

T.C.  
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ  
MERAM TIP FAKÜLTESİ  
KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM ANABİLİM DALI

**PROF. DR. MEHMET ÇOLAKOĞLU**  
ANABİLİM DALI BAŞKANI

**TEKRARLAYAN GEBELİK KAYIPLARINDA  
METİLTETRAHİDROFOLAT REDÜKTAZ ENZİM MUTASYONU  
(MTHFR) VE CD 31 (PLATELET ENDOTELYAL CELL ADEZYON  
MOLEKÜLÜ-1 / PECAM-1) EKSPRESYONUNUN İNCELENMESİ**

UZMANLIK TEZİ  
**DR. BÜLENT ŞİMŞEK**

TEZ DANIŞMANI  
**PROF.DR.METİN ÇAPAR**

**KONYA 2008**

## İÇİNDEKİLER

1- GİRİŞ.....	3
2- GENEL BİLGİLER.....	4-23
3- MATERYAL VE METOD.....	24-26
4- BULGULAR.....	26-29
5- TARTIŞMA.....	30-36
6- SONUÇ.....	37
7- KISALTMALAR .....	38
8- ÖZET.....	40
9- KAYNAKLAR.....	41-49

## **I.GİRİŞ**

Üç ve daha fazla tekrarlayan abortus öyküsü olarak gruplandırılan tekrarlayan gebelik kaybı , reproduktif yaşlarda olan tüm kadınların %1-5 kadarında görülmektedir. Spontan abortusların patogenezi oldukça kompleks olup, pek çok genetik ve çevresel faktör rol oynamaktadır. Metilentetrahidrofolat redüktaz (MTHFR) geninin C677T ve A1298C polimorfizmleri, folata bağlı homosistein metabolizmasındaki defektlerle ilişkilidir ve tekrarlayan gebelik kaybı için risk faktörü olabileceğine ilişkin veriler bulunmaktadır(1).

Kan dolaşımındaki mikropartiküller çeşitli protrombotik olaylarla ilgili hücre aktivasyonunun göstergesidirler. Hipoksinin uteroplasental trombosise neden olarak gebelik kayıplarına sebep olması gibi belkide mikropartiküllerde antifosfolipid sendrom veya herediter trombofililerin (faktör 5 Leiden mutasyonu, MTHFR enzim mutasyonu gibi) bir parçası olarak endotel hasarı veya herhangi bir sebeple aktive olarak gebelik kayıplarına neden olabilirler (2).

Bizim çalışmamızda endotel hasarı sonucu hücre-hücre etkileşiminde rol oynayan CD-31 (PECAM-1) adezyon molekülünün ekspresyonu daha önce kliniğimize tekrarlayan gebelik kaybı nedeniyle başvuran ve yapılan genetik tahlillerinde MTHFR enzimi heterozigot ve homozigot mutasyon tesbit edilen hastalar ile MTHFR enzim mutasyonu tesbit edilememiş en az 2 sağlıklı doğumu olan ve düşük öyküsü olmayan kadınlarla karşılaştırılmıştır.

## **II.GENEL BİLGİLER**

### **TEKRARLAYAN GEBELİK KAYIPLARI (TGK)**

Tekrarlayan gebelik kayıplarının klasik tanımı, 20. gebelik haftasından önce arka arkaya 3 veya daha fazla spontan gebelik kaybının olmasıdır. İnsidans açısından bakıldığında toplumda bir kez düşük yapma olasılığı %15-40, iki kez düşük gerçekleşmesi %2-5, üç kez ardarda düşük oluşma şansı ise %1'den azdır. Epidemiyolojik bulgulara göre yaşanmış bir düşük olayını takiben tekrar düşük olma olasılığı ailenin yaşayan bir çocuğu varsa %24, yoksa %46 civarındadır. Tekrar düşük riski , daha önce iki kez düşük yapanlarda %24, üç kez düşük yapanlarda ise %40 civarında bulunmuştur. Sosyal nedenlerle uygulanmış indüklenmiş abortusların bir sonraki gebelik prognozuna olumsuz etkisi bulunmadığı için bu tip düşükleri TGK tanımına dahil etmemek gerekmektedir(3-5). Gebelik kaybı spektrumu, prelinik kayıptan (gelişimsel yetersizlik, preimplantasyon kayıpları), klinik kayıplara (embriyonik, fetal düşük ve ölü doğum) kadar değişir (6). Tekrarlayan gebelik kayıplarında en sık karşımıza çıkan klinik durum erken gebelik kayıplarıdır. Bu kayıplar üzerine yapılan bir çok araştırma konumuzun ana hedefini ortaya koymaktadır. Çünkü tekrarlayan gebelik kayıpları esas olarak erken gebelik haftalarında karşımıza çıkmaktadır. Erken gebelik kaybı (düşük) gebeliğin 20. haftasından önce (son adet döneminden belirlenmiş) veya 500 gram fetal ağırlığın altında sonlanması olarak tanımlanmıştır. Habituel abortuslar obstetrikte etyolojik ve prognostik faktör tayininde yetersiz kalınan konulardan biridir. Habituel abortus, birbirini izleyen en az 2 yada daha fazla gebeliğin 20. gebelik haftasından önce spontan olarak sonlanmasıdır. 4-20. gebelik haftası arasındaki tüm gebeliklerin yaklaşık %15' i klinik olarak tanımlanabilen spontan düşüklerle sonlanır (7). Epidemiyolojik bulgulara göre iki veya üç düşük sonrası beklenen gebelik prognozu benzer oranlardadır. Bu nedenle geçmişte TGK etyolojisine yönelik araştırmalar tanım gereği üç ardışık doğum sonrası önerilirken , son zamanlarda hastanın yaş ve isteğini göz önüne alarak iki düşük sonrası incelemeye başlamayı önerenler artmaktadır(3-5).

## ETYOLOJİ

Tekrarlayan gebelik kayıplarının etyolojisi günümüzde yedi ana başlıkta incelenebilmektedir (tablo-1). Gebeliğin farklı dönemlerine etki eden etyolojik faktörlerin farklı olması nedeniyle gebelik kayıplarının preembryonik, embryonik ve fetal dönem olarak ayrı ayrı sınıflanması ve çalışmaların bu şekilde planlanmasını önerenlerde vardır(8). Günümüzde bilinen tüm etyolojik faktörler incelense bile TGK nedeniyle başvuran hastaların yaklaşık yarısında belirgin bir neden saptanamamaktadır. Ancak hiçbir tedavi uygulanmasa dahi TGK hastalarının önemli bir kısmında canlı doğumla sonuçlanan başarılı gebeliklerin gerçekleştiği unutulmamalıdır.

Tablo 1. Tekrarlayan gebelik kayıplarının olası nedenleri

---

Genetik	<ul style="list-style-type: none"><li>• Kromozomal</li><li>• Multifaktöryel</li></ul>
Konjenital anatomik nedenler	<ul style="list-style-type: none"><li>• Mülleryan anomaliler</li><li>• Servikal inkompetans</li><li>• DES'e maruz kalma</li></ul>
Akkiz anatomik nedenler	<ul style="list-style-type: none"><li>• Uterin sineşi</li><li>• Myoma uteri</li></ul>
Endokrin faktörler	<ul style="list-style-type: none"><li>• Lüteal faz yetmezliği</li><li>• Diabet</li><li>• Tiroid bozuklukları</li><li>• PCOS</li><li>• Hiperprolaktinemi</li></ul>
Enfeksiyonlar	<ul style="list-style-type: none"><li>• Bakteriyel</li><li>• Viral</li><li>• Paraziter</li></ul>
İmmünolojik faktörler	<ul style="list-style-type: none"><li>• Antifosfolipit antikorlar</li><li>• Antikardiyolipinler</li></ul>
Diğer: Sigara, alkol , kimyasallar, radyasyon.	

## GENETİK FAKTÖRLER

### Kromozomal anomaliler

Yapısal kromozomal anomaliler, klinik olarak tanınan gebeliklerde en sık rastlanan kayıp nedenidir. Gerçek embriyo-fetal doku elde edilebilirse bu hastaların %50'sinde kromozomal anormallik gösterilebilir (9). En sık gözlenen kromozomal anomali otozomal trizomilerdir ve tüm abortusların %25'inde gözlenir. Abortus materyalinde en sık rastlanan trisomi 16. kromozoma aittir. Tek başına spontan abortuslarda en sık rastlanan kromozomal anomali 45,X0'dir ve tüm abortuslardan %10 oranında sorumludur (9). Preimplantasyon genetik tanı (PGT) uygulanan TGK grubundaki hastaların embriyolarında anoploidi riski normal hastalara göre daha yüksek bulunurken , bu hastaların embriyo seleksiyonu sonrası oluşan gebeliklerinde abortus riski beklenenden daha az bulunmuştur (10-11).

### Parental kromozomal değişiklikler

Yapılan çalışmalarda tekrarlayan gebelik kayıpları olan çiftlerde kromozomal anomali insidansı %3-8 olarak bulunmuştur (12). Bu oran genel popülasyondaki sıklıktan 5-6 kat daha fazladır. En sık görülen parental kromozomal anomali dengeli translokasyondur. Sıklıkla bu bozuklukta ebeveynler fenotipik olarak normal iken, oluşan zigotta şu 3 durum ortaya çıkabilir: normal karyotip, dengeli translokasyon ve dengesiz translokasyon. Dengesiz translokasyon hayatla bağdaşmayan bir mutasyon olarak ölümcül seyredebilir. Tekrarlayan gebelik kayıpları olan hastalarda ikinci sıklıkla görülen kromozomal bozukluk mozaisizmdir ve genelde maternal kaynaklıdır. Diğer bir görülen bozukluk ise delesyon ve inversiyondur.

Parental kromozomal bozuklukları ortaya çıkarmada fenotipik bulgular, aile anamnezi veya reproduktif anamnez yeterli olmadığı için TGK ile başvuran hastalarda parental karyotipleme önerilmelidir. Bu sayede tekrarlayan düşüklerin sebebinin genetik olup olmadığı , genetik ise tekrarlama riskini de içeren genetik danışma verilme şansı mümkün olacaktır (13).

## *EPİDEMİYOLOJİK FAKTÖRLER*

### Gravidite

Gebelik kaybı, hastanın önceki obstetrik performansı ile kuvvetle ilişkilidir. Önceki gebeliklerde kayıp sayısı arttıkça, risk artmaktadır. Primigravidelerde abortus riski %10 iken, obstetrik öyküsünde 1-4 defa gebelik kaybı olanlarda, kayıp riski sırasıyla %15, %24, %43 ve %54 olarak saptanmıştır (13).

### Maternal ve Paternal yaş

Anne ve baba yaşı ilerledikçe gebelik kayıp riski de artmaktadır. 40 yaş üzeri maternal yaş durumunda kayıp oranı %25 iken paternal yaşta ise %20 olarak hesaplanmıştır (14). Ancak rekürrens riski açısından genç ve ileri yaş arasında farklılık yoktur. Bu da tekrarlayan gebelik kayıplarında yaştan başka diğer faktörlerin daha önemli olduğunu ortaya koymaktadır.

## *ANATOMİK BOZUKLUKLAR*

### Konjenital Uterin Malformasyonlar

Müller kanalı füzyon veya kanalizasyon defektlerine her 700 kadında 1 rastlanmaktadır (15). Bu defektler obstetrik komplikasyon olarak, tekrarlayan gebelik kaybı, preterm eylem ve malprezentasyona neden olabilmektedir. En sık rastlanılan konjenital uterin malformasyon septat, bikornuat ve didelfik uteruslardır. Unikornuat uterus ise en nadir saptanan tiptir (16). Gebelik kayıpları olan hastalarda uterin anomali sıklığı %27'dir. Ancak tüm uterin malformasyonu olan hastalarda gebelik kaybı olmayabileceği de göz önünde bulundurulmalıdır. Konjenital uterin malformasyon tanısının koyulabilmesi için histerosalpingografi, yüksek çözünürlükte ultrasonografi ve gerekirse tanısal amaçlı laparoskopi yapılmaktadır.

### Servikal yetmezlik

İkinci trimesterde görülen TKG 'nın %10'u servikal yetmezlik sebebiyledir. Ağrısız dilatasyon ve efasmanı takiben, sıklıkla amniotik zarın yırtılması ve ardından fetal materyalin atılması şeklinde tipik kliniği bulunan servikal yetmezliğin klasik tedavisi vajinal serklaj uygulamalarıdır. Konjenital veya edinsel olabilir. Edinsel servikal yetmezlik, geçirilmiş servikal cerrahi (konizasyon...vb.) veya travmatik vajinal doğum sırasında servikal laserayonlara bağlı oluşabilir.

## Edinsel anatomik anomaliler

Bu grupta intrauterin sineşiler, uterin leiomyomlar ve endometrial polipler tekrarlayan gebelik kayıpları ile ilişkili olabilirler. İntrauterin sineşilere, tekrarlayan gebelik kayıpları olan hastaların %5'inde rastlanmaktadır. Sıklıkla bu adezyonlar gebelikle veya jinekolojik nedenlerle ilgili müdahale ve komplikasyonlara sekonderdir ( Dilatasyon-Küretaj, Myomektomi, RIA takılması...vb) (17).Ascherman sendromunun tedavisinde histeroskopik adezyolizis sonrası intra kaviter rahim içi araç veya foley sonda yerleştirilmesi ve yüksek doz konjuge östrojen tedavisi önerilmektedir.

## *ENDOKRİN FAKTÖRLER*

Ovulasyon, implantasyon ve gebeliğin erken dönemleri maternal endokrin sistemin sistemli ve uyumlu çalışması ile mümkün olabilmektedir. Dolayısıyla maternal endokrin sistemdeki bir bozukluk, bu dönemlerin bir veya birkaçına olumsuz yönde etki ederek, sağlıklı bir gebeliğin oluşumundan, devam ettirilmesine kadar birçok safhada istenmeyen sonuçların ortaya çıkmasına neden olabilir. Luteal faz yetmezliği (LFY), hiperprolaktinemi, polikistik over (PKOS) gibi hiperandrojenemik durumlar, tiroid fonksiyon bozuklukları ve diabetes mellitus gibi endokrinopatiler TGK arasında sayılmaktadır(18).

## Diabetes mellitus

Diabetes mellitus olan kadınlarda, eğer metabolik kontrol iyi ise diğer kadınlara göre artmış bir riskleri yoktur. Fakat diabet tanısı almış ve ilk trimesterde yüksek glikoz seviyeleri ve HbA1c düzeyleri varlığında artmış gebelik kaybı ve fetal anomali riski mevcuttur (19). Yine kontrolsüz glisemisi olan hastalarda normal popülasyona göre 2-3 kat artmış spontan abortus oranı saptanmıştır (20).

## Luteal faz bozuklukları

Corpus luteumun kalitatif veya kantitatif bozukluğu sonucunda endometrial dokunun histolojik yaşa göre iki gün veya daha fazla geri kalmasıyla ortaya çıkan endokrinopatolojik tabloya 'Luteal Faz

Yetmezliği' adı verilmektedir. Bu tablo sonucunda corpus luteum tarafından yetersiz üretilen progesteron, erken gestasyonel haftalarda gebeliği destekleyememekte ve tekrarlayan gebelik kaybı klinik tablosunu ortaya çıkmaktadır(21). Çünkü plasenta progesteron üretim fonksiyonunu 8. haftadan sonra üstlenmektedir.

#### Tiroid bozuklukları

Tiroid bozukluklarının habitüel abortuslarla ilişkili olduğu konusunda kesin kanıtlar yoktur. Fakat antitiroid antikörlerinin saptanması otoimmün bir hastalığın varlığı konusunda uyarıcı olabilir (22). Hasta asemptomatik ise tiroid hastalıkları açısından taramaya gerek yoktur.

#### *TROMBOFİLİK BOZUKLUKLAR*

Tekrarlayan gebelik kayıplarının birçoğunda histolojik inceleme sonucunda, plasentasyon bozukluğu ve plasental vasküler yapılarda mikrotrombüsler saptanmıştır. Koagülasyon ve fibrinolitik yolaklar, plasentasyon ve trofoblastik invazyon mekanizmasında rol oynamaktadır.

Gebelik, hiperkoagulatif bir ortam yaratmaktadır.

- Prokoagulan faktörlerin artışı
- Doğal antikoagulanlarda azalma
- Fibrinolitik mekanizmalarda azalma gibi mekanizmalar bu mikro ortamı oluşturmaktadır.

Normal gebelikte fibrinojen, faktör 2,7,10,12 ve plazminojen aktivatör inhibitör-1 (PAI-1) seviyelerinde artış ve protein S miktarında azalma sonucu pıhtılaşmaya eğilimi artmaktadır. Trombofili ise tromboza eğilimin arttığı bir grup pıhtılaşma bozukluklarını içermektedir(23).

#### Antifosfolipid antikörler

Lupus antikoagulan, antikardiyolipin ve antifosfolipidlerin hücre membranındaki fosfolipitlere karşı oluşan antikörlerdir. Klinik olarak trombositopeni, tromboz ve tekrarlayan gebelik kayıpları ilişkilidirler. Ayrıca fetal büyüme geriliği ve preeklampsi gibi gebelik komplikasyonları ile ilişkileri vardır. Abortusa yol açtığı iddia edilen mekanizmalar arasında uteroplazental dolaşımda tromboz oluşumu ve/veya oluşan antikörlerin trofoblastların maternal spiral arterlere yeterli invazyon

yapmasını engellemesi ve bu sayede etkin fetoplental dolaşımın gerçekleşmemesi olduğu düşünülmektedir (24).

Lupus antikoagülan, tüm fosfolipite bağımlı koagülasyon testlerinin uzamasına neden olur. Bu testler aPTT, kaolin pıhtılaşma zamanı ve Russell's testidir. Antifosfolipid antikorlar heterojen yapıda olduğu için pozitif sonuçların birkaç hafta içerisinde( en az 6 hafta sonra) tekrarı gerekir, çünkü sonuçlar şüpheli olabilir.

