



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

PREEKLAMPTİK HASTALARDA  
ADENOSİN DEAMİNAZ GEN POLİMORFİZMİ

Dr. Adnan ORHAN

UZMANLIK TEZİ

BURSA-2011



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

PREEKLAMPTİK HASTALARDA  
ADENOZİN DEAMİNAZ GEN POLİMORFİZMİ

Dr. Adnan ORHAN

UZMANLIK TEZİ

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Mehpere TÜFEKÇİ

BURSA-2011

## İÇİNDEKİLER

Özet.....	ii
İngilizce Özet.....	iv
Giriş.....	1
Gereç ve Yöntem.....	20
Bulgular.....	27
Tartışma ve Sonuç.....	31
Kaynaklar.....	41
Teşekkür.....	45
Özgeçmiş .....	46

## ÖZET

Preeklampsi; gebeliğin hipertansif bozuklukları içerisinde önemli bir yeri olan hipertansiyon, proteinüri ve birçok klinik manifestasyon ile karakterize multisistem bir hastalıktır. Yapılan birçok araştırmaya rağmen etyopatogenezi henüz tam olarak anlaşılamasa da sonuçta oluşan azalmış plasental perfüzyonun genetik, immünolojik ve inflamatuvar faktörlerden etkilendiği bilinmektedir.

Preeklampside artan hücrel immüitenin temel mediatörlerinden adenzin Deaminaz (ADA), pürin nükleotidlerinin yıkımında yer alan ve Adenzin'in İnozin'e çevrimini katalizleyen bir enzimdir. Bu enzim; özellikle lenfoid hücrelerde yüksek oranlarda bulunur ve lenfoid hücrelerin proliferasyon ve matürasyonuna katılır. Preeklampside hücrel immüitenin artmasına bağılı olarak adenzin deaminaz seviyelerindeki artış daha önceki araştırmalarda saptanmıştır. Bu çalışmanın amacı preeklampitik hastalarda adenzin deaminaz gen polimorfizmini değerlendirmektir.

Çalışmaya gebeliği boyunca herhangi bir problemi olmayan 45 asemptomatik normal gebe ve 43 preeklampsili gebe alındı. Olgulardan alınan maternal plazma örneklerinden PCR-RFLP (Polymerase Chain Reaction- Restriction fragment length polymorphism) tekniği ile 20. Kromozom uzun kolu üzerinde bulunan ADA geninin 8. kodon kısmındaki 22.nükleotidinin G (Guanin)'den A (Adenin)'e dönmesi ile karakterize gen polimorfizmi incelendi. Her iki gruptan elde edilen verilerin istatistiksel analizi fisher exact test ve ki-kare testleri ile yapıldı.

Her iki grup arasında psikososyokültürel ve demografik özellikler açısından fark saptanmadı. Kontrol grubundaki adenzin deaminaz gen polimorfizmi oranı %8.9 iken, preeklampsi grubundaki adenzin deaminaz gen polimorfizmi oranı %4.5 olarak saptandı. Preeklampsi grubu ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark izlenmedi. ( $p>0.05$ , Odds ratio: 0.9 [%95 confidence interval:0.485-1.693])

Çalışmanın sonucunda preeklampitik hastalardaki immünolojik

patogenetik süreçlerin bir mediatörü olarak düşünülen ve pürin metabolizmasının en önemli enzimi olan adenzin deaminaz üreten ADA genindeki polimorfizmin, preeklamptik hastalarda farklı olmadığı görülmüştür. Maternal plazma ADA düzeyleri ile ilgili yapılan bir çok çalışma olmasına rağmen, literatürde preeklamptik hastalarda ADA gen polimorfizmini ilk defa araştıran bu çalışma ile, preeklampsinin patogenezinin için yapılacak ileri dönem araştırmalara bir katkı sağlayabileceğimizi mit ediyoruz.

**Anahtar kelimeler:** Adenzin deaminaz, Preeklampsi, Polimorfizm.

## SUMMARY

### **Adenosine Deaminase Gene Polymorphism in Preeclampsia**

Pre-eclampsia, has an important place in hypertensive disorders of pregnancy which is a multisystem disorder and characterized by many clinical manifestations as hypertension and proteinuria. Despite numerous investigations on the etiopathogenesis is not yet fully understood, decreased placental perfusion resulting genetic, immunological and inflammatory factors known to be affected.

Increased cellular immunity in preeclampsia, one of the basic mediators like adenosine deaminase (ADA) is an enzyme involved in purine metabolism, which catalyzes the irreversible deamination of adenosine and 2'-deoxyadenosine to inosine and 2'-deoxyinosine, respectively. This ubiquitous enzyme is widely distributed in human tissues, which may play a central role in the differentiation and maturation of the lymphoid system. Depending on the increase of cellular immunity in preeclampsia, earlier studies found increased levels of adenosine deaminase. The purpose of this study was to evaluate adenosine deaminase gene polymorphism in preeclamptic patients.

45 asymptomatic pregnant without any problems throughout pregnancy and 43 preeclamptic patients were included in the study. Maternal plasma samples obtained from these cases by PCR-RFLP (Polymerase Chain Reaction- Restriction fragment length polymorphism) technique. We investigated the ADA gene -located on the long arm of chromosome 20-codon 8, G22A polymorphism (Asp8Asn). Statistical analysis of the data obtained from each group, Fisher's exact test and chi-square tests were performed.

Between the two groups did not differ in terms of the social, cultural and demographic characteristics. Adenosine deaminase gene polymorphism rate of 8.9% in the control group, while the adenosine deaminase gene

polymorphism in preeclampsia group was 4.5%. There was no is a statistically significant difference between preeclampsia group and control group. ( $p > 0.05$ , odds ratio: 0.9 [95% confidence interval :0.485-1 .693])

As a result of the study, patients with preeclampsia a mediator of immunological pathogenic processes thought to be the most important enzyme in purine metabolism is that adenosine deaminase, polymorphisms in the gene that produces the ADA, did not differ in patients with preeclampsia. Although a lot of study in maternal plasma levels of the ADA, the ADA gene polymorphism in patients with preeclampsia in the literature, this study investigates for the first time, we think that this study can provide a contribution to researches to explain the pathogenesis of preeclampsia in advanced stage.

**Key words:** Adenosine deaminase, Preeclampsia, Polymorphism.

## GİRİŞ

Gebelik insanoğlunun en temel ve doğal fizyolojik süreçlerinden bir tanesidir. Bu süreç içerisinde oluşabilecek çeşitli komplikasyonlar, ne yazık ki istenmeyen sonuçlar doğurabilir. Gebelikle birlikte görülen hipertansif bozukluklar obstetri pratiğinde sık karşılaşılan bir sorundur. Maternal morbidite ve mortalitenin önemli nedenleri arasında (1) yer alan gebeliğe bağlı hipertansif bozukluklar tüm gebeliklerin %8-10'unda görülür. Amerika Birleşik Devletleri'nde sağlık istatistikleri ulusal merkezinin (National Center for Health Statistics) verilerine göre gebeliğin eşlik ettiği hipertansiyon en sık görülen tıbbi risk faktörüdür (2). Ülkemizde her yıl sağlık istatistikleri yıllığı yayınlanmasına rağmen ne yazık ki bu konu ile ilgili sağlıklı bir veri yoktur (3). Doğum öncesi sağlık hizmetlerinden faydalanamayan veya ulaşılabilir sağlık hizmetleri olduğu halde takipsiz olarak gebeliğini sürdürenlerde, gebelikle ilişkili hipertansif bozukluk riski daha da artmıştır. Ülkemiz gibi gelişmekte olan bir ülke için koruyucu sağlık hizmetlerinin önemi, gebelikle ilişkili hipertansif bozukluklar için dikkate değerdir.

Preeklampsi, gebelikte hipertansiyona proteinürinin eşlik etmesi ile karakterize, maternal morbidite ve mortaliteyi artıran, etyolojisi tam olarak aydınlatılamamış ciddi bir sağlık problemidir. Onyıllarca yapılan yoğun çalışmalara rağmen gebelikle ilişkili hipertansif bozukluklar, modern obstetrinin bütünüyle çözüme kavuşmamış en önemli ve güncel konuları arasında yer alır. Damar endotel hasarı ve vazospazmın preeklampsi patofizyolojisinde önemli rol oynadığı düşünülmektedir. Preeklampside görülen endotelyal disfonksiyonun nedeni bilinmemekle birlikte, gebeliğe karşı abartılı maternal sistemik inflamasyonun bir parçası olduğu düşünülmüştür (4). Preeklampside proinflamatuvar sitokinlerin ve CRP düzeylerinin yüksek tespit edilmesi, bu düşünceyi desteklemektedir (5).

Gebelikte semiallojenik olarak değerlendirebileceğimiz fetus uterusu implante olur ve fetoplazental yapının oluşması ile proinflamatuvar uyarı başlar. Erken gebelikte oluşan lokal inflamatuvar yanıt, normal plasantasyon



için önemlidir. Plasentasyon esnasında salınan sitokinler, spiral arterlerin trofoblast invazyonunu kolaylaştırır. Preeklampside trofoblastik dokuya karşı oluşan abartılı maternal sistemik inflamasyon ise trofoblast invazyonunun yetersiz olmasına neden olur. Böylece plasental kan akımı bozulur ve plasental oksidatif stres artar (6). Preeklampside mevcut olan bu maternal-plasental etkileşim için endotelial hücre disfonksiyonu, immünolojik problemler ve genetik faktörler; major predispozan durumlar olarak görülmektedir (7). Yapılan histolojik ve biyokimyasal çalışmalarda artmış maternal sistemik inflamatuvar cevabın preeklampsideki tetikleyici faktör olduğu öne sürülmüştür. Bu çalışmalarda klinik semptomlar ile maternal inflamatuvar cevap ve plasental iskemi arasında yakın ilişki üzerinde durulmuştur (8).

Adenozin Deaminaz (ADA); adenozinin, inozine ve 2-deoksi adenozinin, 2-deoksi inozine hidrolitik deaminasyonunu katalizleyen bir enzimdir (9). Bu enzim insanda tüm dokularda bulunmakla beraber, özellikle lenfoid sistemde yoğundur ve sellüler inflamasyonun bir indikatörüdür. ADA aktivitesi hematopoetik hücrelerin yüzeyinde saptanmıştır ve T-lenfositlerin yüzeyine yapışır (10). İntrasellüler mikroorganizmaların neden olduğu enfeksiyon hastalıklarında ve hematolojik malignitelerde enzim aktivitesi artar. Tüberküloz gibi bazı hastalıklarda vücut sıvılarında (plevral sıvı) enzim aktivitesinin ölçümü diagnostik bir belirteç olarak kullanılmaktadır (11).

Preeklampside gelişen artmış maternal inflamatuvar cevabın fetüs üzerine etkisi henüz tam olarak net değildir. Preeklampitik gebelerde fetal sirkülasyondaki oksidatif stres belirteçleri ile endotel disfonksiyonu ile ilgili veriler çelişkilidir. Bazı çalışmalar endotelial disfonksiyonun fetal kanıtlarını gösterirken diğer bazı çalışmalar ise preeklampitik gebelerle normal gebeler arasında umbilikal kord kan örneklerinde fark saptamamışlardır (12-14).

Preeklampside meydana gelen immünolojik sistem aktivasyonunda temel rol hücre sel immünitenindir. Hücre sel immünitenin güçlü bir mediatörü olan adenozin deaminaz aktivitesi ile preeklampsi arasındaki ilişki, ilk olarak Yoneyama ve ark. tarafından ortaya atılmıştır (15, 16). Maternal ve fetal plazma ADA aktivitelerinin başlangıç çalışmalarda; preeklampsi

hastalarında, normal gebeliklerle karşılaştırıldığında ADA aktivitesinde anlamlı bir artış saptanmıştır (17). Gebe olmayan kadınlarda, normal gebelere göre maternal plazma ADA aktivitesinin daha düşük olduğu gösterilmiştir, fakat bu sonucun klinik önemi net değildir. Yoneyama ve arkadaşlarının (18) yaptıkları çalışmalarda hafif ve ağır preeklampsili gebelerde plazma ADA aktivitesi anlamlı derecede artmıştır.

Adenozin deaminaz; pürin nükleotidlerinin yıkımında yer alan ve adenozin'in inozin'e çevrimini katalizleyen bir enzimdir. Bu enzim; özellikle lenfoid hücrelerde yüksek oranlarda bulunur ve lenfoid hücrelerin proliferasyon ve matürasyonuna katılır. Serum adenozin deaminaz aktivitesi immün statusun değiştiği sistemik lupus eritematozus, romatoid artrit ve tüberküloz gibi birçok hastalıkta değişir.

Preeklampside hücrel immünitede bir artış meydana geldiğinden serum adenozin deaminaz aktivitelerinde de değişiklik beklenir. Maternal serum adenozin deaminaz seviyelerinin preeklampitik hastalarda değerlendirilmesi literatürde ancak son on beş yıl içerisinde popüler olmuştur. Aynı şekilde preeklampitik hastalarda maternal adenozin deaminaz gen polimorfizmi ise bugüne kadar literatürde hiç araştırılmamıştır. Bu çalışmanın amacı preeklampitik gebelerde maternal adenozin deaminaz gen polimorfizmini araştırmaktır.

## **I. Gebeliğin Hipertansif Bozuklukları**

Gebelikte görülen hipertansif bozukluklar, özellikle gelişmekte olan ülkelerde obstetrisyenlerin sık karşılaştığı bir durumdur. Gebeliğe bağlı maternal morbidite ile mortalitenin önemli bir kısmından gebeliğin hipertansif bozuklukları sorumludur. Birleşik Devletlerde "National high blood pressure education program (NHBPEP)" bünyesinde oluşturulan çalışma grubunca en son 2000 yılında revize edilen son terminolojiye göre, gebelikte 5 tip hipertansif hastalık vardır (19) (Tablo-1).

1. Gestasyonel Hipertansiyon (Daha önce bu tanım Gebeliğin indüklediği hipertansiyon olarak adlandırılırdı.)

2. Preeklampsi

3. Eklampsi

4. Kronik hipertansiyon

5. Kronik hipertansiyon zemininde gelişen preeklampsi

Bu sınıflamadaki temel amaç, gebelikten önce gelişen hipertansif bozukluklar ile bundan çok daha kötü bir prognozu olan preeklampsinin birbirinden ayrılmasıdır.

Hipertansiyon, kan basıncının 140/90 mm Hg'nın üzerinde olması durumudur. Burada diyastolik kan basıncını belirlemede Korotkoff faz V kullanılır. Normal gebeliklerin çoğunda ödem geliştiğinden, ödem artık tanı kriteri olmaktan çıkarılmıştır.

#### **I.A. Gestasyonel Hipertansiyon**

Daha öncesinde herhangi bir hipertansiyon öyküsü olmayan hastanın gebeliğinde proteinüri yokken, kan basıncının ilk kez 140/90 mm Hg veya üzerinde ölçülmesi gestasyonel hipertansiyon tanısı koydurur. Gestasyonel hipertansiyonlu hastalar gebelikten sonraki 12 haftada normal tansiyon değerlerine ulaşırlar. Dolayısı ile sınıflamada kesin tanı sadece postpartum olarak konulabilir. Bununla birlikte bu hastalarda epigastrik ağrı ve trombositopeni gibi preklampsi ile ilişkili belirti ve bulgular gözlenebilir.

