



ARAŞTIRMA MAKALESİ
RESEARCH ARTICLE
CBU-SBED, 2021, 8(4): 679-682

m.3010G>A Değişikliğinin Türk Populasyonunda Siklik Kusma Sendromuna Etkisi

The Effect of m.3010G> A Variant on Cyclic Vomiting Syndrome in Turkish Population

Filiz Başak Cengiz Ergin^{1*}, Aslı İnci¹, İlyas Okur¹, Gürsel Biberoglu¹, Leyla Tümer¹, Fatih Süheyl Ezgü¹

¹Çocuk Beslenme ve Metabolizma BD, Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Ankara, Türkiye.

e-mail: fbasak@yahoo.com, aslid.inci@gmail.com, iokur52@hotmail.com, gurselbiberoglu@gmail.com, tumerleyla@hotmail.com, fatih.ezgu@gmail.com

ORCID: 0000-0002-1374-5939

ORCID: 0000-0001-5446-4140

ORCID: 0000-0002-8772-0689

ORCID: 0000-0001-5948-188X

ORCID: 0000-0002-7831-3184

ORCID: 0000-0001-9497-3118

*Sorumlu yazar/ Corresponding Author: Filiz Başak Cengiz Ergin

Gönderim Tarihi / Received: 03.05.2021

Kabul Tarihi / Accepted: 05.10.2021

DOI: 10.34087/cbusbed.929951

Öz

Giriş ve Amaç: Siklik kusma sendromu (SKS) sık görülen gastrointestinal fonksiyonel bir düzensizliktir. Gastrointestinal fonksiyonel düzensizliklerin mitokondriyal polimorfizmlerle ilişkili olduğu gösterilmiştir. Bu çalışmada, m.3010G>A değişikliğini taşıyan hastalarda klinik bulguların incelenmesi amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntemler: Kliniğimize mitokondriyal hastalık şüphesi ile gelen 55 hastadan, periferik kandan mitokondriyal DNA izolasyonu yapılmıştır. Yeni nesil DNA dizileme ile tüm mitokondriyal genom DNA dizi analizi yapılarak m.3010G>A değişikliği olan hastalar saptanmıştır. Bu hastalarda klinik bulgular incelenmiştir.

Bulgular: Toplam 55 hastada yapılan mitokondriyal genom analizinde altı farklı hastada m.3010G>A değişikliği saptanmıştır. m.3010G>A değişikliği saptanan bu hasta grubunda SKS ile ilgili klinik bulgular saptanmamıştır.

Sonuç: Daha önce yapılan çalışmalarda m.3010G>A değişikliğinin SKS ile ilişkili olabileceği gösterilmiş olsa da bizim çalışmamızda katılan hastalarda bu bulgular bulunmamaktadır. Yine de SKS'nin ileri yaşlarda da ortaya çıkabileceği göz önünde bulundurulmalı ve yakın takip edilmelidir.

Anahtar Kelimeler: Mitokondriyal DNA, Polimorfizm, Siklik kusma sendromu.

Abstract

Objective: Cyclic vomiting syndrome (CVS) is a common gastrointestinal functional disorder. It has been shown that gastrointestinal functional disorders are associated with mitochondrial polymorphisms. In this study, we aimed that examine the clinical findings in patients with the m.3010G>A polymorphism.

Materials and Methods: Mitochondrial DNA isolation was performed from peripheral blood from 55 patients who came to our clinic with suspicion of mitochondrial metabolic disease. Patients with m.3010G>A polymorphism were identified by performing whole mitochondrial genome DNA sequencing via Next-Generation DNA sequencing. These patients were examined for their clinical findings.

Results: The mitochondrial genome analysis was performed on 55 patients in total, m.3010G>A polymorphism was detected in six different patients. There were no clinical findings related to CVS in this patient group with m.3010G>A polymorphism.

Conclusions: Although it has been shown in previous studies that the m.3010G>A polymorphism could be associated with CVS these findings were not present in the patients participating in our study. Nevertheless, it should retain that CVS can occur in late-onset.

Keywords: Cyclic vomiting syndrome, Mitochondrial DNA, Polymorphism.

1. Giriş

Günümüzde birçok hastalığa; genellikle genetik etkenler ve çevresel faktörlerin birlikte neden olduğu bilinmektedir. Siklik kusma sendromu (SKS) (MIM# 500007) da hem genetik hem de çevresel faktörlerin birlikte neden olduğu en sık rastlanan gastrointestinal hastalıklardandır.

