

**T.C.  
TURGUT ÖZAL ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ HASTANESİ  
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**



**MTHFR GEN MUTASYONU SAPTANAN  
HASTALARDA VARİS, RAYNAUD HASTALIĞI VE  
FİBROMYALJİ SIKLIĞI**

**UZMANLIK TEZİ**

**Dr. Kadir Serkan YALÇIN**

**TEZ DANIŞMANI  
Prof. Dr. Ali KOŞAR**

**ANKARA  
2014**

**T.C.  
TURGUT ÖZAL ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ HASTANESİ  
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**MTHFR GEN MUTASYONU SAPTANAN  
HASTALARDA VARİS, RAYNAUD HASTALIĞI VE  
FİBROMYALJİ SIKLIĞI**

**UZMANLIK TEZİ**

**Dr. Kadir Serkan YALÇIN**

**TEZ DANIŞMANI  
Prof. Dr. Ali KOŞAR**

**ANKARA  
2014**

## TEŞEKKÜR

Asistanlık eğitimim boyunca ve uzmanlık tezimin hazırlanmasında değerli yardım ve katkılarını esirgemeyen, her zor durumda ilk yardımına koşan sayesinde her zorluğa çok kolay göğüs gerdiğim, benim için bir hocadan çok daha fazlası ve çok iyi bir örnek olan tez danışmanı hocam, Prof. Dr. Ali KOŞAR'a

Uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve deneyimleri ile yol gösteren ve yürüdüğüm bu yolda ışık olan hocalarım Prof. Dr. Ali Akçay'a, Prof. Dr. Cansel Türkay'a, Prof. Dr. Osman Kaftan'a, Prof. Dr. Hamide Kart Köseoğlu'na, Doç. Dr. Özlem Şahin Balçık'a Doç. Dr. Nükhet Rüzgaresen'e ve Doç. Dr. Hüseyin Demirci'ye;

Uzmanlık eğitimim boyunca mesai ve nöbetlerde birlikte çalıştığımız arkadaştan öte kardeş olduğum ve bu aile ortamını bana tattıran tüm asistan arkadaşlarıma;

Bugünlere gelmemde çok büyük emekleri olan, desteklerini her zaman yanı başımda hissettiğim, beni hiçbir zaman yalnız bırakmayan annem Nurdan Yalçın'a babam Zübeyir Yalçın'a ve kardeşim Ahmet Erkan Yalçın'a;

Hayatımın her anında varlıkları ve sevgileri ile bana destek olan, hayatımı anlamlı yapan eşim Tuğba Yalçın'a ve küçük oğullarım Furkan ve Yusuf Yalçın'a en içten teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Kadir Serkan YALÇIN

2014

Ankara

## İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR .....	i
İÇİNDEKİLER .....	ii
KISALTMALAR .....	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	v
TABLOLAR DİZİNİ .....	vi
GİRİŞ ve AMAÇ .....	1
1. GENEL BİLGİLER .....	3
1.1. VARİS .....	3
1.1.1. TANIM .....	3
1.1.2. EPİDEMİYOLOJİ .....	3
1.1.3. PATOFİZYOLOJİ .....	4
1.1.4. RİSK FAKTÖRLERİ .....	6
1.1.5. KLİNİK .....	6
1.1.6. VARİS VE HİPERKOAGÜLABİLİTE .....	6
1.2. RAYNAUD FENOMENİ .....	8
1.2.1. TANIM .....	8
1.2.2. PREVELANS .....	8
1.2.3. PATOFİZYOLOJİ .....	8
1.2.4. KLİNİK .....	9
1.2.5. TANI .....	9
1.2.6. PRİMER VE SEKONDER RAYNAUD FENOMENİ .....	10
1.3. FİBROMİYALJİ .....	12

1.3.1. TARİHÇE .....	12
1.3.2. TANIM.....	12
1.3.1. PATOFİZYOLOJİ .....	13
1.3.4. EPİDEMİYOLOJİ .....	14
1.3.5. KLİNİK .....	14
1.3.1. TANI.....	15
1.3.7. AYIRICI TANI.....	18
1.4. METİLENTETRAHİDROFOLAT REDÜKTAZ ENZİMİ .....	19
1.5. METİLENTETRAHİDROFOLAT GENİ .....	20
1.6. METİLENTETRAHİDROFOLAT GEN MUTASYONLARI .....	22
1.6.1. 677 C→T POLİMORFİZMİ.....	22
1.6.2. 1298 A→C POLİMORFİZMİ.....	23
1.6.3. 1317 T→C POLİMORFİZMİ .....	23
1.6.4. 1793 G→A POLİMORFİZMİ .....	23
1.6.5. 1059 T→C POLİMORFİZMİ.....	23
1.6.5. MTHFR GEN MUTASYONUNUN KLİNİK ÖNEMİ .....	24
1.7. HOMOSİSTEİN.....	25
1.7.1. HOMOSİSTEİN METABOLİZMASI.....	26
1.7.2. LABORATUVAR TANISI .....	28
1.7.3. HİPERHOMOSİSTEİNEMİNİN ATEROTROMBOTİK ETKİSİ.....	29
2. YÖNTEM VE GEREÇ .....	31
2.1. HASTALAR .....	31
2.2. LABORATUVAR TESTLERİ .....	32

2.3. MTHFR GEN ANALİZİ .....	33
2.3.1. PERİFERİK KANDAN DNA İZOLASYONU.....	33
2.3.2. DNA AMPLİFİKASYONU .....	33
2.3.2.1. REAKSİYON KARIŞIMI.....	34
2.3.3. SONUÇLARIN YORUMLANMASI .....	34
2.3.3.1. MTHFR C677T MUTASYONU SONUÇ DEĞERLENDİRİLMESİ .....	35
2.3.3.2. MTHFR A1298C MUTASYONU SONUÇ DEĞERLENDİRİLMESİ .....	36
2.4. İSTATİSTİKSEL ANALİZ .....	37
3. BULGULAR.....	38
4. TARTIŞMA .....	48
5. SONUÇ .....	57
6. KAYNAKLAR.....	58
7. ÖZET.....	77
8. ABSTRACT .....	78

## KISALTMALAR

ACR	: Amerikan Romatoloji Derneği
cDNA	: Tamamlayıcı Deoksiribo Nükleik Asit
CGRP	: Kalsitonin Gen Salıcı Peptit
DNA	: Deoksiribo Nükleik Asit
dUMP	: Deoksi Urasil Monofosfat
dTMP	: Deoksi Timidin Monofosfat
FMS	: Fibromiyalji Sendromu
kD	: Kilo Dalton
mRNA	: Mesajcı Ribo Nükleik Asit
MTHF	: 5-10 Metilen Tetrahidrofolat
MTHFR	: Metilen Tetrahidrofolat redüktaz
NLM	: Nuclear Lacer Medicine
NO	: Nitrik Oksit
PCR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
SAM	: S- Adenozil Metiyonin
SSÖS	: Semptom Ciddiyeti Ölçek Skoru
TXA2	: Tromboksan A2
WPI	: Yaygın Ağrı İndeksi
3'UTR	: 3' Çevrilmeyen DNA Bölgesi

## ŞEKİLLER DİZİNİ

<b>Şekil 1.</b>	<i>Variköz venlerdeki kapakçık disfonksiyonuna bağlı oluşan geri akım.....</i>	<i>5</i>
<b>Şekil 2.</b>	<i>Fibromiyalji hastalarında fizik muayenede değerlendirilmesi gereken hassas noktalar .....</i>	<i>15</i>
<b>Şekil 3.</b>	<i>MTHFR enzim aktivitesinin pirimidinlerin sentezindeki biyokimyasal rolü.....</i>	<i>19</i>
<b>Şekil 4.</b>	<i>MTHFR enzim aktivitesinin biyokimyasal rolü .....</i>	<i>20</i>
<b>Şekil 5.</b>	<i>1 Numaralı kromozomda MTHFR geninin yeri .....</i>	<i>20</i>
<b>Şekil 6.</b>	<i>MTHFR C677T Mutasyonu Sonuç Raporu.....</i>	<i>35</i>
<b>Şekil 7.</b>	<i>MTHFR A1298C Mutasyonu Sonuç Raporu. ....</i>	<i>36</i>



## TABLolar DİZİNİ

<b>Tablo 1.</b>	<i>Hiperhomosisteinemi ile ilişkili hastalıklar .....</i>	<i>25</i>
<b>Tablo 2.</b>	<i>Plazma homosistein seviyesini etkileyen faktörler .....</i>	<i>26</i>
<b>Tablo 3.</b>	<i>Metiyonin testinde kullanılan normal kabul edilen plazma homosistein düzeyleri .....</i>	<i>29</i>
<b>Tablo 4.</b>	<i>Hastaların çalışmaya dahil edilme kriterleri .....</i>	<i>31</i>
<b>Tablo 5.</b>	<i>Çalışma dışı bırakma kriterleri.....</i>	<i>32</i>
<b>Tablo 6.</b>	<i>Real Time PCR için amplifikasyon hazırlama şekli .....</i>	<i>34</i>
<b>Tablo 7.</b>	<i>İzlenen Real Time PCR programı .....</i>	<i>34</i>
<b>Tablo 8.</b>	<i>Çalışmaya alınan hastaların MTHFR, fibromiyalji, Raynaud Fenomeni ve varis sıklığı yönünden değerlendirilmesi .....</i>	<i>38</i>
<b>Tablo 9.</b>	<i>Hastaların demografik özellikleri ve laboratuvar bulgularının dağılımı.....</i>	<i>39</i>
<b>Tablo 10..</b>	<i>MTHFR gen analizi yapılan hastaların cinsiyetlerine göre mutasyonlarının dağılımı.....</i>	<i>40</i>
<b>Tablo 11.</b>	<i>Hastaların homosistein düzeyleri ve MTHFR gen mutasyonları.....</i>	<i>41</i>
<b>Tablo 12.</b>	<i>MTHFR mutasyonuna göre değişen fibromiyalji sıklığı .....</i>	<i>42</i>
<b>Tablo 13.</b>	<i>Fibromiyalji ve homosistein arasındaki ilişki.....</i>	<i>43</i>

<b>Tablo 14.</b>	<i>Raynaud Fenomeni MTHFR mutasyonuna göre görölme sıklığı.....</i>	<i>44</i>
<b>Tablo 15.</b>	<i>Raynaud Fenomeni ve homosistein arasındaki ilişki.....</i>	<i>45</i>
<b>Tablo 16.</b>	<i>Varis ve MTHFR mutasyonu arasındaki ilişki.....</i>	<i>46</i>
<b>Tablo 17.</b>	<i>Varis ve homosistein arasındaki ilişki.....</i>	<i>47</i>

## GİRİŞ VE AMAÇ

Raynaoud Fenomeni, fibromiyalji ve varis toplumumuzda sık görülen sağlık sorunlarından. Bu klinikopatolojik durumların etiyolojisi tartışmalı olmakla birlikte bu konuda yapılan özellikle genetik temelli çalışmalar son yıllarda artmıştır.

Varis özellikle alt ekstremitte venlerinin variköz genişlemesi olarak tanımlanabilir. Varis nedeni tam olarak aydınlatılmamış olmakla birlikte bacak venlerinde damar duvarındaki genişlemeler sonucu ortaya çıktığı düşünülmektedir [1]. Kan akımı önünde oluşan herhangi bir patoloji ise bu durumun daha erken ortaya çıkmasına ya da şiddetlenmesine neden olur. Pulmoner tromboembolizm ve serebrovasküler olaylar gibi mortal hastalıklarla birlikteliği gösterilmiş olan derin ven trombozu; yüzeysel venlerin variköz genişlemesine neden olan trombotik olaylarla birlikte olabilir.

Raynaud Fenomeni çeşitli presipite edici faktörler sonucunda siyanoz ya da solukluk gibi renk değişikliği ve parmak uçlarında uyuşma ile kendini gösteren bazen hiperemi, ağrı, karıncalanmanın da eşlik ettiği fizyolojik ya da patolojik olabilen bir olaydır. Homeostazda rol alan ve sistemik etkili çeşitli faktörler Raynaoud Fenomeni etyolojisine katkıda bulunabilir [2,3,4]. Endotel hasarı ya da intravasküler tromboz da Raynaud Fenomeni etiyolojisinde yer alabilir [5].

Fibromiyalji ise yaygın vücut ağrısı ve halsizlik şikayetleri ile ortaya çıkar. Bunun yanında halsizlik, yorgunluk, uyku bozukluğu sonucu yorgun uyanma şikâyetleri de görülür [6,7]. Hastalarda hem iş gücü kaybına neden olan hem de yaşam kalitesini önemli ölçüde bozan fibromiyalji sendromu tedavisinin zor ve tam olarak etkin olmaması nedeni ile bu konuda devam eden çalışmalarla etiyolojisinde yeni tedavi hedefleri aranmaya devam edilmektedir. Kasların kan akım bozukluğuna bağlı olarak oksijenizasyon değişiklikleri son zamanlarda etiyolojide suçlanmakta ve çalışmalara konu olmaktadır. Arter içinde oluşabilecek mikrotrombüsler kas kanlanmasını etkileyerek ağrıya neden olabilir.

Folat diyetle alındıktan sonra 5,10-Metilen Tetrahidrofolata (MTHF) dönüşür. MTHF ise Metilen Tetrahidrofolat Redüktaz (MTHFR) enzimi sayesinde 5-metil tetrahidrofolata döner. Bu ürün homosisteinin metiyonine remetilasyonu sırasında metiyonin sentaz katalizörlüğünde meydana gelen reaksiyonda karbon vericisi olarak görev yapan major proteindir [8]. MTHFR enzim aktivitesinde çeşitli nedenlerle azalma ortaya çıkması durumunda homosistein metiyonin metabolizması etkilenir. MTHFR enzimini oluşturan gende tanımlanmış olan çeşitli mutasyonlar enzimin defektif olmasına ve işlevini yerine getirmesinde aksaklıklara neden olur [9,10].

Bu çalışmanın amacı; MTHFR mutasyonu saptanmış olan hastalarla mutasyon saptanmayan hastaları karşılaştırarak Raynaud Fenomeni, varis ve fibromiyalji sıklığının MTHFR mutasyonu ve kan homosistein düzeyi ile ilişkisini değerlendirmektir.

## **1. GENEL BİLGİLER**

### **1.1 VARİS**

#### **1.1.1 TANIM**

Varis, sıklıkla alt ekstremitelerde görülmekle birlikte hemen tüm ven ve arterlerde görülebilen, damar içi basıncın artmasına damar duvarı gerilimin artması ve dilatasyona uğraması sonucu damarın kıvrımlı, tortiyoz bir hal alması ve ven çapının 3mm'den daha büyük olarak ölçülmesidir. Kötü kozmetik görünüm yanında enfeksiyon ve tromboza sekonder semptomlarla kendini belli eder.

Son 15 yılda elde edilen veriler neticesinde kapiller geçirgenlik, genetik yatkınlık ve endotelial fonksiyonların patofizyolojideki öneminin artması sonucu sınıflanmış ve yüzeysel ve derin ven trombozu olarak ayrılmıştır [11]. Her zaman hastalarda venöz patolojiler semptoma sebep olmaz. Minimal süperfisiyal venöz dilatasyondan ülsere değişikliklere kadar geniş bir klinik spektrumu vardır.

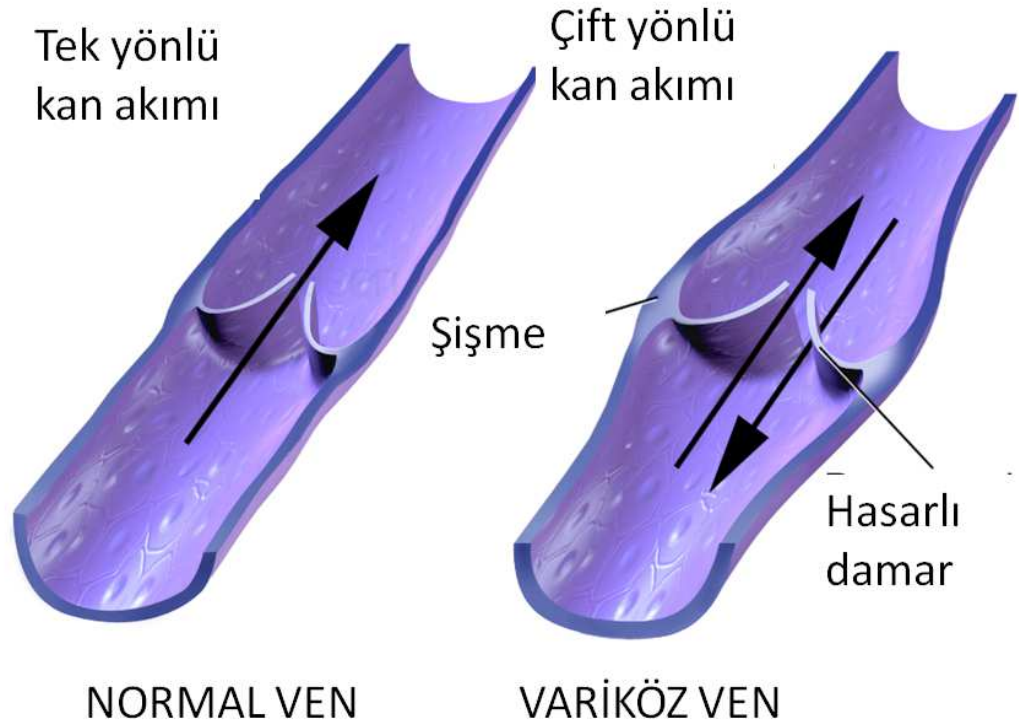
#### **1.1.2 EPİDEMİYOLOJİ**

Venöz yetmezlik ve varis toplumda çok sık görülen patolojilerden biridir. Genel popülasyonda görülme sıklığı çeşitli çalışmalarda %3 ile %11 arasında değişmektedir [12]. Coon ve ark. Her yıl 123 bin yeni vaka ortaya çıktığını göstermişlerdir [13]. Yüzeysel varislerin Coon ve ark. tarafından yapılmış oldukları bu çalışmada %78 oranla kadınlarda daha sık olduğu bulunmuştur. Çeşitli çalışmalarda kadın erkek oranı değerlendirilmiş ve 6/4 oranla kadınlarda daha sık bulunmuştur [14]. Her iki çalışma klinik olarak tanı alan hastaları baz alması ve yakınmanın erken evrelerde minor olması nedeni ile muhtemelen varis sıklığı burada bulunan yüzdelerden çok daha fazladır. 2005 yılında yapılan iki çalışma ile görüntüleme yöntemleri kullanılarak hastalara tanı konulmuş ve bu çalışmalarda varis sıklığı %20-40 arasında bulunmuştur[15,16]. Yakın zamana kadar hastalık tedavisinde cerrahi dışında yeterli ve etkin tedavi sağlanamaması ve hastalık

etiolojisinin ve patofizyolojisinin yeterli aydınlatılmaması nedeni ile sık görülen ve önüne geçilemeyen bir sağlık sorunu olmaya devam etmektedir.

### 1.1.3 PATOFİZYOLOJİ

Alt ekstremitte venöz yetmezliği olarak tanımlanabilecek olan varis önemli komplikasyonlara yol açabilen, sık karşılaşılan ve hastalarda morbiditeye yol açan bir patolojidir. Alt ekstremitelerde bulunan yüzeysel ve derin venler kanın iletilmesinde yer çekimine karşı çalışmaları nedeni ile sürekli negatif bir etki altındadırlar. Özellikle alt ekstremitelerden yukarı kanın akışına kalbin negatif basıncı yanında günlük aktiviteler sırasında bacak kaslarının kasılmasında yardımcıdır. Muskulovenöz pompa adı verilen bu mekanizma ile birlikte venöz valv adı verilen kapakçıklar vasıtası ile venöz dönüş sağlanır. 15q26.3 kromozomunda bulunan desmuslin proteinini kodlayan desmuslin geninde meydana gelen mutasyon sonunda variköz venlerin oluşmasına neden olur [17]. Buna benzer olarak trombomodulin mutasyonunda variköz venlerin oluşmasına neden olabilir [18]. Kutanöz venlerde malformasyonlarla giden Klippel- Treneunay sendromunda 8q22.3 and 14q13 translokasyonu bildirilmiştir. Heterozigot mutasyonlarda hastalık görülebilirken homozigot mutasyonlar ölümcül olabilir [19,20]. G6PC3 geni mutasyonunda tip-4 konjenital ciddi nötropeni gelişir. Bu hastalarda ciddi nötropeniye ek olarak bacaklarda varisler ve hatta venöz ülserasyonlar görülebilir [21]. Bu hastalarda buna ek olarak 7,12 ve 18. Kromozom trizomileri ya da monozomi 14 variköz venlerin oluşmasına genetik katkıda bulunur [22]. Bu ve buna benzer mutasyonlara sahip olan bireylerde uzun süre ayakta kalma, sıcak iklimde yaşama ya da gebelik gibi predispozisyon yaratan nedenler eklendiği takdirde venöz kapaklarda yetmezlik gelişir. Kapak yetmezliği ilerleyen dönemde kanın geri akımına neden olur. Geri akım sonunda venlerde venöz hipertansiyon meydana gelir. Artan basınç sonucu damar duvar gerilimi de artar ve venöz damarlarda dilatasyona neden olur.



