEEHAN SENDROMU'NUN TEDAVİSİ:**

SS'unun tedavisinde özellikle ağır hastalarda glukokortikoid tedavinin hemen başlanması çok önemlidir. Şüpheli adrenal yetmezlikli hastalarda sonradan kortizol ve ACTH düzeylerinin çalışılması için kan alındıktan sonra vakit kaybedilmeden steroid tedavisi başlanmalıdır.

SS tedavisini karmaşıklaştıran önemli bir husus, birden çok hormonun replasman tedavisinin gerekli olabilmesidir. Ancak en acil ve hayati olan replasmanlar tabii ki, glukokortikoid ve tiroid hormon replasmanlarıdır ve bu iki replasmanın da gerekli olduğu hastalarda adrenal yetmezlik gelişmemesi için ilk başlanması gereken glukokortikoid replasmanıdır. Uzun vadeli faydalar göz önünde bulundurulunca gonadal steroid ve GH replasman tedavilerinin de eksiklikleri

netleştirildikten sonra hastanın yaşına ve klinik bulgulara göre başlanması gerekir. Günümüzde prolaktin eksikliğinin replasman tedavisi bulunmamaktadır.

Gonadal steroidler özellikle premenopozal kadınlarda cinsel fonksiyonlar, osteoporozun önlenmesi ve yaşam kalitesinin artması için başlanmalıdır. Kolay olmasa da sekonder hipogonadizmi olan SS'lu hastalarda ovlayon indüksiyonu ile tekrar gebelik de başarılabilir [36]. Diğer taraftan GH eksikliği de hafıza sorunlarına, bilişsel sorunlara ve kardiyovasküler mortalitede artışla yakından ilişkili olan metabolik sendroma neden olduğundan tedavi edilmelidir. Ancak yan etkiler ve yüksek tedavi maliyeti gibi dezavantajlar nedeniyle GH replasmanının başlanacağı hastaların çok iyi değerlendirilmesi gerekir [37].

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

#### 3.1. ÇALIŞMANIN TASARIMI VE HASTALAR:

Haziran 2011 ve Kasım 2013 tarihleri arasında yapılmış olan bu çalışmaya 52 SS'lu hasta ile 43 sağlıklı kadın alındı. Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi (ERÜTF), Endokrinoloji Bilim Dalı tarafından takip ve tedavileri yapılan 52 SS tanılı hasta SS grubunu oluşturdu; kontrol grubu ise hastane personeli ve akrabaları arasından seçildi. Çalışma öncesi 'ERÜTF Etik Kurulu'nun onayı (Karar No: 128) ve katılımcıların hepsinden yazılı 'gönüllü olur onayı' alındı. Çalışmanın ekonomik maliyeti ise 'Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Birimi' tarafından karşılandı (Proje No: 3969).

Çalışmaya alınan bireylerin demografik verilerine ek olarak özgeçmişleri ve ilaç kullanım durumları da dikkatli bir şekilde sorgulandı. SS grubunda en önemli dahil etme kriteri tanının kesin olmasıydı. Bu nedenle tanı için şu kriterlerinin hepsinin bir arada olmasına dikkat edildi:

- a-) En az bir ön hipofiz hormon eksikliğinin bazal düzey ve gerekiyorsa dinamik testlerle gösterilmiş olması
- b-) Son doğumda aşırı kanama hikâyesinin olması
- c-) Son doğumdan sonra emzirme ve adetlerin kesilmiş olması
- d-) Diğer hipofiz yetmezliği nedenlerinin dışlanmış olması

e-) Parsiyel veya komplet empty sella görünümünü belirten Hipofiz BT veya MR raporu.

SS'lu hastaları dışlama kriterleri ise hastalarda herhangi bir ek hastalık olması veya glukokortikoid ve tiroid hormon replasmanları dışında herhangi bir ilaç kullanımı olarak belirlendi. Benzer bir şekilde kontrol grubu oluşturulurken de herhangi bir hastalık özgeçmiş veya ilaç kullanımı olanlar çalışmaya alınmadılar. Bu amaçla bütün katılımcıların anamnez, fizik muayene ve geçmiş hastane kayıtları da incelendi.

Hastaların hipofizer hormon eksiklikleri incelenirken genelde teşhis için bazal hormon değerlerinin kullanılmıştı; sınırda veya şüpheli hormonal değerleri olan hastalarda ise dinamik testlerden yararlanılmıştı. Gonadotropin eksikliği için bazal estradiol seviyeleri düşük iken FSH ve LH seviyelerinin de düşük olması kriter alınmıştı. LHRH stimülasyon testinin yapılmasına hiçbir hastada gerek duyulmamıştı. GH eksikliğinin teşhisi için hem IGF-1 değerinin normal alt sınırdan düşük olması hem de İTT'de (İnsülin tolerans testi) veya İTT kontrendike ise glukagon stimülasyon testinde (GST) yeterli GH cevabının olmaması şart koşulmuştu. İTT'de ve GST'de en yüksek GH cevabının 3,0 µg/L'nin altında olduğu vakalarda GH eksikliği teşhisi koyulmuştu [38]. ACTH eksikliği için ACTH değerleri normal veya düşük iken bazal kortizol değerinin <3.0 µg/dL'nin altında olması veya 1 mcg ACTH stimülasyon testinde en yüksek kortizol cevabının 18 µg/dL'nin altında olması şart koşulmuştu [39]. TSH eksikliği tanısı için sT3 ve sT4 düzeyleri normal referansın altında iken TSH düzeyinin normal veya normalin altında olması şartı aranmıştı. Bazal prolaktin değerleri referans aralığının altında olan hastalara prolaktin eksikliği tanısı koyulmuştu. TSH ve prolaktin eksikliği için hiçbir hastaya TRH stimülasyon testi yapılmamıştı. ADH eksikliğinin teşhisi için polidipsi ve poliürisi (>3lt) olan hastalarda serum ve sabah ilk idrarın osmolaliteleri ölçülmüştü.

Hastaların hormon seviyeleri ERÜTF Biyokimya-Hormon laboratuvarında çalışıldı. Bazal hormon seviyelerinin normal referans aralıkları ve birimleri sT3 (2.3-4.2 pg/ml); serbest T4: 0.88-1.72 ng/dL; TSH: 0.57-5.6 mIU/mL; ACTH: 0-46 pg/mL; kortizol: 9-23 µg/dL; prolaktin: 2.4-29.8 ng/mL (postmenapozal), 3.3-29.8 ng/mL (premenapozal); FSH: 23.9-119.1 mIU/ml (postmenapozal), 2.0-9.8 mIU/ml

(premenapozal); LH: 16.3-54.8 mIU/ml (postmenapozal), 0.7-17.3 mIU/ml (premenapozal); estradiol: 14.4-44.5 pg/ml (postmenapozal), 18.9-246.7 pg/ml (premenapozal) ve IGF-1: 140-405 ng/mL (31-40 yaş), 64-336 ng/mL (41-50 yaş), 71-284 ng/mL (51-60 yaş), 94-269 ng/mL (61-70 yaş), 72-167 ng/mL (71-80 yaş) şeklindeydi. Hormonların çalışıldığı yöntemler, ticari kitler ve intra ve inter-assay varyasyon katsayıları ise şöyleydi: ACTH (IRMA, Cisbio Bioassays, codolet, Fransa, % 6.1, % 5.3), kortizol (RIA, Immunotech s.r.o-Çek Cum., % 5.8, % 9.2), PRL (Immunoassay, Siemens Advia centaur XP, ABD, % 2.6, % 4.0), TSH (Immunoassay, Siemens Advia centaur XP, ABD, % 2.4, % 5.3), sT4 (Immunoassay, Siemens Advia centaur XP, ABD, %3.33, %2.50), sT3 (Immunoassay, Siemens Advia centaur XP, ABD, % 3.0, % 4.0), Estradiol (Immunoassay, Siemens Advia centaur XP, ABD, %11.1, %2.0), FSH (Immunoassay, Siemens Advia centaur XP, ABD, % 2.9, % 2.7), LH (Immunoassay, Siemens Advia centaur X, ABD, % 2.3, % 1.5), IGF-1 (IRMA, Immunotech sas, Fransa, % 6.3 ve % 6.8), GH (IRMA, Immunotech sas, Fransa, % 1.5, % 14).

