

T.C
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM ANABİLİM DALI

İNTRA UTERİN BÜYÜME KISITLAMASINDA DNA
METİLTRANSFERAZ (DNMT)-1 VE HİSTON DEASİLAZ
(HDAC)-6 EKSPRESYONUNUN ARAŞTIRILMASI

UZMANLIK TEZİ

Dr. Meltem TURNA

Trabzon, 2022

T.C
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM ANABİLİM DALI

İNTRA UTERİN BÜYÜME KISITLAMASINDA DNA
METİLTRANSFERAZ (DNMT)-1 VE HİSTON DEASİLAZ
(HDAC)-6 EKSPRESYONUNUN ARAŞTIRILMASI

UZMANLIK TEZİ

Dr. Meltem TURNA

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Mehmet Armağan OSMANAĞAOĞLU

Trabzon, 2022

ÖNSÖZ

Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı'ndaki uzmanlık eğitimi aldığım süre zarfında bilgi ve deneyimleriyle eğitimime katkıda bulunan değerli hocam, anabilim dalı başkanımız sayın Prof. Dr. Mehmet Armağan OSMANAĞAOĞLU'na,

Tezime ve eğitimime olan katkılarından dolayı değerli tez danışmanlarım sayın Prof. Dr. Mehmet Armağan OSMANAĞAOĞLU ve Doç. Dr. Mustafa Emre ERÇİN'e,

Tez hazırlama sürecimde bilgi ve tecrübelerini esirgemeyip, çalışma sürecimde veri toplama ve yorumlama aşamalarımnda her türlü katkıyı sunan Doç. Dr. Miraç ÖZALP'e ve tez çalışmam süresince materyal temini, takibi ve laboratuvar çalışmalarımın her aşamasında her türlü katkıyı sunan Dr. Elif ÖZSAĞIR'a,

Uzmanlık eğitimim boyunca bana her konuda destek olan, bilgi ve tecrübesiyle bu süreci başarılı bir şekilde tamamlamama yardımcı olan her yönden desteklerini gördüğüm hocalarım Prof. Dr. Emine Seda GÜVENDAĞ GÜVEN, Prof. Dr. Süleyman GÜVEN, Prof. Dr. Turhan ARAN, Prof. Dr. Cavit KART, Doç. Dr. Gülseren DİNÇ ve Doç. Dr. Ömer DEMİR'e,

Tüm hayatım boyunca hep yanımda olan aileme, asistanlık hayatım boyunca klinikte birlikte çalıştığım tüm asistan, hemşire, ebe, teknisyen ve personel arkadaşlarıma, uzmanlık eğitimim ve tez hazırlık aşamasında sabır ve sonsuz anlayış gösteren yakın arkadaşlarıma teşekkürü borç bilirim.

Ayrıca KTÜ Bilimsel Araştırma Projesi birimine sağladığı maddi ve manevi destek için de teşekkür ederim.

Dr. Meltem TURNA

Trabzon, 2022

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ.....	ii
İÇİNDEKİLER	iv
TABLolar DİZİNİ	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	viii
KISALTMALAR VE SİMGE DİZİNİ.....	ix
ÖZET.....	xi
SUMMARY	xiii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. İntrauterin Gelişme Kısıtlılığı (IUGR)	4
2.1.1. Normal Fetal Büyüme	4
2.2. Gebelik Yaşına Göre Küçük Fetüs (SGA)	5
2.2.1. SGA Tanımı.....	5
2.2.2. SGA Etiyolojisi	5
2.2.3. SGA Patofizyolojisi	6
2.3. İntrauterin Gelişme Kısıtlılığı (IUGR)	6
2.3.1. IUGR Tanımı	7
2.3.2. Erken başlangıçlı fetal gelişme kısıtlılığı (<32 hafta):	7
2.3.3. Geç başlangıçlı fetal gelişme kısıtlılığı (≥32 hafta):.....	8
2.3.4. Simetrik ve Asimetrik Fetal Büyüme Kısıtlılığı	8
2.3.5. Erken ve Geç Başlangıçlı IUGR.....	8
2.4. IUGR İçin Risk Faktörleri.....	11

2.5. IUGR’da Tanı.....	12
2.5.1. Uterus Fundus Yüksekliği	12
2.5.2. Ultrasonografi Ölçümleri.....	12
2.5.3. Amniyotik Sıvı Ölçümü.....	12
2.5.4. Doppler Velosimetri	12
2.6. IUGR’da Yönetim	13
2.7. IUGR'lı Gebelerde Takip.....	13
2.7.1. Fetal Kalp Atış Hızı İzlemi	14
2.7.2. Amniyotik Sıvı Hacminin Ultrasonografi ile Ölçümü	15
2.7.3. Biyofizik Profil Puanlaması	15
2.7.4. Umbilikal arter Doppleri (UAD)	16
2.7.5. Orta Serebral Arter (MCA) Doppleri	17
2.7.6. Duktus Venozus Doppleri	18
2.7.7. Serebroplasental Oran (CPR)	19
2.8. IUGR Olan Gebelerde Entegre Yönetim.....	19
2.9. DNA Metiltransferazlar (DNMT’S).....	20
2.9.1. DNA Metilasyonunun Patolojilerle İlişkisi	21
2.9.2 Polimorfizm	23
2.9.3. DNA Metiltransferaz Grubu	24
2.10. Histon Deasetilaz (HDAC)-6	25
3. GEREÇ VE YÖNTEMLER.....	29
3.1. Olgu Seçimi	28
3.2. Ultrasonografik Değerlendirme.....	28
3.3. Histopatolojik İnceleme	28
3.4. İmmünohistokimyasal İnceleme.....	29

3.5. İmmünohistokimyasal Değerlendirme	29
3.6. İstatistiksel Değerlendirme	29
3.7. Finansal Destek ve Etik Kurul Kararı	30
4. BULGULAR	32
5. TARTIŞMA	36
6. SONUÇ	41
KAYNAKLAR	42



TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1.	Erken Başlangıçlı IUGR ve Geç Başlangıçlı IUGR karşılaştırılması ..	9
Tablo 2.	Delphi sınıflamasına göre IUGR tanı kriterleri	10
Tablo 3.	IUGR yönetimi	20
Tablo 4.	Grupların demografik verileri.....	31
Tablo 5.	Grupların ultrasonografik değerlendirmelerinin karşılaştırılması	32
Tablo 6.	Grupların HDAC6 ve DNMT1 değerlendirmelerinin karşılaştırılması	33
Tablo 7.	Doğum haftası ile DNMT1 Nükleer ve Sitoplazmik, HDAC6 Sitoplazmik karşılaştırması	34

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.	Gebelik haftasına göre fetal ağırlık beklentileri	5
Şekil 2.	IUGR mekanizması	11
Şekil 3.	Fetal Biyofizik Skorlama Sistemi.....	16
Şekil 4.	Umbilikal Arter Doppler ölçümü	17
Şekil 5.	MCA Doppler ölçümü.....	18
Şekil 6.	Duktus Venozus Doppler ölçümü	19
Şekil 7.	DNA Demetilasyonu	21
Şekil 8.	HDAC sınıflaması	27

KISALTMALAR VE SİMGE DİZİNİ

SGA:	Gebelik yaşına göre küçük fetüs
IUGR:	İntrauterin gelişme kısıtlılığı
USG:	Ultrasonografi
NST:	Nonstres test
DNMT:	DNA n-metiltransferaz
SLE:	Sistemik Lupus Eritomatozis
PE:	Preeklampsi
IGF-I:	İnsülin benzeri büyüme faktörü- I
AC:	Fetal abdominal çap
ACOG:	The American College of Obstetricians and Gynecologists
UAD:	Umbilikal arter Doppler
PI:	Pulsatilité indeksi
DV:	Duktus venozus
MCA:	Orta serebral arter
CPR:	Serebroplasental oran
SAT:	Son adet tarihi
CRL:	Crown rump length (Baş-popo mesafesi)
FL:	Femur uzunluğu
BPD:	Biparietal çap
HC:	Baş çevresi
BPP:	Biyofizik profil
FHR:	Fetal kalp atım hızı
AFİ:	Amniyotik sıvı hacmi
SAM:	S-adenozilmetionin

HLA:	İnsan lökosit antijen sistemi
HSP:	Isı şok protein
HAT:	Histon asetilaz
HMT:	Histon metil transferaz
EİN:	Endometrial intraepitelyal neoplazi



ÖZET

İntra Uterin Büyüme Kısıtlamasında DNA Metiltransferaz (DNMT)-1 ve Histon Deasilaz (HDAC)-6 Ekspresyonunun Araştırılması

Amaç: İntra Uterin Büyüme Kısıtlamasında (IUGR) gebelerde DNMT1 ve HDAC6 ekspresyon düzeylerinin değerlendirilmesi ve epigenetik mekanizmaların IUGR etiyopatogenezindeki rolüne ışık tutmaktır.

Gereç ve Yöntem: Toplam 89 gebe çalışmaya dahil edilmiştir. Gebeler erken başlangıçlı IUGR (<32 hafta), (n=25), geç başlangıçlı IUGR (≥32 hafta), (n=25) tanısı alan ve kontrol grubu olarak da ek hastalığı olmayan sağlıklı gebeler (n=39) olacak şekilde üç gruba ayrılmıştır. Plasental DNMT1 ve HDAC6 ekspresyonu immünohistokimyasal boyama tekniği ile incelendi. İstatistiksel analiz sonucunda $p<0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Bulgular: Gruplar arasında yaş, gravida, parite, doğum haftaları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark izlenmemiştir ($p>0.05$, $p>0.05$, $p>0.05$, $p>0.05$, sırasıyla) ancak erken başlangıçlı IUGR ve geç başlangıçlı IUGR ile erken başlangıçlı IUGR ve kontrol grubu arasında doğum haftası açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmıştır ($p<0.01$, $p<0.01$, sırasıyla). Geç başlangıçlı IUGR ve kontrol grubu arasında doğum haftası açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p>0.05$). Sitoplazmik DNMT1 açısından, erken başlangıçlı IUGR ve kontrol grubu arasında ($p<0.01$), geç başlangıçlı IUGR ve kontrol grubu arasında ($p<0.01$) istatistiksel olarak anlamlı bir fark izlenmiştir. Erken ve geç başlangıçlı IUGR arasında ise istatistiksel olarak anlamlı bir fark izlenmemiştir ($p>0.05$). Nükleer DNMT1 açısından, erken başlangıçlı IUGR ve kontrol grubu arasında ($p<0.01$) ve geç başlangıçlı IUGR ve kontrol grubu arasında ($p<0.01$) belirgin olarak istatistiksel olarak anlamlı bir fark izlenmiştir. Sitoplazmik HDAC6 açısından erken başlangıçlı IUGR ve kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark izlenmiş olup ($p<0.01$), erken ve geç başlangıçlı IUGR arasında ($p>0.05$); geç başlangıçlı IUGR ve kontrol grubu arasında ($p>0.05$) istatistiksel olarak anlamlı bir fark izlenmemiştir. Her üç grup arasında nükleer HDAC6 açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark izlenmemiştir ($p>0.05$, $p>0.05$, $p>0.05$,

sırasıyla). Doğum haftası ile DNMT1 nükleer arasında negatif korelasyon saptanmıştır ($p<0.05$).

Sonuç: Placenta materyalinde, HDAC6 seviyeleri ile IUGR arasında bir ilişki saptanmamış olmasına rağmen sitoplazmik ve özellikle nükleer DNMT1 seviyeleri IUGR'lı gebelerde artmış olarak izlenmiştir. DNMT1 seviyeleri ve doğum haftası arasında negatif korelasyon izlenmiştir. Bu nedenle DNMT'lerin artışının IUGR tanısında ve/veya prognozunu iyileştirilmesi amacıyla kullanılabileceğini düşünmekteyiz.

Anahtar Kelimeler: Intrauterin Gelişme Geriliği, DNA n-metiltransferaz (DNMT), Histon Deasetilaz (HDAC)

SUMMARY

Investigation of DNA Methyltransferase (DNMT)-1 and Histone Deacetylase (HDAC)-6 Expression in Intrauterine Growth Restriction

Subject: Evaluation of DNMT1 and HDAC6 expression levels in pregnant women in Intra Uterine Growth Restriction (IUGR) and to shed light on the role of epigenetic mechanisms in the etiopathogenesis of IUGR.

Material and Method: A total of 89 pregnant women were included in the study. The pregnant women were classified into three groups as early-onset IUGR (<32 weeks), (n=25), late-onset IUGR ($\geq$ 32 weeks), (n=25) and healthy pregnant women (n=39) without any additional disease as the control group. Placental DNMT1 and HDAC6 expression were examined by immunohistochemical staining technique. $P < 0.05$ was considered statistically significant.

Results: There was no statistically significant difference between the groups in terms of age, gravida, parity and gestational week of birth ($p > 0.05$, $p > 0.05$, $p > 0.05$, $p > 0.05$, sırasıyla). A statistically significant difference was observed between early-onset IUGR and control group ($p < 0.01$), and between early-onset IUGR and late-onset IUGR ($p < 0.01$) in terms of gestational week of birth. There was no statistically significant difference between late-onset IUGR and control group ($p > 0.05$). A statistically significant difference was observed between early-onset IUGR and control group ($p < 0.01$), and between late-onset IUGR and control group ($p < 0.01$) in terms of cytoplasmic DNMT1. There was no statistically significant difference between early and late-onset IUGR ($p > 0.05$). In terms of nuclear DNMT1, a statistically significant difference was observed between the early-onset IUGR and control group ($p < 0.01$) and between the late-onset IUGR and control group ($p < 0.01$).

In terms of cytoplasmic HDAC6, a statistically significant difference was observed between early-onset IUGR and control group ($p < 0.01$), between early-onset and late-onset IUGR ($p > 0.05$); There was no statistically significant difference between late-onset IUGR and control group ($p > 0.05$). There was no statistically significant difference between the three groups in terms of nuclear HDAC6 ($p > 0.05$,

$p > 0.05$, $p > 0.05$, respectively). A negative correlation was found between DNMT1 nuclear and gestational week of birth ($p < 0.05$).

Conclusion: Although no correlation was found between HDAC6 levels and IUGR in placental material, cytoplasmic and especially nuclear DNMT1 levels were observed to be increased in pregnant women with IUGR. A negative correlation was found between DNMT1 nuclear and gestational week of birth. Therefore, we think that the increase in DNMTs can be used in the diagnosis of IUGR and/or to improve the prognosis.

Keywords: Intrauterine Growth Retardation, DNA N-methyltransferase (DNMT), Histone Deacetylase (HDAC)

1. GİRİŞ

İntrauterin fetal büyüme kısıtlılığı (IUGR), fetüsün çeşitli nedenler ile büyüme hızının yavaşlaması dolayısı ile genetik olarak belirlenmiş olan büyüme potansiyeline erişememesi anlamına gelmektedir. Literatürde görülme sıklığı %3 ila %7 arasındadır. Gelişmekte olan ve az gelişmiş ülkelerde ise bu oranın arttığı görülmektedir (1). Fetüsün gelişiminde etkisi olan maternal, fetal ve plasental tüm faktörler etiyolojik faktörler arasında gösterilebilir (2). Bu faktörlerden sadece maternal kökenli olanların bir kısmına müdahale edilebilir. Diğer faktörlere net olarak müdahale edilemeyeceği için takip ve kar-zarar hesabı yapılarak ideal doğum zamanlamasına ulaşılması majör yaklaşımdır (3).

IUGR'ın terminolojisi konusunda tartışmalar devam etmektedir. Günlük pratikte gebelik yaşına göre küçük fetüs (SGA) ile IUGR kavramları beraber kullanılsa da aslında farklı durumlardır (Şekil 1) (4). Klinik olarak ayırım yapmak oldukça önemlidir. IUGR etiyolojisinde en sık suçlanan etken plasentadır (5). Ayrıca patogenezi, başlangıç zamanı, klinik sonuçları gibi ayrıştıkları birçok nokta olması nedeni ile erken başlangıçlı ve geç başlangıçlı olarak da ayrılmaktadır (6).

Yönetimde, maternal faktörlerin bir kısmı dışındaki diğer faktörlere müdahale edilememektedir. Bekle-gör yaklaşımı ele alındığı zaman ölü doğum en çok korkulan sonuçtur (3). İyatrojenik preterm doğum ise prematürite risklerini doğurmaktadır (7). Takip esnasında ultrasonografik (USG) parametreler ve Nonstres test (NST) kullanılmaktadır.

Epigenetik, DNA'nın sekans yapısına etki etmeden RNA protein ve DNA üzerinde fonksiyon ve regülasyon değişikliğine neden olan modifikasyonları kapsar. Epigenetik patern, embiyonik dönemden itibaren hücreye ve dokuya has bir şekilde gelişmekte, bu sayede hücre farklılaşması ile hücre fenotipini oluşturmaktadır. Epigenetik modifikasyonlar kalıtsaldır, çevresel faktörlerden etkilenir. Epigenetik

modifikasyonları; no-coding RNA'ların regülasyonu, histon modifikasyonları, DNA metilasyonu olmak üzere 3 ana başlıkta toplayabiliriz (8).

Yaşam için çok değerli olmalarından dolayı, DNA dizgilerinin bir kısmı korunur. Diğer bölgelerde ise kısıtlı değişiklikler gözlenmektedir. Kromozomal bütünlüğün korunması, rekombinasyonel olayların ve gen ifadesinin kontrolü rollerine sahip olduğu düşünülen DNA metilasyonu hakkında literatürde son yıllardaki çalışma miktarı artmaktadır. Bu çalışmalarda bu görevi üstlenen DNA-N-metiltransferaz (DNMT) enziminin polimorfik olduğu ve birçok hastalık patogenezi ile ilişkili olduğu saptanmıştır. DNMT polimorfizminin nörodejeneratif hastalıklar, hepatit B virüs enfeksiyonu, sistemik lupus eritematozus (SLE), tiroid hastalıkları, Helicobacter pylori enfeksiyonu ve gastrit gibi birçok hastalığın ilişkisi olduğu tespit edilmiştir. Obstetrik ve jinekolojik patolojiler arasında endometrium kanseri başta olmak üzere jinekolojik patolojiler, endometriozis, myom ve preeklampsi (PE) ile ilişkilendirilmiştir. DNMT grubunun (DNMT1, DNMT2, DNMT3A, DNMT3B ve DNMT3L) bilinen en az 5 üyesi vardır. DNMT1, CpG dinükleotit sekansındaki 5'-sitozinin metilasyonunu katalize eder ve hücre bölünmesi sırasında DNA metilasyon şablonlarının korunmasında kilit rol oynar (9).

