

T.C
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

GEBELİK KAYBI İLE
APOLİPOPROTEİN E POLİMORFİZMİNİN
İLİŞKİSİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Dr. Engin KORKMAZER

Kadın Hastalıkları ve Doğum
Anabilim Dalı
TIPTA UZMANLIK TEZİ

ESKİŞEHİR
2011

T.C
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

GEBELİK KAYBI İLE
APOLİPOPROTEİN E POLİMORFİZMİNİN
İLİŞKİSİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Dr. Engin KORKMAZER

Kadın Hastalıkları ve Doğum
Anabilim Dalı
TIPTA UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŐMANI
Prof. Dr. A. Başar TEKİN

ESKİŞEHİR
2011

TEZ KABUL VE ONAY SAYFASI

T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞINA,

Dr.Engin KORKMAZER'e ait "Gebelik kaybı ile Apolipoprotein E polimorfizminin ilişkisinin değerlendirilmesi" adlı çalışma jürimiz tarafından Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı'nda Tıpta Uzmanlık Tezi olarak oy birliği ile kabul edilmiştir.

Tarih:

Jüri Başkanı

Prof.Dr. Ahmet Başar TEKİN
Kadın Hastalıkları ve Doğum A.D.

Üye

Prof.Dr. Hikmet HASSA
Kadın Hastalıkları ve Doğum A.D

Üye

Prof.Dr. Hüseyin Mete TANIR
Kadın Hastalıkları ve Doğum A.D

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Fakülte Kurulu'nun
Tarih ve Sayılı Kararıyla onaylanmıştır.

Prof.Dr. Necmi ATA
Dekan

TEŞEKKÜR

Bu tez çalışmam ve asistanlık eğitimim süresince sahip olduğu bilgi birikimi ve görüşleriyle beni yönlendiren, her zaman desteğini hissettiğim değerli hocalarım Sayın Prof.Dr. Hikmet HASSA' ya, Prof.Dr. S. Sinan ÖZALP' e, Merhum Prof.Dr. Atilla YILDIRIM'a, Prof.Dr. K. Turgay ŞENER' e, Prof.Dr. A. Başar TEKİN' e; Prof. Dr. Ömer T. YALÇIN' a, Prof. Dr. H. Mete TANIR' a, Öğr.Gör. Tufan ÖGE' ye; tez çalışmamda bana yardımcı olan Yrd.Doç.Dr. Oğuz ÇİLİNGİR' e, Uzm.Dr. Özgür ALDEMİR' e; tez çalışmamın istatistik bölümünde bana yardımcı olan Sayın Doç.Dr. Fezan MUTLU'ya; yardımları ve destekleri için teşekkürü bir borç bilirim.

ÖZET

Korkmazer, E. Gebelik kaybı ile apolipoprotein E ile ilişkisinin değerlendirilmesi, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı Tıpta Uzmanlık Tezi, Eskişehir, 2011.

Spontan abortus gebeliğin en sık görülen komplikasyonlarından biridir. Tekrarlayan düşükler tüm kadınların %1'ini etkileyen endişe verici bir durumdur ve tekrarlayan düşüklerin etyolojisinde birçok faktör rol almaktadır. Gebelikte lipid metabolizmasında önemli bir rolü olan Apolipoprotein E' nin trombofili üzerindeki etkisi bilinmektedir. Bu çalışmaya Ocak 2010 – Ocak 2011 tarihleri arasında Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı'na tekrarlayan düşük şikayeti ile başvuran, artarda 2 ve üzerinde düşük yapmış, yaşayan çocuğu bulunmayan tekrarlayan gebelik kaybı tanıları ile izlenen hastalar dahil edildi. Çalışmaya hasta grubundan 37 ve kontrol grubundan 37 hasta alındı. Gebelik kaybı haftası ortalama 8.3 ± 0.32 (5-18) olarak değerlendirildi. Yaş ortalamalarına bakıldığında hasta grubunun yaş ortalaması 32 ± 0.78 olarak değerlendirilirken kontrol grubunda bu 33.7 ± 0.7 olarak saptandı ve gruplar arasında istatistiki olarak anlamlı fark yoktu ($p>0.05$). Çalışmaya alınan kişiler arasında hasta grubunda 58 (78.3 %) Apo E3, 12 (16.3 %) Apo E4 ve 4 (5.4 %) Apo E2 alleli varlığı saptanırken kontrol grubunda 52 (70.2 %) Apo E3, 14 (19 %) Apo E4 ve 8 (10.8 %) Apo E2 varlığı saptandı. Her iki grupta da en sık Apo E3 alleli görülürken en nadir olarak Apo E2 alleli varlığı saptandı. Her iki grup arasında apolipoprotein allellerinin dağılımı açısından istatistiki anlamlı fark saptanmadı. Apo E2 hasta grubunda yarı yarıya daha az görülüyor olmasına rağmen bu fark istatistiki olarak anlamlı değildi. Mevcut verilerle Apolipoprotein E'nin tekrarlayan gebelik kayıplarıyla belirgin bir birlikteliği saptanmamıştı. Bu bilgiler ışığında tekrarlayan gebelik kaybı olan hastalarda Apolipoprotein E gen polimorfizmini araştırmanın yeri olmadığı görülmüştür.

Anahtar Kelimeler: Tekrarlayan gebelik kaybı, apolipoprotein E, trombofili, gen.

ABSTRACT

Korkmazer E. Relationship between recurrent pregnancy losses and apolipoprotein E polymorphism, Eskişehir Osmangazi University, Medical School, Department of Obstetrics and Gynecology, Medical Speciality Thesis, Eskişehir, 2011. The most frequent seen complication of pregnancy is spontaneous abortion. Recurrent pregnancy losses are affecting %1 of women and there are many factors playing part. During pregnancy, Apolipoprotein E, has an important role in lipid metabolism but its role in thrombophilia is understood yet. In this study, the patients who have the diagnosis of recurrent pregnancy loss, two or more consecutive abortions and don't have any live born, are included. Patients who have consulted with this diagnosis, between January 2010 and January 2011 to Eskişehir Osmangazi University, Medical School, Obstetrics and Gynecology Department are included. We got 37 patients and 37 healthy women for control group. The mean pregnancy loss week was 8.3 ± 0.32 (5-18). The mean age for patient group was 32 ± 0.78 and 33.7 ± 0.7 was for control group and there was no statistically significant difference ($p > 0.05$). In patient group 58 (78.3 %) were positive for Apo E3, 12 (16.3 %) were positive for Apo E4, 4 (5.4 %) were positive for Apo E2; in control group 52 (70.2 %) were positive for Apo E3, 14 (19 %) were positive for Apo E4 and 8 (10.8 %) were positive for Apo E2. Apo E3 was the most frequent gene and Apo E2 was the most rare gene in both groups. There was no statistically significant difference for gene polymorphism in both groups. Apo E2 was seen in patient group 50% less than control group but this was not statistically significant. According to our data there is no significant relationship between recurrent pregnancy loss and Apolipoprotein E gene polymorphism. Our findings shows that there is no need to study Apolipoprotein E gene polymorphism in recurrent pregnancy loss.

Key Words: Recurrent pregnancy loss, apolipoprotein E, thrombophilia, gene.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
TEZ KABUL VE ONAY SAYFASI	iii
TEŞEKKÜR	iv
ÖZET	v
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
TABLOLAR DİZİNİ	xi
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Tekrarlayan Gebelik Kaybı	2
2.2. Abortuslarda Sınıflama	3
2.3. Habitüel Abortusta Etyolojik Faktörler	6
2.3.1. Genetik Nedenler	7
2.3.2 Anatomik Nedenler	8
2.3.3. Endokrinolojik Nedenler	9
2.3.4. Enfeksiyöz Nedenler	10
2.3.5. İmmünolojik Nedenler	11
2.3.6 Çevresel Nedenler	15
2.3.7. Trombofililer	15
2.4. Erken Gebelik Kayıplarında Semptom ve Bulgular	16
2.5. Erken Gebelik Kayıplarında Tanısal Yaklaşım	17
2.6. Erken Gebelik Kayıplarında Tedavi	20
2.6.1. Dilatasyon ve Küretaj	20
2.6.2. Tıbbi Tedavi	21
2.6.3. İzleyici Yaklaşım	21
2.7. Gebelik Kaybı Sonrası Yaklaşımlar	21
2.8. Hemostaz Mekanizması	24
2.8.1. Protrombin Aktivatörünün Oluşması	26

	Sayfa
2.8.2. Protrombinin Trombine Çevrilmesi	27
2.8.3. Fibrinojenin Fibrine Dönüşümü	28
2.9. Fibrinoliz	28
2.10. Koagulasyon İnhibisyonu	29
2.11. Gebelikte Hematolojik Değişiklikler	30
2.12. Trombofili	32
2.12.1. Antitrombin III Eksikliği	33
2.12.2. Protein C Eksikliği	34
2.12.3. Protein S Eksikliği	35
2.12.4. Aktive Protein C Rezistansı ve Faktör V Mutasyonu	36
2.12.5. Hiperprotrombinemi	39
2.12.6. Hiperhomosisteinemi	39
2.13. Apolipoprotein E	40
3. GEREÇ VE YÖNTEM	42
4. BULGULAR	44
5. TARTIŞMA	48
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	53
KAYNAKLAR	54

SİMGELER VE KISALTMALAR

ANA	Antinükleer antikor
APAS	Antifosfolipit antikor sendromu
APC	Aktive protein C
APCR	Aktive protein C rezistansı
aPL	Antifosfolipit antikor
Apo	Apolipoprotein
AT III	Antitrombin III
β -hCG	Beta insan koryonik gonadotropini
DMAH	Düşük molekül ağırlıklı heparin
DVT	Derin ven trombozu
FDP	Fibrin yıkım ürünleri
FV	Faktör V
HDL	Yüksek dansiteli lipoprotein
HMWK	Yüksek moleküler ağırlıklı kininojen
HLA	İnsan lökosit antijeni
IUGR	İntrauterin gelişme geriliği
LDL	Düşük dansiteli lipoprotein
LH	Lüteinize edici hormon
MHC	Major histokompatibilite kompleks
mRNA	Haberci ribonükleik asit
MTHFR	Metilen tetrahidro folat redüktaz
NK	Naturel killer
OD	Otozomal dominant
PA	Protorombin aktivatörü
PAI	Plazminojen aktivatör inhibitörü
PF3	Trombosit faktör 3
PGT	İmplantasyon öncesi genetik tanı
RPL	Tekrarlayan Gebelik Kaybı
SAM	S-adenosyl methionin
TFPI	Doku faktörü yolu inhibitörü

TH	T hepler
TH1	T Helper 1
TH2	T Helper 2
TLX	Trofoblast–lenfosit crossreaktif antijen
VLDL	Çok düşük dansiteli lipoprotein
WHO	Dünya Sağlık Örgütü

ŞEKİLLER

	Sayfa
2.1. Protrombinin trombine çevrilmesi ve fibrinojenin polimerizasyonu	25
2.2. Trombinin koagulan / antikoagulan fonksiyonu ve APC yolu	30
2.3. Aktive Protein C'nin koagulasyon sistemindeki rolü	37
4.1. Hasta Grubunda Genotipe Göre Ortalama Abortus Sayıları	44
4.2. Kontrol Grubunda Genotipe Göre Doğum Sayıları	45
4.3. Hasta ve kontrol gruplarının ortalama yaşları	45
4.4. Hasta ve kontrol gruplarının gebelik sayıları	46

TABLolar

	Sayfa
2.1. Habituel abortuslarda etyolojik faktörler	6
2.2. Hiperkoagülabiliteye neden olan durumlar	33
4.1. Hasta ve kontrol gruplarının demografik özellikleri	46
4.2. Hasta ve Kontrol Grupları Arasında Apolipoprotein E Allell Dağılımı	47
4.3. Hasta ve Kontrol Grupları Arasında Apolipoprotein E Genotip Dağılımı	47

1. GİRİŞ

Spontan abortus gebeliğin en sık görülen komplikasyonlarından ve çocuk isteyen çiftlerin önemli emosyonel sıkıntılarında sorumludur.

Tekrarlayan abortuslar tüm kadınların %1'ini etkileyen endişe verici bir durumdur ve tekrarlayan düşüklerin etiolojisinde başlıca kromozomal anormallikler, trombofili, metabolik hastalıklar, anatomik nedenler, çevresel ve immün faktörler yer almaktadır. Bu durum hem çiftler hem de klinisyen için ümit kırıcıdır. Çünkü gebeliğin devamının sağlanamadığı her durumda bir neden bulunması zordur.

Gebelikte lipid metabolizmasında önemli bir rolü olan Apolipoprotein-E' nin trombofili üzerindeki etkisi bilinmektedir.

Apolipoprotein-E, kandaki belli başlı lipoproteinlerden birisidir. Yüksek trigliserit içerikli lipoproteinlerin (şilomikronlar, çok düşük dansiteli lipoproteinler (VLDL), düşük dansiteli lipoproteinler (LDL) ve bazı yüksek dansiteli lipoproteinler (HDL)) katabolizması için gereklidir. Apolipoprotein-E'nin asıl görevi, lipoproteinlerin karaciğer ve diğer organlara alımından sorumlu olan LDL ve Apolipoprotein-E reseptörleri için ligand olmaktır. Apolipoprotein-E ilk olarak lipid metabolizması ve kalp hastalıklarında oynadığı rolden dolayı önem kazanmıştır. Daha yakın zamanlarda lipoprotein metabolizmasıyla doğrudan ilgili görünmeyen, Alzheimer Hastalığı, immün regülasyon ve trombofili gibi durumlarla da ilgili olduğu gösterilmiştir.

Apolipoprotein-E geni 299 aminoasitten oluşur. Apolipoprotein-E geni 19. kromozomda Apolipoprotein-C1 ve Apolipoprotein-C2'nin de dahil olduğu bir gen kümesinde bulunur. Apolipoprotein-E geni, 4 ekzon ve 3 introndan oluşan 3597 nükleotid uzunluğunda bir haberci ribonükleik asit (mRNA) molekülünü kodlar. Bu genin E2, E3, E4 diye adlandırılmış üç alleli vardır. Bu alleller 3 farklı protein-sentezlenmesine yol açarlar. Bir çalışmada tekrarlayan gebelik kaybı olan hastalarda Apolipoprotein-E4 gen ekspresyonunun arttığı gösterilmiştir (1). Fakat bu konuda yapılan çalışmalarda çelişkili sonuçlar mevcuttur (2). Çalışmamızda rekürren gebelik kaybı olan hastalarda Apolipoprotein-E'nin yerini araştırdık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Tekrarlayan Gebelik Kaybı (Rekürren Abortus, RPL)

1977 yılında Dünya Sağlık Örgütü (WHO), gebelik ürününün ağırlığı ve gebelik sürecini kriter alarak bir abortus tanımı getirmiştir. Bu tanıma göre, 20. gebelik haftasından önce, 500 gramdan daha düşük ağırlıkta embriyo veya fetüs ve eklerinin, tamamının ya da bir kısmının uterus kavitesi dışına atılması olayına abortus denilmektedir (3).

Tekrarlayan gebelik kaybı birbirini izleyen en az 2 ya da daha fazla gebeliğin 20. gebelik haftasından önce spontan olarak sonlanmasıdır. Günümüzde, kimyasal gebeliklerin düşük sayılıp sayılmayacağı konusunda bir görüşbirliği yoktur. Geçmişte “missed abortus” olarak bilinen klinik tablo, konseptusun kendiliğinden uterustan atılmadıkları için WHO tanımlamasına dahil edilmemişlerdir. Benzer şekilde, 500 gramın üzerinde de tekrarlayan fetüs ölümleri olabilir. Bundan dolayı tekrarlayan düşük veya habituel abortus gibi terimlerin yerini “tekrarlayan gebelik kaybı” terimi almaktadır.

Gebeliğin 12. haftasına kadar olan abortuslara “erken abortus”, 12–20. gebelik haftaları arasında olan abortuslara ise “geç abortus” denilmektedir (4).

Normal karyotip olan gebeliklerin %10’u abortusla sonuçlanırken; kromozomal bozukluk olan gebeliklerin hemen hepsi, 10. haftadan önce abortusla sonuçlanır (5). Bu nedenle gebelik kaybı bir doğal seleksiyon olarak da görülebilir.

İnsan beta-koryonik gonadotropini (β -hCG) için duyarlı testlerin kullanımı gebeliklerin %30’a kadar varan kısmının implantasyonla 6 hafta arasında kaybedildiğini düşündürmektedir. β -hCG ölçümleri yapılarak erken gebelik tespit edilen olgularda, gebelik kaybı oranları %30–50 arasında değişmektedir. Bir gebelik kaybının abortus olarak adlandırılabilmesi için ovülasyondan sonra ne kadar süre geçmesi gerektiği konusunda bir görüş birliği yoktur (6). Ultrasonografi ile kalp atımının saptandığı gebeliklerde abortus oranı %5-15’dir. Bu abortusların %62’si 12. gebelik haftasından, %75’i ise 16. gebelik haftasından önce olmaktadır (7).

Düşüğün tekrarlaması olasılığı konusunda literatürde çelişkiler mevcuttur. Spontan abortus oranının saptanmasındaki güçlükler tekrarlayan düşük insidansının belirlenmesine de yansımıştır. Ardışık üç düşüktan sonra bir dördüncüsünün olması

olasılığı genellikle %40–50 olarak bildirilmektedir (8). Warburton ve Fraser ise riski ilk abortus sonrası %24, 2. abortus sonrası %26 ve 3. abortus sonrası %32 olarak bulmuşlardır. Daha sonra bu veriler tekrar değerlendirilmiş ve riskler sırasıyla %13, %37, %84 olarak bulunmuştur (9). Ancak klinik çalışmalar arka arkaya 3 düşükten sonra gebelik kaybı riskinin gerçekte %30–45 olduğunu göstermiştir. Canlı bir doğum olmaksızın 3 ardışık düşükten sonra canlı doğum olma şansı %55–60'dır (10).

Spontan düşüklerin yaklaşık % 80'i gebeliğin ilk 12 haftasında olmaktadır ve erken gebelikteki bu düşüklerin neredeyse % 70'i kromozom anomalilerine bağlıdır. Klinik abortuslar 20 yaşından genç kadınların yalnızca % 12'sinde olurken, insidans 40 yaşından büyüklerde % 26'ya yükselir. 40 yaş üstü kadınlarda tüm düşük riski (fark edilen ve fark edilmeyen) yaklaşık % 75'tir. Normal veya infertil kadınlarda bir kez canlı bir embriyo ultrasonografi ile saptandıktan sonra fetal kayıp oranı% 5'tir. (10).

Tekrarlayan gebelik kayıplarının olası nedenleri; genetik bozukluklar, anatomik nedenler, endokrinolojik bozukluklar, enfeksiyöz hastalıklar, çevresel nedenler, immünolojik nedenler ve kalıtsal trombofililerdir. Bu faktörlerin tekrarlayan gebelik kaybı olaylarında ne düzeyde rol aldıkları, etki mekanizmaları, bunlara ilişkin olarak uygulanacak tedaviler ve tedavilerin etkinliği konusunda yaygın olarak çelişkiler ve belirsizlikler hakimdir (10).

2.2. Abortuslarda Sınıflama

Abortuslar oluş zamanına göre üç guruba ayrılır

a) Subklinik abortuslar (biyokimyasal abortuslar), klinik olarak tespit edilemeyen, sadece biyokimyasal saptanabilen abortuslardır (11).

b) Erken abortuslar, 12. gebelik haftasının sonuna kadar olan abortuslardır. Bu erken abortusların en azından yarısına kromozomal anomaliler neden olur (3).

c) Geç abortuslar, 13. gebelik haftası ve 20 gebelik haftasının sonuna kadar olan süre arasında oluşan abortuslardır (3).

Abortuslar oluş şekline göre iki guruba ayrılır

a) Spontan abortuslar, cerrahi ya da medikal girişim olmaksızın oluşan abortuslardır.

b) İndüklenmiş (Provoke, induced) abortuslar, kendi arasında 2 alt guruba ayrılır.

Terapötik abortuslar, tıbbi endikasyonlar nedeniyle (Maternal sistemik bir hastalık veya fetal anomali) gerçekleştirilen abortuslardır.

İstemli (Elektif) abortuslar, ortada anne ve fetus açısından hiçbir tıbbi sorun yokken, istenmeyen bir gebeliğin (yasal olarak 10. gebelik haftasından önce) sonlandırılmasıdır.

Abortuslar tamamlanma şekline göre 2 guruba ayrılır

a) Komplet abortus, embriyo veya fetus ve eklerinin tamamının uterus kontraksiyonları ile uterin kavite dışına atılmasıdır.

b) İnkomples abortus, embriyo veya fetus ve eklerinin bir kısmının uterus kavitesi dışına atılıp, bir kısmının ise kavitede kaldığı durumdur. Doku kaybı ile birlikte vaginal kanama ve ağrılı uterus krampları vardır. Tedavi uterin kavitenin boşaltılmasıdır (12).

Klinik seyrine göre abortuslar beş grupta incelenir

a) Abortus imminens (Düşük tehdidi), 20. gebelik haftasından önce vaginal kanama olmasıdır. Gebeliklerin %25'inde görülür. Hastaların çoğunda kanama 8-10. gebelik haftasında olsa da gerçek kayıp sıklıkla 8. gebelik haftasından önce olur. Hastaların sadece %3.2' sinde gebelik kaybı 8. haftadan sonra olur (13). Kanama genellikle azdır ve bu kanama kahve renkli akıntudan, parlak kırmızıya kadar değişiklik gösterebilir. Kanama genellikle kramp veya pelvik ağrı şeklinde görülen hafif bir ağrı ile birlikte dir. Pelvik muayenede serviks kapalıdır. Bu hastaların ayırıcı tanısında vaginal kanama yapan diğer durumlar ekarte edilmelidir. Düşen doku ve membran rüptürü yoktur. Uterus beklenen haftasına uygun büyüklüktedir (14).

Abortus imminens vakalarının %50'si düşükle sonlanır. Gebeliği devam edenlerde konjenital anomali riskinde artış bildirilmemiştir. Ancak preterm doğum, düşük doğum ağırlığı ve perinatal mortalitede artmış risk bulunmuştur (15).

