

ÖZGÜN ARAŞTIRMA

Preeklampitik Hastalarda Adenozin Deaminaz Gen Polimorfizmi

Adnan ORHAN¹, Mehmet Aral ATALAY¹, Mehpare TÜFEKÇİ¹, Işıl KASAPOĞLU¹,
Orhan GÖRÜKMEZ²

¹ Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı, Bursa.

² Bursa Yüksek İhtisas Eğitim Araştırma Hastanesi, Tıbbi Genetik Bölümü, Bursa.

ÖZET

Preeklampsi; hipertansiyon, proteinüri ve birçok klinik manifestasyon ile karakterize multisistem bir hastalıktır. Etyopatogenezi henüz tam olarak anlaşılmasa da azalmış plasental perfüzyonun genetik, immünolojik ve inflamatuvar faktörlerden etkilendiği bilinmektedir. Preeklampside artan hücrel immünitenin temel mediatörlerinden adenozin deaminaz (ADA), pürin nükleotidlerinin yıkımında yer alan ve Adenozin'in İnozin'e çevrimini katalizleyen bir enzimdir. Preeklampside hücrel immünitenin artmasına bağlı olarak ADA seviyelerindeki artış saptanmıştır. Bu çalışmanın amacı preeklampitik hastalarda ADA gen polimorfizmini değerlendirmektir. Çalışmaya 45 asemptomatik normal gebe ile 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 adenozin deaminaz gen polimorfizmi oranı %8,9 iken, preeklampsi grubundaki ADA 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 adenozin deaminazı üreten ADA genindeki polimorfizmin, preeklampitik hastalarda farklı olmadığı görülmüştür. Maternal plazma ADA düzeyleri ile ilgili yapılan birçok çalışma olmasına rağmen, literatürde preeklampitik hastalarda ADA gen polimorfizmini ilk defa araştıran bu çalışma ile, preeklampsinin patogenezi için yapılacak ileri dönem araştırmalara bir katkı sağlayabileceğimizi ümit ediyoruz.

Anahtar Kelimeler: Adenozin deaminaz. Preeklampsi. Gen polimorfizmi.

Adenosine Deaminase Gene Polymorphism in Preeclampsia

ABSTRACT

Preeclampsia is a severe pregnancy complication characterized by high blood pressure and signs of damage to another organ system. Although the etiopathogenesis of the preeclampsia has not been fully understood, decreased placental perfusion resulting genetic, immunological and inflammatory factors is known to be the main cause. Increased cellular immunity in preeclampsia is a well-known immune response. One of the essential mediators in the cellular immune system is Adenosine deaminase (ADA). This enzyme involves in purine metabolism and catalyzes the irreversible deamination of adenosine and 2'-deoxyadenosine to inosine and 2'-deoxyinosine, respectively. Depending on the increase of cellular immunity in preeclampsia, earlier studies found increased levels of adenosine deaminase. This study aimed to evaluate the ADA gene polymorphism in preeclamptic women. 45 asymptomatic pregnant and 43 preeclamptic patients were included in the study. We investigated the ADA gene -located on the long arm of chromosome 20- codon 8, G22A polymorphism (Asp8Asn). There were no demographic differences between the two groups. The ADA gene polymorphism rate in the control group was 8.9%, while it was 4.5% in the preeclampsia group. Although this difference was not statistically significant and further studies are needed, ADA gene polymorphism in preeclamptic women has been investigated for the first time with this study in the medical literature.

Key Words: Adenosine deaminase. Preeclampsia. Gene Polymorphism.

Geliş Tarihi: 21 Haziran 2018

Kabul Tarihi: 09 Ocak 2019

Dr. Adnan ORHAN
Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi,
Kadın Hastalıkları ve Doğum Ana Bilim Dalı
Bursa
Tel.: 0505 633 71 02
E-posta: dr.adnan.orhan@hotmail.com

Gebelikle birlikte görülen hipertansif bozukluklar obstetri pratiğinde sık karşılaşılan ve gebeliği en sık komplike eden bir sağlık sorunudur. Maternal morbidite ve mortalitenin önemli nedenleri arasında yer alan gebeliğe bağlı hipertansif bozukluklar tüm gebeliklerin %8-10'unda görülür¹⁻³. Preeklampsi, gebelikte hipertansiyona proteinürinin eşlik etmesi ile karakteri-

ze bir klinik durumdur. Her ne kadar preeklampsi, modern obstetrimin bütünüyle çözüme kavuşmamış en önemli ve güncel konuları arasında yer alsada, damar endotel hasarı ve vazospazmın patofizyolojisinde önemli rol oynadığı düşünülmektedir. Preeklampside görülen endotelial disfonksiyonun nedeni bilinmemekle birlikte, gebeliğe karşı oluşan maternal sistemik inflamasyonun bir parçası olduğu düşünülmektedir⁴. Preeklampside proinflamatuvar sitokinlerin ve C-reaktif protein düzeylerinin yüksek tespit edilmesi, bu hipotezi destekler⁵.

