



**DOĞU ANADOLU BÖLGESİ'NDE BAZI TROMBOFİLİK
GEN MUTASYONLARIN GÖRÜLME SIKLIĞININ
İNCELENMESİ**

Muhammed Ertuğrul EĞİN
Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı

Tez Danışmanı
Prof. Dr. Abdulgani TATAR

Doktora Tezi - 2021

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**DOĞU ANADOLU BÖLGESİ'NDE BAZI TROMBOFİLİK
GEN MUTASYONLARIN GÖRÜLME SIKLIĞININ
İNCELENMESİ**

Muhammed Ertuğrul EĞİN

**Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı
Doktora Tezi**

**Tez Danışmanı
Prof. Dr. Abdulgani TATAR**

**ERZURUM
2021**

İÇİNDEKİLER

İÇİNDEKİLER	I
TEŞEKKÜR	III
ÖZET	IV
ABSTRACT	V
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	VI
ŞEKİLLER DİZİNİ	VII
TABLolar DİZİNİ	VIII
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Trombofili	4
2.2. Etiyoloji ve Sıklık	5
2.3. Patogenez	6
2.4. Fenotip	10
2.5. Kalıtsal Trombofili	11
2.5.1. Faktör V Leiden Polimorfizmi.....	11
2.5.2. Protrombin G20210A Polimorfizmi	12
2.5.3. MTHFR C677T ve MTHFR A1298C Polimorfizmi	13
2.5.4. PAI-1 Polimorfizmi	15
2.5.5. β -Fibrinojen (5G/4G) Polimorfizmi.....	16
2.5.6. Faktör XIII A (V34L) Polimorfizmi	17
2.5.7. Glikoprotein IIIA (L33P) Polimorfizmi	18
2.6. Edinsel Trombofili	18
2.7. Trombofili Tanısında Kullanılan Yöntemler	21
2.7.1. Polimeraz Zincir Reaksiyonu.....	21

2.7.2. Pirosekanslama	23
3. MATERYAL VE METOT.....	26
3.1. Çalışma Grubu	26
3.2. Genomik DNA'nın Elde Edilmesi	26
3.3. DNA Amplifikasyonu.....	26
3.4. Pirosekanslama (Pyrosequencing) ile Mutasyonların Tespiti.....	27
4. BULGULAR.....	29
5. TARTIŞMA.....	36
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	43
KAYNAKLAR	44
EKLER	58
EK-1. ÖZGEÇMİŞ	58
EK-2. ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU.....	59
EK-3. ETİK KURUL ONAY FORMU	60

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim ve tez çalıőmam boyunca, bilgilerini paylaőan, destek ve yardımlarını esirgemeyen değerli hocam Sayın Prof. Dr. Abdulgani TATAR'a çok teşekkür ederim. Doktora çalıőmalarım süresince bana olan inançlarını kaybetmeyen ve desteklerini esirgemeyip bu günlere gelmemi sağlayan aileme sonsuz teőekkürlerimi sunarım.

Muhammed Ertuğrul EĞİN



ÖZET

Doğu Anadolu Bölgesi'nde Bazı Trombofilik Gen Mutasyonların Görülme Sıklığının İncelenmesi

Amaç: Trombofili, tromboz gelişimine eğilimli olma durumudur. Tromboembolinin etiolojisinde birçok genetik ve çevresel faktör rol oynamaktadır. Faktör V Leiden, Protrombin G20210A ve MTHFR gibi trombofilik genlerde meydana gelen polimorfizmler trombofiliye genetik yatkınlığa neden olur. Bu polimorfizmlerin bölgesel görülme sıklıkları farklılıklar gösterebilmektedir. Çalışmamızın amacı trombofilik genlerin en sık görülen tek nükleotid polimorfizmlerinin bölgemiz için görülme sıklığını değerlendirmektir.

Materyal ve Metot: Trombofili şüphesi olup aktif tromboz saptanmayan ve laboratuvarımızda trombofili paneli çalışılan toplam 2000 hastanın sonuçları değerlendirildi. İlgili polimorfizmlerin belirlenmesi için tam kan numunelerinden DNA izolasyon kiti kullanılarak genomik DNA'lar elde edildi. Genomik DNA PCR yöntemi ve spesifik primerler kullanılarak amplifiye edildi. Daha sonra spesifik primerler ve sekans analiz sistemi ile pirosekanslama yapıldı.

Bulgular: Çalışmamız sonucunda Faktör II G20210A polimorfizmi için %4,6 heterozigot, Faktör V Leiden için %8,8 heterozigot ve %0,4 homozigot mutant, MTHFR C677T için %37,2 heterozigot ve %7,6 homozigot mutant, MTHFR A1298C için %48,1 heterozigot ve %15,7 homozigot mutant, PAI-1 için %38,8 heterozigot ve %13 homozigot mutant, β -Fibrinojen için %30,3 heterozigot ve %4 homozigot mutant, Faktör XIII A (V34L) için %23,3 heterozigot ve %2,4 homozigot mutant ve Glikoprotein IIIA (L33P) için %17,7 heterozigot ve %1,5 homozigot mutant genotip taşıdıkları belirlendi.

Sonuç: Çalışmamızda elde ettiğimiz verilere göre, incelenen trombofilik allel mutasyonlarının görülme sıklıklarının bölgemize özgü bir dağılım frekansı göstermediğini söyleyebiliriz.

Anahtar Kelimeler: Faktör II G20210A, Faktör V Leiden, MTHFR C677T, MTHFR A1298C, PAI-1, β -Fibrinojen, Faktör XIII A (V34L), Glikoprotein IIIA (L33P).

ABSTRACT

Investigation of the Frequency of Some Thrombophilic Gene Mutations in Eastern Turkey

Aim: Thrombophilia is defined as a predisposition to thrombosis. Many genetic and environmental factors play a role in the etiology of thromboembolism. Polymorphisms in the thrombophilic genes such as Factor V Leiden, Prothrombin G20210A and MTHFR cause genetic predisposition to thrombophilia. The regional incidence of these polymorphisms varies. The aim of our study is to evaluate the regional frequency of the most common single nucleotide polymorphisms of these thrombophilic genes.

Material and method: A total of 2000 patients with a suspicion of thrombophilia were studied. Genomic DNAs were obtained from whole blood samples using DNA isolation kit to identify thrombophilic polymorphisms. Genomic DNA was amplified using PCR method and specific primers. Then pyrosequencing was performed with specific primers and sequence analysis system.

Results: As a result of the study, it was found that the frequency of heterozygosity for the Factor II G20210A polymorphisms was 4,6%, the heterozygosity and homozygosity for the Factor V Leiden polymorphism were 8,8% and 0,4%, for MTHFR C677T 37,2% and 7,6% , for MTHFR A1298C 48,1% and 15,7% , for PAI-1 38,8% and 13% , for β -Fibrinogen 30,3% and 4%, for Factor XIII A (V34L) 23,3% and 2,4% and for Glycoprotein IIIA (L33P) 17,7% and 1,5% respectively.

Conclusion: Our findings suggest that commonly seen thrombophilic allele polymorphisms frequencies in our region is the same as the data reported in the literature.

Key Words: Factor II G20210A, Factor V Leiden, MTHFR C677T, MTHFR A1298C, PAI-1, β -Fibrinogen, Factor XIII A (V34L), Glycoprotein IIIA (L33P)

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ADP	:	Adenozin di Fosfat
APC	:	Aktive Protein C
DM	:	Diabetes Mellitus
DNA	:	Deoksiribonükleik Asit
EDTA	:	Etilen Daimin Tetraasetik Asit
FVL	:	Faktör V Leiden
MI	:	Miyokard İnfarktüsü
MTHFR	:	Metil Tetrahidrofolat Redüktaz
PA	:	Protrombin Aktivatörü
PAI	:	Plazminojen Aktivatör İnhibitörü
PCR	:	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
VTE	:	Venöz tromboemboli

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil No</u>	<u>Sayfa No</u>
Şekil 2.1. Fibrin tıkaçının oluşumu	8
Şekil 2.2. Antikoagülan sistem	9
Şekil 2.3. Faktör V Leiden ve Protrombin Varyantlarıyla İlişkili Pıhtılaşma Kaskadı ..	12
Şekil 2.4. Protrombin G20210A Mutasyonu	13
Şekil 2.5. PAI-1 genini yapısı ve 4G/5G polimorfizminin promotör bölgedeki yeri	16
Şekil 2.6. Polimeraz Zincir Reaksiyonunun Şematik Olarak Gösterimi	22
Şekil 2.7. Pirosekanslamada enzim sistemi	25
Şekil 2.8. Pirosekanslama ile SNP analizi	25
Şekil 4.1. Trombofili Paneli ile Belirlenen Tek Bir Genotip Bozukluğunun Pozitif Olma Sıklığı	33