Gen ekspresyonunun ayarlanması esnasında önemli olan bir diğer epigenetik yolak nükleozomda bulunan histonların asetilasyon ve deasetilasyonudur. Histonların asetilasyonunda rol oynayan iki ana enzim vardır. Bunlar HDAC ve HAT'dır. HDAC, birçok kanserin gelişiminde hedef genlerin ekspresyonuna yol açan epigenetik süreçlerin düzenlenmesinde önemli rol oynar. HDAC, deasetilazlar sınıfında olup, asetil gruplarını kopardığında lizin rezidüleri pozitif yüklenir. Bu işlemi histonların amino kuyruk bölgelerinde bulunan lizin rezidülerindeki ϵ -amino gruplarından asetil gruplarını kopararak gerçekleştirir. Pozitif yük ile yüklenen lizin rezidüleri DNA'ya sıkı bağlanır. Bu nedenle nükleozom yapısı daha yoğun bir hal alır. Hipoasetile durumdaki nükleozomlara bağlanamayan düzenleyici kompleksler, RNA polimeraz ve transkripsiyon faktörleri nedeniyle transkripsiyon gerçekleşmez. Aksi mekanizmada histon asetilasyonu sayesinde nötralize olan nükleozomlardaki yük sayesinde DNA transkripsiyonu gerçekleşir. Histon deasetilazlar metallo-enzimler sınıfında yer alıp evrimsel olarak korunmuştur. İnsanlarda dört sınıfa

ayrılır. Sınıf I'de; HDAC 1, 2, 3, 8, sınıf II'de; HDAC 4, 5, 6, 7, 9, 10, sınıf III'de; SIRT enzimleri, sınıf IV'de de HDAC 11 enzimleri yer almaktadır (10, 11). HDAC6, sınıf II HDAC grubuna aittir. Mikrotübül aracılı bir sitoplazmik enzim olan HDAC6, hücre göçü, hücre yayılması, immün sinaps oluşumu, viral enfeksiyon, yanlış katlanmış proteinlerin parçalanması ve stres granülü oluşumu gibi birçok önemli biyolojik süreci ortak proteinlerle kompleksler yoluyla düzenler. HDAC6'nın kansere bağlı birçok sinyal yolunun önemli bir düzenleyicisidir. Bu durum HDAC6'yı kanser tedavisi için uygun bir hedef haline getirebilir. HDAC6'nın anormal ekspresyonu çeşitli kanser hücrelerinde ve fare tümör modellerinde bildirilmiştir (12).

Çalışmamızda erken başlangıçlı IUGR, geç başlangıçlı IUGR ve sağlıklı gebeliklerin DNMT1 ve HDAC6 gibi epigenetik faktörlerini karşılaştırdık. Elde edilecek sonuçlar ile IUGR'ın çok kısıtlı olan tedavi seçeneklerinden öte epigenetik faktörlerin modifikasyonu ile IUGR'ın önlenmesi amacıyla kullanılabilirliğini tartışmayı amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. İntrauterin Gelişme Kısıtlılığı (IUGR)

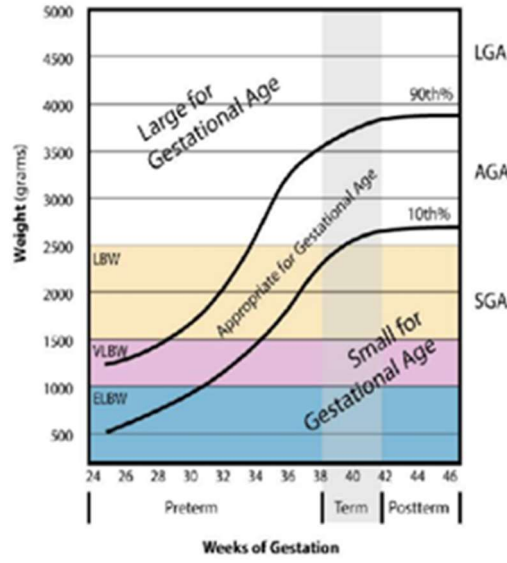
2.1.1. Normal Fetal Büyüme

Fetal büyüme üç farklı faza ayrılmaktadır. Başlangıç fazı; ilk 16 haftada gerçekleşir. Hücre sayısında hızlı artış ile karakterize olup hiperplazi temellidir. İkinci faz; 16-32'nci gebelik haftasında olup, hücresel hiperplaziyi ve hipertrofiyi birlikte içerir. Üçüncü faz; 32'nci gebelik haftasından sonra başlar ve hücresel hipertrofi aracılığı ile fetal büyüme olur (13). Yağ ve glikojen depolanması önemli miktarda bu süreçte meydana gelir. Büyüme miktarlarına bakıldığında birinci faz için 15'nci haftada 5 g/gün, ikinci faz için 15-20 g/gün, üçüncü faz için 30-35 g/gün'dür (14).

İntrauterin dönemin ilk yarısında, büyümeyi belirleyici temel faktör fetal genom iken ikinci yarısından itibaren giderek artan öneme sahip faktörler hormonal, çevresel ve besinsel etkilere (15-17). Örnek verecek olursak, fetal büyümenin ve kilo alımının düzenlenmesinde insülin, insülin benzeri büyüme faktörü I (IGF-I) ve IGF-II'nin önemli rolü olduğuna dair kanıtlar vardır (18, 19).

Leptin hormonu, doğum ağırlığı ile ilişkisi belirgin olup, ilk iki trimester boyunca artar (20-23). Ancak, IUGR olan vakalarda bu ilişki tartışmalıdır (24-26). Artmış maternal kan glisemi düzeyi makrozomi ile ilişkilendirilmiş olup, azalmış maternal kan glisemi düzeyi fetal büyüme kısıtlılığı ile ilişkilidir (27). Maternal trigliserid seviyeleri ile bebek doğum kilosu korelasyon gösteren çalışmalar mevcuttur (28, 29). Ayrıca maternal D vitamini ve diğer vitaminlerin seviyesinin de değerlendirildiği birçok çalışma olup bu ilişki henüz tartışmalıdır (30-32).

Büyüme kısıtlılığı gösteren fetuslarda; endotelin-1, interlökin-10 ve plasental atrial natriüretik faktör plazma konsantrasyonlarının artışın yanı sıra epidermal büyüme faktör fonksiyonundaki defektler de gösterilmiştir (33, 34).



Şekil 1. Gebelik haftasına göre fetal ağırlık beklentileri

2.2. Gebelik Yaşına Göre Küçük Fetüs (SGA)

2.2.1. SGA Tanımı

Gebelik yaşına göre doğum ağırlığının %10'dan az olması, düşük doğum ağırlığı (SGA) olarak tanımlanır (35, 36). Amerika Birleşik Devletleri ve Avustralya gelişmiş ülkelerde SGA ve IUGR prevalansı %11 civarında olup, gelişmekte olan ve geri kalmış ülkelerde ise %53 civarındadır (37, 38). SGA ve IUGR'ın etyolojik faktörleri arasında fetal, maternal, uterus/plasenta ve demografik faktörler bulunmaktadır. Literatüre göre, SGA ve IUGR'lı yenidoğanların yaklaşık %80'inde istenilen büyümenin yakalanmasının mümkün olduğunu ve normal boyuta postpartum 9. ayda ulaşabileceğini göstermiştir (39, 40). Bunun yanında SGA ve IUGR'lı yenidoğanlar, prematürite, neonatal asfiksi, hipotermi, hipoglisemi, hipokalsemi, polisitemi, sepsis ve ölüm gibi diğer komplikasyonlar açısından yüksek risk altındadır (41-43).

2.2.2. SGA Etiyolojisi

SGA etiyolojisi oldukça geniş bir spektruma sahip olup, maternal ve plasental faktörler başı çekmektedir (44). Kronik hastalıklar (hipertansiyon, böbrek hastalığı, kollajen damar hastalıkları), konjenital veya edinsel enfeksiyonlar (toksoplazmozis,

sıtma, kızamıkçık, HIV, sitomegalovirüs), beslenme durumu (annenin gebelikten önce düşük ağırlıkta olması) ve madde kullanımı gibi anneye ait faktörler (sigara, alkol, yasa dışı uyuşturucular, ilaçlar) SGA nedenleri arasındadır (45). Plasental faktörler arasında ise tek umbilikal arter, plasental hemanjiyomlar, plasenta previa gibi plasental faktörler yer alır (46). Bu faktörler dışında, SGA'lı doğan bebeklerin 1/3'ünde genetik bozuklukların eşlik ettiği bilinmektedir (47). Bloom sendromu, akondroplazi gibi sendromlar, trizomi 18 ve trizomi 21 gibi kromozomal anomaliler SGA'ya neden olabilecek genetik nedenlerin örneklerindendir (48, 49).

2.2.3. SGA Patofizyolojisi

Fetüs; hayatta kalma şansını en üst düzeye çıkarmak için besin kaynağındaki azalmaya yanıt olarak toplam boyutunu küçültmeye çalışır. Ancak beyin büyümesi, akciğer olgunlaşması ve eritrosit üretimini artırma gibi belirli işlevleri korur (50). Kalp, beyin, plasenta ve adrenal bezler gibi daha fazla hayati öneme sahip organlara kan sağlanmasına öncelik verir. Şiddetli SGA'lı bebeklerde toplam vücut yağında, yağsız kütlede ve kemik mineral içeriğinde azalma olur (51). SGA, simetrik ve asimetrik olarak ikiye ayrılır. Simetrik SGA'lı bebeklerde tüm organ sistemlerinde orantılı bir azalma vardır ve büyüme kısıtlaması tipik olarak gebeliğin erken döneminde başlar. Simetrik SGA insidansı %38 ile %45 arasında değişmektedir (52). Birinci üçayda; konjenital enfeksiyon ve kromozomal anormallikler gibi faktörler suçlanmıştır. SGA vakalarının yaklaşık %55 ile %61'ini oluşturan asimetrik SGA'da boy ve ağırlık etkilenirken baş çevresindeki büyüme korunur (53, 54). Asimetrik SGA'daki büyüme kısıtlaması, 2. veya 3. üçayların sonlarında başlar ve genellikle plasental veya maternal faktörlere bağlı olarak fetal beslenmedeki azalmadan kaynaklanır. Devam eden beyin büyümesine önceliklidir.

2.3. İntrauterin Gelişme Kısıtlılığı (IUGR)

IUGR, patolojik bir faktör nedeniyle fetüsün büyüme potansiyelini karşılayamaması olarak tanımlanır. En yaygın nedeni plasental disfonksiyondur (55). Klinik olarak; gebelik takiplerindeki ultrasonografi (USG) ölçümlerinde, fetal boyut persentil eğrilerinde bir gerilik ile tanımlanır. Bu gerilik genellikle rastgele bir zamanda fetal ağırlığın tahmini ile mümkün olabilir (56). Klinik uygulamada,

IUGR'dan şüphelenmek için sık kullanılan bir tanım olan gebelik yaşına göre küçük (SGA) tabiri, tahmini fetal ağırlık veya fetal abdominal çevre (AC)'ın 3. veya 10. persentil gibi belirli bir eşik değerin altında olması olarak tanımlanmaktadır. IUGR için bir gösterge olarak kullanılabilmesi için SGA'nın çeşitli kriterleri karşılaması gerekmektedir. İlk olarak, SGA olan fetüslerin çoğu sağlıklı ve yapısal olarak küçük fetüsler olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu durum IUGR'ın yanlış pozitif teşhisidir. İkincisi ise, bazı büyüme kısıtlılığı olan fetüsler, SGA olmayabilir. Çünkü belirtilen persentil değerlerinin üzerinde orijinal büyüme potansiyellerine bağlı olarak kalabilirler. Bu durum IUGR'ın yanlış negatif teşhisidir. Son olarak, SGA tanısı, kullanılan büyüme tablosuna büyük ölçüde bağlıdır. Bu nedenle, belirli bir popülasyonda SGA düşünülen fetüslerin veya bebeklerin oranına önemli bir etkisi olabilir.

2.3.1. IUGR Tanımı

2013 yılında, The American College of Obstetricians and Gynecologists (ACOG); tahmini fetal ağırlığın gestasyonel yaşa göre 10. persentilin altında olmasını olarak tanımlamıştır. Yine orta şiddette IUGR 3. ve 10. persentil arasında ve ciddi fetal büyüme kısıtlılığını ise 3. persentilin altı olarak tanımlamaktadır (57). Fakat bu tanımlama, fetal büyüme kısıtlılığı olan perinatal morbidite riski yüksek fetuslar ile sağlıklı küçük fetuslar ayırımında yetersizdir. Bunun üzerine Gordijn ve ark. IUGR için yeni bir tanımlama oluşturmuştur (58).

2.3.2. Erken başlangıçlı IUGR (<32 hafta):

1. USG'de AC < 3 persentil ya da tahmini tahmini fetal ağırlığın < 3 persentil ya da umbilikal arter Doppler (UAD) diastol sonu akım yokluğu ya da

2. Tahmini fetal ağırlık (TFA) ya da AC <10 persentil ve uterin arter pulsatilite indeksi >95 persentil ya da UAD pulsatilite indeksi (PI) >95 persentil.

2.3.3. Geç başlangıçlı IUGR (≥ 32 hafta):

1. AC < 3 persentil veya tahmini fetal ağırlığın <3 persentil veya

2. Aşağıdaki kriterlerin en az 3'ünün olması

-AC <10. persentil veya tahmini fetal ağırlığın <10. persentil

-AC veya tahmini fetal ağırlığın < 2 quartile

-Serebroplasental oran < 5 persentil veya UAD PI >95 persentil olarak tanımlanmaktadır.

2.3.4. Simetrik ve Asimetrik Fetal Büyüme Kısıtlılığı

Büyüme kısıtlılığının tipi, fetal hasarın başlangıcı veya etyolojisiyle ilişkilidir. Simetrik büyüme kısıtlılığı erken gebelik haftalardaki bir hasar nedeni ile ortaya çıkar. hem baş, hem de vücut büyüklüğünde orantılı bir azalmaya neden olan hücresel uyumsuzluklardan kaynaklanan hasarlara viral enfeksiyon, kimyasal maruziyet veya anöploidi örnek verilebilir (59). Sadece anöploidilerde baş, karın çevresine göre büyük olabilir. Bu da bu sınıflamanın defekti olarak görülebilir. Asimetrik büyüme kısıtlılığı geç gebelikte oluşan bir hasar nedeni ile ortaya çıkar. Hipertansiyon nedenli plasental yetmezlik bu duruma örnektir (60). Karaciğer depolarının ve glukoz transferinin azalmasına bağlı olarak, hücre sayısından çok hücre boyutu etkilenecek ve fetusun karın çevresi yetersiz seviyede gelişecektir. Somatik tipte gelişen bu büyüme kısıtlılığının besinler ve oksijenin beyne yönelmesinden dolayı olduğu düşünülmektedir. Bu durumda beyin ve dolayısı ile baş gelişimi devam eder. Buna beyin koruyucu denilmektedir. Asimetrik gelişim geriliklerinde, intrapartum ve neonatal komplikasyon riski artmıştır (61).

2.3.5. Erken ve Geç Başlangıçlı IUGR

IUGR'ın tanı aldığındaki gebelik haftasına göre, erken başlangıçlı (<32 hafta) ve geç başlangıçlı (≥ 32 hafta) olarak farklı bir şekilde sınıflandırılması gerektiği öne sürülmüştür (62). Bu sınıflandırmanın oluşturulmasındaki temel düşünce, IUGR'ın bu iki tipi arasındaki şiddet farklılığı, Doppler USG bulguları, eşlik ettiği hipertansif

komplifikasyonlar, plasental bulgular ve tedavideki yaklaşımlar bulunmaktadır (62-64). Erken başlangıçlı IUGR'ın sıklığı %0.5-1'dir. Geç başlangıçlı olana göre genellikle daha şiddetlidir ve anormal UAD ile daha fazla ilişkilendirilmiştir. Etiyolojide plasental patoloji varlığı sıklıkla erken başlangıçlı PE vakalarına benzerdir. Bu da erken başlangıçlı IUGR ile PE arasındaki güçlü bağı destekler (65). Bu nedenle, erken başlangıçlı IUGR'ın teşhis edilmesi çoğunlukla daha kolaydır. UAD ve duktus venozusta (DV) öngörülebilir bir USG bulgusu değişikliklerinin izlenmesi eğilimindedir (66). Erken başlangıçlı IUGR vakalarındaki yönetimin zorluğu, ölü doğum ve prematürite gibi komplifikasyonları önlemek için optimum doğum zamanlamasının belirlenmesidir (67). Geç başlangıçlı IUGR'ın sıklığı %5-10'dur. Erken başlangıçlı IUGR'ın aksine, daha iyi sonuçlara sahip olup, PE ile ilişkili olma olasılığı daha düşüktür. Genellikle normal UAD bulguları mevcuttur. Bu nedenle, geç başlangıçlı IUGR ile ilgili asıl problem tanı koymak üzerinedir. Fakat tanı genellikle geç preterm veya term dönemlerinde konulduğu ve prognozun daha olumlu olması göz önüne alındığında, yönetimi doğum zamanlaması açısından göreceli olarak kolaydır. Geç başlangıçlı IUGR tanısı esas olarak orta serebral arterdeki (MCA) akışa karşı düşük dirençle yansıtılan ve böylece düşük bir serebroplasental oran (CPR) oluşturan serebral dolaşımdaki adaptif değişikliklere dayanır (68, 69).

Tablo-1. Erken ve Geç Başlangıçlı IUGR karşılaştırılması

Erken Başlangıçlı IUGR	Geç Başlangıçlı IUGR
Yetersiz trofoblastik invazyon	Plasental yatak patolojileri kısmen daha hafif veya yok
Villus vasküler yapıda problem	Villus yapısında maturasyon bozukluğu
PE sıklığı artmış	PE sıklığı nistepen az
UAD ve uterin arter doppler PI artmış	UAD ve uterin arter doppler direnç artışı yok yada minimal
Ağır plasental yetmezlik ve kronik fetal hipoksi	Gelişim bozukluğuna bağlı besin ve oksijen alışverişinde yetersizlik – fetal hipoksi
Sıklık %1	Sıklık %3-5

IUGR konusunda çok uluslu bir araştırma olan Delphi araştırması yapılmıştır (58). Çalışmaya katılan uzmanlar tarafından, IUGR'I tanımlamak için literatüre dayalı 18 parametre belirlendi. Bu parametrelerin hem erken hem de geç IUGR'ın teşhisi için önemini 5 noktada Likert ölçeğinde derecelendirmeleri istenmiştir. Parametreler, soliter parametreler (diğer tüm parametreler normal olsa bile IUGR'ı teşhis etmek için yeterli olan parametreler) ve yardımcı parametreler (IUGR teşhisi için diğer anormal parametrenin) olarak tanımlandı. Kabul edilen parametreler için cut-off değerlerinin belirlenmesi için görüş birliği arandı.

Erken IUGR (<32 hafta) için, üç majör parametre (tahmini fetal ağırlık <3 persentil, AC <3 persentil ve umbilikal arter diyastol sonu akım kaybı) ve ek olarak dört parametre (AC veya tahmini fetal ağırlık <10 persentil, umbilikal arter veya uterin arter doppler pulsatilite indeksi (PI) >95 persentil) üzerinde anlaşmaya varıldı.

Geç IUGR ($\geq$ 32 hafta) için, iki majör parametre (AC veya tahmini fetal ağırlık <3 persentil) ve ek olarak dört parametre (Tahmini fetal ağırlık veya AC <10 persentil, AC veya tahmini fetal ağırlık büyüme çizelgelerinde 2 çeyreklik fark olması ve UA-PI >95 persentil veya CPR <5 persentil) tanımlanmıştır (58).

