

Derin Ven Trombozu Olgularında Herediter Trombofilik Risk Faktörleri

Abdullah ALTINTAŞ*, Timuçin ÇİL*, M. Ali KAPLAN**, Murat YURT***, Sabri BATUN***

* Dicle Üniversitesi, İç Hastalıkları, Hematoloji-Onkoloji Bilim

** Dicle Üniversitesi, İç Hastalıkları Ana Bilim Dalı

*** Dicle Üniversitesi, Biyokimya Ana Bilim Dalı-Hematoloji Laboratuvarı, DİYARBAKIR

ÖZET

Derin venöz tromboz (DVT) olgularında kalıtsal risk faktörlerinin sıklığı dünyanın çeşitli bölgelerinde değişmektedir. Faktör V Leiden ve protrombin G20210A (PT G20210A) venöz tromboza neden olan en sık genetik defektlerdir. Bu çalışmanın amacı; bölgemizde ki erişkin DVT olgularında FVL ve PT G20210A mutasyon sıklığını araştırmaktır. Eylül 2001 ile ağustos 2006 tarihleri arasında venöz tromboz tanısı konan 52 hastada FVL ve PT G20210A mutasyon varlığı araştırıldı. Venöz trombozlu 52 hastanın 14'ünde FVL mutasyonu (%26.9), 6'sında da PT G20210A mutasyonu (%11) bulundu. Sonuç olarak; Güneydoğu anadolu bölgesinde DVT olgularında normal sağlıklı popülasyonla karşılaştırıldığında FVL ve PT G20210A mutasyonları daha sık bulunmuştur.

Anahtar Kelimeler: Derin ven trombozu, Faktör V Leiden, Protrombin G20210A

ABSTRACT

Hereditary Thrombophilic Risk Factors in Patients with Deep Venous Thrombosis

The prevalence of hereditary risk factors for deep venous thrombosis (DVT) varies greatly in different parts of the world. Factor V Leiden (FVL) and prothrombin G 20210A (PT G20210A) are the most common genetic defects leading to venous thrombosis. The aim of this study was to investigate the frequency of FVL and PT G20210A mutations in adult patient with DVT in our region. Between September 2001 and August 2006, 52 patients with documented venous thrombosis were investigated in our center for the presence of FVL and PT G20210A mutations. Fourteen of 52 patients with thrombosis (%26.9) were detected to have a FVL mutation. The PT G20210A mutation was detected in 6 (%11) of the 52 patients. Our findings reveal that FVL and PT G20210A mutations are significantly higher in patients with DVT than in the healthy population in the southeast of Turkey.

Key Words: Deep vein thrombosis, Factor V Leiden, Prothrombin G20210A

GİRİŞ

Protrombotik bozukluklar kandaki bazı pıhtılaşma faktörleri ile ilgili değişikliklerden, kan akımında yavaşlamadan veya damara ait bozukluklardan kaynaklanabilen tromboza eğilim ortaya çıkaran durumlardır. Trombofili terimi genel olarak genetik ve akkiz tromboza yatkınlık meydana getiren hemostaz hastalıklarını tariflemektedir. Protrombotik bozukluklar edinsel veya kalıtsal nedenlere bağlı olabildiği gibi birçok hastada birden fazla neden bir arada olmaktadır. Hiperkoagülabilitenin kazanılmış nedenleri arasında yaşlılık, hareketsizlik, cerrahi girişimler, gebelik, lohusalık, kanser ve lupus antikoagülanı sayılabilir. Herediter trombofili esas olarak venöz tromboz için risk faktörü olup arteriyel trombozlara daha nadir neden olmaktadır (1). Önemli bir mortalite ve morbidite nedeni olan ven trombozunun yıllık insidansı çocukluk döneminde 100.000’de 1 iken, erişkin yaşlarda ise yaklaşık %0.1 olarak bildirilmektedir (2-3). Tromboz nadir olarak diğer venlerde de görülmesine rağmen klinikte en sık görülen şekli derin ven trombozu (DVT) ve pulmoner embolizmdir. Ailesel trombofili ilk olarak 1956 yılında Jordan ve Nandorff tarafından tarif edilmiştir. Kalıtsal trombofili nedeni olarak ilk tanımlanan bozukluklar disfibrinojenemi, antitrombin III, protein C ve protein S eksiklikleridir (4-6). Yaklaşık 10 yıl öncesine kadar bu sayılan herediter risk faktörleri ile venöz trombozlu olguların ancak %10’unda etyolojik neden açıklanabilmekteydi (7). Bu durum kalıtsal trombofilide en sık neden olan aktiflenmiş protein C’ye direncin tanınmasından sonra büyük değişiklik göstermiştir. Aktiflenmiş protein C’ye dirence yol açan en sık mutasyon faktör V geninde 10. eksonda G1691A (FVL) mutasyonudur (8-9). FVL’den sonra Poort ve arkadaşları tarafından 1996 yılında protrombin geninde 20210. nükleotid olan guanin yerine adeninin gelmesiyle olan PT G20210A ikinci pıhtılaşma faktörü mutasyonu ortaya kondu (10). Aynı hastada birden fazla kalıtsal nedenin birlikteliği de olabilmekte ve bu durumda tromboz riski daha fazla artmaktadır (7).