### 3.2. GENETİK ANALİZ:

Genetik analizin ilk aşamasında, çalışmaya dâhil edilen katılımcıların EDTA'lı tüplere 10 ml venöz kan örnekleri alındı ve ERÜTF Tıbbi Genetik Anabilim Dalı'nda aynı gün içinde bu örneklerden standart metotlarla lökosit izolasyonu yapıldı. Lökosit izolasyonunun ardından örnekler, ekspresyon çalışması yapılana kadar -20°C'de saklandı. Daha sonra Erciyes Üniversitesi Genom ve Kök Hücre Merkezi'nde (GENKÖK) gen ekspresyon çalışmalarına başlandı. Bilindiği gibi gen ekspresyon ölçümü için çoğunlukla Real Time PCR (polimeraz zincir reaksiyonu) yöntemi kullanılmakta ve böylelikle reaksiyonun her basamağı takip edilebilmektedir [40]. Çalışmamızda SS'lu hastalarda ve sağlıklı kadınlarda *DLX2*, *DLX5*, *MSX2*, *PAX3*, *ACE*, *PLAT*, *SERPINE1*, *FV*, *MTHFR*, *FVII*, *FVIII* ve *FIX* genlerinin ekspresyonu araştırıldı. Bunun için ilk önce TriZol yardımıyla lökositlerden RNA izolasyonu yapıldı (Roche). Örneklerin kalitesi ve miktarı Nanodrop spektrometre yardımıyla ölçüldü. Ekspresyon çalışması için Biomark HD Fluidigm cihazı kullanıldı. RNA izolasyonunun ardından tüm örneklerde cDNA sentez kiti kullanılarak cDNA sentezi yapıldı. Hazırlanan cDNA örnekleri 96'lık plate üzerinde

preamplifikasyon karışımı ile çoğaltıldı. Çoğaltılan cDNA'lar 1:5 oranında dilüe edildi ve yeni bir 96'lık plate üzerine konuldu. Ekspresyon için hazırlanan karışım cDNA'lar üzerinde eklendi ve Dinamik Array çipine yüklendi. Genetik analizin bütün aşamaları firmanın önerdiği protokollere uygun olarak yapıldı. Daha sonra çip Biomark HD Fluidigm cihazına alınarak Real Time PCR ile gen ekspresyon çalışması tamamlandı.

### **3.3. İSTATİSTİKSEL ANALİZ:**

Hastaların demografik verileri istatistiksel olarak analiz edilirken SPSS 15.0 (SPSS Inc, Chicago, ABD) bilgisayar programı kullanıldı ve veriler ortalama  $\pm$  standart sapma şeklinde verildi. Real Time PCR cihazından elde edilen veriler ise ilkin, 'Qiagen RT2 Profiler PCR Array Data Analysis Portal Version-3.5' programı (<http://pcrdataanalysis.sabiosciences.com/pcr/arrayanalysis.phpt>) ile analiz edildi [41, 42]. Sözkonusu bilgisayar programından veriler,  $2^{-\Delta\Delta CT}$  metodu ile karşılaştırmalı ve ortalama değerler olarak elde edildi. Daha sonra kontrol grubu ile SS grubunda ilgili genlerin ortalama ekspresyonları karşılaştırılırken 'student's t-test' (SPSS) kullanıldı. İstatistiksel olarak  $p < 0,05$  olan değerler anlamlı olarak değerlendirildi.

## 4. BULGULAR:

Çalışmaya alınan 52 SS'lu hasta ile kontrol grubundaki 43 kadının yaş ortalamaları sırasıyla  $63.2 \pm 12.5$  ve  $60.3 \pm 9.3$  yıl olarak bulundu. Yaş ortalamaları açısından iki grup arasında anlamlı bir farklılık tespit edilmedi ( $p: 0,27$ ).

SS'lu hastaların tanı anındaki hormon profilleri değerlendirildiğinde ise bütün hastalarda GH ve FSH-LH eksikliklerinin olduğu belirlendi. Diğer taraftan 48 (%92.3) hastada TSH eksikliği, 44 (%84.6) hastada prolaktin eksikliği ve 42 (%80.8) hastada ACTH eksikliği tespit edildi. Sonuç olarak hastaların %71.2'sinde (37 hasta) panhipopituitarizm ve %29.8'inde (15 hasta) ise parsiyel hipofiz yetmezliği tespit edildi. Eksik ön hipofiz bezi hormonlarının dağılımı Tablo-1'de gösterildi. Buna göre hastaların %7.7'sinde (4 hasta) FSH-LH + GH + TSH + PRL eksikliği, %3.8'inde (2 hasta) FSH-LH + GH + ACTH + PRL eksikliği, %5.8'inde (3 hasta) FSH-LH + GH + ACTH + TSH eksikliği, %1.9'unda (1 hasta) FSH-LH + GH + PRL eksikliği, %7.7'sinde (4 hasta) FSH-LH + GH + TSH eksikliği ve %1.9'unda (1 hasta) FSH-LH + GH eksikliği tespit edildi.

Polidipsi ve poliürisi olan 3 hastada santral diabetes insipitus ön tanısıyla serum osmolalitesi ve sabah ilk idrarın osmolalitesi ölçülmüştü. Bu üç hastanın üçünde de idrar osmolaliteyi, serum osmolalitesinin iki katından daha yüksek olduğundan susuzluk testinin yapılmasına gerek duyulmamıştı. Sonuç olarak klinik olarak aşikâr santral diabetes insipitus hiçbir hastada saptanmamıştı.



**Tablo-1:** SS'lu hastalarda eksik olan ön hipofiz bezi hormonları

Eksik hormonlar	Hasta sayıları	Hasta yüzdeleri
Bütün hormonlar	37	%71.2
FSH-LH + GH + TSH + PRL	4	%7.7
FSH-LH + GH + ACTH + PRL	2	%3.8
FSH-LH + GH + ACTH + TSH	3	%5.8
FSH-LH + GH + PRL	1	%1.9
FSH-LH + GH + TSH	4	%7.7
FSH-LH + GH	1	%1.9
<b>Toplam</b>	52	100%

SS'lu hastaların hepsinin anamnezinde son doğumlarında aşırı kanama ve sonrasında amenore ve agalaktia mevcuttu. Diğer taraftan 3 hastanın Hipofiz BT'si ve 49 hastanın Hipofiz MR raporları da incelendi. Bütün hastalar birlikte değerlendirilince 8 (%15.4) hastada parsiyel empty sella, 44 (%84.6) hastada ise komplet empty sella tespit edildi.

Trombofiliye yol açabilen *ACE*, *SERPINE1 (PAI1)*, *PLAT*, *FV*, *MTHFR*, *FVII*, *FVIII* ve *FIX* genlerinin ortalama ekspresyon düzeyleri açısından iki grup karşılaştırıldığında *ACE* ve *Faktör-5* genlerinin ekspresyonlarında iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edildi (Tablo-1). *ACE* geninin ortalama ekspresyonu SS grubunda yaklaşık 2 kat daha düşük düzeyde iken, Faktör 5 geninin ekspresyonu ise yaklaşık 15 kat daha yüksek düzeyde bulundu. *SERPINE1 (PAI1)*, *PLAT*, *MTHFR*, *FVII*, *FVIII* ve *FIX* genlerinin ortalama ekspresyonları karşılaştırıldığında ise iki grup arasında anlamlı farklılık tespit edilmedi.

