

**T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM ANABİLİM DALI
PERİNATOLOJİ BİLİM DALI**

**METİLEN TETRAHİDROFOLAT REDÜKTAZ ENZİM
MUTASYONLARINA BAĞLI DNA METİLASYON
DEFEKTLERİNDE OBSTETRİK SONUÇLAR**

Dr. Mert TURĞAL

**YAN DAL UZMANLIK TEZİ
Olarak Hazırlanmıştır**

**ANKARA
2014**

**T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM ANABİLİM DALI
PERİNATOLOJİ BİLİM DALI**

**METİLEN TETRAHİDROFOLAT REDÜKTAZ ENZİM
MUTASYONLARINA BAĞLI DNA METİLASYON
DEFEKTLERİNDE OBSTETRİK SONUÇLAR**

Dr. Mert TURĞAL

**YAN DAL UZMANLIK TEZİ
Olarak Hazırlanmıştır**

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. M. Sinan BEKSAÇ**

**ANKARA
2014**

TEŞEKKÜR

Bu tez çalışmasının planlanması, yürütülmesi ve yazılması aşamalarında sonsuz desteğini yanımda hissettiğim Perinatoloji Bilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. M. Sinan BEKSAÇ'a teşekkürü bir borç bilirim. Perinatoloji ihtisasım süresince akademik gelişimime yapmış olduğu katkılar nedeniyle ayrıca teşekkür ederim.

Yan dal uzmanlık eğitimim sırasında kendisinden çok şey öğrendiğim, hem insani hem de akademik anlamda bana her türlü desteği veren Sayın Doç. Dr. Özgür ÖZYÜNCÜ'ye, eğitimine yaptığı katkılardan dolayı Sayın Prof. Dr. Özgür DEREN'e ne kadar teşekkür etsem azdır.

Çalışmanın istatistiksel analizlerinin yapımı aşamasında, destekleri ve sabırları için Sayın Prof. Dr. Ergun KARAAĞAOĞLU'na ve Dr. Selçuk KORKMAZ'a teşekkür ederim.

Sevgilerini ve desteklerini her zaman yanımda hissettiğim; değerli eşim ve aileme ne kadar teşekkür etsem azdır.

Dr. Mert TURĞAL

ÖZET

TURĞAL, M., Metilen Tetrahidrofolat Redüktaz Enzim Mutasyonlarına Bağlı DNA Metilasyon Defektlerinde Obstetrik Sonuçlar, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı, Perinatoloji Bilim Dalı, Yan Dal Uzmanlık Tezi, Ankara, 2014. Metilen Tetrahidrofolat Redüktaz (MTHFR) enzimidaki polimorfizm nedeniyle oluşan metilasyon bozukluklarındaki olumsuz gebelik sonuçları uzun süredir bilinmektedir. Bu hastalarda plasentanın endotel harabiyeti ile birlikte vasküler problemleri (düşükler, intrauterin gelişme geriliği, özellikle membran rüptürü ile birlikte giden preterm doğum ve preeklampsi gibi) ve kromozomal/nonkromozomal fetal anomalilerin sıklığı artmıştır. Bu çalışmada, merkezimize kötü obstetrik hikaye nedeniyle başvuran hastalarda MTHFR enzim polimorfizminin sıklığını, bu polimorfizmleri olan bireyler ile normal bireylerin obstetrik/perinatal sonuçlarını ve tedaviye yanıtını karşılaştırdık. Amacımız, erken ve geç gebelik komplikasyonları ile yakın ilişkisi ortaya konmuş olan endotel harabiyeti ile giden plasentanın vasküler hastalıklarının, perinatal komplikasyonlar ile olası ilişkisinin saptanmasıdır. Hastaların sonuçları karşılaştırıldığında, MTHFR enzimi için homozigot mutasyon grubundaki hastaların obstetrik sonuçları hem heterozigot mutasyonu olan hastalardan hem de mutasyonu bulunmayan hastalardan kötü olarak saptadık. “Beksaç Obstetrik İndeksi”nin (**BOİ: (Yaşayan + II/10) / Gravida**) polimorfizm şiddeti arttıkça azaldığını saptadık. Diğer yandan, kromozomal ve non kromozomal anomalili bebek öyküsü açısından hastalar değerlendirildiğine; MTHFR polimorfizmi olan gruplarda yoğunlaşma izlendi. Ayrıca, uygun tedavi uygulandığında perinatal mortalite ve abortus oranlarında azalma saptadık. Bu çalışmadaki “polimorfizm” grubu, endotel harabiyeti ile giden plasentanın vasküler hastalıkları açısından gebelik öncesinde veya gebeliğin erken döneminde taranmış ve tanısı konmuş hastalardan oluşmaktadır. Tanının gebelik öncesi veya erken gebelik döneminde konmuş olması, erken dönemde tedavi ve yakın takibi beraberinde getirmiştir. Gebelik sonuçlarının bu bağlamda değerlendirilmesi gerekmektedir. MTHFR polimorfizm olan vakalarda, altta yatan nedene yönelik araştırmaların yapılmasını ve soruna yönelik tedavilerin verilmesinin uygun olacağını saptadık.

Anahtar Kelimeler; herediter trombofili, abortus, preeklampsi, ölü doğum, perinatal komplikasyonlar

ABSTRACT

Turgal M., Obstetric Outcomes in DNA Methylation Defects due to Methylen Tetrahydrofolate Reductase Enzyme Mutations, Hacettepe University Faculty of Medicine, Department of Obstetrics and Gynecology, Thesis in Perinatology, Ankara, 2014. Poor obstetrics/perinatal outcomes in methylation defects due to methylen tetrahydrofolate reductase enzyme polymorphysim are known for a long time. In these patients who had MTHFR enzyme polymorhysim, frequencies of vascular disorders of placenta (miscarriage, intrauterine growth restriction, preterm birth, preeclampsia, and ruptures of membranes etc.) and chromosomal/non-chromosomal fetal abnormalities are increased. In this study, we compared MTHFR polymorphysim frequency, obstetrical/perinatal outcomes, success of treatment between patients who had MTHFR polymorphism and normal status for this situation. Our aim is to detect a possible relationship between perinatal complications and placental vascular diseases. We found that patients who had homozygous or compound heterozygous mutation for MTHFR enzyme had worse results when compared patients who had single heterozygous or negative status for this mutation in terms of perinatal outcomes. We found that “Beksac Obstetrics Index” decreased with increasing severity of the polymorphism. On the other hand, in terms of birth history of baby with chromosomal and non-chromosomal abnormalities, patient condensation was observed in the group with MTHFR polymorphism. Besides, we found that perinatal mortality and miscarriage rates are decreased when appropriate therapy is received. Early diagnosis led early medical therapeutic interventions and close surveillanc available. The outcomes of this group should be considered in this context. We suggest that in pregnancies that MTHFR polymorphism were detected, looking for the underlying pathology and directed medical therapy may prevent most of the complications.

Key Words: *hereditary thrombophilia, miscarriage, perinatal complication, preeclamsia, stillbirth.*

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
TEŞEKKÜR.....	i
ÖZET.....	ii
ABSTRACT.....	iii
İÇİNDEKİLER	iv
KISALTMALAR	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vii
TABLOLAR DİZİNİ	viii
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Metilentetrahidrofolat Redüktaz (MTHFR) Polimorfizmi ve Trombofili	3
2.1.1. MTHFR C677T ve A1298C Mutasyonları ve Hiperhomosisteinemi	3
2.1.1.1. Homosistinopati, Plasentanın Vasküler Sisteminde Endotel Harabiyeti ve İntrauterin Perfüzyon Bozukluğu	5
2.2. Herediter Trombofililer ve Kötü Obstetrik Sonuçlar	6
2.2.1. MTHFR Mutasyonları ile Perinatal Komplikasyonlar (Perinatal Morbidite ve Mortalite) Arasındaki İlişkiler	7
2.2.1.1. MTHFR polimorfizmi ve Preeklampsi	8
2.2.1.2. MTHFR polimorfizmi ve Preterm Doğum	8
2.2.1.3. MTHFR polimorfizmi ve İntrauterin Gelişme Geriliği	8
2.2.1.4. MTHFR polimorfizmi ve Ablasyo Plasenta	9
2.2.2. MTHFR Mutasyonları ve Homosisteinemi ile Genetik Problemler Arası İlişkiler	9
2.3. MTHFR Polimorfizminde Gebeliğin Yönetimi ve Tedavi	11
3. BİREYLER VE YÖNTEM.....	12
3.1. Bireyler.....	12
3.2. Yöntem.....	14

3.2.1. “Beksaç Obstetrik İndeksi”	15
3.2.2. MTHFR Polimorfizminde Gebelik Öncesi ve Gebelikte Tedavi Yaklaşımı	16
3.3. İstatistiksel Analiz.....	16
3.3.1. Kontrol ve Karşılaştırma Gruplarının Seçimi	17
3.4. Etik	17
4. BULGULAR	18
4.1. Hastaların Özellikleri	18
4.2. Hastaların İlk Gebeliklerinin Erken Gebelik Kayıpları ve Perinatal Komplikasyonlar (Perinatal Morbidite ve Mortalite) Açısından Değerlendirilmesi.....	20
4.3. Hastaların Son Gebeliklerinin Perinatal Komplikasyonlar (Perinatal Morbidite ve Mortalite) Açısından Değerlendirilmesi.....	21
4.4. Doğumdaki Gebelik Haftaları ve Doğum Ağırlıklarının Karşılaştırılması	23
4.5. Grupların Son Gebelikteki Perinatal Komplikasyonların Tek Tek Karşılaştırılması	25
4.6. “Beksaç Obstetrik İndeksi” ve Gruplar Arası İndeks Eğrilerinin Farklılaşmasının Gösterilmesi.....	26
4.7. MTHFR Mutasyonları ve Genetik Problemler	29
5. TARTIŞMA	32
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	39
7. KAYNAKLAR.....	41

KISALTMALAR

APAS	:	Antifosfolipid Antikor Sendromu
APC	:	Aktive Protein C
CBS	:	Sistation Beta Sentaz
CI	:	Confidence Interval (güven aralığı)
DNA	:	Deoksiribo Nükleik Asit
DVT	:	Derin Venöz Tromboz
GVH	:	Graft Versus Host
IUGR	:	İntrauterin Büyüme Geriliği
MS	:	Metiyonin Sentaz
MSR	:	Metiyonin Sentaz Reduktaz
MTHFR	:	Metilen Tetrahidrofolat Redüktaz
N	:	Normal
NTD	:	Nöral Tüp Defekti
OR	:	Odds Ratio (odds oranı)
PPROM	:	Preterm Prematür Membran Rüptürü
RNA	:	Ribo Nükleik Asit
SAH	:	S-Adenozil Homosistein
SAM	:	S-Adenozil Metionin
SLE	:	Sistemik Lupus Eritamatosus
SPSS	:	Statistical Package for the Social Sciences
SS	:	Standart Sapma
THF	:	Tetra Hidro Folat
VTE	:	Venöz Tromboembolizm

ŞEKİLLER DİZİNİ**Sayfa**

Şekil 2.1.1. Metiyonin ve Homosistein Metabolizması	4
Şekil 4.6.1. Grupların “Beksaç Obstetrik İndekslerinin” grafiksel analizi	28
Şekil 4.6.2. Grupların “Beksaç Obstetrik İndeks” Eğrileri	29

TABLolar DİZİNİ

	Sayfa
Tablo 4.1.1. Çalışma gruplarının hasta dağılımı.	18
Tablo 4.1.2. Hastaların demografik ve obstetrik hikâye özellikleri.	19
Tablo 4.2.1. Hastaların ilk gebeliklerine ait komplikasyonlar.	20
Tablo 4.3.1. Hastaların son gebeliklerine istatistikî bulgular.	21
Tablo 4.4.1. Her üç gruba ait doğum haftalarının ve bebek ağırlıklarının analizi.	23
Tablo 4.4.2. Grupların Doğum Haftaları ve Doğum Ağırlıklarının Bonferroni Post Hoc testi ile karşılaştırılması.	24
Tablo 4.5.1. Grupların spesifik perinatal komplikasyonlarının analizi.	25
Tablo 4.6.1. Grupların “Beksaç Obstetrik İndeksi” açısından karşılaştırılması.	26
Tablo 4.6.2. Grupların “Beksaç Obstetrik İndeksi” açısından ikişerli olarak karşılaştırılması.	27
Tablo 4.7.1. Obstetrik öyküdeki genetik problemlerin gruplara göre dağılımı.	30
Tablo 4.7.2. Yapısal malformasyonların sınıflaması ve gruplara göre dağılımı.	30
Tablo 4.7.3. Kromozomal anormalliği olan bebeklerin dağılımı ve gebelik sonuçları.	31

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Sağlıklı bir gebeliğin devamında iyi bir plasental gelişimin önemi uzun süredir bilinmektedir. Plasenta ile ilişkili hastalıklar gebeliklerin yaklaşık olarak 1/3'ünü ilgilendirmektedir [1]. Plasentanın gelişiminde fetal ve maternal faktörler (fetal kromozomal anomaliler, uterusu ait sorunlar, intrauterin infeksiyonlar, trombofili, otoimmün hastalıklar, teratojen ajanlar, vb.) etki gösterebilmektedir.

Hereditör trombofililerin bu açıdan önemi ise son yıllarda daha iyi anlaşılmıştır. Bu hastalığın tekrarlayan gebelik kaybı, intrauterin fetal ölüm, konjenital malformasyon, preterm doğum, preterm prematür membran rüptürü (PPROM), preeklampsi, plasenta dekolmanı, intrauterin büyüme geriliği (IUGR) ve intrauterin/fetal hipoksi gibi perinatal komplikasyonlar ile yakından ilişkili olduğu anlaşılmaktadır [2-4]. Ayrıca, son zamanlarda yapılan bir meta-analizde annedeki MTHFR enzim mutasyonunun fetüste Down sendromu riskinde artış ile ilişkili olduğu bulunmuştur [5,6]. Bunun dışında epilepsi, derin ven trombozu ve pulmoner tromboemboli gibi maternal sağlık sorunlarına zemin oluşturabilmektedir [7-9].

Gebeliğin tüm bu komplikasyonlarının etiolojisinde anormal plasentasyon rol oynamaktadır. Bu sorunlu plasenta gelişimi erken gebelik döneminde fetal kayıplara ve geç dönemde perinatal komplikasyonlara neden olmaktadır. Bu kapsamda, hereditör trombofililerin birçok plasental histopatolojik bulgu ile olan ilişkisi çeşitli yayınlarda daha önce ortaya konulmuştur [10,11].

Hereditör trombofililerin toplumda en sık saptananlarından birisi olan ve homosistein aminoasit metabolizmasında rol oynayan “Metilen Tetrahidrofolat Redüktaz (MTHFR)” enziminin mutasyonları da benzer olumsuz gebelik sonuçları ile birliktelik göstermektedir [12-14]. Sülfür içeren bir aminoasit olan homosistein DNA ve/veya RNA'nın metilasyonu sırasında metiyonin demetilasyonunda görev almaktadır. MTHFR enzim mutasyonları sonucunda hiperhomosisteinemi meydana gelebilmekte ve bu durum endotel hasarına (ve de bir seri biyolojik olaylar sonucunda fetüsün perfüzyonunun bozulmasına) neden olarak yukarıda bahsedilen plasental komplikasyonların ortaya çıkmasına zemin hazırlamaktadır. Bunların dışında anne plazma homosistein seviyelerinin düşürülmesinin fetal ağırlığa olumlu

yönde katkıda bulunabileceğini öne süren epidemiyolojik temelli yayınlarda mevcuttur [15].