Biz bu çalışmada Güneydoğu Anadolu bölgesinde DVT tanısıyla hastanemize başvuran olgularda herediter risk faktörleri olan FVL ve PT G20210A mutasyonlarının sıklığını araştırdık.

HASTALAR VE YÖNTEM

Eylül 2001 ile Ağustos 2006 tarihleri arasında Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları ve Kalp damar cerrahisine başvuran DVT tanılı 52 olgu değerlendirilmeye alındı. Sonuçlar hastalarla akrabalığı olmayan 56 sağlıklı erkek, 51 sağlıklı kadından oluşan kontrol grubu verileriyle karşılaştırıldı. DVT tanısı doppler ultrasonografi ile, pulmoner emboli tanısı ventilasyon-perfüzyon sintigrafisi ve anjiyografi ile kondu. Doppler ultrasonografi normal olup D-dimer düzeyi yüksek olmayan hastalar değerlendirme dışında bırakıldı. Olguların tümü bölgemizden başvuran hastalardı. Kontrol grubu da aynı popülasyondan seçildi.

İstatistiksel Analiz

İstatistiksel değerlendirmeler SPSS 10.0 paket programı kullanılarak yapılmış, $p < 0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir. Numerik değişkenlerde iki değişken için student t test, kategorik değişkenler için de Ki-Kare (Fisher’s exact) testi kullanılmıştır.

Mutasyon Analizi

Hasta ve kontrol grubu DNA’ları EDTA’lı tüp içindeki kandan “High Pure PCR Template Preparation Kit” kullanılarak elde edildi. Daha sonra Real Time PCR cihazında (LightCycler) “LightCycler-Faktör-V Leiden Mutasyon Saptama Kiti” kullanılarak Faktör-V Leiden noktasal mutasyonu, “Protrombin G20210A Mutasyon Saptama Kiti” kullanılarak Protrombin gen mutasyonu araştırıldı. Bu amaçla Real Time PCR cihazında (LightCycler-Roche Diagnostics) faktör V geninin 222 baz çiftlik fragmanları, protrombin geninin 165 baz çiftlik fragmanları özel primerler ile amplifiye edildi. Oluşan amplifikasyon ürünleri özel hibridizasyon problemleri kullanılarak floresans ile gösterildi. Hibridizasyon problemleri iki farklı oligonükleotitden oluşmaktaydı. Bir prob 5’ ucundan LightCycler 640 ve diğer prob 3’ ucundan florescein ile işaretlendi. Hibridizasyon sonrası iki probun yaklaşmasının oluşturduğu floresan rezonans enerji transferi esnasında LightCycler cihazının ışık kaynağının uyarılması ve kısmen enerjinin LC-Red640 transferi sonrası burada emilen floresanın LightCycler cihazında ölçülmesiyle faktör V ve protrombin genlerindeki noktasal mutasyonlara bakıldı. Daha sonra Melting Curve (Eri-

Tablo 1. Hasta ve kontrol grubunun demografik özellikleri ve mutasyon analizi

Parametre	HASTA GRUBU n=52	KONTROL GRUBU n=107	p
Kadın	30 (%58)	51 (%48)	>0.05
Erkek	22 (%42)	56 (%52)	>0.05
Yaş Ortalaması	41 (16-79)	38,7 36-50)	>0.05
FVL heterozigot	13 (%25)	2 (%1.8)	<0.0001
FVL homozigot	1 (%1.9)	0	>0.05
PT G20210A Heterozigot	6 (%11)	0	=0.001
PT G20210A Homozigot	0	0	-

me Eğrisi) programı kullanılarak homozigot (wild yada mutant) veya heterozigot genotip varlığı tanımlandı.

