



Açıklanamayan İnfertilite Etiyolojisinde Olası Risk Faktörü Olarak Herediter Trombofilinin Yeri

Fikriye Işıl Adıgüzel¹, Cevdet Adıgüzel², Sevtap Seyfettinoğlu², İbrahim Ferhat Ürünsak¹

¹Çukurova Üniversitesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniği, Adana

²Adana Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniği, Adana

ÖZET

Açıklanamayan infertilite etiyolojisinde olası risk faktörü olarak herediter trombofilinin yeri

Amaç: Açıklanamayan infertilite, infertil çiftler arasında en sık konulan tanılardan biridir. Bu çalışmada açıklanamayan infertilitede risk faktörü olarak herediter trombofilinin etkisi araştırılmıştır.

Gereç ve Yöntem: Bu çalışmada, 25 açıklanamayan infertil ve 25 fertil kadın hastada, protrombin gen G20210A mutasyonu, factor V leiden, metilen tetrahidrofolat redüktaz (MTHFR) C677T mutasyonları ve D-Dimer parametreleri araştırılmıştır.

Bulgular: Çalışmamızda açıklanamayan infertilite ve kontrol grubu arasında MTHFR C677T, protrombin G20210A mutasyonları ve D-Dimer parametresi açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ($p>0.05$). Factor V leiden mutasyonuna rastlanmadı.

Sonuç: Açıklanamayan infertilite etiopatogenezinde halen netleşmemiş noktalar mevcuttur. Bu çalışmanın sonucunda, herediter trombofil ile açıklanamayan infertilite arasında anlamlı bir ilişki çıkmamakla beraber, ilişki gösterilen çalışmaların da literatürde mevcut olması nedeniyle bu konuyu netleştirebilmek için, gelecekte yapılacak geniş olgu sayılı araştırmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar kelimeler: Açıklanamayan infertilite, herediter trombofil

ABSTRACT

Inherited thrombophilia as a potential risk factor in the etiology of unexplained infertility

Objective: Unexplained infertility represents one of the most common diagnoses among infertile couples. In this study we investigated the impact of inherited thrombophilia as a risk factor in unexplained infertility.

Material and Methods: In this study, genetic mutations of prothrombin gene G20210A, Factor V Leiden and methylene tetrahydrofolate reductase (MTHFR) C677T, as well as D-Dimer levels were investigated in 25 women diagnosed with unexplained infertility and 25 healthy fertile women.

Results: In the present study, among unexplained infertile women and the control group, MTHFR C677T, prothrombin G20210A mutations and D-Dimer levels did not have a statistically significant difference ($p>0.05$). Factor V Leiden mutation was not observed in either group.

Conclusion: Currently, there still are unclear points in the etiopathogenesis of unexplained infertility. As a result of our findings, although we did not observe a significant association between hereditary thrombophilia and unexplained infertility, the presence of a number of studies with contradictory findings demands future research with large sample sizes to clarify this issue.

Key words: Unexplained infertility, inherited thrombophilia

Bakırköy Tıp Dergisi 2015;11:162-166

GİRİŞ

İnfertilite, tanım olarak çiftlerin bir yıl süre ile korunmaksızın düzenli cinsel ilişkide bulunmasına rağmen gebelik elde edilememesidir. Bu sorun, dünya çapında çiftlerin

%13-15'ini etkilemektedir (1). İnfertilite sıklığı ve nedenleri, toplumdan topluma değişiklik gösterir. Açıklanamayan infertilite, infertil çiftler arasında en yaygın tanılardan biridir (2). Açıklanamayan infertilitede, altta yatan muhtemel birçok neden ileri sürülmüştür (3). Literatürde, daha önce yayımlanan sınırlı olgu sayılı çalışmalarda, herediter trombofil ile açıklanamayan infertilite arasında bir ilişki olabileceğine dikkat çekilmiştir (4,5). Herediter trombofil ve implantasyon başarısızlıkları arasındaki ilişkiyi araştıran bir çok çalışmada çelişkili sonuçlar bulunmuştur (6-10).

Bu çalışmada, açıklanamayan infertilitede risk faktörü olarak herediter trombofilinin etkisi araştırılmaktadır.