Çalışmanın amacı MTHFR enzim mutasyonlarına bağlı DNA metilasyon defektleri bulunan gebelerin fetüslerinde bu durumun olumsuz etkileri ve perinatal sonuçları normal populasyon ile karşılaştırarak araştırılmasıdır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Metilentetrahidrofolat Redüktaz (MTHFR) Polimorfizmi ve Trombofili

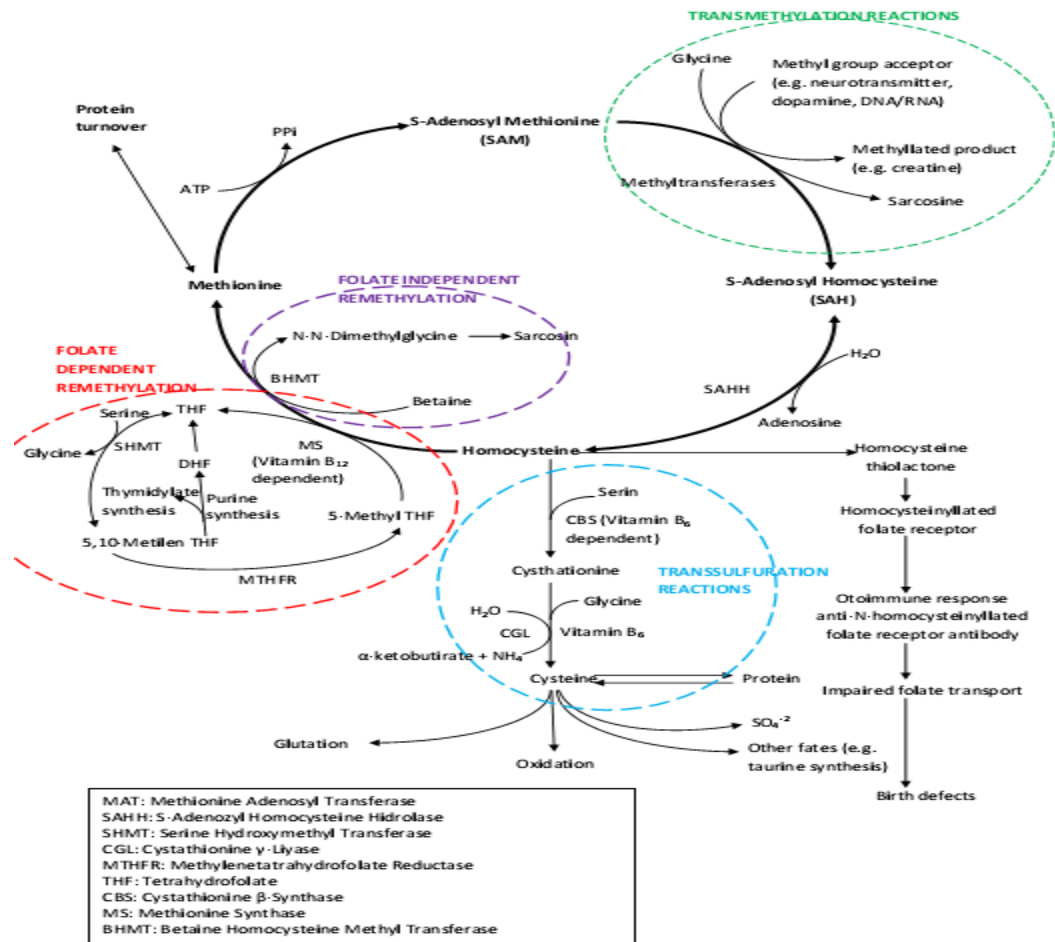
Pıhtı oluşumu koagülasyon faktörlerindeki dengenin bozulması, damar duvarı hasarı ve staz nedeniyle oluşabilmektedir. Trombofili ise koagülasyon sistemindeki dengenin koagülasyon lehine bozulması durumudur. Son zamanlarda ilgi kötü gebelik sonuçlarının altında yatabilecek bir neden olarak, büyük oranda kalıtsal trombofili üzerine odaklanmıştır. Kalıtsal trombofilik faktörler toplumda oldukça siktir. Herediter veya kazanılmış nedenleri bulunmaktadır [16]. Herediter trombofililer arasında en sık izlenenler; Faktör V Leiden, Protrombin G20210A, MTHFR enzim mutasyonları ile Antitrombin III, Protein C ve Protein S eksiklikleridir. Beyaz ırkın % 10-15'inde kalıtsal trombofilik faktör mutasyonu taşıyıcılığı vardır [17]. Mutasyonlar genellikle otozomal dominant kalıtım gösterirler. Sık görülen bu faktörler orta derecede pıhtılaşma eğilimi yaratır. Protein S, protein C, antitrombin yetmezlikleri ise daha nadir olup, ciddi pıhtılaşma eğilimi yaratırlar.

2.1.1. MTHFR C677T ve A1298C Mutasyonları ve Hiperhomosisteinemi

Homosistein, metiyonin metabolizmasında yer alan bir ara üründür [18,19]. Homosisteinin tek kaynağı olan metiyonin ise; hayvansal gıdalar, özellikle de proteinler ile alınan esansiyel bir aminoasittir [20]. Yüksek plazma homosistein düzeylerinin; preeklampsi, spontan düşükler, ablasyo plasenta, nöral tüp defektleri, yarı damak/dudak konotrunkal kalp anomalileri ve tekrarlayan gebelik kayıpları ile ilişkili olduğu ortaya konmuştur [13,14,21-24]. Ayrıca hiperhomosisteinemi akut myokard infarktüsü ve trombotik olaylara neden olduğu bilinmektedir [25,26].

Metiyonin ve homosistein metabolizmasında temel olarak üç yol vardır: transmetilasyon, remetilasyon ve transsülfürasyon yolları (Bkz. Şekil 2.1.1). Transmetilasyon yolunda; metiyonin, evrensel metil grubu donörü olan S-adenozilmetionin'e (SAM) dönüştürülür. SAM ise DNA ve RNA sentezi ve lipid, protein, nörotransmitter ve hormon sentezinde kullanılmaktadır [27]. SAM'ın kullanımı sonucu S-adenozilhomosistein (SAH) oluşur, bu ise homosisteine dönüştürülmektedir. Oluşan homosistein tekrar metil grubu eklenerek metiyonine

dönüştürülmektedir. Bu dönüşüm folat bağımlı veya bağımsız olarak gerçekleştirilebilmektedir [28]. Folat bağımlı mekanizmada; 5,10-metilentetrahidrofolat'ı (5,10-metilen-THF) 5-metiltetrahidrofolat'a (5-metil-THF) indirgemedede metilentetrahidrofolat redüktaz (MTHFR) enzimi rol oynamaktadır. 5-metil-THF'tan metil grubu alan homosistein, metiyonin'e dönüşmekte ve bu reaksiyon da B12 vitaminin kofaktörlüğü ile metiyonin sentaz enzimi ile gerçekleşmektedir. Homosistein'in folat bağımsız remetilasyonu ise, betain-homosistein S-metiltransferaz enzimi ile sağlanmaktadır [19,29]. Transsülfürasyon işleminde ise sistation beta-sentaz (CBS) enzimi ile homosistein önce sistation'a, daha sonra da sistein ve glutatyon'a dönüştürülür. Bu işlem basamaklarında, B6 vitamini kofaktör olarak görev almaktadır. Homosisteinin hücreden uzaklaştırılmasının bir diğer ise hücre dışına salınmasıdır.



Şekil 2.1.1. Metiyonin ve Homosistein Metabolizması [30]

Plazma homosistein düzeyinin temel olarak beslenme ve genetik faktörlerden etkilendiği düşünülmektedir [19,31]. Plazma homosisteinindeki değişikliklerin, metiyonin döngüsünün aktivitesini yansıttığı öne sürülmüştür [32].

Plazma değerlerine göre hiperhomosisteinemi üç grupta incelenir. 12-30 $\mu\text{mol/L}$ arasındaki değerler hafif, 30-100 $\mu\text{mol/L}$ arasındaki değerler orta, 100 $\mu\text{mol/L}$ 'nin üzerindeki değerler ise ciddi hiperhomosisteinemi olarak değerlendirilir. Gebelikte ise homosistein değerleri açısından güvenli olarak değerlendirilebilecek değerler 10 $\mu\text{mol/L}$ seviyesinin altı olarak tanımlanmıştır. Bu seviyenin üzerindeki değerlere müdahalenin gerekli olduğu bildirilmiştir [18,27].

2.1.1.1. Homosistinopati, Plasentanın Vasküler Sisteminde Endotel Harabiyeti ve İntrauterin Perfüzyon Bozukluğu

Hiperhomosisteinemi; vasküler morfolojinin bozulmasına, inflamasyonun uyarılmasına, endotel hücrelerinin ve pıhtılaşma yolağının uyarılmasına neden olur ve fibrinolizi önler. Sonuç olarak hiperhomosisteinemi; endotelial antitrombotik fonksiyonun kaybına ve pıhtılaşmaya eğilimli bir ortamın oluşmasına neden olur. Oluşan hasarın en bilinen şekli, homosisteinin yol açtığı oksidatif streştir [18]. Plasental vasküler yatak açısından bakıldığında, hiperhomosisteineminin etkisinin spiral venlerde ortaya çıktığını bilmekteyiz. Spiral ven endotelinde oluşan hasar sonucu ortaya çıkan hücre yıkım ürünleri ve yüksek homosistein düzeyi, koryonik villusların yüzeyini kaplayan sinsityotrofoblastlar üzerinde toksik etki oluşturmaktadır. Bu etki sonucu, sinsityotrofoblastların fizyolojik apoptozis süreci bozulur ve hücre yıkımı artar. Bu durum aponekrozis olarak adlandırılır. Sinsityotrofoblastların hasarı sonucu oluşan hücre yıkım ürünleri de spiral venlerde ikincil endotelial hasar sürecinin başlatır. Bu kaskad sonucu maternal dolaşıma geçen yıkım ürünleri graft versus host (GVH) reaksiyonu benzeri bir tabloya neden olur. Hiperhomosisteineminin bu etkileri sonucu; tekrarlayan erken gebelik kayıpları, erken başlangıçlı preeklampsi, nöral tüp defektleri, fetal konotrunkal kalp anomalileri gibi gebelik komplikasyonları gelişmektedir [33-36].

Homosistein metabolizmasında yer alan enzimlerin polimorfizmi sonucu, homosisteinin plazma değerleri etkilenmektedir [37]. Otozomal dominant geçişli

CBS enzimi gen mutasyonunda oral metiyonin yüklemesinden sonra homosistein düzeylerinin yükseldiği görülür. Diğer etkili olabilecek gen mutasyonları metiyonin sentaz (MS) ve metiyonin sentaz redüktaz (MSR) enzimlerine ait mutasyonlardır; ancak bu mutasyonların klinik önemi tamamıyla ortaya konulmamıştır [23]. MTHFR enzimine ait gen polimorfizmlerinin artmış plazma homosistein seviyeleri ve artmış tromboz riski ile ilişkili olduğu bilinmektedir [22]. MTHFR C677T polimorfizmi (TT genotipi) yüksek homosistein değerleri ve DNA hipometilasyonu ile ilişkilidir [37]. TT genotipi için homozigot olan bireyler; heterozigot veya normal olanlarla karşılaştırılmış ve daha yüksek homosistein değerlerinin olduğu saptanmıştır [38]. TT homozigotluğunun prevalansının % 6-12 düzeyinde olduğu ortaya konmuştur [39]. MTHFR A1298C gen mutasyonu da, C677T kadar olmasa da MTHFR aktivitesini azaltır. Bu gen mutasyonu için homozigot veya heterozigot olan bireylerde belirgin hiperhomosisteinemi görülmez. Ancak farklı allellerde C677T ve A1298C mutasyonu taşıyan (compound heterozigot) kişilerde artmış homosistein düzeyleri saptanmıştır [40]. MTHFR aktivitesindeki düşüş sonucu ortaya çıkan hiperhomosisteineminin; folat, B6 veya B12 vitaminlerinin eksikliğinde klinik olarak önemli durum arz ettiği öne sürülmüştür [41]. Dolayısı ile metilasyon yollarında kofaktör görevi üstlenen bu vitaminlerin, düzgün ve yeterli desteği sayesinde bu durumun önüne geçilebilir.

2.2. Herediter Trombofililer ve Kötü Obstetrik Sonuçlar

Preeklampsi, fetal büyüme geriliği, preterm doğum, ölü doğum ve plasenta dekolmanı perinatal morbidite ve mortaliteye önemli katkıda bulunmaktadır. Daha önce anlatıldığı üzere Faktör 5 Leiden mutasyonu, Protrombin 20210 gen mutasyonu, Antitrombin III eksikliği, Protein C ve S eksikliği ile MTHFR enzimine ait mutasyonların yukarıda sayılan komplikasyonlar ile birlikteliği uzun süredir öne sürülmektedir [42-44].

Çok sayıda vaka-kontrol çalışması herediter trombofililer ile kötü gebelik sonuçlarını göstermesine rağmen sonuçlar heterojendir ve az sayıda prospektif kohort çalışma bulunmaktadır. Vaka-kontrol çalışmalarının metaanalizleri de bu pozitif ilişkiyi ortaya koymuştur. Robertson ve arkadaşlarının yaptıkları 79 çalışmayı

inceleyen bir metaanalizde herediter trombofilisi olan hastalarda venöz tromboemboli, erken gebelik kaybı, geç gebelik kayıpları, preeklampsi, plasenta dekolmanı ve IUGR riskinde artışı ortaya koymuştur [45]. Heather ve arkadaşlarının yapmış oldukları 10 vaka-kontrol çalışmasını içeren bir sistematik derlemede ise Faktör V Leiden mutasyonu ve IUGR arasında önemli bir ilişki saptanmıştır (OR: 2.7, %95 CI, 1.3-5.5). Benzer ilişki protrombin gen mutasyonu olan bireylerde de saptanmıştır (OR: 2.5, %95 CI: 1.3-5.0) [46].

Benzer şekilde Said ve arkadaşlarının trombofilik durumları daha önceden bilinmeyen nullipar hastalarda yaptıkları prospektif bir çalışmada protrombin gen mutasyonunun şiddetli preeklampsi, IUGR, plasenta dekolmanı ve ölü doğum gibi gebelik komplikasyonlarını 3.6 kat arttırdığını ve bu artışın özellikle plasenta dekolmanında daha belirgin olduğunu bildirmişlerdir [44]. 392 gebeyi değerlendiren bir çalışmada Faktör V Leiden mutasyonunun plasenta dekolmanı ve ölü doğum riskini 9.1 kat arttırdığı ve MTHFR 677 mutasyonlarında da gebelikteki folat ve vitamin B12 takviyesi ve normal serum değerlerine rağmen plasenta dekolmanı riskinde 4.8 katlık bir artış olduğu saptanmıştır [47].

2.2.1. MTHFR Mutasyonları ile Perinatal Komplikasyonlar (Perinatal Morbidite ve Mortalite) Arasındaki İlişkiler

Diğer herediter trombofililer ile karşılaştırıldığında trombojenik etkisi daha zayıf olduğu düşünülen MTHFR enzim mutasyonlarının gebelikteki komplikasyonlar ile ilişkisi ortaya konulmuştur. MTHFR 1298 mutasyonu olan 1080 hasta ve 709 kontrolü içeren bir metaanaliz bu mutasyonun tekrarlayan erken gebelik kayıplarında bir risk faktörü olduğunu belirtmiştir [48]. Yine 200 hasta ve 300 kontrolden oluşan bir çalışmada MTHFR enzim mutasyonları ile tekrarlayan erken gebelik kayıpları arasında güçlü bir ilişki bulunmuştur [49]. MTHFR enzim mutasyonları erken gebelik kayıpları dışında çeşitli perinatal komplikasyonlar ile birliktelik göstermektedir.

2.2.1.1. MTHFR polimorfizmi ve Preeklampsi

Önemli bir perinatal morbidite ve mortalite nedeni olabilen preeklampsinin MTHFR 677 ve 1298 polimorfizmi ile birlikteliği uzun süredir bilinmektedir. Li ve arkadaşlarının yapmış olduğu 6,238 preeklampitik hasta ve 11,771 sağlıklı bireyi içeren bir metaanalizde MTHFR 677 polimorfizminin özellikle şiddetli preeklampsi için bir risk faktörü oluşturduğu saptanmıştır (OR 1.43; 95% CI 1.12-1.83) [50]. Başka bir çalışmada ise nullipar preeklampitik kadınları incelenmiş ve MTHFR 1298 polimorfizminin bu kadınlarda daha sık olduğu ortaya konmuştur. Bu çalışmada MTHFR 1298 homozigot mutasyonu preeklampitik bireylerde %15,3 oranında izlenirken, normal gebe popülasyonunda % 0,7 oranında izlenmekteydi ($p<0,05$) [51].