**Şekil 1:** Variköz venler ve bu venlerdeki kan akımının engellenmesine bağlı olarak ortaya çıkan kapakçık disfonksiyonuna bağlı geri akım [23]

Kan akımının önünde oluşan her hangi bir engel hâlihazırda bozuk olan dolaşımın daha da bozulmasına neden olur. Bu venöz staz sonucu, kaçınılmaz olarak, yüzeysel ve derin venlerde geri akıma neden olarak flebitlerin ortaya çıkmasına neden olur. Venöz staza bağlı olarak bacak derin venlerinde de tromboz görülebilir. Genetik olarak yatkın olan bireylerde uzun süre hareketsiz kalma sonucu oluşan derin ven trombozu akut olarak gelişebilir. Akut hadisenin atlatılmasının ardından bu venlerde kalan rezidü trombüsler derin ven kan akımını yavaşlatır ve ya engeller. Dolayısı ile akım yüzeysel venlere yönlendir. Normalin çok üzerinde bir kan akımı ile karşılaşan yüzeysel venlerde kollateral damar oluşumlar, artan basınç nedeni ile dilatasyonlar görülebilir. Dilatasyon ve artmış basınç yüzeysel venlerde bu kısır döngünün devamına ve dilatasyonun daha da şiddetlenmesine neden olur. Bu ise klinikte karşımıza varis olarak çıkar. Bu şekilde oluşan varislerin tipik varislerden ayırt edilmesi son derece önemlidir [24,25]

#### **1.1.4 RİSK FAKTÖRLERİ**

Çeşitli çalışmalarda kronik venöz hastalıklar için risk faktörleri tanımlanmaya çalışılmıştır. Elde edilen ve henüz çalışma aşamasında olan risk faktörleri şu şekildedir [26,27,28,29,30,31]:

- a. İleri yaş
- b. Ailede venöz hastalık öyküsü
- c. Yüksek vücut kitle indeksi
- d. Sigara kullanımı
- e. Sedanter yaşam
- f. Alt ekstremite travması
- g. Yüzeysel yada derin venöz tromboz öyküsü
- h. Yüksek östrojen durumu ya da gebelik
- i. MTHFR gen mutasyonu
- j. Hiperhomosisteinemi

#### **1.1.5 KLİNİK**

Yüzeysel venlerde artan venöz basınç ağrı, kas krampları, kaşıntı, ciltte kuruluk, gerginlik gibi semptomlara neden olur. Ayrıca venöz dilatasyon sonucu ödem ve doku beslenmesinde bozulma sonucu ülserler ortaya çıkabilir.

#### **1.1.6 VARİS VE HİPERKOAGÜLABİLİTE**

Sağlıklı yüzeysel venlerin sadece 1/4'ünde tromboz gelişir ancak bu hastaların komorbid hastalık taşıma olasılıkları yüksek olması nedeni ile klinisyen açısından önem arz eder. Gebelik, doğum kontrol hapı kullanımı, malignite, ya da endotel fonksiyonlarını etkileyebilecek Behçet, Buerger hastalığı gibi hiperkoagülabilité durumları fibrin disfonksiyonuna da neden olarak trombüse yol açar [32,33,34].

Safen ven yolu diğer venlere oranla anlamlı olarak daha sık trombüs oluşumuna maruz kalır [35]. Bu veni üst ekstremitedeki sefalik ve bazilik



venler takip eder. Diğer venlerde yüzeyel trombüs oluşumu nadirdir. Antitrombin III eksikliği, antikardiolipin antikorlarının varlığı, protein C ve S eksikliği, anormal fibrinolitik aktivite, faktör V Leiden, Faktör II (protrombin gen mutasyonu) gibi koagülasyonda meydana gelen anormallikler özellikle safen vende artan trombüsle ilişkilendirilmiştir [36,37]. Otoimmun ve malign hastalığı olmayan ancak varisi olan hastalarda faktör V Leiden mutasyonu sıklığı 6 kat, protrombin gen mutasyonu 4 kat, protein C protein S ve antitrombin III mutasyonu sıklığı ise 13 kat artmıştır [38].

## **1.2 RAYNAUD FENOMENİ**

### **1.2.1 TANIM**

Mourice Raynaoud 1834-1881 yılları arasında yaşamış Fransız bir bilim insanıdır. Paris üniveristesinde özellikle damar patolojiler üzerinde uzmanlaşmış, 1879 yılında yayınlamış olduğu tezinde soğuk maruziyetinin ardında el parmaklarında meydana gelen renk değişikliğini tanımlamıştır. Raynaud Fenomeni'nin günümüzde ki tanımı ise paroksizmal ve rekürren olarak soğuk ya da emosyonel stresle ortaya çıkan anormal arterial vazospastik cevap sonucu oluşan akral iskemidir[39,40]. Vazokonstriksiyon zaten soğuğa karşı vücudun verdiği fizyolojik cevaplardandır. Ancak çoğu klinisyen için soğuk maruziyeti ya da emosyonel stres sonrası solukluk olması ve siyanoz olması tanı için olmazsa olmazdır.

### **1.2.2 PREVELANS**

Tam olarak altın standart tanı testi bulunduktan sonra Raynaud Fenomeninin sıklığı daha net ortaya konacaktır. Raynaud Fenomeni sıklığı coğrafi bölgelere ve ülkelere göre değişiklik gösterir. Örneğin Fransa'da Amerikaya oranla daha sık görülür (Sırası ile %17-%5) [41]. Türkiye'de görülme sıklığı kadınlarda %5 erkeklerde % 2 olarak saptanmıştır [42]. Genç yaşta olan hastalarda ve ailesinde daha önce Raynaud Fenomeni olan hastalarda daha sık olarak görülür [43].

### **1.2.3 PATOFİZYOLOJİ**

Raynaud Fenomeninin patogenezi henüz tam olarak aydınlatılabilmemiş değildir ancak ortaya çıkmasında etkili olan faktörlerden bir kısmı tanımlanmıştır. Dijital arterlerde vazospazma ya da kan akımında azalmaya neden olabilecek durumlarda bu fenomen ortaya çıkar [44]. Vazodilatasyon ve vazokonstriksiyona neden olan mekanizmaların dengeli çalışmamasından kaynaklandığı öne sürülebilir. Damar duvar anormallikleri ya da vasküler tonusu kontrol eden nöronal değişiklikler [45] ve vasküler endotel hasarlanmasının Raynaud Fenomeni patogenezinde önemli rol oynayabileceği düşünülmektedir [46]. Tekrarlayan vazospastik atakların

oksijen reperfüzyon hasarına neden olarak endotel yaralanmasına ve tromboza neden olabileceği, parmak damarlarındaki trombüsün ise patofizyolojide önemli katkıları olabileceği gösterilmiştir [47]. Endotel hasarı bu yıkımın kısır döngüye neden olmasına yol açan diğer vasküler hasar yapıcı sitokinlerin salınımına neden olur ayrıca endotel kaynaklı Nitrik Oksit (NO) salınımında azalmaya yol açar. Azalan NO seviyesi ise vazospazma katkıda bulunan önemli bir faktördür.

Patogeneizde nörohormanal faktörlerde suçlanmaktadır. Endotelin-1 kuvvetli bir vazokonstriktör ajandır ve bu hastalarda anormal yüksek bulunmuştur. Ayrıca potent bir vazodilatatör ajan olan Kalsitonin Gen Salıcı Peptid (CGRP) seviyeleri düşük bulunmuştur [48].

Raynaud Fenomeni olan hastalarda hipervizkozite sendromunun olduğu uzun yıllardır bilinmektedir ve artan viskozite nedeni ile Raynaud Fenomeni semptomlarının oluşabileceğini açıklamak mümkündür [49].

#### **1.2.4 KLİNİK**

Raynaud hastalığı en çok elleri etkiler. Hastaların ayaklarında da benzer şikayetleri olmasına karşın daha sık ellerde görülen Raynaud Fenomeni nedeni ile hastaneye başvururlar. Klasik Raynaud Fenomeni soğuk veya emosyonel stres maruziyeti sonrasında ani başlayan solukluk ve arakasından siyanoz ile karakterizedir. Toplam atak süresi 15-20 dakika kadar sürer. Bu şikayetler yanında hastalarda iskemi ya da kan akımının yavaşlamasına bağlı iğne batması, karıncalanma, ağrı gibi semptomlarda görülebilir.

Özellikle soğuk maruziyetinin atağı başlattığı tüm hastalar tarafından dile getirilen ortak bulgudur. Aşırı soğuk maruziyetine ek olarak hafif soğuk ya da sıcak ortamdaki soğuk ortama geçmekte atağı provoke edebilir.

#### **1.2.5 TANI**

Hastalığın tanısı ani başlayan ve tipik semptomların eşlik ettiği anamnez ile konur. Atağı başlatmak ve atak şeklini görmek için örneğin

soğuk su ile provaksyon testleri, sonuçları çelişkili olması nedeni ile önerilmemektedir. Ek olarak soğuk maruziyeti sonrası hastalara parmak tansiyonu ölçülmesi, parmak sıcaklığının değerlendirilmesi ve parmak kan akımının ölçülmesi primer Raynaud Fenomeni'ni sekonder Raynaud Fenomeni'nden ve normal sağlıklı bireylerden ayırt etmekte kullanılabilir [50].

Soğuk maruziyeti sonrası ellerde ve ayaklarda üşüme hissi normal populasyonda hâlihazırda çok sık görülen bir semptomdur ve bu semptomu Raynaud Fenomeni'nden ayırt etmek gerekir. Raynaud Fenomeni'li hastalarda soğuk cilt ile birlikte beyaz renk değişikliği de mevcuttur. Ancak normal bireylerde ufak beneklenmeler dışında renk değişikliği olmaz. Ayrıca normal bireylerde Raynaud Fenomeni'li bireylerde görülen vasküler akımın geri dönmeye bağlı olarak ortaya çıkan yine mavi renk değişikliği ile karakterize geri dönüş fazı da olmaz.

Raynaud Fenomeni tanısını kesinleştirmek ve hastalık ciddiyetini belirleyebilmek için klinik olarak kullanılacak kriterler geliştirilmiştir. Buna dayanarak

- a) Tekrarlayan ataklar halinde soğuğa maruziyet sonucu bir fazlık renk değişikliği olması kesin Raynaud Fenomeni olarak tanımlanır
- b) Aralıklı olarak soğuk maruziyeti sonrasında unifazik renk değişikliği olması ve bunun yanında parestezi ve uyuşukluk olması olası Raynaud Fenomeni olarak tanımlanır.
- c) Soğuğa maruziyet sonrası hastalarda renk değişikliği yoksa parestezi olması, uyuşukluk olması ve/veya üşüme hissi Raynaud Fenomeni tanısını koydurmaz.

### **1.2.6 PRİMER VE SEKONDER RAYNAUD FENOMENİ**

Primer Raynaud Fenomeni genç yaşta özellikle 15-30 yaş arasında ve kadınlarda daha sık görülür [51]. Tanı koymak için 1932 yılında ilk olarak Allen ve Brown tarafından ortaya atılan kriterler kullanılmaktadır [52].

Günümüzde primer Raynaud Fenomeni tanısı için kullanılan kriterler şunlardır:

- a) Simetrik epizotik ataklar olması
- b) Periferik vasküler bir hastalıkla ilgili bir kanıt olmaması
- c) Doku gangreni ya da yaralanma olmaması
- d) Tırnak dibi kapiller incelemesinin negatif olması
- e) Anti Nükleer Antikor titresinin normal olması ve eritrosit sedimentasyon hızının normal olması

Primer Raynaud Fenomeni'nin kendiliğinden iyileşebileceğini gösteren çalışmalar mevcuttur. 7 yıllık izlem sonucu orta yaşlı Kafkas ırkından olan hastalarda izlem sonucunda %64 hastada Primer Raynaud Fenomeni remisyona girmiştir [53].

Parmak ve cilt kan akımını etkileyecek bazı hastalıkların Raynaud Fenomeni ile birlikteliği görülebilir. Bu şekilde ortaya çıkan Raynaud Fenomeni sekonder olarak değerlendirilir. Sekonder olarak Raynaud Fenomeni'ne neden olabilen hastalıklar şöyle sıralanabilir:

- a) Diğer konnektif doku hastalıkları (mix konnektif soku hastalıkları, overlap sendromları, polimiyozit, dermatomiyozit, romatoid artirit, Sjögren Sendromu, vaskülitler)
- b) Okluziv vasküler hastalıklar (ateroskleroz, Burger Hastalığı, ateroemboliler)
- c) Kriyofibrinojenemi, kriyoglobulinemi gibi soğuk aglutinin hastalıkları
- d) İlaçla indüklenen (amfetamin, B blokerler, kokain, bleomisin, sisplatin, nikotin, interferon alfa vb.)

## 1.3 FİBROMYALJİ

### 1.3.1 TARİHÇE

Fibromiyalji Hipokrattan bu yana süregelen bir hastalıktır. Herhangi bir fiziksel bulgu söz konusu olmadan multiple somatik şikayetler ile kendini gösteren bir hastalık olup uzun dönemden bu yana bilinmektedir. Ancak modern tanımı 1843 yılında Froriep tarafından romatizmal bir hastalık olduğu ve kasta ağırlı noktalar ile birlikte süregittiği bildirilmiştir [54]. Musküler romatizma, psikojenik romatizma, non- artiküler romatizma terimler geçmiş dönemlerde hastalık için kullanılmış olsa da şu anda yaygın kullanılan fibromiyalji terimi ilk kez Hench tarafından ortaya atılmıştır [55]. Hastalığın psikolojik ve sosyal nedenlerle ağırlaştırılabileceği ilk kez 1950'li yıllarda araştırılmaya başlanmıştır. İlk kez 1968 yılında Trout fibromiyaljiyi yaygın kas-iskelet sistemi ağrısı, uyku bozukluğu, yorgunluk, tendonların yapışma yerlerinde hassasiyetle karakterize bir hastalık tablosu olarak tanımlanmıştır. Fibromiyaljinin sık hastaneye başvurma şikayeti olması ve son yıllarda sıklığının giderek artması nedeni ile çok merkezli çalışmalar yapılmış ve fibromiyaljinin daha net tanımı ve tanı kriterleri belirlenmeye çalışılmıştır [56]. 1990 da Amerikan Romatoloji Cemiyeti (American College of Rheumatology, ACR ) tarafından ilk sınıflandırma kriterlerini yayınlamışlardır [57]. Daha sonra bu kriterler 2010 yılında değiştirilmiştir [58,59].

### 1.3.2 TANIM

Fibromiyalji yaygın kas ağrısı ve çok sayıda spesifik lokalizasyonda aşırı hassasiyet olması ile karakterize bir romatizmal hastalıktır [60]. Eşlik eden diğer hastalıklara bağlı olarak ya da tek başına fibromiyalji semptomu olarak bu hastalarda bitkinlik, uyanmakta güçlük çekme, tremor, terleme, parestezi, şişkinlik hissi, anksiyete, ellerde ayaklarda uyuşukluk ve üşüme hissi ve irritabl barsak sendromundaki semptomlara benzer mide ve bağırsak şikayetleri görülebilir [61,62].

Belli bir nedene dayandırılmayan kas iskelet sistemi ağrıları çok eski zamanlardan beri bilinmesine karşın fibromiyalji sendromunun tanımlanması ve sınıflandırılması ancak son yıllarda mümkün olmuştur [63]. Bu gelinen

noktada elde edilen verilere göre fibromyalji sendromu, yaygın kas ağrısı, çok sayıda spesifik anatomik lokalizasyonda (hassas noktalar) aşırı hassasiyet ile karakterize sık görülen bir romatizmal hastalıktır. Hasta eğitimi, psikoterapi, bilişsel davranış tedavisi, fiziksel tıp uygulamaları, egzersiz, hidroterapi ve medikal tedavi yöntemleri hastalık tedavisinde sık olarak kullanılır [64,65]. Tedavilere verilen yanıtın farklı olması ve muhtemelen her hastanın farklı patofizyoloji ile FMS tanısı alması nedeni ile hastaların tedavilere verdikleri yanıt farklılık göstermektedir. Yukarıda sayılan tedavi yöntemlerinin herhangi birisi maalesef tek başına yeterli etkin tedavi sağlamaz. Bu nedenlerle sürekli ağrılarla seyreden ve tedaviye yeterli yanıt alınamayan hastaların uzun dönem takipleri ve tedavileri oldukça zordur.

### **1.3.3 PATOFİZYOLOJİ**

Fibromiyaljinin etyolojisi tam olarak anlaşılammış olmasına rağmen çeşitli faktörler suçlanmaktadır. Genetik ve çevresel faktörlerin yanında biyokimyasal değişiklikler, santral sinir sistemi ile ilgili hastalıklar, psikolojik ve nörohormonal etkenler hastalık etiolojinde değerlendirilmiş pozitif ve negatif yönde kanıtlar elde edilmiştir [66,67]. Fibromyalji tanısı almış hastaların birinci derece akrabalarında benzer semptomların olması ya da romatolojik bir hastalık saptanması sık görülen bir durumdur ve hastalığın genetik yatkınlığının bir göstergesi olarak kabul edilebilir [68]. Bu konuda Türkiye’de yapılan bir çalışmada Yunus ve ark. ailevi yatkınlık olduğunu göstermişlerdir. Aynı çalışmada herhangi bir histokompatibilite antijeni ile hastalık arasında anlamlı birliktelik saptanmamıştır [69]. Fibromyalji sendromlu hastalarda 5-HTT geninde polimorfizm olduğunu gösteren çalışmalar neticesinde en azından genetik faktörlerin bu hastalığın ortaya çıkmasında primer neden olmasa da risk faktörü olarak sayılabileceğini göstermiştir [70]. MTHFR mutasyonu olan hastalarda kas kanlanması sağlayan damarlarda oluşabilecek mikrotrombüsler kas kanlanma bozukluğuna neden olabileceği için özellikle mutasyona sahip olan hastalarda fibromyalji sendromu sıklığı mutasyon olmayan popülasyona göre artmış olarak saptanabilir.

### 1.3.4 EPİDEMİYOLOJİ

Fibromiyalji sık görülen bir sağlık sorunudur. Bu hastaların romatoloji tarafından daha sık karşılanmaları nedeni ile özellikle romatologlar tarafından yapılan çalışmalarda %10,2-14,9 arasında değişen sıklıkta İspanya, Avustralya ve Meksika'da saptanmıştır. Coğrafi bölgelere göre dağılım incelendiğinde hastalığın sıklığında herhangi bir değişiklik saptanmamış ancak beyaz ırkta daha sık olduğu tespit edilmiştir [71]. Fransa'da yapılan bir çalışmada prevalansı %1,6 olarak bulunmuştur [72]. Kadınlarda sık görülmesini toplumda kadınların yoğun bulunmasına bağlayan çalışmaların aksine eşit dağılım görülen toplumlarda yapılan çalışmalarda da kadınlarda 6 kez daha sık görüldüğü ortaya çıkmıştır [73,74].

### 1.3.5 KLİNİK

Sıklıkla kognitif ve duyu durum bozukluklarının eşlik ettiği yaygın kas ağrıları ve yorgunlukla karakterizedir. Genellikle ağrı vücudun her iki yanında ve hem üst hem de alt vücut yarısındadır. Ağrının başlangıç yeri olarak çoğunlukla boyun ve omuzlar gösterilebilir. Hastalar tipik olarak sürekli ağrı varlığından ve bu ağrının hayat kalitesini düşürdüğünden şikâyetçidir. Bu hastalara yapılan fizik muayenede herhangi bir sinovit bulgusuna rastlanmaz [75].

Bir başka kardinal semptom ise yorgunluktur. Genellikle hastalar uykudan uyandıığında yorgunluk hisseder. Buna ek olarak minor aktiviteler hastaların ağrı ve yorgunluk gibi semptomlarında artmaya neden olur. Uzun süreli devam eden yorgunluk ve nedeni bulunamayan ağrı nedeni ile hastaların %30 – 50'sinde tanı anında depresyon ya da anksiyete bulunur [76]. Hastaların büyük çoğunluğunda tanı anında fibromiyalji semptomlarının yanında anksiyete ve depresyona ait olan semptomlar yakınmalara eşlik edebilir.

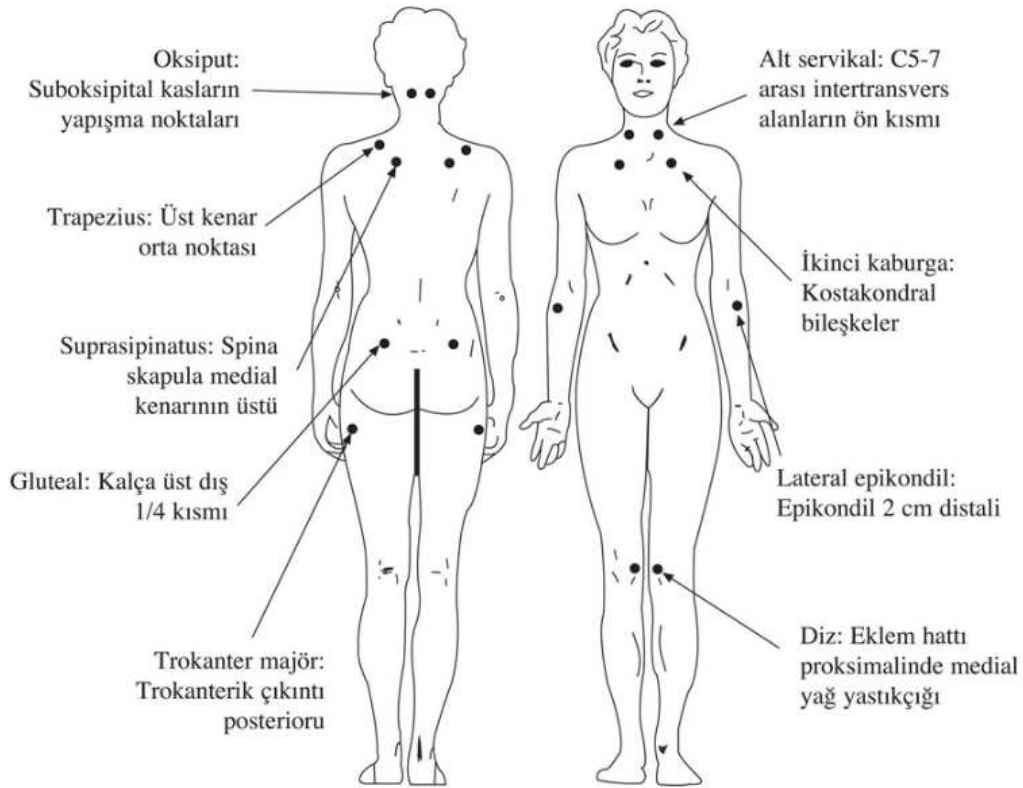
Yukarıda sayılan semptomlara ek olarak hastaların yaklaşık %50'sinde ortaya çıkan baş ağrısı [77], nedeni tam olarak aydınlatılamamış olan göğüs



ağrısı ve karın ağrısı, irritabl barsak sendromuna bağlı olabilecek semptomlar, pelvik ağrı, üriner semptomlar da hastaların hastaneye başvurusu aşamasındaki yakınmaları arasında bulunabilir [78,79,80].

