

Maternal MTHFR C677T Gen Mutasyonu Varlığının Yenidoğan Doğum Ağırlığı Üzerine Etkisi

The Effect of Maternal MTHFR C677T Gene Mutation Presence on Neonatal Birth Weight

Dilek Benk Şilfeler¹, Raziye Keskin Kurt¹, Sezin Topaloğlu Güney¹, Bayram Ali Dorum², Erhan Yengil³, İbrahim Şilfeler²

¹ Mustafa Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum A.D

² Mustafa Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları A.D

³ Mustafa Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi Aile Hekimliği A.D

ÖZET

Amaç: MTHFR (metilentetrahidrofolat redüktaz) gen mutasyonu, MTHFR aktivitesinin azalmasına ve homosistein düzeyinde artışa neden olur. MTHFR gen mutasyonunun intrauterin büyümede yavaşlamaya neden olduğu düşünülmektedir. Bu çalışmada MTHFR gen mutasyonu olan gebelerden doğan yenidoğanların doğum kilolarını mutasyonu olmayan gebelerden doğan popülasyonla karşılaştırmayı amaçladık.

Materyal-Method: Çalışma grubu MTHFR gen mutasyonu (n=71) grubundan ve kontrol grubundan (n=36) oluşmaktaydı. Yenidoğan doğum ağırlıkları gruplar arasında karşılaştırıldı.

Bulgular: Kadın Hastalıkları ve Doğum polikliniğine incelenen dönemde başvuran ve MTHFR gen analizi bakılmış olan toplam 107 gebe değerlendirilmişti. Yenidoğan doğum ağırlıkları MTHFR gen mutasyonu grubunda, kontrol grubuna göre daha düşük bulunmuştur.

Sonuç: MTHFR mutasyonu olan kadınlardan doğan yenidoğanların doğum kilolarının normal popülasyona göre daha düşük olduğu görülmüştür. Bu olguların yenidoğan yoğun bakım ünitesi olan bir merkezde doğum yapması uygun olacaktır. MTHFR mutasyonu ve yenidoğanların doğum kilolarının arasındaki ilişkiyi araştıran ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar Kelimeler: Metilentetrahidrofolat redüktaz, yenidoğan doğum ağırlığı, gen mutasyonu

Geliş tarihi / Received: 17.05.2014

Kabul tarihi / Accepted: 10.07.2014

ABSTRACT

Aim: MTHFR (methylenetetrahydrofolate reductase) gene mutation may diminish MTHFR activity and result in an increased homocystein level. It is thought that MTHFR gene mutation may cause intrauterine growth restriction. The aim of this study is to evaluate the effect of maternal MTHFR gene mutation presence on neonatal birth weights.

Materials and Methods: The study population consists of MTHFR gene mutation group (n=71) and control group (n=36). Neonatal birth weights were compared between groups.

Results: 107 pregnant women applying to Mustafa Kemal University Hospital were included in this study. Neonatal birth weights were lower in MTHFR gene mutation group than in control group.

Conclusion: Our study result showed that neonatal birth weights were lower in MTHFR gene mutation group than in control group. Neonatal care may be necessary for newborn of mothers having MTHFR gene mutation. Further studies are needed to investigate the relation between MTHFR gene mutation and neonatal birth weight.

Key words: methylenetetrahydrofolate reductase, neonatal birth weight, Gene Mutation

İletişim Adresi: Dilek Benk Şilfeler, Mustafa Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum A.D, Hatay.