2.2.1.2. MTHFR polimorfizmi ve Preterm Doğum

MTHFR enziminin mutasyonu preterm doğum yapan hastalarda daha sık izlenmektedir. 50 preterm doğum yapan hasta ve 50 term doğum yapan kontrolü içeren bir çalışmada preterm doğum yapan grupta MTHFR 677 ve 1298 polimorfizmi daha sık saptandı. Bu çalışmada 677 mutasyonu (heterozigot veya homozigot) preterm doğum yapan grupta %50 iken kontrol grubunda %36 idi ($p: 0,201$) ve 1298 mutasyonu (heterozigot veya homozigot) ise sırasıyla %66 ve %52 oranındaydı ($p: 0,361$) [52]. Engel ve arkadaşlarının yaptığı vaka kontrol çalışmasında ise MTHFR 677 polimorfizminin preterm doğum riskini 1.2 kat arttırdığı saptanmıştır [53]. Yine benzer şekilde 22-36. haftalar arasında doğum yapan kadınlarla sağlıklı kontrol grubunu karşılaştıran bir çalışmada MTHFR 677 polimorfizminin preterm doğum yapan grupta 1,98 kat yüksek olduğu tespit edilmiştir (95% CI 0.97 – 4.08).

2.2.1.3. MTHFR polimorfizmi ve İntrauterin Gelişme Geriliği

Çeşitli herediter trombofili nedenlerinin IUGR ile olan ilişkisi uzun süredir bilinmektedir. MTHFR enzim mutasyonlu ile olan ilişkisi açısından değerlendirildiğinde; Mirzaei ve arkadaşlarını 25 IUGR'li fetüs ve 25 kontrol ile

yapmış oldukları vaka kontrol çalışmasında MTHFR mutasyonu IUGR olan grupta daha yüksek oranda saptanmıştır (p=0.037; OR: 3.69) [54]. Başka bir çalışmada ise Said ve arkadaşları ise MTHFR 677 polimorfizmi ile IUGR arasında belirgin bir ilişki yokken MTHFR 1298 polimorfizminin ise koruyucu olduğunu saptamışlardır.

2.2.1.4. MTHFR polimorfizmi ve Ablasyo Plasenta

Plasental dekolman açısından da MTHFR polimorfizmi bir risk faktörü oluşturmaktadır. Danimarka Ulusal Doğum Kohort Datasında elde edilen veriler normal bireylerle karşılaştırıldığında MTHFR 677 heterozigot mutasyonunun varlığının plasenta dekolmanı riskini 1,13 kat, MTHFR 677 homozigot mutasyonun ise 1,18 kat arttırdığı tespit edilmiştir [55].

2.2.2. MTHFR Mutasyonları ve Homosisteinemi ile Genetik Problemler Arası İlişkiler

“Genetik problemlili fetüs” kavramı, konsepsiyonun oluşumundan gebeliğin sonlanmasına kadar intrauterin hayatta, fetüsü değişik seviyelerde etkileyen üç ana faktörden oluşur: Yapısal anomaliler, kromozom anomalileri ve gen mutasyonları. Yapısal anomaliler nöral tüp defektleri, kardiyak anomaliler gibi konjenital anomalileri tanımlar. Kromozom anomalileri, kromozom setlerindeki sayısal bozuklukları kapsar. Gen mutasyonları ise tek gen hastalıkları veya kromozom düzeyindeki hataları kapsar.

Kromozom anomalileri, spontan abortusların ana sebebidir ve vakaların %50 ile 60’ından sorumludur [56,57]. Ayrıca, tespit edilebilen kromozom anomalilerinin %94’ünün, klinik fetal kayıplarla ilişkili olduğu, yani kromozom anomalisi olan gebeliklerin çok büyük bir kısmının kaybedildiği bilinmektedir. Kromozom bozukluklarına en sık non-disjunction (kromozomların ayrılmaması/bölünmemesi) neden olur. Bunun dışında anafaz safhasındaki gecikme ve metiyonin sentezinde genetik ve/veya metabolik sorunlar nedeniyle oluşan defektler kromozom anomalilerine ve gen mutasyonlarına neden olmaktadır.

MTHFR enzimi, homosisteinin folat bağımlı metilasyonunda rol oynayan anahtar enzimdir. Bu enzim 5,10-metilentetrahidrofolat'ın 5-metiltetrahidrofolat'a dönüşümünü katalize eder. 5-metiltetrahidrofolat, folik asit'in dolaşımında bulunan formudur ve birçok reaksiyonda metil grubu vericisi olarak yer alır. Bunlar arasında nükleotid sentezi, homosistein'in metiyonin'e remetilasyonu, S-adenozil-metionin (SAM) sentezi ve DNA'nın metilasyonu yer almaktadır. MTHFR enzimine ait polimorfizmlerde, enzim aktivitesi azaldığı için hiperhomosisteinemi gelişir ve metil grup vericisi olan SAM sentezi azalır. SAM sentezinin azalması, oositlerde DNA metilasyonunun bozulması yoluyla kromozomal anomalilere neden olmaktadır. Folik asit eksikliği, DNA'nın anormal metilasyonu, hipometilasyon nedeniyle non-disjunction oluşumu, DNA zincir kırıkları, kromozom segregasyonunda anormallikler ve DNA'ya aşırı urasil katılması ile ilişkilidir [58].

Homosistein'in metiyonin'e remetilasyonunda metiyonin sentaz enzimi görev alır ve kofaktörü B12'dir. B12 vitamini eksikliğinin hiperhomosisteinemiye yol açtığı bilinmektedir. Hiperhomosisteinemi spontan abortus, tekrarlayan gebelik kayıpları ve kromozomal anormallikler ile ilişkili olduğu çeşitli çalışmalarla ortaya konmuştur [12,38,59-61].

MTHFR enzimine ait polimorfizmlerin, folik asit ile B12 vitamini eksikliklerinin ve hiperhomosisteineminin konjenital yapısal anomalilerle ilişkili olduğu çeşitli çalışmalarla ortaya konmuştur. Bu kapsamda yapılan ilk çalışmalar nöral tüp defektleri ile ilgilidir [62-64]. Bu ilişkinin ortaya konmasını takiben MTHFR C677T polimorfizmi ile nöral tüp defektlerinin ilişkili olduğu saptanmıştır [65]. 2010 yılında yapılan bir araştırmada, nöral tüp defekti saptanan olguların beyin dokularında DNA hipometilasyonu saptanmıştır. Bu durumun MTHFR T677T (homozigot) olan grupta anlamlı olduğu ortaya konmuştur. Sadece maternal polimorfizmlerin değil, fetusa kalıtılan mutasyonların da bu anomalilerde rol oynadığı sonucuna varılmıştır [66].

MTHFR C677T polimorfizmi ve hiperhomosisteineminin, konjenital kardiyak anomaliler ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Bu ilişkinin, metiyonin metabolizması defektleri sonucu, DNA hipometilasyonu nedeniyle olduğu

belirtilmiştir [67,68]. Benzer şekilde yarık dudak-yarık damak ve omfalosel ile de ilişki ortaya konmuştur [69,70].

2.3. MTHFR Polimorfizminde Gebeliğin Yönetimi ve Tedavi

MTHFR polimorfizmine sahip olan bireyler normal hayatlarında da hiperhomosisteineminin neden olduğu vasküler komplikasyonlara yatkınlığa sahip olma eğilimindedirler. MTHFR polimorfizmi olan bireylerde birey heterozigot olsa bile klasik mendelyal kalıttan farklı olarak enzim aktivitesi normal popülasyon ile karşılaştırıldığında azalmış olarak saptanmakta ve bu enzimin rol almış olduğu transmetilasyon ve remetilasyon yollarında temel sorunlar meydana gelmektedir. Bu nedenle bu hastalara patofizyolojik süreçlerde göz önüne alınarak gerekli tedavinin verilmesinde fikir birliği bulunmaktadır.

Homosisteinopatiden korunmak amacıyla düşük doz asetilsalisilik asit (100 mg/gün) verilmektedir. Yine MTHFR enzimi için kofaktör durumunda olan vitamin B12 ve folik asit düzeylerinin plazma düzeyleri değerlendirilerek gerektiği durumlarda replase edilmektedir. Ayrıca hastalara “metiyoninden fakir diyet” verilerek enzim indüksiyonu yapılmaya çalışılmaktadır. Hastalar gebe kaldıklarında ise düşük molekül ağırlıklı heparin verilmektedir.

3. BİREYLER VE YÖNTEM

3.1. Bireyler

Çalışmaya, Hacettepe Üniversitesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı Perinatoloji Bilim Dalı'nda 2002-2012 yılları arasında çeşitli nedenlerle yüksek riskli (tekrarlayan erken gebelik kaybı öyküsü, intrauterin gelişme geriliği, oligohidramniyoz, özellikle membran rüptürü ile seyreden preterm eylem, preeklampsi, ablasyo plasenta, perinatal mortalite, fetal kromozomal/yapısal anomali öyküsü vb.) kabul edilerek MTHFR enzim mutasyonu açısından değerlendirilen hastalar dahil edildi. Aynı yıllar arasında Anabilim Dalında toplam 14440 gebelik takibi ve doğumu gerçekleştirilmiştir. Öncelikle MTHFR enzim mutasyonları açısından değerlendirilmiş olan 667 hasta belirlendi. Bu hastalardan 617 tanesinin tam olarak laboratuvar inceleme sonuçlarına ve gebelik sonuçlarına ulaşılabildi. 50 hasta MTHFR enziminin 1298 mutasyonuna bakılmadığı veya hastaların dosya kayıtlarındaki çeşitli eksiklikler nedeniyle çalışma dışı bırakıldı.

Bu vakalar; MTHFR enziminin 677 ve 1298 mutasyonu açısından sınıflandırıldı. Hastalar 3 gruba ayrılarak incelendi:

Grup I: MTHFR enziminin 677 veya 1298 homozigot mutasyonları ile bunların compound heterozigot mutasyonları

Grup II: MTHFR enziminin 677 veya 1298 heterozigot mutasyonları

Grup III: MTHFR enziminde 677 ve 1298 mutasyonu bulunmayan yüksek risk grubundaki hastalar (erken gebelik kayıpları ve perinatal komplikasyonlar açısından)

Her gruptaki hastaların bulguları 4 temel gebelik komplikasyonu açısından sınıflandırıldı:

I. Erken gebelik kayıpları

a. Blighted ovum-anembriyonik gebelik

b. 8-10. gestasyonel haftadan önce fetal kardiyak aktivitenin kaybolması

c. 10-22. gestasyonel haftalar arasındaki fetal kayıplar

II. Perinatal komplikasyonlar

II.1. Perinatal Morbidite

- a. Preterm eylem (erken membran rüptürü de dahil)
- b. İntrauterin büyüme geriliği/oligohidramniyoz
- c. Preeklampsi
- d. Ablasyo plasenta

II.2. Perinatal Mortalite

III. Genetik bozukluklar

- a. Kromozomal bozukluklar
- b. Non-kromozomal/yapısal bozukluklar
- c. Tek gen bozuklukları
- d. Diğer açıklanamayan bozukluklar

Not: Bu çalışmada perinatal komplikasyonlar tek tek değil kompozit olarak kullanılmıştır. Perinatal morbidite “kompozit yapısı” içinde yukarıda belirtilen 4 kalem bulunmaktadır. Yer yer her komplikasyon tek tek de değerlendirilmiştir.

Hastaların dosyaları ve elektronik kayıtları retrospektif olarak incelendi. Nitel veriler için üç grup arasında karşılaştırma ki-kare analizi ile yapıldı. Ölçümle elde edilen sürekli sayısal veriler için grup karşılaştırmaları verinin yapısına göre parametrik veya parametrik olmayan yöntemler kullanılarak yapıldı.

Dördüncü basamak sağlık kuruluşu olarak çalışan ünitemizde; polikliniğe ilk başvuruda hastaların medikal ve obstetrik hikâyeleri alınmakta, son adet tarihlerine göre gebelik haftaları hesaplanmakta ve ultrasonografik olarak gebelik haftaları doğrulanmaktadır. Hastalara; polikliniğe başvurdukları gestasyonel yaşa göre, birinci veya ikinci trimester fetal anöploidi taraması yapılmakta ve tüm gebeler fetal anatomi taraması için 18-22. haftalar arası değerlendirilmektedir. Çalışma grubundaki hastaların tamamının, merkezimizde yapılan düzenli perinatal tarama ve tanı programlarından geçtiği, gelişebilecek komplikasyonlara karşı erken dönemde müdahale edildiği göz önünde bulundurulmalıdır. Bu durum, maternal ve perinatal

morbidite ve mortalite oranları açısından önem arz etmektedir. Stratejik olarak, hastaların gebe kalmadan önce takibe alındığı ve gerekli tıbbi uygulamaların ardından gebeliğine izin verildiği de akılda tutulmalıdır.

➤ **Çalışmaya Alınma Kriterleri:**

- Tanısı, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı, Perinatoloji Bilim Dalı'nda konulmuş ve gebelik izlemi merkezimizde olan ve sonuçlanan MTHFR enzim mutasyonu ve/veya mutasyonlarına bağlı DNA metilasyon bozukluğu olan yüksek riskli olgular, bu enzim mutasyon ve/veya mutasyonları bulunmayan yüksek riskli olgular.
- Ocak 2002 – Aralık 2012 tarihleri arasında Hacettepe Üniversitesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı Perinatoloji Bilim Dalı'nda değerlendirilmiş olması.
- Gebeliğinin Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesinde sonuçlanmış olmasıdır.

➤ **Çalışmaya Alınmama Kriterleri:**

- Gebeliği Hacettepe Üniversitesi Hastanesi dışında bir merkezde sonuçlanan olgular.
- Takipleri düzenli olarak Hacettepe Üniversitesi Hastanesi'nde yapılmayan olgular.

3.2. Yöntem

Hacettepe Üniversitesi Kadın Hastalıkları Anabilim Dalı Perinatoloji Bilim Dalı'nda, Ocak 2002 ve Aralık 2012 tarihleri arasında, aynı öğretim üyesinin çalışma kriterlerine uyan hastaları çalışmaya dahil edilmiştir. Bu vakaların; demografik özelliklerine, medikal ve obstetrik hikâyelerine, gebelik takip kayıtlarına dosyaları taranarak ulaşılmıştır. Gebeliği başka bir merkezde sonuçlanan hastalar çalışma dışında tutulmuştur. Hastaların obstetrik öykülerine, perinatal morbidite ve mortalite sonuçlarına, son gebelikte aldığı tedaviye “veri tabanı” üzerinden ve gerekli durumlarda;

- Perinatoloji kayıt sistemi esas alınarak,
- Söz konusu öğretim üyesinin kişisel kayıtları taranarak,
- Hasta dosyaları taranarak,
- Hastalar telefon ile aranıp anket formu doldurularak,
- Elektronik kayıt sistemi incelenerek (Epikrizler, ilaç raporları, doğum raporları)
- Doğum kayıt defterleri incelenerek,
- Ameliyathane, günlük cerrahi kayıt defteri incelenerek ulaşıldı.

Hastaların laboratuvar inceleme sonuçlarına;

- Hasta dosyalarından,
- Elektronik laboratuvar sonuçları kayıt sisteminden,
- Doğum defterlerinden ulaşıldı.

Gebelik sonuçlarına ise, elektronik kayıtlardan ve Yenidoğan Yoğun Bakım Servisi kayıtlarından ulaşılmıştır.

Hastaların herediter trombofili mutasyon tetkikleri sonuçlarına elektronik kayıtlardan ve serinin sahibi öğretim üyesinin kişisel kayıtlarından ulaşıldı.

Çalışmamızdaki birincil amacımız; MTHFR enzim mutasyon varlığı veya yokluğunun yukarıda anlatılan gebelik sonuçları ile olan ilişkisini araştırmaktır. İkinci amacımız ise bu hasta gruplarında verilen tedavinin son gebeliklerdeki etkinliğini değerlendirmektir.