**Tablo-2:** Trombofili ile ilgili olan genlerin ortalama ekspresyonlarının karşılaştırılması

GEN ADI	KONTROL GRUBUNDA GEN KOPYA SAYISI (2- $\Delta\Delta$ CT)	HASTA GRUBUNDA GEN KOPYA SAYISI (2- $\Delta\Delta$ CT)	P DEĞERİ
<i>ACE</i>	1.675596	0.78424	<b>0.024</b>
<i>SERPINE1</i>	0.000048	0.000121	0.10
<i>PLAT</i>	0.000025	0.000121	0.10
<i>FAKTÖR V</i>	0.007652	0.113232	<b>0.004</b>
<i>MTHFR</i>	0.000192	0.002587	0.094
<i>FVII</i>	0.000029	0.000131	0.10
<i>FVIII</i>	0.000047	0.000242	0.10
<i>FIX</i>	0.000032	0.000142	0.10

Diğer taraftan SS grubu ile sağlıklı kontrol grubu kranial kemiklerin gelişimi ile ilgili olan *DLX2*, *DLX5*, *MSX2* ve *PAX3* genlerinin ortalama ekspresyon düzeyleri açısından karşılaştırılınca, iki grup arasında hiçbir genin ortalama ekspresyonunda istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edilmedi (Tablo-3). Kontrol grubunda *DLX2* geninin ortalama ekspresyon seviyesi 0.000034 (2- $\Delta\Delta$ CT) iken, SS grubunda ortalama ekspresyon seviyesi 0.000122 (2- $\Delta\Delta$ CT) olarak tespit edildi. *DLX5* geninin ekspresyonu kontrol grubunda 0.000022 (2- $\Delta\Delta$ CT) ve SS grubunda ortalama 0.000121 (2- $\Delta\Delta$ CT) olarak bulundu. Kontrol grubunda *MSX2* geninin ortalama ekspresyon seviyesi 0.029836 (2- $\Delta\Delta$ CT) ve SS grubunda ortalama ekspresyon seviyesi 0.022249 (2-

$\Delta\Delta CT$ ) bulundu. Son olarak *PAX3* geninin ortalama ekspresyonu kontrol ve SS gruplarında sırasıyla 0.000024 ve 0.00014 ( $2^{-\Delta\Delta CT}$ ) olarak tespit edildi.

**Tablo-3:** Kraniyal kemiklerin gelişimi ile ilgili olan genlerin ekspresyonlarının karşılaştırılması

GEN ADI	KONTROL GRUBUNDA GEN KOPYA SAYISI ( $2^{-\Delta\Delta CT}$ )	HASTA GRUBUNDA GEN KOPYA SAYISI ( $2^{-\Delta\Delta CT}$ )	P DEĞERİ
<i>DLX2</i>	0.000034	0.000122	0.10
<i>DLX5</i>	0.000022	0.000121	0.10
<i>MSX2</i>	0.029836	0.022249	0.31
<i>PAX3</i>	0.000024	0.00014	0.10

## 5. TARTIŞMA

Gen ekspresyonu, genlerden fonksiyonel protein yapılarının oluşması süreci için kullanılan bir terimdir. Basitçe, bu durum genlerin açık yani aktif olup olmadıkları olarak da tanımlanabilir. Gen ekspresyonu çeşitli genetik ve çevresel faktörlerden etkilenir [40]. Başka bir deyişle bir genin ekspresyonundaki anormal artma veya azalmaların nedeni başka genlerin ekspresyonları, genetik mutasyonlar veya çevresel etkiler (epigenetik) olabilir [43]. Bu bağlamda çalışmamızda araştırılan genlerin ekspresyonlarının hastaların ilgili son doğumlarında değil de, son doğumlarından yıllar sonra değerlendirilmiş olması bir eksiklik olarak görülebilir. Ancak bugün için SS'nun hangi kadınlarda gelişebileceğini öngörmemizi sağlayacak herhangi bir parametre olmadığından bu tür prospektif bir çalışmanın yapılması zor görünmektedir. Ayrıca SS'nda çalışmamızın hipotezinin de ifade ettiği gibi son doğumdan yıllar sonra hala devam eden genetik bazı faktörlerin rolleri gösterilecek olursa, sendroma genetik olarak yatkın kadınlar önceden tespit edilip gerekli tedbirler alınabilir ve belki de genetik tedavi uygulanabilir.

Virchow triadı olarak bilinen damar duvarı hasarı, kan akımı bozukluğu ve hiperkoagülasyona neden olan kan kompozisyonu anormallikleri, hem arteriyel hem de venöz tromboza yol açan üç ana mekanizmadır [44]. SS'ndaki temel patogenezi hipofiz bezinin iskemik nekrozu olduğundan etiyolojik faktörleri araştırırken Virchow triadının göz önünde bulundurulması gerekir. Aslında SS'unun etiyopatogenezinde daha önce öne sürülmüş olan arteriyel trombüs, arteriyel

vazospazm ve gebelikte genişlemiş olan hipofizin damarsal yapılara basısı şeklindeki mekanizmalar da bu triadtaki komponentlerle açıklanabilir. Örneğin arteriyel trombüs oluşumu damar duvarı hasarı ve kalıtsal ve/veya edinsel hiperkoagülasyon ile ilişkili olabilir. Arteriyel vazospazm ve hipofiz arter veya arterlerine bası ise kan akımı bozukluğu ile ilişkilidir.

Henüz kesin bir sonuca varılamamış bir konu olan SS'unun etiopatogenezi hakkında çalışmamızda trombofilik kan kompozisyonu anormalliklerine yol açabilecek *ACE*, *PLAT*, *SERPINE1 (PAI1)*, *MTHFR*, *FV*, *FVII*, *FVIII* ve *FIX* genlerinin ekspresyonları araştırıldı. Her ne kadar *ACE* ve *FV* genlerinin ekspresyonlarında sağlıklı kadınlara göre anlamlı farklılık bulunduysa da, diğer genlerin ekspresyonlarında herhangi bir farklılık tespit edilemedi. Ancak bilindiği gibi hiperkoagülasyona neden olan başka birçok faktör daha bulunmaktadır (Tablo-4 ve -5). Diğer taraftan, nadir bir bozukluk olan gebelikteki DIC (disemine intravasküler koagülasyon) tablosu da postpartum hipofiz yetmezliğine neden olabilmektedir [45, 46]. Bu nedenle hiperkoagülasyon ile ilgili bütün parametrelere bakılmamış olması çalışmamızın diğer önemli bir sınırlamasıdır ve yalnız çalışmamızdaki genetik analizlerin sonuçlarına göre SS'da hiperkoagülasyonun rolü hakkında bütün yönleriyle kesin bir sonuca varmak mümkün değildir.

**Tablo-4:** Kalıtsal hiperkoagülasyonun en sık görülen nedenleri

#### **KALITSAL HİPERKOAGÜLASYON NEDENLERİ:**

- Aktive protein-C rezistansı (Faktör V Leiden)
- Protrombin düzeyi yüksekliği
- Hiperhomosisteinemi, MTHFR seviyesinde azalma
- Plazminojen aktivatör inhibitör-1 (PAI-1) seviyesinde artma
- Protein C eksikliği
- Protein S eksikliği
- Antitrombin-III eksikliği
- *Platelet GPIIb/IIIa HPA-Ib* mutasyonu
- Faktör VII, VIII, IX, XII, Von Willebrand veya fibrinojen düzeylerinde yükseklik

**Tablo-5:** Edinsel hiperkoagülasyonun en sık görülen nedenleri

**EDİNSEL HİPERKOAGÜLASYON NEDENLERİ:**

- Uzun süreli immobilizasyon
- Konjestif kalp yetmezliği, atriyal fibrilasyon, miyokardiyal infarktüs
- Anti-fosfolipit sendromu
- Trombosit aktivasyonunda artış: Hematolojik hastalıklar (miyeloproliferatif hastalıklar, paroksizmal nokturnal hemoglobinüri), nefrotik sendrom, kanserler, heparin ilişkili trombositopeni, trombotik trombositopenik purpura (TTP) ve dissemine intravasküler koagülasyon (DIC)
- Gebelik, oral kontraseptif kullanımı, Cushing sendromu
- Cerrahi, ağır yanıklar, kemik kırıkları, travma
- İleri yaş, obezite, sigara, hipertansiyon, diabetes mellitus, hiperlipidemi