E-posta: drsilfeler@yahoo.com

GİRİŞ

Folat siklusunda önemli bir role sahip olan Metilentetrahidrofolat redüktaz (MTHFR) enzimi homosistein aminoasit metabolizmasına önemli katkılar sağlar (1,2,3,4). Bu enzim folatın aktif hale gelmesi için 5,10 metilentetrahidrofolat'ı 5-metiltetrahidrofolat'a dönüştürür. Böylece aktif hale gelen folat, homosisteinin metionine remetilasyonunu sağlar (5). MTHFR polimorfizmi olarak bilinen MTHFR geninin 677. nükleotidindeki sitozin-timin değişikliği, MTHFR aktivitesinin azalmasına neden olarak serum folat düzeylerinde düşmeye ve buna bağlı olarak homosistein düzeyinde artışa neden olabilmektedir (4,6,7). Oluşan bu metabolik sonuçlar oksidatif stres, platelet agregasyonu ve endotel hücre disfonksiyonuna ve bunun sonucu olarak da trombotik vasküler hastalıklar için risk artışına neden olur (8). Yapılan birkaç çalışmada MTHFR C677T homozigot olan kadınlarda preeklampsi, spina bifida, spontan fetal kayıp, erken doğum, plasental vaskülopati, düşük doğum ağırlığı ve intrauterin gelişme geriliği, nöromental gerilik ve diğer konjenital anomali varlığı tanımlanmıştır (3,4,8-17). Bununla birlikte daha önceki çalışmalarda MTHFR C677T gen mutasyonunun hiperhomosistinemi ve intrauterin büyümede kısıtlılığa sebep olduğu gösterilse de bu ilişki kesin kanıtlarla açıklanamamıştır (18). Fenotipteki bu farklılıklar folat seviyesine, diğer çevresel faktörlere, yaşanan bölgenin coğrafik özelliklerine ve ırksal farklılıklara bağlı olabilir (8).

Bu çalışma ile MTHFR gen mutasyonu olan gebelerden doğan yenidoğanların doğum kilolarını normal popülasyona göre karşılaştırmayı amaçladık.

GEREÇ VE YÖNTEM

Mustafa Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı polikliniğine Ocak 2011 – Haziran 2013 tarihleri arasında başvuran hastaların dosyaları retrospektif olarak incelendi ve MTHFR gen analizi bakılmış olan 107 hasta çalışmaya dahil edildi. Çalışmaya dahil edilen 17 hasta MTHFR C677T gen mutasyonu açısından homozigot mutant, 54 hasta heterozigot mutant saptandı ve 36 hasta homozigot normal olarak saptandı ve üç grup oluşturuldu. Oluşturulan 3 gruba ait gravida, parite, abortus sayıları, gebelik dönemlerinde preeklampsi hikayeleri, kronik hastalık varlığı, Rh uyuşmazlığı varlığı, maternal Hb, Plt, AST, ALT, TSH seviyeleri, doğumdaki gebelik haftaları, yenidoğan doğum kiloları, cinsiyetleri, gebelik boyunca aspirin, clexan ve folik asit kullanıp kullanmadıkları, Faktör V Leiden, MTHFR ve Protrombin mutasyonu, protein C, protein S ve antitrombin III varlığı değerlendirildi. Bu parametrelerin yenidoğan doğum kilosu üzerine etkileri araştırıldı.

Genetik çalışma için 5 cc kan alınarak EDTA' lı tüpe konuldu; tüpler çalışma süresiyle analiz arasında buzdolabında +4°C' da saklandı. Faktör V Leiden, MTHFR C677T ve Protrombin G20210A mutasyonlarının değerlendirilmesi için, genetik laboratuvarı'nda Magna Pure DNA izolasyon cihazı ve DNA izolasyon kiti (Roche®, İsveç) kullanılarak DNA izolasyonu yapıldı. Ardından moleküler yöntemle Light Cycler cihazıyla real time polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) kullanılarak adı geçen mutasyonlara ait hedef gen bölgeleri çoğaltıldı. PCR ürünleri, sırasıyla nI, HinfI ve Hin- dIII restriksiyon enzimleriyle 37 °C' de kesime uğratıldı ve DNA bantları %12 (29:1) ve %6 (19:1) poliakrilamid jellerde 150 V' ta 60 dakika elektroforez edildi. Bant boyları moleküler ağırlığı bilinen Promega firmasına ait ticari HinfΦ DNA belirteci kullanılarak incelendi. İzole edilen DNA'larda polimorfizm analiz edildi. Faktör V Leiden, MTHFR 677, Protrombin 20210 mutasyonları için değerler ölçüldü.