Proteinüri preklampsiye spesifik bir durumdur. Hipertansiyona proteinürinin eşlik etmesi ile birlikte anne ve fetüs açısından risk katlanarak artar. Gestasyonel hipertansiyonda proteinüri gelişmediği halde özellikle fetüs açısından dikkatli davranılmalıdır (20).

**Tablo-1:** Gebeliği komplike eden hipertansif bozuklukların tanısı (19).

<b>Gestasyonel hipertansiyon</b>
<ul style="list-style-type: none"><li>• Kan basıncı <math>\geq 140/90</math> mm Hg (Gebelik süresince ilk kez ortaya çıkan)</li></ul>
<ul style="list-style-type: none"><li>• Proteinüri yok</li></ul>
<ul style="list-style-type: none"><li>• Kan basıncı postpartum 12.haftaya kadar normale döner.</li></ul>
<ul style="list-style-type: none"><li>• Kesin tanı postpartum konabilir.</li></ul>
<ul style="list-style-type: none"><li>• Preeklampsinin diğer belirtileri olabilir. (Epigastrik ağrı, trombositopeni)</li></ul>
<b>Preeklampsi</b>
Minimum kriterler:
<ul style="list-style-type: none"><li>• 20.gestasyon haftasından sonra kan basıncı <math>\geq 140/90</math> mm Hg</li></ul>
<ul style="list-style-type: none"><li>• Proteinüri <math>\geq 300</math>mg/24 saat veya <math>\geq +1</math> dipstick</li></ul>
Preeklampsi açısından artmış kesinlik:
<ul style="list-style-type: none"><li>• Kan basıncı <math>\geq 160/110</math> mm Hg</li></ul>
<ul style="list-style-type: none"><li>• Proteinüri 2gr/24 saat veya <math>\geq +2</math> dipstick</li></ul>
<ul style="list-style-type: none"><li>• Serum kreatinin <math>&gt;1.2</math> mg/dL</li></ul>
<ul style="list-style-type: none"><li>• Trombosit sayısı <math>&lt;100000</math> mm<sup>3</sup></li></ul>
<ul style="list-style-type: none"><li>• Mikroanjyopatik hemoliz (Artmış LDH)</li></ul>
<ul style="list-style-type: none"><li>• AST (Aspartat aminotransferaz) ve ALT (Alanin aminotransferaz) yüksekliği</li></ul>
<ul style="list-style-type: none"><li>• Sebat eden başağrısı veya serebral/görsel rahatsızlık</li></ul>
<ul style="list-style-type: none"><li>• Sebat eden epigastrik ağrı</li></ul>
<b>Eklampsi</b>
<ul style="list-style-type: none"><li>• Preeklamptik bir kadında başka bir nedenle açılanamayan konvülsiyonlar</li></ul>
<b>Kronik Hipertansiyon</b>
<ul style="list-style-type: none"><li>• Gebelikten önce veya 20.gestasyon haftasından önce kan basıncı <math>\geq 140/90</math> mm Hg veya,</li></ul>
<ul style="list-style-type: none"><li>• İlk olarak 20.gestasyon haftasından sonra saptanan ancak postpartum 12. haftadan sonra devam eden hipertansiyon</li></ul>
<b>Süperempoze preeklampsi (Kronik hipertansiyon varlığında)</b>
<ul style="list-style-type: none"><li>• Hipertansif gebede yeni başlayan proteinüri <math>\geq 300</math>mg/24 saat (20.gestasyon haftasından önce proteinüri yoktur.)</li></ul>
<ul style="list-style-type: none"><li>• 20. gebelik haftasından önce proteinürisi ve hipertansiyonu olan kadında proteinüri veya kan basıncında ani artış veya trombosit sayısı <math>&lt;100000</math> mm<sup>3</sup></li></ul>

## I.B. Preeklampsi

Tüm bilim dünyasının kabul ettiği klasik tanıma göre preeklampsi, vazospazm ve endotelial aktivasyona sekonder olarak azalmış organ perfüzyonu ile karakterize gebeliğe spesifik bir sendromdur. Tanıda minimum kriterler proteinüri ve hipertansiyondur. Proteinüri yokluğunda preeklampsi tanısı şüphelidir (21). Hipertansiyon ve proteinüri tanısı ne kadar ağır olursa, preeklampsi tanısı da o kadar kesinlik kazanır. Tablo-2'de belirtildiği gibi preeklampsi, hafif ve ağır olmak üzere iki grupta değerlendirilebilir. Renal, hepatik ve hematolojik sistem anormallikleri preeklampsi tanısına kesinlik kazandırır ve ağır preeklampsi tanımını netleştirir. Bu bulguların şiddeti ölçüsünde gebeliğin sonlandırılması gerekliliği de o denli artar. Burada en önemli nokta, hafif ve ağır preeklampsi arasındaki ayrımın her zaman net olarak yapılamayacağıdır. Nitekim görünürde hafif başlayan bir hastalık, kısa sürede acil doğum kararı aldirtacak kadar ağır bir tabloya dönüşebilir.

**Tablo-2:** Gebeliğin hipertansif bozukluklarında tablonun ağırlaştığının gösteren göstergeler.

<b>ANORMALLİK</b>	<b>HAFİF PREEKLAMPSİ</b>	<b>AĞIR PREEKLAMPSİ</b>
Diyastolik kan basıncı	<100 mm Hg	≥110 mm Hg
Proteinüri	Eserden – (+1)'e	Sebat eden +2 veya üzeri
Başarısı	Yok	Var
Görme bozuklukları	Yok	Var
Üst karın ağrısı	Yok	Var
Oligüri	Yok	Var
Konvülsiyon (Eklampsi)	Yok	Var
Serum kreatinin	Normal	Artmış
Trombositopeni	Yok	Var
Karaciğer enzimlerinde artış	Minimal	Belirgin
Fetal büyüme kısıtlılığı (IUGR)	Yok	Belirgin
Pulmoner ödem	Yok	Var

Gebelikte proteinüri ve hipertansiyon birlikteliği, perinatal morbidite ve mortalite oranlarını belirgin derecede yükseltir (22). Aksine hipertansiyonun eşlik etmediği proteinüri durumlarında ise genellikle altta yatan maternal bir nefropati durumu mevcuttur ve neonatal sonuçlar oldukça iyidir (23). +2 veya üzerinde sebat eden veya 24 saate toplanan idrarda 2 gramdan fazla proteinürinin saptanması ağır preeklampsinin geliştiğini gösterir. Bu durumda ağır renal tutulum ile birlikte glomerüler filtrasyon yetersiz kalarak plazma kreatinin seviyesi yükselebilir.

### **I.C. Eklampsi**

Preeklampsik bir kadında başka bir nedenle açıklanamayan konvülsiyonlar görülmesine eklampsi adı verilir. Nöbetler doğum öncesi, doğum esnasında veya doğum sonrası görülebilirler. Grand mal tipte, generalize tonik klonik karakterde nöbetler izlenir. Postpartum görülen nöbetler nadirdir ve eğer gelişecek olursa genellikle postpartum ilk 48 saat içerisinde ortaya çıkar.

### **I.D. Kronik Hipertansiyon Zemininde Gelişen Preeklampsi**

Nedeni ne olursa olsun bütün hipertansif bozukluklar preeklampsi veya eklampsi gelişmesine uygun bir ortam oluştururlar. Bu tür bozukluklar, özellikle gebeliğin ilk yarısında takipsiz olan gebeler için ciddi problem oluşturabilir. Çünkü bu durumda kronik hipertansiyon tanısının konması güçleşir.

Altta yatan kronik hipertansiyon tanısı için kriterler aşağıda belirtildiği gibidir.

- Gebelik öncesi hipertansiyonun zaten mevcut olması. ( $\geq 140/90$  mm Hg) Bu durumda gebelik sonrası da hipertansiyon devam edecektir.
- Gebelik öncesi hastanın hipertansiyonu yokken, 20. gestasyon haftasından sonra ortaya çıkan  $\geq 140/90$  mm Hg kan basıncı değerlerinin saptanması ve postpartum 12. haftadan sonra da hastada hipertansiyonun sebat etmesi

Kronik hipertansiyonlu hastalarda genellikle esansiyel hipertansiyona dair güçlü bir aile öyküsü mevcuttur. Gebeliğin ikinci yarısından itibaren kan basıncı hem normotansif gebelerde hem de hipertansif gebelerde bir miktar

düŒer. Kronik vasküler hastalığı olan bir gebe ilk kez 20. gestasyon haftasından sonra görölüyorsa eğer bu durumda hastanın kan basıncı normal olsa dahi yakın ve dikkatli izlem gerektirir.

Gebelikte ortaya çıkan hipertansiyonun birçok nedeni olabilir (24). Fakat bu hastaların %90'ında altta yatan vasküler hastalığın nedeni esansiyeldir. Kronik hipertansif gebelerde %25 oranında süperempoze preeklampsi görölür. Çoğunlukla süperempoze preeklampsi, saf preeklampsiye göre gebeliğin daha erken dönemlerinde ortaya çıkar ve olguların çoğunda fetal intrauterin gelişme geriliği ile sonuçlanan ciddi klinik tablolara yol açar.

Kronik hipertansif bir gebede 20. gestasyon haftasına gelene kadar proteinüri yokken yeni başlayan bir proteinürinin meydana gelmesi (300 mg/24 saat) durumunda süperempoze preeklampsi tanısı konulur. Diğer bir kriter ise 20. gestasyon haftasından önce proteinürisi ve hipertansiyonu mevcut olan gebede ani başlayan kan basıncı artışı, ani başlayan proteinüri miktarının artışı veya trombositopeni ( $<100000/\text{mm}^3$ ) olması durumunda yine süperempoze preeklampsi tanısı konulur. Teşhiste altta yatan hipertansiyonu net olarak tanımlamak gerekir. Süperempoze preeklampside kan basıncının giderek artması tipiktir fakat 26-28.gestasyon haftalarında gebelerde hem sistolik hem de diastolik kan basınçlarının zaten bir miktar artması fizyolojiktir. Hastalığın tanısı dikkatli konulmalı ve hastalığın ağırlık derecesinin belirleyen bulgular dikkatlice gözden geçirilmelidir (Tablo-2).

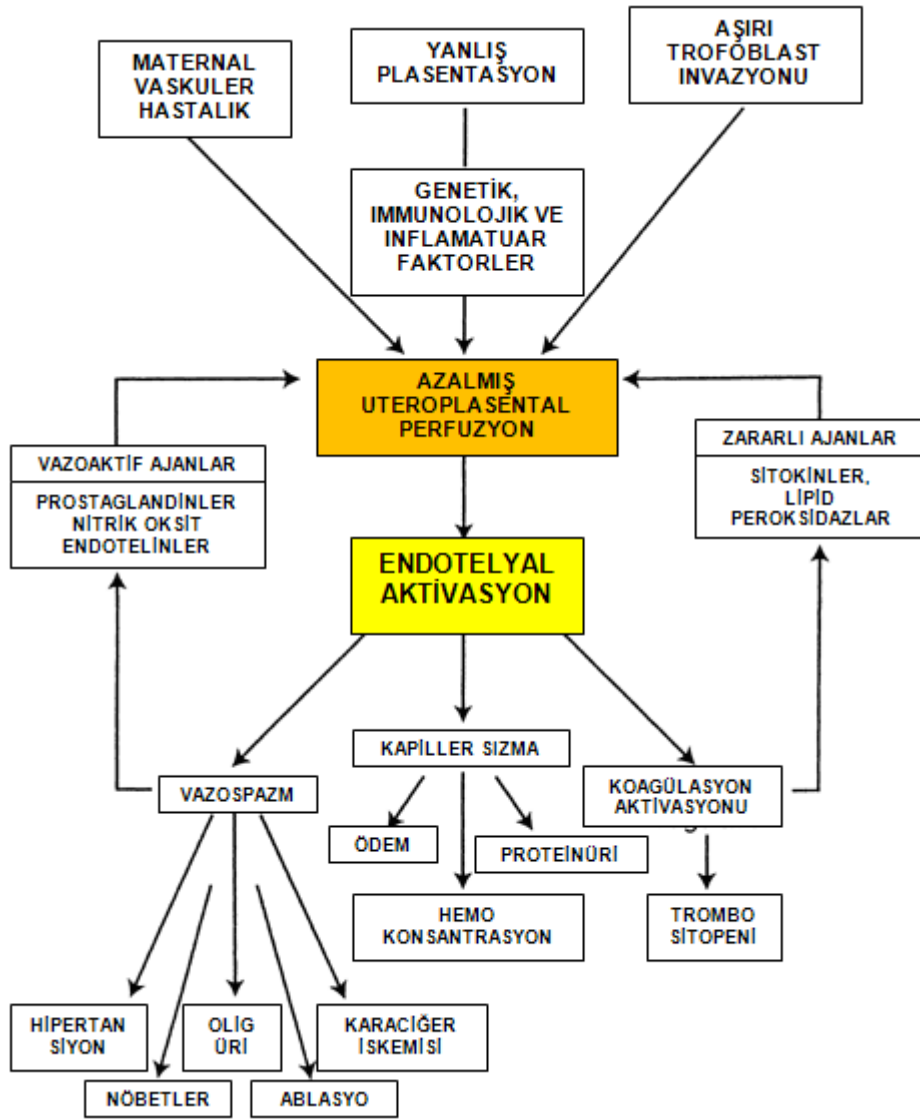
### **I.E. Preeklampsinin Patofizyolojisi**

Gebeliğin hipertansif bozuklukları ve özellikle preeklampsinin neden ortaya çıktığı, yıllar boyunca obstetrimin modern gelişim süreci ile birlikte araştırmacıları ilgilendirmiştir. Preeklampsi ve beraberindeki diğer gebeliğin hipertansif bozuklukları; obstetrimin halen üzerinde en çok durulan, araştırılan bir konusudur. Bütün bu yoğun araştırmalara rağmen patofizyolojik süreç tüm basamakları ile aydınlatılamamıştır. 1900'lü yıllarda modern obstetrimin babası J. Whitridge Williams (25), meşhur kitabında preeklampsinin patofizyolojisinden bahsederken kanda dolaşan zehirli bir maddeden söz etmiş, bu maddenin çeşitli organ sistemlerinde trombozu ve sonrasında

nekrozu tetikleyerek preeklampsi kliniğini oluşturduğunu belirtmiştir. 1918 de Volhard'ın (26) histolojik olarak birçok dokuda yaptığı çalışmalarla preeklampsinin patofizyolojisinde temel noktanın, vazospazm olduğu belirtilmiştir. Bu görüş bugün de halen benimsenmektedir. Vasküler daralma, kan akımına karşı dirence yol açar ve böylece arteryel hipertansiyon gelişir. Vazospazmın neden olduğu endotel hücre hasarı ile meydana gelen hipoksi, sonuçta hemoraji, nekroz ve uç organ sistemlerinde geri dönülmez hasarlara yol açar (27). Bugün için preeklampsi patogenezinde çeşitli vazopressörler, prostaglandinler, nitrik oksit, endotelinler, vasküler endotelial büyüme faktörü gibi birçok faktör ile genetik predispozisyon, inflamatuvar ve immünolojik faktörlerin rol aldığı artık bilinmektedir (28).