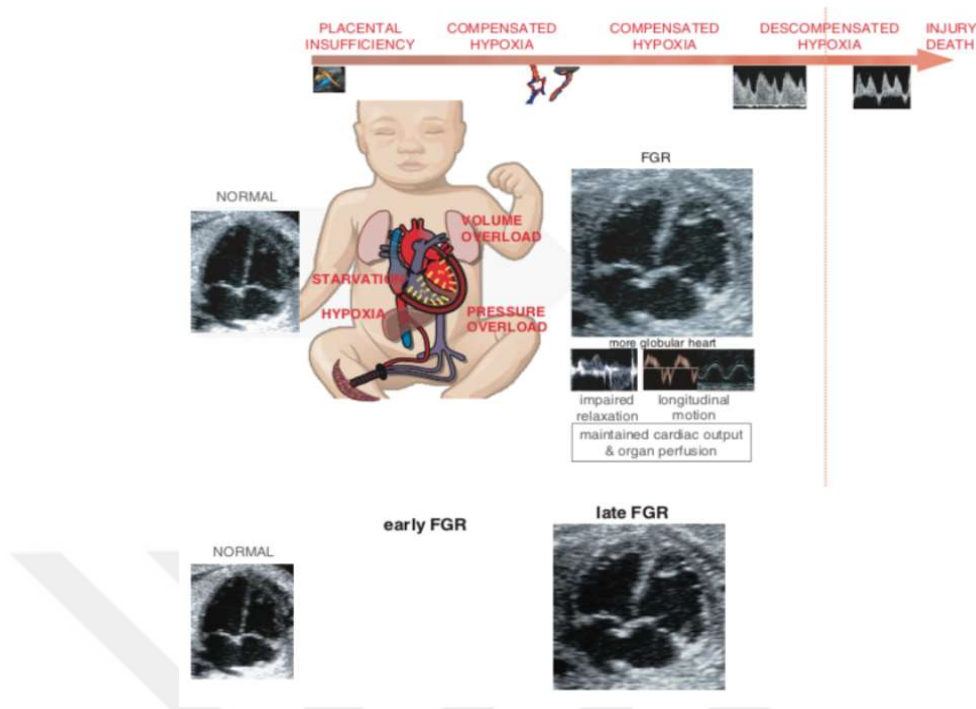
Tablo 2. Delphi sınıflamasına göre IUGR tanı kriterleri

Erken başlangıçlı IUGR (Gebelik Haftası <32 hafta)	Geç başlangıçlı IUGR (Gebelik Haftası $\geq$32 hafta)
AC/Tahmini fetal ağırlık <3 persentil veya umbilikal arter diastolik sonu akım kaybı	AC/Tahmini fetal ağırlık <3 persentil
veya	Veya aşağıdakilerden 2 tanesinin olması
1. AC/Tahmini fetal ağırlık <10 persentil birlikte	1. AC/Tahmini fetal ağırlık <10 persentil
2. Uterin arter PI >95 persentil ve/veya	2. Büyüme eğrisinde AC/tahmini fetal ağırlığın >2 çeyrekten fazla geçmesi
3. Umbilikal arter PI >95 persentil	3. CPR <5 persentil veya umbilikal arter PI >95 persentil

2.4. IUGR İçin Risk Faktörleri

Persentil ve doğum haftası ile ters orantılı olarak ölü doğum sıklığı artmıştır (70, 71). Ölü doğum riski erken preterm dönemde term dönemden daha belirgindir (72). Şiddetli IUGR vakalarında ölü doğumun önlenmesi için kabul gören tek strateji iatrojenik preterm doğumdur (73). IUGR'ın bağımsız bir risk faktörü olduğu bir konu da spontan erken doğumdur (74). Obstetrik komplikasyonlara bakıldığında IUGR ile ilişkili görülenler arasında en sık PE ve plasenta dekolmanı yer almaktadır (65). Her iki komplikasyonun patolojileri benzerlik göstermektedir (75, 76). Komplikasyon izlenmeyen term IUGR'lı bebeklerde perinatal mortalite riskinin, normal gelişim gösteren yenidoğanlara göre 5 ile 10 kat daha yüksek olduğu bildirilmektedir (77, 78).

Preterm bebeklerde IUGR'ın bulunması bazı prematüre bebek komplikasyonlarının riskini daha da arttırmaktadır. Bu komplikasyonlara intraventriküler kanama, solunum morbiditesi, metabolik bozukluklar ve nekrotizan enterokolit örnek verilebilir (79). Term bebeklerde IUGR; düşük Apgar skoru, düşük kordon kanı arter pH'sı (79), sarılık, hipoglisemi ve hipotermi gibi yenidoğan komplikasyonları riskini artırır (80). Aynı zamanda nöro-gelişimsel bozukluk açısından risk altındadır (81, 82), (Şekil 2).



Şekil 2. IUGR mekanizması

2.5. İntrauterin Gelişme Kısıtlılığında Tanı

Öncelikle gebelik haftası tayini ile fetüsün boyutları konusunda karşılaştırma yapmak gereklidir. Bu konuda; son adet tarihi (SAT), uterus fundus yüksekliği ve seri USG ölçümleri faydalı olabilir.

2.5.1. Uterus Fundus Yüksekliği

USG başta olmak üzere teknolojik yöntemlerin gelişmesi ile günlük pratikte kullanımı azalmıştır. En basit şekliyle, uterus fundusunun üst sınırı palpasyon ve perküsyon ile belirlenir. Ardından mezura veya santimetrelerle bölünmüş bir bant simfizinin üst kenarından, belirlenen bu üst sınıra kadar uygulanır. 18. ve 30. gebelik haftaları arasında, santimetre olarak uterus fundus yüksekliğinin ölçümü gebelik haftasına karşılık gelir. Bu nedenle beklenen değer ile ölçülen arasında 2-3 cm ve üzeri fark varsa ileri değerlendirme yapmak gereklidir (83).

2.5.2. USG Ölçümleri

Erken dönemde yapılan (CRL ölçümü) USG gebelik yaşının tayininde oldukça değerlidir (84). Teknik olarak en kolay ve en tekrarlanabilir ölçüm femur uzunluğu (FL) ölçümü iken, biparietal çap (BPD) ve baş çevresi (HC) ölçümleri kesit planına bağlı olarak etkilenebilirler ve kafatası üzerine uygulanan deformatif basınçlardan değişebilirler (85). İlk üçayda en değerli USG ölçüm parametresi CRL, 2. üçayda BPD ve HC, 3. üçayda ise abdominal çevredir (85).

2.5.3. Amniyotik Sıvı Ölçümü

Oligohidramniyos sıklıkla böbrek kan akımında azalma ve hipoksiye sekonder fetal idrar üretiminde azalma ile ilişkilendirilmiştir (86).

2.5.4. Doppler Velosimetri

Diyastol sonu akım kaybı veya ters akım ile karakterize anormal UAD velosimetrisi fetal büyüme kısıtlılığı ile ilişkilidir. NST ve/veya biyofizik profil gibi yöntemler ile desteklenerek kullanılması önerilmektedir. Plasenta nedenli büyüme kısıtlılığında ilk bulgular, periferik damarlarda (umbilikal ve MCA gibi) saptanır. Geç bulgular ise DV, aortik ve pulmoner akımlarındaki anormallikler ile saptanır. Ayrıca umbilikal arterde ters akım da saptanmaktadır (87). Duktus venozus Doppler akımının primer kardiyovasküler faktör olduğu bilinmektedir. Bu değişiklikler, miyokardiyal bozulma ve asidemiye göstermektedir. Duktus venozus akımındaki anormalliklerden bir hafta önce isthmus aortadaki Doppler akım anormallikleri kendini gösterir (87).

2.6. IUGR'da Yönetim

Daha önce de belirttiğimiz üzere IUGR'ın en yaygın etyolojik faktörü plasental disfonksiyondur. Erken başlangıçlı IUGR'da (<32 hafta) UAD akımında artan direnç, kardiyovasküler ve biyofiziksel parametrelerin daha sonraki bozulmasına yönelik bir belirteçtir (7, 88). Yönetimdeki primer zorluk, preterm doğum nedeni ile karşımıza çıkacak olan neonatal morbidite ve mortalitedir. Bu durum, fetal genel durum bozukluğu ve ölü doğum riskini arttırmaktadır (87). Geç başlangıçlı (≥ 32 hafta) IUGR'lı fetüslerde az da olsa UAD, ön planda serebral dolaşımda değişikliklerin olması kardiyovasküler sistemdeki prognozun kötüye

gittiğini göstermektedir (62, 89, 90). Geç başlangıçlı (≥ 32 hafta) IUGR'lı gebeliklerin yanlış tanı konulması ve takibinde fetal iyilik halinin bozulmasının saptanmasındaki zorluklar nedeniyle IUGR'ın olumsuz perinatal sonuçlarını görmekteyiz (91, 92). Plasental disfonksiyon için literatürde kabul gören, etkili bir antenatal tedavi yoktur. Bu nedenle IUGR tanısı konulduktan sonra, fetal takibin iyi yapılması ve doğum için uygun zaman ve faktörlerin (yenidoğan yoğun bakım ünitesi gibi) belirlenmesidir (93). Erken başlangıçlı IUGR'lı gebeliklerin yenidoğan yoğun bakım ünitelerinin olduğu birimlerde takibi, doğumu ve tedavisi daha iyi sonuçlar ile ilişkilendirilmiştir (94). Benzer şekilde, geç başlangıçlı IUGR (≥ 32 hafta) için uygun seviyede bir yenidoğan yoğun bakım ünitesi ile birlikte takiplerin yapılması oldukça önemlidir (95).

2.7. IUGR'lı Gebelerde Takip

Primer amaç, erken evrede fetal durumun kötüleşmesini saptayarak ölü doğumun önüne geçmektir. Bunun için erken tanı koyulması için, takip testlerinin doğru şekilde yapılması ve doğru zamanda doğum kararının alınması büyük önem arz etmektedir. Yakın izlem gereken ancak doğum kararı alınacak kadar kötü durumda olmayan fetüslerde genel durum bozukluğu ve ölüm doğumu önlemeye yönelik olarak takipler daha sık yapılmalıdır. Takip sırasında kullanılan fetal izlem testleri; non-stress test (NST), fetal hareketlerin takibi, amniyon sıvı miktarının değerlendirilmesini ve USG ile fetal hareketlerin izlenmesini kapsayan biyofizik profil (BPP) değerlendirmesi, fetal arteriovenöz dolaşım sisteminin Doppler ölçümü ile değerlendirilmesi şeklinde sıralanabilir. IUGR teşhisi sırasında gebelik haftasından bağımsız olarak anormal fetal aktivite ve kalp hızı ile karşılaşılabılır (3, 7, 90, 96). Buna karşılık UAD ölçümünde görülen plasental kan akımındaki direnç artışı kardiyovasküler sistemin de bozulacağına dair belirtilerdir. Bunlar erken ve geç başlangıçlı IUGR'lı fetüslerde farklılık gösterebilmektedir (89, 97, 98).

2.7.1. Fetal Kalp Atış Hızı İzlemi

Fetal kalp hızı takibi IUGR'lı gebeliklerin izleminde önerilir (90, 99, 100). Antepartum kardiyotokografi yani bilinen hali ile NST, tek başına değerlendirilebilirken, beş komponentli BPP olarak amniyon sıvı ölçümüyle birlikte

değerlendirilebilir (101, 102). Bazı fetal kalp atım hızı (FHR) özellikleri; fetal oksijenizasyonu, fetusün sinir ve kardiyovasküler sistemlerin olgunlaşma durumunu yansıtır. Normal FHR 110 ile 160 atım/dk arasındadır. Gebelik haftası ilerledikçe düşüş gösterebilir. FHR periyodik hızlanmaları genellikle fetal hareketlerle örtüşmektedir. Erken ikinci üçaydan itibaren gözlenir ve ilerleyen gebelikle birlikte büyüklük ve süre artar. Bunlar, taban çizgisinde en az 15 atım/dk ve 15 saniye süreli FHR artışları olarak tanımlanır. Bu ivmelerden iki veya daha fazlası “reaktif” bir model tanımlar. Reaktivite sıklığı 24-28. haftalarda %50 iken, gebeliğin 28-32. haftalarına gelindiğinde %85'e yükseldiği kabul edilir. Daha erken gebelik haftaları için FHR artışları için en az 10 atım/dk ve 10 saniyeden uzun süre kriterleri önerilir (103, 104). Reaktif olmayan (non-reaktif) bir FHR modeli, IUGR'lı bebeklerde 40 dakikalık bir gözlem süresi boyunca hızlanma göstermeyen bir modeldir. Ölü doğum oranı reaktif NST'yi takip eden haftada 1.9/1000'dir (negatif tahmin oranı %99.8'dir) (105). Herhangi bir ek bilgi olmadan, IUGR'lı bebeklerde haftada iki kez NST önerilir (105, 106). Daha ileri derecede bir fetal risk görüldüğünde ancak doğum kararı alınacak kadar kötü durumda olmayan fetüslerde amniyotik sıvı veya Doppler parametrelerinin değerlendirilmesi sıklıkla kullanılabilir. Non-reaktif bir NST, hipoksi için yüksek özgüllüğe sahip değildir. Bu nedenle fetal davranışın neden olduğu FHR varyasyonlarını ayırt etmek ve fetal iyilik halini belirlemek için ek testler gerekir (107).

2.7.2. Amniyotik Sıvı Hacminin USG ile Ölçümü

IUGR yönetimi için tek başına amniyotik sıvı hacmi (AFI) değerlendirmesi önerilmez. AFI'de bir azalma; artmış plasental fonksiyon bozukluğu ve hipoksiye neden olur. Bu durum fetal oligüri ve ayrıca membran rüptürüne neden olabilir (108, 109). Buna göre, azalmış AFI'nin önemini belirlemek için ek değerlendirme gereklidir. Oligohidramniyos, dört kadranda bakılan USG ile ölçülen AFI'nin 5 cm'nin altında ve/veya buna eşit olması ya da maksimum dikey olarak belirlenen tek kadranda ölçülen AFI'nin 2 cm'nin altında ve/veya buna eşit olması şeklinde tanımlanabilir (110). En geniş tek amniyotik sıvı cebinde ölçüm, oligohidramniyos teşhisinin fazla konulmasını önler ve daha çok tercih edilir. Artmış intrapartum FHR anormallikleri ile oligohidramniyos yakın ilişkili olup, artmış sezaryen ihtiyacını ve

azalmış 5. dakika APGAR skorunu etkilemektedir. Fakat doğumda asidozun belirteci değildir (111).

2.7.3. Biyofizik Profil Puanlaması

BPP puanlaması, IUGR için primer tanı yöntemi olarak önerilmemektedir. Modifiye BPP, fetal asit-baz dengesinin kısa vadeli bir göstergesi olarak NST'nin ve uzun vadeli plasental fonksiyonun bir göstergesi olarak maksimum amniyotik sıvı cebinin ölçümünün kombinasyonu ile değerlendirilir (112). BPP, NST ve maksimum amniyotik sıvı cebine ek olarak fetal solunum hareketlerini, kaba vücut hareketlerini ve tonusu içerir. Yani kısa vadeli asit-baz dengesinin dört göstergesini içerir (113). Modifiye BPP, non-reaktif NST veya tek kadran amniyotik sıvı ölçümünün 2 cm ve/veya altında olduğunda anormal kabul edilir. BPP, 30 dakika boyunca fetüsün USG ile gözlenmesi sonucunda hesaplanır. 30 saniyelik solunum veya hıçkırık epizodunun bir veya daha fazla gözlenmesi ile fetal solunum hareketleri pozitif kabul edilir. Fetal vücut hareketi, üç veya daha fazla ayrı vücut veya uzuv hareketi gözlemlendiğinde, fetal ekstremitelerde bir veya daha fazla ekstansiyon ve fleksiyon epizodu gözlemlendiğinde fetal tonus pozitif kabul edilir. BPP'nin her bileşeninin varlığı için 2 puan alınırken, yokluğu durumunda 0 puan alır. 4 puan anormal, 6 puan şüpheli ve 8-10 puan normal olarak kabul edilir. Ölü doğum oranı, modifiye BPP normal olarak görülen bir fetüste takip eden haftada 0.8/1000'dir (negatif tahmin oranı >99.9). (Şekil 3). IUGR fetüsleri, sırasıyla pH'da azalma sonucunda kalp hızı reaktivitesinde ve nefes alma hareketlerinde azalma, kaba vücut hareketinde azalma ve fetal tonusta kayıp şeklinde bir ilerleme gösterir (114-116). Modifiye BPP, reaktif olmayan bir NST saptandığı zaman fetal asit-baz dengesini değerlendirmek amacıyla kullanılabilir.

BPP skorlaması

Parametre	Normal (2 puan)	Anormal (0 puan)
NST	Reaktif	Non-reaktif
Fetal solunum hareketi	En az 30 sn süren fetal solunum hareketi (30 dk içinde)	Solunum hareketi yokluğu yada 30 sn den kısa sürmesi
Fetal hareket	En az 3 gövde hareketi	Hareketlerin azalmış yada olmaması
Fetal tonus	Ekstremiteler ve gövdede en az bir kez ekstansiyon sonrası fleksiyon olması	Azalmış yada olmaması (sürekli ekstansiyonda kalma veya açık parmaklar)
Amniyon sıvısı	En geniş cep 2 cm ve üzerinde olması	2 cm den küçük cep

Şekil 3. Fetal Biyofizik Skorlama Sistemi

2.7.4. Umbilikal Arter Doppleri (UAD)

UAD, plasental disfonksiyonun hemodinamik yönünü değerlendirmektedir. Bu nedenle IUGR'ın takibinde önerilir (117). UAD diyastol sonu akım hızında bir azalma meydana gelmeden hemen önce villöz dolaşımın yaklaşık 1/3'ünün hasar gördüğü tahmin edilmektedir. UAD ölçümünde akım kaybı veya ters UAD diyastol sonu hızı, villösvasküler akımın %50-70'inin perfüzyon bozukluğuna tekabül eder (118). Villösvasküler akımda yüksek direnç varlığı, çoğunlukla erken başlangıçlı IUGR'da yer alan plasental patoloji ile ilişkilidir. UAD, geç başlangıçlı IUGR'da sonucuna güvenilir bir değerlendirmede bulunamaz (119, 120). UAD dalga formu, pulsatilite indeksi (PI) kullanılarak veya görsel olarak diyastol sonu akım kaybı ya da ters akımın varlığı ile sınıflandırılabilir. Artan derecelerde plasental kan akışı direnci sırası ile anormal UAD dalga formu, yüksek pulsatilite indeksine, diyastol sonu akım kaybı varlığı veya ters akımı varlığına göre tanımlanır. Birincil faktör olarak plasental kan akımında direnç yüksekliğinin derecesi, erken başlangıçlı IUGR'da klinik progresyon ve ilişkili olarak fetal bozulma ve ölü doğum riskini belirlemektedir (121-123). Diyastol sonu akım, UAD pulsatilite indeksi yükseldiğinde hala mevcut ise, ortalama 2 hafta boyunca güvenli izlem yapılabilir.

Ancak diyastol sonu akım kaybı mevcut ise, meydana geldiği zamandan yaklaşık olarak ortalama 5 günden sonra kardiyovasküler bozulma artışı ile ilişkili olarak ölü doğum için risk oranı artarak ortalama 3,6'ya yükselir (124, 125). UAD'de diyastol sonu ters akım görüldüğünde, fetüsün iyilik durumunun bozulması için ortalama aralık 2 gündür ve ilişkili olarak ölü doğum için risk oranı 7,3'tür (125, 126). Normal UAD ölçümü olan hastalarda, doppler ölçümü, kaynaklara göre değişken olmakla birlikte haftada bir ile iki haftada bir arasında sıklıkta tekrarlanması önerilmektedir. Bununla birlikte, diyastol sonu akım kaybı mevcut olduğunda, fetüs doğum kararı alınacak kadar kötü durumda değil ise, haftada en az iki defa doppler izlemi önerilir. Diyastol sonu ters akım meydana geldiğinde, haftada en az üç defa doppler izlemi önerilir.

