

Olgu sunumu-Case report

Tekrarlayan düşükleri olan ailede herediter mthfr c677t mutasyonunun olası rolü

The possible role of hereditary mthfr c677t mutation in a family with recurrent abortus history

Burak Durmaz, Salih Kozan, Deniz Torun, Muhterem Bahçe, Şefik Güran*

Tıbbi Genetik Anabilim Dalı (Uz. Dr. B. Durmaz, Araş. Gör. Dr. S. Kozan, Araş. Gör. Dr. D. Torun, Prof. Dr. M. Bahçe), Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı (Prof. Dr. Ş. Güran), Gülhane Askeri Tıp Akademisi, TR-06018 Ankara

Özet

Tekrarlayan düşüklerde, yaklaşık olarak %70 oranında herhangi bir neden saptanamamaktadır. Gebeliğin sorunsuz devamı için uteroplasental dolaşım çok önemlidir ve gebelik sırasında koagülasyon faktörlerinde meydana gelen değişikliklerin, plasental damarlarda tıkanıklığa yol açabileceğini, dolayısıyla düşük oluşumunda rol alabilecekleri düşünülmüştür. Maternal koagülasyon faktörlerini etkileyen Faktör V Leiden G1691A, Protrombin G20210A ve MTHFR C677T mutasyonları tromboza yatkınlığı saptamada genetik test olarak kullanılmaktadır. Bu yüzden maternal trombofililer ve bunların testleri klinik açıdan büyük önem taşımaktadır. Literatürde de bu parametrelerle ilgili yapılmış birçok çalışma dikkati çekmektedir. Bu olguda, ailesinde multipl düşük öyküsü olan bir çiftte karyotip analizi yapılmış ve yukarıda belirtilen mutasyonlar incelenmiştir. Kromozom analizleri normal saptanan çiftte, baba adayının MTHFR C677T mutasyonunu heterozigot olarak, anne adayının ise homozigot olarak taşıdığı saptandı. Bu ailede olası diğer faktörler ekarte edildiğinden, MTHFR C677T mutasyonunun ailedeki düşükleri açıklayabileceği düşünüldü ve benzer öykü ile başvuran bireylerde, belirtilen analizlerin yapılmasının tekrarlayan düşük etiyojisini aydınlatmada yardımcı olabileceği gösterilmiştir.

Anahtar sözcükler: Tekrarlayan gebelik kaybı, trombofili, MTHFR C677T mutasyonu

Abstract

The exact cause of habitual abortions can not be determined in approximately 70% of the cases. Uteroplasental circulation is very important for the ongoing pregnancy and any change in the coagulation factors are thought to cause occlusion of the placental vessels and therefore can have a role in abortions. Mutations affecting maternal coagulation, namely Factor V Leiden G1691A, Prothrombin G20210A and MTHFR C677T are used for genetic testing to determine the predisposition to thrombosis. For this reason, maternal thrombophilia and these tests are of great importance in clinical practice. In literature, many remarkable studies have been done with respect to these parameters. In this study, a couple with a history of recurrent pregnancy loss in the family was evaluated. Karyotype analysis and the mutations mentioned above were investigated. Chromosome analysis was normal in the couple but the father was carrying heterozygote MTHFR C677T mutation and the mother had the same mutation in homozygous pattern. As the other factors were already ruled out in this family, we assumed that MTHFR C677T mutation might explain the miscarriages in the family. Performing above-mentioned mutations to other patients presenting with the similar history may help clarify the etiology of recurrent abortions.