Erken gebelikte plasentasyon esnasında sitokinler vasıtasıyla oluşan lokal inflamatuvar spiral arterlerin trofoblast invazyonunu kolaylaştırır. Preeklampside trofoblastik dokuya karşı oluşan uygunsuz maternal sistemik inflamatuvar yanıt ise trofoblast invazyonunun yetersiz olmasına neden olur. Böylece plasental kan akımı bozulur ve plasental oksidatif stres artar⁶. Preeklampside mevcut olan bu maternal-plasental etkileşim için endotelial hücre disfonksiyonu, immünolojik problemler ve genetik faktörler; major predispozan durumlar olarak görülmektedir⁷.

Adenozin Deaminaz (ADA); adenozinin, inozine ve 2-deoksi adenozinin, 2-deoksi inozine hidrolitik deaminasyonunu katalizleyen bir enzimdir⁸. Bu enzim insanda tüm dokularda bulunmakla beraber, özellikle lenfoid sistemde yoğundur ve sellüler inflamasyonun bir belirteçidir. ADA aktivitesi hematopoetik hücrelerin yüzeyinde saptanmıştır ve T-lenfositlerin yüzeyine yapışır⁹. Bu enzim; özellikle lenfoid hücrelerde yüksek oranlarda bulunur ve lenfoid hücrelerin proliferasyon ve matürasyonuna katılır. İntrasellüler mikroorganizmaların neden olduğu enfeksiyon hastalıklarında (Tüberküloz) ve hematolojik malignitelerde enzim aktivitesi artar¹⁰⁻¹³.

Preeklampside hücrel immünitede bir artış meydana geldiğinden serum ADA aktivitelerinde de değişiklik beklenir. Hücrel immünitenin güçlü bir mediatörü olan ADA aktivitesi ile preeklampsi arasındaki ilişki, ilk olarak Yoneyama tarafından ortaya atılmıştır¹⁴⁻¹⁵. Maternal ve fetal plazma ADA aktivitelerinin preeklampsi hastalarında, normal gebeliklerle karşılaştırıldığında anlamlı oranda arttığı saptanmıştır¹⁶. Gebe olmayan kadınlarda, normal gebelere göre maternal plazma ADA aktivitesinin daha düşük olduğu gösterilmiştir. Hafif ve ağır preeklampsi gebelerde plazma ADA aktivitesi anlamlı derecede artmıştır¹⁷.

Maternal serum ADA seviyelerinin preeklampsi hastalarda değerlendirilmesi tıbbi literatürde ancak son on beş yıl içerisinde popüler olmuştur. Aynı şekilde preeklampsi hastalarda maternal ADA gen polimorfizmi ise bugüne kadar literatürde hiç araştırılmamıştır. Bu çalışmanın amacı preeklampsi gebelerde maternal ADA gen polimorfizmini değerlendirmek ve hücrel immünitenin bu mekanizmasının preeklampsi etyopatogenezi ne düzeyde etki gösterdiğini araştırmaktır.

Gereç ve Yöntem

Çalışmaya 1 Temmuz 2012 – 1 Nisan 2013 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 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, NHLBI (National Heart, Lung and Blood Institute), Ulusal yüksek tansiyon eğitim programı çerçevesinde oluşturulan kriterlere göre preeklampsi tanısı almış olmak olarak belirlendi¹⁸.

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 bulunduğu gestasyonel haftanın 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 olarak iki gruba ayrıldılar. Asemptomatik olan kontrol grubundan farklı olarak, preeklampsi grubunda hastaların hastanede kalış süreleri hesaplandı.

DNA İzolasyonu

Hasta ve kontrol grubundan genotip tayinleri için alınan 2 cc miktarındaki kan -20°C'de EDTA'lı tüplerde saklandı. 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

Preeklampside Adenozin Deaminaz Gen Polimorfizmi

santrifüj edildi ve oluşan süpernatant döküldü. Pellet yeniden süspansiyon edildi. İkinci bir yıkama için yine 6 ml "lysis buffer" eklendi ve 10 dk 1500 rpm'de santrifüj edildi, süpernatant atıldı ve pellet tamamen süspansiyon edildi. Süspansiyon 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 çalıştırma zamanına kadar -20°C'de saklandı.

