



The Role of Chromosomal Abnormalities and Hereditary Thrombophilia Factors at Recurrent Pregnancy Loss [Tekrarlayan Gebelik Kaybı Etiyolojisinde Kromozomal Bozuklukların ve Kalıtsal Trombofili Faktörlerinin Rolü]

Senem Arda Duz

Department of Obstetrics and Gynecology, Yesilyurt State Hospital, Malatya, Turkey

Abstract

Three or more miscarriages are termed as recurrent pregnancy loss and the insidance is 0.5-3%. Some of the reasons being implicated in the etiology are chromosomal abnormalities and hereditary thrombophilia. 103 couples with recurrent pregnancy loss were examined about chromosomal abnormalities and hereditary thrombophilic factors. Peripheral blood samples were taken in heparinized syringes and cultured for karyotype analysis and polimerase chain reaction was used for methylenetetrahydrofolate reductase, Factor V Leiden and prothrombin G20210A gene mutations. 2(1.94%) women of 103 have inversion on 9th chromosome, 1 (0.97%) man of 103 has inversion on 9th chromosome and 1 (0.97%) man of 103 has translocation between 3rd and 14th chromosomes. The heterozygous mutations of methylenetetrahydrofolate reductase, Factor V Leiden and prothrombine G20210A detected at 48 (46.6%), 6 (5.82%) and 3 (2.91%) women respectively and homozygous mutations detected at 19 (18.44%), 1 (0.98%) and 0 (0%) women respectively. This study reported that chromosomal abnormalities and hereditary thrombophilia can take a role at recurrent pregnancy loss.

Keywords: Factor V leiden, methylenetetrahydrofolate reductase, prothrombin G20210A, recurrent pregnancy loss

(Rec.Date: Aug 29, 2015

Accept Date: Sep 15, 2015)

Corresponding Author: Senem Arda Duz, Department of Obstetrics and Gynecology, Yesilyurt State Hospital, Malatya, Turkey

E-mail: senem_arda@yahoo.com

The Role of Chromosomal Abnormalities and Hereditary Thrombophilia Factors at Recurrent Pregnancy Loss [Tekrarlayan Gebelik Kaybı Etiyolojisinde Kromozomal Bozuklukların ve Kalıtsal Trombofili Faktörlerinin Rolü]

Senem Arda Duz

Kadın hastalıkları ve Doğum Kliniği, Yeşilyurt Devlet Hastanesi, Malatya, Türkiye

Özet

Tekrarlayan gebelik kayıpları üç veya daha fazla ardışık düşüğün görülmesi olarak tanımlanır ve kadınların %0,5-3'de meydana gelir. Etiyolojisinde suçlanmakta olan nedenlerden bir kısmı da trombofiliye yatkınlık yaratan gen mutasyonları ve kromozomal bozukluklardır. Bu çalışmaya tekrarlayan gebelik kaybı nedeni ile araştırılan 103 hasta dahil edilmiştir. Tekrarlayan gebelik kaybı etiyolojisinde kromozomal bozukluk ve kalıtsal trombofili faktörlerinin sıklığının saptanması amaçlanmıştır. Heparinli enjektörlere alınan periferik kanın kültüre edilmesi ile karyotip analizi yapılmış ve polimeraz zincir reaksiyonu yöntemi ile de metilentetrahidrofolat redüktaz, Faktör V Leiden ve Protrombin G20210A gen mutasyonu araştırılmıştır. 103 kadından 2'sinde (%1,94) 9. kromozomda inversiyon saptanırken, 103 erkekten 1'inde (%0,97) 9. kromozomda inversiyon ve 1'inde de (%0,97) 3,14 translokasyonu saptanmıştır. MTHFR, FV Leiden ve Protrombin G20210A genlerinde heterozigot mutasyonlara sırası ile 48 (%46,6), 6 (%5,82) ve 3 (%2,91) ve homozigot mutasyonlara sırası ile 19 (%18,44), 1 (%0,97) ve 0 (%0) kadında rastlanmıştır. Bu çalışmada tekrarlayan gebelik kayıplarının etyopatolojisinde kromozomal bozuklukların ve kalıtsal trombofilinin rolü olabileceği gösterilmiştir.