Tedavi konservatiftir. Hasta yatak istirahatine alınır fakat bu istirahatın yararı bilimsel olarak kanıtlanamamıştır ve daha çok hastanın anksiyetesini gidermeye yöneliktir. Gerekirse sedatif ilaçlar kullanılır. Koitus yasaklanır ve kan tablosuna göre replasman yapılır. İzole korpus luteum yetmezliği gibi nadir olgular dışında

progesteron preparatı vermemek gerekir. Bu olgularda da kanama başlamadan tedaviye başlanmalıdır. (16).

b) Abortus incipiens (Önlenemeyen düşük); abortus imminens semptomları olan, servikal yetmezliği olmayan gebede internal servikal osun dilate olması ile meydana gelir. Embriyo veya fetus uterusda yerleşmiş olduğu implantasyon bölgesinden ayrılmış ve yaşamını kaybetmiştir. Prognoz kötüdür. Gebeliğin devam etme şansı yoktur. Kanama fazladır, bazen hayatı tehdit edecek boyutlara ulaşabilir. Amnion zarı yırtılmıştır ve pelvik ağrı vardır (17). Tedavi uterin kavitenin boşaltılmasıdır.

c) Missed abortus (Ölü düşük), intrauterin fetal viabilite kaybının olduğu ancak diğer abortus tiplerinde görülen kanama, servikal dilatasyon gibi bulguların olmadığı durumdur. Ultrasonografide fetal viabilite saptanmaz ve takiplerde β -hCG artmaz. Tedavi uterin kavitenin keskin küretle boşaltılmasıdır. Eğer ölü fetüsün uterin kavitede kalışı uzun sürerse ciddi koagülasyon bozuklukları ortaya çıkabilir ancak bu, daha çok gebeliğin sonlanmasında sonra 2. trimester'a ulaşması durumunda görülür (18).

d) Septik abortus, genellikle kontamine yabancı cisimle düşük yaptırma girişimi sonrasında da spontan abortuslarda görülen yüksek ateş, pis kokulu, bazen kanlı akıntı, karın ağrısı ve uterus duyarlılığı ile ortaya çıkan bir tablodur. Olay endometrit ile başlar. Tedavi edilmez ise panmetrit, pelvik peritonit ve septisemiye ilerler. En sık etken olan bakteriler E.Coli, Enterik gram negatif bakteriler, Beta hemolitik streptokoklar, Stafilokoklar, Bakteroides ve Clostridyumlardır. Tedavide esas, enfeksiyonu ortadan kaldırmaktır; antibiyoterapi başlanır ve enfekte endometriuma küretaj uygulanır. Antibiyotiklere yanıt alınamayan olgularda enfekte odak çıkarılır, histerektomi yapılır. Hastanın septik şok tablosuna ilerlemesi engellenir (3).

e) Habitüel abortuslar (Rekürren abortuslar, tekrarlayan gebelik kayıpları, RPL), geleneksel olarak son menstrüasyon başlangıcından itibaren 20. gebelik haftasından önce klinik olarak fark edilmiş üç veya daha fazla gebelik kaybı olarak tanımlanır. Ortaya çıktığında etiyolojinin aydınlatılması ve tedavisi hem doktor hem de hasta açısından önemli bir problem oluşturur.

Tekrarlayan gebelik kayıpları yaklaşık olarak her 300 gebelikte bir görülür. Ancak gebelik kaybından önce fetal kalp aktivitesi saptanmışsa, kadının yaşı 35'ten fazla ise veya çiftin gebelik elde etmede zorluğu varsa (infertilite sonrası gebelik ise) iki spontan abortusun sonrasında klinik araştırmaya başlanmalıdır. Tekrarlayan gebelik kayıp nedenleri içinde, immünolojik faktörler %20–50, endokrin faktörler %17–20, anatomik faktörler %12–16, genetik faktörler %3,5–5, enfeksiyöz faktörler %0,5–5, diğer faktörler (trombotik fak, çevresel fak, erkek fak. v.s) %10 yer almaktadır. Bununla birlikte, %40-50 olguda etiyolojik faktör saptanamamaktadır (19).

2.3. Habitüel Abortusta Etiyolojik Faktörler

Tekrarlayan gebelik kaybı sendromu her yıl 500.000'den fazla kadını etkileyen yaygın obstetrik bir problemdir. (19). Habitüel abortuslardaki etiyolojik faktörler Tablo 2'de gösterilmiştir.

Tablo2.1. Habituel abortuslarda etiyolojik faktörler

1. Genetik Faktörler
a. Kromozomal
b. Tek Gen Defektleri
c. Multifaktöriyel
2. Anatomik Faktörler
a. Müllerian Anomaliler
b. Embriyonal Hayatta DES maruziyeti
c. Servikal Yetmezlik
d. Asherman Sendromu
e. Leiomyomlar
f. Adenomyozis
3. Endokrin Faktörler
a. Luteal Faz Yetmezliği
b. Polikistik Over Sendromu
c. Diabetes Mellitus
d. Tiroit Bozuklukları
e. Prolaktin Bozuklukları
4. Enfeksiyöz Nedenler: Bakteriler, virüsler
5. İmmünolojik Faktörler
a. Humoral İmmün Mekanizmalar
b. Hücre İmmün Mekanizmalar
6. Açıklanamayan Nedenler

2.3.1. Genetik Nedenler

Klinik olarak tanımlanmış abortuslarda en sık nedenler genetik nedenlerdir. Genetik anomaliler fetal veya maternal kaynaklı olabilir. Genel kural olarak düşük ne kadar erken oluşursa kromozom kaynaklı neden olasılığı o kadar fazladır. Birinci trimester kayıplarının %60'ı, 2. trimester kayıplarının %10-15'i, 3. trimester ölü doğumlarının ise %5'i genetik nedenlerden kaynaklanmaktadır (20). Genetik anomalileri yapısal ve sayısal olarak sınıflamak mümkündür. Gametogenezdeki kromozomal hatalar trizomi, monozomi, poliploidi gibi total kromozom sayısında gerçekleşen normalden sapmalar olarak tanımlanabilir. Yapısal anomaliler ise translokasyon, delesyon, inversiyon ve ringler gibi kromozomun kendisinde gerçekleşen morfolojik patolojilerdir. Yapısal kromozom anomalileri içerisinde en sık görülenler translokasyonlar, translokasyonlar içerisinde ise resiprokal ve Robertsonian translokasyonlardır. Resiprokal translokasyonlarda iki kromozomun kırılmaya uzak olan segmentleri değişmiştir. Robertsonian translokasyonlarda, iki akrosentrik kromozom, kısa kol kaybı olan sentromerik bölgede birleşirler. Bir kez olan spontan düşüklerdeki fetal kromozomal anomalileri tekrarlayan düşüklerdekinden farklıdır. Ayrılmama ya da translokasyona bağlı otozomal trizomi en sık rastlanan anomalidir (erken gebelik düşüklerinin yaklaşık %50'si). Trizomiler, çoğunlukla ileri maternal yaşlarda görülme sıklığı artan "non-disjunction" ve translokasyon nedeniyle ortaya çıkarlar. Özellikle 36 yaşından daha genç habituel abortuslu olgularda kromozomal anomaliler daha az görülür. Bu yapıların sitogenetik analizi yapıldığı takdirde, %50 sıklıkta trizomiler, %15 sıklıkta ise monozomi, 45 XO ve değişen oranlarda poliploidi ile karşılaşılır (10).

Tekrarlayan düşüklerle ilişkisi kanıtlanan tek gen bozukluklarının en iyi örneği yüksek geçişli otozomal dominant (OD) bir hastalık olan Myotonik Distrofi'dir. Fetusu etkileyen ve abortusa yol açan diğer OD bozukluklar Tanotoforik Displazi ve Tip 2 Osteogenezis İmperfekta gibi ölümcül iskelet displazileridir. Bu ailelerdeki nadiren görülen rekürrenslerin ebeveynlerin over ya da testislerindeki gonadal mozaisizme bağlı olduğu düşünülmektedir. Artmış gebelik kayıplarına yol açan anneye bağlı diğer hastalıklar; Marfan Sendromu, Ehler Danlos Sendromu, Homosistinüri ve Psödoksantoma Elastikum gibi bağ dokusu hastalıklarıdır. "Sickle

Cell" (orak hücreli) anemi hastası olan kadınlar plasental yatakta oluşan olası mikroinfarktlara bağlı olarak daha yüksek abortus beklentisine sahiptirler (11).

2.3.2. Anatomik Nedenler

Tekrarlayan gebelik kayıplarının etiolojisinde yaklaşık %10–15 oranında anatomik nedenler sorumludur. Mülleryen anomaliler, kadınların %7-8'inde görülür. (21). Uterin anomalilerin abortusa neden olurken suçlanan mekanizmalar; uterin septumun kanlanması zayıf olması ve malforme uterustaki steroid reseptörlerinin eksikliğini sonucu implantasyonun zor olmasıdır. Anormal uterin kontraksiyonların da abortuslara yol açabileceği düşünülmektedir (22). Unikornuat uterusu bağlı servikal yetmezlik ve vasküler anomaliler oluşabilir. Rudimenter hornu da eğer hematometra veya gebelik mevcut ise rudimenter horn bütünüyle eksize edilmelidir. Çünkü bu durumda horn rüptürü riski %90'lardadır. Servikal yetmezlik eşlik ediyorsa servikal serklaj yapılabilir (23). Fetüsün hayatta kalma beklentisi %64'dür. Bikornuat uteruslarda yüksek oranda prematürite ve anormal prezentasyon riski vardır. Fetüsün hayatta kalma beklentisi %57'dir. Uterus septusta septumun kanlanmasının az olması ve uterin kavitedeki distorsiyon nedeniyle gebelik kaybı oranları yüksektir. Fetüsün hayatta kalma beklentisi %15-28'dir (23,24). Mülleryen anomalilerin tanısı transvaginal ultrason, manyetik rezonans görüntüleme, histerosalpingografi, histeroskopi ve laparoskopi gibi yöntemlerle konulabilir. Mülleryen anomalilerin tedavisinde histeroskopik cerrahi, postoperatif adhezyonlar ve infertilite riski nedeniyle uterus cerrahisine tercih edilir (25). Potansiyel olarak gebelik kaybına yol açan edinsel anatomik anomaliler arasında intrauterin adezyonlar, leiomyomlar ve endometriosis vardır. Erken gebelik kayıplarına yol açma mekanizmaları çok net değildir, ancak teorik mekanizmalar, adezyon ve myomlarda kan desteğinin bozulması iken endometriosis'te neden immünolojik olarak açıklanır (13). Literatürde özellikle submukozal ve intramural myomların invitro fertilizasyon sonrasında implantasyon başarısızlığına yol açtığı rapor edilmiştir (26). Abortus veya postpartum küretaj sonrası gelişen Asherman Sendromu'nda başarılı gebelik elde etme oranı %30'dur. Histeroskopik adhezyolizis sonrası term gebelik oranı %79'dur (27).

Servikal yetmezlik tekrarlayan düşükleri olan kadınlarda %8-15 oranında tespit edilmiştir. Klasik öykü, ağrısız servikal dilatasyon ve membran prolapsusu sonrası gelişen 2. trimester gebelik kayıplarıdır (28).

2.3.3. Endokrinolojik Nedenler

Diabetes mellitus, hipotiroidizm, luteal faz defektleri, hiperprolaktinemi, obezite, polikistik over sendromu ve insülin direnci habituel abortusla ilişkili endokrin problemlerdir. Endokrinolojik nedenler habituel abortuslu olguların %17-20'si ile ilişkilidir (13).

Ovülasyondan gebeliğin 7-9. haftasına kadar olan dönemde gebeliğin devamı korpus luteum tarafından progesteron üretimine bağlıdır. Gebeliğin 10. haftasından önce olan gebelik kayıpları progesteronun üretimi ya da kullanımı ile ilgili sorunlardan kaynaklanıyor olabilir. Progesteron üretimi görevi 7-9. haftadan sonra plasentaya geçer (luteoplasental kayma). Bu dönemde korpus luteum fonksiyonları kaybolurken trofoblastlar biyolojik aktif progesteron salgılayamazlarsa gebelik kaybı oluşabilir (13). Luteal faz defekti, korpus luteum tarafından progesteronun yetersiz salınımı ve plasantasyon için gerekli olan endometrial matürasyonun yetersiz olması ile karakterizedir. Yapılan endometrial biyopside menstrüel sıklusa göre 2 günden daha fazla gecikme vardır ancak günümüzde tekrarlayan düşüklerin tanısı için endometrial biyopsi pek kullanılmamaktadır (19).

Kontrolsüz diabet ve tedavi edilmemiş hipotiroidizm ovulasyon ve korpus luteum disfonksiyonuna neden olarak tekrarlayan düşüklerle ilişkili bulunmuştur. Ayrıca otoimmünite ile ilgili olabilen antitiroit antikolar da rekürren abortuslarla ilişkilendirilmiştir. Ancak bu durumun benimsenmiş bir tedavisi yoktur (21). Ovülasyon ve endometrial matürasyonla ilişkili olan prolaktinin fazla salınımı tekrarlayan düşüklerle ilişkili bulunmuştur. Hiperprolaktineminin, bromokriptin ile tedavisinin tekrarlayan düşükleri anlamlı düzeyde azalttığı rapor edilmiştir (29).

Günümüzde dikkatler polikistik over sendromu ve insülin direnci ile tekrarlayan gebelikler arasındaki ilişkiye odaklanmıştır. İnsülin direnci artan düşüklerle ilişkili bulunmuş ve tekrarlayan gebelik kaybı olan olgularda yaygın olarak tespit edilmiştir. İnsülin direncinin tekrarlayan düşüklere yol açma mekanizması bilinmemektedir. Bir hipoteze göre, insülin direnci kontrolsüz diabetteki gibi bir ortam yaratarak ilk trimester düşüklere yol açabilir. İkinci görüşe

göre, artmış insülinin plasminojen aktivatör inhibitör seviyelerini arttırması bir neden olabilir (30). Bu olay embriyonun implantasyonu ve doku remodellinginde önemli olan fibrinolitik cevapta yetersizliğe neden olur. Plazma fibrin konsantrasyonu plasminojen aktivatör inhibitör-1 geninin promotor bölgesindeki 4G/5G polimorfizminden etkilenir. Homozigot 4G/5G polimorfizmi, hipofibrinolizis ile ilişkilidir. Plasminojen aktivatör inhibitör 1 geninin promotor bölgesinde insülin cevap elementi vardır. Bu da hiperinsülineminin yetersiz fibrinolizis ile olan ilişkisi hipotezine katkı sağlar (31). Polikistik over sendromu komplike olmayan reproduktif hikayesi olan kadınlara oranla (%22), tekrarlayan düşükleri olan kadınlarda anlamlı oranda daha fazla (%40) görülür. İnsülin duyarlılaştırıcı ilaç (metformin) kullanan hastalarda tekrarlayan düşüklerin oranında azalma olması, polikistik over sendromu ve insülin resistansının habituel abortus etiolojisinde rol oynadığını desteklemektedir (32).

Artan lüteinize edici hormon (LH) düzeyleri ve hiperandrojenizm, tekrarlayan gebelik kayıpları ile ilişkili bulunmuştur. Bu iki durum da polikistik over sendromu ile bağımlıdır. LH'nın artmış serum konsantrasyonları oosit matürasyonu ve luteinizasyon yetersizliklerini indükler. Habituel abortuslu kadınların %8'nde midfolliküler faz LH düzeyi yüksek bulunmuştur (28).

2.3.4. Enfeksiyöz Nedenler

Tekrarlayan spontan düşüklerde özel enfeksiyon ajanlarını etiolojik faktörler olarak ortaya koyan düzenli raporlara rağmen bakteriyel ya da viral enfeksiyonların tekrarlayan düşüklere neden olduğuna ilişkin kesin kanıtlar halen bulunmamaktadır. Herhangi bir mikroorganizma ile tekrarlayan gebelik kaybı arasında pozitif bir ilişki var diyebilmek için mikroorganizmanın plasentada, fetüste veya annede tespit edilmesi gerekir. Spontan abortuslarda suçlanan mikroorganizmalar;

Bakteriler; Listeria Monositogenez, Clamidy Trachomatis, Üreoplazma Ürealiticum, Mikoplazma Hominis, Bakteriyel Vajinozis

Virüsler; CMV, Rubella, HSV, HIV, Parvovirüs

Parazitler; Toksoplazma Gondii, Plasmodium Falsiparum

Spiroketler; Treponema Pallidum'dur

Enfeksiyöz ajanların abortusa yol açma mekanizmaları ile ilgili öne sürülen teoriler:

1. Toksik metabolik ürünler, endotoksin, ekzotoksin ya da sitokinler uterus veya fetoplasental yapıyı etkileyebilir.

2. Fetüsün enfeksiyonu, organ hasarı ya da fetal ölüme yol açarak gebeliği sonlandırabilir.

3. Plasentanın enfeksiyonu plasental yetmezlik ve fetal ölümle sonuçlanabilir.

4. Enfeksiyon ajanlarının asendan yolla endometriuma ulaşması ve endometriumun kronik enfeksiyonu (Mikoplazma Hominis, Klamidya, Üroplazma Üreolitikum) implantasyonu bozabilir.

5. İlk trimesterde oluşan amnionitis 3. trimesterdeki koryoamnionitis ile aynı şekilde erken doğum eylemine yol açabilir (11).

Üç yada daha fazla spontan düşüğü olan kadınlarda antiklamidyal antikorların belirgin bir insidansı bildirilmiştir; ancak bunun Chlamidia Trachomatis ile bir ilişkisi olup olmadığı kesin değildir (33).

Bakteriyel vaginozis; polimikrobiyal olan vaginal floradaki laktobasillerin azalması ve mikst anaeroplara aşırı artması sonucu ortaya çıkan dengesizliğe bağlı oluşur. Bakteriyel vaginozisin 2. trimester kayıpları ve preterm doğumlarla ilişkili olduğu belirtilmiştir. Erken gebelikte bakteriyel vaginozis tespit edilen kadınlarda midtrimester gebelik kayıplarında risk 5 kat artmıştır (34).

Bakteriyel vaginozis tanısında vaginal sıvıdan gram boyama yapılabilir ya da Amsel kriterlerinden üçü mevcutsa tanı konulabilir.

Amsel kriterleri:

1. İnce, beyaz, homojen bir vaginal akıntı
2. Vaginal pH \geq 4.5 olması
3. Vaginal akıntıya %10'luk potasyum hidroksit eklendiğinde balık kokusu oluşması
4. Mikroskopta clue cell görülmesi (35).

2.3.5. İmmünolojik Nedenler

Otoimmunitede humoral veya hücre sel yanıt, konakçının kendine özgü bir parçasına yönelir. Gebeliğe özgü antijenlere karşı humoral cevap oluşur ve tekrarlayan gebelik kaybı olan hastalarda endometrium antijenlerine karşı değişmiş humoral immün cevap oluşabilir. Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında tekrarlayan

düşükleri olan kadınlarda birçok otoantikör saptanmıştır. Bunlar arasında antifosfolipit antikörler ve tiroid otoantikörler sayılabilir.

Antifosfolipit antikörlerle trombotik komplikasyonlar arasındaki ilişkiye antifosfolipit antikör sendromu (APAS) denir. Antifosfolipit antikör sendromu spesifik lupus antikoagülan, antikardiolipin ve nonspesifik antinükleer antikör (ANA) pozitif olan geniş ve heterojen bir hastalık grubudur. APAS'ın 2. ve 3. trimester gebelik komplikasyonları ve fetal kayıplarla ilişkisi kanıtlanmıştır. Ancak %7-25 oranında tekrarlayan düşüklere yol açtığı saptanmıştır (36). APAS tanısı tromboembolizm öyküsü veya antifosfolipit antikör (aPL) ile ilgili gebelik komplikasyonları olan kadınlarda yüksek titrede antikardiolipin IgG ve/veya lupus antikoagülan testlerinin pozitif olmasıyla konur. APAS'lı kadınlardaki gebelik kaybı patolojisi, anormal plasental fonksiyona bağlı (plasental tromboz ve infarkt) gelişen uteroplasental sirkülasyonun bozulmasına bağlı olduğu düşünülmektedir (21). aPL'ler sinyal transdüksiyon mekanizmalarını engelleyerek endometriumun desidualizasyonunda defektlere yol açar. Endometriumun desidualizasyonundaki defektler aPL'nin gebelik kayıplarına yol açmasındaki altta yatan sebep olabilir çünkü aPL'li gebelik kayıplarında en yaygın histolojik bulgu desiduada trofoblast invazyonunun defektif olmasıdır. Bu bozuk trofoblast invazyonu aPL'li gebelerdeki geç dönem 2. trimester ve 3. trimesterde artmış preeklampsi ve intrauterin gelişme geriliği (IUGR) riskini açıklayabilir. (37)

APAS tanısı için 1998 yılında Japonya'da yapılan 8. Antifosfolipit Antikör Sempozyumu'nda tanı kriterleri yeniden değerlendirilmiştir ve Sapporo kriterleri ortaya çıkmıştır. Bir hastanın APAS tanısı alması için klinik bulgulardan bir veya daha fazlasına ve laboratuvar bulgularından bir veya daha fazlasına sahip olması gerekir (38).

APAS tanı kriterleri:

1. Kesinlik kazanmış herhangi bir tipteki damar trombozu olayı

Venöz

Arteryel

Küçük damar

2. Gebelik komplikasyonları

- 10. Gebelik haftasından küçük 3 veya daha fazla ardışık spontan gebelik kaybı
- 10. Gebelik haftasından sonra bir veya daha fazla fetal ölüm
- Ağır preeklampsi veya plasental yetmezliğe ikincil olarak 34. gebelik haftasından önce bir veya daha fazla preterm doğum

3.Laboratuvar:

1.IgG veya IgM izotipindeki antikardiolipin antikorlarının plazma düzeylerinin orta veya yüksek seviyelerde pozitif olması

2.Lupus antikoagülan plazma seviyelerinin pozitif olması.

Tanı için, testler 6 hafta arayla yapılan 2 veya daha fazla ölçümden her ikisinde de pozitif olmalıdır.