Yazışma adresi / Address reprint requests to: Fikriye Işıl Adıgüzel
Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Bölümü,
Yüreğir, Adana

Telefon / Phone: +90-322-456-3015

Elektronik posta adresi / E-mail address: aze_isil@hotmail.com

Geliş tarihi / Date of receipt: 26 Mart 2015 / March 26, 2015

Kabul tarihi / Date of acceptance: 11 Mayıs 2015 / May 11, 2015

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma, etik kurul onayının alınmasını takiben, Mart-Eylül 2011 tarihleri arasında, Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim dalı infertilite polikliniğinde gerçekleştirilmiştir. Çalışmaya, açıklanamayan infertilite tanısı alan ve invitro fertilizasyon-intrastoplazmik sperm enjeksiyonu/embriyo transferi (IVF-ICSI/ET) programına alınan 20-45 yaş arasında 25 infertil kadın, ve kontrol grubu olarak 25 sağlıklı fertil kadın dahil edilmiştir.

Açıklanamayan infertilite tanısı için, hastalara bazal ultrasonografik muayene, menstrüel siklusun 3. günü Estradiol (E2), Folikül stimüle edici Hormon (FSH), lüteinize edici hormon (LH), Prolaktin (PRL) tahlilleri, histerosalpingografi (HSG), ve hastanın eşinin spermiogram sonuçları incelendi. FSH değerleri, LH, PRL, tiroid fonksiyon testleri ve andojenler (testosteron, serbest testosteron, dihidroepiandrosteron-sülfat) değerlendirildi.

Sağlıklı ve fertil kabul edilen kontrol grubuna, 20-45 yaş arası, önceden doğum yapmış, daha önce abortus veya trombozis öyküsü olmayan 25 kadın dahil edildi. Hasta ve kontrol grubundaki tüm kadınlardan; EDTA'lı tüplere 2cc venöz kan alınarak polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) tekniğiyle MTHFR C677T, Factor V Leiden, prothrombin G20210A mutasyonları ve koagülasyon tüpüne 4 cc venöz kan alınarak bekletilmeden D-Dimer çalışılarak elde edilen sonuçlar değerlendirildi.

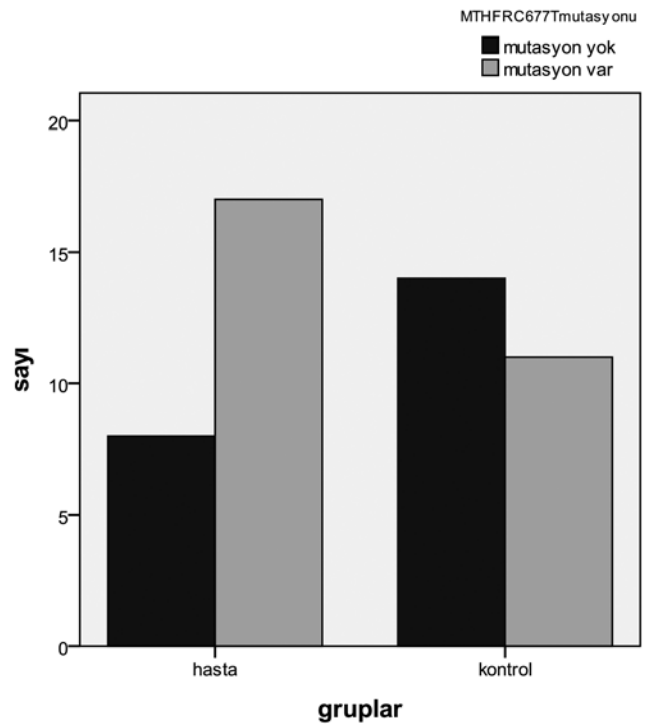
Verilerin analizi SPSS 19.0 istatistik paket programı kullanılarak yapılmıştır. Veriler uygun şekilde kodlanarak düzenlendikten sonra sürekli değişkenleri tanımlamak için ortalamalar ve yüzdelikler hesaplanmıştır. Kategorik değişkenler için Pearson Chi-square ve Fishers Exact Testi, sürekli değişkenlerdeki ortalamaları hesaplamak için ise Student-t Testi kullanılmıştır. $p < 0.05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