TABLULAR DİZİNİ

<u>Tablo No</u>	<u>Sayfa No</u>
Tablo 2.1. Trombofilinin Klinik Belirtileri	4
Tablo 2.2. Trombofilik durumlar ve ilişkiler	5
Tablo 2.3. MTHFR geni varyantları ile enzim aktivitesi arasındaki ilişki.....	15
Tablo 2.4. Edinsel Trombofili Nedenleri	19
Tablo 3.1. PCR Karışımı.....	27
Tablo 3.2. Thermal Cycler İçin PCR Prosedürü	27
Tablo 4.1. Hastaların Yaş Gruplarına Göre Dağılımları	29
Tablo 4.2. Hastaların Cinsiyetlerine Göre Dağılımları	29
Tablo 4.3. İncelenen Kanların Gelen Kliniklere Göre Dağılımları.....	30
Tablo 4.4. Trombofili Paneli ile Belirlenen Genotiplerin Sıklığının Dağılımı	31
Tablo 4.5. Genetik Trombofili Paneli Sonuçlarına Göre Yüksek ve Düşük Risk Grubundaki Bireylerin Sıklığının Dağılımı	32
Tablo 4.6. Trombofili Paneli ile Belirlenen Tek Bir Genotip Bozukluğunun Pozitif Olma Sıklığı	32
Tablo 4.7. Trombofili Paneli ile Belirlenen İki Genotip Bozukluğunun Birlikte Olma Sıklığı.....	33
Tablo 4.8. Kliniklere Göre Genotip Bozukluk Sayıları	34
Tablo 5.1. Başlangıç ve tekrarlayan VTE Riski.....	42

1. GİRİŞ

Venöz tromboemboli (VTE); birçok etiyolojik faktöre bağlı gelişen, önemli morbidite ve mortalitesi olan bir hastalıktır. Trombofili terimi ise tromboemboliyle sonuçlanabilecek hemostaz hastalıklarını tanımlamak için kullanılmaktadır. Genetik yatkınlık ve çevresel faktörler trombofili etyolojisinde rol oynamaktadır. Kalıtsal trombofili klinik tablosunda VTE gelişimine genetik yatkınlık söz konusudur. Kalıtsal trombofili genellikle genç yaştaki kişilerde başlar ve tekrarlama eğilimi vardır. Toplumda hemostaz anomalileri sık görülmektedir. Bazı kişilerde bilinen bir risk faktörü olmaksızın hemostaz anomalisi ortaya çıkmaktadır. Ailesinde tromboz hikâyesi olan bireylerde ilişkili genlerde mutasyon tespit edilme ihtimali artmaktadır.¹

Tromboz için faktör V Leiden ile protrombin G20210A gen mutasyonları en sık görülen genetik risk faktörleridir. Bu mutasyonların bulunduğu kişiler venöz tromboemboli açısından yüksek risk taşımaktadır. Yüksek riskli kişilerdeki bu durum kendini tekrarlayan venöz tromboemboli atakları ile göstermektedir.² Bu iki önemli mutasyonun yanı sıra MTHFR C677T, MTHFR A1298C, PAI-1, β -Fibrinojen, Faktör XIII A (V34L) ve Glikoprotein III A (L33P) genlerindeki polimorfizmler trombofilide genetik açıdan önemli rol oynayan faktörlerdir.

Trombofiliye yatkınlığın tek başına tek nükleotid polimorfizmleri ve hemostatik durumun bozulmasına bağlı gelişmediği, başka genetik değişiklikler ve ilave risk faktörlerinden etkilendiği gösterilmiştir. Bu çok faktörlü etkileşim, genetik yapının fenotipe yansımada çevresel etkilerin varlığını göstermektedir. Bu sebeple trombofilik hastaların tanı, takip ve tedavi yaklaşımlarında, sadece genetik farklılıkların değil bireysel risk faktörlerinin de dikkate alındığı algoritmalar kullanılmalıdır.^{3,4}

Kalıtsal trombofilinin neden olduğu başlıca klinik tablolar; genç yaşta görülen tromboz, idiopatik tromboz, tekrarlayan trombotik ataklar ve nadiren etkilenen

damarlarda tromboemboli görülmesidir.^{5,6} Kalıtsal trombofilinin etiyojisini belirlemek için güvenilir testler ve moleküler genetik yöntemler bulunmaktadır.

Ulusal Hematoloji Kalıtsal Trombofili Tanı ve Tedavi Klavuzuna göre; ilk kez VTE tablosu gelişen kişilerde kalıtsal trombofili açısından yaklaşım sunmanın klinik bir yarar sağlamadığı bildirilmiştir. Ancak tromboza eğilimli ailelerden (hastanın kendisi dışında ailesinde iki veya ikiden fazla semptomatik VTE hikâyesi olan 1. derece akraba bulunması ve/veya etkilenmiş kişinin ailesinde tekrarlayan idyopatik VTE hikâyesi olması) gelen özellikli hastalarda yapılacak tedavi kararını etkileyebileceğinden kalıtsal trombofili taraması önerilmiştir.

Ülkemizde trombofili ile ilgili birçok farklı çalışmanın sonuçları yayınlanmıştır. Ancak bölgemiz, Ülkemizin diğer bölgelerinden farklı olarak akraba evliliklerinin yoğun olduğu ve farklı etnik yapıların yaşadığı bir bölgedir. Bu nedenle bölgemizde yapılacak tarama çalışmaları önem kazanmaktadır.

Çalışmamızda, Mart 2014- Haziran 2015 tarihleri arasında, Ulusal Hematoloji Kalıtsal Trombofili Tanı ve Tedavi Klavuzuna göre; 40 yaş ve öncesinde ilk defa idiyopatik tromboz atağı geçiren, tekrar eden idyopatik/minör tetikleyici bir sebebe bağlı VTE hikayesi olan, tromboza yatkın aile hikayesi olan, purpura fulminans tablosu ile müracaat eden çocuklar, venöz tromboz riski olan hamile kadınlarda trombofili şüphesi ile Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik Anabilim Dalı laboratuvarına gönderilen ve genetik trombofili işaretçilerinin tespiti için trombofili paneli çalışılan hastalar Protrombin G20210A, Faktör V Leiden, MTHFR A1298C, MTHFR C677T, PAI-1, β -Fibrinojen, Faktör XIII A (V34L) ve Glikoprotein IIIA (L33P) polimorfizmleri ile genetik olarak trombofiliye yatkınlıkları açısından değerlendirilerek retrospektif bir klinik çalışma yapıldı. Çalışmada kalıtsal trombofiliye neden olan genetik bozuklukların, bölgemizdeki sıklığın ülkemiz ve dünya geneline

göre farklılık gösterip göstermediği literatür eşliğinde incelenecektir. Ayrıca bu çalışma gen mutasyonunun prevalansı üzerine bölgemizde yapılan ilk çalışma olduğundan çıkacak sonuçlar bölgemizde hizmet veren sağlık alışanlarının VTE tanı ve tedavisine yol göstermesi amaçlanmıştır.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Trombofili

Trombofili, genetik ve edinsel faktörler nedeniyle kanda pıhtılaşma eğiliminin artması ve sonuçta VTE riskinin yüksek olduğu durumları tanımlamak için kullanılan bir terimdir. Trombofili multifaktöriyel bir hastalık olup, trombofiliye neden olan birçok kalıtsal ve çevresel etken tanımlanmıştır.⁷

VTE önemli bir morbidite ve mortalite nedenidir. Tromboembolinin etiyojisinde birçok faktör rol oynamaktadır. Patogenezinde, Virchow tarafından tanımlanan kan akımında durgunluk, damar duvarında (vasküler endotel) hasar ve kanın pıhtılaşma eğiliminin artması (hiperkoagülabilité) yer almaktadır.⁸ Trombofilinin başlıca klinik belirtileri Tablo 2.1’de verilmiştir.⁹

Tablo 2.1. Trombofilinin Klinik Belirtileri

-
- Venöz tromboembolizm - derin ven trombozu, pulmoner embolizm
 - Tekrarlayan gebelik kaybı - kürtajlar, ölü doğumlar
 - Preeklampsi, intrauterin gelişme kısıtlamaları
 - Neonatal purpura fulminans
 - Prematüre ateroskleroz
 - Genç yaşta miyokard enfarktüsü
 - Beyin, kalp, akciğer ve ekstremitelerde daha büyük damarları etkileyen trombozlar, pulmoner emboli
-

Kalıtsal trombofili, en az bir genetik mutasyon sonucu pıhtılaşma sistemindeki bir proteinin miktarının veya işlevinin etkilediği koşullarda gerçekleşir. Başlıca fonksiyon kaybı mutasyonları arasında antitrombin (AT), protein C (PC) ve protein S (PS) yer alır.¹⁰⁻¹²