Aspirin, steroidler, intravenöz immünglobulin ve heparin gibi farklı tedaviler APAS'lı kadınların gebelik sonuçlarını iyileştirmek için kullanılmıştır. Bir metaanalizde aspirin ve heparinin tek başına veya kombine kullanımının tekrarlayan düşükleri olan ve APAS'lı kadınlarda canlı doğum oranını anlamlı derecede arttırdığı gösterilmiştir (39). Bu tedavi gebelik sonuçlarını %54 oranında iyileştirir, canlı doğum oranlarını %70'e kadar çıkarabilir (26). Tekrarlayan düşükleri olan ve persistan aPL değerleri pozitif olan tedavi edilmemiş kadınlarda canlı doğum oranı %10'dur. Randomize kontrollü bir çalışmada aPL pozitif olan tekrarlayan düşükleri olan kadınlarda günlük 75 mg düşük doz aspirin tedavisiyle canlı doğum oranları %40'a çıkmıştır. Aspirin tedavisine düşük doz heparin eklendiğinde bu oran %70'e çıkmıştır (37)

β 2 glikoproteine karşı oluşmuş özgül antikor seviyelerinin, tekrarlayan gebelik kaybı olan hastaların gebelik sonuçlarını tahmin etmedeki prognostik değeri bir sonuca bağlanamamıştır. Yine antisperm ve antitrofoblast antikorlarının tekrarlayan gebelik kayıplarıyla minimum ilişkisi gösterilmiştir. Ancak bu konuda henüz yeterli çalışma mevcut değildir ve ileri araştırmalar gerekmektedir (13).

Altıncı kromozom üzerinde bulunan ve immün cevabı kontrol eden major histokompatibilite kompleks (MHC) genleri klas I ve klas II MHC genlerini kodlarlar. Klas I antijenleri insan lökosit antijeni (HLA) A, B, C; klas II antijenleri ise HLA-DR, DP, DQ'dur. Klas I antijenleri vücuttaki hemen hemen tüm hücreler üzerinde bulunur ve kişinin immünolojik kimliğini gösterir. HLA antijenleri

spermatozoa, oosit, morula ile blastokist evresindeki erken embriyo üzerinde bulunmazlar (11).

Trofoblastların klasik HLA antijenleri taşımadıkları halde bir çeşit klas I antijeni olan HLA-G antijenini taşıdığı bulunmuştur. Bu antijenin trofoblasta ait diğer antijenlerin tanınmasını engelleyerek maternal immün cevaba engel olduğu düşünülmektedir. Trofoblastlar ayrıca trofoblast-lenfosit krosreaktif antijen (TLX) antijenleri taşırlar. Bu antijenlerin annenin immün sisteminin konseptusu bir şekilde tanıyarak, embriyonun annenin ürettiği bloke edici faktörler aracılığı ile korunmasını sağladığı ileri sürülmüştür. Bu hipoteze göre, bu antijenlerin anne tarafından baba ile benzer antijenlere sahip olunması nedeniyle tanınmaması, bloke edici faktörlerin yokluğuna bu da düşüğe yol açmaktadır (11,40).

Bloke edici faktörlerin anti-fetal hücrel immün cevabı engelleyici etkisini savunan gruplar, bu faktörlerin eksikliğini saptadıkları hastalara çeşitli immünoterapik yöntemler önermişlerdir. Üç tip antijen, bloke edici antikor veya antipaternal lenfositotoksik antikor oluşumunu stimüle etmek amacıyla kullanılmıştır. Bu antijenler, paternal veya bir başkasından alınan lökositler, plasental sinsityotrofoblast membranı ile immünglobulinlerdir. Bu tedavi yöntemlerinin etkinliği ve güvenliği ispatlanmamıştır. Bu tedavileri içeren çalışmalardan sadece ilkinde istatistiksel olarak önemli derecede bir yarar tespit edilmiştir (41). Açıklanamayan tekrarlayan gebelik kayıplarında, bloke edici faktörler ile antipaternal lenfositotoksik antikorların rolünü inceleyen bir immünoterapi çalışmasında, immünizasyon öncesi ve sonrası elde edilen bloke edici faktör düzeyleri ile sonraki gebeliğin prognozu arasında bir korelasyon gösterilememiştir (42).

İmplantasyon zamanında tüm endometrium lenfosit topluluğunun %70-80'ini tek bir hücre tipi oluşturmaktadır. Bu hücre tipinin desidual granüler lenfosit, büyük granüler lenfosit ve desidual naturel killer (NK) hücresi olarak farklı isimleri vardır. Her ne kadar birçoğu bu hücrenin bir NK hücresi çeşidi olduğuna inansa da, bu isim çeşitliliği, bu hücrenin periferden ayrıştırılan benzer hücrelerden farklı olduğunu vurgulamaktadır. Bunların bir NK hücresi olduğu varsayılırsa, implantasyon bölgesi insanlarda hastalıkta ve sağlıklıdaki en yoğun NK hücresi toplanma alanını oluşturur.

Son zamanlarda bu NK hücrelerinin gebelik kayıplarında rol oynadığı hayvan modellerinde gösterilmiştir (43).

2.3.6. Çevresel Nedenler

Birçok çevresel faktör tekrarlayan gebelik kaybı ile ilişkilendirilmiştir. Abortus nedeni olabilecek en önemli çevresel etkenler teratojen maddeler ve iyonize radyasyondur. Ağır metal zehirlenmesi ve organik solventlere uzun süreli maruziyet gibi çevresel toksinler, antiprogesterinler, antineoplastik ajanlar gibi ilaçlar, inhalasyon anestezikleri, nikotin, etanol ve uterin kan akımını bozan kronik medikal hastalıklar diğer çevresel faktörler olarak sayılabilir. Sigara, alkol ve aşırı kahve tüketimi artmış tekrarlayan düşük riskiyle birlikte (10).

2.3.7. Trombofililer

Gebelikte koagülasyon faktörlerinin konsantrasyonunun artması, antikoagülan düzeylerinin ve fibrinolitik kapasitenin azalmasına bağlı kazanılmış bir hiperkoagülabilite durumu vardır. Gebelikteki bu artmış hiperkoagülabilite derin ven trombozu (DVT), pulmoner emboli gibi venöz tromboembolik durumlar ve tekrarlayan düşükler, intrauterin gelişme geriliği, preeklampsi ve ablatio plasenta gibi gestasyonel vasküler komplikasyonlara predizpozisyon oluşturur. Bu gebelik komplikasyonları gebeliklerin %15'ini etkiler. Fetal ve maternal morbidite ve mortaliteye sebep olur. Gestasyonel vasküler komplikasyonların sıklıkla maternal kalıtsal ya da kazanılmış trombofilik risk faktörleriyle ilişkili olduğu belirtilmiştir (44,45).

Birçok koagülasyon bozukluğu ile ilgili hastalık trombofili içinde gruplandırılır. Bunlar aktive protein-c rezistansı (APCR), protein-s eksikliği, protein-c eksikliği, protrombin gen mutasyonu, antitrombin 3 eksikliği ve hiperhomosisteinemidir (metilen tetrahidro folat redüktaz mutasyonu (MTHFR), C677T). Bu koagülasyon bozuklukları plasental yetmezlik ve sonrasında gebelik kayıplarına yol açar. Histolojik çalışmalarda tekrarlayan düşükleri olan kadınlarda plasental damarlarda mikrotrombüsler tespit edilmiştir. Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında tekrarlayan düşükleri olan kadınlarda koagülasyon anormallikleri ve geç gebelik komplikasyonları artmıştır. Aktive protein-c rezistansı tromboembolizmin en yaygın genetik sebebi olarak ortaya çıkmıştır. APCR

olgularının %95'inde faktör V (FV) Leiden mutasyonu saptanmıştır. FV Leiden mutasyonu heterozigot taşıyıcılarda tromboz riski normal populasyona göre 5-10 kat, homozigot taşıyıcılarda 100 kat artmıştır (34,37).

Maternal folat eksikliği, maternal hiperhomosisteinemi, MTHFR C677T polimorfizmi tekrarlayan düşüklerle ilişkili bulunmuştur. Hiperhomosisteineminin tekrarlayan düşüklere yol açma mekanizmalarıyla ilgili birçok hipotez öne sürülmüştür. Homosistein embriyotoksik olabilir veya hemostatik genetik mekanizmalarla etkileşerek trombojenik potansiyeli artırabilir. S-adenosyl methionin (SAM)/S-adenosyl homosistein oranını değiştirebilir veya DNA mutasyonları, kromozomal kırılmalara ve mikronükleus formasyonuna yol açabilir. MTHFR C677T mutasyonu veya protrombin gen mutasyonu (G20210A mutasyonu) obstetrik komplikasyonları olan kadınlarda %52, normal gebelerde %17 oranında bulunmuştur. Bu mutasyonlar preeklampside %53, ablatio plasentada %60, IUGR'de %50, ölü doğumlarda %42 oranında tespit edilmiştir (37,46).

2.4. Erken Gebelik Kayıplarında Semptom ve Bulgular

Spontan abortus olgularında sıkça görülen 3 semptom vardır. Bunlar;

a) Vajinal kanama: Çoğu kez menstrüasyon gecikmesi sonrası ortaya çıkan bir kanamadır. Kanama gebeliğin haftasına ve olayın ilerleyiş tarzına göre sızıntı şeklinde veya abondan vasıfta olabilir. Rengi siyahtan kırmızıya kadar değişebilir. Kısa sürebilir veya günlerce devam edebilir. Fazla miktarda devam edip giden bir kanama kötü prognoz için bir gösterge olarak kabul edilir. Sonuçta giderek artan kasık ağrısı ve parça düşürmesi ile gebelik sona erer. Eğer gebelik ürünleri tam olarak atıldıysa kanama ve ağrı azalır, hasta rahatlar. Bu gerçekleşmediyse kanama ve ağrı devam eder.

b) Pelvik ağrı: Uterus kontraksiyonlarından ve servikal dilatasyondan kaynaklanır. Ağrı pelvis orta hatta ve simfisiz pubisin hemen arkasında künt vasıflı veya kramp tarzında olabilir.

c) Düşen parça: Gebelik ürünü ve eklerinin tamamı veya bir kısmı olabilir. Kanamaya bağlı anemi veya preşok tablosu semptomları (halsizlik, bitkinlik, baş dönmesi, az idrar çıkarma v.s), enfeksiyon eklenirse pis kokulu kanlı vaginal akıntı, 38 derece ve üzeri vücut ısısı, koagülasyon bozukluğuna bağlı mukoza ve deride peteşial kanamalar olabilir.

Ağrı ve kanamanın başladığı noktada gebeliğin geleceği büyük çoğunluğunda çoktan belirlenmiş durumdadır ve yapılacak girişimlerin hiç birisi bu kaçınılmaz sonu değiştirmeye yetmez. Embriyonun gelişmemiş olduğu bir gebelik, ne yapılırsa yapılsın devam etme şansına sahip değildir. Aynı şekilde, fizyolojik bir kanama söz konusu ise gerçek bir tehlike aslında zaten yoktur ve aslında hiçbir şey yapılmasa dahi gebelik devam edecektir. Geçmişte olduğu gibi günümüzde de gebeliğin devamı için pekçok yonteme başvurulmuştur. Bilimsel çalışmalarla bu yöntemlerin pek çoğunun etkisiz olduğu gösterilmiştir. Kanaması olan hastaya progesteron replasman tedavisi bunlardan biridir. Böyle bir tedavi ancak lüteal faz yetmezliği kanıtlanmış olgularda ve bulgular ortaya çıkınca değil, konsepsiyondan hemen sonra progesteron desteğinin başlanması gerekmektedir. Sporadik spontan gebelik kayıplarında böyle bir tedavinin etkili olduğu gösterilememiştir. Yatak istirahati de sıklıkla önerilen başka bir önlemdir, ancak etkin olduğuna dair kanıt yoktur.

Cinsel ilişkiye ara verilmesi; ilişki sırasında spermdeki prostaglandinlerle temasın uterin kontraksiyonlara neden olabilmesi, servikal uyarı nedeniyle endojen prostaglandin salınımının artması, orgazm ve hatta meme başı uyarılması nedeniyle teorik olarak savunulabilir. Cinsel ilişki yaşağının bir başka nedeni de serviksin açık olması nedeniyle arttığı ileri sürülen enfeksiyon riskidir. Bunu destekleyecek veriler de yoktur (47).

2.5. Erken Gebelik Kayıplarında Tanısal Yaklaşım

a) Anamnez: Erken gebelikte vaginal kanama ile başvuran hasta değerlendirilirken, hastanın önce menstruel, obstetrik ve jinekolojik öyküsü tam olarak alınır. Bu yapılırken, normal olarak görülen en son mensin başlangıç tarihini, siklusların süresini, en son kullanılan korunma yöntemini, biliniyorsa gebe kalınan günü, mevcut kanamanın başlangıç zamanını ve yapıldıysa mevcut gebelikle ilgili önceki muayene ve laboratuvar (özellikle β -HCG ve ultrason) bulgularını öğrenmeye çalışılır. Ancak son menstrüel tarihe göre hesaplanan gebelik kaybı çok bilgi verici olmayabilir çünkü çoğunlukla fetüsün ölümü ve düşüğün belirtileri arasında 2 veya 3 haftalık bir gecikme vardır (17). Bilinen ürogenital anormallikler, cinsel yolla bulaşan hastalıklar, pelvik enfeksiyonlar ve jinekolojik operasyonlar sorgulanır. Yine ayrıca düşen parça öyküsü alınabilir. Tüm önceki gebelikleri ve sıralarını

tanımlamak, düşük dokularında histolojik veya karyotip değerlendirmenin yapıp yapılmadığını saptamak öykünün önemli kısımlarındandır.

b) Pelvik muayene: Dış genitalerin inspeksiyonu ile üretradan veya hemoroitlerden kaynaklanan bir kanama kolayca tanınabilir. Daha sonra, spekulum yardımı ile kanamanın nereden kaynaklandığı (Vulvovajinal kondilomlar veya varisler, vulvovajinal travmalar, erozyon, polip veya neoplazi gibi servikal patolojiler, serviks portio vaginalisi, vagen duvarı, polipoid odaklar veya lezyonlu sahalar), servikal dilatasyonun olup olmadığına bakılır. Servikal kanalda abortus materyeli görülürse forsepsle tutularak çıkarılır ve incelenir. Bimanuel tuşe muayenesi ile de servikal açıklık, uterus büyüklüğü, kıvrımı ve hassasiyet varlığı araştırılır.

c) Laboratuvar bulguları: Transvaginal ultrasonografi erken dönemdeki sağlıklı gebeliklerin ortaya konmasında en pratik, en maliyet etkin ve en hızlı sonuç veren yöntemdir. Erken gebelikle ilgili normal transvaginal ultrasonografi bulguları gebelik süresiyle yakın ilişkili bir seyir gösterir. 4–5 haftalık döneme kadar uterus içinde hiçbir şey görülmez. Sonra 5. haftada gebelik kesesi ortaya çıkar. Gebelik kesesi başlangıçta boştur ve ektopik gebeliğin psödogestasyonel kesesiyle karışabilir. Normal bir kesenin, düzgün konturlu, yuvarlak ve fundal olması beklenir. Gebelik 5,5 hafta iken küçük yuvarlak bir yapı olan yolk kesesi görüntülenebilir. Yolk kesesi embriyonik bir yapı olduğundan intrauterin gebeliğin kesin bir bulgusudur. Gebelik 6–6,5 haftada iken embriyonun kendisi görüntülenebilir ve 6–8 mm'lik bir büyüklüğe ulaştığında kalp hareketleri saptanabilir. Transvaginal ultrasonografi ile ölçülen ortalama kese çapının 25 mm'nin altında olduğu durumlarda tanısal ve prognostik bir değerlendirme yapmak zordur. Sağlıklı bir gebelik kesesinin çapı her gün 1mm kadar artar. Ortalama kese çapı 25 mm'den büyük ise kese içerisinde embriyo gözlenmelidir.

Eğer embriyoda kalp atımı izlenirse bu gebeliğin canlı bir bebekle sonuçlanma şansı %97'dir (48). Kesenin anormal görülmesi kötü bir prognoz göstergesidir. Subkoryonik bir hemoraji varlığında spontan gebelik kaybı riski %30'dur. Kanamalı hastada uterus içerisinde debrislerin bulunması kısmi veya tam bir spontan gebelik kaybını akla getirir. Kötü prognoz göstergesi olan diğer faktörler şunlardır:

- Gebelik kesesinin anormal bir şekle sahip olması
- Ortalama kese çapının günlük 1 mm büyüme göstermemesi.
- Ortalama kese çapı 20–25 mm olduğu halde embriyo görülmemesi.
- Embriyo 5–8 mm 'lik bir uzunluğa ulaştığı halde kalp atımının izlenmemesi (49).
- 8. haftadan sonra kalp atım hızının dakikada 85'ten az olması (24).

d) Serum β -HCG değeri: Serum β -HCG değeri sağlıklı gelişen gebelerde gebeliğin 8 haftasına kadar her 48 saatte bir %66 oranında artış gösterir.

Gebeliğin 10–14. haftalarında en yüksek düzeylerine ulaşır ve bundan sonra azalmaya başlar. Bundan dolayı, bu dönemden sonra klinik karar vermede değeri çok azalır. Sonucun negatif çıkması ise fetal ölümün habercisidir.

e) Serum progesteron düzeyleri: 25 ng/ml'den yüksek progesteron düzeylerinde olguların %95' inden daha fazlasında sağlıklı bir gebelik olduğu söylenebilir. Progesteron seviyesi 5 ng/ml'den daha az olduğunda, canlı bir gebeliğin bulunmadığı öngörülebilir, fakat intrauterin mi, ekstrauterin mi olduğunu ayırt edemez (50). Yine 5-25 ng/ml arasında çıkan değerler ise şüphelidir ve bu değerlere dayanarak bir yargıya varılmamalıdır.

f) Tekrarlayan gebelik kaybı olan çiftlerin laboratuvar değerlendirmesi şunları da içermelidir.

- Ebeveynlerden karyotipleme tayini yapılması
- İntrauterin kavitenin HSG veya histereskopi ile değerlendirilmesi
- Siklusun 24. gününden sonra iyi zamanlanmış endometrial biyopsi
- Tiroid hormon testleri
- Trombosit değerlendirmesi
- Antikardiolipin ve lupus antikoagülan testleri
- aPTT kullanılarak hiperkoagülabilitenin araştırılması veya kalıtsal trombofililerin araştırılması
- Antitiroid antikorların araştırılması tartışmalıdır
- Lupus antikoagülanı ve antikardiolipin antikorları dışındaki çeşitli otoantikorların
- Antifosfatidilserin, anti- β 2 glikoprotein 1 araştırılması (tartışmalıdır)
- Kalıtsal veya akkiz homosistein metabolizma bozukluklarının araştırılması

- Mikoplazma, Üreoplazma ve Klamidya için servikal kültürlerin alınması (13).

g) Gebelik sonrası değerlendirme : Tekrarlayan gebelik kaybı öyküsü olan hastalarda gebeliğin oluşmasından sonra psikolojik destek, gebeliğin canlı ve intrauterin olduğunun kanıtlanması açısından yakın takip önerilir. Tekrarlayan gebelik kaybı öyküsü olanlarda ektopik gebelik insidansı ve komplet molar gebelik olasılığı artmıştır (51). Ultrason değerlendirmesi yapılan kadar serum β -hCG seviyelerinin takibi erken gebeliğin değerlendirilmesinde yararlı olabilir. Eğer kullanılacaksa seri serum β -hCG ölçümüne son geciken menstrüasyon tarihinden, ultrasonografinin uygulanıp kan örneklemesine son verilebilecek olan 1500 mIU/ml seviyelerine kadar devam edilebilir. Takiben, daha önceki gebeliklerin düştüğü gebelik haftasına kadar iki haftada bir ultrason yapılır (52).

Menstrüel ve ultrasonografik zamanlama ile gebeliğin 6-7 hafta olduğu kanıtlandıysa ancak, fetal kardiyak aktivite gösterilemediyse gebeliği sonlandırmak ve karyotipleme için doku örneği elde etmek amacıyla girişim yapılmalıdır. Tekrarlayan gebelik kaybına maruz kalan hastalarda fetüs öldükten sonra dahi karyotipleme için doku örneklemesinin önemi gözardı edilemez. Sonuçlar ebeveyndeki bir karyotip anormalliğini düşündürebilir. Anöploidinin tanınması önemli prognostik sonuçlar doğurabilir ve gelecekteki girişimlere yön verebilir (53).

2.6. Erken Gebelik Kayıplarında Tedavi

Spontan abortus tanısı kesin olarak konduktan sonra üç yaklaşım uygulanabilir.

- Cerahi tedavi (dilatasyon ve küretaj)
- Tıbbi tedavi
- İzleyici yaklaşım

2.6.1. Dilatasyon ve Küretaj

Ülkemizde ve dünyada halen en sık uygulanan tedavi şeklidir. Gebelik canlı değilse, hastanın ateşi, enfeksiyon bulguları, inatçı ve fazla miktarda kanaması varsa veya takip olanakları kısıtlıysa gereklidir. Etkili ve güvenli bir yöntemdir. Genel veya lokal anestezi altında, mekanik vakum aspirasyon veya küretaj şeklinde yapılabilir. Uterusun tam boşaltılmaması, perforasyon, işlemin sonrası enfeksiyon gelişmesi ve anesteziye bağlı komplikasyonlar görülebilir. Ashermann Sendromu riski vakum aspirasyonun ardından keskin küretaj yapılan olgularda daha fazladır.

İşlemden sonra kanama kontrolü sağlamak amacıyla her dört saatte bir 0.2 mg metil ergonovin drajeleri kullanılabilir. 24 saatlik bir uygulama genellikle yeterlidir.

Şüpheli olgular dışında rutin antibiotik profilaksisine gerek yoktur.

Küretaj materyali patolojik değerlendirmeden geçirilmeli, gerekli durumlarda genetik değerlendirme yapılmalıdır.

2.6.2. Tıbbi Tedavi

Cerrahi tedaviden kaçınan, spontan rezolusyon için beklemeyen olgular için bir seçimdir. Vaginal misoprostol oral kullanıma göre daha etkilidir ve olguların çoğunda 48 saat içerisinde gebeliğin sonlanmasını sağlayabilmektedir (54). Mifepriston ile bu oran yarıyarıdır (55). Yedi haftadan küçük gebelerde misoprostol uygulaması ile olguların % 90'ından fazlasında tam sonuç alınabilmektedir. Tıbbi tedaviyi tercih eden hastaların bu tedavi sırasında normalden daha fazla vaginal kanama, kasık ağrısı ve bulantı yaşayabileceklerini bilmeleri gereklidir.

2.6.3. İzleyici Yaklaşım

Hastada cerrahi girişimi zorunlu kılan komplikasyonların hiçbiri yoksa konservatif kalınabilir. Olguların çoğunda 72 saat içinde olay sonuçlanır.