BULGULAR

Açıklanamayan infertilite tanısı alan 25 hastanın 17'sinde (%68), kontrol grubunda ise 11'inde (%44) MTHFR C677T mutasyonu saptandı. Açıklanamayan infertilite tanısı almış kadınlar ve fertil grup arasında MTHFR C677T mutasyonu açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p > 0.05$) (Tablo 1, Şekil 1). Gruplar içerisinde, infertil grupta MTHFR C677T mutasyonu mevcut olan 1 kişi heterozigot mutant, 2 kişi homozigot

Tablo 1: Çalışma ve kontrol gruplarının MTHFR C677T mutasyonu açısından karşılaştırılması

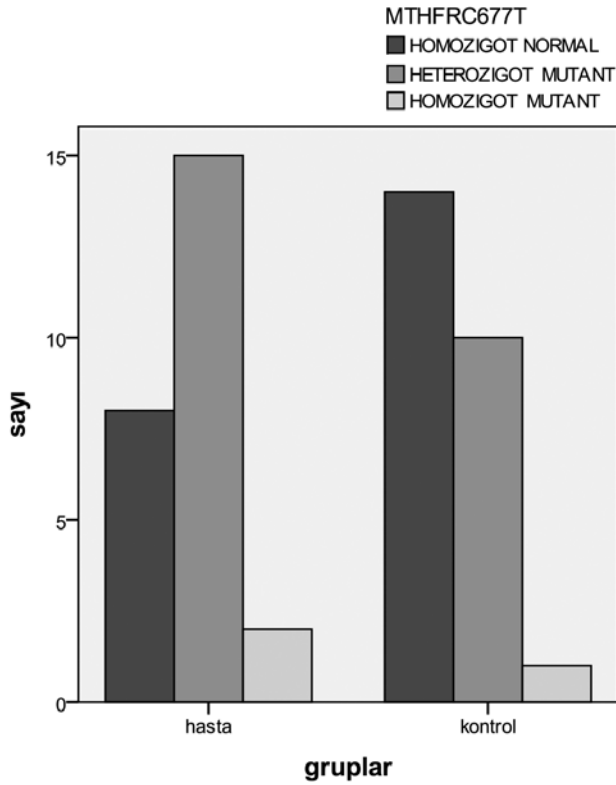
Gruplar	MTHFR C677T mutasyonu		Toplam
	Mutasyon yok	Mutasyon var	
Hasta			
Sayı (n)	8	17	25
Yüzde	%32	%68	%100
Kontrol			
Sayı (n)	14	11	25
Yüzde	%56	%44	%100
Toplam			
Sayı (n)	22	28	50
Yüzde	%44	%56	%100
p değeri			$p = 0.087$ $p > 0.05$



Şekil 1: MTHFR C677T mutasyonunun gruplardaki saptanma grafiği

mutant olarak saptandı. Fertil grupta 1 kişi heterozigot mutant ve 1 kişi de homozigot mutant olarak saptandı (Şekil 2).

Açıklanamayan infertil tanısı almış hasta grubunda 13 kişide (%52) D-Dimer normal olup 12 kişide (%48) D-Dimer yüksek bulunmuştur. Fertil kadınlardan oluşan 25 kişilik grupta ise 14 kişide (%56) D-Dimer normal olup 11 kişide (%44) D-Dimer yüksek bulunmuştur. Her iki grupta toplam 27 kişide (%54) D-Dimer normal değerlerde olup 23 kişide (%46) yüksek bulunmuştur. İstatistik-



Şekil 2: MTHFR C677T mutasyonunun gruplardaki dağılım grafiği

Tablo 2: MTHFR C677T ile D-Dimer arasında gruplardan bağımsız ilişki tablosu

Gruplar	DDİMER		Toplam
	Normal	Yüksek	
Hasta			
Sayı (n)	13	12	25
Yüzde*	%52	%48	%100
Kontrol			
Sayı (n)	14	11	25
Yüzde*	%56	%44	%100
Toplam			
Sayı (n)	27	23	50
Yüzde*	%54	%46	%100
p değeri			p=0.777 p>0.05

*satur yüzdeleri

sel olarak bakıldığında hasta ve kontrol grubu D-Dimer parametresi açısından benzer bulunmuştur (p>0.05) (Tablo 2).

Gruplardan bağımsız olarak MTHFR C677T ve D-Dimer ilişkisi araştırıldığında MTHFR C677T ve D-Dimer birlikteliği açısından istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç bulunmamıştır (p>0.05) (Tablo 3).