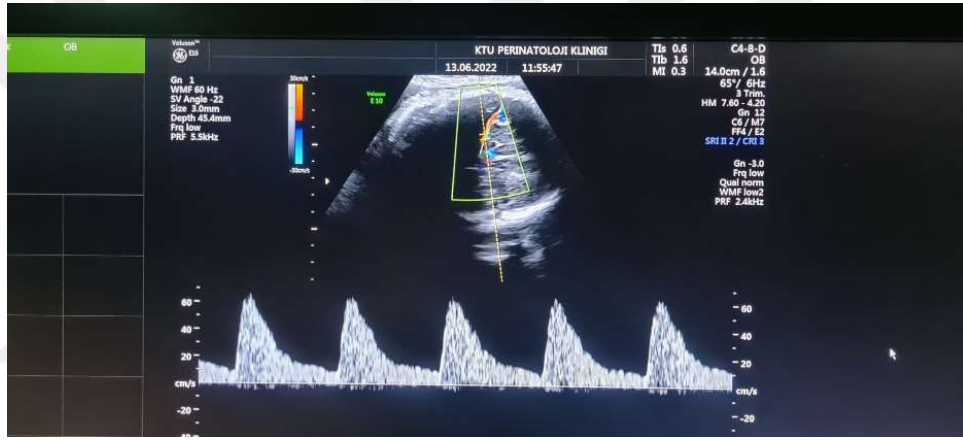


Şekil 4. Umbilikal Arter Doppler Ölçümü

2.7.5. Orta Serebral Arter (MCA) Doppleri

Literatürde, geç başlangıçlı IUGR vakalarında takipte MCA Doppleri önerilmektedir (Şekil 4). CPR'nin hesaplanmasında, UAD ve MCA pulsatilite indeksinin eşzamanlı olarak ölçümü kullanılır. Fetal hipoksemi durumunda hemodinamik bir yanıt olarak CPR ve MCA PI'ı azalır. Bu sebeple, anormal bir UAD PI oluşturacak kadar villöz kan akımı direncinin yükselmediği durumlarda bile plasental disfonksiyonu yansıtır. Term IUGR fetüslerin normal UAD'i olanlarda,

MCA PI'de azalma yaklaşık %20'sinde görülmektedir. Bu durum da kötü neonatal geçiş, intrapartum stress, olumsuz gelişimsel sonuç ve artmış sezaryen oranı ile ilişkilidir (127-129). CPR oranı, fetal hipoksi ile daha yakından ilişkilidir (130, 131). Ancak perinatal ölüm, fetal distress veya zayıf neonatal geçiş için UAD PI ile benzer bir öngörü doğruluğuna sahiptir. Geç başlangıçlı IUGR'da anormal MCA Doppler ve kardiyovasküler bozulma yakın ilişkilidir. Bu nedenle; UAD ölçümü normal olarak değerlendirilen hastalarda perinatal risk tahminini sağlamakta MCA Doppler ölçümü önemli yer tutmaktadır (132). MCA PI ölçümlerin 1 haftalık prognoz değerlendirmesinde olumsuz sonuçlar açısından yüksek risk incelemesi sebebiyle, haftada en az 1 defa değerlendirilmesi önerilir (133).

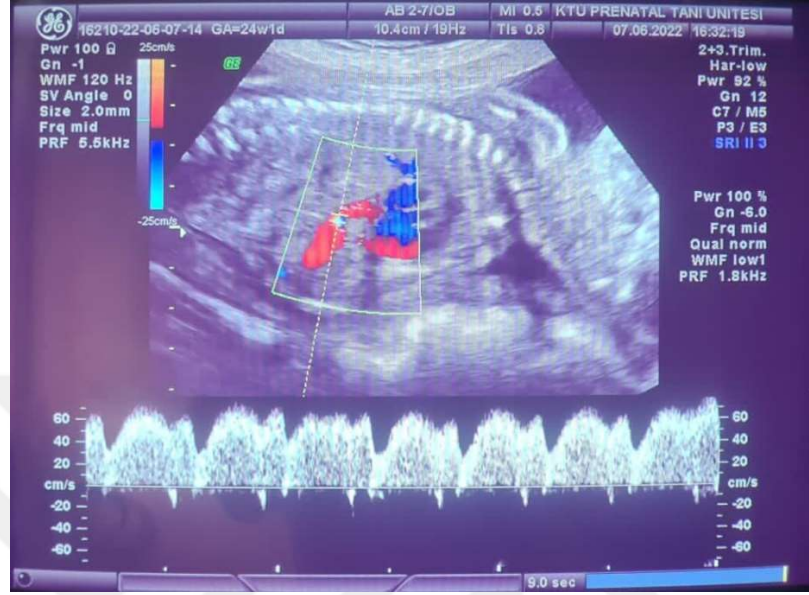


Şekil 5. MCA Doppler Ölçümü

2.7.6. Duktus Venozus Doppleri

Literatürde, Duktus venozusu (DV) erken başlangıçlı IUGR yönetimi için özel olarak yapılması gerektiğini belirten görüşler mevcuttur (134). Anormal DV Doppler ölçümü öncelikle erken başlangıçlı IUGR'da gözlenir. Fetal asit-baz dengesi ve ölü doğum riski hakkında bir tahmin sağlayabilir. Doğumda umbilikal arter pH'ı 7.20'den düşük olduğunda atrial sistolik akım kaybının olması veya tersine dönmesinin olasılık oranı %4.4'tür (135, 136). Fetal ölüm için atriyal sistolik akımın yokluğu veya ters akım olmasının ağırlıklı olasılık oranı %11.6'dır (137). Anormal DV Doppleri ayrıca eşlik eden anormal bir BPP'ye, NST'deki değişkenliğin azalmasını veya ölü doğumu tahmin etmeye yarar. Artmış DV PI olan fetüslerde venöz Doppler ölçümünün bozulma süreci ortalama olarak 2 gün kadar kısa olabilir

(138). Henüz doğum kriterlerini karşılamayan ve diyastolik akım kaybı görülen hastalarda en az haftada iki kez DV Doppler ölçümü önerilir. Ancak diyastol sonu ters akım gözlemlendiği takdirde haftada üç kez DV Doppler ölçümü önerilir.



Şekil 6. Duktus Venozus Doppler Ölçümü

2.7.7. Serebroplasental Oran (CPR)

Serebroplasental oran, MCA PI ve UAD PI'in birbirlerine oranı ile hesaplanır. Düşük CPR fetal kan redistribüsyonunu gösterir. Bu durum beyin koruyucu etkinin başladığının belirtisidir. CPR ilk olarak SGA taraması amacıyla kullanılmıştır. Birkaç çalışma sonucunda tek başına UAD kullanımından daha fazla bir katkısı olmadığı düşünülmüştür. Son yıllarda yapılan birçok çalışmada olumsuz neonatal sonuçları öngörmedeki başarısı olduğu düşünülmektedir. CPR için çeşitli tanısal değer tanımlanmıştır. CPR'nin <1 olduğu gebelerde olumsuz neonatal sonuç ihtimali artmaktadır.

2.8. İntrauterin Gelişme Kısıtlılığı Olan Gebelerde Entegre Yönetim

IUGR'da özellikle erken gebelik haftalarında ve erken başlangıçlı IUGR'da yönetim oldukça problemlidir. İyatrojenik preterm doğum gerekir ise prematüriteye bağlı problemlerle karşılaşmak mümkün iken, doğum geciktiriliğinde ise hipoksik ortamda kalan fetusun intrauterin ölüm veya serebral etkilenme riski artmaktadır. Bu

yüzden ideal doğum zamanını belirlemek kritiktir. Bu konuda Baschat ve arkadaşlarının geliştirdiği integre test kullanılabilir (139).

Tablo-3. IUGR Yönetimi

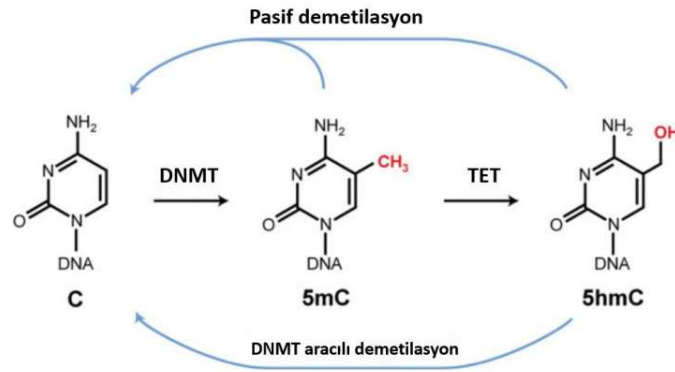
Bulgular	Yorum	Takip
Anormal UAD ve/veya CPR normal MCA ve venöz doppler BFP >8/10, AFI normal	Asfiksi son derece nadir İntrapartum artmış distres riski	İki haftada bir Doppler Haftalık BFP
Düşük MCA, Normal Venöz Doppler, BFP >8/10, AFI normal	Hipoksi mümkün, asfiksi nadir İntrapartum artmış distres risk	Haftalık Doppler BFP haftada iki kez
UAD diastolik akım kaybı, Normal Venöz Akım, BFP>6/10, Oligohidroamnios	Hipoksi genellikle, asidemi veya Asfiksi muhtemel, fetal sıkıntının başlangıcı	>34 hafta: doğum <32 hafta: antenatal steroid Bütün testler günlük tekrar
Artmış DV pulsatilite, BFP>6/10, Oligohidroamnios	Hipoksi genellikle, asidemi veya asfiksi muhtemel	>32 hafta: doğum <32 hafta: Antenatal steroid, duruma göre günde 3 kez
DV akım kaybı veya ters akım, Umbilikal vende pulsasyon, BFP	Kardiyovasküler ve metabolik sıkıntı, intrauterin ölüm yakın, perinatal mortalitede artış	Doğum

UAD: Umbilikal arter Doppler
CPR: Serebroplasental Oran
AFI: Amniyotik sıvı hacmi
MCA: Orta serebral arter
BFP: Biyofizik Profil
DV: Duktus venozus

2.9. DNA Metiltransferazlar (DNMTs)

DNA metil transferazlar, DNA metilasyonu DNMT'lar tarafından gerçekleştirilen enzimatik bir reaksiyondur. Sitozinin metillenmesi DNA replikasyonundan sonra 5. pozisyonundaki karbonuna metil donörü S-adenozilmethioninden (SAM) bir metil grubunun enzimatik transferi ile gerçekleşmektedir. Eklenmiş olan metil grubu baz eşleşmesinin kendisini etkilemez. Ama metil gruplarının dışarı doğru çıkıntı yapması DNA protein etkileşimlerini etkileyebilir.

DNMT enziminin memelilerde DNMT1, DNMT2, DNMT3a, DNMT3b ve DNMT3L olmak üzere toplam beş farklı grubu tanımlanmıştır (140). Bunlardan, animoterminal regülatör domeyni bulunmayan DNMT2 ve katalitik domeyni olmayan DNMT3L dışındakilerin hepsinde enzimatik aktivite görülmektedir. Diğer DNMT'ların iki farklı gruba ayrılmıştır: DNMT3a ve DNMT3b; de nova metiltransferazlar olup bunlar metillenmemiş DNA'yı substrat olarak kullanır. İkinci grup metiltransferazlar ise DNMT1 gibi bakım yapan metiltransferazlar olup metilasyon alanlarının replikasyonu ile oluşan yarı metillenmiş DNA'yı metillerler. Bakım metilasyonu kalıp DNA iplikçığının varolan metilasyon paternini yeniyi sentezlenmiş olana kopyalar. Böylece DNA metilasyonu nesiller boyunca mitotik ve mayotik hücre bölünmeleriyle transfer edilir.



Şekil 7. DNA demetilasyonu

2.9.1. DNA Metilasyonunun Patolojilerle İlişkisi

DNA metilasyonu ile oluşturulan epigenetik modifikasyonlar, normal ve normal olmayan gen regülasyonunun anlaşılmasındaki önem günden güne artmaktadır. Metilasyonun önemi, epigenetik değişiklikler ve patolojiler arasındaki ilişkinin değerlendirilmesinde yeni stratejiler oluşturmuştur. Genetik ve epigenetik değişikliklerin birikimiyle ve normal hücrenin tümör hücresine dönüşmesiyle kanser ortaya çıkar. Transkripsiyonun başladığı bölgede normal olmayan metilasyonun, tümör süpresör genleri baskıladığı görüşü yaygındır. DNA hipometilasyonu onkogenleri aktive etmektedir. Bu durumda kromozom yapısının kararlılığını yitirmesine neden olur. DNA hipermetilasyonu tümör süpresör genlerin susturulmasına yol açar.

Literatürde; ilk 6-18 ayda kazanılmış olan psikomotor becerilerin kaybı, ellerde stereotipik hareketler, mikrosefali, epileptik nöbetler ve mental retardasyon ile karakterize Rett Sendromu; İmmün Yetmezlik–Sentromerik İnstabilite–Yüz anomalileri sendromu (ICF) ve çeşitli mental retardasyonlar, fasial dimorfizm ve ürogenital anomalileri içeren X bağımlı alfa talasemi hastalıklarının DNA metilasyonunun kendisinden ya da metilasyon aracılığıyla gen regülasyonundaki mutasyonlara bağlı olduğu bulunmuştur.

Anneden veya babadan gelen kromozomlardaki spesifik genlerden yalnız birinin prezente olması demek olan genomik imprinting hatalarına bağlı gelişen Beckwith-Wiedemann Sendromu, Prader-Willi Sendromu gibi birçok hastalıkta DNA metilasyon defekti bulunmaktadır. Ayrıca imprinting'deki hatalar birçok kanserin gelişimiyle ilişkilidir. Çünkü imprinted olmuş genler görev açısından haploid'dir. Bu durumda imprinted olmuş bir tümör süpresör geninin süprese etme görevinin kaybı için yalnızca bir alelinin inaktive olması yeterlidir.

Literatür son yıllarda, kompleks psikiyatrik ve nörodejenaratif bozukluklarda epigenetik değişikliklerin etkisi ile ilgili çalışmalar üzerinde durmaktadır. Şizofreni ve davranış bozukluğu durumlarında, aralarında DNMT genlerinin de bulunduğu, DNA yeniden düzenlenmelerinin rolü olduğu konusunda araştırmalar mevcuttur (141).

Son yayınlanan makalelerde, DNA metilasyonundaki Düzensizliklerin yaşlanma süreciyle ilişkili olduğu bildirilmiştir. Yaşlanma nedeni ile oluşan epigenetik değişikliklerin kanser, nörodejeneratif patolojiler ve otoimmün patolojilerde rol oynadığı kanısı mevcuttur. Yaşlı kişilerde görülen bu metilasyon paternlerindeki sapmaların genomun kararsızlığının artmasına neden olur. Bu sayede yaşa bağlı oluşan hastalıkların, (kanser ve nörodejeneratif patolojiler vb) oluşumuna zemin hazırladığı düşünülmektedir. Özellikle DNMT1, DNMT3A ve DNMT3B olmak üzere DNMT polimorfizmi ve kanser arasında ilişki varlığını gösteren birçok çalışma rapor edilmiştir (142-144).

2.9.2 Polimorfizm

İnsan ırkının, DNA diziliminin %99.9'u özdeştir. Bu demek oluyor ki, bireyler arasında DNA diziliminde minör farklılıklar mevcuttur. Genom üzerindeki kodların proteine ya da RNA'ya çevrilen diziler gen olarak anılır. Mevcut DNA'nın %80'lik kısmından protein kodlamaz. Her bir genin kromozom üzerinde yerleştiği (lokus) spesifik bir yeri vardır. Genom üzerindeki az rastlanan, kalıcı ve ilerleyen nesillere aktarılan sonuçlara yol açan değişikliklere "mutasyon" denilmektedir. Tek gen defektleri; mitokondrial genomdaki, otozomal ya da seks kromozomları üzerindeki genlerin, bir ya da iki allelinde oluşan mutasyonlara bağlı olarak görülmektedir. Bir değişikliği polimorfizm olarak adlandırabilmek için çalışılan popülasyondaki bireylerin en az %1'inde belirli DNA bölgesinde farklılıklar olması gereklidir. Polimorfizmi ile mutasyon arasındaki fark görülme sıklığındaki değişiklik ile ilgilidir. Mutasyonlar polimorfizmlere göre çok daha azdır. Polimorfizm sıklığı farklı popülasyonlarda değişkenlik göstermektedir. Polimorfizm, tür içinde varyasyonların oluşmasına neden olan genetik farklılıklardır. Bireylerin hastalığa yakalanma ihtimalinin, metabolizmanın hastalığa verdiği cevabın, ilaçlara karşı gözlenen reaksiyonların farklı olmasından sorumludur (145).

İnsan genomu 23 çift kromozom üzerinde dizilmiştir. Yaklaşık 3,2 milyar baz çiftinden oluşmaktadır (3.290 MB= 3.2 x 10⁹). Genomdaki DNA dizgilerinin bir kısmı yaşam için çok önemlidir. Bu nedenle sürekli korunmaktadır. Bu kısım DNA'da ise sınırlı değişiklikler oluşmaktadır. Bu tip değişikliklerin olduğu DNA

bölümleri polimorfiktir. İlgili bölümdeki DNA dizgisi ise polimorfizm olarak adlandırılır.

Polimorfizmler çeşitli şekillerde meydana gelir:

1) Tüm birey düzeyindeki polimorfizmler fenotipik farklılıklardan sorumludur. Fenotipik polimorfizm olarak adlandırılır. Farklı yüz görünümü, deri rengi, göz rengi, boy uzunluğu vb. gibi fiziksel özellikler.

2) Birçok genetik farklılık gizli kalmıştır. Fenotipik olarak gözlenmeyebilir. Ancak laboratuvar yöntemleri ile saptanabilir. Değişikliğe uğramış enzimler, proteinler veya antijenler biyokimyasal polimorfizm olarak adlandırılır. ABO, Rh kan grubu ve insan lökosit antijen sistemi (HLA), G6PD enziminin elektroforetik ve aktivite değişiklikleri vb.

3) Kromozomların morfolojik özelliklerindeki farklılıklar kromozomal polimorfizm olarak adlandırılır. Kromozom heteromorfizmlerinin en sık tanımlanan şekilleri:

- a. Y kromozomunun uzun kolunun boyutunda değişiklikler
- b. Sentromerik heterokromatinin boyutunda değişiklikler
- c. Satellit boyutunda ve yapısında değişiklikler

4) DNA düzeyinde nükleotid farklılıkları DNA polimorfizmi'dir.

Sıkça rastladığımız polimorfizm terimi genellikle DNA polimorfizmini belirtmek amacı ile kullanılır. İnsan genomundaki genlerin çoğunluğu polimorfiktir. Yani aynı lokusta iki ya da daha çok farklı allel bulunabilir. Böylece bir popülasyonda farklı allellere bağlı olarak genetik olarak belirlenmiş iki veya daha çok alternatif fenotip görülebilir. Genetik çeşitlilik oranının yüksek olması dolayısıyla iki farklı bireyin (tek yumurta ikizleri dışında) genetik olarak birbirinin aynı olması mümkün değildir.

2.9.3. DNA Metiltransferaz Grubu

DNMT grubunun (DNMT1, DNMT2, DNMT3A, DNMT3B ve DNMT3L) bilinen en az 5 üyesi vardır. DNMT1 ve DNMT3 üyeleri iki alan içerir: Çeşitli etkileşim bölgelerine sahip N-terminal düzenleyici alan ve C-terminal katalitik alan. DNMT2 üyelerinde ise N-terminal alanı yoktur.