Vaginal kanamanın başladığı gün gebeliğin zaten sahip olduğu %50 'lik devam etme şansı gerçekleşir ise önlemlerin işe yaradığı ve başta hekim olmak üzere bu başarının herkesin başarısı olduğu; %50'lik kaybetme riski gerçekleşirse gebeliğin devam etmesi için elden gelen her şeyin yapıldığı ve yine başta hekim olmak üzere bunda kimsenin kusuru ya da başarısızlığının olmadığı kolayca kabul edilecektir. Bu yaklaşımın gerçek adı "beklemek ve görmek"tir.

2.7. Gebelik Kaybı Sonrası Yaklaşımlar

a) Genetik anormallikler: Tekrarlayan düşüğe sebep olma ihtimali olan ebeveyn kromozom bozukluklarını doğrudan hedef alan tedaviler henüz yoktur. Genetik anormallik nedeniyle tekrarlayan düşükleri olan olgularda, implantasyon öncesi genetik tanı (PGT) dahil olmak üzere tüm yardımcı üreme tekniklerinin kullanılma endikasyonu oluşabilir. PGT laboratuvar ortamında olgunlaştırılmış embriyodan tek bir hücrenin alınmasını içerir. Bu hücre üzerinde belirgin bir

kromozom bozukluğu veya veya özel bir genetik hastalığın varlığı açısından genetik testler uygulanabilir. Genetik anormallik tanısı alan embriyoların uterus kavitesine yerleştirilmesi tercih edilmez. Genetik olarak normal olanların uterus içine transferinin uygun olduğuna karar verilir (56).

Homolog kromozomlarında robertsonion translokasyonu içeren hastalardaki genetik anormallik hemen her zaman aneuploid embriyoyla sonuçlanır. Bu yüzden etkilenen çifte göre oosit veya sperm bağışının kullanılması önerilir (57).

b) Anatomik anormallikler: Histeroskopik septum rezeksiyonu, intrauterin adhezyonların histeroskopik lizisi, endometrial polip ve submüköz myomların histeroskopik olarak çıkarılması anatomik bozukluğa bağlı tekrarlayan düşükleri olan kadınlarda yapılan operasyonlardır. Bicornuat uterus ve uterus didelfusta bu cerrahi prosedürler yapılmaz. Bunlarda servikal serklaj yapılabilir.Uterin kaviteyi distorsiyone eden büyük myomlar çıkarılmalıdır (36). Servikal yetmezliğe bağlı ikincil gebelik kaybı hikayesi olanlarda servikal serklaj endikasyonu vardır. Bu işlem genellikle 2. trimesterin erken döneminde fetüsün canlı olduğundan emin olduktan sonra yapılır. DES'e bağlı uterin anormalliği olan kadınlarda servikal serklaj ilk seçenek olmalıdır. Eğer ilk tanısal değerlendirme sırasında endometriozis saptanırsa tedavi edilmelidir (13).

c) Endokrinolojik bozukluklar: Progesteronun postovulatar yada erken gebelik döneminde yetersiz salınımı düşüklerle ilişkili bulunmuştur. Bu olgularda gebeliğin erken dönemlerinde progestasyonal ajanlar kullanılabilir. Bir metaanalizde sporadik düşükleri olan kadınlarda progesteron kullanımının düşük oranını azaltmadığı belirtilmiştir. Ancak bazı yayınlarda tekrarlayan gebelik kayıpları olan hastalarda progesteron kullanımının yararlı etkileri gösterilmiştir. Progesteron T Helper 1 (TH1) ve T Helper 2 (TH2) sitokin cevabını değiştirerek immün modülatör etki de gösterir. Yararlı etkileri bundan kaynaklanıyor olabilir (26). Metformin gibi insülin duyarlaştırıcı ajanlar hiperinsülinemiye azaltır. Birçok çalışmada gebelik sırasında metformin kullanımının düşük oranlarını azalttığı rapor edilmiştir (58-59).

d) Enfeksiyonlar: Eğer bağışıklık bozukluğu veya kanıtlanmış bir enfeksiyonu yoksa, tekrarlayan gebelik kaybı olan hastalarda ayrıntılı enfeksiyon etkeni araştırılması veya enfeksiyon tedavisi uygun değildir. Enfeksiyon ajanı bulunmuş olgularda ise uygun antibiyotiklerle her iki çiftin de tedavisi ve gebe

kalmaya çalışmadan önce, tedavi sonrası kültürlerde etkenin yok edildiğinin kanıtlanması gerekir (60).

e) İmmün bozukluklar: İmmün disfonksiyon nedeniyle tekrarlayan gebelik kaybı olanlarda babanın veya başka birinin lökositleri üzerine yerleştirilen alloantijenleri kullanarak annenin bağışıklık sisteminin uyarılması yöntemi geliştirilmiştir. Açıklanamayan tekrarlayan gebelik kaybı hastalarında lökosit bağışıklamasını araştıran en geniş deneme, tekrarlayan abortuslarda yapılan “REMIS” çalışmasının bir parçasıdır. Bu araştırma her tedavi kolunda 90 hasta içeren, prospektif, plasebo kontrollü, rastgele ve çift kör geniş bir çalışmadır. Bu tip tedavinin yararı kanıtlanmamış ve etkinliği konusunda çelişkili raporlar yayınlanmış olmakla birlikte, hastaların herhangi bir tedavi başlanmasını istemesi üzerine baba lökositlerinin transfüzyonu yapılmıştır. Bu tip bir tedaviden yarar görebilecek kişilerin ayırt edilmesine yararlı olabilecek bir klinik veya laboratuvar yöntemi yoktur. Ayrıca lökosit bağışıklaması hem anne hem de fetüste ciddi bir risk oluşturmaktadır (61).

Düşüğün antifosfolipit antikorlara veya implante olan fetüse karşı oluşan uygunsuz hücrel bağışıklığa bağlı olduğuna inanılan olgularda, bağışıklığı baskılayıcı tedaviler önerilmiştir .

Açıklanamayan tekrarlayan gebelik kayıplarında intravenöz immünglobülin kullanımının yararlı olabileceğini gösteren bir kanıt yoktur. Ancak, antifosfolipit antikor sendromu ile ilişkili otoimmün nedeni gebelik kaybı olan hastalarda intravenöz immünglobülin tedavisi sonrası gebelik sonuçlarında iyileşme görülebilir. Bu yöntem, pahalı, invaziv ve gebelik boyunca birkaç intravenöz infüzyona gereksinim gösteren zaman alıcı bir yöntemdir (62).

Progesteronların bağışıklığı baskılayıcı etkileri vardır. In vitro hücre sistemlerinde yapılan çalışmalar progesteronun ya T helper (TH) 1 bağışıklığını baskıladığı ya da TH1'den TH2 tipi cevaba doğru kaymaya yol açtığını göstermiştir. Vaginal uygulama ile sağlanan lokal, intrauterin progesteron konsantrasyonu artışının, sistemik uygulamadan iyi olduğu düşünülmüştür. Progesteronun T hücre kontrol bozukluğuna bağlı gelişen veya açıklanamayan tekrarlayan gebelik kayıplarındaki etkinliği tam olarak araştırılmamıştır (13).

Prednizon gibi kortikosteroidlerle genel bir bağışıklık baskılanması tekrarlayan kayıp ve APAS'ı olan hastaların tedavisinde önerilmiştir. Kortikosteroidlerin kullanımı umut vermişse de maternal ve fetal yan etkileri ve alternatif tedavilerin varlığı kullanımını sınırlamıştır (63).

f) Hemostaz bozuklukları: Günümüzde APAS veya tromboza eğilim yaratan diğer bozukluklarla ilişkili tekrarlayan gebelik kayıplarının tedavisi antitrombotik ilaçlara kaymıştır. Düşük doz aspirin (75-80 mg/gün) ve subkutan heparin (5000 Ü, günde iki kez) kombinasyonunun gebelikte kullanımı en iyi APAS hastalarında çalışılmış ve etkili bulunmuştur (13). Düşük moleküler ağırlıklı heparinin (DMAH), birçok pıhtılaşma bozukluğunun tedavisinde fraksiyone olmayan heparinden üstün olduğu gösterilmiştir. DMAH fraksiyone olmayan heparinle karşılaştırıldığında artmış antitrombotik oranı avantajına sahiptir. Bu, pıhtılaşma bozukluklarının daha iyi tedavisine ve kanama yan etkisinin daha az olmasına neden olur. Trombositopeni ve osteoporoz insidansında azalmaya yol açar. Yarı ömrü daha uzun, daha az doz ve takip ihtiyacı gösterdiği için hasta uyumunu artırır. APAS ile ilişkili tekrarlayan gebelik kaybı olan kadınlarda düşük doz aspirinle birlikte kullanımı etkili bulunmuştur (64).

2.8. Hemostaz Mekanizması

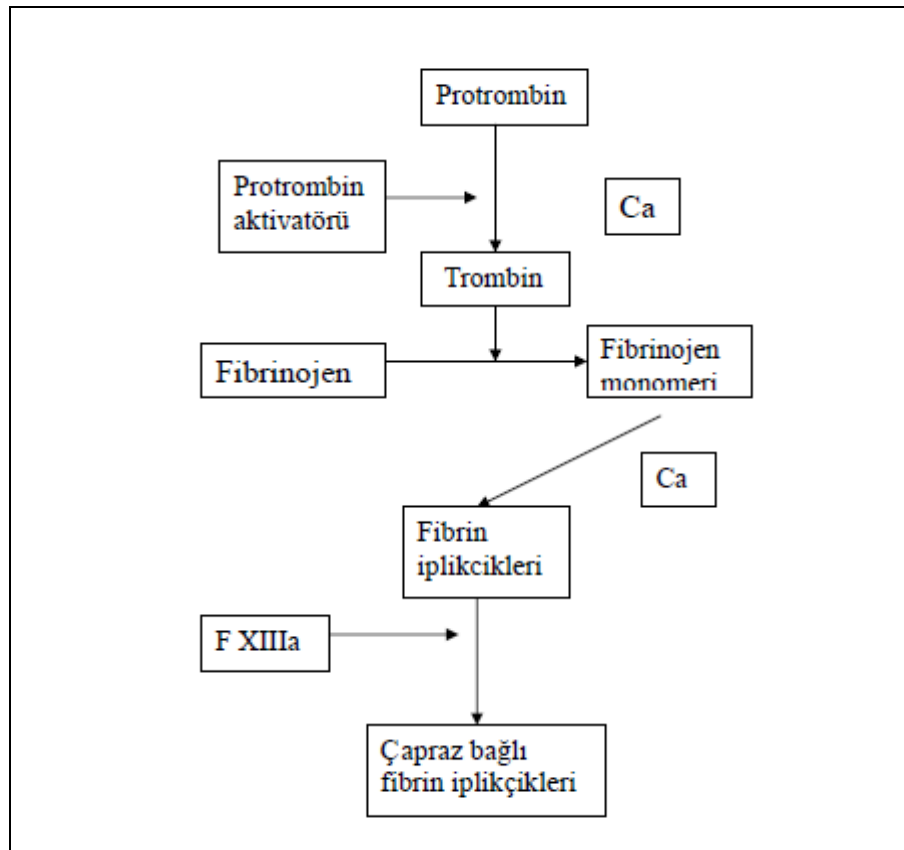
Organlar arasında gaz, besin, mineral, metabolik ürünler ve hormonların ulaştırılabilmesi için kardiyovasküler sistem içerisinde kan dolaşımının sağlıklı olması gereklidir. Hemostaz kan kaybının önlenmesi anlamına gelir. Bir damar zedelendiğinde ya da yırtıldığında birbirini izleyen bir seri mekanizma ile hemostaz sağlanır. Bu mekanizmalar; damar spazmı, trombosit tıkaç oluşumu, kanın koagülasyonu sonucu kan pıhtısının oluşumu ve fibröz dokunun pıhtı içine doğru büyümesiyle damardaki deliğin kalıcı olarak kapatılmasıdır (65).

Hemostaz kan damarları, trombositler, koagülasyon faktörleri ve fibrinolitik sistemin etkin ve koordine bir şekilde çalışmasını gerektirir. Küçük kan damarlarının arteriolar vazokonstriksiyonu, zedelenme esnasındaki lokal kan akışını azaltacak primer etkendir. Daha sonra zedelenmiş damar duvarında açığa çıkan subendotele trombositler adhere olur (primer tıkaç). Trombositlerin gerek plazma membranlarından gerekse granüllerinden salgılanan çeşitli platelet faktörleri, tromboksan A2 ve ADP (adenozin difosfat), daha fazla trombositin hasarlı bölgeye

çekilmesini sağlayarak trombosit agregasyonuna yol açar. Bu trombosit tıkaçı gevşektir ve hemen fibrin ile stabilize edilmediği sürece lokal kan basıncı ile yerinden ayrılabilir. Trombin oluşumuna neden olan vasküler bir zedelenme, ayrıca birbiri ile etkileşen koagülasyon faktörlerini de aktive eder. Trombin de çözülen bir plazma proteini olan fibrinojeni çözülmemeyen fibrine dönüştürür. Böylece kan akışına ve fibrinolyze nispeten dirençli olan sekonder hemostatik tıkaç oluşur (65).

Bundan sonraki koagülasyon yolu 3 ana basamakta meydana gelmektedir (Şekil 2.1.).

1. Kandaki bir seri pıhtılaşma faktörünün rol aldığı kimyasal reaksiyonlar sonucu "protrombin aktivatörü"nü (PA) oluşması.
2. Protrombin aktivatörünün protrombini trombine çevirmesi.
3. Trombinin fibrinojeni fibrin iplikciklerine dönüştürmesi.



Şekil 2.1. Protrombinin Trombine Çevrilmesi Ve Fibrinojenin Polimerizasyonu.

2.8.1. Protrombin Aktivatörünün Oluşması

Kanın hasarlanmış endotel hücreleriyle veya kan damarı endoteli dışındaki kollajenle teması sonucunda pıhtılaşma faktörleri seri bir şekilde aktive olurlar ve PA oluşumuna yol açarlar. PA, birbirleriyle sürekli etkileşim içinde olan iki yolla oluşturulur.

a) Damar duvarı ve çevresindeki dokuların travmaya uğramasıyla başlayan “ekstresek yol”

b) Kanın kendi içinde başlayan “Entresek yol”

Hem ekstresek hem de Entresek yolda bir seri plazma proteini ve özellikle beta globulinler önemli rol oynar. Pıhtılaşmada görevli bu faktörler çoğunlukla proteolitik enzimlerin inaktif formlarıdır. Aktif formlarına dönüştürüldüklerinde enzimatik etkileriyle pıhtılaşma kaskadının oluşumunu sağlarlar (65).

Ekstresek yol

Önce travmatize olmuş dokudan “doku faktörü” (doku tromboplastini) kompleksi salınır. Bu kompleks başlıca doku membranlarından gelen fosfolipidler ile önemli bir proteolitik enzim içeren bir lipoprotein kompleksinden oluşur. Daha sonra plazmada bulunan F VII a ile “doku faktörü” kompleks yaparak, F X’u aktif formu olan F X a’ya çevirir. Pıhtılaşma süreci olmayan kanda az miktarda da olsa (0,5–8,4 ng/ml) F VIIa bulunmaktadır ve bunun mekanizması bilinmemektedir. F Xa, daha fazla F VII’nin F VIIa’ya dönüşümünü sağlayarak ekstresek yolun aktivasyonunu hızlandırır. F Xa, gerek doku faktörünün parçası olan gerekse trombositlerden salınan fosfolipidlerle birlikte, kalsiyum varlığında F V’e bağlanarak “protrombin aktivatörü” özelliğini kazanır. Başlangıçta bu kompleks içindeki F V inaktiftir, fakat pıhtılaşma işlemi ve trombin oluşuktan sonra trombinin proteolitik etkisiyle F V aktive olur. Bu işlem bir kez başladıktan sonra trombin, F V üzerinden devamlı pozitif feed-back ile tüm olayı hızlandırır (65,66).

Entresek yol

Kanın damar duvarındaki kollajen veya cam gibi negatif yüzeylerin üzerindeki kallikrein ile teması iki önemli pıhtılaşma faktörünün değişimine yol açar. F XII ve trombositler. Trombositlerden daha sonraki pıhtılaşma mekanizmalarında rol oynayacak “trombosit faktör 3” (PF3) salınır. F XII ise aktif formu olan F XIIa’ya

dönüşür. Yüksek moleküler ağırlıklı kininojen (HMWK) bu aktivasyonu kolaylaştıran bir faktördür. F XIIa, F XI'in F XIa'ya dönüşümünü katalizler. F XIa, F IX'un F IXa'ya dönüşümünü sağlar. F IXa ise, F VIII, trombosit fosfolipidleri ve PF3 ile birlikte kalsiyum varlığında F X'u F Xa'ya dönüştürür. F Xa da, aynen ekstresek yolun son aşamasındaki gibi trombosit ve doku fosfolipidleriyle birleşerek F-V' e kalsiyum varlığında bağlanır ve "protrombin aktivatörü" nü oluşturur (65-66). Yukarıda da anlatıldığı gibi, damar hasarından sonra pıhtılaşma ekstresek ve Entresek yolların aynı anda aktivasyonu ile başlatılır. Doku faktörü ekstresek yolu başlatırken, F XII ve trombositlerin damar duvarındaki kollajenle teması Entresek yolu aktive eder. Ekstresek ve Entresek yollar arasındaki en önemli farklardan biri ekstresek yolun "patlayıcı" doğasıdır; bir kez başlatıldıktan sonra gelişme hızı yalnızca travmatize dokulardan salınan doku faktörü ile kanda bulunan F X, F VII ve F V miktarları ile sınırlandırılabilir (65).

Son yıllarda doku faktörü yolu inhibitörünün (TFPI), pıhtılaşma reaksiyonlarındaki öneminin anlaşılmasını takiben pıhtılaşma sistemine ait hipotezde önemli değişiklikler yapılmıştır. Düzeltilebilir pıhtılaşma hipotezi klasik kaskad hipotezinin açıklayamadığı sorulara da yanıt vermesi açısından dikkate değerdir (67).

2.8.2. Protrombinin Trombine Çevrilmesi

Damar hasarı sonucunda ekstresek veya Entresek yolla oluşan "protrombin aktivatörü" ortamda yeterli kalsiyum varlığında, protrombinin trombine dönüşümünü sağlar. Bunu takiben trombin 10–15 saniye içinde fibrinojen moleküllerinin fibrin iplikçiklerine polimerizasyonuna sebep olur. Buna göre kan pıhtılaşmasında hız sınırlayıcı faktör genellikle protrombin aktivatörünün oluşumudur, çünkü bu noktadan sonraki reaksiyonlar pıhtı oluşturmak için hızlı bir şekilde gelişir.

Trombositler de protrombinin trombine dönüşümünde önemli rol oynarlar. Çünkü protrombinin çoğu, hasarlanan dokuya daha önceden bağlanmış olan trombositler üzerindeki protrombin reseptörleri ile birleşir. Bu bağlanma pıhtılaşmanın gerekli olduğu dokuda protrombinden trombinin oluşumunu hızlandırır (65).

2.8.3. Fibrinojenin Fibrine Dönüşümü

Trombin proteolitik etkisi olan protein yapısında bir enzimdir. Fibrinojen üzerine etkiyle her bir fibrinojen molekülünden dört düşük molekül ağırlıklı peptidi ayırır ve diğer fibrin molekülleriyle kendiliğinden polimerize olma yeteneği taşıyan bir molekül olan fibrin monomerini oluşturur. Böylece fibrin monomer molekülleri saniyeler içinde uzun fibrin iplikçiklerine polimerize olurlar. Bu polimerizasyonun ilk aşamasında fibrin monomer molekülleri zayıf nonkovalan hidrojen bağlarıyla bir arada tutulur ve yeni oluşan iplikçiklerde diğerleriyle çapraz bağlar yapmaz. Bu yüzden oluşan pıhtı zayıftır ve kolayca çözülebilir. Sonraki birkaç dakika içinde fibrin ağını oldukça güçlendirecek diğer bir işlem gelişir. “Fibrin stabilize edici faktör” (F XIII) adı verilen, normalde plazma globulinlerinde az miktarda bulunan ama pıhtı içinde tutulan trombositlerden salgılanan bir madde bu işlemi sağlar. Bu faktörün fibrin iplikçikleri üzerine etki etmesi için öncelikle kendisinin aktive edilmesi gerekir. Fibrin oluşumuna sebep olan trombin aynı zamanda fibrin stabilize edici faktörü de aktive eder. Bu aktif madde daha sonra, fibrin monomer molekülleri arasında kovalan bağlar ile komşu fibrin iplikçikleri arasında çok sayıda çapraz bağlar kurulmasını sağlayan bir enzim görevi yapar. Böylece fibrin ağının üç boyutlu yapısı kuvvetlendirilir (65).

2.9. Fibrinoliz

Hemostaz sağlandıktan sonra fibrinoliz yani fibrinin plazmin tarafından yıkılması gerekir. Plazmin plazminojen aktivatörleri tarafından plazminojenden oluşturulmaktadır. Bir pıhtı oluşturulduğunda çok miktarda plazminojen de diğer plazma proteinleri ile birlikte pıhtının içinde tutulur, fakat aktive olana kadar plazmine dönüşmez. Yaralanan dokular ve damar endoteli çok yavaş olarak tPA (doku plazminojen aktivatörü) adı verilen güçlü bir aktivatör salgırlar ve bu madde pıhtı kanamayı durdurduktan bir gün ya da daha sonra, plazminojeni plazmine çevirir ve pıhtıyı ortadan kaldırır.