Fonksiyon kazanımı mutasyonları arasında, faktör V Leiden (FVL) ve protrombin geni 20210 A/G (PGM) mutasyonları yer alır.^{13,14} Antifosfolipid sendromu (APS), edinilmiş trombofilinin en önemli örneğidir Pıhtılaşma proteinlerindeki edinilmiş anormallikler (örn. doğal antikoagülanlardaki eksiklikler, FVL'nin yokluğunda aktive protein C direncinin varlığı) ve belirli hastalıklar (örn. miyeloproliferatif neoplazmalar, paroksizmal gece hemoglobinüri, kanser) tromboz riski arttırabilir. Ayrıca eksojen hormonlar ve kemoterapi gibi bazı ilaçlar da tromboz riskini artırır. Sigara içme, obezite, artan yaş ve hamilelik gibi kazanılmış özellikler de bu riski artırır.^{15,16}

Trombofilinin, tromboz oluşumuna eğilimi kalıtsal veya edinilmiş olarak ortaya çıkabilir (Tablo 2.2).¹⁷

Tablo 2.2. Trombofilik durumlar ve ilişkiler

Kalıtsal	Edinilmiş
∅ Antitrombin eksikliği	∅ Gebelik
∅ Protein C eksikliği	∅ Hareketsizlik
∅ Protein S eksikliği	∅ Travma
∅ Faktör V Leiden	∅ Post-Operatif durum
∅ Protrombin 20210 mutasyonu	∅ Oral doğum kontrol hapı
∅ Plazmin üretim bozuklukları	∅ Hormon değişim terapisi
∅ Disfibrinojenemi	∅ Antifosfolipid sendromu (APS)
∅ Hiperhomosisteinemi	∅ Hiperhomosisteinemi
	∅ Maligniteler
	∅ Nefrotik sendrom
	∅ Miyeloproliferatif bozukluklar
	∅ Heparin kaynaklı trombositopeni
	∅ Paroksizmal gece hemoglobinüri
	∅ Behçet hastalığı
	∅ VTE riski yaşla birlikte artar

2.2. Etiyoloji ve Sıklık

Venöz tromboz, multifaktöriyel bir hastalıktır. Görülme sıklığı yaşla birlikte artar ve ırklar arasında değişiklik gösterir. Asyalılar ve Afrikalılar arasında görülme sıklığı düşük olup, beyazlar arasında daha yüksektir. Başlıca predispozan etkiler staz, endotel hasarı ve hiperkoagülabilitedir.¹⁸

Derin ven trombozu (DVT), dünya çapında önlenabilir bir morbidite ve mortalite nedenidir. DVT ve pulmoner emboliyi (PE) içeren VTE, ortalama 1000 kişide 1 kişiyi etkiler ve yılda 60.000–100.000 ölüme neden olur.¹⁹

Hastaların %25'inde bulunan tanımlanabilir genetik faktörler, pıhtılaşma faktörü inhibisyonundaki ve pıhtı parçalanmasındaki bozuklukları içerir. Venöz trombozlu hastaların %12-14'ünde faktör V Leiden mutasyonları, %6-18'inde protrombin mutasyonları, %5-15'inde ise antitrombin III, protein C veya S eksikliği görülür.²⁰

FV genindeki bir Arg506Gln polimorfizmi olan Faktör V Leiden, sağlıklı Avrupa popülasyonları arasında %2-15'lik bir prevalansa sahiptir. İsveçliler ve Yunanlılarda en yüksek prevalansa sahiptir, Asyalılar ve Afrikalılarda ise nadir görülmektedir. Protein C eksikliği %0.2-0.4'lük bir sıklığa sahip olan panetnik bir hastalıktır.²¹

2.3. Patogenez

Pıhtılaşma sistemi, pıhtı oluşumu ve inhibisyon dengesini hassas bir şekilde korumaktadır. Damar bütünlüğünün bozulduğu hallerde kanın akışkanlığının sağlanması için koagulan ve antikoagulan mekanizmaların dengeli çalışması gerekmektedir. Protein C, protein S ve antitrombin III antikoagulan mekanizmanın temel bileşenleridir.³

Pıhtılaşmada rol alan proteazlar ve protein kofaktörleri ile hasarlı bölgede fibrin-pıhtı oluşumu aktive edilmelidir. Daha sonra pıhtılaşmanın yayılmasını önlemek için

inaktive edilmelidir. Ancak koagulan mekanizmanın yetersizliği veya antikoagulan mekanizmanın aşırı ifadesi kanamaya yol açar. Koagulan mekanizmanın aşırı ifadesi veya antikoagulan mekanizma yetersizliği (protein C, protein S ve antitrombin III eksikliği) pıhtı oluşumuna neden olur.²²

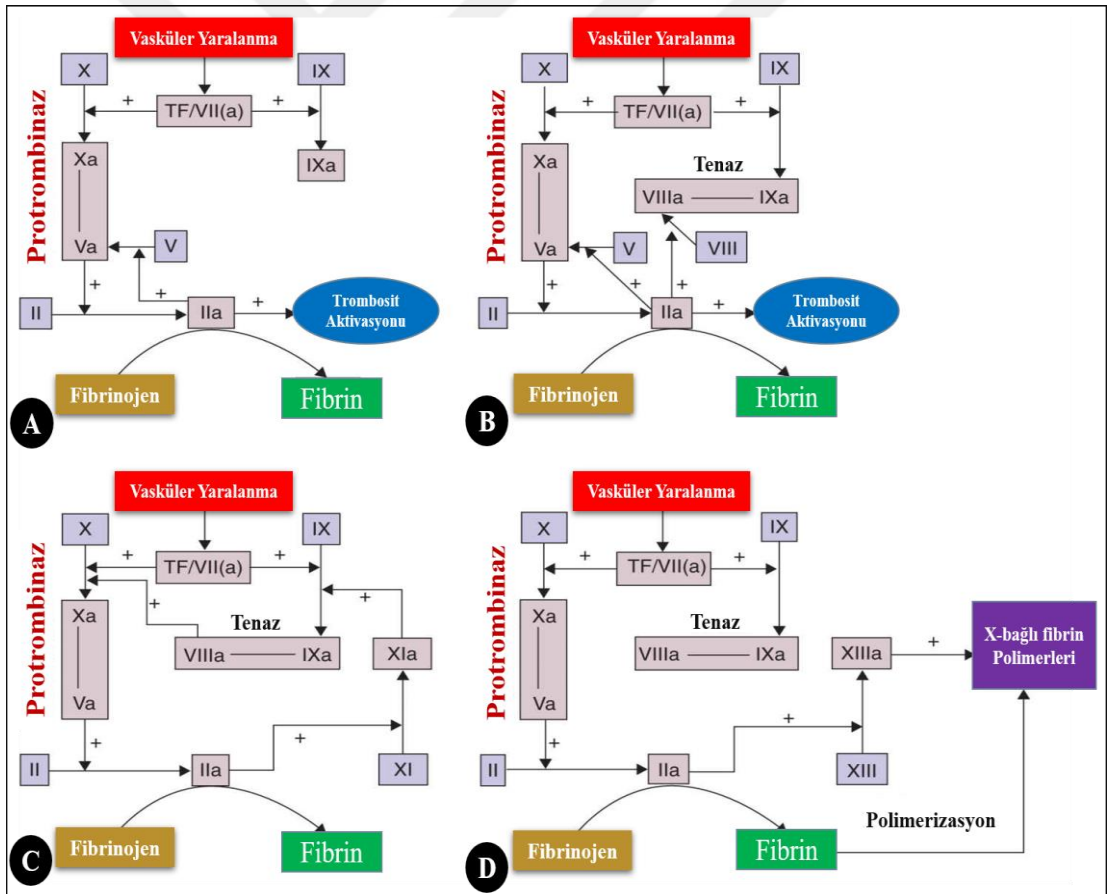
Aktive edilmiş faktör X'un kofaktörü olan aktive edilmiş faktör V, protrombinin trombine dönüşümünü hızlandırır. Trombin de pıhtı oluşumunda gerekli olan fibrinin oluşumunu sağlar.²²

Faktör V, üç bölgesinden kesilerek (Arg306, Arg506 ve Arg679), aktive edilmiş protein C tarafından inaktive edilir. İlk olarak Arg506'da kesilme oluşur ve diğer iki bölgedeki kesimi hızlandırır. Arg506'daki kesim, aktive edilmiş faktör V'nin fonksiyonunu azaltırken, Arg306'daki kesim fonksiyonunu ortadan kaldırır. Protein C için bir kofaktör olan Protein S, hem aktif faktör V'in protein C tarafından inaktivasyonunu, hem de Arg 306'daki kesimi hızlandırır.²³

