

Batı Karadeniz Bölgesindeki Pulmoner Tromboemboli Vakalarında Faktör V, Faktör II ve MTHFR Mutasyonlarının Sıklığı The Frequency of Factor V, Factor II and MTHFR Mutations in Pulmonary Thromboembolism Cases in the Western Black Sea Region

Dr. Esra TUĞ,^a
Dr. Tuncer TUĞ,^b
Dr. Selma DÜZENLİ GEPDİREMEN,^a
Dr. Fahrettin TALAY,^b
Dr. Hatip AYDIN,^a
Dr. Bahar KURT^b

^aTıbbi Genetik AD,
^bGöğüs Hastalıkları AD,
Abant İzzet Baysal Üniversitesi
İzzet Baysal Tıp Fakültesi, Bolu

Geliş Tarihi/Received: 02.12.2009
Kabul Tarihi/Accepted: 13.04.2010

Yazışma Adresi/Correspondence:
Dr. Esra TUĞ
Abant İzzet Baysal Üniversitesi
İzzet Baysal Tıp Fakültesi,
Tıbbi Genetik AD, Bolu,
TÜRKİYE/TURKEY
email: esratug@hotmail.com

ÖZET Amaç: Venöz tromboemboli (VTE)'ye kalıtsal yatkınlık, kazanılmış bir risk faktörü oluşuncaya kadar, klinik olarak sessiz kalabilir. Bu çalışmada, pulmoner tromboemboli (PE)'li hastalarda, venöz tromboz gelişimine yol açan kalıtsal risk faktörlerinin sıklık ve dağılımını değerlendirmeyi amaçladık. **Gereç ve Yöntemler:** PE tanısı ile kliniğimize yönlendirilen 27 kadın, 19 erkek toplam 46 hastada (58 ± 18.8), Faktör V geninin iki ayrı mutasyonu (Leiden: FVL, G1691A ve FVH1299R), Faktör II (FII, protrombin) gen mutasyonu (G20210A) ve metiltenetrahidrofolat redüktaz (MTHFR) geninin iki mutasyonu (C677T ve A1298C) gerçek zamanlı PCR cihazında mutant ve yabancıl allellerin ayırımı sağlayan floresan boya ile işaretlenmiş probolar kullanılarak araştırdık. Hastaları kalıtsal trombofili mutasyonlarının dağılımına ve ailesel VTE varlığına göre de değerlendirdik. **Bulgular:** Hastalarımızda FVL, FV (H1299R), MTHFR (C677T ve A1298C) mutasyonlarını sırasıyla %32.6, %2.2, %67.4 ve %63 oranlarında tespit ettik. FII (G20210A) mutasyonu ise belirlenemedi. Hastaların %26'sında tek, %71.7'sinde ise iki veya daha fazla sayıda mutasyon saptandı. VTE aile hikâyesi bireylerin %77'sinde iki ve üzerinde mutasyon mevcuttu. MTHFR mutasyonlarından en az bir tanesi hastaların %63'ünde tek başına, %34'ünde FVL ya da FVH1299R mutasyonu ile birlikte bulunmaktaydı. Hastaların %21.7'sinde farklı bir vücut bölgesinde geçirilmiş tromboz hikâyesi; %8.7'sinde kalıtsal trombofili riski ve neoplazi birlikte bulunmakta idi. **Sonuç:** PE hastalarımızda FVL ve MTHFR geni (C677T ve A1298C) mutasyonlarının oransal dağılımı, önceki az sayıdaki Türkiye verilerinin üzerinde idi. Kalıtsal anormallikler ve VTE arasındaki ilişkinin belirlenmesi, hastaların tanı ve takibinin yanı sıra, doğru ailesel risk ilişkilerinin belirlenmesi ve toplum sağlığı açısından yararlı olacaktır. Ayrıca bu tür çalışmalar, gelecekte PE'de gen-gen ve gen-çevre rolüne daha fazla ışık tutacaktır.

Anahtar Kelimeler: Venöz tromboembolizm; pulmoner tromboembolizm; trombofili; faktör V leiden; protrombin; metiltenetrahidrofolat redüktaz (NADPH2)

ABSTRACT Objective: Frequently an inherited predisposition for venous thromboembolism (VTE) remains clinically silent until an additional acquired risk factors intervenes. In this study, we aimed to evaluate frequency and distribution of hereditary risk factors leading to development of venous thrombosis in patients with pulmonary thromboembolism (PE). **Material and Methods:** We investigated two different mutation (Leiden: FVL, G1691A and FVH1299R) of factor V gene, factor II (FII, prothrombin factor) gene mutation (G20210A) and mutations (C677T and A1298C) of methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) gene in the total 46 patients (58 ± 18.8), 27 females and 19 males, referred to our clinic with diagnosis of PE by Real time PCR by using probe marked with fluorescent dye providing the separation for mutant and wild alleles. We also evaluated distribution of inherited thrombophilia mutations and the family history of VTE. **Results:** We determined the rate of FVL, FV (H1299R), MTHFR (C677T and A1298C) mutations in our patients as 32.6%, 2.2%, 67.4% ve 63%, respectively. FII (G20210A) mutation could not be determined. Twenty six percent of the patients had only one mutation, while 71.7% of them had two or more mutations. In 77% of individuals with family history, there were two or more mutations. Sixty three percent patients had at least one of MTHFR gene mutations alone. In 34% of the patients, a combination of at least one of MTHFR gene mutations with either FVL or FV (H1299R) mutation was available. In 21.7% patients, the history of VTE was present in the different body part. Inherited thrombophilia with neoplasia was present in 8.7% of patients. **Conclusion:** In patients with PE, rate of FVL, and mutations (C677T and A1298C) of MTHFR gene was higher than the previous limited data for Turkey. Determination of the relationship between VTE and inherited abnormalities will be useful for society health and familial risk relations, correctly, in addition to diagnosis and following of patients. Moreover, such studies will provide valuable data on the role of interactions for gene-gene and gene-environment in PE.