SONUÇLAR

Çalışmaya alınan DVT tanılı 52 hastanın 30'u kadın (%58), 22'si erkekti (%42). Tüm hasta grubunda yaş ortalaması 41 (16-79) olarak bulundu. Erkek hastalarda yaş ortalaması 41.4, kadın hastalarda ise 41.9'du. Hastaların aile anamnezinde tromboz öyküsü yoktu. Kontrol grubuna toplam 107 kişi alındı (56 erkek (%52), 51 kadın (%48)). Kontrol grubuna alınanların yaş ortalaması 38.7 (36-50) olarak bulundu. Çalışmaya alınan 4 olguda DVT'ye pulmoner emboli eşlik ediyordu. Hasta grubunda, FVL mutasyonu heterozigot genotip 52 olgunun 13'ünde (%25), kontrol grubunda FVL mutasyonu heterozigot genotip 2 olguda saptandı (%1,8) ($p<0.0001$). FVL mutasyonu homozigot genotip 52 hastanın 1'inde (%1,9) saptandı. Hasta grubunda PT G20210A 6 olguda (%11) saptanırken, kontrol grubunda hiçbir olguda tesbit edilmedi ($p=0.001$). Kontrol grubunda, FVL homozigot genotip ve PT G20210A heterozigot ve homozigot genotipleri hiçbir olguda tesbit edilmedi. Sonuçlar Tablo 1'de gösterilmiştir.

TARTIŞMA

DVT sık karşılaşılan ve pulmoner emboliye bağlı ani ölümlere sebep olabilen bir klinik tablodur. Amerika Birleşik Devletleri'nde yılda yaklaşık iki milyon kişinin etkilendiği bildirilmektedir (11). DVT tedavisi pahalı olup yılda yaklaşık iki milyar dolara mal olmaktadır (12). Yatalak olma, cerrahi, travma, kanser, oral kontraseptif kullanımı, hormon replasman tedavisi, antifosfolipid sendromu, myeloproliferatif bozukluklar, polisitemiya vera, santral venöz kateter kullanımı, ileri yaş ve obezite kazanılmış risk faktörleridir (13). İnsidans 60 yaşının üstüne kadar her dekatta arttığı için özellikle yaşlı popülasyonun yoğun olduğu batı ülkeleri için daha büyük bir sorun oluşturmaktadır (14). Doğal koagülasyon inhibitörleri olan protein C, protein S ve antitrombin III eksiklikleri genel popülasyonda %1'den az oranda görülmektedir. Venöz tromboz etyolojisinde ise ancak %10 oranında rol oynarlar (4,7).

DVT etyolojisinde kalıtsal pretrombotik hastalıkların rolü hakkında bildiklerimiz aktiflenmiş protein C direncinin tanınmasından sonra büyük değişiklik göstermiştir. Pıhtılaşma sırasında aktive olmuş FVL, aktive edilmiş protein C tarafından yıkılmaya direnç gösterir. FVL, faktör V geninde bir nokta mutasyonu sonucu faktör V molekülünde 506. sırada yer alan arginin yerine glutamin gelmesiyle oluşur. Bu durum da daha fazla trombin oluşumuna

zemin hazırlar (8-9). FVL heterozigot taşıyıcılarında venöz tromboz riskinin 2-7 kat, homozigotlarda ise yaklaşık 80 kat arttığı bildirilmektedir (4, 15-16). FVL mutasyonu sıklığı ilk venöz tromboz atağıyla başvuran hastaların %20-25'inde, tekrarlayan venöz trombozlu olguların %20-50'sinde bildirilmektedir (7,14). FVL, Avrupa kökenli toplumlarda en sık rastlanan kalıtsal trombofili nedenidir (17). Aznar ve arkadaşlarının İspanya'da yaptıkları çalışmada 229 DVT olgusu incelenmiş, tüm olguların %12.2'sinde, 45 yaş altı olgular değerlendirildiğinde ise %18.5'inde FVL pozitif bulunmuştur (18). Simkova ve arkadaşlarının Slovak popülasyonda yaptıkları çalışmada 350 venöz tromboz olgusu incelenmiş, FVL tüm olguların %37'sinde saptanmış, bu olguların %8'inin homozigot olduğu görülmüştür (19). Gürgey ve arkadaşlarının ülkemizde yaptıkları çalışmada 146 tromboz olgusu incelenmiş, FVL mutasyonu %30.8 oranında bulunmuştur (20). Asya ve Afrika kökenli toplumlarda ise bu anormali daha nadirdir (7). Ghosh ve arkadaşlarının Hindistan'da yaptığı çalışmada 45 yaş altı venöz trombozlu 432 hastada FVL %3 oranında (21), Al-Jaouni'nin Araplar da yaptığı çalışmada ise 179 venöz trombozlu olgunun sadece 1 tanesinde FVL pozitif bulunmuştur (22).