3.2.1. “Beksaç Obstetrik İndeksi”

Doğum hekimliğindeki *değerlendirme problemlerinden* bir tanesi de “Obstetrik hikayenin” değişik hasta gruplarının karşılaştırılmasında kullanılma biçimidir. Çalışma gruplarındaki hastaların gravidaları farklı olabildiği gibi “obstetrik özgeçmişleri” de değişkenlik gösterebilmektedir. Bu husus, hastaların ve hasta gruplarının kümülatif değerlendirilmelerinde sorun yaratmaktadır. **“Beksaç**

Obstetrik İndeksi ve Eğrileri” bu sorunu aşmak için kullanılan bir aritmetik yaklaşımdır.

Hastaların sorunsuz gebelik geçirmeleri en büyük beklentileridir. Her gebenin gebeliğinin sonunda sağlıklı bir çocuğu evine götürmek istemesi kadar doğal bir beklentisi yoktur. Yüksek riskli gebeliklerde ise bu oran normal popülasyon ile karşılaştırıldığında daha düşük oranlarda bulunmaktadır. Biz bu çalışmada hastaların toplam yaşayan çocuk sayısını (Y) sabit bir değer ($\Pi/10$) ile toplamının toplam gebelik sayısına oranını “Beksaç Obstetrik İndeksi” olarak tanımladık.

$$\text{“Beksaç” Obstetrik İndeksi} = \frac{\text{Yaşayan Çocuk sayısı} + (\Pi/10)}{\text{Toplam Gebelik Sayısı}}$$

3.2.2. MTHFR Polimorfizminde Gebelik Öncesi ve Gebelikte Tedavi Yaklaşımı

Çalışma grubundaki hastalar, çoğunlukla kötü obstetrik öyküleri nedeniyle gebelik öncesinde tetkik ve medikal tedavilerine başlandıktan sonra kontrollü şekilde gebeliklerine izin verilmiş bireylerden oluşmaktadır. Bu gruptaki hastalara, herediter trombofiliye neden olan MTHFR mutasyonları için homozigot veya compound heterozigot olan olgulara, gebelik öncesinde metiyoninden (gerekli durumlarda folat’tan) fakir diyet, düşük doz asetilsalisilik asit (100 mg), folik asit, vitamin B12-B1-B6-B2-B3 desteğinde bulunuldu. Hastalarda; gebe kalır kalmaz, düşük doz düşük molekül ağırlıklı heparin tedaviye eklendi. Bu arada, varsa sistemik problemlerine yönelik tıbbi uygulamaların planlamaları yapılmıştır. Hastalar rutin gebelik kontrollerini Perinatoloji Bilim Dalı’nda düzenli olarak sürdürmüşlerdir.

3.3. İstatistiksel Analiz

Çalışmada elde edilen bulguların istatistiksel analizi, SPSS 17.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) istatistik yazılımı kullanılarak yapılmıştır. Nitel veriler için (erken gebelik kayıpları (22. haftaya kadar), erken doğum sıklığı (membran rüptürü

ile beraber gidenler dahil), intrauterin gelişme geriliği/oligohidramniyoz, preeklampsi, plasentanın yetersiz implantasyon ve dekolmanı gibi) karşılaştırma ki-kare analizi ile yapılmıştır. Ki-kare analizi sonunda, gruplar arası farklılık bulunduğu; hangi grubun farklılık yarattığı, tek tek gruplar için ki-kare değerleri hesaplanıp, en büyük ki-kare değerine sahip grup alınarak bulundu. Ölçümle elde edilen sürekli sayısal veriler için (doğum ağırlığı, doğum haftası gibi) grup karşılaştırmaları verinin yapısına göre parametrik veya parametrik olmayan yöntemler kullanılarak yapılmıştır. İstatistiksel analizlerde p değerinin <0,05 olması anlamlı olarak kabul edildi.

3.3.1. Kontrol ve Karşılaştırma Gruplarının Seçimi

Çalışmanın kapsadığı zaman süresince zarfında Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı poliklinikleri ve Perinatoloji Bilim Dalı'na başvuran yukarıda anlatılan şekilde yüksek risk taşıyan toplamda 667 hasta MTHFR enzim mutasyonu açısından değerlendirildi. MTHFR enzim 1298 mutasyonuna bakılmamış veya çeşitli nedenlerle hasta dosyalarında eksiklikler bulunan 50 hasta çalışmaya alınmadı. MTHFR enzimi mutasyonu açısından değerlendirilerek çalışmaya alınan 617 hastanın tamamı gebeliklerinin başından itibaren Hacettepe Üniversitesi'nde takip edilmiş olup doğumları yine aynı merkezde gerçekleşen hastalardan oluşmaktadır. **Grup I** (Homozigot) 227 hastadan; **Grup II** (Heterozigot) 257 hastadan ve **Grup III** (riskli hastalardan oluşan kontrol grubu) 133 hastadan oluşmaktaydı.

3.4. Etik

Çalışmamız, Dünya Tıp Birliği Helsinki Bildirgesi'ne uygun olarak düzenlenmiştir. Çalışma protokolü 04.09.2014 tarihinde toplanan, Hacettepe Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'nun **GO 14/443-34** numaralı kararınca uygun görülmüştür.

4. BULGULAR

4.1. Hastaların Özellikleri

Çalışma grupları, önceden belirtilen şekilde 3 grup (Grup I, Grup II ve Grup III) ve 617 hastadan oluşmuştur. Çalışma popülasyonunu oluşturan grupları, hasta sayıları (n) ve hasta yüzdeleri (%) Tablo 4.1.1.' de verilmiştir.

Tablo 4.1.1. Çalışma gruplarının hasta dağılımı.

Grup Numarası	Hasta sayısı (n)	%
I	227	36,8
II	257	41,7
III	133	21,6
Toplam	617	100

Çalışma popülasyonunu oluşturan gruplardaki hastaların demografik ve obstetrik hikaye özellikleri (gravida, parite, abortus, yaşayan çocuk sayısı, blighted ovum (*boş gebelik*), intrauterin eksitus, postpartum eksitus, dilatasyon ve küretaj, molar gebelik, tıbbi terminasyon, anomalili çocuk öyküsü) Tablo 4.1.2.'de verilmiştir. Gruplar arasındaki yaş farkının analizi için One-Way Anova testi ve diğer parametreler için Kruskal-Wallis sıralamalı tek-yönlü varyans analiz testi kullanıldı.

Hastaların demografik özellikleri ve obstetrik öyküleri incelendiğinde yaş, gravida, blighted ovum, postpartum eksitus, intrauterin eksitus, dilatasyon ve küretaj, ektopik gebelik, molar gebelik, preterm doğum öyküleri ve anomalili çocuk öyküleri arasında istatistiksel fark yokken abortus, yaşayan çocuk ve tıbbi nedenli terminasyonlar arasında fark mevcuttu. Yaşayan çocuğa sahip olma açısından değerlendirildiğinde; MTHFR enziminde homozigot mutasyonu olan hastalarda ortalama değer (mean) 0,42, MTHFR enziminde tek heterozigot mutasyonu bulunan hastalarda 0,60 ve MTHFR enziminde mutasyonu bulunmayan hastalarda 0,74 idi.

Görüldüğü üzere “homozigot” grup morbidite ve mortalite açısından en olumsuz gruptur. *Bu noktada MTHFR enzim mutasyonu negatif olan ve kontrol grubu olarak kullanılan Grup III’ün “yüksek riskli” bir hasta grubu olduğu akıldta tutulmalıdır.*

Tablo 4.1.2. Hastaların demografik ve obstetrik hikâye özellikleri.

	Grup I (n:227)	Grup II (n:257)	Grup III (n:133)	p değeri
Yaş (Ortalama \pm SS)	31,40 \pm 5,06	31,49 \pm 5,06	31,83 \pm 5,02	0,729 ^a
Gravida (Med (IQR))	3,0 (2,0-4,0)	3,0 (2,0-4,0)	2,0 (2,0-3,0)	0,095 ^b
Parite (Med (IQR))	1,0 (0-1,0)	1,0 (0-1,0)	1,0 (0-1,0)	0,057 ^b
Abortus (Med (IQR))	0 (0-2,0)	0 (0-1,5)	0 (0-1,0)	0,035^b
Yaşayan (Med (IQR))	0 (0-1,0)	0 (0-1,0)	1,0 (0-1,0)	0,000^b
Blighted (Med (IQR))	0 (0-0)	0 (0-0)	0 (0-0)	0,428 ^b
PPex (Med (IQR))	0 (0-0)	0 (0-0)	0 (0-0)	0,472 ^b
IUex (Med (IQR))	0 (0-0)	0 (0-0)	0 (0-0)	0,212 ^b
D&C (Med (IQR))	0 (0-0)	0 (0-0)	0 (0-0)	0,993 ^b
Ektopik (Med (IQR))	0 (0-0)	0 (0-0)	0 (0-0)	0,186 ^b
Mol gebelik (Med (IQR))	0 (0-0)	0 (0-0)	0 (0-0)	0,276 ^b
TT (Med (IQR))	0 (0-0)	0 (0-0)	0 (0-1)	0,059^b
Anomalili çocuk öyküsü (Med (IQR))	0 (0-0)	0 (0-0)	0 (0-0)	0,532 ^b

^a; bu değer One-Way Anova testi ile saptanmıştır. ^b; bu değer Kruskal Wallis testi ile hesaplanmıştır, Med: medyan, IQR: Interquartile range 25-75 (çeyrekler arası aralık 25-75), PPex: postpartum eksitus, IUex: intrauterin eksitus, TT: tıbbi terminasyon.

4.2. Hastaların İlk Gebeliklerinin Erken Gebelik Kayıpları ve Perinatal Komplikasyonlar (Perinatal Morbidite ve Mortalite) Açısından Değerlendirilmesi

Hastaların ilk gebeliklerindeki komplikasyonlar 4 temel gruba ayrılarak incelendi (Bu nedenle gravidası 1 olan 89 hasta bu kısmın analizinden çıkarıldı). Söz konusu komplikasyonlar; erken gebelik kayıpları, perinatal komplikasyonlar (intrauterin gelişme geriliği, oligohidramniyoz, özellikle membran rüptürü ile seyreden preterm eylem, preeklampsi, plasenta dekolmanı, perinatal mortalite gibi), term doğumlar ve anomalili doğumlardı. Hastaların ilk gebeliklerine ait özellikler Tablo 4.2.1’de verilmiştir.

Tablo 4.2.1 Hastaların ilk gebeliklerine ait komplikasyonlar.

	Grup I (n:205)	Grup II (n:254)	Grup III (n:132)	p değeri
Erken gebelik kaybı (n (%))	92 (%44,8)	105 (%41,3)	40 (%30,3)	0,059
Perinatal komplikasyonlar				
Perinatal morbidite (n (%))	3 (%1,4)	8 (%3,1)	6 (%4,5)	0,186
Perinatal mortalite (n (%))	23 (%11,2)	27 (%10,6)	8 (%6,0)	0,309
Term doğumlar (n (%))	52 (%25,3)	68 (%26,7)	55 (%41,6)	0,000
Anomalili doğumlar (n (%))	2 (%0,9)	10 (%3,9)	2 (%1,5)	0,389

Hasta gruplarına Pearson Chi-Square testi uygulandı ve ilk doğumdaki komplikasyonlar açısından anlamlı fark bulundu (p değeri: 0,012). Bu anlamlılıktan temel olarak gruplar arasındaki term doğumların dağılımı sorumluydu. (p değeri:0,000) **Obstetrik hikayeler geriye dönük olarak değerlendirilip ilk gebelikler incelendiğinde her 3 grupta da yüksek “erken gebelik kaybı ve perinatal komplikasyon” oranları tespit edildi** (Bu arada kontrol grubunun *MTHFR* mutasyonu negatif olmasına rağmen aslında yüksek riskli bir grup olduğu unutulmamalıdır). Normal popülasyonlarda düşük oranlarının % 10’larda olduğu

kabul edilirse, MTHFR mutasyonu olan hastalardaki 3,5-4 katlık artışın önemi ortadadır.

MTHFR enzim mutasyonunun şiddeti arttıkça (Grup I) erken gebelik kaybı artarken, term doğum oranlarında azalma gözlemlenmiştir.

4.3. Hastaların Son Gebeliklerinin Perinatal Komplikasyonlar (Perinatal Morbidite ve Mortalite) Açısından Değerlendirilmesi

Hastaların son gebeliklerine ait komplikasyonlar yine 4 temel gruba ayrılarak incelendi. Bunlar; perinatal komplikasyonlar (intrauterin gelişme geriliği, oligohidramniyoz, özellikle membran rüptürü ile seyreden preterm eylem, preeklampsi ve plasenta dekolmanı gibi), term doğumlar, perinatal mortalite ve anomalili doğumlardı. Hastaların son gebeliklerine ait özellikler Tablo 4.3.1.'de verilmiştir (*Bu Tablo'da "erken gebelik kayıpları/düşükler" bulunmamakta ve gebeliği devam eden hastaların değerlendirilmesi bulunmaktadır.*)

Tablo 4.3.1. Hastaların son gebeliklerine istatistiki bulgular.

	Grup I (n:227)	Grup II (n:257)	Grup III (n:133)	p değeri
Perinatal komplikasyonlar				
Perinatal morbidite (n)	94 (%41,4)	88 (%34,2)	29 (%21,8)	0,001
Perinatal mortalite (n)	2 (%0,9)	3 (%1,2)	7 (%1,1)	0,863
Term doğum (n)	123 (%54,2)	165 (%64,2)	99 (%74,4)	0,001
Anomalili doğum (n)	8 (%3,5)	1 (%0,4)	3 (%2,3)	0,043

Hasta gruplarına Pearson Chi-Square testi kullanılarak doğumdaki komplikasyonların farklılığı için istatistiksel analiz uygulandı.

Bu retrospektif çalışmaya dahil edilen hastaların son gebeliklerinin tümü prospektif olarak takip edilmiştir. 2011-12 yılları arasındaki olgular HÜ Beslenme ve Diyet Bölümünde tez olarak kullanılmış ve bu hastalarda (tedavi protokolü

uygulanan) erken gebelik kaybı % 10.8 olarak tesbit edilmiştir [30]. Obstetrik öyküleri kötü olması nedeni ile kontrol grubu olarak adlandırdığımız grup III hastaları da ağırlıklı olarak düşük molekül ağırlıklı heparin ve diğer gruplara benzer protokol tedavisi almışlardır (otoimmün hastalıklar, diğer tip herediter trombofililer vb).

Prospektif olarak takip edilen bu hastalarda (tedavi protokolü uygulanan hastalar) her 3 grupta da düşük perinatal mortalite oranları elde edilmiştir (Tablo 4.3.1). Hastaların tipik özelliği (özellikle, çalışma grubu olan I ve II’de) 34ncü gebelik haftasından itibaren servikal yapıda değişiklikler göstermesi ve *fetal gelişme de* başlayan sorunlar nedeni ile 36-37nci haftalarda müdahale edilerek hastaların doğurtulmuş olmasıdır (yayınlanmamış bulgular). Hastaların takibi ve tıbbi problemin seyri klasik obstetrik yaklaşımların dışında olması nedeni ile klasik istatistik yöntemlerin kullanılmasında çıkmazlar yaşanmıştır. Mesela 36. haftalardaki müdahaleler ve sağlıklı bebeklerin elde edilmesi, perinatal morbidite hanesine yazılmıştır. Bu nedenle Tablo 4.3.1. sağlıklı bulgular yansıtmamaktadır (*Gerçek anlamda mortalite ve morbiditeyi düşürmek için 35-36ncü gebelik haftalarında yapılan müdahale ve doğumlar “preterm doğum” kaleminin artmasına neden olmuştur*).

Bu hastaların ilk gebeliklerinde %30-45 oranında görülen “erken gebelik kayıpları” tedavi protokolünün uygulandığı, prospektif olarak takip edilen son gebeliklerinde % 10'lara düşmüştür. Perinatal mortalite oranları tedavi altındaki son gebeliklerinde yaklaşık 10 kat azalmış gibi durmaktadır.

Bu Tablo’dan elde edilebilecek sağlıklı bir bulguda MTHFR mutasyonu olanların uygulanan tedavi protokollerine rağmen erken doğurtulmuş olmaları gerçeğidir (*Bu grup hastalarda “intrauterin hipoksi asfiksiye dönüşmeden müdahale etme” prensibi uygulandığından iatrojenik preterm doğumlara neden olunmuştur. Bu tip perinatal tıp uygulamalarında “preterm” kavramı farklı tanımlanmalıdır!*).