Plazmin fibrin iplikçiklerinin yanısıra fibrinojen, F V, F VIII, protrombin, F XII gibi maddeleri de sindiren bir proteolitik enzim görevi yapar. Az miktarlarda plazmin kanda sürekli olarak yapılır ve pıhtılaşma sisteminin aktivasyonunu ciddi olarak engelleyebilir. Fakat kanda bulunan diğer bir faktör alfa 2 antiplazmin

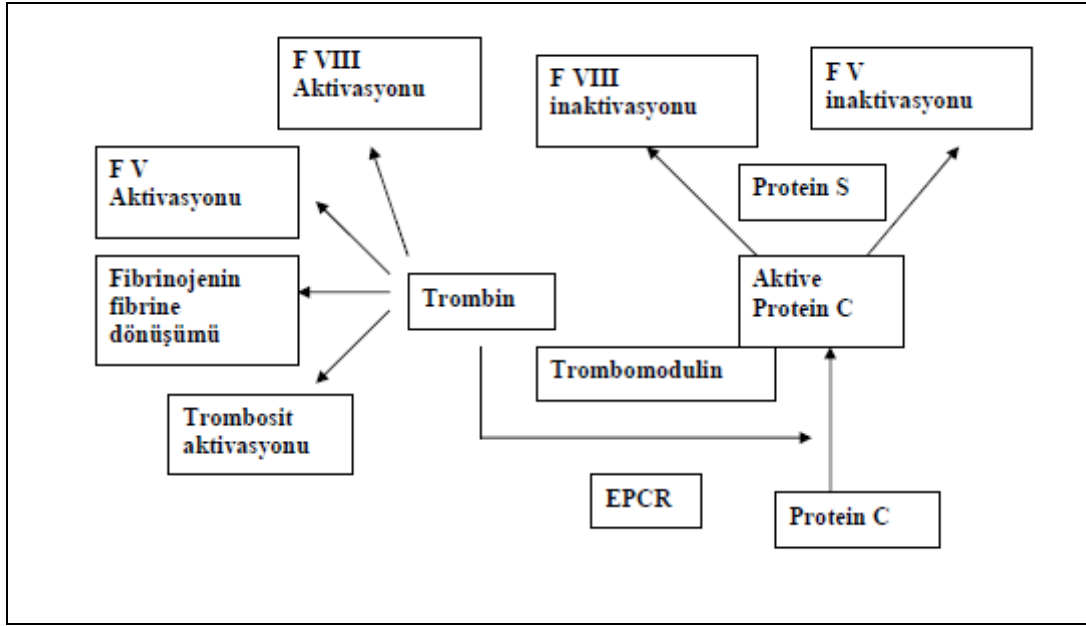
plazmini bağlayarak inhibe eder. Bu nedenle plazminin etkili olabilmesi için plazmin oluşum hızının kritik bir düzeyi aşması gerekmektedir (65).

2.10. Koagulasyon İnhibisyonu

Normal damar sisteminde pıhtılaşmayı önleyen en önemli faktörler şunlardır:

- a. Endotelin düzgünlüğü (Entrensek yol aktivasyonunu engeller)
- b. Glikokaliks tabakası(pıhtılaşma faktörlerini ve trombositlerin endotele yapışmasını engeller).
- c. Trombomodulin (hem trombini bağlayarak onu ortamdaki uzaklaştırır hem de protein-c yolunu aktivasyonunu sağlar) (Şekil 2.2.).
- d. Fibrin iplikçikleri (trombinin çoğunu içine hapsederek ortamdaki uzaklaştırır).
- e. Antitrombin III (trombini bağlayarak fibrinojen üzerine etki etmesini engeller).
- f. Heparin (Antitrombin III ile birleştiğinde antitrombin III'ün trombini uzaklaştırma yeteneğini 10 kat artırır. Ayrıca heparin-antitrombin III kompleksi F XIIa, XIa ve Xa'yı ortamdaki uzaklaştırır).
- g. Alfa 2 makroglobulin (pek çok pıhtılaşma faktörünü bağlayarak proteolitik etkilerini önler) (65).

Tüm bu antikoagülan mekanizmaların herhangi birinde görülecek aksaklık potansiyel olarak trombofiliye dolayısıyla plasental yetmezliğe ve fetal kayba yol açabilir (47-49,68-71).



Şekil 2.2. Trombinin Koagulan / Antikoagulan Fonksiyonu Ve APC Yolu.

2.11. Gebelikte Hematolojik Değişiklikler

Hemostatik sistem özellikle gebeliğin üç aşamasında önemli rol oynar; ovulasyon, implantasyon ve plasentasyon. Tromboz gelişimine eğilim oluşturan trombofilik bozuklukların sadece rekürren düşüklerin değil, aynı zamanda geç gebelik komplikasyonlarının da etiolojisinde potansiyel rol oynayabileceğine dair son zamanlarda ilgi odaklanmıştır (72).

Gebelikte plazma volümü artışı en fazla 1. ve 2. trimesterde olmak üzere 24. haftada en yüksek düzeye ulaşır (73). Gebelikte artan plazma volümüne ek olarak hemostatik sistemde de önemli değişiklikler olmakta ve hemostatik mekanizmalar trombus oluşmasına yatkın olan yeni bir dengeye kavuşmaktadır. Bu fizyolojik değişiklikler fetoplasental dolaşımın sürdürülebilmesi açısından zorunlu olmakla beraber, kadınlara gebelik ve puerperium sırasında tromboz açısından, gebe olmayan kadınlara göre daha riskli bir hale getirmektedir.

Normal gebelikteki trombosit sayısı değişiklik göstermektedir (74,75). Normal gebeliklerin yaklaşık %6-10'unda özellikle 3. trimester sonuna doğru herhangi bir obstetrik komplikasyona yol açmayan hafif bir trombositopeni görülmektedir (74).

Gebeliğin koagülasyon faktörleri üzerindeki etkisi gebeliğin 3. ayından itibaren belirgin hale gelmektedir. Fibrinojen, Faktör VII, VIII, IX, X, XII, yüksek molekül ağırlıklı kininojen ve prekallikrein gebelik sırasında artış gösterir (75,76). Bu artış özellikle fibrinojen, Faktör VII, VIII, X açısından çok belirgindir. Faktör VIII koagulan aktivitesi ve von-Willebrand faktörü de gebelik boyunca progresif olarak artar. Gebeliğin 20. haftasında fibrinojen düzeyleri normalin iki katına ulaşır ve gebeliğin sonuna kadar da bu şekilde seyrederek. Gebelikteki plazma artışında göz önünde bulundurulursa fibrinojendeki artış en belirgin olanıdır. Aynı şekilde Faktör VII 2. trimesterde % 200'lere varan bir artış gösterir ve gebeliğin sonuna kadar bu yüksek seviyelerini korur. Faktör VIII gebeliğin son trimesterinde en yüksek değerlerine ulaşırken, Faktör X gebeliğin son trimesterinde %200'lük bir artış gösterir. Faktör XII ise gebeliğin ikinci yarısında daha az düzeyde bir artış gösterir. Gebelik sırasında Faktör XI ve XIII düzeyi ise %70'lere varan bir azalma göstermektedir. Faktör II ve V'in düzeyleri ile ilgili çelişkili raporlar olmakla birlikte esasen önemli bir değişiklik göstermedikleri söylenebilir (77). Mc Coll ve arkadaşlarının yaptıkları 239 kadının gebelikleri sırasında izlendiği prospektif bir çalışmada gebelerin %38'inde kazanılmış APC rezistansı geliştiği, bu durumdan Faktör V ve VIII düzeylerindeki artış ve serbest Protein-s düzeylerindeki azalmanın sorumlu olduğu belirtilmiştir (76). Koagülasyon proteinlerinde gebelikte görülen bu artıştan çeşitli hormonların, özellikle östrojenin sorumlu olduğu düşünülmektedir (75,76,78).

Gebelik sırasında hafif artış gösteren fibrin yıkım ürünleri (FDP) ise fibrin oluşumundaki artışı yansıtmaktadır. Gebelikte arttığı düşünülen fibrinopeptit A düzeyleri de (trombin etkisiyle fibrinojenin fibrine dönüşmesi sırasında açığa çıkar) yine fibrin oluşumunun arttığını göstermektedir.

Doğal antikoagulanlar koagülasyon reaksiyonlarını çeşitli aşamalarında kontrol altına alan plazma proteinleridir. Bunlardan bir kısmı serin proteazları inhibe etmekle görevlidir. Serpinler adı verilen bu plazma proteinlerinden başlıcaları heparin/antitrombin III sistemi, Protein-c, Protein-s sistemi ve doku faktörü yolu inhibitörü (TFPI) sistemleridir.

Vasküler sistemde sürekli olarak düşük miktarlarda Faktör X ve Faktör V aktive olmakta ve bu aktive olmuş koagülasyon faktörleri trombosit reseptörlerine

bağlanarak protrombinaz kompleksi ve trombin oluşumuna yol açmaktadır. Doğal antikoagülanlardan antitrombin III (AT III), trombin başta olmak üzere aktive olmuş Faktör X, IX, XII'yi inaktive eder. Gebelikte AT III'ün seviyesinde önemli bir değişiklik olmasa da doğum sırasında ve doğumu izleyen bir hafta içerisinde düzeylerinde azalma gözlenir (74). Ancak gebelik sırasında artan plazma volümü göz önüne alınırsa gebelikte AT III düzeyinin sabit kalabilmesi, ancak sentezinin artmış olması ile mümkün olacaktır.

Prokoagülan proteinlerden Faktör V ve Faktör VIII bir doğal antikoagülan olan Protein-c tarafından proteolizle parçalanarak inaktive edilir. Protein-s ise Protein-c'nin bu proteoliz ile inaktivasyon reaksiyonlarındaki kofaktörüdür. Protein-c gebelikte sabit kalır ya da hafif artışlar gösterirken Protein-s önemli ölçüde azalır (79).

Prokoagülan ve antikoagülanların gebelik sırasında gösterdikleri bu değişiklikler prokoagülanların lehine, yani trombus oluşmasına yatkın yeni bir denge sağlayacaktır.

Postpartum dönemde gebelik sırasında oluşan hemostatik parametre değişiklikleri hızla normale döner. Bunlar içerisinde en hızlı değişen fibrinolitik aktivitedir. Plasentanın ayrılması ile birlikte plazminojen aktivatör inhibitörü (PAI) seviyesi düşer ve fibrinolitik aktivite hızla artar. Postpartum dönemdeki fibrinolitik aktivite artışından PAI seviyelerinin hızla düşmesinin yanı sıra tPA artışında sorumludur (78-80). tPA düzeylerindeki bu ani fakat kısa süreli artışın plasentanın ayrılması sırasında endotelden açığa çıkan tPA'ya bağlı olduğu düşünülmektedir.

Sonuç olarak sağlıklı bir gebelikte çeşitli koagülasyon proteinlerinin artması, bazı antikoagülan proteinlerin ve fibrinolizin azalması ile geçici bir hiperkoagülabilite dönemi gelişmektedir.

2.12. Trombofili

Trombofili, arteriyel ve venöz dolaşımda tromboz oluşumuna yatkınlığın artması olarak tanımlanabilir. Trombofili kalıtsal veya edinilmiş olabilir (Tablo 2.2.). İlk kez 1965'te AT III eksikliği, 1981–1984 yılları arasında ise protein-c ve protein-s eksiklikleri herediter trombofilide etken olarak bildirilmiştir (81,82). Bu 3 eksiklik herediter trombofilinin %5-15'ini oluşturmaktadır (83). 1993 yılında Dahlback ve arkadaşları herediter trombofilisi olan bazı hastalardan alınan plazma örneklerinin

APC'nin antikoagulan etkisine karşı dirençli olduğunu görmüşlerdir. Aktive Protein-c rezistansı olarak adlandırılan bu bozukluğun kalıtsal trombozun en sık nedeni olduğu gösterilmiştir (72,84-87).

1994 yılında APC'ye rezistansın Faktör V genindeki bir nokta mutasyona bağlı olduğu anlaşılmıştır ve mutant gene Faktör V Leiden adı verilmiştir. APC'ye rezistans, herediter trombofilinin en sık nedeni olup olguların % 20-50'sini kapsamaktadır (72,84,88-91).

1996 yılının sonlarında protrombin geninin 20210 nükleotidini ilgilendiren yeni bir genetik anomali daha tanımlanmıştır. Protrombin G20210A mutasyonu plazma protrombin düzeyinin artışı ile birlikte görülmekte, venöz tromboz ve tekrarlayan gebelik kaybı için bir risk faktörü olarak kabul edilmektedir (47,91-95).

Tablo 2.2. Hiperkoagülabiliteye Neden Olan Durumlar (97).

1. Herediter Hiperkoagülabilité Durumları
a. APCR (Faktör V Leiden mutasyonu)
b. AT III eksikliği
c. Protein S eksikliği
d. Protrombin gen mutasyonu (G20210A)
e. Disfibrinojenemi
2. Akkiz Hiperkoagülabilité Durumları
a. Fizyolojik veya trombojenik durumlar (gebelik, immobilizasyon, postoperatif periyod, ileri yaş, östrojen kullanımı)
b. Antifosfolipid sendromu/ Lupus antikoagülanı
c. Diğer (malignensi, nefrotik sendrom, trombotik trombositopenik purpura, myeloproliferatif hastalıklar, paroksizmal noktürnal hemoglobinüri, hiperlipidemi, diabet v.s.

2.12.1. Antitrombin III eksikliği

AT III serin proteaz inhibitör (serpin) ailesinin bir üyesi olup karaciğerde sentezlenir ve plazmada 150 mikrogram/ml bulunur. AT III'ün inhibitör aktivitesi endojen heparan sülfat ve yapıcı ona benzeyen heparin tarafından artırılır. Antitrombin trombinle birlikte kagulasyon faktörleri Xa, IXa, XIa ve XIIa yı inhibe ederek etki eder. AT III plazmada latent ve aktif olmak üzere iki durumda bulunmaktadır. Sıcaklık ve pH, bu iki fazın birbirlerine karşı dengelerini etkilemektedir ve genetik olarak AT III eksikliği olan kişilerde, diğer nedenlere bağlı hastalıklarda trombotik tabloların ortaya çıkışını kolaylaştırmaktadır (97).

AT III eksikliği ilk bulunan hereditör trombofili nedenidir ve toplumdaki prevalansı 1/2000–1/5000 arasında değişmektedir. Kalıtsal AT III eksikliği otozomal dominant geçişlidir ve etkilenen bireylerin çoğu heterozigottur. Kalıtsal trombofilik durumların en trombojenik olanıdır. Yaşam boyu en az % 50 tromboz riski vardır (82-83,98).

AT III geni kromozom 1q23-25'te olup, 13,4 kb uzunluğunda, 7 ekzon ve 6 introndan oluşmaktadır (97).

Genel olarak AT III'deki mutasyonlar iki tip defekte yol açmaktadır. Tip 1 defekt daha sık görülüp hem antijen düzeyleri hem de plazma aktivitesinde paralel bir düşme ile seyretmektedir. Bu tip defekte sebep olan pek çok delesyon, çerçeve kayması mutasyonu ve anlamsız (nonsense) mutasyon bulunmaktadır. Tip 2 defektte antijen seviyeleri normal veya normale yakın olup, fonksiyonel bölgelerdeki mutasyonlar nedeniyle plazma aktivitesinde azalma söz konusudur.

Tip 2 defekt de kendi içinde reaktif yüzey defektleri, heparine bağlanma bölgesi defektleri ve her ikisini içeren pleiotropik defektler olmak üzere 3 gruba ayrılır. Bunlardan heparine bağlanma bölgesi defektleri venöz tromboz için daha az risk taşıırken, en fazla riski reaktif yüzey defektleri taşır. AT III eksikliği fetal kayıpla ilişkilendirilmiştir. Antitrombin III antijeni immünolojik yöntemlerle ölçülerek tip 1 AT III eksikliğinin tanısı konulabilir. Fakat tip 2 AT III eksikliğinin tanısı sadece fonksiyonel laboratuvar ölçüm yöntemleriyle konabilmektedir. Antitrombin-heparin kofaktör ölçüm yöntemi AT III'ün bütün ailesel eksiklik formlarının tanımlanmasında en iyi testtir (83,97-100).

2.12.2. Protein-C Eksikliği

Protein-c geni kromozom 2q14-21'de bulunmakta olup, 11 kb uzunluğunda, 9 ekzon ve 8 introndan oluşmaktadır (97).

1976'da Stenflo tarafından K-vitamini bağımlı bir sığır plazma proteini olan "sığır protein-c" bulunmuştur. Daha sonra insanda protein-c'nin karaciğerde sentezlendiği ve trombin tarafından antikoagülan aktiviteye sahip bir serin proteaz haline dönüştürüldüğü gösterilmiştir. Trombinin endotelial bir reseptör olan trombomoduline bağlanması, protein-c aktivasyon hızını yaklaşık 20000 kat artırır . Protein-c koagülasyon faktörleri Va ve VIII'yi inhibe eder. (97).

Herediter protein-c eksikliğine bağlı tromboz eğilimi ilk kez 1981'de Griffin ve arkadaşları tarafından bulunmuştur. Toplumdaki insidansı ise 1000'de 1-5'tir. Protein-c eksikliğine bağlı olarak ortaya çıkan tromboemboli tanısı konan hastaların yaklaşık %2-5'ini oluşturmaktadır. Protein-c eksikliğinin genetik geçişi otozomal dominanttır (98).

Protein-c eksikliğine yol açan 100'den fazla mutasyon vardır. Çoğu mutasyon hem plazma aktivitesi hem de antijen seviyelerinde azalmayla karakterize tip 1 protein-c eksikliğine yol açar. Bu mutasyonlar protein katlanmasında destabilizasyona yol açarlar. Bu da salgılanan protein-c'nin miktarının azalmasına veya çok kısa yarı ömürlü olmasına neden olur. Tip 1 defekti olan hastaların çoğu heterozigottur ve protein-c seviyeleri %50 civarındadır. Heterozigotların çoğu asemptomatiktir. Homozigotlarda ise protein-c düzeyleri neredeyse saptanamayacak seviyededir ve ağır trombotik hastalık mevcuttur. Tip 2 defekte yol açan mutasyonlar ise düşük aktivite fakat normal antijen seviyeleri ile seyreden disfonksiyonel protein-c oluşumuna neden olur. Protein-c eksikliği tanısında her iki klinik tipi de kapsamaları için ilk önce fonksiyonel testler yapılmalıdır. İkinci basamakta ise immünolojik testlerde plazmaya anti protein-c eklenip kantitatif olarak protein-c'yi ölçme esasına dayanır (83,97-99).

2.12.3. Protein-S Eksikliği

Protein-s, K-vitamini bağımlı bir glikoproteindir. Başlıca hepatosit, nöroblastoma, böbrek hücreleri, testis, megakaryositler ve endotelial hücrelerde sentezlenir. Ayrıca trombosit alfa granüllerinde de bulunmaktadır ve interlökin-4 etkisiyle T hücrelerinden de salgılanmaktadır. Aktive olmuş protein-c'nin temel kofaktörü protein-s'tir. Herediter protein-s eksikliğine bağlı tromboz eğilimi ilk olarak 1984'de tanımlanmıştır. Kalıtımı otozomal dominanttır (83,97-99).

Protein-s geni kromozom 3p11.1-11,2'de bulunmakta olup, 80 kb uzunluğunda, 15 ekzon ve 14 introndan oluşmaktadır (101).

Protein-s eksikliği yapan pek çok mutasyon vardır. Hastalığın en sık şekli olan Tip 1 protein-s eksikliğinde total protein-s antijeni, serbest protein-s antijeni ve protein-s aktivitesi birlikte azalmıştır. Tip 2a'da serbest protein-s düzeyi düşük, total protein-s düzeyi normaldir. Tip 2b'de ise yalnızca protein-s aktivitesi düşüktür. Nadir varyant tip protein-s eksikliklerinde çeşitli moleküler bozukluklar vardır.

Örneğin beyazların %1'inden azında bulunan bir polimorfizm, 460. pozisyondaki serinin prolin ile yer değiştirmesi sonucunda “protein-s Heerlen” adı verilen ve N-linked karbonhidratı olmayan bir molekül oluşumuna yol açar. Bu karbonhidratın olmayışının veya 460. pozisyonda prolin varlığının protein-s fonksiyonları üzerine etkisi tam olarak bilinmemektedir. Gebelikte birçok koagülasyon faktörlerinin seviyeleri değişse de, fonksiyonel ve antijenik protein-c seviyelerinde değişme olmaz. İlk ve ikinci trimesterde total protein-s seviyesi değişmezken, serbest protein-s anlamlı olarak düşmektedir. Protein-s'nin laboratuvar tanı yöntemleri oldukça zordur ve standardizasyonu bulunmamaktadır. Her üç tipinde de fonksiyonel bozukluk olduğundan taramada fonksiyonel testlerin kullanılması önerilmekle birlikte mevcut fonksiyonel testlerin özgüllüğünün düşük olması ve APC direnci olan hastalarda yanlış sonuçların saptanmasından dolayı fonksiyonel testlerin kullanılmasını kısıtlamaktadır (83,97-99).

2.12.4. Aktive Protein-C Rezistansı ve Faktör V Mutasyonu

Aktive protein-c rezistansı bir plazma örneğinin APC'ye azalmış antikoagülasyon cevap göstermesiyle tanımlanır ve protein-c yolundaki pek çok anomaliye bağlı olabilir. Bu anomaliler defektif APC kofaktörleri, defektif APC substratları veya normal bir protein-c yoluna karşı oluşmuş antikor veya diğer ajanlardan kaynaklanabilir. APC'ye karşı dirençle ilgili kalıtımın otozomal dominant olduğu belirtilmiştir (97).

Tanımlanabilir bir defekti olmayan APCR'li familial venöz tromboz hastaların olması, bu konuda yoğun çalışmaların yapılmasına neden olmuştur. Sonuçta F V'in APC'ye karşı dirençte rolü olduğu gösterilmiştir (102). Bertina ve arkadaşları F V geninin 1691. nükleotidinin kodladığı 506. aminoasit olan arjininin glutamine (R506Q) dönüşmesine neden olan bir guanin adenin yer değişimini saptamışlardır (103). Bu varyant “Faktör V Leiden” (FVL) olarak adlandırılmıştır. Bu mutasyon APCR'nin en sık nedeni olsa da tek nedeni değildir. APCR'li hastaların %90'ında FVL mutasyonu saptanmıştır (104).

Faktör V, plazma yarıömrü 12 saat (bazılarına göre 36 saat) olan büyük bir glikoproteindir. F V geni ise, kromozom 1q21-q25'te olup, 70 kb uzunluğunda ve 25 ekzon içermektedir. Bu gen lökosit adhezyon moleküllerinden selektin genlerine oldukça yakındır. İçerdiği 3 adet A domaini belirgin olarak seruloplazmine (Cu

pozisyonundan da kesilmesi gerekir. Bu reaksiyon protein-s tarafından 20 kat hızlandırılır, ayrıca HDL'de bu reaksiyonu arttırıcı etkiye sahiptir. F V'in tam inaktivasyonu gerçekleşince A2 alanı da parçalanır (97).

