

**T.C.
GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
KADIN HASTALIKLARI ve DOĞUM ANABİLİM DALI**

**GEBELERDE METİLEN TETRAHİDROFOLAT REDÜKTAZ
(MTHFR) GEN MUTASYONUNUN
BİRİNCİ ve İKİNCİ TRİMESTER TARAMA TESTLERİYLE
İLİŞKİSİ**

Dr. Filiz ERDOĞAN

UZMANLIK TEZİ

**TOKAT
2010**

T.C.
GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
KADIN HASTALIKLARI ve DOĞUM ANABİLİM DALI

GEBELERDE METİLEN TETRAHİDROFOLAT REDÜKTAZ
(MTHFR) GEN MUTASYONUNUN
BİRİNCİ ve İKİNCİ TRİMESTER TARAMA TESTLERİYLE
İLİŞKİSİ

Dr. Filiz ERDOĞAN

UZMANLIK TEZİ

Tez Danışmanı
Yrd. Doç. Dr. Ahmet Cantuğ ÇALIŞKAN

TOKAT
2010

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince, hepsi birbirinden kıymetli olan, yakın çalışma imkânı bulduğum ve bilgi ve tecrübelerinden hep istifade ettiğim değerli hocalarım Kadın Doğum Anabilim Dalı öğretim üyeleri sayın Doç. Dr. Fazlı DEMİRTÜRK, Yrd. Doç. Dr. Ahmet Cantuğ ÇALIŞKAN, Yrd. Doç. Dr. Hakan AYTAN'a, birlikte yıllarımızı paylaştığımız, bazen hüzünlü bazen mutlu anlar yaşadığımız, başta Dr. Zehra KUZU olmak üzere tüm değerli asistan arkadaşlarıma, değerli hemşire ve personel arkadaşlarıma teşekkürlerimi borç bilirim.

Desteğini hep yanımda hissettiğim, tecrübelerinden ve katkılarından faydalandığım sevgili eşim Doç. Dr. Hasan ERDOĞAN'a ve tez çalışmamda hep moralim olan biricik kızlarım Zeynep Nilgün ERDOĞAN ve Bahar ERDOĞAN'a şükranlarımı sunarım.

Verileri toplamamda katkılarını esirgemeyen Biyokimya anabilim dalı başkanı ve değerli öğretim üyesi Doç. Dr. Şemsettin ŞAHİN ve çalışma arkadaşlarına teşekkürlerimi ifade ederim.

ÖZET

Günümüzde yaygın şekilde kullanılan, birinci ve ikinci trimester prenatal tarama testleri, özellikle kromozomal anomalilerin saptanmasında büyük önem taşımaktadır. Bozulmuş DNA metilasyonu, kromozom kırıkları, kusurlu kromozom rekombinasyonu, anöploidi ve bunlara bağlı çeşitli kanser, kardiyovasküler hastalık, nörodejenaratif hastalık ile sonuçlanan MTHFR enzim mutasyonu, homosistein düzeylerinde yükselme ve folik asit ihtiyacında artma ile karakterizedir. Bu durum da, gerek uteroplasental perfüzyon azlığı yaparak, gerekse hücrel fonksiyonları olumsuz yönde etkileyerek fetoplasental fonksiyonları bozabilir. Bundan dolayı, MTHFR enzim mutasyonu ile, ikili tarama testi biyokimyasal parametreleri Serbest β -hCG (Serbest β -human Koryonik Gonodotropin), PAPP-A (Pregnancy Associated Plasma Protein-A) seviyeleri ve üçlü tarama testi biyokimyasal parametreleri uE3 (Ankonjuge Östriol), total β -hCG (Total β -human Koryonik Gonodotropin), AFP (α -Fetoprotein) seviyeleri arasında ilişki mevcut olabilir.

Çalışmamızdaki amacımız, sık görülen MTHFR-C677T mutasyonu ile birinci ve ikinci trimester prenatal tarama testleri arasında ilişki olup olmadığı araştırmaktır.

Çalışmamıza, 10 Ekim 2005 ile 26 Nisan 2010 tarihleri arasında polikliniğimize başvuran 11-21. gebelik haftalarındaki tarama testlerine göre riskli gebelerden, MTHFR-C677T gen mutasyon tetkiki istenen 114 hasta dahil edildi. İkili ve üçlü tarama testlerindeki biyokimyasal parametreler hastanemiz Biyokimya Anabilim Dalı Laboratuvarlarında gerçekleştirildi. Hastaların demografik verilerin değerlendirilmesinin dışında, MTHFR-C677T enzim mutasyonu negatif, heterozigot, homozigot ve negatif, pozitif olmasına göre üçlü ve ikili gruplandırılıp değerlendirildi.

İstatiksel değerlendirmede SPSS 18 programı kullanıldı ve $p<0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Üçlü karşılaştırmada One-Way ANOVA ile LSD ve ikili karşılaştırmada ise Student-t Testi uygulandı.

Hastaların MTHFR Negatif, Heterozigot, Homozigot olmasına bağlı yapılan üçlü değerlendirmede; Serbest β -hCG değerleri, MTHFR Negatif grupta, MTHFR Heterozigot gruba göre istatistiksel olarak anlamlı ($p<0.012$) düşük bulundu. Serbest β -hCG MoM değerleri ise hem MTHFR Negatif ($p<0.009$), hem de MTHFR

Homozigot grupta ($p<0.048$), MTHFR Heterozigot gruba göre istatistiksel olarak anlamlı düşük bulundu.

MTHFR Negatif ve Pozitif olmasına göre yapılan ikili değerlendirmede, Serbest β -hCG ve Serbest β -hCG MoM değerlerinin, MTHFR Negatif grupta, MTHFR Pozitif grubuna göre anlamlı düşük olduğu (sırasıyla $p<0.045$ ve $p<0.036$) tespit edildi.

Bulgularımız Serbest β -hCG ve Serbest β -hCG MoM değerlerinin, MTHFR-C677T enzim mutasyonu olan gebelerde anlamlı olarak yükselebileceğini göstermektedir. Farklı ve daha büyük popülasyonlarda yapılacak araştırmalarla bulgularımızın desteklenmesi, tarama testlerinde açıklanamayan Serbest β -hCG ve Serbest β -hCG MoM ykseklieği olan riskli gebelerde MTHFR enzim mutasyonu araştırılarak uygun tedavi yönlenmesinde bulunulabilir.

Anahtar kelimeler: Metilen tetrahidrofolat redüktaz (MTHFR), birinci ve ikinci trimester prenatal tarama testi, Serbest β -hCG.

Destekleyen kurumlar: -

ABSTRACT

Extensively used today, the first and second trimester prenatal screening tests are of great importance for the detection of chromosomal abnormalities. Degraded DNA methylation, chromosome fragments, chromosome recombination defects, aneuploidy and various related cancers, cardiovascular diseases, neurodegenerative diseases that result in the MTHFR mutation enzyme, through elevated homocysteine levels and increased need for folic acid are characterized. In this situation, either by causing lack of uteroplacental perfusion or by adversely affecting cellular functions fetoplacental functions may be impaired. Therefore, there might be a relationship between MTHFR enzyme mutations and the first-trimester screening test biochemical parameters Free β -hCG (β -human Chorionic Gonadotropin), PAPP-A (Pregnancy Associated Plasma Protein-A) levels, and the second-trimester screening test biochemical parameters uE3 (Unconjugated Estriol), total β -hCG (β -human Chorionic Gonadotropin), AFP (α -Fetoprotein) levels.

The aim of our study is to investigate whether there is a relationship between the common MTHFR-C677T mutation and the first- and second-trimester prenatal screening tests.

In our study, 114 patients who applied to our outpatient clinic between October 10th, 2005 and April 26th 2010 were included. They were asked screening tests since they were regarded as risky. From these patients we asked MTHFR-C677T gene mutation due to the screening tests in the period of 11-21st gestation period. Biochemical parameters of first- and second-trimester screening tests were performed in the Department of Biochemistry Laboratory in our Hospital. Except the assessment of patients' demographic data, according to the MTHFR-C677T enzyme mutation Negative, Heterozygous, Homozygous and Negative, Positive, the trio and duo were grouped and evaluated.

For statistical evaluations, SPSS 18 program was used and $p < 0.05$ was considered statistically significant. One-Way ANOVA with LSD was used for trio comparison and Student-t Test was performed for duo-comparison.

In trio assessment of MTHFR Negative, Heterozygote, Homozygous groups, Free β -hCG levels were found to be significantly lower in MTHFR Negative group compared to the MTHFR Heterozygote group ($p < 0.012$). As for Free β -hCG MoM

values of both MTHFR Negative ($p<0.009$), and the MTHFR Homozygous group ($p<0.048$) were significantly lower than MTHFR Heterozygote group.

According to comparison of MTHFR Negative and Positive patients, Free β -hCG and Free β -hCG MoM values in MTHFR Negative group were significantly lower than MTHFR Positive group (respectively $p<0.045$ and $p<0.036$).

Our findings suggest that Free β -hCG and Free β -hCG MoM values in the pregnant with MTHFR-C677T enzyme mutation might significantly increase. Our findings might be supported by using researches in different and larger populations. And thus unexplained evaluation of Free β -hCG and Free β -hCG MoM in screening test with high-risk pregnant, MTHFR enzyme mutations may be investigated and appropriate treatment can be suggested.

Keywords: Methylenetetrahydrofolate Reductase (MTHFR), first trimester and second-trimester prenatal screening test, Free β -hCG.

Supported by: -

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	iv
İNGİLİZCE ÖZET	vi
İÇİNDEKİLER	viii
KISALTMALAR	x
ŞEKİLLER DİZİNİ	xi
TABLolar DİZİNİ	xii
GRAFİKLER DİZİNİ	xiii
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. PRENATAL GENETİK TARAMA	4
2.1.1. Birinci Trimester Prenatal Genetik Tarama	5
2.1.1.1. Pregnancy Associated Plasma Protein-A (PAPP-A)	7
2.1.1.2. Serbest β -Human Koryonik Gonodotropin (Serbest β -hCG)	8
2.1.1.3. Diğer Biyokimyasal Belirteçler	8
2.1.1.4. Birinci Trimester Ultrason Belirteçleri: Nukkal Kalınlık (NT)	9
2.1.1.5. Birinci Trimester Ultrason Belirteçleri: Nazal Kemik	10
2.1.2. İkinci Trimester Prenatal Genetik Tarama	11
2.1.2.1. Maternal Serum Alfa Fetoprotein (MSAFP)	13
2.1.2.2. Human Koryonik Gonadotropin (hCG)	15
2.1.2.3. Unkonjuge östriol: (uE3)	17
2.1.2.4. İnhibin-A	17
2.1.3. Birinci ve İkinci Trimester Kombinasyon Taraması	18
2.1.3.1. Entegre Tarama	18
2.1.3.2. Sıralı tarama	19
2.1.3.2.1. Bağımsız (İndependent) Sıralı Tarama	19
2.1.3.2.2 Adımlı (Stepwise) Sıralı Tarama	19
2.1.3.2.3. Contignent (Gruplu) Sıralı Tarama	20
2.1.4. Tarama Testlerini Etkileyen Faktörler	20
2.2. FOLAT METABOLİZMASI ve METİLEN TETRAHİDROFOLAT	

REDÜKTAZ (MTHFR) ENZİM MUTASYONU	22
2.2.1. Folik Asit	22
2.2.1.1. Folik Asitin İşlevleri	23
2.2.1.2. Folik Asit Eksikliği	24
2.2.1.3. Gebelikte Folik Asit	25
2.2.2. Homosistein	26
2.2.2.1. Folat/Homosistein/Methionin Metabolizması	26
2.2.2.2. Hiperhomosistinemi	29
2.2.2.3. Hiperhomosistinemi Etkileri	30
2.2.3. Metilen tetrahidrofolat Redüktaz (MTHFR) Eksikliği	31
2.2.4. MTHFR Gen Mutasyonunun ve Hiperhomosistineminin Hastalıklarla İlişkisi	33
3. GEREÇ VE YÖNTEMLER	36
3.1. İkili Test	36
3.2. Üçlü Test	36
3.3. MTHFR Gen Mutasyonu Analizi	37
3.4. İstatiksel Analiz	37
4. BULGULAR	38
5. TARTIŞMA	47
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	53
7. KAYNAKLAR	54
8. EKLER	64

KISALTMALAR

AFP:	α -Fetoprotein
BHMT:	Betain-Homosistein Metil Transferaz
CBS:	Sistasyonin β -Sentaz
DHF:	Dihidrofolat
dTMP:	Deoksitimidin Monofosfat
dUMP:	Deoksiüridin Monofosfat
FAD:	Flavin Adenin Dinükleotid
GSH:	Glutasyon
INH-A:	İnhibin-A
MAT:	Metiyonin Adenozil Transferaz
MSAFP:	Maternal Serum α -Fetoprotein
MTHFD1:	MTHF Dehidrojenaz
MTHFR:	Metilen Tetrahidrofolat Redüktaz
MTR:	Metiyonin Sentaz
MTRR:	Metiyonin Sentaz Redüktaz
NT:	Nokal Kalınlık
NTD:	Nöral Tüp Defektleri
PAPP-A:	Pregnancy Associated Plasma Protein-A
SAH:	S-Adenozil Homosistein
SAM:	S-Adenozil Metiyonin
Serbest β -hCG:	Serbest β -human Chorionic Gonodotropin
THF:	Tetrahidrofolat
Total β -hCG:	Total β -human Chorionic Gonodotropin
TYMS:	Timidilat Sentaz
CT:	Kombine tarama
uE3:	Ankonjuge Östriol

ŞEKİLLER

Şekil	Sayfa
1. Folat-homosistein-methionin metabolizması.....	28
2. Homosistein metabolizma yolağının açlıkta ve yemek sonrası S-adenozilmethionin (SAM) tarafından düzenlenmesi.....	29

TABLOLAR

Tablo	Sayfa
1. Birinci trimester tarama testi parametreleri ve Entegre Tarama Testinin Down Sendromunu (% 5 yalancı pozitiflik ile) saptayabilme oranları.....	6
2. İkinci trimester tarama testi parametrelerinin Down Sendromunu (% 5 yalancı pozitiflik ile) saptayabilme oranları.....	12
3. Yaygın Anöploidilerinde ikinci trimester belirteç paternleri.....	13
4. Maternal serum biyokimyasal belirteçleri veya trisomi 21 riskini etkileyen faktör.....	21
5. Hastaların demografik verileri.....	38
6. MTHFR enzim mutasyonu ile ikili testler (Serbest β -hCG, PAPP-A) arasındaki ilişki.....	39
7. MTHFR enzim mutasyonu ile ikili testler MoM değerleri (Serbest β -hCG MoM, PAPP-A MoM) arasındaki ilişki.....	40
8. MTHFR enzim mutasyonu ile üçlü testler (E3, β -hCG, AFP) arasındaki ilişki.....	42
9. MTHFR enzim mutasyonu ile üçlü testler MoM değerleri (E3 MoM, β -hCG MoM, AFP MoM) arasındaki ilişki.....	43
10. İkili test (Serbest β -hCG, Serbest β -hCG MoM, PAPP-A ve PAPP-A MoM) düzeylerinin, MTHFR enzim mutasyonunun olup olmamasına bağlı karşılaştırmaları.....	44
11. Üçlü test (E3, E3 MoM, β -hCG, β -hCG MoM, AFP ve AFP MoM) düzeylerinin, MTHFR enzim mutasyonunun olup olmamasına bağlı karşılaştırmaları.....	45

GRAFİKLER

Grafik	Sayfa
1. MTHFR enzim mutasyonu ile Serbest β -hCG arasındaki ilişkinin grafik olarak sunumu.....	39
2. MTHFR enzim mutasyonu ile Serbest β -hCG MoM değerleri arasındaki ilişkinin grafik olarak sunumu.....	41
3. Mutasyon olup olmamasına bağlı gruplandırma ile, MTHFR enzim mutasyonu ile Serbest β -hCG MoM değerleri arasındaki ilişkinin grafik olarak sunumu.....	44
4. Mutasyon olup olmamasına bağlı gruplandırma ile, MTHFR enzim mutasyonu ile Serbest β -hCG MoM değerleri arasındaki ilişkinin grafik olarak sunumu.....	44

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Günümüzde genetik bozuklukların prenatal dönemde taranması ve saptanan patolojinin türüne göre gerekli önlemlerin alınması maternal ve fetal tıp biliminin temel amaçlarından biri haline gelmiştir (1). Prenatal tanıda en önemli noktalardan birisi anormal fetusun saptanma hızını azaltmadan, invaziv yöntemle bağlı fetus kaybını en aza indirmektir. Amniyosentezin invaziv bir girişim olması, sağlıklı fetus kaybı riski olması ve maliyetinin yüksek olması nedeniyle; ileri maternal yaş grubunda noninvaziv, sensitivitesi yüksek, kolay uygulanabilir, düşük maliyetli tarama yöntemleri geliştirme ihtiyacının ortaya çıkmasına yol açmıştır (2).

Gebeliklerin yaklaşık % 4'ünde bir veya daha fazla konjenital malformasyon görülür ve % 2'sinde neden fetal genetik yapıda bozukluktan kaynaklanır. Yaklaşık % 1'i ilk trimesterde abortusla sonuçlanırken, % 1'i de yapısal problemlerden dolayı hayatın ilk yılında yaşamını kaybeder. Prenatal tarama bu konjenital anomalilerin prenatal dönemde tanınmasını ve uygun yaklaşımlarda bulunulmasını sağlar (3).

Down Sendromu toplumdaki mental retardasyonun en önemli sebeplerinden biridir. Prenatal tarama ve tanının yapılmadığı durumda Down Sendromu görülme oranı 600 canlı doğumda birdir. Down Sendromlu bebeklerin yaklaşık % 56'sında kardiyak anomaliler, % 11'inde gastrointestinal sistem anomalileri ve diğer sistem anomalileri gözlenir (4).

Down Sendromu taraması son yirmi yıl içinde gelişmiş ülkelerde gebelik takibinde rutin olarak uygulanmaktadır. Özellikle maternal biyokimyasal parametrelerin kullanıldığı ikinci trimester tarama testinin kullanımı oldukça yaygındır (5). İkinci trimesterde gebelere anne yaşı ile kombine edilerek maternal serumda α -Fetoprotein (AFP), human Koryonik Gonodotropin (hCG), Ankonjuge Östriol (uE3) ölçümünün yapıldığı üçlü test tarama testi olarak kullanılmaktadır. Üçlü testte ölçülen maternal belirteçlere ek olarak İnhibin-A (INH-A) düzeylerinin ölçülmesi ile yapılan dördümlü test de ikinci trimester tarama testi olarak kullanılmaktadır (4).

Son on yılda birinci trimester tarama testi de oldukça yaygınlaşmıştır. Taramanın daha erken dönemde yapılması gebeliğin seyri konusunda daha erken fikir sahibi olmaya ve gebeliğin sonlandırılması gereken durum varlığında, sonlandırmanın en azından fetal hareketler hissedilmeden önce yapılmasına olanak

sağlamaktadır. Aynı zamanda birinci trimester gebelik sonlandırılması daha güvenli ve sağlıklıdır (5). Birinci trimesterde anne yaşı ile kombine edilerek maternal serumda PAPP-A ve Serbest β -human Koryonik Gonadotropin (serbest β -hCG) ve fetusta Nukal Kalınlık (NT) ölçümünün yapıldığı ikili test birinci trimester tarama testi olarak kullanılmaktadır (6).

Birinci trimester ve ikinci trimester tarama testlerinde kullanılan, anneye ait olan ve fetoplesental ünitenin fonksiyonu hakkında da bilgi verici olan maternal biyokimyasal parametreler, bazı kişisel faktörlerden etkilenir. Biyokimyasal parametrelerin konsantrasyonlarını etkileyen faktörlerin bazıları sigara içimi, gravide, parite, fetal cinsiyet, gestasyonel diyabet ve yardımcı üreme tekniklerinin kullanımınıdır. Bu faktörler tarama testleri hesaplanırken mutlaka değerlendirilmelidir (6, 7, 8, 9, 10, 11).

Folatlar tek karbon biyosentezi ve epigenetik süreç için gerekli esansiyel besinlerdir. Folik asit yiyeceklere eklenen ve diyetel kaynaklarda bulunan sentetik formdur. Bağırsaklarda emilimden sonra folatın DNA ve RNA prekürsörlerinin sentezi veya homosisteinin DNA metilasyonunda kullanılmak üzere methionine dönüşümünde kullanılabilmesi için karaciğerde 5-metil-THF'a dönüştürülmesi gerekir (12, 13, 14). Metilen Tetrahidrofolat Redüktaz (MTHFR) enzimi 5,10-metilen-tetrahidrofolat (THF)'ı, 5-metil-THF'a redükte eden, homosistein/metiyonin dönüşümünde karbon vericisi olarak rol alan önemli bir enzimdir (15).

MTHFR geni üzerinde en sık görülen mutasyon C677T mutasyonudur. Otozomal resesif olarak kalıtılır (122). Bu mutasyon açısından T/T homozigot kişilerde, C/T heterozigot ve C/C normal kişiler ile karşılaştırıldığında tek karbonlu folat ürünlerinde değişiklik, homosistein düzeylerinde yükselme ve artmış folik asit ihtiyacı bulunur (16). Hücrel folat düzeyindeki yetersizlik bozulmuş DNA metilasyonu, kromozom kırıkları, kusurlu kromozom rekombinasyonu ve anöploidi ile sonuçlanır (12). Bozulmuş folat metabolizması metabolik enzimleri kodlayan genlerde fonksiyonel polimorfizme yol açar. MTHFR gen mutasyonu, yapılan çeşitli çalışmalarda, meme, endometrium, serviks, özefagus, mide ve mesane kanseri gibi çeşitli kanser tipleri (12, 17, 18, 19, 20), koroner arter hastalığı ve myokardial iskemi gibi kardiyovasküler hastalıklar (12, 21, 22), şizofreni ve Alzheimer gibi

nörodejeneratif hastalıklar (12, 23, 24) ve nöral tüp defektleri (12, 25, 26) gibi çeşitli hastalıklarla ilişkilendirilmiştir.

Bu çalışmamızda, folat metabolizmasında önemli rol oynayan MTHFR enzimi genetik mutasyonlarından en sık görülen C677T gen mutasyonunun birinci ve ikinci trimester tarama testi biyokimyasal parametreleri üzerine olan etkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. PRENATAL GENETİK TARAMA

Prenatal genetik tarama programlarının amacı tek başına yaş riskinin dışında kromozomal anomalili fetus riski taşıyan gebelerin tespit edilmesini sağlamaktır. Bu tarama testlerinin sonucunda fetal karyotipin belirlenmesi için kişilere amniosentez veya koryonik villüs örnekleme gibi invaziv testler önerilir. Bu invaziv testler fetal karyotipin belirlenmesi için tanısal testlerdir. Ancak bu invaziv testlerin fetal kayıp riski taşıması çoğu kişi tarafından kabul edilmemesine yol açar (5). Prenatal tanıda en önemli noktalardan birisi anormal fetusun saptanma hızını azaltmadan, invaziv yöntemle bağlı fetus kaybını en aza indirmektir. Amniyosentezin ve koryonik villüs örneklemesinin invaziv bir girişim olması, sağlıklı fetus kaybı riski olması ve maliyetinin yüksek olması nedeniyle; ileri maternal yaş grubunda noninvaziv, sensitivitesi yüksek, kolay uygulanabilir, düşük maliyetli tarama yöntemleri geliştirme ihtiyacı doğmuştur (4). Prenatal tarama testleri çiftlerin gebelikleri ile ilgili uygun karar verebilmeleri için bilgilendirilmelerini sağlar (5). Dünya Sağlık Örgütü ve Avrupa Komisyonu'nun tavsiyeleri uyarınca prenatal tanı, tamamen çiftin isteğine bağlı olarak ve sadece fetal sağlık durumu ile ilgili bilgi edinmek amacı ile yapılmalıdır. Prenatal tanı, çiftin ya da hekimin gebelik sonlandırılması hakkındaki fikrinden bağımsız olarak, herkese eşit ve adil olarak uygulanabilir olmalıdır. Anormal bir sonuç elde edilmesi halinde gebeliğin sonlandırılması hakkındaki karar anne ya da çift tarafından bağımsız olarak verilebilmeli ve kararları her ne olursa olsun çift, gebeliği sonlandırma ya da gebeliğe devam etme kararından dolayı ayırimcılığa maruz bırakılmamalıdır (27).