### 1.3.6 TANI

Tanı genel olarak hasta yakınmaları hikayesine dayanarak konur. Genellikle hastalar kronik olarak kas ve eklem ağrılarında şikayet ederler ancak ne fizik muayenede ne de laboratuvar analizlerinde inflamasyon bulgusuna rastlanmaz. Her bir vücut yarısında dokuz adet olmak üzere toplam 18 hassas noktanın varlığının fizik muayenede saptanması anlamlı olabilecek bir bulgudur. Bu noktalar şekil 2'de gösterilmiştir. Bu hassas noktalar fizik muayene aşamasında bulunup üzerine 4 kg'lık basınç uygulanır. Bu basınç uygulaması sırasında ağrı hissedilmesi pozitif fizik muayene bulgusu olarak kaydedilir; ancak daha fazla basınç uygulanması yanlış pozitif sonuçlara neden olabilir [81]. Tanı koyabilmek için tanımlanmış olan 18 hassas noktanın en az 11 tanesinde hassasiyet bulunmalıdır.



**Şekil 2.** Fibromiyalji hastalarında fizik muayenede değerlendirilmesi gereken hassas noktalar [82]

Hastalığın erken tanısını koymak ve tedavi başlanmasını öngörmek için maalesef bulunmuş herhangi bir laboratuvar yöntemi yoktur. Herhangi bir objektif bulgu olmamasından dolayı da fibromiyalji tanısı tartışmalıdır. Bu nedenle hasta homojenizasyonun sağlanması, tanı ve hasta sınıflamasının doğru yapılabilmesi için birçok tanı kriteri geliştirilmeye çalışılmıştır. 1990 yılında Amerikan Romatoloji Derneği (ACR) kriterleri yayınlandıktan sonra yapılan çalışmaların büyük kısmında bu sınıflama kullanılmıştır. Ancak 2010 yılında revize edilen yeni tanı kriterleri kullanılmaya başlanmıştır ve bir hasta bu üç kriteri de sağlarsa fibromiyalji tanısı alır.

2010 yılında kabul edilen fibromiyalji tanı kriterleri şu şekildedir:

- 1) Yaygın ağrı indeksi (WPI)  $\geq 7$  ve semptom ciddiyeti (SS) ölçek skoru  $\geq 5$  ya da WPI 3-6 ve SS ölçek skoru  $\geq 9$ .
- 2) Semptomlar benzer düzeyde en az 3 aydır mevcut.
- 3) Hasta ağrısı açıklayan başka bir bozukluğa sahip değil.

**WPI:** Hastanın son bir haftadır ağrı duyduğu alanların sayısını not edin. Hastanın kaç alanda ağrısı vardı? Skorlar 0 ile 19 arasında olabilir.

- Omuz kuşağı, sol
- Omuz kuşağı, sağ
- Üst kol, sol
- Üst kol, sağ
- Ön kol, sol
- Ön kol, sağ
- Kalça (trokanter), sol
- Kalça (trokanter), sağ
- Uyluk, sol
- Uyluk, sağ
- Bacak, sol
- Bacak, sağ
- Çene, sol
- Çene, sağ
- Göğüs
- Karın
- Sırt
- Bel
- Boyun

### **SS ölçek skoru**

- Yorgunluk, dinlenmiş olarak uyanmama, bilişsel semptomlar
- Yukarıdaki her 3 semptom için son bir haftadaki ciddiyet düzeyini aşağıdaki ölçeği kullanarak belirleyin:

- 0) Problem yok
  - 1) Hafif ya da gelip geçici problemler.
  - 2) Orta düzey, hatırı sayılır problemler, sıklıkla mevcut ve/veya orta düzeyde.
  - 3) Ciddi, yaygın, devamlı, hayatı zorlaştıran problemler.
- Genel olarak somatik semptomları değerlendirin, hastada hangisi olduğunu belirleyin:
    - 0) Semptom yok.
    - 1) Az sayıda semptom.
    - 2) Orta düzeyde semptomlar
    - 3) Çok sayıda semptom.
  - SS ölçek skoru 3 semptomun (yorgunluk, dinlenmiş olarak uyanmama, bilişsel semptomlar) ciddiyetinin toplamı ve genel olarak somatik semptomların kapsamının (ciddiyetinin) eklenmesiyle oluşur. Sonuç skoru 0 ile 12 arasındadır.

**Somatik semptomlar:** Kas ağrısı, irritabil bağırsak sendromu, yorgunluk, problemi düşünmek ya da hatırlamak, kas güçsüzlüğü, baş ağrısı, karında ağrı/krampten, uyuşma/karıncaalanma, baş dönmesi, insomnia, depresyon, kabızlık, üst karında ağrı, bulantı, sinirlilik, göğüs ağrısı, bulanık görme, ateş, ishal, ağız kuruluğu, kaşıntı, hırıltı, Raynaud Fenomeni, kurdeşen/şerit, kulak çınlaması, kusma, mide yanması, oral ülserler, tat duyusunda kayıp/azalma, nöbetler, göz kuruluğu, nefes darlığı, iştah kaybı, döküntü, güneşe duyarlılık, işitme güçlükleri, kolay morarma, saç kaybı, sık işeme, ağrılı işeme ve mesane spazmları.

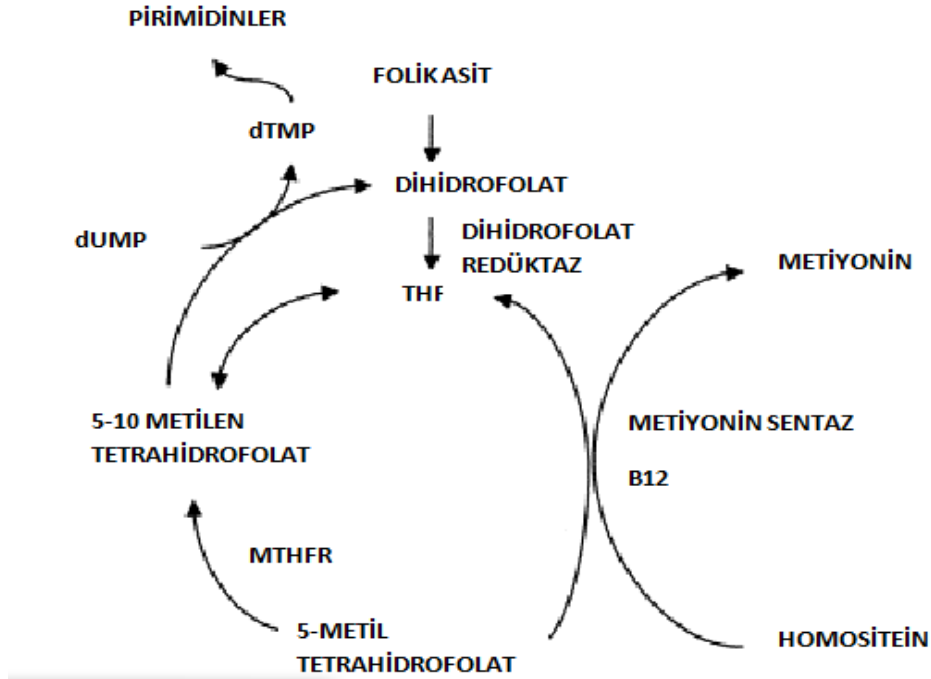
Hastalara tanı koyarken mutlaka diğer eklem ağrısı ve kas ağrısı yapan patolojiler dışlanmalı ve laboratuvar testleri uygulanmış olmalıdır. Ayırıcı tanıda sistemik inflamatuvar artropatiler, otoimmun konnektif doku hastalıkları, polimiyaljiya romatika, ya da miyopatiler akılda tutulmalıdır.

### 1.3.7 AYIRICI TANI

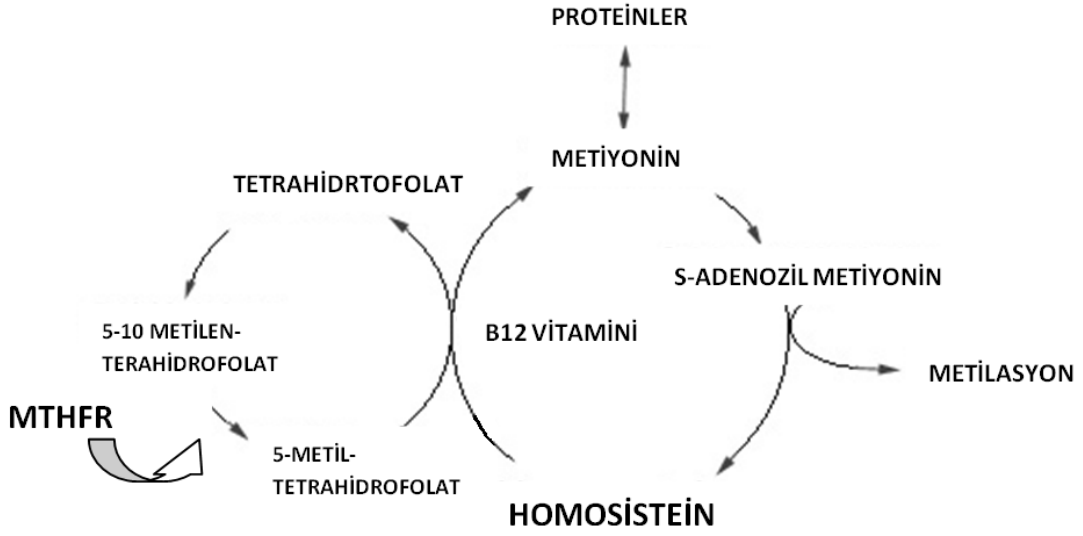
Diğer romatolojik hastalıkların yanı sıra miyofasiyal ağrı sendromu, psikojenik ağrı, kronik yorgunluk sendromu, depresyon, polimiyaljiya romatika, miyozit, hipotiroidi gibi patolojik durumlar da gözden geçirilmelidir. Miyofasiyal ağrı sendromundaki ağrı lokalizedir ve hassasiyet de ağrıya eşlik eder. Palpasyonla yansıyan ağrı oluşturan odaklar mevcuttur. Özellikle uyku bozukluğunun ve psikolojik nedenlerin eşlik etmemesi ve ayrıca lokal etkili tedavilerin etkin olması myofasiyal ağrıyı fibromiyalji sendromundan ayırır [83]. Myofasiyal ağrıda yansıyan ağrı bölgelerinde ağrıya ek olarak lakrimasyon, salivasyon, terleme ve vazokonstriksiyon gibi parasempatik sinir sistemi aktivasyonuna bağlı şikayetler görülebilir [84]. Yorgunluk psikiyatrik ve organik patolojilere bağlı olarak ortaya çıkabildiği gibi tamamen fizyolojik olarak da görülebilen, hastaların yaşam kalitesini etkileyen önemli bir problemdir. Özellikle son yıllarda artan stres ve yoğun yaşam şartları neticesinde psikolojik nedenlerle de sık olarak görülmektedir. Hastaneye başvurma nedeni olan yorgunluğun psikiyatrik bir nedenle mi yoksa organik bir nedene bağlı olarak mı ortaya çıktığının ayrımını yapmak klinisyen için son derece önemlidir. Özellikle 6 aydan uzun süren ve yaşam kalitesini etkileyen devamlı yorgunluk haline kronik yorgunluk sendromu denir ve fibromiyalji ile sık karışır. Kronik yorgunluk sendromunda da hassas noktalarda pozitif bulgular saptanabilir ancak genellikle fibromiyalji sendromundan daha az hassas nokta vardır. Buna ek olarak fibromiyaljiye oranla daha erken yaşlarda ortaya çıkar. Depresyon ya da şizofreni gibi ağır psikiyatrik bozukluklar kolayca fibromiyalji sendromundan ayırt edilse de özellikle psikojenik ağrı gibi daha hafif psikiyatrik durumlar hekimler açısından ayırt etme noktasında güçlük yaratabilir. Psikojenik ağrıda ağrının karakteri ve yeri fibromiyalji ile uyumlu olmaz. Ayrıca hastalar genellikle kas anatomisinden bağımsız bir ağrı tarifler.

## 1.4 METİLENTETRAHİDROFOLAT REDÜKTAZ ENZİMİ

Metilentetrahidrofolat redüktaz (MTHFR), MTHFR geni tarafından kodlanan bir enzimdir. Biyokimyasal olarak bu enzim 5-10-metilentetrahidrofolatı 5-metiltetrahidrofolata geri dönüşümsüz olarak çevirir. 5-metiltetrahidrofolat ise önemli bir amino asit olan metiyoninin sentezlenmesi aşamasında homosisteini metiyonine çeviren enzim olan metiyonin sentaz enzimi tarafından majör karbon vericisi olarak kullanılır. Folattan bağımsız bir enzim olan betain homosistein metiltransferaz enzimi de remetilasyon yaparak homosisteinin metiyonine dönüşümünü sağlar. 5-10-metilentetrahidrofolat ise denovo timidin sentezinde dUMP'nin dTMP'ye dönüşmesinde görev alır (Şekil 3). Bu iki önemli aktivitesinden dolayı MTHFR enzimi hem DNA sentezinde hem de önemli bir metil verici aminoasit olan metiyonin sentezinde kilit görev alır. Potansiyel toksik etkileri olan homosistein seviyesi bu enzimin aktivitesi ile doğrudan ilişkilidir (Şekil 4).



Şekil 3: MTHFR Enzim Aktivitesinin Pirimidinlerin Sentezindeki Biyokimyasal Rolü

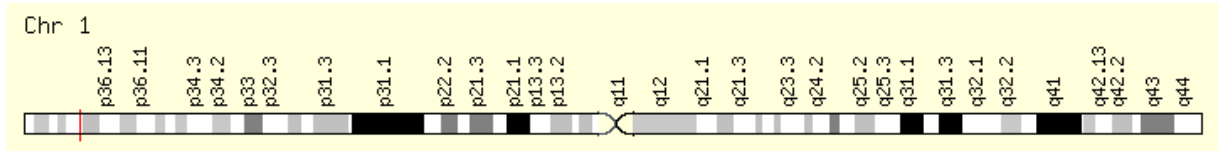


**Şekil 4: MTHFR Enzim Aktivitesinin Biyokimyasal Rolü**

## 1.5 MTHFR GENİ

MTHFR enzimini kodlayan gen 1. Kromozomda p36.3 lokalizasyonunda bulunur. Aşağıdaki 5 numaralı şekilde çizgi ile gösterilen kısım MTHFR enzimini kodlayan DNA sekansının bulunduğu noktayı göstermektedir.

**Şekil 5: 1 Numaralı kromozomda MTHFR geninin yeri**



İnsan MTHFR geninden sentezlenen cDNA 1994 yılında ilk olarak izole edilmiş ve bu DNA sekansının 2.2 kb büyüklüğünde olduğu 11 adet ekzon içerdiği gösterilmiştir [85]. Bu genden sentezlenen protein katalitik aktivitesi olan, 77 kD ağırlığında 656 aminoasitten oluşur [86]. Sentezlenen bu enzimin farklı dokularda 70 kD ağırlığında saptanmış izoformları da vardır [87].

İnsanlarda MTHFR geninden sentezlenen enzimin düzenlenmesinde alternatif poliadenilasyon formları vardır. Genellikle tüm ökaryotik genlerde tek bir fonksiyonel poliadenilasyon yöntemi bulunmasına rağmen MTHFR

geni 3' UTR bölgesinde birden fazla poliadenilasyon bölgesine sahiptir. Dolayısı ile farklı adenilasyon şekillerine göre farklı sentezlenen mRNA'lar sonucu dokulara özel ekspresyonlar meydana gelebilmektedir. Buna örnek olarak testis dokusunda sentezlenen MTHFR verilebilir. Benzer seviyelerde mRNA sentezlenmesine rağmen farklı poliadenilasyondan dolayı 2.8 ve 7.2 kb büyüklüğünde iki farklı MTHFR ürünü elde edilebilir. Sentezlenen mRNA'ların stabilizasyonunu sağlamada 3'UTR bölgesinin ve bu bölge ile ilişkilendirilmiş steroid reseptörlerinin bulunduğu anlaşılmıştır. Sonuç olarak farklı dokularda bulunan MTHFR gen ürünlerinin birden fazla poliadenilasyon bölgelerinin olması bu enzim aktivitesinin translasyonel seviyede de düzenlenebildiğini göstermektedir [88]. Enzimin N- terminal ucu katalitik aktivitesinden sorumlu iken C-terminal ucu enzim aktivitesinin düzenlenmesini sağlar. Ortamda Dihidrofolat varlığı ve S- Adenozil-Metiyonin (SAM) varlığı enzim aktivitesinde azalmaya yol açar [89]. Buna ek olarak fosforile olabilen bir enzimdir. Fosforile halde iken aktivitesi yaklaşık olarak %20 azalır ve ayrıca SAM tarafından daha kolay inhibe olabilen bir forma döner [90].

Pek çok mRNA'nın translasyonel düzenlenmesinde 5' UTR'nin katkısı olduğu gösterilmiştir. MTHFR içinse intrinsik yapısal ya da reseptörlerin bağlanması ile mRNA'nın ribozom 40S'lik alt birimine bağlanması engellenir. Bu aktivite sonucu farklı büyüklüklerde MTHFR gen ürünleri elde edilebilir. İnsanlardaki uzun MTHFR mRNA transkriptinin 5' UTR'si 2.8 kb boyutundadır. Bu bölge pek çok transkripsiyon faktörünün bağlanmasına olanak sağlamakta ve transkripsiyonun düzenlenmesine katkıda bulunmaktadır.

MTHFR geninin promoter bölgesi diğer saptanmış genlere oranla değerlendirildiğinde daha az TATA bulundurmaktadır. Ancak görülmüştür ki tek karbon döngüsünde bulunan enzimlerin büyük bir kısmı da bu şekilde daha az TATA'ya sahiptir. Bu tür promoterler zayıftırlar ve düşük kopya sayılı mRNA transkripsiyonuna sahiptirler.

## 2.6 MTHFR GEN MUTASYONLARI

Son yıllarda özellikle homosistinürlü hastalarda tanımlanmış MTHFR geninin birden fazla varyantları olduğu tespit edilmiş ve bu varyantların hastalarda farklı klinik tablolara yol açabileceği gösterilmiştir. Bu gen varyantlarının 677 C→T ve 1298 A→C olmak üzere iki çok önemli mutasyon noktası olduğu tespit edilmiştir. Bunların keşfi ardından anensefalisi olan hastalarda yapılan çalışmalar sonunda üçüncü bir gen varyantı olarak 1059T→C tespit edilmiştir. İlk iki tanımlanmış olan mutasyon toplumda daha sık olarak karşımıza çıkarken geri kalan polimorfizmler toplumda daha az yaygın görülür[91,92].

### 2.6.1 677 C→T POLİMORFİZMİ

MTHFR geni 4. ekzonda yerleşmiş bu mutasyon enzimde 222. kodonda bulunan alanin aminoasidinin valine dönüşmesine neden olur. Bu değişiklik enzimin katalitik etkisinde azalma ile karakterize olan termolabil varyantın oluşmasına neden olur. Mutasyona uğrayan bölgenin enzimin katalitik bölgesini teşkil etmesi nedeni ile enzim aktivitesinde değişikliğe yol açması 677 C→T mutasyonu MTHFR'nin kofaktörü olan FAD bağlanma bölgesinde değişikliğe yol açarak FAD'nin bağlanmasını engellemesi sonucu oluşur. Isı ile enzim inaktive edildikten sonra rezüdüel aktivite değerlendirilmesi sonucunda diğer mutasyonlara oranla daha az rezüdüel aktivite göstermesi nedeni ile termolabil varyant adını alır [93]. Bu polimorfizm sık görülen genetik mutasyonlardan biri olmakla birlikte Brezilya, Kanada ve Amerika'da %34-37 arasında, İtalya'da ise %18 oranında ortaya çıkar [94,95]. Otozomal resesif kalıtılan bu defektin homozigot olarak bireylerde görülmesi sonunda folik asit tedavisi ile düzeltilebilen orta derecede bir hiperhomosisteinemi görülebilir. Buna ek olarak MTHFR gen aktivitesinde azalma olan hastaların diyetinde düşük düzeyde folik asit alımı yine orta seviyeli hiperhomosisteinemiye neden olur.



### **2.6.2 1298 A→C POLİMORFİZMİ**

Bu mutasyon 7. ekzonda ortaya çıkar. 429. numaralı kodonda bulunan glutamatın alanine dönüşmesi sonucu enzimin karboksi terminal ucunda metiyonin regülatör bölgesi mutasyona uğrar. Dolayısı ile enzim aktivitesinde bir azalma ortaya çıkar. Bu mutasyona sahip olan MTHFR enzim aktivitesi normal enzim aktivitesinden %40 daha azdır. A→C polimorfizminin populasyon frekansı Asya toplumlarında %17-19, batı Avrupa'da %27-36 arasında olduğu bildirilmiştir [85,86].

### **2.6.3 1317 T→C POLİMOPRFİZMİ**

Diğer mutasyonlara göre enzimin aminoasit düzeyinde değişiklik yapmaması nedeni ile daha masum bir mutasyondur. Bu konuda yapılan çalışmalar sınırlıdır. Kanada'da yapılan bir çalışmada kadınlardaki frekansı %59 gibi çok yüksek bir oranda saptanırken bir başka çalışmada Amerikan kadınlarda görülme sıklığı %39 olarak bulunmuştur [85,86]. Enzimin protein diziliminde ve üç boyutlu yapısında herhangi bir değişikliğe sebep olmaması nedeni ile klinik açıdan anlamlı bir patolojiye neden olmaz.

### **2.6.4 1793 G→A POLİMORFİZMİ**

Enzimde 1793 numaralı bazda meydana gelen bu mutasyon enzim aminoasit diziliminde 594. kodonda arjininin glutamine dönmesine neden olur. Bu iki aminoasit arasındaki değişim protein bütünlüğünde de bozulmaya yol açarak enzimin katalitik aktivitesini azaltır. Bu mutasyonun toplumda görülme oranları diğer mutasyonlara göre nispeten daha azdır. Afrikan Amerikalılar'da %3, Kafkaslar'da %7, İspanyollar arasında ise %6'dır [85,86].