Trombofili ile ilgili genetik risk faktörlerini taşıyan bireylerde ve yakın akrabalarında genelde 45 yaşından önce başlamış tekrarlayan tromboemboli hikayesi tipiktir [47]. İlginç olarak arterlerden çok venlerde görülen trombozlar, bazen serebral veya visseral venler gibi alışılmadık venlerde görülmektedir. Diğer taraftan, bilindiği gibi gebeliğin kendisi de edinsel prokoagülan bir durumdur ve kalıtsal trombofilisi olan gebelerde düşük ve diğer gebelikle ilgili komplikasyonların sıklığı artmaktadır [48, 49]. Bu yüzden, SS’da edinsel trombofilik bir faktör olan gebelik, altta yatan genetik bir faktörün hipofiz arter veya arterlerinde tromboz oluşturmaya yol açıyor olabilir. Diğer taraftan böyle bir mekanizma doğru ise SS’lu hastalarda sendrom gelişmeden önce düşük ve diğer gebelikle ilgili komplikasyonların sıklığının normal popülasyona göre artmış olması gerektiği varsayılabilir. Bu nedenle SS’da gebelik komplikasyonlarının sıklığının retrospektif çalışmalarla araştırılması sendromun etiyopatogenezi hakkındaki çalışmalara yön verebilir. Ancak tekrarlayan üçten fazla düşüklüğü olan 108 kadın ile 82 sağlıklı kadının herediter hiperkoagülasyon yönünden karşılaştırıldığı bir çalışmada iki grup arasında herhangi bir farklılık saptanamamıştır [50].

*MTHFR C677T* ve *A1298C* homozigot mutasyonlarının her birinin sosyal farklılıklar göstermekle birlikte ortalama %10, heterozigot mutasyonlarının ise yaklaşık %40 sıklıkta olduğu tahmin edilmektedir [51-53]. Birbiriyle yakın ilişkilerinden dolayı her iki genetik mutasyonu heterozigot olarak kombine bir şekilde taşıyanların oranı toplumda %15 olarak öne sürülmüştür [53]. Bu kadar yüksek sıklığa sahip olan bu polimorfizmlerin, özellikle de heterozigot olanların trombofiliye neden olup olmadığı, hatta yararlı bazı özelliklerinin olup olmadığı tartışmalı bir konudur. *MTHFR* gen polimorfizmlerinin tromboz riskinde artış ile ilgili olmadığını öne süren birçok çalışma bulunmaktadır [54-56]. *MTHFR C677T* ve *A1298C* mutasyonları, *MTHFR* geninin ekspresyonunda anormal azalmaya yol açan en önemli etkenlerdir. *MTHFR* geninin ekspresyonunda anormal azalmalar, *MTHFR* enziminin kan seviyelerinde ve dolayısıyla aktivitesinde azalmaya yol açar. Bu da endotel hasarı ile trombozu tetikleyen homosisteinin plazma seviyelerinde artışa yol açar [57]. Hiperhomosisteininin hem arteriyel hem de venöz tromboza yol açabildiği gösterilmiştir [58, 59]. Homosisteinin plazma yüksekliği vitamin B6, vitamin B12 ve/veya folat eksikliğinde de gelişebilir [60]. Çalışmamızda her ne kadar *MTHFR* geninin ekspresyonu kontrol grubundan daha yüksek olmasa da, asıl önemlisi yukarıda da belirtildiği gibi SS'lu hastalarda ilgili doğum esnasında vitamin B6, vitamin B12 ve/veya folat eksikliğinin olup olmadığı ve *MTHFR* geninin ekspresyon düzeyidir.

*FV-Leiden* heterozigot mutasyonunun sıklığı toplumlar arasında değişkenlik göstermekle birlikte %5 kadardır, homozigot mutasyon ise nadirdir [61]. *Faktör V (G1691A)* geninde gelişmiş olan mutasyon sonucu Faktör V molekülleri aktive protein-C tarafından inhibe edilemez. Bu da kanama ve pıhtılaşma arasındaki dengenin pıhtılaşma lehine bozulmasıyla sonuçlanır. Bu mutasyonun heterozigot olarak görüldüğü bireylerde tromboz riski yaklaşık 5 kat kadar artmış iken, homozigot olanlarda riskin 10-80 kat kadar arttığı bildirilmiştir [62, 63]. Ayrıca hem *Faktör-V Leiden* hem de *FII-G20210A* heterozigot mutasyonlarını birlikte taşıyanlarda venöz tromboemboli riskinin 20 kat arttığı tespit edilmiştir [64]. *Faktör-V Leiden'in* gebelerde düşük, preeklampsi ve plasenta dekolmanı gibi komplikasyonları en az 2-3 kat arttırdığı da göstermiştir [61]. Çalışmamızda da *Faktör V* geninin ekspresyonunda SS'lu hastalarda kontrol grubuna göre yaklaşık 15 kat artış bulunması, sendromun etiyopatogenezinde hiperkoagülasyona işaret etmesi

bakımından önemli bir bulgudur. Ancak *Faktör V* gen ekspresyonundaki artışın tek başına tromboza yol açıp açmayacağı bilinmemektedir. Bu belirsizliğin nedeni gen ekspresyonundaki artışın ilgili mRNA sentezindeki artışı göstermesi, ancak bu mRNA'dan Faktör V'in aşırı üretildiğini tam yansıtmamasıdır. Bu nedenle protein kodlayan genlerin ekspresyonlarındaki artış, ilgili proteinde büyük ihtimalle artmış üretimi gösterse de, kesin bir yargıda bulunmamak gerekir. Diğer taraftan yukarıda da değindiğimiz gibi homozigot *Faktör V* Leiden mutasyonlarında bile bütün hastalarda tromboz gelişmemesi, başka bazı genetik ve çevresel faktörlerin de bulunmasının gerekliliğine işaret etmektedir.

Plasminojen aktivatör inhibitör-1 (PAI-1) proteini normalde plazminojeni aktifleştiren ve dolayısıyla fibrinolizise yol açan proteinler olan doku plazminojen aktivatörü (tPA) ve ürokinazı inhibe eder. Sonuç fibrinolizisin inhibe olmasıdır. *SERPINE1 (PAI1)* genindeki homozigot mutasyon olan 4G/4G, yüksek tromboz riski ile ilişkilidir. Heterozigotta (4G/5G) iki gen allelinden biri defektli, diğeri normaldir ve 4G/4G'ye göre daha az risklidir. 5G/5G ise normal aktivite gösteren gen formudur. 4G/4G, 4G/5G ve 5G/5G genlerinin sıklıklarının sırasıyla %35, %50 ve %15 civarında olduğu tahmin edilmektedir [65, 66]. *SERPINE1 (PAI1)* 4G/4G ve 4G/5G mutasyonları PAI-1 seviyelerinde artışa ve venöz trombozdan çok arteriyel tromboz riskinin artmasına neden olur [67, 68]. Homozigot *SERPINE1 (PAI1)* 4G/4G mutasyonunu taşıyan gebelerde düşük riskinin artmış olduğu gösterilmiştir [69]. Ancak başka bazı çalışmalarda *SERPINE1 (PAI1)* 4G/5G polimorfizm sıklığının iskemik strok ve koroner arter hastalarında artmamış olduğu bildirilmiştir [70, 71].

Bilindiği gibi tPA proteini ise *PLAT* geninde kodlanmıştır. *PLAT* geninin mutasyon veya epigenetik bazı faktörler nedeniyle ekspresyonun azalması tPA seviyelerinde de azalma ve dengenin PAI-1 lehine değişmesiyle hiperkoagülasyona neden olacaktır [72, 73]. Ancak yaptığımız çalışmada *SERPINE1 (PAI1)* ve *PLAT* genlerinin ekspresyonunda kontrol grubu ile SS grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunamamıştır.