Key Words: Venous thromboembolism; pulmonary embolism; thrombophilia; factor V leiden; prothrombin; methylenetetrahydrofolate reductase (NADPH2)

Venöz tromboemboli (VTE), kalıtsal ve/veya edinsel risk faktörlerinin birarada olduğu multifaktöriyel patogeneze gösteren yaygın vasküler bir hastalıktır.¹⁻³ Derin ven trombozu (DVT) ve pulmoner tromboemboli (PE) olmak üzere iki temel klinik tablo ile tanımlanmaktadır.¹ Beyaz ırkta, yılda her 1000 kişide 1-5 kişinin VTE'den etkilendiği ve yaşamı tehdit eden PE'nin bu duruma yüksek oranda eşlik ettiği bildirilmektedir.^{4,5} Oransal dağılımı açısından, kardiyovasküler hastalıklar arasında, iskemik kalp hastalıkları ve inmeden sonra üçüncü sırada yer almaktadır.⁶ DVT'si olan hastaların %50-70'inde sessiz PE olmakta ve PE mevcut olan hastaların ise %70-90'ında DVT bulunmaktadır.⁷

Tromboembolik hastalığı olan bireylerde travma, cerrahi girişim, gebelik, östrojen içeren oral kontraseptiflerin kullanımı, uzamış immobilizasyon, obezite, ilerlemiş yaş ve malignansi gibi VTE için kazanılmış risk faktörlerine ilave olarak, koagülasyon kaskadının komponentlerinde önemli moleküler bozukluklara neden olan genetik anomaliler de bulunmuştur.⁸⁻¹¹ PE'nin gelişiminde önemli etkileri olduğu bilinen genetik faktörlerin ülkemizdeki gerçek insidansı bilinmemektedir.¹² İlave bir kazanılmış risk faktörü ekleninceye kadar, tromboza kalıtsal yatkınlık, sıklıkla klinik olarak sessiz kalmaktadır.¹ Bu nedenle, ailesinde VTE öyküsü olanlarda, 40 yaşın altında VTE geçirenlerde, herhangi bir risk faktörü bulunmaksızın VTE geçiren hastalarda, bacak venleri dışındaki yerlerden kaynaklanan VTE'si olanlarda (atipik yerleşimli DVT) ve tekrarlayan VTE atakları geçirenlerde genetik sebeplerin araştırılması önerilmektedir.¹²

Koagülasyon sistemi kanamayı durdurmak için hızlı bir aktivasyon gösterirken aynı zamanda pıhtının büyümesini engellemek için uygun antikoagülan ve fibrinolitik mekanizmaların zamanında devreye girmesi gerekir.⁷ Farklı etnik gruplardan oluşturulan hastalarda, faktör V (FV) geni içinde 1691'inci nükleotidde G→A yer değişimi (Factor V Leiden; FVL; G1691A) (Arg506Gln; R506Q), aktive protein C'ye direnç gelişimine yol açan yaygın bir mutasyondur.^{13,14} Bu mutasyon, VTE gelişen hastaların en az %40'ında mevcuttur ve Avrupa popülasyonunun genelinde yüksek bir sıklığa sahiptir.

¹³ Yaygın olarak tanımlanmış olan FVL mutasyonu dışındaki diğer risk faktörleri; FV geninde (H1299R) mutasyon, Factor II (FII; protrombin) geninde (G20210A) mutasyon, metilentetrahidrofolat redüktaz [metylenetetrahidrofolate reductase; (MTHFR)] geninde (C677T ve A1298C) mutasyonlar olarak bilinmektedir.¹⁵⁻¹⁷ Önemli kalıtsal trombofili nedenleri arasında yer alan bu mutasyonların tanımlanarak taşıyıcıların belirlenmesi, tedavi protokolünün oluşturulması ve hastaların takibi açısından önemlidir.¹⁸ Çalışmamızın amacı, bölgemizdeki PE tanısı doğrulanmış hastalarda, kalıtsal trombofili risk faktörlerinin sıklığını ve bu risk faktörlerinin birbirleriyle ilişkilerini belirlemek, ayrıca konunun önemine dikkati çekerek ilgili literatür ışığında değerlendirmektir.

GEREÇ VE YÖNTEMLER

HASTALAR

2008-2009 yıllarında PE tanısı ile kalıtsal trombofili risk faktörlerinin belirlenebilmesi amacıyla kliniğimize yönlendirilen 19'u erkek, 27'si kadın olmak üzere toplam 46 (ortalama yaş 58 ± 18.8 yıl) hasta araştırılmıştır. Venöz tromboz için kazanılmış risk faktörleri ve aile hikâyesinin varlığı açısından tüm hastalar sorgulanarak aile ağaçları çıkarılmıştır. Tüm hastalardan bilgilendirilmiş onam formu alınmıştır.

