

---

Aus der Klinik und Poliklinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe –  
Großhadern der Ludwig-Maximilians-Universität München

Direktor: Prof. Dr. med. Klaus Friese

**Einfluss hereditärer Thrombophilien auf das Abortrisiko bei Paaren  
mit rezidivierenden Fehlgeburten**

Dissertation

zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin

an der Medizinischen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität  
zu München

vorgelegt von

Franziska Katharina Vocke

aus München

2010

---

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät  
der Universität München

Berichterstatter: PD Dr. med. Bettina Toth

Mitberichterstatter: Priv. Doz. Dr. Christian Ries

Mitbetreuung durch den  
promovierten Mitarbeiter: Prof. Dr. med. Peter Lohse

Dekan: Prof. Dr. med. Dr. h.c. M. Reiser, FACR, FRCR

Tag der mündlichen  
Prüfung: 22.07.2010

---

## Inhaltsverzeichnis

<b>1. Abkürzungsverzeichnis</b>	<b>5</b>
<b>2. Einleitung</b>	<b>9</b>
<b>2.1 Fehlgeburt (Abort)</b>	<b>9</b>
2.1.1 Definition und Häufigkeit	9
2.1.2 Ätiologische Faktoren	11
<b>2.2 Physiologische Veränderungen der Hämostase in der Schwangerschaft</b>	<b>17</b>
<b>2.3 Thrombophilie (Faktor V-Leiden-, F2-, MTHFR-Mutation)</b>	<b>18</b>
2.3.1 Erworbene Thrombophilie: Das Anti-Phospholipid-Syndrom	18
2.3.2 Hereditäre Thrombophilie	19
<b>2.4 Zusätzliche Faktoren</b>	<b>22</b>
2.4.1 Methylentetrahydrofolat-Reduktase (MTHFR)	22
<b>2.5 Fragestellung dieser Arbeit</b>	<b>24</b>
<b>3. Material und Methoden</b>	<b>25</b>
<b>3.1 Untersuchte Studienkollektive</b>	<b>25</b>
3.1.1 Patientenaufklärung	25
3.1.2 Patientenkollektiv	25
3.1.3 Kontrollkollektiv	25
<b>3.2 Molekularbiologische Untersuchungsmethoden</b>	<b>25</b>
3.2.1 Labortechniken	26
<b>3.3 Verwendete Geräte und Chemikalien</b>	<b>29</b>
3.3.1 Geräte	29
3.3.2 Chemikalien	30
<b>3.4 Statistische Auswertung</b>	<b>30</b>
<b>4. Ergebnisse</b>	<b>32</b>
<b>4.1 Allgemeine Schwangerschaftsdaten</b>	<b>32</b>
4.1.1 Demographische Daten	32
4.1.2 Routineuntersuchungen der RSA-Patientinnen	33
4.1.3 Klinische Parameter	33
<b>4.2 Verteilung der einzelnen Thrombophilie-Mutationen</b>	<b>35</b>
4.2.1 Faktor V-Leiden-Genotypen	35
4.2.2 F2-20210G>A-Genotypen	36
4.2.3 MTHFR-677C>T-Genotypen	37
4.2.4 Häufigkeit thrombophiler Genmutationen bei beiden Partnern eines Paares	38
<b>5. Diskussion</b>	<b>40</b>
<b>6. Zusammenfassung</b>	<b>45</b>
<b>7. Anhang</b>	<b>46</b>
7.1 Ethikkommissionsantrag	46
7.2 Ethikkommissions-Zusage	47
7.3 Patientenaufklärung	48
7.4 Übersicht über die RSA-Literatur	51
<b>8. Danksagung</b>	<b>62</b>
<b>9. Lebenslauf</b>	<b>63</b>
<b>10. Literaturverzeichnis</b>	<b>64</b>

## Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Abortrisiko in Abhängigkeit von der Zahl vorausgegangener Aborte	10
Tabelle 2: Risiko habitueller Aborte bei uterinen Anomalien	14
Tabelle 3: Behandlungsmöglichkeiten bei uterinen Anomalien	14
Tabelle 4: Durchführung der PCR	27
Tabelle 5: Bedingungen für die durchgeführten RFLP-Analysen	28
Tabelle 6: Verwendete Geräte	29
Tabelle 7: Verwendete Chemikalien und Substanzen	30
Tabelle 8: Demographische Daten der Studienpopulation	32
Tabelle 9: Klinische Daten der RSA-Patientinnen	33
Tabelle 10: Häufigkeitsverteilung der F5-1691G>A-Mutation	36
Tabelle 11: Häufigkeitsverteilung der Faktor II- Mutation 20210G>A	37
Tabelle 12: Häufigkeitsverteilung der MTHFR-677C>T-Mutation	38
Tabelle 13: Kombinationen der einzelnen Mutationen	39
Tabelle 14: Literaturübersicht	51

## Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Abortrisiko bei kinderlosen Frauen und Frauen mit mindestens einem Kind	11
Abbildung 2: MRT-Bilder eines Uterus duplex und Klassifikation der angeborenen Uterusfehlbildungen	13
Abbildung 3: Thrombotische Gefäßveränderungen in einer Plazenta	20
Abbildung 4: MTHFR-Stoffwechsel	23
Abbildung 5: Anzahl Aborte	33
Abbildung 6: Abortart	34
Abbildung 7: Anzahl Aborte, unterteilt in fünf verschiedene Schwangerschafts-Abschnitte	35

## 1. Abkürzungsverzeichnis

°C	Grad Celsius
%	Prozent
µg	Mikrogramm
µl	Mikroliter
µM	mikromolar
A	Adenin
ACL	Anti-Cardiolipin
AK	Antikörper
AMA	Antimitochondriale Antikörper
APC-Resistenz	Aktivierte Protein C-Resistenz
ANA	Antinukleäre Antikörper
APS	Antiphospholipid-Syndrom
aPTT	aktivierte partielle Thromboplastinzeit
AT III	Antithrombin III
AV-Block	Atrioventrikulärer Block
BMI	"body mass"-Index
bp	Basenpaare
BSA	bovines Serum-Albumin
bzw.	beziehungsweise
C	Cytosin
ca.	circa
CI	Konfidenzintervall
CRH	"cortisol-releasing"-Hormon
CMV	Zytomegalievirus
D	Deletion
DES	Diethylstilbestrol
d. h.	das heißt
DGGG	Deutsche Gesellschaft für Gynäkologie und Geburtshilfe
DGGEF	Deutsche Gesellschaft für Endokrinologie und Fortpflanzungsmedizin
DHEA-S	Dehydroepiandrosteronsulfat
DMSO	Dimethylsulfoxid
DNA	Desoxyribonukleinsäure
dNTP	Desoxynukleosidtriphosphat
EDTA	Ethylendiamintetraacetat

EPCOT	"European Prospective Cohort on Thrombophilia"
F I	Fibrinogen
F II	Gerinnungsfaktor II
F V	Gerinnungsfaktor V
F Va	aktivierter Gerinnungsfaktor Va
F VII	Gerinnungsfaktor VII
F VIIa	aktivierter Gerinnungsfaktor VIIa
F X	Gerinnungsfaktor X
F Xa	aktivierter Gerinnungsfaktor Xa
F XII	Gerinnungsfaktor XII
F XIIa	aktivierter Gerinnungsfaktor XIIa
F XIII	Gerinnungsfaktor XIII
FSH	Follikel-stimulierendes Hormon
FVL	FaktorV-Leiden (Mutation im Gerinnungsfaktor V)
g	Gramm
G	Guanin
HCG	"human chorionic gonadotropine"
HCL	Salzsäure
HELLP-Syndrom	"hämolyse, elevated liver enzymes, low platelet"- Syndrom
HIV	humanes Immundefizienz-Virus
I	Insertion
ICSI	Intrazytoplasmatische Spermieninjektion
IgG	Immunglobulin vom Typ G
IgM	Immunglobulin vom Typ M
IU	International Units
IUFT	intrauteriner Fruchttod
IUGR	intrauterine Wachstumsretardierung
IVF	In-vitro-Fertilisation
kb	Kilobase
KCl	Kaliumchlorid
kd	Kilodalton
Konz.	Konzentration
l	Liter
LA	Lupus-Antikoagulanzen
Leu	Leucin
LH	luteinisierendes Hormon

LMU	Ludwig-Maximilians-Universität
M	molar
mA	Milliampere
MgCl <sub>2</sub>	Magnesiumchlorid
min.	Minuten
mind.	mindestens
ml	Milliliter
mM	Millimol
mRNA	"messenger"-RNA
MRT	Magnetresonanztomographie
MTHFR	Methylentetrahydrofolat-Reduktase
n	Anzahl
NMH	niedermolekulares Heparin
n. s.	nicht signifikant
NaCl	Natriumchlorid
ng	Nanogramm
nm	Nanometer
NO	Stickstoffmonoxid
NOS	Stickoxidsynthase
NOS3	Endotheliale Stickoxid-Synthase
OR	"odds ratio"
p	Signifikanzniveau
PAF	Plättchen-aktivierender Faktor
PAI-1	Plasminogen-Aktivator-Inhibitor 1
PC	Protein C
PCO	Polycystisches Ovar-Syndrom
PCR	"polymerase chain reaction"
PFO	Polyfollikuläres Ovar
p.m.	post menstruationem
pmol	Pikomol
PS	Protein S
PTT	Partielle Thromboplastinzeit
RAAS	Renin-Angiotensin-Aldosteron-System
RFLP	Restriktionsfragment-Längenpolymorphismus
RNA	Ribonukleinsäure
RR	relatives Risiko
RSA	rezidivierende Spontanaborte

RSA_F	Patientinnen mit RSA
RSA_M	Männer aus der RSA-Gruppe
Kontroll_F	Frauen aus der Kontrollgruppe
Kontroll_M	Männer aus der Kontrollgruppe
RSA_2	max. zwei Abgänge
RSA_3	mind. drei Fehlgeburten
sec.	Sekunden
SGA	"small for gestational age"
SLE	Systemischer Lupus erythematodes
SPSS	Statistik-Paket für "social sciences"
SS	Schwangerschaft
SSW	Schwangerschaftswoche
T	Thymin
Tab.	Tabelle
TAK	Thyreoglobulin-Antikörper
Taq	Thermus aquaticus
TBG	Thyroxin-bindendes Hormon
TBVT	Tiefe Beinvenenthrombose
Temp.	Temperatur
TLC	"tender loving care"
t-PA	"tissue-type plasminogen activator"
TRH	"thyreotropin-releasing"-Hormon
TSH	Thyreoid-stimulierendes Hormon
u. a.	unter anderem
u. U.	unter Umständen
UV	Ultraviolett
u. v. m.	und vieles mehr
v. a.	vor allem
Val	Valin
vs.	versus
WHO	World Health Organisation / Weltgesundheitsorganisation
z. B.	zum Beispiel



## 2. Einleitung

### 2.1 Fehlgeburt (Abort)

#### 2.1.1 Definition und Häufigkeit

Unter einer Fehlgeburt versteht man die vorzeitige Beendigung der Schwangerschaft mit oder ohne Abstoßung der abgestorbenen Frucht mit einem Gewicht unter 500g.

Etwa 10-15 % aller klinisch erkannten Schwangerschaften enden als sporadische Fehlgeburten ohne erhöhtes Wiederholungsrisiko.<sup>1-3</sup> In den ersten Schwangerschaftswochen (SSW) kann sich eine Fehlgeburt subklinisch als eine verspätete, eventuell verstärkte Blutung äußern.<sup>4</sup> Somit ist die Gesamtzahl der Frühaborte höher einzuschätzen. Man geht davon aus, dass nur jede dritte befruchtete Eizelle in eine normale Schwangerschaft mündet. Über 30 % der befruchteten Eizellen gehen bis zur Implantationsphase zugrunde.<sup>2,5</sup> Feige et al.<sup>6</sup> zeigten in einer prospektiven Studie, dass 30-60 % der durch ein erhöhtes humanes Choriongonadotropin (HCG) biochemisch nachgewiesenen Schwangerschaften verloren gingen. Manche Studien schätzen, dass ungefähr 50-70 % aller klinisch und biochemisch bestätigten Schwangerschaften als spontane Aborte enden.<sup>4</sup>

1-3 % aller Paare im reproduktionsfähigen Alter sind von habituellen Aborten betroffen.<sup>7,8</sup> Insgesamt ereignen sich habituelle Aborte mit einer Häufigkeit von 0,4-2 %. Die Wahrscheinlichkeit von drei aufeinander folgenden Frühaborten beträgt 1 %.<sup>9</sup> Rezidivierende Spontanaborte (RSA) bedeuten per definitionem einen Verlust von drei oder mehr aufeinander folgenden Schwangerschaften vor der 20. SSW.<sup>8,10</sup> Einige Autoren ziehen jedoch eine neue Definition vor und zählen Frauen mit 2 und mehr Fehlgeburten nach dem 30. Lebensjahr in die RSA- Gruppe.<sup>11-13</sup> Dies erscheint angesichts der immer älter werdenden Erstgebärenden vor allem in den Industrieländern bei strenger Indikation<sup>14</sup>, z. B. bei sehr starkem Leidensdruck oder bei Aborten nach Kinderwunschbehandlung, sinnvoll. Neben der genauen Abortanamnese spielt auch die „Einschätzung der reproduktionsmedizinischen Gesamtsituation des betroffenen Paares“ eine wesentliche Rolle.<sup>10</sup>

Das Wiederholungsrisiko von Fehlgeburten schwankt in Abhängigkeit des Patientenguts erheblich. Man vermutet, dass mit zunehmender Anzahl der vorausgegangenen Aborte das Wiederholungsrisiko zunimmt (Tabelle 1). Ohne Vorereignis liegt das Abortrisiko bei 15 %. Mit jedem weiteren Abort steigt dieses Risiko jedoch an: Nulliparae mit 3 Aborten in der Vorgeschichte erleiden mit einer Wahrscheinlichkeit von 47 % eine erneute Fehlgeburt, Mehrgebärende nach 3 Aborten mit einem Risiko von 32 %.<sup>15</sup> Die meisten Aborte (ca. 80 %) ereignen sich bereits vor der 12. SSW.<sup>15</sup> Somit nimmt das Abortrisiko mit zunehmendem Gestationsalter ab, von etwa 15 % in der 7. SSW auf etwa 4 % in der 14. SSW.<sup>16</sup>

Ereignet sich der Abort vor der 12. SSW post menstruationem (p.m.), spricht man von einem **Frühabort**, ereignet er sich zwischen der 12.-24. SSW p.m., handelt es sich um einen **Spätabort**.<sup>8</sup> Lässt sich die SS nur biochemisch (HCG, Progesteron im Serum) und nicht klinisch (Sonographie) nachweisen, spricht man von einem präklinischen **Frühabort** (Frühestabort). Dabei handelt es sich um eine Implantationsstörung, die nach heutigem Kenntnisstand nicht therapierbar ist und nicht unter die Definition „habituelle Aborte“ fallen sollte. Zählte man sie dazu, läge das generelle Abortrisiko bei ca. 50 %.<sup>2</sup> Diese Einteilung ist wichtig, da sich die Ätiologie, Pathologie und Therapie von Früh-, Früh- und Spätaborten unterscheiden.

**Tabelle 1:** Abortrisiko in Abhängigkeit von der Zahl vorausgegangener Aborte

Zahl vorangegangener Aborte	Statistisches Abortrisiko (%)
1	16
2	25
3	45
4	54
5	70-80
>5	80-90

**Quelle:** Strowitzki T, 1996 <sup>17</sup>, Knudsen UB, 1991<sup>11</sup>.

Dargestellt ist der Zusammenhang zwischen der Anzahl an vorangegangenen Aborten und dem damit verbundenen statistischen Abortrisiko (%). Das Abortrisiko steigt mit der Anzahl an vorausgegangenen Aborten: bei einem Abort in der Vorgeschichte liegt das statistische Abortrisiko in der nächsten SS bei 16 %, bei 2 Aborten in der Vergangenheit bei 25 %, bei 3 Aborten bei 45 %, bei 4 Aborten bei 54 %, bei 5 Aborten bei 70-80 % und bei mehr als 5 Aborten bei 80-90 %.

Bei mindestens drei aufeinanderfolgenden Aborten vor der 20. SSW spricht man von einer **primären habituellen Abortneigung**. Werden die Aborte durch eine erfolgreich ausgetragene SS unterbrochen, spricht man von einer **sekundären habituellen Abortneigung**.

Ab der 24. SSW ist ein Überleben des Fetus möglich. Daher spricht man ab der 24. SSW nicht mehr von einem Abort, sondern von einer Früh- bzw. Totgeburt.

Des Weiteren können Aborte in verschiedene Verlaufsformen unterteilt werden:

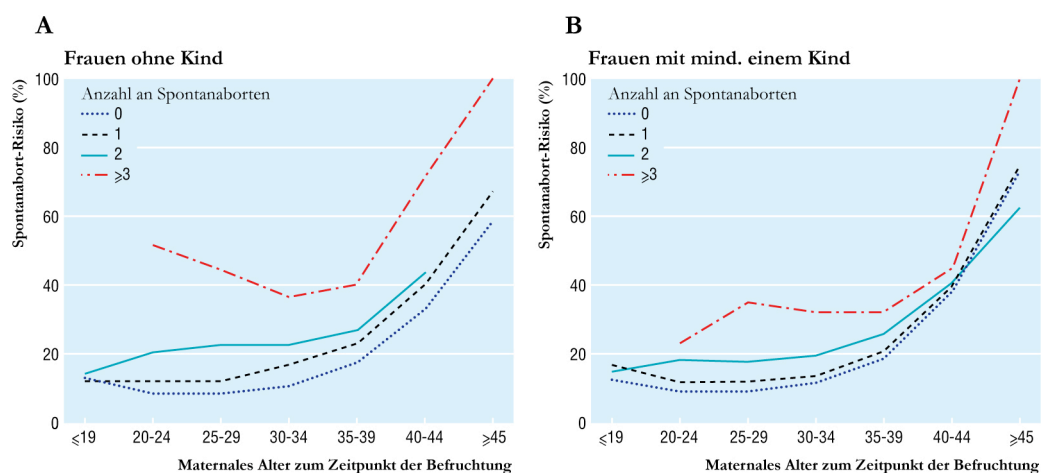
- Abortus incipiens (beginnender Abort)
- Abortus (in-)completus ((un-) vollständiger Abort)
- Abortus imminens (drohender Abort)
- febriler oder septischer Abort (Temperaturen < oder >39 °C)
- missed abortion (verhaltener Abort)
- Abortus habitualis (habitueLLer Abort).

### 2.1.2 Ätiologische Faktoren

In der Reproduktionsmedizin stellt die Diagnostik und Therapie der RSA bei Paaren mit Kinderwunsch eine der größten Herausforderungen dar.<sup>18</sup> Bislang bekannte Ursachen für RSA sind anatomische Auffälligkeiten (9 bis 27 %)<sup>19</sup> wie z. B. Uterusfehlbildungen, genetische Veränderungen (5 %), immunologische und endokrinologische Störungen, hereditäre (FVL, FII, MTHFR) und erworbene Thrombophilien (Anti-Phospholipid-Antikörper-Syndrom), Infektionen oder Drogenabusus.<sup>20,21,22,23</sup>

Nicht nur mütterliche, sondern auch fetale Gründe tragen zum multifaktoriellen Geschehen eines Abortes bei. Hier sind die fetalen chromosomalen Störungen zu nennen, welche für 50-60 % aller Spontanaborte im ersten Trimester verantwortlich sind.<sup>10</sup> Chromosomale Veränderungen treten mit zunehmendem Alter der Mutter gehäuft auf, da ein höheres Alter mit einer höheren Rate an Chromosomenaberrationen verbunden ist. Somit erleben über 35 Jahre alte Frauen doppelt so häufig Aborte wie Frauen zwischen 20 und 29 Jahren (**Abbildung 1**).

**Abbildung 1:** Abortrisiko bei kinderlosen Frauen und Frauen mit mindestens einem Kind



**Quelle:** Nybo Andersen, A.-M. et al.<sup>24</sup>

Panel A zeigt das Spontanabortrisiko (%) Erstgebärender in Abhängigkeit des mütterlichen Alters zum Zeitpunkt der Befruchtung. Panel B zeigt im Gegensatz dazu das Spontanabortrisiko (%) Mehrgebärender (mind. 1 Kind) in Abhängigkeit vom mütterlichen Alter zum Zeitpunkt der Befruchtung.

Auch demographische, sozioökonomische und geburtshilfliche (z. B. Amniozentese) Faktoren können das Abortrisiko beeinflussen. So untersuchten Nohr et al.<sup>25</sup> in einer großen prospektiven dänischen Kohortenstudie den Zusammenhang zwischen dem "body mass"-Index (BMI) vor der SS und Spontanabort oder Totgeburt. Danach tragen Mütter, die bereits vor der SS adipös sind, ein mit zunehmendem Gestationsalter steigendes Risiko für einen Spätabort oder eine Totgeburt. Ob die Adipositas per se oder die Adipositas-assoziierten SS-Risiken (z. B. Diabetes, hypertensive Erkrankungen, Präeklampsie) kausal mit dem fetalen Tod verknüpft sind, bleibt spekulativ. Laut den Autoren spielt möglicherweise eine plazentare Dysfunktion (z. B. Plazentainfarkt, fetale Wachstumsverzögerung) eine entscheidende Rolle.

Leider kann bislang nur in 50 % der RSA-Fälle eine Ursache gefunden werden.<sup>8,26</sup> Dennoch haben zwischen 70 und 75 % aller Paare mit rezidivierenden Frühaborten unklarer Genese eine hohe Chance auf eine erfolgreiche nächste SS ohne medikamentöse Therapie, wenn sie sich in der

folgenden Frühschwangerschaft einer intensiven Betreuung unterziehen, d. h. wöchentlichen sonographischen Kontrollen und einer psychologisch-medizinische Betreuung, genannt "tender loving care" (TLC).

### 2.1.2.1 Anatomische Ursachen

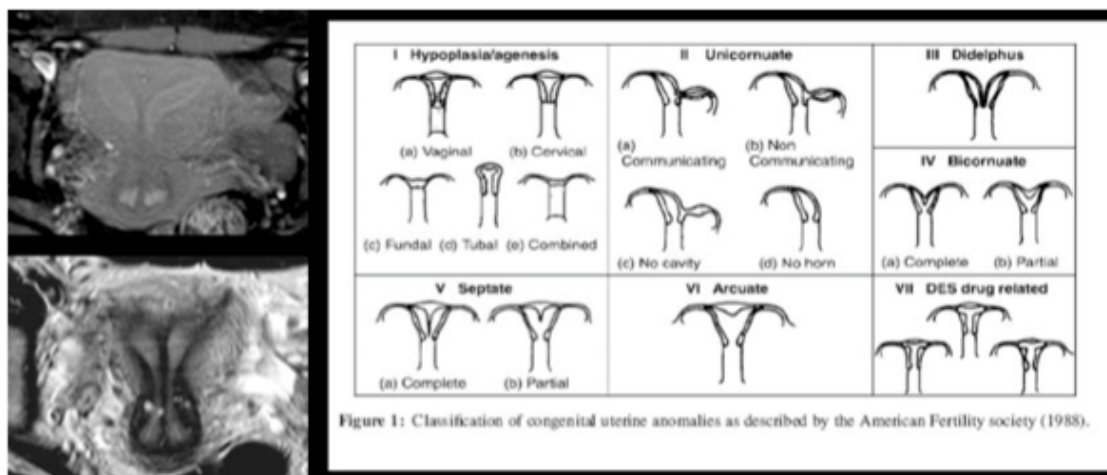
**Polypen, Myome:** Intrakavitäre Polypen können ein mechanisches Hindernis darstellen. Intramurale, intrakavitäre und v. a. submuköse Myome (einzeln oder multipel) können, abhängig von der Lokalisation und Größe ( $\geq 5$  cm), für einen anatomisch bedingten Abort verantwortlich sein. Insbesondere, wenn sie als Oligomenorrhoe oder als Menometrorrhagien klinisch in Erscheinung treten, führen sie häufig zu Implantationsstörungen oder Frühaborten.<sup>14</sup> Die hysteroskopische Myom-Enukleation reduziert die Abortrate.<sup>21</sup>

**Synechien-Ashermann-Syndrom:** In ca. 16 % der Fälle treten nach 1-2 intrauterinen Eingriffen wie z. B. Abortkürrettagen intrauterine Verklebungen auf, die wiederum Aborte bedingen können.<sup>27,28</sup> Nach drei oder mehr Eingriffen steigt das Adhäsionsrisiko auf 30 %.<sup>14</sup> Diese iatrogen bedingten Verwachsungen im Bereich des Endometriums können die Nidation der befruchteten Eizelle stören.

#### Uterusanomalien:

In bis zu 9-27 %<sup>19</sup> findet man bei Frauen mit RSA angeborene uterine Fehlbildungen (Abbildung 2), die zu unterschiedlichen Abortraten führen (Tabelle 2).

**Abbildung 2:** MRT-Bilder eines Uterus duplex und Klassifikation der angeborenen Uterusfehlbildungen



**Quelle:** MRT-Bilder eines Uterus bicornis bicollis: PD Dr. med. B. Toth, Klinik und Poliklinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe, Campus Großhadern, München; Klassifikation der verschiedenen Uterusfehlbildungen nach der "Amerian Fertility society (1988)" aus Azzis, R.<sup>29</sup>: I Uterushypoplasie/-agenese, II Uterus unicornis, III Uterus didelphys (duplex), IV Uterus bicornis, V Uterus septus, V Uterus arcuatus, VII Diethylstilbestrol (DES)-verursachte Schädigung des Uterus.

Die uterinen Fehlbildungen der Mutter entstehen durch eine inkomplette Verschmelzung der Müllerschen Gänge in der Embryonalentwicklung und werden daher als Hemmungsfehlbildungen bezeichnet.<sup>4</sup> In bis zu 25 % der Fälle wird ein Uteruseptum (komplett als Uterus septus oder inkomplett als Uterus subseptus) diagnostiziert.<sup>21</sup>

**Tabelle 2:** Risiko habitueller Aborte bei uterinen Anomalien

Uterusanomalie	Abortrisiko (%)
Uterus duplex	13-42
Uterus arcuatus	29
Uterus bicornis	28-44
Uterus unicornis	33-66
Uterus septus/subseptus	26-94

**Quelle:** modifiziert nach Steck T, 1997<sup>30</sup>. Dargestellt ist der Zusammenhang zwischen Uterusanomalien (links) und dem statistischen Abortrisiko (in %; rechts).

Die folgende Tabelle gibt eine Übersicht über die anatomischen Ursachen für RSA und deren mögliche Therapie:

**Tabelle 3:** Behandlungsmöglichkeiten bei uterinen Anomalien

Diagnose	Behandlung
Zervixverschlusinsuffizienz	Cerclage
Leiomyome	Myom-Enukleation
Uterus septus	Hysteroskopische Resektion
Uterus bicornis	u. U. Metroplastik
Uterus unicornis	keine
Uterus didelphis	keine

**Quelle:** modifiziert nach der Deutschen Gesellschaft für Gynäkologie und Geburtshilfe der DGGG und DGGEF 2006<sup>31</sup>. Aufgelistet sind auf der linken Seite verschiedene uterine Anomalien mit den entsprechenden Therapieoptionen auf der rechten Seite.

Des Weiteren kann es zu einem gestörten Aufbau des Endometriums und somit zu einer gestörten Implantation und Heranreifung der befruchteten Eizelle kommen.

Das Abortgeschehen ereignet sich häufig am Ende des ersten oder zu Beginn des zweiten Trimenons. Je nach Ausprägung der Fehlbildung kommt es in 25-67 % der Fälle zu einem Abort.<sup>17</sup> Assoziiert finden sich häufig angeborene Anomalien des harnableitenden Systems.

**Zervixinsuffizienz:** Konisationen und Kürettagen in der Vorgeschichte, aber auch Infektionen, Traumata oder eine angeborene Bindegewebsschwäche können ursächlich für eine zervikale Verschlussinsuffizienz und eine daraus resultierende Abortneigung im 2. Trimester sein. Die Inzidenz liegt bei unselektierten Schwangeren bei 1 %<sup>32</sup> und bei Schwangeren mit anamnestisch wiederholten Aborten bei 8-15 %.<sup>33</sup>

### 2.1.2.2 Genetische Ursachen

Zwischen 50 und 60 % der Abgänge im ersten Trimester sind durch genetische Defekte beim Kind verursacht. Am häufigsten finden sich eine Trisomie, eine Polyploidie oder eine X-Monosomie.<sup>10</sup> Chromosomale Veränderungen treten bei RSA-Paaren in 4 % der Fälle auf, im Vergleich zu 0.2 % in der Normalbevölkerung.<sup>10</sup> Am häufigsten (in etwa 50 % der Fälle) finden sich balancierte reziproke Translokationen, gefolgt von Robertson-Translokationen (24 %), gonosomalen (weiblichen) Mosaiken (12 %) sowie Inversionen und anderen Anomalien (15 %).<sup>34</sup> Unter einer reziproken Translokation versteht man die Verschmelzung eines langen oder kurzen Armes eines Chromosoms mit einem anderen Chromosom, unter einer Robertson-Translokation die Verschmelzung der langen Arme zweier verschiedener akrozentrischer Chromosome.

Die Rate an spontan auftretenden strukturellen oder numerischen Aberrationen steigt mit dem mütterlichen und väterlichen Alter. Eine signifikante Korrelation besteht zur Trisomie 16.21 und 22.<sup>21,27</sup> So erfahren über 35-jährige Paare doppelt so häufig Aborte wie 20-29-jährige Paare (Abbildung 1).

Paare mit RSA und nachgewiesenen chromosomalen Veränderungen sollten über die modernen Möglichkeiten der Präimplantationsdiagnostik und assistierten Reproduktionsmedizin informiert werden.