Genel olarak toplumda aPL insidansı %2 iken, tekrarlayan erken gebelik kayıplarında %15'tir. Tedavi edilmemiş aPL olgularında başarılı gebelik oranı %10-15 'dir(25).

İlk gebelik kaybı genelde ikinci trimester dönemindeydir. Daha sonraki kayıplar ilk trimester'de gerçekleşir. SLE ilişkisi değişkendir ve ilk prezentasyonda çok kuvvetli değildir. Fakat SLE tanısı olan kadınlarda aPL pozitifdir ve tekrarlayan gebelik kayıp riski mevcuttur.

#### Hereditör trombofililer

Bu grupta antitrombin III, protein C ve S eksikliği, faktör V Leiden mutasyonuna bağlı aktive protein C rezistansı gibi kalıtsal defektler vardır.

Günümüzde en fazla araştırma yapılan ve bir çok hastalıkla ilişkisi olduğuna inanılan faktör V Leiden mutasyonu, genetik geçişli bir hastalık olan Aktive Protein C Rezistansı olarak bilinen bir grup trombofilik hastalığın en önemli alt grubunu oluşturmaktadır. Aktive Protein C Rezistansı (APC) faktör V adlı koagülasyon yolağında görevli proteini kodlayan gende oluşan mutasyonla karakterizedir ve bunun sonucunda Aktive Protein C ve F V bağlanması olamamaktadır. Aktive Protein C sağlam iken F Va, VIIIa'yı ko-faktör Protein S varlığında inaktive eder. Mutant Faktör V, Aktive Protein C ile inaktive olmaz. Trombin ve hiperkoagulatif bir durum ortaya çıkmaktadır(26). Faktör V Leiden mutasyonu denilen bu durumda, sağlıklı insanlara homozigotlarda 50-100 kat, heterozigotlarda 5-10 kat artmış bir tromboza eğilim mevcuttur. Sağlıklı popülasyonda faktör V Leiden mutasyon insidansı Batı Avrupa ülkelerinde %3-7'dir. Cerrahi işlemler, immobilizasyon, diğer antikoagülasyon defektleri tromboza eğilimi olan heterozigot bireylerde morbiditeyi artırmaktadır. Gebelikte tromboza eğilimi arttıran bir fizyolojik süreç olduğundan komplikasyon oranları artmaktadır (27).

APC rezistansı görülen vakaların % 80'inde faktör V Leiden mutasyonu tespit edilmektedir (28). Faktör V Leiden mutasyonu ile beraber Protein C ve S eksikliğine bağlı trombofililerin çeşitli gebelik

komplasyonları ve tekrarlayan gebelik kayıpları etyolojisinde önemli rol oynadığı ispat edilmektedir (29,30).

APC rezistansı tanısı için en uygun yaklaşım koagülasyon tabanlı tarama ve DNA testidir. Bu iki yöntem birbirini tamamlayıcıdır. Çünkü ilki fonksiyonel ikincisi ise genetik testtir. Fonksiyonel testlerin sensitivitesi son yıllarda % 99'un üzerine çıkmıştır. Bu açıdan bakıldığında tarama için umut vaat etmektedir.

### *ENFEKSİYÖZ NEDENLER*

Enfeksiyöz etkenlerin gebelik kayıplarıyla olan ilişkisi ilk kez 1917 yılında Forest ve arkadaşlarının çiftlik hayvanlarında Brusella enfeksiyonu ile beraber tekrarlayan abortusları dikkat çekmesiyle ortaya atılmıştır. Son zamanlara kadar yapılan bir çok çalışmada bu konuda araştırmalar yapılmış, fakat gebelik kayıplarıyla ilgili olan kesin bir ajan saptanamamıştır. Ancak bir çok mikroorganizma suçlanmıştır .

Viral, paraziter veya bakteriyel enfeksiyonlar sonucunda embriyofetal hasar oluşarak erken gebelik döneminde kayıp olabilir ( Rubella, Parvovirus B19, CMV, CMV, Coksakie B virus, Varisella- Zoster, HSV, sifiliz, Lyme hastalığı).

Kronik vulvovajinal enfeksiyonların sistemik bir hastalığın lokal belirtisi (Diabetes Mellitus, Endokrinopati, SLE, vb.) veya abortusla suçlanan spesifik bir ajanın ortaya çıkardığı klinik bir tablo olabilir. Ayrıca immunkomprese ve kronik bir enfeksiyonu olan hastalarda mikroorganizma plasentayı tutarak fetal kayıplara yol açabilir.

### *ÇEVRESEL ETKİLER*

Çevresel etkenler malformasyonların %10'undan sorumludur (31). Tüm insan malformasyonlarının ancak %1'i reçeteli ilaçlara, kimyasallara ve radyasyona bağlıdır (32).

Annenin tütün kullanımı üreme sağlığı açısından bir çok etlileri mevcuttur (33). İçerisinde binlerce zararlı toksik madde içerdiğinden dolayı etkileri oldukça karmaşıktır. Nikotin vazoaktif bir madde olarak plasental ve fetal dolaşıma zarar verdiğine inanılmaktadır. Karbonmonoksit (CO) maternofetal oksijen kaynaklarını tüketmektedir. Kurşun (Pb) iyi bilinen bir nörotoksindir ve zararlı etkileri açıktır.

## **TEKRARLAYAN GEBELİK KAYBI OLAN HASTAYA YAKLAŞIM**

İki ve daha fazla gebelik öyküsü olan bir hastada öncelikle detaylı bir anamnez alınmalıdır. Bu partneri de içine alacak şekilde ayrıntılı olarak yapılmalıdır. Hastanın muayenesinde gebelik materyalinin tahliyesi sırasında uterin anomali açısından bulgular kaydedilmelidir. Gebelik materyali karyotipleme açısından genetik olarak incelenmeli, eğer gebelik kaybı ikinci trimester veya daha geç bir haftada meydana geldi ise tam bir otopsi için aile ikna edilmelidir.

### **ANAMNEZ**

Hastanın genel yakınması

Tekrarlayan gebelik kaybı olan hasta; hekime sıklıkla anksiyete içerisinde başvurur. Öncelikle hastaya, mevcut durumu ile ilgili kısa bilgiler verilerek ( oldukça sık görüldüğü, kaybedilen gebeliğin muhtemelen problemlili olduğundan dolayı doğal olarak sonlanmış olabileceği....vb.) rahatlaması sağlanmalıdır. Daha sonra şu sorularla hasta hakkında genel fikir sahibi olunmalıdır;

- Gebelik kayıpları kaçınıcı haftada meydana geldi?
- Gebelik intrauterin veya biokimyasal olarak mı tespit edildi?
- Gebelik kaybından önce fetal viabilite mevcut muydu?
- Daha önce fizik muayenede eşlik eden diğer faktörler var mıydı?
- Eğer gebelik kaybı 2. trimester ve daha sonra meydana geldiyse servikal bir yetmezlik olabilir mi?
- Genital sistem enfeksiyonu ile komplike olmuş bir gebelik mi?
- Gebelik kaybı sırasında uterin kontraksiyon ile birlikte miydi?

Birlikte olan diğer problemler

Menstrüel düzensizlikler, PKOS veya myoma uteri kaynaklı olabilir. Vajinal akıntı, genital sistem enfeksiyonu ( bakteriyel vajinozis, klamidy enfeksiyonu) belirtisi olabilir.

## Jinekolojik öykü

Eğer myoma uteri tanısı mevcut ise, endometrial kavitede düzensizlikler olabilir. Yine daha önceden geçirilmiş bir serviks cerrahisi, servikal yetmezlik ve geç gebelik kayıpları açısından uyarıcı olabilir.

Hastanın kontrasepsiyon öyküsünde eğer RİA ( Rahim İçi Araç) varsa, intrauterin adezyon sebebi olabilir. Sıklıkla bu durumda RİA takılmış ve uzun bir dönem sonra unutulmuştur. Geçirilmiş derin dilatasyon küretaj öyküsü de intauterin sineşi açısından değerlendirilmelidir.

## Medikal ve cerrahi öykü

Kronik otoimmün hastalıklar (Sistemik lupus eritematozus) erken gebelik kayıpları ile ilişkilidir. İyi kontrollü olmayan diyabet, tekrarlayan gebelik kayıplarının nedeni olabilir. Tromboembolik atak öyküsü ve gebelik kayıpları antifosfolipid sendromu açısından uyarıcı olmalıdır. Yine siyanotik kalp hastalıkları ve kronik renal yetmezlik tekrarlayan gebelik kayıplarının nedeni olabilir. Ayrıca psikolojik etkenlerin de gebelik kayıpları ile ilgili olabileceği tartışılmaktadır, ancak bu konuda kesin kanıtlar bulunmamaktadır.

Geçirilmiş pelvik ve uterin cerrahi, endometrial dokuda kaybı ve gebelik kayıplarıyla ilgili olabilir.

## İlaç kullanımı

İlaçlar teratojenik etkiler gösterebilmekte, ancak tekrarlayan gebelik kayıplarında nadiren etken olabilmektedir. Warfarin tekrarlayan gebelik kayıpları ile ilgili suçlanan ajanlardan biridir. Daha önce alınan radyoterapi ve kemoterapinin, gebelik kayıpları ile doğrudan bir ilgisi bulunmamaktadır.

Yine sigara ve alkol kullanımı doğrudan gebelik kayıplarından sorumlu değildirler.

## Aile ve sosyal öykü

Ailede Tip-2 diyabet öyküsü olması PKOS ve gebelik kayıplarının sebebi açısından uyarıcı olabilir. Yine koagulopati hikayesi varsa gerekli araştırmalar yapılmalıdır. Ailede veya daha önceki gebelikte kromozomal bozukluk olması, hastanın aydınlatılması açısından önemlidir.

İleri maternal yaş önemli bir tekrarlayan gebelik kaybı nedenlerinden biridir. Çünkü ilerleyen yaşla birlikte kromozomal anomali riski artmakta ve bu da tekrarlayan gebelik kaybının en sık nedenlerinden birini oluşturmaktadır.

## **FİZİK MUAYENE**

Hasta genellikle anksiyete veya depresyon içerisinde. Obezitenin mevcut olması PKOS açısından uyarıcı olmalıdır.

Abdominal muayenede, eğer hasta zayıf ise uterus myomları gözlenebilir veya palpasyonla ele gelebilir.

Pelvik muayenede, daha önceden fark edilmemiş konjenital anatomik anomaliler görülebilir. Bimanuel muayenede myomlar nedeniyle büyümüş uterus ele gelebilir, pelvik enfeksiyöz hastalıklar dikkati çekebilir.

## **LABORATUVAR İNCELEME**

Hematolojik inceleme

Tam kan sayımı ( anemi, platelet sayısı...)

Koagülasyon testleri ( Faktör V Leiden mutasyonu, antitrombin III, Faktör XII, antikoagülan Protein C ve Protein-S eksiklikleri)

İmmünolojik testler ( Anti-kardiyolipin, anti ds-DNA, anti-tiroid antikorlar)

Kromozomal çalışmalar (her iki partnerin karyotip analizi)

Endokrinolojik inceleme

LH/FSH; menstrüel siklusun 3-5. günlerinde yapılan teste göre artmış LH seviyeleri ve LH/FSH oranı PKOS açısından tanı koydurucu olabilir.

TSH; tiroid ile ilgili herhangi bir yakınması olmayan hastada tekrarlayan gebelik kayıpları ile ilişkili olarak taranmasına gerek yoktur.

Mikrobiyolojik inceleme

Bakteriyel vajinozis açısından kültür çalışmaları, klamidyal seroloji ve rubella çalışması yapılmalıdır.

Görüntüleme çalışmaları

Transvajinal ultrasonografi ile uterus ve overler değerlendirilmeli, uterin anomali (bikornuat uterus, myoma uteri)) ve overlerdeki kistik görünüm (PKOS) tanınmalıdır.

Histeroskopik inceleme ile, endometrial kavite değerlendirilerek adezyon, polip, septus, submüköz myom ortaya konulmalıdır.

Laparoskopi ile konjenital uterin malformasyonlar ve pelvik bölgenin anatomik bütünlüğü, adezyonlar, uterus, over ve fallop tüplerinin birbirleriyle ilişkisi değerlendirilmelidir.

## **METİLTETRAHİDRO FOLAT REDÜKTAZ ENZİMİ VE HOMOSİSTEİN METABOLİZMASI**

Normal bir gebelikte, uygun plasental perfüzyonun gelişmiş olması en önemli faktörlerden biridir. Plasental vaskülarizasyon anomalileri; spontan abortus, fetal ölüm, preeklampsi ve intrauterin gelişme geriliği gibi gestasyonel patolojilerin oluşumunda rol oynarlar (34). Trombofilik risk faktörleri preeklampsi, intrauterin gelişme geriliği, plasental ayrılma ve fetal kayıp gibi vasküler plasental patolojileri olan kadınlarda sık görülür.

Yukarıda ifade edilen gebelik komplikasyonları arasındaki ortak özellik plasental yetersizliktir. Trofoblastın yetersiz invazyonu ve artan fibrin birikimi majör patolojik komponent olabilir (35). Son zamanlarda, total homosistein düzeyindeki artış, tromboz risk faktörü olarak belirtilmektedir (36).

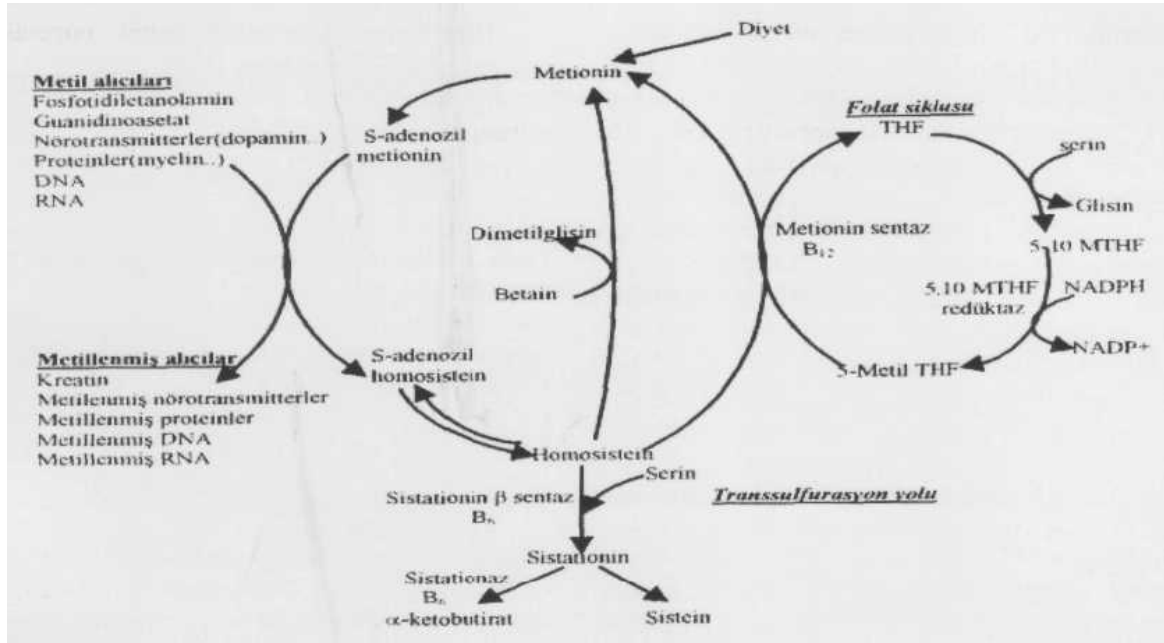
Homosistein, metiyonin metabolizması ara ürünü bir aminoasittir. Proteinlerin yapısında yer almaz. Metionin, esansiyel bir aminoasit olup homosisteinin tek kaynağıdır. Metioninden; metiyonil adenzil transferaz (MAT) enzimi varlığında transmetilasyon reaksiyonu ile homosistein oluşur. Homosistein metabolizmasında 3 enzim ve 3 vitamin rol oynar. B6 vitamini varlığında sistatyonin B sentaz (CBS) enzimi ile transsülfürasyon reaksiyonu sonucunda sisteine, B12 ve folik asit varlığında remetilasyon reaksiyonu ile metionin sentaz (MS) enzimi yoluyla metionine dönüştürülür. Remetilasyon için gerekli metil kaynağı ise folik asittir. Yani metil tetrahidrofolat redüktaz (MTHFR) enzimi B6 vitamini varlığında metilentetrahidrofolattan sağlanır ( Şekil 1) (37). Homosistein kanda %3'ü serbest, %75'i albümine bağlı, %22'si ise disülfidformundadır. Plazma düzeyi yüksek performanslı likid kromatografi yöntemi veya immunoassay yöntemi ile ölçülür. Normal plazma düzeyleri 5-15 µmol/L arasında değişmektedir (37-38).

Latent yada maskelenmiş homosistein (HCY) metabolizma bozukluklarını ortaya çıkarmak için metionin yükleme testi yapılır. Metionin 0.1g/kg verildikten 6 saat sonra plazma homosistein düzeyi ölçülür. Bu test hiperhomosisteinemiye ortaya koymada daha duyarlı olarak görülmekte ancak gebelikte kullanımı ile ilgili yeterli veri bulunmamaktadır. Hiperhomosisteinemi diyebilmek için açlık düzeyi 15 µmol/L den fazla veya metiyonin yükleme testi sonrası 51 µmol/L den fazla olmalıdır ( 38).

Homosisteinin sülfidril grubunun, hipometilasyon ve açilleme etkisi nedeniyle; homosisteinin, damar endoteline zararlı etkilere neden olduğu bilinmektedir (39). Homosisteinin, damarlarda oluşturduğu bu hasar nedeni ile platelet tüketimini arttırdığı, sonuçta da trombozise neden olduğu belirtilmiştir (40). Hiperhomosisteinemi ile gebelik kaybı arasındaki ilişkinin tam mekanizması henüz bilinmemekte, fetusta yapısal ve nörolojik etkiler ya da etkilenmiş kadınlarda trombojenik potansiyelin artması ve tromboz oluşması gibi farklı mekanizmalar ortaya atılmaktadır (41).