Anahtar kelimeler: Faktör V leiden, metilen tetrahidrofolat redüktaz, protrombin G20210A, tekrarlayan gebelik kayıpları

(Rec.Date: Aug 29, 2015

Accept Date: Sep 15, 2015)

Corresponding Author: Senem Arda Duz, Department of Obstetrics and Gynecology, Yesilyurt State Hospital, Malatya, Turkey
E-mail: senem_arda@yahoo.com

Giriş

Klinik olarak fark edilebilen düşükler bilinen tüm gebeliklerin %15-20'sini kapsayacak kadar çok sık görülürler [1,2]. Bununla birlikte total embriyonik kayıp insidansı muhtemelen daha fazladır. Tekrarlayan gebelik kayıpları (TGK) üç veya daha fazla ardışık düşüğün görülmesi olarak tanımlanır ve kadınların %0,5-3'de meydana gelir [3,4]. Etiyolojisi çok farklı olmakla birlikte vakaların sadece %50'sinde saptanabilir bir neden bulunabilmektedir [4,5]. TGK sıklıkla hastaları strese sokan ve doktorları hayal kırıklığına uğratan bir klinik durumdur. Uterin anomaliler, endokrin problemler, immünolojik anormallikler, kromozomal anormallikler ve enfeksiyöz hastalıklar gibi birçok etyolojik faktör suçlanmaktadır [6,7]. Bu etyolojik nedenlerin dışlandığı TGK olan kadınlarda altta yatan nedenin trombofili olabileceği düşünülmektedir [7].

Trombofili, hiperkoagulasyona yatkınlık yaratan kazanılmış ya da kalıtsal bir durumdur. Kalıtsal trombofilinin en yaygın sebebi, Faktör V Leiden (FV Leiden), protrombin G20210A ve metilentetrahidrofolat redüktaz (MTHFR) gen mutasyonlarıdır [8,9]. Trombofili ile TGK arasında bir ilişki olduğu birçok çalışmada gösterilmiş olsa da [10-12], trombofilinin TGK'nın nedeni mi yoksa sadece ilişkili bir durum mu olduğu hala net değildir [8,13].

Ayrıca kromozomal anomalilerin de spontan abortlarda rol oynadığı bilinmektedir [14]. Spontan abortların %1'inden dengesiz translokasyonlar sorumludur. Bu ebeveynlerde sıklıkla resiprokal ya da Robertsonian translokasyon gibi yapısal kromozomal bozukluklar saptanmıştır [15,16]. Kromozomal translokasyonların toplumdaki sıklığı %0,2 iken, TGK olan çiftlerde bu oran %3-5'lere yükselmektedir. Bu durumda dengesiz bir gamet oluşumu sürekli tekrarlanmakta ve TGK'ya sebep olmaktadır [17-19].

Bu çalışmada TGK etiolojisinde kromozomal bozukluk ve kalıtsal trombofilinin sıklığının saptanması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem

İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Üreme Endokrinolojisi Bilim dalında 2014 yılı Haziran ile 2015 yılı Şubat ayları arasında tekrarlayan gebelik kaybı nedeni ile araştırılan, 18-45 yaş arası 103 hasta retrospektif olarak incelenerek bu çalışmaya dahil edilmiştir.

Hastaların detaylı obstetrik hikayesi bunun yanısıra jinekolojik, medikal, cerrahi ve sosyal hikayeleri alınmıştır. Takiben hastalar, genel fiziksel ve pelvik muayeneye alınmışlardır. Her iki partnerin karyotip analizi yapılmış olup; tüm kadınlar FV Leiden mutasyonu, Protrombin G20210A ve MTHFR gen mutasyonu varlığı açısından incelenmiştir.

Çalışmaya dahil edilen bireylerden sabah aç karınla antekübital venden 5 cc venöz kan heparinlenmiş şırıngalara alınarak kültüre edilip karyotip analizi çalışılmıştır. EDTA'lı tüplere alınan 2 cc venöz kandan da polimeraz zincir reaksiyonu yöntemi ile MTHFR, FV Leiden ve protrombin gen mutasyonları çalışılmıştır. Veriler Microsoft Excel 2010 programına girilerek, ortalama (minimum-maksimum) değerler belirlenmiş ve mutasyonların sıklıkları yüzde olarak hesaplanmıştır.

Sonuçlar

Hastaların ortalama yaşı 29.87 (18-44), gravida ortalamaları 5.32 (3-8), parite ortalamaları 0.59 (0-4), abort sayısı ortalamaları 3,92 (3-7) ve yaşayan çocuk sayısı ortalamaları 0.49 (0-3) olarak saptandı.