### **2.6.5 1059 T→C POLİMORFİZMİ**

En son tanımlanan bu polimorfizm hakkında yapılan çalışmalar son derece sınırlıdır. Amerika'da yapılan ve polimorfizmin sıklığını %85 olarak gösteren bir çalışma dışında diğer ırklar için henüz sıklığı tam olarak gösterilememiştir [85,86].

### **2.6.6 MTHFR GEN MUTASYONUNUN KLİNİK ÖNEMİ**

MTHFR geninin mutasyona uğraması sonucu folat metabolizmasının homeostazis çerçevesinde doğuştan bozuk olması seyrek olarak görülen bir durumdur. Genel olarak kabul gören görüş mutasyon sonucunda hastaların homosistein seviyelerinde yükselme olması ve bu yükselmenin de hastalık aktivitesinde rol almasıdır. Ancak bir başka görüş ise MTHFR gen mutasyonunun genotipinin hastalık etiolojisinde rol alması ve bu muhtemel mekanizmanın folat ve homosistein seviyesini etkilemesidir [96].

## 2.7 HOMOSİSTEİN

Yukarda tanımlanmış olan mutasyonların bir kısmının neden olduğu enzim aktivitesindeki azalma kardiyovasküler, serebrovasküler hastalıklarda önemli bir risk faktörü olan hiperhomosisteinemi ve homosisteinüriye neden olur [97,98]. Homosistein metionin aminoasidinin sistein amino asidine dönüşümü sırasında oluşan bir ara aminoasittir. MTHFR enzim aktivitesindeki hafif azalma özellikle arterial hastalıkların oluşumunda ciddi eksiklikleri ise periferik nöropati, strok, tromboz, koroner arter hastalığı gibi rahatsızlıklara neden olmaktadır [99]. Bilinenin aksine plazma homosistein yükseliği seviyeleri toplumda %5-7 gibi yaygın olarak görülmektedir [100]. İlk bulunmasından bu yana homosistein çeşitli patolojiler ile ilişkilendirilmiştir ve bu yönde yapılan çalışmalar halen artarak devam etmektedir. Hiperhomosisteinemi ile ilişkilendirilmiş olan hastalıklar tablo 1'de gösterilmiştir.

**Tablo 1.** Hiperhomosisteinemi ile ilişkili hastalıklar

<b>1. Ateroskleroz</b>
<b>2. Koroner arter hastalıkları</b>
<b>3. Serebral vasküler hastalıklar</b>
<b>4. Periferik arter hastalıkları</b>
<b>5. Venöz tromboembolik hastalıklar</b>
<b>6. Hemostaz bozuklukları</b> a) Platelet disfonksiyonu (TXA2 sentezinin artması) b) Prokoagülan aktivitesi (Faktör VIIIc, Von Willebrand faktör, trombin-antitrombin kompleksleri, protrombin F1 ve F2 artışı, FVII azalması) c) Nötral antitrombin aktivitenin azalması I) Antirombin III eksikliği II) Protein C eksikliği

## 2.7.1 HOMOSİTEİN METABOLİZMASI

Plazma homosistein düzeyi iki önemli metabolik yolak tarafından kontrol edilir. Birincisi homosisteinin metiyonine remetilasyon reaksiyonu ikincisi ise homoisteinin siteine transsülfirasyon reaksiyonudur. Homosistein sisteine *invivo* ortamda sistatyonin B sentaz enziminin katalizlediği bir reaksiyon ile dönüşür. Bu reaksiyon sırasında piridoksal fosfat (vitamin B6) kofaktör olarak görev alır. Homosisteinin remetilasyonu ise metiyonin üretilmesini sağlar. Bu reaksiyon ise metiyonin sentaz enzimi tarafından katalizlenir. Metiyonin sentaz ise kobalaminden sentezlenen metilkobalamini kofaktör olarak bu reaksiyon sırasında kullanır. Bu reaksiyonlar sırasında kullanılan enzimlerde defekte yol açabilecek gen mutasyonlar, vitamin eksiklikleri ve fibratlar nikotinic aist gibi ilaçların kullanımı da hiperhomosisteinemiye neden olabilir [101,102,103]. Folat, vitamin B6 ve vitamin B12 eksiklikleri kendini kanda homosistein yüksekliği ile gösterebilir [104,105]. Özellikle folik asit alımı kandaki homosistein seviyesinin kesin belirleyicileri arasındadır. Vitamin B6'nın daha zayıf kan homosistein düzeyine etki etmesine karşılık günlük ortalama 400 µg folat alımı anlamlı olarak homosistein seviyesinde azalmayla sonuçlanır [106]. Sigara kullanımı da homosistein seviyesinde artışa neden olabilir [107]. Renal atılımı olması nedeni ile kronik böbrek yetmezliği olan hastalarda hiperhomosisteinemi görülebilir. Plazma homosistein düzeyini etkileyen faktörler tablo 2'de gösterilmiştir.

**Tablo 2.** Plazma homosistein seviyesini etkileyen faktörler

KAZANILMIŞ FAKTÖRLER
<b>1. Folat eksikliği</b>
a) Diyetle alım azlığı
b) Malabsorbisyonlar
c) Metabolik hastalıklar
d) Alkol ya da ilaç kullanımı
<b>2. Kobalamin eksikliği</b>
a) Diyetle alım azlığı

- b) **Gastrointestinal hastalıklar**
- c) **Metabolik ve transport sitemindeki patoljiler**
- 3. **Vit B6 eksikliği**
- 4. **Hiperhomositeinemi ile giden hastalıklar**
  - a) **Böbrek yetmezliği**
  - b) **Kanser, psöriyazis gibi proliferatif hastalıklar**
  - c) **Hipotiroidizm**
  - d) **Romatoid artrit, Sistemik Lupus Eritamotuzus**
- 5. **İlaçlar**
  - a) **Sex hormonları, insülin**
  - b) **NO**
  - c) **Lipid düşürücü ilaçlar**
  - d) **Metformin**
  - e) **D-penisilamine**
  - f) **Proton pompa inhibitörleri**
  - g) **B6 antagonistleri**
  - h) **Sülfosalazine**
- 6. **Diğer nedenler**
  - a) **İleri yaş**
  - b) **Erkek cinsiyet**
  - c) **Down sendromu**
  - d) **Kas kitlesinin fazla olması**
  - e) **Karbonmonoksit, siyanid maruziyeti**
  - f) **Ağır egzersiz**
  - g) **Sigara, alkol, yoğun kahve alımı**
  - h) **Protein kullanımı**

## GENETİK FAKTÖRLER

1. **Folat ve kobalamin metabolizmasında görevli enzim defektleri**
  - a) **MTHFR enzim defekti**
  - b) **Metiyonin sentaz defekti**
  - c) **Metiyonin sentaz redüktaz defekti**
  - d) **Sistasyonin B sentaz defekti**
2. **Herediter hastalıklar**
  - a) **Herediter folat malabsorpsitonu**
  - b) **Transkobalamin 1 eksikliği**
  - c) **İntirnsik faktör eksikliği**
  - d) **Enterositlerden defektif kobalamin transportu (Imerslund-Grasbeck sendromu)**
  - e) **Adenosiyalokobalamin defekti**
  - f) **Kombine adenosiyanokobalamin ve metilkobalamin defekti**

### 2.7.2 LABORATUVAR TANISI

Kanda bulunan homosisteinin %75-85'i proteinlere bağlı şekilde bulunurken %15-25'i serbest halde dolaşır [108]. Normal plazma düzeyi 5-15  $\mu\text{mol/L}$ 'dir. Laboratuar analizlerinde hastaların özellikle açlık homosistein düzeyleri önemlidir. Açlık homosistein düzeyleri normal olan hastalarda halen hiperhomosisteinemiden şüpheleniliyorsa metiyonin testi yapılabilir. 100 mg/kg oral metiyonin verilmesinin ardından hastalarda açlık homosistein seviyesi 4. ve 8. saat homosistein seviyeleri ölçülür. Normal düzeyin 2 kat ve üzerinde yükseklik saptanan hastalarda bozulmuş metiyonin metabolizmasından bahsedilebilir (Tablo 3) [109]. Oral metiyonin testi sitasyon-beta-sentaz enzim aktivitesini MTHFR enzim defektine göre daha iyi değerlendirir [110].

**Tablo 3** Metiyonin testinde kullanılan normal kabul edilen plazma homosistein düzeyleri

Cinsiyet	Bazal (µmol/L)	Değer	4.Saat (µmol/L)	8.Saat (µmol/L)
<b>Erkek</b>	6,2		6,3	17,5
<b>Kadın</b>				
<b>Premenopozal</b>	6,3		14,7	17,6
<b>Postmenopozal</b>	4,8		22,4	24,7

Termolabil varyant MTHFR ile yapılan bir çalışmaya 24'ü homozigot olmak üzere 163 kişinin dâhil edilmiş açlık homosistein seviyeleri ile koroner arter hastalıkları ile arasında ilişki saptanırken homosistein testi sonrası bozuk homosistein metabolizmasına sahip hastalarla koroner kalp hastalıkları arasında ilişki saptanmamıştır [111]. Dolayısı ile metiyonin testinin prognozu göstermedeki değeri tartışmalıdır.

### **2.7.3 HİPERHOMOSİSTEİNEMİNİN ATEROTROMBOTİK ETKİSİ**

Homosistein yüksekliği özellikle son yıllarda yapılan çalışmalarda gösterilmiştir ki atherotrombotik ve atherojenik özellikleri olan bir durumdur. Arter duvarında intimal kalınlaşma, elastik laminada bozulma, arter düz kasında hipertrofi gibi patolojik nedenlere bağlı olarak arter yapısını bozmak sureti ile ve buna ek olarak platelet agregasyonunu ve birikimini artırarak trombüs oluşumuna neden olabilir [112,113,114]. Homosistein monosit kemoatraktan protein-1 ve interlökin 8 ekspresyonunu ve sekresyonunu artırır [115]. Endotelin homosisteine uzun süre maruz kalması endotel içinde etki gösteren ve endojen nitrik oksit sentaz enziminin doğal bir inhibitörü olan asimetric dimetil arjinini parçalayan dimetilarjinin dimetilhidrolaz enzim aktivitesini azaltır. Özellikle bu mekanizma endotel bağımlı vazodilatasyonun bozulmasına katkıda bulunur [116,117]. Arterial trombüs oluşumunun yanında venöz tromboz için de bu benzer mekanizmalar olması nedeni ile

normal popülasyona göre daha sık görülür. Son yıllarda yapılan çalışmalar göstermiştir ki homosistein seviyesi normal üst sınırın iki katı olan hastalarda normal popülasyona göre venöz tromboz oluşma riski 2,5 ila 2,9 kat daha sık olmuştur [118,119].



## 2. YÖNTEM VE GEREÇ

### 2.1 HASTALAR

Bu çalışma Ocak 2012 ile Nisan 2013 yılları arasında herhangi bir nedenle iç hastalıkları, hematoloji ve kadın hastalıkları ve doğum polikliniğine başvuran ve çeşitli endikasyonlarla MTHFR gen mutasyonu bakılan hastalarla yapılmış ve prospektif olarak düzenlenmiştir. Çalışmaya dâhil edilen hastaların tamamı çalışma konusunda bilgilendirildikten sonra onamları alınmıştır. Hastaların çalışmaya alınma kriterleri tablo 4'de gösterilmiştir.

**Tablo4.** Hastaların çalışmaya dahil edilme kriterleri

<b>1. Herhangi bir nedenle MTHFR gen mutasyonu bakılmış olması</b>
<b>2. MTHFR gen mutasyonu ile eş zamanlı olarak kan tetkiki yapılmış olması</b>
<b>3. Erişkin yaş grubu (yaş aralığı 25-75 arasında olan hastalar)</b>
<b>4. Hastaların çalışmaya dâhil olmayı kabul etmesi</b>

Çalışmaya dahil edilen hastaların her biri poliklinik şartlarında değerlendirilip fibromyalji, Raynaud Fenomeni ve varis yönünden değerlendirildi. Buna ek olarak hastaların yaş, cinsiyet, kadın hastalar için düşük hikayesi, tüm hastalar için ailede koroner arter hastalığı öyküsü ve düşük öyküsü sorgulandı ve kaydedildi. Her hastaya tam bir sistemik değerlendirme ve fizik muayene yapıp dışlama kriterlerini sağlayan hastalar çalışma dışı bırakıldı. Hastaların varis ve Raynaud Fenomeni tanısı fizik muayene ile fibromiyalji tanısı ise 2010 ACR tanı kriterlerine göre kondu. Antinükleer antikor bakıldı ve pozitif olarak saptanan hastalar çalışma dışı bırakıldı. Ayrıca klinik olarak yeterli değerlendirilme sağlanamayan herhangi bir nedenle gen analizi sonuçlarına ulaşamayan hastalar çalışma dışı bırakıldı. Çalışma dışı bırakılma kriterleri ise tablo 5'de gösterilmiştir.

Tablo 5. Çalışma dışı bırakma kriterleri

<b>1. Alkol ve sigara ya da başka madde kullananlar</b>
<b>2. Herhangi bir nedenle antikoagölan ilaç kullananlar</b>
<b>3. Trombofiliye yol açabilecek sistemik ya da romatolojik bir hastalığı olan hastalar (Diyabet, kronik böbrek hastalığı, Sistemik Lupus Eritematozus, Romatoid Artrit)</b>
<b>4. Malignite tanısı almış yada malign bir hastalık nedeni ile tedavi görmüş hastalar</b>
<b>5. Hipotiroidik olan hastalar</b>
<b>6. Hiperürisemi nedeni ile ilaç kullananlar</b>
<b>7. 25 yaş altı ve 75 yaş üstü olanlar</b>
<b>8. Çalışmaya katılmak istemeyenler</b>

Buna göre çalışmaya alınan hastaların MTHFR gen mutasyonu sonucuna göre negatif olan hastalar sağlıklı kontrol grubu oluşturmak için kullanılırken heterozigot pozitif ve homozigot pozitif olan gönüllüler ise hasta grubu oluşturmak için kullanıldı.

## **2.2 LABORATUVAR TESTLERİ**

Hastaların MTHFR gen mutasyonu istemi ile birlikte alınan kanları eş zamanlı olarak laboratuara gönderildi ve hemen çalışıldı. Kan şekeri değeri Time-endpoint metod ile Bosch Integra 800 cihazı ile ölçüldü. Normal değer 70-110 mg/dl kabul edildi. Hastalarda lipid profilini değerlendirmek amacıyla bir gecelik açlığı takiben serum bazal kolesterol, trigliserid, HDL ve LDL Bosch Integra 800 cihazı ile ölçüldü.

## 2.3 MTHFR GEN ANALİZİ

### 2.3.1 PERİFERİK KANDAN DNA İZOLASYONU

Periferik kandan DNA izolasyonu QIAGEN QIAamp DNA Blood Mini kit(250) cat.no:51106 kullanılarak yapıldı.

Steril 1.5 ml'lik mikrosantrifüj tüpüne 20 µl Proteinaz K eklendi ve üzerine 200 µl kan örneği kondu bunun üzerine de 200 µl buffer A.L eklendikten sonra etkili bir parçalanma olması için Buffer A.L ve örnek 15 sn vorteks yapılarak homojen bir şekilde karışması sağlandı. 56 °C' de 10 dk inkübe edildi. İnkübasyon sonrası kapaktaki damlaların toplanması için kısa bir spin atırıldı. %96-100'lük etanolden lizata 200 µl eklendi. Homojen solüsyon elde edilinceye kadar yaklaşık 15 saniye vortekslendi ve tekrar kısa bir spin atırıldı. Lizat spin kolona aktarılıp, 8000 rpm de 1 dk santrifüj edildi. Toplama tüpü değiştirildi. Spin kolona bağlanan DNA 500 µl AW1 konularak yıkandı. 8000 rpm de 1 dk santrifüj edilerek toplama tüpü değiştirildi. Spin kolona 500 µl AW2 eklendi. 14.000 rpm de 3 dk santrifüj edildi. Toplama tüpü boşaltılıp, ardından max seviyede 1 dk santrifüj edildi. Spin kolon 1.5 ml'lik ependorf tüpüne aktarıldı. 200 µl A.E kolonun tam ortasına kolona değiştirilmeden eklendi. 8000 rpm de 1 dk santrifüj edildi. Spin kolon atıldı. Elde edilen DNA Real Time PCR 'da kullanılmak üzere -20 °C de saklandı.

### 2.3.2 DNA AMPLİFİKASYONU

Nuclear Laser Medicine(NLM) diagnostici MTHFR(C677T) REF:AA901 ve MTHFR(A1298C) REF:AA902 kitleri kullanılarak yapıldı.

### 2.3.2.1 REAKSİYON KARIŞIMI

Total Real Time PCR reaksiyon karışımı her bir örnek için 25 mikrolitre olacak şekilde hazırlandı. Mix 1, Mix 2 ve Taq Polimerazdan oluşan karışım her bir reaksiyon tüpüne dağıtıldı ve en son DNA örnekleri eklendi.

**Tablo 6:** Real Time PCR için amplifikasyon miksi tabloda gösterildiği gibi hazırlanır.

Reagent (Reaktifler)	MTHFR 1298 A1298C	MTHFR 677 C677
MIX 1	10,75 µl	10,75 µl
MIX 2	10 µl	10 µl
Taq polimeraz 5 U/µl (Hot start)	0,25 µl	0,25 µl
DNA	4 µl	4 µl

**Tablo 7:** İzlenen Real Time PCR programı

Denatürasyon	95 °C	15 dakika	
Denatürasyon	95 °C	15 saniye	40 cycles
Primer bağlanma	54 °C	20 saniye	
Uzama	72 °C	10 saniye	

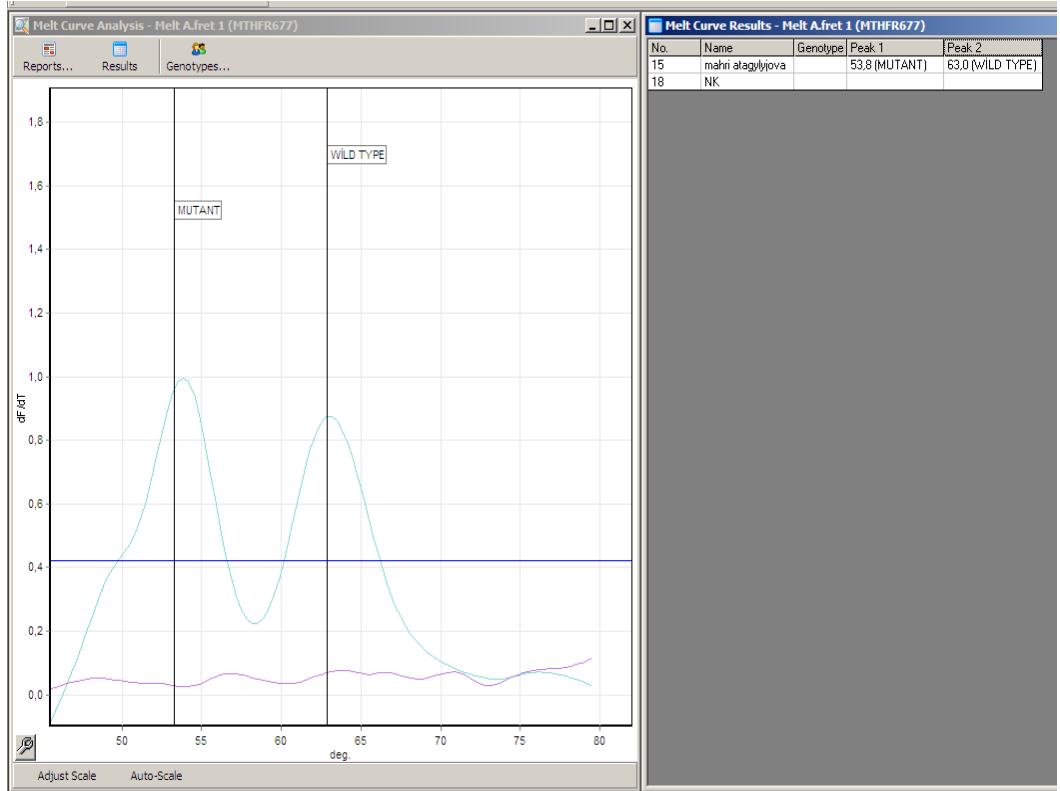
### 2.3.3 SONUÇLARIN YORUMLANMASI

Elde edilen Real Time sonuçları analiz edildikten sonra örneklerin erime eğrilerini (melting curve) gösteren grafiğe bakarak wild type, homozigot veya heterozigot olup olmadıkları aşağıdaki gibi yorumlandı.

### 2.3.3.1 MTHFR C677T MUTASYONU SONUÇ DEĞERLENDİRMESİ,

- ❖  $63.2 \pm 1.5$  C de görülen tek pik: Wild Type örnek
- ❖  $53.5 \pm 1.5$  C de görülen tek pik: Homozigot mutant örnek

Eğer iki pik gözüküyorsa: Heterozigot örnek olarak değerlendirilip raporlandı.