Anjiyotensin-konverting enziminin (ACE) iki ana fonksiyonu Anjiyotensin-I'i kuvvetli bir vazokonstriktör olan Anjiyotensin-II'ye çevirmek ve vazodilatör bir madde olan bradikinin seviyesini azalmaktır. Anjiyotensin-II, PAI-1 üretimini



arttırırken, bradikininler ise tPA'nın endotelden salınımını arttırırlar [74, 75]. Bu nedenle ACE aktivitesindeki artışın en önemli sonuçları vazokonstrüksiyon ve dolayısıyla hipertansiyon ile hiperkoagülasyon olacaktır [76]. Bu bağlamda ACE geninin ekspresyonunda artışa neden olan D/D ve I/D polimorfizmleri, artmış aterosklerotik kalp hastalıkları ve tekrarlayıcı düşük sıklığı ile ilişkili bulunmuştur [77-80]. Ancak aksi görüşte olan ve bu polimorfizmlerin tek başına trombofiliye neden olmadığını, trombozun etiyopatogenezinin multifaktöriyel olarak düşünülmesi gerektiğini savunan çalışmalar da mevcuttur [81, 82]. Çalışmamızda da ACE geninin ekspresyonu SS'lu hastalarda artmamış, aksine hafif bir şekilde, yaklaşık iki kat kadar azalmıştır. Bu nedenle bu sonuç hiperkoagülasyon açısından bir anlam ifade etmemektedir.

Koagülasyon faktörlerinden F-VII, F-VIII ve F-IX'in normalin üstündeki seviye ve aktivitelerinin teorik olarak pıhtılaşma-kanama dengesinin pıhtılaşma yönünde bozulmasıyla sonuçlanacağı savunulabilir. Bu pıhtılaşma faktörlerinin kan seyiyeleri, özellikle venöz tromboemboli geçirmiş hastalarda sağlıklı bireylere göre daha yüksek bulunmuştur [83-85]. Ancak yaptığımız çalışmada SS'lu hastalarda *F-VII*, *F-VIII* ve *F-IX* genlerinin ortalama ekspresyon seviyelerinde sağlıklı kadınların oluşturduğu kontrol grubuna göre yükseklik saptanmadı. Bu nedenle SS'unun etiyopatogenezinde *F-VII*, *F-VIII* ve *F-IX* genlerinin fazla ekspresyonu ve böylece ilgili koagülasyon faktörlerinin aşırı üretilmeleri görüşünden uzaklaşmıştır.

SS'da risk faktörü olarak kalıtsal hiperkoagülasyonu araştıran bir çalışmada Gökalp ve ark., *MTHFR C677T* ve *MTHFR A1298C* polimorfizmlerini 38 SS'lu hastada sağlıklı kontrol grubuna göre istatistiksel olarak daha yüksek sıklıkta bulmuşlardır [86]. *FII (G20210A)*, *FV (G1691A)* ve *PAI-1 4G/5G* mutasyonları da SS'lu hastalarda daha sık olsa da istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır. 52 SS'lu hastayı dâhil ettiğimiz bu çalışmada ise *MTHFR* geninin ekspresyonun ortalama düzeyinde kontrol grubuna göre herhangi bir farklılık bulunmadı. Ancak *Faktör V*'in ortalama ekspresyon seyiyesi, sağlıklı kontrollerden daha yüksekti.

Çakır ve ark. ise farklı nedenlere bağlı GH eksiklikleri olan 19 hastalarında koagülasyon ve fibrinolizis ile ilgili olarak trombosit sayısı, kollajen-epinefrin kapanma zamanı, kollajen-ADP kapanma zamanı, fibrinojen düzeyi, protrombin zamanı, aktive parsiyel tromboplastin zamanı, antitrombin-III düzeyi, Protein-C

aktivitesi, Protein-S aktivitesi, lupus-antikoagülan düzeyi, antifosfolipid IgM ve IgG antikor düzeylerini araştırmışlardır [87]. Çalışmalarının sonucunda gruptaki 12 SS'lu hastanın ikisinde Protein-S eksikliği bulmuşlardır.

Trombofili ile ilgili yukarıda irdedeğimiz bütün bilgileri ve çalışmamızın sonuçlarını sentezleyecek olursak, trombofili etiyopatogenezinde hiçbir gen tek başına sorumlu görünmemektedir. Tromboz patogenezinde birden çok gen-gen ve gen-çevresel faktör etkileşimleri sorumludur, başka bir deyişle multifaktöriyel bir süreç söz konusudur. Bu sonuç daha önce de bazı çalışmaların sonucunda önerilmiştir [47, 88]. Bu nedenle SS'unun etiyopatogenezinde hiperkoagülasyonun araştırıldığı çalışmalarda farklı sonuçların bulunmasının nedeni hasta sayılarının az olması ve sınırlı sayıda parametreye bakılması olarak düşünülebilir.

Diğer taraftan SS'unun etiyopatogenezinde sorumlu tutulan diğer önemli bir faktör de SS'lu kadınların ortalama sella tursika volümünün, sağlıklı kadınlardan daha küçük olmasıdır. Bakiri ve ark. 54 SS'lu hasta ile 12 sağlıklı kadının ortalama sella tursika volümlerini karşılaştırdıkları çalışmalarında SS'lu hastaların ortalama sella tursika volümlerini anlamlı oranda daha küçük bulmuşlardır [28]. Sherif ve ark. ise 57 SS'lu hasta ile 17 sağlıklı kadını bu açıdan karşılaştırmışlar ve yine aynı sonuca varmışlardır [29]. Ancak şunu eklememiz gerekir ki, bu çalışmalarda SS'lu hastaların hepsinin sella tursika volümleri küçük bulunmamış, SS'lu hastaların ortalama sella volümleri küçük bulunmuştur.

Çalışmamızda SS'lu hastaların ortalama sella tursika volümünün küçük olduğu verisinden hareketle, küçük sella volümünün nedeninin kraniyal kemiklerin ve dolayısıyla sella tursikayı oluşturan sfenoid kemiğin gelişimiyle ilgili genetik bir sorun olabileceği düşünülmüştür. Ancak çalışma süresince yapılan fizik muayenelerde hiçbir hastada fasiyal dimorfizm ile uyumlu bulguların tespit edilmediğini belirtmemiz gerekmektedir.

*DLX2* ve *DLX5* genleri diğer *DLX* genlerine göre osteoblastların farklılaşmasında ve kemiklerin oluşumunda daha çok eksprese edilen transkripsiyon faktörlerini kodlar [89]. *DLX2* ve *DLX5* genlerinin knockout edildiği farelerde özellikle kraniyofasiyal deformiteler tespit edilmiştir [90, 91]. *DLX5* ve *DLX6* genlerindeki mutasyonların ise insanlarda otozomal dominant geçişli el ve ayaklarda

malformasyonlarla karakterize ailevi konjenital anormalilere neden olduğu gösterilmiştir [92, 93]

*MSX2* geni protein kodlamaz, ancak iskelet sisteminin gelişiminde görevli genlerin ekspresyonunda önemli rol alan transkripsiyon faktörünü kodlar. *MSX2* genindeki mutasyonların *RUNX2* geni üzerindeki etkileriyle iskelet sisteminde ve özellikle de kraniyofasiyal kemiklerde deformitelere yol açtığı gösterilmiştir [94, 95]. Ayrıca *MSX2* geninde mutasyon olan ailelerde otozomal dominant kalıtılan kraniyosinostozise bağlı anormal kafatası yapıları da bazı çalışmalarda gösterilmiştir [96, 97].

*PAX3* genindeki mutasyonlar kraniyofasiyal kemiklerde deformitelere ve özel olarak da Waardenburg sendromu denilen konjenital anormaliyeye neden olmaktadır [98]. Waardenburg sendromu pigmentasyon anormalileri, göz anormalileri, yassı yüz yapısı, hipertelorizm, sensörinöral işitme kaybı, kafatası ve özellikle de burun kemiklerinde anormallikler ile karakterizedir [99]. *PAX3* ve *PAX7* genleri aynı zamanda iskelet kaslarının ilk gelişim basamaklarında da rol alır [100]. *PAX3* geni oldukça karmaşık bir şekilde başka bazı embriyolojik süreçlerde de görev almaktadır. Moore ve ark. *PAX3* gen ekspresyonundaki artışın farelerde nöral tüpteki kök hücrelerde daha ileri farklılaşmalara yol açtığını bildirmişlerdir [101].