MOLEKÜLER ANALİZ

Her hastadan, içinde etilendiamintetrasetikasit (EDTA) bulunan tüplere 3'er mL periferik venöz kan örneği alındıktan sonra "QIAamp DNA Blood Mini Kit" (Qiagen, Almanya) kullanılarak hasta kanlarından genomik DNA'lar izole edilmiştir. Trombofiliyle ilişkili genetik risk faktörlerini araştırmak üzere tüm hastalar, FVL (rs6025), FV (H1299R) (rs1800595), FII (G20210A) (rs1799963) ve MTHFR (C677T) (rs1801133) ve (A1298C) (rs1801131) tek nükleotid değişimleri için real time PCR (RT-PCR) cihazı (Rotor Gene 6000 LightCycler-Corbett Life Science, Concorde, NSW) kullanılarak ve üretici firmanın (EuroClone SpA- Life Science Division, İtalya) protokolleri doğrultusunda genotiplendirme yapılmıştır. Bu amaçla, RT-PCR cihazında bir nokta mutasyonunun direkt tespiti için mutant ve yaba-

nül allellerin ayrımını sağlayan floresan boya ile işaretlenmiş iki ayrı oligonükleotid prob kullanılmaktadır. Kanal 1'de, FAM (6-carboxy-fluorescein) yabancı tip alleli; kanal 2'de HEX (hexachlorofluorescein) mutant alleli tespit etmek için probun 5' ucuna kovalent olarak bağlanmaktadır. Homozigot yabancı tipte sadece FAM kanalında; homozigot mutant allel için ise HEX kanalında floresan ışığa görülmektedir. Her ikisinde ışığa görülmesi durumunda, örnek heterozigot olarak değerlendirilmektedir.

İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Pozitif olarak saptanan mutasyonlar sayı ve yüzde sıklık olarak verilmiştir. Hastaların yaş ortalamaları, ortalama \pm standart sapma olarak sunulmuştur.

BULGULAR

DEMOGRAFİK VE KLİNİK ÖZELLİKLER

PE tanısı almış 27 (yaş ortalamaları 61.04 ± 1.7 yıl) kadın ve 19 (yaş ortalamaları 53.79 ± 2.1 yıl) erkek olmak üzere toplam 46 olgu değerlendirmeye alındı. Genel olarak yaş dağılımı 17-84 yıl arasında idi. Hastalarımızda kalıtsal trombofilik risk faktörü olarak değerlendirdiğimiz FVL, FV (H1299R), FII (G20210A), MTHFR (C677T ve A1298C) mutasyonlarının allelik dağılımları Tablo 1'de, genotipik dağılımları ise Tablo 2'de görülmektedir. Hastala-

rımızın %26'sında tek bir mutasyon bulunurken, %71.7'sinde iki ve üzerinde mutasyon bulunmaktaydı. Hastaların %28.2'sinin ailesinde en az bir VTE atağı geçirmiş birey mevcuttu. Pozitif aile hikâyesi olan bireylerin %77'sinde iki veya daha fazla mutasyon, %23'ünde ise tek mutasyon mevcuttu. Hastaların %63'ünde MTHFR mutasyonlarından en az birinin tek başına, %34'ünde ise MTHFR mutasyonlarından en az birinin FVL ya da FV (H1299R) mutasyonu ile kombine halde bulunduğu belirlendi.

Hastaların %21.7'sinde PE ile birlikte en az bir farklı vücut bölgesinde klinik olarak geçirilmiş tromboz hikâyesi bulunmaktaydı. Bu hastaların birinde MTHFR (C677T ve A1298C) mutasyonları heterozigot olarak, üçünde MTHFR (A1298C) mutasyonu homozigot olarak bulunmaktaydı. Üç hastada FVL mutasyonu ile birlikte MTHFR (C677T) mutasyonu; 1 hastada ise heterozigot MTHFR (C677T) mutasyonu tek başına bulunmaktaydı. Diğer 2 hastanın ise 1'inde FVL mutasyonu homozigot MTHFR (A298C) mutasyonu ile diğerinde ise FVL mutasyonu MTHFR (C677T ve A1298C) mutasyonları ile birlikte olduğu belirlendi. Böylece, farklı vücut bölgelerinde klinik olarak geçirilmiş tromboz hikâyesi bulunan bireylerde FVL, MTHFR (C677T ve A1298C) mutasyonları sırasıyla %16.7, %20 ve %33.3 oranlarında belirlendi.

TABLO 1: Pulmoner tromboemboli hastalarında FVL, FV (H1299R), FII (G20210A), MTHFR (C677T ve A1298C) mutasyonlarının allelik dağılımları.

Alleller	FVL ^a		FV 1299 ^b		FII ^c		MTHFR 677 ^d		MTHFR 1298 ^e	
	G	A	A	G	G	A	C	T	A	C
Sıklık (%)	82.6 n= 76	17.4 n= 16	98.92 n= 91	1.08 n= 1	100 n= 92	0 n= 0	61.96 n= 57	38.04 n= 35	60.88 n= 56	39.12 n= 36

^a: Faktör V (G1691A) (Leiden) mutasyonu; ^b: Faktör V (H1299R) mutasyonu; ^c: Protrombin Faktör II (G20210A) mutasyonu; ^d: Metilentetrahidrofolat redüktaz (MTHFR) (C677T) mutasyonu; ^e: Metilentetrahidrofolat redüktaz (MTHFR) (A1298C) mutasyonu.

TABLO 2: Pulmoner tromboemboli hastalarında FVL, FV (H1299R), FII (G20210A) ve MTHFR (C677T ile A1298C) mutasyonlarının genotipik dağılımı.