Hiperhomosisteinemi, metionin-homosistein yolağındaki kalıtsal bir defektten ya da Vitamin B12 ve folattan eksik beslenmeden kaynaklanabilir (42,43). Homozigot sistasyonin-B-sentaz yada metilen tetrahidrofolat redüktaz eksikliği şiddetli hiperhomosisteinemi nedenidir ve mental retardasyon, iskelet anomalileri, prematür vasküler hastalık ya da tromboz ile sonuçlanabilir (44). Kanda homosistein düzeyinin yükselmesi nöral tüp defekti, fetal kayıp, plasental ayrılma ve plasental nekroz riskini arttırır (41,45,46).

MTHFR, homosistein metabolizması için gereklidir. Homosistein metabolizması ile ilişkili genler ile MTHFR gen mutasyonları hiperhomosisteinemi nedenleri arasındadır (47). Enzim 5,10-metilentetrahidrofolat'ın 5-metil tetrahidrofolat'a indirgenmesini katalizler. 5-metil tetrahidrofolat, folatın sirkülasyondaki formudur ve homosisteinin metionine remetilasyon reaksiyonundaki karbon vericisidir. Ayrıca S-adenozilmetionin sentezine katılır. MTHFR gen polimorfizmlerinin hiperhomosisteinemi ile yakın ilişkili olduğu gösterilmiş olup en iyi tanımlanmış polimorfizmler; 677C>T mutasyonu ve 1298A>C mutasyonudur. 677C>T mutasyonu sonucu, MTHFR' nin katalitik domain bölgesinde alanin aminoasidi ,valin aminoasidine dönüşür. Bu başkalaşım, enzimi termolabil hale getirir ve in vitro koşullarda MTHFR aktivitesi homozigot ve heterozigotlarda sırasıyla %70 ve % 35 oranında azalır. C677T alleleline homozigot formda sahip olan bireylerde plazma homosistein düzeyi orta şiddette artar ki bu özellikle folat yetersizliği dönemlerinde dikkat çekicidir (47,48). Bu alleli heterozigot formda taşıyan bireylerde plazma homosistein düzeyi intermediyer aralıklardadır. Bu mutasyonun prevalansı etnik gruba göre büyük değişkenlikler gösterir. Türk populasyonunda heterozigot ve homozigot sıklığı yaklaşık % 47,4 ve % 9,6'dır (49).



Şekil-1: Homosistein metabolizması

İkinci sık görülen polimorfizm, 1298A>C başkalaşımıdır ve MTHFR'nin regülatör bölgesinde yer alan glutamat'ın alanin'e dönüşümü izlenir. Bu başkalaşım enzim aktivitesini azaltır ama 677T allel değişimi kadar belirgin değildir. In vitro koşullarda 1298C alleli homozigot olan bireylerde enzim aktivitesi % 40 kadar azalmıştır ancak plazma homosistein düzeyleri kontrollere göre yüksek değildir. Bununla beraber, kombine MTHFR C677T ve A1298C mutasyonlarının birlikte bulunması MTHFR aktivitesinin %40-50 oranında azalmasına buna bağlı olarak da hiperhomosisteinemi gelişimine ve plazma folat düzeylerinin azalmasına neden olduğu rapor edilmiştir (48,50). Genel popülasyonun %15-20 kadarı MTHFR varyantlarının biri açısından heterozigottur(51).

İdiyopatik gebelik kayıplarının patogeneğinde MTHFR mutasyonları risk faktörlerinden biri olarak ifade edilmektedir. Bazı çalışmalarda üç ve daha fazla tekrarlayan gebelik kaybı olan kadınlar arasında homozigot varyantların frekansının yüksek olduğu ifade edilirken (52,53,54) diğerlerinde MTHFR mutasyonları ile gebelik kayıpları arasında herhangi bir ilişki saptanamamış (55,56), idiyopatik gebelik kayıpları olan olgularda kontrollere benzer (57) ya da daha düşük (56) MTHFR mutasyon prevalansları saptanmıştır.

## HÜCRE ADEZYON MOLEKÜLLERİ

Endotelial hücrelerle lökositler arasında adeziv etkileşimi sağlayan bir grup hücre yüzey molekülünün 1980'li yılların ortalarından itibaren moleküler olarak saptanması, adezyon molekülleri ile ilgili bilgilerimizin hızla artmasına neden oldu. Daha sonraki yıllarda adezyon moleküllerinin, histogenez, embriyogenez, hücre büyümesi, hücre farklılaşması ve enflamasyon gibi olguların düzenlenmesinde görev aldıkları belirlendi. Adezyon molekülleri fonksiyonlarına ve yapılarına göre dört ayrı sınıfta incelenmeye başlandı. Bunlar; selektinler, integrinler, immünglobulin süper ailesine ait adezyon molekülleri ve kaderinlerdir. Yine, adezyon işlevinde görev aldığı bilinmekle beraber yukarıda sayılan gruplardan birine dahil edilemeyen bir grup molekül sınıflandırılmayan adezyon molekülleri olarak adlandırılır. Adezyon molekülleri ile yapılan araştırmalar, bu moleküllerin hücreleri birbirine bağlamanın çok ötesinde etkileri olduğunu göstermiştir. Son 10 yılın önemli gelişmelerinden biri de, adezyon moleküllerinin sinyal iletiminde de görev aldığı tespit edilmesidir. Integrinler sıklıkla aksesuar transmembran moleküllerle birleşerek sinyal kapasitelerinin çeşitliliğini artırırlar. Adezyon molekülleri ve özellikle de integrinlerle ilgili genetik bozukluklar ve mutasyonlar hücrel fonksiyon bozukluklarına ve patolojik durumların ortaya çıkmasına neden olabilir. Adezyon moleküllerini hedefleyen yeni tedavi yaklaşımları da artık gündeme gelmeye başlamıştır (58).

Hücrel adezyon molekülleri (HAM) , hücre yüzeyinde bulunan, hücrelerin birbirine ve ekstra sellüler matrikse bağlanmasını sağlayan protein molekülleridir. Adezyon molekülleri , hücrelerin özgül olarak dokulara yönelmelerinde , birbirlerini tanımalarında , embriyogenez, hücre büyümesi, hücre farklılaşması ve enflamasyon gibi olguların düzenlenmesinde görev alırlar. Etkilerini reseptörleri üzerinden gerçekleştirirler ve dört ana grupta incelenirler(59).(Tablo-2)

Tablo-2

Hücrel adezyo molekülleri
*İmmünglobulin ailesi
*İntegrin ailesi
*Selektin ailesi
*Kaderinler

### İmmünglobülin Adezyon Molekülleri Ailesi

Transmembran glikoproteinleridir. Omurgalıların bağışıklık sisteminde adezyon, tanıma veya bağlanma fonksiyonlarına aracılık eden birçok çözünebilir molekül ve hücre yüzey molekülü vardır.

Bu moleküllerin aminoasit dizilerinin bir kısmı ve üçüncül yapıları immünglobulin hafif ve ağır zincirlerinde saptanan bazı yapılarla homoloji gösterirler. Aynı özellikleri taşıyan ve bağışıklık sistemi dışında bulunan moleküller de vardır ve benzer fonksiyonlara sahiptirler. Bu proteinler immünoglobulin süper ailesinin üyeleridir. Bu ailenin üyeleri büyük olasılıkla ortak bir prekürsör genden çeşitli evrimler sonucu meydana gelmiştir(60).(Tablo-3)

Tablo-3

İmmunoglobülin adezyon molekülleri ailesi
*Inter Cellular Adhesion Molecule; ICAM-1, ICAM-2,ICAM-3 (CD50)
*Vasculer cell adhesion molecule;VCAM-1 (VCAM-1, CD106, INCAM-110)
*Platelet endothelial cell adhesion molecule; pECAM-1/CD31
*MadCAM-1 'den oluşurlar.

CD31 antijen aynı zamanda platelet endotelyal hücre adezyon molekülü (PECAM-1) olarak da bilinen immunoglobulin ailesine bağlı bir transmembran glikoproteinidir. Myeloid kök hücrelerinde , trombositlerde ve endotelyal hücre birleşme yerlerinde eksprese olmaktadır. CD31 lokositleri endotel duvarına migrasyonunda görev alır ve CD38 ile integrin alfa ve beta3 lere bağlanmasında rol alır.Bazı çalışmalar CD31' in trombositlerin aktivasyon ve agregasyonunda rol aldığını göstermektedir (61).

### **İntegrin Adezyon Molekül Ailesi**

Tüm insan hücrelerinde bulunan , hücre-hücre ve hücre –ekstrasellüler matriks ilişkilerine katılan bir adezyon molekül sınıfıdır. Son yıllarda hücreler ile onu çevreleyen ekstrasellüler matriks protein komponentleri arası ilişki , integrin adı verilen ekstrasellüler matriks reseptörlerinin izole edilmesi ve nitelenmesinden sonra daha açık hale gelmiştir. İntegrin denilen bu reseptörler ekstrasellüler adezyon proteinlerinin hücre iskeletine sıkıca tutunmasını sağlayan integral membran glikoproteinleridir(62).

### **Selektin Adezyon Molekül Ailesi**

Selektin ailesinde L-selektin, P-selektin ve E-selektin bulunur.Her üç grup selektin, lokositlerin endotele yapışarak yuvarlanmasında rol alır (63).

### **Kaderinler**

Üzerinde bulunduları dokulara göre isimlendirilirler ve bugün bilinen beş kaderin grubu vardır.

E- kaderinler: Epitel hücrelerinde eksprese olurlar.

P-kaderinler: Plasentada eksprese olurlar ancak belirli dönemlerde diğer dokularda da buldukları bildirilmiştir.

V-kaderinler: Endotel hücreleri üzerinde eksprese olurlar.

N-kaderinler: Nöral dokularda ve kas hücrelerinde eksprese olurlar.

H-kaderinler: Kalp kasında eksprese olurlar(63).

#### Sınıflandırılmayan Adezyon Molekülleri

Adezyon fonksiyonuna katılan ancak yukarıda bahsedilen dört grup içerisinde sınıflandırılmayan adezyon molekülleridir.

Hermes (CD44): Hücre dışı matriks reseptörü III olarak da bilinir. Membran glikoproteinidir. İnsan dokularında variant izoformları yaygın olarak eksprese olur. T ve B-lenfosit, timositler, granüosit, monosit, epitelial hücreler, fibroblastlar bunlardan bazılarıdır. Hücre- hücre ve hücre , hücre-dışı matriks adezyonundan sorumludur. Endotel hücresi üzerinde lenfositlerin yuvarlanmasına , hücre göçüne ve hematopoetik hücrelerin diferansiasyonunun uyarılmasına aracılık eder (63).

CD36

Laminin

Fibronektin

OX40

Foliküler atrezi, lutealiz ve adezyon molekülleri

Doğum sırasında milyonlarla ifade edilen sayıda follikül overde mevcut iken ,reproduktif dönemde bunlardan çok az miktarı dominant follikül haline gelmekte , geri kalan çoğu apoptozis sonucu atreziye uğramakta ve sonuçta dejenere olmaktadır. Folliküler dejenerasyon yada korpus luteum regresyonu hücre-hücre arası adezyon bölgelerinde kayıplara eşlik ettiğinden , hücrel adezyon moleküllerinin granüloza hücre yaşam ve ölümüne katıldığı hipotezi ileri sürülmüştür. Folliküllerin dejenerasyon sürecinde N-kadherin ekspresyonu azalmakta ve granüloza hücreleri sonuçta birbirinden ayrılmaktadır. Makrigiannakis ve arkadaşları, N-kadherin antikoru kullandıkları çalışmalarında bu ajanın yalnızca granüloza hücrelerinin agregasyonunu bozmadığını , aynı zamanda bu hücrelerde apoptozis olayını da arttırdığını göstermiştir(64).

### Adezyon molekülleri ve ovulasyon

E-kaderin, L-seletin, ICAM-1, NCAM, VCAM-1 gibi hücrel adezyon moleküllerinin oositlerde bulunduğu ve oositlerin integrinleri de içerdikleri Campell ve arkadaşları tarafından ifade edilmiştir.

Alfa ve beta-kaderin, tüm ovarian komponentlerde eksprese olur. hCG verilmesi sonrası alfa-kaderin ve E-kaderin ekspresyonunda azalma izlenmiştir. Alfa-kaderin granüloza hücrelerinde ve alfa-kaderin ve E-kaderinin her ikisinin ovulatuvar folliküllerin teka hücrelerinde azalmasının , ovulasyon ve luteinizasyon olayları ile ilişkili olabileceği ifade edilmiştir (65).

### Fertilizasyon ve adezyon molekülleri

Fertilizasyon olayı hücre-hücre ve hücre-matriks arası ilişkiler yumağını içeren bir süreçtir; sperm zona pellusidaya bağlanır, oosit büyük miktarda extrasellüler matriks proteinini çevresinde bulundurur. Bu ilişki akrozom reaksiyonunu tetikler , böylece sperm oosit içine penetre olur. İnsan spermatozoalarının baş kısmında immunositokimyasal yöntem ile fibronektin tesbit edilmiştir. Bu bölge fertilizasyon sırasında spermin oosit plazma membranı ile ilk ilişki kurduğu bölgedir. Henkel ve arkadaşları, aynı sperm sayısı ve spermiogram parametrelerine sahip kişilerden adezyon molekül ekspresyonu az olanlarda (fibronektin, very late antijen integrin) spermin oosit penetrasyonunda azalma olduğunu göstermişlerdir(66).

### Endometrium , adezyon molekülleri ve implantasyon

Menstrüel siklus sırasında endometrium implantasyona hazırlanmak için bir seri dikkate değer değişiklikler gösterir ve bu değişiklikler erken gebelik döneminde de devam eder. Siklik endometrial yenilenme , implantasyon, gebelik ve doğum, spesifik hücre-hücre veya hücre- ekstrasellüler matriks arası etkileşime gerek duyabilir.

Mac Calman ve arkadaşlarının çalışmasında , kaderin-6 ve kaderin-11 'in menstrüel siklus boyunca endometrial stromada değişken şekilde eksprese olduğu ve maksimum kaderin-11 mRNA düzeyinin erken gebelik desiduasında gözlemlendiği, fakat termde azaldığı ileri sürülmüştür (67).

## Açıklanamayan infertilite ve integrinler

Yakın zamanlarda yapılan bir çalışmada a4b1 integrinlerin fertil kadınlarda müspet iken, açıklanamayan infertil kadınlarda tespit edilemediği saptanmıştır.

Feinberg ve arkadaşları, endometriyal alfa4beta1 integrinlerin trofoblastik dokuyu tanıma sürecine katılabileceği ve onkofetal fibronektin için reseptör rolü olabileceğini demonstre etmiştir(68).

## Akım sitometri yöntemi

Akım sitometri birçok sistemin birleşmesinden oluşmuştur. Bunlar; örnek toplayıcı ve taşıyıcı sistem, akış sistemi (sheath fluid), ışık kaynağı (lazer kaynağı), sferik ve çapraz silindirik filtreler, odaklama aynaları, sinyal dedektörleri (optik ve elektrik sinyal) , bilgisayar (data toplanması, saklanması, sunumu ve analizi) ve ayırma mekanizmasıdır (69).

Süspansiyon halindeki hücreleri cihaza vermeden önce lazer, bilgisayar ve elektronik sistemler devreye sokulur. Polisteren kaplı partiküller ile lazer ayarı yapılır. Bu aletin kalibrasyonunu sağlar. Standart ve kontrollerin verilmesi ile de örneğin kalibrasyonu yapılır. Daha sonra çalışılacak popülasyon monitörde işaretlenir, histogramların ayarı yapılır ve örnek alete verilir (69).

Süspansiyon halindeki işaretli hücreler ve partiküller (mikroorganizmalar, kromozomlar ve hücreler) hava basıncı ile sheath fluid içinden geçirilir. Sheath fluid içindeki sıvının akışı çok hızlı olduğundan yüksek bir basınç ile hücreler cam veya quartzdan yapılmış (flow chamber) akış kabine gelirler. Bu kabinin geometrik şekli ve sıvının laminer akışı , hücrelerin tek bir sıra halinde geçişini sağlar ve tek sıra halindeki hücreler lazer ışığı içinden geçerek görünür hale gelirler. Lazer kaynağı olarak; argon iyonu, kripton, helium-kadmium, helium-neon veya daha yüksek yoğunluktaki ışık kaynakları kullanılır. İşaretlemede kullanılan probalar lazer kaynağıyla aktive olduklarından ışın yayarlar ve bu sayede dedekte edilebilirler. Genellikle lazer kaynağı olarak argon iyonu kullanılır ve fluoresceinisothiocyanate (FITC), propidium iodide(PI) ethidium bromide, acridine orange, phycoerytrin (PE) 'in 488 nm'de aktivasyonu sağlanır. Bu probaların emisyonları farklıdır(69) Hücreye bağlı florokrom , lazer ışığı ile aktiflenir ve bu enerjiyle ışın yayar. Bu yayılan ışının yoğunluğuna göre hücre boyutu, iç yapısı, yüzey morfolojisi ve hücrelerin canlılığı hakkında bilgi edinilir(70).

Aktiflenme sonucu açığa çıkan floresan fotodiotlara toplanır, photo multiply tubes (PMT's) ile elektrik sinyaline çevrilerek amplifiye edilir ve sonuçlar bilgisayara iletilir ve seçilen populasyondaki hücrelerin verdikleri floresan ile hücre sayısı arasındaki ilişkiye göre yorum yapılır(71).