Çalışmamızdan önce hipotez olarak SS'da *DLX2*, *DLX5*, *MSX2* ve *PAX3* genlerinin ekspresyonlarında azalma olabileceği ve bunun da küçük sella tursika volümüne yol açabileceği düşünülmüştü. Ancak Tablo-3'te de gösterildiği gibi bu genlerin ortalama ekspresyon düzeylerinde SS ve kontrol grubu karşılaştırılınca istatistiksel olarak anlamlı herhangi bir farklılık tespit edilmedi. Ancak şunu da belirtmemiz gerekir ki, kraniyal kemiklerde gelişiminde rol alan *BMP2*, *sonic hedgehog (SHH)*, *fibroblast büyüme faktörü-8 (FGF8)*, *fibroblast growth factor reseptörü-2 (FGFR2)*, *GLI3*, *short stature homeobox-2 (SHOX2)* ve *twist basic helix-loop-helix transcription factor (TWIST)* gibi başka birçok genetik faktör ve bunlarla ilgili bozukluklar da bildirilmiştir [102, 103]. Bu nedenle çalışmamızda kraniyal kemiklerin gelişimi ile ilgili bütün genetik faktörlerin değerlendirilmediğini eklememiz gerekir.

Toparlayacak olursak, tromboz gelişiminin etiyopatogenezi multifaktöriyel bir süreci kapsamaktadır. Bu süreçte tek bir genin değil, birçok genin çevresel faktörlerle

karşılıklı etkileşimleri sözkonusudur. Bu çalışmada SS'lu hastalarda *FV* geninin ekspresyon seviyesi sağlıklı kadınlardan 15 kat daha yüksek bulunmuştur. Ancak bu patolojinin tek başına tromboza kesin olarak neden olup olmadığı bilinmemektedir. SS'lu hastalarda kraniyal kemiklerin gelişimi ve böylece küçük sella tursika volümüyle ilgili olabilecek *DLX2*, *DLX5*, *MSX2* ve *PAX3* genlerinde ise ortalama ekspresyon seviyeleri sağlıklı kadınlara göre farklılık göstermemiştir.

Bu çalışmada başlangıçta SS'ndaki verilerin karşılaştırılması için kontrol grubu olarak idiyopatik hipofiz yetmezlikli hastaların alınması planlanmıştı. Ancak idiyopatik hipofiz yetmezlikli hastaların bulunmasındaki güçlükler nedeniyle yeterli hasta sayısına varılamadı. Benzer uluslararası çalışmalar da incelenince bu grup yerine sağlıklı kadınların alınmasının daha doğru olacağı kanaatine varıldı. Yöntem ile ilgili bu değişiklik dışında başlangıçta planlanan hedeflerde herhangi bir değişiklik olmamış ve bütün planlamalar yerine getirilmiştir. Bu çalışma ile ilgili henüz yayımlanmış bir yayın olmasa da bunun için çalışmalar devam etmekte ve uluslararası bir dergide yayımlanması planlanmaktadır.

## 6. KAYNAKLAR

1. Sheehan HL. Postpartum necrosis of the anterior pituitary. *J Pathol Bact* 1937; 45: 189-214.
2. Kelestimir F. Sheehan's syndrome. *Pituitary* 2003; 6: 181-188.
3. Kovacs K. Sheehan syndrome. *Lancet* 2003; 361: 520-522.
4. Goswami R, Kochupillai N, Crock PA et al. Pituitary autoimmunity in patients with Sheehan's syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87: 4137-4141.
5. Gonzalez JG, Elizondo G, Saldivar D et al. Pituitary gland growth during normal pregnancy: an in vivo study using magnetic resonance imaging. *Am J Med* 1988; 85: 217-220.
6. Mazumdar A. Imaging of the pituitary and sella turcica. *Expert Rev Anticancer Ther* 2006; 6 Suppl 9: S15-22.
7. Tessnow AH, Wilson JD. The changing face of Sheehan's syndrome. *Am J Med Sci* 2010; 340: 402-406.
8. Sheng HZ, Westphal H. Early steps in pituitary organogenesis. *Trends Genet* 1999; 15: 236-240.
9. Zhu X, Wang J, Ju BG, Rosenfeld MG. Signaling and epigenetic regulation of pituitary development. *Curr Opin Cell Biol* 2007; 19: 605-611.
10. Romero CJ, Nesi-Franca S, Radovick S. The molecular basis of hypopituitarism. *Trends Endocrinol Metab* 2009; 20: 506-516.
11. Scully KM, Rosenfeld MG. Pituitary development: regulatory codes in mammalian organogenesis. *Science* 2002; 295: 2231-2235.
12. Glinsky L. Kazyistyki zmian anatomo-patologicznych w przysada mozgowej. *Przegl Lek* 1913; 52: 13-14.
13. Simmonds M. Uber hypophysisschwund mit todlichem ausgang. *Dtsch Med Wochenschr* 1914; 40: 322-323.
14. Sheehan HL. Post-partum necrosis of the anterior pituitary. *Ir J Med Sci* 1948; 241-255.
15. Sheehan HL. Atypical Hypopituitarism. *Proc R Soc Med* 1961; 54: 43-48.
16. Sheehan HL. The Frequency of Post-Partum Hypopituitarism. *J Obstet Gynaecol Br Commonw* 1965; 72: 103-111.
17. Zargar AH, Singh B, Laway BA et al. Epidemiologic aspects of postpartum pituitary hypofunction (Sheehan's syndrome). *Fertil Steril* 2005; 84: 523-528.
18. Famuyiwa OO, Bella AF, Akanji AO. Sheehan's syndrome in a developing country, Nigeria: a rare disease or problem of diagnosis? *East Afr Med J* 1992; 69: 40-43.
19. Kristjansdottir HL, Bodvarsdottir SP, Sigurjonsdottir HA. Sheehan's syndrome in modern times: a nationwide retrospective study in Iceland. *Eur J Endocrinol* 2011; 164: 349-354.
20. Abs R, Bengtsson BA, Hernberg-Stahl E et al. GH replacement in 1034 growth hormone deficient hypopituitary adults: demographic and clinical characteristics, dosing and safety. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1999; 50: 703-713.
21. Ramiandrasoa C, Castinetti F, Raingeard I et al. Delayed diagnosis of Sheehan's syndrome in a developed country: a retrospective cohort study. *Eur J Endocrinol* 2013; 169: 431-438.
22. Tanriverdi F, Dokmetas HS, Kebapci N et al. Etiology of hypopituitarism in tertiary care institutions in Turkish population: analysis of 773 patients from pituitary study group database. *Endocrine* 2013.
23. Atmaca H, Tanriverdi F, Gokce C et al. Posterior pituitary function in Sheehan's syndrome. *Eur J Endocrinol* 2007; 156: 563-567.
24. Jakubowski J. Blood supply, blood flow and autoregulation in the adenohypophysis, and altered patterns in oestrogen-induced adenomatous hyperplasia. *Br J Neurosurg* 1995; 9: 331-346.
25. Schaeffer M, Hodson DJ, Lafont C, Mollard P. Endocrine cells and blood vessels work in tandem to generate hormone pulses. *J Mol Endocrinol* 2011; 47: R59-66.