SKS, tekrarlayan stereotipik bulantı ve kusma atakları ile tanımlanır ve hayat kalitesini düşürdüğü bilinmektedir. SKS, çocuklarda daha yaygın olarak görülmektedir, okul çağındaki çocukların %2'sinde tespit edilmektedir [1]. Hastaların çoğunda, sık sık okula devamsızlık ve dehidrasyon nedeniyle birden fazla hastaneye yatışla sonuçlanan ve tekrarlayan epizodlarla karşılaşır. Epizodlar, fizyolojik strese yanıt olarak düzenli aralıklarla veya rastgele meydana gelebilir. [2, 3]. Son yıllarda, yetişkinlerde de SKS tanısı alan hastaların çocuklardan daha yaygın olabileceği, ancak çoğu zaman klinisyenler tarafından tanı alamadığı ya da tanı almakta geç kalındığı ortaya çıkmıştır [4]. Yapılan son çalışmalarda hastalığın etiopatogenezinde anormal beyin-bağırsak yollarının, mitokondriyal enzimopatilerin, gastrointestinal motilite bozukluklarının, kalsiyum kanalı anormalliklerinin ve tetikleyici bir çevresel uyarana yanıt olarak hipotalamik-hipofiz-adrenal ekseninin hiperaktivitesinin etkili olduğunu göstermektedir [5]. Türkiye'de yapılan bir çalışmada okul çağındaki çocuklarda SKS sıklığının %1,9 olduğu rapor edilmiştir [6].

Gastrointestinal fonksiyonel düzensizlikler; sinir, kas, enflamatuvar hücreler arasındaki mekanizmaların bozulması ile ortaya çıkmaktadır ve bu mekanizmalar yüksek enerji gereksinimine ihtiyaç duyarlar [7]. Bu nedenle; mitokondriyal hastalıklarda sıklıkla etkilenirler [1]. Mitokondriler, hücre içi enerji gereksinimini sağlayan sitoplazmik organellerdir. Mitokondriyal proteinler, hem nükleer genom (kromozomlar) hem de 16kb uzunluğunda olan mitokondriyal DNA tarafından kodlanmaktadır. Bu nedenle her iki genomda da yer alan DNA varyantları (polimorfizmler) enerji metabolizmasını olumsuz şekilde etkileyebilmekte ve hastalık patogeneze yakınlık oluşturabilmektedir [8].

SKS; fonksiyonel bir hastalıktır ve genellikle maternal kalıtım göstermektedir. Daha önceki çalışmalarda SKS ile ilişkili olan farklı mitokondriyal DNA varyantların risk faktörü olduğu gösterilmiştir [2]. SKS için yakınlık yaptığı düşünülen m.16519C>T ve m.3010G>A en sık görülen mitokondriyal polimorfizmlerdir [1, 9]. m.3010G>A polimorfizminin sıklığı %16,341 olarak tespit edilmiştir [10]. Bunun yanı sıra SKS ve migren hastaları arasında yapılan bir çalışmada m.7028C>T varyantının da yakınlığa neden olabileceği gösterilmiştir [8]. MTTL1 genindeki mutasyonlar ya da mitokondriyal DNA üzerindeki delesyon ve re-aranjmanların SKS'na neden olabileceği gösterilmiştir [5].

Mitokondrinin nöromusküler fonksiyon ve inflamasyondaki önemi ve bu mekanizmaların gastrointestinal fonksiyonel düzensizliklerdeki olası rolü göz önünde bulundurularak, bu çalışmada m.3010G>A mitokondriyal polimorfizmini taşıyan hastalardaki gastrointestinal motor ve sensöriyal fonksiyonlar araştırılmıştır. Bu çalışmada, mitokondriyal metabolik hastalığı olduğu düşünülen 55 hastada m.3010G>A değişikliği için tarama yapılmıştır.

2. Materyal ve Metot

2.1. Olguların Seçimi ve Tanımlanması

Çalışmaya Gazi Üniversitesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları, Çocuk Metabolizma Bilim Dalı'na 2019-2020 yılları arasında mitokondriyal hastalık şüphesi ile gelen 55 hasta dahil edilmiştir. Bu hastaların yaş, cinsiyet, anne-baba arasında akrabalık düzeyleri, hastaların geliş şikayetleri dosyalardan geriye dönük olarak araştırılmıştır.

Bu hastalardan bilgilendirilmiş onam formu alınmış ve periferik kandan DNA izolasyonu Iprep™ PureLink® gDNA Blood Kit (Invitrogen, Carlsbad, CA) ile üreticinin protokolüne göre yapılmıştır.