PT G20210A, protrombin geninde 20210. nükleotid olan guanin yerine adeninin gelmesiyle, glutaminden arjinine değişim ile sonuçlanan bir mutasyona bağlı oluşur. Herediter trombofili nedenleri arasında ikinci sıklıkta rastlanan bu mutasyon sonucu plazmada protrombin konsantrasyonu yaklaşık %30 artmaktadır. Protrombin düzeyi 115 IU/dL üzerine çıktığında venöz tromboz riskinin daha fazla arttığı belirtilmektedir (10,17). Avrupa kökenli bireylerden oluşan sağlıklı kontrol gruplarında yapılan taramalarda prevalansı %1-5 civarında bildirilmektedir (7). Franco ve arkadaşlarının çalışmasında PT G20210A prevalansı %1.6 oranında bulunmuştur (23). Cattaneo ve arkadaşlarının İtalyanlar da yaptığı çalışmada ilk DVT atağı ile başvuran 118 hasta, 416 kişiden oluşan kontrol grubuyla karşılaştırılmış; hasta grubunda %15.9, kontrol grubunda ise %2.3 olarak bulunmuştur (24). Al-Jaouni ve arkadaşlarının Araplarda yaptığı çalışmada 179 venöz trombozlu olgunun 2'sinde pozitiflik saptanırken (22), Ghosh ve arkadaşlarının Hindistanlı hastalarda yaptığı çalışmada ise hiçbir olguda tespit edilmemiştir (21). PT G20210A mutasyonunun trom-

boz olgularındaki sıklığı ülkemizde de araştırılmıştır. Gürgey ve arkadaşları trombozlu Türk hastalarda PT G20210A mutasyon sıklığını %6.8 olarak bildirmişlerdir (20).

Bizim çalışmamızda FVL mutasyonu heterozigot genotip, 52 DVT'li olgunun 13'ünde (%25), homozigot genotip ise 1 hastada (%1.9) saptanırken, kontrol grubunda heterozigot FVL 2 olguda saptandı (%1,8) ($p<0.0001$). Hasta grubunda Protrombin geni heterozigot genotip 6 olguda (%11) saptanırken, kontrol grubunda hiçbir olguda tesbit edilmedi ($p=0.001$).

Sonuç olarak; bölgemizde ilk DVT tanısıyla başvuran hastalarımızın toplam %37.9'unda en sık rastlanan herediter risk faktörleri olan FVL ve PT G20210A'nın venöz tromboz patofizyolojisinde rolü olduğunu gözlemledik. Venöz trombozla herediter risk faktörlerinin ilişkisi bölgemizdeki popülasyonda da gösterilmiştir. Önceki araştırmalara benzer şekilde bizim çalışmamızda da DVT olgularında FVL mutasyonu (%26.9), PT G20210A (%11) mutasyonundan daha fazla olduğu saptanmıştır.

KAYNAKLAR

1. Goodnight SH, Griffin JH. Hereditary thrombophilia. In: Williams Hematology. Beutler E, Lichtman BA, Coller BS, Kipps TJ, Seligsohn U (eds): 6th ed. McGraw-Hill Companies: 2001, 1215-1235,
2. Nordstrom M, Lindblad B, Bergqvist D, Kjellstrom TA. Prospective study of the incidence of deep-vein thrombosis within a defined urban population. J Intern Med 232:155-160, 1992.
3. Rosendaal FR. Thrombosis in the young: Epidemiology and risk factors: A focus on venous thrombosis. Thromb Haemost 78:1-6, 1997.
4. De Stefano V, Rossi E, Paciaroni K, Leone G. Screening for inherited thrombophilia: Indications and therapeutic implications. Haematologica 87(10):1095-1108, 2002.
5. Comp PC, Esmon CT. Recurrent venous thromboembolism in patients with a partial deficiency of protein S. N Engl J Med 311:1525-1528, 1984.
6. Griffin JH, Evat B, Zimmerman TS, et al. Deficiency of protein C in congenital thrombotic disease. J Clin Invest 68:1370-1373, 1981.