26. Dinc H, Esen F, Demirci A et al. Pituitary dimensions and volume measurements in pregnancy and post partum. MR assessment. *Acta Radiol* 1998; 39: 64-69.
27. Roberts DM. Sheehan's syndrome. *Am Fam Physician* 1988; 37: 223-227.
28. Bakiri F, Bendib SE, Maoui R et al. The sella turcica in Sheehan's syndrome: computerized tomographic study in 54 patients. *J Endocrinol Invest* 1991; 14: 193-196.
29. Sherif IH, Vanderley CM, Beshyah S, Bosairi S. Sella size and contents in Sheehan's syndrome. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1989; 30: 613-618.
30. De Bellis A, Kelestimur F, Sinisi AA et al. Anti-hypothalamus and anti-pituitary antibodies may contribute to perpetuate the hypopituitarism in patients with Sheehan's syndrome. *Eur J Endocrinol* 2008; 158: 147-152.
31. Gupta D, Gaiha M, Mahajan R, Daga MK. Atypical presentation of Sheehan's syndrome without postpartum haemorrhage. *J Assoc Physicians India* 2001; 49: 386-387.
32. Sert M, Tetiker T, Kirim S, Kocak M. Clinical report of 28 patients with Sheehan's syndrome. *Endocr J* 2003; 50: 297-301.
33. Dokmetas HS, Kilicli F, Korkmaz S, Yonem O. Characteristic features of 20 patients with Sheehan's syndrome. *Gynecol Endocrinol* 2006; 22: 279-283.
34. Lavallee G, Morcos R, Palardy J et al. MR of nonhemorrhagic postpartum pituitary apoplexy. *AJNR Am J Neuroradiol* 1995; 16: 1939-1941.
35. Dash RJ, Gupta V, Suri S. Sheehan's syndrome: clinical profile, pituitary hormone responses and computed sellar tomography. *Aust N Z J Med* 1993; 23: 26-31.
36. Hall R, Manski-Nankervis J, Goni N et al. Fertility outcomes in women with hypopituitarism. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2006; 65: 71-74.
37. Tanriverdi F, Unluhizarci K, Kelestimur F. Growth hormone replacement therapy in adults with growth hormone deficiency: benefits and cost-effectiveness. *Expert Rev Pharmacoecon Outcomes Res* 2006; 6: 131-138.
38. Gasco V, Corneli G, Rovere S et al. Diagnosis of adult GH deficiency. *Pituitary* 2008; 11: 121-128.
39. Courtney CH, McAllister AS, McCance DR et al. Comparison of one week 0900 h serum cortisol, low and standard dose synacthen tests with a 4 to 6 week insulin hypoglycaemia test after pituitary surgery in assessing HPA axis. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2000; 53: 431-436.
40. Greenbaum D, Jansen R, Gerstein M. Analysis of mRNA expression and protein abundance data: an approach for the comparison of the enrichment of features in the cellular population of proteins and transcripts. *Bioinformatics* 2002; 18: 585-596.
41. Schmittgen TD, Livak KJ. Analyzing real-time PCR data by the comparative C(T) method. *Nat Protoc* 2008; 3: 1101-1108.
42. Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2<sup>(-Delta Delta C(T))</sup> Method. *Methods* 2001; 25: 402-408.
43. Rockman MV, Kruglyak L. Genetics of global gene expression. *Nat Rev Genet* 2006; 7: 862-872.
44. Wolberg AS, Aleman MM, Leiderman K, Machlus KR. Procoagulant activity in hemostasis and thrombosis: Virchow's triad revisited. *Anesth Analg* 2012; 114: 275-285.
45. Yamauchi T, Yoshio N, Mizuguchi T et al. Acute fatty liver of pregnancy complicated with anterior pituitary insufficiency. *Intern Med* 2001; 40: 1227-1231.
46. Piech JJ, Thieblot P, Haberer JP et al. Twin pregnancy with acute hepatic steatosis followed by antehypophyseal insufficiency and diabetes insipidus. *Presse Med* 1985; 14: 1421-1423.
47. De Stefano V, Rossi E, Paciaroni K, Leone G. Screening for inherited thrombophilia: indications and therapeutic implications. *Haematologica* 2002; 87: 1095-1108.
48. Anderson JA, Weitz JI. Hypercoagulable states. *Crit Care Clin* 2011; 27: 933-952, vii.
49. Foka ZJ, Lambropoulos AF, Saravelos H et al. Factor V leiden and prothrombin G20210A mutations, but not methylenetetrahydrofolate reductase C677T, are associated with recurrent miscarriages. *Hum Reprod* 2000; 15: 458-462.

50. Carp H, Salomon O, Seidman D et al. Prevalence of genetic markers for thrombophilia in recurrent pregnancy loss. *Hum Reprod* 2002; 17: 1633-1637.
51. Frosst P, Blom HJ, Milos R et al. A candidate genetic risk factor for vascular disease: a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase. *Nat Genet* 1995; 10: 111-113.
52. Zappacosta B, Romano L, Persichilli S et al. Genotype Prevalence and Allele Frequencies of 5,10-Methylenetetrahydrofolate Reductase (MTHFR) C677T and A1298C Polymorphisms in Italian Newborns. *LabMedicine* 2009; 40: 732-736.
53. Weisberg I, Tran P, Christensen B et al. A second genetic polymorphism in methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) associated with decreased enzyme activity. *Mol Genet Metab* 1998; 64: 169-172.
54. Bezemer ID, Doggen CJ, Vos HL, Rosendaal FR. No association between the common MTHFR 677C->T polymorphism and venous thrombosis: results from the MEGA study. *Arch Intern Med* 2007; 167: 497-501.
55. Naess IA, Christiansen SC, Romundstad PR et al. Prospective study of homocysteine and MTHFR 677TT genotype and risk for venous thrombosis in a general population--results from the HUNT 2 study. *Br J Haematol* 2008; 141: 529-535.
56. Dolek B, Eraslan S, Eroglu S et al. Molecular analysis of factor V Leiden, factor V Hong Kong, factor II G20210A, methylenetetrahydrofolate reductase C677T, and A1298C mutations related to Turkish thrombosis patients. *Clin Appl Thromb Hemost* 2007; 13: 435-438.
57. Lemarie CA, Shbat L, Marchesi C et al. Mthfr deficiency induces endothelial progenitor cell senescence via uncoupling of eNOS and downregulation of SIRT1. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2011; 300: H745-753.
58. Eichinger S, Stumpflen A, Hirschl M et al. Hyperhomocysteinemia is a risk factor of recurrent venous thromboembolism. *Thromb Haemost* 1998; 80: 566-569.
59. Refsum H, Ueland PM, Nygard O, Vollset SE. Homocysteine and cardiovascular disease. *Annu Rev Med* 1998; 49: 31-62.
60. Kluijtmans LA, Young IS, Boreham CA et al. Genetic and nutritional factors contributing to hyperhomocysteinemia in young adults. *Blood* 2003; 101: 2483-2488.
61. Kujovich JL. Factor V Leiden thrombophilia. *Genet Med* 2011; 13: 1-16.
62. Middeldorp S, Meinardi JR, Koopman MM et al. A prospective study of asymptomatic carriers of the factor V Leiden mutation to determine the incidence of venous thromboembolism. *Ann Intern Med* 2001; 135: 322-327.
63. Rosendaal FR, Koster T, Vandenbroucke JP, Reitsma PH. High risk of thrombosis in patients homozygous for factor V Leiden (activated protein C resistance). *Blood* 1995; 85: 1504-1508.
64. Emmerich J, Rosendaal FR, Cattaneo M et al. Combined effect of factor V Leiden and prothrombin 20210A on the risk of venous thromboembolism--pooled analysis of 8 case-control studies including 2310 cases and 3204 controls. Study Group for Pooled-Analysis in Venous Thromboembolism. *Thromb Haemost* 2001; 86: 809-816.
65. Matsubara Y, Murata M, Isshiki I et al. Genotype frequency of plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) 4G/5G polymorphism in healthy Japanese males and its relation to PAI-1 levels. *Int J Hematol* 1999; 69: 43-47.
66. Kvasnicka J, Hajkova J, Bobcikova P et al. [Prevalence of thrombophilic mutations of FV Leiden, prothrombin G20210A and PAI-1 4G/5G and their combinations in a group of 1450 healthy middle-aged individuals in the Prague and Central Bohemian regions (results of FRET real-time PCR assay)]. *Cas Lek Cesk* 2012; 151: 76-82.
67. van Goor ML, Gomez Garcia E, Leebeek F et al. The plasminogen activator inhibitor (PAI-1) 4G/5G promoter polymorphism and PAI-1 levels in ischemic stroke. A case-control study. *Thromb Haemost* 2005; 93: 92-96.
68. Gong LL, Peng JH, Han FF et al. Association of tissue plasminogen activator and plasminogen activator inhibitor polymorphism with myocardial infarction: a meta-analysis. *Thromb Res* 2012; 130: e43-51.