Tüm infatların % 2-3'ünde konjenital anomali mevcuttur. Bunların % 1'i major anomaliler olup morbitite ve mortaliteye belirgin etkileri söz konusudur. Yüzde % 2 oranında görülen minör anomaliler ise yaşam beklentisini çok değiştirmeyen anomalilerdir. Bu konjenital anomalilerin sebepleri tek gen bozuklukları, kromozom anomaliler, multifaktöryel ve çevresel faktörler olarak 4'e ayrılır. Kromozomal anomaliler, konjenital anomalilerin % 6'sından sorumludur. Prenatal tarama yöntemlerinin geliştirilmesiyle infantlardaki kromozomal anomali insidansı azalmıştır (1). Doğumda kromozomal anomali görülme insidansı herhangi bir prenatal tanı yokluğunda yaklaşık % 0.6 civarındadır. En sık görülen

kromozomal anormallik anöploidiler olup en sık görülen anöploidi otozomal trizomilerdir. Down Sendromu en sık görülen trizomidir (5). Down Sendromu 800 canlı doğumda bir görülür. Diğer sık görülen trizomiler trizomi 18 (Edward Sendromu) ve Trizomi 13 (Patau Sendromu)'dur. Turner Sendromu (45 X0), Klinifelter Sendromu (47, XXY), Tip1 ve Tip2 triploidiler diğer görülen anöploidilerdir (5).

Otozomal trizomilerin görülme insidansı maternal yaşın artması ile belirgin olarak artış gösterir. Son yıllarda gebe kalma yaşının daha ileri yaşlarda olması trizomilerin görülme insidansının artmasına sebep olmuştur. Doğumda majör kromozomal anomali görülme riski yaklaşık 1000 doğumda 6 iken kromozomal bozuklukların intrauterin fetal kayıba neden olmalarından dolayı gerçek insidans gebelik haftalarında farklılık gösterir (5). Trizomi 21, 12. gebelik haftasından terme kadar olan dönemde % 40 fetal kayıba neden olurken trizomi 13 ve 18 için fetal kayıp oranı aynı gebelik haftalarında % 80 civarındadır (5).

Down Sendromu için tarama son 20 yıldır birçok gelişmiş ülkede gebelik takibinde önemli bir yere sahiptir. Özellikle maternal serum biyokimyasal belirteçleri kullanılarak yapılan ikinci trimester taraması birçok ülkede yaygın şekilde uygulanmaktadır (5).

Son 10 yılda birinci trimester tarama testinin kullanımı da yaygınlaşmıştır. Erken tarama testlerinin yapılması ile gebelik sonlandırılmasının gerektiği durumlarda bu işlem fetal hareketlerin hissedilmesinden önce ve aynı zamanda ikinci trimestere göre daha güvenilir şekilde yapılabilmektedir (5).

Birçok biyokimyasal belirtecin konsantrasyonu gebelik haftalarına göre değişkenlik gösterir. Gebelik haftasına bağlı bu değişkenliğin ve aynı zamanda laboratuvarlar ya da ölçüm metotları arasındaki farkların etkisini düzenlemek için, belirteçler ölçüldükleri gebelik yaşına göre medyan (ortanca) değerleri hesaplanarak normalize edilmişlerdir. Değerlerin dağılımının logaritmik oluşu nedeni ile medyan (ortanca) kullanılması, ortalama kullanılmasına göre daha doğru bir seçenektir. Medyan değerler hesaplandıktan sonra, her hastanın belirteç değerleri, medyan değer katları (Multiple of Median - MoM) olarak ifade edilmektedir (5).

2.1.1. Birinci Trimester Prenatal Genetik Tarama

Serum biyokimyasal belirteçleri ve NT ölçümünün birlikte kullanılması ile yapılan ikili tarama testi en etkin birinci trimester tarama testidir. Birinci trimesterde, ideal olarak 11-14. gebelik haftaları arasında, serum biyokimyasal belirteci olarak, anne kanında PAPP-A ve serbest β hCG düzeyleri bakılmakta ve bu parametreler fetal nukal kalınlık ve anne yaşı ile kombine edilerek risk hesaplaması yapılmaktadır.

Aşağıdaki tablo 1'de birinci trimester biyokimyasal ve ultrason belirteçlerinin ve aynı zamanda bu belirteçlerin ikinci trimester belirteçleri ile birlikte entegre taramada kullanımının Down sendromunu tespit etme oranları verilmiştir.

Tablo 1: Birinci trimester tarama testi parametreleri ve Entegre Tarama Testinin Down Sendromunu (%5 yalancı pozitiflik ile) saptayabilme oranları (6, 28, 29, 30).

Tarama Testi	Saptama Oranı (%)
<i>Brinci Trimester + Maternal Yaş</i>	
PAPP-A	52
Serbest β -hCG	42
PAPP-A + Serbest β -hCG	65
Nukkal Kalınlık (NT)	73
PAPP-A + Serbest β -hCG + NT	86
<i>Entegre Tarama + Maternal Yaş</i>	
PAPP-A + MSAFP + hCG + uE3 + INH-A	85
PAPP-A + MSAFP + hCG + uE3 + INH-A + NT	94

Bu değerler çalışmalar arasında bazı farklılıklar gösterebilmektedir. Örneğin Spencer ve ark. 210 vaka üzerinde yaptıkları retrospektif bir çalışmada, bu kombinasyonun Down Sendromunu tespit etme oranının %5 yalancı pozitiflikle birlikte % 89 olduğunu göstermişlerdir (5). Aynı zamanda kombine tarama trizomi 21 dışında trizomi 13,18, Turner Sendromu, tip 1 ve tip2 triploidileri de tespit eder. Trizomi 21 dışındaki diğer kromozomal anomalileri tespit etme oranı %1 yalancı pozitiflikle birlikte % 90'dır (5).

Parametrelerdeki değişikliğin aynı olmasından dolayı NT ve biyokimyasal belirteçlerin tek başına kullanılması trizomi 13 ve 18'i ayırt etmede faydalı olamaz. Bu nedenle rutinde trizomi 13 ve 18 risk algoritması birlikte değerlendirilir (5; 31). Birçok kromozomal anomalide fetal kalp hızında değişiklik görülür. İleride fetal

kalp hızındaki değişikliğin farklılığı kullanılarak trizomi 13 ve 18'in ayrı algoritmalarda değerlendirilebilir (5).

Yine Spencer ve ark.'larının 1996 yılında yaptıkları çalışmada anne yaşı ile birlikte PAPP-A ve serbest β -hCG düzeyleri birlikte kullanıldığında Down Sendromunu tespit etme oranı % 67 olarak bulunmuştur (5).

İlk trimesterde trizomi 21'li fetusların anne kanında normal fetuslara oranla serbest β -hCG düzeyleri daha yüksek, PAPP-A düzeyleri ise daha düşüktür. Trizomi 18 ve 13'te ise hem serbest β -hCG hem de PAPP-A azalmıştır. Seks kromozomu anomalilerinde (Turner sendromu) serbest β -hCG normal PAPP-A azalmıştır. Kistik higroma ile birlikte olan Turner Sendromunda NT belirgin olarak artmış görülür. Triploidilerde serbest β -hCG düzeylerinde belirgin artış görülürken PAPP-A düzeyleri azalmıştır (5).

2.1.1.1. Pregnancy Associated Plasma Protein-A (PAPP-A)

İlk olarak Brambati ve ark.'ları tarafından maternal serum pregnancy associated plasma protein-A (PAPP-A) değeri ölümünün ilk trimester fetal anöploidi taramasında kullanılması onaylanmıştır (6). Yapılan birçok çalışmada Down Sendromu bulunması durumunda gebelerin birinci trimester PAPP-A seviyelerinin düşük olduğu gösterilmiştir (6, 32). Yapılan çeşitli çalışmalarda PAPP-A için normal populasyon değeri 1 MoM olarak alındığında Trizomi 21'li gebeliklerde 0,33-0,43 MoM arasında ve ortalama olarak 0,38 MoM olarak bulunmuştur (33). Maternal PAPP-A seviyeleri ilk trimester boyunca artış gösterir Tarama testi yapılırken gebelik haftasının doğru tespiti oldukça önemlidir. PAPP-A ve anne yaşı kombine edildiğinde birinci trimester taramasının Down Sendromunu tespit etme oranı %5 yalancı pozitiflik oranı ile birlikte %52'dir. Bu belirtecin etkinliği 15 haftanın üzerinde kaybolur ve ikinci trimesterde tarama amacı ile kullanılmaz (6).

PAPP-A plasental trofoblastlar tarafından üretilir ve fonksiyonu tam olarak bilinmemektedir (6, 34). Biyolojik fonksiyonu tam olarak bilinmemekle birlikte, insülin benzeri büyüme faktörü bağlayıcı protein 4 ve 5'in (IGF-BP 4 ve 5) spesifik proteazıdır. PAPP-A IGFBP-4 ve 5'i parçalayarak insülin benzeri büyüme faktörünü açığa çıkarır. Böylece IGF'nin lokal olarak biyoyararlanımı ve mitojenik aktivitesi regüle edilir (35, 36). Spontan abortusla sonuçlanacak gebeliklerde düşük

maternal serum PAPP-A düzeylerinin olabileceğini destekleyen bilgiler vardır (6, 37). Ancak düşük PAPP-A düzeylerinin spontan abortus ve artmış Down Sendromu riskini göstermesinin nedeni tam olarak bilinmemektedir (6).

2.1.1.2. Serbest β -Human Koryonik Gonodotropin (Serbest β -hCG)

hCG esas olarak plasental sinsityotrofoblastlar tarafından üretilen glikoprotein yapıda bir hormondur. Çok az miktarda fetal hipofiz ve fetal böbrek tarafından da salgılanır. Gebeliğin ilk 7 haftası korpus luteumun devamlılığını sağlar. α ve β olmak üzere iki subuniteden oluşur. α subuniti 6. kromozom üzerindeki tek bir gen tarafından kodlanır ve lüteinize edici hormon (LH), folikül stimüle edici hormon (FSH) ve tiroid stimüle edici hormon (TSH) ile benzerdir. β subuniti ise spesifiktir ve 19. kromozom üzerindeki 6 ve 7. genler tarafından kodlanır (38). Yüzde 85 oranında hCG beta subuniti ile LH arasında benzerlik vardır (38). Total hCG dışında maternal serumda serbest α , serbest β ve yıkım ürünleri (çentikli hCG) bulunur (4, 39). Total ve serbest hCG seviyeleri gebelikle birlikte sürekli artış göstererek 8-10. gebelik haftalarında en yüksek düzeylere ulaşırken serbest alfa hCG düzeyleri geç gebelik dönemlerine kadar pik yapmaz (4.40). Normal gebeliklerde serbest β -hCG düzeyleri 8-10. gebelik haftasında en yüksek düzeylere ulaşır (6).

Down Sendromlu gebelerde serbest β -hCG düzeyleri 8-14.haftalarda oldukça artış gösterir (6, 41). Yapılan çalışmalarda, Trizomi 21 bulunmayan gebeliklerde serbest β -hCG değeri 1 MoM olarak alındığında, Trizomi 21'li gebeliklerde serbest β -hCG değeri 1.65-2.03 MoM arasında ve ortalama değer olarak 1.83 MoM olarak tespit edilmiştir (33). Total β -hCG'de birinci trimesterde bu fark izlenmemekte ve Down sendromundan etkilenmiş gebeliklerde total β -hCG 1.3 MoM'dan daha düşük tespit edilmektedir. Serbest β -hCG Trizomi 21 ve Trizomi 18 için en spesifik ve sensitif markırdır (1). Maternal yaş ve serbest düzeylerinin birlikte tarama testi olarak kullanılması durumunda Down Sendromunu tespit etme olasılığı % 5 yalancı pozitiflikle birlikte % 42'dir (5).

2.1.1.3. Diğer Biyokimyasal Belirteçler

Pregnansi spesifik beta 1 glikoprotein (SP-1) düzeyleri Down Sendromundan etkilenmiş fetus taşıyan annelerin serumunda erken gebelik döneminde düşük

bulunur (6, 42). Eizinoofil majör basic protein p43 ve izoferritin gibi belirteçlerde birinci trimester taramalarında etkilenmiş gebeliklerin tespitinde fayda sağlayabilir (6). Ancak bu testlerin Down Sendromundan etkilenmemiş ve etkilenmiş gebelikleri birbirinden ayırd etme güçleri azdır. Bu yüzden bu testlerin tarama testi olarak kullanılabilmesi için standardize edilmeleri ve bazı protokollerin oluşturulması gerekir. Bu protokoller oluşturulmadığı için bu testler şuan için tarama testleri içerisinde yer almamaktadır. Aynı zamanda bu testlerin maliyetide de kullanımlarını sınırlamaktadır (4).

2.1.1.4. Birinci Trimester Ultrason Belirteçleri: Nukkal Kalınlık (NT)

İlk kez 1989 yılında birinci trimester armış ense kalınlığının Down Sendromu ile ilişkisi gösterilmiş (3) ve 1990 yılında Szabo ve Gellen birinci trimester nukal kalınlık ölçümünün Down Sendromu taramasında kullanılmasının önemini bildirmişlerdir. Sonrasında Nikolaides ve arkadaşları fetal NT ölçümünün daha çok ileri anne yaşı veya ailesinde kromozomal anomali hikayesi nedeni ile koryonik villüs biyopsisi yaptıracak olan yüksek riskli kadınlara yapıldığını yayınlamışlardır (6).

İdeal olarak NT ölçümü 11-14. gebelik haftaları arası yapılmalıdır. Ölçüm yapıldığı anda CRL 45-84 mm arasında olmalıdır. NT ölçülürken fetusun iyi bir sagittal görüntüsü elde edilmelidir. Görüntü ekranın en az $\frac{3}{4}$ 'ünü kaplamalıdır. Fetal cilt ile amniotik membran iyi ayırt edilmelidir (1).

Nikolaides ve ark. 10-13. Gebelik haftaları arasında Down sendromlu gebeliklerin % 86.1'inde, normal kromozomlu gebeliklerin ise % 4.5'unda NT'nin 3 mm ve üzerinde olduğunu göstermişlerdir (3, 43). 3 mm ve üzerindeki NT değeri kromozomal anöploidi riskinde anne yaşından bağımsız olarak on iki kat artış ile birlikte (3). Çeşitli çalışmalar bu cut of değerinin gestasyonel yaşa bağımlı olduğunu göstermiştir. NT gestasyonel yaş ile birlikte artış gösterir ve 12-13. gebelik haftasında en geniş düzeydedir (3). Gestasyonel yaşa göre düzeltilmiş NT değerlerinin (multiple of median-MoM) kullanımı anöploidi riskini belirlemede daha yüksek duyarlılığa sahiptir (3).

NT ölçümü için cut-off değeri olarak 3mm kullanıldığında kromozomal anomalileri tespit etme oranı % 64 civarındadır. NT ölçümü yaş ile birlikte

kullanıldığında Down Sendromunu % 5 yalancı pozitiflikle birlikte % 73 oranında tespit eder (6).

NT, birinci trimesterin son döneminde fetusun boynunun arkasındaki subkutan sıvının kalınlığının ölçümüdür. NT gerçekte, 14. gebelik haftasından sonra subkutan dokuların daha ekojenik hale gelmesi ile kaybolan “geçici” bir saydamlıktır. Bu alanın gebelik haftası için 95. persentilin üzerinde olacak şekilde geniş olması fetal kromozomal anormalliklerle ilişkilidir. NT geniş olan fetuslar normal karyotipe sahip olsalar bile, izole kalp kusurları, intrauterin fetal ölüm, yapısal malformasyonlar ve nadir genetik sendromlar açısından artmış risk altındadır. Bazı hallerde ise artmış NT gebeliğin ikinci trimesterinde kendiliğinden gerileyen geçici bir durum olarak görülebilir (44).

Birinci trimesterde fetal NT artışı için çok sayıda hipotez mevcuttur. Bunlar kalp ve büyük arter anomalileriyle birliktelik gösteren kalp yetmezliği, lenfatik sistemde geç veya anormal gelişme, cilt altı bağ dokusu içeriğinde farklılık, diafragma hernisi ya da iskelet displazilerinde olduğu gibi superior mediasteninin kompresyonuna bağlı baş ve boyunda venöz konjesyon, fetal anemi veya hipoproteinemi ve konjenital enfeksiyonlardır (45, 46). Kromozomal anomalisi olan fetusların nukal cilt yapısında bulunan ekstraselluler matriks (ECM) proteinlerinin ve bunlara bağlanan hyalünorik asit gibi hidrofilik glikozaminoglikanların tip ve miktar olarak farklı oluşlarının NT artışı ile sonuçlandığı ileri sürülmüştür (44). Normalde 10. gebelik haftasına kadar juguler venlere bağlanarak organize olması gereken lenfatik keselerin, herhangi bir gelişimsel gecikme nedeni ile (kromozomal ya da endoteliyal) geç drene olması ve buna bağlı genişlemesinin fetal boyundaki ödemi geçici olarak arttırdığı belirtilmektedir. Bu keselerin drene olamaması ise Turner Sendromu - Kistik Higroma ilişkisinde olduğu gibi endotel ile örtülü kavitelerin kalıcı olarak ortaya çıkmasını açıklayabilir. NT artışı, tek bir mekanizma yerine gelişimsel işlevler arasındaki etkileşimin ortak bir sonucudur (44).

2.1.1.5. Birinci Trimester Ultrason Belirteçleri: Nazal Kemik

NT ve anne yaşı birlikte taraması pozitif olan olgularda nazal kemik varlığı araştırılmıştır. Down Sendromlu fetusların % 73’ünde nazal kemik görülmemiştir.

Kromozomal olarak normal olan fetusların ise ancak % 0.5’inde nazal kemik yoktur (6).

2.1.2. İkinci Trimester Prenatal Genetik Tarama

İkinci trimester tarama testlerinden “üçlü test”de (Triple Test - TT) anne kanında α -fetoprotein (AFP), ankonjuge östriol (Unconjugated Östriol - uE3) ve insan koryonik gonadotropin (Human Chorionic Gonadotropin - hCG) düzeylerine bakılmakta ve Down Sendromu görülme olasılığı hesaplanmaktadır. Teste göre olasılık belirli bir eşik değerin (cut off) üzerinde ise aileye invaziv prenatal tanı (amniyosentez) önerilmektedir. Bahsedilen bu eşik değerleri değişkenlik gösterebilmekte (1/250 ya da 1/270 gibi), risk olasılığı “Multivariate/Trivariate Gaussian Algoritmalar” ile belirlenmekte, hesaplamalar Down Sendromu için ayrı, diğer trizomiler için ayrı yapılmaktadır (47).

Üçlü testteki parametrelere INH-A eklenmesi ile dördümlü test yapılabilmektedir (4). Total inhibin yerine sadece dimerik INH-A ölçümünün Down Sendromlu gebeliklerde daha fazla yükseldiğinin gösterilmesi üzerine 1996 yılında Wald ve ark.’ları üçlü teste INH-A eklenmesi ile tarama testinin performansının belirgin olarak yükseldiğini bildirmişler, bu testi dördümlü marker tarama testi (Quad test / Quadruple test) olarak önermişlerdir (48).

American College of Obstetricians and Gynecologists (ACOG) 1990’lı yılların ortalarında yayınladığı bültenle, 35 yaş altındaki tüm gebe kadınlara ve ileri maternal yaşta olup invaziv test (amniyosentez) yaptırmak istemeyen kadınlarda risk belirlenmesi için üçlü testi önermiştir (49, 50).

İkinci trimester serum taraması 15. Gebelik haftasından itibaren yapılabilmekle beraber ideal tarama zamanı 16-18.gebelik haftalarıdır. Bununla birlikte testin yapılması 22. haftaya kadar uzatılabilir. Onbeşinci gebelik haftasından önce yapılması durumunda MSAFP düzeyleri NTD için değerli değildir. İdeal bir tarama yapılabilmesi için gebelik yaşının ultrason ölçümleri ile doğru olarak belirlenmesi gerekir. (4, 51).

Wald ve ark. tarafından ilk defa önerilen üçlü test, sonrasında hızlı bir şekilde prenatal takipte yerini almıştır. Down Sendromlu bebek taşıyan annelerde serum AFP ve uE3 düzeyleri ortalamadan düşük (Sırasıyla 0.75 ve 0.72 MoM), hCG

düzeyi ise yüksek (2,06 MoM ve üzeri) olarak bulunmaktadır (33). Her üç parametrenin yaşla birlikte korelasyonu sonrasında Down sendromunu saptama oranı % 71 oranındadır (4, 32). Değişik çalışmalarda INH-A'nın üçlü testte eklenmesi ile tespit oranının 6–11 puan artarak % 5 yanlış pozitiflikle % 79'a ulaştığı bildirilmektedir (4). Aşağıdaki tablo 2'de, ikinci trimester belirteçlerinin Down Sendromunu tespit etme oranları verilmiştir.

Tablo 2: İkinci trimester tarama testi parametrelerinin Down Sendromunu (% 5 yalancı pozitiflik ile) saptayabilme oranları (ultrasona göre gebelik haftası ve anne ağırlığına göre yapılan düzeltmeyle) (4, 52, 53,54).

Tarama Testi	Saptama Oranı (%)
<i>Maternal Yaş Sadece</i>	
Anne yaşı ≥ 38	32
<i>Maternal Yaş İle</i>	
MSAFP	36
Total hCG	49
uE3	48
INH-A	45
MSAFP + hCG	63
MSAFP + hCG + uE3	71
MSAFP + hCG + uE3 + INH-A	79

Wald ve ark. 1994,1996 ve 1997 yıllarında yapmış oldukları çalışmalarda ikinci trimester parametrelerinin tespit etme oranlarını MSAFP + hCG + uE3 + INH-A için %76, MSAFP + hCG + uE3 için %69, MSAFP + hCG için %59, anne yaşı için %30 olarak tespit etmişlerdir (33).

Üçlü ve dördü testlerin kullanımı ile Down Sendromunun dışında fetal trizomi 18, Turner Sendromu, triploidi, trizomi 16, fetal ölüm, Smith-Lemli-Opitz Sendromu ve steroid sülfataz eksikliği tespit edilebilir (4). Otozomal trizomilerden Down Sendromundan sonra ikinci sıklıkla görülen Trizomi 18 (Edwards Sendromu) yaklaşık 8000 canlı doğumda 1 görülmekte ve anatomik malformasyonları DS'ndan daha ciddi olarak ortaya çıkmaktadır (55). Bu gebeliklerde tipik olarak MSAFP, uE3, hCG ve INH-A seviyeleri normale göre daha düşük bulunmuştur (4, 56, 57).

Yapılan çalışmalarda MSAFP, uE3, total hCG ölçümünü kullanarak Trizomi 18 tespit etme oranını % 60 olarak bulmuşlardır (5).

Trizomi 18'den daha az sıklıkta görülen otozomal trizomi olan Trizomi 13'ün prenatal testlerle tespiti şuan için yapılmamaktadır. Ancak bu hastalarda açık spina bifida defektine bağlı AFP düzeylerinde yükselme ikinci trimester tarama testinde gözlemlenebilir (4, 58).

Sex kromozom anomalilerinden fetal hidrops bulunan Turner Sendromunda düşük MSAFP ve uE3 ve yükselmiş hCG ve İNH-A seviyeleri bulunur. Ancak hidropik olmayan vakalarda bu dört belirtecin seviyesi de düşük olarak izlenir (4, 59, 57).