Polimeraz Zincir Reaksiyon (PCR) Protokolü

Bu çalışmada izole edilen DNA'larda ADA genindeki kodon 8 (G22A) polimorfizmi belirlemek için PCR (Polymerase Chain Reaction) yöntemi kullanılarak genotipleme yapıldı (LongGene®, Çok Bloklü Hızlı PCR, Thermal Cycler – Isısal Döngü Cihazı). Bunun için PCR reaksiyonu karışımı hazırlandı. Yaklaşık 25 µl'lik PCR karışımı 0,2 ml'lik PCR tüpünde sıra ile karıştırıldı.

ADA genindeki kodon 8 (G22A) polimorfizmini içeren 397 baz çiftlik bölgeyi çoğaltmak için F:5'-GCCCCGCCCCGTTAAGAAGAGC -3' ve R:5'-GGTCAAGTCAGGGGCAGAAGCAGA -3' primerleri kullanıldı (19).

Tüplerde bulunan reaksiyon karışımı PCR cihazına yerleştirildikten sonra ADA genindeki kodon 8 (G22A) polimorfizmi için PCR döngü programı kullanıldı (Şekil-1).



Şekil 1:

ADA geninin sitogenetik lokasyonu. (20q13.12)

Jel Elektroforez Protokolü

Bu çalışmada PCR ile çoğaltılmış ürünlerin tanımlanması için %2'lik agaroz jel elektroforezi 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 mavisi ile muamele edilerek agaroz jele yüklendi. 90-100V akımda 15 dk kadar ilerletildi.

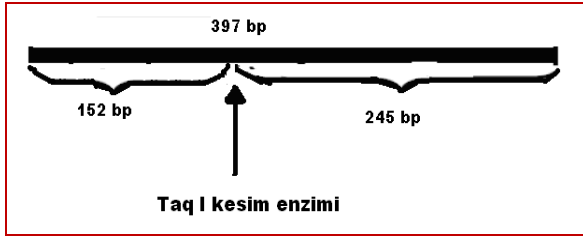
Restriksiyon Enzim Kesimine Bırakılması

PCR reaksiyonu sonucu ürün elde edilenler genotip tayini 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 mavisi ile muamele edilerek jele yüklendi. 90-100V akımda 15 dk kadar ilerletildi.

Genotiplerin Belirlenmesi

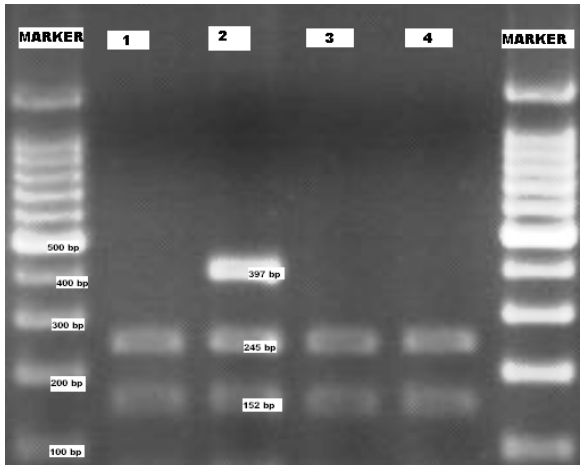
İnsanda adenozin deaminaz geni 20. Kromozomun uzun kolunda yer almaktadır (20q13.11) ve gen ürünü ekson 1'deki 22. nükleotidin G veya A olmasına göre değişir. Nükleotid G olursa oluşan aminoasit Asp (Aspartat) olur. Nükleotid A olursa oluşan aminoasit Asn (Asparajin) olur.

Yürütülen ürünler ultraviyole ışığında değerlendirildi. ADA genine ait 397 bp'lik PCR ürününden Taq-I 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 ürününde kesim olmaz ise A/A genotipi (Asn/Asn alleli) olarak belirlendi (Şekil-2). ADA genindeki kodon 8(G22A) polimorfizminin agaroz jel görüntüsü Şekil-3'de görülmektedir.



Şekil 2:

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 3:

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.