	FVL ^a	FVH1299R ^b	FII G20210A ^c	C677T ^d	A1298C ^e
Normal	%67.4 n= 31	%97.8 n= 45	%100 n= 46	%32.6 n= 15	%37 n= 17
Heterozigot	%30.4 n= 14	%2.2 n= 1	-	%58.7 n= 27	%47.8 n= 22
Homozigot	%2.2 n= 1	- n= 0	-	%8.7 n= 4	%15.2 n= 7

^a: Faktör V (G1691A) (Leiden) mutasyonu; ^b: Faktör V (H1299R) mutasyonu; ^c: Protrombin Faktör II (G20210A) mutasyonu; ^d: Metilentetrahidrofolat redüktaz (MTHFR) (C677T) mutasyonu; ^e: Metilentetrahidrofolat redüktaz (MTHFR) (A1298C) mutasyonu.

Hastaların %8.7'sinde mevcut kalıtsal tromboz riski dışında PE gelişimini tetikleyebilecek neoplazi birlikteliği mevcuttu. PE ile birlikte neoplazi bulunan hastaların 2'sinde MTHFR (C677T) mutasyonu, 1'inde MTHFR (A1298C) mutasyonu bulunmakla birlikte, 1 hastada ise FVL, MTHFR (C677T ve A1298C) mutasyonları bulunmakta idi. Neoplazi eşlik eden hastalarımızda en sık kalıtsal risk faktörü MTHFR (C677T) (%25) idi.

Üç ve daha fazla mutasyona sahip olan 9 (%19.5) hastanın yaş, cinsiyet, sahip oldukları trombofil mutasyonları, geçirilmiş VTE hikâyesinin varlığı ve/veya tromboz gelişimini tetikleyebilecek kazanılmış risk faktörü ve 1. derece akrabalarında VTE aile hikâyesi ile ilgili bilgiler Tablo 3'te görülmektedir.

TARTIŞMA

Venöz tromboz nadir olarak diğer venlerde de görülmekle birlikte, klinikte en sık görülen şekli alt ekstremitelerde DVT ve PE'dir.¹⁹ VTE gelişen hastaların 1/3'ünde ve ailesel tromboz bulunanların yarısından fazlasında tabloya, kalıtsal trombofilik risk faktörleri olarak bilinen mutasyonlar eşlik etmektedir.¹² Bu çalışmada PE'li hastalarda venöz tromboz gelişiminde önemli olan kalıtsal risk faktörlerinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Hastalarımızda FVL, FV (H1299R), MTHFR (C677T ve A1298C) mutasyonları sırasıyla %32.6, %2.2, %67.4 ve %63 oranlarında saptanmıştır. FII

(G20210A) mutasyonu ise grubumuzdaki hiçbir hastada belirlenmemiştir. Hastalarımızın %21.7'sinde en az bir farklı vücut bölgesinde geçirilmiş bir tromboz hikâyesi bulunmakta idi. Bu hastalarda FVL, MTHFR (C677T ve A1298C) mutasyonları sırasıyla %16.7, %20 ve %33.3 oranlarında bulunmakla birlikte, %90'ında iki ve üzerinde mutasyon mevcuttu. %28.2 hastamızda pozitif aile hikâyesi mevcuttu ve bunların %77'sinde de iki veya daha fazla mutasyon bulunmakta idi.

Önceki çalışmalarda, VTE ile cinsiyet arasındaki ilişkinin belirsizliğinden söz edilmektedir.²⁰ Bazı çalışmalarda ise kadın ve erkekler arasında DVT ve PE prevalansında farklılık olmadığı bildirilmiştir.^{21,22} Goldhaber ve ark.²³ akut PE'li hastaların %55'inin kadın olduğunu belirtmişlerdir. Aksine, Kasper ve ark.²⁴ ise PE'nin erkeklerde daha sık olduğunu bildirmişlerdir. Bizim hasta grubumuzun ise %58.7'si kadın idi.

Kromozom 1q23 üzerinde bulunan FV geninin 10. ekzonundaki FVL mutasyonu, FVa inaktivasyonu aracılığıyla aktive edilmiş protein C (APC)'yi bozar.^{25,26} Bu durum APC direnci olarak adlandırılır.²⁷ FVL mutasyonunun heterozigot taşıyıcılarında venöz tromboz riskinin 2-7 kat, homozigotlarda ise yaklaşık 80 kat arttığı bildirilmektedir.^{13,19,28} FVL mutasyonu sıklığı ilk venöz tromboz atağıyla başvuran hastaların %20-25'inde, tekrarlayan venöz trombozlu olguların %20-50'sinde bildirilmektedir. FVL, Avrupa kökenli toplum-

TABLO 3: Üç ve daha fazla mutasyonu bulunan PE'li bireylerin demografik özellikleri, geçirilmiş VTE varlığı ve kazanılmış risk faktörleri, 1. derece akrabasında trombozlu hasta varlığı ile FVL, FV (H1299R), FII (G20210A), MTHFR (C677T ve A1298C) mutasyonları için hastaların sahip oldukları genotipler.