Hasta grubunda Protrombin G20210A mutasyonu

Tablo 3: MTHFR C677T ile D-Dimer arasında gruplardan bağımsız ilişki tablosu

	DD		Toplam
	Normal	Yüksek	
MTHFR C677T			
Mutasyon yok			
Sayı (n)	10	12	22
Yüzde	%45.5	%54.5	%100
Mutasyon var			
Sayı (n)	17	11	28
Yüzde	%60.7	%39.3	%100
Toplam			
Sayı (n)	27	23	50
Yüzde	%54	%46	%100

Tablo 4: Çalışma ve kontrol gruplarının Protrombin G20210A mutasyonu açısından karşılaştırılması

	GRUP		
	Hasta	Kontrol	Toplam
PTG20210			
Homozigot Normal	n=24 %49 %96	n=25 %51 %100	n=49 %100 %98
Heterozigot Mutant	n=1 %100 %4	n=0 %0 %0	n=1 %100 %2
Toplam	n=25 %50 %100	n=25 %50 %100	n=50 %100 %100
p değeri			p=1.000 p>0.05

Tablo 5: Faktör V Leiden mutasyonu için karşılaştırma tablosu

Gruplar	Faktör V Leiden mutasyonu		Toplam
	mutasyon yok	mutasyon var	
Hasta			
Sayı (n)	25	0	25
Yüzde	%100	%0	%100
Kontrol			
Sayı (n)	25	0	25
Yüzde	%100	%0	%100
Toplam			
Sayı (n)	50	0	50
Yüzde	%100	%0	%100

olan bir hasta bulunmuş olup onun da D-Dimer değerinin normal olduğu görülmüştür. Hasta ve kontrol grubu protrombin G20210A mutasyonu açısından karşılaştırıldığında her iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (p>0.05) (Tablo 4). Faktör V Leiden açısından bakıldığında hasta ve kontrol grubu içerisinde mutasyon saptanmamıştır (Tablo 5).

TARTIŞMA

Standart testlerden sonra infertilite nedeninin bulunamaması durumu, açıklanamayan infertilite olarak tanımlanmaktadır. Bunda genellikle oosit kalitesindeki, fertilizasyondaki veya implantasyondaki bozukluklarının etkili olduğu düşünülmekle beraber, bu bozukluklar standart testler ile anlaşılammaktadır. Bilinen standart testlerin yanı sıra, son zamanlarda açıklanamayan infertilite etiyojisinde herediter trombofililer üzerinde durulmaktadır. Herediter trombofililer, tromboembolik olaylar için risk faktörleridir (11-13). Açıklanamayan infertilite etiyojisi ile kalıtsal trombofililer arasında bir ilişki olabileceği bazı çalışmalarda bildirilmiştir (8).

Gebeliğin oluşabilmesi ve devamlılığı açısından maternal trombofililer (Faktör V Leiden, Protrombin G20210A, MTHFR C677T mutasyonu, D-Dimer), obstetrik açıdan da önemlidir. Uteroplazental dolaşım bozukluğu fetal kayıplarda önemli bir faktördür. Tekrarlayan fetal kayıpları olan hastalarda Faktör V Leiden ve vasküler plasental yetmezlik arasında çalışmaların çoğu sıkı bir bağ olduğunu göstermektedir (14,15).

Bizim çalışmamızda hasta ve kontrol grubu arasında MTHFR C677T mutasyonu, Protrombin G20210A mutasyonu ve Faktör V Leiden mutasyonu ve D-Dimer yüksekliği açısından açıklanamayan infertilite sebebi olabileceğini gösterecek anlamlı bir fark saptanmamıştır.

Casadei ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada 100 açıklanamayan infertil tanısı almış kadın ve 200 sağlıklı fertil kadından oluşan kontrol grubu ile vaka-kontrol çalışması yapılmış, her iki grup trombofililer parametreleri açısından karşılaştırılmıştır. Tüm kadınlar Faktör V Leiden mutasyonu, MTHFR C677T ve Protrombin G20210A mutasyonu açısından incelenmiş ve bu parametreler açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (4).