Etyopatogenezi bugüne kadar net aydınlatılamamış olsa da günümüze kadar yapılan birçok araştırma sonucunda, preeklampsi patogenezindeki temel nokta, endotelial hücre aktivasyonunu gibi görünmektedir. Şekil-1'de görüldüğü gibi preeklampside, spiral arterlerin aşırı trofoblastik invazyonu, yanlış plasantasyon, maternal vasküler hastalık gibi faktörler; genetik, immünolojik ve inflamatuvar nedenlerle komplike olur. Tüm bu faktörlerin etkisi ile uteroplazental perfüzyon azalır, maternal dolaşıma çeşitli faktörler salınır ve vasküler endotelial aktivasyon tetiklenir (29). Endotelial hiperaktivasyonla birlikte hastada geri dönüşümsüz hasarlar gelişebilir. Vazospazma bağlı olarak hipertansiyon, oligüri ve karaciğer iskemisi gelişir. Beyindeki vazospazm konvülsiyonları tetikleyebilir. Plasentadaki hipoperfüzyon ise ablatio placentae riskini arttırır. Damarlardaki kapiller sızma kanı hemokonsantre eder ve beraberinde ödem ve proteinüri geliştirir. Koagülasyonun aktive olmasıyla ise trombositopeni gelişir. Gelişen bu patofizyolojik süreçler sonunda vazoaaktif ajanlar olan prostaglandinler, endotelin ve nitrik oksit miktarları artar. Aynı zamanda zararlı ajanlardan lipid peroksidazlar ve çeşitli sitokinler artarak azalmış uteroplazental perfüzyonu daha da azaltır.





**Şekil-1:** Gebeliğe bağlı hipertansif bozuklukların gelişmesinde patofizyolojik kusurlar.

### I.F. Preeklampside İnflamatuar ve İmmünolojik Faktörler

Son yıllarda immünolojik ve inflammatuar sistemlerin, preeklampsi patogeneziindeki önemi üzerinde durulmaya başlanmıştır. Defektif trofoblastik invazyonun yanı sıra, immün cevabın disfonksiyonu preeklampsinin ortaya çıkmasında etkin olabilir. Sistemik dolaşımda yabancı fetal antijenlere karşı aşırı maternal inflammatuar cevap, trofoblastik invazyonun daha yüzeysel kalması ve proinflammatuar sitokinlerin artışı ile sonuçlanan bir durum ortaya çıkarmaktadır (30). Artan apoptozis, trofoblastların invazyon kapasitesinde bozulmalara yol açar. İnflamatuar reaksiyonlar sırasında oluşan TNF-alfa ve

interlökinler, preeklampsideki oksidatif strese katkıda bulunurlar (6). Preeklampsi ve fetal intrauterin gelişme geriliğinde serbest oksijen radikallerinin arttığı bilinmektedir. Bu radikaller, lipid peroksidlerin oluşmasına neden olur. Toksik radikallerin oluşmasıyla birlikte endotel hasarı gelişir ve nitrik oksit'in (NO) endotelial üretimi azalır (31). Preeklampside, gebeliğin sonlarına doğru antioksidan defansın yetersizliğine bağlı olarak, trofoblastlarda apoptozis artar ve plasental vasküler reaktivite değişir. Tüm bunların sonucunda oksidatif stres, aterosisin karakteristik bulgusu olan lipid yüklü makrofajların (köpük hücreleri) üretimini tetikler. Mikrovasküler koagülasyon aktive olur ve trombositopeni meydana gelir. Artmış kapiller permeabiliteye bağlı olarak ödem ve proteinüri ortaya çıkar (24).

### **I.G. Preeklampsi ve İmmün Sistem**

Gebelik ürünü olan ve semiallojenik olarak değerlendirilen fetüsün gebelik boyunca nasıl hayatta kalabildiği her zaman merak konusudur. Fetüsün annenin immünolojik mekanizmaları ile neden harap edilmediği hakkında özellikle son yarım yüzyıl birçok araştırma yapıldıysa da konunun halen gizemini koruduğu açıktır. 1960'lı yıllarda ortaya atılan antijenik immatürite teorisine göre; embriyo veya fetüsün, maternal olarak tanınabilecek kadar matür bir antijenik potansiyel taşımadığı düşünülüyordu. Fakat Billingham'ın (32) çalışmaları transplantasyon antijenleri olan Human lökosit antijenler'in (HLA) embriyonik yaşamın çok erken evrelerinde bile var olduğunu göstermiştir. İlerleyen yıllarda gebe kadınların immünolojik yanıtının azaldığı ve hatta fetusa karşı olan immünolojik yanıtın körelmiş olabileceği hakkında teoriler oluşturulmuştur. Günümüz için kısmen doğru olsa da, bu durumun gebelik ürününün immünolojik olarak kabulünde yardımcı bir faktör olmaktan öteye gidemeyeceği anlaşıldı. Bir başka açıklama ise gebelik endometriyumu olan desiduanın immünolojik olarak ayrıcalıklı ve özel bir doku olduğunu öne sürüyordu. Ne var ki basit bir mantıkla bile ektopik gebeliklerin mevcudiyeti göz önüne alındığında bu düşüncenin de durumu net olarak açıklayamadığı ortadadır. Sonuçta ulaşılan nokta şudur ki gebelikteki immünolojik faktörler sadece uterusu değil, doğal olarak başka dokuları da etkiler. Bu nedenle gebelik ürününün

immünolojik olarak kabulü ve sonrasında hayatta kalabilmesi, desiduanın değil de trofoblastların immünolojik özellikleri ile ilişkilendirilmelidir. Bugün gelinen son noktada, trofoblastlardaki HLA sisteminin ekspresyonu üzerinde tartışılmaktadır (33).

HLA genleri 6.kromozom kısa kolunda yerleşen major histocompatibility complex'in (MHC) çok sayıdaki genetik loküs ürünüdür (34). 17 adet class I HLA geni bulunmaktadır, bunlar 3 tane klasik gen içerir. Bu üç klasik gen; HLA-A, B ve C, major class I(a) transplantasyon antijenlerini şifrelemektedir. Diğer genler; HLA E, F ve G class I(b) antijenlerini şifreler. Kalan DNA serileri ise yalancı genler veya parsiyel gen parçalarıdır.

İmmünolojik sistemin gebelik ürünü olan embriyo veya fetüsü nasıl olup da kabul ettiği hakkındaki son bilgiler aşağıdaki gibidir.

a) Gestasyonun tüm evrelerinde trofoblastlardaki MHC class II antijenleri bulunmamaktadır. Örneğin farelerde blastokist implantasyonundan önce trofoektoderm üzerinde düşük düzeyde MHC class I antijeni eksprese edilmektedir. Fakat bu antijenler implantasyon esnasında kaybolurlar ve daha sonra da ortaya çıkmazlar (35). Gestasyon ilerledikçe, blastokistin iç hücre kitlesindeki hücreler hem class I hem de class II HLA antijenlerini geliştirirler.

b) Normal implantasyon, desidua ve spiral arterler üzerinde kontrollü trofoblast invazyonuna bağlıdır. Buradaki mekanizma hem trofoblast invazyonuna izin verir hem de trofoblast invazyonunu kısıtlar. King ve Loke (36) böyle bir sistemin, trofoblastlarda spesifik monomerik HLA class I gen ekspresyonuna ve uterin büyük granüler lenfositlere ihtiyaç duyduğunu ileri sürmüşlerdir.

c) Sitotrofoblastlardaki class I antijenleri, HLA-G için tek bir genin ekspresyonundan sorumludur. Killburn ve ark. (37) HLA-G monomorfik olduğu zaman bu antijenin kendisi olarak tanınacağını ve bu yüzden maternal immün hücrelerden, HLA-G ekspresyonunu gerçekleştiren fetal trofoblastlara karşı immünolojik yanıtın oluşmayacağını göstermişlerdir.

d) Uterusta naturel killer (NK) hücre soyundan gelen ve kemik iliği kökenli olan büyük granüler lenfositlerin, desiduada immün takipte primer sorumluluğu yüklendikleri görülmüştür. Bu hücrelerin trofoblast invazyonunu

düzenlediği saptanmıştır. Blastokist implantasyonu ile birlikte büyük granüler lenfositler, gebeliğin ilk haftaları boyunca desiduada kalırlar. Termde ise desidua içindeki sayıları giderek azalır. Büyük granüler lenfositler granülosit/makrofaj stimüle eden faktör (GM-CSF) salgırlarlar. Jokhi ve ark. (38) özellikle ilk trimesterde aktif olan büyük granüler lenfositlerin salgıladıkları GM-CSF'nin trofoblast apoptozisini engellediğini göstermişlerdir.

e) Preeklampsili kadınlarda ekstravillöz trofoblastlarda anormal HLA-G ekspresyonuna dair kanıtlar bulunmuştur (39). HLA-G ekspresyonu sadece insanlarda gerçekleşir ve sadece desidua bazalis içindeki ekstravillöz trofoblastlarda ve koryon leave'de bulunmaktadır. Le Boteiller ve ark. HLA-G'nin anne ile fetus arasında yanlış antijen eşleşmesine izin verdiğini öne sürmüşlerdir (40).

f) Blastokist trofoektoderminin yaklaşma ve yapışma yoluyla endometriyum yüzeyine tutunması ve ardından desiduanın sitotrofoblastlar tarafından invazyonu iki temel faktöre bağlıdır. Birincisi; trofoblastların spesifik proteinazları işlemesi sonucu desiduadağı seçilmiş ekstrasellüler matriks proteinleri azalır. İkincisi ise trofoblastların desiduya göçmesi ve tutunması hızlandırılır ki bu sürece integrin değışikliğı denilir. Nitekim hücrenin ekstrasellüler matriks proteinlerine bağlanabilmesindeki çok çeşitlilik, integrin sistem yoluyla mümkün olabilmektedir.

g) 1990'lı yıllarda trofoblastların desiduya tutunmasında adeta bir trofoblast tutkalı olarak görev alan onkofetal fibronektinin tanımlanması ile bu molekül üzerinde bir çok araştırma yapılmıştır. Feinberg (41), transforming growth faktör- $\beta$  'nın (TGF- $\beta$ ) onkofetal fibronektin sentezini desteklediğini saptamıştır. TGF- $\beta$ 'nın implantasyon ve desidualizasyonun birçok evresinde gerekli olduğu kanıtlandığına göre, onkofetal fibronektinin de bu süreçteki önemi anlaşılmış olur. Fakat sonraki yıllarda onkofetal fibronektinin preterm doğum patofizyolojisindeki önemi anlaşılınca dikkatler de doğal olarak o yöne çevrilmiştir (42).

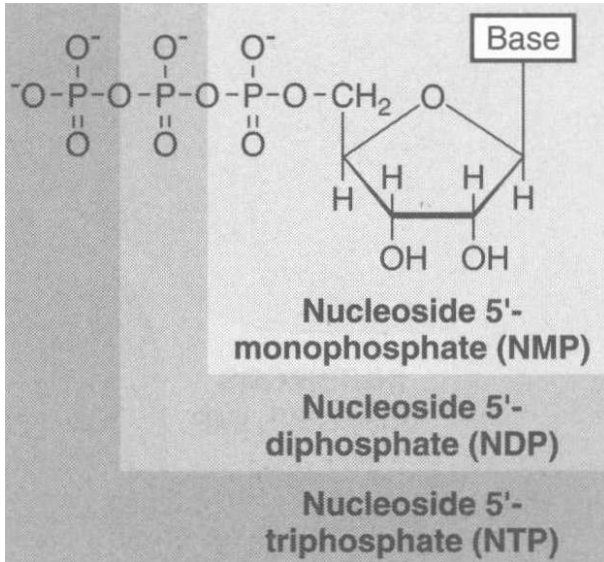
#### **I.H. Adenozin Deaminaz Enzimi ve Gen Polimorfizmi**

Adenozin deaminaz (ADA) enzimi; pürin katabolizmasında yer alan, adenozinin inozine çevrilmesinde görevli önemli bir enzimdir. Tüm dokularda

olmasına rağmen, özellikle de lenfoid sistemde yer alan ADA sellüler immünitinin önemli bir indikatörüdür. Adenozin deaminaz enziminin pürin metabolizmasındaki önemini anlamak için nispeten karışık bir konu olan pürinler ve pirimidinler hakkında kısa bir hatırlatma yapılacaktır.

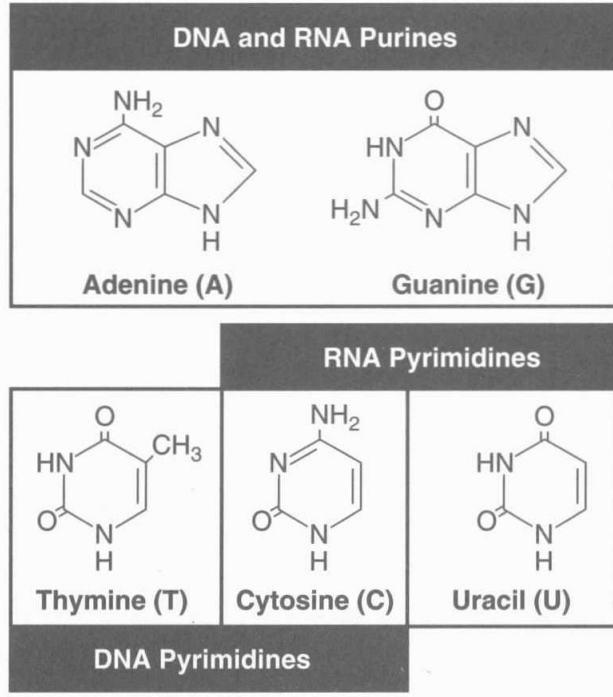
### I.H.a. Nükleotid, nükleozid, pürin, pirimidinlere genel bakış

Ribonükleozid ve deoksiribonükleozid fosfatlar yani nükleotidler bütün hücreler için mutlaka gerekli olan “esansiyel” maddelerdir. Bunlar olmadan ne DNA ne de RNA sentezlenebilir. Dolayısıyla proteinler sentezlenemez ve hücreler prolifer olamazlar. Nükleotidlerin yapısında bir azotlu baz, bir pentoz monosakkariti ve fosfat grubu (1, 2 veya 3 tane fosfat) bulunur. (Şekil-2) Azot içeren bazlar ikiye ayrılır. Pürinler ve Pirimidinler.



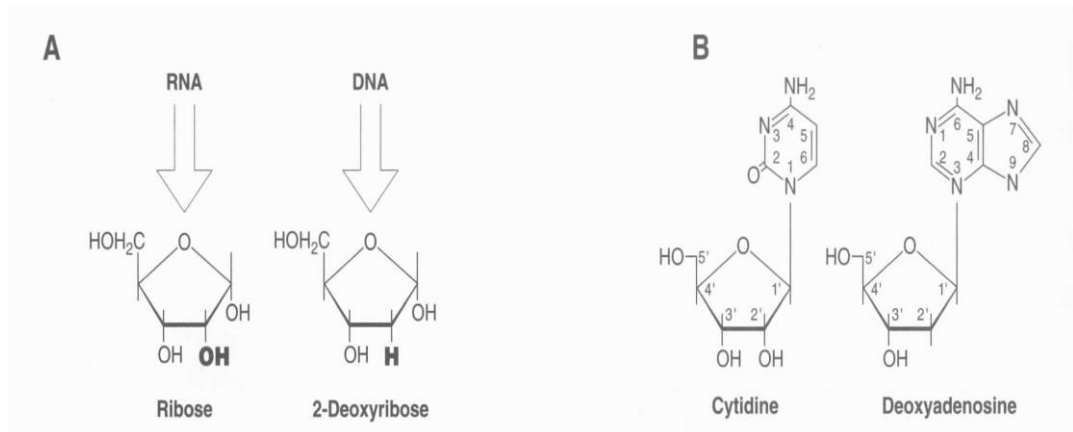
**Şekil-2:** Nükleozid mono-, di- ve trifosfatlar.