Yaş/cinsiyet	Mutasyonları (Ht/Hm)*	Risk†	Aile öyküsü
73/Erkek	Ht FVL ^a + Hm MTHFR C677T ^b	-	+
17/Erkek	Ht FVL ^a + Hm MTHFR C677T ^b	-	-
84/Erkek	Ht FVL ^a + Hm MTHFR A1298C ^c	DVT, SVH	-
19/Kadın	Ht FVL ^a + Ht MTHFR C677T ^b + Ht MTHFR A1298C ^c	-	-
32/Kadın	Ht FVL ^a + Ht MTHFR C677T ^b + Ht MTHFR A1298C ^c	-	-
56/Kadın	Ht FVL ^a + Ht MTHFR C677T ^b + Ht MTHFR A1298C ^c	-	-
76/Kadın	Ht FVL ^a + Ht MTHFR C677T ^b + Ht MTHFR A1298C ^c	Meme Ca	-
78/Kadın	Ht FVL ^a + Ht MTHFR C677T ^b + Ht MTHFR A1298C ^c	SVH	-
55/Kadın	Hm FVL ^a + Ht MTHFR C677T ^b + Ht MTHFR A1298C ^c	-	+

*Ht/Hm: Heterozigot/ homozigot †: PE ile birlikte, geçirilmiş VTE hikâyesi varlığı ve/veya kazanılmış risk faktörü varlığı; DVT: Derin ven trombozu; SVH: Serebrovasküler hastalık; ^a: Faktör V (G1691A) (Leiden) mutasyonu; ^b: Metilentetrahidrofolat redüktaz (MTHFR) (C677T) mutasyonu; ^c: Metilentetrahidrofolat redüktaz (MTHFR) (A1298C) mutasyonu.

larda en sık rastlanılan kalıtsal trombofili nedeni olarak bilinmektedir.²⁹ Prevalansı beyaz ırkta sık görülmeyle birlikte, genel popülasyonda %2-15 oranında değişmektedir.³⁰ Ridker ve ark.³¹ geniş bir hasta serisinde yaptıkları çalışma sonucunda FVL mutasyonunu beyaz Amerikalılarda en yüksek oranda tespit etmişlerdir. Türkiye'deki prevalansı, Akar ve ark.³² venöz trombozlu hastalarda %9.8 Altıntaş ve ark.³³ ise DVT'li hasta grubunda %26.9 gibi oldukça yüksek bir düzeyde bulmuşlardır.

PE'ye neden olan kalıtsal risk faktörlerinin ülkemizdeki prevalansı kesin olarak bilinmemekle birlikte, şimdiye kadarki veriler olgu sunumlarından elde edilebilmektedir.^{6,11,12,18,34} Bizim sonuçlarımızda, PE hastalarında FVL mutasyon sıklığı hastaların %30.4'ünde heterozigot %2.2'sinde ise homozigot genotipte saptanmıştır. Dolayısıyla %32.6'lık sıklık oranımız, Akar³² ve Altıntaş'ın³³ sonuçlarına göre daha yüksek bir düzeyi yansıtmaktadır. FVL mutasyonu bulunan PE hastalarının %35.7'sinde geçirilmiş bir venöz tromboz hikâyesi mevcuttu. Ancak, bu hastaların tümünde FVL mutasyonu ile birlikte en az bir MTHFR mutasyonunun da varlığı belirlenmiştir. Bu nedenle, FVL mutasyonunun MTHFR genindeki (C677T ve/veya A1298C) mutasyonları ile birlikteliğinin tekrarlayan VTE gelişiminde önemli bir kalıtsal predispozan faktör olabileceği söylenebilir.

Genetik analizler göstermiştir ki, VTE hastaları ayrıca FV geninin 13. ekzonunda matür FV'de 4070. pozisyonda bulunan A→G tek nükleotid değişiminin (A4070G) neden olduğu histidin ile arjinin aminoasitlerinin değişikliğine (His1299Arg) de sahip olabilmektedir.³⁵ FV (H1299R) allel taşıyıcılığı, orta derecedeki bir APC direnci ve plazmadaki daha trombojenik FV izoformlarının (FV1) artması ile ilişkilidir.³⁶ FV (H1299R) mutasyonu, trombofili için predispozan bir mutasyon olarak bilinmekle birlikte, FVL mutasyonu taşıyıcılarında bulunması durumunda venöz tromboz riskini çok daha artırmaktadır.³⁷ Yaptığımız literatür incelemelerinde, FV (H1299R) mutasyonunun prevalansına yönelik herhangi bir veriye rastlanamamıştır. Bizim hastalarımızda bu mutasyonun, %2.2 oranıyla bir hastada heterozigot genotipte MTHFR (C677T) mutasyonu ile birlikte bulunduğunu ve bu hastanın

yaş ortalamasına göre genç hasta grubunda olduğunu gözlemledik. Böylece FV (H1299R) mutasyonunun da PE hastalarında ayrıca araştırılması ve değerlendirilmesi gereken bir genetik predispozan faktör olarak düşünülmesinin uygun olacağını söyleyebiliriz.

1996 yılında ikinci pıhtılaşma faktörü mutasyonu olarak, protrombin geninde 20210. pozisyonda guanin yerine adenin nükleotidinin gelmesiyle oluşan ve glutaminin arjinin değişimi ile sonuçlanan FII (G20210A) mutasyonu açıklanmıştır.²¹ Plazmadaki protrombin konsantrasyonunu %30 oranında artıran bu mutasyon kalıtsal trombofili nedenleri arasında ikinci sırada yer almaktadır.^{21,30,38} Nizankowska-Mogilnicka ve ark.¹ tek başına PE kliniği olan hastalarda FII (G20210A) mutasyonunun sıklığının azalmadığını belirtmişlerdir. Türkiye'de FII (G20210A) mutasyon sıklığının, venöz trombozlu değişik hasta gruplarında ve farklı coğrafi bölgelerde yapılan çalışmalarda farklılıklar gösterdiği belirlenmiş olup, bu sıklığı Gürgey ve ark.³⁹ %6.8; Akar ve ark.⁴⁰ %9.2 ve Altıntaş ve ark.³³ ise %11 olarak bildirmişlerdir. Bizim verilerimiz, PE hasta grubunda, Türkiye'deki ilk veriler olmakla birlikte, ilginçtir ki hastalarımızın hiçbirinde FII (G20210A) mutasyonu saptanmamıştır.