2.2. DNA Dizilenmesi

Tüm mitokondriyal genomu, iki büyük fragment olacak şekilde Long PCR Enzyme Mix (ThermoFischer) kullanılarak amplifiye edilmiştir. Ardından, Ion Xpress™ Plus Fragment Library Kit (Life Technologies, Guilford, CT, South San Francisco, CA) kullanılarak DNA kütüphanesi oluşturulmuştur. Bu ürünler, ready-to-go analysis kit ile the Ion PGM™ or Ion S5 platform (Life Technologies, Guilford, CT, South San Francisco, CA) cihazlarına Ion Torrent 314 ya da 316 chip (Life Technologies, Guilford, CT, South San Francisco, CA) aracılığı ile yüklenmiştir. Sonuçlar Integrative Genomics Viewer [11] programı yardımıyla incelenmiştir ve 'The Revised Cambridge Reference Sequence' referans dizi olarak kullanılmıştır. MITOMAP veri tabanı, varyantların yorumlanması ve popülasyon sıklıklarının incelenmesi için kullanılmıştır [10].

3. Bulgular ve Tartışma

Çalışmaya dahil edilen 55 hastanın altısında m.3010G>A değişikliği saptanmıştır. Bu değişiklik için, hastalarda %90 ve üzerindeki heteroplazmi oranı ile tespit edilenler dahil edilmiştir. Hastalarda daha önce SKS ile ilişkilendirilmiş olan MTTL1 geninde patojenik veya olası patojenik bir varyant saptanmamıştır.

3.1. Hasta bulguları

Mitokondriyal hastalık şüphesi ile gelen 55 hastadan 6 olguda m.3010G>A değişikliği saptanmıştır. Bu olguların 3'ü erkek, 3'ü de kadın hastadır. Erkek olguların yaş ortalaması 7,3 yaş (3,5-14 yaş), kadın olguların yaş ortalaması 19,3'dür. (3-39 yaş). Olguların %50'sinin anne-babası arasında akrabalık

mevcuttur. En sık başvuru nedenleri nörogelişimsel gerilik (%33), miyopati (%33), karaciğer işlev testlerinde yükseklik ve eşlik eden laktik asidoz (%17). Bir olgunun çocuğunda nörogelişimsel gerilik olması nedeniyle olguda da mitokondriyal genom çalışılmış ve m.3010G>A değişikliği saptanmıştır ancak bu olgu tamamen asemptomatiktir. Olguların 1 tanesinde, bebeklik döneminde 6 ayına kadar aralıklı kusmanın olduğu ancak kusmanın devam etmediği, bu şikayetinin kilo alımını değiştirmedeği, periyotlar halinde gelmediği, bu nedenle siklik kusmadan ziyade, fizyolojik gastroözofageal reflü tanısı ile takip edildiği öğrenilmiştir.

Hastaların fizik muayenelerinde en belirgin bulgu aksiyel hipotoni (%33), derin tendon reflekslerinde artış (%33), hafif kas atrofisi ve tüm ekstremitelerde 4/5 şiddetinde kas gücünde azalma (%33), hepatomegali (%17) mevcuttur. Bir hastada nörogelişimsel geriliğe ek olarak işitme kaybı da mevcuttur.

Olguların laboratuvar incelemelerinde hemogram ve periferik yayma bulgularında bulgu saptanmamıştır. Bir hastanın karaciğer işlev testlerinden alanin aminotransferaz (ALT: 98 U/L, normal: 0-35 U/L) ve aspartate aminotransferaz düzeyinde (AST: 87 U/L, normal: 0-35 U/L), artış dışında kanama parametrelerinde ve diğer biyokimyasal analizlerde artış saptanmamıştır. Metabolik taramalarda laktat düzeyleri bir hastada aralıklı olarak yüksek bulunmuş ve en yüksek düzey 8 mmol/L düzeyine kadar çıkmıştır. Bu dönemlerde hastanın kan gazında ph:7,31, pCO₂: 41, HCO₃: 11, baz açığı: -9 olarak saptanmıştır. Hastaların %66'ında kan laktat düzeyleri 3-5 mmol/L düzeylerinde saptanmıştır. Kantitatif amino asit analizlerinde alanin düzeyleri %83 hastada yüksek saptanmıştır. İdrar organik asit analizleri %83 hastada hafif laktik asit ile birlikte, suberik asit, sebasik asit atılımı mevcuttur. Çocuğu nedeniyle tetkik edilen olgunun laboratuvar incelemelerinde herhangi bir bulgu saptanmamıştır.