Trombofilide koagulan ve antikoagulan yolların temel şemaları gösterilmiştir. (Şekil 2.1 ve Şekil 2.2). Kalıtsal trombofililerin çoğu, protein C yolunu içerir. Tipik olarak antikoagulan proteinlerde bir eksiklik, anormallik veya her ikisini de içerir ve prokoagulan bir duruma yol açar. Ancak protrombin G20210A mutasyonu gibi bazı trombofililer prokoagulan proteinlerde artışa neden olarak tromboz riskini artırır. Çoğu trombofilili kalıtsal kabul edilir. Bunlar genellikle antikoagulan veya prokoagulan proteinlerde anormalliklere yol açan genetik mutasyonlarla ilişkilidir. Diğerleri, genellikle bir otoimmün durumun başlaması veya alevlenmesi nedeniyle zamanla edinilir.²⁴

Vasküler yaralanma veya bozulmadan sonra faktör VII (a), faktör X ve faktör IX'u aktive eden TF/VIIa kompleksini oluşturmak için doku faktörüne (TF) bağlanır. Faktör Xa, trombin (faktör IIa) tarafından aktive edilen veya trombosit α -granüllerinden

salınan faktör Va'ya bağlanır. Xa/Va kompleksi, protrombinin (faktör II), fibrinojeni fibrine dönüştüren ve trombositleri aktive eden trombin faktörüne (faktör IIa) dönüşümünü katalize eder (Şekil 2.1-A). Pıhtılaşma kaskadı, komşu aktive trombositlerde meydana gelen pıhtılaşma reaksiyonları ile güçlendirilir. Lokal olarak üretilen faktör IXa, trombin tarafından aktive edilen faktör VIIIa'ya bağlanır. Faktör IXa/VIIIa kompleksi daha sonra faktör Xa'yı üretir (Şekil 2.1-B). Pıhtılaşma, faktör XI'in trombin aracılı aktivasyonu ile faktör XIa'ya, ayrıca faktör IX'u da aktive ederek daha da güçlendirilir (Şekil 2.1-C). Stabil hemostatik tıkaç, fibrin monomerleri kendi kendine polimerleştiğinde ve trombinle aktive olan faktör XIIIa ile çapraz bağlandığında oluşur (Şekil 2.1-D).^{24,25}



Şekil 2.1. Fibrin tıkaçının oluşumu

Antikoagülan sistemde doku faktörü yolu inhibitörü (TFPI), doku faktörü (TF)

toplumlara kurucu etki (founder effect) ile girmiştir. Faktör V Leiden mutasyonunun fonksiyon kazanımı mutasyonunun aksine, PROC mutasyonları protein C işlevini bozar ve böylece aktive edilmiş pıhtılaşma faktörleri V ve VIII'in inaktivasyonunu yavaşlatarak tromboz oluşumuna yatkınlığa neden olur.²⁷ İki mutant PROC allelinin kalıtımı, genellikle bir damar içi pıhtılaşma şekli olan ve derhal tedavi edilmediği takdirde ölümcül olan purpura fulminans ile sonuçlanır. Heterozigot protein C mutasyonları trombofiliye yatkınlığa neden olur ve yaşam boyu venöz tromboz için %20 ile %75 arasında bir risk oluşturur.²⁸

Faktör V Leiden polimorfizmi veya PROC mutasyonu için heterozigot olan hastalarda, hiperkoagülabiliteden VTE'ye geçiş olabilmesi için genetik ve çevresel faktörlerin bereber etki etmesi gerekmektedir. Sigara kullanımı, gebelik, oral kontraseptif kullanımı, büyük cerrahi ameliyatlar, ileri yaş, neoplazi, sedenter yaşam ve kalp rahatsızlıkları gibi faktörler genetik olmayan faktörlerdir. Oral kontraseptif ve Sigara kullanımı sinerjik etki gösterir ve bunları kullanmayanlara göre yaklaşık 8,8 kat daha fazla risk oluşturur. İlişkili genetik anormallikler ise diğer pıhtılaşma faktörü inhibisyon bozukluklarını ve pıhtı lizizindeki bozuklukları içerir.^{3,29}

2.4. Fenotip

Tromboz, genellikle alt ekstremitelerde, yaralanma bölgelerinde, büyük venöz sinüslerde veya bacak ceplerinde gelişebileceği gibi herhangi bir damarda da ortaya çıkabilir. Derin bacak damarlarının tıkanması şişlik, sıcaklık, kızarıklık, hassasiyet, yüzeysel damarlarda şişkinliğe neden olabildiği gibi, çoğu hasta asemptomatiktir.³

Bacak damarlarında tıkanma çok sık görülür. Tıkanma sonucu bacakta şişlik, kızarıklık ve ağrı meydana gelir. Özellikle uyluk bölgesindeki venlerde meydana gelen pıhtılar buradan ayrılarak akciğerlerde ölümcül fonksiyon gösterebilirler. Bacak dışında kol, beyin, karın içi ve gözdeki venlerde de venöz tromboz meydana gelebilir.¹⁸ Tanı,

genellikle damarın ultrason ile incelenmesiyle konulur. Şüpheli durumlarda venografi, pulmoner anjiyografi ile tanı konulur. Son yıllarda Tomografi ve MR bu amaçla sık kullanılmaya başlanmıştır.^{30,31}

2.5. Kalıtsal Trombofili

Doğal antikoagülan yetersizliği (protein C, protein S veya antitrombin gibi), homozigot faktör V Leiden ve protrombin G20210A ya da birçok faktörün bir arada olduğu bozukluklar idiyopatik VTE hastalarının yaklaşık %4'ünde şiddetli trombofili fenotipine neden olur.³²

Kalıtsal trombofili belirteçleri başlıca iki yaygın trombofilik mutasyon olan Faktör V Leiden ve Protrombin G20210A mutasyonu olmak üzere diğer en çok çalışılan trombofili risk faktörlerinden olan MTHFR C677T, MTHFR A1298C, PAI-1, β -Fibrinojen, Faktör XIIIa (V34L) ve Glikoprotein IIIa (L33P) mutasyonları, anormal APC direnci, protein C, protein S ve antitrombin eksikliklerinden oluşmaktadır.^{3,33,34}

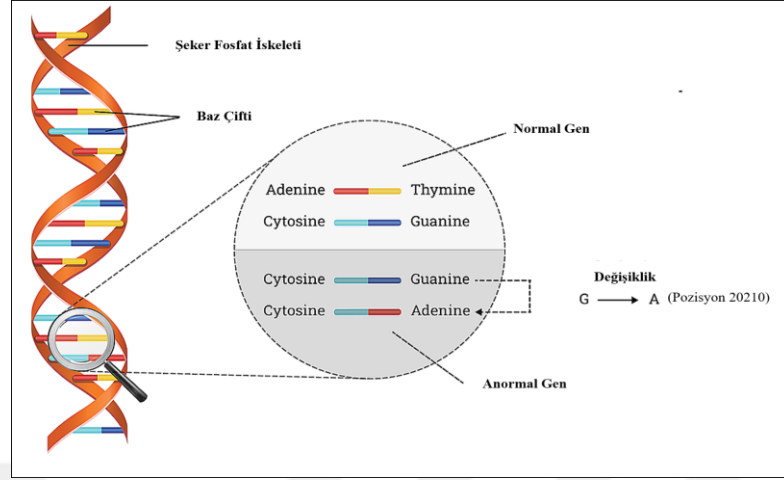
2.5.1. Faktör V Leiden Polimorfizmi

Faktör V (FV) geni 1.kromozom (1q24.2) üzerinde yerleşmiştir. FV mutasyonu, bu genin 1691. pozisyonundaki G nükleotidinin yerine A nükleotidinin geçmesi ve FVa molekülünün üç ayrı aktif protein C (APC) bölgesinden birinde tek bir aminoasidin yer değiştirmesi ile meydana gelir. Faktör V, pıhtılaşma yolağında rol alan ve APC tarafından kontrol edilen, tek zincirli büyük bir glikoproteindir.^{35,36}

En yaygın faktör V varyasyonu (c.1691G>A) p.Arg506Gln aminoasit değişikliği ile aktif protein C'ye dirence neden olur. APC, koagülasyon mekanizmasında faktör Va ve faktör VIIIa'yı inhibe etmektedir. Faktör V mutasyonunda bu inhibisyon gerçekleşmez, böylece trombin üretimi ve pıhtı oluşumu artar.³⁷

Faktör X, iç veya dış yolak tarafından aktive edildiğinde aktif faktör V, protrombinden koagülant protein trombinin üretimini sağlar. Trombin ise fibrinojenden

mutasyonu olan hastalarda, protrombin geninin 3' UTR 20210 nükleotid pozisyonundaki guanin- adenin ile yer değiştirmiştir (Şekil 2.4).³⁹