MTHFR, sirküle olan folatın ana formu olan 5,10-metilentetrahidrofolatın, 5-metiltetrahidrofolata indirgenmesini katalize eder. 5-metiltetrahidrofolat homosisteinin metionine dönüşümü sırasında bir metil grubu vericisi olarak çalışır.⁵ Fross ve ark.⁴¹ 1995'te MTHFR geninin 677. nükleotidinde alaninin valine dönüşmesine neden olan bir nokta mutasyonu tanımlamışlardır. Bu mutasyonun azalmış spesifik MTHFR aktivitesi ile ve lenfosit özütlelerinde enzimin artmış termolabilitesi ile ilişkili olduğunu göstermişlerdir.⁴¹

Dölek ve ark.⁴² tromboembolik hastalıklarda MTHFR (C677T ve A1298C) mutasyonlarının tek başına önemli bir risk faktörü olmadığını belirtmişlerdir. Ayrıca, MTHFR mutasyonlarının FVL ile kombinasyonlarında tromboz riskinin artmış olduğu belirtilmiştir.^{17,42} Tam aydınlatılmamış olmakla birlikte birbirlerine sinerjistik etki gösterdikleri düşünülmektedir.¹⁷ Mutasyonun Avrupa popülasyonu

nundaki genel prevalansını Marz ve ark.⁵ %5-15 olarak bildirmişlerdir. Dölek ve ark.⁴² ise Türk popülasyonunda yaptıkları bir çalışmada MTHFR (C677T ve A1298C) mutasyonlarının heterozigot ya da homozigot genotipteki sıklıklarını sırasıyla %49.8 ve %63.2 olarak bulmuşlardır. Bizim hasta grubumuzda ise MTHFR (C677T ve A1298C) mutasyonlarının heterozigot ya da homozigot genotipteki sıklıkları sırasıyla %67.4 ve %63 idi. Hastalarımızın %63'ünde sadece MTHFR (C677T ve A1298C) mutasyonlarından en az birinin bulunduğunu, %34 hastada ise MTHFR (C677T ve A1298C) mutasyonlarından en az birinin FVL ve bir hastada ise FV (H1299R) mutasyonu ile birlikte olduğu gözlemlenmiştir. Dölek ve ark.⁴² değerlendirmelerinin aksine, bu çalışmada kanıtlanmış PE hastalarında MTHFR mutasyonlarından herhangi birinin varlığının oransal yüksekliği, bu mutasyonun tromboemboli için bir risk faktörü olabileceğini düşündürmektedir.

VTE'nin 45 yaş altında oluşması, aile hikâyesi varlığının belirlenmesi, tekrarlayan tromboz atakları ve warfarin ile indüklenmiş cilt nekrozu, serebral, mezenterik, splenik, portal, hepatik venler gibi alışılmadık bir yerde tromboz tanımlanması durumunda, bu hastaların genetik trombofilik risk faktörleri açısından taranması gerekmektedir.⁵ Bizim de sonuçlarımız göz önünde bulundurulduğunda, geçirilmiş tromboz hikâyesi olan, ilk atağını geçirmekte olan genç hasta, tromboz gelişimini tetikleyici herhangi bir risk faktörü olmaksızın PE geçiren hasta veya ilk atağını geçiren ve ailesinde VTE'li birey bulunan hastalarda kalıtsal trombofilik faktörlerinin önemli bir etken olduğu söylenebilir.

Tek bir kalıtsal trombofilik mutasyona sahip olan bireyler nadir değildir ve sıklıkla asemptomatiktir. Oysa, semptomatik hastaların birçoğu birden fazla genetik risk faktörüne sahiptir.^{5,17} Hasta-

larımızın %71.7'sinde iki veya daha fazla sayıda mutasyon bulunması bu görüşü desteklemektedir.

Kalıtsal trombofilik mutasyonuna sahip PE'li hastaların takibinde, bireysel ve ailesel hikâyelerin sorgulanması, eşlik eden malignite ya da enfeksiyon gibi kazanılmış diğer trombofilik risk faktörlerinin varlığı da düşünülmelidir. Kalıtsal trombofilik risk faktörüne sahip kadınlar oral kontraseptif kullanmamalıdır.⁵