İstatistiksel Analiz

İstatistiksel değerlendirmeler için SPSS for Windows 18.0 (Statistical Package for Social Sciences) paket programı kullanıldı. Tanımlayıcı ve analitik istatistikler kullanıldı. Sürekli değişkenlerin normal dağılımı Kolmogorov-Smirnov test ile araştırıldı. Chi-square test, kategorik değişkenleri karşılaştırmak için kullanıldı. Gruplar arası sürekli değişkenler (Comparisons of continues variables) karşılaştırmalarda Kruskal-Wallis test and Mann-Whitney U test kullanıldı. Pearson korelasyon katsayısı ile sürekli değişkenler arasındaki ilişkiler incelendi. Yenidoğan doğum ağırlıklarını bağımsız olarak predikte eden faktörleri tayin etmek için multiple linear regresyon analizi kullanıldı. Tüm istatistiksel veriler için p <0.05 anlamlı olarak kabul edildi.

BULGULAR

MTHFR Heterozigot olanların doğum kiloları 3000 gr, MTHFR Homozigot olanların doğum kiloları 2900 gr idi. Doğum kiloları yönünden benzer bulundu (p=0.403). Kontrol grubu (3200 gr) ile MTHFR Heterozigot (3000 gr) ve MTHFR Homozigot (2900 gr) grubu olanların doğum kiloları karşılaştırıldığında; kontrol grubunun kiloları her iki gruptan da anlamlı derecede yüksek bulundu (p=0.004, p=0.011 sırasıyla) (Tablo 1).

Tablo 1. Grupların karşılaştırılması

		GROUPS				P**
		MTHFR Heterozigot (n=54)	MTHFR Homozigot (n=17)	Kontrol (n=36)	P*	1-2 1-3 2-3
Yaş (yıl)	Median	34,50	30,00	30,00	0.023	0.073
	Minimum	19-	19	22-		0.011
	Maximum	48	40	39		0.745
TSH	Median	1,100000	1,210000	1,215000	0.084	
	Minimum	,4700	,8700	,8000		
	Maximum	1,8500	4,3000	3,5000		
Ast	Median	18,50	19,00	17,50	0.006	0.401
	Minimum	12	16	13		0.010
	Maximum	43	32	20		0.004
ALT	Median	18,00	19,00	19,00	0.118	
	Minimum	7	16	14		
	Maximum	51	47	28		

* Kruskal-Wallis test ** Mann-Whitney U test *** Chi-square test

Tüm yenidoğan bebeklerin (107) doğum kiloları ile annelerin gebelik haftası, TSH ve ALT düzeyi ile korelasyon bulundu. Yeni doğanların doğum kiloları ile gebelik haftaları arasında pozitif korelasyon saptandı ($p=0.002/r=+0.295$). Aynı şekilde annelerin TSH düzeyleri ile pozitif korelasyon bulundu ($p=0.042/r=+0.197$). ALT düzeyleri arasında negatif korelasyon var idi ($p=0.022/r=-0.221$).

Bu bulgular eşliğinde doğum kilolarını etkileyen faktörlerin belirlenmesi için Lineer regresyon analizi uygulandı. MTHFR, gebelik haftası ve TSH'ın yeni doğan bebeklerin doğum kilolarını etkilediği görüldü (Tablo 2).

Tablo 2. Tüm olgularda doğum kilosunu etkileyen faktörlerin karşılaştırılması

	R	R ²	F (DF; p value)	Beta Coefficient	P
Doğum Ağırlığı	0.440	0.194	6.1(4; <0.0001*)		
Gebelik Haftası				0.274	0.034*
TSH düzeyi				0.195	0.005*
ALT düzeyi				-0.098	0.310
Grup(0)				0.209	0.022*

*Statistically significant. DF = degrees of freedom. F = F test. R = correlation coefficient.
MTHFR Heterozigot ve MTHFR Homozigot birlikte grup 0, Kontrol ise grup 1 olarak; 2 grup oluşturularak incelenmiştir.