Şekil 2.4. Protrombin G20210A Mutasyonu

Protrombin genindeki mutasyon nedeniyle kanda protrombin düzeyi artarak pıhtılaşma eğilimine neden olur. Bu mutasyon sağlıklı bireylerde %2, tromboemboli öyküsü olan bireylerde %6 oranında görülür. Protrombin (Faktör II) geni 11. kromozom üzerinde yer almaktadır. Genin 20210 pozisyonundaki G → A nükleotidi dönüşümü nedeniyle plazmada protrombin düzeyi yükselir ve tromboz riski artar.⁴⁰⁻⁴²

Heterozigot G20210A mutasyonu VTE riskini 2-5 kat, gebeliğe bağlı gelişen VTE riskini 15 kat, tekrarlayan birinci trimester fetal kayıpların görülme riskini 3 kat, tekrarlamayan ikinci trimester gebelik kayıp riskini 9 kat, tüm trimesterlerde ise fetal kayıpların görülme riskini 2-3 kat artırmaktadır. Homozigot G20210A mutasyonu VTE riskini 10 kat, gebeliğe bağlı olarak gelişen VTE riskini ise 26 kat artırmaktadır.^{43,44}

2.5.3. MTHFR C677T ve MTHFR A1298C Polimorfizmi

Metilentetrahidrofolat redüktaz (MTHFR) enzimi aminoasit metabolizmasında görev yapar. MTHFR enziminin 5,10-metilenetrahidrofolat'ın 5-metiltetrahidrofolat'a indirgenmesini geri dönüşümsüz olarak katalize eden önemli bir rolü vardır. Bu sayede homosisteinin metionine vitamin B₁₂ bağımlı remetilasyonu için ve DNA ve RNA'daki

pürinlerin sentezi için metil donörü olarak görev yapar. MTHFR eksikliğinde homosistein metiyonine dönüşemez ve kandaki seviyesinde artış olur. MTHFR'de birkaç polimorfizm tanımlanmıştır, ancak sadece C677T ve A1298C polimorfizmlerinin enzim aktivitesini etkilediği doğrulanmıştır.^{45,46} MTHFR mutasyonları, hiperhomosisteinemi ile ilişkili olduğundan, homosistein metabolizmasındaki bozukluklar yoluyla, erken gebelikte Nöral tüp defekt'ler ve açıklanamayan tekrarlayan embriyo kayıpları için risk faktörleri olarak görülürler.⁴⁷ Hiperhomosisteinemi, ilişkili kan-beyin bariyeri disfonksiyonu ve küçük damar hastalığı patolojisi nedeniyle demans için bir risk faktörü olduğu da gösterilmiştir.⁴⁸

MTHFR A1298C polimorfizminin ne homozigot ne de heterozigot tek başına olduğu durumda yüksek plazma homosistein ve/veya düşük kan folat konsantrasyonları ile ilişkisi yoktur. Bununla birlikte, A1298C ve C677T polimorfizmlerinin bir arada heterozigot olduğu durumlar azalmış enzim aktivitesi, yüksek plazma homosistein konsantrasyonları ve azalmış plazma folat seviyeleri ile ilişkilidir.⁴⁶

MTHFR geni 1 numaralı kromozomun 1p36 bölgesine yerleşmiştir. Bu gende en az 24 mutasyon tanımlanmıştır ama en önemli ve sık gözlenen iki mutasyon bulunur. Bunlar; 677C>T, Alanin'in (Ala-222) Valin'e dönüşümü ve 1298A>C, Glutamin'in (Glu-429) Alanin'e dönüşümüdür. C677T mutasyonu ılımlı hiperhomosisteinemi ve kardiyovasküler hastalıklar için risk faktörüdür. C677T için heterozigot taşıyıcı veya homozigot mutant kadınların gebeliklerinde hiperhomosisteinemi nedeniyle nöral tüp defektleri açısından risk mevcuttur. A1298C mutasyonunda ise enzim aktivitesi azdır ancak tek başına hiperhomosisteinemiye neden olmaz. Bu iki mutasyonla birlikte eğer diğer genetik risk faktörlerinin özellikle de faktör V leiden mutasyonunun varlığı venöz tromboz riskini oldukça artırır.^{46,49}

C677T varyantında genin 677. pozisyonunda bulunan sitozin nükleotidi timin ile yer değiştirmiştir. MTHFR enziminde meydana gelen bu değişim, enzimi termolabil bir yapıya sokar, aktivitesinin yüksek sıcaklıklarda düşmesine sebep olur ve kandaki homosistein seviyesini artırarak homosistinüri ile ilişkili problemlere neden olur.^{50,51}

Tablo 2.3. MTHFR geni varyantları ile enzim aktivitesi arasındaki ilişki

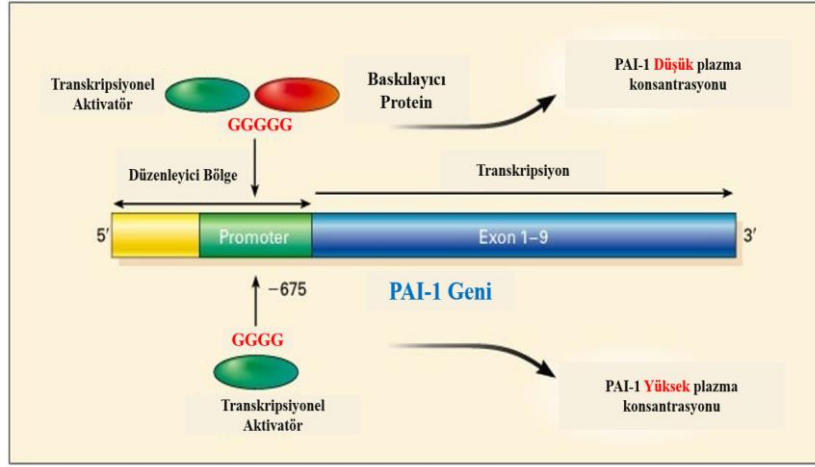
Genotip	677 CC Normal	677CT Heterozigot	677TT Homozigot
1298 AA Normal	%100 enzim aktivitesi	%66 Enzim Aktivitesi	%25 Enzim Aktivitesi
1298 AC Heterozigot	%83 Enzim Aktivitesi	%48 Enzim Aktivitesi	Analiz edilmemiştir
1298 CC Homozigot	%61 enzim aktivitesi	Analiz edilmemiştir	Analiz edilmemiştir

2.5.4. PAI-1 (5G/4G) Polimorfizmi

Plazminojen Aktivatörü İnhibitörü Tip 1 (PAI-1) doku plazminojen aktivatörü (tPA) ve ürokinaz (uPA) adı verilen proteazları inhibe eden bir serin proteaz inhibitörüdür. Fibrinoliz mekanizmasındaki denge unsurlarından birisidir. Ana fonksiyonu fibrinolitik aktiviteyi azaltmak ve bu yolla fibrin birikimi sağlamaktır. PAI-1 379 aminoasitlik ve 45-kDa'lık bir glikoproteindir. PAI-1 geni 7. kromozomda (7q21,3-q22) lokalizedir. PAI-1 aterotromboz oluşumunda önemli rol oynar ve koroner kalp hastalarında dolaşımdaki PAI-1 düzeyi yüksektir. PAI-1 4G aleli 5G'ye (PAI 5G/5G: Normal) oranla transkripsiyonel olarak daha aktiftir. PAI-1 4G/5G polimorfizmi inme (iskemik stroke) olaylarıyla ilişkili bulunmuştur. PAI-1 polimorfizminde 4G/4G varyantının kalıtsal bir koroner risk faktörü olduğu ve dolayısıyla koroner kalp hastalığı ve miyokardial iskemiye katkısı olabileceği tespit edilmiştir.⁵²⁻⁵⁴

Düzenleyici bölgede -675 konumundaki 4G/5G polimorfizmi, transkripsiyonu ve dolayısıyla plazma PAI-1 konsantrasyonlarını etkiler. Bu bölgede transkripsiyon

düzenleyici proteinlerin farklı bağlanması tanımlanmıştır. 4G alleli gen ekspresyonunu artırırken 5G alleli ekspresyonu azaltır (Şekil 2.5).⁵⁵



Şekil 2.5. PAI-1 genini yapısı ve 4G/5G polimorfizminin promotör bölgedeki yeri

Yüksek PAI-1 aktivitesi ve 4G varyantı miyokard infarktüsü riskini artırabilir. Bunun yanı sıra PAI-1 değişik kanserlerde kanser hücrelerinin bazal laminaya invazyonunda önemli rol oynayan metalloproteinaz aktivitesini etkilemekte, perivasküler boşluktan tümör dokusuna endotelial hücre migrasyonunu artırarak angienez için anahtar görevi üstlenmektedir.^{56,57}