Aşağıdaki tablo 3'de ikinci trimester maternal serum belirteçlerinin kromozomal anomalilerdeki değişimleri verilmiştir.

Tablo 3: Yaygın Anöploidilerinde ikinci trimester belirteç paternleri (5).

Anomali	AFP	hCG	İnhibin A	uE3
Trisomi 21	Düşük	Yüksek	Yüksek	Düşük
Trisomi 18	Düşük	Düşük		Düşük
Trisomi 13	Az Yüksek	Normal	Normal	Normal
Turner Send.	Az Azalma	Yüksek/Düşük ±hidrops	Yüksek/Düşük ±hidrops	Az Azalma
Triploid I	Yüksek	Yüksek		
Triploid II	Normal	Düşük		
Diğer	Normal/Yüksek	Normal/Yüksek		Normal

2.1.2.1. Maternal Serum Alfa Fetoprotein (AFP)

Alfa fetoprotein 69 kilodalton ağırlığında onkofetal glikoproteindir. Gebeliğin ikinci ayından itibaren sekonder yolk kesesi tarafından, 3. ayından sonra da fetal KC ve gastrointestinal sistemde üretilir. Dördüncü kromozomun uzun q kolu üzerindeki genle kontrol edilir. AFP fetus tarafından üretildiği için fetal serum ve amniyotik sıvı AFP düzeyi maternal serum değerlerine göre 50-5000 kat daha yüksektir (38). Amniyotik sıvıda 12-14. haftada en yüksek seviyeye ulaşan AFP'nin esas kaynağı fetal idrardır. Daha sonra miktarı haftada %12 azalır. Maternal serum alfa-feto protein düzeyi ise 32. gebelik haftasına kadar giderek artar. Fetal serum AFP düzeyi

12-14 haftadan itibaren giderek düşerken MSAFP düzeyinin artış sebebi trofoblast villus yüzeyi ve amniyotik zar gibi geçiş yüzeylerinin gebelik haftası ile giderek büyümesine bağlanmaktadır (1, 60).

Fonksiyonu kesin bilinmemekle birlikte fetus kanında steroid hormon taşıyıcısı olarak görev yaptığı düşünülmektedir. Diğer büyüme faktörleri ile sinerjik çalışarak hücre proliferasyon düzenleyicisi olarak fonksiyon görmektedir. Fetal serumda AFP düzeyi birinci trimester sonunda en yüksek seviyeye ulaşır. Bu dönemde artık sadece karaciğerden sentez edilmektedir. Gebeliğin 32. haftasına doğru gittikçe azalmakla birlikte 32. haftadan sonra azalma hız kazanmaktadır (61).

Nöral tüp defektleri (NTD) için tarama bilinen ilk invaziv olmayan yaklaşımdır. NTD için tarama NTD'nin sadece % 5'inin daha önce etkilenmiş çocukları olan bireylerde görülmesi üzerine başlatılmıştır. NTD için artmış risk taşıyan kişilerin tespitinde pozitif aile hikâyesinden başka bir yöntem olarak MSAFP ölçümünün faydalı olacağı tespit edilmiştir ve Maternal Serum AFP ölçümü ilk olarak NTD taraması için kullanılmıştır (62).

Kromozomal anomalili bebeklerde özellikle de, Down Sendromlu gebeliklerde ikinci trimesterde MSAFP düzeyinin normalden daha düşük olduğu ilk defa 1984 yılında Merkatz ve ark.'ları tarafından bildirilmiştir (4, 63). Yapılan çeşitli çalışmalarda gebeliğin 15-22. haftaları arasında Down Sendromlu gebeliklerde MSAFP değerleri 0.72-0.78 MoM olarak bulunmuş ortalama değer olarak 0.75 MoM alınmıştır (33). Başlangıçta sabit bir MSAFP eşik değeri kullanılırken şuan MSAFP gaussian dağılımındaki yükseklik kullanılarak olasılık oranı (likelihood ratio) kullanılır (4). İkinci trimester eşik değerini 1/270 olarak kabul ettiğimizde MSAFP taraması etkilenmiş gebeliklerin tespit edilmesinde % 20'lik bir artışa sebep olur (4). AFP'nin biyolojik olarak fonksiyonu ve Down Sendromlu gebeliklerde seviyelerinin neden düşük olarak izlendiği tam olarak açıklanamamıştır (4). Tarama testi olarak anne yaşı ile birlikte MSAFP kullanılırsa Down Sendromu yakalama oranı %6,8 yanlış pozitiflikle %36 olarak bulunmaktadır (52).

MSAFP ölçümü için en uygun zaman 16-18. gebelik haftalarıdır. Bu haftalarda etkilenmiş ve etkilenmemiş olan fetuslar arasındaki biyokimyasal belirteçlerin serum düzeyleri arasındaki fark en fazladır. Anne ağırlığı ile MSAFP arasında negatif bir korelasyon mevcuttur. İnsüline bağlı diabette MSAFP düzeyi

her hafta için %20–40 daha düşük düzeyde bulunmaktadır. Tam olarak ispatlanamamış olmakla birlikte sigara içenlerde MSAFP düzeyinin normale oranla daha yüksek olduğu ileri sürülmüştür (64).

Fetusta NTD olan olguların %80-90'ında MSAFP 2.5 MoM üzerindedir. MSAFP düzeyindeki artış NTD dışındaki bazı durumlardan da kaynaklanabilir. Bu sebepler arasında; 1.Gebelik yaşının olduğundan daha az tahmin edilmesi 2. Çoğul gebelikler 3.Anne dolaşımına fetal kan sızmasına neden olan fetal ölüm 4.Rh izoimmünizasyonu, kistik higroma ve fetal ödem ile ilişkili diğer durumlar 5.NTD dışındaki anomaliler, başlıca gastroşizis ve omfalosel 6. Plasental lezyonlar (infarkt, trombüs) (38, 62). Plasental lezyonlar plasental disfonksiyona neden olur. Trofoblastik bariyerin bozulması AFP'nin plasentadan geçişinin artmasına ve böylece yükselmiş MSAFP düzeylerine neden olur (38, 65, 66).

Açıklanamamış MSAFP yüksekliği AFP değerinin 2.5 MoM üzerinde olduğu ancak bu yüksekliği açıklayacak fetal kromozomal anomali, fetal yapısal anomali (NTD, abdominal duvar defekti), plasental anomaliler (koryoanjioma), çoğul gebelik, fetal ölüm veya maternal durumların (over tm, koryokarsinom) bulunmadığı durumlarda MSAFP yüksekliğini ifade eder (67, 68). Maternal trombofili, fetal ekojenik barsak gibi yüksek risk gruplarında da yükselmiş MSAFP değerleri sözkonusudur (67). Açıklanamamış MSAFP yüksekliği olumsuz perinatal sonuçlarla ilişkilidir. MSAFP değeri 2.5-2.9 MoM arasında %19, ≥ 5 MoM ise %70 oranında perinatal komplikasyonla ilişkilidir. Bu perinatal komplikasyonlar; intrauterin gelişme geriliği, antrepartum hemoraji, plasenta dekolmanı, preterm eylem ve preterm doğum, fetal ölüm (24 haftadan sonra), spontan abortus, gestasyonel hipertansiyon, preeklampsi, infant ölümü, oligohidramnios, perinatal morbiditedir. Açıklanamamış MSAFP düşüklüğü de (<0.25 MoM) spontan abortus, preterm doğum, ölü doğum, infant ölümü ve artmış makrozomi insidansı ile birlikte (67, 69, 70).

2.1.2.2. Human Koryonik Gonadotropin (hCG)

Bogard ve ark.ları Down Sendromlu gebeliklerde ikinci trimester maternal serum human koryonik gonodotropin seviyelerinin normal gebeliklerle kıyaslandığında daha yüksek olduğunu tespit etmişlerdir. Yine hCG'nin kromozomal anomalileri

tespit etmede MSAFP'e göre daha üstün olduğunu bildirmişlerdir. (4, 71). Mekanizması bilinmemekle birlikte Down Sendromlu gebeliklerde düzeyi normalin yaklaşık 2 katına kadar çıkabilmektedir (1). Yapılan çeşitli çalışmalar sonucu Down sendromlu gebeliklerde çeşitli total β -hCG MoM değerleri bulunmuştur. Bu değerler 1.95-2.17 MoM arasındadır ve down sendromlu gebeliklerde ortalama değer 2.06 olarak tespit edilmiştir (33).

İkinci trimester taramasında Down Sendromunu tespit etmek amacı ile total β -hCG düzeyleri kullanılmaktadır. İkinci trimesterde α ve β -hCG düzeyleri Down sendromunu tespit etmede değerli olmakla birlikte total β -hCG düzeyleri daha değerlidir. Total β -hCG düzeylerinin Down sendromunu tespit etme oranı %49 (%5 yalancı pozitiflikle) iken serbest β -hCG için %48, serbest α hCG için %38'dir (52).

hCG konsantrasyonu fetal hidrops ve kistik plasenta (molar gebelik) durumlarında artış gösterir. Bu durum hidropik Down Sendromu yanı sıra triploidi, Turner Sendromu ve hidropsa neden olan diğer durumlarda da gözlenir (4). Birçok vakada Down Sendromu hidrops ile ilişkili olmasa da artmış ense kalınlığı birçok vakada görülür ve sıvı birikimine katkı sağlayabilir. Bu durum yüksek hCG düzeylerinin sıvı hemostazında bozulma ile ilişkili olduğunu düşündürür (72).

Yukarıdaki nedenlerin herhangi birisinin bulunmadığı ikinci trimester açıklanmamış hCG yüksekliği (>2 Mom) tam olarak anlaşılamamıştır. Hipoksi sitotrofoblastlarda artmış proliferasyona neden olurken trofoblast invazyonunu inhibe eder. Artmış hücrel proliferasyon maternal oksijen transferi için bariyer oluşturur ve bu da erken dönemde embriyonun hipoksik durumda kalmasına neden olur. Uteroplasental ve fetoplasental sirkülasyon geliştikçe lokal oksijen gerilim gradienti trofoblast invazyonuna ve normal plasentasyonun tamamlanmasına izin verecek şekilde değişir. Böylece ilerleyen gebelikle birlikte artan oksijen ihtiyacı karşılanır. hCG pikinin görüldüğü 9-11. haftalarda plasental O_2 seviyesinin üç kat arttığı gösterilmiştir. Hipoksi sonucu görülen hücre proliferasyonunun neden olduğu trofoblastlar üzerindeki hiperoksijenik hasarın artmış hCG üretimi ile sonuçlanabileceği düşünülmektedir (67,73, 74, 38).

Yine yükselmiş hCG düzeyleri ve plasental mozaizm birlikteliği tanımlanmıştır. Yüksek hCG düzeyi bulunan gebelerin plasentaları gebelik yaşına göre daha büyüktür ve retroplasental hematoma ve desidual plazma hücreleri

gösterirler (67, 75). İkinci trimester açıklanmamış hCG yüksekliği perinatal komplikasyon görülme sıklığında artış ile birlikte. IUGR, preeklampsi, preterm eylem ve ölü doğum görülme olasılığı bu kişilerde artmıştır (67). Birinci trimester hCG yüksekliği gebelik komplikasyonları ile ilişkili bulunmamıştır (67, 76, 77). Birinci trimester hCG seviyelerinin normalden düşük olması (<0.4 MoM) düşük doğum ağırlığı ve abortus sıklığında artış ile birlikte (67).

2.1.2.3. Unkonjuge Östriol (uE3)

İlk defa 1988 yılında Canick ve ark.ları tarafından Down Sendromlu gebeliklerde, normal gebeliklere oranla anne serumunda unkonjuge östriol (uE3) düzeyinin anlamlı olarak düşük olduğunu bildirilmiştir (78). Down Sendromlu gebeliklerde uE3 düzeyi etkilenmemiş gebeliklerle karşılaştırıldığında %25 daha düşüktür (62). Normal gebelik için uE3 oranı 1 MoM alındığında yapılan çeşitli çalışmalarda Down sendromlu gebeliklerde uE3 MoM değeri 0.68-0,75 MoM arasında tespit edilmiş ortalama değer olarak 0.72 MoM alınmıştır (33). Birçok çalışma östriolün neredeyse hCG kadar faydalı, etkilenmiş ve etkilenmemiş gebelikleri ayırd etmede MSAFP' den daha üstün olduğunu göstermiştir (32).

Plasentada sinsityotrofoblastlar tarafından fetal prekürsör olan 16 alfa hidroksidehidroepiandesteron sülfattan sentezlenir. Kolesterolden fetal adrenalde sentezlenen dihidroepiandosteron sülfat (DHEA-S) fetal karaciğerde 16-alfa hidroksilaz enzimi aracılığı ile 16 alfa hidroksi DHEA-S' a çevrilir. Plasental sülfataz enzimi ile dekonjuge edildikten sonra ortaya çıkan ürün aromataz enzimi ile aromatize edilerek unkonjuge östriol (uE3) elde edilir (1). Down Sendromlu gebeliklerde fetal karaciğer, plasenta ve maternal serum uE3 ve DHEAS düzeyleri normal gebeliklere göre daha düşük düzeydedir. Bu durum Down Sendromlu gebeliklerde DHEAS desteğinin azaldığını gösterir (79).

Düşük östriol seviyeleri (<0.5 MoM), kromozomal anomaliler, fetal yapısal anomaliler (anensefali), fetal ölüm ve fetal metabolik hastalıklar (steroid sülfataz eksikliği, konjenital adrenal hipoplazi, hipokortizolizm, Smith, Lemli-Opitz Sendromu ve plasental aromataz eksikliği) ile ilişkilidir (67).

2.1.2.4. İnhibin-A (INH-A)

İnhibin'in Down Sendromu taramasında kullanılabilen bir belirteç olduğu ilk olarak Van Lith ve ark. tarafından belirtilmiştir (80). INH-A, plasental doku ve gonadlarda sentezlenen dimerik yapıda glikoproteindir. α ve β olmak üzere iki subuniti vardır. INH-A'nın Down Sendromu taramasında faydalı olacağı gösterilmiştir (81). Down Sendromlu gebeliklerde INH-A'nın plasental trofoblastlarca artmış üretimi söz konusudur (82). Etkilenmiş ve etkilenmemiş gebeliklerde maternal serum hCG ve INH-A konsantrasyonları arasında kolerasyon söz konusudur (4, 53). Yapılan çeşitli çalışmalarda INH-A seviyeleri ölçülmüş ve Down Sendromlu gebeliklerde 1.75-2.15 Mom arasında bulunmuş ve ortalama değer olarak 1.92 MoM alınmıştır (33). INH-A seviyeleri Down Sendromu dışında triploidi, HELLP Sendromu ve ikiz gebeliklerde ikiz eşlerinden birinin ilk trimesterde abort olması durumunda oldukça yüksek bulunur. INH-A seviyeleri primer antifosfolipid antikor Sendromunda belirgin olarak düşüktür (67).

Herhangi bir nedene bağlanmayan INH-A yüksekliği IUGR, preterm doğum, fetal ölüm, gestasyonel HT ile ilişkili bulunmuştur (67).

2.1.3. Birinci ve ikinci trimester kombinasyon taraması

2.1.3.1. Entegre Tarama

Wald ve arkadaşları tarafından birinci trimester tarama testine alternatif olarak ardışık olarak birinci ve ikinci trimester tarama testlerinin birleştirilmesi ile oluşan kombine tarama testi önerilmiştir (5). Birinci trimesterde NT ve serum PAPP-A ölçümleri ile ikinci trimesterde MSAFP, uE3, hCG ve INH-A düzeylerinin ölçümü ile yapılan entegre taramanın Down Sendromunu tespit etme oranı %5 yalancı pozitiflikle birlikte %94 olarak bulunmuştur. Bu ölçümlerden NT çıkarılması ile tespit etme oranı %85 düzeylerine azalır (6). Bu uygulamanın başarısı tek başına birinci ve ikinci trimester taraması yapılmasına göre daha fazla olsa da pratik kullanımında bazı zorluklar vardır. Hastanın belirlenen zaman dilimleri içerisinde tarama yapılması için iki defa başvurması gerekmekte ve tarama testinin sonuçlarını alabilmesi için en azından 4-6 hafta beklemesi gerekmektedir (5).

Bununla birlikte Entegre tarama ile invaziv tanı testlerinin yapılması ikinci trimestere ertelenir. Böylece entegre tarama, invaziv tanı testlerini ikinci trimestere

erteleme düşüncesinde olan hastalar için en güvenli ve etkin protokol olarak ortaya çıkmaktadır (55).

NT ölçümünün özellikli olması ve ölçüm imkanlarının serum belirteçlerinde olduğu kadar yaygın olmaması, entegre testin sadece serum ölçümüne dayalı bir türevinin oluşturulmasına yol açmıştır (Serum Integrated Test - SIT). Bu 5 belirtece dayalı SIT'in Down Sendromunu tespit etme oranı % 5 yalancı pozitiflikle birlikte % 85 civarında hesaplanmaktadır (30).

2.1.3.2. Sıralı tarama

Entegre taramada sonuçların tamamen ikinci trimester tarama testi sonrasına ertelenmesi ve tüm hastalara birinci ve ikinci trimester taramasının uygulanması ile yüksek maliyetli olmasından dolayı birtakım yeni arayışlara girilmiş ve sıralı tarama testi kavramı oluşturulmuştur (83). Sıralı tarama birinci ve ikinci trimester tarama testlerini kapsar ancak hastalara birinci trimester sonuçlarına göre erken tanı yöntemlerini yaptırma olanağı sağlar. Sıralı tarama uygulamasında farklı yaklaşımlar bulunur;

2.1.3.2.1. Bağımsız (Independent) Sıralı Tarama

Birinci trimester tarama sonucu hastanın karar vermesine olanak tanıyacak şekilde hastaya bildirilir. İkinci trimester tarama testi ise birinci trimester test sonucundan bağımsız olarak tüm hastalara uygulanır. Bu uygulamanın sensitivitesi yüksek olmasına rağmen yalancı pozitif oranların yüksek olmasından dolayı etkinliği düşüktür (83).

2.1.3.2.2. Adımlı (Stepwise) Sıralı Tarama

Stepwise sıralı tarama uygulanırken, ilk trimesterde NT + PAPP-A veya NT + PAPP-A + fβ-hCG (Kombine tarama-CT) ölçümleri yapıp bir ara risk belirlenir. Bu ara risk $\geq 1/25$ veya $\geq 1/50$ (CT için) ise tarama testi pozitif olarak kabul edilir ve hasta bilgilendirilip erken tanı girişimine yönlendirilir (55). Risk değeri bu eşik değerinin altında olan gebelere ikinci trimester tarama testi uygulanır. Hastaya ikinci trimester tarama testi sonucunda tam entegre risk raporu düzenlenir. Bu

uygulamanın Down Sendromlu gebelikleri tespit etme oranı % 5 yalancı pozitiflikle birlikte % 95'tir (83, 84).

2.1.3.2.3. Contignent (Gruplu) Sıralı Tarama

Bu uygulamada hastalar düşük risk, orta risk ve yüksek riskli olarak gruplara ayrılır. Riski 1/25 veya 1/50 değerinin üstündeki hastalar yüksek riskli kabul edilerek erken tanı yöntemlerine yönlendirilir. Riski $< 1/2000$ olan hastalar ise düşük riskli kabul edilerek taramadan çıkarılır. Taramaya sadece orta riskli hastalar ile devam edilir. Böylece, hastaların % 60-70 kadarı ilk trimester sonunda bir tarama sonucu alıp nihai sonuç için 3-6 haftalık endişeli bir bekleme sürecine girmemiş olmaktadır. Yapılan bir çalışmada Down sendromunu tespit etme oranı % 5 yalancı pozitiflikle birlikte %88-94 oranında bulunmuştur (55, 83).

2.1.4. Tarama Testlerini Etkileyen Faktörler

Tarama testlerinin doğruluk oranları bazı kişisel durumlara göre değişiklik göstermektedir. İkinci trimester tarama testinin % 5 yalancı pozitiflikle birlikte % 75 oranında güvenilirliği söz konusudur. Ancak bu oran yaşla birlikte değişiklik gösterir. Yirmi yaşında tespit etme oranı % 45 iken yalancı pozitiflik oranı daha düşüktür (% 3).Yine 40 yaşındaki kişilerde tespit oranı % 92 iken yalancı pozitiflik oranlar daha yüksektir (%40) (5, 85).

Yine birinci trimester tarama testinin tespit etme oranı 20 yaşındaki kadınlarda % 80, yalancı pozitiflik oranı ise % 2.5 iken 40 yaşındaki kadınlarda tespit etme oranı % 96, yalancı pozitiflik ise % 25 gibi yüksek orandadır (67).

İrk, sigara, maternal kilo, akraba evliliği, hemoglobin değerleri, erken gebelik döneminde kanama, fetal cinsiyet, coğrafik konum maternal serum belirteçlerinin seviyelerini etkileyebilen durumlardır (86). MSAFP, uE3 ve hCG konsantrasyonları maternal kilo durumu ile değişiklik gösterir. Anne kilosunda 20 kg'lık bir artış AFP düzeylerinde % 17, uE3 düzeylerinde % 7, hCG düzeylerinde % 16'lık bir azalma yapar. Watt ve ark 1992 ve Neveux ve ark. 1993 yıllarında benzer sonuçlar bulmuşlardır (33). Sigara içen kadınlarda sigara içmeyenlerle karşılaştırıldığında maternal serum belirteçlerinin seviyeleri değişiklik gösterir. En belirgin değişiklik Total hCG seviyelerindedir. Sigara içenlerde, sigara içmeyenlere

göre % 18 daha düşüktür. AFP seviyeleri sigara içenlerde % 3 yüksek, uE3 % 4 düşük, sβ hCG % 6 daha düşüktür (33). Diyalize giren kronik böbrek yetmezliği olan veya böbrek transplantasyonu yapılmış kişiler kontrol grupları ile karşılaştırıldığında belirgin olarak yüksek maternal serum hCG seviyelerine sahiptir (67, 87, 88, 89). HIV (human undeficiency virus) ile enfekte kişilerde AFP ve hCG seviyeleri viral yük, CD4 sayısı ve proteaz inhibitörlerinin alınıp alınmamasına bağlı olarak değişkenlik gösterir (90, 91). Vitamin B12 seviyeleri düşük olan kişiler de yüksek hCG düzeyleri görülür (67, 92).

Yine diyabet maternal serum belirteç seviyelerini etkileyebilen bir durumdur ve belirteçlerin serum seviyesi ölçüldükten sonra standart risk hesaplanması sırasında dikkate alınır (67). Maternal ağırlığa göre düzeltilmiş değerlere göre İnsülin bağımlı diabeti bulunan kadınlarda MSAFP değerleri normale göre % 10, uE3 değerleri % 7 ve free α hCG değerleri % 11 ve INH-A değerleri % 9 oranında daha düşüktür. Bu farklılıklar istatistiksel olarak anlamlıdır. Tarama yapılırken mutlaka dikkate alınmalı ve tarama yapılırken bu parametrelerin diyabetik kadınlara göre düzeltilmiş MoM değerleri kullanılmalıdır (33).

Gebelik oluşurken yardımcı üreme tekniklerinin kullanılması da gerek ovulasyon indüksiyonu olsun gerekse in vitro fertilizasyon olsun maternal serum belirteçlerinin seviyelerini etkiler. B u hastalarda Hcg seviyeleri normal kişilere göre %9 daha yüksekken uE3 seviyeleri% 8 daha düşük tespit edilir (33).

Çalışkan ve ark. (153) Rh (-) kan grubuna sahip olan hastaların Rh (+) hastalara göre daha yüksek serum serbest β-hCG düzeylerine sahip olduklarını göstermiş ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. D antijeninin maternal serum serbest β-hCG düzeylerinde artışa neden olabileceği düşünülmüştür.