İstatistiksel Analiz

Sonuçların istatistiksel değerlendirilmesi, SPSS (Statistical Package for Social Sciences 20.0 for Windows) programı kullanılarak yapıldı. Verinin normal dağılım gösterip göstermediği Kolmogorov-Smirnov ve Shapiro Wilk testleri ile incelendi. Normal dağılım gösteren veri için gruplar arası karşılaştırmasında bağımsız t-test kullanıldı. Tanımlayıcı istatistikler ortalama, minimum, maksimum olarak belirtildi. Normal dağılım göstermeyen veri için gruplar arası karşılaştırmasında Mann-Whitney U testi kullanıldı. Tanımlayıcı istatistikler medyan, minimum, maksimum olarak belirtildi. IVF endikasyonu, uygulanan stimülasyon protokolünün dağılımı ve başarısı ki-kare test ile gösterildi. Gen polimorfizm dağılım parametreleri analizleri için Fischer exact test ve ki-kare testleri kullanıldı. $p < 0.05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Bulgular

Tablo-I'te çalışmaya alınan hastaların genel demografik özellikleri ve psikososyokültürel düzeyleri verilmiştir. Çalışmaya dâhil edilen 88 olgunun yaş ortalaması; 30.2 ± 4.3 yıl, graviditeleri 2.5 ± 1.4 ve ortalama gestasyonel yaşları; 36.6 ± 1.7 hafta olarak hesaplandı. Demografik özellikler açısından bakıldığında her iki grupta; yaş, gravida, parite, abortus sayıları ve gebelik haftaları bakımından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark izlenmedi. Psiko-sosyo-kültürel durumları açısından her iki grup arasında mesleki durum, eğitim ve gelir düzeyi bakımından istatistiksel bir fark saptanmadı (Tablo-II).

Tablo I. Çalışma ve kontrol grubunun genel demografik göstergeleri.

	Preeklampsi grubu Ortalama \pm SD	Kontrol grubu Ortalama \pm SD	p
Yaş	30.0 \pm 4.1	30.4 \pm 4.6	0.124
Gravida	2.7 \pm 1.4	2.6 \pm 1.2	0.254
Parite	1.1 \pm 0.7	1.2 \pm 0.9	0.235
Abortus	0.9 \pm 0.7	0.8 \pm 0.9	0.254
Gestasyonel hafta	35.6 \pm 1.2	37.7 \pm 2.2	0.658

SD=Standart deviasyon

Tablo II. Çalışma ve kontrol grubundaki hastaların psiko-sosyo-kültürel durum ve gelir düzeyleri açısından karşılaştırılması

		Preeklampsi grubu (n)	Kontrol grubu (n)	p
MESLEKİ DURUM	Ev hanımı	29	25	0.256
	Çalışıyor	12	20	0.865
EĞİTİM	İlköğrenim	17	18	0.578
	Lise	15	15	0.365
	Üniversite	13	12	0.526
AYLIK GELİR DÜZEYİ	Düşük (<750 L)	13	17	0.357
	Orta (750-1500 L)	16	16	0.255
	Yüksek (>1500 L)	14	12	0.098

Çalışmaya alınan toplam 88 olgunun 20. kromozomunda lokalize olan ADA genindeki 8. kodon G22A polimorfizmi açısından bakıldığında 88 hastanın 5'inde gen polimorfizmi saptandı. Bunlardan 3 tanesi kontrol grubunda, 2 tanesi ise preeklampsi grubundaydı. Kontrol grubundaki ADA gen polimorfizmi oranı %6.6 iken, preeklampsi grubundaki ADA gen polimorfizmi oranı %4.6 olarak saptandı. Preeklampsi grubu ile kontrol grubu arasında fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p > 0.05$, OR: 0.9 [%95 CI:0.485-1.693]) (Tablo III).

Preeklampside Adenozin Deaminaz Gen Polimorfizmi

Tablo III. Preeklampsisi grubu ve kontrol grubu arasındaki adenozin deaminaz (ADA) genotip frekansları, Odds ratio:Preeklampsisi grubu / Kontrol grubu

	ADA GENOTİP FREKANSI			Toplam
	Asp/Asp (G/G genotipi)	Asp/Asn (G/A genotipi)	Asn/Asn	
Kontrol Grubu	42* (%92.7)	3* (%6.6)	0 (%0)	45
Preeklampsisi Grubu	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. ADA geninin allelleri Asp alleli ve Asn allelidir. ADA genotipi allel sıklığı açısından izlendiğinde de preeklampsisi grubu ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark izlenmedi (p>0.05, Odds ratio: 0.9 [%95 CI: 0.574-1.673]) (Tablo IV).