DNMT1, bu enzimler arasında en çok bulunan DNMT'dir. DNMT1, CpG dinükleotit sekansındaki 5'-sitozinin metilasyonunu katalize eder. Hücre bölünmesi sırasında DNA metilasyon şablonlarının korunmasında kilit rol oynar (9). DNMT1 ilk saflaştırılmış ve klonlanmış DNMT'dir (146). DNMT3A/3B, DNA'nın de-novo metilasyonunu katalize eder. Bu üç enzim, sıklıkla hedef genlerin promotör bölgelerinde bulunan CpG adalarının metilasyon reaksiyonlarını birlikte katalize eder (147).

2.10. HDAC6

DNA paketlenmesi, gen ekspresyonunun kontrolü için önemli bir basamak olup, paketlenmenin ilk aşamasında histon proteinleri rol oynamaktadır. Ökaryotik hücrelerde DNA, 5 tip histon proteini (H2A, H2B, H3, H4 ve bağlayıcı H1) ile paketlenerek nükleozom yapısını oluşturmaktadır. Nükleozom 146 baz çiftlik DNA'nın 1.65 dönüş yaparak histon oktameri üzerine sarılmasıyla oluşan bir yapı olup DNA'da tekrarlayan birimler halinde bulunmaktadır. Nükleozomu oluşturan histon proteinlerinin amino kuyruk bölgelerinin nükleozomun dışarısında kalması nedeniyle asetilasyon, metilasyon, fosforilasyon, ubikütinizasyon, sumolizasyon gibi çeşitli posttranslasyonel modifikasyonlar yapılabilmektedir. Modifikasyonlar tek başlarına ya da farklı kombinasyonlarda bulunarak kromatin yapısını değiştirmekte, bu sayede DNA'ya bağlanan proteinler için etkileşim yüzeyi oluşmakta ve gen ekspresyonu kontrolü başta olmak üzere replikasyon, tamir gibi birçok biyolojik olay kontrol edilmektedir (148).

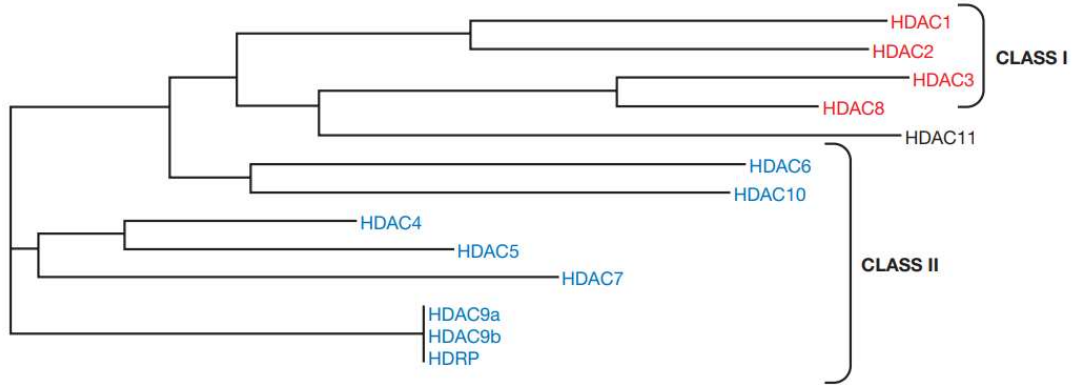
DNA'nın paketlenmesinde görevli olan histon proteinlerinin bazik amino-terminal uçları nükleozomdan çıkıntılar yapar. Bu durum bir takım posttranslasyonel modifikasyonlara uğrayabilir. Bu modifikasyonlar arasında; histon asetilaz

(HAT)'lar tarafından asetillenme ve histon metil transferaz (HMT)'lar tarafından metillenme yer almaktadır. Histonlar üzerinde yapılan bu değişiklikler, kromatinin yapısının gevşek ya da sıkı olma durumunu etkileyer. Bu durum gen ifadesinde regülatör rol oynar (149). Belirli bazı histon modifikasyonları öökromatinin ve heterokromatinin aktif ya da inaktif markırları olarak kullanılabilirler. H3 ve H4 histonlarının lizin rezidularından asetillenmesinin aktif kromatinle korelasyon gösterdiği, deasetilasyonun ise kromatinin daha sıkı bir şekilde paketlenerek genlerin inaktif duruma geçmesiyle sonuçlandığı bilinmektedir. Histon lizin metilasyonu, asetilasyonun aksine, hangi rezidue olduğuna göre aktivasyon ya da inaktivasyonla sonuçlanabilir. Bu yolla, histonlardaki spesifik modifikasyonlar, transkripsiyonel olarak aktif ve inaktif kromatinin belirlenmesinde bir çeşit “marker” olarak kullanılabilir. Histonlardaki modifikasyonların ve DNA metilasyonunun birlikte çalışarak gen ifadesinin durumunu belirlediği ve bu şekilde hücrenin yazgısının belirlenmesinde önemli rol oynadığı kabul edilmektedir (149). Histon deasetilaz inhibitörleri, histon asetilasyonunu yaparak bazı genlerin ifadesini değiştirmektedir. Ayrıca transkripsiyon faktörleri ve tümör baskılayıcı proteinler gibi histon olmayan bazı proteinlerin asetilasyonunu arttırarak biyolojik aktiviteleri etkilemektedir. HDAC inhibitörleri uygulanarak histonların deasetilasyonu engellenmektedir. Histonlar asetilli halde kalmakta ve transkripsiyonun sürekliliği sağlanmaktadır (150). Histon deasetilaz inhibitörleri ile yapılan in vivo çalışmalarda, tümör büyümesini ve metastazı önemli ölçüde azalttıklarını göstermiştir. Örneğin; kısa zincirli yağ asitlerinden butirik asitler ve türevleri kolon, prostat, endometrial ve servikal karsinomlarda çalışılmış, kanserli hastalarda hücre siklusunu etkileyerek bölünmeyi durdurduğu, farklılaşma ve apoptozu uyardığı gösterilmiştir (151, 152).

Histon deasetilazlar evrimsel olarak korunmuş metallo-enzimler olup insanlarda dört sınıfa ayrılır. Sınıf I; HDAC1, 2, 3, 8, sınıf II; HDAC4, 5, 6, 7, 9, 10, sınıf III; SIRT enzimlerini, sınıf IV ise HDAC11 enzimlerini içermektedir. Histon olmayan proteinlerin de deasetilasyonunu katalizlemeleri nedeniyle son yıllarda bu enzimlerle ilgili çok sayıda araştırma yapılmıştır (10, 11). HDAC inhibisyonunun hücre çoğalmasını durdurduğunun ve hücreleri farklılaşmaya ve/veya apoptoza yönettığının anlaşılmasından sonra HDAC inhibisyon aktivitesine sahip olan

bileşikler araştırılmış ve bazılarında tedavi amacıyla klinik faz çalışmalarına geçilebilmiştir (153).

HDAC6, sınıf II HDAC grubuna aittir (Şekil 5). Memeli hücrelerindeki ana sitoplazmik deasetilazdır. HDAC6, iki deasetilaz alanı ve bir C-terminal çinko parmağı barındırdığı için diğer tüm HDAC'lerden farklıdır. Tübülin, ısı şok protein (Hsp) 90 ve kortaktini deasetile edebilir. Mikrotübül aracılı bir sitoplazmik enzim olan HDAC6, hücre göçü, hücre yayılması, immün sinaps oluşumu, viral enfeksiyon, yanlış katlanmış proteinlerin parçalanması ve stres granülü oluşumu gibi birçok önemli biyolojik süreci ortak proteinlerle kompleksler yoluyla düzenler. HDAC6'nın kansere bağlı birçok sinyal yolunun önemli bir düzenleyicisidir. Bu durum HDAC6'yı kanser tedavisi için uygun bir hedef haline getirebilir. HDAC6'nın anormal ekspresyonu çeşitli kanser hücrelerinde ve fare tümör modellerinde bildirilmiştir (12).



Şekil 8. HDAC Sınıflaması

3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

3.1. Olgu Seçimi

Karadeniz Teknik Üniversitesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalında 2020-2021 yılları arasında toplam 79 gebe çalışmaya dahil edilmiştir. Gebeler erken başlangıçlı IUGR (<32 hafta) (n=25), geç başlangıçlı IUGR (≥32 hafta) (n=25) tanısı alan ve kontrol grubu olarak da ek hastalığı olmayan sağlıklı gebeler (n=39) olacak şekilde üç gruba ayrılmıştır. Hastane otomasyon sisteminden de yararlanarak vakaların demografik özellikleri (yaş, gebelik haftası, gravida, parite, doğum haftası) kaydedilmiştir.

3.2. Ultrasonografik Değerlendirme

Gebelere, Gordijn ve ark. tarafından yapılan IUGR sınıflamasına göre IUGR tanısı konuldu (154). Erken başlangıçlı, geç başlangıçlı IUGR ve sağlıklı gebelerin tamamına umbilikal arter Doppler (UAD), uterin arter Doppler PI, MCA Doppler, ölçümleri yapıldı. CPR oranı ise MCA Doppler PI/UAD Doppler PI formülü ile hesaplandı. USG değerlendirmeleri Voluson E10 (GENERAL ELECTRIC COMPANY) cihazı ile yapıldı.

3.3. Histopatolojik İnceleme

Doğum sonrası, preeklampatik ve kontrol grubu olan normal gebelerin fetal kordon bağı ve plasentaları patoloji bölümüne gönderilerek histopatolojik değerlendirme yapılması için fetal kordon bağı ve plasenta doku örnekleri %10'luk formaldehit içerisinde 48 saat fikse edilmiştir. Makroskobik inceleme sonrası alınan doku parçaları dereceli alkol serilerinden geçirilerek şeffaflaştırıldığı doku takip işleminden sonra, dokuların parafin blokları hazırlanarak bloklardan tam otomatik mikrotom ile 5 mikrometre kalınlığında kesitler alınmıştır. Kesitler deparafinizasyon işleminden sonra hematoksil-eozin ile boyanmıştır.

3.4. İmmünohistokimyasal İnceleme

Olgulara ait seçilen bloklardan immunohistokimyasal çalışma için 4 mikrometre kalınlığındaki kesitler, polilizin ile kaplanmış lama alınıp deparafinize edilmiştir. DNMT1 antikoru (Fine Test, Rabbit polyclonal) 1/200 dilüsyonda, HDAC6 antikoru (Bioassay Technology Laboratory, Rabbit polyclonal) 1/200 dilüsyonda kullanılarak Ventana Benchmark ULTRA (Ventana Medical Systems, Inc.) otomatik boyama cihazında boyama gerçekleştirilmiştir. Kromojen olarak DAB ultraview detection kit (Ventana Medical Systems, Inc.) kullanılmıştır. Boyalı lamalar su bazlı medium (DAKO) ile kapatılmıştır.

3.5. İmmünohistokimyasal Değerlendirme

DNMT1 ve HDAC6 boyalı preparatlar ışık mikroskopunda (Nikon Eclipse E200) KTÜ Tıbbi Patoloji Ana Bilim Dalında değerlendirilmiştir. 4 adet 40'lık büyütme alanındaki boyanma yüzdesi incelenmiş ve boyanma yoğunluğu tespit edilip ortalaması alınmıştır. Boyanmanın hem yoğunluğunu hem de yüzdesini birlikte değerlendirmek amacıyla H Skoru hesaplanmıştır. Boyanma yoğunluğu; boyanmanın olmayışı (0), zayıf kuvvet (+1), orta şiddette (+2) ve şiddetli (+3) boyanma şeklinde olmak üzere skorlanmıştır. Boyanma yüzdesi ile boyanma yoğunluğunun çarpımlarının toplanması sonucu elde edilen H skorunun hesaplanması için $H \text{ skor} = \sum (\text{boyanma yüzdesi} \times \text{boyanma yoğunluğu})$ denklemi kullanan MS Excel macro dosyası oluşturulmuştur. İmmünohistokimyasal değerlendirme sonucunda hücrelerde sitoplazmik ve nükleer boyanma paternleriyle karşılaştırıldığından, boyanmanın hücresel lokalizasyonuna göre hem sitoplazmik hem de nükleer olmak üzere ayrı H skorları hesaplanarak inceleme yapılmıştır.

3.6. İstatistiksel Değerlendirme

İstatistiksel analiz için IBM SPSS Statistics 16.0 kullanıldı. Gruplar arasında karşılaştırma için normal dağılım göstermediği için parametrik olmayan Bonferoni düzeltilmeli Kruskal-Wallis Testi kullanıldı. $P < 0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

3.7. Finansal Destek ve Etik Kurul Kararı

Proje (Proje no: TTU-2020-8849) Karadeniz Teknik Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Destek fonu tarafından desteklenmiştir. Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu onayı alınmıştır (Tarih: 13.03.2020, Karar No: 2020/30).



4. BULGULAR

Tüm çalışma grubunun doğum haftaları değerlendirildiğinde ortalama doğum haftası 36 ± 3.27 hafta olarak saptanmıştır. Demografik verilerin tamamı Tablo-3’de belirtilmiştir. Gruplar arasında yaş, gravida, ve parite açısından istatistiksel olarak anlamlı fark izlenmemiştir ($p > 0.05$, $p > 0.05$, $p > 0.05$, sırasıyla). Tüm gruplar arasında (Grup I ve Grup II, Grup II ve Grup III, Grup I ve Grup III arasında) gebelik haftası açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark izlenmiştir ($p < 0.01$, $p < 0.01$, $p < 0.01$, sırasıyla). Gruplar arasında doğum haftası açısından karşılaştırma yapıldığında geç başlangıçlı IUGR grubu ile kontrol grubu arasındaki karşılaştırma dışında istatistiksel olarak anlamlı bir fark izlenmiştir ($p < 0.01$, $p < 0.01$, $p > 0.05$, sırasıyla).

Tablo 4. Grupların Demografik Verileri

	Grup I			Grup II			Grup III			<i>P*</i>		
	Geç Başlangıçlı IUGR (≥ 32 Hf)			Erken Başlangıçlı IUGR (< 32 Hf)			Kontrol Grubu			<i>P1</i>	<i>P2</i>	<i>P3</i>
	(n=25)			(n=25)			(n=39)					
Yaş (yıl)	30	$\pm$	5.75	30	$\pm$	4.58	32	$\pm$	4.33	>0.05	>0.05	>0.05
Gebelik Haftası	34	$\pm$	1.20	27	$\pm$	2.21	38	$\pm$	1.62	<0.01	<0.01	<0.01
Gravida	2	$\pm$	1.28	2	$\pm$	1.20	3	$\pm$	1.76	>0.05	>0.05	>0.05
Parite	1	$\pm$	1.07	1	$\pm$	1.00	1	$\pm$	1.25	>0.05	>0.05	>0.05
Doğum haftası	37	$\pm$	1.93	32	$\pm$	3.70	37	$\pm$	1.65	<0.01	<0.01	>0.05

*Kruskal Wallis testi kullanılmıştır.

P1: Grup I ve Grup II’nin kıyaslanması

P2: Grup II ve Grup III’in kıyaslanması

P3: Grup I ve Grup III’ün kıyaslanması

Grupların ultrasonografik değerlendirmelerinin karşılaştırılması Tablo 4’de verilmiştir.

Tablo 5. Grupların Ultrasonografik Değerlendirmelerinin Karşılaştırılması

	Grup I			Grup II			Grup III			<i>P*</i>			
	Geç Başlangıçlı			Erken Başlangıçlı			Kontrol						
	IUGR (≥32 Hf)			IUGR (<32 Hf)			Grubu			<i>P1</i>	<i>P2</i>	<i>P3</i>	
	(n=25)			(n=25)			(n=39)						
Umbilikal arter PI	0.99	±	0.30	1.24	±	0.25	0.82	±		0.11	<0.01	<0.01	<0.05
Uterin arter PI	0.86	±	0.29	1.17	±	0.32	0.67	±		0.09	<0.01	<0.01	<0.05
MCA PI	1.48	±	0.44	1.50	±	0.39	1.32	±		0.25	>0.05	>0.05	>0.05
CPR	0.71	±	0.33	0.88	±	0.32	0.62	±		0.07	>0.05	<0.01	>0.05

*Kruskal Wallis testi kullanılmıştır.

P1: Grup I ve Grup II’nin kıyaslanması

P2: Grup II ve Grup III’in kıyaslanması

P3: Grup I ve Grup III’ün kıyaslanması

Umbilikal arter Doppler (UAD) PI açısından gruplar kendi aralarında istatistiksel olarak karşılaştırıldığında, geç başlangıçlı IUGR ve erken başlangıçlı IUGR grupları arasında ($p<0.01$); geç başlangıçlı IUGR ve kontrol grubu arasında ($p<0.05$) ve erken başlangıçlı IUGR ve kontrol grubu arasında anlamlı bir fark saptanmıştır ($p<0.01$).

Uterin arter Doppler PI açısından gruplar kendi aralarında istatistiksel olarak karşılaştırıldığında, geç başlangıçlı IUGR ve erken başlangıçlı IUGR grupları arasında ($p<0.01$); geç başlangıçlı IUGR ve kontrol grubu arasında ($p<0.05$) ve erken başlangıçlı IUGR ve kontrol grubu arasında ($p<0.01$) istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmıştır.

MCA Doppler PI incelemesinde ise gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p>0.05$, $p>0.05$, $p>0.05$, sırasıyla).

CPR açısından gruplar kendi aralarında istatistiksel olarak karşılaştırıldığında, geç başlangıçlı IUGR ve erken başlangıçlı IUGR grupları arasında ($p>0.05$); geç

başlangıçlı IUGR ve kontrol grubu arasında ($p>0.05$) istatistiksel olarak anlamlı fark izlenmemiştir. Erken başlangıçlı IUGR ve kontrol grubu arasında anlamlı bir fark saptanmıştır ($p<0.01$).

DNMT1 ve HDAC6 bulgularının tamamı Tablo 5’te verilmiştir.

Tablo 6. Grupların HDAC6 ve DNMT1 Değerlendirmelerinin Karşılaştırılması

	Grup I Geç Başlangıçlı IUGR (≥ 32 Hf) (n=25)			Grup II Erken Başlangıçlı IUGR (<32 Hf) (n=25)			Grup III Kontrol Grubu (n=39)			<i>P*</i>		
										<i>P1</i>	<i>P2</i>	<i>P3</i>
HDAC-6 Sitoplazmik	7.96	±	30.34	8.96	±	33.35	5.92	±	39.36	>0.05	<0.01	>0.05
HDAC-6 Nukleer	64.80	±	29.59	75.20	±	39.06	56.53	±	37.55	>0.05	>0.05	>0.05
DNMT-1 Sitoplazmik	120	±	30.55	132.80	±	31.95	92.56	±	30.58	>0.05	<0.01	<0.01
DNMT-1 Nukleer	118.80	±	37.89	135.60	±	29.87	84.35	±	38.71	>0.05	<0.01	<0.01

*Kruskal Wallis testi kullanılmıştır.

P1: Grup I ve Grup II’nin kıyaslanması

P2: Grup II ve Grup III’in kıyaslanması

P3: Grup I ve Grup III’ün kıyaslanması

Gruplar arasında HDAC6 sitoplazmik açısından erken başlangıçlı IUGR ve kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark izlenmiş olup ($p<0.01$), diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark izlenmemiştir ($p>0.05$, $p>0.05$, sırasıyla). Gruplar arasında HDAC6 nükleer açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark izlenmemiştir ($p>0.05$, ($p>0.05$), ($p>0.05$, sırasıyla).