Bu etkileyici faktörler genel olarak popülasyon değerlerinde minimal bir etki yaparken tamamen kişisel değerlendirmelerde değerlidir. Tablo 4’de maternal serum biyokimyasal belirteç seviyelerini etkileyen faktörler belirtilmiştir (5).

Tablo 4: Maternal serum biyokimyasal belirteçleri veya trisomi 21 riskini etkileyen faktör (5).

	Birinci Trimester	İkinci Trimester
Gebelik Haftası	PAPP-A artışı, 9 haftandan sonra Serbest β-hCG artışı	AFP, uE3 artar, hCG azalır. İnhibinde minimal değişiklik

Maternal Ağırlık	Ağırlık artışıyla tüm parametreler azalır	Ağırlık artışıyla tüm parametreler azalır
Çoğul Gebelik	İkiz gebeliklerde 2, üçüzlerde 3 kat artış	İkiz gebeliklerde 2, üçüzlerde 3 kat artış
IDDM	PAPP-A, (?) Serbest β -hCG azalır	? AFP, uE3 ve hCG azalır
Fetal Cinsiyet	Dişi cinsiyette PAPP-A, Serbest β -hCG artar	Dişi cinsiyette hCG artar, AFP azalır.
Yardımcı Üreme Teknikleri	PAPP-A azalır, Serbest β -hCG artar	uE3 azalır, hCG artar AFP değişmez
Etnik Köken	Siyah ırk ve Asyalılarda PAPP-A, Serbest β -hCG artar	Siyah ırk ve Asyalılarda hCG ve AFP artar, İnhibin Siyah ırkta azalır
Sigara İçimi	PAPP-A azalır	hCG, uE3 azalır, AFP artar, İnhibin çok artar
Gravite/Parite	Doğum sayısının artışıyla serbest β -hCG azalır	Doğum sayısının artışıyla total hCG azalır
Vajinal Kanama	Bilinmiyor	AFP artar
Önceki Gebelik	Daha önce yüksek riskli gebeliği olanlarda büyük olasılıkla 2-3 kat artar	Daha önce yüksek riskli gebeliği olanlarda büyük olasılıkla 2-3 kat artar

Serum biyokimyasal markılarının seviyesi kişisel durumların yanı sıra fetusta anöploidi varlığında gebelik haftasına göre de değişkenlik gösterir. Berry ve ark.'larının 45 trizomi 21'li bebek taşıyan gebe üzerinde yaptıkları çalışmada serbest β -hCG median değerlerinin birinci trimesterde 1.99, ikinci trimesterde ise 2.79 olduğunu tespit etmişlerdir. Yine PAPP-A düzeylerinin birinci trimesterde 0.50 MoM, ikinci trimesterde 0.94 Mom olduğunu tespit etmişlerdir. Yine Spencer ve ark.ları serbest β -hCG seviyelerinin 14-16 hafta arasında 17-19 haftalar arasına göre daha yüksek seviyede olduğunu göstermişlerdir (5).

Diğer anöploidilerde de gebelik haftasına göre maternal serum belirteçlerinin seviyeleri ve etkinliği değişmektedir. Örneğin Trizomi 18 için PAPP-A seviyeleri birinci trimesterde düşük olmakla birlikte bu düşüş ikinci trimester boyunca daha belirginleşir (5, 93). Trizomi 13'de ise 1. Trimesterde düşük olan Serbest β -hCG seviyeleri 18. haftaya kadar artış gösterir (5).

2.2. FOLAT METABOLİZMASI ve METİLEN TETRAHİDROFOLAT REDÜKTAZ (MTHFR) ENZİM MUTASYONU

2.2.1. Folik Asit

B9 vitamin ailesi üyeleri folatlar olarak bilinir. Tek karbon biyosentezi ve epigenetik süreç için gerekli esansiyel besinlerdir. Folatlar tümüyle diyetel kaynaklardan özellikle de sebzeler (ıspanak, brokoli, kuşkonmaz, yeşil salata), meyveler (limon, çilek, kivi), tahıllar, fasulye ve karaciğerden vücudumuza alınır. Folik asit ise, diyetle ilave edilen, ek besinlerde bulunan sentetik formdur (12, 13, 14).

Folik asit pteridin, p-aminobenzoik asit ve glutamik asit bileşiminden oluşur. Monoglutamat, oligoglutamat ve poliglutamat şeklinde bulunabilmektedir. Yiyeceklerde bulunan başlıca folat şekli poliglutamat formudur. Folatın intestinal emilim mekanizması tam anlamıyla anlaşılmış değildir. Emilim jejunumun her yerinde olmakla birlikte proksimal jejunumda en etkindir. İlk aşamada poliglutamat form jejunumda bulunan konjugazlarla monoglutamat forma indirgenir. İkinci aşamada monoglutamatlar pasif transport ile intestinal hücrelere alınır. İntestinal hücrelerde monoglutamatlar dihidrofolat redüktaz enziminin aracılık ettiği reaksiyonla THF'a indirgenir. THF, 5-metil THF'a dönüştürülerek portal dolaşıma katılır veya poliglutamat forma dönüştürülerek depo edilir (94). N-5-metil THF serumda ve dokularda bulunan başlıca folik asit formudur. Folik asit karaciğer, böbrek, pankreas ve beyin dokusunda poliglutamat şeklinde depo edilir (94).

2.2.1.1. Folik Asitin İşlevleri

Folik asit birçok metabolik reaksiyonda görev alır. Metiyonin sentezi, timidilat sentezi, serinin glisine çevrilmesi, histidin katabolizması ve pürin sentezi gibi beş önemli tepkimede kullanılır (95). Folat koenzimleri tek karbonlu yapıların değişik organik bileşiklere taşınmasında gereklidirler. Folatın primer fonksiyonu DNA yapı taşlarından adenin, guanin ve timin sentezi için tek karbon yapılarını sağlamaktır. Bu tek karbon yapıları pürin sentezinde gerekli 5-formamidoimidazol-4-karboksamid ribonükleotit (FAICAR), formilglisinamid ribonükleotit (FGAR), deoksitimidin monofosfat (dTMP) sentezinde gerekli metilen ve methionin sentezi için gerekli metil grubudur. Bu tek karbon yapıları serin glisin dönüşümü, histidin metabolizmasında formaminoglutamik asitin glutamik asite dönüşümü ve glisin ayrışması sırasında oluşur (94).

Karaciğerde depolanan N-5-metil THF, B12 vitaminine bağlı metiyonin sentetaz enzimiyle THF'a dönüşür. Reaksiyon sırasında metil grubu homosistein'e

transfer edilerek metiyonin oluşur. Metiyonin, ATP ile aktive edilerek guanidinoasetat, nukleik asit, nörotransmitter, fosfolipid ve hormonlar gibi metil alıcıları için primer metil kaynağı olan SAM'ı oluşturur (96).

THF, pirimidin metabolizmasında sadece timidin nükleotid sentezi için kullanılmaktadır. Pirimidin nükleotid sentezinde, dUMP N5-N10-metilen-THF'un metil grubunu alarak deoksitimidin monofosfat (dTMP)'a çevrilir. Bu olaydan sorumlu olan ve DNA oluşumunda hız sınırlayıcı enzim olan timidilat sentaz'dır (97). Bu reaksiyonda folat sadece tek karbon ünitelerini taşımaz, aynı zamanda iki hidrojen ve metilen karbonunun metile indirgenmesini de sağlar. Tek karbon ünitelerinin transferi N5-N10 metilen THF'dan olur (95).

Folat koenzimleri serinin glisine dönüşümünde de rol oynarlar. Hidroksimetil transferaz enzimi serinin THF ve formaldehite transferini katalize ederek 5-10-metilen-THF ve glisin oluşumu gerçekleşir (95, 97, 98).

Histidin katabolizmasında metabolik bir ara ürün olan N5-formiminoglutamat (FIGLU) formiminotransferaz/siklodeaminaz gibi iki işlevli bir enzim ile katalize edilir. İlk önce formimino grubunun (CH=NH) THF'a transfer edilmesi ile glutamat ve 5-formimino THF oluşur (95, 97, 98).

2.2.1.2. Folik Asit Eksikliği

Folat eksikliği, folik asidin gıdalarla yetersiz alınması, metabolizmanın yüksek olması ve/veya genetik defektlere bağlı olarak gereksinimin artması sonucu gelişir (99). Folik asit vücutta üretilmediği için tümüyle dışarıdan alınması gerekmektedir. Alkol tüketimi, anoreksiya veya bulimmiya nervoza, taze sebze ve meyve tüketilmemesi, sebzelerin fazla pişirilerek tüketilmesi, renal dializ uygulanması ve kronik hemolitik anemi folik asit eksikliğinin nedenleri arasındadır. Oral kontraseptifler, alkol, barbitüratlar, metotreksate, phenitoine, primidone, sulfonamide ve trimethoprim gibi ilaçlar da folik asit yetersizliğine neden olur (100).

Folat metabolizmasında bozukluğa neden olan genetik durumlar 5,10 MTHFR eksikliği, methionin sentaz eksikliği, glutamat formamino transferaz eksikliği, herediter folat malabsorpsiyonu ve dihidrofolat redüktaz eksikliğidir (94).

Folik asit yetersizliğinde metionin yapımı azalır, hücre içi SAM düzeyi düşer. Bu da DNA'da sitosin ve timin metilasyonunu bozarak uygunsuz protoonkojenlerin aktivasyonuna yol açar, malignan dönüşümü uyarır ve mutant gen oluşumunu önleyemez (101).

Timidilat yapımının sınırlanması da hatalı DNA yapımına yol açarak megaloblast oluşumunu uyarır. Ayrıca folik asit eksiliğinde hücreler bölünme durumunda metafaz ve anafazda ilerleyemez (101, 102, 103). Folik asit eksikliğinde plazma homosistein seviyesi artar. Homosistein de nöral epiteldeki N-metil-D-aspartat reseptörlerini baskılayarak nöral tüpün kapanmasına engel olur (103). Yine hiperhomosistineminin diğer belirti ve bulguları gözlenebilir.

Hüresel folat düzeyinde yetersizlik sonucunda hatalı DNA metilasyonu, nokta mutasyon, kromozom kırıkları, mikronükleus sıklığında artış, hatalı kromozom rekombinasyonu ve anöploidi görülebilmektedir (12, 104). Yine bozulmuş folat metabolizması metabolik enzimleri kodlayan genlerde fonksiyonel polimorfizme yol açar. Bu durumun da çeşitli kanser tipleri (12, 17, 18, 19, 20), kardiyovasküler hastalıklar (12, 21, 22), nörodejeneratif hastalıklar (12, 23, 24) ve nöral tüp defektleri (12, 25, 26) gibi çeşitli hastalıklarla ilişkisi olduğu bildirilmektedir.

2.2.1.3. Gebelikte Folik Asit

Gebelikte demir eksikliği anemisinden sonra en yaygın görülen nutrisyonel anemi tipi megaloblastik anemi olduğu bilinmektedir. Megaloblastik anemi daha çok folik asit eksikliğine, nadiren de B12 vitamini eksikliğine bağlı ortaya çıkar (105). Gebelikte fetusun gelişimiyle, eritrosit yapımının ve ihtiyacının artmasına bağlı olarak, folik asit ihtiyacı 100-150 µg/gün'den, 200-450 µg/gün'e çıkar. Folik asit, aktif transport ile plasentadan fetusa geçer (106).

Folik asitin gebelik öncesi dönemde ve gebeliğin erken dönemlerinde gerekli miktarlarda alınmasının nöral tüp defektleri ve diğer konjenital anomalilerin önlenmesinde etkin rol aldığı gösterilmiştir (107, 108). Folik asit yeni hücre oluşumu ve hücrenin devamlılığında etkindir. Bu durum da özellikle hızlı hücre bölünmesi ve gelişiminin olduğu fetal dokular için oldukça önemlidir. Yapılan birçok çalışmada perikonsepsiyonel periyotta folik asit alımının nöral tüp defekti,

kardiyak, üriner sistem, ekstremiteler anomalileri ve pilorik stenozda azalmaya neden olduğu gösterilmiştir (107).

Folik asit eksikliği ve konjenital anomali açısından bilinen herhangi bir riski olmayan hastaların gebelik planlama durumunda konsepsiyondan iki ya da üç ay önce başlanarak gebelik boyunca ve postpartum 4-6 haftalık dönem boyunca günlük 0,4-1mg folik asit alması önerilmektedir (12,107).

Epilepsi, insülin bağımlı diyabet, obezite (BMI>35), nöral tüp defekti öyküsü olan yüksek riskli hastaların konsepsiyondan en az 3 ay önce başlayarak ve gebeliğin ilk üç ayı boyunca günlük 5 mg folik asit alması önerilmektedir. Gebeliğin üçüncü ayından sonra, gebelik süresince ve postpartum 4-6 hafta 0,4-1mg folik asit takviyesi ile devam edilir (107).

2.2.2. Homosistein

İlk kez Vigneaud tarafından 1932 yılında tanımlanan Homosistein, sülfür içeren ve proteinlerin yapısına katılmayan bir aminoasittir. Normal diyetle alınmaz, ancak metiyonin metabolizması ara ürünü olarak oluşur ve % 70-80'i albumine bağlı olarak plazmada bulunur. Serbest halde bulunan kısım stabil değildir, hemen homosistein ve homosistein disülfite dönüşür. Total homosistein düzeyi, hem bağlı hem de serbest olan kısmı yansıtmaktadır (109).

Homosistein düzeylerinde yükselme, homosistein metabolizmasında rol alan enzim aktivitelerini etkileyen kalıtsal bozukluklardan veya homosistein metabolik yolağında kullanılan kofaktör ve enzim substratlarının yetersiz alımından kaynaklanır. Özellikle folat, kobalamin (B12 vitamini) ve pridoksin (B6 vitamini)'in yetersiz alımı homosistein düzeylerinde yükselme ile ilişkilidir (110, 111).

2.2.2.1. Folat/Homosistein/Methionin Metabolizması

Hücre sel folat, DNA metilasyonu için ya da nükleik asit prekürsörlerinin sentezi için kullanılır. Folatlar oldukça hidrofilik moleküllerdir. Bu yüzden membranlardan geçişleri tek başına difüzyonla gerçekleşmez. Folatlar hücre içine girmek için genetik olarak ayrı ve fonksiyonel olarak farklı transport sistemlerini kullanırlar; reduced folat carrier (rFC1), folate receptörs (FR) ve proton coupled folate transporter (PCFT). Bunlar içinde en yaygın bulunan rFC1 sistemidir (12, 112, 113).

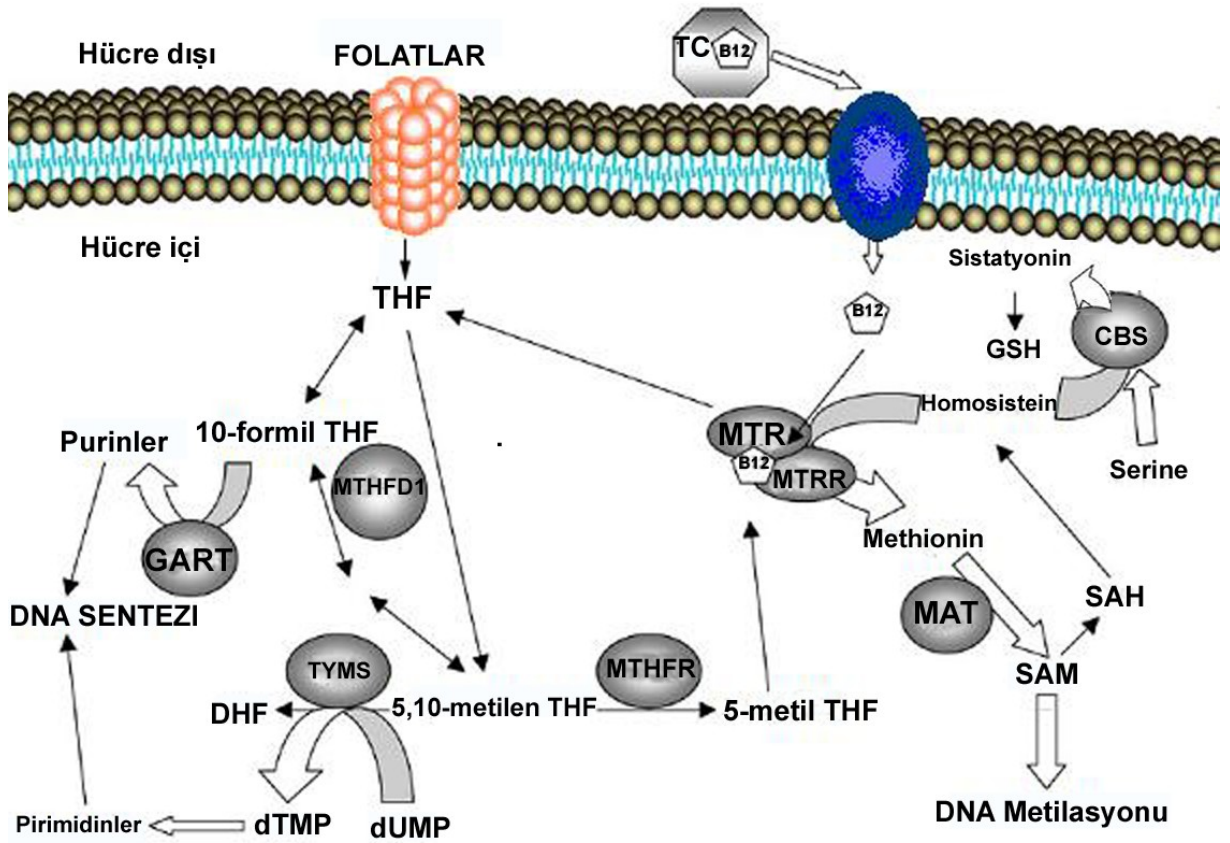
Plazmada folat, primer olarak 5-metil-THF şeklinde bulunur (16). 5-metil-THF DNA metilasyonu için gereken SAM sentezi sırasında homosisteinin metionine dönüşüm basamağında görev alır (16). Hücrel ihtiyaca bağlı olarak 5,10 metilen THF, DNA sentezinde kullanılabilir. Timidilat sentaz (TYMS) enzimi primidinlerin de novo sentezinde dUMP ve 5,10-metilen-THF'ı deoksitimin monofosfat (d-TMP) ve dihidrofolata çevirir. MTHF dehidrojenaz (MTHFD1) enzimi pürin sentezi sırasında işlev gören, üç farklı aktivitesi olan bir enzimdir; 5,10-MTHF dehidrojenaz, 5,10-metilen-THF siklohidrolaz, 10-formil-THF sentetaz. Sonuç olarak folat metabolizması birçok enzim ve kofaktör gerektirir (12).

Metiyonin memeli diyetlerindeki sülfür içeren tek aminoasittir. Diyetle alınan hayvansal kökenli proteinde bulunan metiyonin, Metiyonin Adenozil Transferaz (MAT) enzimi aracılığıyla demetile olarak metil vericisi olan SAM'a, SAM ise yapısında bulunan metil grubunu, glisin gibi metil alıcılarına vererek çoklu transferaz enzimleriyle S-Adenozil Homosisteine (SAH) dönüşmektedir. SAH'ın, hidrolaz enzimi ile katabolize olmasıyla homosistein ve adenozin oluşmaktadır (114).

Homosistein metabolizmasında remetilasyon ve transsülfürasyon olmak üzere başlıca iki yol vardır (110, 115). Transsülfürasyon yolunda, homosistein geri dönüşümsüz reaksiyonla serin aminoasidi ile Sistasyonin β -Sentaz (CBS) enzimi vasıtasıyla birleşerek sistasyonini oluşturur. Bu reaksiyonda kofaktör olarak vitamin B6'nın aktif formu Pridoksal-5-fosfat kullanılır (110). Sistasyonin antioksidan bileşik olan glutatyon (GSH) oluşumunda kullanılabilir (12, 116). Daha sonra sistasyonin, sistasyonaz enzimi tarafından sisteine dönüşmektedir. Sistein de sülfata dönüşerek idrarla atılmaktadır (110). CBS, bu metabolik yolun düzenleyici enzimidir.

Remetilasyon yolunda ise homosistein metiyonine dönüşür. Betain-homosistein metil transferaz (BHMT) enzimi ve Metiyonin Sentaz (MTR) enzimleri, homosisteinden methionin oluşumunu sağlayan enzimlerdir. BHMT, metil grubu vericisi olarak betaini kullanarak homosisteinden methionin ve dimetilglisin oluşumunu sağlar (12, 116). BHMT enzimi böbrekte az miktarda olmak üzere temel olarak karaciğerde bulunur. Yapısında çinko bulunur (117). Betain-homositein reaksiyonu folat ve B12 vitaminlerine bağımlı bir reaksiyon değildir (110).

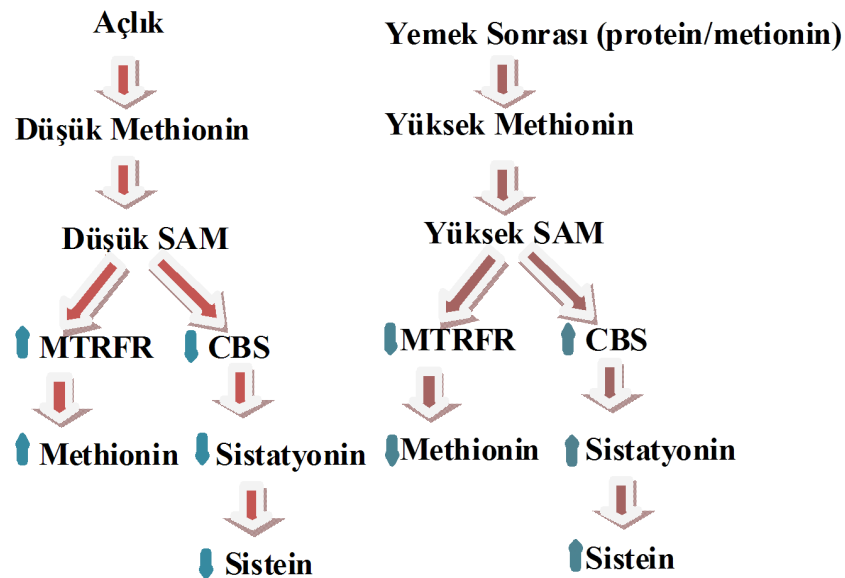
MTHFR enzimi DNA metilasyonunda çok önemli role sahiptir. 5,10-metilen-THF'in, 5-metil-THF'a redüksiyonunu sağlar (12). Bu reaksiyonun kofaktörü riboflavindir (110). 5-metil-THF homosistein metiltransferaz (methionin sentaz) enzimi tarafından katalize edilen homosisteinin methionine remetilasyonunda karbon vericisi olarak görev alır (110). MTR enzimi, 5-metil-THF'tan metil grubunu transfer ederek homosisteinden methionin oluşumunu katalize eder. Bu reaksiyonda kobalamin kofaktör olarak görev alır. Bu reaksiyonda diğer taraftan THF oluşur. THF tekrar 5,10-metil-THF'a dönüşür. Methionin sentaz redüktaz (MTRR) enzimi methionin sentaz enziminin aktif durumunun sürmesi için gereklidir (12). Folat-homosistein-methionin metabolizması şekil 1'de ifade edilmeye çalışılmıştır.



Şekil 1; Folat-homosistein-methionin metabolizması (Kaynak 12'den faydalanılıp modifiye edildi). Kısaltmalar: **CBS**, Sistatyonin Beta Sentaz; **DHF**, Dihidrofolat; **dTMP**, Deoksitimidin Monofosfat; **dUMP**, Deoksiüridin Monofosfat; **FAD**, Flavin Adenin Dinükleotid; **GART**, Phosphoribosylglycineamide Transformylase; **MAT**,

Metiyonin Adenozil Transferaz **MTHFD1**, MTHF Dehidrojenaz; **MTHFR**, Metilen Tetrahidrofolat Redüktaz; **MTR**, Metiyonin Sentaz; **MTRR**, Metiyonin Sentaz Redüktaz; **SAH**, S-Adenozil Homosistein; **SAM**, S-Adenosyl Methionin; **TC**, Trans Kobalamin; **THF**, Tetrahidrofolat.