4.4. Doğumdaki Gebelik Haftaları ve Doğum Ağırlıklarının Karşılaştırılması

Her üç gruptaki hastaların doğumdaki gebelik haftaları (ondalık) ve bebek doğum ağırlıkları (gram) One-Way Anova testi kullanılarak karşılaştırıldı. Test sonuçları Tablo 4.1.1.'de verilmiştir.

Üç grup arasında farkı araştırmak için yapılan test sonucunda doğumdaki gebelik haftaları arasında istatistiksel anlamlı bir fark bulunamazken doğum ağırlıkları arasında fark saptandı.

Tablo 4.4.1. Her üç gruba ait doğum haftalarının ve bebek ağırlıklarının analizi.

		Ortalama \pm SS	CI (%95)		p değeri
			Alt sınır	Üst sınır	
Doğum Haftası	Grup I	36,67 \pm 2,06	36,40	36,94	0,125
	Grup II	36,91 \pm 1,77	36,69	37,13	
	Grup III	37,09 \pm 2,01	36,74	37,43	
Doğum Ağırlığı	Grup I	2839,6 \pm 519,3	2771,6	2907,5	0,030
	Grup II	2895,6 \pm 475,3	2837,2	2954,0	
	Grup III	2988,2 \pm 566,5	2891,0	3085,4	

Doğum ağırlıkları arasındaki farkın hangi gruplar arasından kaynaklandığını saptamak için Bonferroni Post Hoc test uygulanarak gruplar ikiye bölünerek yeniden karşılaştırıldı yapıldı. Doğum ağırlıkları arasındaki tek anlamlı fark (148,6 gram) MTHFR homozigot mutasyonu veya compound heterozigot mutasyonu bulunan grup (Grup I) ile MTHFR enziminde mutasyon bulunmayan grup (Grup III) arasındaki karşılaştırma MTHFR enziminde mutasyon bulunmayan grup (Grup III) lehine olacak şekilde saptandı (p değeri: 0,024). Tablo 4.4.2.'de Grupların Bonferroni Post Hoc test analiz sonuçları gösterilmiştir.

Çalışmanın bu ayağının bulguları ekibin yönetim stratejisini de yansıtmaktadır. MTHFR gruplarında ortalama doğum haftası 36 küsurdur, kontrol olarak kullandığımız "MTHFR negatif" *yüksek riskli* grubun ortalama doğum haftası

ise 37'dir. Anlaşılacağı üzere, tedavi protokolü altında prospektif takip edilen hastalara “perinatal morbidite ve mortaliteyi” düşük tutmak amacı ile erken müdahale edilmiştir. Genelde, intrauterin perfüzyon problemi ortaya çıkmakta, düşük ölçekli uterin kontraksiyonlar nedeni ile serviksde değişiklikler olmaktadır. Bu değişikliklerin kendini NST, ultrasonografi ve Doppler çalışmalarında göstermesi ile tıbbi müdahaleler zorunlu hale gelmektedir. Kendini intrauterin gelişme geriliği şeklinde gösteren intrauterin perfüzyon problemleri istatistiklerde de kendini göstermektedir. MTHFR gruplarında kontrole göre daha düşük ortalama doğum ağırlıkları mevcuttur (p= 0.030).

Tablo 4.4.2. Grupların Doğum Haftaları ve Doğum Ağırlıklarının Bonferroni Post Hoc testi ile karşılaştırılması.

Bağlı değişken			Ortalama fark	Standart hata	p değeri
Doğum haftası	Grup I	Grup II	-0,23	0,17	0,539
		Grup III	-0,41	0,21	0,146
	Grup II	Grup I	0,23	0,17	0,539
		Grup III	-0,18	0,20	1,000
	Grup III	Grup I	0,41	0,21	0,146
		Grup II	0,18	0,20	1,000
Doğum ağırlığı (gr)	Grup I	Grup II	-56,00	46,66	0,692
		Grup III	-148,6*	55,9	0,024
	Grup II	Grup I	56,00	46,66	0,692
		Grup III	-92,66	54,72	0,273
	Grup III	Grup I	148,6*	55,9	0,024
		Grup II	92,66	54,72	0,273

* Ortalama fark p değeri < 0,05 olacak şekilde anlamlıdır.

4.5. Grupların Son Gebelikteki Perinatal Komplikeasyonların Tek Tek Karşılaştırılması

Gruplar intrauterin gelişme geriliği, oligohidramniyoz, özellikle membran rüptürü ile seyreden preterm eylem, preeklampsi ve plasenta dekolmanı olumsuz gebelik komplikeasyonlar açısından Pearson Chi-Square testi ile karşılaştırıldı. Gruplardaki komplikeasyonların varlığı ve yokluğu değerlendirildi ve oranlar yüzde (%) olarak alındı. Hasta gruplarında birden fazla komplikeasyon bulunduğu durumlarda ayrı ayrı işaretlendi. İstatistiksel analiz sonuçları Tablo 4.5.1’de gösterilmiştir.

Tablo 4.5.1. Grupların spesifik perinatal komplikeasyonlarının analizi.

	Grup I (n: 227)	Grup II (n: 257)	Grup III (n: 133)	p değeri
Preeklampsi (%)	5 (%2,2)	10 (%3,9)	5 (%3,8)	0,538
PPROM	7 (%3,1)	7 (%2,7)	4 (%3,0)	0,970
IUGR	1 (%0,4)	8 (%3,2)	2 (%1,5)	0,820
Ablasyo plasenta	1 (%0)	0 (%0)	0 (%0)	0,423
Oligohidramniyoz	5 (%2,2)	6 (%2,3)	0 (%0)	0,213

PPROM: Preterm prematür membran rüptürü, IUGR: İnterauterin gelişme geriliği.

Yukarıda adı geçen komplikeasyonlar açısından gruplar arasında son gebelik sonuçları değerlendirildiğinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı. Bununla birlikte klinik olarak değerlendirildiğinde MTHFR homozigot mutasyonu veya compound heterozigot mutasyonu bulunan hastalarda (Grup I) preeklampsi riskinin (%2,2) hem MTHFR enziminde heterozigot mutasyonu bulunan (Grup II) hem de MTHFR enziminde mutasyonu bulunmayan hastalara (Grup III) göre nispeten az olduğu saptandı.

İnterauterin gelişme geriliği olan fetüse sahip olma riskinin MTHFR enziminde mutasyonu bulunmayan hastalar (Grup III) (%1,5) ile karşılaştırıldığında MTHFR homozigot mutasyonu veya compound heterozigot mutasyonu bulunan

hastalarda (Grup I) az (0,4), MTHFR enzimi heterozigot olan grupta (Grup II) ise fazla olduğu (%3,2) saptandı.

Oligohidramniyoz ise MTHFR homozigot mutasyonu veya compound heterozigot mutasyonu bulunan hastalarda (Grup I) (%2,2) ve heterozigot (2,3) grupta (Grup II) MTHFR enzim mutasyonu olmayanlara (Grup III) (%0) göre daha yüksek olduğu anlaşıldı. Ablasyo plasenta ise sadece MTHFR homozigot mutasyonu bulunan bir hastada gerçekleşti.

Sonuç olarak tedavi protokolünün hasta gruplarında etkinliği gösterilmiş oldu.

4.6. “Beksaç Obstetrik İndeksi” ve Gruplar Arası İndeks Eğrilerinin Farklılaşmasının Gösterilmesi

“Beksaç Obstetrik indeksi” $“(yaşayan\ çocuk\ sayısı + II/10)/toplamlam\ gebelik\ sayısı”$ olarak hesaplandı. Her hasta için son gebeliklerindeki “Beksaç Obstetrik İndeksi” ayrı ayrı hesaplanarak kaydedildi. Her üç gruptaki hastaların bireysel “Beksaç Obstetrik İndeks” ortalamaları hesaplandı. Bu grup ortalamaları arasındaki istatistiksel farkı değerlendirmek için One-Way Anova testi kullanılarak karşılaştırıldı (Tablo 4.6.1).

Tablo 4.6.1. Grupların “Beksaç Obstetrik İndeksi” açısından karşılaştırılması.

	Ortalama \pm SS	CI (%95)		p değeri
		Alt sınır	Üst sınır	
Grup I	0,2886 \pm 0,20895	0,2613	0,3159	0,000
Grup II	0,3290 \pm 0,21029	0,3032	0,3548	
Grup III	0,4147 \pm 0,22740	0,3757	0,4537	

Yapılan One-Way Anova test analizinde gruplar arasında istatistiksel anlamlı fark saptandı. Bu farkı hangi grup veya grupların oluşturduğunu saptamak için

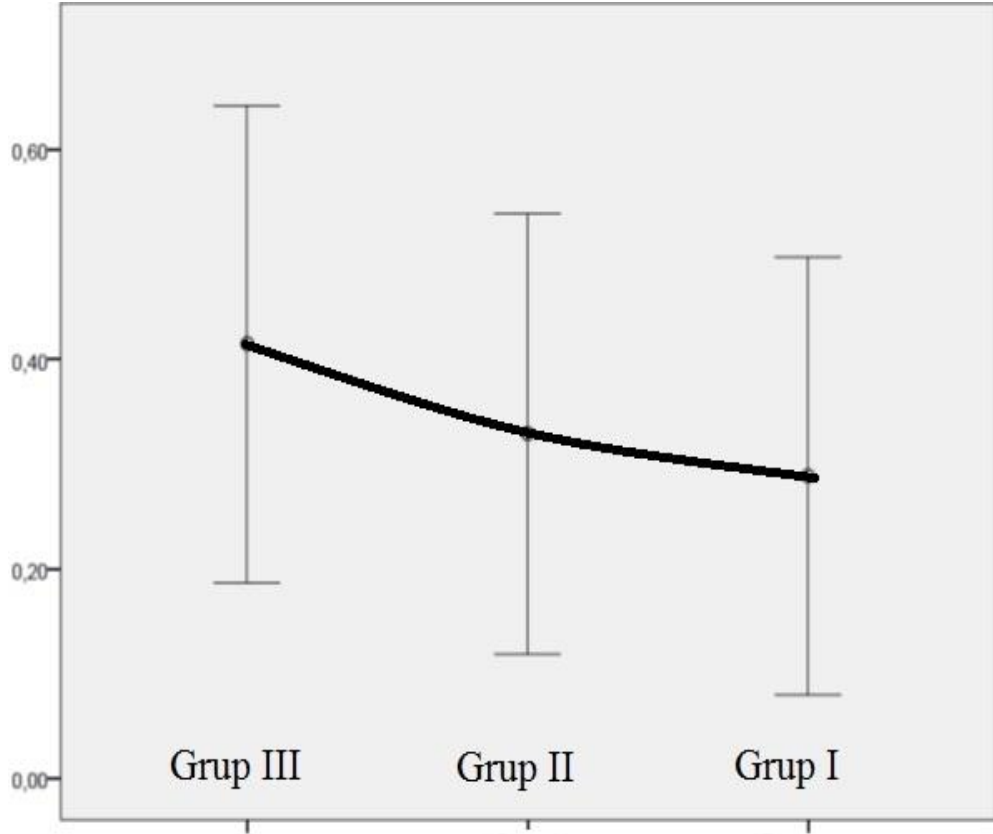
gruplar ayrı ayrı karşılaştırıldı. Bu amaçla Bonferroni Post Hoc testi kullanıldı. Detaylar Tablo 4.6.2.'de verilmiştir.

Tablo 4.6.2. Grupların “Beksaç Obstetrik İndeksi” açısından ikişerli olarak karşılaştırılması.

Bağlı değişken			Ortalama fark	Standart hata	p değeri
Obstetrik indeks	Grup I	Grup II	-0,04039	0,01946	0,115
		Grup III	-0,12605*	0,02332	0,000
	Grup II	Grup I	0,04039	0,01946	0,115
		Grup III	-0,08566	0,02282	0,001
	Grup III	Grup I	0,12605*	0,02332	0,000
		Grup II	0,08566	0,02282	0,001

* Ortalama fark p değeri < 0,05 olacak şekilde anlamlıdır.

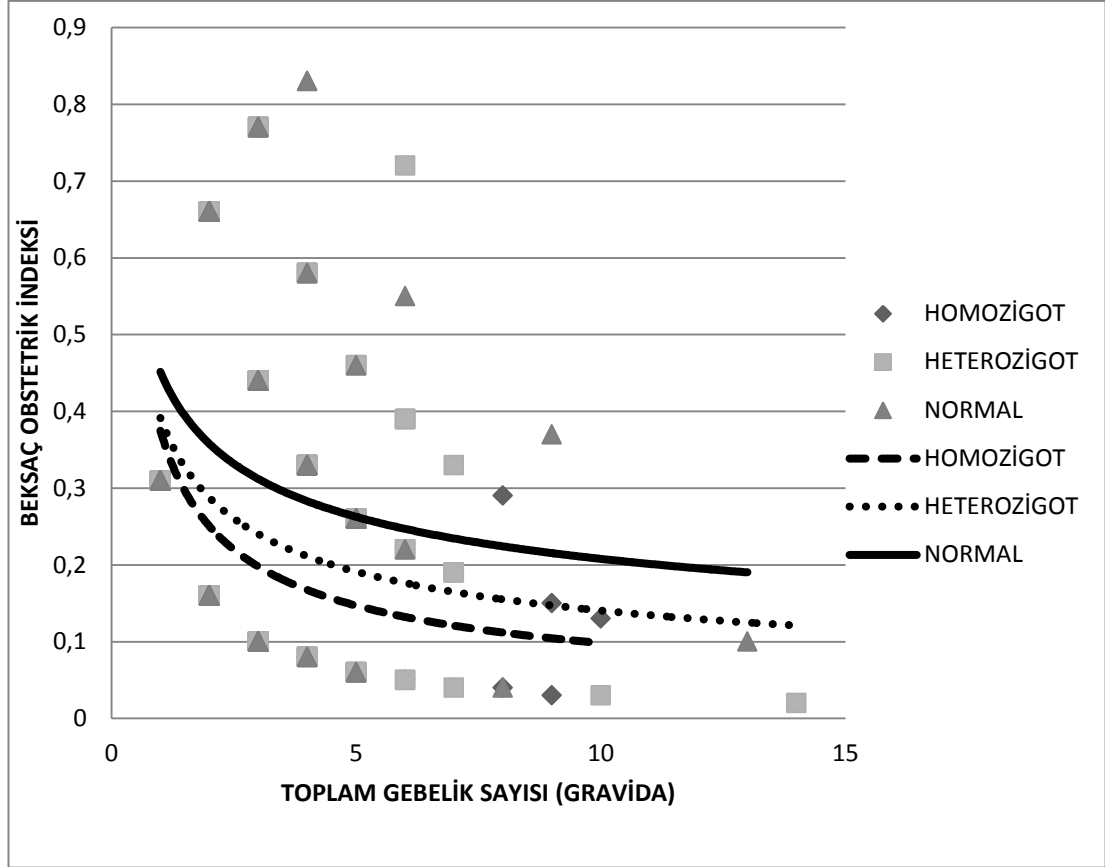
Yapılan analiz sonucunda MTHFR enziminde mutasyon bulunmayan hasta grubu (Grup III) ile MTHFR homozigot mutasyonu veya compound heterozigot mutasyonu bulunan hasta grubu (Grup I) arasında obstetrik indeksler açısından anlamlı bir fark bulundu (p=0,000). Benzer bir fark MTHFR enziminde mutasyon bulunmayan hasta grubu (Grup III) ile MTHFR enziminde heterozigot mutasyon bulunan hasta grubu (Grup II) arasında da mevcuttu (p=0,001). Buna karşın, böyle bir fark MTHFR homozigot mutasyonu veya compound heterozigot mutasyonu bulunan (Grup I) ve heterozigot mutasyon bulunan hasta grupları (Grup II) arasında saptanmadı (p=0,115). Tüm grupları birlikte değerlendiren One-Way Anova testindeki istatistiksel anlamlılıktan temel olarak MTHFR enziminde homozigot mutasyon bulunan hasta grubu (Grup I) ile MTHFR enziminde mutasyon bulunmayan hasta grubu (Grup III) arasındaki ortalama fark sorumluydu. Şekil 4.6.1.'de grupların obstetrik indeks ortalamaları grafiksel olarak gösterilmiştir.