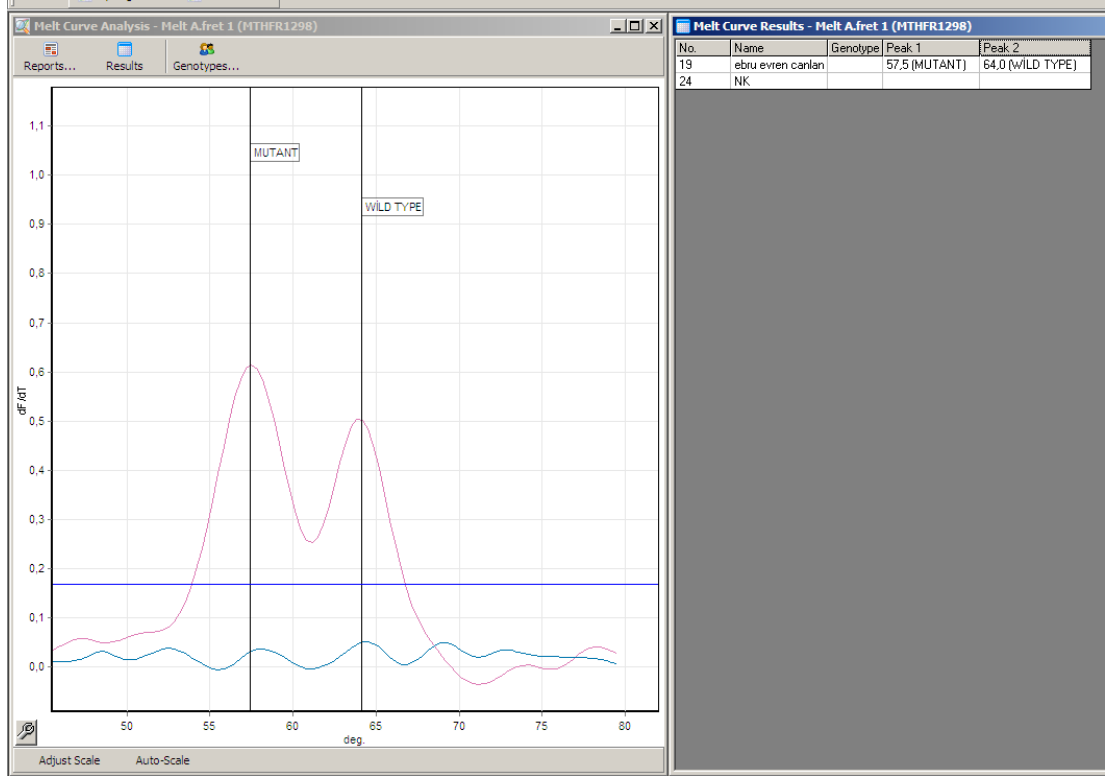


**Şekil 6:** MTHFR C677T Mutasyonu Sonuç Raporu.

### 2.3.3.2 MTHFR A1298C MUTASYONU SONUÇ DEĞERLENDİRMESİ

- ❖  $58 \pm 1.5$  C de görülen tek pik: Homozigot mutant örnek
- ❖  $64 \pm 1.5$  C de görülen tek pik: Wild Type örnek

Eğer iki pik gözüküyorsa: Heterozigot örnek olarak değerlendirilip raporlandı.



Şekil 7: MTHFR A1298C Mutasyonu Sonuç Raporu.

## 2.4 İSTATİSTİKSEL ANALİZ

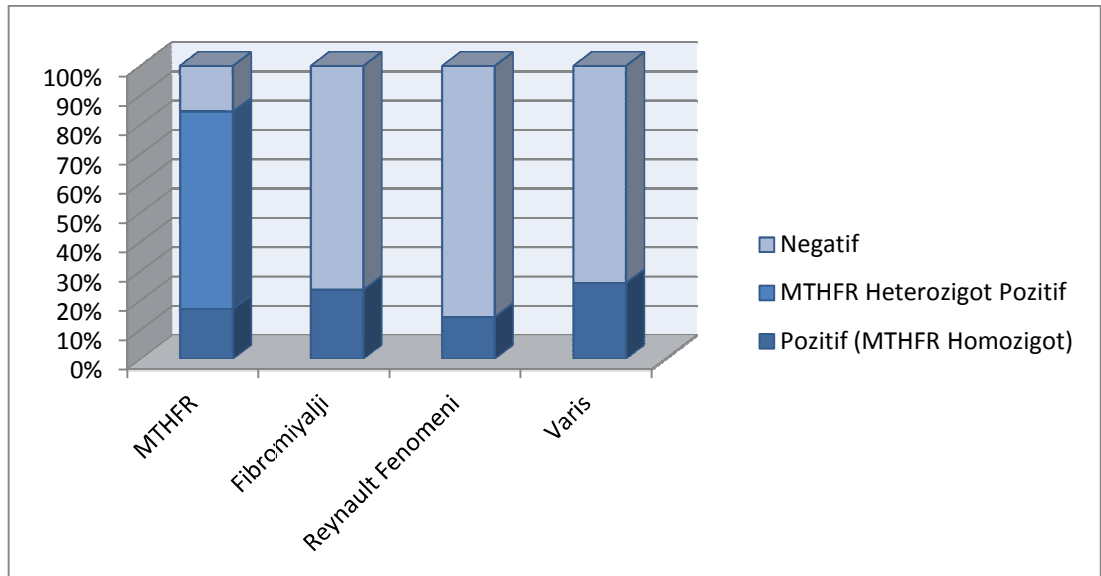
Çalışma sonunda elde edilen verilerin istatistiksel analizinde SPSS for windows 20,0 istatistik paket programı kullanıldı. Olgulara ait tüm parametrelerin sonuçlar ortalama +/- standart sapma olarak verildi. Karşılaştırmalarda One-Way ANOVA, Student's t, Pearson korelasyon testi ve Ki-kare testleri kullanıldı.  $p < 0.05$  istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

### 3. BULGULAR

Çalışmamıza yaşları 21 ile 83 arasında değişen yaş ortalaması  $38,16 \pm 13,1$  olan toplam 388 hasta dâhil edildi. Toplam hastaların 85'i (%21,9) erkek, 303'ü (%78,1) kadındı. MTHFR gen mutasyonu bakılan tüm hastalar varis, Raynoud Fenomeni, ve fibromiyalji yönünden klinik olarak değerlendirildi. Herhangi bir gruplama yapılmadan çalışmaya alınan hastaların genel özelliklerine bakılacak olursa;

MTHFR bakılan 388 hastanın 57 tanesinde (%17,7) MTHFR negatif olarak saptandı. İki yüz altmış dokuz hasta (%69,3) heterozigot, 62 hasta (%16) ise homozigot olarak bulundu. MTHFR negatif saptanan hastalar kontrol grubu olarak kullanıldı. Çalışmaya dahil edilen ve fibromiyalji yönünden sorgulanan toplam 388 hastanın 92'sinde (%23,7) fibromiyalji saptanırken 296 (%76,3) hastada fibromiyaljiye rastlanmadı. Buna ek olarak hastalarımızın 56 (%14,4) tanesinde Raynaud Fenomenine rastlanırken 332 hastada (%85,6) Raynoud Fenomeni yoktu ayrıca hastalar varis yönünden değerlendirildi ve toplam 101 (%26) hastada varis saptandı ve 287 (%74) hasta ise varis yoktu. Hastaların varis, Raynould Fenomeni ve fibromiyalji görülme sıklığı açısından değerlendirilmesi Tablo 8'de gösterilmiştir.

**Tablo 8.** Çalışmaya alınan hastaların MTHFR, fibromiyalji, Raynaud Fenomeni ve varis sıklığı yönünden değerlendirilmesi





Çalışmaya dâhil edilen 388 hastanın tamamının farklı nedenlerle MTHFR gen mutasyonuna bakıldı. Çalışmaya dahil edilen hastaların demografik özellikleri ve kan biyokimya sonuçları karşılaştırılmış ve P değerleri ile birlikte tablo 9'da gösterilmiştir.

**Tablo 9.** Hastaların demografik özellikleri ve laboratuvar bulgularının dağılımı

Özellik	Kontrol	Heterozigot	Homozigot	P
Yaş (Yıl)	36,04±0,8	39,5±12,5	44,1±13,1	0,08
<b>Homosistein (mg/ml)</b>	<b>8,06±2,4</b>	<b>9,16±3,9</b>	<b>14,76±3,0</b>	<b>0,00</b>
B12 (pg/ml)	399,25±198,6	406,05±171,11	340,18±196,27	0,24
Folik Asit (ng/ml)	11,98±6,09	9,11±4,72	9,27±3,77	0,19
<b>Ürik Asit (mg/dl)</b>	<b>4,37±1,8</b>	<b>4,80±1,7</b>	<b>6,5±2,1</b>	<b>0,00</b>
Platelet (bin/uL)	256,93±84,34	249,29±76,02	253,46±61,98	0,83
WBC (bin/ml)	7600±2300	7787±2270	7669±2167	0,88
CRP (mg/l)	8,4±3,7	8,6±3,6	7,6±2,9	0,77

Hastaların gruplara ayrıldıktan sonra homosistein düzeyleri ve ürik asit düzeyleri arasında anlamlı fark saptandı ( $p<0,05$ ). Geri kalan özellikler değerlendirildiğinde gruplar arasında istatistiksel fark yoktur. Tüm hastaların ürik asit seviyeleri ve homosistein düzeyleri arasında yapılan Pearson korelasyon analizi sonucunda ürik asit ve homosistein düzeyleri arasında anlamlı korelasyon tespit edildi ( $r=0,336$ ,  $p=0,00$ ).

Cinsiyete göre hastalar karşılaştırıldığında kontrol grubunda toplam 57 gönüllü vardı. Bunların 40'ı (%70,1) kadın, 17'si (%29,9) erkekti. Hasta gruplarında ise heterozigot hastaların 221'i (%82,2) kadın, 48'i (%17,8) erkekti. Homozigot hastaların ise 30'u (%48,4) kadın, 32'si (%51,6) erkekti. Cinsiyete göre MTHFR gen analizleri Ki-Kare testi ile karşılaştırıldığında cinsiyetler arasında anlamlı fark bulundu ( $p=0,00$ ). Kadın hasta sayısı negatif ve heterozigot gen mutasyonu olan hasta gruplarında fazla iken homozigot hastalarda kadın ve erkek hasta sayıları birbirine yakındı. Cinsiyetlere göre MTHFR dağılımı tablo 10'da gösterilmiştir.

**Tablo 10.** MTHFR gen analizi yapılan hastaların cinsiyetlerine göre mutasyonlarının dağılımı

Gruplar	cinsiyet			P ve X <sup>2</sup> değeri
	Kadın	Erkek	Toplam	
<b>Kontrol n / %</b>	40 (%70,1)	17 (%29,9)	57 (%100)	<0,00 42,57
<b>MTHFR Heterozigot n / %</b>	221 (% 82,2)	48 (% 17,8)	269 (%100)	
<b>MTHFR Homozigot n / %</b>	30 (% 48,4)	32 (% 51,6)	62 (%100)	
<b>Toplam</b>	291 (%75)	97 (%25)	388 (%100)	

Homosistein düzeyleri kontrol grubunda 47 (%77) hastada normal iken 14 (%33) hastada yüksek bulundu. MTHFR heterozigot grupta 73 (%26,5) hastanın homosistein düzeyleri normalken, 202 (%73,5) hastanın hiperhomosisteinemi vardı. Homozigot grupta ise 13 (%20,9) hastanın homozigot düzeyleri normal, 39 (%79,1) hastanın homosistein düzeyleri yüksek bulundu. Ki-Kare testi ile homosistein düzeyleri karşılaştırıldığında gruplar arasında kontrol grubuna göre hem heterozigot hem de homozigot grupta hiperhomosisteinemi sıklığının arttığı görüldü (P=0,00). Homosistein düzeyleri ve MTHFR mutasyonları arasındaki ilişki tablo 11’de gösterilmiştir

**Tablo 11. Hastaların homosistein düzeyleri ve MTHFR gen mutasyonları**

Gruplar	Homosistein Düzeyi			P ve X <sup>2</sup> değeri
	Normal	Yüksek	Toplam	
<b>Kontrol n / %</b>	47 (% 77)	14 (% 33)	61 (%100)	0,00 138,89
<b>MTHFR Heterozigot n / %</b>	73 (% 26,5)	202 (% 73,5)	275 (%100)	
<b>MTHFR Homozigot n / %</b>	13 (% 20,9)	39 (% 79,1)	62 (%100)	
<b>Toplam</b>	133 (%34,2)	255 (%65,8)	388 (%100)	

Fibromiyalji sıklığına göre gruplar karşılaştırıldı. Kontrol grubunda 4 (%7) hastanın fibromiyaljisi varken, 53 (%93) hastanın fibromiyaljisi saptanmadı. Heterozigot grupta 46 (%17,1) hastanın fibromiyaljisi saptanırken 223 (%82,9) hastada fibromiyalji yoktu. Homozigot hastalar arasında fibromiyalji sıklığı değerlendirildiğinde 42 (%67,7) hastada fibromiyalji saptandı. Yirmi (%32,3) hastada fibromiyalji saptanmadı. Fibromiyalji sıklıkları değerlendirilen hastalarda gruplar arasında fibromiyalji sıklığında anlamlı fark saptandı. Buna göre homozigot grupta ve heterozigot grupta kontrol grubuna göre anlamlı olarak fibromiyalji daha sık olarak görüldü (p=0,00). MTHFR mutasyonu ile fibromiyalji sıklığının karşılaştırılması tablo 12'de gösterilmiştir.

**Tablo 12. MTHFR mutasyonuna göre değişen fibromiyalji sıklığı**

Gruplar	Fibromiyalji			P ve X <sup>2</sup> değeri
	Var	Yok	Toplam	
<b>Kontrol n / %</b>	4 (% 7,0)	53 (% 93,0)	57 (%100)	0,00 81,72
<b>MTHFR Heterozigot n / %</b>	46 (% 17,1)	223 (% 82,9)	269 (%100)	
<b>MTHFR Homozigot n / %</b>	42 (% 67,7)	20 (% 32,3)	62 (%100)	
<b>Toplam</b>	92	296	388	

Homosistein düzeyi normal olan hastaların 36'sının (%13) fibromiyaljisi yokken, 240 (%13) hastanın fibromiyaljisi saptandı. Hiperhomosisteinemi olan hastaların 56'sında (%50) fibromiyalji saptandı, 56'sında (%50) fibromiyalji yoktu. Hastaların homosistein düzeyleri ve fibromiyalji arasındaki ilişki ki-kare testi kullanılarak değerlendirildi. Hiperhomosisteinemi olan hastalarda fibromiyaljisi olan hastaların oranı anlamlı olarak daha yüksek bulundu (p=0,00). Fibromiyalji ve homosistein düzeyleri arasındaki ilişki Tablo 13'de gösterilmiştir.

**Tablo 13.** Fibromiyalji ve homosistein arasındaki ilişki

Kan homosistein düzeyi	Fibromiyalji			P ve X <sup>2</sup> değeri
	Var	Yok	Toplam	
<b>Normal</b> n / %	36 (% 13,0)	240 (% 87,0)	276 (%100)	0,00 60,154
<b>Yüksek</b> n / %	56 (% 50)	56 (% 50)	112 (%100)	
<b>Toplam</b>	92	296	388	

Raynaud Fenomeni kontrol grubunda 9 (%15,7) hastada saptanırken MTHFR heterozigot 32 (11,9) hastada, MTHFR homozigot 24 (%38,7) hastada saptandı. Buna karşılık 48 (%84,3) hastada Raynaud Fenomenine rastlanmadı. MTHFR heterozigot, 237 (%88,1) hastanın Raynaud Fenomeni negatif, homozigot 38 (%61,3) hastanın negatifti. Elde ettiğimiz sonuçlara göre Raynoud Fenomeni sıklığı MTHFR mutasyonuna göre değişmektedir. Kontrol grubunda ve heterozigot grupta benzer sonuçlara rastlanırken homozigot grupta anlamlı olarak Raynaud Fenomenine sık rastlanmıştır ( $p<0,00$ ). MTHFR mutasyon derecesine göre değişen Raynoud Fenomeni sıklığı tablo 14'de gösterilmiştir.

**Tablo 14.** Raynaud Fenomeni MTHFR mutasyonuna göre görülme sıklığı

Gruplar	Raynaud Fenomeni			P ve X <sup>2</sup> değeri
	Var	Yok	Toplam	
<b>Kontrol n / %</b>	9 (% 15,7)	48 (%84,3)	57 (%100)	0,00 40,60
<b>MTHFR Heterozigot n / %</b>	32 (% 11,9)	237 (% 88,1)	269 (%100)	
<b>MTHFR Homozigot n / %</b>	24 (% 38,7)	38 (% 61,3)	62 (%100)	
<b>Toplam</b>	65	323	388	

Homosistein düzeyleri ve Raynaud Fenomeni arasındaki ilişkiye bakılırsa 19 (%6,9) hastanın kan homosistein düzeyi normal ancak buna karşılık Raynaud Fenomeni vardı. Kan homosistein düzeyi normal olan 257 (%93,1) hastada ise Raynaud Fenomenine rastlanmadı. Homosistein düzeyi yüksek olan hastalarda ise 37 (%33) hastada Raynaud Fenomeni saptanırken 75 (%67) hastada saptanmadı. Raynaud Fenomeni ve homosistein düzeyleri arasındaki ilişki ki-kare testi ile değerlendirildi. Raynaud Fenomenine MTHFR grubuna benzer olarak yüksek homosistein düzeyi olan hastalarda anlamlı olarak daha sık rastlandı (P=0,00). Raynaud Fenomeni ve kan homosistein düzeyi arasındaki ilişki Tablo 15' de gösterilmiştir.

**Tablo 15.** Raynaud Fenomeni ve homosistein arasındaki ilişki

Kan homosistein düzeyi	Raynaud Fenomeni			P ve X <sup>2</sup> değeri
	Var	Yok	Toplam	
<b>Normal</b> n / %	19 (% 6,9)	257 (% 93,1)	276 (%100)	0,00 44,120
<b>Yüksek</b> n / %	37 (% 33)	75 (% 67)	112 (%100)	
<b>Toplam</b>	56	332	388	

Varis ve MTHFR mutasyonu arasındaki ilişki değerlendirilirse; kontrol grubunun 12'sinde (%19,3) varis saptanırken 46'sında (%80,7) varis saptanmadı. Heterozigot grupta 70 (%26,1) hastada, homozigot grupta ise 20 (%32,3) hastada varis saptandı. Heterozigot grupta 198 (%70,3) hastada, homozigot grupta ise 42 (%67,7) hastada varise rastlanmadı. Çalışmaya alınan hastalardaki varis sıklığının MTHFR mutasyonu ile ilişkisi değerlendirildiğinde heterozigot ve homozigot grupta daha sık varis rastlanmış olmasına rağmen bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ( $p>0,274$ ). MTHFR mutasyonuna göre hastaların varis sıklığının dağılımı tablo 16'da gösterilmiştir.

**Tablo 16.** Varis ve MTHFR mutasyonu arasındaki ilişki

Gruplar	Varis			P ve X <sup>2</sup> değeri
	Var	Yok	Toplam	
<b>Kontrol n / %</b>	12 (% 19,3)	46 (% 80,7)	57 (%100)	0,274 2,58
<b>MTHFR Heterozigot n / %</b>	70 (% 26,1)	198 (% 73,9)	269 (%100)	
<b>MTHFR Homozigot n / %</b>	20 (% 32,3)	42 (% 67,7)	62 (%100)	
<b>Toplam</b>	102	286	388	

Kan homosistein düzeyi ve varis sıklığı karşılaştırılırsa; homosistein düzeyi normal olan 214 (%77,5) hastanın varisi yokken 62 (22,5) hastanın varisi saptandı. Hiperhomosisteinematik hastaların ise 39'unda (%34,8) varis saptanırken 73,ünde (%65,2) varis saptanmadı. MTHFR mutasyonunun aksine homosistein düzeyleri ile varis sıklıkları arasındaki ilişki Ki-Kare testi ile değerlendirildiğinde varis sıklığı hiperhomosisteinematik olan hastalarda anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur (p=0,015). Varis sıklığı ve plazma homosistein düzeyi arasındaki ilişki Tablo 17'te gösterilmiştir.



**Tablo 17.** Varis ve homosistein arasındaki ilişki

Kan homosistein düzeyi	Varis			P ve X <sup>2</sup> değeri
	Var	Yok	Toplam	
<b>Normal</b> n / %	62 (% 22,5)	214 (% 77,5)	276 (%100)	0,015 6,31
<b>Yüksek</b> n / %	39 (% 34,8)	73 (%65,2)	112 (%100)	
<b>Toplam</b>	101	287	388	

#### 4. TARTIŞMA

Çalışmamız toplumda sık olarak görülen sağlık sorunları olan Raynaud Fenomeni, varis ve fibromiyaljinin genetik temelli bir başka patoloji olan MTHFR mutasyonu ile ilişkisinin olup olmadığını değerlendirmek üzere dizayn edildi.

Çalışma İç Hastalıkları, Hematoloji ve Kadın Hastalıkları ve Doğum Polikliniği'ne başvuran hastalar üzerinde yürütüldü. MTHFR gen mutasyonu saptanan hastaların infertilite nedeni ile başvuran hastalarıda kapsamı ve hastaların önemli bir bölümünün bu poliklinikten alınması nedeni ile hasta yaş ortalaması 38'dir. Ancak çalışmaya dahil etme kriteri olarak hastalarda herhangi bir sınır yaş belirlenmedi.

Homosistein metabolik yolağında üç ana enzim bulunmaktadır. MTHFR, metiyonin sentaz ve sistatyonin B sentaz enzimlerinde meydana gelecek herhangi bir defekt bu metabolizmanın sekteye uğramasına ve kan homosistein düzeyinin artmasına yol açacaktır. Yüksek kan homosistein düzeyinin hipometilasyon yapıcı etkisi olması ve açilleme etkisi olması nedeni ile endotel üzerine zararlı bir metabolit olduğu gösterilmiştir [120]. Buna ek olarak neden olduğu bu endotel hasarı nedeni ile tromboz riskinde artışa da yol açar [121]. Tek başına MTHFR gen mutasyonunun enzim aktivitesinde azalmaya yol açması sonucu yüksek homosistein düzeylerine neden olması ve tromboz için önemli bir risk faktörü olduğunu gösteren çalışmaların yanında MTHFR gen mutasyonuna ek olarak diğer enzim mutasyonlarının olması ya da koagülasyona neden olacak diğer gen mutasyonları ile birlikte olmasının tromboz açısından daha büyük risk oluşturduğunu söyleyen çalışmalar da vardır [122]. MTHFR geninde meydana gelen mutasyon metabolik yolda yavaşlamaya neden olarak folat seviyelerinde azalmaya ve plazma homosistein düzeylerinde artışa neden olur [123,124,125,126,127]. Ancak çalışmalara göstermişirki enzim aktivitesindeki azalma folik asit seviyelerinde düşüşe neden olmaz. Diyetle artmış folik asit ihtiyacı yeterli beslenme ile kompanse edilebilir.