SONUÇ

Kalıtsal trombofilik etkenlerinin belirlenebilmesi amacıyla kliniğimize yönlendirilen PE hastalarında kalıtsal trombofilik risk faktörleri olarak, en yüksek orandan en düşük orana doğru sırasıyla, MTHFR (C677T ve A1298C), FVL ve FV (H1299R) mutasyonları gözlenmiştir. Hasta grubumuzda FII (G20210A) mutasyonunun belirlenmemiş olması, bu mutasyonun sıklığının diğer mutasyonlara göre çok daha düşük düzeylerde olabileceğini düşündürmektedir. Çalışmamızda elde edilen FVL (%32.6) ve MTHFR (C677T) (%67.4) mutasyonlarının oransal sıklığının, Türkiye'de daha önce yapılmış çalışmalara göre daha yüksek seviyelerde olduğu belirlenmiştir. Amacımız, bölgemizde klinik gözlem ve deneyimlere dayalı olarak sık rastlandığını düşündüğümüz pulmoner tromboemboli olgularında önemli rol oynayan kalıtsal trombofilik risk faktörlerinin sıklığını ve birbirleriyle ilişkilerini belirlemek ve genotip ile fenotip arasındaki güçlü ilişkiyi değerlendirmektir. Bu tür kalıtsal anormallikler ile VTE gelişimi arasındaki ilişkilerin belirlenebilmesinin, hastaların prognozu ve tedavi yaklaşımlarının yanı sıra, ailesel yatkınlıklarının da belirlenmesine katkıda bulunarak, toplum sağlığı açısından önemli yararları olabileceğini düşünmekteyiz. Ayrıca bu tür çalışmalar, gelecekte PE'de gen-gen ve gen-çevre rolüne daha fazla ışık tutacaktır.

KAYNAKLAR

1. Nizankowska-Mogilnicka E, Adamek L, Grzanka P, Domagala TB, Sanak M, Krzanowski M, et al. Genetic polymorphisms associated with acute pulmonary embolism and deep venous thrombosis. *Eur Respir J* 2003;21(1):25-30.
2. Revel-Vilk S, Massicotte P. Thromboembolic diseases of childhood. *Blood Rev* 2003;17(1):1-6.
3. Celkan T. [Inherited thrombophilia in childhood]. *Turk Arch Ped* 2003;38(3):131-46.
4. Margaglione M, Brancaccio V, De Lucia D, Martinelli I, Ciampa A, Grandone E, et al. Inherited thrombophilic risk factors and venous thromboembolism: distinct role in peripheral deep venous thrombosis and pulmonary embolism. *Chest* 2000;118(5):1405-11.
5. März W, Nauck M, Wieland H. The molecular mechanisms of inherited thrombophilia. *Z Kardiol* 2000;89(7):575-86.
6. Oner F, Kaya A, Doğan R, Numanoğlu N. [Genetic risk factors of venous thromboembolism]. [Article in Turkish] *Tuberk Toraks* 2003;51(1):60-9.
7. Kruit WH, de Boer AC, Sing AK, van Roon F. The significance of venography in the management of patients with clinically suspected pulmonary embolism. *J Intern Med* 1991;230(4):333-9.
8. Seligsohn U, Lubetsky A. Genetic susceptibility to venous thrombosis. *N Engl J Med* 2001;344(16):1222-31.
9. Guidelines on diagnosis and management of acute pulmonary embolism. Task Force on Pulmonary Embolism, European Society of Cardiology. *Eur Heart J* 2000;21(16):1301-36. PubMed'de yazar isimleri yok.
10. De Stefano V, Finazzi G, Mannucci PM. Inherited thrombophilia: pathogenesis, clinical syndromes, and management. *Blood* 1996;87(9):3531-44.
11. Yurdakul AS, Cimen F, Taci Hoca N, Cakaloğlu A, Atikcan S. [Recurrent pulmonary embolism secondary to hereditary thrombophilia (case report)]. [Article in Turkish] *Tuberk Toraks* 2004;52(3):275-9.
12. Kızkin Ö, Hacıevliyagil SS, Mutlu LC, Günen H, Yıldırım Z. [Genetic risk factors in pulmonary thromboemboli (reports of five cases)]. *Journal of Inonu University Medical Faculty* 2002;9(3):215-8.
13. Martinelli I, Mannucci PM, De Stefano V, Taioli E, Rossi V, Crosti F, et al. Different risks of thrombosis in four coagulation defects associated with inherited thrombophilia: a study of 150 families. *Blood* 1998;92(7):2353-8.
14. Bertina RM, Koeleman BP, Koster T, Rosendaal FR, Dirven RJ, de Ronde H, et al. Mutation in blood coagulation factor V associated with resistance to activated protein C. *Nature* 1994;369(6475):64-7.
15. Silan F, Zafer C. [The mutation of Factor V Leiden]. *Düzce Medical Journal* 2004;1(1):33-6.
16. Turpie AG, Chin BS, Lip GY. Venous thromboembolism: pathophysiology, clinical features, and prevention. *BMJ* 2002;325(7369):887-90.
17. Baykal Y, Özet G, Kocabalkan F. [The risk factors related to venous thrombosis]. *Türkiye Klinikleri J Med Sci* 1999;19(4):236-41.
18. Sarıman N. [Recurrent deep venous thrombosis and pulmonary embolism in a patient with homozygous Factor V Leiden (G1691A) gene mutation]. *Turkish Thoracic Journal* 2008;9(2):80-83.
19. De Stefano V, Rossi E, Paciaroni K, Leone G. Screening for inherited thrombophilia: indications and therapeutic implications. *Haematologica*. 2002;87(10):1095-108.
20. Stein PD, Huang H, Afzal A, Noor HA. Incidence of acute pulmonary embolism in a general hospital: relation to age, sex, and race. *Chest* 1999;116(4):909-13.
21. Poort SR, Rosendaal FR, Reitsma PH, Bertina RM. A common genetic variation in the 3'-untranslated region of the prothrombin gene is associated with elevated plasma prothrombin levels and an increase in venous thrombosis. *Blood* 1996;88(10):3698-703.
22. Emmerich J, Rosendaal FR, Cattaneo M, Margaglione M, De Stefano V, Cumming T, et al. Combined effect of factor V Leiden and prothrombin 20210A on the risk of venous thromboembolism--pooled analysis of 8 case-control studies including 2310 cases and 3204 controls. Study Group for Pooled-Analysis in Venous Thromboembolism. *Thromb Haemost* 2001;86(3):809-16.
23. Goldhaber SZ, Visani L, De Rosa M. Acute pulmonary embolism: clinical outcomes in the International Cooperative Pulmonary Embolism Registry (ICOPEr). *Lancet* 1999;353(9162):1386-9.
24. Kasper W, Konstantinides S, Geibel A, Olschewski M, Heinrich F, Grosser KD, et al. Management strategies and determinants of outcome in acute major pulmonary embolism: results of a multicenter registry. *J Am Coll Cardiol* 1997;30(5):1165-71.
25. Kalafatis M, Bertina RM, Rand MD, Mann KG. Characterization of the molecular defect in factor VR506Q. *J Biol Chem* 1995;270(8):4053-7.
26. Aparicio C, Dahlbäck B. Molecular mechanisms of activated protein C resistance. Properties of factor V isolated from an individual with homozygosity for the Arg506 to Gln mutation in the factor V gene. *Biochem J* 1996;313(Pt 2):467-72.
27. Dahlbäck B, Carlsson M, Svensson PJ. Familial thrombophilia due to a previously unrecognized mechanism characterized by poor anticoagulant response to activated protein C: prediction of a cofactor to activated protein C. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1993;90(3):1004-8.
28. Simioni P, Sanson BJ, Prandoni P, Tormene D, Friederich PW, Girolami B, et al. Incidence of venous thromboembolism in families with inherited thrombophilia. *Thromb Haemost* 1999;81(2):198-202.
29. Raskob GE, Hull RD, Pineo GF. Venous thrombosis. In: Lichtman MA, Beutler E, Kipps TJ, et al. eds. *Williams Hematology*. 7th ed. Mc Graw: Hill Comp; 2006. p. 2055-65.
30. Rees DC, Cox M, Clegg JB. World distribution of factor V Leiden. *Lancet* 1995;346(8983):1133-4.
31. Ridker PM, Miletich JP, Hennekens CH, Buring JE. Ethnic distribution of factor V Leiden in 4047 men and women. Implications for venous thromboembolism screening. *JAMA* 1997;277(16):1305-7.
32. Akar N, Akar E, Dalgin G, Sözüöz A, Omürlü K, Cin S. Frequency of Factor V (1691 G --> A) mutation in Turkish population. *Thromb Haemost* 1997;78(6):1527-8.
33. Altıntaş A, Çil T, Kaplan MA, Yurt M, Batun S. [Hereditary thrombophilic risk factors in patients with deep venous thrombosis]. *International Journal of Hematology and Oncology (UHOD)* 2007;2(17):65-9.
34. Uçar N, Dursun AB, Alpar S, Karakaya T, Kurt B. [A case of recurrent pulmonary thromboembolism due to protein C, protein S deficiency, activated protein C-resistance and Factor V Leiden mutation]. *Solumum Hastalıkları* 2005;16(2):90-4.
35. Castaman G, Lunghi B, Missiaglia E, Bernardi F, Rodeghiero F. Phenotypic homozygous activated protein C resistance associated with compound heterozygosity for Arg506Gln (factor V Leiden) and His1299Arg substitutions in factor V. *Br J Haematol* 1997;99(2):257-61.
36. Castoldi E, Rosing J, Girelli D, Hoekema L, Lunghi B, Mingozzi F, et al. Mutations in the R2 FV gene affect the ratio between the two FV isoforms in plasma. *Thromb Haemost* 2000;83(3):362-5.
37. Castoldi E, Simioni P, Kalafatis M, Lunghi B, Tormene D, Girelli D, et al. Combinations of 4 mutations (FV R506Q, FV H1299R, FV Y1702C, PT 20210G/A) affecting the prothrombinase complex in a thrombophilic family. *Blood* 2000;96(4):1443-8.