2.5.5. β -Fibrinojen (FGB) Polimorfizmi

β -Fibrinojen (FGB) geni, fibrinojen proteininin bir alt birimi olan fibrinojen B beta (β) zinciri olarak adlandırılan bir proteini kodlar. FGB geni 1476 kb'lik bir toplam uzunluğu 8 ekson içerir ve 461 amino asit kalıntısından oluşan β zincirini kodlamaktan sorumludur. Fibrinojen β zincirinin sentezi, fibrinojen üretiminde baskın hız sınırlayıcı adımdır. Bu nedenle FGB geninin plazma fibrinojen seviyelerindeki değişikliklerle ilişkili olduğu düşünülmektedir. Aralarında -455G>A ve -148C>T'nin en kapsamlı ve yoğun olarak çalışıldığı 2 SNP (Single Nucleotide Polymorphism) haricinde 10'dan fazla FGB geni SNP türü varyant vardır. 455G>A, FGB gen polimorfizmlerinin en önemli ve en çok çalışılan lokusudur.⁵⁸

Bu protein, yaralanmadan sonra aşırı kanamayı durdurmak için gerekli olan kan pıhtılaşması için önemlidir. Pıhtılaşmanın gerçekleşmesi için, trombin adı verilen başka bir protein, fonksiyonel fibrinojen proteininin A α ve B β alt birimlerinden bir parça (A and B fibrinopeptitleri) çıkarır. Bu süreç fibrinojeni kan pıhtılarındaki ana protein olan fibrine dönüştürür. Fibrin proteinleri birbirine yapışır ve kan pıhtısını oluşturan bir ağ oluşturur. Beta Fibrinojen -455 G>A polimorfizmi, fibrinojen seviyelerinde artışa neden olarak miyokard enfarktüsü ve felç gibi arteriyal hastalıklarla ilişkilendirilmektedir.^{59,60}

2.5.6. Faktör XIII (V34L) Polimorfizmi

Faktör XIII, pıhtılaşmanın son aşamasında rol oynayan bir protransglutaminazdır. Faktör XIII'in fonksiyonu fibrin monomerleri arasında çapraz bağlar oluşturarak pıhtıyı fibrinolizise karşı dirençli hale getirmektedir. Tromboza karşı koruyucu bir faktördür. Miyokard enfarktüs, derin ven trombozu ve pulmoner embolizme karşı koruyucu özellik göstermektedir. Aktive olmuş FXIII (FXIIIa) hemostazdan yara iyileşmesine ve hamileliğe kadar çeşitli fizyolojik olaylarda rol oynar ve bu gendeki mutasyonlar ameliyat veya travma sonrası kanama komplikasyonları, yara iyileşmesinde bozukluklar ve düşük yapma riski ile ilişkilidir.^{61,62}

FXIIIa'yı kodlayan gende görülen G-T değişimi en sık rastlanan mutasyondur. Bu mutasyon trombinin FXIII üzerinde proteolitik aktivite gösterdiği bölgeyi etkileyerek FXIII'ün aktive edilmesini engellemektedir.^{62,63} Faktör VIII, Ca⁺² ve fosfolipidlerin varlığında faktör X'u aktif Xa formuna dönüştüren faktör IXa için bir kofaktördür. Bu gen, iki alternatif olarak eklenmiş transkript üretir. Transkript varyant 1, plazmada dolaşan ve kovalent olmayan bir komplekste von Willebrand faktörü ile birleşen büyük bir glikoprotein olan izoform a'yı kodlar. Transkript varyantı 2, esas olarak faktör VIIIc'nin fosfolipid bağlama alanından oluşan, küçük bir protein olan izoform b'yi kodlar. Bu bağlanma alanı, pıhtılaştırıcı aktivite için esastır. Bu gendeki

bozukluklar, yaygın bir resesif X'e bağı pıhtılaşma bozukluğu olan hemofili A ile sonuçlanır.⁶⁴ Hemofili A, X'e bağı çekinik bir hastalıktır ve genellikle erkeklerde görülür. Ailevi vakalarda, etkilenen çocuk mutant geni taşıyıcı annesinden almıştır, ancak vakaların yaklaşık %30'u spontan bir mutasyondan kaynaklanmaktadır.⁶⁵

2.5.7. Glikoprotein IIIA (L33P) Polimorfizmi

Membran glikoproteini IIB/IIIA trombosit fonksiyonunda önemli bir rol oynar; uyarılmış trombositlerin, fibrinojeni ve ilgili adezyon proteinleri bağlamasını sağlar, bu süreç tromboz gelişiminde anahtar olarak kabul edilir. GPIIIa'yı kodlayan gen (GP3A veya ITGB3), ortak bir trombosit antijen polimorfizmi göstermekte olup [PL(A1)/PL(A2); ITGB3*001 ve ITGB3*002] alelleri vasküler hastalık ile değişken şekilde ilişkilidir.⁶⁶

Dolaşımdaki trombositler hemostazda önemli bir role sahiptir. Endotelial hasar ve subendotelial matris glikoproteinine maruz kalmaları trombositlerin adezyonlarının ve trombotik olayların başlatıcıları olabilirler. En önemli ligandlar olan fibrinojen, von Willebrand Factor (vWF) ve diğer ligandların GP IIB / IIIA yüzeyine bağlanması, afinite düzeyinin yükselmesine ve böylece trombositleri bir araya toplayarak trombosit agregasyonuna yol açar.⁶⁷⁻⁷⁰

2.6. Edinsel Trombofili

Tromboz gelişimi multifaktöriyel bir olaydır. Dolayısıyla çok sayıda kalıtsal ve edinsel faktörün değişik mekanizmalarla tromboz oluşumuna neden olduğu bilinmektedir. Edinsel trombofili terimi sonradan kazanılan trombofili nedenlerini ifade etmektedir. Edinsel trombofilinin nedenleri tablo 2.4'de verilmiştir.⁷¹ Edinsel trombofili, artan VTE riski ile ilişkilidir. Antifosfolipid sendromu (APS) en yaygın edinilmiş trombofili olup hem venöz hem de arteriyel trombozlarla ilişkilidir.⁷²

Akut tromboembolik olaylar, dissemine intravasküler koagülasyon, HIV enfeksiyonu (total ve serbest protein S seviyelerini önemli derecede düşürür), nefrotik sendrom (total protein S seviyelerinde artış ancak serbest fraksiyonda azalmaya neden olur), karaciğer hastalıkları, L-asparajinaz tedavisi ve su çiçeği hastalığının iyileşme evresinde edinsel protein S eksikliği görülebilmektedir.⁷¹

Tablo 2.4. Edinsel Trombofili Nedenleri

EDİNSEL TROMBOFİLİ NEDENLERİ	
– Antifosfolipid sendromu	– Orak hücreli anemi
– Ateroskleroz	– Lökostazis sendromları
– Atriyal fibrilasyon	– Östrojen kullanımı
– Cerrahi girişim	– Travma
– Diabetes mellitus	– Myeloproliferatif hastalıklar
– Gebelik	– Varisler
– Hipertansiyon	– Sigara kullanımı
– İmmobilizasyon	– Sol kalp yetersizliği
– Hipertrigliseridemi	– Vaskülitik sendromlar
– Konjestif kalp yetersizliği	– Trombotik trombositopenik purpura
– İleri yaş	– Atipik hemolitik üremik sendrom
– Nefrotik sendrom	– Dissemine intravasküler koagülasyon
– LDL kolesterol yüksekliği	– Paroksizmal nokturnal hemoglobinüri
– Obezite	– Edinsel Protein S Eksikliği
– Lipoprotein A yüksekliği	– Edinsel Protein C Eksikliği
– Oral kontraseptif kullanımı	– Edinsel Antirombin Eksikliği

Oral kontraseptifler ile tromboz arasında önemli bir ilişki vardır. Oral kontraseptif alan kadınlarda oral kontraseptif almayan kadınlarla mukayese edildiğinde tromboz riskinde (özellikle alt ekstremitelerde derin ven trombozu) yaklaşık olarak 3-4 katlık artış söz konusudur. Tromboz için diğer risk faktörleri olmayan genç kadınlarda

risk daha düşük iken, yaşlı kadınlarda ve diğer risk faktörleri olan kadınlarda risk daha yüksektir.⁷³

Septik şok, karaciğer hastalıkları, şiddetli enfeksiyonlar, dissemine intravasküler koagülasyon (DİK), akut respiratuvar distres sendromu (ARDS), ameliyat sonrası dönem, siklofosamid, metotreksat, 5-florourasil ve L-asparajinaz tedavisi ise edinsel protein C eksikliğinin nedenleri arasında yer almaktadır.⁷⁴ Maligniteler ve VTE arasında önemli bir bağlantı vardır. Kanserli hastalarda klinik serilerde %1-15, otopsi serilerinde %30 oranında tromboembolizm görülmüştür.⁷⁵