### 2.1.2.3 Andrologische Ursachen

Männliche Sub- bzw. Infertilität (z. B. Teratozoospermien oder Oligozoospermien) kann die Spontanabortrate erhöhen. Im Rahmen einer In-vitro-Fertilisation/intrazytoplasmatischen Spermieninjektion (IVF/ICSI) wurde eine höhere Abortrate festgestellt, wenn der Mann an einer Oligoasthenozoospermie litt, verglichen mit Paaren mit einem apathologischem Sperma-Befund des Mannes.<sup>35</sup> Darüberhinaus fanden sich überproportional häufig Aneuploidien der Spermien bei Partnern von RSA-Patientinnen.<sup>36</sup> Bei einigen Paaren mit RSA konnte eine Erhöhung der Fragmentation der Spermien-DNA diagnostiziert werden. Zudem konnte bei betroffenen männlichen Partnern eine erhöhte Zahl an pathologischen Sperma-Morphologien und eine gesteigerte Apoptose-Aktivität der Spermien nachgewiesen werden.<sup>36,37</sup>

### 2.1.2.4 Hormonelle Ursachen

#### **Prolaktin, Schilddrüse:**

Der Einfluss von Schilddrüsenfunktionsstörungen auf das Abortgeschehen ist noch nicht abschließend geklärt, wobei insbesondere die Hypothyreose im Vordergrund steht.<sup>38</sup> So zeigte eine Studie, daß durch die Therapie einer Schilddrüsen-Unterfunktion die Abortrate von 71.4 % auf 4 % gesenkt werden kann.<sup>39</sup>

Da TRH die Prolaktin-Sekretion stimuliert, kommt es im Falle einer Hypothyreose zu einer Hyperprolaktinämie und folglich zu Zyklusstörungen. 10 % der Frauen mit sekundärer Amenorrhoe oder Oligomenorrhoe bzw. Corpus-luteum-Insuffizienz haben eine Schilddrüsenfunktionsstörung.<sup>40,41</sup> Zirkulierende Autoantikörper gegen die Thyroidperoxidase (als Marker einer Hashimoto-Thyreoiditis) und gegen den TSH-Rezeptor (als Marker des Morbus Basedow) stehen ebenfalls mit erhöhten Abortraten in Zusammenhang.<sup>42</sup> Die kausalpathologische Verknüpfung ist noch nicht geklärt.<sup>42</sup> Bei einem Kollektiv von 129 Patientinnen mit einer schweren, unbehandelten Hypothyreose kam es zu einer Verdoppelung der Abortrate auf ca. 31 %.<sup>43</sup> Hirahara et al.<sup>44</sup> fanden eine Abortrate von 85 % in einem unbehandelten Kollektiv von Frauen mit Hyperprolaktinämie im Vergleich zu 52 % bei Frauen, die in der 9. SSW mit Bromocriptin behandelt wurden. Durch die Therapie einer Hyperprolaktinämie wird möglicherweise jedoch lediglich eine Prolaktin-induzierte Schilddrüsenunterfunktion ausgeglichen.<sup>14</sup>

### **Diabetes mellitus:**

Eine schlechte Einstellung eines Diabetes mellitus gilt als Risikofaktor für RSA sowie als mögliche Ursache für Kinderlosigkeit. Zudem führt eine Hyperglykämie zu einem erhöhten Risiko hinsichtlich der Entwicklung einer Makrosomie, eines Polyhydramnions und einer fetalen Anomalie.<sup>32</sup> Das Abortrisiko gut eingestellter Diabetikerinnen entspricht dem von Schwangeren ohne Diabetes.<sup>45</sup>

### **Lutealinsuffizienz, PCO:**

Bei 20-60 % der RSA-Patientinnen lässt sich eine Corpus-luteum-Insuffizienz als Folge einer primären Follikelreifungsstörung nachweisen.<sup>6</sup> Plazentares HCG stimuliert die Progesteron-Biosynthese des Corpus luteum. Somit ist Progesteron ein guter Kontrollparameter für eine ausreichende HCG-Synthese. Durch die nachlassende Corpus-luteum-Aktivität in der 8.-10. SSW kommt es zu einer Plateaubildung des Progesteron-Spiegels und zu einer Syntheseübernahme durch die Plazenta. Dieser luteoplazentare Wechsel der Progesteron-Produktion stellt einen kritischen Zeitpunkt dar.<sup>4</sup> Laut Li et al.<sup>46</sup> verringert sich die Abortrate bei gesicherter Lutealphasen-Insuffizienz durch eine Gonadotropin-Stimulation. Bis heute ist die Diagnostik einer Lutealphasen-Insuffizienz schwierig und als Ursache habituellder Aborte fraglich.<sup>47</sup>

Das polyzystische Ovar-Syndrom (PCO), das auf einer Störung der hypothalamisch-hypophysär-ovariellen Achse beruht, ist zum einen Ursache für Anovulationen und Sterilität, zum anderen findet es sich gehäuft bei Patientinnen mit RSA. Dieses Syndrom schließt die Befunde einer basalen Hypersekretion von LH (luteinisierendes Hormon), einer Hyperandrogenämie und einer Adipositas ein. Eine LH-/FSH-Ratio  $>2$  gilt als prognostisch ungünstig. In einigen Studien fanden sich bei 36-56 % aller Frauen mit habituellen Aborten polyzystische Ovarien in der sonographischen Untersuchung.<sup>48-50</sup> Ob Frauen mit RSA und polyzystischen Ovarien ein höheres Abortrisiko tragen als Frauen ohne polyzystische Ovarien, ist jedoch noch nicht abschliessend geklärt.<sup>50,51</sup> Durch die Behandlung mit Metformin bei Frauen mit Insulinresistenz bzw. metabolischem Syndrom scheint die Abortrate signifikant gesenkt zu werden. Allerdings ist die Datenlage noch nicht ausreichend valide.<sup>52,53</sup>

#### 2.1.2.5 Immunologische Ursachen

Das Immunsystem der Mutter spielt bei der Regulation der Implantation des Embryos eine entscheidende Rolle. Es muss sich mit dem sich entwickelnden Feten bzw. den extraembryonalen Membranen auseinandersetzen.<sup>54,55</sup> Der Trophoblast ist zu 50 % paternal und somit eigentlich fremd für das mütterliche Immunsystem. So kommt es zur Aktivierung des mütterlichen Immunsystems auf zwei verschiedenen Wegen:

- einer Abstoßungsreaktion mit Beteiligung der natürlichen Killerzellen (NK-Zellen) und
- einer „Helfer- und/oder Ammenfunktion“: Spezifische Wachstumsfaktoren und Zytokine werden von den immunkompetenten Zellen synthetisiert und sezerniert.<sup>56</sup>

Da der Embryo auf seiner Oberfläche nicht die klassischen humanen Lymphozyten-Antigen (HLA)-Merkmale des Haupthistokompatibilitätskomplexes (MHC) präsentiert, kann keine spezifische Abwehrreaktion erfolgen. Der Embryo identifiziert sich aber durch nicht-klassische und wenig polymorphe HLA-Merkmale wie z. B. HLA-E oder HLA-G. Diese Marker inhibieren spezifisch die NK-Zellen. Liegt ein Polymorphismus des HLA-G vor, kann dies die NK-Zellen zur Synthese bestimmter Zytokine anregen. Letzteres Phänomen wurde häufiger bei Frauen mit habituellen Aborten als bei solchen mit normal verlaufenden Schwangerschaften festgestellt. Inwieweit eine erhöhte Konzentration von NK eine endometriale Dysregulation bedingt, ist aber noch unklar.<sup>4</sup>

Zudem produziert eine Gruppe von RSA-Patientinnen anti-paternale AK, die mit väterlichen Lymphozyten und MHC-Klasse I und II-Antigen-negativen Trophoblasten kreuzreagieren. Dies könnte habituelle Aborte bedingen. Davon abzugrenzen sind die auch bei einer normal verlaufenden SS auftretenden anti-paternalen HLA-AK.<sup>57</sup>



Bis jetzt gibt es jedoch keine wissenschaftliche Grundlage zur Bestimmung von NK-Konzentrationen im Serum der Mutter. Kommerzielle Angebote und daraus resultierende Therapien sind nach derzeitigem Standard abzulehnen.

Zudem hat man beobachtet, dass es bei RSA häufiger zu einer Aktivierung des TH1-Musters (mit den Zytokinen IL-2, TNF- $\alpha$ , - $\beta$  und Interferon- $\gamma$ ) kommt als bei Frauen mit einem normalen Schwangerschaftsverlauf. Hier steht die Aktivierung des TH2-Musters im Vordergrund. Ein Ungleichgewicht zwischen der TH1- und der TH2-Immunantwort könnte zur Apoptose der Zellen führen und somit habituelle Aborte bedingen. Heute gilt diese Hypothese jedoch als sehr vereinfachend und wird dem komplexen Geschehen der immunologisch bedingten habituellen Aborte nur teilweise gerecht.

In zahlreichen Studien wurde der positive Zusammenhang zwischen lymphozytotoxischen Antikörpern<sup>58,59,55</sup>, NK-Zell-Aktivität<sup>60</sup> und dem Anteil CD-56-positiver Zellen<sup>59,61</sup> und RSA belegt. Stricker et al.<sup>62,63</sup> prägten den Begriff des immunologisch bedingten Abortes als Ausschlussdiagnose, wenn keine anderen Ursachen gefunden werden.

Kommt es zu einer überschießenden Abstoßungsreaktion mit einer fehlenden oder zu gering ausgeprägten Ammenfunktion, die das embryonale Wachstum bzw. das Wachstum des Zyto- und Synzytiotrophoblasten fördert, oder zu einer pathologischen Aktivierung des Immunsystems mit Autoantikörpern, ist die Implantation gestört. Frauen mit hohen Konzentrationen an NK-Zellen haben ein 3,5-fach höheres Abortrisiko als Frauen mit normaler NK-Zell-Konzentration.<sup>60</sup> Die Ergebnisse von Coulam et al.<sup>61</sup> erbrachten einen positiven prädiktiven Wert von 78 % und eine Spezifität von 87 % für RSA bei erhöhter NK-Zellen-Aktivität.

Trotz zahlreicher Studien<sup>58-61</sup> ist der RSA zugrundeliegende immunologische Pathomechanismus jedoch bis heute nicht verstanden.<sup>54,64</sup>

#### 2.1.2.6 Infektiöse Ursachen

Der Einfluss mikrobiologischer Faktoren ist umstritten.<sup>65</sup> Von Bedeutung ist eine Infektion mit Ureaplasma urealyticum oder Chlamydia trachomatis.<sup>21,66</sup> Eine bakterielle Vaginose könnte einen vorzeitigen Blasensprung und eine Zervixinsuffizienz auslösen und somit ursächlich für Aborte im II. Trimenon sein. Als Pathomechanismus werden eine infektbedingte Prostaglandin-Freisetzung der Zervix und eine Keim-Azension mit Besiedlung und Verdauung der Eihäute angenommen. Folge ist ein Amnioninfektionssyndrom und eine Ausstoßung der Frucht.<sup>14</sup>

Systemische Infektionen mit Fieber (Toxoplasmose, Röteln, CMV, Lues, Listeriose, Parvovirus B19, Herpesviren, Hepatitiden, HIV) der Mutter können eine Hypermotilität des Uterus, Infektionen und eine toxische Schädigung des Fetus verursachen. Allerdings kommt es bei diesen Infektionen eher zu sporadischen Aborten als zu habituellen.

#### 2.1.2.7 Psychovegetative Ursachen

Innere Unruhe und psychische Belastung können zu einer Hypermotilität des Uterus und einer Abstoßung des Fetus führen. RSA stellen eine enorme psychische Belastung für das Elternpaar dar.<sup>67</sup> Laut Neugebauer et al.<sup>68</sup> ist das Risiko für eine Depression bei Frauen mit Fehlgeburten verdoppelt, bei kinderlosen Frauen sogar verfünffacht. Durch wöchentliche psychische und medizinische Betreuung und sonographische Untersuchungen ("tender loving care" (TLC)) konnte in 85 % eine erfolgreiche SS erreicht werden.<sup>69</sup> In der unbehandelten Gruppe lag die Rate an erfolgreich ausgetragenen SS bei 33 %. Auch andere Untersuchungen bestätigen die Bedeutung einer emotionalen Führung und engmaschigen psychologischen Betreuung während der SS.<sup>70</sup>

## 2.2 Physiologische Veränderungen der Hämostase in der Schwangerschaft

Voraussetzung für eine erfolgreiche Schwangerschaft ist eine ausgewogene Balance zwischen Blutgerinnung und Fibrinolyse. Im Vordergrund steht zum Einen die Stabilisierung der Fibrinpolymere der Basalplatte und zum Anderen eine adäquate Perfusion des intravillösen Raumes und der plazentaren Stammgefäße.<sup>71</sup> Um dies zu gewährleisten, steigt das Plasmavolumen

während der Gravidität stärker an als das Blutvolumen. Es kommt zur physiologischen Hämodilution. Gleichzeitig steigen die plasmatischen Gerinnungsfaktoren an. Prokoagulatorische Faktoren nehmen zu und antikoagulatorische wie Protein C und Protein S ab. Dieses Zusammenwirken von anti- und prokoagulatorischen Prozessen scheint auf plazerarer Ebene besonders wichtig zu sein, da die Plazenta zwischen der 8. und 10. SSW die Versorgungsfunktion des Dottersacks übernimmt.<sup>72</sup> Zu diesem Zeitpunkt besteht eine verstärkte Vulnerabilität gegenüber thrombophilen Einflussfaktoren. Die Dilatation des venösen Gefäßbettes bedingt eine Stase. In Kombination mit einer verminderten fibrinolytischen Aktivität kommt es schließlich zu einer schwangerschaftsassozierten Hyperkoagulabilität<sup>73,74,75</sup> und folglich zu einem physiologischen Anstieg des Thrombembolierisikos auf das 5-6-fache.<sup>74</sup> Somit ist die tiefe Beinvenenthrombose (TBVT) trotz ihrer relativ geringen Inzidenz von 500-1000 pro 1 Million Schwangeren auch heute noch eine gefürchtete Komplikation, v. a. im 2. Trimenon (Meridian 27,5 SSW) und im Wochenbett.<sup>76,77</sup> Die Muttersterblichkeit beträgt 0-1 %, wobei die fetale Mortalität von anfangs 1 % auf 5 % steigt. Plazentaablösungen könnten hierbei im Vordergrund stehen.<sup>78</sup>

Diese gegensätzlichen physiologischen Prozesse – Hämodilution einerseits und vermehrte Erythrozytenaggregation andererseits – scheinen in Anbetracht des hohen Blutverlustes unter und nach der Geburt als ein Evolutionsvorteil.

Erworbene und angeborene Thrombophilien stellen möglicherweise eine Prädisposition für Aborte dar.<sup>79</sup> Aber nicht nur eine mütterliche<sup>80</sup>, sondern auch eine fetale thrombophile Neigung, die durch mütterliche und väterliche thrombophile Genmutationen vererbt wurde, könnte das Fortbestehen einer SS gefährden.<sup>71</sup>

## 2.3 Thrombophilie (Faktor V-Leiden-, F2-, MTHFR-Mutation)

Gerinnungsstörungen stellen in der SS eine besondere Bedrohung für Mutter und Embryo bzw. Fetus dar. Der Begriff „Thrombophilie“ fasst alle Thrombose-prädisponierende Faktoren zusammen, die erworben oder ererbt sein können.<sup>81</sup> Ungefähr 40 % aller Venen- und Arterienverschlüsse sind auf eine erbliche Genese zurückzuführen.<sup>82</sup> Viele Träger eines Thrombose-Risikofaktors bleiben jedoch asymptomatisch, solange keine zusätzlichen Risikofaktoren bestehen. Denn Thrombosen entstehen meist durch das Zusammenspiel genetischer Veränderungen und Umweltfaktoren wie Bewegungsmangel, Adipositas, Alter, Gewebeschäden, Einnahme oraler Kontrazeptiva oder SS und sind somit als ein multifaktorielles Geschehen anzusehen.<sup>83</sup> Erworbene und angeborene Thrombophilien scheinen auch eine Rolle in der Pathophysiologie eines Schwangerschaftsverlustes zu spielen<sup>79</sup>, zumal die Schwangerschaft per se aufgrund der physiologischen Anpassung an die neue Situation einen thrombotischen Risikofaktor darstellt.

Die Assoziation zwischen genetischen Faktoren der Hämostase und schwangerschaftsassozierten Komplikationen findet seit einigen Jahren zunehmend Interesse. Eine Vielzahl von Forschern hat einen Zusammenhang zwischen hereditären Thrombophilien und RSA gefunden.<sup>84,85,86,87</sup> Hereditäre Thrombophilien scheinen in bis zu 30 % der SS-assozierten Komplikationen (intrauterine Wachstumsretardierung (IUGR), Abruption placentae, Plazentainfarkte) eine wichtige Rolle zu spielen.<sup>88</sup> Angesichts der Möglichkeit einer Prophylaxe und rechtzeitigen Therapie sollten Frauen, die von habituellen Aborten oder schwangerschaftsassozierten Problemen betroffen sind, auf thrombophile Risikofaktoren untersucht werden. Da immer mehrere Ursachen eine Rolle spielen können, sollte die Diagnostik umfassend sein, wenn auch nur bei 40 bis 60 % der Patientinnen eine mögliche Ursache gefunden werden kann.<sup>66</sup>

### 2.3.1 Erworbene Thrombophilie: Das Anti-Phospholipid-Syndrom

Das Anti-Phospholipid-Syndrom (APS) ist nach den Diagnosekriterien der Konsensus-Konferenz 2005 definiert durch das Vorliegen von mindestens einem klinischen und einem serologischen Kriterium, die mindestens zweimal in drei Monaten positiv sind:<sup>89</sup>

Klinische Kriterien:

1. eine oder multiple Thrombosen (venös häufiger als arteriell)
2. Schwangerschaftskomplikationen:
  - Frühabort nach der 10. SSW;
  - mind. eine Frühgeburt vor der 34. SSW aufgrund von (Prä-)Eklampsie oder Plazentainsuffizienz ;
  - mind. drei Aborte vor der 10. SSW ohne chromosomale, anatomische oder hormonelle Ursachen.

Serologische Kriterien:

1. IgG- oder IgM-Anti-Cardiolipin-AK (ACA) positiv (>40 IE);
2. IgG- oder IgM- $\beta$ 2-Glykoprotein 1-AK positiv;
3. Positiver Lupus-Antikoagulanz-Test.

In den Plazenten abortierter Feten konnten bei Patientinnen mit erhöhten Anti-Phospholipid-AK Infarktareale diagnostiziert werden.<sup>90</sup> Interessanterweise kommen die Autoantikörper in einer Gruppe gesunder Frauen ohne Abgänge mit einer Häufigkeit von bis zu 28 % vor<sup>91</sup>. Bei RSA-Patientinnen werden sie in bis zu 40 % der Fälle gefunden.<sup>92</sup> Positive Anti-Cardiolipin-Antikörper kommen bei RSA-Patientinnen mit einer Prävalenz von 5 bis 51 % vor, das Lupus-Antikoagulanz mit einer Prävalenz von 0-20 %.<sup>93</sup> Im Durchschnitt leiden 7-25 % der RSA-Patientinnen an einem Anti-Phospholipid-Syndrom.<sup>94</sup> Werden Frauen mit positivem Lupus-Antikoagulanz oder erhöhten Anti-Cardiolipin-Antikörpern nicht therapiert, mündet die nächste SS zu 90 % in einen Abort oder in eine schwere SS-Komplikation.<sup>95</sup> (Die Antikörper gegen Phospholipide beeinflussen die Blutgerinnung, indem sie über eine Interferenz mit der endothelialen Produktion von PGI<sub>2</sub> zu einer Blockierung der Prostaglandin-Synthese mit der Folge einer unkontrollierten Thromboxan-Aktivierung führen. Konsekutiv kommt es zur einer Vasokonstriktion und Thrombosierung.) Die partielle Thromboplastinzeit (PTT) ist erhöht. Dennoch kommt es nur bei 30 % der symptomatischen Patienten zu venösen und arteriellen Thrombosen. Als Effekt oder Ursache eines Schwangerschaftsverlustes sind ausgedehnte Mikrothrombosierungen im intervillösen Raum beschrieben. Nicht nur erhöhte Abortraten können mit dem APS vergesellschaftet sein, sondern auch eine fetale Wachstumsretardierung (23 %), kongenitale AV-Blocks, eine Abruption placentae, eine Präeklampsie oder auch das HELLP-Syndrom (hämolyse, elevated liver enzymes, low platelet count).

Aufgrund der Tatsache, dass sich auch bei Patientinnen ohne Anti-Phospholipid-AK Mikrothrombosierungen im intervillösen Raum finden, muss man jedoch davon ausgehen, dass verschiedene hämostaseologische Anomalien mit RSA assoziiert sein können.

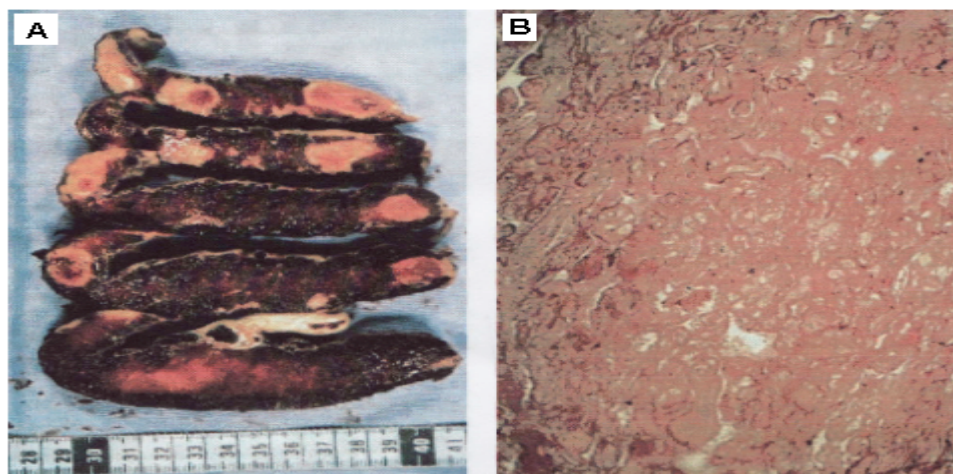
Im folgenden Abschnitt soll eine Reihe von genetisch bedingten Defekten der Blutgerinnung beschrieben werden, die zu einem erhöhten Abortrisiko und damit zu einer höheren Abortneigung führen.

### 2.3.2 Hereditäre Thrombophilie

Eine Vielzahl an Forschungsergebnissen zeigt, dass es einen Zusammenhang zwischen RSA und einer Prädisposition für thrombotische Ereignisse gibt. Plazenta-Thrombosen, -Infarkte, eine gestörte Thrombolyse, ein defekter Prostacyclin-Metabolismus und zytotoxische Effekte gelten als ursächlich für den Verlust einer Schwangerschaft. Weitere Komplikationen, die zu 30 % auf einer angeborenen Thrombophilie basieren, sind IUGR (intrauterine Wachstumsretardierung), Totgeburten, Früheklampsien und Aborte.<sup>96,97,98,79,99</sup>

In den Spiralarterien und im intervillösen Raum frühabortierter Plazenten wurden Mikrothromben gefunden (Abbildung 3), die nicht nur zu einer Unterversorgung der Plazenta, sondern auch des Embryos führen. Diese Entdeckung lässt einen möglichen Zusammenhang zwischen einer thrombophilen/hypofibrinolytischen Prädisposition und RSA vermuten.<sup>99-101</sup> Der Mechanismus der Abortauslösung dürfte in thrombotischen Verschlüssen des Plazenta-Gefäßbettes mit konsekutiven Mikrozirkulationsstörungen liegen.<sup>77</sup>

**Abbildung 3:** Thrombotische Gefäßveränderungen in einer Plazenta



**Legende:** A) Makroskopische Ansicht einer infarzierten Plazenta (Sagittalschnitt) mit weißen und roten Thromben; B) Mikroskopische Ansicht mit ischämischen Nekrosen und ausgeprägten perivillösen Fibrin-Ablagerungen.

**Quelle:** Gris, J.-C. et al.<sup>102</sup>

Die Bedeutung einer hereditären Thromboseneigung für die venöse Thrombogenese in der Schwangerschaft wurde lange Zeit unterschätzt. Als wichtigster Thrombose-Risikofaktor galt der Antithrombin-Mangel. Anfang der Neunziger Jahre entdeckte die Forschung eine Reihe weiterer genetisch determinierter Risikofaktoren für eine angeborene Thrombophilie wie die G1691A-Mutation im Gerinnungsfaktor V (F5)-Gen (Faktor V-Leiden), die 20210G>A-Mutation im Prothrombin- (Gerinnungsfaktor II- oder F2-) Gen, Mutationen im Fibrinogen- (Gerinnungsfaktor I-) und Transglutaminase- (F XIII-) Gen sowie den homozygoten T/T-Genotyp der Methylentetrahydrofolat-Reduktase (MTHFR)-677C>T-Mutation.

Auch ein angeborener Mangel an antikoagulatorischen Faktoren wie der Protein C-, Protein S- und Antithrombin- (AT) Mangel stellt einen Risikofaktor dar.<sup>103,104</sup>

### 2.3.2.1 Faktor V-Leiden

Der aktivierte Faktor V (FVa) ist neben dem aktivierten Faktor X (FXa) wesentlicher Bestandteil des Prothrombin-Konvertase-Komplexes. Die Inaktivierung des FV erfolgt mittels proteolytischer Spaltung durch aktiviertes Protein C in Kombination mit dem Kofaktor Protein S. Die häufigste Ursache hereditärer thrombembolischer Erkrankungen in der kaukasischen Bevölkerung ist eine angeborene Resistenz des Gerinnungsfaktors V gegenüber aktiviertem Protein C (APC-Resistenz).<sup>105</sup> Diese ist in mindestens 90 % der Fälle auf eine Punktmutation in Exon 10 des F5-Gens zurückzuführen.<sup>99,106,105,107</sup> Dabei handelt es sich um die Substitution eines Guanins durch Adenin an Nukleotidposition 1691, die zum Austausch der Aminosäure 506,

Arginin, durch Glutamin führt.<sup>108</sup> Folge ist eine Veränderung der Protein C-Spaltungsstelle im aktivierten Faktor V, so dass Faktor Va nur verzögert durch aktiviertes Protein C gespalten werden kann. Die prokoagulatorische Wirkung ist dadurch verlängert bzw. verstärkt und die Aufhebung verzögert.<sup>105</sup> Etwa 5-10 % der kaukasischen Gesamtbevölkerung<sup>7,105,108-110</sup>, ca. 11-26 % der Patienten mit einer venösen Thrombembolie und bis zu 60 % der Patienten mit einer familiären Thromboseneigung sind heterozygot für die zugrundeliegende Faktor V-Leiden-Mutation (Leiden Thrombophilie Study<sup>106</sup>). Der Vererbungsmodus ist autosomal dominant.<sup>100</sup> Patienten mit einer heterozygoten Faktor V-Leiden-Mutation haben nach heutigem Kenntnisstand ein 5-10-fach erhöhtes Lebenszeit-Thromboserisiko. Bei Homozygoten ist es dagegen bis zu 80-fach erhöht.<sup>108,110,111</sup> Interessanterweise kommt diese Mutation im asiatischen<sup>112</sup> und afrikanischen Raum nicht und bei Afro-Amerikanern nur selten vor. Das Thromboserisiko in diesen ethnischen Gruppierungen ist daher wesentlich geringer als in der kaukasischen Bevölkerung.<sup>113</sup> Innerhalb Europas liegt ein ausgeprägtes Nord-Südgefälle vor. Die Prävalenz variiert von 2 % in Skandinavien bis zu 16 % in Italien.<sup>114</sup>

Bei 17-64 % der kaukasischen Patienten mit einer TBVT konnte eine FVL-Mutation nachgewiesen werden.<sup>115</sup> Die Kombination einer heterozygoten Faktor V-Leiden-Mutation mit weiteren genetischen Risikofaktoren, wie z. B. einer F2-Mutation, einem Protein S-, C- oder Antithrombin-Mangel sowie Umweltfaktoren (Alter, Immobilisation, Operation, Zeit nach der Geburt, orale Kontrazeptiva, Hormonersatztherapie, Malignome, Anti-Phospholipid-Antikörper, Rauchen etc.) erhöht das Thromboserisiko erheblich.

Seit einigen Jahren wird ein möglicher Zusammenhang zwischen einer FVL-Mutation und SS-Komplikationen wie RSA, Präeklampsie, Frühgeburten und SGA-Kindern diskutiert.<sup>116</sup> Die zur Verfügung stehenden Daten sind jedoch widersprüchlich.<sup>117-120</sup> Aufgrund der hohen Prävalenz dieser Mutation in den oben genannten Populationen ist zu überlegen, ob womöglich ein Evolutionsvorteil gegenüber dem Wildtyp besteht, z. B. ein verringerter Blutverlust während der Menstruation und bei Verletzungen und eine geringere Inzidenz von Hämorrhagien intra- und postpartum.<sup>121</sup>

### 2.3.2.2 Prothrombin-20210G>A-Mutation

Der aktivierte Faktor X bildet mit Phospholipiden, Ca<sup>2+</sup>-Ionen und FVa einen Komplex, der Prothrombin zu Thrombin aktiviert, das wiederum Fibrinogen zu Fibrin umwandelt. Mit Hilfe des aktivierten Faktors XIII, einer Transglutaminase, werden die einzelnen Fibrin-Monomere vernetzt und stabilisiert. Es entsteht ein stabiles, unlösliches Gerinnsel. Zudem aktiviert Thrombin Fibroblasten, glatte Muskelzellen und Thrombozyten und beeinflusst die Zellproliferation und Chemotaxis.

Für das auf Chromosom 11 lokalisierte Prothrombin-/F2-Gen sind mehrere Mutationen beschrieben, die zu einer erhöhten Prothrombin-Konzentration oder aber einer veränderten Prothrombin-Funktion führen. Die bedeutendste F2-Mutation ist ein Austausch der Base Guanin durch Adenin an Position 20210. Diese Mutation ist mit erhöhten Prothrombin-Spiegeln und einer verstärkten Prothrombin-Aktivität assoziiert.<sup>122-124</sup> Zudem wird die Inaktivierung von Faktor Va durch aktiviertes Protein C beeinträchtigt und die Thrombin-Generierung gefördert.<sup>125,126</sup> Eine heterozygote 20210G>A-Mutation findet sich bei 1.2 bis 2.8 % der gesunden Kontrollen, bei ca. 5-8 % der Patienten mit einer venösen Thrombose und in etwa 16-19 % der Familien mit einer gehäuften Thromboseneigung.<sup>115</sup> 17 % der Thrombosen in der SS sind auf diese Mutation zurückzuführen.<sup>127</sup> Damit ist das 20210-A-Allel der zweithäufigste, wenn auch moderate Risikofaktor für eine venöse Thrombose. Bei Afrikanern, Asiaten und Indianern Südamerikas ist diese Mutation dagegen, wie auch die Faktor V-Leiden-Mutation, nicht vorhanden.

A/A-Homozygote sind ebenfalls in der Literatur beschrieben worden. Aufgrund der geringen Zahl kann ein relatives Thromboserisiko bislang nicht angegeben werden. Der homozygote Genotyp ist jedoch möglicherweise mit einem früheren Manifestationsalter assoziiert. Wie auch bei den Heterozygoten sind zusätzliche Umweltfaktoren (Alter, Immobilisation, Operation, Zeit nach der Geburt, orale Kontrazeptiva, Hormonersatztherapie, Malignome etc.) und/oder Gendefekte (Faktor V, Antithrombin-, Protein C- oder Protein S-Mangel) notwendig, um eine Thrombose auszulösen bzw. die Wahrscheinlichkeit der Manifestation zu erhöhen.<sup>128</sup>

Darüber hinaus haben heterozygote Merkmalsträger möglicherweise ein höheres Risiko, einen Herzinfarkt zu erleiden, insbesondere, wenn mindestens ein weiterer kardiovaskulärer Risikofaktor (z. B. Rauchen) besteht.<sup>129</sup> Auch das Risiko eines ischämischen Schlaganfalls könnte erhöht sein.<sup>130</sup> Andere Studien haben dagegen für G/A-Heterozygote kein höheres zerebrokardiovaskuläres Risiko nachweisen können, so dass die Rolle des F2-20210G>A-Mutation in der Entstehung arterieller Verschlusskrankheiten bislang ungeklärt ist.