FV trombin tarafından Arg 709, Arg1018 ve Arg1545'ten kesilerek aktive edilir. APC ise Arg506, Arg306 ve Arg679' dan F V'i keserek inaktive eder. 506. pozisyonundaki mutasyona bağlı olarak F V Leiden, normal F Va'dan 10 kat daha yavaş inaktive edilmekte ve dolaşımında daha uzun süre kalarak hiperkoagülasyona yol açmaktadır. Fakat bu mutant F V, APC'ye karşı ancak parsiyel bir rezistans gösterebilir. Çünkü daha önce de belirtildiği gibi F Va'nın tamamının aktivasyonunu kaybetmesi için 306. pozisyonundan da kesilmesi gerekmektedir. Bu bulgu F V Leiden'in neden venöz trombozda hafif bir risk faktörü olduğunu ve semptomatik hastaların büyük bölümünde neden genetik ve/veya edinilmiş risk faktörlerinin de olaya eşlik ettiğini açıklar. Bu hafif risk artışını açıklayan diğer bir faktör de F V'in in-vivo ortamda APC haricindeki proteazlarca 506. pozisyon dışındaki bölgelerden inaktive edilmesidir (97).

F V molekülünün 306. pozisyonundaki kesim bölgesiyle ilgili olarak bugüne kadar 2 mutasyon bildirilmiştir. Bunlardan sadece biri APCR ile ilgilidir. 306. pozisyonundaki adeninin sitozine değişmesi, arjininin yerine treoninin geçmesine neden olur (Faktör V Cambridge). Bu mutasyon çok nadir bir F V varyantıdır ve bugüne kadar F V Leiden haricinde APCR' ye neden olan tek mutasyondur. Aynı kodonda 306. pozisyonda arjinin glisin değişimine neden olan diğer mutasyonun ise APCR ile ilgili olmadığı gösterilmiştir (106).

FV Leiden mutasyonunun sıklığı toplumlar ve ırklar arası farklılık göstermektedir. Avrupa popülasyonunda %4-5 oranında mutasyon saptanmaktadır. Yapılan çalışmalar sonucunda en yüksek insidans Kıbrıs Rum toplumunda (%13,3) ve İsveç'te (%14,7), en düşük insidans ise Hollanda (%2,9) ve İtalya'da (%2,5) saptanmıştır (82). Ülkemiz ise mutasyonun en sık görüldüğü yerler arasındadır ve insidans %9,1 civarındadır (107). Buna karşın Afrika popülasyonunda mutasyon tespit edilmemiştir ve Asya ülkeleri veya Asya kökenli oldukları düşünülen etnik grupların birçoğunda da mutasyon saptanamamıştır. Ortadoğu popülasyonunda ise Avrupa popülasyonuna yakın oranlar tespit edilmiştir. Tüm bunlar mutasyonun tek orijinli olduğunu düşündürmektedir. Taramalarda APC direnç testi kullanılır. Faktör

V Leiden mutasyonunun araştırılması uygun primerlerin kullanılması ile polimeraz zincir reaksiyonu yönteminde ilgili segmentin amplifiye edilmesi esasına dayanır (82,106,108).

2.12.5. Hiperprotrombinemi

Protrombin (Faktör II), 72 kDa büyüklüğünde vitamin K varlığında karaciğerde sentezlenen tek zincirli bir glikoproteindir, yarılanma ömrü 1.25–3,5 gündür. Protrombin FXa/Va kompleksi tarafından 271. ve 320. pozisyonlardan kesilir. Böylece katalitik domain olan trombin ve plazma protrombin aktivasyonunun bir belirteci olan protrombin fragman 1,2 oluşur. Trombin daha önce bahsedildiği gibi fibrinojenin fibrine dönüşümünü katalizler, FV, VIII, XI, XIII ve trombositleri aktive eder. Ayrıca trombomoduline bağlanarak protein-c'yi aktive eder (101).

Protrombin geni 11. kromozomun uzun kolunda lokalizedir, genin translasyona uğramayan 3' bölgesine rastlayan 20210. nükleotid pozisyonunda normalde 32 guanin nükleotidi bulunmaktadır. Bu nükleotidin adenine dönüşmesi G20210A mutasyonu olarak tanımlanmaktadır ve bu mutasyonu taşıyan kişilerde protrombin düzeyi yüksek bulunmaktadır (109). Mutasyon ile protrombin düzeyi arasındaki ilişki, mutasyonun gen üzerindeki yerleşimi ile açıklanmaya çalışılmaktadır (110). Bu mutasyona sağlıklı bireylerde %2, tromboemboli öyküsü olanlarda %6 ve seçilmiş aile öyküsü olanlarda %18 oranında rastlanmıştır. Bu mutasyon açısından taşıyıcı olanlarda da protrombin düzeyi artmıştır ve tromboz riski 2.8 kat daha fazladır (92,95).

Mutasyon beyaz populasyonda %1–5 oranında bulunmaktadır. Mutasyon sıklığı Kuzey Avrupa'dan güneye inildikçe artar. Kuzey Avrupa'da %1,7 olan insidans güney Avrupa ve Akdenizde %3-5'tir (85).

2.12.6. Hiperhomosisteinemi

Trombofilik etkeni olan bir diğer mutasyon ise metiltetrahidrofolat redüktaz enzimini kodlayan gende 677. nükleotid olan timidin yerine sitozin gelmesi ile ortaya çıkar (C677T). Bu mutasyon sonucunda oluşan termolabil MTHFR enzimi hiperhomosisteinemiye, dolayısı ile artmış arteriyel ve venöz tromboz riskine yol açmaktadır (111). Bu mutasyon düşük folat seviyeleri ile birlikte ise artmış derin ven trombozu riskinin belirgin olduğu öne sürülmektedir. Otozomal resesif geçişlidir ve

nadir görülür. Yapılan çalışmalar fetal kaybı olan kadınlarda kontrol grubuna göre homozigot MTHFR prevalansında sınırdan bir yükselme ve fetal kayıpta relatif bir risk artışını göstermiştir (112-113). 17. gebelik haftasından önce gerçekleşen iki ve üzerindeki gebelik kayıpları olan kadınlarda kontrol grubunu oluşturan ve başarılı gebeliği olan kadınlara göre MTHFR düzeylerinin 2–3 kat fazla olduğu görülmüştür. Diyete folat eklenmesinin gebelik kaybı riskimüzerine etkisi belirgin değildir (114-115). Yine başka bir çalışma, tekrarlayan düşüklerde Faktör V Leiden ve Protrombin G20210A mutasyonlarının rolü olduğunu saptarken, MTHFR C677T mutasyonunun ilişkisi olmadığını belirtmektedir (116).

2.13. Apolipoprotein-E

Apolipoprotein-E (Apo-E), plasma lipoproteinlerinin bir parçasıdır ve lipidlerin hücreler arasında yeniden dağıtılmasında görev alır ve lipoproteinlerin spesifik reseptörleri ile bağlanmasını sağlar. Apolipoprotein-E geni 19. kromozom üzerinde yer almaktadır ve apoprotein-CI (apo-CI) ve bir apo-CI psödogenine bağlıdır. LDL reseptör geni ve Apo-CII geni de bu kromozomda yer almaktadır. İnsanda üç major izoform şeklinde bulunur (Apo-E1, Apo-E2, Apo-E3). Üç allel gen (E2, E3, E4) tarafından kodlanır ve en çok karaciğer ve beyinde eksprese edilir (117). Bununla birlikte böbrekler, gonadlar, adrenaller ve makrofajlarda da sentezlenir. Apolipoprotein-E 299 aminoasitten oluşan 34.000 dalton molekül ağırlıklı bir peptid zincirinden oluşur. Üç yaygın izoform olan Apo-E2, E3 ve E4 arasında 112. veya 158. pozisyonda yer alan tek bir aminoasit kalıntısında farklılık vardır

Çeşitli toplumlarda yapılan çalışmalarda, Apo-E4'ün yüksek plasma total ve düşük yoğunluklu lipoprotein kolesterolü ve koroner arter hastalığı ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Aynı şekilde Apolipoprotein-E2'nin de düşük serum kolesterol düzeyleriyle bağlantısı gösterilmiştir (118). Apo-E4 alleleline sahip bireylerin koroner arter hastalığının daha ciddi tiplerine sahip oldukları ayrıca bu hastaların daha sık infarktüs geçirdikleri gözlenmiştir. Bu çalışmalar Apo-E alleli E4'ün ateros için bir risk faktörü olduğunu ayrıca Apo-E4 allelinin koroner arter hastalığının şiddetini belirlediğini göstermektedir (119-120). Bunun dışında Apo-E4'ün inflamatuvar cevap, trombosit fonksiyonları, apoptozis ve oksidatif stresin yönetiminde rol aldığı

gösterilmiştir. Sonuçta Apo-E geni ile damarsal problemler arasında bir bağlantı ortaya konulmuştur (121).

Bunlar dışında Apolipoprotein-E, lipoprotein reseptör aracılı protein aracılığıyla hücre spesifik proteoliz yoluyla biyoaktif fragmanların hücre içine girmesine ve mitokondrial enerji üretiminin bozularak hücrenin ölmesine neden olur (122).

Plasental damarlarda tromboz gelişimi ve buna bağlı trofoblastik hücrelerin ölümü gebeliğin başarı şansını azaltan bir faktördür. Bu olaylar sitokinler tarafından kontrol edilir. Gebeliğin başarısı pro-inflamatuar ve anti-inflamatuar sitokinler arasındaki dengeye bağlıdır. İnterlökin 10 en potent anti-inflamatuar ajan olarak görünmektedir (123). Apolipoprotein-E'nin bu anti-inflamatuar cevabı düzenlemede rol aldığı gösterilmiştir (124).

İnterlökin-10 implantasyon aşamasında da anti-inflamatuar bir rol oynar. Aynı zamanda damarlar içinde oluşan aterosklerotik plakların da rol aldığı gösterilmiştir. İnterlökin-10'un sağlıklı bir gebelik için belirli miktarlarda gerekli olduğu gösterilmiştir (125). Apolipoprotein-E4 alleli taşıyanlarda plazma interlökin-10 seviyelerinin azalmış olduğu gösterilmiştir (126). Bu çalışmalar göz önüne alındığında tekrarlayan gebelik kayıpları ile Apolipoprotein-E4 arasında bir ilişki beklenmektedir.

Yapılan bir çalışmada preeklampsi tablosu gelişen gebelerde Apo-E'nin yeri olduğu gösterilmiştir (127). Tekrarlayan gebelik kaybı olan hastalar üzerinde yapılan bir çalışmada Apo-E4'ün bu hastalarda daha sık olarak rastlandığı görülmüştür (1). Yine ülkemizden yapılan bir çalışmada tekrarlayan gebelik kaybı ile başvuran hastalarda Apo-E3 ve Apo-E4'ün görülme sıklığının arttığı ortaya konulmuştur (128). Buna rağmen literatürde hala bir fikir birliği yoktur. Yapılan başka çalışmalarda ise tekrarlayan gebelik kaybı ile Apo-E gen polimorfizmi arasında herhangi bir bağ saptanamamıştır (129).

Konu üzerinde yapılmış çalışmalarda henüz bir fikir birliğine varılmamış olmasından dolayı Apolipoprotein-E'nin tekrarlayan gebelik kaybındaki yeri net değildir. Bizde çalışmamızda tekrarlayan gebelik kaybı olan hastalarda Apolipoprotein-E gen polimorfizmini ve bunun yerini araştırdık.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmaya Ocak 2010 – Ocak 2011 tarihleri arasında Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı'na tekrarlayan düşük öyküsü ile başvuran, arka arkaya 2 ve üzerinde düşük yapmış, yaşayan çocuğu bulunmayan tekrarlayan gebelik kaybı tanıları ile izlenen hastalar alındı. Çalışma öncesinde Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Etik Kurul Başkanlığı'na başvurularak 21 Mayıs 2010 tarih ve PR-10-03-19-26 protokol nolu etik kurul izni alınmıştır. Polikliniğimize başvuran yirminci gebelik haftasından önce 2 veya daha fazla spontan düşük yapmış ve sağlıklı yaşayan olmayan hastalar tekrarlayan gebelik kaybı olarak kabul edildi. Kontrol grubu olarak da en az bir miadında doğmuş sağlıklı yaşayan çocuğu bulunan ve öyküsünde gebelik kaybı olmayan kişiler seçildi. Çalışmaya dahil edilen hastaların değerlendirilmesine öykü alınması ile başlandı. Hastaların yaşı, gebelik, parite sayıları, düşük sayıları, tekrarlayan düşüklerin gebelik haftası, jinekolojik öyküsü, geçirilmiş operasyonlar, sistemik hastalık varlığı (Diabetes Mellitus, Hipertansiyon, kronik karaciğer ve böbrek hastalığı, otoimmün hastalıklar, vs), kanama diyatezi veya trombozu şüphelendiren semptomlar ve eşi ile akraba evliliği sorgulandı. Tekrarlayan gebelik kaybı ile başvuran çiftlere kromozom analizi yapıldı. Tüm kadınlar anatomik anormallikleri saptamak için ultrasound veya histerosalpingografi ile değerlendirildi. Tüm kadınlardan immünolojik, endokrinolojik ve trombofilik değerlendirme için kan örneği alındı.

Çalışmaya tekrarlayan gebelik kaybı tanısıyla izlenen, 21 – 39 yaş arası gebe olmayan 37 hasta alındı. Kontrol grubu olarak aynı yaş grubundan abortus öyküsü ve sistemik hastalığı olmayan, tromboz açısından bireysel ve ailesel öyküsü olmayan, herhangi bir obstetrik komplikasyon gelişmeden vaginal yolla veya abdominal yolla (sezaryenle) doğum yapmış sağlıklı 37 kadın çalışmaya dahil edildi.

Çalışmaya dahil edilmeme kriterleri arasında; tekrarlayan gebelik kaybına neden olabilecek uterin anomali varlığı, kronik sistemik hastalık varlığı, trombofili antikorları varlığı, kanıtlanmış endokrinolojik bozukluk varlığı kabul edildi. Kontrol grubu hastalarında obstetrik öyküde abortus ayrıca gebeliği komplike edecek preterm doğum, preeklampsi, gebeliğe ait hipertansiyon veya intrauterin gelişme geriliği gibi

durumlara rastlanmamıştı. Çalışma grubu ile kontrol grubu arasında yaş açısından anlamlı fark yoktu. Çalışmaya dahil edilen hastalar çalışma hakkında bilgilendirildi ve onamları alındı. Hastaların demografik özellikleri, düşük sayıları, tekrarlayan düşüklerin gebelik haftası kaydedildi. Hasta ve kontrol grubundaki tüm kadınlardan Na-sitratlı tüplere venöz kan alındı. Real time PCR yöntemi ile DNA elde edilerek, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı PCR Laboratuvarı'nda çalışıldı.

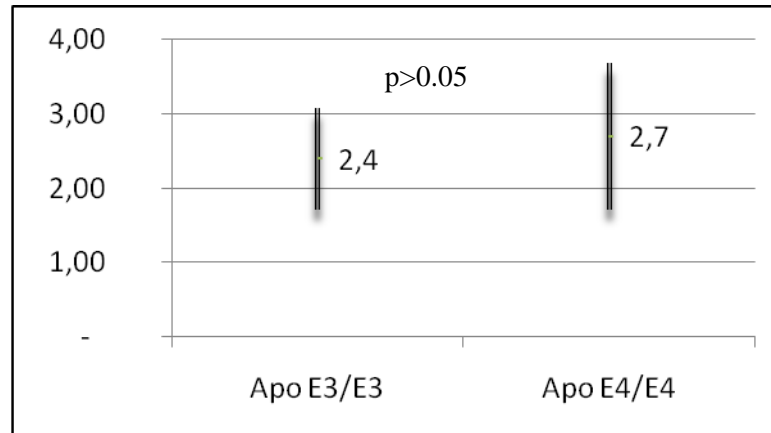
Periferik venöz kandan alınan örnekler -20 °C sıcaklıkta saklandı. DNA eldesi yapıldıktan sonra DNAlar PCR amplifikasyonu ile çoğaltıldı. DNA örnekleri allel spesifik oligonükleotid problarla işaretlendi ve erime eğrisi analizine alındı. Erime eğrisinde yüksek sıcaklıkta pik veren probun dizayn edildiği tipe göre tiplendirme yapıldı.

Prospektif olgu kontrollu olarak şekillendirilen çalışmada hasta ve kontrol grupları arasındaki istatistiksel farklar %95 güven aralığında Fisher's Exact Test (GraphPad InStat, San Diego, CA, USA) ile değerlendirildi. Bu hesaplamalarda SPSS (Statistical Package for the Social Sciences for Windows) 16.0 versiyonu kullanıldı. Analizlerde $p < 0.05$ değeri anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

Çalışmamızda polikliniğimize başvuran tekrarlayan gebelik kaybı şikayeti olan 37 hasta vaka grubunu oluştururken kontrol grubu olarak sağlıklı en az 1 yaşayanı olan ve gebelik kaybı olmayan 37 kişi alındı. Çalışmaya alınan hastaların hiçbirinde kromozomal anomali, müllerian kanal defekti, anormal immünolojik ve endokrinolojik test ve trombofili yoktu ayrıca sigara, alkol kullanımı hikayede saptanmamıştı. Hem hasta grubu hem de kontrol grubundan alınan tüm kişiler reproduktif çağdaydılar ve düzenli menstrüel siklusa sahiptiler.

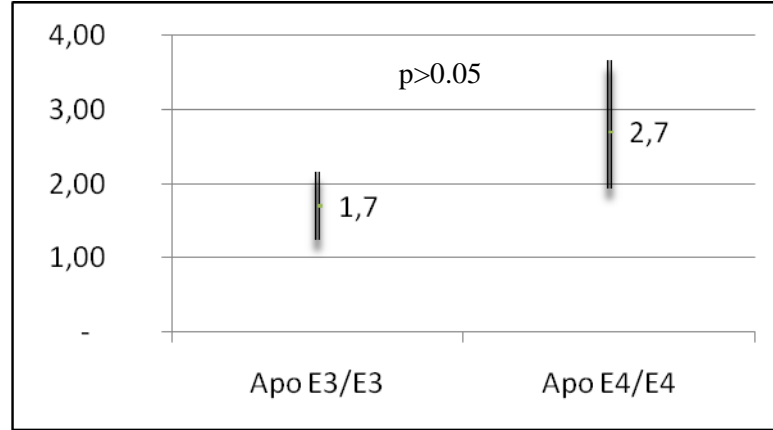
Çalışmaya alınan hasta popülasyonunda gebelik kaybı haftası ortalama 8.3 ± 0.32 (5-18) olarak değerlendirildi. Bu hastaların ortalama abortus sayısı 2.4 ± 0.1 (2-4) olarak değerlendirildi. Tekrarlayan gebelik kaybı olan grupta Apo-E genotipleri gözönüne alındığında Apo-E3/E3 genotip grubunda ortalama abortus sayısı 2.4 ± 0.65 bulunmuşken Apo-E4/E4 genotip grubunda 2.7 ± 0.95 bulunmuştur ve bu istatistik olarak anlamlı bir fark değildir (Şekil 4.1.).



Şekil 4.1. Hasta Grubunda Genotipe Göre Ortalama Abortus Sayıları.

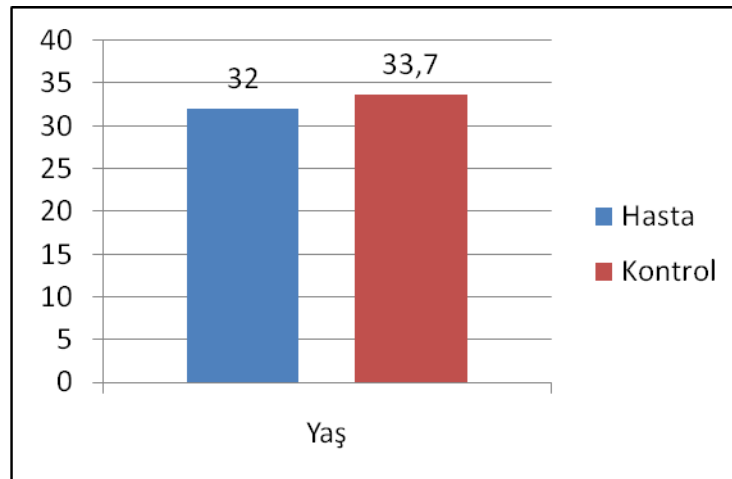
Kontrol grubu hastalarının ortalama gebelik sayıları 2.3 ± 0.1 (1-4) olarak değerlendirildi ve ortalama doğum haftası 39.2 ± 0.1 (37-41) olarak saptandı. Apo-E genotipleri göz önüne alındığında Apo-E4/E4 genotipinde ortalama gebelik sayısı 2.8 ± 0.83 olarak saptanırken Apo-E3/E3 genotip grubunda bu 1.7 ± 0.43 olarak saptandı. Apo-E4/E4 grubunda ortalama canlı doğum sayısı (reproduktif performans)

beklenenin aksine bir sonuçla daha iyi gibi görünmekle birlikte bu istatistiksel olarak anlamlı değildi (Şekil 4.2.).



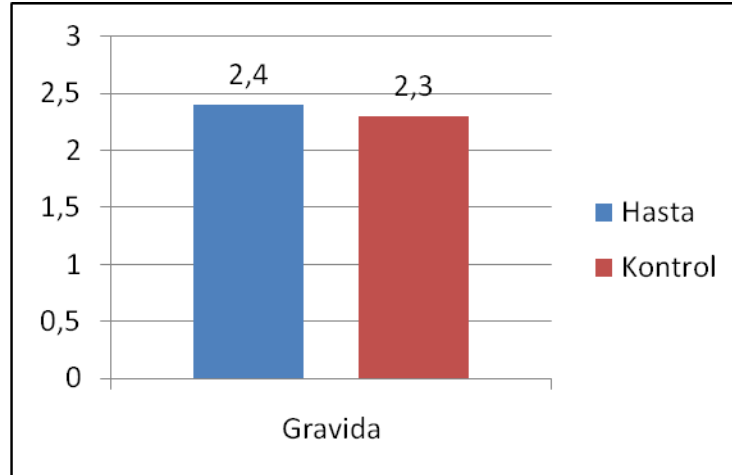
Şekil 4.2. Kontrol Grubunda Genotipe Göre Doğum Sayıları.

Yaş ortalamalarına bakıldığında hasta grubunun yaş ortalaması 32 ± 0.78 olarak değerlendirilirken kontrol grubunda bu 33.7 ± 0.7 olarak saptandı ve gruplar arasında istatistiki anlamlı fark yoktu ($p > 0.05$) (Şekil 4.3.).



Şekil 4.3. Hasta Ve Kontrol Gruplarının Ortalama Yaşları.

Gebelik ortalamalarına bakıldığında hasta grupta bu 2.4 ± 0.1 (2-4) olarak bulunurken, kontrol grubunda 2.3 ± 0.1 (1-4) olarak bulunmuştur ve bu istatistik anlamlı değildi ($p > 0.05$) (Şekil 4.4.)