Geniş çaplı epidemiyolojik ve deneysel çalışmalar hiperhomositeinemi ve tromboz arasında ciddi bir ilişki olduğunu kanıtlamıştır. Bu konuda yapılmış retrospektif vaka kontrol çalışmaları bu iki durum arasındaki ilişkiyi gösterirken buna ek olarak yapılmış prospektif çalışmalar hiperhomositeineminin tromboz için risk faktörü olduğunu göstermişlerdir [128]. Bu konuda yapılmış iki önemli çalışmadan biri olan McCully çalışması hiperhomositeineminin prematür aterosklerozda önemli bir risk faktörü olduğunu gösterirken, Wilcen and Wilcen çalışması koroner arter hastalıklarının etiolojisinde ve patofizyolojisinde hiperhomositeineminin yeri olduğunu göstermiştir [129]. Vasküler tıkaçıcı hastalıklarda önemli bir risk faktörü olduğu bilinen hipertansiyon, hiperlipidemi, diyabetes mellitus ve sigara kullanımı gibi plasma homositein düzeylerinin yükselmesi de periferik arter tıkaçıcı hastalıkları için bağımsız bir risk faktörüdür [130,131]. Daha küçük çaplı araştırmalara göre hiperhomositeinemi ve periferik arter hastalıkları arasında, strok ve koroner arter hastalıkları arasında pozitif bir ilişki vardır [132,133]. Bu konuda yapılan çalışmaların sayısının artması ile meta analizler elde edilmiştir. Yirmiyedi retrospektif çalışmanın kullanılması ile yapılan bir meta analizde Roushey ve ark. Vasküler trombotik hastalıklar ile hiperhomositeinemi arasındaki ilişkiyi değerlendirmişlerdir [134]. Bu çalışmanın sonucuna göre plazma homositein düzeyinde 5µmol/L'lik artış; koroner arter hastalıklarında 1,6 kat, serebrovasküler hastalıklarda 1,5 kat ve periferik arter hastalıklarında ise 6,8 kat gibi yüksek bir oranda artış saptamışlardır. Bu sonuçlara paralel olarak yapılan bir başka çalışmada Malinev ve ark. Periferik arter hastalıkları ve hiperhomositeinemi arasında anlamlı bir birliktelik olduğunu göstermektedir [135].

Konechy ve ark. Plazma homositein düzeyi ile aortik ateroskleroz arasındaki ilişkiyi değerlendirmiş ve aralarında bağımsız bir korelasyon saptamışlardır [136]. Hopkins, Dolery ve Werhoef koroner arter hastalıkları ve hiperhomositeinemi arasında ilişki olup olmadığını araştırmışlar ve hem ailesel hem de ailesel olmayan koroner arter hastalıkları ile arasında anlamlı ilişki saptamışlardır [137,138]. Bu çalışmalara ek olarak Nygard ve ark. yaptıkları retrospektif çalışmada sadece koroner arter hastalıklarında değil

ayrıca buna bağlı mortalite de hiperhomositeineminin önemli olabileceğini öne sürmüşlerdir [139]. Buna paralel olarak Wald ve arkadaşlarının yaptıkları prospektif çalışmada homositein düzeyi kontrol grubuna oranla daha yüksek plazma homositein düzeyine sahip hastalarda değerlendirilmiş ve koroner arter hastalıklarına bağlı mortalite için bağımsız bir risk faktörü olarak bulunmuştur [140,141]. Robinson ve ark. Yaptıkları bir çalışmada koroner arter hastalıkları için homosistein metabolizmasında önemli bir kofaktör olarak görev alan pridoksal fosfat düzeyinin azalması bağımsız bir risk faktörü olarak bulunmuştur [142]. Bu çalışmaya paralel olarak sonuçlanan bir başka çalışmada ise eritrositlerde ölçülen folat düzeyindeki %10 azalma ya da B6 vitaminindeki %20 azalma vasküler tıkaçıcı hastalıklar için bağımsız bir risk faktörü olarak bulunmuştur [143]. Molgrad ve ark. yaptıkları çalışmada plazma homositein düzeyleri ve folat, B12, B6 düzeyleri arasında negatif bir ilişki saptamışlardır [144]. Rimm ve arkadaşları da B6 ve folat düzeyleri ile koroner arter hastalıkları arasında ters bir ilişki olduğunu göstermişlerdir [145].

Koroner arter hastalıkları ve homosistein düzeyi arasındaki ilişkiyi değerlendirmek için Evans ve ark. tarafından yapılan çalışmada ise yukarıda anlatılan çalışmaların aksine anlamlı bir ilişki saptanmamıştır [146]. Buna benzer bir başka sonuç da Falsom ve ark. Tarafından yapılan çalışmada elde edilmiştir [147]. Bu çalışmaya göre çalışmaya dahil edilen kadınlarda koroner arter hastalıkları ve hiperhomositeinemi arasında anlamlı bir ilişki saptanırken erkek cinsiyette anlamlı bir ilişki saptanmamıştır.

Homosistein düzeyi ile tromboz arasındaki ilişkiyi değerlendirmek için yapılan yoğun çalışmalar homositein metabolizmasında önemli rolü olan MTHFR enzimi ve geni ile ilgili çalışmaların yapılmasına neden olmuştur. Ancak bu konuda yapılmış olan çalışmaların sonucu henüz çelişkilidir. Kluijments ve ark. yanı sıra Mudd ve ark. yaptıkları çalışmalar koroner arter hastalıkları için en sık görülen mutasyon olan C677T mutasyonunu bir risk faktörü olarak bulmuşlardır [148][149]. Bunun aksine Bratström ve ark. yaptıkları çalışmada

koroner arter hastalıkları ve MTHFR gen mutasyonu arasında ilişki bulunamamışlardır [150].

Bizim çalışmamızda MTHFR gen mutasyonu ile plazma homosistein düzeyleri arasında anlamlı bir ilişki saptanmıştır. Heterozigot bireylerde %73,5 yüksek homosistein düzeyleri bulunurken bu oran homozigot bireylerde %79,1'dir. Kontrol grubunda bu oran %33 olmuştur. MTHFR mutasyonu olmayan hastalarda da yüksek homosistein düzeylerine rastlanmıştır olması bu hastaların başta diyetle yetersiz alıma bağlı olmak üzere folat eksikliği ya da kobalamin eksikliğinden kaynaklanıyor olabilir. Benzer şekilde B6 vitamini eksikliği de bu hastalarda suçlanabilir. Buna ek olarak hastaların ilaç kullanma alışkanlıkları sorgulanırken hastaların aralıklı olarak kullanmakta olduğu PPI ilaçlar homosistein düzeylerinin artmasına neden olmuş olabilir.

Enzimde tek başına 1298AC ya da 677CT mutasyonlarının olması enzim aktivitesini olumsuz etkiler. Ancak her iki mutasyonun heterozigot olarak bulunduğu bireylerde enzim aktivitesinin %60 kadar azaldığı gösterilmiştir [151]. Buna ek olarak MTHFR enzim defektinde arttığı öne sürülen nöral tüp defektine her iki mutasyonun pozitif olduğu bireylerde daha sık rastlandığını gösteren çalışmalar vardır [152,153]. Ancak buna karşılık iki mutasyona aynı anda sahip olan bireylerde akut lösemi gelişim riskinin azaldığını gösteren çalışmalarda mevcuttur [154]. Bizim çalışmamızda sadece 3 hastada her iki alelin mutasyona uğradığı hasta mevcuttur.

Çalışmaya alınan kadın hasta sayısının fazla olması nedeni ile heterozigot ve kontrol gruplarında kadın hasta sayısı anlamlı olarak erkek hasta sayısından fazla saptandı. Ancak cinsiyetler kendi içinde değerlendirildiğinde erkeklerin %17,16, negatif %72,93 heterozigot ve %9,9 homozigot olarak bulundu. Kadınlarda ise bu oranlar %5,88 negatif %56,47, heterozigot %37,64 homozigot olarak bulundu.

Çalışmamıza alınan hastaların tümünde fibromiyalji sıklığı %23,7 olarak bulunmuştur. Ancak yapılan çalışmalarda bu oran %14'lerde kalmaktadır. Bu

sonuç da aynı şekilde benzer nedenlere bağlanabilir. Fibromiyalji ve MTHFR gen mutasyonu arasında çalışmamızda anlamlı bir ilişki saptanmıştır. Fibromiyalji sıklığı kontrol grubunda %4 iken heterozigot grupta %17 homozigot grupta ise %67 gibi çok yüksek bulunmuştur. Homozigot grupta çok yüksek pozitiflik saptanması buna karşılık MTHFR negatif grupta çok düşük vaka saptanmasının nedeni vaka sayısının azlığına bağlanabilir. Buna rağmen MTHFR gen mutasyonu sıklığının artması ile birlikte fibromiyalji sıklığındaki artış göze çarpmaktadır. Fibromiyaljinin patogeneğinde suçlanan kasların beslenme bozukluğu MTHFR pozitif hastalarda kas oksijenizasyonunu sağlayan arterlerde meydana gelen mikrotrombüsler nedeni ile bozulmuş bu da fibromiyalji sıklığının artmasına neden olmuş olabilir.

Primer Raynaud Fenomeni ve plazma homosistein yüksekliği ile ilgili yapılmış çalışmalara son derece sınırlıdır. Bu konuda Lewy ve ark. sistemik sklerozu olan ve Raynaoud Fenomeni olan 10 hasta ile yaptıkları çalışmada primer ve sekonder reynoud fenomeni olan hastalarda kontrol grubuna göre homosistein düzeyleri anlamlı olarak yüksek bulunmuş ancak primer ve sekonder Raynaoud Fenomeni olan gruplar arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır [155]. Aynı çalışmada elde edilen bir başka sonuç ise plazma folat düzeylerinin primer reynoud fenomeni olan hastalarda seonder Raynaud Fenomeni ve kontrol grubuna oranla yüksek bulunmasıdır. Buna benzer sonuçlar elde edilen bir diğer çalışma ise Al-Awami ve ark. yaptıkları çalışmadır [156]. Kırk iki hasta ile yapılan bu çalışmada sistemik skleroz ya da SLE gibi bir konnektif doku hastalığı olan hastalarda homosistein düzeylerinin yanı sıra Primer Raynaud Fenomeni olan hastaların homosistein düzeyleri değerlendirilmiş ve sağlıklı gönüllülerden oluşan kontrol grubu ile karşılaştırılmıştır. Sonuçta ise primer ve sekonder Raynaoud Fenomeni olan hastalar arasında homosistein düzeyleri, arasında fark bulunamazken her iki grubun da ortalama homosistein düzeyleri kontrol grubuna oranla yüksek olarak tespit edilmiştir. Buna ek olarak Caramaschi ve ark. tarafından 60 sistemik sklerozu ve en az 10 yıldır Sekonder Raynaoud Fenomeni olan olan hastalarla 2007 yılında yapılan bir çalışmada ortalama homosistein düzeyleri

kontrol grubuna oranla yüksek olarak bulunmuş ayrıca homosistein seviyesi ve tırnak yatağındaki vasküler dejenerasyonla anlamlı olarak pozitif koerele saptanmıştır [157]. Bu konuda yapılmış bir başka çalışma ise Czupryniak ve ark. tarafından 2005 yılında yapılmıştır [158]. Son dönem böbrek yetmezliği olan ve hemodiyalizle tedavi edilen hastalarda homosistein düzeyleri değerlendirilmiş ve Raynaud Fenomeni olan hastalarda olmayanlara oranla anlamlı olarak yüksek homosistein düzeyleri saptanmıştır. Bunun aksine Marasini ve ark. yaptıkları çalışmada primer raynaoud fenomeni ve kontrol grubu arasında homosistein düzeyleri arasında anlamlı fark saptanmamıştır [159]. Bu çalışmada folat ve B12 düzeyleri de değerlendirilmiş sekonder raynaoud fenomeni olanlarda primer raynaoud fenomeni ve kontrol grubuna göre düşük bulunmuştur. Bu çalışmaların tamamı erişkin yaş grubunda yapılmış olan çalışmalardır ancak benzer çalışmalara çocukluk yaş grubundada yapılmış ve primer raynaoud fenomeni olan çocuklarda da yüksek homositetin düzeylerine rastlanmıştır [160].

Hastaların MTHFR mutasyonu pozitif yada negatif olmasına bakılmaksızın genel değerlendirilmesinde Raynaud Fenomeni sıklığı %14 bulunmuştur. Toplumlardaki sıklığı %2 ila 5 arasında değişen bu hastalık bizim çalışmamızda yaklaşık iki kat daha sık bulunmuştur. Bunun nedeni çalışmaya alınan hastaların çoğunlukla kadın olması ve buna ek olarak çoğunluğunun MTHFR pozitif olması sayılabilir. Buna ek olarak bizim çalışmamızda Raynauld fenomeni ve MTHFR arasındaki ilişki değerlendirildiğinde mutasyonu olmayan ve heterozigot mutasyonu olan bireylerin benzer sıklıklarda Raynaud Fenomenine rastlanırken homozigot hastalarda anlamlı olarak daha sık Raynaud Fenomeni saptanmıştır. Hastaların yüzeysel arterlerinde MTHFR mutasyonu nedeni ile meydana gelen mikrotrombüsler bu hasta grubunda daha yüksek oranda Raynaud fenomeni ortaya çıkmasına neden olmuş olabilir.

Falkon ve ark. hiperhomositeinemi ve venöz tromboz arasında anlamlı bir ilişki olduğunu 1994 yılında göstermişlerdir [161]. Simioni ve ark. yaptıkları bir vaka kontrol çalışmasında derin ven trombozu ve hiperhomositeinemi

arasında bir ilişki olduğunu göstermişlerdir [162]. Eichinger ve ark. 264 idiopatik venöz trombozu olan hasta ile yapılan bir çalışmada hastaların %25'inde hiperhomosisteinemi saptamışlardır [163]. Buna paralel olarak Marchant ve ark. yaptıkları çalışmada 13 $\mu$ mol/L ve daha üzerinde homosistein düzeyine sahip olan hastalarda arteriel ve venöz tromboz riskinin arttığını göstermiştir [164]. Bu çalışmada risk artışı kadınlarda erkeklere göre daha yüksek ve ortalama odds oranı 7,8 olarak bulunmuştur. Ferro ve ark. yaptıkları çalışmada hiperhomosisteinemi ve diğer trombofili faktörlerinin defektif olduğu kombine hastalar ile sadece hiperhomosisteinemisi olan hastalardaki tromboz oranlarını karşılaştırmış ve kombine faktör defekti olan hastalarda sadece homosisteinemisi olan hastalara oranla yalnızca 1,7 katlık bir risk artışı saptamışlardır [165]. Ancak buna karşılık üst ekstremitelerde meydana gelen derin ven trombozu ile hiperhomosisteinemi arasında Martinelli ve ark. yaptıkları çalışmada anlamlı bir ilişki saptamamışlardır [166]. Çin'de pulmoner embolisi olan hastalarla yapılan bir çalışmada MTHFR gen mutasyonu olan ve olmayan hastalarda benzer sıklıkta emboliye rastlanmıştır [167]. Buna benzer olarak yine Taiwan'da bir çalışma yapılmış ve sonuç olarak MTHFR mutasyonunun pulmoner emboli riskini arttırmadığı öne sürülmüştür [168]. Cegran ve ark. yaptıkları çalışmada protein C, protein S, antitrombin 3 ve faktör V Leiden mutasyonu olan hastalarda yaptıkları çalışmada bu hastalarda artan homosistein düzeyinin trombozla ilişkisi olmadığını göstermiştir [169].

MTHFR mutasyonu ve venöz tromboz arasındaki ilişkiyi araştıran çalışmaların sonuçları çelişkilidir. Bu konuda yapılmış olan çalışmalarda Arrudo, Salomon ve Morgagnine ve ark. venöz tromboz için MTHFR gen mutasyonunu bir risk faktörü olarak tanımlamışlardır [170,171,172]. Buna karşılık De Stefano ve ark. yaptıkları çalışmada homozigot MTHFR mutasyonu olan hastalarla sağlıklı kontrol grubu arasında venöz tromboz açısından anlamlı bir fark bulamamışlardır [173]. Literatüre bakıldığında iki adet çalışmada homozigot mutasyonla heterozigot mutasyon karşılaştırılmış ve venöz tromboz açısından anlamlı fark saptanmıştır [142-144]. Fakat Trillot ve ark. yaptıkları çalışmada MTHFR heterozigot mutasyonunun venöz



trombozu etkilemediği gösterilmiştir [174]. Hatta bu konuda yapılmış olan bir başka çalışma olan Kluijtmans ve ark. yaptıkları çalışmada Faktör V Leiden mutasyonunun da heterozigot olduğu durumlarda venöz trombozu etkilemediğini öne sürmüşlerdir [175].

MTHFR gen mutasyonu olan ve olmayan grup karşılaştırıldığında bizim yaptığımız çalışmada varis açısından anlamlı fark bulunamadı. Toplumda varis görülme sıklığı çeşitli çalışmalarda %3-11 arasında değişen sıklıkta bildirilmiş olmasına rağmen bizim çalışmamızda %26 oranında görülmüştür. Varis sıklığının normal normal populasyona oranla daha fazla bulunmuş olmasının nedeni olarak çalışmaya dahil edilen hasta populasyonunun herhangi bir nedenle tromboz saptanıp etiyoloji araştırılması sırasında MTHFR mutasyonu istenmesi gösterilebilir. Buna ek olarak hastaların kadın hastalıkları ve doğum polikliniğine gelip gebelik sürecinde izlenen hastalar olması da varis sıklığındaki bu artışın nedeni olarak gösterilebilir. Ancak grubun kendi içinde değerlendirildiğinde varis yönünden farklı olmaması varis etiyolojisinde MTHFR gen mutasyonu haricinde tromboza neden olan diğer faktörlerin daha ön planda olduğu düşündürmektedir.

Son zamanlarda yapılan çalışmalarda plazma homosistein seviyeleri ve ürik asit düzeyleri arasında anlamlı korelasyon elde edilmiştir [176]. Homosistein ve ateroskleroz arasındaki ilişki araştırılırken ilk olarak koroner arter hastalığı olan hastalarda yüksek ürik asit seviyeleri dikkati çekmiştir. Ancak bu çalışmalarda yüksek ürik asit ve homosistein birlikteliği hastaların diüretik kullanımına ve özellikle kalp yetmezliği gelişmiş hastaların birlikte böbrek yetmezliği de geliştirmiş olmalarına sekonder olarak hiperürisemik olduklarını öne sürmüşlerdir [177]. Açıkçası MTHFR gen mutasyonu sonucu hem hiperürisemi hem de homosistein düzeyinin yükselmesinin patofizyolojisini birlikte açıklayacak mekanizma henüz tam olarak net değildir. Bugüne kadar iki ayrı genetik mutasyonun serum ürik seviyelerinde yükselişle sonuçlandığı net olarak gösterilmiştir. Bunlardan ilki hipoksantin-guanin fosforiboziltransferaz defekti ikincisi ise fosforibozil pirofosfat defektidir [178,179,180]. Bu konuda İtalyanlar tarafından yapılan bir başka çalışmada

ise MTHFR gen mutasyonu ile hiperüriseminin anlamlı olarak birlikte olduğu gösterilmiştir [181].

Bilindiği gibi hiperürisemi ya artmış üretimden ya da azalmış renal klerensin bir sonucu olarak ortaya çıkar [182]. Motti ve ark. C677T mutasyonu ile serum ürik asit seviyeleri arasında anlamlı bir ilişki olduğunu göstermişlerdir [167]. Zyo ve ark. Japon hastalar üzerinde yaptıkları bir çalışmada MTHFR gen mutasyonunun hiperürisemi için bir risk faktörü olabileceğini öne sürmüşlerdir [183]. Kore ve Çin'de de buna benzer çalışmalar yapılmış Hang ve ark. ve Yao ve ark. tarafından yapılan çalışmalarda sonuçlar benzer olmuştur [184,185]. Yehana ve Rosa metabolik sendromu ve aynı zamanda C677T mutasyonu olan hastalarda yaptıkları 2008 yılındaki çalışmada artan ürik asit seviyelerinin plazma homosistein seviyelerinde yüksek bulunması için bir risk faktörü olarak tanımlamışlardır [186]. Golbahar ve ark. yaptıkları çalışmada ise MTHFR gen mutasyonu olan hem kadın hem de erkek hastalarda ayrı ayrı değerlendirilen ürik asit seviyelerinin anlamlı olarak kontrol grubuna göre yüksek olduğunu göstermişlerdir [187].

Yapılan çalışmalara göstermiştir ki C/C alele sahip olan bireylere oranla T/T alele sahip olan bireylerde daha yüksek ürik asit düzeyleri bulunmaktadır. Aynı zamanda homozigot bireylerde saptanan ürik asit düzeyleri heterozigot olan bireylere göre anlamlı olarak yüksek bulunur [162]. Özellikle bu konuda yapılmış olan ikizlerde yapılan çalışmalara göstermiştir ki serum ürik asit düzeyleri genetik polimorfizmden etkilenen bir parametredir [188].

MTHFR gen mutasyonunun neden ürik asit seviyesinde yükselmeye neden olduğunu tam olarak açıklayacak mekanizma netleşmese de iki olası metabolik yol suçlanmaktadır. Bunlardan birincisi MTHFR gen mutasyonlu bireylerde özellikle prematür aterosklerozun da artması ile renovasküler ateroskleroz ortaya çıkar. Buna ek olarak sistemik vasküler hastalığın bir komplikasyonu da olarak ürik asit renal klerensinde azalma ortaya çıkar. Bu da ürik asit seviyesinde artış ile sonuçlanır [167]. İkinci bir olası patofizyolojik mekanizma ise s-adenozil homosisteinle ilişkilidir. Bu molekül adenozinden sentezlenir ve homosistein için bir prekürsör görevi görür. 5-10 metilen

tetrahidrofolat MTHFR enzimin substratıdır. Yükselen 5-10 metilen tetrahidrofolat düzeyi 10 formililohidrofolat kullanılarak yapılan denovo pürin sentezinin artmasına neden olur. Bu da dolaylı olarak ürik asit seviyelerinin artması ile sonuçlanabilir [189].

Bizim çalışmamıza dahil edilen mutasyon bakılan hastalarla kontrol grubu arasında yukarıda anlatılan çalışmalar destekler nitelikte ortalama ürik asit düzeyleri bakımından anlamlı farklılık saptandı (P=0,00). Buna ek olarak ürik asit düzeyi ile homosistein düzeyi arasında pozitif korelasyon elde edildi (P=0,00).

## 5. SONUÇ

Sonuç olarak çalışmamızda MTHFR gen mutasyonu olan hastalarda Raynaud Fenomeni ve Fibromiyalji sıklığının arttığını saptadık. Varis sıklığının ise hiperhomosisteinemi ile artış gösterdiğini ancak MTHFR mutasyonu olan hastalarda anlamlı bir sıklık artışının olmadığını saptadık.