Trombozun nedeni malign hücrelerin prokoagülan aktivitesiyle ilgilidir. Neoplastik hücreler doku faktörü yoluyla faktör VII'yi aktive edebilir. Tümörün salgıladığı musin, faktör X'u direk olarak aktive edebilir. Ayrıca malign hücreler makrofajlar veya endotel hücrelerini aktive eden sitokinleri salgılayarak trombozu tetikleyebilir.⁷⁶

Gebelerde, tüm maternal mortalitenin yaklaşık %10'una venöz tromboemboli neden olmaktadır. Gebe bir kadında benzer yaş dağılımına sahip gebe olmayan kadın ile karşılaştırıldığında tromboemboli riskinde 4-5 kat artış bildirilmiştir. Gebelikte venöz tromboemboli, ölüm nedenleri içinde kardiyak nedenlerden sonra 2. sıradadır. VTE insidansı bin doğumda iki, venöz tromboemboliye bağlı ölüm oranı ise yüz bin doğumda bir olarak belirtilmektedir. Gebelikte plazma fibrinojen düzeyi yaklaşık %50 oranında yükselmekte ve bu nedenle gebelik trombojenik özellik göstermektedir. Gebelikte koagülasyon faktörlerinin artmasıyla birlikte doğal antikoagülanlar ve fibrinolitik aktivitede azalma olmaktadır ve bununla birlikte tromboz eğilimini arttıran yeni bir hemostatik denge oluşmaktadır.⁷⁷

Nefrotik Sendromda koagülasyon kaskadında yer alan proteinlerin düzeyleri değişir; ayrıca trombosit agregasyonu da artar. Bunun sonucunda gelişen koagülasyona

yatkınlık durumu, immobilité, koincidental enfeksiyonlar ve hemokonsantrasyon gibi faktörler ile daha da belirgin hale gelir.⁷⁸

Arteriyel ve venöz tromboz eğilimi, tekrarlayan düşükler ve antifosfolipid antikorlarının varlığı ile karakterize APS, edinsel trombofili nedenleri arasında ilk sırada yer almaktadır. Sendromun patogenezi tam olarak aydınlatılamamakla beraber, klinik tablodan negatif yüklü fosfolipidler ve fosfolipid-protein komplekslerine karşı oluşmuş olan antifosfolipid antikorlarının (lupus antikoagülanı-LA ve antikardiolipin antikorları-AKLA) sorumlu olduğu düşünülmektedir. Antifosfolipid antikor sendromunda hem arteriyel hem de venöz sistem tutulabilmektedir. Trombotik komplikasyonlar tekrarlama eğilimindedir. Elli yaşın altında yeni tanımlanmış iskemik serebrovasküler olay (SVO) olgularının %30'undan DVT olgularının %15-20'sinden, tekrarlayan düşüklerin %5-15'inden AFS sorumludur. İskemik SVO riski 2,3-10,6 kat artar.⁷⁹

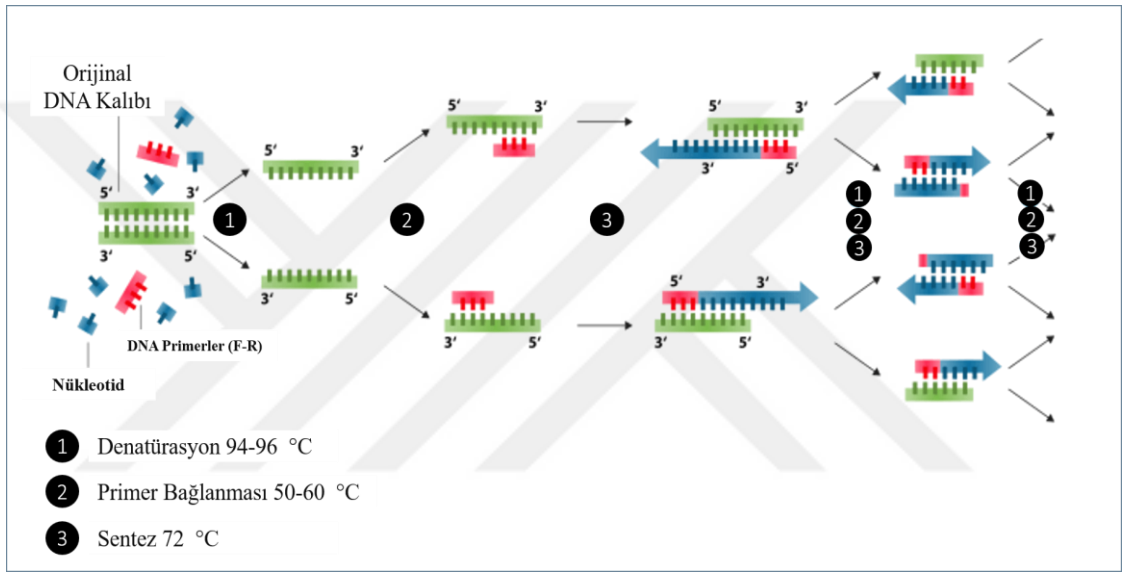
2.7. Trombofili Tanısında Kullanılan Yöntemler

2.7.1. Polimeraz Zincir Reaksiyonu

Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR), DNA'nın belirli bir bölgesinin *in vitro* koşullarda çoğaltma işlemi olup, PCR ilk olarak 1983 yılında Amerikalı biyokimyacı Nobel ödüllü Kary Mullis tarafından geliştirildi. PCR, DNA veya RNA'nın küçük parçalarını kopyalamak veya çoğaltmak için verimli ve uygun maliyetli bir moleküler araçtır. PCR, tamamlayıcı nükleik asit hibridizasyonunun ilkelerini, sayısız döngü boyunca tekrar tekrar uygulanan nükleik asit replikasyonu ilkeleriyle birleştirir. Nispeten kısa bir süre içinde 10^7 faktörü ile spesifik hedef DNA/RNA dizilerinin üstel üretimi ile sonuçlanır. Bu *in vitro* amplifikasyon tekniği, bir Taq polimeraz (termostabil DNA polimeraz) tarafından uzatılan, hedef genomik diziye bağlanan iki sentetik oligonükleotid "primerleri" kullanarak nükleik asit hedefinin tek bir kopyasını amplifiye

edebilir. Şablon DNA'nın (94-96°C'de) denatürasyonu, primerlerin tamamlayıcı dizilerine (50-60°C) bağlanması ve primer uzatma (72°C) için tekrarlanan döngülerin (genellikle 25 ila 40 döngü) otomatik işlemi kullanılır.

Belirli bir DNA bölgesinin uçlarındaki nükleotid sekansları biliniyorsa, araya giren DNA bölgesi doğrudan polimeraz zincir reaksiyonu ile çoğaltılabilir. PCR, çift iplikli DNA moleküllerini dönüşümlü olarak denatüre etme ve tamamlayıcı tek iplikçikleri kontrollü bir şekilde melezleme tekniğine bağlı bir yöntemdir.⁸⁰⁻⁸²



Şekil 2.6. Polimeraz Zincir Reaksiyonunun Şematik Olarak Gösterimi

Tipik bir PCR işlemi, çift iplikli bir DNA örneğinin 95°C'de ısı ile tek iplikçiklere denatürasyonuyla başlar. Daha sonra, ilgili DNA parçasının (hedef dizi) 3' uçlarına tamamlayıcı olan iki sentetik oligonükleotit (ileri ve geri primerler), denatüre DNA'ya ilave edilir ve sıcaklık 50-60°C'ye düşürülür. Çok yüksek konsantrasyonda bulunan bu spesifik oligonükleotidler, DNA kalıbındaki tamamlayıcı sekanslarına melezleşirler.⁸³ Melezleştirilmiş olan bu oligonükleotidler daha sonra, deoksिनükleotitlerin (dNTP) ve sıcak sularda yaşayan bir bakteri olan *Thermus aquaticus* gibi sıcaklığa dayanıklı bir DNA polimerazın varlığında DNA zinciri sentezi için primerler olarak görev yapar. *Taq polimeraz* olarak adlandırılan bu enzim, 95°C'ye

kadar ısıtıldıktan sonra bile aktif kalabilir ve 72°C'ye kadar sıcaklıklarda primerleri uzatabilir (Şekil 2.6). Bu enzimin kullanışlı olmasının nedeni, her denatürasyon döngüsünde ortama yeni enzim ilavesini gerektirmemesidir. Bunun yanı sıra primerlerin bağlanması, yüksek sıcaklıkta daha özgül olmaktadır. Sentez tamamlandığında, yeni oluşturulan DNA dublekslerini denatüre etmek için tüm karışım yeniden 95°C'ye ısıtılır. Sıcaklık tekrar indirildikten sonra, hala çok fazla miktarda primer mevcut olduğu için başka bir sentez döngüsü daha gerçekleşir.^{81,84} Tekrarlanan denatürasyon, ardından hibridizasyon ve sentez döngüleri ilgili DNA dizisini hızla çoğaltır. Her döngüde, primer dizileri arasındaki DNA bölgesinin kopya sayısı ikiye katlanır; bu nedenle, hedef dizi üssel olarak artarken (20 döngüden sonra yaklaşık 1 milyon kat), orijinal DNA örneğindeki diğer tüm diziler çoğaltılmadan kalır.⁸³