3.2. Tartışma

Hastalıklarının büyük çoğunluğunun nedeni, genellikle genetik ve çevresel faktörlerden etkilenen kompleks durumlardır. Bu durumlar, hastalık patogenezinde bir risk oluşturan, nükleer genomda ve mitokondriyal genomda yer alan polimorfizmler ile daha iyi anlaşılır hale gelmektedir. Bunun yanı sıra mitokondriyal genom küçük olmasına rağmen yüksek kopya sayısı ve çok yüksek derecede polimorfik olması nedeniyle oldukça önemlidir. Bu nedenle, bu polimorfizmlerin SKS gibi hastalıklarda çok faktörlü koşulların gelişmesi riskini etkilemesi muhtemeldir [9].

Ortak mtDNA polimorfizmleri 16519C>T ve m.3010G>A polimorfizmlerinin, ortak Batı Avrasya haplogrup H'ye sahip bireyler arasında migren ve SKS ile güçlü bir şekilde ilişkili olduğu ve hastalığa yatkınlık oluşturduğu gösterilmiştir [9]. Yine başka bir çalışmada da 16519C>T ve m.3010G>A polimorfizmlerinin kronik yorgunluk sendromu ve

kompleks bölgesel ağrı sendromu gibi fonksiyonel/disotonik hastalıklarda bazı ortak genetik yatkınlığın altında yatan sebep olduğu göstermişlerdir [12].

Bugüne kadar yapılan çalışmaların çoğunda mitokondriyal polimorfizimlerin SKS ile ilişkisi değerlendirilmiştir. Bunun yanı sıra nükleer genomda yer alan genlerdeki polimorfizmler de göz ardı edilmemelidir. Lee ve ark. Yapmış olduğu çalışmada RYR2'de p.Ser1400Gly polimorfizminin SKS'de gözlenen stresle ilişkili semptomlar ve kronik ağrı (genellikle migren baş ağrısı) ve yorgunluk ile ilişkili olabileceği gösterilmiştir [13]. Yine nükleer genomda yapılan başka bir çalışmada ise iyon kanallarının fonksiyonel etkisi, aksonal taşıma ile ilgili KIF1B veya enerji üretimi ile ilgili TRAP1'in işlevlerini etkileyen nükleer DNA değişiklikleri incelenmiştir [14].

4. Sonuç

Çalışma sonucunda; m.3010G>A saptanan hastalar tekrardan klinik olarak değerlendirilmiş ancak hiçbirinde SKS belirtileri saptanmamıştır. SKS'nin patofizyolojisi tam olarak açıklamamıştır ancak çeşitli genetik ve çevresel faktörler, kronik ağır esrar kullanımı, stres ve bozulmuş endokannabinoid sinyalleminin bir rol oynayabileceği düşünülmektedir. Ayrıca SKS; anksiyete, depresyon ve otonom disfonksiyon gibi çoklu komorbid durumlarla da ilişkilidir. Bu bozukluklar eş zamanlı olarak tedavi edilmelidir böylece hastalarda genel sağlık bakım sonuçlarını iyileştirebilmektedir [15]. Bu hastalığın ileri yaşlarda da ortaya çıkabileceği düşünüldüğünde hastaların takibi atlanmamalı ve periyodik kontrollere devam edilmelidir.

Mitokondriyal DNA'da çalışmalar yapıldığında saptanan değişikliğin heteroplazmi oranı ve varyantın tespit edildiği doku hastalığın teşhisi açısından çok büyük önem taşımaktadır. Bu nedenle mitokondriyal çalışmalarda en doğru sonucu alabilmek için en az üç farklı dokuda mitokondriyal varyant ve heteroplazmi oranları tespit edilerek hastalar doğru şekilde yönlendirilmelidir. Bizim çalışmamızda farklı dokulardan örnek alınmadığı için sadece kan dokusu çalışılmıştır. İleri çalışmalarda farklı dokulardan da aynı mitokondriyal DNA değişikliğinin gösterilmesi planlanmıştır.

Bu bozukluğun kalıtsal temelini daha iyi anlaşılması için hem yetişkinlerde hem de çocuklarda daha büyük genetik ve fonksiyonel çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır. Bu çalışmalar, genotip-fenotip ilişkilerini daha iyi tanımlamak için iyi karakterize edilmiş hasta alt gruplarını içermelidir.