Keywords: Habitual abortion, thrombophilia, MTHFR C677T mutation

Geliş tarihi/Received: 18 Eylül 2010; **Kabul tarihi/Accepted:** 18 Şubat 2011

***İletişim adresi:**

Dr. Şefik Güran, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Gülhane Askeri Tıp Akademisi, TR-06018 Ankara. E-posta: sefguran@yahoo.com

Giriş

Tekrarlayan gebelik kayıplarında neden çok farklı olabileceği için çoğu zaman uzun ve maliyetli çalışmalar gerektirmektedir. Etyolojik faktörlerin içinde genetik faktörler önemli bir yer tutar. Genetik faktörler tekrarlayan gebelik kayıplarının yaklaşık %20 sinde etkindir [1]. Ailelerde en sık tanımlanan genetik nedenler eşlerde ve fetüste kromozomal anomalilerin varlığı, ailede bulunan tek gen veya multifaktöriyel multigenik hastalıklar ve herediter koagülasyon faktör faktörlerine ait problemler sayılabilir. Özellikle maternal kaynaklı koagülasyon faktör problemleri hemostatik sistemde bozulmalara neden olmakta ve plasental mikrosirkülasyonda tromboza yol açarak abortusa neden olabilmektedir [2]. Üç ve daha fazla tekrarlayan abortus öyküsü bulunan ailelerde bu testlerin yapılması önerilmektedir [1, 2]. Olgumuzda aralarında akrabalık bulunmayan bir ailede ilk düşükten sonra soy geçmişinde tanımlanan tekrarlayan düşük öyküsü nedeni ile yapılan genetik testler ve sonuçları sunulmaktadır. Annede saptanan homozigot MTHFR C677T mutasyonunun tekrarlayan düşüklerdeki rolü tartışılmaktadır.

Olgu sunumu

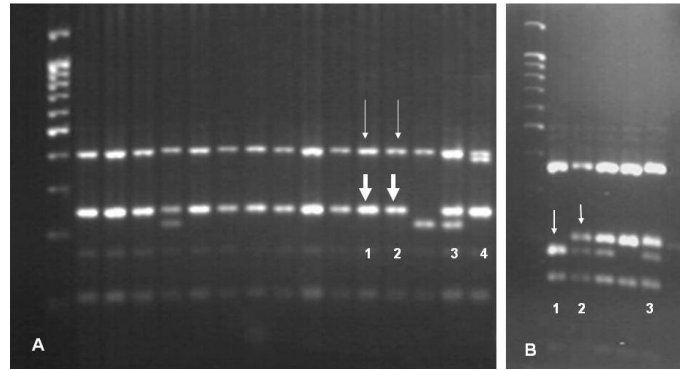
Daha önce çocuğu olmayan, sekiz haftalık inkomplet abortus öyküsü olan aralarında akrabalık olmayan çift, düşük materyalinde genetik test yaptırmak ve genetik danışma almak için kliniğimize başvurdu. İki yıllık evli olan çiftin ilk hamileliklerinin düşük ile sonuçlandığı tespit edildi. Ailenin soy ağacının incelenmesinde anne adayının annesinin 4 adet düşüğün bulunduğu, anne tarafındaki hamileliklerde birçok düşük öyküsü bulunduğu tespit edildi. Ailede kalıtsal bir hastalığa ait bilgi saptanmadı. Fetusta olası bir kromozomal anomali ortaya konması için fetal materyalden önce hücre kültürü ve sonrasında sitogenetik analiz yapıldı. Fetal materyalden elde edilen karyotip normal olarak saptandı. Çiftin ilk düşüğü olmasına rağmen aile öyküsünde birçok düşük bulunması nedeni ile anne ve baba adayında tromboza yatkınlık genlerinin mutasyonları çalışıldı [Faktör V Leiden (R506-Q506), Faktör II (Protrombin) G2021A ve metylenetetrahydrofolate reductase-MTHFR C677T]. Mutasyon taraması PCR (Polimeraz zincir reaksiyonu)-RFLP(Restriction fragment length polymorphism) yöntemi kullanılarak gerçekleştirildi [3]. Olgu periferik kan DNA' ları PCR ile çoğaltıldıktan sonra Faktör II ve Faktör V mutasyonları için HindIII, MTHFR C677T mutasyonu için Hinfl restriksiyon enzim kesimi yapıldı. Enzim kesimi %2'lik agaroz jelde görüntülenerek değerlendirildi. Baba adayının Faktör V Leiden ve Faktör II G2021A mutasyonlarını taşımadığı, MTHFR C677T mutasyonunu heterozigot olarak taşıdığı; anne adayının ise Faktör V Leiden ve Faktör II G2021A mutasyonlarını taşımadığı, MTHFR C677T mutasyonunu homozigot olarak taşıdığı belirlendi (Resim 1A-B). Düşük materyalinden DNA izolasyonu planlanmamış olduğu için bu materyalde tanımlanan genlere ait mutasyonların bakılması mümkün olmamıştır. Anne ve baba adayının kromozomal analizi normal olarak saptanmıştır.