Gruplar arasında DNMT1 sitoplazmik açısından erken başlangıçlı IUGR ve kontrol grubu ile ($p<0.01$), geç başlangıçlı IUGR ve kontrol grubu arasında ($p<0.01$) istatistiksel olarak anlamlı fark izlenmiştir. Geç başlangıçlı IUGR ve erken başlangıçlı IUGR arasında ise istatistiksel olarak anlamlı bir fark izlenmemiştir ($p>0.05$). Gruplar arasında DNMT1 nükleer açısından, erken başlangıçlı IUGR ve kontrol grubu ile ($p<0.01$) ve geç başlangıçlı IUGR ve kontrol grubu arasında ($p<0.01$) belirgin olarak istatistiksel olarak anlamlı bir fark izlenmiştir. Geç başlangıçlı IUGR ve erken başlangıçlı IUGR arasında ise istatistiksel olarak anlamlı bir fark izlenmemiştir ($p>0.05$).

Doğum haftası ile DNMT1 nükleer ve sitoplazmik, HDAC6 sitoplazmik arasındaki değerlendirmede DNMT1 nükleer ile doğum haftası arasında negatif korelasyon saptanmıştır. DNMT1 sitoplazmik ve HDAC6 sitoplazmik arasında istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon saptanmamıştır (Tablo 6).

Tablo 7. Doğum haftası ile DNMT1 nükleer ve sitoplazmik, HDAC6 sitoplazmik karşılaştırması

Doğum Haftası	DNMT1 sitoplazmik	DNMT1 nükleer	HDAC6 sitoplazmik
Pearson Korelasyon Analizi	-0.205	-0.231*	-0.161
p	0.054	0.029	0.131

*: Korelasyon <0.05'den (2-tailed) anlamlı.

5. TARTIŞMA

Biyolojik özelliklerimiz aslında sadece genlerimizle değil, epigenetik bilimine göre DNA'ların dışında da kalıtsal rolü olan mekanizmalar vardır (155, 156). Epigenetik mekanizmalar aracılığıyla ebeveynler yaşadıkları çevrenin etkilerini çocuklarına ve hatta birkaç kuşak sonraki torunlarına bile aktarabilir. Epigenetik mekanizmalar içinde en iyi bilenen DNA metilasyonu yani DNA'ya bir kimyasal olan metilin eklenmesidir. DNA'nın metilasyonu genlerin baskılanmasına ve ilgili genin ifadesinin değişmesine neden olur; histon asetilasyonu da genlerin geri aktive olmasını sağlar (157). Genomu tamamen aynı olan tek yumurta ikizlerine bakıldığında epigenetik profillerinin oldukça farklı olması aslında bu mekanizmaların sanıldığından daha aktif olduğunu ve dahası kalıtımda etkili olabileceğini göstermektedir. Sigara içme alışkanlığı, alkol tüketimi, fiziksel aktivite, obezite, psikolojik veya fiziksel stres, travma, bulaşıcı hastalıklar, çevre kirliliği, gece vardiyası ve sayısız diğer çevresel faktörler epigenomlarımızı değiştirebilir (158-160).

Son yıllarda epigenetik değişikliklerin metilasyon ve genomik imprinting (klasik ve geçici) gebelik komplikasyonlarının (IUGR, eklampsi, intra uterin ölüm) erken tanısı için tartışılmaktadır (161, 162). IUGR modelinde epigenetik modifikasyonların glukoz homeostazında yer alan anahtar genlerin ekspresyonunu düzenlediğini gösteren çok sayıda kanıt bulunmaktadır (163). IUGR kemirgen modelinde pankreas gelişimi ve β -hücre fonksiyonunda kritik olan Pdx-1 gen düzenlenmesinin epigenetik mekanizması iyi açıklanmıştır. IUGR fetüslerinden izole edilen pankreas adacıklarında, Pdx-1'in proksimal promotorundaki H3 ve H4 asetilasyonunda belirgin azalma bildirilmiştir. Bu histon modifikasyon değişiklikleri ise Pdx-1 genine kritik bir aktivatörün bağlanmasını ve dolayısıyla transkripsiyonunu etkiler (164). DNMT-null farelerin erken gebelik döneminde öldüğü, DNMT'lerdeki mutasyonların insanlarda anormal fetal gelişim ve immün yetmezliğe neden olduğu gösterilmiştir (165). Ma ve ark. yaptığı çalışmada preeklampsili plasentalarda ve hipoksik trofoblastlarda DNMT1 ekspresyonunun arttığını ve bunun sonucunda IGF-

1 düzeylerinin azaldığını göstermiştir (166). Ot ve ark.nın yaptığı çalışmada, DNA metilleyici bir enzim olan DNMT2 sitoplazmik seviyelerinin preeklampsi grubunda kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek olduğunu saptanmıştır. DNMT2 nükleer seviyeleri için gruplar arasında anlamlı bir fark saptanmıştır. Çalışmamızda, DNMT1 nükleer-sitoplazmik açısından kontrol grubuna göre kıyaslandığında erken ve geç başlangıçlı IUGR'da istatistiksel olarak anlamlı daha yüksek bulunmuştur. Bunun nedeni, düşük DNMT1 seviyelerinin hücrelerin hayatta kalmasına ve tümör oluşumunu teşvik eden genetik ve epigenetik değişiklikleri biriktirmesine izin vermesiyle açıklanabilir (167). IUGR olan gebelerde DNMT1 nükleer ve sitoplazmik değerlerinin ise birbirine benzer oldumasi ve artmış DNMT1 nükleer ve sitoplazmik seviyesinin hücresel düzeyde canlılığı kısıtladığı ve apoptoza yönlendirerek fetal gelişimi kısıtladığını düşünüyoruz.

IUGR'nin en yaygın nedeni olan uteroplasental yetmezlik, oksijen, glukoz ve amino asitler gibi kritik substratların fetüsün beslenmesini sınırlayarak redoks durumunun değişmesine ve oksidatif strese neden olur (168, 169). Çalışmalarda sıklıkla moleküler dizin belirteci olarak kullanılmakta olan bu genlerden, *Pdx-1* erken dönem pankreas gelişiminde gereklidir (170). Değiştirilmiş metabolik ortamın, *Pdx-1*'in susturulmasıyla sonuçlanan bir dizi epigenetik modifikasyona aracılık ederek *Pdx-1* transkripsiyonunu azalttığı gösterilmiştir (164). Bu güncel çalışmalar, birincil adacıklarda in vivo olarak *Pdx-1*'deki histon kodunu karakterize eden ve bir anahtar gendeki epigenetik modifikasyonların ilerlemesini diyabet gelişimine bağlayan bilgimize sahip ilk çalışmalardır. Diyabet meydana geldiğinde, *Pdx-1*'in proksimal promotöründe CpG adasının metilasyonu meydana gelir. *Pdx-1*'in belirgin baskılanmasında kilitlenir (164). Fetüslerde ve 2 haftalık yavrularda *Pdx-1* mRNA düzeylerinin %50, erişkin IUGR hayvanlarında ise %80 oranında azaldığı saptanmıştır (171). *Pdx-1* mRNA seviyelerindeki bu azalmanın, *Pdx-1* geninin transkripsiyonundaki bir azalmaya mı yoksa mRNA stabilitesindeki bir artışa mı ikincil olduğunu belirlemek için, in vivo transkripsiyonel raportör farelerde *Pdx1-LacZ*'de IUGR'yi indüklenmiştir (172). Transgen, 4.5 kb fare *Pdx-1* promotörü ve çevrilmemiş bölgenin (UTR) çoğunu içeren 4.6 kb XbaI-XbaI fragmanı tarafından düzenlenir. Bugüne kadar açıklanan önemli *Pdx-1* geliştiricilerinin çoğu, bu promotör fragmanına dahil edilmiştir. Endojen *Pdx-1* mRNA seviyeleri %50.4

oranında azalır ve transgen *LacZ* mRNA'sı paralel olarak yaklaşık %57.1 oranında azalır ($p<0.05$). Bu durum da, IUGR'nin proksimal 4.5-kb *Pdx-1* 5' bölgesindeki transkripsiyonel promotör veya güçlendirici elementlerin aktivitesini azaltarak *Pdx-1* mRNA'yı düzenlediğini gösterir.

Ex-4'ün IUGR adacıklarında DNA metilasyonunu önlediği mekanizmalar muhtemelen H3K9 dimetilasyonunun önlenmesi ile ilişkilidir, bu da IUGR adacıklarında *Pdx-1* ile ilişkili birincil DNA metiltransferaz olan DNMT1'in alımını önler (173). Bir dizi çalışma, H3K9 metilasyonunun DNA metilasyonundan önce geldiğini göstermiştir (174, 175). DNMT'lerin sadece histon H3 (H3K9) üzerindeki lizin 9'da metillenen kromatin üzerinde etkili olabileceği de öne sürülmüştür (176). Histon metiltransferazlar, DNA metilazlarına bağlanarak DNA metilasyonunu başlatır (174).

Histon metilasyonu genellikle H3 ve H4 histonlarının lizin veya arginin kalıntılarında meydana gelir. Histon metilasyonu, histon asetilasyonundan daha kararlı ve dayanıklıdır. Histon deasetilazlar (HDAC'ler), kromatin sıkılaşmasına yol açan ve gen transkripsiyonunu inhibe eden histonları deasetile eder. Çalışmalar, HDAC3'ün epigenetik imzasının Tip2 DM'li hastalarda kontrol deneklerine kıyasla önemli ölçüde yükseldiğini ortaya koymaktadır (177). HDAC inhibisyonunun β -hücre proliferasyonu, işlevi ve glukoz homeostazında koruyucu bir rolü olduğu gözlemlenmiştir (178). HDAC7'nin yüksek ekspresyonu salgılama yeteneğini bozarak sağlıklı grupla karşılaştırıldığında T2DM hastalarında HDAC7 adacık hücrelerinin ekspresyon seviyesi önemli ölçüde artmıştır (179). HDAC inhibitörü MC1568, artan HDAC7.15 ekspresyonunun neden olduğu bu sekretuar bozukluğu kurtarmıştır.

Araştırmalar, tip 2 diyabetin patogenezindeki β -hücre işlev bozukluğunun kısmen *Pdx-1* promotöründeki histon modifikasyonlarından kaynaklandığını göstermiştir (180). Gao ve arkadaşları, pankreas adacık *Pdx-1* geni proksimal promotör histon modifikasyonlarının *Pdx-1* için çok önemli olduğunu ortaya çıkarmıştır. Bir yakalama büyüme (CG) modelinde ekspresyon ve adacık β -hücresi fonksiyonu (181). Hayvan deneyleri, CG sıçanlarında Liraglutide tedavisinin *Pdx-1* ekspresyonunu arttırdığını ve histon H3 lizin 9 dimetilasyonunun (H3K9me2) işe

alım düzeyinin azaldığını göstermiştir. *Pdx-1* proksimal promotörü, birincil adacık kültüründe, HDAC inhibitörü (Trichostatin A, TSA) ve Liraglutide tedavisinden sonra artan *Pdx-1* mRNA ekspresyonunun, *Pdx-1* proksimal promotöründe H3K9me2 alımı ile negatif ilişkili olduğu bulunmuştur.

Pdx-1'in yok edilmesi T2DM'ye yol açar ve IUGR'de artmış promotör DNA metilasyonu, histon H3 ve H4 deasetilasyonu ve H3K9 metilasyonu gösterir. Bu epigenetik değişiklikler ve *Pdx-1* ekspresyonundaki azalma, HDAC inhibisyonu ile tersine çevrilebilir (164). Bizim çalışmamızda HDAC6 stoplazmik açısından erken başlangıçlı IUGR grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı artış izlenmiştir. HDAC6 nükleer ve sitoplazmik açısından gruplar arasındaki diğer karşılaştırmalar istatistiksel olarak anlamlı değildir. Fakat DNMT1 nükleer ve sitoplazmik sonuçlarından farklı olarak, HDAC6 nükleer ve sitoplazmik açısından değerler karşılaştırıldığında HDAC6 nükleer seviyesinin HDAC6 sitoplazmik seviyesine göre 10 kat artış gösterdiği saptanmıştır. Bu sonuca göre, HDAC6 nükleer ile sitoplazmik karşılaştırılmasının IUGR açısından tanısal değere sahip olacağını düşünüyoruz. Daha öncesinde bahsedildiği üzere preeklampsili plasentalarda ve hipoksik trofoblastlarda DNMT1 ekspresyonunun arttığını ve bunun sonucunda IGF1 düzeylerinin azaldığı çalışmalarda gösterilmişti. Yine çalışmamıza baktığımızda DNMT1, IUGR ve kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark izlenmiştir. Ayrıca doğum haftalarının gruplar arasındaki karşılaştırmasında, geç başlangıçlı IUGR grubu ile kontrol grubu arasındaki karşılaştırma dışında anlamlı fark izlenmiştir. Erken başlangıçlı IUGR'lı gebelerde ağır plasental yetmezlik ve kronik fetal hipoksi gelişmesi bize iyatrojenik erken doğumu beraberinde getirmektedir. Bizim çalışmamızda da erken başlangıçlı IUGR ile kontrol grubu arasında doğum haftası açısından istatistiksel olarak anlamlı fark izlenmiştir. Çalışmamızda DNMT1 nükleer ile doğum haftası arasında negatif korelasyon saptanması IUGR fizyopatolojisindeki en önemli etiyolojik faktörün plasental disfonksiyon olduğu göz önünde bulundurulduğunda, plasental hipoksiye erken maruziyetin DNMT1 ekspresyonu artışıyla karşımıza çıkmış olabileceğini göstermektedir. Bu sonuçlara göre DNMT1 ekspresyonunun epigenetik olarak bize erken başlangıçlı IUGR ve en önemlisi erken doğum planlaması gibi kötü obstetrik sonuçlarla ilişkili olabilmesi açısından tanısal değere sahip olacağını düşünüyoruz.

Çalışmanın başlıca kısıtlılığı, DNMT1 ve HDAC6 için plasentaya odaklanmamız ve bu moleküllerin hem maternal serum seviyelerinin hem de kordon kanı düzeylerinin incelenmemesi olabilir. Ancak plasental incelemede bulunan anlamlı sonuçlar gelecekte hem anne hem de fetus için daha ayrıntılı incelemelerin yolunu açacaktır. Ayrıca plasentaların doğum sonrası incelenmesi yerine plasentasyonun daha erken dönemlerinde incelenmesi özellikle erken başlangıçlı IUGR grubunda patogenezin oluşumu ile ilgili belirsizlikleri giderebilir ve bu moleküller için oluşan farklılığın plasentadaki başlangıç dönemine ait bilgi verebilir.



6. SONUÇ

Çalışmamızda, plasenta materyalindeki, sitoplazmik ve nükleer HDAC6 seviyeleri ile IUGR arasında bir ilişki saptanmamıştır. Ayrıca sitoplazmik ve özellikle nükleer DNMT1 seviyeleri IUGR'lı gebelerde artmış olarak izlenmiş ve DNMT1 nükleer ile doğum haftası arasında negatif korelasyon saptanmıştır. Bu nedenle DNMT'lerin artışının IUGR tanısında ve/veya prognozun iyileştirilmesi amacıyla kullanılabileceğini ve DNMT seviyesinden IUGR'lı gebe yönetimi ve doğum zamanı planlanmasında prognostik faktör olarak yararlanılabileceğini düşünmekteyiz. HDAC'lerden farklı olarak DNMT'lerin epigenetik modifikasyonlar vasıtası ile patogenezdaki rolü değerlendirilebilir. Bu sayede, moleküllerin aday terapötik hedefler ile prognoz olumlu yönde iyileştirilebilir. Bu sonuçlar bu epigenetik modifikasyonların IUGR patogenezindeki rolüne işaret etmektedir ve bu moleküllerin aday terapötik hedefler arasında olabileceğini düşündürmektedir. Çalışmamız tek merkezli, kısıtlı hasta sayısı ile yapılması nedeni ile kesin sonuçlara ulaşabilmek için çok merkezli randomize kontrollü deneysel çalışmalara ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

1. Miller J, Turan S, Baschat AA. Fetal growth restriction. In *Seminars in perinatology* (Vol. 32, No. 4, pp. 274-280). WB Saunders: Elsevier; 2008.
2. Nardoza LMM, Caetano ACR, Zamarian ACP, Mazzola JB, Silva CP, Marçal VMG, Lobo TF, Peixoto AB, Araujo Júnior E. Fetal growth restriction: Current knowledge. *Archives of Gynecology and Obstetrics*. 2017; 295(5): 1061-77.
3. Giuliano N, Annunziata ML, Tagliaferri S, Esposito FG, Imperato OCM, Campanile M, Signorini MG, Di Lieto A. IUGR management: New perspectives. *Journal of Pregnancy*. 2014; 2014: 620976.
4. Bertino E, Occhi L, Di Nicola P. The late preterm IUGR and/or SGA. *Italian Journal of Pediatrics*. 2014; 40(2): 1-1.
5. Maulik DEV. Fetal growth restriction: The etiology. *Clinical Obstetrics and Gynecology*. 2006; 49(2): 228-35.
6. Crispi F, Llurba E, Dominguez C, Martín-Gallán P, Cabero L, Gratacos E. Predictive value of angiogenic factors and uterine artery Doppler for early-versus late-onset pre-eclampsia and intrauterine growth restriction. *Ultrasound in Obstetrics and Gynecology: The Official Journal of the International Society of Ultrasound in Obstetrics and Gynecology*. 2008; 31(3): 303-09.
7. Lausman A, Kingdom J, Gagnon R, Basso M, Bos H, Crane J, Davies G, Delisle MF, Hudon L, Menticoglou S, Mundle W, Ouellet A, Pressey T, Pylypjuk C, Roggensack A, Sanderson F. Intrauterine growth restriction: Screening, diagnosis, and management. *Journal of Obstetrics and Gynaecology Canada*. 2013; 35(8): 741-48.
8. Gurugubelli Krishna R, Bhat BV, Bobby Z, Papa D, Badhe B, Chinnakali P. Are global DNA methylation and telomere length useful biomarkers for identifying intrauterine growth restricted neonates? *The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine*. 2021; 34(5): 761-64.
9. Szyf M, Bozovic V, Tanigawa G. Growth regulation of mouse DNA methyltransferase gene expression. *Journal of Biological Chemistry*. 1991; 266(16): 10027-30.
10. Gray SG, Ekström TJ. The human histone deacetylase family. *Experimental cell research*. 2001; 262(2): 75-83.
11. Glozak MA, Sengupta N, Zhang X, Seto E. Acetylation and deacetylation of non-histone proteins. *Gene*. 2005; 363: 15-23.