### **III.Materyal Ve Metod**

#### **a.Hastaların seçimi**

Çalışmamıza 2004-2007 yılları arasında kliniğimize tekrarlayan gebelik kayıpları nedeniyle başvuran ve MTHFR enzimi açısından genetik analiz ile homozigot ve heterozigot mutasyon tesbit edilen hastalar 20 şer kişilik 2 grup oluşturacak şekilde seçildi.

Bu çalışmaya 20-30 yaş arası , sistemik hastalığı olmayan ,sigara ve alkol gibi alışkanlıkları olmayan,ilaç kullanmayan (özellikle folik asit, B12 vitamini, antikoagulan tedavi , oral kontraseptif ajan gibi); heriki ebeveynin karyotip incelemesi ,glukoz tolerans testi, toxoplazma serolojisi , histerosalpingografisi ,tiroid fonksiyon testleri ,serum prolaktin düzeyleri normal olan ve uterin anatomik bozukluğu olmayan , normal luteal fazı olan ( >12 gün ) ve plazma progesteron düzeyi >24.8 ng/ml olan ,antinükleer antikor ve antifosfolipid antikor negatif olan, diğer herediter trombofililerin tesbit edilmediği hastalar seçilmiştir.

Kontrol olarak ise en az 2 canlı doğum yapmış, herhangi bir sistemik hastalık öyküsü olmayan, abortus öyküsü olmayan , MTHFR enzim mutasyonu tesbit edilmemiş, otoimmün hastalık öyküsü olmayan , daha öncesinde trombotik hastalık öyküsü olmayan , antinükleer antikor ve antifosfolipid antikor negatif kadın popülasyonu arasından 20 kadın seçildi.

Tüm vakaların demografik özellikleri (yaş, gravida,parite, abortus, küretaj) , son adet tarihi, daha önceden geçirilmiş bir uterin operasyon olup olmadığı, daha önceki doğum şekli, gebelikte ilaç (folik asit v.s.) kullanımı kaydedildi. Kontrol grubu ve çalışma grubu hastalarının seçiminde diyet özellikleri not edildi ve diyet özellikleri bakımından benzer olan hastalar seçildi. Adet geçikmesi ve gebelik şüphesi veya betaHCG testi pozitif olanlar çalışmaya dahil edilmedi. En son düşük öyküsünden en az 4-5 aylık bir süre geçen hastalar çalışmaya dahil edildi.

#### **b.Alınan kan örneklerinin hazırlanması**

Çalışmamıza katılan hastalarda 0.5-1cc venöz kan EDTA'lı tam kan tüplerine alındı. Çalışmamızda kontrol ve hasta gruplarından alınan kanların akım sitometrik analizi, Becton-Dickinson'un lyse-wash yöntemi kullanılarak yapılmıştır. Çalışmamızda her hasta için 2 tüp kullanılmıştır. 1. tüpe CD45 FITC /CD31 PE / CD14 APC 2. Gamma IPE antikorlarından (BD biosciences; California, USA) 20 microlitre konuldu. Her tüpe hastalardan tam kan tüpüne alınan

EDTA'lı kandan 100 mikro litre eklendi. Kan eklenen tüpler 2 saniye hafifce karıştırıldı. Tüpler oda ısısında (25°C ) ve karanlık bir ortamda 15 dakika inkübe edildi.İnkübe edilen tüpler 15 dakika sonrasında 2 saniye hafifce karıştırıldı. Tüpler içine 2 mililitre FACS lysing solution (1:10 oranında distile su ile sulandırılmış) eklendi.Sonra tüpler tekrar 2 saniye hafifce karıştırıldı. Tüpler oda ısısında (25°C) ve karanlık bir ortamda eritrositlerin erimesi için yaklaşık 10 dakika inkübe edildi. Daha sonra bu tüpler 5 dakika boyunca 250 x g devirde santrifüj edildi.Santrifüj sonrasında tüplerin üst kısmında kalan supernatant kısım ayrıldı. Bu işlemde sonra herbir tüpe 3 mililitre PBS (Phosphate buffer solution ;%0.1 Na azid ) eklendi. Hafifce 2 saniye karıştırılan tüpler oda ısısında 250xg devirde 5 dakika boyunca santrifüj edildi. Santrifüj edilen tüplerde üstte kalan supernatant kısım tekrar ayrıldı ve hafifce 2 saniye karıştırılan tüplere 0.5 ml PBS (Phosphate buffer solution ;%0.1 Na azid ) eklendi.Bu yöntem ile hazırlanan tüpler Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Çocuk İmmunoloji laboratuvarında B.D Facs Calibur (BD biosciences; California, USA) akım sitometri cihazı ile çalışıldı.

Çalışmaya katılan hastalardan eş zamanlı olarak homosistein düzeyi, folik asit düzeyi ve B12 vitamin düzeyi calisildi. Çalışmaya alınan kişilerden bir gecelik açlık sonrası antekubital venden homosistein ölçümü için 4.5 ml'lik EDTA'lı tüplere 3-4 ml kan alındı. En geç 1 saat içerisinde santrifüj edilerek plazma ayrıldı, 2-8 0C ısı şartları sağlanarak ölçümün yapılacağı laboratuvara nakledildi. Folat, B12 vitamini, ölçümü için ise 10 ml'lik tüplere 3-4 ml kan alındı. Bunlar da aynı süre içinde serumlarına ayrılarak çalışıldı.Serum folat ve B12 vitamini düzeyi ölçümleri, “chemiluminescent enzyme immunoassay” yöntemi ile “Immulite”otoanalizöründe (DPC, Los Angeles, CA, USA) yapıldı. Homosistein düzeyi ölçümü yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) yöntemi ile yapıldı.(An HP 1100 series HPLC, Agilent Technologies, CA, USA). Bu yöntem ile total homosistein düzeyi ölçümü,değişik homosistein formlarındaki disülfid bağlarının sodyum borohidrid ile indirgenmesi, monobrombiman ile ayrıştırılması ve ayrışan homosisteinin HPLC cihazında floreskopik okuma ile ölçülmesi prensibine dayanmaktadır.Folik asit , viatmin B12 ve homosistein ölçümleri Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Biyokimya laboratuvarında yapılmıştır.

Çalışmamız Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Dekanlığı Etik Kurulu tarafından incelenmiş ve 2007/195 sayılı karar ile uygun görülmüştür.

### **c.İstatiksel analiz**

Çalışmamızda gruplar arasında değerlendirilen özellikler bakımından önemli bir farklılık olup olmadığını karşılaştırmak için tek yönlü varyans analizi (one way ANOVA) yapılmıştır. Fark olduğu belirlenen özellikler arasındaki farklılığın saptanmasında ise Asgari Önemli Fark Testi (LSD) kullanılmıştır.

Çalışmamızda biyokimyasal olarak hastalardan eş zamanlı olarak alınan kanlarda homosistein düzeyi, folik asit düzeyi ve vitamin B12 (kobolamin) düzeyi çalışılmıştır.

Çalışmamızda akım sitometrik analizde ise elde edilen FSC ve SSC grafiğinde Lenfositler (R1) , Monositler (R2) , Granüositler (R3) ve debris (R4) kapıları ayrı ayrı değerlendirildi (şekil-2). Lenfosit kapısında (R1) CD31FITC/CD45PE (şekil-3), monosit kapısında (R2) CD14 APC/CD31PE (şekil-4) ve granüosit kapısında CD31FITC/CD45PE (şekil-5) taşıyan hücre oranları saptandı. R4 kapısında sadece CD31 pozitifliği (şekil-6) yüzde oran olarak değerlendirildi.

## **IV.Bulgular**

Çalışmamızda heterozigot ve homozigot grup hastalar arasında, gebelik kaybı sayısı ve gebelik kayıplarının olduğu haftalar arasında yapılan karşılaştırmada herhangi bir fark tesbit edilememiştir. Ancak homozigot grupta 1 hastada 16. haftada fetus anne karnında kaybedilmiş ve normal doğum ile gebelik sonlandırılmıştır. Gebelik kaybı sayısı her iki grupta 2 ila 7 arasında değişirken , hafta olarak gebelik kayıpları 6. ve 11. haftalar arasında olduğu görülmüştür. Hastaların soygeçmişleri incelendiğinde homozigot grupta 3 hastada ve heterozigot grupta 2 hasta da ailede kalp krizi öyküsü olduğu öğrenilmiştir. Ayrıca homozigot grupta 1 hastada ailede serebrovasküler hastalıktan ölüm ve yüksek tansiyon olduğu öğrenilmiştir. Homozigot grupta soygeçmişinde kalp krizi öyküsü olan hastalarda homosistein düzeylerine bakıldığında her üç hastadada homosistein düzeylerinin homozigot grup için ölçülen ortalamanın üstünde olduğu görüldü. Aynı şekilde heterozigot grubun soygeçmişinde kalp krizi riski olan hastalarda da homosisteinin, heterozigot grup için belirlenen ortalama değerde

olduğu görüldü. Homozigot grupta soygeçmişinde serebrovasküler hastalıktan ölüm ve yüksek tansiyon tesbit edilen hastada homosistein düzeyinin homozigot grup için ortalama değerin üstünde olduğu görüldü.

A)Çalışmamızda biyokimyasal olarak hastalardan eş zamanlı olarak alınan kanlarda homosistein düzeyi, folik asit düzeyi ve vitamin B12 (kobolamin) düzeyi çalışılmıştır.Ve gruplar arası istatistiksel karşılaştırma yapılmıştır.Elde edilen sonuçlar aşağıda belirtilmiştir.

### ***1-Homosistein için varyans analizi***

Hasta	Sayı	Homosistein(ortalama) $\pm$ standart hata
Homozigot	20	11.005 umol/L $\pm$ 0.688 A*
Heterozigot	20	8.530 umol/L $\pm$ 0.682 B
Kontrol	20	4.490 umol/L $\pm$ 0.191 C

Hasta	Minimum değer	Homosistein Ortalama	Maksimum değer
Homozigot	7.1	11.005	20.1
Heterozigot	5.1	8.530	19.7
Kontrol	3.2	4.490	6.5

Her üç hasta grubu homosistein düzeyleri açısından karşılaştırıldığında birbirleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tesbit edilmiştir.(P<0.01)

\*Aynı sütunda farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir.Aynı sütunda aynı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark ise istatistiksel olarak önemli değildir.

### ***2-Folik asit için varyans analizi***

Hasta	Sayı	Folik asit(ortalama) $\pm$ standart hata
Homozigot	20	8.610 ng/ml $\pm$ 0.731 B
Heterozigot	20	11.192 ng/ml $\pm$ 1.15 B
Kontrol	20	15.784 ng/ml $\pm$ 1.11 A

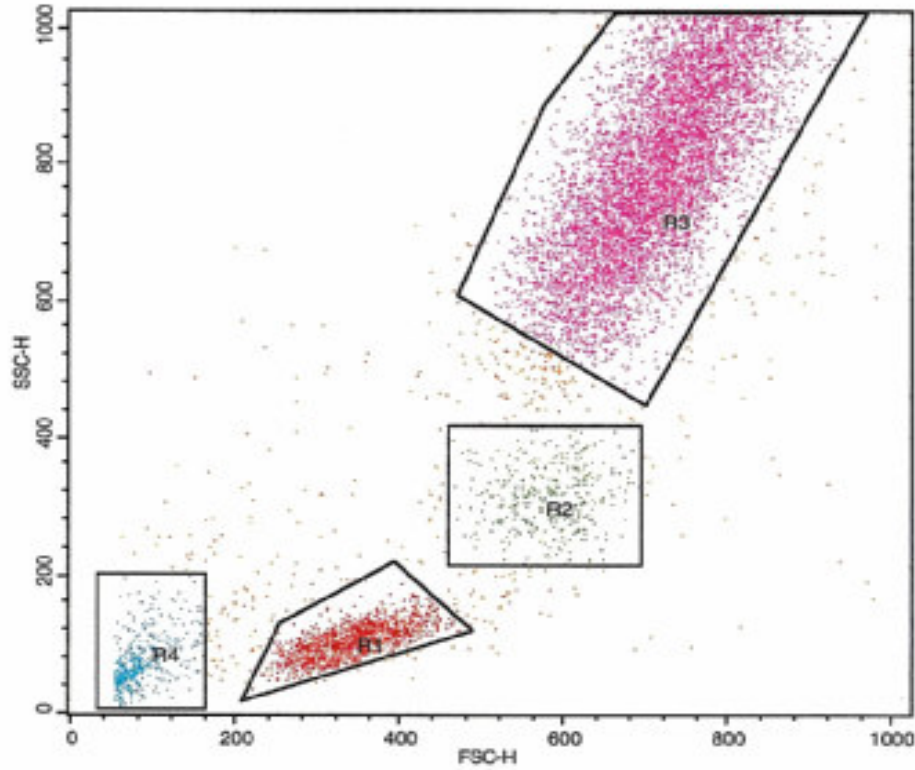
Folik asit seviyeleri açısından homozigot ve heterozigot hasta grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yok iken her iki grup ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardır.(P<0.01)

### ***3-Vitamin B12 (kobolamin) için varyans analizi***

Hasta	Sayı	Vit-B12(ortalama) $\pm$ standart hata
Homozigot	20	196.51 pg/ml $\pm$ 21.6 A
Heterozigot	20	184.30 pg/ml $\pm$ 41.1 A
Kontrol	20	189.30 pg/ml $\pm$ 31.5 A

Vitamin B12 düzeyleri açısından her üç grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark tesbit edilmemiştir.(P>0.05)

**B)** Çalışmamızda akım sitometrik analizde elde edilen FSC ve SSC grafiğinde Lenfositler (R1) , Monositler (R2) , Granülositler (R3) ve debris (R4) kapıları ayrı ayrı değerlendirildi(şekil-2). Lenfosit kapısında (R1) CD31FITC/CD45PE (şekil-3), monosit kapısında (R2) CD14APC/CD31PE (şekil-4) ve granülosit kapısında CD31FITC/CD45PE (şekil-5) taşıyan hücre oranları saptandı. R4 kapısında sadece CD31 pozitifliği (şekil-6) yüzde oran olarak değerlendirildi. Bu analizler her üç grup için ayrı ayrı yapıldı. Elde edilen sonuçlar aşağıda belirtilmiştir.



**Şekil 2:**Akım sitometride tam kandan izole edilen lokositlerin genel dağılımının görüntüsü.

**R1:** Lenfositler **R2:**Monositler **R3:**Granülositler **R4:** Debris

### ***1-Her bir grupta sayılan lenfositlerin oranları için varyans analizi***

Hasta	Sayı	Sayılan lenfosit yüzdesi(ortalama) $\pm$ standart hata
Homozigot	20	15.67 $\pm$ 1.73 AB
Heterozigot	20	21.14 $\pm$ 1.58 A
Kontrol	20	11.34 $\pm$ 1.21 B

Hasta grupları her grupta sayılan lenfosit yüzdeleri açısından karşılaştırıldığında homozigot ve heterozigot grup arasında ve homozigot grup ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark tesbit edilmemekten heterozigot grup ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark tesbit edilmiştir.(P<0.01)

### ***2-Her bir grupta sayılan monositlerin oranları için varyans analizi***

Hasta	Sayı	Sayılan monosit yüzdesi(ortalama) $\pm$ standart hata
Homozigot	20	4.865 $\pm$ 0.362 A
Heterozigot	20	4.301 $\pm$ 0.248 A
Kontrol	20	4.845 $\pm$ 0.293 A

Hasta grupları her grupta sayılan monosit yüzdeleri açısından karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark tesbit edilmemiştir.(P>0.05)

### ***3-Her bir grupta sayılan granülosit oranları için varyans analizi***

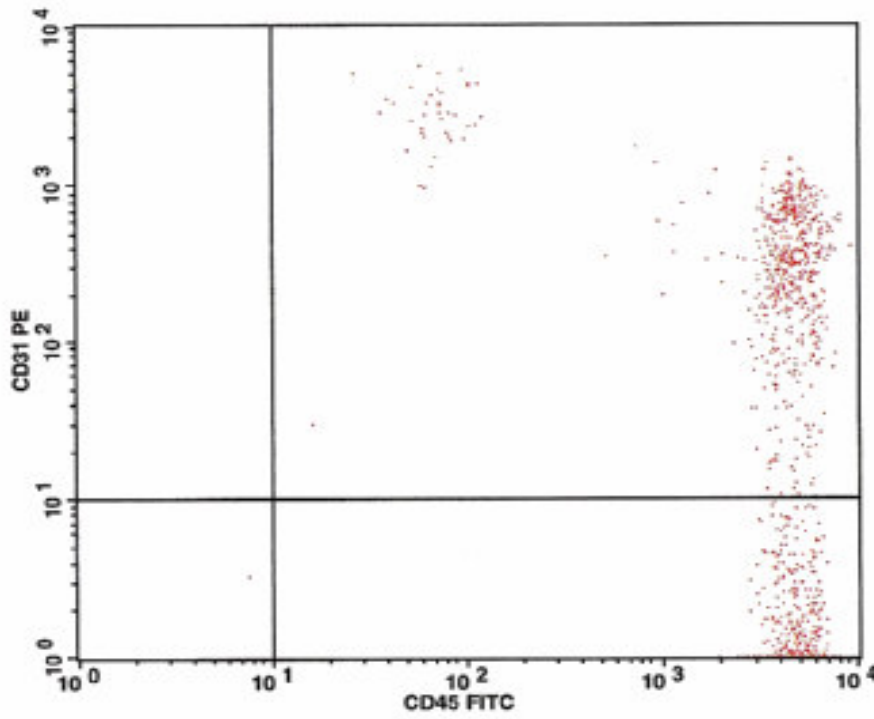
Hasta	Sayı	Sayılan granülosit yüzdesi(ortalama) $\pm$ standart hata
Homozigot	20	67.73 $\pm$ 2.12 AB
Heterozigot	20	63.31 $\pm$ 2.31 B
Kontrol	20	73.51 $\pm$ 1.93 A

Hasta grupları her grupta sayılan granülosit yüzdeleri açısından karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark heterozigot grup ile kontrol grubu arasında saptanmıştır (P<0.01).