Şekil 4.4. Hasta Ve Kontrol Gruplarının Gebelik Sayıları.

Her iki grubun gebelik prognozlarına bakıldığında hasta grubunda ortalama gebelik kaybı 8.3 ± 0.32 (5-18) haftada olmaktadır. Kontrol grubunun ortalama doğum haftası ise 39.2 ± 0.1 (37-41) olarak saptanmıştı (Tablo 4.1.).

Tablo 4.1 Hasta ve Kontrol Gruplarının Gebelik Prognozları

	Hasta Grubu (n=37)	Kontrol Grubu (n=37)
Ortalama Abortus Haftası	8.3 ± 0.32 (5-18)	-
Ortalama Doğum Haftası	-	39.2 ± 0.1 (37-41)

Çalışmaya alınan kişiler arasında hasta grubunda 58 (%78.3) Apo-E3, 12 (%16.3) Apo-E4 ve 4 (%5.4) Apo-E2 varlığı saptanırken kontrol grubunda 52 (%70.2) Apo-E3, 14 (%19) Apo-E4 ve 8 (%10.8) de Apo-E2 varlığı saptandı. Her iki grupta da en sık Apo-E3 alleli görülürken en nadir olarak Apo-E2 alleli varlığı saptandı. Her iki grup arasında apolipoprotein allellerinin dağılımı açısından istatistik anlamlı fark saptanmadı (Tablo 4.2.). Apo-E2 hasta grubunda yarı yarıya daha az görülüyor olmasına rağmen bu fark istatistik olarak anlamlı değildi.

Tablo 4.2. Hasta ve Kontrol Grupları Arasında Apolipoprotein-E Allel Dağılımı

Apo-E Alleli	Hasta n (%)	Kontrol n (%)	p Değeri
Apo-E2	4 (5.4)	8 (10.8)	0.226
Apo-E3	58 (78.3)	52 (70.2)	0.257
Apo-E4	12 (16.3)	14 (19)	0.666

Hasta ve kontrol grupları göz önüne alındığında herhangi bir Apolipoprotein-E genotipi ile tekrarlayan gebelik kaybı arasında istatistiksel anlamlı bir fark bulunamamıştır (Tablo 4.3.).

Tablo 4.3. Hasta ve Kontrol Gruplarında Apolipoprotein-E Genotip Dağılımı

Apo-E Genotipi Dağılımı	Hasta n (%)	Kontrol n (%)	p Değeri
Apo-E2/E2	-	1 (2.7)	0.311
Apo-E2/E3	4 (10.8)	6 (16.2)	0.495
Apo-E2/E4	-	-	-
Apo-E3/E3	25 (67.6)	21 (56.7)	0.335
Apo-E3/E4	4 (10.8)	4 (10.8)	-
Apo-E4/E4	4 (10.8)	5 (13.6)	0.722

5. TARTIŞMA

Tekrarlayan gebelik kayıpları, etiolojisinde birçok faktörün rol oynadığı, çoğu zaman çeşitli nedenlerin bulunduğu ve %40-50 oranında nedenin tespit edilemediği önemli jinekolojik sorunlardan biridir (130). Çalışmamızda tekrarlayan gebelik kaybı olgularında plasental vasküler trombozda rol alması muhtemel gibi görünen Apolipoprotein-E geni polimorfizmi araştırıldı. Bununla birlikte multifaktöryel sebeplerin etiolojide rol oynayabileceği düşünülerek trombofili, otoimmünite, anatomik ve endokrin sebepler yönelik parametreler dışlandı. Gebeliğin başarılı şekilde terme ulaşabilmesi için etkili bir uteroplasental dolaşım şarttır ve bu dolaşım hemostaz bozukluklarından etkilenebilir. Uteroplasental dolaşım bozukluğu fetal kayıplarda önemli bir faktördür (91).

Çalışmamızda vasküler trombozda önemli bir rol oynayan Apolipoprotein-E'nin plasental dolaşımı bozarak tekrarlayan gebelik kaybına yol açabilme hipotezinden yola çıkarak, tekrarlayan gebelik kaybı olan hastalarda Apolipoprotein-E gen polimorfizmini araştırdık. Bizim çalışmamızda elde ettiğimiz veriler tekrarlayan gebelik kaybı ile Apolipoprotein-E gen polimorfizmi arasında bir bağlantı saptanmamıştır.

Apolipoprotein-E geni dağılımı çeşitli çalışmalarda gösterildiği gibi popülasyonlara göre çeşitlilik göstermektedir. Eichner ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada popülasyonlar arası Apolipoprotein-E2, E3 ve E4 allellerinin dağılımı değişik toplumlarda Apo-E2 için %2-13, Apo-E3 için %6-85 ve Apo-E4 için %11-31 olarak bulunmuştur (131). Yine Hindistan kaynaklı Agarwal ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada 200 tekrarlayan gebelik kaybı olan ve 200'de sağlıklı kontrol grubu alınarak Apolipoprotein-E gen polimorfizmi araştırılmıştır. Agarwal ve arkadaşlarının bu çalışmasında Apolipoprotein-E allel oranları Apo-E2 için %9, Apo-E3 için %90 ve Apo-E4 için %1 olarak bulunmuştur (132). Bizim çalıştığımız çalışmaya alınan tüm kişiler gözönüne alındığında 74 kişide 12 (%8.1) Apo-E2, 110 kişide (%74.3) Apo-E3 ve 26 kişide (%17.6) ise Apo-E4 alleli saptanmıştır. Bu sonuçlara göre bizim çalışmamıza katılan kişilerde Apo-E3 alleli en sık saptanan allel olmuştur. Hem hasta grubunda hem de kontrol grubunda ayrı ayrı baktığımızda ise yine Apo-E3 alleli en sık rastlanan allel gen olmuştur ve diğer alleller açısından

da gruplar arasında istatistiksel anlamlı fark yoktur. Bu sonuçlara bakıldığında Agarwal ve arkadaşlarının çalışmasıyla benzer sonuçlar elde edilmiştir.

Tekrarlayan gebelik kayıplarında trombofilinin yeri daha önce çeşitli çalışmalarda kanıtlanmıştı. Kalıtsal trombofili pek çok gen polimorfizminin çeşitli durumlarla birleşerek ortaya çıkardığı bir tablodur (133). Bu durum trombofiliden sorumlu bir gen taşıyan kadınlarda neden her seferinde trombotik komplikasyonların ortaya çıkmadığını açıklayabilir. Aynı zamanda trombofili ve gebelik kaybı ile ilgili yeni genler hala keşfedilmektedir ve bunların klinik önemleri ile ilgili çalışmalar yapılmaktadır (133). Bu konuda daha geniş topluluklarda yapılacak çalışmalara gerek olduğunu düşünmekteyiz.

Literatürde Apolipoprotein-E polimorfizminin tekrarlayan gebelik kayıplarıyla ilişkili olduğunu belirten yayınların yanı sıra tersini savunan çalışmalar da mevcuttur. Apolipoprotein-E gen polimorfizminin reproduktif sonuçlar üzerine etkisi üzerine yapılan çalışmalarda bir fikir birliği yoktur. Corbo ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada reproduktif sonuç üzerine en kötü sonuç Apo-E2'de görülürken en iyi reproduktif sonuçlar Apo-E3 grubunda görülmüştür (134). Zetterberg ve arkadaşlarının spontan gebelik kaybı olan hastalarda Apolipoprotein-E gen polimorfizmi üzerinde yaptığı bir çalışmada ise Apo-E4'ün embriyo koruyucu etkisi olabileceği ileri sürülmüştür (135). Şimdiye kadar yapılan çalışmalara bakıldığında Apo-E4'ün plazma lipid seviyelerini yükseltip plasental damarlarda zedelenme ve tromboz yaparak gebelikte preeklampsinin ortaya çıkmasında etkisi olabileceği düşünülmektedir.

Goodman ve arkadaşlarının 69 tekrarlayan gebelik kaybı olan kadında yaptığı bir çalışmada bu hasta grubunda Apo-E4 alleli sıklığı belirgin olarak fazla gözlenmiştir (1). Ergin ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada ise tekrarlayan gebelik kaybı olan 69 Türk kadınında Apo-E3 ve Apo-E4 genotiplerinin prevalansının arttığını göstermişlerdir (128). Bizim çalışmamızda hasta grubuna anatomik, endokrinolojik, immünolojik ve trombofilik etmenler dışlanmış tekrarlayan gebelik kaybı hastaları alınırken, kontrol grubuna en az 1 canlı doğumu olan, abortus hikayesi olmayan ve öyküsünde preklampsi, preterm eylem veya diğer gebelik komplikasyonları olmayan hastalar kabul edildi. Bu iki grup arasında Apo-E2 ($p=0.226$), Apo-E3 ($p=0.257$) ve Apo-E4 ($p=0.666$) allelleri açısından istatistik

anlamli fark saptanmamıştır. Bizim çalışmamıza paralel olarak Bianca ve arkadaşlarının 150 tekrarlayan gebelik kaybı olan ve 160 kontrol grubu içeren bir popülasyonda yaptığı çalışmada ise herhangi Apolipoprotein-E gen polimorfizmi ile tekrarlayan gebelik kaybı arasında herhangi bir ilişki bulunamamıştır ve tekrarlayan gebelik kaybı olan hastalarda Apolipoprotein-E gen polimorfizmi araştırılmasına gerek olmadığını ortaya koymuşlardır. Yine bu çalışmada tekrarlayan gebelik kaybı olan hastalarda Apolipoprotein-E gen polimorfizminin tedaviyi etkilememesi gerektiğini savunmuşlardır (129). Hindistan'dan Agarwal ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada 200 tekrarlayan gebelik kaybı olan hasta ve 200 kontrol grubu alınmıştır ve bu iki grup arasında Apolipoprotein-E gen polimorfizmi açısından istatistik anlamli fark saptanmamıştır (132).

Tüm bu çalışmalar göz önüne alındığında ortaya büyük bir soru işareti çıkmasının sebeplerinden birisi de çalışmaya alınma kriterlerinin ve üzerinde çalışılan toplumların farklı olmasındandır. Bu sorunu aşmak için multisentrik ve aynı seçim kriterlerine sahip hastaların olduğu geniş çalışma gruplarına ihtiyaç vardır.

Bizim çalışmamızda sıkı kabul kriterleri ve maliyet nedeniyle hasta sayısı sınırlı tutulmuştur. Ayrıca çalışmamızda seçilmiş bir etnik gruptan hastalar üzerinde çalışılmamıştır. Özellikle Apo-E2 ve Apo-E4 allelleri açısından hasta sayısı azdır ve istatistik gücü bu yüzden düşmektedir. Menzel ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada Apo-E4 allel sıklığı sağlıklı popülasyonda %26 olarak bulunmuştur ve bu sonuç göz önüne alındığında çalışmamızın istatistiksel gücü düşmektedir (136).

Başarılı bir gebelik için pro-inflamatuar ve anti-inflamatuar cevabın bir denge içinde olması gerekmektedir. İnterlökin-10 gebelikteki en potent anti-inflamatuar mediatördür. Apo-E4 taşıyıcılarında interlökin-10'un plazma konsantrasyonlarının düşük olduğu ve potensinin azaldığı gösterilmiştir (137,138). Bu durum göz önüne alındığında Apo-E4 taşıyıcılarında tekrarlayan gebelik kaybı daha yüksek oranda beklenebilir. Çalışmamızda ise Apo-E4 allel taşıyıcılarında diğer allellere göre istatistiksel belirgin fark gözlenmemiştir.

Yapılan çalışmalarla evrimsel süreç içinde Apo-E4'ün Apo-E3 ve Apo-E2 allellerinin ata geni olduğu ve Apo-E3 ile Apo-E2 allellerinin 200.000 yıllık bir süreçte Apo-E4'ten geliştiği ortaya çıkmıştır (139). Bu açıdan bakıldığında eğer evrimsel süreç daha iyi bir üreme performansına evrimleşiyorsa Apo-E3 ve Apo-E2

allellerinde Apo-E4'e göre daha iyi bir üreme performansı ve daha düşük gebelik kaybı oranları beklenmelidir. Bizim çalışmamızda ise gebelik kaybı açısından bu üç allel arasında fark saptanmamıştır.

Apolipoprotein-E genotipleri göz önüne alındığında Agarwal ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada hem hasta hem de kontrol gruplarında en sık Apo-E3/E3 genotipine rastlanırken Apo-E2/E4 ve Apo-E4/E4 genotiplerine rastlanmamıştır (132). Goodman ve arkadaşlarının 69 tekrarlayan gebelik kaybı olan ve 37 sağlıklı kadın üzerinde yaptığı çalışmasında ise yine her iki grupta Apo-E3/E3 genotipi en sık rastlanan genotip olurken Apo-E2/E2 genotipine rastlanmamıştır. Apo-E3/E3 genotipini hasta grubunda %66.7 oranında saptamışken kontrol grubunda %75.7 olarak saptamıştır. Bizim çalışmamızda da hem hasta grubunda hem de kontrol grubunda Apo-E3/E3 genotipi en sık rastlanan (%67.6 ve %56.7) genotip olurken Apo-E2/E4 genotipine hiç rastlanmamıştır ve Apo-E2/E2 genotipine hasta grubunda rastlanmazken kontrol grubunda ise 1 kişide rastlanmıştır.

Özörnek ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada tekrarlayan gebelik kaybı olan 136 kadında Apo-E4'ü kodlayan Apo-E kodon 112C mutasyonu araştırılmış ve bunun tek başına tekrarlayan gebelik kaybı ile ilişkili olmadığı sonucuna varılmıştır (2).

Apolipoprotein-E'nin özellikle gebelikte plazma lipid seviyeleri üstündeki etkisi bilinmektedir. Özellikle Apo-E4, LDL reseptörlerine Apo-E3'e göre daha zayıf bağlanarak plazmadan kolesterolün klirensini düşürür (140). Buna göre patogeneizde plazma lipid seviyelerinin yükselerek damar endotelinde birikmesi ve buradan salınan sitokinler sonucu trombus formasyonunun oluşması suçlandığından Apolipoprotein-E genotipleri ile birlikte plazma lipid seviyelerinin değerlendirilmesi yararlı olacak gibi görünmektedir. Çünkü zaten kendisi hiperkoagülabiliteye eğilimli bir durum olan gebelik sırasında benzer mekanizmayla plasental damarlarda tromboz oluşması ve bebeğe giden kan akımının azalması sonucu gebelik kaybının ortaya çıkması akla yatkın görünmektedir. Bizim çalışmamızda maliyeti arttırması ve bütçeyi aşması bakımından plazma lipid seviyelerine bakılmadı.

Özellikle Apo-E4'ün plazma lipid seviyelerinin yüksekliği ile birlikteliği saptandığından Apo-E4 grubunda reproduktif performansın daha düşük olması

beklenebilirken bizim çalışmamızda Apo-E4 grubunda abortus sıklığı 2.7 ± 0.95 olarak saptanırken Apo-E3 grubunda bu değer 2.4 ± 0.65 olarak saptanmıştır. Bu rakamlar değerlendirildiğinde Apo-E4 grubunda abortus oranı biraz daha fazla gibi görünmekle birlikte bu fark istatistik açıdan anlamlı değildir. Yine kontrol grubunu göz önüne alacak olursak Apo-E4/E4 genotipinde ortalama doğum sayısı istatistik olarak anlamlı fark saptanamamış olsa bile Apo-E3/E3 grubuna göre daha iyi (2.8 ± 0.83 ve 1.7 ± 0.43) gibi görünmektedir. Bu durum ise daha kötü reproduktif performans beklenen Apo-E4 grubunun lehine gibi görünmektedir. Zetterberg'in yaptığı çalışmada da buna benzer bir sonuçla karşılaşmıştır ve Zetterberg Apo-E4'ün embriyo protektif bir etkisi olabileceğini öne sürmüştür (135).

Bu konunun açıklığa kavuşması için daha geniş hasta gruplarında ve farklı etnik gruplar üzerinde aynı hasta kriterleri ile çalışmaya ihtiyaç vardır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Tekrarlayan gebelik kayıplarında trombofilinin yeri daha önce yapılmış birçok çalışmayla kanıtlanmıştır. Trombofilinin aynı anda birçok faktörün birleşmesiyle ortaya çıkan bir durum olduğu artık ortaya konulmuştur. Trombofili, hala sınırları net olarak bilinmeyen ve üstünde sayısız çalışma yapılan bir tıbbi durum olarak ortaya çıkmaktadır. Biz de çalışmamızda trombofilide yer alması olası olan Apo-E geni ve bunun polimorfizmi üzerinde çalıştık.

Bu olgu-kontrol şeklinde dizayn edilmiş ve 37 tekrarlayan gebelik kaybı olan kadın ve 37 kontrol grubu olan çalışmamız sonucunda toplumumuzda Apolipoprotein-E'nin en sık Apo-E3 alleline rastlandığını gördük. Apo-E3 geni diğer apolipoprotein genleriyle karşılaştığında çok daha yüksek oranlarda rastlanmaktadır.

Her iki grup karşılaştırıldığında Apolipoprotein-E gen polimorfizmi ile tekrarlayan gebelik kaybı arasında istatistik olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır. Bu bağlamda trombofilinin bir parçası olabileceği düşünülen Apolipoprotein-E'nin vasküler yatağın yapısını bozarak tekrarlayan gebelik kaybına yol açabileceği hipotezi kanıtlanamamış olmaktadır.

Bu konunun açıklığa kavuşması için daha geniş hasta gruplarında ve farklı etnik gruplar üzerinde aynı hasta kriterleri ile çalışmaya ihtiyaç vardır.

Bu bilgiler göz önüne alındığında tekrarlayan gebelik kaybı olan hastaların araştırılmasında Apolipoprotein-E gen polimorfizminin araştırılmasının bugün için yeri olmadığı ve tedavinin buna göre yönlendirilemeyeceği inancındayız.

KAYNAKLAR

1. Goodman C, Goodman CS, Hur J, Jeyendran RS, Coulam C. The association of apoprotein E polymorphisms with recurrent pregnancy loss. *Am J Reprod Immunol* 2009;61:34–38.
2. Ozornek H, Ergin E, Jeyendran RS, OzayAT, Pillai D, Coulam C. Is apolipoprotein E codon 112 polymorphisms associated with recurrent pregnancy loss? *Am J Reprod Immunol* 2010;64:87–92.
3. Cunningham FG, Gant NF, Leveno KJ, Gilstrap LJ, Hauth JC, Wenstrom KD. Abortus. İç: Cunningham FG, editör. *Williams Doğum Bilgisi*. 21. Baskı. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi. 2005. s: 855-877.
4. Atasü T, Şahmay S. Abortuslar. İç: Atasü T, editör. *Jinekoloji*. 2. baskı, İstanbul: Güneş Kitabevi. 2001. s: 207-210.
5. Jacobs PA, Hassold TJ. Chromosomal abnormalities: origin and etiology in abortions and live births. İç: Vogel F, Sperling K, bölüm editörü. *Human Genetics*. Berlin: Springer-Verlag. 1987. s:233–244.
6. 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.
7. Alberman E. The epidemiology of repeated abortion. İç: Beard RW, Sharp F, bölüm editörü. *Early pregnancy loss: mechanisms and treatment*. New York: Springer-Verlag. 1988. s:917.
8. Rainsbury RA, Viniker DA. Abortion. İç: Viniker DA, editör. *Practical guide to reproductive medicine*. New York: Springer-Verlag. 1998. s:337.
9. Carp HJA, Toder V, Machiach S, Nebel L, Serr M. Recurrent miscarriage: A review of current concepts, immune mechanisms and results of treatment. *Obstet Gynecol Survey* 1990;45:657–669.
10. Speroff L, Robert HG, Nathan GK. Aile planlaması, sterilizasyon ve küretaj. İç: Dündar İ, Sönmezer M, çeviri editörleri. *Klinik jinekolojik endokrinoloji ve infertilite*. 5. Baskı. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi 1996. s:841–851.

11. Çiçek MN, Akyürek C, Çelik Ç, Haberal A. Tekrarlayan gebelik kayıpları ve tedavisi. İç: Baykal C, bölüm editörü. Kadın hastalıkları ve doğum bilgisi İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi. 2006. s:1593-1610.
12. Wilcox AH, Weinberg CR, O'Connor JF. Incidence of early loss of pregnancy. *N Engl J Med* 1998;319:189–194.
13. Jonathan SB, Eli YA, Paula AH. Rekürren spontan erken gebelik kayıpları. İç: Çalışkan E, çeviri editörü. Novak jinekoloji. 13. Baskı. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi. 2004;s:1067-1094.
14. Beers MH, Berkow R. Recurrent Abortion. İç: Berkow R, editör. The Merck manual of diagnosis and therapy. 17 th. Edition. Cilt 1. New York: Springer-Verlag. 1992.s:126-131.
15. Kimura M, Amino N, Tamaki H, Mitsuda N. Physiologic tyroid activation in normal early pregnancy is induced by circulating hCG. *Obstet Gynecol* 1990;75:775.
16. Edmonds DK, Lindsays KS, Miller JF. Early embryonic mortality in woman. *Fertil Steril* 1982;38:447–451.
17. Miller JF, Williamson E, Glue J. Fetal loss after implantation: A prospective study. *Lancet* 1980;2:554–559.
18. Boue J,Boue A,Lazar P. Retrospective and prospective epidemiological studies of 1500 karyotyped spontaneous abortions. *Teratology* 1995;12:11-16.
19. Ford HB, Schust DJ. Recurrent loss: etiology, diagnosis and therapy. *Obstet & Gynecol* 2009;2:76-83.
20. De Braekeleer, Dao MA. Cytogenetic studies in couples experiencing repeated pregnancy loss. *Hum Reprod* 1990;5(5):519-2810.
21. Porter TF, Scott JR. Evidence-based care of recurrent miscarriage. *Clinical Obstetrics and Gynaecology*. 2005. Vol. 19, No. 1, s: 85–101.
22. Rock JA, Murph AA. Anatomic abnormalities. *Clin Obstet Gynecol* 1986;29:886–911.
23. Garcia-Enguidanos A, Calle ME, Valero J, Luna S, Dominguez-Rojas V. Risk factors in miscarriage: a review. *Eur J Obstet & Gynecol and Reprod Biol* 2002; 102: 111–119.