103 kadının 101 (%98.05)'inde karyotip anormalliği saptanmazken 2 (%1.94)'sinde inv (9)(p12;q13) inversiyonuna rastlandı. 103 erkeğin 101 (%98.05)'inde kromozomal anormallik bulunmazken 1(%0.97)'inde inv (9)(p12;q13) inversiyonuna ve 1 (%0,97)'inde de t(3;14) translokasyonuna rastlandı (Tablo 1). 36 (%34,95) kadında MTHFR gen mutasyonu saptanmadı. Ancak 48 (%46.6) kadında heterozigot ve 19 (%18.44) kadında homozigot MTHFR gen mutasyonu saptandı. FV Leiden gen mutasyonu homozigot olarak sadece 1 (%0.97) kadında saptanırken heterozigot FV Leiden mutasyonu 6 (%5.82) kadında pozitif. 96 (%93.2) kadında ise FV Leiden mutasyonu bulunmadı. Protrombin G20210A gen mutasyonu hiçbir hastada homozigot olarak mevcut değildi. Ancak 3 (%2.91) kadında heterozigot olarak protrombin G20210A gen mutasyonu saptandı. 100 (%97.08) kadın ise protrombin G20210A gen mutasyonu açısından negatif idi (Tablo 2).

Tablo 1. Çiftlerde kromozomal durum

	Kadın	Erkek
Normal	101 (%98,05)	101 (%98,05)
inv*(9)(p12;q13)	2 (%1,94)	1 (%0,97)
t**(3;14)	0 (%0)	1 (%0,97)

*inversiyon **translokasyon

Tablo 2. Kadınlarda trombofilik gen mutasyonları

	MTHFR*	FVL**	ProtrombinG20210A
Normal	36 (%34,95)	96 (93,2)	100 (%97,08)
Heterozigot	48 (%46,6)	6 (%5,82)	3 (%2,91)
Homozigot	19 (%18,44)	1 (%0,97)	0 (%0)

*Metilentetrahidrofolat redüktaz **Faktör V Leiden

Tartışma

Bu çalışmada 103 kadından 2'sinde (%1.94) 9. kromozomda inversiyon saptanırken, 103 erkekten 1'inde (%0.97) 9. kromozomda inversiyon ve 1'inde de (%0,97) 3,14 translokasyonu saptanmıştır. MTHFR, FV Leiden ve Protrombin G20210A genlerinde heterozigot mutasyonlara sırası ile 48 (%46.6), 6 (%5.82) ve 3 (%2.91) ve homozigot mutasyonlara sırası ile 19 (%18.44), 1 (%0.97) ve 0 (%0) kadında rastlanmıştır.

9. kromozomda inversiyon sıklıkla bir polimorfizmdir. Ancak inv(9) mekanizması biraz karmaşıktır. Bu durumun, 9. kromozom varyantı olan polimorfik kalıtım paterni olup olmadığını göstermek için bu hastaların soy ağaçları incelenip karyotip analizi yapmak mümkün olmamıştır. inv(9)'un TKG ile ilişkili olup olmadığını söylemek bu veriler ile pek mümkün gözükmemektedir.

Literatüre bakıldığında en az 2 gebelik kaybı yaşayan %4,7 ila %12.5 çiftin birinde kromozomal bozukluk görülmektedir [16,20-22]. Gonçalvez ve ark.'nın çalışmasında gebelik kaybı yaşayan 7 hasta incelenmiş ve 3 (%42.85) hastada X kromozom mozaizmine, 3 (%42.85) hastada Resiprokal translokasyona ve 1 (%14.28) hastada Robertsonian translokasyona rastlanmıştır [23].

MTHFR gen mutasyonu 677. pozisyonundaki sitozin ile timinin yer değiştirmesi ile meydana gelmektedir. Bu mutasyon ile enzimin aktivitesi azalmakta, kanda homosistein artışı olmaktadır [9,24,25]. Yüksek homosistein düzeyi TKG'nın olası tek nedeni olabilir [9]. Türkiye popülasyonu ile yapılan bir çalışmada MTHFR heterozigositesi %47.4 ve homozigositesi %9,6 bulunmuştur [26]. Yıldız ve ark.'nın TKG'lı Türkiye popülasyonu ile yaptıkları bir çalışmada ise MTHFR gen mutasyonu kontrol grubundan düşük bulunmuştur (TKG hastalarında %36.9 heterozigot, %3.5 homozigot, kontrol grupta %42.6 heterozigot and %2.1 homozigot) [27]. İncebiyık ve ark.'nın 1507 hastadan oluşan çalışmalarında heterozigot MTHFR gen mutasyonu %40.61, homozigot MTHFR gen mutasyonu %8.29 ve MTHFR açısından normal bireyler %48.90 olarak bildirilmiştir [28].

FV Leiden gen mutasyonu 1691. gen pozisyonunda adenin ile guanin değişimi ile oluşmaktadır. Bu değişim ile FV aktive protein C'ye direnç kazanmıştır [29]. FV Leiden mutasyonuna özellikle Akdeniz ülkelerinde rastlanmaktadır. Türkiye'de de FV Leiden mutasyonu varyasyonları çok geniş bir yelpazededir. Türkiye'de %7.9 oranında heterozigosite bildirilmiştir [30].