Selhub ve Miller homosisteinin methionin ya da sistasyonin sentezinde kullanılmasının SAM tarafından düzenlendiğini öne sürmüşlerdir. Diyetel kaynaklarda bulunan ve de metabolik olarak de novo üretilen methionin SAM'a dönüşür. SAM primer olarak Guanidinasetat, nükleik asitler, nörotransmitterler, fosfolipidler ve hormonlar için metil vericisi olarak görev alır (110, 118). SAM'ın büyük bir kısmı kreatinin sentezinde kullanılır. Bu metil transfer reaksiyonları sırasında SAH oluşur. SAH homosisteine hidrolize edilir. Böylece siklus başa dönmüş olur (110, 119). Sıçanlar üzerinde yapılan çalışmalar, SAM'ın MTHFR inhibitörü (110, 120) ve CBS aktivatörü (110, 121) olduğunu göstermiştir. Hücrel SAM seviyeleri düşük olduğunda CBS enzim aktivitesi baskılanır ve homosisteinin metionine remetilasyonu artar. Bunun tam tersine SAM seviyesi yüksek olduğunda ise MTHFR enzim aktivitesi baskılanarak remetilasyon azalırken CBS aktivitesi artarak homosisteinin transsülfürasyonu artar (110) (şekil 2).



Şekil 2. Homosistein metabolizma yolağının açlıkta ve yemek sonrası S-adenozilmethionin (SAM) tarafından düzenlenmesi (110).

2.2.2.2. Hiperhomosistinemi

Hiperhomosistinemi nöral tüp defektleri, arteriyel ve venöz tromboz, kardiyovasküler hastalıklar, şiddetli mental retardasyon, psikiyatrik bozukluklar, nörodejeneratif bozukluklarla ilişkilidir (122).

Çeşitli faktörlerin homosistein düzeyleri üzerine etkili olduğu gösterilmiştir (110, 123, 124). Lussier-Cacan ve ark. yaptıkları çalışmada kadınların erkeklerden % 21 daha düşük homosistein seviyelerine sahip olduklarını göstermişlerdir (110, 124). Aynı zamanda postmenapozal kadınların premenapozal kadınlara göre daha yüksek homosistein seviyelerine sahip oldukları gösterilmiştir. Plazma homosistein düzeyleri yaşla birlikte artış gösterir ve ileri yaş vasküler hastalıklar için bağımsız risk faktörüdür (110, 125). Yapılan çalışmada erkek cinsiyet, ileri yaş, sigara, hipertansiyon, kolesterol yüksekliği ve az egzersiz yapma durumu yüksek plazma homosistein düzeyleri ile ilişkili bulunmuştur (110, 126). Folat, vitamin B12 ve vitamin B6'nın diyetsel yetersizliği hiperhomosistinemi etyolojisinde önemlidir (110). Genetik olarak homosistein metabolizmasındaki enzimlerdeki genetik mutasyonlar da hiperhomosistinemi etyolojisinde oldukça önemlidir. Serum homosistein düzeyi, CBS, MTR ve MTHFR enzim aktiviteleri ile ilişkilidir (110). İlaçlar, hiperhomosisteinemi gelişiminde oldukça önemli role sahiptir. Genel anesteziye kullanılan nitroz oksit çok kuvvetli metiyonin sentaz inhibitörüdür (127). Metotreksat ve kolesterol düşürücü ilaçların (niasin, fibratlar), fenitoin, karbamazepin ve metforminin plazma homosistein düzeyini yükselttiği gösterilmiştir (110).

Yine kronik böbrek yetmezliği, akut lenfoblastik lösemi, malignensiler, hipotiroidi, tip1,2 diyabet ve nefropati durumlarında plazma homosistein seviyeleri yükselir (110).

2.2.2.3. Hiperhomosistinemi Etkileri

Homosisteinin plazma seviyesinin yüksekliği, ateroskleroz ve tromboz gibi vasküler hastalıklar için bağımsız risk faktörü olarak gösterilmiştir ve preeklampsi etyolojisindeki rolü sorgulanmaktadır (128). Homosisteinin direkt olarak kan damarları duvarını ve özellikle de endotel hücrelerini etkileyerek fonksiyonel

değişikliklere neden olduğu bilinmektedir. Bu vasküler değişikliklerin mekanizması tam olarak anlaşılamamıştır. Homosisteinin sülfidril grubunun hipometilasyon ve açılma yoluyla damar endotelinde zararlı etkilere neden olduğu düşünülmektedir (129). SAH'ın, homosisteinle ilişkili hastalıklarda önemli rol oynadığı ileri sürülmektedir. SAH ile homosisteinin, DNA hipometilasyonu ve oksidatif strese bağlı DNA hasarı olmak üzere iki mekanizma ile etkili olduğu gösterilmiştir (130). SAM ve SAH metiyonin siklusunun komponentleridir. Hücrel en önemli metil vericisi olan SAM, metil grubunu hücrel metil alıcılara (DNA, RNA, fosfolipidler, proteinler, histonlar, nörotransmitterler) verdikten sonra SAH'a dönüşmektedir. SAH'dan SAH hidrolaz ile homosistein ve adenzin oluşmaktadır. Homosistein artışı, SAH hidrolaz enzimini inhibe ederek SAH birikimine yol açmaktadır. SAH, SAM bağımlı transmetilasyon reaksiyonlarının potent inhibitörüdür. SAH artışı, birçok hücrel metiltransferaz enzimini inhibe ederek metilasyon potansiyelinin düşmesine ve sonuç olarak DNA hipometilasyonuna neden olmaktadır. DNA hipometilasyonunun homosistein ile ilişkili patolojilerde kritik rol oynadığı varsayılmaktadır (130). Yine homosistein otooksidasyonu sırasında ortaya çıkan serbest radikallere bağlı gelişen oksidatif stresin, DNA hasarına yol açarak hiperhomosisteineminin zararlı etkilerinden sorumlu olduğu gösterilmiştir (110, 131, 132).

Hiperhomosistineminin endotelial kaynaklı nitrik oksit (NO) hızlanmış oksidatif inaktivasyonu gibi mekanizmalarla NO'nin biyoyararlanımını azaltarak, NO aracılı vazodilatasyonda azalmaya yol açtığı gösterilmiştir (133, 134). Hiperhomosistinemi durumunda NO seviyelerinde azalma olur. Buna bağlı olarak endotelial vazodilatasyonda bozulma, glutatyon peroksidaz inhibisyonu, vasküler düz kas hücrelerinde proliferasyon gelişir (110).

Artmış plazma homosistein düzeylerinin, vasküler endotel hücrelerinde MCP-1 (monocyte chemoattractant protein-1) ve IL-8 (interleukin-8) gibi spesifik sitokinlerin ekspresyonunu ve sekresyonunu arttırarak endotelial fonksiyon değişikliğine yol açtığı gösterilmiştir (135).

2.2.3. Metilen tetrahidrofolat Redüktaz (MTHFR) Eksikliği

MTHFR enzimi hücre stoplazmasında bulunan bir enzimdir. Folat metabolizması sırasında 5,10-metilen-THF'in, 5-metil-THF'a geri dönüşümsüz reaksiyonla dönüşümünü sağlar (122). 5-metil-THF; DNA metilasyonu ve metiyonin sentezi için metil grubu sağlar. 5-metil-THF, homosisteinden methionin sentezinde metil grubu vericisi olarak kullanılır (122).

5,10-metilen-THF ise deoksiüridilatın timidilata dönüşümünde kullanılırken bir taraftan da pürin sentezi için 10-formil-THF'a okside olmaktadır (136).

MTHFR enzim geni 1. kromozom üzerinde lokalizedir (1p36.3). Gen üzerinde en sık C677T ve A1298c olmak üzere iki polimorfizm tanımlanmıştır. Bu polimorfizimler MTHFR enzim aktivitesinde azalmaya yol açan termolabil formunun sentezine sebep olurlar.

MTHFR C677T mutasyonunda, alanin aminoasidi valin aminoasidi ile yer değiştirir. Sonuç olarak MTHFR enzim aktivitesi azalmakta, bu da 5-metil-THF seviyesinde azalmaya ve bunun sonucu olarak da homosisteinin metiyonine dönüşmemesi nedeniyle plazma homosistein seviyesinde artışa neden olmaktadır (122). MTHFR-C677T polimorfizminde, CC (Alanin/Alanin) homozigot normal, CT (Alanin/Valin) heterozigot ve TT (Valin/Valin) homozigot mutant genotipler görülmektedir (137).

Bu mutasyon otozomal resesif geçiş gösterir. Görülme sıklığı ırk ve etnik gruplara göre değişiklik gösterir. Genel populasyonun % 15-20 kadarı MTHFR varyantlarının biri açısından heterozigottur (138, 139). Ancak Caucasian ve Asyalılarda homozigot mutasyon görülme oranı % 12 iken heterozigot mutasyon görülme oranı % 50 civarındadır. Afrika ve Amerikalılarda homozigot mutasyon görülme oranı oldukça düşüktür (16). Türk populasyonunda heterozigot ve homozigot sıklığı yaklaşık % 47,4 ve % 9,6'dır (138,140).

Homozigot mutasyon (T/T) artmış homosistein ve düşük folat seviyesi ile ilişkilidir. Yapılan birçok çalışmada T/T homozigot kişilerde plazma folat konsantrasyonu belirgin olarak düşük bulunmuştur. MTHFR enzim eksikliğinde, homosisteinden metiyonin oluşumundaki bozukluk, organizmada hem metiyonin ve SAM azalmasına, hem de homosistein birikiminden kaynaklanan toksik etkilerin ortaya çıkmasına zemin hazırlar (137). T/T C677T MTHFR genotipi, C/T ve C/C genotipleri ile karşılaştırıldığında hafif yükselmiş plazma homosistein düzeylerine

sahiptirler. Özellikle bu yükselme plazma folat seviyesi düşük olan kişilerde daha belirgindir (16). Yine T/T homozigot kişilerde, 5-metil-THF'in üretimindeki bozukluk tek karbonlu folat derivelerinin hücrel oluşumunda değişikliğe neden olur. Bagley ve Selhub (141) T/T ve C/C kişilerde eritrosit folat düzeylerine bakmışlardır. C/C kişilerde eritrositledeki folatın tamamen 5-metil-THF olmasına karşın, T/T homozigot C677T kişilerde folatın yaklaşık % 22'si formil-THF şeklindedir (16) Yapılan birçok çalışmada T/T homozigot kişilerin plazma folat konsantrasyonunun belirgin olarak düşük olduğu gösterilmiştir (16).

Yapılan bir çalışmada, 3 hafta süre ile 1 veya 2 mg folik asit kullanımının T/T homozigot kişilerde homosistein düzeylerinde düşmeye neden olduğu tespit edilmiştir (142).

Nelen ve ark. yaptıkları çalışmada folik asit desteğinden önce T/T homozigot kişilerin T/C ve C/C genotipler ile karşılaştırıldığında daha düşük plazma folat konsantrasyonu ve yüksek homosistein düzeylerine sahip olduklarını göstermişlerdir. Yine bu çalışmada 2 ay süre ile günlük 0.5 mg düşük doz folik asit kullanımının T/T homozigot kişilerde homosistein seviyelerinde düşmeye neden olduğu gözlenmiştir. Ancak diğer genotipler ile karşılaştırıldığında T/T homozigot kişilerin plazma folat konsantrasyonunda daha az artış izlenmiştir. Bu durumun sebebi, T/T homozigot kişilerdeki plazmada primer olarak bulunan 5-metil-THF'in üretiminde enzim defektine bağlı olarak bozulmadır (142).

MTHFR geninde ikinci sıklıkla görülen A1298C mutasyonunda MTHFR'nin regülatör bölgesinde yer alan Glutamat'ın Alanin'e dönüşümü izlenir. Bu başkalaşım enzim aktivitesini azaltır ama C677T allel değişimi kadar belirgin değildir. In vitro koşullarda A1298C alleli homozigot olan bireylerde enzim aktivitesi % 40 kadar azalmıştır ancak plazma homosistein düzeyleri kontrollere göre yüksek değildir. Bununla beraber, MTHFR-C677T ve MTHFR-A1298C mutasyonlarının birlikte bulunmasının MTHFR aktivitesinin % 40-50 oranında azalmasına buna bağlı olarak da hiperhomosisteinemi gelişimine ve plazma folat düzeylerinin azalmasına neden olduğu rapor edilmiştir (138, 145, 146).

2.2.4. MTHFR Gen Mutasyonunun ve Hiperhomosistineminin Hastalıklarla İlişkisi

Hiperhomosistinemi ve MTHFR-C677T homozigot genotipin belirgin olarak depresyon ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. T/T homozigot kişiler C/C genotipteki kişiler ile karşılaştırıldığında % 70 daha yüksek depresyon riski taşırlar. MTHFR geni şizofreni gelişimi için bir risk faktörü olabilir (122). Yine yapılan son çalışmalarda yüksek homosistein düzeylerinin nörodejeneratif hastalıklarla özellikle de Alzheimer hastalığı ile ilişkili olabileceği gösterilmiştir (122). Bazı Multipıl Sklerozlu hastalarda da yüksek homosistein düzeyleri gösterilmiştir (122).

Plazma homosistein düzeylerinde minimal bir yükselme (yaklaşık>15µ mol/L) myokardial infarktüs, inme, periferik arteriyel hastalık ve venöz trombus için bağımsız risk faktörü olarak düşünülür. MTHFR mutasyonunun kardiyovasküler hastalıklar için bir risk faktörü olduğu belirtilmektedir. Bununla birlikte son yıllarda yapılan bazı çalışmalar T/T C677T MTHFR genotipin vasküler hastalık oranlarını artırdığına dair çok az ya da hiç delil olmadığını gösteriyor. Yine de birçok çalışmada seçilmiş populasyonlarda T/T genotipin vasküler hastalıklar için göz ardı edilemeyeceği bildiriliyor (16).

Yapılan birçok çalışma böbrek yetmezliği olan hastalarda plazma homosistein düzeylerinin yüksek olduğunu göstermiştir. Bu hastalar özellikle iskemik kalp hastalığı ve stroke için artmış risk taşırlar. MTHFR C677T homozigot kişiler iskemik kalp hastalığı için %16 oranında artmış risk taşırlar (122). Aynı zamanda C677T polimorfizmi Tip2 diyabet hastalarında diyabetik nefropati gelişimi için risk faktörüdür (122).

MTHFR-C677T polimorfizminin kolorektal kanser, hepatoselüler karsinom, erişkinlerde akut lenfositik lösemi ve çocuklardaki lösemi ve lenfoma riskinde azalma, meme, endometrium, serviks, özefagus, mide ve mesane kanseri riskinde artış ile birlikteliği bildirilmektedir (122).

MTHFR homozigot kişilerin preeklampsi gelişimi, plasental patoloji, tekrarlayan gebelik kayıpları için artmış risk taşıdıkları yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (142). İdiyopatik gebelik kayıplarının patogeneğinde MTHFR mutasyonları risk faktörlerinden biri olarak ifade edilmektedir. Bazı çalışmalarda üç ve daha fazla tekrarlayan gebelik kaybı olan kadınlar arasında homozigot varyantların frekansının yüksek olduğu ifade edilirken (143, 144, 145), diğerlerinde MTHFR mutasyonları ile gebelik kayıpları arasında herhangi bir ilişki

saptanamamış (146, 147), idiyopatik gebelik kayıpları olan olgularda kontrollere benzer (148) ya da daha düşük (147) MTHFR mutasyon prevalansları saptanmıştır. Hiperhomosisteinemi olan kadınlarda % 26 ablasyo plasenta, % 11 16. haftadan sonra intrauterin ölüm (İÜÖ), % 38 intrauterin gelişme geriliği (İUGG) ve % 18 vakada preeklampsi tespit edilmiştir. Genel populasyonda ise % 2-3 oranında hiperhomosisteinemi bulunmuştur (149). Düşük plazma folat konsantrasyonu nöral tüp defekti gelişimi için belirgin risk faktörüdür. Yükselmiş plazma homosistein seviyelerinin bu duruma neden olduğu düşünülür. Yapılan birçok çalışma T/T C677T genotipin nöral tüp defekti için belirgin risk faktörü olduğunu göstermiştir. NTD'den etkilenmiş vakaların kontrol grupları ile karşılaştırıldığında T/T C677T genotipteki kişilerin C/C ve C/T genotipteki kişilere göre belirgin olarak düşük plazma folat konsantrasyonuna ve yüksek homosistein seviyelerine sahip olduğu gösterilmiştir (16).

Brezilya'da yapılan bir çalışmada Down Sendromlu bebek taşıyan kadınların homosistein düzeylerinin çeşitli enzim mutasyonlarına bağlı olarak (MTHFR 677C>T, MTHFR1298A>C, MTRR 66A>G, MTR 2756>G ve CBS 844ins68) kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Bu polimorfizmler içerisinde 677C>T aleli yüksek homosistein seviyeleri ile ilişkili bulunmuştur (150).

3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

Çalışmamıza, 10 Ekim 2005 ile 26 Nisan 2010 tarihleri arasında Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Polikliniğine başvuran 11-21. gebelik haftalarında, obstetrik anamnezinde iki veya daha fazla abortus öyküsü olan, bir abortusu olan ancak 30 yaşın üstündeki riskli gebeler, daha önceki gebeliklerinde IUGR, preeklampsi, preterm doğum öyküsü olan yüksek riskli gebeliği olan ve MTHFR-C677T gen mutasyon tetkiki istenen 114 hasta dahil edildi.

Bütün olguların yaş, kilo, gebelik haftası, abortus, gravida (gebelik sayısı), parite (doğum sayısı), son adet tarihi, önceki doğum şekilleri, sigara içimi, diabet, yardımcı üreme tekniklerinin kullanılması, gebelik sırasında kullandığı ilaçlar sorgulanarak kaydedildi.

Çoğul gebelikler çalışmadan çıkarıldı. Rutin antenatal izlem için polikliniğimize başvuran gebelerden MTHFR-C677T mutasyonu negatif çıkanlardan kontrol grubu oluşturuldu.

Biyokimyasal parametreler hastanemiz Biyokimya Anabilim Dalı Laboratuvarlarında gerçekleştirildi. Santrifüj işlemi 3000 rpm'de gerçekleştirilip plazmalarına ayrılan kanlar, en kısa sürede çalışılmak üzere, (+2) - (+8)⁰C arasında tetkiklerin yapılacağı zamana kadar bekletildi.

3.1. İkili Test

İkili tarama testleri [**Serbest β -hCG** (Serbest β -human chorionic gonadotropin), **PAPP-A** (Pregnancy Associated Plasma Protein-A)] immun assay yöntemle tayin edildi. PRİSCA 4 ve SSD lab 5 ikili tarama paket programları kullanılarak sonuç elde edildi.

3.2. Üçlü Test

Üçlü tarama testleri [**uE3** (unkonjuge östriol), **total β -hCG** (total β -human koryonik gonadotropin), **AFP** (α -fetoprotein)] immun assay yöntemle tayin edildi. PRİSCA 4 ve Benetech PRA üçlü tarama paket programları kullanılarak sonuç elde edildi.

3.3. MTHFR Gen Mutasyonu Analizi

MTHFR mutasyon analizi için, DNA izolasyonu tam kanda Roche High Pure PCR Template Preparation Kit'i kullanılarak yapıldı.

İzole edilen DNA'lar, RT-PCR yöntemine göre Roche LightCycler 480 cihazında LightMix® Kit MTHFR C677T mutasyon belirleme kiti kullanılarak çalışıldı.

3.4. İstatiksel Analiz

İstatistiksel analizler “**IBM SPSS Statistics 18 (from SPSS Inc. Chicago, Illinois, 2010)**” bilgisayar programıyla yapıldı. İstatistiksel anlamlılık için $p < 0.05$ olan değerler anlamlı olarak kabul edildi.

Demografik veriler, en düşük ve en yüksek değer aralığı ve “Ortalama (Mean) \pm Standart Sapma” ile ifade edilerek değerlendirildi. İkili ve üçlü test parametreleri “Ortalama \pm Ortalamanın Standart Hatası” şeklinde ifade edildi.

Veri dağılımı uygunluğu non-parametrik testlerden “one-sample Kolmogorov-Smirnov Testi” ile değerlendirildi. Grupların normal dağılım göstermesinden dolayı parametrik testler uygulandı.

MTHFR enzim mutasyonu negatif, hetrozigot ve homozigot şeklinde üçlü gruplandırılan gebelerin karşılaştırılmasında, parametrik testlerden “One-way ANOVA Testi” ve “Post Hoc” testlerden “LSD” kullanıldı.

MTHFR enzim mutasyonu negatif ve pozitif şeklinde ikili gruplandırılan gebelerin karşılaştırılmasında ise, parametrik testlerden Student-T Testi uygulandı.

4. BULGULAR

Çalışmada, 10 Ekim 2005 ile 26 Nisan 2010 tarihleri arasında Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Polikliniğine başvuran 11-21. gebelik haftalarında ikili ve üçlü testleri değerlendirilmiş 114 hasta çalışmaya dahil edildi. Bu 114 hastanın 88'ine ikili test, 94'üne ise üçlü test yapılmıştı.

Bu hastaların demografik verileri Tablo 5'de özetlenmiştir. Sonuçların Ortalama (Mean) \pm Standart Sapma ($O \pm S.S.$) olarak ifadelendirilmesi uygun görüldü. En düşük anne yaşı 19.2, en yüksek anne yaşı 40.8 olduğu saptandı ($O \pm S.S.= 29.4 \pm 4.83$). En düşük anne ağırlığı 48, en yüksek anne ağırlığı 122 idi ($O \pm S.S.= 65.0 \pm 11.85$). Gebelik sayısı (gravida) en düşük 1, en fazla 10 idi ($O \pm S.S.= 3 \pm 1.82$). Doğum sayısı (parite) en düşük 0, en yüksek 5 idi ($O \pm S.S.= 1 \pm 0.97$). Düşük doğum (abortus) en düşük 0, en yüksek 7 idi ($O \pm S.S.= 1 \pm 1.48$). Yaşayan çocuk 0 ile 3 aralığında idi ($O \pm S.S.= 1 \pm 0.73$). İkili test uygulanmış olan gebelerin gebelik haftası en düşük 11, en yüksek 14 olduğu ($O \pm S.S.= 12.3 \pm 0.66$) ve üçlü test uygulanmış olan gebelerin gebelik haftası en düşük 15.3, en yüksek 20.5 olduğu ($O \pm S.S.= 17.4 \pm 0.95$) saptandı.

Tablo 5: Hastaların demografik verileri. Sonuçlar en alt ve en üst değerlerini içeren aralık ile ortalama (mean) \pm standart sapma şeklinde ifade edilmiştir.