### 2.3.2.3 Protein C und Protein S

Aktiviertes Protein C (APC), ein Vitamin K-abhängiges Protein, spaltet und inaktiviert Faktor Va und VIIIa. Ein angeborener Protein C-Mangel ist sehr selten, geht aber mit einem erhöhten Thrombose-Risiko einher. Das relative Risiko für eine venöse Thrombose liegt nach einer retrospektiven Analyse bei 10,6.<sup>131</sup> Ob ein Zusammenhang zwischen RSA und dem Protein C-Mangel besteht, ist noch nicht ausreichend geklärt.<sup>132</sup>

Protein S dient zusammen mit Thrombin-Thrombomodulin, einem Plasmamembran-Rezeptor-Komplex, als Kofaktor bei der Aktivierung von Protein C und spielt somit eine zentrale Rolle in der Kontrolle des proteolytisch wirkenden Thrombins. Ein Protein S-Mangel bedeutet eine 10-15 %ige Risikosteigerung für eine Thrombose.<sup>133</sup> Während der SS fällt der Protein S-Spiegel physiologischerweise ab. Ein Protein S-Mangel könnte mit RSA bis zur 22. SSW assoziiert sein.<sup>132</sup>

### 2.3.2.4 Antithrombin

Antithrombin bindet als plasmatischer Serinprotease-Inhibitor aktivierte Gerinnungsfaktoren und blockiert und inaktiviert diese irreversibel. Wie der Name schon sagt, entstehen bevorzugt Komplexe mit Thrombin (TAT). Weiterer wichtiger Reaktionspartner ist der aktivierte Gerinnungsfaktor X. Aber auch Faktor IXa, Faktor XIa, Faktor XIIa, tPA, Urokinase, Trypsin, Plasmin und Kallikrein werden durch Bindung inaktiviert. Im Falle eines AT-Mangels erhöht sich das in der SS bereits ohnehin gesteigerte Thrombose-Risiko auf 40 % und das Risiko für einen IUFT um den Faktor 5. Unter allen thrombophilen Genmutationen stellt der AT-Mangel das höchste Risiko für Aborte dar.<sup>7,134</sup> Mit einer Prävalenz von kleiner 0,1 % in der Bevölkerung ist diese Gefahr jedoch eher gering.<sup>131</sup>

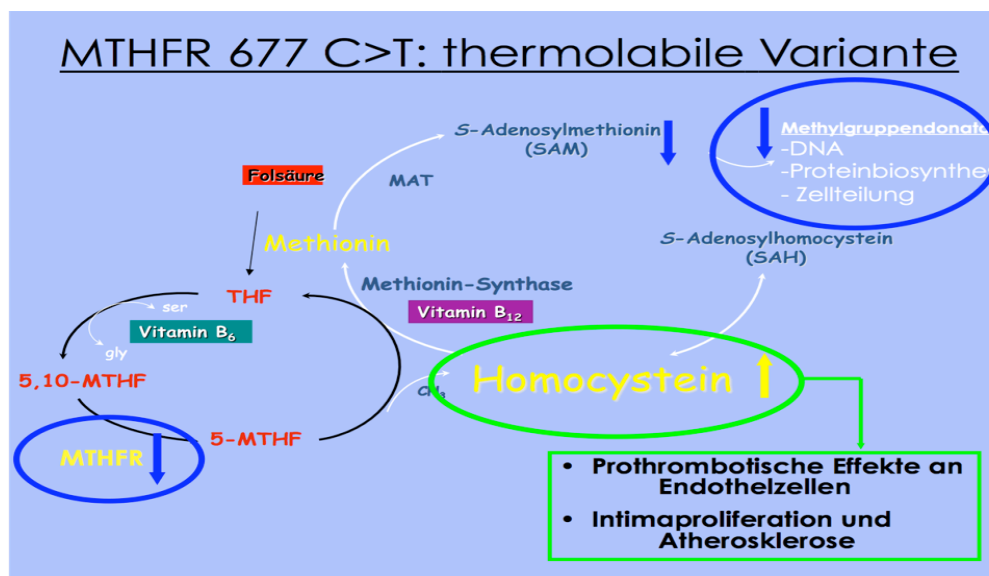
## 2.4 Zusätzliche Faktoren

### 2.4.1 Methylentetrahydrofolat-Reduktase (MTHFR)

Das Enzym MTHFR demethyliert 5,10-Methylen-Tetrahydrofolsäure (5,10-MTHF) zu 5-Methyl-Tetrahydrofolsäure (5-MTHF). Die hierbei freigesetzte Methylgruppe wird zur Remethylierung von Homocystein zu Methionin verwendet (Abbildung 4). Frosst et al.<sup>135</sup> identifizierten eine thermolabile Variante der MTHFR. Ein C→T-Austausch an cDNA-Nukleotidposition 677, der zu einem Ersatz der Aminosäure Alanin an Position 222 durch Valin führt, verursacht eine verminderte Enzymaktivität und führt konsekutiv infolge einer erniedrigten Remethylierungsrate zu einem erhöhten Homocystein-Spiegel. Diese Mutation wird autosomal rezessiv vererbt.<sup>100</sup> Eine Hyperhomocysteinämie kann aber nicht nur auf vererbte Punktmutationen im MTHFR-Gen

zurückgeführt werden, sondern auch Folge von Mutationen im Cystathionin  $\beta$ -Synthase (CBS)-Gen (autosomal dominant vererbt) oder ernährungsbedingter Störungen sein.

**Abbildung 4:** MTHFR-Stoffwechsel



**Quelle:** Prof. Dr. med. C. J. Thaler, Klinik und Poliklinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe, Campus Großhadern, München.

Dargestellt ist der Stoffwechsel der schwefelhaltigen Aminosäure Methionin.<sup>136</sup> Aus Methionin entsteht unter Abspaltung der Phosphat- und Pyrophosphatgruppe durch Reaktion mit ATP S-Adenosylmethionin (SAM). Letzteres dient als Methylgruppen-Donor in einer Reihe von Biosynthese-Reaktionen (z. B. Protein-Biosynthese, Zellteilung, Methylierung von DNA-Basen). Homocystein entsteht durch Abspaltung des Adenosinrestes und Methylübertragung aus Methionin. Homocystein kann in einer Vitamin B<sub>12</sub>-abhängigen Reaktion mit Hilfe der Methionin-Synthase zu Methionin remethyliert werden. Die biologisch aktive Form der Folsäure ist die Tetrahydrofolsäure (FH<sub>4</sub>), die das Coenzym für die Übertragung von 1-Kohlenstoffresten u. a. in Form von Methylresten ist. So wird, wie hier dargestellt, eine von Serin stammende Hydroxymethylgruppe mit Hilfe von Vitamin B<sub>6</sub> als Coenzym auf FH<sub>4</sub> übertragen, wobei Glycin und nach Dehydratisierung N<sup>5</sup>, N<sup>10</sup>-Methylen-FH<sub>4</sub> (5,10-MTHF) entsteht. Aus letzterem wird durch Reduktion mit Hilfe des Enzyms MTHFR das N<sup>5</sup>-Methylen-FH<sub>4</sub> (5-MTHF) gebildet, das als Cofaktor der Synthese von Methionin aus Homocystein dient. Ist die Aktivität der MTHFR eingeschränkt, kommt es zu einer verminderten Bildung von 5-MTHF, so dass Homocystein vermindert zu Methionin remethyliert wird. Als Folge entsteht eine Hyperhomocysteinämie, die einen prothrombotischen Effekt an Endothelzellen zeigt und zu Intimaproliferation und Atherosklerose führen kann.

Die Hyperhomocysteinämie gilt als unabhängiger Risikofaktor für venöse und arterielle Thrombosen, die wiederum koronare Herzerkrankungen und zerebrovaskuläre Insulte bedingen können, vermutlich als Folge einer Veränderung der oberflächlichen Endothelstruktur bei bestehendem Folsäuremangel.<sup>138,137</sup> Aber nicht nur arteriosklerotisch bedingte Gefäßerkrankungen stehen im Zusammenhang mit erhöhten Homocystein-Spiegeln, sondern

auch Entwicklungsverzögerungen und neurologische Entwicklungsstörungen<sup>138</sup> wie z. B. die Anecephalie und Neuralrohrdefekte.

Die metabolischen Effekte der verminderten MTHFR-Aktivität können durch Folsäure- und Vitamin B12-Substitution ausgeglichen werden.<sup>21,132</sup>

Erstaunlicherweise ist die Allel-Häufigkeit populationspezifisch. So sind in Italien 16.3 %<sup>139</sup>, in Kanada (französischer Teil) 12 %<sup>135</sup> und in Japan 11 %<sup>140</sup> der Bevölkerung homozygote Träger der MTHFR-Mutation, in Holland aber nur 5 %<sup>141</sup> und unter den Schwarzafrikanern 0 %<sup>142</sup>. Nach Blom et al.<sup>143</sup> wird der heterozygote Anteil in der Gesamt-Weltbevölkerung auf 40 % geschätzt.

Interessanterweise ergab sich in einer anderen Studie eine verminderte Inzidenz dichorialer Geminigraviden durch die hier beschriebene Mutation.<sup>144</sup> Leicht erhöhte Homocystein-Konzentrationen führten zu einem signifikanten Anstieg der Inhibin-Sekretion von Granulosazellen, was *in vivo* die hypophysäre FSH-Sekretion betroffener Frauen verringern und damit die Inzidenz der Selektion und Ovulation von zwei dominanten Follikeln minimieren kann.<sup>144</sup> Zudem scheint die MTHFR-Mutation bei homozygoten Trägerinnen einen Einfluss auf die Embryonen-Qualität bei IVF/ICSI zu haben: Die Blastomerenzahl von Embryonen ist vermindert, während die Embryonen-Morphologie unverändert bleibt.<sup>145</sup>

## 2.5 Fragestellung dieser Arbeit

Im Rahmen der Doktorarbeit wurde in einer klinischen Fall-Kontroll-Studie der Einfluss hereditärer Thrombophilien (Mutation im FV/F5-, FII/F2- und MTHFR-Gen) auf das Abortgeschehen untersucht. Ziel der Arbeit war es zu prüfen, ob die Trägerschaft dieser Mutationen bei Paaren mit RSA ein Risikofaktor für die Entstehung habitueller Aborte ist. Bislang gibt es nahezu ausschließlich Studien, die hereditäre Thrombophilien bei Patientinnen mit RSA im Vergleich zu einer Kontrollgruppe ohne Abortgeschehen in der Anamnese untersuchten. Angesichts der Tatsache, dass der Fetus genetische Informationen von Mutter und Vater erhält, schien jedoch die Inzidenz von hereditären Thrombophilien bei beiden Partnern relevant. Die grundlegende Frage dieser Arbeit war also, ob ein Zusammenhang zwischen mütterlichen und väterlichen Mutationen und RSA besteht.

Ziel der Untersuchung war es ebenso, einen Beitrag zu der Erforschung auslösender Faktoren für das Abortgeschehen zu leisten, um möglicherweise neue Therapieansätze entwickeln zu können.

1. *Wie häufig sind die analysierten Mutationen im Patientenkollektiv mit RSA im Vergleich zu einem Kontrollkollektiv ohne wiederholte Fehlgeburten?*
2. *Haben Kombinationen dieser Faktoren Einfluss auf die Häufigkeit von RSA?*



### 3. Material und Methoden

#### 3.1 Untersuchte Studienkollektive

##### 3.1.1 Patientenaufklärung

Alle TeilnehmerInnen dieser Studie gaben nach einem persönlichen, mündlichen Aufklärungsgespräch ihr schriftliches Einverständnis zur Durchführung der Studie. Zuvor erhielten die PatientInnen ein Informationsblatt, welches die Studie in einer dem Laien verständlichen Form beschrieb. Die im Rahmen der Studien gewonnenen Daten wurden irreversibel anonymisiert gespeichert.

Die Studie wurde im März 2007 von der Ethikkommission des Klinikums München-Großhadern schriftlich genehmigt (7.2 Ethikkommissions-Zusage). Die Empfehlungen des Weltärztebundes (Deklaration von Helsinki in der vom Weltärztebund aus der 52. Generalversammlung im Oktober 2000 in Edinburgh beschlossenen revidierten Fassung) wurden beachtet.

##### 3.1.2 Patientenkollektiv

Seit 1999 stellen sich Frauen mit rezidivierenden Fehlgeburten und ihre jeweiligen Partner zur diagnostischen Abklärung an der Klinik und Poliklinik für Frauenklinik und Geburtshilfe, Klinikum der Universität München, im Rahmen einer Spezialsprechstunde vor. In den letzten Jahren ist es so gelungen, von 151 deutschstämmigen Paaren mit RSA Blut zu asservieren und nach schriftlicher Einwilligung eine Abklärung hinsichtlich hereditärer Thrombophilien durchzuführen. Das Paarkollektiv (>18 Jahre) setzt sich zusammen aus 151 deutschstämmigen Paaren, die sich zwischen Januar 1999 und Dezember 2006 in der RSA-Sprechstunde der Frauenklinik des Klinikums Großhadern München vorstellten. In der Anamnese wiesen die Paare zwei (RSA\_2; n=49) oder drei und mehr (RSA\_3; n=102) Aborte auf. RSA-Patientinnen wurden routinemäßig auf das Vorliegen folgender Parameter untersucht:

- 1) anatomische Veränderungen (vaginale Sonographie);
- 2) endokrinologische Dysfunktionen (PCO den Rotterdam-Kriterien entsprechend<sup>146</sup>, Hyperprolaktinämie, Hyperandrogenämie und Schilddrüsen-Dysfunktionen);
- 3) autoimmunologische Auffälligkeiten (Antinukleäre Antikörper (ANA) >1:240, IgG- und IgM-Anti-Cardiolipin-Antikörper (ACL-IgG,-IgM), Anti-β2-Glykoprotein-IgG (β2-IgG) und -IgM (β2-IgM) oder Lupus-Antikoagulanzen (LA));
- 4) Mangel an Gerinnungsfaktoren (Protein C (PC), Protein S (PS), Faktor XII (FXII) und Antithrombin (AT));
- 5) chromosomale Störungen des Feten und/oder der Eltern.

Die Untersuchungen wurden mindestens 2 Monate nach dem letzten Abort durchgeführt.

##### 3.1.3 Kontrollkollektiv

159 deutschstämmige Mütter und Väter (>18 Jahre), die gemeinsam mindestens ein gesundes Kind gezeugt hatten, bildeten das Kontrollkollektiv. Die Schwangerschaften verliefen problemlos, d. h. die Frauen wiesen keine Vorgeschichte für Aborte, keine Schwangerschafts-induzierten Erkrankungen wie Hypertonus, Eklampsie und HELLP (haemolysis, elevated liver enzymes, low platelet count)-Syndrom, IUGR oder Totgeburten auf. Die Paare wurden in der Universitäts-Frauenklinik Großhadern während der Schwangerschaft und des Wochenbetts oder in der Ambulanz der Frauenklinik betreut. Zudem erfolgte eine Aufklärung und Einschleusung der Paare durch niedergelassene ÄrztInnen.

#### 3.2 Molekularbiologische Untersuchungsmethoden

Bei allen Teilnehmerinnen und Teilnehmern wurde der F5-, F2- und MTHFR-Genotyp bestimmt.

### 3.2.1 Labortechniken

#### 3.2.1.1 Isolierung genomischer DNA

Zunächst wurde die genomische DNA der Leukozyten aus EDTA-Vollblut unter Verwendung des „QIAamp DNA Blood Mini Kits“ (Qiagen, Hilden, Germany) isoliert. 200 µl Blut wurden zehn Minuten lang bei 70 °C mit 25 µl „Qiagen-Protease“ und 200 µl Lysepuffer „AL“ inkubiert. Nach Zugabe von 200 µl 100 %igem Alkohol wurde das gesamte Volumen auf eine Zentrifugensäule pipettiert und für eine Minute zentrifugiert. Dabei wurde die DNA an eine in der Säule befindliche Silikatmembran adsorbiert. Nach sequentiellem Waschen mit den zwei Waschpuffern „AW1“ und „AW2“ wurde die DNA mit 200 µl Puffer „AE“ oder destilliertem Wasser eluiert und bei 4 °C aufbewahrt.

#### 3.2.1.2 Polymerase-Kettenreaktion

Die PCR erlaubt die exponentielle Vervielfachung definierter doppelsträngiger Nukleinsäuresequenzen, die durch zwei Oligonukleotid-Startermoleküle („Primer“) flankiert werden. Die entstehenden Amplifikationsprodukte können anschließend analysiert werden. Die Kettenreaktion besteht aus 35-40 sich wiederholenden Zyklen, die sich jeweils aus drei Teilschritten zusammensetzen und in einem Thermocycler mit Deckelheizung (MJ Research Peltier Thermal Cycler PTC-225) durchgeführt wurden:

1. Hitzedenaturierung der DNA-Doppelstränge in Einzelstränge bei 94-95 °C;
2. Anlagerung bei 55-65 °C, d. h. die Oligonukleotid-Primer binden an komplementäre Zielsequenzen auf den DNA-Einzelsträngen.
3. Die Extension der doppelsträngigen Bereiche erfolgt unter Einbau von Desoxyribonukleotidtriphosphaten mit Hilfe einer aus dem Organismus „*Thermus aquaticus*“ gewonnenen thermophilen Taq-DNA-Polymerase bei 72 °C. Durch die wiederholte Denaturierung werden die neu entstandenen DNA-Doppelstränge voneinander getrennt und dienen somit als Vorlage für die Synthese weiterer komplementärer Stränge. Theoretisch verdoppelt jeder neue Zyklus die Menge an DNA-Produkten. Da die Reaktion nach einer exponentiellen Vermehrung in eine Plateau-Phase übergeht, beträgt die tatsächliche Ausbeute nur etwa 80 %.

Ein typischer 25 µl- PCR- Reaktionsansatz enthält 2,5 µl 10x-Reaktionspuffer (500 mM KCl, 15 mM MgCl<sub>2</sub>, 100 mM Tris HCL pH 9.0), 2.5 µl einer Mischung aller vier Desoxynukleotide mit einer Endkonzentration von jeweils 125 µM (Pharmacia, Karlsruhe, Germany), 400 nM des „sense“- und des „antisense“- Primers, 100-200 ng DNA, 1.25 Einheiten Taq-DNA-Polymerase (Sigma-Aldrich, Deisenhofen, Germany) und Aqua bidest ad 25 µl. Die initiale Denaturierungszeit bei 95 °C betrug drei Minuten, in den folgenden Zyklen 30 Sekunden. Die Primer-Anlagerung dauerte 30-60 Sekunden und die Extension ebenfalls 30-60 Sekunden.

Eine Nullprobe (reines Wasser) diente als Negativkontrolle, wohingegen die DNA eines heterozygoten Trägers (FVL-Mutation) oder eines homozygoten Trägers (F2- und MTHFR-Mutation) als Positivkontrolle fungierte.

**Tabelle 4:** Durchführung der PCR

Gen	Denaturierung	Denaturierung	Anlagerung	Extension	Extension	Zyklen
MTHFR	95 °C 3 min.	95 °C 30 sec.	65 °C 30 sec.	72 °C 30 sec.	72 °C 2 min.	40
F5	95 °C 3 min.	95 °C 30 sec.	60 °C 30 sec.	72 °C 30 sec.	72 °C 2 min.	40
F2	95 °C 3 min.	95 °C 30 sec.	60 °C 30 sec.	72 °C 30 sec.	72 °C 2 min.	40

### 3.2.1.3 Verwendete Oligonukleotid-Primer

Die chemisch synthetisierten Primer (20-30 Basen) hybridisieren mit der komplementären Sequenz auf der DNA-Matritze und führen zu einer spezifischen Vermehrung der relevanten Genomabschnitte.

Die gefriergetrocknet gelieferten Primer werden mit 1x TE-Puffer aufgelöst. Eine Stocklösung mit einer Konzentration von 200 µmol wird hergestellt. Diese wird anschließend mit Aqua bidest auf 20 µM verdünnt.

### 3.2.1.4 Präzipitation der DNA mit Äthanol

Durch die Zugabe von absolutem Äthanol kommt es auf Grund der Bindung der negativ geladenen Phosphatgruppen mit den positiv geladenen Salzkationen zum Wasserentzug und damit zur Präzipitation der DNA. Resuspendiert wird die DNA anschließend in einem Restriktionsenzym-Gemisch.

### 3.2.1.5 Restriktionsfragment-Längenpolymorphismus (RFLP)-Analyse

Diese Methode dient dem Nachweis bzw. dem Ausschluss bekannter Mutationen oder Polymorphismen. Aufgrund von Austauschungen können Schnittstellen für bakterielle Restriktionsenzyme verloren gehen oder neu entstehen.

Die von Bakterien synthetisierten Restriktionsendonukleasen sind DNA-abbauende Enzyme, die auf dem Doppelstrang eine spezifische Sequenz von zumeist vier bis sechs Nukleotiden identifizieren und an einer definierten Stelle der DNA schneiden. Die entsprechenden Sequenzen sind im Gegensatz zu Fremd-DNA durch Methylierung modifiziert. Die Phosphodiesterbindung des Zucker-Phosphat-Rückgrats der DNA wird hydrolysiert, so dass ein Ende mit einer 5'-Phosphatgruppe und ein Ende mit einer 3'-OH-Gruppe an der Desoxyribose entsteht.

Ein Schutz gegen durch Bakteriophagen oder durch Transformation aufgenommene Fremd-DNA wird dadurch gewährleistet, dass die Fremd-DNA wesentlich langsamer methyliert wird, als sie durch Restriktionsendonukleasen abgebaut wird.

Die *in vitro*-Reaktionsbedingungen (pH, Temperatur, Salzgehalt des Puffers, Zusätze wie Rinderserum-Albumin (BSA)) sind vom Hersteller definiert. Der Verdau erfolgte über Nacht bei 37 °C.

**Tabelle 5:** Bedingungen für die durchgeführten RFLP-Analysen  
(Enzyme von New England BioLabs, Frankfurt, Deutschland bzw. Fermentas, Vilnius, Litauen)

Gen	Primer	Restriktions- endonuklease	Verdau- bedingungen
MTHFR	MT-1 und MT-2	Hinf I	37 °C Puffer R (Fermentas)
F5	APC-1 und APC-2	Mnl I	37 °C NEB 2-Puffer + BSA
F2	PT-2M und PT-3	Hind III	37 °C NEB 2-Puffer

### 3.2.1.6 Agarose-Gelelektrophorese

Diese Methode dient der Auftrennung der DNA-Fragmente. Die negativ geladene DNA wandert im elektrischen Feld von der Anode zur Kathode bei einer Stromstärke von 40-100 mA. Die Wanderungsgeschwindigkeit wird durch die Fragmentlänge, die angelegte Spannung, die Konzentration und Schichtdicke des Agarosegels und die Zusammensetzung des Laufpuffers bestimmt.

Die Agarose wird mit 1x-Marathon-Puffer (135 mM Tris, 45 mM Borsäure, 2,5mM EDTA; Gibco BRL Life Technologies, Karlsruhe, Germany) versetzt, anschließend in der Mikrowelle geschmolzen und in einen Gelträger gegossen. Die Agarose-Konzentration beträgt 1.5-2 %.

Nach dem Aushärten und Übersichten des Gels mit Laufpuffer werden die mit einem Ficoll-Ladepuffer (15% Ficoll, 0,25 % Bromphenolblau, 0,25 % Xylencyanol) versetzten DNA-Proben in die Taschen des Gels pipettiert. Das Ficoll verhindert das Aufschwimmen der Proben beim Laden. Die beiden Farbstoffmarker (Bromphenolblau und Xylencyanol) zeigen die Lokalisation der Proben im Gel an. Zur Größenbestimmung trägt man zusätzlich einen Größenmarker auf, der aus unterschiedlichen DNA-Fragmenten mit definierter Länge besteht. Nach der Auftrennung wird das Gel für ein paar Minuten mit Ethidiumbromid gefärbt, das sich in den DNA-Doppelstrang einlagert. Nach Entfernung überschüssigen Farbstoffs wird das Gel auf einen UV-Transilluminator gelegt, um die DNA bei langwelliger UV-Bestrahlung ( $\lambda = 302 \text{ nm}$ ) sichtbar zu machen und das Gel zu Dokumentationszwecken zu photographieren.

Das normale Allel des 288 bp langen F5-Produktes spaltet sich durch den Mnl I-Verdau in Fragmente von 158, 93 und 37 bp Länge, das mutierte Allel in zwei Fragmente von 158 und 130 bp. Das 230 bp lange F2-Fragment wird im Falle einer 20210G>A-Mutation durch das Hind III-Verdauungsenzym in zwei kleinere Stücke von 190 und 40 bp Länge gespalten. Bei Inkubation des MTHFR-Amplifikates mit dem Enzym Hinf I bleibt das normale Allel ungeschnitten, während das mutierte Allel (677T) gespalten wird und zwei Fragmente mit Längen von 175 und 23 bp entstehen.

### 3.3 Verwendete Geräte und Chemikalien

#### 3.3.1 Geräte

**Tabelle 6:** Verwendete Geräte

Kategorie	Typ	Hersteller
Elektrophorese-Kammern	Horizon 58 und Horizon 11-14	Gibco BRL Life Technologies, Eggenstein, Deutschland
Heizblock	Multi-Block Heater, Lab Line	Lab-Line Instruments Inc., USA
Kühlzentrifuge	Centrifuge 5417R	Eppendorf, Hamburg, Deutschland
Thermocycler	MJ Research, Peltier Thermo Cycler PTC-225	Biozym, Hess. Oldendorf, Deutschland
Tischzentrifuge	Centrifuge 5415 C	Eppendorf, Hamburg, Deutschland
	TD'TMX Centrifuge	Abbott Diagnostics, Division, Illinois, USA
Vakuumzentrifuge	Speed Vac Concentrator	Bachofer, Reutlingen, Deutschland

### 3.3.2 Chemikalien

**Tabelle 7:** Verwendete Chemikalien und Substanzen

Substanz	Hersteller
Agarose	Gibco BRL Life Technologies, Eggenstein, Deutschland
Äthanol	Merck, Darmstadt, Deutschland
Borsäure	Merck, Darmstadt, Deutschland
Bromphenolblau	Sigma-Aldrich, Deisenhofen, Deutschland
Desoxyribonukleotide	Pharmacia Biotech, Freiburg, Deutschland
DNA molecular weight marker (1kb ladder)	Gibco BRL Life Technologies, Eggenstein, Deutschland
Ethidiumbromid	Sigma-Aldrich, Deisenhofen, Deutschland
Ficoll	Sigma-Aldrich, Deisenhofen, Deutschland
Na <sub>2</sub> -EDTA	Sigma-Aldrich, Deisenhofen, Deutschland
Natriumchlorid	Merck, Darmstadt, Deutschland
LMP-Agarose	Sigma-Aldrich, Deisenhofen, Deutschland
Protease	Qiagen, Hilden, Deutschland
QIAamp DNA Blood Mini Kit	Qiagen, Hilden, Deutschland
Restriktionsendonukleasen	New England BioLabs, Frankfurt/Main, Deutschland Fermentas, Vilnius, Litauen
Taq-DNA-Polymerase	Sigma-Aldrich, Deisenhofen, Deutschland
Tris	Merck, Darmstadt, Deutschland
Xylencyanol	Merck, Darmstadt, Deutschland

### 3.4 Statistische Auswertung

Die Daten wurden in einer Excel-Datenbank zusammengeführt.

Sämtliche Ergebnisse der RSA-Patientengruppe und der Kontrollgruppe wurden mit dem „Student-t-Test“, dem „Exakten Fisher-Test“ und dem „Chi-Quadrat-Test“ nach Pearson statistisch ausgewertet. Das relative Risiko (RR) mit dem 95 %igen Konfidenzintervall sowie die

"odds ratio" (OR) wurden berechnet. Die demographischen Daten wurden mit Hilfe des „Mann Whitney-U-Test“ bestimmt.

Die Berechnung des Signifikanzniveaus erfolgte mit dem Statistikpaket für „Social Sciences“ (SPSS für Windows 15.0, SPSS Inc., Chicago, IL, USA). P-Werte  $< 0.05$  wurden für signifikante Unterschiede und p-Werte  $< 0.01$  für hochsignifikante Unterschiede gewählt.

## 4. Ergebnisse

### 4.1 Allgemeine Schwangerschaftsdaten

#### 4.1.1 Demographische Daten

Die demographischen und schwangerschaftsbezogenen Daten der RSA- und Kontrollpaare sind in Tabelle 8 zusammengefasst.

Im Bezug auf das Alter unterschieden sich die Gruppen signifikant ( $p < 0.001$ ). Frauen der Kontrollgruppe waren durchschnittlich mit 45 Jahren ( $\pm 12,6$ ) 12 Jahre älter als die Frauen der RSA-Gruppe mit 33 Jahren ( $\pm 4,6$ ). Männer der Kontrollgruppe waren durchschnittlich mit 48 Jahren ( $\pm 13,3$ ) signifikant um 12 Jahre älter als die Männer der RSA-Gruppe mit 36 Jahren ( $\pm 6,5$ ). Erwartungsgemäß unterschied sich die Gesamtzahl der Schwangerschaften und Geburten der Frauen beider Gruppen signifikant ( $p < 0.001$ ): Im Mittel waren die RSA-Patientinnen  $4 \pm 2$  mal (2-18) und damit doppelt so häufig schwanger wie die Kontrollfrauen ( $2 \pm 0,9$ ; 1-5). Mit einer versus zwei Geburten war die Gesamtzahl der Geburten in der RSA-Gruppe signifikant geringer als in der Kontrollgruppe.

Die RSA-Patientinnen erlitten im Durchschnitt  $3 \pm 2$  (2-18) Aborte, wohingegen die Kontrollfrauen definitionsgemäß keine Aborte in der Vorgeschichte hatten.

**Tabelle 8:** Demographische Daten der Studienpopulation

	RSA_F	RSA_M	Kontroll_F	Kontroll_M
<b>Alter (Jahre)</b>	33,2 $\pm$ 4,6 (21-44)	36,1 $\pm$ 6,5 (23-67)	45,2 $\pm$ 12,6* (21-84)	48,3 $\pm$ 13,3* (25-88)
<b>SS (Anzahl)</b>	4,1 $\pm$ 2,0 (2-18)	---	2,0 $\pm$ 0,9 (1.5)	---
<b>Geburten (Anzahl)</b>	0,7 $\pm$ 0,9 (0-4)	---	2,0 $\pm$ 0,9 (1-5)	---
<b>Aborte (Anzahl)</b>	3,3 $\pm$ 1,8 (475) (2-18)	---	---	---
<b>RSA_3 (Anzahl)</b>	102 (67,5 %)	---	---	---
<b>RSA_2 (Anzahl)</b>	49 (32,5 %)	---	---	---

**Anmerkung:** \*=  $p < 0.05$ ; RSA\_F= RSA-Patientinnen; RSA\_M= Partner der RSA-Patientinnen; Kontroll\_F= Frauen aus der Kontrollgruppe; Kontroll\_M= männliche Partner aus der Kontrollgruppe; SS= Schwangerschaft; RSA\_3= mind. 3 Aborte; RSA\_2= 2 Aborte in der Vorgeschichte; RSA= rezidivierende Spontanaborte. Dargestellt sind die demographischen Daten des Studienkollektivs in Bezug auf Alter (Jahre), SS-Anzahl, Geburtenzahl, Abortzahl und Anzahl an mindestens 3 bzw. 2 Aborten.



#### 4.1.2 Routineuntersuchungen der RSA-Patientinnen

**Tabelle 9:** Klinische Daten der RSA-Patientinnen

Diagnosen	Verteilung
idiopathisch	55 (36,4 %)
Thrombophilie FVL, PT, MTHFR (PC, PS, ATIII)	40 (26,5 %)
endokrinologisch	33 (21,9 %)
ANA	17 (11,3 %)
autoimmunologisch (LA, $\beta$ 2-IgM, $\beta$ 2-IgG, ACL-IgG, ACL-IgM)	14 (9,3 %)
genetisch (Eltern/Kind)	14 (9,3 %)
anatomisch	13 (8,6 %)

**Quelle:** Spezialsprechstunde für RSA-Patientinnen aus der Klinik und Poliklinik für Frauenheilkunde, Klinikum der Universität München

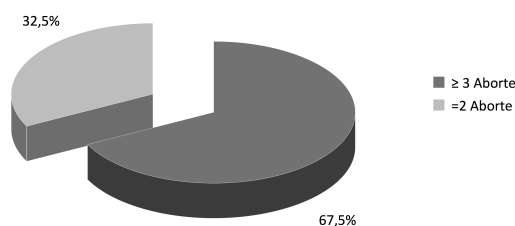
Folgende Diagnosen konnten bei den RSA-Patientinnen im Rahmen der Routineuntersuchungen gestellt werden: hereditäre und erworbene Thrombophilien traten bei 40/151 (26,5 %) RSA-Patientinnen auf, Autoimmunerkrankungen in 14/151 (9,3 %) Fällen, Endokrinopathien bei 33/151 (21,9 %) Patientinnen und anatomische Fehlbildungen bei 13/151 (8,6 %). Bei 39 (25,8 %) der RSA-Patientinnen wurden  $\geq 2$  Diagnosen gefunden.