Tartışma

Süren hamileliklerde sağlıklı bir çocuğa sahip olmak önemlidir. Düşük ile sonlanan bir hamilelikte nedenin ortaya konması için patolojik yönden ve olası bir kromozomal anomali yönünden fetusun incelenmesi gereklidir [4]. Aile tarafından getirilen fetus bu yönden incelenmiş ve bir patoloji tespit edilmemiştir.

Tekrarlayan düşük tanısı olan ailelerde anne ve babanın genetik yönden incelenmesi önerilir [5]. Ailemizde sağlıklı bir çocuk yoktur ve refere edilen fetus ilk düşükleridir. Anne adayının aile öyküsünde tekrarlayan düşük öyküsü bulunması nedeni ile aile genetik yönden incelemeye alınmıştır. Ailede herediter bir genetik hastalık öyküsü saptanmamıştır. Anne ve baba kromozomal inceleme sonucu normal olarak bulunmuştur. Bu alanda yapılabilecek diğer grup analiz içinde yer alan koagülasyon genlerine ait olası mutasyonlar incelenmiştir [6]. Değerlendirilen koagülasyon faktörleri içinde yar alan Faktör V geni 1q21-25 bölgesine lokalizedir ve 25 ekzon içerir [7]. Onuncu ekzonda 1691 bazda G/A mutasyonu Faktör V Leiden mutasyonu olarak bilinmektedir [8]. Bu

mutasyonun varlığında Faktör V, protein C tarafından inaktive edilemez.



Resim 1-A: Faktör II G2021A ve Faktör V Leiden mutasyon analizi sonuçları. Üst sıra ince ok ile belirtilmiş olanlar Faktör II G2021A mutasyonunu, alt sırada kalın ok ile belirtilmiş olanlar ise Faktör V Leiden mutasyonlarını göstermektedir. 1 numara anne adayına ait görüntüdür ve her 2 mutasyon açısından normal olarak bulunmuştur. İki numara baba adayını göstermektedir ve her 2 mutasyon açısından normal olarak bulunmuştur. Faktör V Leiden heterozigot kontrol olgusu 3 numara, Faktör II G2021A heterozigot kontrol olgusu ise 4 numara olarak işaretlenmiştir. **Resim B: MTHFR C677T mutasyon analizi sonuçları.** Bir numara anne adayına ait görüntüdür ve MTHFR C677T mutasyonunu homozigot olarak taşıdığı belirlenmiştir. 2 numara baba adayını göstermektedir ve MTHFR C677T mutasyonunu heterozigot olarak taşıdığı tespit edilmiştir. MTHFR C677T heterozigot kontrol olgusu 3 numara olarak işaretlenmiştir.