TARTIŞMA

Bu çalışmada Mustafa Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesine başvuran toplam 107 gebe değerlendirilmiştir. Bu gebelerden doğan yenidoğanların doğum kiloları karşılaştırıldığında MTHFR heterozigot ve homozigot vakaların doğum kilolarının kontrol grubuna göre daha düşük olduğu görüldü.

Metilentetrahidrofolat reduktaz (MTHFR) geninin 677. nükleotidindeki polimorfizm, serum folat düzeylerinde düşmeye ve hiperhomosisteinemiye neden olabilmektedir(19). Bu mutasyonun toplumda görülme sıklığı %12 olarak gösterilmiştir (20,21). Oluşan hiperhomosisteinemi plasental yatakta oksidatif stres, platelet agregasyonu ve endotelial hücre disfonksiyonuna neden olabilir ve oluşan trombotik vasküler patolojiler sonucunda fetoplasental kan akımını azaltabilir. Bu hipotez tam olarak kanıtlanamamış olsa da Vries ve ark. intrauterine büyüme kısıtlılığı olgularında hiperhomosisteinemi saptamış olmaları, Alfrevik ve ark. hiperhomosisteinemi insidansının, intrauterin büyüme kısıtlılığında 5.9 kat fazla gözlenmesi ile desteklenmektedir (8,22,23).

Lee ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada MTHFR C677T genotipe varlığı homosistein konsantrasyonları ile ilişkili olduğu gösterilmiş ve maternal homosistein seviyesinin artışıyla beraber yenidoğan doğum kilolarında yaklaşık 120-130 gramlık bir düşüş saptanmıştır(4). Bizim çalışmamız da bu doğrultudadır.

Sonuç olarak MTHFR gen mutasyonu olan kadınlardan doğan yenidoğanların doğum kilolarının normal popülasyona göre daha düşük olduğu görülmüştür. Düşük doğum ağırlığının getireceği çeşitli riskler olacaktır. Bu nedenle bu olguların yenidoğan yoğun bakım ünitesi olan bir merkezde doğum yapması uygun olacaktır.

KAYNAKLAR

1. Rosenblatt DS. Methylenetetrahydrofolate reductase. Clin Invest Med. 2001;24:56-9.
2. Homberger G, Linnebank M, Winter C, et al. Genomic structure and transcript variants of the human methylenetetrahydrofolate reductase gene. Eur J Hum Genet. 2000;8:725-9.
3. Hague WM. Homocysteine and pregnancy. Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol. 2003;17:459-69.
4. Lee HA, Park EA, Cho SJ, Kim HS, Kim YJ, Lee H, Gwak HS, Kim KN, Chang7, Eun Ha NH, and Park H. Mendelian Randomization Analysis of the Effect of Maternal Homocysteine During Pregnancy, as Represented by Maternal MTHFR C677T Genotype, on Birth Weight. Gastrointestin Liver Dis. 2009;18:455-60.