Tablo IV. Preeklampsisi grubu ve kontrol grubu arasındaki adenozin deaminaz (ADA) allel frekansları, Odds ratio: Asn alleli taşıyıcıları / Asn alleli taşımayanlar

	ADA ALLEL FREKANSI		Toplam
	Asp	Asn	
Kontrol Grubu	87* (%96.7)	3* (%3.3)	90
Preeklampsisi Grubu	84 (%97.6)	2 (%2.4)	86

*p>0.05,

Odds ratio: 0.9 (%95 confidence interval:0.574-1.673)

Her ne kadar preeklampsisi grubu ile kontrol grubu arasında ADA geni polimorfizmi ve ADA allel frekansı açısından herhangi bir fark saptanmadıysa da preeklampsisi grubu kendi içerisinde değerlendirildiğinde 43 hastanın 23'ü ağır preeklampsisi, 20'si ise hafif preeklampsisi hastasıydı. ADA gen polimorfizmi saptanan 2 hasta da hafif preeklampsisi grubundaydı. Ağır preeklampsitik olan 23 gebede ADA gen polimorfizmi saptanmadı.

Tartışma ve Sonuç

Preeklampsili hastalarda ADA genindeki 22. kodondaki G→A polimorfizminin (G/A=Asp-Asn) önemini değerlendirdiğimiz bu çalışmada preeklampsisi ve kontrol grubu arasında benzer oranlarda AD gen polimorfizmi saptadık.

ADA enzimi ile preeklampsisi arasında muhtemel bir ilişkisinin olması yönünde bir araştırma ilk kez 1996

yılında yayınlandı²⁰. Bu çalışmada doppler ultrasonografide anormal pulsatilite indeksi saptanan preeklampsili hastaların fetal umbilikal ven plazma adenozin düzeylerinin de anlamlı ölçüde yüksek olduğunu gözlemlendi. 1999 yılında Suzuki ve ark. preeklampsili hastalarda maternal plazma adenozin düzeylerini değerlendirdiler ve preeklampsili hastaların maternal plazma adenozin düzeylerinin anlamlı derecede artmış olduğunu saptadılar²¹. Başka bir çalışmada plazma adenozin düzeylerinin gebelerde anlamlı derecede arttığı saptanmıştır²². Maternal plazma adenozin seviyelerinin hem normal gebelik hem de preeklampsili hastalarda arttığını gören Suzuki ve Yoneyama, ikiz gebeliklerde de aynı durumun gözlenebileceğini ileri sürmüşlerdir²³. Pürin katabolizmasının ürünlerinde olan ürik asitin artması, adenozin düzeylerinin artması şeklinde yorumlanabilir. 2001 yılında Suzuki ve ark. preeklampsili hastalarda plazma adenozin düzeyi ve serum ürik asit düzeyini değerlendirdikleri çalışmalarında preeklampsitik hastalardaki hiperüriseminin kaynağının artmış adenozin düzeyleri olduğu sonucuna vardılar²⁴. 2002 yılında Yoneyama ve ark. yaptıkları çalışmada gebe grupta plazma 5'-nükleotidaz ve adenozin düzeyleri anlamlı ölçüde artarken, plazma adenozin deaminaz aktivitesinin azaldığını gözlemlendiler. Aynı araştırmacı ekibi bir yıl sonra ikiz gebeliklerde serum adenozin deaminaz ve plazma adenozin düzeylerini araştırıp, ikiz gebelik grubunda hem adenozin deaminaz, hem de adenozin düzeylerinin anlamlı ölçüde arttığını saptamışlardır¹⁷.

Preeklampsili hastalarda hücre aracılıklı immünitinin en önemli mediatörlerinden biri olarak düşünülen ADA ölçümünü direkt olarak değerlendiren bir çalışmada normal asemptomatik gebe grubu ile karşılaştırıldığında, preeklampsisi grubunda serum total ADA ve ADA-2 aktivitesinin (serum neopterin düzeyleri ile birlikte) istatistiksel olarak anlamlı düzeyde arttığı saptandı¹¹. Bu bulgular ışığında preeklampside total ADA aktivitesindeki artışın, primer olarak ADA-2 aktivitesindeki artışa bağlı olarak arttığı ve bunun da preeklampsideki hücre aracılıklı immünite ile ilgili olduğu düşünülebilir²⁵.