Rastlantısal olarak hiperhomosisteinemi ve MTHFR gen mutasyonu olan hastaların hiperürisemi açısından risk altında olduklarını gösterdik.

Raynaud Fenomeni ve Fibromiyalji gibi sık görülen halk sağlığı sorunlarının etiolojide MTHFR gen mutasyonunun da olabileceği akılda tutulmalı ve hastalar bu yönden de sorgulanmalıdır. Varis ve hiperkoagülabilite yapan genetik mutasyonlar için daha geniş çaplı araştırmalara ihtiyaç vardır.

## **KAYNAKLAR**

1. Herrick AL. Pathogenesis of Raynaud's phenomenon. *Rheumatology (Oxford)* 2005; 44:587–596.
2. Pringle R, Walder DN, Weaver JP. Blood viscosity and Raynaud's disease. *Lancet* 1965; 1:1086–1088.
3. Goyle KB, Dormandy JA. Abnormal blood viscosity in Raynaud's phenomenon. *Lancet* 1976; 1:1317–1318.
4. Cunliffe WJ, Menon IS. Blood fibrinolytic activity in diseases of small blood vessels and the effect of low molecular weight dextran. *Br J Dermatol* 1969; 81:220–225.
5. Nigrovic PA, Fuhlbrigge RC, Sundel RP. Raynaud's phenomenon in children: a retrospective review of 123 patients. *Pediatrics* 2003; 111:715–721.
6. Bruce C. Gilliland. Fibromyalgia, arthritis associated with systemic disease, and other arthritides. *Harrison's Principles of Medicine* 16nd.Ed. 2005;315:2055-2061.
7. Verde RD. The best way to treat fibromyalgia. *Harward Women's Health Watch*. 2004;4-6.
8. Schwahn B, Rozen R. Polymorphisms in the methylenetetrahydrofolate reductase gene: clinical consequences. *Am J Pharmacogenomics*, 2001; 1:189-201.
9. Cortese C, Motti C. MTHFR gene polymorphism, homocysteine and cardiovascular disease. *Pub Health Nutr*, 2001; 4 (2B): 493–497.
10. Klerk M, Verhoef P, Clarke R, Blom HJ, Kok FJ, Schouten EG. MTHFR 677C-T polymorphism and risk of coronary heart disease. *JAMA*, 2002; 288: 2023–2031.
11. Skillman J, Kent KC, Porter DH, Kim D. Simultaneous occurrence of superficial and deep thrombophlebitis in the lower extremity. *J Vasc Surg* 1990;11:818–24.
12. Widmer LK, Stahelin HB, Nissen C, da Silva A. Venen-, Arterien-krankheiten, koronare Herzkrankheit bei Berufstatigen: Prospektiv- epidemiologische

- Untersuchung. Basler studie I–III, 1959– 1978. Bern, Swizerland, Huber, 1981.
13. Coon WW, Willis III PW, Keller JB. Venous thromboembolism and other venous disease in the Tecumseh Community Health Study. *Circulation* 1973;48:839–846.
  14. Decousus H, Epinat M, Guilloit K et al. Superficial vein thrombosis: risk factors, diagnosis and treatment. *Curr Opin Pulm Med* 2003;9:393–397.
  15. Beebe-Dimmer JL, Pfeifer JR, Engle JS, Schottenfeld D. The epidemiology of chronic venous insufficiency and varicose veins. *Ann Epidemiol.* 2005; 15:175-184.
  16. Chiesa R, Marone EM, Limoni C et al. Chronic venous insufficiency in Italy: the 24-cities cohort study. *Eur J Vasc Endovasc Surg.* 2005; 30: 422-429.
  17. Wali MA, Eid RA. Smooth muscle changes in varicose veins: an ultrastructural study. *J Smooth Muscle Res.* 2001;37:123–135.
  18. Le Flem L, Mennen L, Aubry ML, Aiach M, Scarabin PY, Emmerich J, et al. Thrombomodulin promoter mutations, venous thrombosis, and varicose veins. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2001;21:445–451.
  19. Parkes-Weber F. Angioma formation in connection with hypertrophy of limbs and hemi-hypertrophy. *Br J Dermatol Syph.* 1907;19:231–235.
  20. Lorda-Sanchez I, Prieto L, Rodriguez-Pinilla E, Martinez-Frias ML. Increased parental age and number of pregnancies in Klippel-Trenaunay- Weber syndrome. *Ann Hum Genet.* 1998;62:235–239.
  21. Banka S, Chervinsky E, Newman WG, Crow YJ, Yeganeh S, Yacobovich J, et al. Further delineation of the phenotype of severe congenital neutropenia type 4 due to mutations in G6PC3. *Eur J Hum Genet.* 2011;19: 18–22.
  22. Scappaticci S, Capra E, Cortinovis M, Cortinovis R, Arbustini E, Diegoli M, et al. Cytogenetic studies in venous tissue from patients with varicose veins. *Cancer Genet Cytogenet.* 1994;75:26–30.
  23. Blausen Medical Communications, Donated via OTRS; 1997-2013

24. Lurie F. Venous haemodynamics: what we know and don't know. *Phlebology*. 2009; 24: 3-7.
25. Labas P, Cambal M. Profuse bleeding in patients with chronic venous insufficiency. *Int Angiol* 2007; 26: 64-66.
26. Chiesa R, Marone EM, Limoni C, et al. Chronic venous disorders: correlation between visible signs, symptoms, and presence of functional disease. *J Vasc Surg* 2007; 46:322.
27. Iannuzzi A, Panico S, Ciardullo AV, et al. Varicose veins of the lower limbs and venous capacitance in postmenopausal women: relationship with obesity. *J Vasc Surg* 2002; 36:965.
28. Browse NL. The etiology of venous ulceration. *World J Surg* 1986; 10:938.
29. Browse NL, Burnand KG. The cause of venous ulceration. *Lancet* 1982; 2:243.
30. Scott TE, LaMorte WW, Gorin DR, Menzoian JO. Risk factors for chronic venous insufficiency: a dual case-control study. *J Vasc Surg* 1995; 22:622.
31. Wilmanns C, Casey A, Schinzel H, Walter PK. Superficial thrombophlebitis in varicose vein disease: the particular role of methylenetetrahydrofolate reductase. *Phlebology*. 2011 Jun;26(4):135-9
32. McColl MD, Ramsay JE, Tait RC, Walker ID, McCall F, Conkie JA, Carty MJ, Greer IA. Superficial vein thrombosis: incidence in association with pregnancy and prevalence of thrombophilic defects. *Thromb Haemost* 1998;79:741-2
33. Martinelli I, Cattaneo M, Taioli E, De Stefano V, Chiusolo P, Mannucci PM. Genetic risk factors for superficial vein thrombosis. *Thromb Haemost* 1999;82:1215-7.
34. Rickles FR. Venous thromboembolism in malignancy and malignancy in venous thromboembolism. *Haemostasis* 1998; 28(s 3):43-9.
35. Hanson JN, Ascher E, DePippo P et al. Saphenous vein thrombophlebitis (SVT): a deceptively benign disease. *J Vasc Surg* 1998;27:677-680.
36. Schonauer V, Kyrle PA, Weltermann A et al. Superficial thrombophlebitis and risk for recurrent venous thromboembolism. *J Vasc Surg* 2003;37:834-838.

37. De Moerloose P, Wutschert R, Heinzmann M, Perneger T, Reber G, Bounameaux H. Superficial vein thrombosis of the lower limb: influence of factor V Leiden, factor II G20210A and overweight. *Thromb Haemost* 1998;80:239–241
38. Martinelli I, Cattaneo M, Taioli E, De Stefano V, Chiusolo P, Mannucci PM. Genetic risk factors for superficial vein thrombosis. *Thromb Haemost* 1999;82:1215–1217.
39. Herrick AL. Pathogenesis of Raynaud’s phenomenon. *Rheumatology (Oxford)* 2005; 44(5):587–96.
40. Lazzerini PE, Capecchi PL, Bisogno S, Cozzalupi M, Rossi PC, Pasini FL. Homocysteine and Raynaud’s phenomenon: a review. *Autoimmun Rev* 2010; 9(3):181–7.
41. Maricq HR, Carpentier PH, Weinrich MC, et al. Geographic variation in the prevalence of Raynaud's phenomenon: Charleston, SC, USA, vs Tarentaise, Savoie, France. *J Rheumatol* 1993; 20:70.
42. Cakir N, Pamuk ON, Dönmez S, et al. Prevalence of Raynaud's phenomenon in healthy Turkish medical students and hospital personnel. *Rheumatol Int* 2008; 29:185.
43. Freedman RR, Mayes MD. Familial aggregation of primary Raynaud's disease. *Arthritis Rheum* 1996; 39:1189.
44. Khan F. Vascular abnormalities in Raynaud’s phenomenon. *Scott Med J* 1999;44:4–6.
45. Herrick AL. Pathogenesis of Raynaud’s phenomenon. *Rheumatology (Oxford)* 2005; 44:587–596.
46. Ho M, Belch JJ. Raynaud’s phenomenon: state of the art 1998. *Scand J Rheumatol* 1998;27:319–22.
47. Nigrovic PA, Fuhlbrigge RC, Sundel RP. Raynaud’s phenomenon in children: a retrospective review of 123 patients. *Pediatrics* 2003; 111:715–721.
48. Raynaud’s phenomenon. *Lancet* 1995;346:283–90

49. Blunt RJ, George AJ, Hurlow RA, Strachan CJ, Stuart J. Hyperviscosity and thrombotic changes in idiopathic and secondary Raynaud's syndrome. *Br J Haematol* 1980; 45:651–658.
50. Maricq HR, Weinrich MC, Valter I, et al. Digital vascular responses to cooling in subjects with cold sensitivity, primary Raynaud's phenomenon, or scleroderma spectrum disorders. *J Rheumatol* 1996; 23:2068.
51. Freedman RR, Mayes MD. Familial aggregation of primary Raynaud's disease. *Arthritis Rheum* 1996; 39:1189.
52. Allen EV, Brown GE. Raynaud's disease: A critical review of minimal requisites for diagnosis. *Am J Med Sci* 1932; 183:187.
53. Suter LG, Murabito JM, Felson DT, Fraenkel L. The incidence and natural history of Raynaud's phenomenon in the community. *Arthritis Rheum* 2005; 52:1259.
54. Yunus MB., Masi A.T.: Fibromyalgia, Restless Legs Syndrome, Periodic Limb, Movement Disorder and Psychogenic Pain; In arthritis and allied Condition, 12th edition, Lea & Febiger edited by D.J. Mc Carty and WJ. Kopman, 1992,1383.
55. Kayhan Ö.; Fibromiyalji: Medikomat Basın Yayım, Ankara, 1995.
56. Wolfe F, Smythe H A, Yunus M B. ; The American College of Rheumatology 1990 criteria for classification of fibromyalgia: Report of multicenter criteria committee. *Arthritis Rheum.* 33:160-172 1990.
57. Wolfe F, Smythe HA, Yunus MB, et al. The American College of Rheumatology 1990. Criteria for the classification of fibromyalgia. Report of the Multicenter Criteria Committee. *Arthritis and Rheumatism.* 1990;33(2):160–172.
58. Wolfe F. New American College of Rheumatology criteria for fibromyalgia: a twenty-year journey. *Arthritis Care and Research.* 2010;62(5):583–584.
59. Wolfe F, Clauw DJ, Fitzcharles MA, et al. The American College of Rheumatology preliminary diagnostic criteria for fibromyalgia and



- measurement of symptom severity. *Arthritis Care and Research*. 2010;62(5):600–610.
60. White K.P., Speechley M., Harth M. Fibromyalgia in Rheumatology Practice;; A survey of Canadian Rheumatologists; *J. Rheumatol*, 1995 22: 722-6.
  61. Pellegrino M.J.: Atypical chest pain as initial presentation of primary fibromyalgia; *Arch. Phys. Med. Rehabil*. 1990,71,6,526-28.
  62. Wolfe F., Ross K., Anderson J., Russell I.J.: Aspects of fibromyalgia in the general population sex, pain threshold and fibromyalgia symptoms, *J. Rheumatol*, 1995,22:151-6.
  63. Boissevan M. D. , Mc Cain G. A.: Toward an integrated understanding of fibromyalgia syndrome, I. Medical and pathophysiological aspects; *Pain*, 1991:45, 227-38.
  64. Bombardier CH., Burchwald D.: Chronic Fatigue Syndrome and Fibromyalgia Syndrome; *Physical Therapy in Perspective*, 1997, 1:5, 233-34.
  65. Yunus MB., Masi A.T.: Fibromyalgia, Restless Legs Syndrome, Periodic Limb, Movement Disorder and Psychogenic Pain; In *arthritis and allied Condition*, 12th edition, Lea & Febiger edited by D.J. Mc Carty and WJ. Kopman, 1992,1383.
  66. Bradley L.A., Alarcon G.S.: Fibromyalgia, In *Arthritis and Allied Conditions*, 1996: 84, 1619, 199.
  67. Boissevain M.D., Mc Cain G.A.: Towards an integrated understanding of fibromyalgia syndrome, II. Psychological and phenomenological aspects; *Pain*, 1991,45, 239-48.
  68. Goldenberg DL. Fibromyalgia. In:Klippel JH, Dieppe PA, Eds. *Rheumatology*, 2nd Ed, London: Mosb, 1998;4:15.1-2
  69. Yunus MB, Rawlings KK, Khan MA, Gren JR. Genetic studies of multicasess families with fibromyalgia syndrome. *Arthritis Rheum* 1995;38: 247.
  70. Offenbacher M, Bondy B, de Jonge S, et al. Possible association of fibromyalgia with a polymorphism in the serotonin transporter gene region. *Arthritis Rheum* 1999; 42:2482-88.

71. Yunus MB., Masi A.T.: Fibromyalgia, Restless Legs Syndrome, Periodic Limb, Movement Disorder and Psychogenic Pain; In arthritis and allied Condition, 12th edition, Lea & Febiger edited by D.J. Mc Carty and WJ. Kopman, 1992,1383.
72. Perrot S, Vicaut E, Servant D, Ravaud P. Prevalence of fibromyalgia in France: a multi-step study research combining national screening and clinical confirmation: The DEFI study (Determination of Epidemiology of Fibromyalgia). *BMC Musculoskelet Disord* 2011; 12:224.
73. Lawrence RC, Felson DT, Helmick CG, et al. Estimates of the prevalence of arthritis and other rheumatic conditions in the United States. Part II. *Arthritis Rheum* 2008; 58:26.
74. Macfarlane GJ, Pye SR, Finn JD, et al. Investigating the determinants of international differences in the prevalence of chronic widespread pain: evidence from the European Male Ageing Study. *Ann Rheum Dis* 2009; 68:690.
75. Björkegren K, Wallander MA, Johansson S, Svärdsudd K. General symptom reporting in female fibromyalgia patients and referents: a population-based case-referent study. *BMC Public Health* 2009; 9:402.
76. Weir PT, Harlan GA, Nkoy FL, et al. The incidence of fibromyalgia and its associated comorbidities: a population-based retrospective cohort study based on International Classification of Diseases, 9th Revision codes. *J Clin Rheumatol* 2006; 12:124.
77. Marcus DA, Bernstein C, Rudy TE. Fibromyalgia and headache: an epidemiological study supporting migraine as part of the fibromyalgia syndrome. *Clin Rheumatol* 2005; 24:595.
78. Fuller-Thomson E, Nimigon-Young J, Brennenstuhl S. Individuals with fibromyalgia and depression: findings from a nationally representative Canadian survey. *Rheumatol Int* 2012; 32:853.
79. Yunus MB. Fibromyalgia and overlapping disorders: the unifying concept of central sensitivity syndromes. *Semin Arthritis Rheum* 2007; 36:339.

80. Sperber AD, Dekel R. Irritable Bowel Syndrome and Co-morbid Gastrointestinal and Extra-gastrointestinal Functional Syndromes. *J Neurogastroenterol Motil* 2010; 16:113.
81. Wolfe F, Smythe HA, Yunus MB, et al. The American College of Rheumatology 1990 criteria for the classification of fibromyalgia: Report of the multicentre criteria committee. *Arthritis Rheum* 1990; 33: 160-72
82. Marcus DA. A Primary Care Guide to Practical Management Dawn A. Marcus, MD Pain Institute, University of Pittsburgh Pittsburgh, Chronic Pain. 2005. PA Human Pres 15-30.
83. Yunus M.B; Research in Fibromyalgia and Myofascial Pain Syndromes: Current Status, Problems and Future Directions; *Journal of Musculoskeletal Pain* 1993, (1), 23-47.
84. Kayhan Ö. Ağrı serisi Fibromiyalji. Ankara, Hekimler yayın birliği. 1995.
85. Goyette P, Pai A, Milos R, Frosst, Tran P, Chen Z, Chan M, Rozen R. Gene structure of human and mouse methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR). *Mammalian Genome*, 1998; 9: 652-656.
86. Rozen R. Methylen tetrahydrofolate reductase in vascular disease, neural tube defects and colon cancer. Unpublished data.
87. Daubner SC, Mathews RG. Purification and properties of methylenetetrahydrofolate reductase from pig liver. *J Biol Chem*. 2001; 257: 140-145.
88. Tran P, Chan M, Pai A, Goyette P, Milos R, Rozen R et al. Multiple transcription start sites and alternative splicing in the methylenetetrahydrofolate reductase gene result in two enzym isoforms. *Mamm Genome*, 2002; 9(8):652-656.
89. Jencks DA, Mathews RG (February 1987). "Allosteric inhibition of methylenetetrahydrofolate reductase by adenosylmethionine. Effects of adenosylmethionine and NADPH on the equilibrium between active and inactive forms of the enzyme and on the kinetics of approach to equilibrium". *J. Biol. Chem*. 262 (6): 2485–93.

90. Yamada K, Strahler JR, Andrews PC, Matthews RG (July 2005). "Regulation of human methylenetetrahydrofolate reductase by phosphorylation". *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 102 (30): 10454–9. doi:10.1073/pnas.0504786102
91. Roiben K, Ulrich CM. 5,10-Methylen tetrahydrofolate reductase polymorphisms and Leukemia Risk. *American Journal of Epidemiology*, 2003; 157(7): 571-82.
92. Botto LD, Yang Q. 5,10-Methylen tetrahydrofolate reductase gene variants and congenital anomalies: HuGE review. *American Journal of Epidemiology*, 2000; 151:862-877.
93. Frosst P, Blom HJ, Milos R, Goyette P, Sheppard CA, Matthews RG, Boers GJ, den Heijer M, Kluijtmans LA, van den Heuvel LP et al. (May 1995). "A candidate genetic risk factor for vascular disease: a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase". *Nat. Genet.* 10 (1): 111–3.
94. Roiben K, Ulrich CM. 5,10-Methylen tetrahydrofolate reductase polymorphisms and Leukemia Risk. *American Journal of Epidemiology*, 2003; 157(7): 571-82.
95. Botto LD, Yang Q. 5,10-Methylen tetrahydrofolate reductase gene variants and congenital anomalies: HuGE review. *American Journal of Epidemiology*, 2000; 151:862-877.
96. Ueland PM, Refsum H, Beresford SAA, Vollset SE. The controversy over homocysteine and cardiovascular risk. *Am J Clin Nutr*, 2000; 72: 324-332.
97. Daly SF, Molloy AM, Mills JL, et al. The influence of 5,10 methylenetetrahydrofolate reductase genotypes on enzyme activity in placental tissue. *Brit J Obstet Gynaec*, 1999;106:1214-1218.
98. Stern LL, Bagley PJ, Rosenberg IH, et al. Conversion of 5-formyltetrahydrofolic acid is unimpaired in folate-adequate persons homozygous for the C677T mutation in the methylenetetrahydrofolate reductase gene. *J Nutr*, 2000;130: 2238-2242.

99. Rady PL, Tying SK, Hundnall SD, et al. Methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR): The incidence of mutations C677T and A1298C in the Ashkenazi Jewish population. *Am J Med Genet*, 1999; 86:380-384.
100. McCully KS. Homocysteine and vascular disease. *Nat Med* 1996; 2:386.
101. Gaustadnes M, Rüdiger N, Rasmussen K, Ingerslev J. Intermediate and severe hyperhomocysteinemia with thrombosis: a study of genetic determinants. *Thromb Haemost* 2000; 83:554.
102. D'Angelo A, Coppola A, Madonna P, et al. The role of vitamin B12 in fasting hyperhomocysteinemia and its interaction with the homozygous C677T mutation of the methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) gene. A case-control study of patients with early-onset thrombotic events. *Thromb Haemost* 2000; 83:563.
103. Mezzano D, Muñoz X, Martínez C, et al. Vegetarians and cardiovascular risk factors: hemostasis, inflammatory markers and plasma homocysteine. *Thromb Haemost* 1999; 81:913.
104. Voutilainen S, Rissanen TH, Virtanen J, et al. Low dietary folate intake is associated with an excess incidence of acute coronary events: The Kuopio Ischemic Heart Disease Risk Factor Study. *Circulation* 2001; 103:2674.
105. Vermeulen EG, Stehouwer CD, Twisk JW, et al. Effect of homocysteine-lowering treatment with folic acid plus vitamin B6 on progression of subclinical atherosclerosis: a randomised, placebo-controlled trial. *Lancet* 2000; 355:517.
106. Ubbink JB, Vermaak WJ, van der Merwe A, Becker PJ. Vitamin B-12, vitamin B-6, and folate nutritional status in men with hyperhomocysteinemia. *Am J Clin Nutr* 1993; 57:47.
107. Bazzano LA, He J, Muntner P, et al. Relationship between cigarette smoking and novel risk factors for cardiovascular disease in the United States. *Ann Intern Med* 2003; 138:891.
108. Kang SS, Wong PW. Genetic and nongenetic factors for moderate hyperhomocyst(e)inemia. *Atherosclerosis* 1996; 119:135.