Şekil 4.6.1. Grupların ‘Beksaç Obstetrik İndekslerinin’ grafiksel analizi

Grafiksel analizde de görüldüğü üzere *MTHFR enzim mutasyonu şiddeti arttıkça hastaların obstetrik indeks ortalamalarında istatistiksel olarak anlamlı bir düşme* eğilimi izlenmektedir.

Ayrıca hasta gruplarında toplam gebelik sayısına göre ‘Beksaç Obstetrik İndeksi’ eğimleri açısından aralarında belirgin fark bulunmaktadır. Bu anlamda grafik eğim çizgileri değerlendirildiğinde MTHFR enzim mutasyonu bulunmayan hastaların (Grup III) eğim çizgisi normale en yakın grup olurken, MTHFR enziminde homozigot mutasyonu olan hastaların (Grup I) eğim çizgisi ise normalden en uzak grup olarak saptandı. Şekil 4.6.3. Grupların ortalama ‘Beksaç Obstetrik İndeks’ eğrileri gösterilmiştir.



Şekil 4.6.2. Grupların “Beksaç Obstetrik İndeks” Eğrileri

4.7. MTHFR Mutasyonları ve Genetik Problemler

Önceki gebelikler esas alındığında 3 gruptaki 528 hastanın 1193 gebeliğinde 111 genetik problem tespit edildi (%9,30). Bu hastalardan 119 tanesi Grup I, 221 hasta Grup II ve 194 hasta Grup III’e ait hastalardır. 1193 gebeliğin ise 412 tanesi Grup I, 517 tanesi Grup II ve 264 tanesi ise grup III hastalarda meydana gelmişti. Bu anomalilerin %72,1’i yapısal malformasyonlar, %11,5’i kromozomal anomaliler ve %7,7’si tek gen defektleri iken %8,7’si diğer tanımlanamayan kompleks bozukluklardan kaynaklanmaktaydı.

En yüksek doğumsal anomali oranı %9,86 (51/517) ile MTHFR enzimi için heterozigot olan hastalarda (Grup II) bulunmaktaydı. MTHFR homozigot mutasyonu veya compound heterozigot mutasyonu bulunan hastalarda (Grup I) oran %8,98 (37/412) ve MTHFR enzim mutasyonu bulunmayan hastalarda (Grup III) ise %8,71

(23/264) olarak saptandı. Tablo 4.7.1.'de gruplara göre genetik anomalilerin dağılımı verilmektedir.

Tablo 4.7.1. Obstetrik öyküdeki genetik problemlerin gruplara göre dağılımı

	Grup I (n: 412)	Grup II (n: 517)	Grup III (n: 264)
Yapısal malformasyonlar (n:75)	24 (%32)	33 (%44)	18 (%24)
Kromozomal anormallikler (n:19)	9 (%47,3)	9 (%47,3)	1 (%5,4)
Tek gen defektleri (n: 8)	2 (%25)	6 (%75)	0
Tanımlanamayan grup (n: 9)	2 (%22,2)	3 (%33,3)	4 (%44,4)
Toplam	37 (%100)	51 (%100)	23 (%100)

Hastalardaki yapısal malformasyonlar kendi içinde değerlendirildiğinde en sık NTD (%25,3) ve kardiyak (%25,3) anomaliler gözlemlendi. Yapısal malformasyonların sınıflaması ve dağılımı Tablo 4.7.2.'de verilmiştir. Ayrıca 11 adet üriner sistem anomalisinden 7 tanesi primer renal patolojilerden kaynaklanmaktaydı (agenezis, multikistik veya polikistik böbrek gibi).

Tablo 4.7.2. Yapısal malformasyonların sınıflaması ve gruplara göre dağılımı

	Grup I (n: 24)	Grup II (n: 33)	Grup III (n: 18)
Nöral tüp defektleri (n:19)	6 (%31,5)	11 (%57,8)	2 (%10,5)
Kardiyak anomaliler (n:19)	7 (%36,8)	5 (%26,3)	7 (%36,8)
Üriner sistem anomalileri (n:11)	7 (%63,6)	3 (%27,2)	1 (%9,0)
Diyafagma hernisi (n:8)	2 (%25)	4 (%50)	2 (%25)
Multipl anomali (n:7)	0	6 (%85,7)	1 (%14,3)
Nonimmün hidrops fetalis (n:5)	1 (%20)	2 (%40)	2 (%40)
Korpus kallosum agenezisi (n:3)	0	2 (%66,6)	1 (%33,3)
Omfalosele (n:2)	1 (%50)	0	1 (%50)
Yarık damak (n:1)	0	0	1 (%100)

Kromozomal anomalilerin %94,6'sında (18/19) MTHFR enziminde homozigot veya heterozigot mutasyon bulunmaktaydı (Tablo 4.7.1). Hasta grupları tek gen defektleri açısından değerlendirildiğinde MTHFR enzim mutasyonu bulunmayan hastalarda hiç izlenmediği görüldü. Kromozomal anomalili gebelikler kendi aralarında değerlendirildiğinde en sık anormallikler 4 olguda Turner sendromu (45,X0) ve 4 olguda Down Sendromu (Trizomi 21) olarak saptandı. Tablo 4.7.3'de Kromozomal anormallikler ve bu olgulara ait gebelik sonuçları verilmiştir.

Tablo 4.7.3. Kromozomal anormalliği olan bebeklerin dağılımı ve gebelik sonuçları

Olgu no	Kromozomal anormallik	Gebelik sonucu
1	Trizomi 21	Abortus
2	Turner sendromu	Abortus
3	69XXY	Abortus
4	Turner sendromu	Tıbbi terminasyon
5	Trizomi 18	Tıbbi terminasyon
6	Trizomi 16	Abortus
7	Trizomi 21	Tıbbi terminasyon
8	Trizomi 13	Tıbbi terminasyon
9	Trizomi 13	Tıbbi terminasyon
10	Turner sendromu	Term doğum
11	46XX T(13q-22q)	Tıbbi terminasyon
12	Turner sendromu	Abortus
13	Trizomi 2	Abortus
14	Trizomi 21	Abortus
15	Trizomi 15	Abortus
16	Trizomi 6	Abortus
17	Trizomi 15	Abortus
18	Mozaik Trizomi 7	Abortus
19	Trizomi 21	Abortus

5. TARTIŞMA

Hereditör trombofilisi bulunan hastalarda gebeliğin en sık gözlenen komplikasyonları erken gebelik kaybı, preterm doğum, preeklampsi, erken membran rüptürü ve perinatal hipoksidir [2-4]. “Maternal-Fetal Tıp”, ileri tanı yöntemleri sayesinde yüksek riskli hastaların erken dönemde saptanmasını ve “erken müdahale” konsepti ile bu komplikasyonların önüne geçmeyi hedeflemektedir. Komplikasyonların doğru bir şekilde engellenmesi ise, öncelikle tanının doğru bir şekilde konulmasından geçmektedir.

MTHFR enzimi 5-10-metilen THF’ı 5-metil THF’a dönüştürmektedir. 5-metil THF ise metiyonin sentez enzimi aracılığı ile metil grubunu kaybederek THF’a dönüşmektedir. MTHFR enzimin mutasyonunun olduğu bireylerde 5-metil THF ortamda bulunamadığı veya az bulunduğu için homosistein metiyonin dönüşümü yeterli düzeyde olamamakta ve bu enzim mutasyonunun bulunduğu bireylerde plazma homosistein düzeylerinde bir yükselme izlenmektedir. Homosistein → metiyonin döngüsündeki aksamalar transmetilasyon, remetilasyon ve transsülfrasyon reaksiyonlarını da bozarak protein sentez bozuklukları ve tetramerik DNA oluşumuna neden olmaktadır.

Plazma homosistein yüksekliğinin endotel hasarı yaptığı uzun süredir bilinmektedir. Ayrıca hiperhomosisteineminin spontan abortus, tekrarlayan gebelik kayıpları, perinatal komplikasyonlar ve kromozomal anormallikler ile ilişkili olduğu çeşitli çalışmalarla ortaya konmuştur [34,38,59-61].

Bu çalışmada, kliniğimizde yüksek riskli öykü nedeni (tekrarlayan erken gebelik kaybı, özellikle membran rüptürü ile giden preterm doğum, preeklampsi, intrauterin gelişme geriliği, oligohidramniyoz, mikrovasküler komplikasyon öyküsü vb.) ile başvuran ve MTHFR enzim mutasyonu açısından değerlendirilen olguların sıklığı ve fetüs üzerinde olası obstetrik/perinatal etkileri ortaya konmuştur.

Bu şekilde yüksek riskli kabul edilen hastalara yönelik kliniğimizdeki yaklaşım şu şekildedir: risk grubundaki hastalar, plasentanın vasküler yapılarının endotelial hasarı ve genetik problemlili fetüs oluşumuna neden olan aminoasit metabolizması bozuklukları, hereditör trombofililer, infeksiyonlar ve immün sistem

problemleri (otoantikör oluşumu, romatolojik hastalıklar) açısından rutin olarak taranmaktadır.

Çalışmamızdaki temel amaç, MTHFR enzim mutasyonu olan bireylerin olmayanlara göre obstetrik öykülerinin karşılaştırılması, tedavi ile son gebeliklerindeki sonuçların değerlendirilmesidir.

Çalışmamızda hastalar MTHFR enziminde homozigot mutasyonu veya compound heterozigot mutasyonu bulunan gebeler (Grup I), bir enzimde heterozigot mutasyonu bulunan gebeler (Grup II) ve MTHFR enzimi mutasyonu bulunmayan gebeler (Grup III) olarak 3 ana grupta değerlendirildi. Buradaki temel amaç hastaları enzim aktivitelerine göre sınıflayabilmektir. Çünkü MTHFR enziminde 677 heterozigot mutasyon varlığında enzim aktivitesinde %35'e varan oranda bir azalma, 677 homozigot mutasyonunda ise %70'e varan oranda bir azalma meydana gelmektedir [71-73].

Çalışma grubundaki hastaların %36,8'i MTHFR enziminde homozigot mutasyonu veya compound heterozigot mutasyonu bulunan gebeler (Grup I) ve %41,7'si MTHFR enziminde tek heterozigot mutasyonu bulunan gebeler (Grup II) olmak üzere %78,5'i homozigot veya heterozigot olmak üzere MTHFR enziminde mutasyon taşıyan bireylerden oluşmaktaydı. Bu oranlar göreceli olarak yüksek görünmekle birlikte beyaz ırkta MTHFR enzim polimorfizminin sık olarak izlendiği unutulmamalıdır. Avustralya'da 2031 nullipar gebenin olduğu asemptomatik antenatal popülasyonda yapılan bir prevalans çalışmasında MTHFR enzimindeki polimorfizm %65.91 olarak saptanmıştır [44]. Benzer şekilde ülkemizden yapılan bir çalışmada AYTEKİN ve arkadaşları önceki gebeliklerinde komplikasyonu bulunan kadınları herediter trombofililer açısından değerlendirmişler ve 113 hastanın 52'sinde (%46,01) MTHFR enziminde polimorfizm saptamışlardır [74].

Çalışma grupları hastalar demografik ve obstetrik hikâye özellikleri açısından değerlendirildiğinde yaş, gravida, blighted ovum, postpartum eksitus, intrauterin eksitus, dilatasyon ve küretaj, ektopik gebelik, molar gebelik, preterm doğum öyküleri ve anomalili çocuk öyküleri arasında istatistiksel fark saptanmadı. Ancak abortus, yaşayan çocuk ve tıbbi nedenli terminasyonlar arasında MTHFR enzim polimorfizmi bulunan gruplarda daha belirgin olmak üzere fark mevcuttu (p değeri

<0,05). Bizimde bulgularımıza paralel şekilde MTHFR enzim polimorfizminin spontan düşükler ile yakından ilişkisi olduğu bilinmektedir. Hubacek ve arkadaşlarının yapmış olduğu bir çalışmada polimorfizm bulunan hastalar bulunmayanlara göre spontan abortus açısından daha riskli bulunmuşlar (OR: 1,28) [75]. Diğer yandan MTHFR A1298C mutasyonunun tekrarlayan gebelik kayıplarının üzerine etkisini inceleyen bir metaanalizde herhangi bir ilişki saptanamamış olmakla birlikte konu tartışmalı olarak bulunmuştur [76]. Govindaiah ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada ise MTHFR C677T polimorfizminin tekrarlayan gebelik kayıpları için bir risk faktörü olduğu ortaya konmuştur [77].

Hastaların ilk gebeliklerindeki komplikasyonlar ise 4 temel gruba (abortus, perinatal morbidite ve mortalite, term doğum ve anomalili doğum) ayrılarak incelendi. İlk gebeliklerdeki komplikasyonlar açısından anlamlı fark bulundu (p değeri=0,012). Gruplar kendi içinde analiz edildiğinde bu farkın daha çok term doğumlardan kaynaklandığı saptandı. Ayrıca spontan abortus oranlarında da istatistiksel anlamlılığa yakın bir fark bulundu (p=0,058). Ayrıca, klinik olarak bakıldığında MTHFR enzim mutasyonun şiddeti arttıkça (Grup I > Grup II > Grup III) abortus ve perinatal mortalite hızı artıp perinatal morbidite ve term doğum oranlarının azaldığı gözlemlendi. Bu paralelliğin dışında MTHFR enziminde tek heterozigot mutasyon varlığında (Grup II) anomalili doğum oranlarında artış görüldü. Literatür gözden geçirildiğinde bu mutasyonun bulunduğu hastaların ilk gebeliklerini değerlendiren bir çalışmaya ise rastlanmadı. Bizimde ele aldığımız şekilde ilk gebelikler şu nedenle önemlidir: bu hastalar ilk gebeliklerinde henüz aminoasit metabolizması bozukluğu teşhisi konulmadığı ve uygun yaklaşımlı tedavi protokolünü almadıkları için doğum komplikasyon oranları yüksek seyretmektedir. Diğer bir bakış açısı ile bu hastaların “kontrol” grupları ilk gebelikleri olarak değerlendirilebilir.

Hastaların son gebeliklerine ait komplikasyonlar datanın niteliği nedeniyle 3 temel gruba ayrılarak incelendi. Bunlar; perinatal morbidite ve mortalite, term doğumlar ve anomalili doğumlardır. MTHFR enziminde homozigot mutasyonu veya compound heterozigot mutasyonu bulunan gebeler (Grup I) ve MTHFR enziminde heterozigot mutasyonu bulunan gebeler (Grup II) son doğumlardaki perinatal komplikasyonları açısından değerlendirildiğine MTHFR enziminde mutasyonu

bulunmayan gebelere (Grup III) göre daha kötü sonuçlara sahipti. Perinatal morbidite oranları sırasıyla %41,4, %34,2 ve %21,8'di. MTHFR enzim mutasyonunun varlığı perinatal morbidite gelişme riski üzerine olumsuz etkisi varken homozigotluk/compound heterozigotluk veya heterozigotluk arasında anlamlı bir fark yoktu. Literatür değerlendirildiğinde MTHFR enziminin özellikle gebeliğin ikinci yarısındaki komplikasyonlarını inceleyen yeterli çalışma bulunmamaktadır. Danimarka'da 1997-2002 yılları arasında Ulusal Doğum Kohort çalışmasında katılmayı kabul eden 91,661 kadının değerlendirilmesinde MTHFR enziminin 677 mutasyonunun şiddetli preeklampsi riskinde 1.27 katlık bir artışa neden olduğu bulunmuştur [55]. Bunun dışında diğer komplikasyonlarda artış saptayamamıştır. Facco ve arkadaşlarının yapmış olduğu bir metaanalizde (2009) Faktör V Leiden mutasyonu ile IUGR arasında belirgin bir ilişki (OR: 1,23 (%95 [CI] 1.04-1.44)) varken ile MTHFR enzim mutasyonu arasında bir ilişki saptamamışlardır (OR:1,01 (%85 [CI] 0.88-1.17)) [2].

Hastaların ilk gebeliklerinde spontan abortus oranları %40'lar civarında ile tedavi edildikleri son gebeliklerinde bu oran yaklaşık 4 kat azalarak %10,8'e gerilemiştir. Ayrıca hastaların ilk gebeliklerindeki perinatal mortalite oranı yaklaşık 10 kat azalarak tüm gruplarda %0,9-1,2 aralığına çekilmiştir. Bu oranlar yüksek görünmekle birlikte çalışma popülasyonu oluşturan hastaların yüksek riskli gebe oldukları unutulmamalıdır.