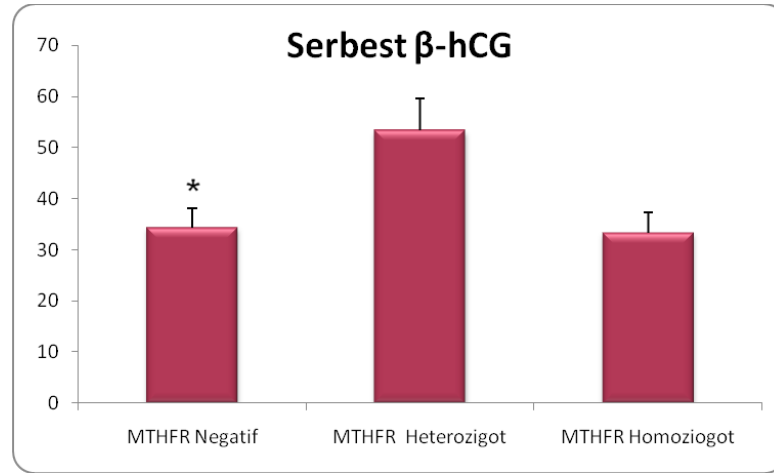
Demografik Özellik	Aralık	Ortalama \pm Standart Sapma
Maternal Yaş (n=114)	19.2 - 40.8	29.3 \pm 4.83
Maternal Ağırlık (n=114)	48 - 122	66.6 \pm 11.85
Gravida (n=114)	1 - 10	3.4 \pm 1.82
Parite (n=114)	0 - 5	0.9 \pm 0.97
Abortus (n=114)	0 - 7	1.6 \pm 1.48
Yaşayan Çocuk (n=114)	0 - 3	0.6 \pm 0.73
Gebelik Haftası		
(İkili Test) (n=88)	11 - 14.0	12.3 \pm 0.66
Gebelik Haftası		
(Üçlü Test) (n=94)	15.3 - 20.5	17.6 \pm 0.95

İkili testler ile değerlendirilen Serbest β -hCG ve PAP-A değerlerinin, MTHFR enzim mutasyonu Negatif (n=34), MTHFR enzim mutasyonu Heterozigot

(n=42) ve MTHFR enzim mutasyonu Homozigot (n=12) olan gebelerdeki değerleri “Ortalama \pm Ortalamanın Standart Hatası” olarak Tablo 6’da verilmiştir.

Tablo 6: Metilentetrahidrofolat Redüktaz (MTHFR) enzim mutasyonu ile ikili testler (Serbest β -hCG, PAPP-A) arasındaki ilişki. Sonuçlar, “Ortalama \pm Ortalamanın Standart Hatası” olarak ifade edildi (*:MTHFR Negatif grubu, MTHFR Heterozigot grubuna göre anlamlı düşük, $p<0.012$).

	Serbest β -hCG (ng/ml)	PAPP-A (mIU/ml)
MTHFR Negatif (n=34)	34.3559 \pm 3.7612*	2.5688 \pm 0.3863
MTHFR Heterozigot (n=42)	53.2888 \pm 6.3606	3.03786 \pm 0.3735
MTHFR Homozigot (n=12)	33.3167 \pm 3.9553	1.9635 \pm 0.5239



Grafik 1: MTHFR enzim mutasyonu ile serbest β -hCG arasındaki ilişkinin grafik olarak sunumu (*:MTHFR Negatif grubu, MTHFR Heterozigot grubuna göre anlamlı düşük, $p<0.012$).

Gebelerde Serbest β -hCG değerleri, MTHFR enzim mutasyonu Negatif (n=34) olanlarda 34.3559 \pm 3.7612, MTHFR enzim mutasyonu Heterozigot (n=42) olanlarda 53.2888 \pm 6.3606, MTHFR enzim mutasyonu Homozigot (n=12) olanlarda 33.3167 \pm 3.9553 ng/ml olarak bulundu.

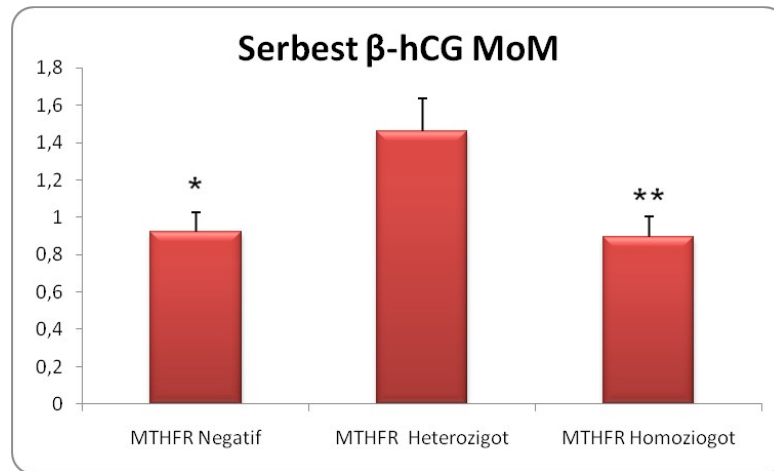
Gebelerde PAPP-A değerleri, MTHFR enzim mutasyonu Negatif (n=34) olanlarda 2.5688 \pm 0.3863, MTHFR enzim mutasyonu Heterozigot (n=42) olanlarda 3.03786 \pm 0.3735, MTHFR enzim mutasyonu Homozigot (n=12) olanlarda 1.9635 \pm 0.5239 mIU/ml olarak bulundu.

Gebelerde Serbest β -hCG değerleri, MTHFR enzim mutasyonu Negatif grupta, MTHFR enzim mutasyonu Heterozigot gruba göre istatiksels olarak anlamlı ($p<0.012$) düşük bulundu (Grafik 1). Serbest β -hCG değerleri, MTHFR enzim mutasyonu Homozigot grupta, MTHFR enzim mutasyonu Heterozigot gruba göre istatiksels olarak anlamlı olmayan şekilde ($p<0.061$) düşük olduğu saptandı. PAPP-A değerlerinde istatiksels anlamlılık tespit edilmedi.

İkili testler ile değerlendirilen Serbest β -hCG MoM ve PAPP-A MoM değerlerinin, MTHFR enzim mutasyonu Negatif (n=34), MTHFR enzim mutasyonu Heterozigot (n=43) ve MTHFR enzim mutasyonu Homozigot (n=12) olan gebelerdeki değerleri ‘‘Ortalama \pm Ortalamanın Standart Hatası’’ olarak Tablo 7’de verilmiştir.

Tablo 7: Metilentetrahidrofolat Redüktaz (MTHFR) enzim mutasyonu ile ikili testler MoM değerleri (Serbest β -hCG MoM, PAPP-A MoM) arasındaki ilişki. Sonuçlar, ‘‘Ortalama \pm Ortalamanın Standart Hatası’’ olarak ifade edildi (*: MTHFR Negatif grubu, MTHFR Heterozigot grubuna göre anlamlı düşük, $p<0.009$. **: MTHFR Homozigot grubu, MTHFR Heterozigot grubuna göre anlamlı düşük, $p<0.048$).

	Serbest β -hCG MoM	PAPP-A MoM
MTHFR Negatif (n=34)	0.9250 \pm 0.0998*	1.1882 \pm 0.1529
MTHFR Heterozigot (n=42)	1.4629 \pm 0.1719	1.1152 \pm 0.0888
MTHFR Homozigot (n=12)	0.8933 \pm 0.1136**	0.9633 \pm 0.2142



Grafik 2: MTHFR enzim mutasyonu ile Serbest β -hCG MoM değerleri arasındaki ilişkinin grafik olarak sunumu (*: MTHFR Negatif grubu, MTHFR Heterozigot

grubuna göre anlamlı $p<0.009$. **: MTHFR Homozigot grubu, MTHFR Heterozigot grubuna göre anlamlı $p<0.048$).

Gebelerde Serbest β -hCG MoM değerleri, MTHFR enzim mutasyonu Negatif (n=34) olanlarda 0.9250 ± 0.0998 , MTHFR enzim mutasyonu Heterozigot (n=42) olanlarda 1.4629 ± 0.1719 , MTHFR enzim mutasyonu Homozigot (n=12) olanlarda 0.8933 ± 0.1136 olarak bulundu.

Gebelerde PAPP-A MoM değerleri, MTHFR enzim mutasyonu Negatif (n=34) olanlarda 1.1882 ± 0.1529 , MTHFR enzim mutasyonu Heterozigot (n=42) olanlarda 1.1152 ± 0.0888 , MTHFR enzim mutasyonu Homozigot (n=12) olanlarda 0.9633 ± 0.2142 olarak bulundu.

Gebelerde Serbest β -hCG MoM değerleri, MTHFR enzim mutasyonu Negatif grupta, MTHFR enzim mutasyonu Heterozigot gruba göre istatistiksel olarak anlamlı ($p<0.009$) düşük bulundu (Grafik 2). Ayrıca, Serbest β -hCG değerleri, MTHFR enzim mutasyonu Homozigot grupta, MTHFR enzim mutasyonu Heterozigot gruba göre istatistiksel olarak anlamlı ($p<0.048$) düşük olduğu saptandı. PAPP-A MoM değerlerinde istatistiksel anlamlılık tespit edilmedi.

Üçlü testler ile değerlendirilen E3, β -hCG ve AFP değerlerinin, MTHFR enzim mutasyonu Negatif (n=46), MTHFR enzim mutasyonu Heterozigot (n=36) ve MTHFR enzim mutasyonu Homozigot (n=13) olan gebelerdeki değerleri “Ortalama \pm Ortalamanın Standart Hatası” olarak Tablo 8’da verilmiştir.

Tablo 8: Metilentetrahidrofolat Redüktaz (MTHFR) enzim mutasyonu ile üçlü testler (E3, β -hCG, AFP) arasındaki ilişki. Sonuçlar, “Ortalama \pm Ortalamanın Standart Hatası” olarak ifade edildi.

	Östriol (E3)	β -hCG	AFP
MTHFR Negatif (n=46)	3.1261 ± 0.2366	27652.2 ± 2753.2	49.0524 ± 7.4910
MTHFR Heterozigot (n=36)	3.5153 ± 0.3053	26775.5 ± 2244.5	40.2092 ± 1.94703
MTHFR Homozigot (n=13)	3.2992 ± 0.5469	33524.0 ± 10995.5	53.5808 ± 8.2530

Gebelerde E3 değerleri, MTHFR enzim mutasyonu Negatif (n=46) olanlarda 3.1261 ± 0.2366 , MTHFR enzim mutasyonu Heterozigot (n=36) olanlarda 3.5153 ± 0.3053 , MTHFR enzim mutasyonu Homozigot (n=13) olanlarda 3.2992 ± 0.5469 ng/ml olarak bulundu.

Gebelerde β -hCG değerleri, MTHFR enzim mutasyonu Negatif (n=46) olanlarda 27652.2 ± 2753.2 , MTHFR enzim mutasyonu Heterozigot (n=36) olanlarda 26775.5 ± 2244.5 , MTHFR enzim mutasyonu Homozigot (n=13) olanlarda 33524.0 ± 10995.5 mIU/ml olarak bulundu.

Gebelerde AFP değerleri, MTHFR enzim mutasyonu Negatif (n=46) olanlarda 49.0524 ± 7.4910 , MTHFR enzim mutasyonu Heterozigot (n=36) olanlarda 40.2092 ± 1.94703 , MTHFR enzim mutasyonu Homozigot (n=13) olanlarda 53.5808 ± 8.2530 ng/ml olarak bulundu.

Gebelerde üçlü testler ile değerlendirilen E3, β -hCG ve AFP değerlerinin MTHFR Negatif, MTHFR Heterozigot, MTHFR Homozigot grupları arasındaki karşılaştırılmasında istatistiksel anlamlı bir fark tespit edilmedi.

Üçlü testler ile değerlendirilen E3 MoM, β -hCG MoM ve AFP MoM değerlerinin, MTHFR enzim mutasyonu Negatif (n=46), MTHFR enzim mutasyonu Heterozigot (n=36) ve MTHFR enzim mutasyonu Homozigot (n=13) olan gebelerdeki değerleri “Ortalama \pm Ortalamanın Standart Hatası” olarak Tablo 9’da verilmiştir.

Tablo 9: Metilentetrahidrofolat Redüktaz (MTHFR) enzim mutasyonu ile üçlü testler MoM değerleri (E3 MoM, β -hCG MoM, AFP MoM) arasındaki ilişki. Sonuçlar, “Ortalama \pm Ortalamanın Standart Hatası” olarak ifade edildi.

	Östriol (E3) MoM	β -hCG MoM	AFP MoM
MTHFR Negatif (n=46)	1.3596 ± 0.0941	1.2150 ± 0.1241	1.3043 ± 0.2296
MTHFR Heterozigot (n=36)	1.4731 ± 0.0936	1.2100 ± 0.1000	1.0267 ± 0.0528
MTHFR Homozigot (n=13)	1.6262 ± 0.2077	1.2992 ± 0.3217	1.5638 ± 0.2369

Gebelerde E3 MoM değerleri, MTHFR enzim mutasyonu Negatif (n=46) olanlarda 1.3596 ± 0.0941 , MTHFR enzim mutasyonu Heterozigot (n=36) olanlarda 1.4731 ± 0.0936 , MTHFR enzim mutasyonu Homozigot (n=13) olanlarda 1.6262 ± 0.2077 olarak bulundu.

Gebelerde β -hCG MoM değerleri, MTHFR enzim mutasyonu Negatif (n=46) olanlarda 1.2150 ± 0.1241 , MTHFR enzim mutasyonu Heterozigot (n=36) olanlarda 1.2100 ± 0.1000 , MTHFR enzim mutasyonu Homozigot (n=13) olanlarda 1.2992 ± 0.3217 olarak bulundu.

Gebelerde AFP MoM değerleri, MTHFR enzim mutasyonu Negatif (n=46) olanlarda 1.3043 ± 0.2296 , MTHFR enzim mutasyonu Heterozigot (n=36) olanlarda 1.0267 ± 0.0528 , MTHFR enzim mutasyonu Homozigot (n=13) olanlarda 1.5638 ± 0.2369 olarak bulundu.

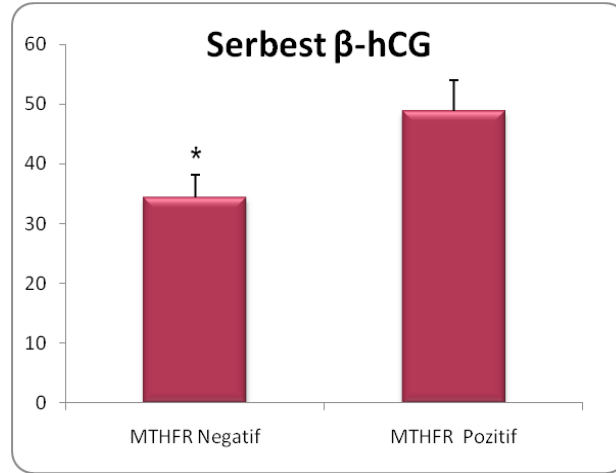
Gebelerde üçlü testler ile değerlendirilen E3 MoM, β -hCG MoM ve AFP MoM değerlerinin MTHFR Negatif, MTHFR Heterozigot, MTHFR Homozigot grupları arasındaki karşılaştırılmasında istatistiksel anlamlı bir fark tespit edilmedi.

İkili testler ile değerlendirilen Serbest β -hCG, Serbest β -hCG MoM, PAPP-A ve PAPP-A MoM değerlerinin, MTHFR enzim mutasyonu Negatif (n=34), MTHFR enzim mutasyonu Pozitif (n=55) olan gebelerdeki değerleri “Ortalama \pm Ortalamannın Standart Hatası” olarak Tablo 10’da verilmiştir.

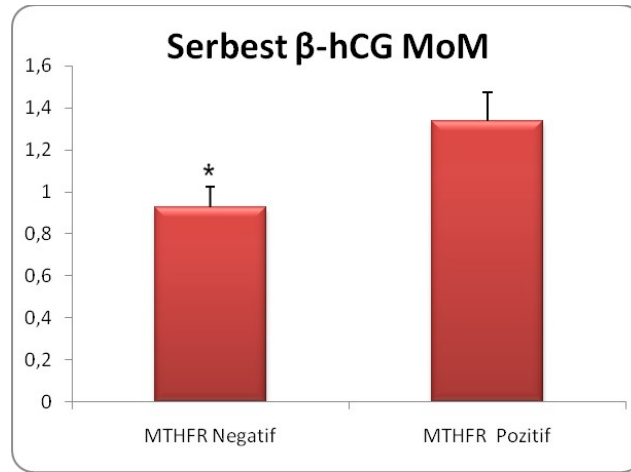
Tablo 10: İkili test (Serbest β -hCG, Serbest β -hCG MoM, PAPP-A ve PAPP-A MoM) düzeylerinin, MTHFR enzim mutasyonunun olup olmasına bağlı karşılaştırmaları. Sonuçlar, “Ortalama \pm Ortalamannın Standart Hatası” olarak ifade edildi. Serbest β -hCG değerleri, MTHFR Negatif grubunda, MTHFR Pozitif grubuna göre anlamlı düşük ($p<0.045$). Serbest β -hCG MoM değerleri, MTHFR Negatif grubunda, MTHFR Pozitif grubuna göre anlamlı düşük ($p<0.036$) (A.D: Anlamlı Değil).

	MTHFR Negatif (n=34)	MTHFR Pozitif (n=54)	<i>p</i>
Serbest β -hCG	34.3559 ± 3.7612	48.8506 ± 5.1347	0.045
Serbest β -hCG MoM	0.9250 ± 0.0998	1.3363 ± 0.1394	0.036

PAPP-A	2.5688 ± 0.3863	2.8308 ± 0.3172	A.D.
PAPP-A MoM	1.1882 ± 0.1529	1.0815 ± 0.0833	A.D.



Grafik 3: Mutasyon olup olmasına bağlı gruplandırılmayla, MTHFR enzim mutasyonu ile Serbest β-hCG MoM değerleri arasındaki ilişkinin grafik olarak sunumu (*: MTHFR Negatif grubu, MTHFR Pozitif grubuna göre anlamlı düşük, $p<0.045$).



Grafik 4: Mutasyon olup olmasına bağlı gruplandırılmayla, MTHFR enzim mutasyonu ile Serbest β-hCG MoM değerleri arasındaki ilişkinin grafik olarak sunumu (*: MTHFR Negatif grubu, MTHFR Pozitif grubuna göre anlamlı düşük, $p<0.036$).

Serbest β-hCG değerleri, MTHFR Negatif grubunda 34.3559 ± 3.7612 , MTHFR Pozitif grubunda 48.8506 ± 5.1347 olarak bulundu.

Serbest β-hCG MoM değerleri, MTHFR Negatif grubunda 0.9250 ± 0.0998 , MTHFR Pozitif grubunda 1.3363 ± 0.1394 olarak bulundu.

PAPP-A değerleri, MTHFR Negatif grubunda 2.5688 ± 0.3863 , MTHFR Pozitif grubunda 2.8308 ± 0.3172 olarak bulundu.

PAPP-A MoM değerleri, MTHFR Negatif grubunda 1.1882 ± 0.1529 , MTHFR Pozitif grubunda 1.0815 ± 0.0833 olarak bulundu.

Serbest β -hCG değerlerinin, MTHFR Negatif grubunda, MTHFR Pozitif grubuna göre anlamlı düşük ($p < 0.045$) olduğu tespit edildi. Serbest β -hCG MoM değerlerinin, MTHFR Negatif grubunda, MTHFR Pozitif grubuna göre anlamlı düşük ($p < 0.036$) olduğu tespit edildi. PAPP-A ve PAPP-A MoM değerlerinde MTHFR Negatif ve MTHFR pozitif grupları arasında anlamlı bir fark saptanmadı.

Üçlü testler ile değerlendirilen E3, E3 MoM, β -hCG, β -hCG MoM, AFP ve AFP MoM değerlerinin, MTHFR enzim mutasyonu Negatif (n=46), MTHFR enzim mutasyonu Pozitif (n=49) olan gebelerdeki değerleri “Ortalama \pm Ortalamanın Standart Hatası” olarak Tablo 11’de verilmiştir.

Tablo 11: Üçlü test (uE3, uE3 MoM, β -hCG, β -hCG MoM, AFP ve AFP MoM) düzeylerinin, Metilentetrahidrofolat Redüktaz (MTHFR) enzim mutasyonunun olup olmamasına bağlı karşılaştırmaları. Sonuçlar, “Ortalama \pm Ortalamanın Standart Hatası” olarak ifade edildi (A.D: Anlamlı Değil).

	MTHFR Negatif (n=46)	MTHFR Pozitif (n=49)	p
Östriol (uE3)	3.1261 ± 0.2366	3.4580 ± 0.2645	A.D.
Östriol (uE3) MoM	1.3596 ± 0.0941	1.5137 ± 0.0875	A.D.
β -hCG	27652.1739 ± 2753.1817	28565.9388 ± 3301.9231	A.D.
β -hCG MoM	1.2150 ± 0.1241	1.2337 ± 0.1107	A.D.
AFP	49.0524 ± 7.4910	43.7567 ± 2.6971	A.D.
AFP MoM	1.3043 ± 0.2296	1.1692 ± 0.0799	A.D.

uE3 değerleri, MTHFR Negatif grubunda 3.1261 ± 0.2366 , MTHFR Pozitif grubunda 3.4580 ± 0.2645 olarak bulundu.

uE3 MoM değerleri, MTHFR Negatif grubunda 1.3596 ± 0.0941 , MTHFR Pozitif grubunda 1.5137 ± 0.0875 olarak bulundu.

β -hCG değerleri, MTHFR Negatif grubunda 27652.1739 ± 2753.1817 , MTHFR Pozitif grubunda 28565.9388 ± 3301.9231 olarak bulundu.

β -hCG MoM değerleri, MTHFR Negatif grubunda 1.2150 ± 0.1241 , MTHFR Pozitif grubunda 1.2337 ± 0.1107 olarak bulundu.

AFP değerleri, MTHFR Negatif grubunda 49.0524 ± 7.4910 , MTHFR Pozitif grubunda 43.7567 ± 2.6971 olarak bulundu.

AFP MoM değerleri, MTHFR Negatif grubunda 1.3043 ± 0.2296 , MTHFR Pozitif grubunda 1.1692 ± 0.0799 olarak bulundu.

E3, E3 MoM, β -hCG, β -hCG MoM, AFP ve AFP MoM değerlerinde MTHFR Negatif ve MTHFR pozitif grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı.

5. TARTIŞMA

Yirmiyıl önce Down Sendromu için bilinen tek tarama metodu anne yaşının kullanılması ve ileri yaştaki hastalara amniosentez işlemi uygulanması iken, sonraları çeşitli serum belirteçlerinin Down Sendromu ile ilişkili olduğunun bulunması üzerine çeşitli tarama testleri geliştirilmiştir.

Herhangi bir tarama testi yapılırken yapılan testin iyi tanımlanmış olması, taranan durumun toplumdaki sıklığının bilinmesi, kolay uygulanabilir olması, basit ve güvenilir olması ve sonuç olarak faydalı olabilmesi testin uygulanabilirliği açısından gerekli parametrelerdendir. Tarama testinin performansını, tesbit etme oranı (pozitif sonucu olan kişilerde etkilenmiş gebeliklerin oranı) ve yalancı pozitiflik oranı (pozitif sonucu olan kişilerde etkilenmemiş gebeliklerin oranı) belirler (33).

Antenatal tarama birinci ve ikinci trimesterde ayrı biyokimyasal parametreler kullanılarak uygulanmakta ve yüksek riskli çiftlere antenatal tanı imkânı ve gerekiyorsa gebeliğini sonlandırma hakkı vermektedir (33).

Down Sendromu toplumdaki mental retardasyonun en önemli sebeplerinden birini oluşturmaktadır. 1933 yılında anne yaşı ve Down Sendromu arasındaki ilişki ilk olarak bildirilmiş ve 1968 yılında amniosentez ile ilk antenatal tanı işlemi uygulanmıştır. Amniotik sıvı AFP düzeylerinin NTD ile ilişkili olduğu 1972 yılında gösterilmiş, sonrasında anensefalide de benzer durum ortaya konmuştur. MSAFP düzeyleri doğumsal defektlerin taraması amacı ile 1977 yılında serum belirteci olarak kullanılmıştır (33). Merkatz ve ark. ve Cuckle ve ark. 1984 yıllarında yaptıkları çalışmalarda Down Sendromlu gebeliklerde MSAFP düzeylerinin normal gebeliklere göre %25 daha düşük olduğunu göstermişlerdir (33).