7. Atamer T. Protrombotik hastalıklar: Tanımı, çeşitleri, tanıya yaklaşım. 3. Ulusal Tromboz, Hemostaz ve Anjiyoloji Kongresi Eğitim Kitabı. Ulutin ON (ed). 30 Eylül-3 Ekim 2002, İstanbul, 2002:45-52.
8. Dahlback 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 USA* 90:1004-1008, 1993.
9. Bertina RM, Koeleman BPC, Koster T, et al. Mutation in blood coagulation factor V associated with resistance to activated protein C. *Nature* 369:64-67, 1994.
10. 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* 88:3698-3703, 1996.
11. Lopez JA, Kearon C, Lee AY. Deep venous thrombosis. *Am Soc Hematol* 439-456, 2004.
12. Kurtoğlu M. Venöz tromboemboli tedavisi. 5. Ulusal Tromboz, Hemostaz ve Anjiyoloji Kongresi Eğitim Kitabı. Ulutin ON (ed). 7-9 Mayıs 2005, İstanbul, 2005:241-246.
13. Rosendaal FR. Venous thrombosis: the role of genes, environment, and behavior. *Am Soc Hematol* 1-12, 2005.
14. Raskob GE, Hull RD, Pineo GF. Venous thrombosis. In: Williams Hematology. Lichtman M.A, Beutler E, Kipps TJ, et al.(Eds). 7 th. Ed Mc Graw-Hill Comp. 2006:2055-2065.
15. Martinelli I, Mannucci PM, De Stefano V, et al. Different risks of thrombosis in four coagulation defects associated with inherited thrombophilia: a study of 150 families. *Blood* 92:2353-2358, 1998
16. Simioni P, Sanson BJ, Prandoni P, et al. Incidence of venous thromboembolism in families with inherited thrombophilia. *Thromb Haemost* 81:198-202, 1999.
17. Deitcher SR, Rodgers GM. Thrombosis and antithrombotic therapy. In: Wintrobe's Clinical Hematology. Greer JP, Foerster J, Lukens JN, Rodgers GM, Paraskevas F, Glader B (Eds) 11 th.ed. Philadelphia Lipincott Williams&Wilkins 2004:1713-1757.
18. Aznar J, Vaya A, Estelles A, et al. Risk of venous thrombosis in carriers of the prothrombin G20210A variant and factor V Leiden and their interaction with oral contraceptives. *Haematologica* 85(12):1271-1276, 2000.
19. Simkova M, Batorova A, Dostalova K, et al. Factor V Leiden in patients venous thrombosis in Slovak population. *Gen Physiol Biophys* 23(4):435-442, 2004
20. Gurgey A, Haznedaroglu IC, Egesel T, et al. Two common genetic thrombotic risk factors: factor V Leiden and prothrombin G20210A in adults Turkish patients with thrombosis. *Am J Hematol* 67(2):107-111, 2001.
21. Ghosh K, Shetty S, Madkaikar M, et al. Venous thromboembolism in young patients from western India: a study. *Clin Appl Thromb Hemost* 7(2):158-165, 2001.
22. Al-Jaouni SK. Primary thrombophilia in Saudi Arabia. *Saudi Med J* 24(6):614-616, 2003.
23. Franco RF, Santos SE, Elion J, et al. Prevalence of the G20210A polymorphism in the 3'-untranslated region of the prothrombin gene in different human population. *Acta Haematol* 100:9-12, 1998.
24. Cattaneo M, Chantarangkul V, Taioli E, et al. The G20210A mutation of the prothrombin gene in patients with previous first episodes of deep-vein thrombosis: prevalence and association with factor V G1691A, methylenetetrahydrofolate reductase C677T and plasma prothrombin levels. *Thromb Res* 93(1):1-8, 1999.

Yazışma Adresi

Yrd. Doç. Dr. Abdullah Altıntaş
Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi
İç Hastalıkları-Hematoloji Bilim Dalı
21280, DİYARBAKIR

e-mail: draaltintas@dicle.edu.tr

Tel: (0.412) 248 82 33

Faks: (0.412) 248 84 40