Sonuçta artmış trombin oluşumu ve hiperkoagulatif bir ortam ortaya çıkar. Sağlıklı insanlara göre bu mutasyonu homozigot olarak taşıyanlarda 50-100, heterozigotlarda 5-10 kat fazla tromboz riski vardır. Ayrıca Faktör V Leiden mutasyonu gebelikte düşük, tekrarlayan gebelik kayıpları, preklampsi, gelişme geriliği gibi durumlara sebep olabileceği bildirilmiştir [9]. Ancak ailemizde bu gene ait mutasyon tanımlanmadı. Protrombin (Faktör II) geni 11p11-q12 bölgesine lokalizedir ve 14 ekzon içermektedir. Protrombin geninde tanımlanan 20210. pozisyonda G-A değişimi plazma protrombin düzeyini artırır ve venoz tromboz eğilimine neden olur. Protrombin G20210A gen mutasyonu kalıtsal trombofililerden birisidir ve faktör V Leiden mutasyonundan sonra ikinci sıklıkta görülür. Protrombin genindeki mutasyondan dolayı kanda protrombin düzeyi artar ve bu da pıhtılaşmaya eğilim yaratır. Protrombin G20210A gen mutasyonu olanlarda tromboz için relatif risk 2-6 kat artmıştır, gebelikte ise risk 10-15 kat artmaktadır [10]. Ailemizde bu mutasyon tanımlanmamıştır. Kalıtsal trombofililerden birisi olan MTHFR C677T gen mutasyonu sonucunda homosistein düzeyi artar ve pıhtılaşmaya eğilim oluşur. Bu mutasyonun varlığıyla tekrarlayan düşükler arasında ilişki birçok yayında ortaya konmuştur [6, 11, 12]. Ancak bazı yayınlarda tek başına homozigot MTHFR mutasyonunun tekrarlayan düşüklerde rolü olmadığı ileri sürülmüştür [13-16]. Ailemizde MTHFR C677T mutasyonunu baba adayı heterozigot, anne adayı ise homozigot olarak taşıdığı tespit edilmiştir. Burada diğer olası risk faktörleri de ekarte edildiği için tanımlanan mutasyonun ailede tanımlanan tekrarlayan düşüklerde rolü olduğu düşünülebilir. Yenicesu ve ark. [17] yaptıkları bir çalışmada Türk toplumunda tekrarlayan düşükleri olan olgularda bizim baktığımız genlerin dışında FXIII V34L, GPIIIa L33P, Apo E ve PAI-1 gen mutasyonlarının veya polimorfizmlerinin bakılmasının yararlı olabileceğini göstermişlerdir. Bu sonuç ailemizde de benzer mutasyonların çalışılmasının aileye genetik danışma verilmesi yönünde önemli katkısı olabileceğini göstermektedir. Ancak test panelimizde bulunmayan bu genler ile ilgili çalışma aileye daha sonra yapılmak üzere planlanmıştır. Koagülasyon faktörlerine ait genlerin düşük nedenindeki rolü göz önüne alındığında düşük materyalinde de bu genlerin çalışılmasının en az anne ve baba DNA'sında çalışılması kadar önemlidir. Çalışmamızda elde edilen bulguların ışığı altında aileye genetik danışma verildi ve trombofil panelinin önemi

vurgulandı. Benzer bulgusu olan diğer aile bireylerinin de testler için bölümümüze yönlendirilmesi gerektiği anlatıldı. Ailenin olası hamileliğinde antikoagülan tedavi uygulaması için bir kadın doğum uzmanı ile görüşülmesi önerildi.

Elde edilen sonuç düşük yapan çiftler başvurduğunda detaylı bir aile hikayesinin alınmasının önemini ortaya koymaktadır. Olası tüm risk faktörlerinin ekarte edilmesinde koagülasyon faktörlerine ait genlerin mutasyonlarının incelenmesinin uygun olduğunu göstermektedir.