12. Li Y, Shin D, Kwon SH. Histone deacetylase 6 plays a role as a distinct regulator of diverse cellular processes. *The FEBS Journal*. 2013; 280(3): 775-93.
13. Malas M, Desticioğlu K, Cankara N, Evcil E, Özgüner G. Fetal dönemde fetal yaşın belirlenmesi. *SDÜ Tıp Fakültesi Dergisi*. 2007; 14(1): 20-24.
14. Williams RL, Creasy RK, Cunningham GC, Hawes WE, Norris FD, Tashiro M. Fetal growth and perinatal viability in California. *Obstetrics and Gynecology*. 1982; 59(5): 624-32.
15. Holmes R, Holly J, Soothill P. A prospective study of maternal serum insulin-like growth factor-I in pregnancies with appropriately grown or growth restricted fetuses. *BJOG: An International Journal of Obstetrics & Gynaecology*. 1998; 105(12): 1273-78.
16. Çetin E, Malas MA. Fetal büyümeye etki eden çevresel faktörler. *SDÜ Tıp Fakültesi Dergisi*. 2005; 12(2): 65-72.
17. Evcil H. Gebelikte beslenmenin fetal büyüme üzerine etkileri. *Selçuk Tıp Dergisi*. 2007; 24(1): 49-59.
18. Chiesa C, Osborn JF, Haass C, Natale F, Spinelli M, Scapillati E, Spinelli A, Pacifico L. Ghrelin, leptin, IGF-1, IGFBP-3, and insulin concentrations at birth: is there a relationship with fetal growth and neonatal anthropometry? *Clinical Chemistry*. 2008; 54(3): 550-58.
19. Forbes K, Westwood M. The IGF axis and placental function. *Hormone Research in Paediatrics*. 2008; 69(3): 129-37.
20. Harigaya A, Nagashima K, Nako Y, Morikawa A. Relationship between concentration of serum leptin and fetal growth. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 1997; 82(10): 3281-84.
21. Tamura T, Goldenberg RL, Johnston KE, Cliver SP. Serum leptin concentrations during pregnancy and their relationship to fetal growth. *Obstetrics & Gynecology*. 1998; 91(3): 389-95.
22. Sagawa N, Yura S, Itoh H, Mise H, Kakui K, Korita D, Takemura M, Nuamah MA, Ogawa Y, Masuzaki H, Nakao K, Fujii S. Role of leptin in pregnancy-A review. *Placenta*. 2002; 23(Suppl. A): S80-86.
23. Yüksel H, Odabaşı AR, Kafkas S, Attila H, Demircan Sezer S, Karul A, Okay B, Ergün O. Maternal ve fetal leptinin fetal büyümeye etkisi. *Uzmanlık Sonrası Eğitim ve Güncel Gelişmeler Dergisi*. 2006; 3(4): 242-48.
24. Tzschoppe A, Struwe E, Rascher W, Dorr HG, Schild RL, Goecke TW, Beckmann MW, Hofner B, Kratzsch J, Dotsch J. Intrauterine growth

restriction (IUGR) is associated with increased leptin synthesis and binding capability in neonates. *Clinical Endocrinology*. 2011; 74(4): 459-66.

25. Jaquet D, Gaboriau A, Czernichow P, Levy-Marchal C. Relatively low serum leptin levels in adults born with intra-uterine growth retardation. *International Journal of Obesity*. 2001; 25(4): 491-95.
26. Kyriakakou M, Malamitsi-Puchner A, Militsi H, Boutsikou T, Margeli A, Hassiakos D, Kanaka-Gantenbein C, Papassotiriou I, Mastorakos G. Leptin and adiponectin concentrations in intrauterine growth restricted and appropriate for gestational age fetuses, neonates, and their mothers. *European Journal of Endocrinology*. 2008; 158(3): 343-48.
27. Haeri S, Khoury J, Kovilam O, Miodovnik M. The association of intrauterine growth abnormalities in women with type 1 diabetes mellitus complicated by vasculopathy. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. 2008; 199(3): 278.e1-5.
28. Vrijkotte TG, Algera SJ, Brouwer IA, van Eijsden M, Twickler MB. Maternal triglyceride levels during early pregnancy are associated with birth weight and postnatal growth. *The Journal of Pediatrics*. 2011; 159(5): 736-42.
29. Nolan CJ, Riley SF, Sheedy MT, Walstab JE, Beischer NA. Maternal serum triglyceride, glucose tolerance, and neonatal birth weight ratio in pregnancy: A study within a racially heterogeneous population. *Diabetes Care*. 1995; 18(12): 1550-56.
30. Khalessi N, Kalani M, Araghi M, Farahani Z. The relationship between maternal vitamin D deficiency and low birth weight neonates. *Journal of Family & Reproductive Health*. 2015; 9(3): 113.
31. Fang K, He Y, Mu M, Liu K. Maternal vitamin D deficiency during pregnancy and low birth weight: A systematic review and meta-analysis. *The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine*. 2021; 34(7): 1167-73.
32. Kabaran S, Aylin A. Maternal ve fetal sağlık üzerinde B12, folik asit, A, D, E ve C vitaminlerinin etkileri. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*. 2013; 70(2): 103-12.
33. Gabriel R, Alsat E, Evain-Brion D. Alteration of epidermal growth factor receptor in placental membranes of smokers: Relationship with intrauterine growth retardation. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. 1994; 170(5): 1238-43.
34. Baschat AA. Pathophysiology of fetal growth restriction: implications for diagnosis and surveillance. *Obstetrical & Gynecological Survey*. 2004; 59(8): 617-27.

35. Divon MY, Chamberlain PF, Sipos L, Manning FA, Platt LD. Identification of the small for gestational age fetus with the use of gestational age-independent indices of fetal growth. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. 1986; 155(6): 1197-01.
36. Lindqvist P, Molin J. Does antenatal identification of small-for-gestational age fetuses significantly improve their outcome? *Ultrasound in Obstetrics and Gynecology: The Official Journal of the International Society of Ultrasound in Obstetrics and Gynecology*. 2005; 25(3): 258-64.
37. McCowan LM, Figueras F, Anderson NH. Evidence-based national guidelines for the management of suspected fetal growth restriction: Comparison, consensus, and controversy. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. 2018; 218(2): S855-68.
38. Lee ACC, Katz J, Blencowe H, Cousens S, Kozuki N, Vogel JP, Adair L, Baqui AH, Bhutta ZA, Caulfield LE, Christian P, Clarke SE, Ezzati M, Fawzi W, Gonzalez R, Huybregts L, Kariuki S, Kolsteren P, Lusingu J, Marchant T, Merialdi M, Mongkolkeha A, Mullany LC, Ndirangu J, Newell ML, Nien JK, Osrin D, Roberfroid D, Rosen HE, Sania A, Silveira MF, Tielsch J, Vaidya A, Willey BA, Lawn JE, Black RE. National and regional estimates of term and preterm babies born small for gestational age in 138 low-income and middle-income countries in 2010. *The Lancet Global Health*. 2013; 1(1): e26-36.
39. Saenger P, Czernichow P, Hughes I, Reiter EO. Small for gestational age: short stature and beyond. *Endocrine Reviews*. 2007; 28(2): 219-51.
40. Harding J, McCowan L. Perinatal predictors of growth patterns to 18 months in children born small for gestational age. *Early Human Development*. 2003; 74(1): 13-26.
41. Pallotto EK, Kilbride HW. Perinatal outcome and later implications of intrauterine growth restriction. *Clinical Obstetrics and Gynecology*. 2006; 49(2): 257-69.
42. Quiñones JN, Stamilio DM, Coassolo KM, Macones GA, Odibo AO. Is fetal gender associated with adverse perinatal outcome in intrauterine growth restriction (IUGR)? *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. 2005; 193(3): 1233-37.
43. Köksal N, Özkan H, Gider C, Kılıçbay İ, Kılıçbay F, Can S, Öcal M. Gestasyon haftasına göre düşük doğum ağırlığı (SGA) olan bebeklerin uzun süreli izlemi. *Güncel Pediatri*. 2004; 2: 73-79.
44. Romo A, Carceller R, Tobajas J. Intrauterine growth retardation (IUGR): Epidemiology and etiology. *Pediatric Endocrinology Reviews*. 2009; 6(Suppl 3): 332-36.

45. Tsukamoto H, Fukuoka H, Koyasu M, Nagai Y, Takimoto H. Risk factors for small for gestational age. *Pediatrics International*. 2007; 49(6): 985-90.
46. Saenger P, Reiter E. Genetic factors associated with small for gestational age birth and the use of human growth hormone in treating the disorder. *International Journal of Pediatric Endocrinology*. 2012; 2012(1): 1-12.
47. Walenkamp MJ, Wit JM. Single gene mutations causing SGA. *Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2008; 22(3): 433-46.
48. Suhag A, Berghella V. Intrauterine growth restriction (IUGR): Etiology and diagnosis. *Current Obstetrics and Gynecology Reports*. 2013; 2(2): 102-11.
49. Fuke T, Nakamura A, Inoue T, Kawashima S, Hara KI, Matsubara K, Sano S, Yamazawa K, Fukami M, Ogata T, Kagami, M. Role of imprinting disorders in short children born SGA and Silver-Russell syndrome spectrum. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2021; 106(3): 802-13.
50. Tudehope D, Vento M, Bhutta Z, Pachi P. Nutritional requirements and feeding recommendations for small for gestational age infants. *The Journal of Pediatrics*. 2013; 162(3): 81-89.
51. Lapillonne A, Braillon P, Claris O, Chatelain P, Delmas P, Salle B. Body composition in appropriate and in small for gestational age infants. *Acta Paediatrica*. 1997; 86(2): 196-200.
52. Katz J, Wu LA, Mullany LC, Coles CL, Lee AC, Kozuki N, Tielsch JM. Prevalence of small-for-gestational-age and its mortality risk varies by choice of birth-weight-for-gestation reference population. *PLoS ONE*. 2014; 9(3): 92074.
53. Jelliffe-Pawłowski LL, Hansen RL. Neurodevelopmental outcome at 8 months and 4 years among infants born full-term small-for-gestational-age. *Journal of Perinatology*. 2004; 24(8): 505-14.
54. Maciejewski E, Hamon I, Fresson J, Hascoet J. Growth and neurodevelopment outcome in symmetric versus asymmetric small for gestational age term infants. *Journal of Perinatology*. 2016; 36(8): 670-75.
55. Pardi G, Marconi A, Cetin I. Pathophysiology of intrauterine growth retardation: role of the placenta. *Acta Paediatrica*. 1997; 86(423): 170-72.
56. Lei X, Zhang Y, Fang F, Wu T, Chen Y, Zhang J. Choosing the best newborn anthropometric measure associated with the risks and outcomes of intrauterine growth restriction. *Clinical Pediatrics*. 2015; 54(14): 1315-21.

57. Chauhan SP, Gupta LM, Hendrix NW, Berghella V. Intrauterine growth restriction: comparison of American College of Obstetricians and Gynecologists practice bulletin with other national guidelines. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. 2009; 200(4): 409-15.
58. Gordijn SJ, Beune IM, Thilaganathan B, Papageorghiou A, Baschat AA, Baker PN, Silver RM, Wynia K, Ganzevoort W. Consensus definition of fetal growth restriction: a Delphi procedure. *Ultrasound in Obstetrics & Gynecology*. 2016; 48(3): 333-39.
59. Çoşkun B, Gülümser Ç, Çoşkun B, Artuk C, Karaşahin KE. Impact of Syrian refugees on congenital TORCH infections screening in Turkey. *Journal of Obstetrics and Gynaecology Research*. 2020; 46(7): 1017-24.
60. Elmas B, Kinci MF, Gök İE, Alkan A, Toğrul C, Sarikaya E. Is higher IgE levels in preeclamptic pregnancies suggest autoimmune pathophysiology? *Cukurova Medical Journal*. 2019; 44: 547-54.
61. Sankaran S, Kyle PM. Aetiology and pathogenesis of IUGR. *Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynaecology*. 2009; 23(6): 765-77.
62. Mureşan D, Rotar IC, Stamatian F. The usefulness of fetal Doppler evaluation in early versus late onset intrauterine growth restriction. Review of the literature. *Medical Ultrasonography*. 2016; 18(1): 103-109.
63. Crovetto F, Crispi F, Scazzocchio E, Mercade I, Meler E, Figueras F, Gratacos, E. First-trimester screening for early and late small-for-gestational-age neonates using maternal serum biochemistry, blood pressure and uterine artery Doppler. *Ultrasound in Obstetrics & Gynecology*. 2014; 43(1): 34-40.
64. Aviram A, Sherman C, Kingdom J, Zaltz A, Barrett J, Melamed N. Defining early vs late fetal growth restriction by placental pathology. *Acta Obstetrica et Gynecologica Scandinavica*. 2019; 98(3): 365-73.
65. Kweider N, Huppertz B, Wruck CJ, Beckmann R, Rath W, Pufe T, Kadyrov M. A role for Nrf2 in redox signalling of the invasive extravillous trophoblast in severe early onset IUGR associated with preeclampsia. *PLoS ONE*. 2012; 7: e47055.
66. Baser E, Celik IH, Bilge M, Kasapoglu T, Isik DU, Yalvac ES, Tapisiz ÖL, Ozdemirci S. Abnormal Umbilical Artery Doppler is Utilized for Fetuses with Intrauterine Growth Restriction Birth at 28^{0/7}–33^{6/7} Gestational Weeks. *Fetal and Pediatric Pathology*. 2020; 39(6): 467-75.
67. Galan HL. Timing delivery of the growth-restricted fetus. In *Seminars in Perinatology* (Vol. 35, No. 5, pp 262-69). WB Saunders: Elsevier; 2011.

68. Aditya I, Tat V, Sawana A, Mohamed A, Tuffner R, Mondal T. Use of Doppler velocimetry in diagnosis and prognosis of intrauterine growth restriction (IUGR): A Review. *Journal of Neonatal-Perinatal Medicine*. 2016; 9(2): 117-26.
69. DeVore GR. The importance of the cerebroplacental ratio in the evaluation of fetal well-being in SGA and AGA fetuses. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. 2015; 213(1): 5-15.
70. Imdad A, Yakoob MY, Siddiqui S, Bhutta ZA. Screening and triage of intrauterine growth restriction (IUGR) in general population and high risk pregnancies: a systematic review with a focus on reduction of IUGR related stillbirths. *BMC Public Health*. 2011; 11(3): 1-12.
71. Charles AK, Khong TY. Stillbirth and intrauterine growth restriction. *The Pediatric and Perinatal Autopsy Manual with DVD-ROM*. 2014; 7: 62.
72. Ray J, Urquia M. Risk of stillbirth at extremes of birth weight between 20 to 41 weeks gestation. *Journal of Perinatology*. 2012; 32(11): 829-36.
73. Figueras F, Gratacos E. An integrated approach to fetal growth restriction. *Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynaecology*. 2017; 38: 48-58.
74. Haedersdal S, Salvig JD, Aabye M, Thorball CW, Ruhwald M, Ladelund S, Eugen-Olsen J, Secher NJ. Inflammatory markers in the second trimester prior to clinical onset of preeclampsia, intrauterine growth restriction, and spontaneous preterm birth. *Inflammation*. 2013; 36(4): 907-13.
75. Proctor LK, Kfoury J, Hiersch L, Aviram A, Zaltz A, Kingdom J, Barrett J, Melamed N. Association between hypertensive disorders and fetal growth restriction in twin compared with singleton gestations. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. 2019; 221(3): 251-58.
76. Hiersch L, Shinar S, Melamed N, Aviram A, Hadar E, Yogev Y, Ashwal E. Recurrent placenta-mediated complications in women with three consecutive deliveries. *Obstetrics & Gynecology*. 2017; 129(3): 416-21.
77. Ashworth A. Effects of intrauterine growth retardation on mortality and morbidity in infants and young children. *European Journal of Clinical Nutrition*. 1998; 52: 34-41.
78. Marconi AM, Ronzoni S, Vailati S, Bozzetti P, Morabito A, Battaglia FC. Neonatal morbidity and mortality in intrauterine growth restricted (IUGR) pregnancies is predicated upon prenatal diagnosis of clinical severity. *Reproductive Sciences*. 2009; 16(4): 373-79.

79. McIntire DD, Bloom SL, Casey BM, Leveno KJ. Birth weight in relation to morbidity and mortality among newborn infants. *New England Journal of Medicine*. 1999; 340(16):1234-38.
80. Sharma D, Sharma P, Shastri S. Genetic, metabolic and endocrine aspect of intrauterine growth restriction: an update. *The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine*. 2017; 30(19): 2263-75.
81. Crispi F, Figueras F, Cruz-Lemini M, Bartrons J, Bijns B, Gratacos E. Cardiovascular programming in children born small for gestational age and relationship with prenatal signs of severity. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. 2012; 207(2):1-9.
82. van Wassenaer A. Neurodevelopmental consequences of being born SGA. *Pediatric Endocrinology Reviews: PER*. 2005; 2(3): 372-77.
83. Gardosi J, Francis A. Controlled trial of fundal height measurement plotted on customised antenatal growth charts. *BJOG: An International Journal of Obstetrics & Gynaecology*. 1999; 106(4): 309-17.
84. Taipale P, Hiilesmaa V. Predicting delivery date by ultrasound and last menstrual period in early gestation. *Obstetrics & Gynecology*. 2001; 97(2): 189-94.
85. Butt K, Lim K, Bly S, Cargill Y, Davies G, Denis N, Salem S. Determination of gestational age by ultrasound. *Journal of Obstetrics and Gynaecology Canada*. 2014; 36(2): 171-81.
86. Nicolaides KH, Peters MT, Vyas S, Rabinowitz R, Rosen DJD, Campbell S. Relation of rate of urine production to oxygen tension in small-for-gestational-age fetuses. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. 1990; 162(2): 387-91.
87. Baschat AA. Arterial and venous Doppler in the diagnosis and management of early onset fetal growth restriction. *Early Human Development*. 2005; 81(11): 877-87.
88. Peleg D, Kennedy CM, Hunter SK. Intrauterine growth restriction: identification and management. *American Family Physician*. 1998; 58(2): 453.
89. Starčević M, Predojević M, Butorac D, Tumbri J, Konjevoda P, Kadić AS. Early functional and morphological brain disturbances in late-onset intrauterine growth restriction. *Early Human Development*. 2016; 93: 33-38.
90. Figueras F, Gardosi J. Intrauterine growth restriction: new concepts in antenatal surveillance, diagnosis, and management. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. 2011; 204(4): 288-300.

91. Beksac MS, Fadiloglu E, Tanacan A, Mamopoulos A, Basol M, Muresan D, Athanasiadis A. A cut-off value for gestational week at birth for better perinatal outcomes in early-and late-onset fetal growth restriction. *Zeitschrift für Geburtshilfe und Neonatologie*. 2019; 223(5): 289-96.
92. Daskalakis GJ, Antsaklis P, Papamichail M, Antsaklis AJ. Intrauterine Growth Restriction. *The EBCOG Postgraduate Textbook of Obstetrics & Gynaecology: Obstetrics & Maternal-Fetal Medicine*. 2021; 1; 158.
93. Chatelain P. Children born with intrauterine growth retardation (IUGR) or small for gestational age (SGA): long term growth and metabolic consequences. *Endocrine Regulations*. 2000; 34(1): 33-36.
94. Acmaz G, Ozdemir F, Sahin E, Sahin ME, Madendag Y, Demir TB, Karakas E, Muderris II, Nisari M, Bayraktar E. Adverse fetal outcomes in patients with IUGR are related with fetal diaphragm evaluation parameters. *Paediatric Respiratory Reviews*. 2021; 37: 48-53.
95. Al-Sadi EK. Impact of some risk factors on neonatal IUGR incidence and outcome in NICU at Al-Sadder teaching hospital, Misan, Iraq 2016. *Al-Mustansiriyah Journal of Science*. 2017; 28(3).
96. Rizzo G, Arduini D. Intrauterine growth restriction: diagnosis and management. A review. *Minerva Ginecologica*. 2009; 61(5): 411-20.
97. Llorba E, Carreras E, Gratacós E, Juan M, Astor J, Vives A, Hermosilla E, Calero I, Millan P, Garcia-Valdecasas B, Cabero L. Maternal history and uterine artery Doppler in the assessment of risk for development of early-and late-onset preeclampsia and intrauterine growth restriction. *Obstetrics and Gynecology International*. 2009; 1-6.
98. Esposito FG, Tagliaferri S, Giudicepietro A, Giuliano N, Maruotti GM, Saccone G, Signorini MG, Magenes G, Campanile M, Zullo F. Fetal heart rate monitoring and neonatal outcome in a population of early-and late-onset intrauterine growth restriction. *Journal of Obstetrics and Gynaecology Research*. 2019; 45(7): 1343-51.
99. Nijhuis IJ, ten Hof J, Mulder EJ, Nijhuis JG, Narayan H, Taylor DJ, Visser GH. Fetal heart rate in relation to its variation in normal and growth retarded fetuses. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*. 2000; 89(1): 27-33.
100. Groenenberg IA, Hop WC, Bogers JW, Santema JG, Wladimiroff JW. The predictive value of Doppler flow velocity waveforms in the development of abnormal fetal heart rate traces in intrauterine growth retardation: a longitudinal study. *Early Human Development*. 1993; 32(2-3): 151-59.