#### 4.1.3 Klinische Parameter

Insgesamt ereigneten sich bei 151 RSA-Patientinnen 475 Fehlgeburten. Als Einschlusskriterium in die RSA-Gruppe galt eine Mindestanzahl von zwei Aborten, die eine Frau erlitten hatte. In unserem Patientinnen-Kollektiv reichte die Anzahl der Aborte von zwei bis 18.

102 (67,5 %) der 151 RSA-Patientinnen hatten drei und mehr, 49 (32,5 %) zwei Abgänge erlitten (Abbildung 5).

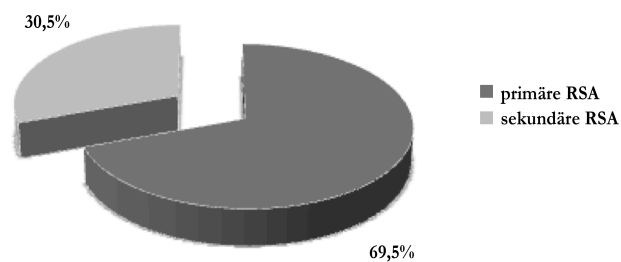
**Abbildung 5:** Anzahl Aborte



**Legende:** ■ = 67,5 % der RSA-Patientinnen erlitten  $\geq 3$  Aborte; ■ = 32,5 % der RSA-Patientinnen wiesen 2 Aborte auf.

Aborte können grundsätzlich in primäre und sekundäre Aborte unterteilt werden. Von primären Aborten spricht man, wenn die Fehlgeburten nicht nach einer vorangehenden Geburt folgen. Dies war bei 105 (69,5 %) RSA-Patientinnen der Fall. Kommt es jedoch vor den Aborten zumindest zur Entbindung eines gesunden Kindes, spricht man von sekundären, rezidivierenden Spontanaborten. Diese traten bei 46 (30,5 %) RSA-Patientinnen auf (Abbildung 6).

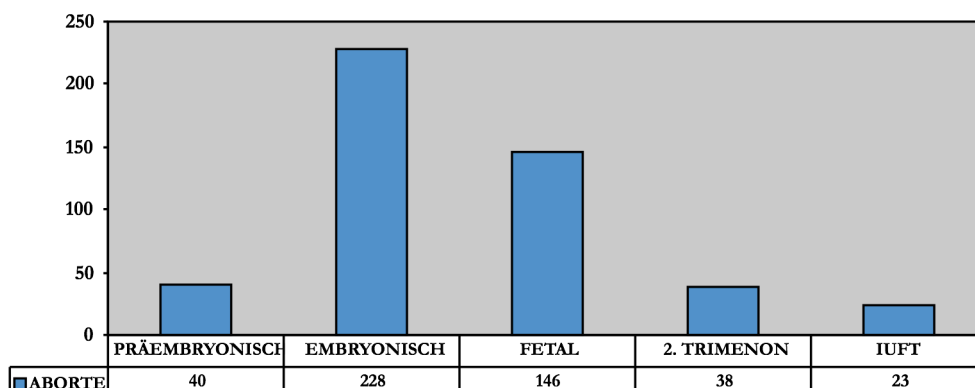
**Abbildung 6:** Abortart



**Legende:** ■ = 69,5 % der RSA-Patientinnen wiesen eine primäre RSA auf, ■ = 30,5 % eine sekundäre.

Die Aborte wurden nach dem Zeitpunkt des Schwangerschaftsendes aufgeteilt. Eine grobe Unterteilung in Aborte vor (1.Trimenon) und nach (2.Trimenon) der 14.Schwangerschaftswoche zeigte, dass sich die meisten Abgänge im ersten Schwangerschaftsdrittel ereigneten ( $2.8 \pm 1.8$  versus  $0.5 \pm 0.9$ ).

Des Weiteren wurden die Aborte entsprechend der gängigen Literatur<sup>147-150</sup> in fünf Untergruppen unterteilt (Abbildung 7).

**Abbildung 7:** Anzahl Aborte, unterteilt in fünf verschiedene Schwangerschafts-Abschnitte

**Legende:** 40 Aborte ereigneten sich vor der 5. SSW (präembryonisch), 228 Aborte zwischen der 5. und der 10. SSW (embryonisch), 146 Aborte zwischen der 11. und 14. SSW (fetal), 38 Abgänge zwischen der 15. und 20 SSW. (2. Trimenon) und 23 Abgänge als intrauteriner Fruchttod (IUFT) nach der 20. SSW.

29 RSA-Patientinnen (19,2 %) hatten 40 Aborte vor der 5. SSW, 115 RSA-Patientinnen (76,2 %) 228 embryonische Abgänge (5.-10. SSW), 97 RSA-Patientinnen (64,2 %) 146 fetale Aborte (11.-14. SSW) und 30 RSA-Patientinnen (19,9 %) 38 Abgänge im zweiten Trimenon (15- 20. SSW).

14 RSA-Patientinnen (9,2 %) waren insgesamt 23 mal von einem intrauterinen Fruchttod (IUFT) betroffen, der als Spätabgang nach der 20. SSW definiert ist.

## 4.2 Verteilung der einzelnen Thrombophilie-Mutationen

Im Folgenden werden die Häufigkeiten der drei untersuchten Mutationen im RSA- und im Kontrollkollektiv dargestellt.

### 4.2.1 Faktor V-Leiden-Genotypen

Zwischen den beiden Kollektiven ergaben sich in der Genotypen-Verteilung keine signifikanten Unterschiede: Bei den RSA-Paaren wiesen 91,4 % einen Wildtyp (1691G/G) auf versus 92,4 % der Frauen und 91,1 % der Männer aus dem Kontrollkollektiv. 8,6 % der RSA-Paare waren heterozygot (1691G/A) für die Faktor V-Leiden-Mutation im Vergleich zu 7,6 % der Frauen und 8,9 % der Männer aus der Kontrollgruppe (Tabelle 10).

Vergleicht man die beiden Gruppen geschlechterspezifisch, so errechnet sich bei den Frauen (RSA/Kontrollen) eine "odds ratio" (OR) von 1,4 mit einem 95 %-Konfidenz-Intervall (CI) von 0,64-1,44. Bei den Männern (RSA/Kontrollen) lag die OR bei 0,96 mit einem 95 % CI von 0,53-1,16.

In keiner der beiden Gruppen ließ sich der homozygote Genotyp (1691A/A) nachweisen. Bei jeweils zwei Paaren der zwei Gruppen war bei beiden Partnern eine heterozygote Faktor V-Leiden-Mutation nachweisbar.

**Tabelle 10:** Häufigkeitsverteilung der F5-1691G>A-Mutation

Gesamtkollektiv	n	G/G Wildtyp	G/A- Heterozygotie	A/A- Homozygotie
<b>RSA-Patientinnen</b>	151	138 (91,4 %)	13 (8,6 %)	0
<b>RSA-Männer</b>	151	138 (91,4 %)	13 (8,6 %)	0
<b>Kontrollfrauen</b>	157	145 (92,4 %)	12 (7,6 %)	0
<b>Kontrollmänner</b>	157	143 (91,1 %)	14 (8,9 %)	0

**Legende:** n = Anzahl der Patienten/Innen; G/G Wildtyp = keine Mutation; G/A-Heterozygotie = heterozygote Mutation (1691G>A); G/G-Homozygotie = homozygote Mutation. Dargestellt ist die Anzahl der F5-Varianten an Nukleotidposition 1691, unterteilt in Wildtyp (G/G, d. h. keine Mutation) sowie in den heterozygoten (G/A) und den homozygoten (A/A) Mutationstyp. Das Gesamtkollektiv teilt sich auf in die Gruppe der RSA-Patientinnen, der RSA-Männer, der Frauen aus der Kontrollgruppe und der Kontrollmänner.

Vergleicht man nur die 102 Paare mit drei oder mehr Fehlgeburten (RSA\_3) mit den 157 Kontrollpaaren, ergaben sich auch hier keine signifikanten Unterschiede hinsichtlich des Genotyps G/A: 10/151 (9,8 %) der RSA-Patientinnen und 9/151 (8,8 %) der Partner versus 12/157 (7,6 %) der Kontrollfrauen und 14/157 (8,9 %) der Kontrollmänner waren heterozygote Merkmalsträger.

Setzt man die unterschiedlichen Abort-Untergruppen der RSA-Patientinnen mit der Faktor V-Leiden-Mutation in Zusammenhang, erkennt man, dass heterozygote Trägerinnen der Mutation signifikant häufiger Fehlgeburten in der späten Embryonalphase (5.-10. SSW) als zu anderen Abortzeitpunkten erlitten ( $p=0.014$ ).

#### 4.2.2 F2-20210G>A-Genotypen

Insgesamt waren 6 % (9/151) der RSA-Patientinnen und 1,3 % (2/151) der männlichen Partner heterozygot für die F2-Mutation 20210G>A.

In der RSA-Gruppe ließ sich kein homozygoter Genotyp (20210A/A) nachweisen. Im Vergleich dazu waren 3,8 % (6/157) der Kontrollfrauen und 4,5 % (7/157) der Kontrollmänner heterozygot (RSA-Patientinnen/Kontrollen: OR 1,6; männliche Partner/Kontrollen: OR 0,23; 95 % CI 0,23-5,5). Die homozygote 20210A/A-Konstellation ließ sich nur bei zwei Männern (1,3 %) aus der Kontrollgruppe nachweisen. Obwohl mehr RSA-Patientinnen als Kontrollfrauen und mehr Kontrollmänner als RSA-Männer heterozygote Merkmalsträger waren, kann kein signifikanter Zusammenhang zwischen einer F2-20210G>A-Mutation und RSA hergestellt werden.

Bei einem Paar der RSA-Gruppe war bei beiden Partnern eine heterozygote F2-20210G>A-Mutation nachweisbar.

**Tabelle 11:** Häufigkeitsverteilung der Faktor II- Mutation 20210G>A

Gesamtkollektiv	n	G/G Wildtyp	G/A Heterozygotie	A/A Homozygotie
<b>RSA Patientinnen</b>	151	142 (94,0 %)	9 (6,0 %)	0
<b>RSA Männer</b>	151	149 (98,7 %)	2 (1,3 %)	0
<b>Kontrollfrauen</b>	157	151 (96,2 %)	6 (3,8 %)	0
<b>Kontrollmänner</b>	157	148 (94,3 %)	7 (4,5 %)	2 (1,3 %)

**Legende:** n = Anzahl der Patienten/Innen; G/G Wildtyp = keine Mutation; G/A-Heterozygotie = heterozygote Mutation (20210G>A); A/A-Homozygotie = homozygote Mutation. Dargestellt ist die Anzahl der F2-20210G>A-Genotypen, unterteilt in Wildtyp (G/G, d. h. keine Mutation) sowie in den heterozygoten (G/A) und den homozygoten (A/A) Mutationstyp. Das Gesamtkollektiv teilt sich auf in die Gruppe der RSA-Patientinnen, der Männer der RSA-Patientinnen, der Frauen der Kontrollgruppe und der Männer der Kontrollgruppe.

Vergleicht man RSA\_3 Paare mit den Kontrollpaaren, kristallisieren sich auch hier keine signifikanten Unterschiede heraus: 3,9 % (4/102) der RSA-Patientinnen und 1 % (1/102) der Männer wiesen eine heterozygote Konstellation auf im Vergleich zu 4,5 % (7/157) der Kontrollfrauen und 3,8 % (6/157) der Kontrollmänner.

#### 4.2.3 MTHFR-677C>T-Genotypen

Die homozygote 677T/T-Mutation des MTHFR-Gens trat mit 7,9 % bei den Frauen mit vermehrten Fehlgeburten seltener auf als bei den Frauen ohne Fehlgeburten (12,1 %), jedoch ohne Signifikanz zu erreichen. Bei den männlichen Partnern aus der RSA-Gruppe konnte mit 12,6 % versus 12,1 % bei den Kontrollmännern der homozygote Genotyp in vergleichbarer Häufigkeit nachgewiesen werden (RSA-Patientinnen/Kontrollen: OR 0,63; 95 % CI 0,33-0,71; männliche Partner/ Kontrollen: OR 1,11; 95 % CI 0,55-1,1).

Die heterozygote C/T-Konstellation lag bei 45,1 % der RSA-Patientinnen im Vergleich zu 44,6 % der Frauen aus dem Kontrollkollektiv und bei 49,7 % der RSA-Männer versus 42,6 % der Kontrollmänner vor. Die beiden Kollektive wiesen dementsprechend keine signifikanten Unterschiede in der Mutationshäufigkeit auf (Tabelle 12).

Betrachtet man die Paare, so fand sich nur ein Paar aus der Kontrollgruppe, bei dem beide Partner die MTHFR-677C>T-Mutation in homozygoter Form trugen.

**Tabelle 12:** Häufigkeitsverteilung der MTHFR-677C>T-Mutation

Gesamtkollektiv	n	C/C Wildtyp	C/T- Heterozygotie	T/T- Homozygotie
RSA Patientinnen	151	71 (47,0 %)	68 (45,1 %)	12 (7,9 %)
RSA Männer	151	57 (37,7 %)	75 (49,7 %)	19 (12,6 %)
Kontrollfrauen	157	68 (43,3 %)	70 (44,6 %)	19 (12,1 %)
Kontrollmänner	157	72 (45,9 %)	67 (42,6 %)	18 (11,5 %)

**Legende:** n = Anzahl der Patienten/Innen; C/C Wildtyp = keine Mutation; C/T-Heterozygotie = heterozygote Mutation 677C>T; T/T-Homozygotie = homozygote Mutation. Dargestellt ist die Anzahl der MTHFR-Genotypen, unterteilt in Wildtyp (C/C, d. h. keine Mutation) sowie in den heterozygoten (C/T) und den homozygoten (T/T) Mutationstyp. Das Gesamtkollektiv teilt sich auf in die Gruppe der RSA-Patientinnen, der Männer der RSA-Patientinnen, der Frauen der Kontrollgruppe und der Männer der Kontrollgruppe.

Vergleicht man Paare mit drei oder mehr Abgängen mit Paaren ohne Fehlgeburten, zeigten sich keine signifikanten Differenzen: 7/102 (6,9 %) der RSA-Patientinnen versus 19/157 (12,1%) der Kontrollfrauen und 13/102 (12,7%) ihrer Partner versus 18/157 (11,5%) der Männer aus der Kontrollgruppe waren homozygote 677T/T-Merkmalsträger.

#### 4.2.4 Häufigkeit thrombophiler Genmutationen bei beiden Partnern eines Paares

Die untersuchten Mutationen könnten in Kombination das Risiko rezidivierender Fehlgeburten erhöhen. Da die einzelnen Mutationen (FVL, F2) unterschiedliche Angriffspunkte in der Gerinnungskaskade haben, aber in einer gemeinsamen Endstrecke münden, können sie zu einer gemeinsamen Einflussgröße auf das hämostaseologische Gleichgewicht werden. Deshalb habe ich das Auftreten von Paarkombinationen einzelner Mutationen zwischen den beiden Gruppen verglichen. Trifft die homozygote MTHFR-Mutation mit einer der anderen thrombophilen Mutationen in einem Paar aufeinander, könnte sich das thrombogene Potential verstärken und sich somit das Abortrisiko erhöhen.

Bei 7 der 151 (4,6 %) RSA-Paare und bei 10 der 157 (6,4 %) Kontrollpaare traten thrombophile Mutationen bei beiden Partnern eines Paares auf. Es bestand also kein signifikanter Unterschied in der Prävalenz thrombophiler Genmutationen in Kombination bei beiden Paarkollektiven (Tabelle 13).

Bei 2 RSA-Paaren (1,32 %) und 2 Kontrollpaaren (1,27 %) waren sowohl die Partner als auch die Partnerinnen Träger einer FVL-Mutation. Das gleiche gilt für die MTHFR-Mutation. In einem Kontroll-Paar fand sich bei der Frau eine F2-20210G>A-Mutation und bei ihrem Partner eine FVL-Mutation (0,64 %). Diese Mutationskonstellation kam in der RSA-Gruppe nicht vor. In einem anderen Kontroll-Paar war die Frau Trägerin der F2-20210G>A-Mutation und der Partner homozygot für die MTHFR-677C>T-Mutation (0,64 %). Letztere Konstellation fand sich zweimal bei den RSA-Paaren (1,32 %). Drei der heterozygoten FVL-Trägerinnen aus der Kontroll-Gruppe hatten einen Partner mit einer homozygoten MTHFR-677C>T-Mutation (1,91 %). In der RSA-Gruppe fand sich diese Kombination bei keinem Paar. Im Gegensatz dazu zeigte sich nur in der RSA-Gruppe eine Patientin mit einer homozygoten MTHFR-677C>T-Mutation und der dazugehörige Partner mit einer heterozygoten FVL-Mutation (0,66 %). Der Partner einer Kontrollfrau mit einer homozygoten MTHFR-677C>T-Mutation war Träger einer heterozygoten F2-20210G>A-Mutation (0,64 %).

**Tabelle 13:** Kombinationen der einzelnen Mutationen

RSA-Paare:

W \ M	Faktor V	Faktor II	MTHFR
Faktor V	2	0	0
Faktor II	0	0	2
MTHFR	1	0	2

Kontrollpaare:

W \ M	Faktor V	Faktor II	MTHFR
Faktor V	2	0	3
Faktor II	1	0	1
MTHFR	0	1	2

**Legende:** W = Partnerin; M = Partner; Faktor V = FVL-Mutation; Faktor II = F2-20210G>A-Mutation, MTHFR = MTHFR-677C>T-Mutation.

Die linke Tabelle zeigt die Anzahl der RSA-Paare, bei denen sowohl die Frau als auch der Partner eine thrombophile Mutation aufwiesen: bei 2 RSA-Paaren waren sowohl die Frau als auch der Partner Träger einer FVL-Mutation, bei 2 Paaren lag bei beiden Partnern eine MTHFR-677C>T-Mutation vor, bei zwei Paaren war der Mann Träger einer MTHFR-677C>T-Mutation und die Partnerin Trägerin einer F2-20210G>A-Mutation und bei einem Paar war die Frau Trägerin einer MTHFR-677C>T-Mutation und der Partner Träger einer FVL-Mutation. Die rechte Seite zeigt die Anzahl der Kontrollpaare, bei denen beide Partner eine thrombophile Genmutation aufwiesen: bei 2 Paaren waren beide Partner Träger einer FVL-Mutation und bei 2 Paaren fand sich bei beiden Partnern eine MTHFR-677C>T-Mutation. Bei 3 Paaren war die Frau Trägerin einer FVL-Mutation und der Partner Träger der MTHFR-677C>T-Mutation. Bei einem Paar fand sich bei der Frau eine F2-20210G>A-Mutation und bei dem Partner eine FVL-Mutation. Bei einem anderen Paar war die Frau Trägerin der MTHFR-677C>T-Mutation und der Partner Träger der F2-20210G>A-Mutation und bei einem weiteren Paar war die Frau Trägerin der F2-20210G>A-Mutation und der Partner Träger der MTHFR-677C>T-Mutation.

## 5. Diskussion

Hypothese dieser Arbeit war, dass väterliche wie auch mütterliche hereditäre Thrombophilien die Ursache rezidivierender Fehlgeburten sein könnten. Der Mechanismus der Abortauslösung könnte dabei auf thrombotische Verschlüsse des uteroplazentaren Gefäßbettes mit konsekutiven Mikrozirkulationsstörungen zurückzuführen sein.

1-3 % der Paare mit Kinderwunsch erleiden rezidivierende Spontanaborte (RSA).<sup>151</sup> 1-2 % aller Frauen im gebärfähigen Alter erleben drei oder mehr Spontanaborte und 5 % zwei oder mehr.<sup>152</sup> Obwohl unterschiedliche Risikofaktoren für RSA identifiziert wurden, gibt es eine große Anzahl an ungeklärten Fällen. Seit einigen Jahren wird bei diesen Frauen der Zusammenhang mit thrombophilen Genmutationen erforscht und kontrovers diskutiert. Zahlreiche Studien zeigten eine Assoziation zwischen RSA und hereditären Thrombophilien wie der FVL-, der F2-20210G>A- und der MTHFR-677C>T-Mutation.<sup>71,127,153-178</sup> (Übersicht über die RSA-Literatur siehe Tabelle 14).

Laut Bick et al.<sup>179</sup> sind 55-62 % aller RSA-Fälle durch Gerinnungsstörungen verursacht, wohingegen 90 % der sporadischen Aborte als Erstereignis auf chromosomale Störungen zurückzuführen sind.

Eine ausführliche Abortabklärung und Risikoidentifizierung wird meist nur bei Patientinnen mit RSA durchgeführt, nicht aber bei deren männlichen Partnern. Da aber der Fetus und die extraembryonalen Membranen aus Proteinen bestehen, die genetisch sowohl durch das maternale als auch das paternale Genom kodiert sind, wären auch paternale thrombophile Mutationen als Risikofaktor für RSA denkbar. Zudem wird die Plazenta sowohl von mütterlichem als auch von fetalem Blut versorgt. Mütterliches Blut zirkuliert im intervillösen Raum und fließt über die Gefäße der Dezidua ab, während fetales Blut die fetalen Villi der Stammzotten umspült und über die Vv. umbilicales drainiert wird. Bei RSA-Patientinnen fand man vermehrt Fibrinablagerungen im intervillösen Raum, thrombotisches Material in fetalen Stammgefäßen und Infarktareale in der Plazenta.<sup>180</sup> Somit galten maternale thrombophile Mutationen schon früh aufgrund ihres prothrombotischen Einflusses auf die uteroplazentare Zirkulation als ein möglicher Risikofaktor für RSA.<sup>97</sup> Sie könnten das Auftreten von Mikrothromben im intervillösen Raum und daraus folgend eine Minderperfusion und Hypoxie der Plazenta mit verursachen. Eine verminderte Durchblutung betrifft nicht nur die Plazenta, sondern auch den Embryo und dessen Heranreifen. Nach Hunter et al.<sup>181</sup> könnten Fehlbildungen der Extremitäten auf Gefäßverschlüsse infolge von hereditären Thrombophilien zurückzuführen sein. Im Gegensatz dazu wurde durch Gopel et al.<sup>182</sup> ein Selektionsvorteil thrombophiler Genträger bzgl. der Embryo-Implantation beschrieben. Außer einem prothrombotischen Effekt könnte die MTHFR-677C>T-Mutation auch zentrale Vorgänge des Zellmetabolismus wie z. B. die DNA- und Protein-Methylierung beeinflussen.<sup>183</sup>

Es existieren zwei Studien, die zum einen den Einfluss der FVL-Mutation<sup>180</sup> auf RSA alleine und in Kombination mit der MTHFR-677C>T- und der F2-20210G>A-Mutation<sup>184</sup> im Vergleich zu Kontrollpaaren ohne RSA untersuchten. Die Prävalenz hinsichtlich der untersuchten Mutationen ergab keinen Unterschied zwischen beiden Gruppen, wobei die Kontrollgruppen mit einmal 68<sup>184</sup> und einmal 25<sup>180</sup> Paaren allerdings sehr klein waren.

In der vorliegenden Fall-Kontrollstudie wurden einerseits in der Bevölkerung häufige Mutationen im F5-, F2- und MTHFR-Gen anhand einer größeren Fallzahl von Patientinnen mit dem gleichen ethnischen Hintergrund untersucht und mit den unterschiedlichen Abortzeitpunkten korreliert. Andererseits wurden auch die männlichen Partner der RSA-Patientinnen und der Frauen aus der Kontrollgruppe auf diese Genmutationen hin analysiert, um zu überprüfen, ob hereditäre thrombophile Genmutationen beider Partner eines Paares einen signifikanten synergistischen Einfluss auf RSA haben.

Innerhalb unseres Kollektives wurden mittels molekulargenetischer Verfahren die unterschiedlichen Genotypen bei 151 RSA- und 157 Kontroll-Paaren bestimmt und deren Häufigkeiten statistisch verglichen. Es zeigte sich weder ein Einfluss paternaler Mutationen im F5-, F2- und MTHFR-Gen auf RSA, noch ergaben sich Unterschiede hinsichtlich der Prävalenz thrombophiler Mutationen zwischen RSA- und Kontroll-Paaren. Auch wenn nur RSA-Paare mit



mehr als drei Aborten mit der Kontrollgruppe verglichen wurden, stellte sich kein signifikanter Zusammenhang heraus.

Nach einer Studie von Martinelli et al.<sup>165</sup> soll die FVL-Mutation das Abortrisiko um das 3-fache erhöhen. Ein ähnlich hohes Risiko ergab eine prospektive Fall-Kontrollstudie, in der das Risiko für mindestens zwei Aborte bei 128 Frauen mit FVL und 461 Kontrollfrauen ohne FVL verglichen wurde.<sup>185</sup> Wie in der Literaturtabelle im Anhang aufgeführt, bestätigen 16 international durchgeführte Fall-Kontrollstudien eine signifikante Assoziation zwischen einer FVL-Mutation und RSA mit bis zu 40 %iger Prävalenz bei RSA-Patientinnen<sup>186</sup> im Vergleich zu einem 16 %igen<sup>186</sup> Vorkommen in der Kontrollgruppe ohne Aborte. Auch die Analyse der "College of American Pathologists Consensus Conference on Thrombophilia" erbrachte eine positive Beziehung zwischen FVL und RSA mit einer OR zwischen 2 und 5.<sup>188</sup>

Umstritten bleibt jedoch die Auswirkung auf den Abortzeitpunkt. In unserer Studie zeigte sich ein signifikanter Zusammenhang zwischen einer heterozygoten FVL-Mutation und Aborten in der Frühschwangerschaft (5-10 SSW) wie auch in einer anderen Studie, in der 50 % der 39 Patientinnen mit rezidivierenden Frühaborten ungeklärter Ursache eine FVL-Mutation hatten.<sup>189</sup> Im Gegensatz dazu fand die Gruppe um Pihusch et al.<sup>153</sup> keine erhöhte Prävalenz von heterozygoten FVL-Trägerinnen unter ihren in die Studie aufgenommen 102 Frauen mit mindestens zwei konsekutiven Aborten vor der 24. SSW ungeklärter Ursache (7,8 % RSA-Patientinnen vs. 8,6 % Kontrollfrauen). Sie schloss als Erklärungsansatz aus diesen Ergebnissen, dass die sehr instabile Frühschwangerschaft über Ausgleichsmechanismen verfügen könnte, die die verringerte Plazentadurchblutung steigern.<sup>71</sup> Auch Hustin und Schaaps<sup>190</sup> und Burton et al.<sup>191</sup> sehen keinen Einfluss dieser Mutation auf die FrühSS, da die Durchblutung der Plazenta im ersten Trimester noch nicht voll ausgeprägt sein könnte. Aus diesem Grund könnte die beeinträchtigte Plazentaperfusion im Bezug auf die Embryo-Implantation und Entwicklung zu einem sehr frühen Gestationszeitpunkt keine Rolle spielen, sofern man davon ausgeht, dass eine durch die FVL-Mutation bedingte Hyperkoagulabilität zu einem Verschluss der placentaren Gefäße führt.<sup>116</sup> Roqué et al.<sup>192</sup> vermuten sogar einen protektiven Effekt einer FVL-Mutation auf den Embryo im ersten Trimester. In ihrer Studie zeigte sich ein verringertes Abortrisiko (OR 0,23) im ersten Trimester (< 10 SSW) und ein erhöhtes Risiko im zweiten Trimester für Trägerinnen der FVL-Mutation. In einer weiteren Studie mit 50 Patientinnen mit drei oder mehr Abgängen im ersten Trimester fand sich auch kein Zusammenhang mit einer FVL-Mutation.<sup>193</sup>

Unsere Ergebnisse stimmen mit den im Jahre 1997 publizierten Ergebnissen von Dizon-Townson et al.<sup>180</sup> überein, die die Inzidenz einer Faktor V-Leiden-Mutation bei 40 Paaren mit mindestens drei aufeinander folgenden Fehlgeburten ungeklärter Ursache und 25 Paaren im fortpflanzungsfähigen Alter ohne Fehlgeburt in der Vorgeschichte und mindestens sieben Lebendgeburten verglichen. Keine der Partnerinnen der beiden Gruppen zeigte eine Mutation und nur jeweils ein Mann der beiden Gruppen war heterozygot für diese Mutation. Folglich ließ sich kein Zusammenhang zwischen einer FVL-Mutation und RSA in deren Kollektiv nachweisen. Obgleich an unserer Studie mehr Paare gleichen ethnischen Hintergrunds teilnahmen, ergab sich ebenfalls kein signifikanter Unterschied zwischen beiden Gruppen. In einer anderen Studie verglichen Dizon-Townson et al.<sup>194</sup> die Inzidenz der FVL-Mutation sowohl in 176 RSA-Patientinnen als auch in 139 spontan abortierten Feten mit der 403 gesunder schwangerer Frauen (Kontrollgruppe). 4,2 % der Kontrollen, 6,8 % der Patientinnen und 8,6 % der Feten waren heterozygote Merkmalsträger. Somit bestand eine signifikante Häufung dieser Mutation im Abortmaterial im Vergleich zur Kontrollgruppe ( $p < 0.05$ ). Außerdem zeigten 10 von 24 (42 %) Plazenten mit einem ischämischen Anteil von mehr als 10 % und nur 7 von 372 (1,9 %) Plazenten mit weniger als 10 % ischämischem Anteil eine heterozygote FVL-Mutation, ein mehr als 20-facher Unterschied zwischen beiden Gruppen. In der weitangelegten EPCOT Studie fand sich ein 2-fach erhöhtes Risiko für FVL-Trägerinnen und Totgeburten, jedoch kein signifikanter Zusammenhang mit Aborten in der Früh- und Spät-SS.<sup>71,129</sup> Im Gegensatz dazu wies eine im Jahre 2003 durchgeführte Meta-Analyse von Rey et al.<sup>132</sup> einen signifikanten Zusammenhang zwischen einer FVL-Mutation und rezidivierenden Abgängen sowohl in der Frühschwangerschaft (OR 2,01) als auch in der Spätschwangerschaft (OR 7,83) nach. Eine von Kovalevsky et al.<sup>195</sup> durchgeführte Meta-Analyse erbrachte vergleichbare Resultate. In einer Untersuchung von Younis et al.<sup>196</sup> waren 19 % der 78 Frauen mit mindestens zwei ungeklärten Aborten in der Vorgeschichte Trägerinnen einer FVL-Mutation im Vergleich zu 6 % der Frauen ohne Aborte,

was zu der Schlussfolgerung führte, dass sowohl eine APC-Resistenz als auch eine FVL-Mutation signifikant mit RSA im ersten Trimester und noch häufiger im zweiten Trimester verknüpft sind. Letztere Häufung könnte sich damit erklären lassen, dass mit Fortschreiten des Gestationsalters die Rate an erworbenen Störgrößen zunimmt.<sup>197</sup> So entwickelt sich z. B. die erworbene APC-Resistenz erst nach der 14. SSW und manifestiert sich meistens kurz vor der Geburt.<sup>198</sup> Auch bei van Dunné et al.<sup>116</sup> hatten FVL-Trägerinnen häufiger Abgänge im 2. Trimester als Frauen ohne FVL-Mutation (OR 10,8) bei insgesamt gleicher Abortanzahl von 14 % in beiden Gruppen. Diese Ergebnisse konnten weder von Alonso et al.<sup>150</sup> noch von Kutteh et al.<sup>193</sup>, Carp et al.<sup>199</sup>, Pihusch et al.<sup>153</sup>, Dilley et al.<sup>200</sup> oder Altintas et al.<sup>201</sup> bestätigt werden. Ihre Ergebnisse erbrachten keinen Zusammenhang zwischen einer FVL-Mutation und Aborten im ersten Trimester. In einer RSA-Studie von Dilley et al.<sup>200</sup> waren 14 % des gesunden Kontrollkollektivs ohne RSA Träger der Mutation im Vergleich zu 1,7 % der Patientinnen mit RSA. Rai et al.<sup>117</sup> mutmaßten, dass eine erworbene, also nicht angeborene APC-Resistenz sowohl Früh- als auch Spätaborte bedingen könnte.