Hem DNA, hem de RNA da bulunan pürin bazları aynıdır. Adenin (A) ve Guanin (G). Pirimidin bazlarından ise Sitozin (C) hem DNA hem de RNA da bulunur. İkinci pirimidin bazları ise farklıdır. DNA da Timin (T) bulunurken, RNA'da Urasil (U) bulunur. T ve U arasındaki tek fark, bir metil grubudur. T'de metil grubu varken U'da yoktur (Şekil-3).



**Şekil-3:** DNA ve RNA'da bulunan pürin ve pirimidinler.

Bir bazla pentoz birleşince bir "Nükleozid" meydana gelir. A, G, C, T ve U ribonükleozidlerine sırasıyla; adozin, guanozin, sitidin, timidin ve üridin denir. Eğer şeker birimi ribozsa, bir "ribonükleozid"; eğer bu şeker 2-deoksiribozsa bir "deoksiribonükleozid" meydana gelir. (Şekil-4)



**Şekil-4:** Nükleotidlerin yapısı A) Nükleik asitlerde bulunan pentoz. B) Pürin ve pirimidin içeren nükleozidlerde numaralama sistemine ait örnekler.

Nükleotidler, nükleozidlerin mono, di veya trifosfat esterleridir. Fosfat grubu, pentozun 5'-OH grubuna bir ester bağı ile bağlanmıştır. Bu bileşiğe

“nükleozid 5'-fosfat” veya “5'-nükleotid” denir. Pentoz cinsi ise ön ek ile belirtilir. (5'-ribonükleozid veya 5'-deoksiribonükleotid gibi). De novo pürin nükleotid sentezinde sırası ile aşağıdaki reaksiyonlar gerçekleşir.

a)5'-Fosforibozil-1-Pirofosfat (PRPP) sentezi

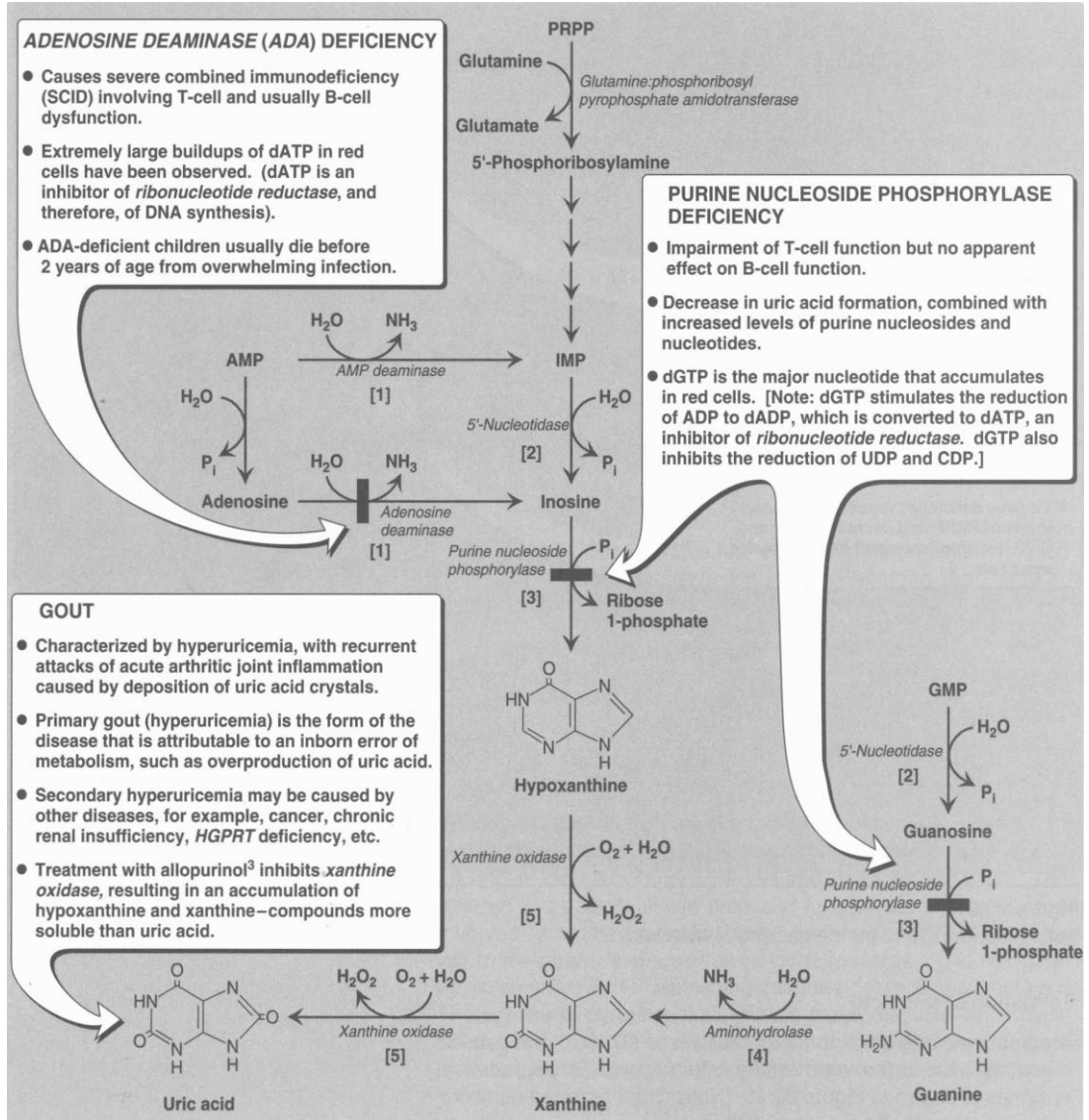
b)5'-Fosforibozilamin sentezi

c)İnozin Monofosfat (İMP) sentezi

d)İMP'den AMP ve GMP oluşumu

e)Nükleozid monofosfatlardan nükleozid difosfat ve trifosfatların oluşumu

Adenozin deaminaz enziminin fonksiyonu pürin nükleotidlerinin yıkımında ortaya çıkmaktadır. Pürin nükleotidleri, nükleotidi oluşturan bileşenlerin sırayla ayrılması sonucu yıkılır. İnsanlarda pürinlerin katabolizması sonucu oluşan son ürün “ürik asit” tir. Primatların dışındaki memelilerde ürik asit allantoin'e oksitlenir. Allantoin ise bazı memelilerde üre hatta amonyağa parçalanabilir. Pürin nükleotidlerinin ürik asite yıkımı ve bu yolla ilgili genetik hastalıklar şekil-5'te gösterilmiştir.



**Şekil-5:** Pürin nükleotidlerinin ürik aside yıkımı. Bu yolla ilgili bazı genetik hastalıklar gösterilmiştir.

Şekilde de görüldüğü gibi adenzin deaminaz enzimi pürin nükleotidlerinin yıkımında yer alan ve adenzinin inozine ve 2-deoksi adenzinin 2-deoksi inozine hidrolitik deaminasyonunu katalizleyen bir enzimdir (43-44). Bu enzim; özellikle lenfoid hücrelerde yüksek oranlarda bulunur ve lenfoid hücrelerin proliferasyonu ile matürasyonuna katılır. Fizyolojik olarak enzimin rolü tam olarak anlaşılammış olsa da adenzin deaminaz, sellüler immünitenin bir indikatörü gibi görünmektedir. ADA aktivitesi hematopoetik hücrelerin yüzeyinde saptanmıştır. ADA T-lenfositlerin yüzeyine yapışır (45). Bazı hastalıklarda vucut sıvılarında enzim aktivitesinin

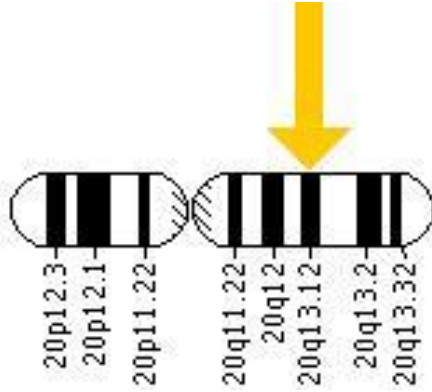


ölçümü diagnostik bir belirteç olarak kullanılmaktadır. İntrasellüler mikroorganizmaların neden olduğu enfeksiyon hastalıklarında ve hematolojik malignitelerde enzim aktivitesi artar (46). Serum Adenozin deaminaz aktivitesi immün statusun değiştiği Sistemik Lupus Eritematozus, Romatoid Artrit ve Tüberküloz gibi birçok hastalıkta değişir.

#### **I.H.b. Adenozin deaminaz enziminin genetik referansı ve adenozin deaminaz gen polimorfizmi**

Adenozin deaminaz enziminin bilim camiasında kabul görmüş resmi sembolü “ADA” şeklindedir (47). ADA geninin sitogenetik lokasyonu 20 kromozomun uzun kolundaki 13.12 pozisyonudur. (Şekil-6)

ADA geni, adenozin deaminaz enziminin üretiminden sorumlu enzimdir. Bu enzim vucutta tüm hücrelerde bulunmasına rağmen en çok immün sistemde, özellikle de lenfoid sistem ve lenfositlerde bulunur. ADA 70’den fazla mutasyon tanımlanmıştır. Bu mutasyonların sonucunda ADA yetmezliği ve eksikliği oluşur ki buna meşhur ismiyle “Ağır kombine immün yetmezlik (Severe combined immun deficiency)” denilir.



**Şekil-6:** ADA geninin sitogenetik lokasyonunu gösteren şekil (20q13.12).

Bilindiği üzere insan genomunda genetik hastalığa yol açan DNA dizilim farklılıklarına mutasyon, genetik hastalığa yol açmayan DNA dizilim farklılıklarına ise polimorfizm denir. Mutasyonlar, polimorfizmlere göre çok daha nadirdir. Polimorfizmlerde oluşan DNA dizim farklılığı bireylerin %1-3’ünü etkiler. Her ne kadar polimorfizmlerin genetik hastalık oluşturma potansiyeli yoksa da, çeşitli hastalıklar için risk faktörü oluşturabilirler. Ayrıca

polimorfizmler kişinin hastalığa yakalanma riskinin, hastalığa verdiği yanıtın ve ilaçlara karşı gözlenen yan etkilerin farklı olmasından sorumludur. Dolayısıyla gendeki polimorfik bölgeler genetik marker olarak kullanılabilir. Preeklampitik hastalardaki ADA gen polimorfizmini araştırmamızın nedeni de budur.

ADA aktivitesi ile preeklampsi arasındaki ilişki ilk olarak Yoneyama ve ark. tarafından ortaya atılmıştır (12, 13). Preeklampside hücrel immünitede bir artış meydana geldiğinden Serum Adenozin deaminaz aktivitelerinde de değişiklik beklenir. Maternal ve fetal plazma ADA aktivitelerinin başlangıç çalışmalarında preeklampsi hastalarında normal gebeliklerle karşılaştırıldığında ADA aktivitesinde anlamlı bir artış saptanmıştır. Gebe olmayan kadınlarda, normal gebelere göre maternal plazma ADA aktivitesinin daha düşük olduğu gösterilmiştir, fakat bu sonucun klinik önemi net değildir. Yoneyama ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmalarda hafif ve ağır preeklampsili gebelerde plazma ADA aktivitesi anlamlı derecede artmıştır. Preeklampsili veya diğer gestasyonel çeşitli problemleri olan hastalarda adenozin deaminaz seviyeleri bir çok çalışmada araştırılmış olmasına rağmen, adenozin deaminaz gen polimorfizmine hiç değinilmemiştir. Bu çalışmanın amacı preeklampitik hastalarda adenozin deaminaz gen polimorfizmini değerlendirmektir.

## GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamıza 1 Temmuz 2010 – 1 Nisan 2011 tarihleri arasında Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum kliniğinde yatarak tedavi edilen 43 preeklampsi tanılı gebe ve gebeliği boyunca herhangi bir problemi olmayan 45 normal asemptomatik gebe alındı. Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı Araştırma Etik Kurulu tarafından 20.07.2010 tarihinde 2010-5/17 sayılı karar numarası ile çalışma onaylandı. Çalışmaya alınan tüm olgular ayrıntılı olarak bilgilendirildi hastalara yazılı aydınlatılmış onam formları imzalatıldı.

Çalışma grubuna alınan hastalar için çalışmaya alınma kriteri; Amerika Birleşik Devletleri Ulusal Sağlık Enstitüsü (National Institute of Health), NHLBI (National Heart, Lung and Blood Institute), Ulusal yüksek tansiyon eğitim programı çerçevesinde (National High Blood Pressure Education Program) oluşturulan kriterlere göre preeklampsi tanısı almış olmak olarak belirlendi.

Kontrol grubundaki hastalar için çalışmaya alınma kriterleri; 20.gestasyonel haftadan önce kan basıncının normal seyretmesi, gebelik öncesinde herhangi bir renal patolojinin veya hipertansiyon durumunun olmaması, gebenin gestasyon haftasının erken gebelik USG'si ile doğrulanması, tekil gebelik olması, sigara kullanımının olmaması, fetal anomalinin olmaması, glukoz tarama testinin normal olması olarak belirlendi.

Çalışmaya katılmak istemeyen ya da katılıp sonradan vazgeçen hastalar, doğum yapmamış kadınlar, sistemik bir hastalığı olan kadınlar, kronik hipertansiyonu olan kadınlar, gestasyonel hipertansiyon saptanan kadınlar, çalışma dışında bırakıldı.

Çalışmaya dahil edilen tüm olguların yaş, gravida, parite, abortus, gelir düzeyleri, eğitim ve mesleki durumları kaydedildi. Gelir düzeyleri düşük orta ve yüksek olarak 3 gruba ayrıldı. Mesleki durum ve eğitim durumları sınıflandırıldı. Tüm hastaların gestasyon haftaları son adet tarihine göre ve ultrasonografik olarak belirlendi. Çalışma grubundaki hastalar preeklampsi

tanısı aldıktan sonra kendi aralarında hafif ve ağır preeklampsi olara iki gruba ayrıldılar. Aseptomatik olan kontrol grubundan farklı olarak, preeklampsi grubunda hastaların hastanede kalış süreleri hesaplandı.