Yoneyama ve ekibi, preeklampside artmış olduğunu saptadıkları adenozin deaminazın, sitokin üreten T-hücreler ile ne tür bir ilişki olduğunu araştırmak için yaptıkları diğer bir çalışmada ADA aktivitesi ile IFN- γ üreten hücreler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon bulundu²⁶. Suzuki ve ark. preeklampsitik olmayan ikiz gebeliklerde hücre aracılıklı immünitinin varlığını saptamak için yayınladıkları bir makalede ikiz gebelikte belirgin bir Th-2 hücre immünitisinin olduğunu saptadılar²⁷. Aynı araştırmacı grubu, 2003'te benzer bir araştırma ile preeklampsitik olmayan ikiz gebeliklerde adenozinin uterin kan akımı regülasyonundaki rolünü araştırdılar ve ikiz gebeliklerdeki vasküler rezistanstaki azalmanın adenozinden bağımsız olabileceği sonucuna vardılar²⁸.

Karabulut ve ark. preeklampsisi ve immün sistem ilişkisi bağlamında, önceki çalışmalara benzer şekilde preeklampside adenozin deaminaz, ksantin oksidaz ve malondialdehit seviyelerini araştırdılar¹⁶. Preeklampsisi grubunda hem maternal hem de fetal adenozin deaminaz seviyelerinin artması; preeklampstik hastalardaki immünolojik patogenezin ne kadar önemli olduğunu gösteriyordu.²⁹

Preeklampsinin patogenezi ile ilgili yapılan araştırmalar neticesinde birçok nokta açıklığa kavuşmuş olmasına rağmen temel 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 çalışmalarla ortaya konmuştur. Mevcut patogenetik sürecin daha özünde ise bu enzimin üretiminden sorumlu olan adenozin deaminaz geni yer almaktadır³⁰⁻³⁴.

Her ne kadar araştırmamızda preeklampsisi hastalarındaki ADA geni polimorfizmini, normal popülasyonla benzer düzeylerde saptadıysak da, bu çalışmanın preeklampsisi ve sellüler immünite arasındaki patofizyolojik süreçlerin aydınlatılmasına bir katkı sağlayabileceği düşüncesindeyiz.

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 İstatistikleri Yıllığı. Türkiye Cumhuriyeti Sağlık Bakanlığı 2009 www.saglik.gov.tr
4. Redman CW, Sacks GP, Sargent IL. Preeclampsia: An excessive and 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. Adams A, Harkness RA. Adenosine deaminase activity in thymus and human tissues. *Clin Exp Immunol* 1976; 26:647-9.
9. 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.
10. Conlon BA, Law WR. Macrophages are a source of extracellular adenosine deaminase-2 during inflammatory responses. *Clin Exp Immunol* 2004; 138:14-20.

11. Kato H, Yoneyama Y, Araki T. Fetal plasma lipid peroxide levels in pregnancies complicated by preeclampsia. *Gynecol Obstet Invest* 1997; 43:158-61.
12. 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.
13. 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.
14. Yoneyama Y, Sawa R, Suzuki S, et al. Serum adenosine deaminase activity in women with preeclampsia. *Gynecol Obstet Invest* 2002; 54:164-7.
15. 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.
16. Karabulut AB, Kafkaslı A, Burak F, Gözükar EM. Maternal and fetal plasma adenosine deaminase, xantine oxidase and malondialdehyde levels in preeclampsia. *Cell Biochem Funct* 2005; 23:279-83.
17. 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.
18. American College of Obstetricians and Gynecologists, Task Force on Hypertension in Pregnancy. Hypertension in pregnancy. Report of the American College of Obstetricians and Gynecologists' Task Force on Hypertension in Pregnancy. *Obstet Gynecol* 2013; 122:1122.
19. Napolioni V, Lucarini N. Gender-specific association of ADA genetic polymorphism with human longevity. *Biogerontology* 2010; 11:457-62.
20. 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.
21. 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.
22. 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.
23. 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.
24. 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.
25. Yoneyama Y, Sawa R, Suzuki S, et al. Regulation of plasma adenosine levels in normal pregnancy. *Gynecol Obstet Invest* 2002; 53:71-4.
26. 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.
27. 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.
28. 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.
29. 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.
30. Bottini N, De Luca D, Saccucci P, et al. Autism: evidence of association with adenosine deaminase genetic polymorphism. *Neurogenetics* 2001; 3:111-3.

Preeklampside Adenozin Deaminaz Gen Polimorfizmi

31. 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.
32. 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.
33. Kim SH, Kim YK, Park HW, et al. Adenosine deaminase and adenosine receptor polymorphisms in aspirin-intolerant asthma. *Respir Med* 2009; 103:356-63.
34. 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.