109. Dudman, NP, Wilcken, DE, Wang, J, et al, *Arterioscl Thromb* 1993; 13:2253.
110. Gallagher PM, Meleady R, Shields DC, et al. Homocysteine and risk of premature coronary heart disease. Evidence for a common gene mutation. *Circulation* 1996; 94:2154.
111. Gallagher PM, Meleady R, Shields DC, et al. Homocysteine and risk of premature coronary heart disease. Evidence for a common gene mutation. *Circulation* 1996; 94:2154.
112. Rolland PH, Friggi A, Barlatier A, et al. Hyperhomocysteinemia-induced vascular damage in the minipig. Captopril-hydrochlorothiazide combination prevents elastic alterations. *Circulation* 1995; 91:1161.
113. Tsai JC, Perrella MA, Yoshizumi M, et al. Promotion of vascular smooth muscle cell growth by homocysteine: a link to atherosclerosis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1994; 91:6369.
114. Harker LA, Slichter SJ, Scott CR, Ross R. Homocystinemia. Vascular injury and arterial thrombosis. *N Engl J Med* 1974; 291:537.
115. Poddar R, Sivasubramanian N, DiBello PM, et al. 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.
116. McCully KS, Carvalho AC. Homocysteine thiolactone, N-homocysteine thiolactonyl retinamide, and platelet aggregation. *Res Commun Chem Pathol Pharmacol* 1987; 56:349.
117. Stühlinger MC, Tsao PS, Her JH, et al. Homocysteine impairs the nitric oxide synthase pathway: role of asymmetric dimethylarginine. *Circulation* 2001; 104:2569.
118. Ray JG. Meta-analysis of hyperhomocysteinemia as a risk factor for venous thromboembolic disease. *Arch Intern Med* 1998; 158:2101.
119. Heijer M, Rosendaal FR, Blom HJ, et al. Hyperhomocysteinemia and venous thrombosis: a meta-analysis. *Thromb Haemost* 1998; 80:874.

120. Fodinger M, Horl WH, Sunder-Plassman G. Molecular biology of 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase. *J Nephrol*, 2000;13(1):20-33.
121. Donnelly JG, Rock GA. Genetic determinants of heritable venous thrombosis: Genotyping methods for factor V LEIDEN A1691G, methylenetetrahydrofolate reductase C677T, prothrombin G20210A mutation, and algorithms for venous thrombosis investigations. *Clin Biochem*, 1999;32: 223-228.
122. Fodinger M, Horl WH, Sunder-Plassman G. Molecular biology of 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase. *J Nephrol*, 2000;13(1):20-33.
123. Deloughery TG, Evans A, Sadeghi A, McWilliams J, Henner WD, Taylor LM, Press RD: Common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase. Correlation with homocysteine metabolism and late-onset vascular disease. *Circulation* 1996; 94: 3074– 3078.
124. Harmon DL, Woodside JV, Yarnell JW, McMaster D, Young I, McCrum E, Gey K, Whitehead A, Evans AE: The common ‘thermolabile’ variant of methylenetetrahydrofolate reductase is a major determinant of mild hyperhomocysteinaemia. *Q J Med* 1996; 89: 571–577.
125. Jacques PF, Bostom AG, Williams RR, Ellison RC, Eckfeldt JH, Rosenberg IH, Selhub J, Rozen R: Relation between folate status, a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase, and plasma homocysteine concentrations. *Circulation* 1996; 93: 7–9.
126. Ma J, Stampfer MJ, Hennekens CH, Frosst P, Selhub J, Horsford J, Malinow MR, Willett WC, Rozen R: Methylenetetrahydrofolate reductase polymorphism, plasma folate, homocysteine, and risk of myocardial infarction in US physicians. *Circulation* 1996; 94: 2410–2416
127. Schwartz SM, Siscovick DS, Malinow MR, Rosendaal FR, Beverly RK, Hess DL, Psaty BM, Longstreth WT Jr, Koepsell TD, Raghunathan TE, Reitsma PH: Myocardial infarction in young women in relation to plasma total

- homocysteine, folate, and a common variant in the methylenetetrahydrofolate reductase gene. *Circulation* 1997; 96: 412–417.
128. Mohamed Eldibany, Joseph Caprini ; Hyperhomocysteinemia and Thrombosis 2007;131:872–884
  129. Wilcken D, Wilcken B. The pathogenesis of coronary artery disease. A possible role for methionine metabolism. *J. Clin Invest.* 1976;57:1079–1082.
  130. Genest JJ, McNamara JR, Salem DN, et al. Plasma homocyst(e)ine levels in men with premature coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol.* 1990;16: 1114–1119.
  131. Malinow MR, Nieto FJ, Sklo M, Chambless LE, Bond G. Carotid artery intimal-medial wall thickening and plasma homocyst(e)ine in asymptomatic adults: the Atherosclerosis in Communities (ARIC) Study. *Circulation.* 1993;87: 1107–1113.
  132. Graham I, Daly L, Refsum H, et al. Plasma homocysteine as a risk factor for vascular disease: the European Concerted Action Project. *JAMA.* 1997;277: 1775–1781.
  133. Voutilainen S, Alfthan G, Nyyssonen K, Salonen R, Salonen J. Association between elevated plasma total homocysteine and increased common carotid artery wall thickness. *Ann Med.* 1998;30:300–306.
  134. Boushey C, Beresford S, Omenn G, Motulsky A. A quantitative assessment of plasma homocysteine as a risk factor for vascular disease. *JAMA.* 1995; 274:1049–1057.
  135. Malinow M, Kang S, Taylor L, et al. Prevalence of hyperhomocyst (e) inemia in patients with peripheral arterial occlusive disease. *Circulation.* 1989;79:1180–1188.
  136. Konechy N, Malinow M, Tunick P, et al. Correlation between plasma homocyst(e)ine and aortic atherosclerosis. *Am Heart.* 1997;133:534–540.
  137. Hopkins P, Wu L, Wu J, et al. Higher plasma homocyst(e)ine and increased susceptibility to adverse effects of low folate in early familial coronary artery disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1995;15:1314–1320.



138. Dalery K, Lussier-Cacan S, Selhub J, et al. Homocysteine and coronary artery disease in French Canadian subjects: relation with vitamins B12, B6, pyridoxal phosphate, and folate. *Am J Cardiol.* 1995;75:1107–1111
139. Nygard O, Nordrehaug J, Refsum H, et al. Plasma homocysteine levels and mortality in patients with coronary artery disease. *N Engl J Med.* 1997;1337:230–236.
140. Alfthan G, Pekkanen J, Jauhiainen M, et al. Relation of serum homocysteine and lipoprotein (a) concentrations to atherosclerotic disease in a prospective Finnish population based study. *Atherosclerosis.* 1994;106:9–19.
141. Wald N, Watt H, Law M, et al. Homocysteine and ischemic heart disease. *Arch Intern Med.* 1998;1158:862–867.
142. Robinson K, Arheart K, Refsum H, et al. for the European COMAC Group. Low circulating folate and vitamin B6 concentrations. Risk factors for stroke, peripheral vascular disease, and coronary artery disease. *Circulation.* 1998;97:437–443.
143. Selhub J, Jacques PF, Bostom AG, et al. Association between plasma homocysteine concentrations and extracranial carotid artery stenosis. *N Engl J Med.* 1995;332:286–291.
144. Molgaard J, Malinow M, Lassvik C, et al. Hyperhomocyst(e) inemia: an independent risk factor for claudication. *J Intern Med.* 1992;231:273–279.
145. Rimm E, Willett W, Hu F, et al. Folate acid, vitamin B6 from diet and supplements in relation to risk of coronary heart disease among women. *JAMA.* 1998;279:359–364.
146. Evans R, Shaten J, Hempel J, Cutler J, Kuller L. for the MRFIT Research Group. Homocyst(e)ine and risk of cardiovascular disease in the multiple risk factor intervention trial. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1997;17:1947–1953.
147. Folsom A, Nieto F, McGovern P, et al. Prospective study of coronary heart disease incidence in relation to fasting total homocysteine, related genetic polymorphisms, and B vitamins. *Circulation.* 1998;98:204–210.

148. Kluijtmans LAJ, van den Heuvel LP, Boers GHJ, 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.
149. Mudd SH, Levy HL, Skovby F. Disorders of transsulfuration. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D, eds. *The Metabolic and Molecular Basis of Inherited Disease.* New York, NY: McGraw-Hill; 1995:1279–1327.
150. Brattström L. Common mutation in the methylenetetrahydrofolate reductase gene offers no support for mild hyperhomocysteinemia being a causal risk factor for cardiovascular disease. *Circulation.* 1997;96:3805–3806.
151. Fodinger M, Horl WH, Sunder-Plassman G. Molecular biology of 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase. *J Nephrol,* 2000;13(1):20-33.
152. Kim Y. Methylenetetrahydrofolate reductase polymorphisms, folate, and cancer risk: A paradigm of gene-nutrient interactions in carcinogenesis. *Nutr Rev,* 2000;58:205-217.
153. Peng F, Labelle LA, Rainey B, et al. Single nucleotide polymorphisms in the methylenetetrahydrofolate reductase gene are common in US Caucasian and Hispanic American populations. *Int J Mol Med,* 2001;8: 509-511.
154. Skibola CF, Smith MT, Kane E, et al. Polymorphisms in the methylenetetrahydrofolate reductase gene are associated with susceptibility to acute leukemia in adults. *Med Sci,* 1996;96:12810-12815
155. Y. Levy, J. George, P. Langevitz, D. Harats, R. Doolman, B.A. Sela et al. Elevated homocysteine levels in patients with Raynaud's syndrome *J Rheumatol,* 26 (1999), pp. 2383–2385
156. M. al-Awami, M. Schillinger, T. Maca, M. Gschwandtner, C. Bieglmayer, O. Wagner et al. Homocysteine levels in patients with Raynaud's phenomenon *Vasa,* 31 (2002), pp. 87–90
157. P. Caramaschi, A. Volpe, S. Canestrini, L.M. Bambara, G. Faccini, A. Carletto et al. Correlation between homocysteine plasma levels and nailfold

- videocapillaroscopic patterns in systemic sclerosis *Clin Rheumatol*, 26 (2007), pp. 902–907
158. A. Czupryniak, A. Kałużyńska, M. Nowicki, B. Wiecek, E. Bald, D. Owczarek Raynaud's phenomenon and endothelial dysfunction in end-stage renal disease patients treated with hemodialysis *Kidney Blood Press Res*, 28 (2005), pp. 27–31
159. B. Marasini, S. Casari, A. Bestetti, C. Maioli, M. Cugno, S. Zeni et al. Homocysteine concentration in primary and systemic sclerosis associated Raynaud's phenomenon *J Rheumatol*, 27 (2000), pp. 2621–2623
160. KUTILEK, Stepan; NEMEC, Vladimir and BOCKAYOVA, Eva. Elevated serum homocysteine levels in paediatric patients with primary Raynaud's phenomenon. *Rev. Bras. Reumatol.* 2012, vol.52, n.1, pp. 128-130
161. Falcon C, Cattaneo M, Panzeri D, Martinelli I, Mannucci P. High prevalence of hyperhomocysteinemia with juvenile venous thrombosis. *Arterioscler Thromb.* 1994;14:1080–1083.
162. Simioni P, Prandoni P, Burlina A, et al. Hyperhomocysteinemia and deepvein thrombosis: a case control study. *Thromb Haemost.* 1996;76:883–886.
163. Eichinger S, Stu¨mpfen A, Hirschl M, et al. Hyperhomocysteinemia is a risk factor of recurrent venous thromboembolism. *Thromb Haemost.* 1998;80: 566–569.
164. Kottke-Marchant K, Green R, Jacobsen D, et al. High plasma homocysteine: a risk factor for arterial and venous thrombosis in patients with normal coagulation profiles. *Clin Appl Thromb Hemost.* 1997;3:239–244.
165. Fermo I, Vigano' D'Angelo V, Paroni R, et al. Prevalence of moderate hyperhomocysteinemia in patients with early-onset venous and arterial occlusive disease. *Ann Intern Med.* 1995;123:747–753.
166. Martinelli I, Cattaneo M, Panzeri D, Taioli E, Mannucci PM. Risk factors for primary deep vein thrombosis of the upper extremities. *Ann Intern Med.* 1997; 126:707–711.

167. Yanhui Lu , Yanfen Zhao , Guozhang Liu , Xiaoling Wang , Zhihong Liu , Baiping Chen, Rutai Hui. Factor V gene G1691A mutation, prothrombin gene G20210A mutation, and MTHFR gene C677T mutation are not risk factors for pulmonary thromboembolism in Chinese population; *Thrombosis Research* 106 (2002) p: 7 – 12
168. Poort SR, Rosendaal FR, Reitsma PH, Bertina RM. A common genetic variation in the 3V-untranslated region of the prothrombin gene is associated with elevated plasma prothrombin levels and increase in venous thrombosis. *Blood* 1996;88:3698–703.
169. Legnani C, Palareti G, Grauso F, et al. Hyperhomocyst(e)mia and a common methylenetetrahydrofolate reductase mutation (Ala223Val MTHFR) in patients with inherited thrombophilic coagulation defects. *Arterioscler ThrombVasc Biol.* 1997;17:2924–2929.
170. Arruda VR, von Zuben PM, Chiaparini LC, Annichino Bizzacchi JM, Costa FF. The mutation ALA677→VAL in the methylenetetrahydrofolate reductase gene: a risk factor for arterial disease and venous thrombosis. *Thromb Haemost.* 1997;77:818–821.
171. Salomon O, Dardik R, Zivelin A, et al. Homozygous methylenetetrahydrofolate reductase thermolability (MTHFR-T) is an independent risk factor for idiopathic deep-vein thrombosis (DVT) [abstract]. *Thromb Haemost.* June 1997; (suppl):568–569.
172. Margaglione M, D’Andrea G, d’Addetta M, et al. The methylenetetrahydrofolate reductase TT677 genotype is associated with venous thrombosis independently of the coexistence of the FV Leiden and the prothrombin A20210 mutation. *Thromb Haemost.* 1998;79:907–911.
173. De Stefano V, Casorelli I, Rossi E, et al. Interaction between hyperhomocysteinemia and inherited thrombophilic factors in venous thromboembolism. *Semin Thromb Hemost.* 2000;26:305–311.

174. Trillot N, Preudhomme C, Alhenc-Gelas M, et al. Thermolabile methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) does not modify the risk for venous thromboembolism in subjects with heterozygous factor V Leiden. *Blood*. 1996; 10(suppl 1):284a.
175. Kluijtmans LAJ, den Heijer M, Reitsma PH, et al. Thermolabile methylenetetrahydrofolate reductase and factor V Leiden in the risk of deep-vein thrombosis. *Thromb Haemost*. 1998;79:254–258.
176. Wen Wei, Sheng-yuan Liu, Fang-fang, Zeng Ling, Ma a Ke-shen Li, Bin-you Wang. Meta-Analysis of the Association of the C677T Polymorphism of the Methylenetetrahydrofolate Reductase Gene with Hyperuricemia. *Ann Nutr Metab* 2012;60:44–51
177. Kang SS, Wong PWK, Cook HY, Norusis M, Messer JV: Protein-bound homocysteine: a possible risk factor for coronary artery disease. *J Clin Invest* 1986; 77: 1482–1486.
178. Seegmiller JE: The clinical significance of hyperuricemia. *Med Ann Dist Columbia* 1967; 36: 215–218.
179. Sperling O, Wyngaarden JB, Starmer CF: The kinetics of intramolecular distribution of <sup>15</sup>N in uric acid after administration of (<sup>15</sup>N) glycine. A reappraisal of the significance of preferential labeling of N-(3+9) of uric acid in primary gout. *J Clin Invest* 1973; 52: 2468–2485.
180. Akaoka I, Fujimori S, Kamatani N, Takeuchi F, Yano E, Nishida Y, Hashimoto A, Horiuchi Y: A gouty family with increased phosphoribosylpyrophosphate synthetase activity: case reports, familial studies, and kinetic studies of the abnormal enzyme. *J Rheumatol* 1981; 8: 563–574.
181. Motti C, Gnasso A, Bernardini S, Massoud R, Pastore A, Rampa P, Federici G, Cortese C: Common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase. Correlation with homocysteine and other risk factors for vascular disease. *Atherosclerosis* 1998; 139: 377–383.

182. Beckler MA, Roessler BJ: Hyperuricemia and gout; in Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D (eds): *The Metabolic Basis of Inherited Disease*. New York, McGraw-Hill, 1995, pp 1655–1677.
183. Zuo M, Nishio H, Lee MJ, Maejima K, Mimura S, Sumino K: The C677T mutation in the methylene tetrahydrofolate reductase gene increases serum uric acid in elderly men. *J Hum Genet* 2000; 45: 257–262.
184. Hong YS, Lee MJ, Kim KH, Lee SH, Lee YH, Kim BG, Jeong B, Yoon HR, Nishio H, Kim JY: The C677 mutation in methylene tetrahydrofolate reductase gene: correlation with uric acid and cardiovascular risk factors in elderly Korean men. *J Korean Med Sci* 2004; 19: 209–213.
185. Yao H, Ding LL, Wang XM, Xu FL: Polymorphisms of methylenetetrahydrofolate reductase C677T and hyperuricemia in males. *Ai Bian Ji Bian Tu Bian* 2007; 19: 50–52.
186. Motulsky AG: Nutritional ecogenetics: homocysteine- related arteriosclerotic vascular disease, neural tube defects, and folic acid. *Am J Hum Genet* 1996; 58: 17–20.
187. Golbahar J, Aminzadeh MA, Al-Shboul QM, Kassab S, Rezaian GR: Association of methylenetetrahydrofolate reductase (C677T) polymorphism with hyperuricemia. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2006; 17: 462–467.
188. Whitfield JB, Martin NG: Plasma lipids in twins. Environmental and genetic influences. *Atherosclerosis* 1983; 48: 265–277.
189. Beckler MA, Roessler BJ: Hyperuricemia and gout; in Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D (eds): *The Metabolic Basis of Inherited Disease*. New York, McGraw-Hill, 1995, pp 1655–1677.

## ÖZET

Varis özellikle alt ekstremitte venlerinin variköz genişlemesi olarak tanımlanabilir. Raynaud Fenomeni çeşitli presipite edici faktörler sonucunda siyanoz ya da solukluk gibi renk değişikliği ve parmak uçlarında uyuşma ile kendini gösteren bazen hiperemi, ağrı, karıncalanmanın da eşlik ettiği bir olaydır. Fibromyalji ise yaygın vücut ağrısı ve halsizlik şikayetleri ile ortaya çıkar. Bunun yanında halsizlik, yorgunluk, uyku bozukluğu sonucu yorgun uyanma şikâyetleri de görülür. Folat diyetle alındıktan sonra 5,10-Metilen Tetrahidrofolata (MTHF) dönüşür. MTHF ise Metilen Tetrahidrofolat Redüktaz (MTHFR) enzimi sayesinde 5-metil Tetrahidrofolata döner. Çalışmamıza Ocak 2012 ile Nisan 2013 yılları arasında herhangi bir nedenle iç hastalıkları, hematoloji ve kadın hastalıkları ve doğum polikliniğine başvuran ve çeşitli endikasyonlarla MTHFR gen mutasyonu bakılan ve yaşları 21 ile 83 arasında değişen yaş ortalaması  $38,16 \pm 13,1$  olan toplam 388 hasta dâhil edildi. Tüm hastaların 85'i (%21,9) erkek, 303'ü (%78,1) kadındı. MTHFR bakılan 388 hastanın 57 tanesinde (%17,7) MTHFR negatif olarak saptandı. İki yüz altmış dokuz hasta (%69,3) heterozigot, 62 hasta (%16) ise homozigot olarak bulundu. Tüm hastaların 92'sinde (%23,7) fibromiyalji saptanırken 296 (%76,3) hastada fibromiyaljiye rastlanmadı. Elli altı (%14,4) hastada Raynaud Fenomenine rastlanırken 332 hastada (%85,6) Raynoud Fenomeni yoktu. Ayrıca hastalar varis yönünden değerlendirildi ve toplam 101 (%26) hastada varis saptandı ve 287 (%74) hasta ise varis yoktu. Homosistein seviyeleri yüksek olan hastalarda her üç patoloji de anlamlı olarak yüksek saptandı. Buna ek olarak MTHFR mutasyonu olan hastalarda ürik asit seviyeleri anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. MTHFR mutasyonu olan hastaların fibromiyalji ve Raynaoud Fenomeni sıklığı artmış olarak saptanırken varis sıklığında anlamlı artış bulunmadı. Genetik faktörlerin Raynaud Fenomeni ve Fibromiyalji için etiyojide önemli ve değerlendirilmesi gereken faktörler arasında olabileceği akılda tutulmalıdır.

**Anahtar Kelimeler :** MTHFR, Raynaud Fenomeni, Fibromiyalji, Varis, Ürik Asit

## **ABSTRACT**

Fibromyalgia, Raynaud's phenomenon and varicose veins are one of the common health problems in our society. Etiology and pathophysiology of these conditions has not been fully elucidated. Varicose veins can be defined as the expansion of vessels in especially lower extremity. Cyanosis, pallor or discoloration in fingers called Raynaud's phenomenon which occurs as a result of a variety of precipitating factors. Fibromyalgia arises with fatigue and widespread body pain. Waking up tired also seen as a result of weakness and sleep disturbances. After dietary intake folate transforms 5,10-methylene tetrahydrofolate (MTHFR). Patients who admitted to internal medicine, hematology and obstetric polyclinic between January 2012 - April 2013 ranging from 21 to 83 (mean age  $38.16 \pm 13.1$ ) total of 388 patients enrolled the study. Eighty-five (21,9%) of all patients were male and 303 (78,1%) were female. Fifty-seven (17,7%) of all 388 patients has not MTHFR mutations, 269 (69,3%) were heterozygous positive and 62 (16%) were homozygous positive. Fibromyalgia was detected of 92 (23,7) patients, Raynaud's Phenomenon was detected of 56 (%14,4) patients and varicose veins was detected 101 (26%) of patients. In all three pathologies were significantly higher in patients with elevated homocysteine levels. In addition uric acid levels were significantly higher in patients with MTHFR mutation. Raynaud 's phenomenon and Fibromyalgia were significantly higher in patients with MTHFR mutation but there was not any difference varicose vein frequency. Genetic factors should be considered in etiologies of Fibromyalgia and Raynaud 's phenomenon.

**Key Words:** MTHFR, Raynaud's Phenomenon, Fibromyalgia, Varicose Vein, Uric Acid.