**4-Lenfosit kapısında (R1) CD31FITC/CD45PE taşıyan hücre oranları için varyans analizi**

Hasta	Sayı	CD 31 taşıyan lenfosit yüzdesi(ortalama) ±standart hata
Homozigot	20	59.640±1.17 A
Heterozigot	20	57.925±1.49 AB
Kontrol	20	52.905±1.70 B

Hasta grupları her grupta Lenfosit kapısında (R1) CD31/CD45 taşıyan hücre oranları açısından karşılaştırıldığında sadece homozigot grup ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur.(P<0.01)

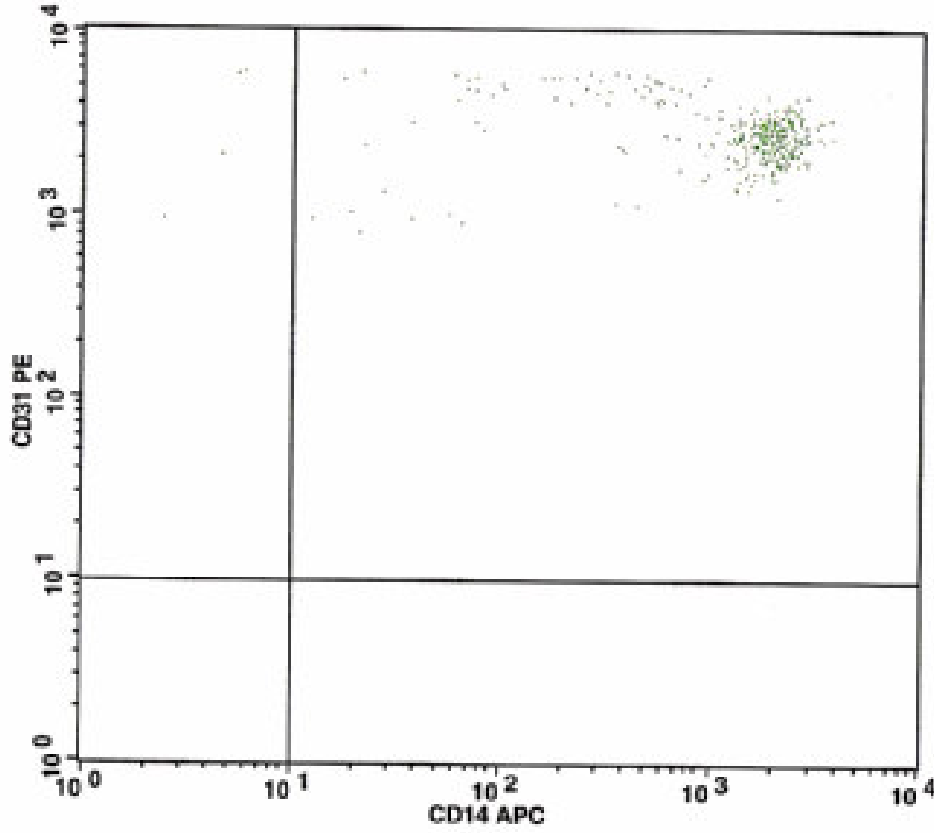


Şekil 3: : R1 kapısındaki Lenfositlerin CD31 ve CD45 taşıyanlarının akım sitomerite dağılımı ( sağ üst köşe).

*5-Monosit kapısında (R2)CD14APC/CD31PE taşıyan hücre oranları için varyans analizi*

Hasta	Sayı	CD 31 taşıyan monosit yüzdesi(ortalama) $\pm$ standart hata
Homozigot	20	93.405 $\pm$ 1.01 A
Heterozigot	20	93.245 $\pm$ 0.957 A
Kontrol	20	93.960 $\pm$ 0.700 A

Hasta grupları her grupta monosit kapısında (R2)CD31/CD14 taşıyan hücre oranları açısından karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır.(P>0.05)

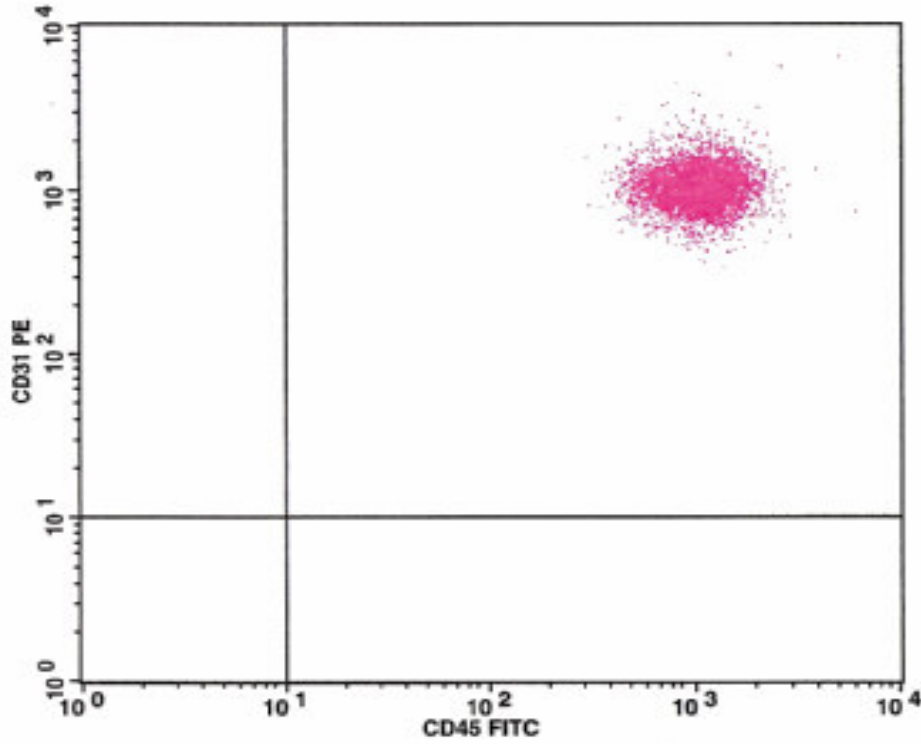


Şekil 4: R2 kapısındaki Monositlerin CD31 ve CD14 taşıyanlarının akım sitomerite dağılımı ( sağ üst köşe).

**6-Granülosit kapısında(R3) CD31FITC/CD45PE taşıyan hücre oranları için varyans analizi**

Hasta	Sayı	CD 31 taşıyan granulosit yüzdesi(ortalama) $\pm$ standart hata
Homozigot	20	98.9 $\pm$ 0.288 A
Heterozigot	20	98.315 $\pm$ 0.461A
Kontrol	20	98.885 $\pm$ 0.278A

Hasta grupları her grupta granülosit kapısında CD31/CD45 taşıyan hücre oranları açısından karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır.(P>0.05)

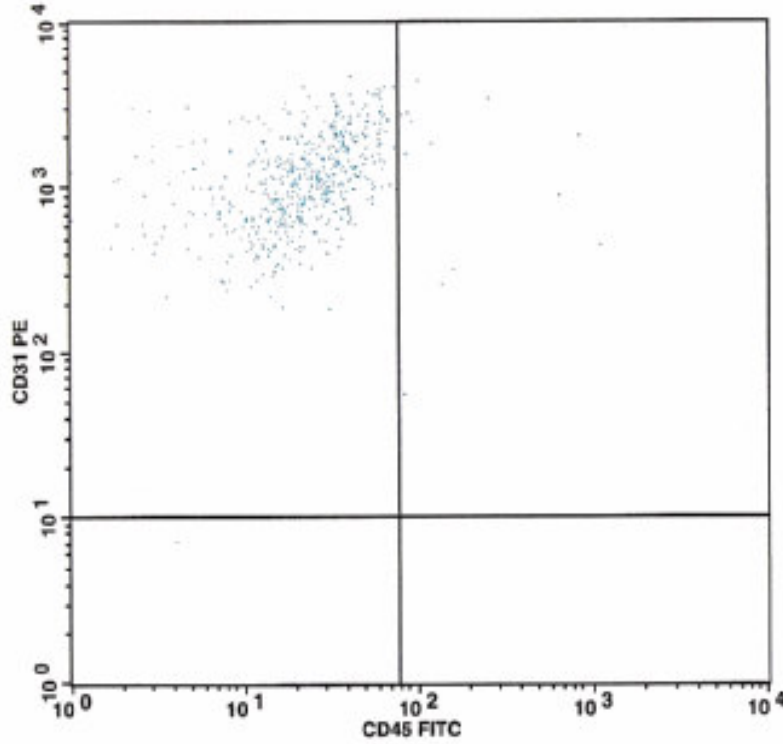


Şekil 5: R3 kapısındaki Granülositlerin CD31 ve CD45 taşıyanlarının akım sitomerite dağılımı ( sağ üst köşe).

**7-R4 kapısında sadece CD31 pozitifliği yüzde oranı için varyans analizi**

Hasta	Sayı	CD 31 taşıyan debris pozitifliği (ortalama) $\pm$ standart hata
Homozigot	20	90.363 $\pm$ 0.288 A
Heterozigot	20	98.315 $\pm$ 0.461 A
Kontrol	20	98.885 $\pm$ 0.278 A

Hasta grupları her grupta R4 kapısında sadece CD31 pozitifliği yüzde oranı oranları açısından karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır.(P>0.05)



**Şekil 6: R4 kapısındaki lizis olan trombosit ve eritrositlerin CD31 dağılımı ( sol üst köşe).**

## TARTIŞMA

Gebelik başlı başına pıhtılaşma faktörlerinin artışıyla ve protein S gibi vücutta üretilen doğal antikoagulanların düzeylerinde azalma (72) ve fibrinolize sebep olan plazminojen aktivatör inhibitör-1 (PAI1) artışı ile karakterize hiperkoagulasyonla karakterize bir durumdur(73).

Desidual damarlardaki tromboz tekrarlayan düşüklere sebep olduğu düşünülen olası olaylardan biridir. Antifosfolipid antikolar gebelik kaybına neden olabilirler ve antifosfolipid antikoların gebelik kaybına sebep olma mekanizmasından biride tromboza neden olmalarıdır (74). Yakın zamanda herediter trombofililer gebelik kaybı için risk faktörü olarak tanımlanmışlardır(75-76-77-78-79-80). Greer ve arkadaşları , gebelik kaybıda dahil olmak üzere gebeliğin çeşitli komplikasyonlarının prokoagulan faktörlerdeki genel değişikliğin konjenital veya sonradan edinilen trombofililere göre daha bağlantılı olabileceğini öne sürmüştür (81).

Apopitotik hücre ölümünden sonra dolaşımdaki mikropartiküller hücre membranı tarafından oluşturulabilir. Dolaşımdaki mikropartiküller hücre membranının remodelingi-fosfolipidlerin eksternalizasyonu ör.fosfotidilserin gibi hücre aktivasyonu esnasında ortaya çıkarlar.

Mikropartiküller dolaşımda adezyon moleküllerinin ekspresyonunda artmaya neden olurlar ve böylece endotel hücre yüzeyinde prokoagulan ve/veya inflamatuvar cevabı kuvvetlendirirler.

Mikropartiküllerin normal gebelikte arttığı bulunmuştur(82) ve çeşitli protrombotik olaylarla ilişkili olduğu gösterilmiştir örneğin trombotik trombositik purpura(83) , myokard enfaktüsü (84) , sepsis (85), heparin bağımlı trombositopeni (86-87) ve preeklampsi (88).

Laude ve arkadaşları, tekrarlayan gebelik kaybı olan kadınlarda toplam mikropartikül sayısını ölçmüşler ve kontrol grubu ile karşılaştırmışlardır ve hastaların %59 unda mikropartikül düzeyini normal limitin üstünde bulmuşlardır. Bu araştırmanın amacı tekrarlayan gebelik kaybı olan çok sayıdaki kadının dolaşımındaki endotelial mikropartiküllerin prevalansını araştırmak ve kontrol grubu olarak seçilen doğurgan kadınlarla karşılaştırmaktı (89).

Mikropartiküllerin normal gebelikte , gebelikte devam eden hücre aktivasyonunun göstergesi olarak yükseldiği gösterilmiştir (82). Bir miktar trofoblast maternal dolaşımda bulunmaktadır. Dolaşımdaki bu trofoblastlar mikropartiküllerin oluşumuna neden olabilirler. Burada şu soru akla gelmekte endotelial mikropartiküller gebelik kaybına neden olmakta veya ölü embryonun yan ürünü olarak ortaya çıkmakta.

Birinci trimester düşüklerin %29-60 oranı kromozomal anomalilere bağlı gelişmektedir (90-91-92). Kromozomal anomaliler çoğunlukla düşüğe neden olurlar ve düşük yapan diğer nedenlerden veya mikropartiküllerin artımından bağımsızdırlar. Yapısal anomaliler 19 missed abortus vakasının 10 unda küretaj öncesi yapılan transservikal embryoskopi ile tesbit edilmiştir (93). Embryonik yapısal anomaliler yükselmiş sitokinler örneğin transforming büyüme faktörü (94) , TNF alfa (95) ve apopitosis (96) ile ilişkili bulunmuştur. Bütün bu bulgular embryonik ölümün genetik ve yapısal anomalilere , proinflamatuvar sitokinler veya anormal apopitosisle bağlı olarak geliştiğini ima eder

görülmektedir. Muhtemelen tüm bu mekanizmalar mikropartikül oluşumunu , trombosisi ve gebelik kaybına neden olan tetikleyiciler olmaktadır.

Gebelik kaybı olan kadınlardan mikropartikülleri inceleyen bir çalışma Laude ve arkadaşlarının çalışmasıdır (89). Bu çalışmada mikropartikül düzeyi tekrarlayan gebelik kaybı olan kadınlarda %59 unda yüksek bulunmuştur. Bu çalışmada %59 gibi düşük bir oranda mikropartikül düzey yüksekliğinin tesbit edilmesi total mikropartikül sayısından çok endotelial mikropartikül sayısının tesbiti nedeniyle olabilir. Endotelial mikropartikül , total mikropartiküllerin sadece bir bölümünü oluştururlar.

Bu çalışma dikkatleri endotelial mikropartiküller üzerine çekmiştir. Endotelial mikropartiküllerin endotel aktivasyonuna neden olmaları ve bu durumda plasental disfonksiyonuna ve düşüğe neden olduğuna dikkat çekmiştir. Gebelikler arasında mikropartiküllerin oluşumu belkide gebelikte görünür hale gelen kan damarların kronik aktivasyonu ile oluşan bir olay sonucudur.

Obstetrik komplikasyonlardan olan preeklampsi ve IUGG' de mikropartikül düzeyleri araştırılmıştır. Mikropartiküllerin preeklampside in vitro izole edilen myometrial damarlarda endotel bağımlı gevşemeye zarar vererek ve trombin oluşumunu artırarak önemli bir role sahip olduğu belirtilmiştir (97). Preeklampside platelet mikropartiküllerin azaldığı belkide trombus oluşumuna katıldıkları için belirtilmiştir (82). Tekrarlayan gebelik kayıplarının etyolojisi ile ilgili olarak bugün için birçok mekanizma öne sürülmüş ve bu mekanizmalardan bazıları hala tam olarak açıklanamamıştır. Özellikle ilk trimester tekrarlayan gebelik kayıplarında en önemli neden genetik nedenler olarak tanımlanmakta ve bu nedenler içerisinde de ilk sırayı kromozom anomalileri almaktadır. Bu nedenle, tekrarlayan gebelik kayıpları olan çiftlerde, dengeli yapısal anomali taşıyıcısı olup olmadıklarını belirlemek amacıyla ebeveynlerde kromozom analizlerinin yapılması gerekmektedir. Ancak tekrarlayan gebelik kaybı şikayetiyle başvuran hastaların öncelikli olarak beklentileri, gebelik kayıplarının nedenini öğrenmektir. Yapılan kromozom analizi neticesinde normal karyotip saptanan hastalara, durumlarının belirsizliğini korumasından ötürü tatmin edici bir genetik danışma verilememektedir. Bu durum bizi tekrarlayan abortusların farklı genetik etiyolojilerini araştırmaya yönlendirmiştir. Epidemiyolojik çalışmalar, idiyopatik tekrarlayan gebelik kayıplarının multifaktoriyel olabileceğini, genetik yatkınlık ve çevresel faktörlerin patogeneizde etkili olabileceğini vurgulamaktadır (98). Son yıllarda, tekrarlayan gebelik kayıpları ile genetik polimorfizmler arasındaki ilişkileri ortaya koyan pek çok genetik çalışma bulunmaktadır. GSTM1 ve GSTP1 (99,100) gibi biotransformasyon enzimlerinin; IL-1 $\beta$ , IL-1 $\beta$  reseptör antagonisti, IL-6 ve TNF- $\alpha$  gibi sitokinlerle ilgili genlerin (101,102,103), farklı faktor V Leiden gen polimorfizmlerinin (104,105) ve HLA-G gibi histokompatibilite antijenlerinin (106) tekrarlayan gebelik kayıpları ile ilişkili oldukları rapor edilmiştir.

Trombofilik defektlerin de etyolojide önemli bir yer oluşturduğunu, multipl trombofilik anomalilerin venöz tromboz riskini artırdığını bildiren birçok çalışma bulunmaktadır (107,108,109).

Nelen ve arkadaşları MTHFR C677T mutasyonunun kan homosistein düzeyini arttırdığını ve hiperhomosisteineminin de tekrarlayan spontan abortus sıklığını 2 – 3 kat arttırdığını rapor etmişlerdir (110). Takip eden bazı çalışmalarda, MTHFR C677T homozigot TT varyantına sahip bireylerde homosistein düzeylerinin çok yükseldiği ve bu artışın tekrarlayan gebelik kayıpları ile anlamlı düzeyde ilişkili olduğu bildirilmiştir (111,112). Bunun aksine bazı çalışmalarda ise C677T polimorfizminin gebelik kaybı için önemli bir risk oluşturmadığı rapor edilmiştir (112,113,114,115,116).