## **I. Gereçler**

Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı ile koordineli olarak yürütülen çalışmada sırasıyla; santrifüj (Hermle-Z300K), spektrofotometre (Eppendorf Biophotometer), hassas terazi (CAS), su banyoları (Nüve-ST402), otomatik pipetler (Eppendorf), buzdolabı (Indesit), Jel görüntüleme cihazı (Biosens-SC805), yatay elektroforez tankı (EC-320 Minicell), derin donducu (Beko), vorteks (Boeco V1 plus), mikrodalga fırın (Arçelik), elektroforez (EC250-90, E-C Apparatus Corporation), thermal cyler (Applied Biosystems-GenAmp 9700) adlı teknik malzeme ve cihazlar kullanıldı. Kullanılan gereçler ise; Taq Polimeraz (Dr.Zeydanlı), Taq I kesim enzimi (Fermentas), Magnezyum Klorür (MgCl<sub>2</sub>) (Dr.Zeydanlı), Tris Baz (Amresco), EDTA (Sigma), Proteinaz K (Dr.Zeydanlı), Brom Fenol Mavis (Fermantas), Etidyum Bromür (Dr.Zeydanlı), PCR Tamponu (Dr.Zeydanlı), Marker DNA (Fermantas), Primerler (Alpha DNA), Deoksinükleosit Trifosfat Seti (Dr.Zeydanlı), Agaroz (Sigma), Saf Etanol (Dr.Zeydanlı), DNA izolasyonu, PCR ve elektroforez ile ilgili diğer kimyasal maddeler (Dr.Zeydanlı)

## **II.Yöntem**

### **II.A. DNA İzolasyonu**

Hasta ve kontrol grubundan genotip tayinleri için -20°C'de saklanan EDTA'lı tüplerden yaklaşık 2 cc'lik kan örneği alındı. DNA izolasyonu için 2 cc EDTA'lı kan, steril falkon tüpüne aktarıldı ve üzerine 1:3 oranında (6 cc) "lysis buffer" ilave edildi. Tüp, birkaç defa ters yüz çevrilerek iyi bir şekilde karıştırıldıktan sonra +4°C'de 15 dakika bekletildi. Oluşan nükleer pelleti çöktürmek için dakikada 1500 devirde 10 dk santrifüj edildi ve oluşan süpernatant döküldü. Pellet yeniden süspanse edildi. İkinci bir yıkama için

yine 6 ml “lysis buffer” eklendi ve 10 dk 1500 rpm’de santrifüj edildi, süpernatant atıldı ve pellet tamamen süspanse edildi. Bundan sonraki aşamalarda Dr.Zeydanlı DNA izolasyon kiti prosedürü uygulandı. Süspanse olmuş örnek 1,5 ml’lik nükleaz içermeyen tüp içine alınarak üzerine 500 µl solüsyon B ve 20 µl solüsyon A eklendi. Karışım vortekslenerek 42°C’de 2 saat inkübe edildi. İnkübasyon sonrası üzerine 500 µl solüsyon C eklenip vortekslenerek 10.000 rpm’de 5 dk santrifüj edildi. Oluşan iki fazdan üstteki berrak faz alınarak temiz 1,5 ml’lik nükleaz içermeyen tüpe konuldu. Üzerine 500 µl solüsyon D konuldu. 10.000 rpm’de 10 dk santrifüj edildi. Oluşan süpernatant atılarak üzerine 500 µl solüsyon E konulup 10.000 rpm’de 5 dk santrifüj edildi. Süpernatant atılarak tüpler kurumaya bırakıldı. Kuruduktan sonra 100 µl distile su eklenerek çalışılma zamanına kadar –20°C’de saklandı.

### **II.B. Polimeraz Zincir Reaksiyon (PCR) Protokolü**

PCR yöntemi, genomik DNA’nın sıcaklığın etkisiyle çift zincirinin tek zincir hale gelmesi sonrasında uygun sıcaklıkta ilgili primerlerin ilgili primer bölgesine yapışması ve DNA Taq polimeraz enzimi katalizörlüğünde ortamdaki dört deoksinükleotid trifosfatın (adenin, guanin, sitozin, timin) yeni zincire eklenmesi sonucunda ilgili gen bölgelerin çoğaltılması temeline dayanmaktadır.

Bu çalışmada izole edilen DNA’larda ADA genindeki kodon 8 (G22A) polimorfizmi belirlemek için PCR (Polymerase Chain Reaction) yöntemi kullanılarak genotiplenme yapıldı. Bunun için PCR reaksiyonu karışımı hazırlandı. Yaklaşık 25 µl’lik PCR karışımı 0,2 ml’lik PCR tüpünde aşağıdaki sıra ile karıştırıldı (Tablo-3) .

**Tablo-3:** PCR reaksiyonu karışımı için kullanılan malzemeler ve miktarları.

	<b>Kullanılan malzeme</b>	<b>Miktar</b>
1)	dNTP (10 mM)	0,3 µL
2)	10x PCR Buffer (Magnezyumlu)	2,5 µL
3)	10 pmol/ml primer forward	1,0 µL
4)	10 pmol/ml primer reverse	1,0 µL
5)	Distile su	16,0 µL
6)	Genomik DNA	4,0 µL
7)	Taq polimeraz enzimi (5 ünite/µl)	0,2 µL

ADA genindeki kodon 8 (G22A) polimorfizmini içeren 397 baz çiftlik bölgeyi çoğaltmak için F:5'- GCCCGGCCCGTTAAGAAGAGC -3' ve R:5'- GGTC AAGTCAGGGGCAGAAGCAGA -3' primerleri kullanıldı (48).

Tüplerde bulunan reaksiyon karışımı PCR yapılmak üzere PCR cihazına yerleştirildikten sonra belirlenen program uygulandı. ADA genindeki kodon 8 (G22A) polimorfizmi için PCR döngü programı olarak tablo-4 belirtilen sıcaklık ve süreler kullanılarak PCR işlemi PCR cihazında gerçekleştirildi.

**Tablo-4:** PCR Döngü Programı.

Kapak sıcaklığı (Cihaz tipine özel)	103 <sup>0</sup> C
1) Başlangıç denatürasyonu	94 <sup>0</sup> C 5 dakika
2) Denatürasyon	94 <sup>0</sup> C 1 dakika
3) Annealing	66 <sup>0</sup> C 1 dakika
4) Extention	72 <sup>0</sup> C 1 dakika
5) Son extention	72 <sup>0</sup> C 1 dakika
*2, 3 ve 4 işlemler sırasıyla 35 siklus	

### **II.C. Jel Elektroferez Protokolü**

Agaroz Jel Elektroferezi, DNA ve PCR ürünlerinin ayrılması ve tanımlanması için kullanılan standart bir metotlardan biridir. Bu çalışmada PCR ile çoğaltılmış ürünlerin tanımlanması için %2'lik agaroz jel elektroferezi

uygulandı. %2'lik jel hazırlanması için 5 mL 10xTris-Borik Asit-EDTA (TBE) solüsyonu 45 ml distile su ile beher içinde karıştırıldı. Karışımın içine 1 gr agaroz eklendi. Çözelti mikrodalga fırında "medium" ayarında agaroz çözününceye kadar ısıtıldı. Eriyen jel içine 3 µL etidyum bromid eklenerek karıştırıldı. Jel, elektroforez aparatına dökülerek soğumaya bırakıldı. Elektroforez tankı, 1xTBE ile doldurularak jel yürütme işlemine hazır hale getirildi. PCR ürünleri brom-fenol mavisini ile muamele edilerek agaroz jele yüklendi. 90-100V akımda 15 dk kadar ilerletildi.

#### **II.D. Restriksiyon Enzim Kesimine Bırakılması**

PCR reaksiyonu sonucu ürün elde edilenler genotip tayini için için Taq I (Fermentas) kesim enzimi kullanıldı.

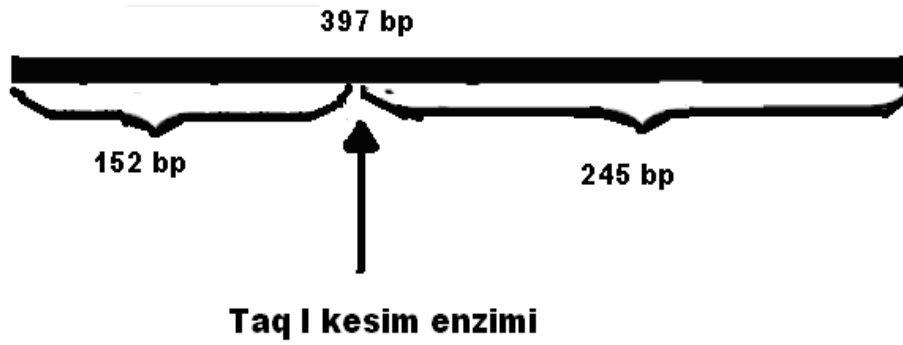
0,2 ml'lik tüplere 10 µl hacimdeki PCR ürünü, 2 µl restriksiyon enzim bufferı, 8 µl distile su ve her birey için 5 ünite/µl Taq I kesim enzimi olacak şekilde karışım hazırlandı. Karışım enzimin optimum çalışma sıcaklığı olan 65°C'de 14–16 saat inkübasyona bırakıldı. Restriksiyon enzim kesim sonuçları % 2'lik agaroz jelde değerlendirildi. Bu jel için 1 gr agaroz tartılıp 1XTBE solüsyonu ile 50 ml total hacme tamamlandı. Agaroz istenilen konsantrasyonda hazırlandıktan sonra mikrodalga fırında kaynatıldı. İçerisine 3 µl etidyum bromid ilave edildi. İyice karıştırıldıktan sonra jel aparatına döküldü. Taq-I enzimi ile kesim yapılmış ürünlere brom-fenol mavisini ile muamele edilerek jele yüklendi. 90-100V akımda 15 dk kadar ilerletildi.

#### **II. E .Genotiplerin Belirlenmesi**

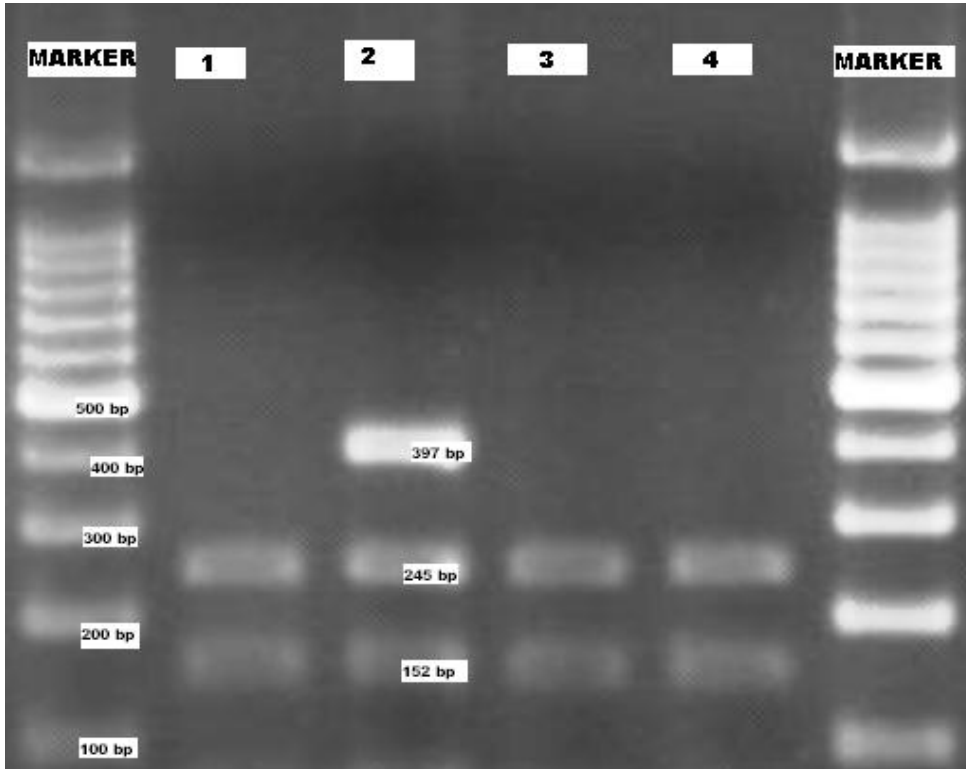
İnsanda adenozin deaminaz geni 20. Kromozomun uzun kolunda yer almaktadır (20q13.11) ve gen ürünü ekson 1'deki 22. nükleotidin G veya A olmasına göre değişir. Nükleotid G olursa oluşan aminoasit Asp olur. Nükleotid A olursa oluşan aminoasit Asn olur.

Yürütülen ürünler ultraviyole ışığında değerlendirilmiştir. ADA genine ait ait 397 bp'lik PCR ürünüden Taq-1 restriksiyon enzimiyle 245 bp ve 152 bp iki ayrı ürün oluşursa G/G genotipi (Asp/Asp alleli) adı verildi. 397bp, 245 bp ve 152 bp üç ayrı ürün oluşursa G/A genotipi (Asp/Asn alleli) ve 397 bp PCR ürünüde kesim olmaz ise A/A genotipi (Asn/Asn alleli) olarak belirlendi (Şekil-7). ADA genindeki kodon 8(G22A) polimorfizminin agaroz jel

görüntüsü Şekil-8'de görülmektedir.



**Şekil-7:** 397 bp'lik PCR ürününün Taq I enzimi için kesim noktasını okla gösterimi. Üründe G alleli varlığında enzimle kesim sonrası iki ayrı ürün oluşurken (G/G fenotipi=Asp/Asp alleli), A alleli varlığında enzimle kesim olmamaktadır (A/A fenotipi=Asn/Asn alleli).



**Şekil-8:** ADA genindeki kodon 8 (G22A) polimorfizmi için yapılan PCR-RFLP ürünlerinin Taq I enzim kesimi sonrası %2'lik agaroz jeldeki görüntüsü. İlk ve son kuyucuk 100 bp DNA ladder (Marker), 1,3 ve 4 nolu kuyucuklar G/G genotipine (245bp ve 152 bp) , 2 nolu kuyucuk G/A genotipine (397bp, 245bp ve 152 bp) sahip bireyleri göstermektedir.



### **III. İstatistiksel Analiz**

Sonuçların istatistiksel değerlendirilmesi, SPSS (Statistical Package for Social Sciences) for Windows 16.0 programı kullanılarak yapıldı. Analizler sırasında Fischer exact test ve ki-kare testleri kullanıldı.  $P < 0.05$  değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

## BULGULAR

Çalışmaya dahil edilen 88 olgunun yaş ortalaması  $30.2\pm 4.3$ , gravida  $2.5\pm 1.4$  ve ortalama gestasyonel yaşları  $36.6\pm 1.7$  hafta idi. Tablo-5'te çalışmaya alınan hastaların genel demografik özellikleri verilmiştir.

**Tablo-5:** Çalışma ve kontrol grubunun genel demografik göstergeleri.

	<b>Çalışma grubu</b> <b>Ortalama±SD</b>	<b>Kontrol grubu</b> <b>Ortalama±SD</b>	<b>p</b>
<b>Yaş</b>	30.0±4.1	30.4±4.6	NS
<b>Gravida</b>	2.7±1.4	2.6±1.2	NS
<b>Parite</b>	1.1±0.7	1.2±0.9	NS
<b>Abortus</b>	0.9±0.7	0.8±0.9	NS
<b>Gestasyonel hafta</b>	35.6±1.2	37.7±2.2	NS

NS=Nonspesifik ( $p>0.05$ ), SD=Standart deviasyon

Demografik özellik açısından bakıldığında; preeklampsi tanılı 43 gebe ve 45 kontrol grubundaki için için yaş, gravida, parite, abortus sayıları ve gebelik haftaları bakımından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark izlenmedi. ( $p>0.05$ ) Çalışma planını oluştururken preklampsi ile ilgili yapılan araştırmalarda kontrol gruplarının gestasyon haftaları ile preeklampsi gruplarının gestasyon haftalarının genellikle farklı olmasından hareketle, gruplar olabildiğince homojen olarak seçildi ve özellikle 30. gestasyon haftasından önceki olgular mümkün olduğunca çalışma dışı bırakıldı.

Olguların psikososyokültürel durumları tablo-6'da verilmiştir. Buna göre her iki grup arasında mesleki durum, eğitim ve gelir düzeyi bakımından istatistiksel bir fark saptanmadı.