Referanslar

1. F. Gary Cunningham, Kenneth J. Leveno, Steven L. Bloom, John C. Hauth, Dwight J. Rouse, Catherine Y. Spong Williams Obstetrics. McGraw-Hill. 22nd Ed. 2005; pp. 232-6, 1074-9.
2. Güven ESG, Güven S, İslamoğlu GA, Demir B, Günalp S. Tekrarlayan gebelik kayıplarında güncel algoritma. Hacettepe Tıp Dergisi 2006; 37: 117-23.
3. Koksall V, Baris I, Etlik O. Primer-engineered multiplex PCR-RFLP for detection of MTHFR C677T, prothrombin G20210A and factor V Leiden mutations. Exp Mol Pathol 2007; 83: 1-3.
4. Azim M, Khan AH, Khilji ZL, Pal JA, Khurshid M. Chromosomal abnormalities as a cause of recurrent abortions: a hospital experience. J Pak Med Assoc 2003; 53: 117-9.
5. Stoll C. Cytogenetic findings in 122 couples with recurrent abortions. Hum Genet 1981; 57: 101-3.
6. Robertson L, Wu O, Langhorne P, Twaddle S, Clark P, Lowe GD, Walker ID, Greaves M, Brenkel I, Regan L, Greer IA; Thrombosis: Risk and Economic Assessment of Thrombophilia Screening (TREATS) Study. Thrombophilia in pregnancy: a systematic review. Br J Haematol 2006; 132: 171-96.
7. Dawood F, Mountford R, Farquharson R, Quenby S. Genetic polymorphisms on the factor V gene in women with recurrent miscarriage and acquired APCR. Hum Reprod 2007; 22: 2546-53.
8. Helley D, Besmond C, Ducrocq R, da Silva F, Guillin MC, Bezeaud A, Elion J. Polymorphism in exon 10 of the human coagulation factor V gene in a population at risk for sickle cell disease. Hum Genet 1997; 100: 245-8.
9. Rothbart H, Ohel G, Younis J, Lanir N, Brenner B. High prevalence of activated protein C resistance due to factor V leiden mutation in cases of intrauterine fetal death. J Matern Fetal Med 1999; 8: 228-30.
10. Attia FM, Mikhailidis DP, Reffat SA. Prothrombin gene G20210A mutation in acute deep venous thrombosis patients with poor response to warfarin therapy. Open Cardiovasc Med J 2009; 3: 147-51.
11. Seligsohn U, Lubetsky A. Genetic susceptibility to venous thrombosis. N Engl J Med 2001; 344: 1222-31.
12. Altomare I, Adler A, Aledort LM. The 5, 10 methylenetetrahydrofolate reductase C677T mutation and risk of fetal loss: a case series and review of the literature. Thromb J 2007; 5: 17.
13. Morales-Machín A, Borjas-Fajardo L, Quintero JM, Zabala W, Alvarez F, Delgado W, Hernández ML, Solis-Añez E, Sánchez Y, Butrón Z. C677T polymorphism of the methylenetetrahydrofolate reductase gene as risk factor in women with recurrent abortion. Invest Clin 2009; 50: 327-33.
14. Laurino MY, Bennett RL, Saraiya DS, Baumeister L, Doyle DL, Leppig K, Pettersen B, Resta R, Shields L, Uhrich S, Varga EA, Raskind WH. Genetic evaluation and counseling of couples with recurrent miscarriage: recommendations of the National Society of Genetic Counselors. J Genet Couns 2005; 14: 165-81.
15. Nelen WL, Blom HJ, Steegers EA, den Heijer M, Eskes TK. Hyperhomocysteinemia and recurrent early pregnancy loss: a meta-analysis.

- Fertil Steril 2000; 74: 1196-99.
16. Foka ZJ, Lambropoulos AF, Saravelos H, Karas GB, Karavida A, Agorastos T, Zournatzi V, Makris PE, Bontis J, Kotsis A. Factor V leiden and prothrombin G20210A mutations, but not methylenetetrahydrofolate reductase C677T, are associated with recurrent miscarriages. Hum Reprod 2000; 15: 458-62.
 17. Yenicesu GI, Cetin M, Ozdemir O, Cetin A, Ozen F, Yenicesu C, Yildiz C, Kocak N. A prospective case-control study analyzes 12 thrombophilic gene mutations in Turkish couples with recurrent pregnancy loss. Am J Reprod Immunol 2010; 63: 126-36.