“Genetik problemlili fetüs” kavramı, gebeliğin oluşumundan sonlanmasına kadar intrauterin hayatta, fetüsü değişik seviyelerde etkileyen üç ana faktörden oluşur: yapısal anomaliler, kromozom anomalileri ve gen bozuklukları. Yapısal anomaliler nöral tüp defektleri, kardiyak anomaliler gibi konjenital anomalileri içerirken kromozom anomalileri, kromozom setlerindeki yapısal ve sayısal bozuklukları kapsar. Gen bozuklukları ise tek gen mutasyonlarını ve diğer gen problemlilerini kapsar.

Daha önce de anlatıldığı üzere MTHFR enzimi, homosisteinin folat bağımlı metilasyonunda rol oynayan kilit enzimdir. Bu enzim 5,10-metilen THF'nin 5-metil THF'a dönüşümünü katalize eder. 5-metil THF, folik asitin dolaşımında bulunan formudur ve birçok reaksiyonda metil grubu vericisi olarak yer almaktadır. Bunlar

arasında nükleotid sentezi, homosistein'in metiyonin'e remetilasyonu, S-adenozil-metionin (SAM) sentezi ve DNA metilasyonu bulunmaktadır. MTHFR enzimidaki polimorfizmlerde, enzim aktivitesi azaldığı için hiperhomosisteinemi gelişmektedir ve metil grup vericisi olan SAM sentezi azalmaktadır. SAM sentezinin azalması, oositlerde DNA metilasyonunun bozulması yoluyla kromozomal anomalilere neden olur. 5-metil THF eksikliği, DNA'nın anormal metilasyonu, hipometilasyon nedeniyle ayrılmama (non-disjunction) oluşumu, DNA zincir kırıkları, kromozom segregasyonunda anormallikler ve DNA'ya aşırı urasil katılması ile ilişkilidir [58].

Folat metabolizma bozuklukları ovaryan fonksiyonlardan başlayarak, fertilizasyon, implantasyon, embriyogenezi de içine alarak tüm gebelik sürecini etkilemektedir. Bu sorunlu süreçteki patofizyolojik mekanizma MTHFR enzim polimorfizmine bağlı olarak gelişen DNA metilasyon defekleri ile açıklanabilir. Kromozomal anomaliler açısından bakıldığında ise DNA'nın metilasyonu perikonsepsiyonel dönem hariç tüm yaşam boyunca oldukça stabildir. Ancak perikonsepsiyonel dönemde meydana gelen metilasyon kusurları kromozomal instabiliteye, transpoze elemanların reaktivasyonuna, imprinting kaybına ve embriyonik ölüme veya gelişimsel malformasyonlara neden olabilmektedir [78,79]. MTHFR polimorfizmleri ile ilişkili kromozom hasarı birçok çalışmada gösterilmiştir. Coppede ve arkadaşları, MTHFR C677T ve metiyonin sentaz enzimlerinin kombine polimorfizmlerinde trizomi 21 riskinin arttığını bulmuşlardır [61]. Ayrıca Kim ve arkadaşlarının yapmış oldukları prospektif bir çalışmada MTHFR A1298C mutasyonunun fetal kromozomal anomaliler ile ilişkili spontan gebelik kayıpları ile anlamlı şekilde ilişkili olduğu saptanmıştır [56]. Down sendromlu çocukların annelerindeki MTHFR enziminin 667 veya 1298 polimorfizmini değerlendiren bir metaanalizde bu sendrom ile 677 mutasyonunun bir ilişkisi varken 1298'de aynı ilişki saptanamamıştır [80].

MTHFR enziminin yapısal malformasyonlarla ilişkisini inceleyen çok sayıda çalışma mevcuttur. Nöral tüp defektleri, konjenital kalp anomalileri ve kraniyofasiyal anomalileri değerlendiren bir çalışmada folat metabolizmasında rol oynayan MSR ve MTHFR enzim mutasyonlarının endoderm, mezoderm ve ektoderm gelişimi ile ilişkili kompleks konjenital anomaliler ile ilişkisi ortaya konulmuştur [81]. Konjenital kalp hastalığı bulunan 160 çocuk ve sağlıklı 188 çocuğu tek nükleotid

polimorfizmi açısından değerlendiren bir çalışmada MTHFR enzim mutasyonlarının konjenital kalp hastalığı için bir risk faktörü olduğu saptanmıştır [82]. Junker ve arkadaşları 111 hastayı ele aldıkları bir çalışmada MTHFR enzim polimorfizminin konotrunkal ve diğer konjenital kalp hastalıkları riskinin yaklaşık 2 kat arttırdığını bulmuşlardır [83]. Zhang ve arkadaşlarının yapmış oldukları 42 çalışma, 4374 olgu ve 7232 kontrolü içeren bir metaanalizde MTHFR enzimindeki mutasyonların NTD riskini 1,23 kat arttırdıkları saptanmıştır (%95 CI 1.07-1.42) [84].

Hastalar son gebelikleri hariç öyküleri ele alındığında ve anomaliler kendi içinde sınıflanarak değerlendirildiğinde kromozomal anomalili çocuk öyküsü bulunan gebeler içinde MTHFR enzim mutasyonu sıklığı %94,6'dır (18/19). Benzer şekilde yapısal malformasyonların %76'sı (57/75) MTHFR enziminde homozigot veya heterozigot mutasyonu olan bireylerde meydana gelmiştir. 19 hastadan 16'sında trizomi veya monozomi mevcuttu. Bu durum özellikle maternal mayoz I evresinde meydana gelen kromozomal ayrılmama nedeniyle oluşmaktadır. Biz bu sorunun temel olarak DNA'nın hipometilasyona bağlı olduğunu düşündük.

Yapısal malformasyonlar kendi aralarında sınıflandığı zaman en sık nöral tüp defekleri (%25,3) ve kardiyak anomalilerin (%25,3) gözleendiği saptanmıştır. Bu oranlar yukarıda sözü geçen literatür ile uyumludur [81-84]. Nöral tüp defekleri olan olguların %89,5'inde ve kardiyak anomali bulunan olguların ise %63,1'inde MTHFR enziminde polimorfizm bulunmaktaydı. Yine üriner sistem anomalilerin ise %91'inde (10/11) bu polimorfizm mevcuttu. Ayrıca bu 11 hastadan 7'sinde (%63,6) boşaltıcı sistem sorunlarından (posterior üretral valv, hidroüreteronefroz gibi) ziyade intrinsek renal sorunlar (polikistik veya multikistik böbrek, tek veya çift taraflı agenezis) olduğu saptandı.

Çalışmamızda gruplar son doğumdaki fetal anomaliler açısından değerlendirildiğinde gruplar arasında fark mevcuttu (p değeri: 0,001). Bu farkı hangi gruplar tarafından oluşturulduğu değerlendirildiğinde ise MTHFR enziminde tek heterozigot mutasyon bulunan hastalarda (Grup II) anomalili doğum sıklığının diğer iki gruptan daha düşük olarak anlamlı bir fark oluşturduğu saptandı (p değeri: 0,011). MTHFR enzimindeki homozigot mutasyonlar normal grup ile karşılaştırıldığında 1,52 katlık bir risk artışı oluşturmaktaydı (%3,5 vs %2,3). Önceki gebeliklerdeki

kromozomal veya yapısal anomali oranları ise Grup I'de %8,98 (37/412), Grup II'de %9,86 (51/517) ve Grup III'te ise %8,71 (23/264) olarak saptanmıştı. Görülmektedir ki önceki gebeliklerindeki anomalili doğum oranları tedavi altındaki tüm gruplarda düşme eğilimindedir.

Yukarıdaki bulguların ışığında MTHFR enzimidaki polimorfizmin hem fetüsün yapısal malformasyonları hem de kromozomal anormallikler ile birliktelik gösterdiği kanaatindeyiz.

6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

- MTHFR polimorfizmi olumsuz gebelik sonuçları ile birliktelik gösteren ve trombotik olaylarla seyreden bir aminoasit metabolizması bozukluğudur.
- Hastalar obstetrik öyküleri açısından değerlendirilip son gebelikleri hariç tutularak yaşayan çocuğa sahip olma açısından değerlendirildiğinde; MTHFR enziminde homozigot mutasyonu olan hastalarda ortalama değer 0,42, MTHFR enziminde tek heterozigot mutasyonu veya compound heterozigot mutasyonu bulunan hastalarda 0,60 ve MTHFR enziminde mutasyonu bulunmayan hastalarda 0,74 idi. Görülmektedir ki; önceki gebeliklerde tedavi almamış veya etkin tedavi yönetimini uygulamamış olmak yaşayan çocuk sayısını aşağıya çeken bir yöntemdir.
- Hastaların ilk gebelikleri değerlendirildiğinde gruplar arasında gebelik sonuçları açısından istatistiksel olarak anlamlı fark vardı. MTHFR enzim polimorfizminin şiddeti arttıkça erken gebelik kaybı oranları artarken term doğumlarda azalma meydana gelmektedir.
- İlk gebeliklerde düşük riskli normal popülasyon ile karşılaştırıldığında abortus oranları 3,5-4 kat yüksekti.
- Bu hastalar etkin tedavi yöntemini uyguladıklarında gebelik başarıları son gebelik sonuçlarından da anlaşılacağı üzere artmaktadır. Bu hasta grubunda perinatal mortalitede 10 kata yaklaşan bir azalma, abortus oranlarında ise 3 katlık bir azalma bulunmaktadır.
- “Beksaç Obstetrik indeksi” $\frac{\text{yaşayan çocuk sayısı} + \Pi/10}{\text{toplam gebelik sayısı}}$ olarak tanımlanmaktadır.
- Polimorfizmin şiddeti arttıkça “Beksaç Obstetrik İndeksi”nin gruplarda düşme eğiliminde olduğu saptanmıştır. Benzer şekilde polimorfizm gruplarında çizilen “Beksaç Obstetrik İndeksi Eğrileri” polimorfizm şiddeti arttıkça sifira yaklaşacak şekilde azalma eğiliminde idi. Bu indeksin yüksek riskli gebelerde tedavi ve prognozu değerlendirme açısından yararı olabileceğini düşünüyoruz.

- Kötü obstetrik hikâyesi bulunan kadınlarda anomalili gebelikler değerlendirildiğinde kromozomal anormalliklerin MTHFR polimorfizmi bulunan hastalara (18/19) yoğunlaşmaktadır.
- Nöral tüp defekti olgularının %89 kadarında MTHFR enzim polimorfizmi bulunmaktadır.
- Çalışma grubumuzda üriner sistem anomalilerinin %91'inde MTHFR enzim polimorfizmi saptanmıştır.
- Metilen tetrahidrofolat redüktaz enzim mutasyonlarına bağlı DNA metilasyon defektleri bulunan gruptaki hastaların tanı ve takip basamaklarındaki uygulamalarımızdan dolayı olası obstetrik/perinatal komplikasyonlardan korunabileceği gözlemlendi. Burada; erken tanı, prospektif takip ve yönetimin öneminin ön plana çıktığını düşünmekteyiz. Bu gruptaki hastalarımız gebelik öncesinde aminoasit metabolizması bozuklukları, herediter trombofililer ve immün sistem problemleri açısından taranmıştır. Hastaların; gebeliklerine kontrollü bir biçimde izin verildikten sonra, gebeliğin başından itibaren tedavi altında tutuldukları unutulmamalıdır.
- Maternal aminoasit metabolizması bozuklukları ile bir yandan plasentanın vasküler sisteminde endotel harabiyeti ve intrauterin perfüzyon bozukluğu, diğer yandan konjenital kromozomal/yapısal anormallikler arasında neden-sonuç ilişkisini daha net ortaya koyacak çalışmalara ihtiyaç vardır.

7. KAYNAKLAR

- 1 Jauniaux E, Poston L, Burton GJ. Placental-related diseases of pregnancy: Involvement of oxidative stress and implications in human evolution. *Hum Reprod Update* 2006;12:747-755.
- 2 Facco F, You W, Grobman W. Genetic thrombophilias and intrauterine growth restriction: A meta-analysis. *Obstet Gynecol* 2009;113:1206-1216.
- 3 Nurk E, Tell GS, Refsum H, Ueland PM, Vollset SE: Associations between maternal methylenetetrahydrofolate reductase polymorphisms and adverse outcomes of pregnancy: The hordaland homocysteine study. *Am J Med* 2004;117:26-31.
- 4 Kondo A, Fukuda H, Matsuo T, Shinozaki K, Okai I. C677t mutation in methylenetetrahydrofolate reductase gene and neural tube defects: Should Japanese women undergo gene screening before pregnancy? *Congenit Anom* 2014;54:30-34.
- 5 Rai V, Yadav U, Kumar P, Yadav SK, Mishra OP. Maternal methylenetetrahydrofolate reductase c677t polymorphism and down syndrome risk: A meta-analysis from 34 studies. *PloS one* 2014;9:e108552.
- 6 Yang M, Gong T, Lin X, Qi L, Guo Y, Cao Z, Shen M, Du Y. Maternal gene polymorphisms involved in folate metabolism and the risk of having a down syndrome offspring: A meta-analysis. *Mutagenesis* 2013;28:661-671.
- 7 Wu YL, Yang HY, Ding XX, Zhao X, Chen J, Bi P, Sun YH. Association between methylenetetrahydrofolate reductase c677t polymorphism and epilepsy susceptibility: A meta-analysis. *Seizure* 2014;23:411-416.
- 8 Gohil R, Peck G, Sharma P. The genetics of venous thromboembolism. A meta-analysis involving approximately 120,000 cases and 180,000 controls. *Thromb Haemost.* 2009;102:360-370.

- 9 Bozok Cetintas V, Gunduz C. Association between polymorphism of mthfr c.677c>t and risk of cardiovascular disease in turkish population: A meta-analysis for 2.780 cases and 3.022 controls. *Mol Biol Rep* 2014;41:397-409.
- 10 Raspollini MR, Oliva E, Roberts DJ. Placental histopathologic features in patients with thrombophilic mutations. *J Matern Fetal Neonatal Med* 2007;20:113-123.
- 11 Redline RW. Thrombophilia and placental pathology. *Clin Obstet Gynecol* 2006;49:885-894.
- 12 Nelen WL, Blom HJ, Steegers EA, den Heijer M, Eskes TK. Hyperhomocysteinemia and recurrent early pregnancy loss: A meta-analysis. *Fertil Steril* 2000;74:1196-1199.
- 13 Xia XP, Chang WW, Cao YX. Meta-analysis of the methylenetetrahydrofolate reductase c677t polymorphism and susceptibility to pre-eclampsia. *Hypertens Res* 2012;35:1129-1134.
- 14 Niu WQ, You YG, Qi Y. Strong association of methylenetetrahydrofolate reductase gene c677t polymorphism with hypertension and hypertension-in-pregnancy in chinese: A meta-analysis. *J Hum Hypertens* 2012;26:259-267.
- 15 Yajnik CS, Chandak GR, Joglekar C, Katre P, Bhat DS, Singh SN, Janipalli CS, Refsum H, Krishnaveni G, Veena S, Osmond C, Fall CH. Maternal homocysteine in pregnancy and offspring birthweight: Epidemiological associations and mendelian randomization analysis. *Int J Epidemiol* 2014;43:1487-1497.
- 16 Stella CL, Sibai BM. Thrombophilia and adverse maternal-perinatal outcome. *Clin Obstet Gynecol* 2006;49:850-860.
- 17 Ford HB, Schust DJ. Recurrent pregnancy loss: Etiology, diagnosis, and therapy. *Rev Obstet Gynecol* 2009;2:76-83.