**Tablo-6:** Çalışma ve kontrol grubundaki hastaların psikososyokültürel durum ve gelir düzeyleri açısından karşılaştırılması

		<b>Çalışma grubu (n)</b>	<b>Kontrol grubu (n)</b>	<b>p</b>
<b>MESLEKİ DURUM</b>	Ev hanımı	29	25	NS
	Çalışıyor	12	20	NS
<b>EĞİTİM</b>	İlköğrenim	17	18	NS
	Lise	15	15	NS
	Üniversite	13	12	NS
<b>AYLIK GELİR DÜZEYİ</b>	Düşük (<750 L)	13	17	NS
	Orta (750-1500 L)	16	16	NS
	Yüksek (>1500 L)	14	12	NS

NS=Nonspesifik (p>0.05)

Çalışmaya alınan toplam 88 olgunun adenozin deaminaz geni PCR-RFLP (Polymerase Chain Reaction- Restriction Fragment Length Polymorphism) teknikleri ile ayrıntılı olarak incelendi. 20.kromozomda lokalize olan ADA genindeki 8. Kodon G22A polimorfizmi açısından bakıldığında 88 hastanın 5'sinde polimorfizm saptandı. Bunlardan 3 tanesi kontrol grubunda, 2 tanesi ise preeklampsi grubundaydı. Kontrol grubundaki adenozin deaminaz gen polimorfizmi oranı %7.3 iken, preeklampsi grubundaki adenozin deaminaz gen polimorfizmi oranı %4.5 olarak saptandı. Preeklampsi grubu ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark izlenmedi (p>0.05, Odds ratio: 0.9 [%95 confidence interval:0.485-1.693]) (Tablo-7).

**Tablo-7:** Preeklampsi grubu ve kontrol grubu arasındaki adenozin deaminaz (ADA) genotip frekansları, Odds ratio:Preeklampsi grubu / Kontrol grubu

	ADA GENOTİP FREKANSI			Toplam
	Asp/Asp (G/G genotipi)	Asp/Asn (G/A genotipi)	Asn/Asn	
<b>Kontrol Grubu</b>	42* (%92.7)	3 (%6.6)	0 (%0)	45
<b>Preeklampsi Grubu</b>	41 (%95.4)	2 (%4.6)	0 (%0)	43

\*p>0.05, Odds ratio: 0.9 (%95 confidence interval:0.485-1.693)

Genotip açısından değerlendirdikten sonra allel sıklığı açısından da değerlendirme yapıldı. Bilindiği üzere polimorfizm bir toplumda sadece tekrarlayan mutasyonlarla sürdürülmeyecek oranlarda var olan, nadir sıklıktaki, devamlılık göstermeyen iki veya daha fazla genetik özelliğin birlikte oluşumu durumudur. Eğer toplumun %2 veya daha fazlası nadir bir alleli taşıyorsa, bu durum polimorfiktir. Adenozin deaminaz geninin allelleri Asp alleli ve Asn allelidir. Adenozin deaminaz genotipi allel sıklığı açısından izlendiğinde de preeklampsi grubu ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark izlenmedi (p>0.05, Odds ratio: 0.9 [%95 confidence interval:0.574-1.673]) (Tablo-8).

**Tablo-8:** Preeklampsi grubu ve kontrol grubu arasındaki adenzin deaminaz (ADA) allel frekansları, Odds ratio: Asn alleli taşıyıcıları / Asn alleli taşımayanlar

	ADA ALLEL FREKANSI		Toplam
	Asp	Asn	
<b>Kontrol Grubu</b>	87* (%96.7)	3 (%3.3)	90
<b>Preeklampsi Grubu</b>	84 (%97.6)	2 (%2.4)	86

\*p>0.05, Odds ratio: 0.9 (%95 confidence interval:0.574-1.673)

Her ne kadar preeklampsi grubu ile kontrol grubu arasında adenzin deaminaz geni polimorfizmi ve ADA allel frekansı açısından herhangi bir fark saptanmadıysa da preeklampsi grubukendi içerisinde değerlendirildiğinde 43 hastanın 23'ü ağır preeklampsi, 20'si ise hafif preeklampsi hastasıydı. ADA gen polimorfizmi saptanan 2 hasta da hafif preeklampsi grubundaydı. Ağır preeklampsi olan 23 gebede adenzin deaminaz gen polimorfizmi saptanmadı. Ağır preeklampsi grubunda hiç ADA gen polimorfizmi saptanmadığından istatistiksel analize gerek duyulmadı.

## TARTIŞMA VE SONUÇ

Adenozin deaminaz enzimi uzun süredir bilinmesine rağmen preeklampsi ile muhtemel bir ilişkisinin olması yönünde bir araştırma ilk kez 1996'da, Japonya'dan Yoneyama ve arkadaşları (49) tarafından yayınlandı. Bu tam da preeklampsi patogeneğinde immün sistemin rolünün iyiden iyiye tartışıldığı bir döneme gelmesi itibari ile fazlasıyla yankı buldu. Bu çalışmada direk olarak adenozin deaminaz enzimi düzeyleri ölçülmemiş, umbilikal ven adenozin düzeylerine bakılmıştır. 34. gestasyon haftasında 39 preeklampsili gebeye, öncesinde uterin arter doppler ultrasonografi uygulandıktan sonra kordosentez yapılmış ve fetal umbilikal venden kan gazı değerlendirmesi ile adenozin düzeyleri bakılmıştır. Yoneyama ve ekibi doppler ultrasonografide anormal pulsatilite indeksi saptanan preeklampsili hastaların fetal umbilikal ven plazma adenozin düzeylerinin de anlamlı ölçüde yüksek olduğunu gözlemledi. Böylece; preeklampsili hastalarda uteroplental yetmezlik giderek ağırlaşır fetal distrese neden olmadan, fetal plazma düzeylerinde artışın saptanmasının erken tanı ve tedavide etkin olabileceğini öne sürmüşlerdir. Şüphesiz preeklampsili hastaya kordosentez yapmak birçok sorunu da beraberinde getirecektir. Sonuçta gelinen noktada; preeklampsili hastada umbilikal kord ve plasentada plazma adenozin düzeylerinin arttığı net bir şekilde gösterilmiştir.

İlk çalışmalarda öncelikle plazma adenozin düzeyleri üzerinde duran araştırmacılar, sonradan adenozin deaminaz enzimini de araştırmışlardır. 1999 yılında Suzuki ve ark. (50) preeklampsili hastalarda maternal plazma adenozin düzeylerini değerlendirdikleri çalışmalarını yayınladılar. Her ne kadar çalışmaya alınan preeklampsili hasta sayısı sadece 16 ise de, bu hastaların hepsinde maternal plazma adenozin düzeylerinin anlamlı derecede artmış olduğunu saptadılar. ( $0.85 \pm 0.18$  vs  $0.54 \pm 0.12$  mmol/L) Bu durumun uterin arter doppler dalga formunda saptanan protodiyastolik çentik ile birlikte değerlendirilebileceği düşündüler. Plazma adenozin düzeylerinin preeklampsili hastalarda, normal hastalara göre daha fazla yüksek olduğunu

saptayan bu araştırmacılar doğal olarak asemptomatik normal gebelik ve asemptomatik normal bir kadındaki adenozin düzeylerini merak ettiler. Yoneyama'nın çalışmasında (51) 3.trimesterde 34 normal gebe ve herhangi bir Őikayeti olmayan 34 normal kadın değerlendirilmiştir. Plazma adenozin düzeyleri gebe grupta anlamlı derecede artmıştır ( $0.59\pm 0.08$  vs  $0.18\pm 0.04$  mmol/L).

Maternal plazma adenozin seviyelerinin hem normal gebelik hem de preeklampsili hastalarda arttığını gören Suzuki ve Yoneyama (52), ikiz gebeliklerde de aynı durumun gözlenebileceğini ileri sürmüşlerdir. 22 tekil gebelik ve 9 ikiz gebeliği olan hastalarda yapılan araştırmada serum ürik asit ve adenozin düzeylerinin istatistiksel olarak anlamlı ölçüde arttığı gözlemlenmişti. Gebelik sayısı arttıkça da serum düzeyleri de pozitif korele olarak artıyordu. Pürin katabolizmasının ürünlerinde olan ürik asitin artmasını ise, adenozin düzeylerinin artması Şeklinde yorumlandı.

2001 yılında Suzuki ve ekibi (53) ilk çalışmadakine benzer bir Şekilde preeklampsili hastalarda plazma adenozin düzeyini değerlendirdiler. Farklı olarak aynı hastalardan serum ürik asit düzeyi de değerlendirildi. 33-38. gestasyon haftalarındaki 20 preeklampsili ve 22 normal gebenin alındığı çalışmada; plazma adenozin düzeyleri kontrol grubunda  $0.31\pm 0.12$  mmol/L iken preeklampsi grubunda  $0.45\pm 0.11$  mmol/L olarak saptandı. Serum rik asit düzeyleri ise sırası ile  $4.4\pm 0.69$  mg/dL ve  $5.9\pm 0.60$  mg/dL olarak belirlendi. Preeklampsi grubundaki fark istatistiksel olarak anlamlıydı. Çalışmada ayrıca her iki grupta da serum ürik asit düzeyi ve plazma adenozin düzeyleri arasında anlamlı düzeyde korelasyon görüldü. Sonuçta preeklamptik hastalardaki hiperüriseminin kaynağının artmış adenozin düzeyleri olduğu sonucuna vardılar ki, mevcut pürin metabolizması (Şekil-5) yıkımı göz önüne alındığında da durumun bu Şekilde olması gerektiği görülmektedir.

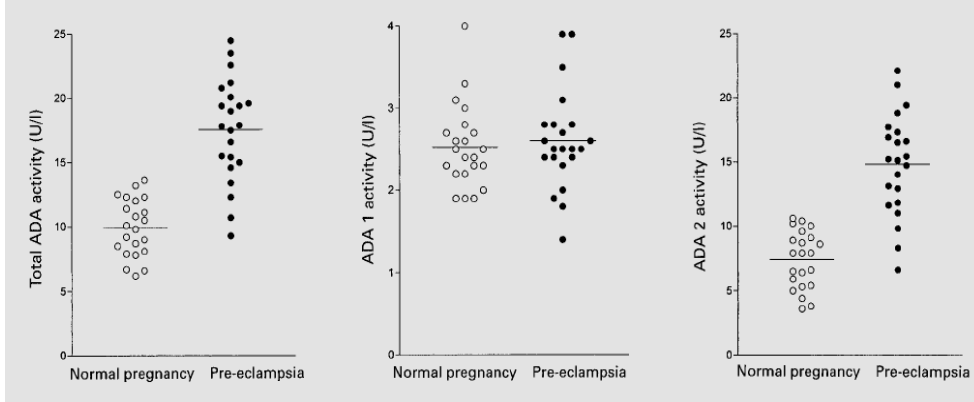
2002 yılında Yoneyama ve ark. (54) yaptıkları çalışmada ilk defa normal gebeliklerde plazma adenozin deaminaz seviyelerini de değerlendirdiler. 3. trimesterde olan 14 normal asemptomatik gebe ve 14 normal asemotomatik kadın üzerinden yapılan çalışmada, gebe grupta

plazma 5'-nükleotidaz ve adenozin düzeyleri anlamlı ölçüde artarken, plazma adenozin deaminaz aktivitesinin azaldığını gözlemlenildi. Pürin katabolizmasında hem 5'-nükleotidaz hem de adenozin deaminaz enzimlerinin aktiviteleri sonrasındaki ürün inozindir. 5'-nükleotidaz inozin monofosfattan (IMP) inozin üretimini katalizlerken, adenozin deaminaz ise adenzinden inozin üretimini katalizler. (Şekil-5) Dolayısıyla normal gebelikte bir enzim düzeyinin artıp, diğerinde azalmanın meydana gelmesini artmış adenozin düzeylerine bağlamışlardır. Aynı araştırmacı ekibi (18) bir yıl sonra ikiz gebeliklerde serum adenozin deaminaz ve plazma adenozin düzeylerini araştırmışlardır. 3.trimesterdeki 11 tekil asemptomatik normal gebe ve 11 dikoryonik ikiz gebelik çalışmaya alınmış, ikiz gebelik grubunda hem adenozin deaminaz, hem de adenozin düzeylerinin anlamlı ölçüde arttığını saptamışlardır. Bir önceki araştırmaları ile karşılaştırıldığında vardıkları kanı; en azından ikiz gebeliklerde, plazma adenozin düzeylerinin artması ile adenozin deaminaz düzeylerinin azalması arasında bir ilişki yoktur şeklinde olmuştur.

Yoneyama ve ark. (12) yaptıkları bu araştırmalardan sonra preeklampsili hastalarda hücresel aracılıklı immünitenin en önemli mediatörlerinden biri olarak düşündükleri adenozin deaminaz ölçümünü direk olarak değerlendirmişlerdir. Araştırmayı daha güçlendirmek için adenozin deaminaz enziminin iki izoformuna da araştırmışlardır. Çünkü adenozin deaminaz enziminin preeklampsili hastalarda arttığını artık bilmekteydi fakat total ADA, ADA-1 veya ADA-2 düzeylerindeki değişiklikler henüz net değildi. İnsan serum ve plazmasında predominant olan enzim ADA-2 olmasına rağmen intraselüler ADA aktivitesinin büyük bir kısmını ADA-1 oluşturur. 28-29.gestasyon haftalarında olan 22 asemptomatik normal gebe ile, 22 preeklampsili gebe çalışmaya alındı. Serum total-ADA, ADA-1 ve ADA-2 düzeyleri ölçülmüş. Ayrıca monosit makrofaj sisteminin aktivasyonunu da değerlendirmek için periferik kan monosit ve neopterin düzeyleri de değerlendirildi. Normal asemptomatik gebe grubu ile karşılaştırıldığında, preeklampsi grubunda serum total ADA ve ADA-2 aktivitesinin (serum neopterin düzeyleri ile birlikte) istatistiksel olarak anlamlı düzeyde arttığı



saptandı. (Şekil-9) Bu bulgular ışığında preeklampside total ADA aktivitesindeki artışın, primer olarak ADA-2 aktivitesindeki artışa bağlı olarak arttığı ve bunun da preeklampsideki hücrel immünite ile ilgili olduğu sonucuna varılmıştır.



**Şekil-9:** Normal asemptomatik gebe (n=22) ve preeklampsili hastalarda (n=22) serum total ADA, ADA-1 ve ADA-2 aktiviteleri. 1. Ve 3. Grafiklerdeki horizontal uzun çizgiler arasındaki belirgin istatistiksel olarak anlamlı farka dikkat ediniz ( $p<0.05$ ).

Yoneyama ve ekibi (55), preeklampside artmış olduğunu saptadıkları adenozin deaminazın, sitokin üreten T-hücreler ile ne tür bir ilişki de olduğunu araştırmak için yaptıkları diğer bir çalışmada 30. gestasyonel haftada 28 normal asemptomatik gebe ve 28 preeklampsili gebeyi değerlendirdiler. Preeklamsi grubunda plazma ADA aktivitesi anlamlı derecede artmıştı. Preeklamsi grubunda interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) üreten hücreler artmışken ve interlökin-4 (IL-4) üreten hücreler ise azalmıştı. ADA aktivitesi ile IFN- $\gamma$  üreten hücreler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon bulundu. Sonuçta T-hücre aracılıklı immünite ile preeklamsi arasındaki güçlü ilişki bir kez daha görülmüştü.