Herediter trombofililer derin venöz tromboza, kardiyovasküler hastalıklara, tekrarlayan gebelik kayıplarına ve tekrarlayan implantasyon kusurlarına sebep olabilmektedir. Bu bağlamda, açıklanamayan infertilitenin etiyojisinde yeri olabileceği düşünülmektedir.

Folik asit ve MTHFR, kompleks bir yolda birlikte görev almaktadır ve DNA, proteinler, nörotransmitterler ve fosfolipidlerin sentezinde kullanılmaktadırlar. Dolayısıyla trombojenik proteinler yalnızca koagülasyon ve fibrinolizisde değil, aynı zamanda fertilizasyonda, embriyonik oluşumda, dokularda remodelling gerçekleşmesinde,

tekrarlayan gebelik kayıplarında, tekrarlayan implantasyon defektlerinde ve konjenital anomalilerde de önem taşımaktadır (10).

Trombofilik gen mutasyonu ile tekrarlayan gebelik kayıplarına yol açan mekanizmanın, plasental damarların tıkanması, rekürren implantasyon kusuru ve trofoblast migrasyonu üzerinde hidrofibrinolitik etkiye sebep olması ile açıklanmaktadır (16-18). Dolayısıyla, açıklanamayan infertilitede folik asit metabolizmasının rolünün önemli olduğu düşünülmektedir. Özellikle MTHFR C677T homozigot mutasyonu, yalnızca açıklanamayan infertilite değil aynı zamanda tekrarlayan gebelik kaybı ve nöral tüp defekti ile sonuçlanan konjenital anomalileri olan kadınlara yapılan folik asit replasmanının dizigotik ikiz gebeliklerde artışa ve nöral tüp defektinde (NTD) azalmaya sebep olduğu da gösterilmiştir (19-21).

Herediter trombofililer gen mutasyonları gibi, D-Dimer de endojen fibrinoliziste rolü olan hiperkoagülabilite faktörüdür ve tromboz öyküsü olan hastalarda genellikle yüksek olarak saptanmaktadır. Yakın zamandaki çalışmalar göstermiştir ki, D-Dimer de herediter trombofililer mutasyonları gibi aynı zamanda infertilite, tekrarlayan gebelik kayıpları ile ilişkili olmakla beraber, yüksek negatif prediktif değeri nedeniyle daha çok subklinik trombofililer sebebi olarak kabul edilmektedir (10). Bu çalışmada, açıklanamayan infertil grup ile kontrol grubu karşılaştırıldığında, D-Dimer parametreleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0.777$).

Di Micco ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada 39 hasta D-Dimer yüksek olan ve olmayanlar olarak A (25 kişi) ve B (14 kişi) grubu şeklinde ikiye ayrılmıştır. Her iki grupta Faktör V Leiden mutasyonu, MTHFR C677T mutasyonu, Protrombin A20120G mutasyonu, Protein S, Protein C, AT III, Antikardiyolipin IgM ve IgG antikorları ve lupus antikoagülanı ve D-Dimer çalışılmıştır. Sonuç olarak D-Dimer 39 hastanın 25'inde (%64), herediter trombofililer ise 25 hastanın 20'sinde (%80) yüksek bulunmuştur. D-Dimer düzeyi normal olan 14 hastanın ise 7'sinde (%50) herediter trombofililer mutasyonları mevcut bulunmuştur ($p<0.05$) (22).

Azem ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada, 4 veya daha fazla IVF başarısızlık öyküsü olan 45 infertil kadın (grup A), 44 sağlıklı kadınla Faktör V Leiden, MTHFR, Protein C, Protein S, Antitrombin III ve Protrombin A20210G açısından karşılaştırılmış ve trombofilinin tekrarlayan gebelik kayıplarında özellikle de açıklanamayan infertilite grubunda etiyojide rol oynayabileceği bulunmuştur (8).