Protrombin G20210A gen mutasyonu 20210. gen pozisyonunda guanin ile adeninin yer değişikliği ile oluşur ve serum protrombin seviyesi artar. Bu durumda venöz tromboz, arteriyel hastalıklar ve TKG sıklığı artar [24]. Türkiye'de heterozigot protrombin G20210A gen mutasyonu sıklığı %1.2-2.7 arasında değişmektedir [31,32].

Kalıtsal trombofili ve kromozomal anormalliklerin TKG açısından bir sebep mi yoksa sadece ilişkili bir durum mu olduğu konusu hala net değildir. Bazı otörler bir ilişkileri olduğu konusunda hemfikirken (9,10,12), bazı otörler bir bağlantı bulamamıştır [8,33,34].

Kaynaklar

1. U.S.Department of Health and Human Services. Reproductive impairment among married couples. In U.S.Vital Health Statistics Series 23,11. Hyattsville, MD: National Center of Health Statistics.
2. American Collage of Obstetricans and Gynecolists Practice Bulletin. Management of recurrent pregnancy loss. Number 24, 2001. Int J Gynecol Obstet. 2002;78(2):179-90.
3. Daya S. Evaluation and management of recurrent spontaneous abortion. Cuirr Opin Obstet Gynecol. 1996;8(3):188-92.
4. Katz VL, Kuller JA. Recurrent miscarriage. Am J Perinatol 1994;11(6):386-97
5. Clifford K, Rai R, Watson H, Regan L. An informative protocol for the investigation of recurrent miscarriage: preliminary experience of 500 consecutive cases. Hum Reprod. 1994;9(7):1328-32.
6. Teremmahi Ardestani M, Nodushan HH, Aflatoonian A, Ghasemi N, Sheikhha MH. Case control study of the factor V Leiden and factor II G20210A mutation frequency in women with recurrent pregnancy loss. Iran J Reprod Med. 2013;11(1):61-4.
7. Martínez-Zamora MÁ, Cervera R, Balasch J. Recurrent miscarriage, antiphospholipid antibodies and the risk of thromboembolic disease. Clin Rev Allergy Immunol. 2012;43(3):265-74.
8. Hossain N, Shamsi T, Khan N, Naz A. Thrombophilia investigation in Pakistani women with recurrent pregnancy loss. J Obstet Gynaecol Res. 2013;39(1):121-5.
9. Cao Y, Xu J, Zhang Z, Huang X, Zhang A, Wang J, Zheng Q, Fu L, Du J. Association study between methylenetetrahydrofolate reductase polymorphisms and unexplained recurrent pregnancy loss: a meta-analysis. Gene. 2013;514(2):105-11.
10. Vora S, Shetty S, Ghosh K. Thrombophilic dimension of recurrent fetal loss in Indian patients. Blood Coagul Fibrinolysis. 2008;19(6):581-4.
11. Ferroni P, La Farina F, Palmirotta R, Martini F, Raparelli V, Nigro C, Riondino S, Rampini MR, Basili S, Guadagni F. Predictive value of thrombopath determination in women with infertility and pregnancy complications. Clin Chim Acta. 2010;411(1-2):37-42.
12. Ayadurai T, Muniandy S, Omar SZ. Thrombophilia investigation in Malaysian women with recurrent pregnancy loss. J Obstet Gynaecol Res. 2009;35(6):1061-8.
13. Middeldorp S. Pregnancy failure and heritable thrombophilia. Semin Hematol. 2007;44(2):93-7.
14. De Braekeleer M, Dao TN. Cytogenetic studies in couples experiencing repeated pregnancy losses. Hum Reprod. 1990;5(5):519-28.