101. Alfirevic Z, Neilson JP. Biophysical profile for fetal assessment in high risk pregnancies. The Cochrane Database of Systematic Reviews. 2000: (2), CD000038.
102. Cosmi E, Saccardi C, Bogana G, Salvador L, Mari G. P10. 25: Doppler, NST, and biophysical profile changes in severe IUGR—a longitudinal prospective randomized study. *Ultrasound in Obstetrics and Gynecology*. 2005; 26(4): 445.
103. Aktulay A, Üstün YE, Eyi EGY, Yörük Ö, Haçerlioğulları N, Mollamahmutoğlu L. Nonreaktif NST ön tanısının düşük riskli gebeliklerde değerlendirilmesi. *Jinekoloji-Obstetrik ve Neonatoloji Tıp Dergisi*. 2013; 10(37): 1542-45.
104. Kiratlı D, Yavan T, Karaşahin KE, Yenen MC. The effect of different maternal positions on reactivity of the nonstress test, maternal blood pressure and heart rate. *İzmir Dr Behçet Uz Çocuk Hastanesi Dergisi*. 2018; 8(2): 101-08.
105. Ivanov B, Malinova M. Comparative study of pathological Doppler and non-stress test in IUGR. *Akusherstvo i Ginekologiya*. 2011; 50(7): 12-16.
106. Pazos R, Vuolo K, Aladjem S, Lueck J, Anderson C. Association of spontaneous fetal heart rate decelerations during antepartum nonstress testing and intrauterine growth retardation. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. 1982; 144(5): 574-77.
107. Lin CC, Devoe LD, River P, Moawad AH. Oxytocin challenge test and intrauterine growth retardation. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. 1981; 140(3):282-88.
108. Casey BM, McIntire DD, Bloom SL, Lucas MJ, Santos R, Twickler DM, Ramus RM, Leveno KJ. Pregnancy outcomes after antepartum diagnosis of oligohydramnios at or beyond 34 weeks' gestation. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. 2000; 182(4): 909-12.
109. Philipson EH, Sokol RJ, Williams T. Oligohydramnios: clinical associations and predictive value for intrauterine growth retardation. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. 1983; 146(3): 271-78.
110. Peipert JF, Donnerfeld AE. Oligohydramnios: a review. *Obstetrical & Gynecological Survey*. 1991; 46(6): 325-39.
111. Zhang J, Troendle J, Meikle S, Klebanoff MA, Rayburn WF. Isolated oligohydramnios is not associated with adverse perinatal outcomes. *BJOG: An International Journal of Obstetrics & Gynaecology*. 2004;111(3): 220-25.

112. Manning FA. Fetal biophysical profile. *Obstetrics and Gynecology Clinics of North America*. 1999; 26(4): 557-77.
113. Vintzileos AM, Campbell WA, Ingardia CJ, Nochimson DJ. The fetal biophysical profile and its predictive value. *Obstetrics and Gynecology*. 1983; 62(3): 271-78.
114. Manning FA. Fetal biophysical profile: a critical appraisal. *Clinical Obstetrics and Gynecology*. 2002; 45(4): 975-85.
115. Miller DA, Rabello YA, Paul RH. The modified biophysical profile: antepartum testing in the 1990s. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. 1996; 174(3): 812-17.
116. Manning FA, Harman CR, Morrison I, Menticoglou S, Lange IR, Johnson JM. Fetal assessment based on fetal biophysical profile scoring: IV. An analysis of perinatal morbidity and mortality. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. 1990; 162(3):703-709.
117. Levytska K, Higgins M, Keating S, Melamed N, Walker M, Sebire NJ. Placental pathology in relation to uterine artery Doppler findings in pregnancies with severe intrauterine growth restriction and abnormal umbilical artery Doppler changes. *American Journal of Perinatology*. 2017; 34(5): 451-57.
118. Seyam YS, Al-Mahmeid MS, Al-Tamimi HK. Umbilical artery Doppler flow velocimetry in intrauterine growth restriction and its relation to perinatal outcome. *International Journal of Gynecology & Obstetrics*. 2002; 77(2): 131-37.
119. HersHKovitz R, Kingdom J, Geary M, Rodeck C. Fetal cerebral blood flow redistribution in late gestation: identification of compromise in small fetuses with normal umbilical artery Doppler. *Ultrasound in Obstetrics and Gynecology*. 2000; 15(3): 209-12.
120. Lee VR, Pilliod RA, Frias AE, Rasanen JP, Shaffer BL, Caughey AB. When is the optimal time to deliver late preterm IUGR fetuses with abnormal umbilical artery Dopplers? *The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine*. 2016; 29(5): 690-95.
121. Beattie RB, Dornan JC. Antenatal screening for intrauterine growth retardation with umbilical artery Doppler ultrasonography. *British Medical Journal*. 1989; 298(6674): 631-35.
122. Baschat AA, Weiner CP. Umbilical artery Doppler screening for detection of the small fetus in need of antepartum surveillance. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. 2000; 182(1): 154-58.

123. Malhotra N, Chanana C, Kumar S, Roy K, Sharma JB. Comparison of perinatal outcome of growth-restricted fetuses with normal and abnormal umbilical artery Doppler waveforms. *Indian Journal of Medical Sciences*. 2006; 60(8): 311-17.
124. Raio L, Ghezzi F, Di Naro E, Duwe DG, Cromi A, Schneider H. Umbilical cord morphologic characteristics and umbilical artery doppler parameters in intrauterine growth-restricted fetuses. *Journal of Ultrasound in Medicine*. 2003; 22(12): 1341-47.
125. Arbeille P. Fetal arterial Doppler-IUGR and hypoxia. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*. 1997; 75(1): 51-53.
126. Severi FM, Bocchi C, Visentin A, Falco P, Cobellis L, Florio P, Zagonari S, Pilu G. Uterine and fetal cerebral Doppler predict the outcome of third-trimester small-for-gestational age fetuses with normal umbilical artery Doppler. *Ultrasound in Obstetrics and Gynecology: The Official Journal of the International Society of Ultrasound in Obstetrics and Gynecology*. 2002; 19(3): 225-28.
127. Schenone MH, Mari G. The MCA Doppler and its role in the evaluation of fetal anemia and fetal growth restriction. *Clinics in Perinatology*. 2011; 38(1): 83-102.
128. Turan OM, Turan S, Gungor S, Berg C, Moyano D, Gembruch U, Nicolaides KH, Harman CR, Baschat AA. Progression of Doppler abnormalities in intrauterine growth restriction. *Ultrasound in Obstetrics and Gynecology: The Official Journal of the International Society of Ultrasound in Obstetrics and Gynecology*. 2008; 32(2): 160-67.
129. Johnson P, Stojilkovic T, Sarkar P. Middle cerebral artery Doppler in severe intrauterine growth restriction. *Ultrasound in Obstetrics and Gynecology: The Official Journal of the International Society of Ultrasound in Obstetrics and Gynecology*. 2001; 17(5): 416-20.
130. Odibo AO, Riddick C, Pare E, Stamilio DM, Macones GA. Cerebroplacental Doppler ratio and adverse perinatal outcomes in intrauterine growth restriction: evaluating the impact of using gestational age-specific reference values. *Journal of Ultrasound in Medicine*. 2005; 24(9): 1223-28.
131. Vishwekar PS, Sudha RG, Jadhav A. Doppler ultrasound cerebroplacental ratio (CPR)--a better predictor of foetal outcome in clinically suspected IUGR pregnancies. *Journal of Evolution of Medical and Dental Sciences*. 2016; 5(103): 7523-27.
132. Flood K, Unterscheider J, Daly S, Geary MP, Kennelly MM, McAuliffe FM, O'Donoghue K, Hunter A, Morrison JJ, Burke G, Dicker P, Tully EC, Malone FD. The role of brain sparing in the prediction of adverse outcomes in

intrauterine growth restriction: results of the multicenter PORTO Study. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. 2014; 211(3): 281-88.

133. Gupta B, Sharma R, Shah K. Prediction of IUGR and adverse perinatal outcome by colour Doppler examination of UA PI and MCA: UA PI Ratio. *Int J Contemp Med Res*. 2016; 3(4): 976-78.
134. Rakza T, Magnenant E, Klosowski S, Tourneux P, Bachiri A, Storme L. Early hemodynamic consequences of patent ductus arteriosus in preterm infants with intrauterine growth restriction. *The Journal of Pediatrics*. 2007; 151(6): 624-28.
135. Figueras F, Benavides A, Del Rio M, Crispi F, Eixarch E, Martinez JM, Hernandez-Andrade E, Gratacos E. Monitoring of fetuses with intrauterine growth restriction: longitudinal changes in ductus venosus and aortic isthmus flow. *Ultrasound in Obstetrics and Gynecology: The Official Journal of the International Society of Ultrasound in Obstetrics and Gynecology*. 2009; 33(1): 39-43.
136. Caradeux J, Martinez-Portilla RJ, Basuki TR, Kiserud T, Figueras F. Risk of fetal death in growth-restricted fetuses with umbilical and/or ductus venosus absent or reversed end-diastolic velocities before 34 weeks of gestation: a systematic review and meta-analysis. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. 2018; 218(2): S774-82.
137. Ritter S, Jörn H, Weiss C, Rath W. Importance of ductus venosus Doppler assessment for fetal outcome in cases of intrauterine growth restriction. *Fetal diagnosis and therapy*. 2004; 19(4): 348-55.
138. Van der Sterren S, Ågren P, Zoer B, Kessels L, Blanco CE, Villamor E. Morphological and functional alterations of the ductus arteriosus in a chicken model of hypoxia-induced fetal growth retardation. *Pediatric Research*. 2009; 65(3): 279-84.
139. Baschat AA. Doppler application in the delivery timing of the preterm growth-restricted fetus: another step in the right direction. *Ultrasound in Obstetrics and Gynecology: The Official Journal of the International Society of Ultrasound in Obstetrics and Gynecology*. 2004; 23(2): 111-18.
140. Margot JB, Ehrenhofer-Murray AE, Leonhardt H. Interactions within the mammalian DNA methyltransferase family. *BMC Molecular Biology*. 2003; 4(1): 1-9.
141. Erol D, Elyas Z, Ünal S. Psikiyatrik hastalıkların gelişiminde epigenetik mekanizmalar. *Klinik Psikofarmakoloji Bülteni-Bulletin of Clinical Psychopharmacology*. 2010; 20(1): 109-114.

142. Traina F, Visconte V, Elson P, Tabarroki A, Jankowska AM, Hasrouni E, Sugimoto Y, Szpurka H, Makishima H, O'Keefe CL, Sekeres MA, Advani AS, Kalaycio K, Copelan EA, Sauntharajah Y, Olalla Saad JP, Maciejewski JP, Tiu RV. Impact of molecular mutations on treatment response to DNMT inhibitors in myelodysplasia and related neoplasms. *Leukemia*. 2014; 28(1): 78-87.
143. El-Osta A. DNMT cooperativity—the developing links between methylation, chromatin structure and cancer. *Bioessays*. 2003; 25(11): 1071-84.
144. Ehrlich M, Woods CB, Yu MC, Dubeau L, Yang F, Campan M, Weisenberger DJ, Long T, Youn B, Fiala ES, Laird PW. Quantitative analysis of associations between DNA hypermethylation, hypomethylation, and DNMT RNA levels in ovarian tumors. *Oncogene*. 2006; 25(18): 2636-45.
145. Bozkaya ÖG. Klinisyenler için mutasyon ve polimorfizm. *Türkiye Klinikleri J Pediatr*. 2009; 18(2): 147-53.
146. Siedlecki P, Zielenkiewicz P. Mammalian DNA methyltransferases. *Acta Biochimica Polonica*. 2006; 53(2): 245-56.
147. Jones PA. Functions of DNA methylation: islands, start sites, gene bodies and beyond. *Nature Reviews Genetics*. 2012; 13(7): 484-92.
148. Munshi A, Shafi G, Aliya N, Jyothy A. Histone modifications dictate specific biological readouts. *Journal of Genetics and Genomics*. 2009; 36(2): 75-88.
149. Jenuwein T, Allis CD. Translating the histone code. *Science*. 2001; 293(5532): 1074-80.
150. Marks PA, Miller T, Richon VM. Histone deacetylases. *Current Opinion in Pharmacology*. 2003; 3(4): 344-51.
151. Lindemann RK, Johnstone RW. Histone deacetylase inhibitors: promising candidates for chemotherapeutic drugs. *Gene Ther Mol Biol*. 2004; 8: 61-74.
152. Bora G, Yurter H. Epigenetik hastalıklar ve tedavi yaklaşımları. *Hacettepe Tıp Dergisi*. 2007; 38: 48-54.
153. Haberland M, Montgomery RL, Olson EN. The many roles of histone deacetylases in development and physiology: implications for disease and therapy. *Nature Reviews Genetics*. 2009; 10(1): 32-42.
154. Gordijn SJ, Beune IM, Ganzevoort W. Building consensus and standards in fetal growth restriction studies. *Best practice & research Clinical obstetrics & gynaecology*. 2018; 49: 117-26.

155. Stephens KE, Miaskowski CA, Levine JD, Pullinger CR, Aouizerat BE. Epigenetic regulation and measurement of epigenetic changes. *Biological research for nursing*. 2013; 15(4): 373-81.
156. Simmons D. Epigenetic influence and disease. *Nature Education*. 2008; 1(1): 6.
157. Dobosy J, Selker EU. Emerging connections between DNA methylation and histone acetylation. *Cellular and Molecular Life Sciences CMLS*. 2001; 58(5): 721-27.
158. Keating ST, El-Osta A. Epigenetic changes in diabetes. *Clinical Genetics*. 2013; 84(1): 1-10.
159. Lillycrop KA, Burdge GC. Epigenetic changes in early life and future risk of obesity. *International Journal of Obesity*. 2011; 35(1): 72-83.
160. Zakhari S. Alcohol metabolism and epigenetics changes. *Alcohol research: current reviews*. 2013; 35(1): 6.
161. Ding YX, Cui H. Integrated analysis of genome-wide DNA methylation and gene expression data provide a regulatory network in intrauterine growth restriction. *Life Sciences*. 2017; 179: 60-65.
162. Yeung KR, Chiu CL, Pidsley R, Makris A, Hennessy A, Lind JM. DNA methylation profiles in preeclampsia and healthy control placentas. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*. 2016; 310(10): H1295-303.
163. Magnusson A, Powell T, Wennergren M, Jansson T. Glucose metabolism in the human preterm and term placenta of IUGR fetuses. *Placenta*. 2004; 25(4): 337-46.
164. Park JH, Stoffers DA, Nicholls RD, Simmons RA. Development of type 2 diabetes following intrauterine growth retardation in rats is associated with progressive epigenetic silencing of Pdx1. *The Journal of Clinical Investigation*. 2008; 118(6): 2316-24.
165. Yung R, Ray D, Eisenbraun JK, Deng C, Attwood J, Eisenbraun MD, Johnson K, Miller RA, Hanash S, Richardson B. Unexpected effects of a heterozygous dnmt1 null mutation on age-dependent DNA hypomethylation and autoimmunity. *The Journals of Gerontology Series A: Biological Sciences and Medical Sciences*. 2001; 56(6): B268-76.
166. Ma M, Zhou QJ, Xiong Y, Li B, Li XT. Preeclampsia is associated with hypermethylation of IGF-1 promoter mediated by DNMT1. *American Journal of Translational Research*. 2018; 10(1): 16.

167. Peters SL, Hlady RA, Opavska J, Klinkebiel D, Novakova S, Smith LM, Lewis RE, Karpf RA, Simpson MA, Wu L, Opavsky R. Essential role for Dnmt1 in the prevention and maintenance of MYC-induced T-cell lymphomas. *Molecular and Cellular Biology*. 2013; 33(21): 4321-33.
168. Simmons RA, Templeton LJ, Gertz SJ. Intrauterine growth retardation leads to the development of type 2 diabetes in the rat. *Diabetes*. 2001; 50(10): 2279-86.
169. Simmons RA, Suponitsky-Kroyter I, Selak MA. Progressive accumulation of mitochondrial DNA mutations and decline in mitochondrial function lead to β -cell failure. *Journal of Biological Chemistry*. 2005; 280(31): 28785-91.
170. Arda HE, Benitez CM, Kim SK. Gene regulatory networks governing pancreas development. *Developmental Cell*. 2013; 25(1): 5-13.
171. Stoffers DA, Desai BM, DeLeon DD, Simmons RA. Neonatal exendin-4 prevents the development of diabetes in the intrauterine growth retarded rat. *Diabetes*. 2003; 52(3): 734-40.
172. Gatford KL, Simmons RA, De Blasio MJ, Robinson JS, Owens JA. Placental programming of postnatal diabetes and impaired insulin action after IUGR. *Placenta*. 2010; 31: S60-65.
173. Stoffers DA, Zinkin NT, Stanojevic V, Clarke WL, Habener JF. Pancreatic agenesis attributable to a single nucleotide deletion in the human IPF1 gene coding sequence. *Nature Genetics*. 1997; 15(1): 106-10.
174. Noma K, Grewal SI. Histone H3 lysine 4 methylation is mediated by Set1 and promotes maintenance of active chromatin states in fission yeast. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2002; 99(suppl_4): 16438-45.
175. Fuks F, Hurd PJ, Wolf D, Nan X, Bird AP, Kouzarides T. The methyl-CpG-binding protein MeCP2 links DNA methylation to histone methylation. *Journal of Biological Chemistry*. 2003; 278(6): 4035-40.
176. Fuks F, Burgers WA, Brehm A, Hughes-Davies L, Kouzarides T. DNA methyltransferase Dnmt1 associates with histone deacetylase activity. *Nature Genetics*. 2000; 24(1): 88-91.
177. Sathishkumar C, Prabu P, Mohan V, Balasubramanyam M. Linking a role of lncRNAs (long non-coding RNAs) with insulin resistance, accelerated senescence, and inflammation in patients with type 2 diabetes. *Human Genomics*. 2018; 12(1):1-9.
178. Dahllöf MS, Christensen DP, Harving M, Wagner BK, Mandrup-Poulsen T, Lundh M. HDAC inhibitor-mediated beta-cell protection against cytokine-induced toxicity is STAT1 Tyr701 phosphorylation independent. *Journal of Interferon & Cytokine Research*. 2015; 35(1), 63-70.

179. Daneshpajoo M, Bacos K, Bysani M, Bagge A, Ottosson Laakso E, Vikman P, Eliasson L, Mulder H, Ling C, HDAC7 is overexpressed in human diabetic islets and impairs insulin secretion in rat islets and clonal beta cells. *Diabetologia*. 2017; 60(1), 116-25.
180. Gilbert ER, Liu D. Epigenetics: the missing link to understanding β -cell dysfunction in the pathogenesis of type 2 diabetes. *Epigenetics*. 2012;7:841-52.
181. Vickers NJ. Animal communication: When i'm calling you, will you answer too? *Current Biology*. 2017; 27: R713-15.