Diese widersprüchlichen Ergebnisse der hier aufgeführten Studien könnten zurückzuführen sein auf a) zu kleine Studienpopulationen, b) unterschiedliche ethnische Gruppierungen (z. B. Nord-Süd-Gefälle in Europa), c) stark variierende Ein- und Ausschlusskriterien, die den Vergleich der Studien untereinander erschwert, und d) die uneinheitliche Definition von RSA. Aufgrund der genannten möglichen Komplikationen und der hohen Prävalenz der APC-Resistenz in der Bevölkerung stellt sich die Frage, ob es sinnvoll wäre, ein Screening auf APC-Resistenz bei allen Frauen in der Frühschwangerschaft durchzuführen. Eine interessante andere Überlegung wäre, ob die hohe Frequenz der FVL-Mutation in den unterschiedlichen Populationen einen selektiven Vorteil bezüglich der Embryo-Implantation haben könnte.<sup>202,182</sup> Zudem konnte gezeigt werden, dass der Blutverlust heterozygoter FVL-Trägerinnen subpartu und postpartum verringert ist.<sup>203</sup> Auch dies könnte ein Evolutionsvorteil sein. In einer Studie von De Groot et al.<sup>204</sup> ergab sich eine weitaus höhere Prävalenz der FVL-Mutation innerhalb eines gesunden SS-Kollektivs (9,2 %) gegenüber der Allgemeinbevölkerung (3 %)<sup>111</sup>. Da Haplotypanalysen zeigen, dass die FVL-Mutation nur ein einziges Mal vor etwa 30000 Jahren entstanden ist<sup>205</sup>, muss es weitere Selektionsvorteile geben, die eine so weite Verbreitung dieser Mutation in der europäischen Population ermöglichten. Die Frage nach einem unbekanntem positiven Selektionsdruck wurde bereits in der ersten Veröffentlichung über die FVL-Mutation im Jahre 1994 gestellt: „The high frequency of a single factor V mutation in diverse groups of people raises the question as to whether positive selection pressure is involved in maintaining it in the population. Perhaps a slight thrombotic tendency confers some advantage in fetal implantation.“<sup>202</sup>

Eine weitere wichtige thrombophile Mutation stellt der Prothrombin-/F2-20210G>A-Austausch dar. 1999 wurde erstmalig von Gris et al.<sup>102</sup> in einer Fall-Kontroll-Studie der Einfluss von hereditären Thrombophilien auf Totgeburten bei Paaren untersucht. Die Prävalenz der F2-20210G>A-Mutation war in der Fall- und in der Kontrollgruppe vergleichbar (0,9 % vs. 1 %). Hinsichtlich der männlichen Partner beider Gruppen ergaben sich auch keine Unterschiede. Das RSA-Risiko einer heterozygoten F2-Mutationsträgerin steigt um den Faktor 2,4<sup>155</sup> an, das Risiko für einen Spätabort bei einer heterozygoten F2-20210G>A-Mutation sogar um das 3-fache laut den Autoren.<sup>165</sup> Dass eine F2-20210G>A-Mutation mit RSA zwischen dem ersten und dritten Trimester assoziiert sein könnte, zeigten mehrere Meta-Analysen.<sup>132,165,195</sup> Dennoch bestehen unterschiedliche Meinungen diesbezüglich. In unserer Studie ergab sich kein Hinweis auf einen möglichen Zusammenhang zwischen dieser Mutation bei Paaren mit RSA. Neun (6 %) der RSA-Patientinnen und zwei (1,3 %) der RSA-Partner waren heterozygote Mutationsträger im Vergleich zu sechs (3,8 %) Kontrollfrauen und sieben (4,5 %) Kontrollpartnern. Nur bei zwei (1,3 %) Männern aus der Kontrollgruppe zeigte sich eine homozygote F2-20210G>A-Mutation.

Unsere Ergebnisse werden von einer anderen Untersuchung mit 50 RSA-Patientinnen bestätigt. Auch hier war keine Häufung der F2-Mutation bei Frauen mit rezidivierenden Abgängen in der Frühschwangerschaft evident.<sup>193</sup> In einer Untersuchung von Pickering et al.<sup>206</sup> waren 4 von 122 Kaukasierinnen (3,3 %) mit mindestens drei Frühaborten in der Anamnese und 3 der 66 Kontrollfrauen (4,5 %) Trägerinnen der F2-Mutation. In einer Paarstudie von Gris et al.<sup>102</sup> wurde bei einer vergleichbaren Fragestellung mit Fokus auf Totgeburten ein ähnliches Resultat erzielt. Die Männer der RSA- und der Kontrollgruppe zeigten eine ähnliche Prävalenz an F2-Mutationen

(1,3 % vs. 0,9 %; OR 1,5). Auch bei den Frauen ergaben sich keine signifikanten Unterschiede (0,9 % vs. 1 %; OR 0,8). Dem widersprechen die Ergebnisse der Gruppe um Pihusch et al.<sup>153</sup>, die eine signifikante Häufung der Mutation bei 75 Frauen mit mindestens zwei Aborten vor der 12. SSW im Vergleich zu einer Kontrollgruppe ohne Abortgeschehen fanden (6,7 % vs. 0,8 %; OR 8,5). In einer anderen Studie von Foka et al.<sup>157</sup> waren 7 von 80 RSA-Patientinnen heterozygote Trägerinnen der F2-20210G>A-Mutation im Vergleich zu 2 von 100 Kontrollfrauen (OR 4,6). In einer Meta-Analyse von Rey et al.<sup>132</sup> konnte eine Assoziation dieser F2-Mutation mit RSA bestätigt werden. Im Zuge des zu erwartenden moderaten Thrombembolie-Effekts erscheinen letztere Ergebnisse überraschend. Möglich ist, dass erhöhte Prothrombin-Spiegel Einfluss auf die Zelladhäsion, Muskelzellproliferation und Vaskulogenese nehmen und so die Plazentafunktion zusätzlich einschränken<sup>153</sup>.

Mutationen der Cystathion- $\beta$ -Synthase und der MTHFR<sup>207</sup> führen zu erhöhten Homocystein-Spiegeln, die einen unabhängigen Risikofaktor für Arteriosklerose und Thrombosen im venösen System darstellen.<sup>100</sup> Eine verminderte MTHFR-Aktivität führt allerdings wahrscheinlich nur bei gleichzeitig bestehendem Folat-, B6- oder B12-Mangel zu einer Hyperhomocysteinämie.<sup>208</sup> Homocystein hat einen gewissen Einfluss auf die glatten Muskelzellen der Gefäße und des Endothels. Zudem spielt es eine Vermittlerrolle zwischen dem Endothel und dem Gerinnungssystem. Die Diagnose einer Hyperhomocysteinämie wird durch die Bestimmung des Plasmaspiegels gestellt.

Sie wird, je nach Plasmaspiegel, in drei Kategorien eingeteilt:

1) stark (>100  $\mu\text{mol/liter}$ ), 2) mittel (25-100  $\mu\text{mol/liter}$ ), 3) leicht (16-24  $\mu\text{mol/liter}$ ).<sup>209</sup>

In der SS fällt der Homocystein-Spiegel um 30- 50 % des Ausgangswertes ab.<sup>210</sup>

In der vorliegenden Arbeit gingen wir von der Hypothese aus, dass insbesondere eine Homozygotie für das 677T-Allel bei RSA-Patientinnen und deren Partnern die Embryoentwicklung negativ beeinflussen und so RSA bedingen könnte. Ob die 677C>T-Mutation im MTHFR-Gen zu RSA prädisponiert oder nicht, bleibt trotz zahlreicher Untersuchungen umstritten. Blumenfeld et al.<sup>7</sup> und Nelen et al.<sup>168</sup> fanden heraus, dass Frauen mit RSA vor der 17. SSW mit einer 2-3-fach höheren Wahrscheinlichkeit Trägerinnen einer homozygoten MTHFR-677C>T-Mutation waren als die Frauen der Kontrollgruppe. Nelen et al.<sup>211</sup> postulierten, basierend auf den Ergebnissen einer Meta-Analyse, dass womöglich nicht die MTHFR-677C>T-Mutation per se RSA bedingt, sondern die erhöhten Homocystein-Spiegel. Coumans et al.<sup>198</sup> ging nicht nur davon aus, dass erhöhte Homocystein-Werte die Entstehung einer Thrombose fördern, sondern auch embryotoxisch sein könnten. In ihrer Studie zeigte sich eine 4-fach höhere Inzidenz einer Hyperhomocysteinämie innerhalb des RSA-Kollektivs (17,1 %) gegenüber den Kontrollen (4,5 %).<sup>198</sup> Auch Lissak et al.<sup>212</sup> fanden einen signifikanten Zusammenhang zwischen Frühaborten und einem homo- oder heterozygoten Trägerstatus. In einer Untersuchung von Raziel et al.<sup>213</sup> traten eine Hyperhomocysteinämie und eine MTHFR-677C>T-Mutation statistisch häufiger in der RSA-Gruppe als in der Kontrollgruppe auf, jedoch ohne Signifikanz zu erreichen. Einige Fall-Kontroll-Studien<sup>152,195</sup> und eine Meta-Analyse von Wiwanitkit<sup>214</sup> fanden dagegen keinen signifikanten Zusammenhang zwischen dem MTHFR-677T/T-Genotyp und RSA und bestätigten somit auch die Ergebnisse von Pihusch et al.<sup>153</sup> und unserer Arbeitsgruppe: 12 der RSA-Patientinnen (7,9 %) im Vergleich zu 19 Kontrollfrauen (12,1 %) waren homozygote Trägerinnen des 677T-Allels. Bei den Männern ergab sich eine ähnliche Verteilung von 19 RSA-Partnern (12,1 %) zu 18 Kontrollmännern (11,5 %). Wir nahmen ursprünglich an, dass eine mütterliche als auch eine väterliche homozygote MTHFR-677C>T-Mutation die Entwicklung des Embryos beeinträchtigen und somit ursächlich für RSA sein könnte, zumal der homozygote T/T-Genotyp sowohl die Methylierung der DNA, der RNA, der Proteine und Lipide reduziert.<sup>143</sup> Auch in einer Studie von Kutteh et al.<sup>193</sup> und in einer Meta-Analyse von Pihusch et al.<sup>153</sup> konnte keine erhöhte Prävalenz des MTHFR-677T/T-Genotyps bei RSA im I. Trimester festgestellt werden. Trat die MTHFR-Mutation jedoch in Kombination mit einer FVL-Mutation auf, zeigte sich eine signifikante Risikozunahme für Spätaborte.<sup>153</sup>

In Deutschland erhalten Frauen vor, während und nach der SS im Wochenbett eine Folsäure-Substitution. Somit lässt sich nicht nur die Gefahr eines Neuralrohrdefektes, sondern auch das mit einer homozygoten MTHFR-677C>T-Mutation vergesellschaftete Thromboserisiko ver-

ringern, zumal in der SS das Thrombembolierisiko bereits physiologischerweise um das 6-fache erhöht ist.

Jivraj et al.<sup>184</sup> konnte zeigen, dass mehrere thrombophile Genmutationen (FVL, F2, MTHFR) in einem der Partner eines RSA-Paares das Risiko für Fehlgeburten um das 1.9-fache erhöhen. Ein Vergleich zwischen 357 kaukasischen Paaren mit mindestens drei aufeinander folgenden Aborten und 68 Kontroll-Paaren ohne Abortanamnese zeigte keine signifikanten Unterschiede hinsichtlich der Inzidenz der untersuchten Mutationen. Dennoch zeigte sich eine signifikant höhere Lebendgeburten-Rate bei Paaren ohne Thrombophilie (56 %) verglichen zu Paaren mit mehr als einer thrombophilen Mutation (17 %;  $p < 0.03$ ). In unserer Studie fanden sich in der Kontrollgruppe mehr Träger einer kombinierten Thrombophilie (mehr als eine thrombophile FVL-, F2-20210G>A- oder MTHFR-677C>T-Mutation) als in der RSA-Gruppe, jedoch ohne Signifikanz zu erreichen: Bei 10 Kontroll-Paaren im Vergleich zu 7 RSA-Paaren lag bei beiden Partnern eine hereditäre Thrombophilie vor (siehe Paragraph 4.2.4).

Dass eine Kombination aus einer FVL-Mutation und weiteren zu einer Thrombophilie prädisponierenden Faktoren das RSA-Risiko steigert, zeigte auch die EPCOT-Studie mit 843 Patientinnen und 541 Kontrollfrauen, wobei der stärkste Zusammenhang zwischen Totgeburten und Frauen mit mindestens zwei hereditären Thrombophilien bestand (OR 14.3).<sup>134</sup> In einer anderen Studie trugen 8 % der 76 Patientinnen im Vergleich zu nur 1 % der Kontrollfrauen eine Kombination aus mindestens zwei hereditären Thrombophilien.<sup>155</sup> Laut Mandel et al.<sup>215</sup> und Brenner<sup>216</sup> verursacht eine MTHFR-677C>T-Mutation in Kombination mit einer FVL-Mutation schwangerschaftsbezogene Durchblutungsstörungen, die zu Thrombosen und RSA führen.

Zudem gibt es eine Vielzahl an unterschiedlichen RSA-Definitionen in der gängigen Literatur hinsichtlich der Anzahl an Fehlgeburten (1-3), der Abfolge an Aborten (konsekutiv oder nicht-konsekutiv) und dem Zeitpunkt des SS-Verlustes, die eine Interpretation der Daten und einen Vergleich von Studien erschweren. Trotz aller bestehenden Unsicherheiten sollten Patientinnen mit einer entsprechenden Anamnese im Rahmen der Ursachenabklärung auf das Vorliegen einer FVL- und einer F2-20210G>A-Mutation untersucht werden, um sie von einer frühzeitigen antithrombotischen Behandlung profitieren zu lassen. So führt der Einsatz von niedermolekularen Heparinen bei RSA-Patientinnen mit thrombophilem Risikoprofil zu einem deutlichen Anstieg der Raten an Lebendgeburten.<sup>13,217</sup>

## 6. Zusammenfassung

Seit einigen Jahren wird nach möglichen Ursachen und Risikofaktoren für RSA geforscht, um effektive diagnostische Testverfahren und Therapiestrategien zu entwickeln. Zahlreiche Studien konzentrieren sich bei der Ursachenforschung u. a. auf thrombophile Risikofaktoren bei der Mutter, welche die uteroplazentare Blutzirkulation negativ beeinflussen können.

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, thrombophile Genmutationen bei RSA-Patientinnen und deren Partnern, bei denen keine eindeutige Ursache für die habituellen Aborte gefunden werden konnte, zu untersuchen und mit einem Kontrollkollektiv ohne Abortgeschehen zu vergleichen. Sowohl das Patienten- als auch das Kontrollkollektiv war deutschstämmig. Zudem untersuchten wir, ob eine oder die Kombination mehrerer prokoagulatorischer Faktoren für RSA verantwortlich gemacht werden können. Dazu untersuchten wir 151 RSA-Paare und 157 Kontrollpaare ohne Aborte und verglichen die Genotyp-Frequenz der jeweiligen Mutationen in den zwei Kollektiven miteinander.

In den untersuchten Kollektiven waren die Häufigkeiten der unterschiedlichen FVL-, F2-20210G>A- und MTHFR-677C>T-Genotypen sowohl bei den männlichen als auch bei den weiblichen Teilnehmer/Innen vergleichbar. Zudem unterschieden sich die Mutationskonstellationen innerhalb der Paare nicht signifikant in beiden Gruppen. Dennoch konnten wir zeigen, dass eine mütterliche Faktor V-Leiden-Mutation mit einem signifikant erhöhten Risiko für Aborte zwischen der 5. und 10. SSW einhergeht.

Die thermolabile Variante der 5,10-Methylentetrahydrofolat-Reduktase stand ursprünglich mit Erkrankungen der Herzkranzgefäße in Zusammenhang. Homozygotie für das 677T-Allel führt zu einer mehr als 50 %igen Einschränkung der normalen MTHFR-Aktivität und somit zu moderat erhöhten Homocystein-Spiegeln.<sup>218</sup> Der Zusammenhang zwischen einer MTHFR-677C>T-Mutation und SS-Komplikationen ist noch nicht verstanden. Eine gängige Hypothese ist, dass erhöhte Homocystein-Konzentrationen Gefäßschäden verursachen, die zu venösen Thromben und zu einer Plazentainsuffizienz führen könnten. Eine Hyperhomocysteinämie wurde auch als Risikofaktor für plazentare Infarkte beschrieben.<sup>219</sup> In den von uns untersuchten Kollektiven ergab sich kein Anhalt für einen Zusammenhang zwischen einem MTHFR-677T/T-Genotyp und RSA.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass in unserer retrospektiven Fall-Kontroll-Studie die Ergebnisse für einen Einfluss der maternalen Thromboseneigung (heterozygoze Faktor-V-Leiden-Mutation) auf den Verlauf der Schwangerschaft, (einen Abort zwischen der 5. und der 10. SSW) zu sprechen scheinen. Hereditäre Thrombophilien der männlichen Partner dagegen stellen offensichtlich keinen signifikanten Risikofaktor dar. Dieses Ergebnis scheint gut mit den gerinnungsphysiologischen Effekten der F2-20210G>A- und F5-Mutation vereinbar, da diese lösliche Komponenten der plasmatischen Gerinnung sind und damit ausschließlich vom mütterlichen Genom abstammen.

Mit Sicherheit basieren RSA auf einem multifaktoriellen Geschehen, bei welchem hereditäre Thrombophilien eine wichtige Rolle spielen. Allerdings müssen die pathophysiologisch relevanten Mechanismen der FVL-, F2-20210G>A- und MTHFR-677C>T-Mutationen und deren Einfluss auf rezidivierende Spontanaborte noch besser verstanden werden, um Paaren mit RSA möglichst effektiv helfen zu können.

## 7. Anhang

### 7.1 Ethikkommissionsantrag

Klinikum der Universität München  
 Klinik und Poliklinik für Frauenheilkunde und  
 Geburtshilfe - Großhadern  
 Direktor: Prof. Dr. med. Klaus Friese

\_\_\_\_\_ **LMU**  
 Ludwig \_\_\_\_\_  
 Maximilians-  
 Universität \_\_\_\_\_  
 München \_\_\_\_\_

Herrn Prof. Dr. med. G. Paumgartner  
 Ethikkommission  
 des Fachbereiches Medizin  
 Klinikum der Universität München - Grosshadern  
 Marchioninstr. 15

München, den 19.3.2007

**betr: Antrag an die Ethikkommission (EK) auf Beurteilung eines Forschungsvorhabens am Menschen**

Sehr geehrter Herr Professor Paumgartner,

wir möchten einen Antrag an die Ethikkommission auf Beurteilung eines Forschungsvorhabens am Menschen mit dem Titel

#### **Einfluss von hereditären Thrombophilien auf das Abortgeschehen**

stellen. Es handelt sich dabei um eine Untersuchung von Paaren mit rezidivierenden Spontanaborten sowie von Paaren mit mindestens einem Kind und keinem Abortgeschehen in der Vorgeschichte.

Ein vollständiger Antrag nach den Richtlinien der Ethikkommission auf Beurteilung eines Forschungsvorhabens am Menschen ist diesem Schreiben beigelegt. Für die damit verbundenen Mühen möchten wir Ihnen im Voraus bereits danken. Für weitere Fragen stehen wir Ihnen selbstverständlich jederzeit zur Verfügung, haben aber leider keine finanziellen Mittel für die Erstattung des Ethikvotums.

Mit freundlichen Grüßen

Dr. med. Bettina Toth  
 wissenschaftliche Mitarbeiterin



Prof. Dr. med. C. J. Thaler  
 Leiter der gynäkologischen Endokrinologie  
 und Reproduktionsmedizin

Anschrift: D-81377 München • MarchioninstraÙe 15 • Telefon (0 89) 70 95-0 (Vermittlung)  
 Verkehrsverbindung: U6, 34, 67, 266, 268 oder 269 bis Haltestelle Klinikum Großhadern



## 7.2 Ethikkommissions-Zusage

Ethikkommission der Medizinischen Fakultät  
der Ludwig-Maximilians Universität  
Vorsitzender: Prof. Dr. Gustav Paumgartner

Klinikum der Universität München – Großhadern  
Marchioninstr. 15 81377 München

Frau  
Dr. Bettina Toth  
Poliklinik für Frauenheilkunde  
Klinikum Großhadern  
- im Hause -

**LMU**  
Ludwig-  
Maximilians-  
Universität  
München  
Marchioninstr. 15  
81377 München  
Tel: (089) 7095 4609  
Fax: (089) 7095 7609  
e-mail: Ethikkommission@  
med.uni-muenchen.de  
16.04.2007 GP /sc

**Projekt-Nr. 111-07**  
**Einfluss von hereditären Thrombophilien auf das Abortgeschehen**

Sehr geehrte Frau Kollegin Toth,

besten Dank für die auf Grund unseres Schreibens vom 16.04.2007 überarbeiteten  
Dokumente (EK- Antrag, Studienprotokoll, Patienteninformation und  
Einverständniserklärung), die am 16.04.2007 bei uns eingegangen sind.

Die Ethikkommission (EK) kann Ihrer Studie nun die ethisch-rechtliche Unbedenklichkeit  
zuerkennen.

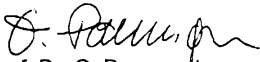
Vorsorglich möchte ich darauf hinweisen, dass auch bei einer positiven Beurteilung des  
Vorhabens durch die EK die ärztliche und juristische Verantwortung für die Durchführung  
des Projektes uneingeschränkt bei Ihnen und Ihren Mitarbeitern verbleibt.

Sie werden gebeten, die EK über alle schwerwiegenden oder unerwarteten Ereignisse im  
Rahmen der Studie zu unterrichten.

Änderungen des Studienprotokolls sind der EK mitzuteilen.

Für Ihre Studie wünsche ich Ihnen viel Erfolg.

Mit freundlichen Grüßen

  
Prof. Dr. G. Paumgartner  
Vorsitzender der Ethikkommission

N/ Mitglieder der Ethikkommission

P.S.: Bitte beachten Sie die aktuellen Richtlinien für Anträge an die Ethikkommission. Internetadresse:  
<http://www.med.uni-muenchen.de/Ethikkommission>

Mitglieder der Kommission:  
Prof. Dr. G. Paumgartner (Vorsitzender), Prof. Dr. E. Held (stellv. Vorsitzender), Prof. Dr. H. U. Gallwas,  
Prof. Dr. D. Kunze, Dr. V. Mönch, Prof. Dr. V. Nüßler, Prof. Dr. R. Penning, Prof. Dr. K. Hahn, Prof. Dr. K. Pfeifer, Dr. Ch. Zach

## 7.3 Patientenaufklärung

**Klinikum der Universität München**  
 Klinik und Poliklinik für Frauenheilkunde und  
 Geburtshilfe – Großhadern  
 Direktor: Prof. Dr. med. Klaus Friese

————— **LMU**  
 Ludwig ———  
 Maximilians —  
 Universität —  
 München ———

—————  
 Franziska Vocke  
 Dr. med. Bettina Toth

0157/72176438  
 Tel. 7095-2843/ 6800

### **Patienteninformation und Einverständniserklärung**

Sehr geehrte Damen und Herren,

wir möchten Sie heute über eine Studie zur Erforschung der Ursachen für das Auftreten von Fehlgeburten informieren, welche in der I. und II. Universitäts-Frauenklinik durchgeführt wird.

Der Titel dieser Studie lautet:

#### **Hereditäre Thrombophilien bei Paaren mit rezidivierenden Fehlgeburten**

12 % aller klinisch erkannten Schwangerschaften enden in einer Fehlgeburt. Während es sich in der überwiegenden Mehrzahl der Fälle um ein einmaliges Ereignis handelt, erleben etwa 2 % aller Paare mit Kinderwunsch mehrere Fehlgeburten.

In der Frauenklinik Grosshadern werden seit vielen Jahren Frauen mit vermehrten Fehlgeburten im Rahmen einer Spezialsprechstunde untersucht. Wir konnten nachweisen, dass z.B. Veränderungen in der Blutgerinnung, Infektionen oder anatomische Auffälligkeiten eine wesentliche Rolle spielen. Dennoch ist bislang nur bei etwa 50 % der Frauen mit vermehrten Fehlgeburten eine mögliche Ursache nachweisbar. Ziel der vorliegenden Studie ist es daher, neue Ursachen für Fehlgeburten zu finden und dadurch neue Therapieansätze zu entwickeln.

Veränderungen im Bereich der Blutgerinnung können angeboren sein. Die häufigste angeborene Gerinnungsstörung ist die so genannte APC-Resistenz infolge einer Faktor V-Leiden-Mutation. Aber auch die Prothrombin-G20210A-Mutation und die C677T-Mutation im



5,10-Methylentetrahydrofolat-Reduktase (MTHFR)-Gen kommen bei Personen mit Thrombosen (Blutgerinnsel im Bein oder an anderen Stellen des Körpers) häufiger vor.

Bisher gibt es vorwiegend Untersuchungen, welche den Einfluss dieser Gerinnungsstörungen bei Frauen mit vermehrten Fehlgeburten untersucht haben. Der jeweilige Vater des Kindes blieb zumeist außen vor, obwohl das im Mutterleib heranwachsende Kind und auch der Mutterkuchen Erbgut von Mutter und Vater enthält. Daher sollen in dieser Studie Paare hinsichtlich des Vorliegens einer angeborenen Gerinnungsneigung untersucht werden, um festzustellen, inwieweit auch eine blutgerinnungsfördernde Neigung des Vaters Einfluss auf den Schwangerschaftsverlauf nimmt.

Durch die Teilnahme an dieser Studie helfen Sie mit, diese Parameter zu erforschen und damit möglicherweise neue Erkenntnisse über Fehlgeburten zu gewinnen.

*Bei dieser Studie werden die Vorschriften über den Datenschutz und die ärztliche Schweigepflicht eingehalten. Es werden persönliche Daten (wie Alter, Anzahl der bisherigen Schwangerschaften, Größe, Gewicht) und Befunde (Erkrankungen in der jetzigen Schwangerschaft) erhoben und auf Wunsch werden Ihnen die Ergebnisse der Gerinnungsuntersuchungen mitgeteilt. Anschließend werden die Daten gespeichert und irreversibel anonymisiert. Von den Blutproben bzw. den Daten kann dann nicht mehr auf Ihre Person rückgeschlossen werden. Die Teilnahme an der Studie ist freiwillig.*

*In etwaigen Veröffentlichungen der Daten dieser Studie werden Sie aufgrund der irreversiblen Anonymisierung nicht namentlich genannt, so dass die Vertraulichkeit der persönlichen Daten gewährt wird.*

#### **Ablauf der Studie:**

Paaren mit vermehrten Fehlgeburten und Paaren mit mindestens einem gesunden Kind und ohne Fehlgeburt in der Vergangenheit (Kontrollgruppe) wird Blut entnommen, welches auf angeborene Störungen im Gerinnungssystem (Faktor V-Leiden-Mutation, Prothrombin-G20210A-Mutation, MTHFR-C677T-Mutation) untersucht wird.

Bei Rückfragen zu dieser Studie erreichen Sie uns unter folgender Telefonnummer:

Frau Dr. Toth: Frauenklinik Tel.: 7095-6820 Fax: 7095-6840

Doktorandin F. Vocke Tel.: 0157-72176438

Ich erkläre hiermit, dass ich von \_\_\_\_\_ (Name der/des Ärztin/Arztes bzw. der Doktorandin) ausführlich über die Studie aufgeklärt und meine offenen Fragen beantwortet wurden. Ich erteile meine Zustimmung zur Speicherung meiner Daten unter Berücksichtigung des oben ausgeführten Datenschutzes.

Über die datenschutzrechtlichen Vorgehensweisen wurde ich informiert und erteile hierzu explizit meine Einwilligung.

Ort, Datum, Unterschrift der Patientin und des Patienten

Mit meiner Unterschrift erkläre ich mich bereit, an der Studie teilzunehmen.

Ort, Datum, Unterschrift der Patientin und des Patienten

Ort, Datum, Unterschrift der/s aufklärenden Ärztin/Arztes/Doktorandin

**Name Patientin:**

**Name Patient:**

**Geburtsdatum Patientin:**

**Geburtsdatum Patient:**

**Anzahl der Geburten:**

## 7.4 Übersicht über die RSA-Literatur

**Tabelle 14: Literaturübersicht**

Autor	Studienpopulation	F5 1691G>A	F2 20210G>A	MTHFR 677C>T
Alonso, A et al. <sup>150</sup>	n=75 RSA_1 idiopathic (FTEL; STFL; LFD) n=75 control (no abortion)	RSA: 2/75 (3%) control: 1/75 (1.3%) all heterozygous OR 2	RSA: 4/75 (5%) control: 2/75 (3%) all heterozygous OR 2.1	RSA: 9/75 (12%) control: 7/75 (9%) all homozygous OR 1.3
Altintas, A et al. <sup>201</sup>	n=114 RSA_3 idiopathic (FTEL) n=185 control (no abortion) all Turkish	RSA: 9/114 (7.9%) control: 13/185 (7%) all heterozygous OR 1.13	RSA: 2/114 (1.7%) control: 3/185 (1.6%) all heterozygous OR 1.08	xxx
Behjati, R et al. <sup>187</sup>	n=65 RSA idiopathic n=62 control (no abortion) all Iranian	RSA: 13/65 (20%)* control: 0/62 all heterozygous OR 32.3	RSA: 3/65 (4.6%) control: 2/62 (3.2%) all heterozygous OR 1.45	RSA: 41/65 (63.1%)* control: 24/62 (38.7%) all heterozygous or homozygous OR 2.7
Bick, RL et al. <sup>179</sup>	n=160 RSA no control	RSA: 11/160 (6.9%) control: absent	xxx	xxx
Brenner, B et al. <sup>155</sup>	n=76 RSA idiopathic (FTEL_3; STFL_2; TTFL_1) n=106 control (no abortion)	RSA: 24/76 (32%)* 19/76 (25%) heterozygous, 5/76 (7%) homozygous control: 11/106 (10%) heterozygous OR 3.99	RSA: 6/76 (8%) control: 4/106 (4%) all heterozygous OR 2.19	RSA: 14/76 (18%) control: 11/106 (10%) all homozygous OR 1.95
Carp, H et al. <sup>199</sup>	n=108 RSA_3 (FSTFL; LFD=13-26 GW) n=82 control (no abortion)	RSA: 4/108 (3.7%) control: 5/82 (6.1%) all heterozygous OR 0.59	RSA: 5/108 (4.6%) control: 5/82 (6.1%) all heterozygous OR 0.74	RSA: 14/108 (12.9%) control: 7/82 (8.5%) all homozygous OR 1.59

**Legende:** RSA\_2 = mind. 2 rezidivierende Spontanaborte (RSA); RSA\_3 = mind. 3 RSA; FVL = 1691G>A-Mutation im F5-Gen; FII = 20210G>A-Mutation im F2-Gen; MTHFR = 677C>T-Mutation im MTHFR-Gen; FTEL = Abort im 1. Trimester; STFL = Abort im 2. und 3. Trimester; FSTFL = Abort im 1. und 2. Trimester; STFL = Abort im 2. Trimester; TTFL = Abort im 3. Trimester; LFL = Spätabort; LFD = Totgeburt; GW = Gestationswoche; SP = erfolgreich ausgetragene Schwangerschaft; \* = signifikant  $p < 0.05$ ; n = Anzahl; xxx = nicht untersucht; OR = "odds ratio"; Darstellung und Vergleich der aktuellen Literatur zum Thema RSA und hereditäre Thrombophilien (Mutation im F5-, F2-, MTHFR-Gen) anhand von ausgewählten Kriterien und verfügbar: der Erstautor der Veröffentlichung, die Anzahl (n) der Studienteilnehmer gesamt, das prozentuale Verhältnis der Mutationsträger zum Gesamtkollektiv im RSA- und im Kontrollkollektiv pro untersuchter Mutation, der ethnische Hintergrund des Studienkollektivs, die Mindestanzahl an RSA pro Patientin (RSA\_2/RSA\_3), Zeitpunkt des Abortgeschehens (1. und/oder 2. Trimester; 2. und/oder 3. Trimester; die Klassifizierung des Aborts als Spätabort oder Totgeburt; die "odds ratio" der Ergebnisse und Markierung der signifikanten Untersuchungsergebnisse innerhalb einer Studie.