38. Szczekliak A, Sanak M, Jankowski M, Dropiński J, Czachór R, Musiał J, et al. Mutation A1298C of methylenetetrahydrofolate reductase: risk for early coronary disease not associated with hyperhomocysteinemia. *Am J Med Genet* 2001;101(1):36-9.
39. Gurgey A, Haznedaroglu IC, Egesel T, Buyukasik Y, Ozcebe OI, Sayinalp N, et al. Two common genetic thrombotic risk factors: factor V Leiden and prothrombin G20210A in adult Turkish patients with thrombosis. *Am J Hematol* 2001;67(2):107-11.
40. Akar N, Yılmaz E, Akar E. Coexistence of Two Prothrombotic Mutations, Factor V 1691 G-A and Prothrombin 20210 G-A, and the Risk of Thrombosis in Turkish Population. *Turk J Haematol* 2003;20(1):31-3.
41. Frosst P, Blom HJ, Milos R, Goyette P, Shepard CA, Matthews RG, et al. A candidate genetic risk factor for vascular disease: a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase. *Nat Genet* 1995;10(1):111-3.
42. Dölek B, Eraslan S, Eroğlu S, Kesim BE, Ulutin T, Yalçiner A, et al. Molecular analysis of factor V Leiden, factor V Hong Kong, factor II G20210A, methylenetetrahydrofolate reductase C677T, and A1298C mutations related to Turkish thrombosis patients. *Clin Appl Thromb Hemost* 2007;13(4):435-8.