Shinagawa ve ark. (56) ikiz gebelikleri mevcut olup aynı zamanda preeklamptik olan gebelerde adenozin ve endotelin-1 düzeylerini değerlendirmişlerdir. 28-34. gestasyon haftalarında toplam 4 grup oluşturuldu. A grubu:14 tekil gebe, B grubu:9 tekil gebelik+preeklamsi, C grubu:8 dikoryonik ikiz gebelik, D grubu: 6 dikoryonik ikiz gebelik+preeklamsi. Bu gruplarda uterin arter doppler ve maternal arter adenozin ve endotelin-1

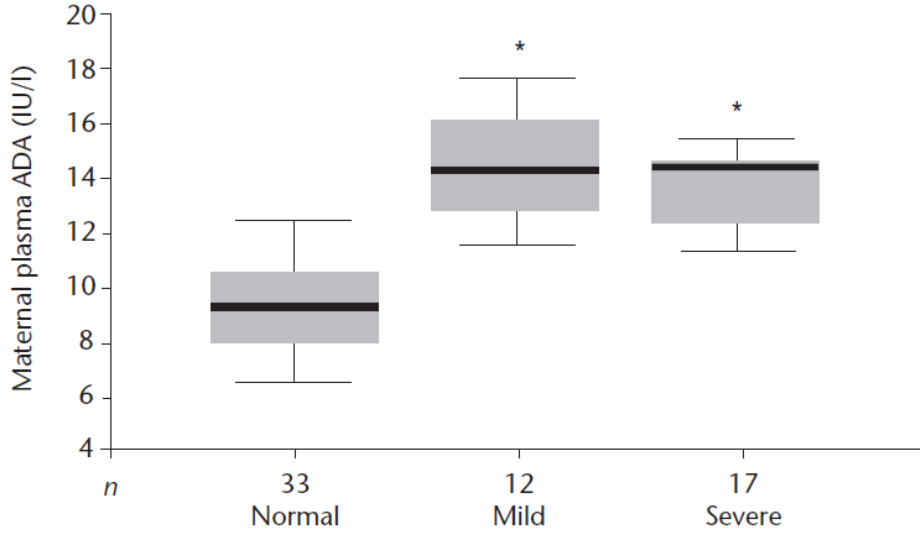
düzeyleri ölçüldü. Bu ölçümlerden çok farklı bulgular ortaya çıktı. Örneğin tekil gebelik+preeklampsi grubunda uterin arter vasküler rezistansı yani pulsatilite indeksi ve maternal plazma adenozin, endotelin-1 düzeyleri artmıştı. Sadece ikiz gebelik grubunda uterin arter vasküler rezistansı, A grubuna göre daha düşüktü. Fakat plazma adenozin seviyeleri A grubuna göre daha yüksekti. D grubunda ise plazma adenozin düzeyleri ve uterin arter vasküler rezistansında değişiklik olmaksızın plazma endotelin-1 konsantrasyonu artar. Bu kadar ayrıntılı araştırmalara rağmen net veriler ortaya konamadığından, tekil veya ikiz gebeliklerde preeklampsi patogenezinde farklı mekanizmaların rol alabileceği sonucuna varılmıştır.

Suzuki ve ark. (57) preeklampitik olmayan ikiz gebeliklerde hücrel immünitinin varlığını saptamak için bir araştırma yaptılar. Buna göre araştırmacılar 14 normal asemptomatik kadın, 23 normal asemptomatik gebe ve 9 ikiz gebelik olgusunu değerlendirdiler. Th-1, Th-2 ve Th-1/Th-2 oranı ölçüldü. Buna göre normal asemptomatik gebelik grubunda Th-1 düzeyi ve Th-1/Th-2 oranı, normal asemptomatik kadınlara göre daha düşüktü. İkiz gebelik grubunda ise yine benzer şekilde Th-1 düzeyi ve Th-1/Th-2 oranı, normal asemptomatik kadınlara göre daha düşüktü. Aynı zamanda ikiz gebelik grubunda Th-1 düzeyi normal gebelere göre de daha düşüktü. Bu bulgular ikiz gebelikte belirgin bir Th-2 hücre immünitinin olduğunun doğruluyordu. Aynı araştırmacı grubu, 2003'te benzer bir araştırma ile preeklampitik olmayan ikiz gebeliklerde adenozinin uterin kan akımı regülasyonundaki rolünü araştırdılar (58). 16 tekil ve 16 ikiz gebeliğin değerlendirildiği araştırmada uterin arter doppler ve maternal plazma adenozin düzeyleri araştırıldı. Tekil gebelik grubunda maternal plazma adenozin düzeyleri ile maternal uterin arter pulsatilite indeksinde negatif korelasyon saptanırken, ikiz gebelik grubunda ise herhangi bir korelasyon bulunamamıştır. Buna göre ikiz gebeliklerdeki vasküler rezistanstaki azalmanın adenozinden bağımsız olabileceği sonucuna varılmıştır.

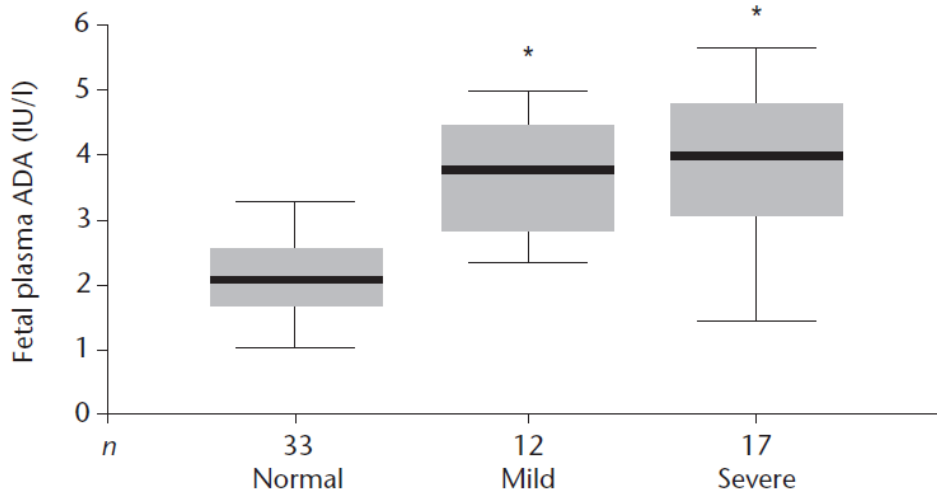
Preeklampsinin patogenezindeki muhtemel immün sistem disfonksiyonları veya bozukluklarına olan ilgi 1990'lı yıllardan sonra giderek artmaya başlamıştır. Yoneyama ve Suzuki gibi araştırmacılar hücrel

immüitenin temel mediatörü gibi düşündükleri ve pürin katabolizmasının temel aktif enzimi olan adenzin deaminaz enzimi üzerinde fazlasıyla durmustur. Türkiye’de ise 2005 yılında Karabulut ve ark. (17) ilk olarak preeklampsi ve immün sistem ilişkisi bağlamında, önceki çalışmalara benzer şekilde preeklampside adenzin deaminaz, ksantin oksidaz ve malondialdehit seviyelerini araştırdılar. Bu çalışmanın güçlü olan yanı, preeklampsi grubundaki hastaların da normal asemptomatik gebe grubuyla benzer haftalarda olmasıydı. Çünkü önceki çalışmalarda preeklampsi grubu mevcut komplikasyonları nedeniyle genellikle 32-34. haftalar arasından seçiliyordu. Dolayısıyla kontrol grubu ya bu haftalar arasındaki gebelerden seçiliyor ya da mecburen miad gebelikler çalışmaya alınıyordu. Karabulut ve ekibinin yaptığı bu çalışmada 37-38. gebelik haftalarındaki 29 preeklampşik gebe ve 33 normal asemptomatik gebe çalışmaya alındı. Hem maternal hem de fetal umblikal plazmada bakılan malondialdehit, ksantin oksidaz ve adenzin deaminaz seviyeleri; preeklampsi grubunda, kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artmıştı. Preeklampsinin patogenezinde oksidatif stresin rol aldığı öteden beri bilinmektedir. Bunun sonucunda artan reaktif oksijen radikalleri ve lipid peroksidasyon ürünleri ile hücre ve membran hasarı ve hatta DNA iplik kırılmaları oluşur. Ortak patogenetik anahtar mekanizma olan endotel hücre disfonksiyonu sonucu lipid peroksidasyon ürünlerinin artar ve antioksidan sistemler devreden çıkar. Oksidatif stresle birlikte malondialdehit seviyeleri artar. Bir diğer durum ise mevcut oksidatif sürece karşı T-hücre aktivasyonu uyarılır. Bunun sonucunda ortaya çıkan artmış adenzin deaminaz, ksantin oksidaz seviyeleri, lökosit aktivasyonunu uyarır. Karabulut ve ark. bu çalışmalarında diğer çalışmalardan farklı olarak, fetal umblikal kandaki adenzin deaminaz seviyelerine de değerlendirdiler. Sonuçta preeklampsi grubunda hem maternal hem de fetal adenzin deaminaz seviyelerinin artması; preeklampşik hastalardaki immünolojik patogenezin ne kadar önemli olduğunu gösteriyordu. Aynı araştırmacılar bir yıl sonra maternal, fetal plazma adenzin deaminaz düzeyleri ile preeklampsi şiddetinin ne kadar korele olabileceğini ve sonuçta neonatal durumun bu süreçten ne düzeyde etkilenebileceğini araştırmak için yeni bir çalışma

planladılar (59). 35-38. gebelik haftalarındaki, 33 normal asemptomatik gebe, 12 hafif preeklampsili gebe ve 17 ağır preeklampsili hastanın alındığı çalışmanın sonuçlar bir miktar şaşırtıcı oldu. Preeklampsisi gruplarındaki hastalarda maternal ve fetal plazma adenoazin deaminaz seviyeleri artmış olması zaten beklenen bir sonuçtu. Fakat ilginç olan ağır preeklampsisi grubu ile hafif preeklampsisi grubunda anlamlı bir farklılık olmamasıydı. (Şekil 10-11) Dolayısıyla hafif preeklampsisi ile ağır preeklampsisinin şiddeti ile adenoazin deaminaz düzeyleri arasında bir ilişkinin olmayabileceği ortaya çıktı. Bütün bunlara ek olarak neonatal sonuçlar ile adenoazin deaminaz seviyeleri arasında da istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon izlenmedi.



**Şekil-10:** Normal gebelik (n=33), hafif preeklampsisi (n=12) ve ağır preeklampsisi (n=17) gruplarındaki maternal plazma adenoazin deaminaz seviyeleri. Preeklampsisi gruplarında ADA seviyesi, normal gebelik grubuna göre anlamlı derecede fazlaydı (59) (\*p<0.001 vs normal gebelik).



**Şekil-11:** Normal gebelik (n=33), hafif preeklampsi (n=12) ve ağır preeklampsi (n=17) gruplarındaki fetal plazma adenozin deaminaz seviyeleri. Preeklampsi gruplarında ADA seviyesi, normal gebelik grubuna göre anlamlı derecede fazlaydı (59). (\*p<0.001 vs normal gebelik).

Bilim tarihi boyunca preeklampsinin patogenezi ile ilgili yapılan onbinlerce araştırma neticesinde birçok nokta açıklığa kavuşmuş olmasına rağmen mekanizma tüm ayrıntıları ile çözümlenememiştir. Geline son noktada; ortak patogenetik mekanizma olan yaygın endotelial hasarın, hangi faktörlerce tetiklendiği artık bilinmektedir. Bu faktörlerden biri olan preeklampsideki artmış immünolojik sistem yanıtı ve beraberindeki hücrel immünite mediatörü olarak düşündüğümüz adenozin deaminaz seviyelerindeki artış son on yılda yapılan bir düzine çalışmayla ortaya konmuştur. (49-59) Mevcut patogenetik sürecin daha özüne indiğimizde adenozin deaminaz enzimini değil de doğal olarak bu enzimin üretiminden sorumlu olan gen olan adenozin deaminaz genini (ADA) buluruz.

Daha önce de belirttiğimiz gibi adenozin deaminaz genindeki tanımlanan ortalama 70 kadar mutasyon, bugün artık bilim dünyasının net olarak tanımladığı ağır kombine immün yetmezlik hastalığına neden olur. Adenozin deaminaz genindeki polimorfizm ise immün sistemin baskılandığı veya defektif çalıştığı, literatürde bir çok hastalıkta çalışılmış olmasına rağmen, preeklampitik hastalarda literatürde hiç çalışılmamıştır. Örneğin 2001 yılında Bottini ve ark. (60) otizmlili hastalarda adenozin deaminaz aktivitesinin azaldığını ve adenozin deaminaz genindeki G22A polimorfizminin otizmlili

hastalarda anlamlı ölçüde yüksek olduğunu saptadılar. Benzer şekilde otizmlili hastalarda pürin metabolizma defektlerinden yola çıkılarak, adenozin deaminaz gen polimorfizminin rolü olabileceğini belirten araştırmalar son on yıl içerisinde artmıştır (61).

2007 yılında tekrarlayan gebelik kayıplarında adenozin deaminaz gen polimorfizmi ile ACP-1 (a low-molecular-weight protein tyrosine phosphatase) gen polimorfizmlerinin kooperatif etkilerinin, gebelik ürününün kabulü veya reddi yönündeki fizyopatolojik süreçleri etkilediği öne sürülmüştür (62).

Astım hastalarının yaklaşık olarak %15'ini etkileyen aspirine intoleran astımdaki mevcut temel patogenetik mekanizma olan bronkokonstrüksiyona neden olabilecek süreçlerin pürin metabolizmasındaki defektlerden kaynaklanabileceğini düşünen Kim ve ark. (63) yaptıkları araştırmada adenozin deaminaz gen polimorfizminin değil de, enzimin substratı olan adenozinin reseptörlerindeki gen polimorfizmlerinin bu hastalarda artmış olduğunu saptadılar.

Adenozinin kardiyovasküler koruyucu etkilerinin, adenozin deaminaz genindeki polimorfizmden olumsuz yönde etkilenebileceğini düşünen Riksen ve ark. (64) 96 gönüllü üzerinde yürüttükleri araştırmada; gen polimorfizminin etkilediği olumsuz bir etki görmemişlerdir.

Son olarak kadınlarda erkeklere göre bir miktar fazla olan ortalama yaşam süresinin adenozin deaminaz gen polimorfizmi ile ilgili olabileceği yönünde yapılan bir araştırmada, kadınlarda adenozin deaminaz gen polimorfizminin artmış fakat istatistiksel olarak anlamlı düzeye erişmediği gösterilmiştir (48).

Biz araştırmamızda preeklampsili hastalarda adenozin deaminaz genindeki 22. kodondaki G→A polimorfizminin (G/A=Asp-Asn) önemini değerlendirdik. Normal populasyonda adenozin deaminaz G/G genotipi ortalama %90 düzeyindedir (65). Bizim çalışmamızda da hem kontrol grubu hem de preeklampsi grubunda benzer düzeylerde saptandı. Adenozin deaminaz gen polimorfizmi kontrol grubunda 3 tane iken, preeklampsi grubunda ise 2 taneydi. Preeklampsi grubundaki polimorfizmlili hastaların 2'si de hafif preeklampsili hastalardı. Her ne kadar araştırmamızda preeklampsi

hastalarındaki adenozin deaminaz geni polimorfizmini, normal popülasyonla benzer düzeylerde saptadıysak ta önümüzdeki yıllarda preeklampsi etyolojisindeki temel patogenetik sürecin net olarak aydınlatılmasında, ümit ediyoruz ki yaptığımız bu araştırma da bir katkıda bulunsun.