Autor	Studienpopulation	F5 1691G>A	F2 20210G>A	MTHFR 677C>T
Coulam, C et al. <sup>220</sup>	n=150 RSA_2 n=20 (no abortion)	RSA: 1/150 (0.7%) control: 0/20 all heterozygous OR 0.26	RSA: 2/150 (1.3%) control: 0/20 all heterozygous OR 0.53	RSA: 12/150 (8%)* control: 0/20 all homozygous OR 3.39
Couto, E et al. <sup>221</sup>	n=88 RSA n=88 control (no abortion)	RSA: 3/88 (3.4%) control: 0/88 all heterozygous OR 7.2	RSA: 1/88 (1.1%) control: 1/88 (1.1%) all heterozygous OR 1.0	RSA: 12/88 (13.6%) control: 9/88 (10.2%) all homozygous OR 1.4
Dilley, A et al. <sup>200</sup>	n=60 RSA_3 n=92 control (no abortion) all Caucasian	RSA: 1/60 (1.7%) control: 13/92 (14%) all heterozygous OR 0.1	RSA: 3/60 (5%) control: 1/92 (1.1%) all heterozygous OR 4.8	RSA: 7/60 (11.7%) control: 9/92 (9.8%) all homozygous OR 1.3
Dizon-Townson, D et al. <sup>180</sup>	n= 40 RSA_3 couples n= 25 control couples (no recurrent miscarriage); all Caucasian	RSA: female: 0/40 male 1/40 (2.5%) control: female: 0/25 male: 1/25 (4.0%) all heterozygous OR female 0.62 OR male 0.6	xxx	xxx
Dossenbach-Glaninger, A et al. <sup>149</sup>	n=49 RSA_2 (FTED=8-12 GW; STFL=13-20 GW) n=48 control (no abortion) all caucasian	RSA: 8/49 (16%) control: 4/48 (8%) all heterozygous OR 2.2	RSA: 2/49 (4%) control: 3/48 (6%) all heterozygous OR 0.6	RSA: 8/49 (16%) control: 5/48 (10%) all homozygous OR 1.68
D'Uva, M et al. <sup>154</sup>	n=20 RSA_2 idiopathic (FTEL_3 or LFD_1) n=20 control (no abortion)	xxx	xxx	RSA: 17/20 (85%)* control: 3/20 (15%) all homozygous OR 32.1

**Legende:** RSA\_2 = mind. 2 rezidivierende Spontanaborte (RSA); RSA\_3 = mind. 3 RSA; FVL = 1691G>A-Mutation im F5-Gen; FII = 20210G>A-Mutation im F2-Gen; MTHFR = 677C>T-Mutation im MTHFR-Gen; FTEL = Abort im 1. Trimester; STTFL = Abort im 2. und 3. Trimester; FSTFL = Abort im 1. und 2. Trimester; STFL = Abort im 2. Trimester; TTFL = Abort im 3. Trimester; LFL = Spätabort; LFD = Totgeburt; GW = Gestationswoche; SP = erfolgreich ausgetragene Schwangerschaft; \* = signifikant  $p < 0.05$ ; n = Anzahl; xxx = nicht untersucht; OR = "odds ratio"; Darstellung und Vergleich der aktuellen Literatur zum Thema RSA und hereditäre Thrombophilien (Mutation im F5-, F2-, MTHFR-Gen) anhand von ausgewählten Kriterien und verfügbar: der Erstautor der Veröffentlichung, die Anzahl (n) der Studienteilnehmer gesamt, das prozentuale Verhältnis der Mutationsträger zum Gesamtkollektiv im RSA- und im Kontrollkollektiv pro untersuchter Mutation, der ethnische Hintergrund des Studienkollektivs, die Mindestanzahl an RSA pro Patientin (RSA\_2/RSA\_3), Zeitpunkt des Abortgeschehens (1. und/oder 2. Trimester; 2. und/oder 3. Trimester; die Klassifizierung des Aborts als Spätabort oder Totgeburt; die "odds ratio" der Ergebnisse und Markierung der signifikanten Untersuchungsergebnisse innerhalb einer Studie.

Autor	Studienpopulation	F5 1691G>A	F2 20210G>A	MTHFR 677C>T
Fatini, G et al. <sup>222</sup>	n=59 RSA_3 (FTEL 7-12) n=70 (no abortion) all Italian	RSA: 6/59 (10%) control: 2/70 (3%) all heterozygous OR 3.8	RSA: 1/59 (1,7%) control: 1/70 (1.4%) all heterozygous OR 1.2	xxx
Finan, R et al. <sup>186</sup>	n=110 RSA_2 (FTEL) n= 67 control (no abortion) all Lebanese	RSA: 45/110 (40.91%)* (hetero: 38; homo: 7) control: 11/67 (16.42%) heterozygous OR 3.52	RSA: 15/110 (13.64%)* control: 2/67 (2.99%) all heterozygous OR 5.13	xxx
Foka, Z et al. <sup>157</sup>	n=80 RSA_2 (FSTFL) n= 100 control (no abortion) all Greek	RSA: 15/80 (19%)* control: 4/100 (4%) all heterozygous OR 5.54	RSA: 7/80 (9%)* control: 2/100 (2%) all heterozygous OR 4.7	RSA: 6/80 (8%) control: 15/100 (15%) all homozygous 0.46
Gerhardt, A et al. <sup>223</sup>	n=104 RSA_3 idiopathic (n=34 FTEL, n=70 STTFL) n=277 control (no abortion)	RSA: 16/104 (15.4%)* FTEL: 1/34 (2.9%) STTFL: 15/70 (21.4%)* control: 22/277 (7.9%) all heterozygous OR 2.11	RSA: 2/104 (1.9%) FTEL: 0 STTFL: 2/70 (2.9%) control: 6/277 (2.2%) all heterozygous OR 0.89	RSA: 14/104 (13.5%) FTEL: 7/34 (14.7%) STTFL: 9/70 (12.9%) control: 28/277 (10.1%) all homozygous OR 1.38
Glueck, C et al. <sup>148</sup>	n=44 RSA_3 (pre-embryonic ≤5 GW; embryonic >5-9 GW; Fetal >9-12 GW; STFL >13-26; TTFL > 26-36) n=638 control (no abortion) all caucasian	RSA: 8/44 (18.2%)* heterozygous 1/44 (2.3%) homozygous control: 47/638 (7.4%) heterozygous OR 2.79	xxx	xxx

**Legende:** RSA\_2 = mind. 2 rezidivierende Spontanaborte (RSA); RSA\_3 = mind. 3 RSA; FVL = 1691G>A-Mutation im F5-Gen; FII = 20210G>A-Mutation im F2-Gen; MTHFR = 677C>T-Mutation im MTHFR-Gen; FTEL = Abort im 1. Trimester; STTFL = Abort im 2. und 3. Trimester; FSTFL = Abort im 1. und 2. Trimester; STFL = Abort im 2. Trimester; TTFL = Abort im 3. Trimester; LFL = Spätabort; LFD = Totgeburt; GW = Gestationswoche; SP = erfolgreich ausgetragene Schwangerschaft; \* = signifikant  $p < 0.05$ ; n = Anzahl; xxx = nicht untersucht; OR = "odds ratio"; Darstellung und Vergleich der aktuellen Literatur zum Thema RSA und hereditäre Thrombophilien (Mutation im F5-, F2-, MTHFR-Gen) anhand von ausgewählten Kriterien und verfügbar: der Erstautor der Veröffentlichung, die Anzahl (n) der Studienteilnehmer gesamt, das prozentuale Verhältnis der Mutationsträger zum Gesamtkollektiv im RSA- und im Kontrollkollektiv pro untersuchter Mutation, der ethnische Hintergrund des Studienkollektivs, die Mindestanzahl an RSA pro Patientin (RSA\_2/RSA\_3), Zeitpunkt des Abortgeschehens (1. und/oder 2. Trimester; 2. und/oder 3. Trimester; die Klassifizierung des Aborts als Spätabort oder Totgeburt; die "odds ratio" der Ergebnisse und Markierung der signifikanten Untersuchungsergebnisse innerhalb einer Studie.

Autor	Studienpopulation	F5 1691G>A	F2 20210G>A	MTHFR 677C>T
Glueck, C et al. <sup>161</sup>	n=16 RSA_3 n=33 PCO+RSA n=116 control (44 adults, 72 children) all Caucasian	RSA: 9/49 (18.4%)* (6/33 (18.2%) heterozygous 3/16 (18.8%) homozygous) control: 2/116 (1.7%) heterozygous OR 12.8	xxx	xxx
Goodman, C et al. <sup>158</sup>	n=550 RSA_2 idiopathic couples n=1956 controls (taken from the literature)	allele frequency did not differ significantly between RSA and controls	allele frequency did not differ significantly between RSA and controls	allele frequency did differ significantly between RSA and controls*
Grandone, E et al. <sup>159</sup>	n=43 RSA_2 idiopathic (FTEL+”late events”) n=118 controls (no abortion) all Caucasian	RSA: 7/43 (16.28%)* (significant more often in RSA patients with late pregnancy loss) control: 5/118 (4.24%) all heterozygous OR 4.39	xxx	xxx
Gris, J-C et al. <sup>102</sup>	n=232 couples (≥1 stillbirth) n=464 couples (no stillbirth/abortion)	xxx	RSA/female: 2/232 (0.9%) RSA/male: 3/232 (1.3%) control/female: 5/464 (1%) control/male: 4/464 (0.9%) all heterozygous OR/female 0.8; OR/male 1.5	RSA: 49/232 (21.1%) control: 73/464 (15.7%) all homozygous OR 1.45
Guan, LX et al. <sup>162</sup>	n=127 RSA_3 idiopathic (FTEL) n=117 control (no abortion)	xxx	xxx	RSA: 55/127* (43.3%) control: 25/117 (21.4%) all homozygous OR 2.8

**Legende:** RSA\_2 = mind. 2 rezidivierende Spontanaborte (RSA); RSA\_3 = mind. 3 RSA; FVL = 1691G>A-Mutation im F5-Gen; FII = 20210G>A-Mutation im F2-Gen; MTHFR = 677C>T-Mutation im MTHFR-Gen; FTEL = Abort im 1. Trimester; STTFL = Abort im 2. und 3. Trimester; FSTFL = Abort im 1. und 2. Trimester; STFL = Abort im 2. Trimester; TTFL = Abort im 3. Trimester; LFL = Spätabort; LFD = Totgeburt; GW = Gestationswoche; SP = erfolgreich ausgetragene Schwangerschaft; \* = signifikant  $p < 0.05$ ; n = Anzahl; xxx = nicht untersucht; OR = “odds ratio“; Darstellung und Vergleich der aktuellen Literatur zum Thema RSA und hereditäre Thrombophilien (Mutation im F5-, F2-, MTHFR-Gen) anhand von ausgewählten Kriterien und verfügbar: der Erstautor der Veröffentlichung, die Anzahl (n) der Studienteilnehmer gesamt, das prozentuale Verhältnis der Mutationsträger zum Gesamtkollektiv im RSA- und im Kontrollkollektiv pro untersuchter Mutation, der ethnische Hintergrund des Studienkollektivs, die Mindestanzahl an RSA pro Patientin (RSA\_2/RSA\_3), Zeitpunkt des Abortgeschehens (1. und/oder 2. Trimester; 2. und/oder 3. Trimester; die Klassifizierung des Aborts als Spätabort oder Totgeburt; die “odds ratio“ der Ergebnisse und Markierung der signifikanten Untersuchungsergebnisse innerhalb einer Studie.

Autor	Studienpopulation	F5 1691G>A	F2 20210G>A	MTHFR 677C>T
Hashimoto, K et al. <sup>112</sup>	n=52 RSA_3 idiopathic (FTEL) n= 41 male partners n=55 control (no abortion) all Japanese	RSA: female 0/52 male: 0/41 control: 0/55	xxx	xxx
Hohlschwandt-ner, M et al. <sup>224</sup>	n=145 RSA_3 (only <20 GW) n=101 controls (no abortion;postmenopausal)	RSA: 15/145 (10.3%) control: 4/101 (4%) all heterozygous OR 2.79	RSA: 8/145 (5.5%) control: 2/101 (2.0%) all heterozygous OR 2.89	RSA: 21/145 (14.5%) control: 7/101 (6.9%) all homozygous OR 2.27
Holmes, R et al. <sup>225</sup>	n=173 RSA_3 (FTEL ≤12 GW and/or LFL >12 GW; LFD >24 GW) n=67 Control all Caucasian	xxx	xxx	RSA: 14/173 (8.1%) control: 6/67 (9.0%) all homozygous OR 0.9
Jivraj, S et al. <sup>184</sup>	n=357 RSA_3 couples n=68 control couples all Caucasian	RSA couples: 2 % (allele frequency) control couples: 2 %	RSA couples: 2 % (allele frequency) control couples: 3 %	RSA couples 31 % (allele frequency) control couples 35%
Kobashi, G et al. <sup>226</sup>	n=83 RSA_2 (=2; =3; ≥4 abortions) n=174 control (no abortion) all Japanese	RSA: 0/83 control: 0/174	xxx	RSA: 9/83 (10.4%) control: 25/174 (14.37%) OR 0.72
Kumar, KS et al. <sup>227</sup>	n=24 RSA_3 idiopathic n=24 control (no abortion)	xxx	xxx	RSA: 0/24 control: 0/24
Kutteh, W et al. <sup>193</sup>	n=50 RSA_3 FTEL; STFL; TTFL) n=50 control (no abortion) all white	RSA: 1/50 (2%) control: 2/50 (4%) all heterozygous OR 0.49	RSA: 1/50 (2%) control: 1/50 (2%) all heterozygous OR 1.0	RSA: 4/50 (8%) control: 2/50 (4%) all homozygous OR 2.06

**Legende:** RSA\_2 = mind. 2 rezidivierende Spontanaborte (RSA); RSA\_3 = mind. 3 RSA; FVL = 1691G>A-Mutation im F5-Gen; FII = 20210G>A-Mutation im F2-Gen; MTHFR = 677C>T-Mutation im MTHFR-Gen; FTEL = Abort im 1. Trimester; STTFL = Abort im 2. und 3. Trimester; FSTFL = Abort im 1. und 2. Trimester; STFL = Abort im 2. Trimester; TTFL = Abort im 3. Trimester; LFL = Spätabort; LFD = Totgeburt; GW = Gestationswoche; SP = erfolgreich ausgetragene Schwangerschaft; \* = signifikant  $p < 0.05$ ; n = Anzahl; xxx = nicht untersucht; OR = "odds ratio"; Darstellung und Vergleich der aktuellen Literatur zum Thema RSA und hereditäre Thrombophilien (Mutation im F5-, F2-, MTHFR-Gen) anhand von ausgewählten Kriterien und verfügbar: der Erstautor der Veröffentlichung, die Anzahl (n) der Studienteilnehmer gesamt, das prozentuale Verhältnis der Mutationsträger zum Gesamtkollektiv im RSA- und im Kontrollkollektiv pro untersuchter Mutation, der ethnische Hintergrund des Studienkollektivs, die Mindestanzahl an RSA pro Patientin (RSA\_2/RSA\_3), Zeitpunkt des Abortgeschehens (1. und/oder 2. Trimester; 2. und/oder 3. Trimester; die Klassifizierung des Aborts als Spätabort oder Totgeburt; die "odds ratio" der Ergebnisse und Markierung der signifikanten Untersuchungsergebnisse innerhalb einer Studie.

Autor	Studienpopulation	F5 1691G>A	F2 20210G>A	MTHFR 677C>T
Li, XM et al. <sup>163</sup>	n=57 RSA, idiopathic <3; ≥3 abortion) n=50 control (no abortion) all Chinese	xxx	xxx	allele frequency did differ significantly between RSA and controls*
Lissak, A et al. <sup>212</sup>	n=41 RSA_2 idiopathic (FTEL or anembryonic gestation ≤16 GW) n=18 control (no abortion)	xxx	xxx	RSA: 4/41 (9.7%) control: 4/18 (22.2%) all homozygous OR 0.38
Mahjoub, T et al. <sup>164</sup>	n=200 RSA_3 (early = 5-12 GW; late =13-30) n=200 control (no abortion) all Tunesian	RSA: 40/200 (20.0%)* heterozygous, 8/200 (4.0%) homozygous; control: 11/200 (5.5%) heterozygous OR 4.33 (heterozygous) OR 16.63 (homozygous)	RSA: 4/200 (2.0%) control: 9/200 (4.5%) all heterozygous OR 0.43	xxx
Makino, A et al. <sup>228</sup>	n=125 RSA_2 idiopathic (n= 85 FTEL <10 GW, n=40 STTFL_1or LFD/IUGR >20 GW n=9 preeclampsia) n=76 control (no abortion) all Japanese	xxx	xxx	RSA: 14/125 (11.2%) FTEL: 10/85 (11.8%) STTFL: 4/40 (10.0%) control: 15/76 (19.7%)* OR 0.51
Many, A et al. <sup>229</sup>	n=40 LFD (≥27th week) idiopathic n=80 control (no abortion)	LFD: 3/40 (7.5%) control: 3/80 (3.8%) all heterozygous OR 1.5	LFD: 5/40 (12.5%)* control: 2/80 (2.5%) all heterozygous OR 2.3	LFD: 6/40 (15%) control: 7/80 (8.7%) all homozygous OR 1.5
Martinelli, I et al. <sup>165</sup>	n=67 LFD >20 GW idiopathic n=232 control (no LFD) all Caucasian	RSA: 5/67 (7%)* control: 6/232 (3%) OR 3.04	RSA: 6/67 (9%)* control: 7/232 (3%) OR 3.16	RSA: 9/67 (13%) control: 46/232 (20%) OR 0.63

**Legende:** RSA\_2 = mind. 2 rezidivierende Spontanaborte (RSA); RSA\_3 = mind. 3 RSA; FVL = 1691G>A-Mutation im F5-Gen; FII = 20210G>A-Mutation im F2-Gen; MTHFR = 677C>T-Mutation im MTHFR-Gen; FTEL = Abort im 1. Trimester; STTFL = Abort im 2. und 3. Trimester; FSTFL = Abort im 1. und 2. Trimester; STFL = Abort im 2. Trimester; TTFL = Abort im 3. Trimester; LFL = Spätabort; LFD = Totgeburt; GW = Gestationswoche; SP = erfolgreich ausgetragene Schwangerschaft; \* = signifikant  $p < 0.05$ ; n = Anzahl; xxx = nicht untersucht; OR = "odds ratio"; Darstellung und Vergleich der aktuellen Literatur zum Thema RSA und hereditäre Thrombophilien (Mutation im F5-, F2-, MTHFR-Gen) anhand von ausgewählten Kriterien und verfügbar: der Erstautor der Veröffentlichung, die Anzahl (n) der Studienteilnehmer gesamt, das prozentuale Verhältnis der Mutationsträger zum Gesamtkollektiv im RSA- und im Kontrollkollektiv pro untersuchter Mutation, der ethnische Hintergrund des Studienkollektivs, die Mindestanzahl an RSA pro Patientin (RSA\_2/RSA\_3), Zeitpunkt des Abortgeschehens (1. und/oder 2. Trimester; 2. und/oder 3. Trimester; die Klassifizierung des Aborts als Spätabort oder Totgeburt; die "odds ratio" der Ergebnisse und Markierung der signifikanten Untersuchungsergebnisse innerhalb einer Studie.



Autor	Studienpopulation	F5 1691G>A	F2 20210G>A	MTHFR 677C>T
Martinelli, I et al. <sup>230</sup>	n=82 LFD > 20th week (n=7 (8.5%) recurrent LFD n=75 (91.5%) single LFD) no control	recurrent LFD: 2/7 (28.6%) single LFD: 6/75 (8%) all heterozygous OR 4.6	recurrent LFD: 0/7 single LFD: 7/75 (9.3%) all heterozygous OR 0.78	xxx
Metz, J et al. <sup>231</sup>	n= 100 RSA_3 n= 100 control	RSA: 6/100 (6%) control: 3/85 (3.5%) OR 1.71	xxx	xxx
Mtiraoui, N et al. <sup>166</sup>	n=146 RSA_3 idiopathic (early = 5-12 GW; late= 13-30 GW) n=99 control (no abortion) all Tunisian	RSA: 24/146 (16.4%)* heterozygous, 6/146 (4.1%) homozygous control: 6/99 (6.06%), heterozygous OR 3.05 (heterozygous) OR 8.44 (homozygous)	RSA: 4/146 (2.74%) control: 4/99 (4.04%) all heterozygous OR 0.67	xxx
Mtiraoui, N et al. <sup>232</sup>	n=200 RSA_3 idiopathic (late+early late) n=200 control all Tunisian	xxx	xxx	RSA: 61/200* (30%) control: 14/200 (7%) all homozygous OR 5.83
Murphy, RP et al.	n=41 RSA_2 idiopathic ("any point of pregnancy") n=540 control	RSA: 2/41 (4.9%) control: 13/540 (2.4%) all heterozygous OR 2.08	xxx	RSA: 3/40 (7.5%) control: 56/540 (10.4%) all homozygous OR 0.7
Nelen, W et al. <sup>168</sup>	n=185 RSA_2 idiopathic (<17 GW) n=113 control (no abortion)	xxx	xxx	RSA: 29/185 (16%)* control: 6/113 (5%) all homozygous OR 3.32
Onderoglu, L et al. <sup>169</sup>	n=101 RSA n=102 control	allele frequency did differ significantly between RSA and controls*	allele frequency did differ significantly between RSA and controls*	xxx

**Legende:** RSA\_2 = mind. 2 rezidivierende Spontanaborte (RSA); RSA\_3 = mind. 3 RSA; FVL = 1691G>A-Mutation im F5-Gen; FII = 20210G>A-Mutation im F2-Gen; MTHFR = 677C>T-Mutation im MTHFR-Gen; FTEL = Abort im 1. Trimester; STTFL = Abort im 2. und 3. Trimester; FSTFL = Abort im 1. und 2. Trimester; STFL = Abort im 2. Trimester; TTFL = Abort im 3. Trimester; LFL = Spätabort; LFD = Totgeburt; GW = Gestationswoche; SP = erfolgreich ausgetragene Schwangerschaft; \* = signifikant  $p < 0.05$ ; n = Anzahl; xxx = nicht untersucht; OR = "odds ratio"; Darstellung und Vergleich der aktuellen Literatur zum Thema RSA und hereditäre Thrombophilien (Mutation im F5-, F2-, MTHFR-Gen) anhand von ausgewählten Kriterien und verfügbar: der Erstautor der Veröffentlichung, die Anzahl (n) der Studienteilnehmer gesamt, das prozentuale Verhältnis der Mutationsträger zum Gesamtkollektiv im RSA- und im Kontrollkollektiv pro untersuchter Mutation, der ethnische Hintergrund des Studienkollektivs, die Mindestanzahl an RSA pro Patientin (RSA\_2/RSA\_3), Zeitpunkt des Abortgeschehens (1. und/oder 2. Trimester; 2. und/oder 3. Trimester; die Klassifizierung des Aborts als Spätabort oder Totgeburt; die "odds ratio" der Ergebnisse und Markierung der signifikanten Untersuchungsergebnisse innerhalb einer Studie.

Autor	Studienpopulation	F5 1691G>A	F2 20210G>A	MTHFR 677C>T
Pauer, H et al. <sup>119</sup>	n=101 RSA_2 (FTEL_2 <12 GW; LFL_1 ≥12 GW) n=122 control (no abortion) all German	RSA: 11/101, heterozygous (10.8%); 1/101 (1%) homozygous control: 9/122 (7.4%) heterozygous OR 1.53 (heterozygous) OR 2.43(homozygous)	RSA: 2/101 (2.0%) control: 3/122 (2.5%) all heterozygous OR 0.8	RSA: 15/101 (14.9%) homozygous control: 15/122 (12.3%) homozygous OR 1.26
Pickering, W et al. <sup>206</sup>	n=122 RSA_3 (FTEL ≤12 GW and/or LFL > 12 GW) n=66 control (no abortion)	xxx	RSA: 4/122 (3.3%) control: 3/66(4.5%) heterozygous OR 0.71	xxx
Pihusch, R et al. <sup>153</sup>	n=102 RSA_2 (≤25 GW) n=128 control (no abortion)	RSA: 8/102 (7.9%) control: 11/128 (8.6%) all heterozygous OR 0.91	RSA: 5/102 (4.9%) (significantly more FTEL: 6.7% vs. 0.8%, OR 8.5*) control: 1/128 (0.8%) all heterozygous OR 6.55	RSA: 14/102 (13.7%) control: 12/128 (9.4%) all homozygous OR 1.54
Quere, I et al. <sup>233</sup>	n=100 RSA_3 idiopathic (FTEL) n=100 control (no abortion)	xxx	xxx	RSA: 20/100 (20%) control: 14/100 (14%) all homozygous OR 1.54
Rai, R et al. <sup>117</sup>	n=1111 RSA (n=904 FTEL_3; n=207 STTFL_1) n=150 control (no abortion) all Caucasian	FTEL: 30/904 (3.3%) (29 heterozygous, 1 homozygous) STTFL: 8/207 (3.9%) (7 heterozygous, 1 homozygous) control: 6/150 (4%) heterozygous FTEL OR 0.83; STTFL OR 0.96	xxx	xxx

**Legende:** RSA\_2 = mind. 2 rezidivierende Spontanaborte (RSA); RSA\_3 = mind. 3 RSA; FVL = 1691G>A-Mutation im F5-Gen; FII = 20210G>A-Mutation im F2-Gen; MTHFR = 677C>T-Mutation im MTHFR-Gen; FTEL = Abort im 1. Trimester; STTFL = Abort im 2. und 3. Trimester; FSTFL = Abort im 1. und 2. Trimester; STFL = Abort im 2. Trimester; TTFL = Abort im 3. Trimester; LFL = Spätabort; LFD = Totgeburt; GW = Gestationswoche; SP = erfolgreich ausgetragene Schwangerschaft; \* = signifikant  $p < 0.05$ ; n = Anzahl; xxx = nicht untersucht; OR = "odds ratio"; Darstellung und Vergleich der aktuellen Literatur zum Thema RSA und hereditäre Thrombophilien (Mutation im F5-, F2-, MTHFR-Gen) anhand von ausgewählten Kriterien und verfügbar: der Erstautor der Veröffentlichung, die Anzahl (n) der Studienteilnehmer gesamt, das prozentuale Verhältnis der Mutationsträger zum Gesamtkollektiv im RSA- und im Kontrollkollektiv pro untersuchter Mutation, der ethnische Hintergrund des Studienkollektivs, die Mindestanzahl an RSA pro Patientin (RSA\_2/RSA\_3), Zeitpunkt des Abortgeschehens (1. und/oder 2. Trimester; 2. und/oder 3. Trimester; die Klassifizierung des Aborts als Spätabort oder Totgeburt; die "odds ratio" der Ergebnisse und Markierung der signifikanten Untersuchungsergebnisse innerhalb einer Studie.

Autor	Studienpopulation	F5 1691G>A	F2 20210G>A	MTHFR 677C>T
Raziel, A et al. <sup>213</sup>	n=36 RSA_3 FSFTL) n=40 control (no abortion) all Jewish	RSA: 6/36 (16.7%) control: 2/40 (5%) OR 3.8	RSA: 2/36 (5.5%) control: 1/40 (2%) all heterozygous OR 2.3	RSA: 6/36 (16%) homozygous (controls were not tested)
Reznikoff-Etiévant, M et al. <sup>170</sup>	n=260 RSA_2 (FTEL <10 GW) n= 240 control	RSA: 26/260 (10.0%)* heterozygous 1/260 homozygous (0.4%) control: 11/240 (4.6%) heterozygous OR 2.4	RSA: 20/260 (7.69%)* control: 7/240 (2.9%) all heterozygous OR 2.77	xxx
Ridker, P et al. <sup>234</sup>	n=113 RSA_3 (<24 GW) n=437 control (no abortion, postmenopausal)	RSA: 9/113 (8.0%) heterozygous ≥3 abortions, 0 SP: 6/67 (9.0%);OR 2.6)* ≥3 abortions, ≥1 SP: 2/46 (4.3%);OR 1.2) control: 16/437 (3.7%) heterozygous OR 2.28	xxx	xxx
Sarig, G et al. <sup>235</sup>	n=145 RSA idiopathic (FTEL_3: ≤12th week; STFL_2: 13-24th week; LFD_1> 24th week) n=145 control (≤1 loss)	RSA: 36/145 (25%)* control: 11/145 (7.6%) all heterozygous or homozygous OR 4.0	RSA: 8/145 (5%) control: 11/145 (7.6%) all heterozygous or homozygous OR 0.71	RSA: 17/145 (12%) control: 19/145 (13%) all homozygous OR 0.9
Sehrali, S et al. <sup>156</sup>	n=55 RSA_3 n=49 control all Mediterranean	xxx	RSA: 6/55 (10.9%)* control: 1/49 (2.04%) all heterozygous OR 5.88	xxx
Sotiriadis, A et al. <sup>236</sup>	n=99 RSA_2(< 15th week) n=102 control (no abortion) all Caucasian Mediterranean	RSA: 5/99 (5%) control: 3/102 (2.9%) all heterozygous OR 1.75	RSA: 5/99 (5%) control: 2/101 (2%) all heterozygous OR 2.63	RSA: 12/97 (12.4%) control: 13/102 (12.6%) all homozygous OR 0.97

**Legende:** RSA\_2 = mind. 2 rezidivierende Spontanaborte (RSA); RSA\_3 = mind. 3 RSA; FVL = 1691G>A-Mutation im F5-Gen; FII = 20210G>A-Mutation im F2-Gen; MTHFR = 677C>T-Mutation im MTHFR-Gen; FTEL = Abort im 1. Trimester; STTFL = Abort im 2. und 3. Trimester; FSTFL = Abort im 1. und 2. Trimester; STFL = Abort im 2. Trimester; TTFL = Abort im 3. Trimester; LFL = Spätabort; LFD = Totgeburt; GW = Gestationswoche; SP = erfolgreich ausgetragene Schwangerschaft; \* = signifikant  $p < 0.05$ ; n = Anzahl; xxx = nicht untersucht; OR = "odds ratio"; Darstellung und Vergleich der aktuellen Literatur zum Thema RSA und hereditäre Thrombophilien (Mutation im F5-, F2-, MTHFR-Gen) anhand von ausgewählten Kriterien und verfügbar: der Erstautor der Veröffentlichung, die Anzahl (n) der Studienteilnehmer gesamt, das prozentuale Verhältnis der Mutationsträger zum Gesamtkollektiv im RSA- und im Kontrollkollektiv pro untersuchter Mutation, der ethnische Hintergrund des Studienkollektivs, die Mindestanzahl an RSA pro Patientin (RSA\_2/RSA\_3), Zeitpunkt des Abortgeschehens (1. und/oder 2. Trimester; 2. und/oder 3. Trimester; die Klassifizierung des Aborts als Spätabort oder Totgeburt; die "odds ratio" der Ergebnisse und Markierung der signifikanten Untersuchungsergebnisse innerhalb einer Studie.