Referanslar

1. Boles, R.G, Zaki, E.A, Lavenbarg, T, Hejazi, R, Foran, P, Freeborn, J, Trilokekar, S, McCallum R, Are pediatric and adult-onset cyclic vomiting syndrome (CVS) biologically different conditions? Relationship of adult-onset CVS with the migraine and pediatric CVS- associated common mtDNA polymorphisms 16519T and 3010A, *Neurogastroenterology & Motility*, 2009, 21(9), 936-e72.

2. Wang, Q, Ito, M, Adams, K, Li, B.U.K, Klopstock, T, Maslim, A, Higashimoto, T, et al., Mitochondrial DNA Control Region Sequence Variation in Migraine Headache and Cyclic Vomiting Syndrome, *American Journal of Medical Genetics*, 2004, 131A, 50–58.
3. Li, B.U.K, Lefevre, F, Chelimsky, G.G, Boles, R.G, Nelson, S.P, Lewis, D.W, Linder, S.L, Issenman, R.M, Rudolph, CD, North American Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition Consensus Statement on the Diagnosis and Management of Cyclic Vomiting Syndrome, *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 2008, 47, 379–393.
4. Fleisher, R.D, Gornowicz, B, Adams, K, Burch, R, Feldman, E.J, Cyclic Vomiting Syndrome in 41 adults: the illness, the patients, and problems of management, *BMC Medicine*, 2005, 21, 3, 20.
5. Raucci, U, Borrelli, O, Di Nardo, G, Tambucci, R, Pavone, P, Salvatore, S, et al., Cyclic Vomiting Syndrome in Children. *Frontiers in Neurology*, 2020, 2, 11, 583425.
6. Ertekin, V, Selimoğlu, M.A, Altnkaynak, S, Prevalence of cyclic vomiting syndrome in a sample of Turkish school children in an urban area, *Journal of Clinical Gastroenterology*, 2006, 40(10), 896-8.
7. Boles, R.G, Powers, A.L, Adams, K, Cyclic vomiting syndrome plus, *Journal of Child Neurology*, 2006, 21, 182–8.
8. Camilleri, M, Carlson, P, Zinsmeister, A.R, McKinzie, S, Busciglio, I, Burton, D, Zaki, E.A, and Boles, R.G, Mitochondrial DNA and gastrointestinal motor and sensory functions in health and functional gastrointestinal disorders, *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 2009, 296, G510–G516.
9. Zaki, E.A, Freilinger, T, Klopstock, T, Baldwin, E.E, Heisner, K.R.U, Adams, K, Dichgans, M, Wagler, S, Boles, R.G, Two common mitochondrial DNA polymorphisms are highly associated with migraine headache and cyclic vomiting syndrome, *Cephalalgia*, 2009, 29(7), 719-28.
10. Lott, M.T, Leipzig, J.N, Derbeneva, O, Xie, H.M, Chalkia, D, Sarmady, M, et al., mtDNA variation and analysis using MITOMAP and MITOMASTER, *Current Protocols in Bioinformatics*, 2013, 1(123), 1.23.1-26, URL: <http://www.mitomap.org>
11. Robinson, J.T, Thorvaldsdóttir, H, Winckler, W et al., Integrative genomics viewer, *Nature Biotechnology*, 2011, 29, 24–26.
12. Boles, R.G, Zaki, E.A, Kerr, J.R, Das, K, Biswas, S, Gardner, A, Increased prevalence of two mitochondrial DNA polymorphisms in functional disease: Are we describing different parts of an energy-depleted elephant? *Mitochondrion*, 2015, Pages 1-6.
13. Lee J, Wong, S.A, Li, B.U.K, Boles, R.G, Next Gen nuclear DNA sequencing in cyclic vomiting syndrome reveals a significant association with the stress-induced calcium channel (RYR2), *Neurogastroenterology & Motility*, 2015, 27, 990–996.
14. Hasler, W.L, Levinthal, D.J, Tarbell, S.E, Adams, K.A, Li, B.U.K, Issenman, R.M, et al., *Neurogastroenterology & Motility*, 2019, 31(Suppl. 2), e13607.
15. Bhandari, S, Jha, P, Thakur, A, Kar, A, Gerdes, H, Venkatesan, T, Cyclic vomiting syndrome: epidemiology, diagnosis, and treatment, *Clinical Autonomic Research*, 2018, 28, 203–209.

<http://edergi.cbu.edu.tr/ojs/index.php/cbusbed> isimli yazarın CBU-SBED başlıklı eseri bu Creative Commons Alıntı-Gayriticari4.0 Uluslararası Lisansı ile lisanslanmıştır.