- 18 Stanger O, Herrmann W, Pietrzik K, Fowler B, Geisel J, Dierkes J, Weger M. Clinical use and rational management of homocysteine, folic acid, and b vitamins in cardiovascular and thrombotic diseases. *Z Kardiol* 2004;93:439-453.
- 19 Lacobazzi V, Infantino V, Castegna A, Andria G. Hyperhomocysteinemia: Related genetic diseases and congenital defects, abnormal DNA methylation and newborn screening issues. *Mol Genet Metab* 2014;113:27-33.
- 20 Elshorbagy AK, Valdivia-Garcia M, Mattocks DA, Plummer JD, Smith AD, Drevon CA, Refsum H, Perrone CE. Cysteine supplementation reverses methionine restriction effects on rat adiposity: Significance of stearyl-coenzyme a desaturase. *J Lipid Res* 2011;52:104-112.
- 21 Rees WD, Wilson FA, Maloney CA. Sulfur amino acid metabolism in pregnancy: The impact of methionine in the maternal diet. *J Nutr* 2006;136:1701S-1705S.
- 22 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;63:126-136.
- 23 Kluijtmans LA, Young IS, Boreham CA, Murray L, McMaster D, McNulty H, Strain JJ, McPartlin J, Scott JM, Whitehead AS. Genetic and nutritional factors contributing to hyperhomocysteinemia in young adults. *Blood* 2003;101:2483-2488.
- 24 Estandia-Ortega B, Velazquez-Aragon JA, Alcantara-Ortigoza MA, Reyna-Fabian ME, Villagomez-Martinez S, Gonzalez-Del Angel A. 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase single nucleotide polymorphisms and gene-environment interaction analysis in non-syndromic cleft lip/palate. *Eur J Oral Sci* 2014;122:109-113.

- 25 Khandanpour N, Loke YK, Meyer FJ, Jennings B, Armon MP. Homocysteine and peripheral arterial disease: Systematic review and meta-analysis. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 2009;38:316-322.
- 26 Bautista LE, Arenas IA, Penuela A, Martinez LX. Total plasma homocysteine level and risk of cardiovascular disease: A meta-analysis of prospective cohort studies. *J Clin Epidemiol* 2002;55:882-887.
- 27 Stanger O, Herrmann W, Pietrzik K, Fowler B, Geisel J, Dierkes J, Weger M. Dach-liga homocystein (german, austrian and swiss homocysteine society): Consensus paper on the rational clinical use of homocysteine, folic acid and b-vitamins in cardiovascular and thrombotic diseases: Guidelines and recommendations. *Clin Chem Lab Med* 2003;41:1392-1403.
- 28 Williams KT, Schalinske KL. New insights into the regulation of methyl group and homocysteine metabolism. *J Nutr* 2007;137:311-314.
- 29 Niculescu MD, Zeisel SH. Diet, methyl donors and DNA methylation: Interactions between dietary folate, methionine and choline. *J Nutr* 2002;132:2333S-2335S.
- 30 Gunebak T. Metilentetrahidrofolat redüktaz gen polimorfizmi olan gebe kadınlarda antenatal depresyon ve bazı aminoasitlerle İlişkisi, Hacettepe Üniversitesi Beslenme ve Diyetetik Doktora Tezi, 2012.
- 31 Kawakami Y, Ohuchi S, Morita T, Sugiyama K. Hypohomocysteinemic effect of cysteine is associated with increased plasma cysteine concentration in rats fed diets low in protein and methionine levels. *J Nutr Sci Vitaminol* 2009;55:66-74.
- 32 Maloney CA, Hay SM, Rees WD. Folate deficiency during pregnancy impacts on methyl metabolism without affecting global DNA methylation in the rat fetus. *Br J Nutr* 2007;97:1090-1098.
- 33 Cunningham FG, Williams JW. Williams obstetrics, ed 23rd. New York, McGraw-Hill Medical, 2010.

- 34 Nelen WL, van der Molen EF, Blom HJ, Heil SG, Steegers EA, Eskes TK. Recurrent early pregnancy loss and genetic-related disturbances in folate and homocysteine metabolism. *Br J Hosp Med* 1997;58:511-513.
- 35 Nelen WL, Steegers EA, Eskes TK, Blom HJ. Genetic risk factor for unexplained recurrent early pregnancy loss. *Lancet* 1997;350:861.
- 36 Whitehead AS, Gallagher P, Mills JL, Kirke PN, Burke H, Molloy AM, Weir DG, Shields DC, Scott JM. A genetic defect in 5,10 methylenetetrahydrofolate reductase in neural tube defects. *QJM* 1995;88:763-766.
- 37 Bailey LB. Folate, methyl-related nutrients, alcohol, and the mthfr 677c-->t polymorphism affect cancer risk: Intake recommendations. *J Nutr* 2003;133:3748S-3753S.
- 38 Frosst P, Blom HJ, Milos R, Goyette P, Sheppard CA, Matthews RG, Boers GJ, den Heijer M, Kluijtmans LA, van den Heuvel LP, et al.. A candidate genetic risk factor for vascular disease: A common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase. *Nat Genet* 1995;10:111-113.
- 39 Ray JG, Laskin CA. Folic acid and homocyst(e)ine metabolic defects and the risk of placental abruption, pre-eclampsia and spontaneous pregnancy loss: A systematic review. *Placenta* 1999;20:519-529.
- 40 Ball GFM. *Vitamins: Their role in the human body*. Oxford, UK; Ames, Iowa, Blackwell Science, 2004.
- 41 Jacques PF, Bostom AG, Williams RR, Ellison RC, Eckfeldt JH, Rosenberg IH, Selhub J, Rozen R. Relation between folate status, a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase, and plasma homocysteine concentrations. *Circulation* 1996;93:7-9.
- 42 Rey E, Kahn SR, David M, Shrier I. Thrombophilic disorders and fetal loss: A meta-analysis. *Lancet* 2003;361:901-908.

- 43 Rodger MA, Betancourt MT, Clark P, Lindqvist PG, Dizon-Townson D, Said J, Seligsohn U, Carrier M, Salomon O, Greer IA. The association of factor v leiden and prothrombin gene mutation and placenta-mediated pregnancy complications: A systematic review and meta-analysis of prospective cohort studies. *Plos Med* 2010;7
- 44 Said JM, Higgins JR, Moses EK, Walker SP, Borg AJ, Monagle PT, Brennecke SP. Inherited thrombophilia polymorphisms and pregnancy outcomes in nulliparous women. *Obstet Gynecol* 2010;115:5-13.
- 45 Robertson L, Wu O, Langhorne P, Twaddle S, Clark P, Lowe GD, Walker ID, Greaves M, Brenkel I, Regan L, Greer IA, Thrombosis R, Economic Assessment of Thrombophilia Screening S. Thrombophilia in pregnancy: A systematic review. *Br J Haematol* 2006;132:171-196.
- 46 Howley HE, Walker M, Rodger MA. A systematic review of the association between factor v leiden or prothrombin gene variant and intrauterine growth restriction. *Am J Obstet Gynecol* 2005;192:694-708.
- 47 Karakantza M, Androutsopoulos G, Mougou A, Sakellaropoulos G, Kourounis G, Decavalas G. Inheritance and perinatal consequences of inherited thrombophilia in greece. *Int J Gynaecol Obstet* 2008;100:124-129.
- 48 Nair RR, Khanna A, Singh R, Singh K. Association of maternal and fetal mthfr a1298c polymorphism with the risk of pregnancy loss: A study of an indian population and a meta-analysis. *Fertil Steril* 2013;99:1311-1318 e1314.
- 49 Parveen F, Tuteja M, Agrawal S. Polymorphisms in mthfr, mthfd, and pai-1 and recurrent miscarriage among north indian women. *Arch Gynecol Obstet* 2013;288:1171-1177.
- 50 Li X, Luo YL, Zhang QH, Mao C, Wang XW, Liu S, Chen Q. Methylenetetrahydrofolate reductase gene c677t, a1298c polymorphisms and pre-eclampsia risk: A meta-analysis. *Mol Bio Rep* 2014;41:5435-5448.

- 51 Chedraui P, Salazar-Pousada D, Villao A, Escobar GS, Ramirez C, Hidalgo L, Perez-Lopez FR, Genazzani A, Simoncini T. Polymorphisms of the methylenetetrahydrofolate reductase gene (c677t and a1298c) in nulliparous women complicated with preeclampsia. *Gynecol Endocrin* 2014;30:392-396.
- 52 Uvuz F, Kilic S, Yilmaz N, Tuncay G, Cakar E, Yuksel B, Bilge U. Relationship between preterm labor and thrombophilic gene polymorphism: A prospective sequential cohort study. *Gynecol Obstet Invest* 2009;68:234-238.
- 53 Engel SM, Olshan AF, Siega-Riz AM, Savitz DA, Chanock SJ. Polymorphisms in folate metabolizing genes and risk for spontaneous preterm and small-for-gestational age birth. *Am J Obstet Gynecol* 2006;195:1231 e1231-1211.
- 54 Mirzaei F, Farzad-Mahajeri Z. Association of hereditary thrombophilia with intrauterine growth restriction. *Iran J Reprod Med* 2013;11:275-278.
- 55 Lykke JA, Bare LA, Olsen J, Lagier R, Arellano AR, Tong C, Paidas MJ, Langhoff-Roos J. Thrombophilias and adverse pregnancy outcomes: Results from the danish national birth cohort. *J Thromb Haemost* 2012;10:1320-1325.
- 56 Kim SY, Park SY, Choi JW, Kim do J, Lee SY, Lim JH, Han JY, Ryu HM, Kim MH. Association between mthfr 1298a>c polymorphism and spontaneous abortion with fetal chromosomal aneuploidy. *Am J Reprod Immunol* 2011;66:252-258.
- 57 Nagaishi M, Yamamoto T, Iinuma K, Shimomura K, Berend SA, Knops J. Chromosome abnormalities identified in 347 spontaneous abortions collected in japan. *J Obstet Gynaecol Res* 2004;30:237-241.
- 58 Cobb J, Miyaike M, Kikuchi A, Handel MA. Meiotic events at the centromeric heterochromatin: Histone h3 phosphorylation, topoisomerase ii alpha localization and chromosome condensation. *Chromosoma* 1999;108:412-425.
- 59 van der Put NM, Gabreels F, Stevens EM, Smeitink JA, Trijbels FJ, Eskes TK, van den Heuvel LP, Blom HJ. A second common mutation in the

methylenetetrahydrofolate reductase gene: An additional risk factor for neural-tube defects? *Am J Hum Genet* 1998;62:1044-1051.

- 60 Wouters MG, Boers GH, Blom HJ, Trijbels FJ, Thomas CM, Borm GF, Steegers-Theunissen RP, Eskes TK. Hyperhomocysteinemia: A risk factor in women with unexplained recurrent early pregnancy loss. *Fertil Steril* 1993;60:820-825.
- 61 Coppede F, Migheli F, Bargagna S, Siciliano G, Antonucci I, Stuppia L, Palka G, Migliore L. Association of maternal polymorphisms in folate metabolizing genes with chromosome damage and risk of down syndrome offspring. *Neurosci Lett* 2009;449:15-19.
- 62 Steegers-Theunissen RP, Boers GH, Trijbels FJ, Eskes TK. Neural-tube defects and derangement of homocysteine metabolism. *N Engl J Med* 1991;324:199-200.
- 63 Steegers-Theunissen RP, Boers GH, Trijbels FJ, Finkelstein JD, Blom HJ, Thomas CM, Borm GF, Wouters MG, Eskes TK. Maternal hyperhomocysteinemia: A risk factor for neural-tube defects? *Metabolism* 1994;43:1475-1480.
- 64 Mills JL, McPartlin JM, Kirke PN, Lee YJ, Conley MR, Weir DG, Scott JM. Homocysteine metabolism in pregnancies complicated by neural-tube defects. *Lancet* 1995;345:149-151.
- 65 Botto LD, Yang Q. 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase gene variants and congenital anomalies: A huge review. *Am J Epidemiol* 2000;151:862-877.
- 66 Chen X, Guo J, Lei Y, Zou J, Lu X, Bao Y, Wu L, Wu J, Zheng X, Shen Y, Wu BL, Zhang T. Global DNA hypomethylation is associated with ntd-affected pregnancy: A case-control study. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol* 2010;88:575-581.
- 67 Wenstrom KD, Johanning GL, Johnston KE, DuBard M. Association of the c677t methylenetetrahydrofolate reductase mutation and elevated homocysteine

- levels with congenital cardiac malformations. *Ame J Obstet Gynecol* 2001;184:806-812; discussion 812-807.
- 68 Li D, Jing XA, Wang HY, Ye WJ, Fan H. Study of correlation between congenital heart disease and 5, 10-methylenetetra hydrofolate reductase gene's polymorphism or folacin intakes. *Zhonghua Yu Fang Yi Xue Za Zhi* 2009;43:700-704.
- 69 Zhu J, Hao L, Li S, Bailey LB, Tian Y, Li Z. Mthfr, tgfb3, and tgfa polymorphisms and their association with the risk of non-syndromic cleft lip and cleft palate in china. *Am J Med Genet A* 2010;152A:291-298.
- 70 Mills JL, Druschel CM, Pangilinan F, Pass K, Cox C, Seltzer RR, Conley MR, Brody LC. Folate-related genes and omphalocele. *Am J Med Genet A* 2005;136:8-11.
- 71 Balaghi M, Wagner C. DNA methylation in folate deficiency: Use of cpg methylase. *Biochem Biophys Res Commun* 1993;193:1184-1190.
- 72 De Cabo SF, Hazen MJ, Molero ML, Fernandez-Piqueras J. S-adenosyl-l-homocysteine: A non-cytotoxic hypomethylating agent. *Experientia* 1994;50:658-659.
- 73 Wainfan E, Poirier LA: Methyl groups in carcinogenesis: Effects on DNA methylation and gene expression. *Cancer research* 1992;52:2071s-2077s.
- 74 Aytekin E, Ergun SG, Ergun MA, Percin FE. Evaluation of genoflow thrombophilia array test kit in its detection of mutations in factor v leiden (g1691a), prothrombin g20210a, mthfr c677t and a1298c in blood samples from 113 turkish female patients. *Genet Test Mol Biomarkers* 2014;18:717-721.
- 75 Hubacek JA, Rynekrova J, Kasparova D, Adamkova V, Holmes MV, Fait T. Association of mthfr genetic variants c677t and a1298c on predisposition to spontaneous abortion in slavonic population. *Clinica Chimica Acta* 2014;440C:104-107.

- 76 Rai V. Methylenetetrahydrofolate reductase gene a1298c polymorphism and susceptibility to recurrent pregnancy loss: A meta-analysis. *Cell Mol Biol* 2014;60:27-34.
- 77 Govindaiah V, Naushad SM, Prabhakara K, Krishna PC, Radha Rama Devi A. Association of parental hyperhomocysteinemia and c677t methylene tetrahydrofolate reductase (mthfr) polymorphism with recurrent pregnancy loss. *Clin Biochem* 2009;42:380-386.
- 78 Reik W, Dean W, Walter J. Epigenetic reprogramming in mammalian development. *Science* 2001;293:1089-1093.
- 79 Haaf T. Methylation dynamics in the early mammalian embryo: Implications of genome reprogramming defects for development. *Current topics in microbiology and immunology* 2006;310:13-22.
- 80 Victorino DB, Godoy MF, Goloni-Bertollo EM, Pavarino EC. Meta-analysis of methylenetetrahydrofolate reductase maternal gene in down syndrome: Increased susceptibility in women carriers of the mthfr 677t allele. *Mol Biol Rep* 2014;41:5491-5504.
- 81 Zhang Q, Bai BL, Liu XZ, Miao CY, Li HL. Association of folate metabolism genes mtrr and mthfr with complex congenital abnormalities among chinese population in Shanxi Province, China. *Chinese Journal of Contemporary Pediatrics* 2014;16:840-845.
- 82 Wang B, Liu M, Yan W, Mao J, Jiang D, Li H, Chen Y. Association of snps in genes involved in folate metabolism with the risk of congenital heart disease. *J Mater Fetal Neonatal Med* 2013;26:1768-1777.
- 83 Junker R, Kotthoff S, Vielhaber H, Halimeh S, Kosch A, Koch HG, Kassenbohmer R, Heineking B, Nowak-Gottl U. Infant methylenetetrahydrofolate reductase 677tt genotype is a risk factor for congenital heart disease. *Cardiovasc Res.* 2001;51:251-254.

- 84 Zhang T, Lou J, Zhong R, Wu J, Zou L, Sun Y, Lu X, Liu L, Miao X, Xiong G. Genetic variants in the folate pathway and the risk of neural tube defects: A meta-analysis of the published literature. *PloS one* 2013;8:e59570.