Autor	Studienpopulation	F5 1691G>A	F2 20210G>A	MTHFR 677C>T
Sottilotta, G et al. <sup>171</sup>	n=102 (n=55 RSA (10-20 GW) n=47 stillbirth $\geq$ 20 GW) n=217 control (no abortions) Caucasian/Italien	RSA: 5/55 (9.1%) Stillbirth 11/47 (23.4%)* control: 7/217 (3.2%) all heterozygous OR 3.0	RSA: 5/55 (9.1%) Stillbirth 9/47 (19.1%)* control: 6/217 (2.8%) heterozygous OR 3.52	xxx
Souza, S et al. <sup>172</sup>	n=56 RSA_3 ( $<$ 20 GW) n=384 control all Brazilian	RSA: 4/56 (7.1%)* control: 6/384 (1.6%) all heterozygous OR 4.85	RSA: 2/56 (3.6%)* control: 4/384 (1.1%) all heterozygous OR 3.52	xxx
Tal, J et al. <sup>237</sup>	n=125 RSA_1 idiopathic (FSTFL) n=125 control (no abortion)	RSA: 18/125 (14,4%)* control: 7/125 (5.6%) all heterozygous OR 2.84	xxx	xxx
Unfried, G et al. <sup>173</sup>	n=133 RSA_3 idiopathic ( $<$ 20 GW) n=74 control (no abortion, postmenopausal) all Middle-European white	xxx	xxx	RSA: 23/133 (17.3%)* control: 4/74 (5.4%) all homozygous OR 3.66
Wang, XP et al. <sup>174</sup>	n=148 RSA idiopathic n=82 control all Chinese	xxx	xxx	RSA: 20/148* (13.6%) control: 5/82 (6.1%) all homozygous OR 2.41
Wolf, C et al. <sup>175</sup>	n=49 RSA_2 idiopathic (FTEL $<$ 12 GW) n=102 control (no abortion)	RSA: 5/49 (10%)* control: 2/102 (2%) all heterozygous OR 5.68	RSA: 0/49 (0.0%) control: 2/102 (2%) all heterozygous OR 0.12	xxx

**Legende:** RSA\_2 = mind. 2 rezidivierende Spontanaborte (RSA); RSA\_3 = mind. 3 RSA; FVL = 1691G>A-Mutation im F5-Gen; FII = 20210G>A-Mutation im F2-Gen; MTHFR = 677C>T-Mutation im MTHFR-Gen; FTEL = Abort im 1. Trimester; STTFL = Abort im 2. und 3. Trimester; FSTFL = Abort im 1. und 2. Trimester; STFL = Abort im 2. Trimester; TTFL = Abort im 3. Trimester; LFL = Spätabort; LFD = Totgeburt; GW = Gestationswoche; SP = erfolgreich ausgetragene Schwangerschaft; \* = signifikant  $p < 0.05$ ; n = Anzahl; xxx = nicht untersucht; OR = "odds ratio"; Darstellung und Vergleich der aktuellen Literatur zum Thema RSA und hereditäre Thrombophilien (Mutation im F5-, F2-, MTHFR-Gen) anhand von ausgewählten Kriterien und verfügbar: der Erstautor der Veröffentlichung, die Anzahl (n) der Studienteilnehmer gesamt, das prozentuale Verhältnis der Mutationsträger zum Gesamtkollektiv im RSA- und im Kontrollkollektiv pro untersuchter Mutation, der ethnische Hintergrund des Studienkollektivs, die Mindestanzahl an RSA pro Patientin (RSA\_2/RSA\_3), Zeitpunkt des Abortgeschehens (1. und/oder 2. Trimester; 2. und/oder 3. Trimester; die Klassifizierung des Aborts als Spätabort oder Totgeburt; die "odds ratio" der Ergebnisse und Markierung der signifikanten Untersuchungsergebnisse innerhalb einer Studie.

Autor	Studienpopulation	F5 1691G>A	F2 20210G>A	MTHFR 677C>T
Wramsby, M et al. <sup>176</sup>	n=84 RSA_3 ( $\leq$ 22 GW) n=69 control (no abortion)	RSA: 10/62 (16.1%)* heterozygous 1/62 (1.6%) homozygous control: 2/69 (2.9%) heterozygous OR 6.4 (heterozygous) OR 2.2 (homozygous)	RSA: 3/62 (4.8%), 2/62 (3.2%) heterozygous, 1/62 (1.6%) homozygous control: 3/69 (4.3%) heterozygous OR 0.73	RSA: 3/62 (4.8%) control: 7/69 (10.1%) all homozygous OR 0.45
Younis, JS et al. <sup>177</sup>	n=78 RSA_2 (n= 37 FTEL, n= 41 FSTFL) n= 139 control (no abortion)	RSA: 15/78 (19%)* FTEL: 6/37 (16%)* FSTFL: 9/41(22%)* control: 8/139 (6%) all heterozygous OR 3.9	xxx	xxx
Yusoff, N et al.	n=46 RSA_3 (FSTFL) n=46 control (no abortion) all Malaysian	RSA: 0/46 control: 0/46	xxx	xxx
Zammiti, W et al.	n=348 RSA_ n=203 control all Tunisian	RSA: 68/348 (19.4%)* heterozygous, 15/348 (4.3%) homozygous control: 11/203 (5,5%) heterozygous OR 4.38 (heterozygous) OR 87 (homozygous)	xxx	xxx

**Legende:** RSA\_2 = mind. 2 rezidivierende Spontanaborte (RSA); RSA\_3 = mind. 3 RSA; FVL = 1691G>A-Mutation im F5-Gen; FII = 20210G>A-Mutation im F2-Gen; MTHFR = 677C>T-Mutation im MTHFR-Gen; FTEL = Abort im 1. Trimester; STTFL = Abort im 2. und 3. Trimester; FSTFL = Abort im 1. und 2. Trimester; STFL = Abort im 2. Trimester; TTFL = Abort im 3. Trimester; LFL = Spätabort; LFD = Totgeburt; GW = Gestationswoche; SP = erfolgreich ausgetragene Schwangerschaft; \* = signifikant  $p < 0.05$ ; n = Anzahl; xxx = nicht untersucht; OR = "odds ratio"; Darstellung und Vergleich der aktuellen Literatur zum Thema RSA und hereditäre Thrombophilien (Mutation im F5-, F2-, MTHFR-Gen) anhand von ausgewählten Kriterien und verfügbar: der Erstautor der Veröffentlichung, die Anzahl (n) der Studienteilnehmer gesamt, das prozentuale Verhältnis der Mutationsträger zum Gesamtkollektiv im RSA- und im Kontrollkollektiv pro untersuchter Mutation, der ethnische Hintergrund des Studienkollektivs, die Mindestanzahl an RSA pro Patientin (RSA\_2/RSA\_3), Zeitpunkt des Abortgeschehens (1. und/oder 2. Trimester; 2. und/oder 3. Trimester; die Klassifizierung des Aborts als Spätabort oder Totgeburt; die "odds ratio" der Ergebnisse und Markierung der signifikanten Untersuchungsergebnisse innerhalb einer Studie.

## 8. Danksagung

Herrn Prof. Dr. Klaus Frieze danke ich sehr herzlich, dass ich die vorliegende Arbeit an der Frauenklinik im Klinikum Großhadern der Ludwig-Maximilians-Universität München durchführen durfte.

Ich danke Herrn Prof. Thaler für die stete Betreuung und Förderung meiner wissenschaftlichen Tätigkeit mit essenziellen Hinweisen und Anregungen.

Frau Dr. Bettina Toth danke ich sehr für die Überlassung des Dissertationsthemas und die kontinuierliche und engagierte Betreuung.

Mein besonderer Dank geht an Herrn Prof. Dr. Peter Lohse und seine höchst engagierten Mitarbeiterinnen aus dem molekularbiologischen Labor des Instituts für Klinische Chemie des Klinikums Großhadern, München. Dank ihrer unermüdlichen Unterstützung und wertvollen Hilfestellungen haben sie wesentlich zu dieser Arbeit beigetragen.

Des Weiteren danke ich Frau Dr. Nina Rogenhofer für die Bereitstellung vieler wichtiger Patientendaten aus der RSA-Sprechstunde.

Auch danke ich den zahlreichen Studienteilnehmer/Innen, ohne die eine wissenschaftliche Arbeit undenkbar gewesen wäre.

Nicht zuletzt bedanke ich mich bei meiner Familie, meinem Freund und all denjenigen, die mich geduldig und verständnisvoll unterstützt haben.

## 9. Lebenslauf

### Ausbildung:

- 10/02 - 10/08 Studium der Medizin an der Ludwig-Maximilians-Universität München  
 Ärztliche Vorprüfung Sommer 2004  
 Staatsexamen Herbst 2008
- 09/93 – 06/02 Luitpold- Gymnasium, München

### Praktisches Jahr:

- 03/08 – 07/08 Klinikum Starnberg, Innere Medizin und Intensivmedizin, Starnberg
- 12/07 – 03/08 Ospedale Sant`Orsola Malpighi, Allgemeine Chirurgie, Bologna  
 Stipendium des DAAD
- 08/07 – 12/07 Klinikum Großhadern, Klinik und Poliklinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe, München

### Famulaturen:

- 08/06 David Geffen School of Medicine at UCLA, Nuklearmedizin, Los Angeles, USA
- 02/06 Victoria Hospital, Anästhesie und Intensivmedizin, Mahé, Seychellen
- 09/05 Ospedale San Giovanni Calibita, Fatebenefratelli dell`Isola Tiberina, Anästhesie und Geburtshilfe Rom, Italien
- 03/05 Gynäkologische Gemeinschaftspraxis Dr. von Schacky und Dr. Freitag, München

### Publikationen und wissenschaftliche Beiträge:

- 10/08 Toth B\*, Vocke F\*, Rogenhofer N, Friese K, Thaler CJ, Lohse P  
 „Paternal thrombophilic gene mutations are not associated with recurrent miscarriage“  
 Am. J. Reprod. Immunol. 2008; 60 (4): 325-332  
 \*both authors contributed equally.
- 09/08 Deutscher Gynäkologenkongress, Hamburg  
 Posterpräsentation
- 05/08 Bayerischer Gynäkologenkongress, Augsburg  
 Vortrag: „Paternale Thrombophilien ohne Einfluss auf rezidivierende Spontanaborte“, ausgezeichnet als einer der „10 besten wissenschaftlichen Beiträge“
- 12/07 Gynäkologisches Morgensymposium, Klinikum Großhadern, München
- 10/07 7. Treffen des Arbeitskreises „Molekulargenetik der DGGEF“ Münster,  
 Vortrag: „Hereditäre Thrombophilien bei Paaren mit rezidivierenden Spontanaborten“

## 10. Literaturverzeichnis

1. Zinaman MJ, Clegg ED, Brown CC, O'Connor J, Selevan SG. Estimates of human fertility and pregnancy loss. *Fertil Steril.* 1996 Mar;65(3):503-9.
2. Edmonds DK, Lindsay KS, Miller JF, Williamson E, Wood PJ. Early embryonic mortality in women. *Fertil Steril.* 1982 Oct;38(4):447-53.
3. Wilcox AJ, Weinberg CR, O'Connor JF, et al. Incidence of early loss of pregnancy. *N Engl J Med.* 1988 Jul 28;319(4):189-94.
4. Ulert B. "Gynäkologie und Geburtshilfe compact" Alles für Station, Praxis und Facharztprüfung. Volume 3. Auflage: Thieme; 2006.
5. Miller JF, Williamson E, Glue J, Gordon YB, Grudzinskas JG, Sykes A. Fetal loss after implantation. A prospective study. *Lancet.* 1980 Sep 13;2(8194):554-6.
6. Feige A RA, Würfel W, Jawny J, Caffier H. *Frauenheilkunde.*: Urban&Fischer; 2001.
7. Blumenfeld Z, Brenner B. Thrombophilia-associated pregnancy wastage. *Fertil Steril.* 1999 Nov;72(5):765-74.
8. Carrington B, Sacks G, Regan L. Recurrent miscarriage: pathophysiology and outcome. *Curr Opin Obstet Gynecol.* 2005 Dec;17(6):591-7.
9. Stirrat GM. Recurrent miscarriage. II: Clinical associations, causes, and management. *Lancet.* 1990 Sep 22;336(8717):728-33.
10. Heilmann L DJ, Ludwig M, Mallmann P, Tempfer C, Thaler CJ, con Wolff M, Würfel W. Deutsche Gesellschaft für Gynäkologie und Geburtshilfe e. V. Leitlinien, Empfehlungen, Stellungnahmen "Diagnostik und Therapie beim wiederholten Spontanabort": Deutsche Gesellschaft für Gynäkologie und Geburtshilfe e. V. (DGGG) Arbeitsgemeinschaft Immunologie in Gynäkologie und Geburtshilfe (AGIM), 2008. 1-13 p.
11. Knudsen UB, Hansen V, Juul S, Secher NJ. Prognosis of a new pregnancy following previous spontaneous abortions. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 1991 Mar 21;39(1):31-6.
12. Kiproff DD, Nachtigall RD, Weaver RC, Jacobson A, Main EK, Garovoy MR. The use of intravenous immunoglobulin in recurrent pregnancy loss associated with combined alloimmune and autoimmune abnormalities. *Am J Reprod Immunol.* 1996 Oct;36(4):228-34.
13. Carp H, Dolitzky M, Inbal A. Thromboprophylaxis improves the live birth rate in women with consecutive recurrent miscarriages and hereditary thrombophilia. *J Thromb Haemost.* 2003 Mar;1(3):433-8.
14. von Wolff M, Strowitzki, T. Habituelle Aborte- ein multifaktorielles Krankheitsbild. *Gynäkologische Endokrinologie.* 2005;3:7-17.
15. Netter F. *Netters Gynäkologie.* 6. Auflage ed: Thieme; 2006.
16. Berle P. Spontanaborte in der Frühgravidität. *Gynäkologie.* 1988;21:93-8.
17. Strowitzki T. *Ungewollte Kinderlosigkeit.* Fischer; 1996.
18. Balasch J, Reverter JC, Fabregues F, et al. First-trimester repeated abortion is not associated with activated protein C resistance. *Hum Reprod.* 1997 May;12(5):1094-7.
19. Steck T BS, Marzusch K. Strategien zur Abortprophylaxe bei einer Vorgeschichte mit wiederholten Aborten. *Fertilität.* 1977;13:7-13.
20. Katz VL, Kuller JA. Recurrent miscarriage. *Am J Perinatol.* 1994 Nov;11(6):386-97.
21. Li TC, Makris M, Tomsu M, Tuckerman E, Laird S. Recurrent miscarriage: aetiology, management and prognosis. *Hum Reprod Update.* 2002 Sep-Oct;8(5):463-81.
22. Pandey MK, Rani R, Agrawal S. An update in recurrent spontaneous abortion. *Arch Gynecol Obstet.* 2005 Jul;272(2):95-108.
23. Rai R, Regan L. Recurrent miscarriage. *Lancet.* 2006 Aug 12;368(9535):601-11.
24. Nybo Andersen AM, Wohlfahrt J, Christens P, Olsen J, Melbye M. Maternal age and fetal loss: population based register linkage study. *BMJ.* 2000 Jun 24;320(7251):1708-12.



25. Nohr EA, Bech BH, Vaeth M, Rasmussen KM, Henriksen TB, Olsen J. Obesity, gestational weight gain and preterm birth: a study within the Danish National Birth Cohort. *Paediatr Perinat Epidemiol.* 2007 Jan;21(1):5-14.
26. Regan L, Rai R. Epidemiology and the medical causes of miscarriage. *Baillieres Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* 2000 Oct;14(5):839-54.
27. Bulletti C, Flamigni C, Giacomucci E. Reproductive failure due to spontaneous abortion and recurrent miscarriage. *Hum Reprod Update.* 1996 Mar-Apr;2(2):118-36.
28. Buchholz T, Lohse P, Rogenhofer N, Kosian E, Pihusch R, Thaler CJ. Polymorphisms in the ACE and PAI-1 genes are associated with recurrent spontaneous miscarriages. *Hum Reprod.* 2003 Nov;18(11):2473-7.
29. Azzis R. *Obstetrics and Gynecology; Cases, Questions and Answers;* 1988.
30. Steck T, Bussen S, Marzusch K. Strategien zur Abortprophylaxe bei einer Vorgeschichte mit wiederholten Aborten I. *Epidemiologie, genetische und anatomische Abortursachen. Fertilität.* 1997;13:7-16.
31. Heilmann L DJ, Ludwig M, Mallmann P, Tempfer C, Thaler CJ, von Wolff M. Stellungnahme zur Diagnostik und Therapie des wiederholten Spontanabortes (WSA). *Deutsche Gesellschaft für Gynäkologie und Geburtshilfe der DGGG und DGGEF.* 2006;AWMF 015/050.
32. Lidegaard O. [Cervical insufficiency and cerclage in Denmark 1980-1990. A registry-based epidemiological study]. *Ugeskr Laeger.* 1994 Nov 28;156(48):7200-2.
33. March C. Cervical incompetence. *Fertil News.* 1995;29:15-20.
34. Tharapel AT, Tharapel SA, Bannerman RM. Recurrent pregnancy losses and parental chromosome abnormalities: a review. *Br J Obstet Gynaecol.* 1985 Sep;92(9):899-914.
35. Kiefer D, Check JH, Katsoff D. Evidence that oligoasthenozoospermia may be an etiologic factor for spontaneous abortion after in vitro fertilization-embryo transfer. *Fertil Steril.* 1997 Sep;68(3):545-8.
36. Carrell DT, Wilcox AL, Lowy L, et al. Elevated sperm chromosome aneuploidy and apoptosis in patients with unexplained recurrent pregnancy loss. *Obstet Gynecol.* 2003 Jun;101(6):1229-35.
37. Carrell DT, Liu L, Peterson CM, et al. Sperm DNA fragmentation is increased in couples with unexplained recurrent pregnancy loss. *Arch Androl.* 2003 Jan-Feb;49(1):49-55.
38. Roberts CP, Murphy AA. Endocrinopathies associated with recurrent pregnancy loss. *Semin Reprod Med.* 2000;18(4):357-62.
39. Abalovich M, Mitelberg L, Allami C, et al. Subclinical hypothyroidism and thyroid autoimmunity in women with infertility. *Gynecol Endocrinol.* 2007 May;23(5):279-83.
40. Moltz L TM, Buspink G, Leidenberger F. Rational hormonal diagnosis of secondary amenorrhea. *Geburtshilfe und Frauenheilkunde.* 1987;47(4):228-39.
41. Gerhard I, Becker T, Eggert-Kruse W, Klinga K, Runnebaum B. Thyroid and ovarian function in infertile women. *Hum Reprod.* 1991 Mar;6(3):338-45.
42. Ludwig M SH. Schilddrüse bei unerfülltem Kinderwunsch, in Schwangerschaft und Stillzeit. *Gynäkologische Endokrinologie.* 2005;1(3):45-54.
43. Potter JD. Hypothyroidism and reproductive failure. *Surg Gynecol Obstet.* 1980 Feb;150(2):251-5.
44. Hirahara F, Andoh N, Sawai K, Hirabuki T, Uemura T, Minaguchi H. Hyperprolactinemic recurrent miscarriage and results of randomized bromocriptine treatment trials. *Fertil Steril.* 1998 Aug;70(2):246-52.
45. Greene MF. Spontaneous abortions and major malformations in women with diabetes mellitus. *Semin Reprod Endocrinol.* 1999;17(2):127-36.
46. Li TC, Iqbal T, Anstie B, et al. An analysis of the pattern of pregnancy loss in women with recurrent miscarriage. *Fertil Steril.* 2002 Nov;78(5):1100-6.

47. McNeely MJ, Soules MR. The diagnosis of luteal phase deficiency: a critical review. *Fertil Steril*. 1988 Jul;50(1):1-15.
48. Tulppala M, Stenman UH, Cacciato B, Ylikorkala O. Polycystic ovaries and levels of gonadotrophins and androgens in recurrent miscarriage: prospective study in 50 women. *Br J Obstet Gynaecol*. 1993 Apr;100(4):348-52.
49. Clifford K, Rai R, Watson H, Regan L. An informative protocol for the investigation of recurrent miscarriage: preliminary experience of 500 consecutive cases. *Hum Reprod*. 1994 Jul;9(7):1328-32.
50. Liddell HS, Sowden K, Farquhar CM. Recurrent miscarriage: screening for polycystic ovaries and subsequent pregnancy outcome. *Aust N Z J Obstet Gynaecol*. 1997 Nov;37(4):402-6.
51. Rai R, Backos M, Rushworth F, Regan L. Polycystic ovaries and recurrent miscarriage--a reappraisal. *Hum Reprod*. 2000 Mar;15(3):612-5.
52. Jakubowicz DJ, Iuorno MJ, Jakubowicz S, Roberts KA, Nestler JE. Effects of metformin on early pregnancy loss in the polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab*. 2002 Feb;87(2):524-9.
53. Schäfer-Graf U, Kleinwechter, H. Wie vorgehen bei PCOS und Kinderwunsch? *Frauenarzt*. 2007;48:676-7.
54. Clark DA, Coulam CB, Daya S, Chaouat G. Unexplained sporadic and recurrent miscarriage in the new millennium: a critical analysis of immune mechanisms and treatments. *Hum Reprod Update*. 2001 Sep-Oct;7(5):501-11.
55. Zenclussen AC, Gentile T, Kortebani G, Mazzolli A, Margni R. Asymmetric antibodies and pregnancy. *Am J Reprod Immunol*. 2001 May;45(5):289-94.
56. Gerhard I, Kiechle, M. . Fortpflanzungsmedizin/ Habituelle Aborte/Immunologische Ursachen. 1. ed: Kiechle, Marion; 2006.
57. Rogenhofer N, Assef, R., Fileki, M., Friese, K., Thaler, CJ. Durchflusszytometrischer Nachweis von non-HLA-Antikörpern bei Patientinnen mit rezidivierenden Spontanabortenunter Verwendung der Chorioncarinom-Zelllinie JEG 3. *Geburtshilfe und Frauenheilkunde*. 2006;678 (S1-S200).
58. Eblen AC, Gercel-Taylor C, Shields LB, Sanfilippo JS, Nakajima ST, Taylor DD. Alterations in humoral immune responses associated with recurrent pregnancy loss. *Fertil Steril*. 2000 Feb;73(2):305-13.
59. Emmer PM, Nelen WL, Steegers EA, Hendriks JC, Veerhoek M, Joosten I. Peripheral natural killer cytotoxicity and CD56(pos)CD16(pos) cells increase during early pregnancy in women with a history of recurrent spontaneous abortion. *Hum Reprod*. 2000 May;15(5):1163-9.
60. Aoki K, Kajiura S, Matsumoto Y, et al. Preconceptional natural-killer-cell activity as a predictor of miscarriage. *Lancet*. 1995 May 27;345(8961):1340-2.
61. Coulam CB, Goodman C, Roussev RG, Thomason EJ, Beaman KD. Systemic CD56+ cells can predict pregnancy outcome. *Am J Reprod Immunol*. 1995 Jan;33(1):40-6.
62. Stricker RB, Steinleitner A, Bookoff CN, Weckstein LN, Winger EE. Successful treatment of immunologic abortion with low-dose intravenous immunoglobulin. *Fertil Steril*. 2000 Mar;73(3):536-40.
63. Stricker RB, Winger EE. Update on treatment of immunologic abortion with low-dose intravenous immunoglobulin. *Am J Reprod Immunol*. 2005 Dec;54(6):390-6.
64. Somigliana E, Vigano P, Vignali M. Endometriosis and unexplained recurrent spontaneous abortion: pathological states resulting from aberrant modulation of natural killer cell function? *Hum Reprod Update*. 1999 Jan-Feb;5(1):40-51.
65. Steck T, Bussen, S., Marzusch, K. Strategien zur Abortprophylaxe bei einer Vorgeschichte mit wiederholten Aborten. II. Infektionen, metabolische und endokrinologische Störungen, Schadstoffe und Gerinnungsdefekte. *Fertilität*. 1997;13:17-26.
66. Menge S M-LC, Keck C, Tempfer C. Habituellem Abort - ein aktueller Überblick über Ursachen und therapeutische Möglichkeiten *Geburtshilfe und Frauenheilkunde*. 2004;64:574- 83.

67. Brigham SA, Conlon C, Farquharson RG. A longitudinal study of pregnancy outcome following idiopathic recurrent miscarriage. *Hum Reprod.* 1999 Nov;14(11):2868-71.
68. Neugebauer R, Kline J, Shrout P, et al. Major depressive disorder in the 6 months after miscarriage. *JAMA.* 1997 Feb 5;277(5):383-8.
69. Stray-Pedersen B, Stray-Pedersen S. Etiologic factors and subsequent reproductive performance in 195 couples with a prior history of habitual abortion. *Am J Obstet Gynecol.* 1984 Jan 15;148(2):140-6.
70. Liddell HS, Pattison NS, Zanderigo A. Recurrent miscarriage--outcome after supportive care in early pregnancy. *Aust N Z J Obstet Gynaecol.* 1991 Nov;31(4):320-2.
71. Buchholz T, Thaler CJ. Inherited thrombophilia: impact on human reproduction. *Am J Reprod Immunol.* 2003 Jul;50(1):20-32.
72. Gris JC, Mercier E, Quere I, et al. Low-molecular-weight heparin versus low-dose aspirin in women with one fetal loss and a constitutional thrombophilic disorder. *Blood.* 2004 May 15;103(10):3695-9.
73. Stirling Y, Woolf L, North WR, Seghatchian MJ, Meade TW. Haemostasis in normal pregnancy. *Thromb Haemost.* 1984 Oct 31;52(2):176-82.
74. Clark P, Brennand J, Conkie JA, McCall F, Greer IA, Walker ID. Activated protein C sensitivity, protein C, protein S and coagulation in normal pregnancy. *Thromb Haemost.* 1998 Jun;79(6):1166-70.
75. von Hugo R, Theiss, W., Kuhn, W., Graeff, H. Thrombembolische Erkrankungen in der Geburtshilfe. *Gynäkologe.* 1984;17:115-23.
76. Greer IA. The challenge of thrombophilia in maternal-fetal medicine. *N Engl J Med.* 2000 Feb 10;342(6):424-5.
77. Eldor A. Thrombophilia, thrombosis and pregnancy. *Thromb Haemost.* 2001 Jul;86(1):104-11.
78. Luther B, Steinke, T., Schröders, C., Vossen, S. Thrombose und Gravidität Möglichkeiten der operativen Behandlung. *Geburtshilfe und Frauenheilkunde.* 2006 17.10.2005;66(2):128-34.
79. Mousa HA, Alfrevic Z. Thrombophilia and adverse pregnancy outcome. *Croat Med J.* 2001 Apr;42(2):135-45.
80. Kupferminc MJ, Fait G, Many A, Gordon D, Eldor A, Lessing JB. Severe preeclampsia and high frequency of genetic thrombophilic mutations. *Obstet Gynecol.* 2000 Jul;96(1):45-9.
81. Rogenhofer N, Buchholz, T., Toth, B., Thaler, CJ. Rezidivierende Spontanaborte (RSA) bei hereditärer Thrombophilie. *Gynäkologische Endokrinologie.* 2005;3:32-9.
82. Hiller E, Pihusch R. [Thrombophilia caused by congenital disorders of blood coagulation]. *Fortschr Med.* 1998 Oct 20;116(29):26-8, 30, 2 passim.
83. Marz W, Nauck M, Wieland H. The molecular mechanisms of inherited thrombophilia. *Z Kardiol.* 2000 Jul;89(7):575-86.
84. Amer L, Kisiel W, Searles RP, Williams RC, Jr. Impairment of the protein C anticoagulant pathway in a patient with systemic lupus erythematosus, anticardiolipin antibodies and thrombosis. *Thromb Res.* 1990 Jan 15;57(2):247-58.
85. Branch DW, Silver RM, Blackwell JL, Reading JC, Scott JR. Outcome of treated pregnancies in women with antiphospholipid syndrome: an update of the Utah experience. *Obstet Gynecol.* 1992 Oct;80(4):614-20.
86. Rossi E, Gatti L, Guarneri D, Finotto E, Lombardi A, Preda L. Functional protein S in women with lupus anticoagulant inhibitor. *Thromb Res.* 1992 Jan 15;65(2):253-62.
87. Braulke I, Pruggmayer M, Melloh P, Hinney B, Kosterling H, Gunther E. Factor XII (Hageman) deficiency in women with habitual abortion: new subpopulation of recurrent aborters? *Fertil Steril.* 1993 Jan;59(1):98-101.
88. Brenner B, Mandel H, Lanir N, et al. Activated protein C resistance can be associated with recurrent fetal loss. *Br J Haematol.* 1997 Jun;97(3):551-4.

89. Gerd H. *Innere Medizin/Herold*. Volume 2009. Köln; 2009.
90. Mackworth-Young C. Antiphospholipid antibodies: more than just a disease marker? *Immunol Today*. 1990 Feb;11(2):60-5.
91. Ober C, Karrison T, Harlow L, Elias S, Gleicher N. Autoantibodies and pregnancy history in a healthy population. *Am J Obstet Gynecol*. 1993 Jul;169(1):143-7.
92. Vinatier D, Dufour P, Cosson M, Houpeau JL. Antiphospholipid syndrome and recurrent miscarriages. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2001 May;96(1):37-50.
93. Heilmann L, von Tempelhoff GF, Pollow K. Antiphospholipid syndrome in obstetrics. *Clin Appl Thromb Hemost*. 2003 Apr;9(2):143-50.
94. Branch DW, Porter TF, Paidas MJ, Belfort MA, Gonik B. Obstetric uses of intravenous immunoglobulin: successes, failures, and promises. *J Allergy Clin Immunol*. 2001 Oct;108(4 Suppl):S133-8.
95. Empson M, Lassere M, Craig JC, Scott JR. Recurrent pregnancy loss with antiphospholipid antibody: a systematic review of therapeutic trials. *Obstet Gynecol*. 2002 Jan;99(1):135-44.
96. Girling J, de Swiet M. Inherited thrombophilia and pregnancy. *Curr Opin Obstet Gynecol*. 1998 Apr;10(2):135-44.
97. Kupferminc MJ, Eldor A, Steinman N, et al. Increased frequency of genetic thrombophilia in women with complications of pregnancy. *N Engl J Med*. 1999 Jan 7;340(1):9-13.
98. Kupferminc MJ, Peri H, Zwang E, Yaron Y, Wolman I, Eldor A. High prevalence of the prothrombin gene mutation in women with intrauterine growth retardation, abruptio placentae and second trimester loss. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 2000 Nov;79(11):963-7.
99. Glueck CJ, Kupferminc MJ, Fontaine RN, Wang P, Weksler BB, Eldor A. Genetic hypofibrinolysis in complicated pregnancies. *Obstet Gynecol*. 2001 Jan;97(1):44-8.
100. Adelberg AM, Kuller JA. Thrombophilias and recurrent miscarriage. *Obstet Gynecol Surv*. 2002 Oct;57(10):703-9.
101. Arias F, Romero R, Joist H, Kraus FT. Thrombophilia: a mechanism of disease in women with adverse pregnancy outcome and thrombotic lesions in the placenta. *J Matern Fetal Med*. 1998 Nov-Dec;7(6):277-86.
102. Gris JC, Quere I, Monpeyroux F, et al. Case-control study of the frequency of thrombophilic disorders in couples with late foetal loss and no thrombotic antecedent--the Nimes Obstetricians and Haematologists Study5 (NOHA5). *Thromb Haemost*. 1999 Jun;81(6):891-9.
103. Sanson BJ, Friederich PW, Simioni P, et al. The risk of abortion and stillbirth in antithrombin-, protein C-, and protein S-deficient women. *Thromb Haemost*. 1996 Mar;75(3):387-8.
104. Haverkate F, Samama M. Familial dysfibrinogenemia and thrombophilia. Report on a study of the SSC Subcommittee on Fibrinogen. *Thromb Haemost*. 1995 Jan;73(1):151-61.
105. Bertina RM, Koeleman BP, Koster T, et al. Mutation in blood coagulation factor V associated with resistance to activated protein C. *Nature*. 1994 May 5;369(6475):64-7.
106. Koster T, Rosendaal FR, de Ronde H, Briet E, Vandenbroucke JP, Bertina RM. Venous thrombosis due to poor anticoagulant response to activated protein C: Leiden Thrombophilia Study. *Lancet*. 1993 Dec 18-25;342(8886-8887):1503-6.
107. Zoller B, Svensson PJ, He X, Dahlback B. Identification of the same factor V gene mutation in 47 out of 50 thrombosis-prone families with inherited resistance to activated protein C. *J Clin Invest*. 1994 Dec;94(6):2521-4.
108. Dahlback B. New molecular insights into the genetics of thrombophilia. Resistance to activated protein C caused by Arg506 to Gln mutation in factor V as a pathogenic risk factor for venous thrombosis. *Thromb Haemost*. 1995 Jul;74(1):139-48.
109. Rees DC. The population genetics of factor V Leiden (Arg506Gln). *Br J Haematol*. 1996 Dec;95(4):579-86.