15. Ozawa N, Maruyama T, Nagashima T, Ono M, Arase T, Ishimoto H, Yoshimura Y. Pregnancy outcomes of reciprocal translocation carriers who have a history of repeated pregnancy loss. *Fertil Steril*. 2008;90(4):1301-4.
16. Pal S, Ma SO, Norhasimah M, Suhaida MA, Siti Mariam I, Ankathil R, Zilfalil BA. Chromosomal abnormalities and reproductive outcome in Malaysian couples with miscarriages. *Singapore Med J*. 2009;50(10):1008-12.
17. Hirshfeld-Cytron J, Sugiura-Ogasawara M, Stephenson MD. Management of recurrent pregnancy loss associated with a parental carrier of a reciprocal translocation: a systematic review. *Semin Reprod Med*. 2011;29(6):470-81.
18. Sugiura-Ogasawara M, Aoki K, Fujii T, Fujita T, Kawaguchi R, Maruyama T, Ozawa N, Sugi T, Takeshita T, Saito S. Subsequent pregnancy outcomes in recurrent miscarriage patients with a paternal or maternal carrier of a structural chromosome rearrangement. *J Hum Genet*. 2008;53(7):622-8.
19. Stephenson MD. Frequency of factors associated with habitual abortion in 197 couples. *Fertil Steril*. 1996;66(1):24-9.
20. Rodger MA, Paidas M, McLintock C, Middeldorp S, Kahn S, Martinelli I, Hague W, Rosene Montella K, Greer I. Inherited thrombophilia and pregnancy complications revisited. *Obstet Gynecol*. 2008;112(2 Pt 1):320-4.
21. Kochhar PK, Ghosh P. Reproductive outcome of couples with recurrent miscarriage and balanced chromosomal abnormalities. *J Obstet Gynaecol Res*. 2013;39(1):113-20.
22. Van den Berg MM, van Maarle MC, van Wely M, Goddijn M. Genetics of early miscarriage. *Biochim Biophys Acta*. 2012;1822(12):1951-9.
23. Gonçalves RO, Santos WV, Sarno M, Cerqueira BA, Gonçalves MS, Costa OL. Chromosomal abnormalities in couples with recurrent first trimester abortions. *Rev Bras Ginecol Obstet*. 2014;36(3):113-7.
24. Behjati R, Modarressi MH, Jeddi-Tehrani M, Dokoohaki P, Ghasemi J, Zarnani AH, Aarabi M, Memariani T, Ghaffari M, Akhondi MA. Thrombophilic mutations in Iranian patients with infertility and recurrent spontaneous abortion. *Ann Hematol*. 2006;85(4):268-71.
25. Callejon G, Mayor-Olea A, Jimenez AJ, Gaitan MJ, Palomares AR, Martinez F, Ruiz M, Reyes-Engel A. Genotypes of the C677T and A1298C polymorphisms of the MTHFR gene as a cause of human spontaneous embryo loss. *Hum Reprod*. 2007;22(12):3249-54.
26. Sazci A, Ergul E, Kaya G, Kara I. Genotype and allele frequencies of the polymorphic methylenetetrahydrofolate reductase gene in Turkey. *Cell Biochem Funct*. 2005;23(1):51-4.

27. Yildiz G, Yavuzcan A, Yildiz P, Süer N, Tandogan N. Inherited thrombophilia with recurrent pregnancy loss in Turkish women: a real phenomenon? *Ginekol Pol.* 2012;83(8):598-603.
28. Incebiyik A, Hilali NG, Camuzcuoglu A, Camuzcuoglu H, Akbas H, Kilic A, Vural M. Prevalence of thromogenic gene mutations in women with recurrent miscarriage: A retrospective study of 1,507 patients. *Obstet Gynecol Sci.* 2014;57(6):513-7.
29. McNamee K, Dawood F, Farquharson RG. Thrombophilia and early pregnancy loss. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* 2012;26(1):91-102.
30. Irdem A, Devecioglu C, Batun S, Soker M, Sucakli IA. Prevalence of factor V Leiden and prothrombin G20210A gene mutation. *Saudi Med J.* 2005;26(4):580-3.
31. Kabukcu S, Keskin N, Keskin A, Atalay E. The frequency of factor V Leiden and concomitance of factor V Leiden with prothrombin G20210A mutation and methylene tetrahydrofolate reductase C677T gene mutation in healthy population of Denizli, Aegean region of Turkey. *Clin Appl Thromb Hemost.* 2007;13(2):166-71.
32. Ayyildiz O, Kalkanli S, Batun S, Aybak M, Isikdogan A, Tiftik N, Bolaman Z, Soker M, Muftuoglu E. Prothrombin G20210A gene mutation with LightCycler polymerase chain reaction in venous thrombosis and healthy population in the southeast of Turkey. *Heart Vessels.* 2004;19(4):164-6.
33. Biswas A, Choudhry P, Mittal A, Meena A, Ranjan R, Choudhry VP, Saxena R. Recurrent abortions in Asian Indians: no role of factor V Leiden Hong Kong/Cambridge mutation and MTHFR polymorphism. *Clin Appl Thromb Hemost.* 2008;14(1):102-4.
34. Carp H, Toder V, Aviram A, Daniely M, Mashiach S, Barkai G. Karyotype of theabortus in recurrent miscarriage. *Fertil Steril.* 2001;75(4):678-82.