Bu arada Kobashi ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada, gebelik kaybı ile T677 alleli arasında herhangi bir ilişki gözlenmemiş, fakat düşük sayısı arttıkça TT genotip sıklığının da arttığı ifade edilmiştir (116). Çalışmamıza dahil edilen olguların gebelik kayıp sayıları 2 ile 7 arasında değişmekteydi ve gebelik kaybı sayısı ile homozigot ve heterozigot T677 genotip bağlantısı karşılaştırıldığında da herhangi bir anlamlı farklılığın olmadığı gözlenmiştir.

Tekrarlayan abortus öyküsü olan hastalarda yapılan bir çalışmada, trombofilik polimorfizmleri (MTHFR C677T, A1298C, faktör V Leiden G161A, faktör II protrombin G20210A, human platelet antigen (HPA) 1 C12548T ve apolipoprotein (APO) B R3500Q ) kombine olarak incelenmiş ve MTHFR polimorfizmleri olan A1298C ve C677T allel ve genotip frekanslarının kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark oluşturmadığı, ayrıca incelenen tüm genler kombine olarak değerlendirildiğinde de kontrol grubuna göre anlamlı farklılığın bulunmadığı araştırma sonuçlarına göre bildirilmiştir (98). Buna karşılık, 10 trombofilik gen polimorfizmi ile tekrarlayan abortuslar arasındaki ilişkiyi belirlemek amacıyla yapılan çalışmalarda, MTHFR A1298C ve C677T allel ve genotip frekanslarının kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılık göstermediği, ancak tüm genlerin homozigot mutasyon prevelansları birlikte değerlendirildiğinde tekrarlayan gebelik kaybı olan kadınlarda toplam homozigot mutasyon oranının ileri düzeyde arttığı öne sürülmüştür (117,118). İdiyopatik tekrarlayan gebelik kayıplarının patogenezinde MTHFR gen mutasyonlarının etkisine ilişkin veriler çelişkili olmaya devam etmektedir.

Fibrinolize katılan proteinler trofoblastların endometriyuma invazyonu için gereklidir. Yapılan bir yapılan çalışmada 10 trombofilik gen mutasyon prevelansının, implantasyonun başarılı olmadığı olgularda kontrollere göre anlamlı düzeyde yüksek olduğu gözlenmiştir (119). Aynı şekilde tekrarlayan abortus öyküsü bulunan kadınlarda kombine multipl trombofilik gen mutasyonu prevelansının kontrollere göre yüksek olduğu bildirilmektedir. Bu veriler, tekrarlayan gebelik kayıplarının multifaktöriyel olabileceğini, minör genlerin çevresel faktörlerle etkileşimi sonucu ortaya çıktığını destekler niteliktedir.

Hiperhomosisteinemi ile gebelik kaybı arasındaki ilişkinin tam mekanizması henüz bilinmemekte, fetusta yapısal ve nörolojik etkiler ya da etkilenmiş kadınlarda trombojenik potansiyelin artması ve tromboz oluşması gibi farklı mekanizmalar ortaya atılmaktadır. Homosisteinin sülfidril grubunun,

hipometilasyon ve açılme etkisi nedeniyle, homosisteinin, damar endotelinde zararlı etkilere neden olduğu bilinmektedir (39). Homosisteinin, damarlarda oluşturduğu bu hasar nedeni ile platelet tüketimini arttırdığı, sonuçta da trombozise neden olduğu belirtilmiştir (40).

677 TT genotipin venöz tromboziste önemli bir risk faktörü olduğunun ileri sürülmesine rağmen, bu görüşü desteklemeyen bulgular da mevcuttur (120). Transsülfürasyon enzimi olan sistatyonin beta-sentetazın, homozigot eksikliği gibi diğer bir risk faktörü taşıyan bireyler arasında, MTHFR C677T'nin mutasyonu tromboembolizm için önemli bir risk faktörü olabilir (120). Yine konjenital trombolitik hastalarda, faktör II 20210G\*A veya faktör V 1691G\*A mutasyonunun MTHFR 677T mutasyonu ile birlikte bulunmasının venöz trombozis riskini önemli derecede arttırdığı rapor edilmiştir (120,121). Bizim çalışmamızda MTHFR homozigot grupta 3 hastada ,heterozigot grupta ise 2 hastada soygeçmişlerinde kalp krizinden ölüm öyküsünün olması ve homosistein düzeylerinin kontrol grubuna göre belirgin derecede artmış olması bize MTHFR ve hiperhomosisteininin kalp krizi riskinde artışa neden olduğunu düşündürmektedir. Japonya'da yapılan bir çalışmada kardiyovasküler hastalıkların artışı ile MTHFR 677T polimorfizmi arasında bir ilişki olduğu bulunmuştur (120). Soygeçmişlerinde kalp krizinden ölüm öyküsü olan hastaların hiçbirinde daha önceden kalp hastalığı tesbit edilmemiştir. Bununla birlikte çalışmamıza 20-30 yaş arası hastaların seçilmesi ve MTHFR 677T mutasyonu ve hiperhomosisteininin kalp krizi açısından tek risk faktörü olmadığı artan yaşla beraber ateroskleroz , sigara kullanımı , obezite , yaşam tarzı gibi faktörlerinde kalp krizi gelişiminde etkili olması gibi görünmektedir. PECAM-1 (CD31) ve ateroskleroz arasındaki ilişkiyi gösteren bir çalışmada bypass yapılan hastalardan alınan koroner arterlerin incelenmesinde PECAM-1'in tüm endotelial hücrelerde ve lipid yüklü makrofajlarda eksprese olduğu ve normal koroner arterlere göre daha fazla eksprese oldukları görülmüştür(122). Ayrıca başka bir çalışmada PECAM-1 ekspresyonunun yaşla beraber lökositlerde ve koroner arter hastalığı olan kişilerde arttığı bulunmuştur (123).

Strok'lu hastaların yaklaşık %20-50'sinde, orta şiddette hiperhomosisteinemi ortaya çıkabilir (120). Strok'lu 900 hastayı içeren ve 1994'ten beri 24 çalışmanın yer aldığı bir meta-analiz çalışmasında, kontrollere göre strok'lu hastaların, artan homosistein düzeylerine sahip olduğu belirlenmiştir (124). Bununla ilgili olarak 256 strok'lu hasta ve 325 kontrol ile yapılan bir çalışmada, 677T genotipi ile

strok arasında önemli derecede ilişki olduğu ileri sürülmüştür (125). Bu çalışmada ise sadece 1 hastada soygeçmişinde serebrovasküler hastalıktan ölüm öyküsü ve yüksek tansiyon olduğu tesbit edilmiştir.

Bizim çalışmamızda MTHFR genetik mutasyonu tesbit edilmiş en az 2 düşük öyküsü olan kadınlarda homosistein düzeyleri ,B12 vitamin düzeyi, folik asit ve CD 31 (PECAM-1) adezyon molekülünün ekspresyonu kontrol grubu ile hasta grubu arasındaki fark incelenmeye çalışılmıştır. CD31 antijen aynı zamanda Platelet endotelial hücre adezyon molekülü olarak da bilinen immunoglobülin ailesine bağlı bir transmembran glikoproteinidir. Myeloid kök hücrelerinde , trombositlerde ve endotelial hücre birleşme yerlerinde eksprese olmaktadır. CD31 lokositleri endotel duvarına migrasyonunda görev alır ve CD38 ile integrin alfa ve beta3 lere bağlanmasında rol alır. Bazı çalışmalarda CD31 in trombositlerin aktivasyon ve agregasyonunda rol aldığını göstermektedir (61). MTHFR genetik mutasyonu tesbit edilen hastalarda patogeneizde değişik mekanizmalar ortaya atılmasına karşın en çok sorumlu tutulan mekanizma artan homosistein düzeyine bağlı olarak homosisteinin damar endoteline ve hücre membranına verdiği hasar sonucunda tromboza neden olmasıdır. Son zamanlarda yapılan çalışmalarda adezyon moleküllerinde trombotik olaylarda primer yada bazı hastalıklara sekonder olarak kan dolaşımında artarak trombotik olayları başlattığı belirtilmektedir. Bu iki patofizyolojinin benzerliğinden dolayı özellikle MTHFR genetik mutasyonuna sahip hastalarda CD31 adezyon molekülünün lokositer sistemdeki hücrelerin yüzeyinde ekspresyonunun incelenmesi çalışmamızda amaçlanmıştır. Şimdiye kadar yapılan çalışmalar hastaların kanında eriyik halinde bulunan endotelial mikropartiküllerin tesbiti şeklinde yapılmışken bizim çalışmamızda ise akım sitometrisi yöntemi ile doğrudan hücre yüzeyinde bulunan CD 31 adezyon molekülünün ekspresyonu araştırılmıştır.

Daha öncede verdiğimiz literatür bilgisinde eriyik halinde plazmada bulunan endotelial mikropartiküllerin tekrarlayan gebelik kaybı grubunda artmış olarak tesbit edildiğini belirtmiştik(89). Bizim çalışmamızda da bu çalışmadaki bulguları destekleyen veriler elde edilmiştir. Yaptığımız çalışmada hücre yüzeyinde bulunan CD 31 adezyon molekülünü taşıyan (eksprese eden) hücre oranı açısından MTHFR homozigot , MTHFR heterozigot ve kontrol grubu arasındaki yapılan istatistiksel karşılaştırmada monosit, granulosit, debris kapısında herhangi bir fark tesbit edilmemiştir. Ancak MTHFR homozigot grup ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tesbit edilmiştir. Çalışmaya katılan hastalardan eş zamanlı olarak homosistein, folik asit, vitamin B12 çalışılmış ve bulunan plazma değerleri açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olup olmadığı araştırılmıştır. Çıkan sonuçlara göre homosistein açısından karşılaştırılan her üç grup aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark göstermiştir. Vitamin B12 düzeyleri incelendiğinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tesbit edilmemiştir. Ancak folik asit düzeyleri her üç grupta karşılaştırıldığında ise MTHFR homozigot ve MTHFR heterozigot grup ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark göstermiştir.

MTHFR homozigot grupta; lenfosit yüzeyinde CD 31 ( PECAM-1) adezyon molekülünün ekspresyonunun ve kan homosistein düzeyinin kontrol grubuna göre artmış bulunması bu her iki parametrenin gebelik kaybı etyolojisinde önemli faktörler olduğunu bize göstermektedir. Carp H. ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada 96 tekrarlayan gebelik kaybı olan hasta 90 kişilik sağlıklı gebelik geçiren kadınlarla dolaşımdaki mikropartikül sayıları açısından akım sitometrisi ile anti CD31 antikoru kullanılarak karşılaştırılmış ve hasta grubunda mikropartiküllerin anlamlı derecede yüksek olduğunu bulmuşlardır(126). Çalışmamızda MTHFR homozigot grupta homosistein düzeylerinin belirgin derecede yüksek olması ve CD 31 ekspresyonunu lenfosit hücre grubunda anlamlı derecede artmış olması akla artmış homosisteinin lenfosit hücre membranına hasar vererek dolaşımdaki mikropartikülleri artırarak gebelik kaybına sebep olabileceğini düşündürmektedir. PECAM-1'in lokositlerin transendotelial migrasyonunu sağlayarak inflamasyonda önemli bir rol aldığı ifade edilmektedir(127). Yapılan bir çalışmada ratlara PECAM-1 adezyon molekülünü bloke etmek için insan antikoru verilmiş ve sonuçta notrofillerin peritoneal kaviteye ve akciğer alveolar boşluğuna geçişin engellendiği görülmüştür(128). Çalışmamızda MTHFR homozigot grupta lenfositlerde PECAM-1 ekspresyonunun artış olması bize lenfositlerin gebeliğin erken döneminde trofoblastların implantasyon alanında inflamatuvar olayları başlatarak gebelik kayıplarına neden olabileceğini düşündürmektedir. Ayrıca bu bulgu bize dolaşımdaki mikropartiküllerin lenfosit kaynaklı olabileceğini ve lenfositlerin gebelik kaybı ve kuagulyasyon mekanizmalarını aktiflenmesinde önemli bir hücre grubu olduğunu düşündürmektedir.

Spontan ve tekrarlayan gebelik kayıplarında multifaktöryel mekanizmaların rol aldığı söylenmektedir. Embryo kaybında sadece immunolojik düzensizlikler ve genetik nedenlerin değil enfeksiyon ve endometriozis gibi fizyolojik faktörlerinde etkili olduğu söylenmektedir(129). Bununla beraber folik asit eksikliği hızlı bölünen hücrelerde DNA sentezi ve kromozom yapısının değişmesinde önemli faktörlerden biridir ( kalıtsal folata hassas ve kırılğan kısım insan otozomal kromozomunun 1p 21.3 kısmında bulunmaktadır.). Folik asitin serum konsantrasyonu hızlı çoğalan hücreler için gerekli folik asit ihtiyacının iyi bir göstergesidir. Buna karşın Pietrzk ve arkadaşları(130) , 46 tekrarlayan düşüğü olan hasta ile normal gebelik geçiren ve düşük öyküsü olmayan hastaları karşılaştırdıkları çalışmalarında tekrarlayan düşük öyküsü olan hastalarda folik asit düzeylerinin sağlıklı kadınlara göre anlamlı bir şekilde düşük olduğunu göstermişlerdir. Bizim çalışmamızda folik asit ve vitamin B12 seviyeleri gruplar arasında karşılaştırıldığında Vitamin B12 seviyeleri arasında gruplar arasında anlamlı bir fark görülmezken , folik asit düzeyleri gruplar arasında karşılaştırıldığında MTHFR homozigot ve MTHFR heterozigot arasında anlamlı fark görülmezken her

iki grup ile kontrol grubu arasında anlamlı derecede hasta grubunda folik asit düzeylerinin düşük olduğu görüldü. Bu bulgu bize MTHFR mutasyonu olan hastalarda folik asit düşüklüğünün de gebelik kaybına neden olan faktörlerden biri olduğunu göstermekte ve bu hastalara folik asit verilmesinin gerekli olduğunu göstermektedir. Literatürde hiperhomosisteinemi de folik asit takviyesi ile ilgili çok sayıda çalışma vardır. Bu yayınlarda; gebeliğin tesbiti ile folik asite başlanmasının yeterli olmadığı gebelikten önce kullanılmaya başlanmasının gerekli olduğu konusunda ortak görüş olmasına rağmen gebelikten ne kadar süre önce başlanacağı ve ne kadar süreyle kullanılacağı konusunda ise fikir birliği yoktur. Aynı şekilde önerilen folik asit dozları arasında da kesinleşmiş bir değer olmayıp 0.4 -15 mg/gün gibi geniş bir aralık vardır. Son zamanlarda yapılan bir klinik çalışmanın sonucunda, gebelikten 4 hafta önce başlayıp gebeliğin ilk 12 haftasına kadar kullanılan günlük 0.4 mg folik asitin erken dönem gebelik kayıplarında yararlı olduğunu bildirilmiştir (131-132). Buna karşın yapılan bir çalışmada 102 tekrarlayan düşük öyküsü olan hastalar ile 41 normal gebelik geçiren ve düşük öyküsü olmayan hastalar karşılaştırıldıklarında ise vitamin B12 ve folik asit düzeyleri açısından her iki grup arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır (133). Literatürde folik asit eksikliğinin bazı kanserlerin gelişimi ile ilgili olduğunu gösteren çalışmalar vardır. Yapılan bir çalışmada, 20 yaş üzerinde düşük folik asit seviyelerinde artmış prostat ve akciğer kanseri riski olduğu belirtilmiştir(134). Ayrıca yapılan bir başka çalışmada yüksek folik asit alımının östrojen reseptörü pozitif meme kanserinden koruduğunu göstermektedir(135).

## SONUÇ

Günümüzde bilinen tüm etyolojik faktörler incelense bile TKG nedeniyle başvuran hastaların yaklaşık yarısında belirgin bir neden saptanamamaktadır ve etyolojide birden fazla etkenin rol aldığı düşünülmektedir. Bizim çalışmamızdaki bulgulara göre tekrarlayan gebelik kayıplarında etyolojinin aydınlatılmasında hücre düzeyinde yapılacak çalışmalarda ihtiyaç olduğu ve lenfositlerin gebeliğin erken döneminde gerek inflamatuvar olayları tetikleyerek gerekse plazmada mikropartiküllerin oluşumuna neden olarak gebelik kayıplarına neden olabileceği anlaşılmaktadır. Gebeliğin sağlıklı bir şekilde başlaması ve devam etmesinde birçok faktör rol almaktadır. Bunlardan biride normal homosistein ve folik asit düzeyidir. Bu iki molekülün gebelik üzerine etkileri ile ilgili olarak birçok çalışma yapılmıştır. Bizim çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlar bunları desteklemektedir. Yüksek homosistein ve düşük folik asit seviyesi gebeliği komplike eden ve gebelik kaybına neden olan iki önemli faktör olarak görünmektedir. MTHFR homozigot grupta lenfosit yüzeyinde CD31 adezyon molekülünün ekspresyonundaki artış bu hastalarda sadece homosistein yüksekliğinin gebelik kaybına neden olmadığını patofizyolojide başka faktörlerinde olabileceğini bize düşündürmektedir. Belkide yüksek homosistein düzeyleri sadece damar endoteline hasra vermemekte ayrıca lenfosit membranında toksik etki göstermekte ve dolaşımda mikropartikül düzeyini artırarak kuagülasyon mekanizmalarının aktivasyonuna neden olmaktadır. Bizim çalışmamızdan çıkan sonuçlara ve literatür bilgilerine göre tüm bu mekanizmaları daha da aydınlatılabilmek için adezyon molekülleri ile ilgili çok sayıda çalışmaya ihtiyaç olduğunu düşünmekteyiz. Böylece altta yatan temel patofizyoloji ortaya çıkarılabilirse etkin tedavi yöntemleri geliştirilebilir.