110. Moland L, Sandset PM. [Activated protein C resistance--a recently discovered hereditary thrombophilia]. *Tidsskr Nor Laegeforen*. 1998 Sep 30;118(23):3590-5.
111. Rosendaal FR, Koster T, Vandenbroucke JP, Reitsma PH. High risk of thrombosis in patients homozygous for factor V Leiden (activated protein C resistance). *Blood*. 1995 Mar 15;85(6):1504-8.
112. Hashimoto K, Shizusawa Y, Shimoya K, et al. The factor V Leiden mutation in Japanese couples with recurrent spontaneous abortion. *Hum Reprod*. 1999 Jul;14(7):1872-4.
113. De Stefano V, Chiusolo P, Paciaroni K, Leone G. Epidemiology of factor V Leiden: clinical implications. *Semin Thromb Hemost*. 1998;24(4):367-79.
114. Rees DC, Cox M, Clegg JB. World distribution of factor V Leiden. *Lancet*. 1995 Oct 28;346(8983):1133-4.
115. Chrobak L, Dulicek P. [Thrombophilic states]. *Vnitr Lek*. 1998 Aug;44(8):481-6.
116. van Dunne FM, Doggen CJ, Heemskerk M, Rosendaal FR, Helmerhorst FM. Factor V Leiden mutation in relation to fecundity and miscarriage in women with venous thrombosis. *Hum Reprod*. 2005 Mar;20(3):802-6.
117. Rai R, Shlebak A, Cohen H, et al. Factor V Leiden and acquired activated protein C resistance among 1000 women with recurrent miscarriage. *Hum Reprod*. 2001 May;16(5):961-5.
118. Morrison ER, Miedzybrodzka ZH, Campbell DM, et al. Prothrombotic genotypes are not associated with pre-eclampsia and gestational hypertension: results from a large population-based study and systematic review. *Thromb Haemost*. 2002 May;87(5):779-85.
119. Pauer HU, Voigt-Tschirschwitz T, Hinney B, et al. Analyses of three common thrombophilic gene mutations in German women with recurrent abortions. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 2003 Oct;82(10):942-7.
120. Hundsdorfer P, Vetter B, Stover B, et al. Homozygous and double heterozygous Factor V Leiden and Factor II G20210A genotypes predispose infants to thromboembolism but are not associated with an increase of foetal loss. *Thromb Haemost*. 2003 Oct;90(4):628-35.
121. Lindqvist PG, Zoller B, Dahlback B. Improved hemoglobin status and reduced menstrual blood loss among female carriers of factor V Leiden--an evolutionary advantage? *Thromb Haemost*. 2001 Oct;86(4):1122-3.
122. Castoldi E, Simioni P, Kalafatis M, et al. Combinations of 4 mutations (FV R506Q, FV H1299R, FV Y1702C, PT 20210G/A) affecting the prothrombinase complex in a thrombophilic family. *Blood*. 2000 Aug 15;96(4):1443-8.
123. Poort SR, Rosendaal FR, Reitsma PH, Bertina RM. A common genetic variation in the 3'-untranslated region of the prothrombin gene is associated with elevated plasma prothrombin levels and an increase in venous thrombosis. *Blood*. 1996 Nov 15;88(10):3698-703.
124. Vicente V, Gonzalez-Conejero R, Rivera J, Corral J. The prothrombin gene variant 20210A in venous and arterial thromboembolism. *Haematologica*. 1999 Apr;84(4):356-62.
125. Butenas S, van't Veer C, Mann KG. "Normal" thrombin generation. *Blood*. 1999 Oct 1;94(7):2169-78.
126. Smirnov MD, Safa O, Esmon NL, Esmon CT. Inhibition of activated protein C anticoagulant activity by prothrombin. *Blood*. 1999 Dec 1;94(11):3839-46.
127. Gerhardt A, Scharf RE, Beckmann MW, et al. Prothrombin and factor V mutations in women with a history of thrombosis during pregnancy and the puerperium. *N Engl J Med*. 2000 Feb 10;342(6):374-80.
128. Adamek L, Jankowski M, Sanak M, et al. [Coincidence of 20210A prothrombin variant and factor V Leiden predisposing to venous thromboembolism]. *Pol Arch Med Wewn*. 1999 Dec;102(6):1095-9.
129. Lane DA, Grant PJ. Role of hemostatic gene polymorphisms in venous and arterial thrombotic disease. *Blood*. 2000 Mar 1;95(5):1517-32.

130. Martinelli I, Sacchi E, Landi G, Taioli E, Duca F, Mannucci PM. High risk of cerebral-vein thrombosis in carriers of a prothrombin-gene mutation and in users of oral contraceptives. *N Engl J Med*. 1998 Jun 18;338(25):1793-7.
131. Simioni P, Sanson BJ, Prandoni P, et al. Incidence of venous thromboembolism in families with inherited thrombophilia. *Thromb Haemost*. 1999 Feb;81(2):198-202.
132. Rey E, Kahn SR, David M, Shrier I. Thrombophilic disorders and fetal loss: a meta-analysis. *Lancet*. 2003 Mar 15;361(9361):901-8.
133. Makris M, Leach M, Beauchamp NJ, et al. Genetic analysis, phenotypic diagnosis, and risk of venous thrombosis in families with inherited deficiencies of protein S. *Blood*. 2000 Mar 15;95(6):1935-41.
134. Preston FE, Rosendaal FR, Walker ID, et al. Increased fetal loss in women with heritable thrombophilia. *Lancet*. 1996 Oct 5;348(9032):913-6.
135. Frosst P, Blom HJ, Milos R, et al. A candidate genetic risk factor for vascular disease: a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase. *Nat Genet*. 1995 May;10(1):111-3.
136. Löffler G. *Basiswissen Biochemie*. Volume 5. Berlin: Löffler, Georg; 2003.
137. Stampfer MJ, Willett WC. Homocysteine and marginal vitamin deficiency. The importance of adequate vitamin intake. *JAMA*. 1993 Dec 8;270(22):2726-7.
138. Rosenblatt DS. Methylenetetrahydrofolate reductase. *Clin Invest Med*. 2001 Feb;24(1):56-9.
139. de Franchis R, Sebastio G, Mandato C, Andria G, Mastroiacovo P. Spina bifida, 677T->C mutation, and role of folate. *Lancet*. 1995 Dec 23-30;346(8991-8992):1703.
140. Nishio H, Lee MJ, Fujii M, et al. A common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase gene among the Japanese population. *Jpn J Hum Genet*. 1996 Jun;41(2):247-51.
141. van der Put NM, Steegers-Theunissen RP, Frosst P, et al. Mutated methylenetetrahydrofolate reductase as a risk factor for spina bifida. *Lancet*. 1995 Oct 21;346(8982):1070-1.
142. Schneider JA, Rees DC, Liu YT, Clegg JB. Worldwide distribution of a common methylenetetrahydrofolate reductase mutation. *Am J Hum Genet*. 1998 May;62(5):1258-60.
143. Blom HJ, Shaw GM, den Heijer M, Finnell RH. Neural tube defects and folate: case far from closed. *Nat Rev Neurosci*. 2006 Sep;7(9):724-31.
144. Pavlik R, Hecht S, Keck K, Jeschke U, Mylonas I, Noss U, Friese K, Thaler CJ. Verminderte Inzidenz dichorialer Geminigravidaen durch die 677C>T Mutation des 5,10-Methylentetrahydrofolat-Reduktase (MTHFR(-gens: möglicher Einfluss von Inhibin? Geburtshilfe und Frauenheilkunde. 2006;67 (s1-S200):S15.
145. Budimann H, Ochsenkühn R, Marquarding B, lohse P, Friese K, Thaler Cj. Effekte der 677C>T Mutation im Gen der Methylentetrahydrofolatreduktase (MTHFR) auf die Embryonenqualität bei IVF/ICSI. Geburtshilfe und Frauenheilkunde. 2006;67 (S1-S200):66.
146. Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long-term health risks related to polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril*. 2004 Jan;81(1):19-25.
147. Stephenson MD, Awartani KA, Robinson WP. Cytogenetic analysis of miscarriages from couples with recurrent miscarriage: a case-control study. *Hum Reprod*. 2002 Feb;17(2):446-51.
148. Glueck CJ, Gogenini S, Munjal J, Tracy T, Pranikoff J, Wang P. Factor V Leiden mutation: a treatable etiology for sporadic and recurrent pregnancy loss. *Fertil Steril*. 2008 Jun 18;89(2):410-6.
149. Dossenbach-Glaninger A, van Trotsenburg M, Dossenbach M, et al. Plasminogen activator inhibitor 1 4G/5G polymorphism and coagulation factor XIII Val34Leu polymorphism: impaired fibrinolysis and early pregnancy loss. *Clin Chem*. 2003 Jul;49(7):1081-6.
150. Alonso A, Soto I, Urgelles MF, Corte JR, Rodriguez MJ, Pinto CR. Acquired and inherited thrombophilia in women with unexplained fetal losses. *Am J Obstet Gynecol*. 2002 Nov;187(5):1337-42.

151. Daya S. Issues in the etiology of recurrent spontaneous abortion. *Curr Opin Obstet Gynecol.* 1994 Apr;6(2):153-9.
152. Brenner B, Grabowski EF, Hellgren M, et al. Thrombophilia and pregnancy complications. *Thromb Haemost.* 2004 Oct;92(4):678-81.
153. Pihusch R, Buchholz T, Lohse P, et al. Thrombophilic gene mutations and recurrent spontaneous abortion: prothrombin mutation increases the risk in the first trimester. *Am J Reprod Immunol.* 2001 Aug;46(2):124-31.
154. D'Uva M, Di Micco P, Strina I, et al. Hyperhomocysteinemia in women with unexplained sterility or recurrent early pregnancy loss from Southern Italy: a preliminary report. *Thromb J.* 2007;5:10.
155. Brenner B, Sarig G, Weiner Z, Younis J, Blumenfeld Z, Lanir N. Thrombophilic polymorphisms are common in women with fetal loss without apparent cause. *Thromb Haemost.* 1999 Jul;82(1):6-9.
156. Sehirali S, Inal MM, Yildirim Y, et al. Prothrombin G20210A mutation in cases with recurrent miscarriage: a study of the mediterranean population. *Arch Gynecol Obstet.* 2005 Dec;273(3):170-3.
157. Foka ZJ, Lambropoulos AF, Saravelos H, et al. Factor V leiden and prothrombin G20210A mutations, but not methylenetetrahydrofolate reductase C677T, are associated with recurrent miscarriages. *Hum Reprod.* 2000 Feb;15(2):458-62.
158. Goodman CS, Coulam CB, Jeyendran RS, Acosta VA, Roussev R. Which thrombophilic gene mutations are risk factors for recurrent pregnancy loss? *Am J Reprod Immunol.* 2006 Oct;56(4):230-6.
159. Grandone E, Margaglione M, Colaizzo D, et al. Factor V Leiden is associated with repeated and recurrent unexplained fetal losses. *Thromb Haemost.* 1997 May;77(5):822-4.
160. Glueck CJ, Gogenini S, Munjal J, Tracy T, Pranikoff J, Wang P. Factor V Leiden mutation: a treatable etiology for sporadic and recurrent pregnancy loss. *Fertil Steril.* 2007 Jun 18.
161. Glueck CJ, Wang P, Bornovali S, Goldenberg N, Sieve L. Polycystic ovary syndrome, the G1691A factor V Leiden mutation, and plasminogen activator inhibitor activity: associations with recurrent pregnancy loss. *Metabolism.* 2003 Dec;52(12):1627-32.
162. Guan LX, Du XY, Wang JX, et al. [Association of genetic polymorphisms in plasminogen activator inhibitor-1 gene and 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase gene with recurrent early spontaneous abortion]. *Zhonghua Yi Xue Yi Chuan Xue Za Zhi.* 2005 Jun;22(3):330-3.
163. Li XM, Zhang YZ, Xu YX, Jiang S. [Study on the relationship of MTHFR polymorphisms with unexplained recurrent spontaneous abortion]. *Zhonghua Yi Xue Yi Chuan Xue Za Zhi.* 2004 Feb;21(1):39-42.
164. Mahjoub T, Mtiraoui N, Tamim H, et al. Association between adverse pregnancy outcomes and maternal factor V G1691A (Leiden) and prothrombin G20210A genotypes in women with a history of recurrent idiopathic miscarriages. *Am J Hematol.* 2005 Sep;80(1):12-9.
165. Martinelli I, Taioli E, Cetin I, et al. Mutations in coagulation factors in women with unexplained late fetal loss. *N Engl J Med.* 2000 Oct 5;343(14):1015-8.
166. Mtiraoui N, Borgi L, Hizem S, et al. Prevalence of antiphospholipid antibodies, factor V G1691A (Leiden) and prothrombin G20210A mutations in early and late recurrent pregnancy loss. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2005 Apr 1;119(2):164-70.
167. Murphy RP, Donoghue C, Nallen RJ, et al. Prospective evaluation of the risk conferred by factor V Leiden and thermolabile methylenetetrahydrofolate reductase polymorphisms in pregnancy. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2000 Jan;20(1):266-70.
168. Nelen WL, Steegers EA, Eskes TK, Blom HJ. Genetic risk factor for unexplained recurrent early pregnancy loss. *Lancet.* 1997 Sep 20;350(9081):861.

169. Onderoglu L, Baykal C, Al RA, Demirtas E, Deren O, Gurgey A. High frequency of thrombophilic disorders in women with recurrent fetal miscarriage. *Clin Exp Obstet Gynecol.* 2006;33(1):50-4.
170. Reznikoff-Etievan MF, Cayol V, Carbonne B, Robert A, Coulet F, Milliez J. Factor V Leiden and G20210A prothrombin mutations are risk factors for very early recurrent miscarriage. *BJOG.* 2001 Dec;108(12):1251-4.
171. Sottilotta G, Oriana V, Latella C, et al. Genetic prothrombotic risk factors in women with unexplained pregnancy loss. *Thromb Res.* 2006;117(6):681-4.
172. Souza SS, Ferriani RA, Pontes AG, Zago MA, Franco RF. Factor V Leiden and factor II G20210A mutations in patients with recurrent abortion. *Hum Reprod.* 1999 Oct;14(10):2448-50.
173. Unfried G, Griesmacher A, Weismuller W, Nagele F, Huber JC, Tempfer CB. The C677T polymorphism of the methylenetetrahydrofolate reductase gene and idiopathic recurrent miscarriage. *Obstet Gynecol.* 2002 Apr;99(4):614-9.
174. Wang XP, Lin QD, Ma ZW, Zhao AM. [C677T and A1298C mutation of the methylenetetrahydrofolate reductase gene in unexplained recurrent spontaneous abortion]. *Zhonghua Fu Chan Ke Za Zhi.* 2004 Apr;39(4):238-41.
175. Wolf CE, Haubelt H, Pauer HU, et al. Recurrent pregnancy loss and its relation to FV Leiden, FII G20210A and polymorphisms of plasminogen activator and plasminogen activator inhibitor. *Pathophysiol Haemost Thromb.* 2003 May-Jun;33(3):134-7.
176. Wramsby ML, Sten-Linder M, Bremme K. Primary habitual abortions are associated with high frequency of factor V Leiden mutation. *Fertil Steril.* 2000 Nov;74(5):987-91.
177. Younis JS, Brenner B, Ohel G, Tal J, Lanir N, Ben-Ami M. Activated protein C resistance and factor V Leiden mutation can be associated with first-as well as second-trimester recurrent pregnancy loss. *Am J Reprod Immunol.* 2000 Jan;43(1):31-5.
178. Zammiti W, Mtiraoui N, Mercier E, et al. Association of factor V gene polymorphisms (Leiden; Cambridge; Hong Kong and HR2 haplotype) with recurrent idiopathic pregnancy loss in Tunisia. A case-control study. *Thromb Haemost.* 2006 Apr;95(4):612-7.
179. Bick RL. Recurrent miscarriage syndrome and infertility caused by blood coagulation protein or platelet defects. *Hematol Oncol Clin North Am.* 2000 Oct;14(5):1117-31.
180. Dizon-Townson DS, Kinney S, Branch DW, Ward K. The factor V Leiden mutation is not a common cause of recurrent miscarriage. *J Reprod Immunol.* 1997 Oct;34(3):217-23.
181. Hunter AG. A pilot study of the possible role of familial defects in anticoagulation as a cause for terminal limb reduction malformations. *Clin Genet.* 2000 Mar;57(3):197-204.
182. Gopel W, Ludwig M, Junge AK, Kohlmann T, Diedrich K, Moller J. Selection pressure for the factor-V-Leiden mutation and embryo implantation. *Lancet.* 2001 Oct 13;358(9289):1238-9.
183. Chwatko G, Boers GH, Strauss KA, Shih DM, Jakubowski H. Mutations in methylenetetrahydrofolate reductase or cystathionine beta-synthase gene, or a high-methionine diet, increase homocysteine thiolactone levels in humans and mice. *FASEB J.* 2007 Jun;21(8):1707-13.
184. Jivraj S, Rai R, Underwood J, Regan L. Genetic thrombophilic mutations among couples with recurrent miscarriage. *Hum Reprod.* 2006 May;21(5):1161-5.
185. Bare SN, Poka R, Balogh I, Ajzner E. Factor V Leiden as a risk factor for miscarriage and reduced fertility. *Aust N Z J Obstet Gynaecol.* 2000 May;40(2):186-90.
186. Finan RR, Tamim H, Ameen G, Sharida HE, Rashid M, Almawi WY. Prevalence of factor V G1691A (factor V-Leiden) and prothrombin G20210A gene mutations in a recurrent miscarriage population. *Am J Hematol.* 2002 Dec;71(4):300-5.
187. Behjati R, Modarressi MH, Jeddi-Tehrani M, et al. Thrombophilic mutations in Iranian patients with infertility and recurrent spontaneous abortion. *Ann Hematol.* 2006 Apr;85(4):268-71.



- 
188. Brenner BR, Nowak-Gottl U, Kosch A, Manco-Johnson M, Laposata M. Diagnostic studies for thrombophilia in women on hormonal therapy and during pregnancy, and in children. *Arch Pathol Lab Med.* 2002 Nov;126(11):1296-303.
189. Brenner B, Vulfsons SL, Lanir N, Nahir M. Coexistence of familial antiphospholipid syndrome and factor V Leiden: impact on thrombotic diathesis. *Br J Haematol.* 1996 Jul;94(1):166-7.
190. Hustin J, Schaaps JP. Echographic [corrected] and anatomic studies of the maternotrophoblastic border during the first trimester of pregnancy. *Am J Obstet Gynecol.* 1987 Jul;157(1):162-8.
191. Burton GJ, Jauniaux E, Watson AL. Maternal arterial connections to the placental intervillous space during the first trimester of human pregnancy: the Boyd collection revisited. *Am J Obstet Gynecol.* 1999 Sep;181(3):718-24.
192. Roque H, Paidas MJ, Funai EF, Kuczynski E, Lockwood CJ. Maternal thrombophilias are not associated with early pregnancy loss. *Thromb Haemost.* 2004 Feb;91(2):290-5.
193. Kutteh WH, Park VM, Deitcher SR. Hypercoagulable state mutation analysis in white patients with early first-trimester recurrent pregnancy loss. *Fertil Steril.* 1999 Jun;71(6):1048-53.
194. Dizon-Townson DS, Meline L, Nelson LM, Varner M, Ward K. Fetal carriers of the factor V Leiden mutation are prone to miscarriage and placental infarction. *Am J Obstet Gynecol.* 1997 Aug;177(2):402-5.
195. Kovalevsky G, Gracia CR, Berlin JA, Sammel MD, Barnhart KT. Evaluation of the association between hereditary thrombophilias and recurrent pregnancy loss: a meta-analysis. *Arch Intern Med.* 2004 Mar 8;164(5):558-63.
196. Younis JS, Ohel G, Brenner B, Haddad S, Lanir N, Ben-Ami M. The effect of thrombophylaxis on pregnancy outcome in patients with recurrent pregnancy loss associated with factor V Leiden mutation. *BJOG.* 2000 Mar;107(3):415-9.
197. Younis JS. Thrombophilia and recurrent fetal loss-related? *Fertil Steril.* 2000 Mar;73(3):652-4.
198. Coumans AB, Huijgens PC, Jakobs C, et al. Haemostatic and metabolic abnormalities in women with unexplained recurrent abortion. *Hum Reprod.* 1999 Jan;14(1):211-4.
199. Carp H, Salomon O, Seidman D, Dardik R, Rosenberg N, Inbal A. Prevalence of genetic markers for thrombophilia in recurrent pregnancy loss. *Hum Reprod.* 2002 Jun;17(6):1633-7.
200. Dille A, Benito C, Hooper WC, et al. Mutations in the factor V, prothrombin and MTHFR genes are not risk factors for recurrent fetal loss. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2002 Mar;11(3):176-82.
201. Altintas A, Pasa S, Akdeniz N, et al. Factor V Leiden and G20210A prothrombin mutations in patients with recurrent pregnancy loss: data from the southeast of Turkey. *Ann Hematol.* 2007 Oct;86(10):727-31.
202. Majerus PW. Human genetics. Bad blood by mutation. *Nature.* 1994 May 5;369(6475):14-5.
203. Lindqvist PG, Svensson PJ, Dahlback B, Marsal K. Factor V Q506 mutation (activated protein C resistance) associated with reduced intrapartum blood loss--a possible evolutionary selection mechanism. *Thromb Haemost.* 1998 Jan;79(1):69-73.
204. De Groot CJ, Bloemenkamp KW, Duvekot EJ, et al. Preeclampsia and genetic risk factors for thrombosis: a case-control study. *Am J Obstet Gynecol.* 1999 Oct;181(4):975-80.
205. Zivelin A, Griffin JH, Xu X, et al. A single genetic origin for a common Caucasian risk factor for venous thrombosis. *Blood.* 1997 Jan 15;89(2):397-402.
206. Pickering W, Marriott K, Regan L. G20210A prothrombin gene mutation: prevalence in a recurrent miscarriage population. *Clin Appl Thromb Hemost.* 2001 Jan;7(1):25-8.
207. Ueland PM, Refsum H, Stabler SP, Malinow MR, Andersson A, Allen RH. Total homocysteine in plasma or serum: methods and clinical applications. *Clin Chem.* 1993 Sep;39(9):1764-79.

208. Jacques PF, Bostom AG, Williams RR, et al. Relation between folate status, a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase, and plasma homocysteine concentrations. *Circulation*. 1996 Jan 1;93(1):7-9.
209. Lockwood CJ. Inherited thrombophilias in pregnant patients: detection and treatment paradigm. *Obstet Gynecol*. 2002 Feb;99(2):333-41.
210. Kang SS, Wong PW, Zhou JM, Cook HY. Total homocyst(e)ine in plasma and amniotic fluid of pregnant women. *Metabolism*. 1986 Oct;35(10):889-91.
211. Nelen WL, Blom HJ, Steegers EA, den Heijer M, Eskes TK. Hyperhomocysteinemia and recurrent early pregnancy loss: a meta-analysis. *Fertil Steril*. 2000 Dec;74(6):1196-9.
212. Lissak A, Sharon A, Fruchter O, Kassel A, Sanderovitz J, Abramovici H. Polymorphism for mutation of cytosine to thymine at location 677 in the methylenetetrahydrofolate reductase gene is associated with recurrent early fetal loss. *Am J Obstet Gynecol*. 1999 Jul;181(1):126-30.
213. Raziel A, Kornberg Y, Friedler S, Schachter M, Sela BA, Ron-El R. Hypercoagulable thrombophilic defects and hyperhomocysteinemia in patients with recurrent pregnancy loss. *Am J Reprod Immunol*. 2001 Feb;45(2):65-71.
214. Wiwanitkit V. Roles of methylenetetrahydrofolate reductase C677T polymorphism in repeated pregnancy loss. *Clin Appl Thromb Hemost*. 2005 Jul;11(3):343-5.
215. Mandel H, Brenner B, Berant M, et al. Coexistence of hereditary homocystinuria and factor V Leiden--effect on thrombosis. *N Engl J Med*. 1996 Mar 21;334(12):763-8.
216. Brenner B. Inherited thrombophilia and fetal loss. *Curr Opin Hematol*. 2000 Sep;7(5):290-5.
217. Brenner B, Hoffman R, Blumenfeld Z, Weiner Z, Younis JS. Gestational outcome in thrombophilic women with recurrent pregnancy loss treated by enoxaparin. *Thromb Haemost*. 2000 May;83(5):693-7.
218. Kang SS, Wong PW, Zhou JM, et al. Thermolabile methylenetetrahydrofolate reductase in patients with coronary artery disease. *Metabolism*. 1988 Jul;37(7):611-3.
219. Goddijn-Wessel TA, Wouters MG, van de Molen EF, et al. Hyperhomocysteinemia: a risk factor for placental abruption or infarction. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 1996 May;66(1):23-9.
220. Coulam CB, Jeyendran RS, Fishel LA, Roussev R. Multiple thrombophilic gene mutations rather than specific gene mutations are risk factors for recurrent miscarriage. *Am J Reprod Immunol*. 2006 May;55(5):360-8.
221. Couto E, Barini R, Zaccaria R, et al. Association of anticardiolipin antibody and C677T in methylenetetrahydrofolate reductase mutation in women with recurrent spontaneous abortions: a new path to thrombophilia? *Sao Paulo Med J*. 2005 Jan 2;123(1):15-20.
222. Fatini C, Gensini F, Battaglini B, et al. Angiotensin-converting enzyme DD genotype, angiotensin type 1 receptor CC genotype, and hyperhomocysteinemia increase first-trimester fetal-loss susceptibility. *Blood Coagul Fibrinolysis*. 2000 Oct;11(7):657-62.
223. Gerhardt A, Scharf RE, Mikat-Drozdzyński B, Krussel JS, Bender HG, Zotz RB. The polymorphism of platelet membrane integrin alpha2beta1 (alpha2807TT) is associated with premature onset of fetal loss. *Thromb Haemost*. 2005 Jan;93(1):124-9.
224. Hohlagschwandtner M, Unfried G, Heinze G, Huber JC, Nagele F, Tempfer C. Combined thrombophilic polymorphisms in women with idiopathic recurrent miscarriage. *Fertil Steril*. 2003 May;79(5):1141-8.
225. Holmes ZR, Regan L, Chilcott I, Cohen H. The C677T MTHFR gene mutation is not predictive of risk for recurrent fetal loss. *Br J Haematol*. 1999 Apr;105(1):98-101.
226. Kobashi G, Kato EH, Morikawa M, et al. MTHFR C677T Polymorphism and factor V Leiden mutation are not associated with recurrent spontaneous abortion of unexplained etiology in Japanese women. *Semin Thromb Hemost*. 2005 Jun;31(3):266-71.

- 
227. Kumar KS, Govindaiah V, Naushad SE, Devi RR, Jyothy A. Plasma homocysteine levels correlated to interactions between folate status and methylene tetrahydrofolate reductase gene mutation in women with unexplained recurrent pregnancy loss. *J Obstet Gynaecol.* 2003 Jan;23(1):55-8.
228. Makino A, Nakanishi T, Sugiura-Ogasawara M, Ozaki Y, Suzumori N, Suzumori K. No association of C677T methylenetetrahydrofolate reductase and an endothelial nitric oxide synthase polymorphism with recurrent pregnancy loss. *Am J Reprod Immunol.* 2004 Jul;52(1):60-6.
229. Many A, Elad R, Yaron Y, Eldor A, Lessing JB, Kupferminc MJ. Third-trimester unexplained intrauterine fetal death is associated with inherited thrombophilia. *Obstet Gynecol.* 2002 May;99(5 Pt 1):684-7.
230. Martinelli I, Taioli E, Cetin I, Mannucci PM. Recurrent late fetal death in women with and without thrombophilia. *Thromb Haemost.* 2002 Feb;87(2):358-9.
231. Metz J, Kloss, M., O'Malley C., Rockmann, SP., DeRosa, L., Doig, RG., McGrath, KM. Prevalence of Factor V Leiden is not increased on women with recurrent miscarriage. *Clin Appl Thromb Hemost.* 1997;3(2):137-40.
232. Mtiraoui N, Zammiti W, Ghazouani L, et al. Methylenetetrahydrofolate reductase C677T and A1298C polymorphism and changes in homocysteine concentrations in women with idiopathic recurrent pregnancy losses. *Reproduction.* 2006 Feb;131(2):395-401.
233. Quere I, Bellet H, Hoffet M, Janbon C, Mares P, Gris JC. A woman with five consecutive fetal deaths: case report and retrospective analysis of hyperhomocysteinemia prevalence in 100 consecutive women with recurrent miscarriages. *Fertil Steril.* 1998 Jan;69(1):152-4.
234. Ridker PM, Miletich JP, Buring JE, et al. Factor V Leiden mutation as a risk factor for recurrent pregnancy loss. *Ann Intern Med.* 1998 Jun 15;128(12 Pt 1):1000-3.
235. Sarig G, Younis JS, Hoffman R, Lanir N, Blumenfeld Z, Brenner B. Thrombophilia is common in women with idiopathic pregnancy loss and is associated with late pregnancy wastage. *Fertil Steril.* 2002 Feb;77(2):342-7.
236. Sotiriadis A, Vartholomatos G, Pavlou M, et al. Combined thrombophilic mutations in women with unexplained recurrent miscarriage. *Am J Reprod Immunol.* 2007 Feb;57(2):133-41.
237. Tal J, Schliamser LM, Leibovitz Z, Ohel G, Attias D. A possible role for activated protein C resistance in patients with first and second trimester pregnancy failure. *Hum Reprod.* 1999 Jun;14(6):1624-7.