24. Buttram VC. Muellerian anomalies and their management. *Fertil Steril* 1983;40:159-63.
25. Homer HA, Li TC, Cooke ID. The septate uterus: a review of management and reproductive outcome. *Fertil Steril* 2000;73:1-14.
26. Rai R, Regan L. Recurrent miscarriage. *Lancet* 2006;368:601-11.
27. Valle RF, Sciarra JJ. Intrauterine adhesions: hysteroscopic diagnosis, classification, treatment, and reproductive outcome. *Am J Obstet Gynecol* 1988;158:1459-70.
28. Daya S. Evidence-based management of recurrent miscarriage: optimal diagnostic protocol. *International Congress Series*. 2004;1266:318-327.
29. Qublan HS. Habitual abortion: causes, diagnosis, and treatment. *Gynaecological Practice* 2003;3:75–80.
30. Craig LTB, Ke RW, Kutteh WH. Increased prevalence of insulin resistance in women with a history of recurrent pregnancy loss. *Fertil Steril* 2002;78(3):487-490.
31. Carrington B, Rai R, Regan L. Polycystic ovaries, insulin resistance, hypofibrinolysis. *Hum Reprod* 2004;19:1911–16.
32. Glueck CJ, Wang P, Goldenberg N, Sieve-Smith L. Pregnancy outcomes among women with polycystic ovary syndrome treated with metformin. *Hum Reprod* 2002;17:2858-2864.
33. Witkin SS, Ledger WJ. Antibodies to *Chlamydia trachomatis* in sera of women with recurrent spontaneous abortion. *Am J Obstet Gynecol* 1992;12:167:135.
34. Dawood F, Farquharson R, Quenby S. Recurrent miscarriage. *Current Obstetrics & Gynaecology* 2004;4,247–253.
35. Quenby S. Recurrent miscarriage. *Obstet Gyn & Rep Med* 2007;3:296-300
36. Marc D. Recurrent miscarriage. *Current Women's Health Reports*. 2003;3:361–366.
37. Rai R, Wakefor T. Recurrent miscarriage. *Curr Obstet & Gyn* 2001;11:218 - 224.
38. Locskhin MD, Sammaritano LR, Schwartzman S. Validation of the Sapparo criteria for antifosfolipid syndrome. *Arthritis Rheum* 2000;43:440-443.

39. Empson M, Lassere M, Craig JC, Scott JR. Recurrent pregnancy loss with antiphospholipid antibody: a systematic review of therapeutic trials. *Obstet Gynecol* 2002;99:135-44.
40. Mclytrn J, Faulk W. Human trophoblast-lymphocyte cross-reactive (TLX) antigens define a new alloantigen system. *J Immunol* 1983;222:1135-1137.
41. Mowbray J, Gilbings C. Controlled trial of treatment of recurrent spontaneous abortion by immunisation with paternal cells. *Lancet* 1985;1(8435):941-3.
42. Hwang J, Ho H. The role of blocking factors and antipaternal lymphototoxic antibodies in the succes of pregnancy in patients with recurrent spontaneous abortion. *Fertil Steril* 1992;58:691-696.
43. Ito K, Karasawa M, Kawano T. Involvement of decidual V alpha 14 NKT cells in abortion. *Proc Natl Acad Sci* 2009;97:740-744.
44. Sarig G, Vidergor G, Brenner B. Assessment and management of high risk pregnancies in women with thrombophilia. *Blood Reviews* 2009;23:143-147.
45. Robertson L, Wu O, Langhorne P. The thrombosis: risk and economic assessment of thrombophilia screening (TREATS) study. *Thrombophilia in pregnancy: a systematic review. Br J Haematol* 2006;132:171–96.
46. Govindaiah V, Naushad SM, Prabhakara K, Krishna PC, Devi ARR. Association of parental hyperhomocysteinemia and C677T Methylene tetrahydrofolate reductase (MTHFR) polymorphism with recurrent pregnancy loss. *Clin Bioc* 2009;42:380–386.
47. Reznikoff-Etievan MF, Cayol V, Carbonne B, Robert A, Coulet F, Milliez J. Factor V Leiden and G20210A prothrombin mutations are risk factors for very early recurrent miscarriage. *BJOG* 2001;108(12):1251–1254.
48. Kupferminc NJ, Eldor A, Steinman N, Many A, Bar-Am A, Jaffa A. Increased frequency of genetic thrombophlia in women with complications of pregnancy. *N Engl J Med* 1999;340:9–13.
49. Dekker GA, De Vries JIP, Doelitzsch PM, Huijgens PC, Von Blomberg BME, Jacobs C. Underlying disorders associated with severe early-onset preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 1995;173:1042–8.

50. Steegers-Theunissen RPM, Boers GHJ, Blom HJ, Trijbels FJM, Eskes TKAB. Hiperhomocysteinemia and recurrent spontaneous abortion or abruption placenta. *Lancet* 1992;339:1122–3.
51. Coulam CB, Wagenknecht D, Mclntyre JA. Occurrence of other reproductive failures among women with recurrent spontaneous abortion. *Am J Reprod Immunol* 1991;25:96-98.
52. Li TC, Spring PG, Bygrave C. The value biochemical and ultrasound measurements in predicting pregnancy outcome in women with a history of recurrent miscarriage. *Hum Reprod* 1998;13:3525-9.
53. Wolf GC, Horger EO. Indication for examination of spontaneous abortion specimens. *Am J Obstet Gynecol* 1995;173:1364-8.
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;69:152–4.
55. Coumans ABC, Huijgens PC, Jacobs C, Schats R, De Vries JIP, Van Pumpus MG. Haemostatic and metabolic abnormalities in women with unexplained recurrent abortion. *Hum Reprod* 1999;14:211–4.
56. Vidal F, Rubio C, Simon C. Is there a place for preimplantation genetic screening in recurrent miscarriage patients? *J Reprod Fertil Suppl* 2000;55:143-146.
57. Remohi J, Gallardo E, Levy M. Oocyte donation in women with recurrent pregnancy loss. *Hum Reprod* 1996;11:2048-51.
58. Zolghadri J, Tavana Z, Kazerooni T, Soveid M, Taghieh M. Relationship between abnormal glucose tolerance test and history of previous recurrent miscarriages, and beneficial effect of metformin in these patients: a prospective clinical study. *Fertil Steril* 2008;90(3):727-730.
59. Ramidi G, Khan N, Glueck CJ, Wang P, Goldenberg N. Enoxaparin-metformin and enoxaparin alone may safely reduce pregnancy loss. *Transl Res* 2009;153(1): 33-43.
60. Summers PR. Microbiology relevant to recurrent miscarriage. *Clin Obstet Gynecol* 1994;37:722-729.

61. Ober C, Karrison T, Odem RR. Mononuclear cell immunisation in prevention of recurrent miscarriages: a randomized trial. *Lancet* 1999;354:365-369.
62. Vaquero E, Valensise H, Menghini S. Pregnancy outcome in recurrent spontaneous abortion associated with antiphospholipid antibodies: a comparative study of intravenous immunoglobuline versus prednisone plus low-dose aspirin. *Am J Reprod Immunol Microbiol* 2001;45:174-179.
63. Pogljar K, Hill JA. Progesterone inhibits invitro embryotoxic factor production in women with recurrent spontaneous abortion. *Proc Soc Gynecol Invest* 1994;41:22-26.
64. Lima F, Khamashta MA, Buchanan NM. A study of sixty pregnancies in patient with the antiphospholipid syndrome. *Clin Exp Rheumatol* 1996;14:131-136.
65. Meegdes BMLM, Ingenhoes R, Peeters LLH, Exalto N. Early pregnancy wastage: relationship between chorionic vascularization and embryonic development. *Fertil Steril* 1988;49:216-20.
66. James SJ, Pogribna M, Melnyc S, Hine RJ, Gibson JB. Abnormal folate metabolism and mutation in the methylenetetrahydrofolate reductase gene may be maternal risk factors for Down syndrome. *Am J Clin Nutr* 1999;70:495-501.
67. Broze G. Tissue factor pathway inhibitor. *Thromb Haemost* 1995;74:90-93.
68. DeVries JLP, Dekker GA, Huijgens PC, Jakobs C, Blomberg BME, Van Geijin HP. Hyperhomocysteinemia and protein S deficiency in complicated pregnancies. *Br J Obstet Gynaecol* 1997;104:1248-54.
69. Wouters MGAJ, Boers GHJ, Blom HJ, Trijbels FJM, Thomas CMG, Borm GF. Hiperhomocysteinemia: A risk factor in women with unexplained recurrent early pregnancy loss. *Fertil Steril*. 1993;60:820-5.
70. Geyman JP, Oliver LM, Sullivan SD. Expectant, medical or surgical treatment of spontaneous abortion in first trimester of pregnancy. A pooled quantitative literature evaluation. *J Am Board Fam Pract* 1999;12:55-64.
71. Van Pampus MG, Dekker GA, Wolf H, Huijgens PC, Koopman MM, Von Blomberg BM. High prevalence of haemostatic abnormalities in women. *Am J Obstet Gynecol*. 1999;180:1146-1150.

72. Rai R, Shlebak A, Cohen H, Backos M, Holmes Z, Marriott K, Regan L. Factor V Leiden and acquired activated protein C resistance among 1000 women with recurrent miscarriage. *Hum Reprod* 2001;16(5):961–5.
73. Kişnişci HA, Gökşin E, Durukan T, Üstay K, Ayhan A, Gürgan T, Önderoğlu LS. Rekürren gebelik kayıpları İç: Durukan T, editör. *Temel kadın hastalıkları ve doğum bilgisi*. İstanbul: Nobel Kitapevi. 1998. S:198-204.
74. Letsky EA, Swiet M, Loscalzo J, Schafer AI. Thrombosis and Haemorrhage. İç: Loscalzo J, editör. *Maternal haemostasis coagulation problems of pregnancy*. New York: Blackwell Scientific Publications. 1994. 965–998.
75. Hellgren M. Haemostasis during pregnancy and puerperium. İç: Hellgren M, editör. *Haemostasis*. New York: Blackwell Scientific Publications. 1996. s:224- 247.
76. Mc Coll, Walker G. The role of inherited thrombophilia in venous thromboembolism associated with pregnancy. *B J Obstet Gynaecol* 1999;106:756–766.
77. Matsuura T, Kobayashi T, Asahina T, Kanayama N, Terao T. Is factor XII deficiency related to recurrent miscarriage? *Semin Thromb Hemost* 2001;27(2):115–20.
78. Yuanne S, Linda W, North WRS, Seghatchian MJ, Meade TW. Thrombosis and haemostasis. İç: Linda W, editör. *Haemostasis in Normal Pregnancy*. New York: Blackwell Scientific Publications. 1984. s:176–182
79. Preston FE, Rosendaal FR. Increased fetal loss in women with heritable thrombophilia. *Lancet* 1996;348(5):913–916.
80. Perry KG, Martin JN. Abnormal haemostasis and preeclampsia and eclampsia. *Clin Obstet Gynecol* 1992;35(2):338–350.
81. Booto LD, Yang Q. 5,10- methylenetetrahydrofolate reductase gene variants and congenital anomalies. *Am J Epidemiol* 2000;151:862–77.
82. Wong WY, Eskes TK, Spauwen PH, Steegers EA, Thomas CM. Nonsyndromic orofacial clefts: association with maternal hiperhomocysteinemia. *Teratology* 1999;60: 253–7.

83. Martinelli M, Scapoli L, Pezzetti F, Carinci F, Stabellini G. C677T variant form at the MTHFR gene and CL/P: a risk factor for mothers? *Am J Med Genet* 2001;98:357–60.
84. Brenner B, Mandel H, Lanir N, Younis J, Rothbart H, Ohel G, Blumenfeld Z. Activated protein C resistance can be associated with recurrent fetal loss. *Br J Haematol* 1997;97(3):551–554.
85. Grandone E, Margaglione M, Colaizzo D, d'Addeda M, Cappucci G, Vecchione G, Sciannone N, Pavone G, Di Minno G. Factor V Leiden is associated with repeated and recurrent unexplained fetal losses. *Thromb Haemost* 1997;77(5):822–4.
86. Yamada H, Kato EH, Kobashi G, Ebina Y, Shimada S, Morikawa M, Yamada T, Sakuragi N, Fujimoto S. Recurrent pregnancy loss: etiology of thrombophilia. *Semin Thromb Hemost* 2001;27(2):121–9.
87. 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;77(2):342–7.
88. Kutteh WH, Park VM, Deitcher SR. Comment in: Hypercoagulable state mutation analysis in white patients with early first-trimester recurrent pregnancy loss. *Fertil Steril* 1999;71(6):1048–53.
89. Pauer HU, Neesen J, Schloesser M, Hinney B, Rauskolb R. Homozygous factor V Leiden mutation in a woman with multiple adverse pregnancy outcomes. *Arch Gynecol Obstet* 2000;264(3):164–5.
90. Cummin AM, Tait RC, Fildes S, Young A, Keeney S, Hay CR. Development of resistance to activated protein C during pregnancy. *B J Haematol* 1995;90:725–727.
91. Brigden ML. The hypercoagulable state who, how and when to test and treatment. *Postgrad Med* 1997;101:5249–5268.
92. Franco RF. The 20210G A mutation in the 3' untranslated region of the prothrombin gene and the risk for arterial thrombotic disease. *B J Haematol* 1999;104:5054.
93. Rai R, Regan L. Thrombophilia and adverse pregnancy outcome. *Semin Reprod Med* 2000;18(4):369–77.

94. 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.
95. Grandone E, Margaglione M, Colaizzo D, Pavone G, Paladini D, Martinelli P, Di Minno G. Lower birth-weight in neonates of mothers carrying factor V G1691A and factor II A(20210) mutations. *Haematologica* 2002; 87(2):177–81.
96. Refsum H, Fiskerstrand T, Guttormsen AB, Ueland PM. Assessment of homocysteine status. *J Inher Metab Dis* 1997;20:286–94.
97. Richard E, Bonnette, Marie A, Caudill, Anita M, Boddie. Plasma homocysteine concentrations in pregnant and nonpregnant women with controlled folate intake. *Obstet Gynecol* 1998;92:167–170.
98. Mills JL, Kirke PN, Molloy AM, Burke H, Conley MR. Methylenetetrahydrofolate reductase thermo labile variant and oral clefts. *Am J Med Genet* 1999;86:71–4.
99. Martin DH, Ted K, Henk J Blom, Gerard MJ Bos, Ernes B, Pieter H, Reitsma, Jan P. hiperhomocysteinemia as a risk factor for deep-vein thrombosis. *N Engl J Med* 1996;334:759–62.
100. Carol J, Shirley A, Beresford A, Gilbert S, Arno GM. A quantitative assessment of plasma homocysteine as a risk factor for vascular disease. *JAMA* 1995;274:1049–1057.
101. Finkelstein J. Methionine metabolism in mammals. Effect of age, diet, and hormones on three enzymes of the pathway in rat tissues. *Arch Biochem Biophys* 1972;122:583–90.
102. Gris JC, Quéré I, Mercier E, Bellet H, Janbon C, Marès P. Vitamin supplementation and pregnancy outcome in women with recurrent early pregnancy loss and hiperhomocysteinemia. *Fertil Steril* 2001;75:823–825.
103. 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.

104. 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.
105. Walker MC, Smith GN, Perkins SL, Keeley EJ, Garner PR. Changes in homocysteine levels during normal pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 1999;24:733–6.
106. Hankey GJ, Eikelboom JW. Homocysteine and vascular disease. *Lancet* 1999;324:1149–55.
107. Carson NAJ, Neill DW. Metabolic abnormalities detected in a survey of mentally backward individuals in Northern Ireland. *Arch Dis Child* 1962;37:505–13.
108. Brattstrom L, Wilcken DE, Ohrvik J, Brudin L. Common methylentetrahydrofolate reductase gene mutation leads to hyperhomocysteinemia but not to vascular disease; the result of a metaanalysis. *Circulation* 1998;98:2520–6.
109. Blumenfeld Z, Brenner B. Thrombophilia-associated pregnancy wastage. *Fertil Steril* 1999;72(5):765–74.
110. Girolami A, Simioni P, Scarano L, Carraro G. Prothrombin and the prothrombin 20210 G to A polymorphism: their relationship with hypercoagulability and thrombosis. *Blood Rev* 1999;13:205–210.
111. Frosst P, Blomm HJ, Milos R. A candidate genetic risk factor for vascular disease: a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase. *Nat Genet* 1995;10:111–113.
112. Brenner B, Sarig G, Weiner Z, Younis Y, Blumenfeld Z, Lanir N. Thrombophilic polymorphisms are common in women with fetal loss without apparent cause. *Thromb Haemost* 1999;82:6–9.
113. D' Angelo A, Fermo I, D' Angelo SV. Thrombophilia, homocystinuria and mutation of the Factor V gene. *N Engl J Med* 1996;335:289.
114. Nelen WLD, Steegers EAP, Eskes TKAB, Blom HJ. Genetic risk factor for unexplained recurrent early pregnancy loss. *Lancet* 1997; 350:861.

115. Nelen WLDM, von der Molen EF, Blom HJ, Heil SG, Steegers EAP, Eskes TKAB. Recurrent early pregnancy loss and genetic related disturbances in folate and homocysteine metabolism. *B J Hosp Med* 1997;58:511–513.
116. Foka ZJ, Lambropoulos AF. Factor V Leiden and prothrombin G20210A mutations, but not methylenetetrahydrofolate reductase C677T, are associated with recurrent miscarriages. *Hum Reprod* 2000;15(2):458–62.
117. Mahley, RW, Huang Y. Apolipoprotein E: from atherosclerosis to Alzheimer's disease and beyond. *Curr Opin Lipidol* 1999;10:207–217.
118. Lenzen HJ, Assman G, Buckwalsky R, Schulte H. Association of apolipoprotein E polymorphism, low density lipoprotein cholesterol, and coronary artery disease. *Clin Chem* 1986;32/5:778-81.
119. Davignon J, Greeg RE, Sing CF. Apolipoprotein E polymorphism and atherosclerosis. *Atherosclerosis* 1988;8:1-21.
120. Hixson JE and the Pathological Determinants of Atherosclerosis in Youth (PDAY) Research Group: Apolipoprotein E polymorphism affect atherosclerosis in young males. *Arterioscler Thromb* 1991;11:1237-44.
121. Bennet AM, Di Angelantonio E, Ye Z, Wensley F, Dahlin A, Ahlbom A, Keavney B, Collins R, Wiman B, de Faire U, Danesh J. Association of apolipoprotein E genotypes with lipid levels and coronary risk. *JAMA* 2007;298:1300–1311.
122. Hashimoto Y, Jiang H, Niikura T, Ito Y, Hagiwara A, Umezawa K, Abe Y, Murayama Y, Nishimoto I. Neuronal apoptosis by apolipoprotein E4 through low-density lipoprotein receptor-related protein and heterotrimeric GTPases. *J Neurosci* 2000;20:8401– 8409.
123. Fiorentino DF, Zlotnik A, Mosmann TR, Howard M, O'Garra A. IL-10 inhibits cytokine production by activated macrophages. *J Immunol* 1991;147:3815-3822.
124. Curtiss LK, Boisvert WA. Apolipoprotein E and atherosclerosis. *Curr Opin Lipidol* 2000;11:243–251.
125. Chaouat G, Menu E, de Smedt D, Khrihnan L, Hui L, Assal Meliani A, Martal J, Raghupathy R, Wegmann TG. The emerging role of IL-10 in pregnancy. *Am J Reprod Immunol* 1996;35:325–329

126. Tziakas DN, Chalikias GK, Antonoglou CO, Veletza S, Tentis IK, Kortsaris AX, Hatseras DI, Kaski JC. Apolipoprotein E genotype and circulating interleukin-10 levels in patients with stable and unstable coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol* 2006;48:2471–2481.
127. Atkinson KR, Blumenstein M, Black MA, Wu SH, Kasabov N, Taylor RS. An altered pattern of circulating apolipoprotein E3 isoforms is implicated in preeclampsia. *J Lipid Res* 2009;50:71–80.
128. Ergin E, Jeyendran RS, Ozornek H, Ozay A, Pillai MD, Coulam C. Apoprotein E codon 112 polymorphism is associated with recurrent pregnancy loss. *Fertil Steril* 2009;92:115.
129. Bianca S, Barrano B, Cutuli N, Indaco L, Cataliotti A, Milana G. No association between apolipoprotein E polymorphisms and recurrent pregnancy loss. *Fertil Steril* 2010;93:276.
130. Holly B, Ford, Danny J, Schust. Recurrent loss: etiology, diagnosis and therapy. *Obstet & Gynecol* 2009;2:76-83.
131. Eichner JE, Dunn ST, Perveen G, Thompson DM, Stewart KE, Stroehla BC. Apolipoprotein E polymorphism and cardiovascular disease: a HuGE review. *Am J Epidemiol* 2002;155:487–495.
132. Agarwal M, Parveen F, Faridi RM, Phadke SR, Das V, Agrawal S. Recurrent pregnancy loss and apolipoprotein E gene polymorphisms: a case-control study from North India. *Am J Reprod Immunol* 2010;64(3):172-8.
133. 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;55:360–368.
134. Corbo RM, Scacchi R, Cresta M. Differential reproductive efficiency associated with common apolipoprotein E alleles in postreproductive –aged subjects. *Fertil Steril* 2004;81:104–107.
135. Zetterberg H, Palmer M, Ricksten A, Poirier J, Palmqvist L. Influence of the apolipoprotein E epsilon4 allele on human embryonic development. *Neurosci Lett* 2002;324(3):189-92.
136. Menzel HJ, Kladetzky RG, Assmann G. Apolipoprotein E polymorphism and coronary artery disease. *Arteriosclerosis* 1983;3:310–315.

137. Tziakas DN, Chalikias GK, Antonoglou CO, Veletza S, Tentis IK, Kortsaris AX, Hatseras DI, Kaski JC: Apolipoprotein E genotype and circulating interleukin-10 levels in patients with stable and unstable coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol* 2006;48:2471–2481.
138. Miyata M, Smith JD. Apolipoprotein E allele-specific anti-oxidant activity and effects on cytotoxicity by oxidative insults and beta-amyloid peptides. *Nat Genet* 1996;14:55–61.
139. Fullerton SM, Clark AG, Weiss KM, Nickerson DA, Taylor SL, Stengard JH, Salomaa V, Vartiainen E, Perola M, Boerwinkle E, Sing CF. Apolipoprotein E variation at the sequence haplotype level: implications for the origin and maintenance of a major human polymorphism. *Am J Hum Genet* 2000;67:881–900.
140. McGladdery SH, Frohlich JJ. Lipoprotein lipase and apo E polymorphisms: relationship to hypertriglyceridemia during pregnancy. *J Lipid Res* 2001;42:1905–1912.