69. Dossenbach-Glaninger A, van Trotsenburg M, Dossenbach M et al. Plasminogen activator inhibitor 1 4G/5G polymorphism and coagulation factor XIII Val34Leu polymorphism: impaired fibrinolysis and early pregnancy loss. *Clin Chem* 2003; 49: 1081-1086.
70. Koch W, Schrempf M, Erl A et al. 4G/5G polymorphism and haplotypes of SERPINE1 in atherosclerotic diseases of coronary arteries. *Thromb Haemost* 2010; 103: 1170-1180.
71. Jood K, Ladenvall P, Tjarnlund-Wolf A et al. Fibrinolytic gene polymorphism and ischemic stroke. *Stroke* 2005; 36: 2077-2081.
72. Sun X, Lai R, Li J et al. The -7351C/T polymorphism in the TPA gene and ischemic stroke risk: a meta-analysis. *PLoS One* 2013; 8: e53558.
73. Kathiresan S, Yang Q, Larson MG et al. Common genetic variation in five thrombosis genes and relations to plasma hemostatic protein level and cardiovascular disease risk. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2006; 26: 1405-1412.
74. Ohira N, Matsumoto T, Tamaki S et al. Angiotensin-converting enzyme insertion/deletion polymorphism modulates coronary release of tissue plasminogen activator in response to bradykinin. *Hypertens Res* 2004; 27: 39-45.
75. Vaughan DE, Lazos SA, Tong K. Angiotensin II regulates the expression of plasminogen activator inhibitor-1 in cultured endothelial cells. A potential link between the renin-angiotensin system and thrombosis. *J Clin Invest* 1995; 95: 995-1001.
76. Remkova A, Remko M. The role of renin-angiotensin system in prothrombotic state in essential hypertension. *Physiol Res* 2010; 59: 13-23.
77. Niu T, Chen X, Xu X. Angiotensin converting enzyme gene insertion/deletion polymorphism and cardiovascular disease: therapeutic implications. *Drugs* 2002; 62: 977-993.
78. Butler R, Morris AD, Struthers AD. Angiotensin-converting enzyme gene polymorphism and cardiovascular disease. *Clin Sci (Lond)* 1997; 93: 391-400.
79. Castellon R, Hamdi HK. Demystifying the ACE polymorphism: from genetics to biology. *Curr Pharm Des* 2007; 13: 1191-1198.
80. Su MT, Lin SH, Chen YC, Kuo PL. Genetic association studies of ACE and PAI-1 genes in women with recurrent pregnancy loss: a systematic review and meta-analysis. *Thromb Haemost* 2013; 109: 8-15.
81. Hsiao FC, Hsu LA. Meta-analysis of association between insertion/deletion polymorphism of the Angiotensin I-converting enzyme gene and venous thromboembolism. *Clin Appl Thromb Hemost* 2011; 17: 51-57.
82. Agema WR, Jukema JW, Zwinderman AH, van der Wall EE. A meta-analysis of the angiotensin-converting enzyme gene polymorphism and restenosis after percutaneous transluminal coronary revascularization: evidence for publication bias. *Am Heart J* 2002; 144: 760-768.
83. Kyrle PA, Minar E, Hirschl M et al. High plasma levels of factor VIII and the risk of recurrent venous thromboembolism. *N Engl J Med* 2000; 343: 457-462.
84. Heikal NM, Murphy KK, Crist RA et al. Elevated factor IX activity is associated with an increased odds ratio for both arterial and venous thrombotic events. *Am J Clin Pathol* 2013; 140: 680-685.
85. Junker R, Heinrich J, Schulte H et al. Coagulation factor VII and the risk of coronary heart disease in healthy men. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997; 17: 1539-1544.
86. Gokalp D, Tuzcu A, Bahceci M et al. Analysis of thrombophilic genetic mutations in patients with Sheehan's syndrome: is thrombophilia responsible for the pathogenesis of Sheehan's syndrome? *Pituitary* 2011; 14: 168-173.
87. Cakir I, Tanriverdi F, Karaca Z et al. Evaluation of coagulation and fibrinolytic parameters in adult onset GH deficiency and the effects of GH replacement therapy: a placebo controlled study. *Growth Horm IGF Res* 2012; 22: 17-21.
88. Rosendaal FR. Venous thrombosis: the role of genes, environment, and behavior. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2005; 1-12.
89. Li H, Marijanovic I, Kronenberg MS et al. Expression and function of Dlx genes in the osteoblast lineage. *Dev Biol* 2008; 316: 458-470.



90. Robledo RF, Rajan L, Li X, Lufkin T. The Dlx5 and Dlx6 homeobox genes are essential for craniofacial, axial, and appendicular skeletal development. *Genes Dev* 2002; 16: 1089-1101.
91. Qiu M, Bulfone A, Ghattas I et al. Role of the Dlx homeobox genes in proximodistal patterning of the branchial arches: mutations of Dlx-1, Dlx-2, and Dlx-1 and -2 alter morphogenesis of proximal skeletal and soft tissue structures derived from the first and second arches. *Dev Biol* 1997; 185: 165-184.
92. Shamseldin HE, Faden MA, Alashram W, Alkuraya FS. Identification of a novel DLX5 mutation in a family with autosomal recessive split hand and foot malformation. *J Med Genet* 2012; 49: 16-20.
93. Lo Iacono N, Mantero S, Chiarelli A et al. Regulation of Dlx5 and Dlx6 gene expression by p63 is involved in EEC and SHFM congenital limb defects. *Development* 2008; 135: 1377-1388.
94. Ott CE, Hein H, Lohan S et al. Microduplications upstream of MSX2 are associated with a phenocopy of cleidocranial dysplasia. *J Med Genet* 2012; 49: 437-441.
95. Yoshida T, Kanegane H, Osato M et al. Functional analysis of RUNX2 mutations in Japanese patients with cleidocranial dysplasia demonstrates novel genotype-phenotype correlations. *Am J Hum Genet* 2002; 71: 724-738.
96. Jabs EW, Muller U, Li X et al. A mutation in the homeodomain of the human MSX2 gene in a family affected with autosomal dominant craniosynostosis. *Cell* 1993; 75: 443-450.
97. Florisson JM, Verkerk AJ, Huigh D et al. Boston type craniosynostosis: report of a second mutation in MSX2. *Am J Med Genet A* 2013; 161: 2626-2633.
98. Hazan F, Ozturk AT, Adibelli H et al. A novel missense mutation of the paired box 3 gene in a Turkish family with Waardenburg syndrome type 1. *Mol Vis* 2013; 19: 196-202.
99. Pingault V, Ente D, Dastot-Le Moal F et al. Review and update of mutations causing Waardenburg syndrome. *Hum Mutat* 2010; 31: 391-406.
100. Borchin B, Chen J, Barberi T. Derivation and FACS-Mediated Purification of PAX3+/PAX7+ Skeletal Muscle Precursors from Human Pluripotent Stem Cells. *Stem Cell Reports* 2013; 1: 620-631.
101. Moore S, Ribes V, Terriente J et al. Distinct regulatory mechanisms act to establish and maintain Pax3 expression in the developing neural tube. *PLoS Genet* 2013; 9: e1003811.
102. Nuckolls GH, Shum L, Slavkin HC. Progress toward understanding craniofacial malformations. *Cleft Palate Craniofac J* 1999; 36: 12-26.
103. Chai Y, Maxson RE, Jr. Recent advances in craniofacial morphogenesis. *Dev Dyn* 2006; 235: 2353-2375.

T.C.  
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI'NA

Üzm. Dr. Halit DİRİ'ye ait 'Sheehan Sendromunun Etiyolojisinde Kraniyal Kemiklerin Gelişimi ve Trombofili ile İlgili Genetik Faktörlerin Rolünün Değerlendirilmesi' adlı çalışma jürimiz tarafından Endokrinoloji ve Metabolizma Bilim Dalı'nda tıpta yan dal uzmanlık tezi olarak kabul edilmiştir.

**ONAY**

Tarih: 03.03.2014

İmzalar:

**Başkan:** Prof. Dr. Fahri BAYRAM (Danışman).....

**Üye:** Doç. Dr. Fatih TANRIVERDİ.....

**Üye:** Doç. Dr. Züleyha KARACA.....