Maternal serum human koryonik gonodotropin (hCG) seviyelerinin Down Sendromlu gebeliklerde normal gebeliklere göre yaklaşık iki kat daha yüksek olduğu ilk defa 1987 yılında gösterilmiştir (33). Yine bu dönemde yapılan çalışmalarla, Down Sendromlu gebeliklerde normal gebeliklere göre maternal unkonjuge östriol (uE3) seviyelerinin %25 daha düşük olduğu gösterilmiş ve bu iki belirteç anne yaşı ve MSAFP düzeyleri ile birleştirilerek üçlü test oluşturulmuştur (33). Daha sonraları üçlü testteki parametrelere ilaveten INH-A seviyelerinin ilave edilmesi ile dördü

tarama testi geliştirilmiş ve Down Sendromunu tesbit etme oranları %71'den %79'lara yükselmiştir.

Üçlü tarama testi 15-22. gebelik haftaları arası yapılabilmekle birlikte, ideal olarak 16-18. Gebelik haftalarında uygulanır. Gebelik haftası ultrason ölçümleri ile tam olarak ortaya konmalıdır.

İlk olarak 1991 yılında Down Sendromlu gebeliklerde 15. gebelik haftasından önce maternal kanda düşük PAPP-A seviyeleri (33) ve yüksek serbest β -hCG seviyeleri gösterilmiştir. Down Sendromlu gebeliklerde 1992 yılında, ilk trimesterde ense kalınlığının artmış olduğu bildirilmiş ve tarama testi olarak kullanılmasının Down Sendromunu tesbit etmede etkin olduğu gösterilmiştir (33). Bu serum ve ultrason belirteçlerinin birlikte kullanımı ikili tarama testi olarak kullanıma girmiştir. İkili tarama testi gebelik hakkında daha erken dönemde fikir sahibi olmaya ve gerekli durumlarda erken prenatal tanı testlerinin yapılmasına olanak vermesi açısından ikinci trimester tarama testine göre daha avantajlıdır. Test ideal olarak 11-14. gebelik haftaları arasında uygulanmaktadır. Serum belirteçleri ve NT birlikte kullanımının Down Sendromunu tesbit etme oranı %86'dır.

The American Collage of Obstetricians and Gynecologists (ACOG) 2007 yılında yayınladığı bültende tüm gebelere birinci trimester tarama testinin yapılmasını önerirken ikinci trimester tarama testinin deneyimli ellerde ayrıntılı ultrason incelemesinin yapılamadığı durumlarda yapılmasını önermektedir (83, 153).

Gerek birinci trimester, gerekse ikinci trimester tarama testlerindeki parametreler bazı kişisel ve çevresel durumlardan etkilenmekte ve bu faktörlerden bazıları risk hesaplaması sırasında labaratuvar incelemesinde dikkate alınmaktadır. Irk, sigara içimi, anne kilosuna, akraba evliliği, erken gebelik döneminde kanama, fetal cinsiyet, yardımcı üreme tekniklerinin kullanılmış olması, diyabet, kronik böbrek yetmezliği maternal serum belirteçlerini etkileyebilen durumlardandır. Yapılan çalışmalarda anne kilosundaki 20 kg artışın AFP düzeyinde %17, uE3 düzeyinde %7, hCG düzeylerinde %16'luk azalma yaptığı gösterilmiştir (33).

Sigara içen gebelerde de serum belirteçlerinin seviyesi etkilenmekte ve en belirgin değişiklik total hCG düzeylerinde olmaktadır (33).

Diyabet maternal serum belirteçlerini etkileyen önemli bir durumdur ve risk hesaplaması sırasında çoğu labaratuvar tarafından dikkate alınır.

Günümüze kadar literatürde MTHFR enzim mutasyonu ile ikili ve üçlü tarama testleri arasındaki ilişkiyi değerlendiren bir çalışma bulunamamıştır. Çalışmamızda, rutin olarak kadın doğum polikliniklerinde yapılan prenatal tarama testleri ile MTHFR C677T enzim mutasyonu arasındaki ilişkiyi araştırmayı planladık. MTHFR A1298C mutasyonu hem ender görünür, hem de prenatal komplikasyonlara daha az neden olur. Bundan dolayı çalışmamız kapsamına almadık.

Çalışmamızdaki başlıca bulgumuz, MTHFR C677T Heterozigot enzim mutasyonu olan gebelerde ikili test parametrelerinden serbest β -hCG ($p<0.013$) ve serbest β -hCG MoM ($p<0.009$) değerlerinin, bu mutasyon olmayan gebelere göre istatistiksel olarak anlamlı yüksekliğinin saptanmasıdır. MTHFR C677T Homozigot enzim mutasyonu olan gebelerde, bu mutasyon olmayan gebelere göre anlamlı bir fark serbest β -hCG ve serbest β -hCG MoM değerleri açısından saptayamadık. Üstelik üçlü testte yer alan total β -hCG ve total β -hCG MoM değerlerini MTHFR Negatif, Heterozigot ve Homozigot gebelerde karşılaştırdığımızda da anlamlı bir fark tesbit edemedik.

Daha sonra çalışmamızı ikili ve üçlü tarama testleri ile MTHFR Negatif ve MTHFR Pozitif (Heterozigot + Homozigot) gebelerin karşılaştırılması şeklinde planladık ve yine örtüşen sonuçlar elde ettik. MTHFR enzim mutasyonu olan gebelerde serbest β -hCG ($p<0.046$) ve serbest β -hCG MoM ($p<0.036$) değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı artış tespit ettik.

Sonuçta, hem MTHFR Heterozigot, MTHFR Pozitif (Heterozigot + Homozigot) gebelerde, serbest β -hCG ve serbest β -hCG MoM değerlerinde, bu mutasyon bulunmayan gebelere göre istatistiksel olarak anlamlı bir yükselme vardı.

MTHFR-C677T enzim mutasyonu, MTHFR proteinin 222. Kodonunda alanin amino asiti yerine valin amino asiti bulunmasıyla ortaya çıkar. Mutasyona uğramış bulunan bu enzim ısıdan çabuk etkilenir. Aktivitesi % 50 kadar azalır. Bu da plazma folat konsantrasyonunda düşmeye, methionin ile SAM azalmasına ve homosistein konsantrasyonunda artmaya neden olur. Homosistein konsantrasyonlarındaki artış folik asit eksikliğinde daha belirginleşir. Homosistein,

kolesterolden daha fazla damar yapısına ve fonksiyonlarına zarar verir. Homosistein konsantrasyonlarındaki küçük artışlar bile tromboembolizm, ateroskleroz ve prenatal komplikasyonlara yol açabilir.

MTHFR enzim eksikliğinde 5-metil-THF'in üretimindeki bozukluk tek karbonlu folat derivelerinin hücrel oluşumunda değişikliğe neden olur (141). Hücrel folat düzeyinde yetersizlik sonucunda pürin ve pirimidin sentez bozukluğu ve SAM seviyelerinde azalmaya bağlı olarak hatalı DNA metilasyonu, nokta mutasyon, kromozom kırıkları, mikronükleus sıklığında artış, hatalı kromozom rekombinasyonu ve anöploidi görülebilmektedir (104). Bozulmuş folat metabolizması metabolik enzimleri kodlayan genlerde fonksiyonel polimorfizme yol açar.

MTHFR enzim eksikliğinde 5-metil tetrahidrofolat seviyelerinde azalma homosistein remetilasyonunu engelleyerek homosistein seviyelerinde yükselme ve esansiyel aminoasit olan methionin ve buna bağlı olarakta SAM seviyelerinde düşmeye neden olur. Methionin esansiyel bir aminoasittir. Başlıca et, yumurta ve karaciğer gibi besinlerde bulunur. Vücuda alındıktan sonra homosisteine dönüştürülür. Oluşan homosistein ise remetilasyon yolu ile tekrar methionine ve transsülfürasyon yolu ile sistatyonine dönüşür. Homosisteinin methionine dönüşümünde ara ürün olarak oluşan SAM, nükleik asitler, guanidoasetat, nörotransmitterler, fosfolipidler ve hormonlar için metil vericisi olarak görev alır. MTHFR gen mutasyonuna bağlı enzim eksikliği durumunda SAM seviyelerinde düşme olması tüm bu nedenlerden dolayı hücrel fonksiyonları olumsuz yönde etkileyecektir. Fetoplasental ünitenin MTHFR enzim eksikliğinin oluşturduğu tüm bu etkilere maruz kalacağı aşikârdır. SAM seviyelerindeki eksikliğe bağlı metilasyon bozukluğu, fetoplasental ünitenin fonksiyonunda yetersizliğe neden olarak üretilen hormonların seviyelerinde değişikliğe neden olabilir. Prenatal taramalarda kullanılan belirteçlerin çoğunun fetoplasental ünite tarafından sentezleniyor olması SAM seviyelerinin etkilendiği MTHFR gen mutasyonu olan kişilerde bu belirteçlerin seviyelerinin değişebileceği düşüncesini oluşturmaktadır.

MTHFR enzim mutasyonuna bağlı enzim eksikliğinde homosistein seviyelerindeki artış plasental perfüzyonun bozulmasına yol açar. Böylece placentanın erken dönemde hipoksiye maruz kalır. Hipoksi, plasental sitotrofoblastlarda artmış

proliferasiyona neden olur ve trofoblast invazyonunu inhibe eder. Artmış hücrel proliferasyon maternal oksijen transferi için bariyer oluşturarak embriyonun erken dönemde hipoksik kalmasına neden olur. Plasental yatağın gelişmesiyle birlikte lokal oksijen gerilim gradienti normal plasentasyonun tamamlanmasına izin verecek şekilde değişir. Bu dönemde plasental oksijen seviyesi artar. Sonuçta hipoksiye cevap olarak artan hücrel proliferasyon sonrası gelişen hiperoksijenik hasarın artmış β -hCG üretimi ile sonuçlanabileceği yapılan çalışmalarda bildirilmektedir (151). Bu durum MTHFR gen mutasyonu olan kişilerde artmış homosistein düzeylerinin plasental fonksiyonları etkileyebileceğini ve prenatal taramada kullanılan serum belirteçlerinin seviyelerinin değişebileceğini destekler niteliktedir.

Lieppman ve ark.'ları (152) azalmış oksijen desteğininin sitotrofoblastların farklılaşmasında ve yeni oluşmuş sinsityotrofoblastik hücrelerin artmasına sebep olarak β -hCG üretiminde artışa neden olabileceğini göstermişlerdir.

Genbacev ve ark.'ları hipoksinin trofoblastik proliferasyonu stimüle ettiğini ancak trofoblastik invazyonu inhibe ettiğini göstermişlerdir. Bu hücrel proliferasyon maternal oksijen transferini engelleyerek embriyonun hipoksik kalmasına neden olur. Uteroplasental ve fetoplasental dolaşım geliştikçe lokal oksijen gerilim gradyenti değişir ve trofoblastik invazyona izin vererek normal plasentasyonun tamamlanması sağlanır ve böylece artan oksijen ihtiyacı karşılanır. Ancak erken dönemdeki hipoksiye bağlı olarak oluşan artmış hücrel proliferasyona bağlı olarak plasental oksijen miktarı artmıştır. β -hCG'nin pik yaptığı 9-11. haftalarda plasental oksijen seviyesinin yaklaşık 3 kat fazla olduğu gösterilmiştir. Bu durumda oksijenin β -hCG üretiminin artışı yapabileceğini destekler (151).

Çalışmamızda ikili test parametrelerinden serbest β -hCG ve serbest β -hCG MoM değerlerinin MTHFR Heterozigot enzim mutasyonu gebelerde istatistiksel olarak anlamlı yüksek olduğunu saptadık. Bu bulgularımız yukarıda ifade ettiğimiz hipoksik hasara bağlı artmış β -hCG üretimini açıklayan mekanizma ile örtüşmektedir.

Çalışmamızda MTHFR enzim mutasyonu ile ilişkisi olduğunu gösterdiğimiz ikili prenatal tarama testlerinden β -hCG'nin yüksekliği, şayet tekrarlayan gebelik kaybı, kötü obstetrik anamnez, preeklampsi, intrauterin ex gibi öyküsü olan riskli

gebelerde, MTHFR enzim mutasyonu düşünülüp ona göre teşhis ve tedavi bağlamında öncelikli yönelimde bulunma imkânı sağlayabilecektir.

Ayrıca prenatal tarama testi sonuçlarını değerlendirirken, β -hCG yüksekliği ile MTHFR enzim heterozigot mutasyonu birlikteliği dikkate alınarak risk hesaplamasında MTHFR için düzeltilmiş β -hCG MoM değerlerinin kullanılması testin yorumlanmasında, bu duruma bağlı olarak oluşabilecek Down Sendromu yalancı pozitifliğini engelleyecektir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

MTHFR homozigot enzim mutasyonu ile tarama testleri arasında bir ilişki bulamamış olmamız, MTHFR homozigot kişi sayısının az sayıda saptanmış olmasından kaynaklanabilir. Şayet MTHFR homozigot sayısının daha yüksek olduğu popülasyonlarda çalışma tekrarlanacak olursa, MTHFR homozigotlular ile free β -hCG düzeyleri arasında anlamlı bir ilişki saptanabilir.

Ayrıca farklı popülasyonlarda çalışmanın tekrarlanması ile MTHFR enzim mutasyonu ve serbest β -hCG düzeyleri arasındaki ilişkiyi daha kesin bir şekilde ortaya koymak açısından önemli olabilir.

Daha büyük ve farklı popülasyonlarda planlanan çalışmaların yanı sıra, intrauterin patolojilere neden olabilen farklı mutasyonlar ile de bu ilişki araştırılabilir. Ancak buradaki en önemli noktalardan biri yeterli sayıda mutasyona sahip kişilerin oluşturduğu popülasyon oluşturmaktır.

Sonuç olarak riskli popülasyonda MTHFR gen mutasyonu bakmak ve hastaların prenatal tarama testlerinin değerlendirilmesi sırasında hastanın mutasyon durumunu göz önüne almak hastadaki açıklanamayan serbest β -hCG düzeylerini açıklayabilir. Aynı zamanda bu çalışmanın daha yüksek hasta popülasyonunda uygulanması ile bu ilişki homozigot hastalar ile de gösterilir ise bu parametre yüksek riskli hastaların testleri ölçülürken laboratuvar tarafından da dikkate alınarak buna göre düzeltilmiş sonuçlar ile test sonuçlandırılabilir. Böylece bu hastalarda serbest β -hCG düzeyindeki yükselmelere bağlı olarak oluşabilecek yalancı pozitif test sonuçları engellenebilir.

7. KAYNAKLAR

KAYNAKLAR

1. Çiçek N, Akyürek C, Çelik Ç, Haberal A. Kadın Hastalıkları ve Doğum Bilgisi. 2. baskı, Güneş Kitabevi, 2006:383, 385, 387, 400.
2. Hodges RJ, Wallace EM. Testing for Down syndrome in the older woman: a risky business? *Aust N Z J Obstet Gynaecol*, 2005;45:486–8.
3. Ndumbe FM, Navti O, Chilaka VN, Konje JC. Prenatal diagnosis in the first trimester of pregnancy. *Obstet Gynecol Surv*. 2008 May;63(5):317-28.
4. Benn PA. Advances in prenatal screening for Down syndrome: I. general principles and second trimester testing. *Clin Chim Acta*. 2002 Sep;323(1-2):1-16.
5. Spencer K. Aneuploidy screening in the first trimester. *Am J Med Genet C Semin Med Genet*. 2007 Feb 15;145C(1):18-32. Review.
6. Benn PA. Advances in prenatal screening for Down syndrome: II first trimester testing, integrated testing, and future directions. *Clin Chim Acta*. 2002 Oct;324(1-2):1-11.
7. de Graaf IM, Cuckle HS, Pajkrt E, Leschot NJ, Bleker OP, van Lith JM. Co-variables in first trimester maternal serum screening. *Prenat Diagn* 2000;20:186-9.
8. Spencer K, Ong CY, Liao AW, Nicolaides KH. The influence of parity and gravidity on first trimester markers of chromosomal abnormality. *Prenat Diagn* 2000;20:792–4.
9. Spencer K, Ong CY, Liao AW, Papademetriou D, Nicolaides KH. The influence of fetal sex in screening for trisomy 21 by fetal nuchal translucency, maternal serum free beta-hCG and PAPP-A at 10 – 14 weeks of gestation. *Prenat Diagn* 2000; 20:673– 5.
10. Ong CY, Liao AW, Spencer K, Munim S, Nicolaides KH. First trimester maternal serum free beta human chorionic gonadotrophin and pregnancy associated plasma protein A as predictors of pregnancy complications. *BJOG* 2000;107:1265 –70.
11. Liao AW, Heath V, Kametas N, Spencer K, Nicolaides KH. First-trimester screening for trisomy 21 in singleton pregnancies achieved by assisted reproduction. *Hum Reprod* 2001;16:1501– 4.
12. Coppedè F. The complex relationship between folate/homocysteine metabolism and risk of Down syndrome. *Mutat Res*. 2009 Jul-Aug;682(1):54-70. Epub 2009 Jun 11.
13. Bailey LB, Gregory III JF, Folate metabolism and requirements, *J. Nutr*. 1999;129;779–782.
14. Zhao R, Matherly LH, Goldman ID, Membrane transporters and folate homeostasis: intestinal absorption and transport into systemic compartments and tissues, *Expert Rev. Mol. Med*. 2009;11,e4.
15. Gudnason V, Stansbie D, Scott J, Browron A, Nicaud V, Humphries S. C677T (thermolabile alanine/valine) polymorphism in methylenetetrahydrofolat reductase (MTHFR): its frequency and impact on plasma homocysteine concentration in different European populations. *Atherosclerosis*, 1998; 136:347-354.

16. Bailey LB, Gregory JF 3rd. Polymorphisms of methylenetetrahydrofolate reductase and other enzymes: metabolic significance, risks and impact on folate requirement. *J Nutr.* 1999 May;129(5):919-22. Review.
17. Lin D, Li H, Tan W, Miao X, Wang L. Genetic polymorphisms in folate-metabolizing enzymes and risk of gastroesophageal cancers: a potential nutrient-gene interaction in cancer development, *Forum Nutr.* 2007; 60;140-145.
18. P. Bolufer, E. Barragan, M. Collado, J. Cervera, J.A. Lopez, M.A. Sanz, Influence of genetic polymorphisms on the risk of developing leukemia and on disease progression, *Leuk. Res.* 30 (2006) 1471-1491.
19. Kono S, Chen K. Genetic polymorphisms of methylenetetrahydrofolate reductase and colorectal cancer and adenoma, *Cancer Sci.* 96 (2005) 535-542.
20. Skibola CF, Forrest MS, Coppede F, Agana L, Hubbard A, Smith MT, Bracci PM, Holly EA. Polymorphisms and haplotypes in folate-metabolizing genes and risk of non-Hodgkin lymphoma, *Blood* 104 (2004) 2155-2162.
21. E. Trabetti, Homocysteine, MTHFR gene polymorphisms, and cardio-cerebrovascular risk, *J. Appl. Genet.* 49 (2008) 267-282.
22. Y.M. Smulders, C.D. Stehouwer, Folate metabolism and cardiovascular disease, *Semin. Vasc. Med.* 5 (2005) 87-97.
23. G. Anello, R.M. Gueant-Rodriguez, P. Bosco, J.L. Gueant, A. Romano, B. Namour, R. Spada, F. Caraci, G. Pourie, J.L. Daval, R. Ferri, Homocysteine and methylenetetrahydrofolate reductase polymorphism in Alzheimer's disease, *Neuroreport* 15 (2004) 859-861.
24. X.H. Bi, H.L. Zhao, Z.X. Zhang, J.W. Zhang Association of RFC1 A80G and MTHFR C677T polymorphisms with Alzheimer's disease, *Neurobiol. Aging*, in press.
25. N.M. van der Put, H.W. van Straaten, F.J. Trijbels, H.J. Blom, Folate, homocysteine and neural tube defects: an overview, *Exp. Biol. Med.* 226 (2001) 243-270.
26. A.M. Molloy, L.C. Brody, J.L. Mills, J.M. Scott, P.N. Kirke, The search for genetic polymorphisms in the homocysteine/folate pathway that contribute to the etiology of human neural tube defects, *Birth Defects Res. A. Clin. Mol. Teratol.* 85 (2009) 285-294.
27. Stembalska A, Slezak R, Pesz K, Gil J, Sasiadek M. Prenatal diagnosis--principles of diagnostic procedures and genetic counseling. *Folia Histochem Cytobiol.* 2007;45 Suppl 1:S11-6.
28. Cuckle HS, van Lith JM. Appropriate biochemical parameters in first-trimester screening for Down syndrome. *Prenat Diagn* 1999;19:505- 12.
29. Nicolaides KH, Snijders RJ, Cuckle HS. Correct estimation of parameters for ultrasound nuchal translucency screening. *Prenat Diagn* 1998;18:519- 23.
30. Wald NJ, Watt HC, Hackshaw AK. Integrated screening for Down's syndrome on the basis of tests performed during the first and second trimesters. *N Engl J Med* 1999;341:461- 7.
31. Spencer K, Nicolaides KH. 2002. A first trimester trisomy13/trisomy 18 risk algorithm combining fetal nuchal translucency thickness, maternal serum free b-hCG and PAPP-A. *Prenat Diagn* 22:877-879.

32. Wald NJ, Kennard A, Hackshaw A, McGuire A. Antenatal screening for Down's syndrome. *J Med Screen* 1997;4:181–246.
33. Wald NJ, Kennard A, Hackshaw A, McGuire A. Antenatal screening for Down's syndrome. *Health Technol Assess.* 1998;2(1):i-iv, 1-112. Review.
34. Stabile I, Grudzinskas JG, Chard T. Clinical applications of pregnancy protein estimations with particular reference to pregnancy-associated plasma protein A (PAPP-A). *Obstet Gynecol Surv* 1988;43:73– 82.
35. Watanabe H, Hamada H, Second Trimester Maternal Pregnancy Associated Plasma Protein A and Inhibin Levels in Fetal Trisomies. *Fetal Diagnosis and Therapy*, 2002;17:137-41
36. Boldt HB, Conover CA. Pregnancy-associated plasma protein-A (PAPP-A):a local regulator of IGF bioavailability through cleavage of IGFBPs. *Growth Horm IGF Res*, 2007;17:10-8.
37. Westergaard JG, Sinosich MJ, Bugge M, Masen LT, Teisner B, Grudzinskas JG. Pregnancy-associated plasma protein A in the prediction of early pregnancy failure. *Am J Obstet Gynecol* 1983;145:67–9.
38. Pahal GS, Jauniaux E. Maternal serum biochemical screening for pregnancy complications other than aneuploidy. *Curr Opin Obstet Gynecol.* 1997;9(6):379-86.
39. Cole LA, Seifer DB, Kardana A, Braunstein GD. Selecting human chorionic gonadotropin immunoassays: consideration of cross-reacting molecules in first trimester pregnancy serum and urine. *Am J Obstet Gynecol* 1993;168:1580 –6.
40. Ozturk M, Bellet D, Manil L, Hennen G, Frydman R, Wands J. Physiological studies on human chorionic gonadotropin (hCG), ahCG, and hhCG as measured by specific monoclonal immunoradiometric assays. *Endocrinology* 1987;120: 549–58.
41. Wald NJ, Kennard A, Hackshaw AK. First trimester serum screening for Down syndrome. *Prenat Diagn* 1995;15:1227–40.
42. Qin QP, Christiansen M, Nguyen TH, Sorensen S, Larsen SO, Norgaard-Pedersen B. Schwangerschaftsprotein 1 (SP1) as a maternal serum marker for Down syndrome in the first and second trimesters. *Prenat Diagn* 1997;17:101– 8.
43. Nicolaides KH, Brizot ML, Snijders RJM. Fetal nuchal translucency; ultrasound screening for fetal trisomy in the first trimester of pregnancy. *Br J Obstet Gynaecol* 1994;101:782–786.
44. Haak MC, van Vugt JM. Pathophysiology of increased nuchal translucency: a review of the literature. *Hum Reprod Update.* 2003;9:175-84.
45. James K, Steer P, Weiner C, Gonik B editör; Haldun Güner Yüksek riskli Gebelerde Yönetim Seçenekleri üçüncü baskı; 2008;159.
46. Souka AP, Krampfl E, Bakalis S, et al: Outcome of pregnancy in chromosomally normal fetuses with increased nuchal translucency in the first trimester. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2001;18:9-17.
47. Beksac MS. Fetal Tıp; Prenatal Tanı, Maternal-Fetal Tıp ve Perinatoloji CG. (Ed.) / Beksac MS, Demir N, Koc A (Koordinatorler). *Obstetrik; Maternal-Fetal Tıp ve Perinatoloji.* Ankara: Medical Network, 2001: 64-89.
48. Wald J, Densem J, George L et al. Prenatal screening for Down's syndrome using inhibin a as a serum marker. *Prenat Diagn*, 1996;16:143-153.