## KAYNAKLAR

1. Sibai B, Dekker G, Kupferminc M. Pre-eclampsia. *Lancet* 2005; 365: 785-99.
2. Martin JA, Hamilton BE, Ventura SS, Menacker F, Park MM, Sutton PD. Births: Final data for 2001. *Natl Vital Stat Rep* 2002 Dec 18;51:1-102.
3. Sağlık İstaistikleri Yıllığı. Türkiye Cumhuriyeti Sağlık Bakanlığı 2009 [www.saglik.gov.tr](http://www.saglik.gov.tr)
4. Redman CW, Sacks GP, Sargent IL. Preeclampsia: An excessive maternal inflammatory response to pregnancy *Am J Obstet Gynecol* 1999;180:499-506.
5. Bulla R, Bossi F, Agostinis C, Tedesco F. The multiple functions of the complement system in pregnancy. *Am J Reprod Immunol* 2006;56:24-5.
6. Borzychowski AM, Sargent IL, Redman CW. Inflammation and pre-eclampsia. *Semin Fetal Neonatal Med* 2006;11:309-16.
7. Redman CWG, Sargent IL. Preeclampsia, the placenta and the maternal systemic inflammatory response – a review. *Placenta* 2003;24(Suppl A):21-7.
8. Sargent IL, Germain SJ, Sacks GP, Kumar S, Redman CWG. Trophoblast deportation and the maternal inflammatory response in preeclampsia. *J Reprod Immunol* 2003;59:153–60.
9. Adams A, Harkness RA. Adenosine deaminase activity in thymus and human tissues. *Clin Exp Immunol* 1976;26:647–9.
10. Cristalli G, Costanzi S, Lambertucci C, Lupidi G, Vittori S, Volpini R, Camaioni E. Adenosine deaminase: functional implications and different classes of inhibitors. *Med Res Rev* 2001;21:105–28.
11. Conlon BA, Law WR. Macrophages are a source of extracellular adenosine deaminase-2 during inflammatory responses. *Clin Exp Immunol* 2004;138:14–20.
12. Kato H, Yoneyama Y, Araki T. Fetal plasma lipid peroxide levels in pregnancies complicated by preeclampsia. *Gynecol Obstet Invest* 1997;43:158–61.
13. Davidge ST, Signorella AP, Lykins DL, Gilmour CH, Roberts JM. Evidence of endothelial activation and endothelial activators in cord blood of infants of preeclamptic women. *Am J Obstet Gynecol* 1996;175:1301–6.
14. Friedman SA, Schiff E, Emeis JJ, et al. Fetal plasma levels of cellular fibronectin as a measure of fetal endothelial involvement in preeclampsia. *Obstet Gynecol* 1997;89:46–8.
15. Yoneyama Y, Sawa R, Suzuki S, et al. Serum adenosine deaminase activity in women with preeclampsia. *Gynecol Obstet Invest* 2002;54:164-7.
16. Yoneyama Y, Sawa R, Suzuki S, et al. Relationship between plasma malondialdehyde levels and adenosine deaminase activities in preeclampsia. *Clin Chim Acta* 2002;322:169–73.



17. Karabulut AB, Kafkaslı A, Burak F, Gözükara EM. Maternal and fetal plasma adenosine deaminase, xantine oxidase and malondialdehyde levels in preeclampsia. *Cell Biochem Funct* 2005;23:279-83.
18. Suzuki S, Yoneyama Y, Sawa R, Araki T. Relation between maternal serum adenosine deaminase and plasma adenosine levels in twin pregnancies. *Clin Biochem* 2002;35:417-9.
19. National Institutes of Health Working Group on High Blood Pressure in Pregnancy: Report of the National High Blood Pressure Education Program. *Am J Obstet Gynecol* 2000;183:1-22.
20. Chesley LC. Diagnosis of preeclampsia. *Obstet Gynecol* 1985;65:423-5.
21. Sibai BM, Stella CL. Diagnosis and management of atypical preeclampsia-eclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 2009;200:481.e1-7.
22. Ferrazzani S, Luciano R, Garofalo S, et al. Neonatal outcome in hypertensive disorders of pregnancy. *Early Hum Dev* 2011;87(6):445-9
23. Steegers EA, von Dadelszen P, Duvekot JJ, Pijnenborg R. Preeclampsia. *Lancet* 2010;376:631-44.
24. Wenstrom KD. Hypertensive disorders in pregnancy. In Cunningham FG, Leveno KJ, Bloom SL, Gilstrap III LC, Wenstrom KD. *Williams Obstetrics*. 22nd edition. New York; 2001.851-79
25. Williams JW (ed). *Obstetrics. A text-book of students and practitioners*. 1st edition. New York: Apleton; 1903.
26. Volhard F (ed). *Die doppelseitigen haematogenen Nierenerkrankungen*. Berlin: Springer; 1918.
27. Brunner HR, Gavras H. Vascular damage in hypertension. *Hosp Pract* 1975;10:97.
28. George EM, Granger JP. Recent insights into the pathophysiology of preeclampsia. *Expert Rev Obstet Gynecol* 2010;5:557-66.
29. Walker JJ. Pre-eclampsia. *Lancet*.2000;356:1260-5.
30. Redman CW, Sargent IL. The pathogenesis of pre-eclampsia. *Gynecol Obstet Fertil* 2001;29:518-22.
31. Takagi Y, Nikaido T, Toki T, et al. Levels of oxidative stress and redox-related molecules in the placenta in preeclampsia and fetal growth restriction. *Virchows Arch* 2004;444:49-55.
32. Billingham RE. Transplantation immunity and the maternal fetal relation. *N Engl J Med* 1964;270:667.
33. Thellin O, Coumans B, Zorzi W, Igout A, Heinen E. Tolerance to the foeto-placental "graft": Ten ways to support a child for nine months. *Curr Opin Immunol* 2000;12:731-7
34. Hunt JS, Orr HT. HLA and maternal-fetal recognition. *FASEB J* 1992;6:2344-8.
35. Weetman AP. The immunology of pregnancy. *Thyroid* 1999;9:643-6
36. Loke YM, King A. *Human Implantation. Cell Biology and Immunology*. Cambridge: Cambridge University Press; 1995.45-59
37. Kilburn B, Wang J, Duniec-Dmuchowski ZM, et al. Extracellular matrix composition and hypoxia regulate the expression of HLA-G and integrins in a human trophoblast cell line. *Biol Reprod* 2000;62:739-47.
38. Jokhi P, King A, Loke Y. Production of granulocyte/macrophage colony-stimulating factor by human trophoblast cells and by decidual

- large granular lymphocytes. *Hum Reprod* 1994;9:1660-9.
39. Goldman-Wohl DS, Ariel I, Greenfield C, Hanoch J, Yagel S. HLA-G expression in extravillous trophoblasts is an intrinsic property of cell differentiation: A lesson learned from ectopic pregnancies. *Mol Hum Reprod* 2000;6:535-40.
  40. LeBouteiller P, Solier C, Proll J, Aguerre-Girr M, Fournel S, Lenfant F. Placental HLA-G protein expression in vivo: Where and what for? *Hum Reprod Update* 1999;5:223-33.
  41. Feinberg RF, Kliman HJ, Lockwood CJ. Is oncofetal fibronectin a trophoblast glue for human implantation? *Am J Pathol* 1991;138:537-43
  42. Lockwood CJ, Senyei AE, Dische MR, et al. Fetal fibronectin in cervical and vaginal secretions as a predictor of preterm delivery. *N Engl J Med* 1991;325:669-74.
  43. Dwivedi M, Misra SP, Misra V, Kumor R. Value of adenosine deaminase estimation in the diagnosis of tuberculous ascites. *Am J Gastroenterol* 1990;85:1123-5.
  44. Adams A, Harkness RA. Adenosine deaminase activity in thymus and human tissues. *Clin Exp Immunol* 1976;26:647-9.
  45. Gakis C. Adenosine deaminase (ADA) isoenzymes ADA1 and ADA2: diagnostic and biological role. *Eur Respir J* 1996;9:632-3.
  46. Conlon BA, Law WR. Macrophages are a source of extracellular adenosine deaminase-2 during inflammatory responses. *Clin Exp Immunol* 2004;138:14-20.
  47. Genetics home reference. Your guide to understanding genetic conditions. <http://ghr.nlm.nih.gov/>
  48. Napolioni V, Lucarini N. Gender-specific association of ADA genetic polymorphism with human longevity. *Biogerontology* 2010;11:457-62.
  49. Yoneyama Y, Sawa R, Suzuki S, Shin S, Power GG, Araki T. The relationship between uterine artery doppler velocimetry and umbilical levels in pregnancies complicated by preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 1996;174(1Pt1):267-71.
  50. Suzuki S, Yoneyama Y, Sawa R, Takeuchi T, Power GG, Araki T. Maternal plasma adenosine levels in pregnancies complicated by toxemia. *Placenta* 1999;13:407-14.
  51. Yoneyama Y, Suzuki S, Sawa R, Otsubo Y, Power GG, Araki T. Plasma adenosine levels increase in women with normal pregnancies. *Am J Obstet Gynecol* 2000;182:1200-3.
  52. Suzuki S, Yoneyama Y, Sawa R, Araki T. Relation between serum uric acid and plasma adenosine levels in twin pregnancies. *Obstet Gynecol* 2000;96:507-10.
  53. Suzuki S, Yoneyama Y, Sawa R, Otsubo Y, Takeuchi T, Araki T. Relation between serum uric acid and plasma adenosine levels in women with preeclampsia. *Gynecol Obstet Invest* 2001;51:169-72.
  54. Yoneyama Y, Sawa R, Suzuki S, et al. Regulation of plasma adenosine levels in normal pregnancy. *Gynecol Obstet Invest* 2002;53:71-4.
  55. Yoneyama Y, Sawa R, Suzuki S, et al. Relation between adenosine deaminase activities and cytokine-producing T cells in women with preeclampsia. *Clin Biochem* 2002;35:303-6.

56. Shinagawa T, Suzuki S, Sawa R, et al. Maternal plasma adenosine and endothelin-1 levels in twin gestation complicated by preeclampsia. *Arch Gynecol Obstet* 2002;267:72-5.
57. Suzuki S, Kuwajima T, Yoneyama Y, Sawa R, Araki T. Maternal peripheral T-helper 1-type and T-helper 2-type immunity in nonpreeclamptic twin pregnancies. *Gynecol Obstet Invest* 2002;53:140-3.
58. Suzuki S, Yoneyama Y. Role of adenosine in regulation of uterine blood flow during nonpreeclamptic twin gestation. *Tohoku J Exp Med* 2003;201:127-30.
59. Kafkaslı A, Karabulut AB, Atmaca R, Laurini R. Clinical correlation between adenosine deaminase activity and preeclampsia severity. *J Int Med Res* 2006;34:247-55.
60. Bottini N, De Luca D, Saccucci P, et al. Autism: evidence of association with adenosine deaminase genetic polymorphism *Neurogenetics* 2001;3:111–3.
61. Hettinger JA, Liu X, Jeltje J, Holden A. The G22A Polymorphism of the ADA Gene and Susceptibility to Autism Spectrum Disorders. *J Autism Dev Disord* 2008;38:14–9.
62. Nicotra M, Bottini N, La Torre M et al. Repeated Spontaneous Abortion. Cooperative Effects of ADA and ACP1 Genetic Polymorphisms. *Am J Reprod Immunol* 2007;58:1–10.
63. Kim SH, Kim YK, Park HW, et al. Adenosine deaminase and adenosine receptor polymorphisms in aspirin-intolerant asthma. *Respir Med* 2009;103:356-63.
64. Riksen NP, Franke B, van den Broek P, et al. The 22G>A polymorphism in the adenosine deaminase gene impairs catalytic function but does not affect reactive hyperaemia in humans in vivo. *Pharmacogenetics and Genomics* 2008;18:843–6.
65. Napolioni V, Predazzi IM. Age and gender-specific association between ADA (22G>A) and TNF- $\alpha$  (-308G>A) genetic polymorphisms. *Tissue Antigens* 2010;76(4):311-4.

## TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince her zaman ve her konuda ilgisini ve yakın desteğini gördüğüm tez danışmanım ve değerli hocam Sayın Prof. Dr. Mehpare TÜFEKÇİ'ye ve projenin fikir babası Uzm.Dr. Mehmet Aral ATALAY'a, asistanlığım boyunca bilgi ve deneyimlerini hiçbir zaman benden esirgemeyen ve değerli hocalarım Sayın Prof.Dr. Candan CENGİZ'e, Prof.Dr. Şakir KÜÇÜKKÖMÜRÇÜ'ye, Prof.Dr. Ahmet ESMER'e, Prof.Dr. Tufan Bilgin'e, Prof.Dr. Yalçın KİMYA'ya, Prof.Dr. Gürkan UNCU'ya, Prof.Dr. Osman DEVELİOĞLU'na, Prof.Dr. Hakan OZAN'a, Yard.Doç.Dr. Kemal Özerkan'a, uzmanlarım Uzm.Dr. Bilge ÇETİNKAYA DEMİR'e, Uzm.Dr. Neriman ÇELİK'e, çalışmalarım sırasında hiçbir konuda benden yardımını esirgemeyen Tıbbi Genetik Anabilim Dalı'ndan Doç.Dr.Tahsin YAKUT'a, Dr. Mutlu KARKUCAK'a, çok değerli sorumlu hemşirelerim Pervin Taşyürek, Gökçen Aladağ ve Seher Özdoğan'a, rotasyonlarım sırasında birlikte çalışma fırsatı bulduğum fakültemizin değerli öğretim üyelerine, beş yıl süresince en çok muhatap olduğum, birlikte çalışmaktan büyük bir keyif, mutluluk ve gurur duyduğum sevgili asistan arkadaşlarıma, çok verimli bir rotasyon geçirdiğim Zübeyde Hanım Doğumevi'ndeki tüm doktor ve hemşirelere, tüm UÜTF Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı çalışanlarına ve iyi günde, kötü günde her zaman yanımda olan sevgili eşime, canım anneme, benim bu kutsal mesleği seçmemdeki en önemli pay sahibi olan fakat bu zorlu eğitim bitmeden bizi yalnız bırakmak zorunda kalan BABAM'a, sonsuz neşe kaynağım, biricik kızım Derin'e en içten teşekkürlerimi sunarım

Dr.Adnan ORHAN

BURSA - 2011

## ÖZGEÇMİŞ

28 Eylül 1981 tarihinde Tokat'ta dünyaya geldim. İlk öğrenimimi Tokat Namık Kemal İlkokulu'nda gördüm. Orta öğrenimimi sırasıyla Tokat Anadolu Lisesi ve ardından Adıyaman Anadolu Lisesi'nde tamamladım. Lise öğrenimimi Gaziantep Vehbi Dinçerler Fen Lisesinde görerek 1999 yılında mezun oldum. Tıp eğitimini 1999-2005 yılları arasında Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde aldım. 2006 Nisan döneminde Tıpta Uzmanlık sınavı ile başladığım Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Anabilim Dalı'ndaki uzmanlık eğitimimin beşinci yılını doldurdum. Evliyim ve "Derin" adında bir kızım var.