## **KISALTMALAR**

MTHFR:Metilen tetra hidro folat redüktaz enzim

PECAM-1:Platelet endotelyal cell adhesion molecule-1

TGK:Tekrarlayan gebelik kaybı

PGT:Preimplantasyon genetik tanı

LFY:Luteal faz yetmezliği

APC:Aktive protein C rezistansı

MAT:Metiyonil adenozil transferaz

CBS:Sistationin b sentetaz

MS:Metionin sentetaz

HCY:Homosistein

HAM:Hücresele adezyon molekülleri

IUGG:İntra uterin gelişme geriliği

## ÖZET

**Giriş:**Kan dolaşımındaki mikropartiküller çeşitli protrombotik olaylarla ilgili hücre aktivasyonunun göstergesidirler.Hipoksinin uteroplasental trombosise neden olarak gebelik kayıplarına sebep olması gibi belkide mikropartiküllerde antifosfolipid sendrom veya herediter trombofililerin (faktör 5 Leiden mutasyonu, MTHFR enzim mutasyonu gibi) bir parçası olarak endotel hasarı veya herhangi bir sebeple aktive olarak gebelik kayıplarına neden olabilirler.

**Amaç:**Bu çalışmada amaç MTHFR enzim mutasyonu tesbit edilen hastalarda Lokosit yüzeyindeki CD 31 adezyon molekülünün ekspresyonu açısından ve homosistein düzeyleri açısından fark olup olmadığını araştırmak amaçlanmıştır.

**Materyal ve Metod:** Çalışmamıza 2004-2007 yılları arasında kliniğimize tekrarlayan gebelik kayıpları nedeniyle başvuran ve MTHFR enzimi açısından genetik tahlilinde homozigot ve heterozigot mutasyon tesbit edilen hastalar 20 şer kişilik 2 grup oluşturacak şekilde seçildi.Kontro grubu olarak ise MTHFR mutasyonu tesbit edilmeyen en az 2 sağlıklı doğumu olan hastalar seçildi.Seçilen hasta gruplarında homosistein düzeyi, folik asit düzeyi, vitamin B12 düzeyi biyokimyasal olarak çalışıldı.Akım sitometrisi yöntemi ile aynı hastalardan eş zamanlı alınan kanlardan lenfosit, monosit ve granulosit yüzeylerinde CD31 (PECAM-1) adezyon molekülünün ekspresyonu araştırıldı.

**Bulgular:**Hasta grupları arasında homosistein düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark tesbit edildi.MTHFR homozigot mutasyon tesbit edilen hastalar ile de kontrol grubu arasında lenfosit yüzeyindeki CD31 ekspresyonu açısından istatistiksel olarak anlamlı fark tesbit edildi.

**Sonuç:** Günümüzde bilinen tüm etyolojik faktörler incelse bile TGK nedeniyle başvuran hastaların yaklaşık yarısında belirgin bir neden saptanamamaktadır. Hücre hücre etkileşmesinde görev alan adezyon molekülleri hücrelerin dokuya migrasyonunu sağlamaktadır.MTHFR homozigot grupta lenfosit yüzeyinde CD31 adezyon molekülünün ekspersyonundaki artış bize lenfositlerin tekrarlayan gebelik kaybı etyolojisinde önemli hücrelerden biri olduğunu düşündürmektedir.

## SUMMARY

**Introduction:** the micro particles in the circulation are indicators of cell activation related to different prothrombotic accident. As hypoxia leading to pregnancy loss by causing uteroplacental thrombosis, also micro particles being part of antiphospholipid syndrome or hereditary thrombophilia (e.g. factor 5 Leiden mutation, MTHFR enzyme mutation) when activated due to endothelial injury or any other cause can lead to pregnancy loss.

**Aim:** In this study the aim was to research patients proved to have MTHFR from the point of WBC surface adhesion molecule (CD31) expression, and homocysteine level.

**Material and Methods:** Our study included patients from those resorted to our clinic between 2004-2007 because of recurrent pregnancy loss and proved by genetic analysis to have MTHFR enzyme homozygote and heterozygote mutation, in groups of 20 persons ,while the control group included patients to have no MTHFR mutation and at least had 2 healthy deliveries .In our study we examined homocystein levels, folic acyte levels, vitamin B12 levels by using biochemical methods.And we examined CD31 (PECAM-1) expression on lokocyte cell surface by using flow cytometry method.

**Findings:** Regarding homocysteine level a significant statistical difference was noticed between patient groups. Regarding lymphocyte-CD31 expression, statistically significant difference was noticed between MTHFR homozygote mutation patients and controls.

**Results:** In spite of researching all aetiological factors ,in about half of patients with recurrent pregnancy loss no definite cause was identified. Adhesion molecules taking place in cell-cell activation provide cell migration to tissue. Increase of CD31 adhesion expression on lymphocyte surface of patients with MTHFR homozygote show us that lymphocytes are one of important cells in the aetiology of recurrent pregnancy loss.

## Kaynaklar

1. Tepeli E, Müslümanoğlu H, Uludağ A, Atlı E, Uzun D, Artan S. Eskişehir ilinde idiyopatik tekrarlayan gebelik kayıpları ile metilen tetrahidro folat redüktaz C677T ve A1298C polimorfizmleri arasındaki ilişki. *Osmangazi Tıp Dergisi* 2007; 29(1):1-11 .
2. Howard C, Rima D, Aharon L, Ophira S, Regina E, Esther R, Aida I. Prevalence of circulating procoagulant microparticles in women with recurrent miscarriage: a case-controlled study *Human Reproduction*, Vol. 19, No. 1, 191-195, January 2004.
3. Clifford K, Rai R, Regan L. Future pregnancy outcome in unexplained recurrent first trimester miscarriage. *Hum Reprod* 1997;12:387-389.
4. Roberts CP, Murphy AA. Endocrinopathies associated with recurrent pregnancy loss. *Semin Reprod Med* 2000;18:357-362.
5. Regan L, Brande PR, Trembath PL. Influence of postreproductive performance on risk of spontan abortion. *BMJ* 1989;299:541-545.
6. Kutteh WH. Recurrent pregnancy loss. In: Carr BR, Blackwell RF, et al. *Textbook of reproductive*.
7. Clark DA, Lea RG, Podor T, Daya S, Banwatt D, Harley C. Cytokines determining the success or failure of pregnancy. *Ann NY Acad Sci* 1991;626:524-536.
8. Dawood F, Quenby S, Farquharson R. Recurrent miscarriage: an overview. *Reviews in Gynaecological Practice* 2003;3:46-50.
9. Byrne JL and Ward K, Genetic factors in recurrent abortion. *Clin Obstet Gynecol*, 1994;37:693-704.
10. Simon C, Rubio C, Vidal F, Moreno C, Parilla J, Pellicer A. Increased chromosome abnormalities in human preimplantation embryos after in vitro fertilization in patients with recurrent miscarriage. *Reprod Fertil Dev* 1998;10:87-92.
11. Munne S, Magli C, Cohen J et al. Positive outcome after preimplantation diagnosis of aneuploidy in human embryos. *Hum Reprod* 1999;14:2191-2199.
12. De Braekeleer M, Dao TN. Cytogenetic studies in couples experiencing repeated pregnancy losses. *Hum Reprod* 1990;5:519-28.
13. Wilcox AJ, Weinberg CR, O'Connor JF. Incidence of early loss of pregnancy. *N Engl J Med* 1988;319:189-94.
14. Knudsen UB, Hansen V, Juul S, Secher NJ. Prognosis of a new pregnancy following previous spontaneous abortions. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 1991;39:31-6.
15. Glass R, Golbus M. Recurrent abortion in Maternal-Fetal medicine. *Principles and Practice*. W.B. Saunders Company, Philadelphia. 1994:445-51.
16. Buttram V.C.J. Mullerian anomalies and their management. *Fertil Steril* 1983;40:159-63.
17. Corson S. Operative hysteroscopy for infertility. *Clin Obstet Gynecol* 1992;35:229-41.

18. Clifford K, Rai R, Watson H, Regan L. An informative protocol for the investigation of recurrent miscarriage: Preliminary experience of 500 consecutive cases. *Hum Reprod* 1994;9:1328-1332.
19. Coulam CB, Stern JJ. Endocrine factors associated with recurrent spontaneous abortion. *Clin Obstet Gynecol* 1994;37:730-44.
20. Miodovnik M, Skillman C, Holroyde JC. Elevated maternal glycohemoglobin in early pregnancy and spontaneous abortion among insulin-dependent diabetic women. *Am J Obstet Gynecol* 1985;153:439-42.
21. Tulppala M, Bjorses UM, Sterman UH. Luteal phase defect in habitual abortion: progesterone in saliva. *Fertil Steril* 1991;56:41-4.
22. Stagnaro-Green A, Roman SH, Cobin RH. Detection of at risk pregnancy by means of highly sensitive assays for thyroid autoantibodies. *JAMA* 1990;264:1422-5.
23. Adelberg A, Kuller Ja. Thrombophilias and recurrent miscarriage. *Obstet Gynecol Survey* 2002;57:703-709.
24. Oosting JD, Derksen HWM, Bobbink WG. Anti Phospholipid antibodies directed against a combination of phospholipids with prothrombin, protein C, or protein S; An explanation for their pathogenic mechanism. *Blood* 1993;10:2618-25.
25. Manoj KP, Reena R, Suraksha A. An update in recurrent spontaneous abortion. *Arch Gynecol Obstet* 2005;272:95-108.
26. Kalafatis M, Mann K. Factor V leiden and thrombophilia. *Arteriosclerosis thrombosis and vascular biology* 1997;17:620-27.
27. Bates SM, Ginsberg JS. Thrombosis in pregnancy. *Curr Opin Hematol* 1997;5:335-43.
28. Ogunyemi D, Ku W, Arkel Y. The association between inherited thrombophilia, antiphospholipid antibodies and lipoprotein a levels with obstetrical complications in pregnancy. *J. Thromb Thrombolysis* 2002;14:157-62.
29. Rey E, Kahn SR, David M, Shrier I. Thrombophilic disorders and fetal loss: a meta-analysis. *Lancet* 2003;15:901-8.
30. Brenner B. Inherited thrombophilia and fetal loss. *Curr Opin Hematol* 2000;7:290-5.
31. Kaufman RH, Adam E, Binder GL, Gerthoffer E. Upper genital tract changes and pregnancy outcome in offspring exposed in utero to diethylstilbestrol. *Am J Obstet Gynecol* 1980;137:299-308.
32. Mc Gregor DG. Occupational exposure to trace concentrations of waste anesthetic gases. *Mayo Clin Proc* 2000;75:273-7.
33. Harrison HR, Alexander ER, Weinstein L. Cervical Chlamydia Trachomatis and mycoplasma infections in pregnancy. *Epidemiology and outcomes. JAMA* 1983;250:1721-7.
34. Blumenfeld Z, Benjamin B. Thrombophilia-associated pregnancy wastage. *Fertil Steril* 1999;72:765-74.
35. Blumenfeld Z, Brenner B. Thrombophilia-associated pregnancy wastage. *Fertil Steril*. 1999 Nov;72(5):765-74.

36. den Heijer M, Graafsma S, Lee SY, van Landeghem B, Kluijtmans L, Verhoef P, Beatty TH, Blod H. Homocysteine levels--before and after methionine loading--in 51 Dutch families. *Eur J Hum Genet.* 2005 Jun;13(6):753-62.
37. Cotter AM, Molloy AM, Scott JM, Daly SF. Elevated plasma homocysteine in early pregnancy: A risk factor for the development of severe preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 2001; 185: 781-5.
38. Aubard Y, Darodes N, Cantaloube M. Hyperhomocysteinemia and pregnancy: review of our present understanding and therapeutic implications. *Eur J Obstet Gynecol*, 2000; 93; 157-65.
39. Fodinger M, Horl WH, Sunder-Plassman G. Molecular biology of 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase. *J Nephrol*, 2000;13(1):20-33.
40. Donnelly JG, Rock GA. Genetic determinants of heritable venous thrombosis: Genotyping methods for factor VLEIDEN A1691G, methylenetetrahydrofolate reductase C677T, prothrombin G20210A mutation, and algorithms for venous thrombosis investigations. *Clin Biochem*, 1999;32: 223-228.
41. Wouters MG, Boers GH, Blom HJ, Trijbels FJ, Thomas CM, Borm GF, Steegers-Theunissen RP, Eskes TK. Hyperhomocysteinemia: a risk factor in women with unexplained recurrent early pregnancy loss. *Fertil Steril*. 1993 Nov;60(5):820-5.
42. Kumar KS, Govindaiah V, Naushad SE, Devi RR, Jyothy A.. Plasma homocysteine levels correlated to interactions between folate status and methylene tetrahydrofolate reductase gene mutation in women with unexplained recurrent pregnancy loss. *J Obstet Gynaecol.* 2003 Jan;23(1):55-8.
43. Unfried G, Griesmacher A, Weismuller W, Nagele F, Huber JC, Tempfer CB. The C677T polymorphism of the methylenetetrahydrofolate reductase gene and idiopathic recurrent miscarriage. *Obstet Gynecol*. 2002 Apr;99(4):614-9.
44. Rees MM, Rodgers GM. Homocysteinemia: association of a metabolic disorder with vascular disease and thrombosis. *Thromb Res*. 1993 Sep 1;71(5):337-59.
45. Nelen WL, Blom HJ, Streevers EA et al. Hyperhomocysteinemia and recurrent early pregnancy loss: a meta analysis. *Fertil Steril* 2000;74:1196-9.
46. Dekker GA, de Vries JI, Doelitzsch PM, Huijgens PC, von Blomberg BM, Jakobs C, van Geijn HP. Underlying disorders associated with severe early-onset preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol*. 1995 Oct;173(4):1042-8.
47. Frosst P, Blom HJ, Milos R, Goyette P, Sheppard CA, Matthews RG, Boers GJ, den Heijer M, Kluijtmans LA, van den Heuvel LP, et al. A candidate genetic risk factor for vascular disease: a common mutation in mutation in methylenetetrahydrofolate reductase. *Nat Genet*. 1995 May;10(1):111-3.
48. Isotalo PA, Wells GA, Donnelly JG. Neonatal and fetal methylenetetrahydrofolate reductase genetic polymorphisms: an examination of C677T and A1298C mutations. *Am J Hum Genet*. 2000 Oct ;67(4):986-90.
49. Sazci A, Ergul E, Kaya G, Kara I. Genotype and allele frequencies of the polymorphic methylenetetrahydrofolate reductase gene in Turkey. *Cell Biochem Funct*. 2005 Jan-Feb;23(1):51-4.
50. Blumenfeld Z, Benjamin B. Thrombophilia-associated pregnancy wastage. *Fertil Steril* 1999;72:765-74.

51. Weisberg I, Tran P, Christensen B et al. A second genetic polymorphism in methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) associated with decreased enzyme activity. *Mol Genet Metabol* 1998;64:169-72.
52. Nelen WL, Steegers EA, Eskes TK, Blom HJ. Genetic risk factor for unexplained recurrent early pregnancy loss. *Lancet*. 1997 Sep 20;350(9081):861.
53. Sarig G, Younis JS, Hoffman R, Lanir N, Blumenfeld Z, Brenner B. Thrombophilia is common in women with idiopathic pregnancy loss and is associated with late pregnancy wastage. *Fertil Steril*. 2002 Feb;77(2):342-7.
54. Quere I, Bellet H, Hoffet M, Janbon C, Mares P, Gris JC. A woman with five consecutive fetal deaths: case report and retrospective analysis of hyperhomocysteinemia prevalence in 100 consecutive women with recurrent miscarriages. *Fertil Steril* 1998, 69:152-54.
55. Foka ZJ, Lambropoulos AF, Saravelos H, Karas GB, Karavida A, Agorastos T, Zournatzi V, Makris PE, Bontis J, Kotsis A. Factor V Leiden and prothrombin G20210A mutations, but not methylenetetrahydrofolate reductase C677T, are associated with recurrent miscarriages. *Hum Reprod*. 2000 Feb;15(2):458-62.
56. Makino A, Nakanishi T, Sugiura-Ogasawara M, Ozaki Y, Suzumori N, Suzumori K. No association of C677T methylenetetrahydrofolate reductase and an endothelial nitric oxide synthase polymorphism with recurrent pregnancy loss. *Am J Reprod Immunol*. 2004 Jul;52(1):60-6.
57. Holmes ZR, Regan L, Chilcott I, Cohen H. The C677T MTHFR gene mutation is not predictive of risk for recurrent fetal loss. *Br J Haematol*. 1999 Apr;105(1):98-101.
58. D. Güç; *Astım Allerji İmmünoloji* 2004;2(2):95-102.
59. Frenette PS, Wagner DD. Adhesion molecules-part I. *N Engl J Med* 1996;334:1527-9.
60. Abbas AK, Lichtman AH (eds). Maturation, activation and regulation of lymphocytes. In: *Cellular and Molecular Immunology*. 5th ed. London: WB Saunders Company, 2003:127-241.
61. Martin-Padura I, Lostaglio S, Schneeman M ve ark. Junctional adhesion molecule, a novel member of the immunoglobulin super family that distributes at intercellular junction and modulates monocyte transmigration. *J Cell Biol* 1998;142:117-23.
62. Lusinskas FW, Lawler J. Integrins as dynamic regulators of vascular function. *FASEB J* 1994;8:929-38.
63. Etzioni A. Adhesion molecules their role in health and disease. *Ped Res* 1996;39:191-8.
64. Makrigiannakis A, Coukos G, Blaschuk O, Coutifaris C. Follicular atresia and luteolysis evidence of a role for N-cadherin. *Ann NY Acad Sci*. 2000;900:46-55.
65. Campbell S, Swann HR, Seif MW, Kimber SJ, Aplin JD. Cell adhesion molecules on the oocyte and preimplantation human embryo. *Hum Reprod* 1995;10:1571-8.
66. Henkel R, Schaller J, Glander HJ, Schill WB. Low expression of adhesion molecules and matrix proteins in patients showing poor penetration in zona-free hamster oocytes. *Mol Hum Reprod* 1996;2:335-9.