49. ACOG Committee Opinion down's syndrome screening . Committee on obstetric practice. Am Col Obstet Gynecol, No:141 Aug 1994
50. ACOG Educational Bulletin maternal serum screening Am Col Obstet Gynecol, No:228 Sept.1996.
51. Wald NJ, Watt HC, Haddow JE, Knight GJ. Screening for Down syndrome at 14 weeks of pregnancy. Prenat Diagn 1998;18:291– 3.
52. Wald NJ, Densem JW, Smith D, Klee GG. Four-marker serum screening for Down's syndrome. Prenat Diagn 1994;14:707–16.
53. Wald NJ, Densem JW, George L, Muttukrishna S, Knight PG. Prenatal screening for Down's syndrome using inhibin-A as a serum marker. Prenat Diagn 1996;16:143– 52.
54. Wald NJ, Hackshaw AK, George LM. Assay precision of serum a fetoprotein in antenatal screening for neural tube defects and Down's syndrome. J Med Screen 2000;7:74– 7.
55. Saller DN Jr, Canick JA. Current methods of prenatal screening for Down syndrome and other fetal abnormalities. Clin Obstet Gynecol. 2008;51:24-36.
56. Canick JA, Palomaki GE, Osthonondh R. Prenatal screening for trisomy 18 in the second trimester. Prenat Diagn 1990;10:546– 8.
57. Lambert-Messerlian GM, Saller Jr DN, Tumber MB, French CA, Peterson CJ, Canick JA. Second-trimester maternal serum inhibin A levels in fetal trisomy 18 and Turner syndrome with and without hydrops. Prenat Diagn 1998;18:1061– 7.
58. Benn PA, Gainey A, Ingardia CJ, Rodis JF, Egan JFX. Second trimester maternal serum analytes in triploid pregnancies: correlation with phenotype and sex chromosome complement. Prenat Diagn 2001;21:680–6.
59. Saller DN, Canick JA, Schwartz S, Blitzner MG. Multiplemarker screening in pregnancies with hydropic and non-hydropic Turner syndrome. Am J Obstet Gynecol 1992;67:1021–4.
60. Milunsky A, The prenatal diagnosis of neural tube and other congenital defects in: Milunsky A eds. Genetic Disorders and The Fetus Plenum Press New York and London, 1986;16:453-519.
61. Ayhan A, Durukan T, Günalp S, Gürkan T, Önderoğlu LS, Yaralı H, Yüce K; Temel Kadın Hastalıkları ve Doğum Bilgisi; ikinci baskı; 2008; 220.
62. Gabbe SG, Niebyl JR, Simpson JL, Landon M, Goetzl L. Obstetrics: Normal ve Sorunlu Gebelikler. 5th Ed, China: 2007. 144, 168-170.
63. Merkatz IR, Nitowsky HM, Macri JN, Johnson WE. An association between low maternal serum alpha-fetoprotein and fetal chromosomal abnormalities. Am J Obstet Gynecol 1984; 148:886– 94.
64. Thompson SG, Isager SL, Lange AP, Smoking habits and maternal serum afp levels during the second trimester of pregnancy. Br J Obstet Gynaecol, 1983;90:716.
65. Jauniaux E, Moscoso G, Campbell S, Gibb D, Driver M, Nicolaidis KH. Correlation of ultrasound and pathologic findings of placental anomalies in pregnancies with elevated maternal serum alpha-fetoprotein. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol. 1990 Dec;37(3):219-30.
66. Salafia CM, Silberman L, Herrera NE, Mahoney MJ. Placental pathology at term associated with elevated midtrimester maternal serum alpha-fetoprotein concentration. Am J Obstet Gynecol. 1988 May;158(5):1064-6.

67. Gagnon A, Wilson RD, Audibert F, Allen VM, Blight C, Brock JA, Désilets VA, Johnson JA, Langlois S, Summers A, Wyatt P; Obstetrical complications associated with abnormal maternal serum markers analytes. Society of Obstetricians and Gynaecologists of Canada Genetics Committee. *J Obstet Gynaecol Can.* 2008 Oct;30(10):918-49. Review.
68. Ollendorff DA, Goldberg JM, Abu-Jawdeh GM, Lurian JR. Markedly elevated maternal serum alpha-fetoprotein associated with a normal fetus and choriocarcinoma of the placenta. *Obstet Gynecol* 1990;76:494-7.
69. Krause TG, Christens P, Wohlfahrt J, Lei U, Westergaard T, N_rgaard-Pedersen B, et al. Second-trimester maternal serum alpha-fetoprotein and risk of adverse pregnancy outcome. *Obstet Gynecol* 2001;97:277-82.
70. Baschat AA, Harman CR, Farid G, Chodirker BN, Evans JA. Very low second-trimester maternal serum alpha-fetoprotein: Association with high birth weight. *Obstet Gynecol* 2002;99:531-6.
71. Baird PA, Sadovnick AD. Life expectancy in Down syndrome. *J Pediatr* 1987;110:849- 54.
72. Hyett J, Moscoso G, Nicolaides K. Abnormalities of the heart and great arteries in first trimester chromosomally abnormal fetuses. *Am J Med Genet* 1997;69:207- 16.
73. Lieppman RE, Williams MA, Cheng EY, Resta R, Zingheim R, Hickok DE, et al. An association between elevated levels of human chorionic gonadotropin in the midtrimester and adverse pregnancy outcome. *Am J Obstet Gynecol* 1993;168:1852-7.
74. Fox H. Effect of hypoxia on trophoblast in organ culture. A morphologic and autoradiographic study. *Am J Obstet Gynecol* 1970;107:1058-64.
75. Liu DF, Dickerman LH, Redline RW. Pathologic findings in pregnancies with unexplained increases in midtrimester maternal serum human chorionic gonadotropin levels. *Am J Clin Path* 1999;111:209-15.
76. Kavak ZN, Basgul A, Elter K, Uygur M, Gokaslan, H. The efficacy of first-trimester PAPP-A and free _hCG levels for predicting adverse pregnancy outcome. *J Perinat Med* 2006;34:145-8.
77. De Leon J, Sifuentes G, Hopkins C, Noble V, Gimpel T, Myles T, et al. Maternal serum free beta-hCG levels in uncomplicated pregnancies at the 10th-15th week of gestation and the development of obstetric complications. *J Reprod Med* 2004;49:89-92.
78. Canick JA, Knight GJ, Palomaki GE, Haddow JE, Cuckle HS, Wald NJ. Low second trimester maternal serum unkojugated oestriol in pregnancies with Down's syndrome. *Br J Obstet Gynecol*, 1988;95:330-33.
79. Newby D, Aitken DA, Howatson AG, Connor JM. Placental synthesis of oestriol in Down's syndrome pregnancies. *Placenta* 2000;21:263- 7.
80. Van Lith JM, Pratt JJ, Beekhuis JR, Mantingh A. Secondtrimester maternal serum immunoreactive inhibin as a marker for fetal Down's syndrome. *Prenat Diagn* 1992;12:801-6.
81. Petragelia F, Sawchenko P, Lim ATW, Rivier J, Vale W. Localization, secretion and action of inhibin in human placenta. *Science* 1987;237:187- 9.
82. Dalgliesh GL, Aitken DA, Lyall F, Howatson AG, Conner JM. Placental and maternal serum inhibin-A and activin-A levels in Down's syndrome pregnancies. *Placenta* 2001;22:227- 34.

83. Shaw SW, Hsu JJ, Lee CN, Hsiao CH, Chen CP, Hsieh TT, Cheng PJ. First- and second-trimester Down syndrome screening: current strategies and clinical guidelines. *Taiwan J Obstet Gynecol*. 2008 Jun;47(2):157-62.
84. Malone FD, Canick JA, Ball RH, et al. First-trimester or second-trimester screening, or both, for Down's syndrome. *N Engl J Med* 2005;353:2001-11.
85. Reynolds TM, Nix AB, Dunstan FD, Dawson AJ. Age-specific detection and false positive rates: An aid to counseling in Down's Syndrome risk screening. *Obstet Gynecol* 1993; 81:447-450.
86. Aitken DA, Crossley JA, Spencer K. 2002. Prenatal screening for neural tube defects and aneuploidy. In: Rimoin DL, Connor JM, Pyeritz RE, Korf BR, editors. *Emery & Rimoin's Principles and Practice of Medical Genetics*, Vol. 1. London: Churchill Livingstone. p 763-801.
87. Karidas CN, Michailidis GD, Spencer K, Economides DL. Biochemical screening for Down syndrome in pregnancies following renal transplantation. *Prenat Diagn* 2002;22:226-30.
88. Cheng PJ, Liu CM, Change SD, Lin YT, Soong YK. Elevated second-trimester maternal serum hCG in patients undergoing haemodialysis. *Prenat Diagn* 1999;19:955-8.
89. Hershkovitz R, de Swiet M, Kingdom J. Mid-trimester placentation assessment in high-risk pregnancies using maternal serum screening and uterine artery Doppler. *Hypertens Pregnancy* 2005;24:273-80.
90. Gross S, Castillo W, Crane M, Espinosa B, Carter S, DeVeaux R, et al. Maternal serum α -fetoprotein and human chorionic gonadotropin levels in women with human immunodeficiency virus. *Am J Obstet Gynecol* 2003;188:1052-6.
91. Einstein FH, Wright RL, Trentacoste S, Gross S, Merkatz IR, Bernstein PS. The impact of protease inhibitors on maternal serum screening analyte levels in pregnant women who are HIV positive. *Am J Obstet Gynecol* 2004;191:1004-8.
92. Cheng PJ, Chu DC, Chueh HY, See LC, Chang HC, Weng DRH. Elevated maternal midtrimester serum free α -human chorionic gonadotropin levels in vegetarian pregnancies that cause increased false-positive Down syndrome screening results. *Am J Obstet Gynecol* 2004;190:442-7.
93. Muller F, Sault C, Lemay C, Roussel-Mizon N, Forestier F, Frenco J-L, and the ABA Collaborative Group. Second trimester two-step trisomy 18 screening using maternal serum markers. *Prenat Diagn* 2002; 22:605-608.
94. Steegers-Theunissen RP. Folate metabolism and neural tube defects: a review. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 1995 Jul;61(1):39-48.
95. Aksoy A. *Beslenme Biyokimyası*, 1. Baskı, Ankara: Hatipoğlu Basım ve Yayım, 2000: 315-462.
96. Selhub J, Miller JW. The Pathogenesis of Homocysteinemia: Interruption of the Coordinate Regulation By S-Adenosylmethionine of the Remethylation and Transsulfuration of Homocysteine. *Am J Clin Nutr* 1992; 55: 131-138.
97. Lucock M. Folic acid: Nutritional Biochemistry, Molecular Biology, and Role in Disease Processes. *Mol Genet Metab* 2000; 71(1-2): 121-138.
98. Özer NK. *Vitaminler ve Mineraller*. In: çev ed. Onat T, Emerk K, Sözmen EY. *İnsan Biyokimyası*. 1. Baskı Ankara. Palme yayıncılık. 2002:513-538.

99. Donnelly JG (2001) Folic acid, critical review of clinical laboratory, *Science*, 38(3):183-223.
100. Le Mone P (1999) Clinical issues, *JOGNN*, 28(5):520-533.
101. Duthie SJ (1999) Folic acid deficiency and cancer: mechanism of DNA instability, *Br Med Bull*, 55(3):578-592.
102. Refsum H (2001) Folate, vitamin B12 and homocysteine in relation to birth defects and pregnancy outcome, *Br J Nutr*, 85(Suppl 2):109-113.
103. Rosequist TH, Finnel RH (2001) Genes, folate and homocysteine in embryonic development, *Procur Nutr Soc*, 60(1):53-61.
104. M. Fenech, The role of folic acid and Vitamin B12 in genomic stability of human cells, *Mutat. Res.* 475 (2001) 57–67.
105. Massawe SN, Urassa EN, Mmari M, Ronquist G, Lindmark G, Nystrom L. The complexity of pregnancy anemia in Dar-es-Salaam. *Gynecol Obstet Invest.* 1999;47:76-82.
106. Williams MD, Wheby MS. Anemia in pregnancy. *Med Clin North Am.* 1992;76:631-47.
107. Wilson RD, Johnson JA, Wyatt P, Allen V, Gagnon A, Langlois S, Blight C, Audibert F, Désilets V, Brock JA, Koren G, Goh YI, Nguyen P, Kapur B. Pre-conceptional vitamin/folic acid supplementation 2007: the use of folic acid in combination with a multivitamin supplement for the prevention of neural tube defects and other congenital anomalies. *J Obstet Gynaecol Can.* 2007 Dec;29(12):1003-26.
108. Czeizel AE. Prevention of congenital abnormalities by periconceptional multivitamin supplementation. *BMJ* 1993;306:1645–8.
109. Challem J, Doldy V. Homocysteine the secret killer. Keats Publishing, Inc. New Canaan. 1997:165-168.
110. Fonseca V, Susan C. Guba, and Louis M. Fink. Hyperhomocysteinemia and the Endocrine System: Implications for Atherosclerosis and Thrombosis 1999.
111. Graham IM, Daly LE, Refsum HM, Robinson K, 1997 The European Concerted Action Project. Plasma homocysteine as a risk factor for vascular disease. *JAMA* 277:1775–1781.
112. L.H. Matherly, D.I. Goldman, Membrane transport of folates, *Vitam. Horm.* 66 (2003) 403–456.
113. R. Zhao, L.H. Matherly, D.I. Goldman, Membrane transporters and folate homeostasis: intestinal absorption and transport into systemic compartments and tissues, *Expert Rev. Mol. Med.* 11 (2009) e4.
114. Aubard Y, Darodes N, Cantaloube M. Hyperhomocysteinemia and pregnancy: review of our present understanding and therapeutic implications. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2000;93:157–65.
115. Mudd SH, Levy HL, Skovby F 1995 Disorders of transsulfuration. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D (eds) *The Metabolic Basis of Inherited Disease*, ed 7. McGraw-Hill, New York, pp 1279–1327.
116. V. Purohit, M.F. Abdelmalek, S. Barve, N.J. Benevenga, C.H. Halsted, N. Kaplowitz, K.K. Kharbanda, Q.Y. Liu, S.C. Lu, C.J. McClain, C. Swanson, S. Zakhari, Role of Sadenosylmethionine, folate, and betaine in the treatment of alcoholic liver disease: summary of a symposium, *Am J Clin Nutr.* 86 (2007) 14–24.

117. Dikmen M. Metilentetrahidrofolat reduktaz (MTHFR) enziminin moleküler biyolojisi ve hastalıklarla ilişkisi. *Kocatepe Tıp Dergisi*. 2004;5:9-16.
118. Selhub J, Miller JW. The pathogenesis of homocysteinemia: interruption of the coordinate regulation by S-adenosylmethionine of the remethylation and transsulfuration of homocysteine. *Am J Clin Nutr* 1992;55:131-138.
119. Loehrer FMT, Angst CP, Haefeli WE, Jordan PP, Ritz R, Fowler B. 1996 Low whole-blood S-adenosylmethionine and correlation between 5-methyltetrahydrofolate and homocysteine in coronary artery disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 16:727-733.
120. Jencks DA, Matthews RG 1987 Allosteric inhibition of methylenetetrahydrofolate reductase by adenosylmethionine. *J Biol Chem* 262:2485-2493.
121. Finkelstein JD, Lyle WE, Martin JL, Pick AM 1975 Activation of cystathionine synthase by adenosylmethionine and adenosylethionine. *Biochem Biophys Res Commun* 66:81-87.
122. Kiseljaković E, 2008 polymorphism in methylenetetrahydrofolate reductase gene: important role in diseases Emina Kiseljaković, Radivoj Jadrić, Sabaheta Hasić, Faruk Skenderi¹, Halima Resić², Mira Winterhalter-Jadrić¹ 2008.
123. Jacobsen DW 1996 Determinants of hyperhomocysteinemia: a matter of nature and nurture. *Am J Clin Nutr* 64:641-642.
124. Lussier-Cacan S, Xhignesse M, Piolot A, Selhub J, Davignon J, Genest Jr J 1996 Plasma total homocysteine in healthy subjects: sex-specific relation with biological traits. *Am J Clin Nutr* 64:587-593.
125. von Eckardstein A, Malinow MR, Upson B, Heinrich J, Schulte H, Schonfeld R, Kohler E, Assmann G 1994 Effects of age, lipoproteins, and hemostatic parameters on the role of homocysteinemia as a cardiovascular risk factor in men. *Arterioscler Thromb* 14:460-464.
126. Nygard O, Vollset SE, Refsum H, Stensvold I, Tverdal A, Nordrehaug JE, Ueland M, Kvale G 1995 Total plasma homocysteine and cardiovascular risk profile. The Hordaland homocysteine study. *JAMA* 274:1526-1533.
127. Ermens AAM, Refsum H, Ruprecht J. Monitoring cobalamin inactivation during nitrous oxide anaesthesia by determination of homocysteine and folate in plasma and urine. *Clin Pharmacol Ther*. 1991;49:385-393.
128. McCully KS. Homocysteine and vascular disease. *Nat Med*. 1996; 2: 386-9.
129. Fodinger M, Horl WH, Sunder-Plassmann G. Molecular biology of 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase. *J Nephrol*. 2000;13:660-4.
130. Lin PY, Yang TH, Lin HG, Hu ML. Synergistic effects of S-adenosylhomocysteine and homocysteine on DNA damage in a murine microglial cell line. *Clin Chim Acta*. 2007;379:139-44.
131. Blom HJ, Kleinvelde HA, Boers GH, Demacker PN, Hak-Lemmers HL, Te Poele-Pothoff MT, Trijbels JM 1995 Lipid peroxidation and susceptibility of low-density lipoprotein to in vitro oxidation in hyperhomocysteinemia. *Eur J Clin Invest* 25:149-154.
132. Olszewski AJ, McCully KS 1993 Homocysteine metabolism and the oxidative modification of proteins and lipids. *Free Radic Biol Med* 14:683-693.
133. Lentz SR. Does homocysteine promote atherosclerosis? *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2001;21:1385-6.

134. Faraci FM and Lentz SR. Hyperhomocysteinemia, oxidative stres, and cerebral vascular dysfunction. *Stroke*. 2004;35:345-347.
135. Poddar R, Sivasubramanian N, DiBello PM. Homocysteine induces expression and secretion of monocyte chemoattractant protein-1 and interleukin-8 in human aortic endothelial cells: implications for vascular disease. *Circulation*. 2001;103:2717-23.
136. Goyette P, Pai A, Milos R, Frosst P, Tran P, Chen Z, Chan M, Rozen R. Gene structure of human and mouse methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) *Mamm Genome*, 9:652-6, 1998.
137. Dikmen M. Metilentetrahidrofolat Redüktaz (MTHFR) Enziminin Moleküler Biyolojisi ve Hastalıklarla ilişkisi, *Kocatepe Tıp Dergisi The Medical Journal of Kocatepe* 2004, 5.
138. Tepeli E, Müslümanoğlu MH, Uludağ A, Atlı E, Uzun. D, Artan S. Eskişehir ilinde idiyopatik tekrarlayan gebelik kayıpları ile metilentetrahidrofolat reduktaz (MTHFR) C677T VE A1298C polimorfizmleri arasındaki ilişki. *Osmangazi Tıp Dergisi* 2007; 29:1-11.
139. Weisberg I, Tran P, Christensen B et al. A second genetic polymorphism in methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) associated with decreased enzyme activity. *Mol Genet Metabol* 1998;64:169-72.
140. Sazci A, Ergul E, Kaya G, Kara I. Genotype and allele frequencies of the polymorphic methylenetetrahydrofolate reductase gene in Turkey. *Cell Biochem Funct*. 2005 Jan-Feb;23(1):51-4.
141. Bagley, P. J. & Selhub, J. A common mutation in the methylenetetrahydrofolate reductase gene is associated with an accumulation of non-methylated tetrahydrofolate in red blood cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 1998; 95:13217–13220.
142. Nelen WL, Blom HJ, Thomas CM, Steegers EA, Boers GH, Eskes TK. Methylenetetrahydrofolate reductase polymorphism affects the change in homocysteine and folate concentrations resulting from low dose folic acid supplementation in women with unexplained recurrent miscarriages. *J Nutr*. 1998 Aug;128(8):1336-41.
143. Nelen WL, Steegers EA, Eskes TK, Blom HJ. Genetic risk factor for unexplained recurrent early pregnancy loss. *Lancet*. 1997 Sep 20;350(9081):861.
144. Sarig G, Younis JS, Hoffman R, Lanir N, Blumenfeld Z, Brenner B. Thrombophilia is common in women with idiopathic pregnancy loss and is associated with late pregnancy wastage. *Fertil Steril*. 2002 Feb;77(2):342-7.
145. Quere I, Bellet H, Hoffet M, Janbon C, Mares P, Gris JC. A woman with five consecutive fetal deaths: case report and retrospective analysis of hyperhomocysteinemia prevalence in 100 consecutive women with recurrent miscarriages. *Fertil Steril* 1998, 69:152-54.
146. Foka ZJ, Lambropoulos AF, Saravelos H, Karas GB, Karavida A, Agorastos T, Zournatzi V, Makris PE, Bontis J, Kotsis A. Factor V leiden and prothrombin G20210A mutations, but not methylenetetrahydrofolate reductase C677T, are associated with recurrent miscarriages. *Hum Reprod*. 2000 Feb;15(2):458-62.
147. Makino A, Nakanishi T, Sugiura-Ogasawara M, Ozaki Y, Suzumori N, Suzumori K. No association of C677T methylenetetrahydrofolate reductase

- and an endothelial nitric oxide synthase polymorphism with recurrent pregnancy loss. *Am J Reprod Immunol.* 2004 Jul;52(1):60-6.
148. Holmes ZR, Regan L, Chilcott I, Cohen H. The C677T MTHFR gene mutation is not predictive of risk for recurrent fetal loss. *Br J Haematol.* 1999 Apr;105(1):98-101.
 149. Kluijtmans LAJ, van den Heuvel LP, Boers J et al. Molecular genetic analysis in mild hyperhomocysteinemia: a common mutation in the methylenetetrahydrofolate reductase gene is a genetic risk factor for cardiovascular disease. *Am J Hum Genet* 1996;58:35– 41.
 150. Brustolin S, Giugliani R, Félix TM. Genetics of homocysteine metabolism and associated disorders. *Braz J Med Biol Res.* 2010;43(1):1-7.
 151. Genbacev O, Joslin R, Damsky CH, Polliotti BM, Fisher SJ. Hypoxia alters early gestation human cytotrophoblast differentiation/invasion in vitro and models the placental defects that occur in preeclampsia. *J Clin Invest.* 1996 Jan 15;97(2):540-50.
 152. Lieppman RE, Williams MA, Cheng EY, Resta R, Zingheim R, Hickok DE, Luthy DA. An association between elevated levels of human chorionic gonadotropin in the midtrimester and adverse pregnancy outcome. *Am J Obstet Gynecol.* 1993 Jun;168(6 Pt 1):1852-6; discussion 1856-7.
 153. Çalışkan AC, Aytan H, Demirtürk F. The effect of maternal ABO blood groups and rhesus status on first trimester biochemical markers. *Cumhuriyet Med J* 2009; 31: 435-440.