5. Osian G, Procopciuc L, Vlad L, Iancu C, Mocan T, Mocan L. C677T and A1298C Mutations in the MTHFR Gene and Survival in Colorectal Cancer. *J Gastrointestin Liver Dis.* 2009;18:455-60.
6. Kang SS, Wong PW, Susmano A, Sora J, Norusis M, Ruggie N. Thermolabile methylenetetrahydrofolate reductase: an inherited risk factor for coronary artery disease. *Am J Hum Genet.* 1991;48:536-45.
7. Cortese C, Motti C. MTHFR gene polymorphism, homocysteine and cardiovascular disease. *Public Health Nutr.* 2001;4:493-7.
8. Yila TA, Sasaki S, Miyashita C, Braimoh TS, Kashino I, Kobayashi S, Okada E, Baba T, Yoshioka E, Minakami H, Endo T, Sengoku K, and Kishi R. Effects of Maternal 5,10-Methylenetetrahydrofolate Reductase C677T and A1298C Polymorphisms and Tobacco Smoking on Infant Birth Weight in a Japanese Population. *J Epidemiol* 2012;22:91-102.
9. Isotalo PA, Wells GA, Donnelly JG. Neonatal and fetal methylenetetrahydrofolate reductase genetic polymorphisms: an examination of C677T and A1298C mutations. *Am J Hum Genet.* 2000;67:986-90.
10. van der Molen EF, Arends GE, Nelen WL, van der Put NJ, Heil SG, Eskes TK, et al. A common mutation in the 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase gene as a new risk factor for placental vasculopathy. *Am J Obstet Gynecol.* 2000;182:1258-63.
11. Hefler L, Jirecek S, Heim K, Grimm C, Antensteiner G, Zeillinger R, et al. Genetic polymorphisms associated with thrombophilia and vascular disease in women with unexplained late intrauterine fetal death: a multicenter study. *J Soc Gynecol Investig.* 2004;11:42-4.
12. Johnson WG, Scholl TO, Sychala JR, Buyske S, Stenroos ES, Chen X. Common dihydrofolate reductase 19-base pair deletion allele: a novel risk factor for preterm delivery. *Am J Clin Nutr.* 2005;81:664-8.
13. Relton CL, Pearce MS, Burn J, Parker L. An investigation of folate-related genetic factors in the determination of birthweight. *Paediatr Perinat Epidemiol.* 2005;19:360-7.
14. Mtiraoui N, Zammiti W, Ghazouani L, Braham NJ, Saidi S, Finan RR, et al. Methylenetetrahydrofolate reductase C677T and A1298C polymorphism and changes in homocysteine concentrations in women with idiopathic recurrent pregnancy losses. *Reproduction.* 2006;131:395-401.
15. Valdez LL, Quintero A, Garcia E, Olivares N, Celis A, Rivas F Jr, et al. Thrombophilic polymorphisms in preterm delivery. *Blood Cells Mol Dis.* 2004;33:51-6.

16. Stonek F, Hafner E, Philipp K, Hefler LA, Bentz EK, Tempfer CB. Methylenetetrahydrofolate reductase C677T polymorphism and pregnancy complications. *Obstet Gynecol.* 2007;110:363–8.
17. Ozbek N, Ataç FB, Verdi H, Cetintaş S, Gürakan B, Haberal A. Relationship between small-for-gestational age births and maternal thrombophilic mutations. *Thromb Res.* 2008;122:175–8.
18. Kordas K, Ettinger AS, Lamadrid-Figueroa H, Tellez- Rojo MM, Hernández-Avila M, Hu H, and Wright RO. Methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) C677T, A1298C and G1793A genotypes, and the relationship between maternal folate intake, tibia lead and infant size at birth. *Br J Nutr.* 2009;102: 907–14.
19. Goyette P, Sumner JS, Milos R, Duncan AM, Rosenblatt DS, Matthews RG, Rozen R. Human methylenetetrahydrofolate reductase: isolation of cDNA, mapping and mutation identification. *Nature Genetics* 1994;7:195-200.
20. Brattstrom L, Wilcken DE, Ohrvik J, Brudin L. Common methylenetetrahydrofolate reductase gene mutation leads to hyperhomocysteinemia but not to vascular disease; the result of a metaanalysis. *Circulation* 1998;98:2520-6.
21. Ueland P, Refsum H. Total homocystein in plasma or serum: methods and clinical applications. *Clin Chem.* 1993;39:1764-9.
22. Leeda M, Riyazi N, De Varies JIP, Jacobs C, Van Geijn HP, Dekker GA. Effects of folic acid and vit B6 supplementation on women with hyperhomocysteinemia and a history of preeclampsia or fetal growth restriction. *Am J Obstet Gynecol* 1998;179:135-9.
23. Alfirevic Z, Mousa HA, Martlew V, Bricoe L, Perez- Casal M, Toh CH. Postnatal screening for thrombophilia in women with severe pregnancy complications. *Obstet Gynecol* 2001;97:753-9.