67. MacCalman CD, Getsios S, Chen GT. Type 2 cadherins in the human endometrium and placenta: their putative roles in human implantation and placentation. *Am J Reprod Immunol* 1998;39:96-107.
68. Feinberg RF, Kliman HJ, Lockwood CJ. Is oncofetal fibronectin a trophoblast glue for human implantation? *Am J Pathol* 1991;138:537-43.
69. Riley RS, Mahin EJ. Flow Cytometry Clinical Applications ASCP National Meeting Fall, Washington D.C. 3-15, 1989.
70. Fuller TA. The physics of surgical lasers. *Laser Surg Med* 1:15, 1980.
71. Gray JW, Dean PN. Display and analysis of flow cytometric data. *Annu Rev Biophys Bioeng* 9:509-539, 1980.
72. Comp PC, Thurnau G.R, Welsh J, Esmon CT (1986) Functional and immunologic protein S levels are decreased during pregnancy. *Blood* 68,881-885.
73. Stirling Y, Woolf L, North WR, Seghatchian MJ and Meade TW (1984) Haemostasis in normal pregnancy. *Thromb Haemost* 52,176-182.
74. Bakimer R, Fishman P, Blank M, Sredni B, Djaldetti M and Shoenfeld Y (1992) Induction of primary antiphospholipid syndrome in mice by immunization with a human monoclonal anticardiolipin antibody (H-3). *J Clin Invest* 89,1558-1563.
75. Preston FE, Rosendaal FR, Walker ID, Briot E, Berntorp E, Conard J, Fontcuberta J, Makris M, Mariani G et al. (1996) Increased fetal loss in women with heritable thrombophilia. *Lancet* 348,913-916.
76. Rai R, Regan L, Hadley E, Dave M and Cohen H (1996) Second-trimester pregnancy loss is associated with activated C resistance. *Br J Haematol* 92,489-490.
77. Brenner B, Mandel H, Lanir N, Younis J, Rothbart H, Ohel G and Blumenfeld Z (1997) Activated protein C resistance can be associated with recurrent fetal loss. *Br J Haematol* 97,551-554.
78. Grandone E, Margaglione M, Colaizzo D, D'Addetta M, Cappucci G, Vecchione G, Sciannone N, Pavone G and Di Minno G (1997) Factor V Leiden is associated with repeated and recurrent unexplained fetal losses. *Thromb Haemost* 77,822-824.
79. Tal J, Schliamser LM, Leibovitz Z, Ohel G and Attias D (1999) A possible role for activated protein C resistance in patients with first and second trimester pregnancy failure. *Hum Reprod* 14,1624-1627.
80. Martinelli L, Taioli E, Cetin I, Marinoni A, Gerosa S, Villa MV, Bozzo M and Mannucci PM (2000) Mutations in coagulation factors in women with unexplained late fetal loss. *N Engl J Med* 343,1015-1018.
81. Greer IA (2001) Procoagulant microparticles: new insights and opportunities in pregnancy loss? *Thromb Haemost* 85,3-4.
82. Bretelle F, Sabatier F, Desprez D, Camoin L, Grunebaum L, Combes V, D'Ercole C and Dignat-George F (2003) Circulating microparticles: a marker of procoagulant state in normal pregnancy and pregnancy complicated by preeclampsia or intrauterine growth restriction. *Thromb Haemost* 89,486-492.
83. Galli M, Grassi A and Barbui T (1996) Platelet-derived microvesicles in thrombotic thrombocytopenic purpura and hemolytic uremic syndrome. *Thromb Haemost* 75,427-431.

84. Mallat Z, Benamer H, Hugel B and Benessiano J (2000) Elevated levels of shed membrane microparticles with procoagulant potential in the peripheral circulating blood of patients with acute coronary syndromes. *Circulation* 101,841–848.
85. Joop K, Berckmans RJ, Nieuwland R, Berkhout J, Romijn FP, Hack CE and Sturk A (2001) Microparticles from patients with multiple organ dysfunction syndrome and sepsis support coagulation through multiple mechanisms. *Thromb Haemost* 85,810–820.
86. Hughes M, Hayward CP, Warkentin TE, Horsewood P, Chorneyko KA and Kelton JG (2000) Morphological analysis of microparticle generation in heparin-induced thrombocytopenia. *Blood* 96,188–194.
87. Walenga JM, Jeske WP and Messmore HL (2000) Mechanisms of venous and arterial thrombosis in heparin-induced thrombocytopenia. *J Thromb Thrombolysis* 10 (Suppl. 1), 13–20.
88. Greer IA (1999) Thrombosis in pregnancy: maternal and fetal issues. *Lancet* 353,1258–1265.
89. Laude I, Rongieres-Bertrand C, Boyer-Neumann C, Wolf M, Mairovitz V, Hugel B, Freysinnet JM, Frydman R, Meyer D and Eschwege V (2001) Circulating procoagulant microparticles in women with unexplained pregnancy loss: a new insight. *Thromb Haemost* 85,18–21.
90. Stern JJ, Dorfman AD and Gutierrez-Najar MD (1996) Frequency of abnormal karyotype among abortuses from women with and without a history of recurrent spontaneous abortion. *Fertil Steril* 65,250–253.
91. Ogasawara M, Aoki K, Okada S and Suzumori K (2000) Embryonic karyotype of abortuses in relation to the number of previous miscarriages. *Fertil Steril* 73,300–304.
92. Carp HJA, Toder V, Orgad S, Aviram A, Danieli M, Mashiach S and Barkai G (2001) Karyotype of the abortus in recurrent miscarriage. *Fertil Steril* 5,678–682.
93. Philipp T and Kalousek, DK (2001) Transcervical embryoscopy in missed abortion. *J Assist Reprod Genet* 18,285–290.
94. Jaskoll TH, Choy HA, Chen H and Melnick M (1996) Developmental expression and CORT-regulation of TGF- $\beta$  and EGE receptor mRNA during mouse palatal morphogenesis: correlation between CORT-induced cleft palate and TGF- $\beta$ 2 mRNA expression. *Teratology* 54,34–44.
95. Ivnitisky I, Torchinsky A, Gorivodsky M, Zemlyak I, Orenstein H, Savion S, Shepshelovich J, Carp HJA, Fein A and Toder V (1998) Tnf- $\alpha$  expression in embryos exposed to a teratogen. *Am J Reprod Immunol* 40,431–440.
96. Torchinsky A, Savion S, Gorivodsky M, Shepshelovich J, Zaslavsky Z, Fein A and Toder V (1995) Cyclophosphamide-induced teratogenesis in ICR mice: the role of apoptosis. *Teratogen Mutagen Carcinogen* 15,179–190.
97. Van Wijk MJ, Boer K, Berckmans RJ, Meijers JC, Van der Post JA, Sturk A, VanBavel E and Nieuwland R (2002b) Enhanced coagulation activation in preeclampsia: the role of APC resistance, microparticles and other plasma constituents. *Thromb Haemost* 88,415–420.
98. [Hohlgeschwandtner M](#), [Unfried G](#), [Heinze G](#), [Huber JC](#), [Nagele F](#), [Tempfer C](#). Combined thrombophilic polymorphisms in women with idiopathic recurrent miscarriage. *Fertil Steril*. 2003 May;79(5):1141-8.
99. Sata F, Yamada H, Kondo T, Fujimoto S, Kishi R. Glutathione S-transferase M1 and T1 polymorphisms and the risk of recurrent pregnancy loss. *Mol Hum Reprod* 2003; 9:165-69.

100. Zusterzeel PL, Nelen WL, Roelofs HM, Peters WH, Blom HJ, Steegers EA. Polymorphisms in biotransformation enzymes and the risk for recurrent early pregnancy loss. *Mol Hum Reprod*. 2000 May;6(5):474-8.
101. Reid JG, Simpson NA, Walker RG et al. The carriage of proinflammatory cytokine gene polymorphisms in recurrent pregnancy loss. *Am J Immunol* 2001; 45:35-40.
102. Wang ZC, Yunis EJ, De los Santos MJ, Xiao L, Anderson DJ, Hill JA. T helper 1-type immunity to trophoblast antigens in women with a history of recurrent pregnancy loss is associated with polymorphism of the IL1B promoter region. *Genes Immun*. 2002 Feb;3(1):38-42.
103. Unfried G, Bocskor S, Endler G, Nagele F, Huber JC, Tempfer CB. A polymorphism of the interleukin-6 gene promoter and idiopathic recurrent miscarriage. *Hum Reprod*. 2003 Feb;18(2):267-70.
104. Wramsby ML, Sten-Linder M, Bremme K. Primary habitual abortions are associated with high frequency of factor V Leiden mutation. *Fertil Steril*. 2000 Nov;74(5):987-91.
105. Pihusch R, Buchholz T, Lohse P, Rubsamen H, Rogenhofer N, Hasbargen U, Hiller E, Thaler CJ. Thrombophilic gene mutations and recurrent spontaneous abortion: prothrombin mutation increases the risk in the first trimester. *Am J Reprod Immunol*. 2001 46(2):124-31.
106. Aldrich CL, Stephenson MD, Karrison T, Odem RR, Branch DW, Scott JR, Schreiber JR, Ober C. HLA-G genotypes and pregnancy outcome in couples with unexplained recurrent miscarriage. *Mol Hum Reprod*. 2001 Dec;7(12):1167-72.
107. Brenner B, Zivelin A, Lanir N et al. Venous thromboembolism associated with double heterozygosity for R506Q mutation of factor V and for T298M mutation of protein C in a large family of a previously described homozygous protein C-deficient newborn with massive thrombosis. *Blood* 1996;88:877-80.
108. Mandel H, Brenner B, Berant M et al. Coexistence of hyperhomocysteinemia and factor V Leiden mutation: Impact on expression of thrombosis. *N Eng J Med* 1996;334:763-8.
109. Brenner B, Vulfsons SL, Lanir N et al. Coexistence of familial antiphospholipid syndrome and factor V Leiden –Impact on thrombotic diathesis. *Br J Haematol* 1996;94:166-7.
110. Nelen WL, Steegers EA, Eskes TK, Blom HJ. Genetic risk factor for unexplained recurrent early pregnancy loss. *Lancet*. 1997 Sep 20;350(9081):861.
111. Kim NK, Choi YK, Kang MS, Choi DH, Cha SH, An MO, Lee S, Jeung M, Ko JJ, Oh D. Influence of combined methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) and thymidylate synthase enhancer region (TSER) polymorphisms to plasma homocysteine levels in Korean patients with recurrent spontaneous abortion. *Thrombosis Research* 2006, 117: 653-58.
112. Lissak A, Sharon A, Fruchter O, Kassel A, Sanderovitz J, Abramovici H. Polymorphism for mutation of cytosine to thymine at location 677 in the methylenetetrahydrofolate reductase gene is associated with recurrent early fetal loss. *Am J Obstet Gynecol*. 1999 Jul;181(1):126-30.
113. Holmes ZR, Regan L, Chilcott I, Cohen H. The C677T MTHFR gene mutation is not predictive of risk for recurrent fetal loss. *Br J Haematol*. 1999 Apr;105(1):98-101.
114. Kutteh WH, Park VM, Deitcher SR. Hypercoagulable state mutation analysis in patients with early first-trimester recurrent pregnancy loss. *Fertil Steril* 1999;71(6):1048-53.

115. Dilley A, Benito C, Hooper WC, Austin H, Miller C, El-Jamil M, Cottrell S, Benson J, Evatt BL, Patterson-Bamett A, Eller D, Philipp C. Mutations in the factor V, prothrombin and MTHFR genes are not risk factors for recurrent fetal loss. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2002 Mar;11(3):176-82.
116. Kobashi G, Kato EH, Morikawa M, Shimada S, Ohta K, Fujimoto S, Minakami H, Yamada H. MTHFR C677T Polymorphism and factor V Leiden mutation are not associated with recurrent spontaneous abortion of unexplained etiology in Japanese women. *Semin Thromb Hemost.* 2005 Jun;31(3):266-71.
117. Goodman CS, Coulam CB, Jeyendran RS, Acosta VA, Roussev R. Which thrombophilic gene mutations are risk factors for recurrent pregnancy loss? *Am J Reprod Immunol.* 2006 Oct;56(4):230-6.
118. Coulam CB, Jeyendran RS, Fishel LA, Roussev R. Multiple thrombophilic gene mutations rather than specific gene mutations are risk factors for recurrent miscarriage. *Am J Reprod Immunol.* 2006 May;55(5):360-8.
119. Coulam CB, Jeyendran RS, Fishel LA, Roussev R. Multiple thrombophilic gene mutations are risk factors for implantation failure. *Reprod Biomed Online*, 2006; 12(3):322-7.
120. Fodinger M, Horl WH, Sunder-Plassman G. Molecular biology of 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase. *J Nephrol*, 2000;13(1):20-33.
121. Donnelly JG, Rock GA. Genetic determinants of heritable venous thrombosis: Genotyping methods for factor VLEIDEN A1691G, methylenetetrahydrofolate reductase C677T, prothrombin G20210A mutation, and algorithms for venous thrombosis investigations. *Clin Biochem*, 1999;32: 223-228
122. Davies MJ, Gordon JL, Gearing AJ, Pigott R, Woolf N, Katz D, Kriyakapulos A. The expression of the adhesion molecules ICAM-1, VCAM-1, PECAM-1 and E-selectin in human atherosclerosis. *J Pathol* 1993 ;71:223-229.
123. Masuda M, Takahashi H. Adhesion of leukocytes to endothelial cells in atherosclerosis. *Rinsho Byori* 1998;46:1149-1155.
124. Lievers KJA, Boers GHJ, Verhoef V, et al. A second common variant in methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) gene and its relationship to MTHFR enzyme activity, homocysteine and cardiovascular disease risk. *Journal of Molecular Medicine* Received, 1 February 2001, Published online 5 July, 2001.
125. Morita H, Kurihara H, Tsubaki S, et al. Methylenetetrahydrofolate reductase gene polymorphism and ischemic stroke in Japanese. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1998; 18:1465-1469.
126. Howard C, Rima D, Aharon L, Ophira S, Eskaraev R, Rosenthal Einbal A et al. Prevalence of study. *Human Reproduction*, 2004 Jan;19(1):191-195.
127. Nanling G, Subroto C. Platelet endothelial cell adhesion molecule in cell signaling and thrombosis. *Molecular and Cellular Biochemistry* 2003;253:151-158.
128. Vaporciyan AA, DeLisser HM, Yan HC, Mendiguren H, Thom SR, Jones ML, Ward PA, Albeda SM. Involvement of platelet-endothelial cell adhesion molecule-1 in neutrophil recruitment in vivo. *Science* 1993;262:1580-1582.
129. Bulletti, C., Flamigni, C. and Giacomucci, E. (1996) Reproductive failure due to spontaneous abortion and recurrent miscarriage. *Hum. Reprod. Update*, 2, 118–136.

130. Pietrzik, K., Prinz, R., Reusch, K. *et al.* (1992) Folate status and pregnancy outcome. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 669, 371–373.
131. Carson NAJ, Neill DW. Metabolic abnormalities detected in a survey of mentally backward individuals in Northern Ireland. *Arch Dis Child* 1962; 37: 505-13.
132. Bonette RE, Caudill MA, Boddie AM, Hutson AQD, Kauwell GP, Bailey LB. Plasma homocysteine concentrations in pregnant and nonpregnant women with controlled folate intake. *Obstet Gynecol* 1998; 92: 167-70.
133. Wouters, M.G.A.J., Boers, G.H.J., Blom, H.J. *et al.* (1993) Hyperhomocysteinemia: a risk factor in women with unexplained recurrent early pregnancy loss. *Fertil. Steril.*, 60, 820–825.
134. Rossi E, Hung J, Beilby JP, Knuiman MW, Divitini ML, Bartholomew H. Folate levels and cancer morbidity and mortality: prospective cohort study from Busselton, Western Australia. *Ann Epidemiol.* 2006 Mar;16(3):206-12.
135. Zhang SM, Hankinson SE, Hunter DJ, Giovannucci EL, Colditz GA, Willett WC. Folate intake and risk of breast cancer characterized by hormone receptor status. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2005 Aug;14(8):2004-8.

## **TEŞEKKÜR**

Uzmanlık eğitim sürem boyunca değerli bilgi ve tecrübeleri ile eğitimime olan katkılarından dolayı hocalarım Prof.Dr. Mehmet ÇOLAKOĞLU, Prof.Dr. Metin ÇAPAR, Doç.Dr. Çetin ÇELİK, Doç.Dr. Hüseyin GÖRKEMLİ, Yrd.Doç.Dr. Kazım GEZGİNÇ, Yrd.Doç.Dr. Osman BALCI, Yrd.Doç.Dr. Suna ÖZDEMİR'e; bu çalışmanın yürütülmesinde her safhada yol gösterici ve destekleyici tutumlarından dolayı çokçok değerli hocam Prof.Dr.Metin ÇAPAR'a, çalışma süresince bulunduğu katkılarından dolayı Doç.Dr.İsmail Reisli hocam'a ve biyolog Reyhan hanım'a, istatistiki değerlendirmeden dolayı Yrd.Doç.Dr.İsmail Keskin hocam'a, tüm bu zorlu eğitim hayatım boyunca her türlü maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen annem Hacer ve babam Muttalip Şimşek'e, değerli eşim Esra Şimşek ve canımdan çok sevdiğim biricik oğlum Semih'e teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca uzmanlık eğitimim süresince beraber çalıştığım asistan arkadaşlarıma, Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniği'nin tüm hemşire ve personeline sonsuz teşekkür ederim.

**Dr. Bülent ŞİMŞEK**