Açıklanamayan infertilite etiyopatogenesinde hala netleşmemiş noktalar mevcuttur. Çalışmamızın sonucunda, Faktör V Leiden, Protrombin G20210A, MTHFR C677T mutasyonları varlığının ve D-Dimer yüksekliğinin açıkla-

namayan infertilite ile istatistiksel anlamda ilişkisi olmadığını gösterse de, literatürde aksini gösteren çalışmaların da mevcut olması nedeniyle, gelecekte daha çok olgu sayısı ile yapılacak çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

KAYNAKLAR

1. WHO: Report of the Meeting on the Prevention of Infertility at the Primary Health care Level. 1983.
2. Brandes M, Hamilton CJ, de Bruin JP, Nelen WL, Kremer JA. The relative contribution of IVF to the total ongoing pregnancy rate in a subfertile cohort. *Hum Reprod* 2010; 25: 118-126.
3. Siristatidis C, Bhattacharya S. Unexplained infertility, does it really exist? Does it matter? *Hum Reprod* 2007; 22: 2084-2087.
4. Casadei L, Puca F, Privitera L, Zamaro V, Emidi E. Inherited thrombophilia in infertile women: implication in unexplained infertility. *Fertil Steril* 2010; 94: 755-757.
5. Coulam CB, Jeyendran RS. Thrombophilic gene polymorphisms are risk factors for unexplained infertility. *Fertil Steril* 2009; 91: 1516-1517.
6. Grandone E, Colaizzo D, Lo Bue A, Checola MG, Cittadini E, Margaglione M. Inherited thrombophilia and in vitro fertilization implantation failure. *Fertil Steril* 2001; 76: 201-202.
7. Martinelli I, Taioli E, Ragni G, et al. Embryo implantation after assisted reproductive procedures and maternal thrombophilia. *Haematologica* 2003; 88: 789-793.
8. Azem F, Many A, Ben Ami I, et al. Increased rates of thrombophilia in women with repeated IVF failures. *Hum Reprod* 2004; 19: 368-370.
9. Qublan HS, Eid SS, Ababneh HA, et al. Acquired and inherited thrombophilia: implication in recurrent IVF and embryo transfer failure. *Hum Reprod* 2006; 21: 2694-2698.
10. Coulam CB, Jeyendran RS, Fishel LA, Roussev R. Multiple thrombophilic gene mutations are risk factors for implantation failure. *Reprod Biomed Online* 2006; 12: 322-327.
11. Blumenfeld Z, Brenner B. Thrombophilia-associated pregnancy wastage. *Fertil Steril* 1999; 72: 765-774.
12. Thaler CJ, Budiman H, Ruebsamen H, Nagel D, Lohse P. Effects of the common 677C>T mutation of the 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) gene on ovarian responsiveness to recombinant follicle-stimulating hormone. *Am J Reprod Immunol* 2006; 55: 251-258.
13. Bianca S, Barrano B, Cutuli N, et al. Unexplained infertility and inherited thrombophilia. *Fertil Steril* 2009; 92: e4; author reply e5.
14. Brigden ML. The hypercoagulable state. Who, how, and when to test and treat. *Postgrad Med* 1997; 101: 249-262.
15. Ridker PM, Miletich JP, Buring JE, et al. Factor V Leiden mutation as a risk factor for recurrent pregnancy loss. *Ann Intern Med* 1998; 128: 1000-1003.
16. Many A, Schreiber L, Rosner S, Lessing JB, Eldor A, Kupferminc MJ. Pathologic features of the placenta in women with severe pregnancy complications and thrombophilia. *Obstet Gynecol* 2001; 98: 1041-1044.
17. Aflalo ED, Sod-Moriah UA, Potashnik G, Har-Vardi I. Differences in the implantation rates of rat embryos developed in vivo and in vitro: possible role for plasminogen activators. *Fertil Steril* 2004; 81: 780-785.
18. Axelrod HR. Altered trophoblast functions in implantation-defective mouse embryos. *Dev Biol* 1985; 108: 185-190.
19. Goodman CS, Coulam CB, Jeyendran RS, Acosta VA, Roussev R. Which thrombophilic gene mutations are risk factors for recurrent pregnancy loss? *Am J Reprod Immunol* 2006; 56: 230-236.
20. Kallen B. Use of folic acid supplementation and risk for dizygotic twinning. *Obstet Gynecol Surv* 2005; 60: 212-214.
21. Botto LD, Yang Q. 5,10-Methylenetetrahydrofolate reductase gene variants and congenital anomalies: a HuGE review. *Am J Epidemiol* 2000; 151: 862-877.
22. Di Micco P, D'Uva M, Strina I, et al. The role of d-dimer as first marker of thrombophilia in women affected by sterility: implications in pathophysiology and diagnosis of thrombophilia induced sterility. *J Transl Med* 2004; 2: 38.