2.7.2. Pirosekanslama (Pyrosequencing)

Pyrosequencing, DNA dizileme tekniklerinden biridir ve çok sayıda potansiyel uygulamaya sahiptir. İnorganik pirofosfatın (PPi) polimeraz tarafından dahil edilen nükleotidin bir sonucu olarak salındığı DNA sentezi sırasındaki enzimatik reaksiyonlar zincirine dayanır. Işık, lusiferaz enzimi tarafından lusiferin oksidasyonunun bir sonucu olarak üretilir. Bu reaksiyon için enerji, pirofosfatın adenosin trifosfata (ATP) dönüştürülmesi yoluyla sağlanır. Işık, bir fotodiyot, fotoçoğaltıcı tüp veya bir şarj bağlantılı cihaz (CCD) kamerası tarafından algılanır.⁸⁵

Pirosekanslamada 4 enzim görev alır; DNA Polimeraz I, ATP sülfülaz, Lusiferaz ve Apyrase enziminin Klenow fragmanı. Reaksiyon karışımı ayrıca enzim substratları adenosin fosfosülfat (APS), d-lusiferin ve DNA polimeraz için başlangıç materyali olarak kullanılacak primer-bağlı dizileme şablonu içerir. Dört nükleotid, döngüsel bir şekilde yinelemeli olarak teker teker eklenir ve CCD kamera tarafından üretilen ışık algılar.⁸⁶

Reaksiyonda kullanılan enzimatik reaksiyonlar aşağıdaki gibidir.

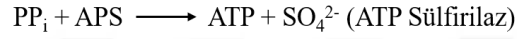
İlk reaksiyon olan DNA polimerizasyonu, eklenen nükleotid dizileme şablonu ile bir baz çifti oluşturduğunda ve böylece büyüyen DNA zincirine dahil edildiğinde meydana gelir.

Adım 1



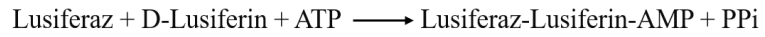
Klenow DNA polimeraz tarafından salınan inorganik pirofosfat (PPi), ATP üreten ATP Sülfürilaz için substrat görevi görür:

Adım 2



Üçüncü ve dördüncü reaksiyonlar aracılığıyla ATP, Lusiferaz tarafından ışığa dönüştürülür ve ışık sinyali algılanır. Bu nedenle, yalnızca reaksiyon karışımına doğru nükleotid eklenirse ışık üretilir.

Adım 3



Adım 4



Apiraz, farklı bazların ilaveleri arasında dahil edilmemiş nükleotidleri ve ATP'yi uzaklaştırır.

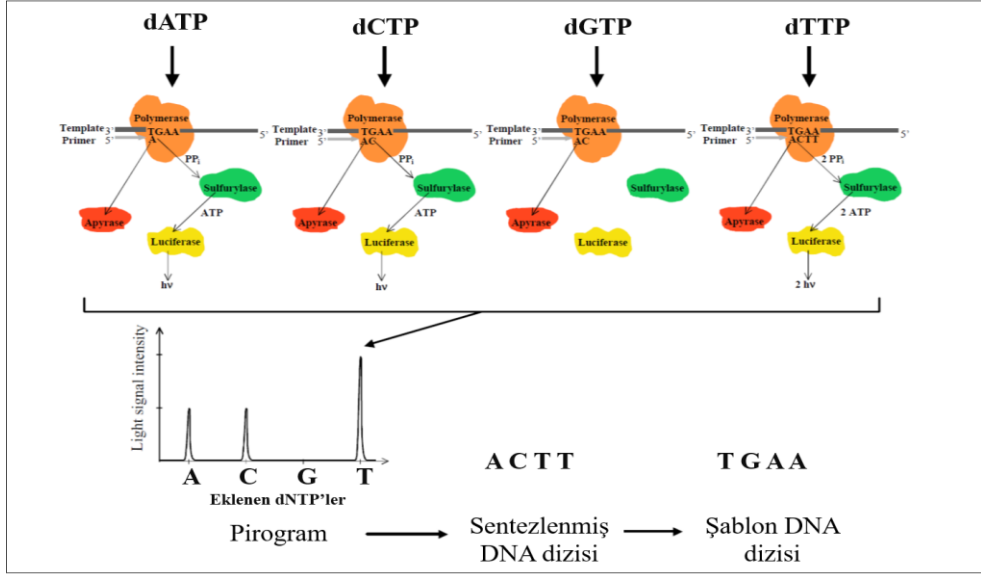
Adım 5



Adım 6

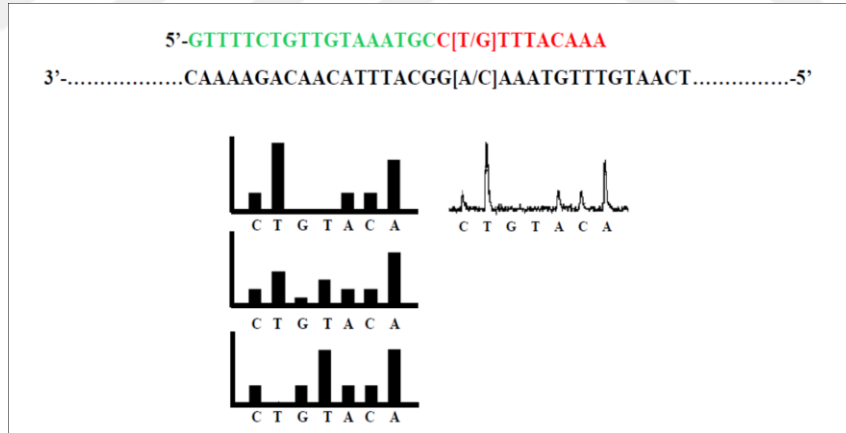


Eklenen her dNTP, kalıp DNA ile bir baz çifti oluşturursa, Klenow Polimeraz onu uzayan DNA zincirine dahil eder ve pirofosfat (PPi) salınır. ATP Sülfürilaz, PPi'yi, ışık üreten enzim Lusiferaz için substrat görevi gören ATP'ye dönüştürür. Üretilen ışık, nükleotid birleşmesinin gerçekleştiğinin kanıtı olarak saptanır.



Şekil 2.7. Piroseklamada enzim sistemi (86)

SNP'lerin tiplendirilmesinde piroseklamamanın bir özelliği, her alel kombinasyonunun (homozigot, heterozigot) diğer iki varyantla karşılaştırıldığında spesifik bir model vermesidir.⁸⁶



Şekil 2.8. Piroseklama ile SNP analizi (86).

MATERYAL VE METOT

3.1. Çalışma Grubu

Bu çalışmada, retrospektif olarak Mart 2014- Haziran 2015 tarihleri arasında, Ulusal Hematoloji Kalıtsal Trombofili Tanı ve Tedavi Klavuzuna göre; ilk idiyopatik tromboz atağını 40 yaş ve öncesinde geçiren, tekrarlayan idiyopatik/minör tetikleyici etkene bağlı VTE öyküsü olan, tromboza eğilimli aile hikayesi olan, purpura fulminans ile başvuran çocuklar, venöz tromboz riski taşıyan gebe kadınlarda trombofili ön tanısı ile Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik Anabilim Dalı laboratuvarına gönderilen ve genetik trombofili markerlarının tespiti için trombofili paneli çalışılan toplam 2000 hasta sonucu değerlendirildi. Hastalar yaşlarına göre beş gruba bölündü (grup 1: <17, 2:18-34, 3:35-49, 4:50-64, 5:>64).

Yapılan çalışma için Atatürk Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan (Karar No: 8/14) onay alındı.

3.2. Genomik DNA'nın Elde Edilmesi

Seçili genlerin polimorfizmlerini saptamak için, hastalardan 2 ml EDTA'lı tüplere periferik venöz kan örnekleri alındı. Kan örnekleri QIAGEN® marka DNA izolasyon kiti kullanılarak üretici firmanın talimatına göre genomik DNA'nın izolasyonu gerçekleştirildi. Elde edilen DNA'nın konsantrasyon miktarları Nanodrop Sistemi (Thermo Fisher Scientific, MA, USA) ve Qubit dsDNA HS kitleri (Life Technologies, Gaithersburg, USA) kullanılarak ölçüldü.

3.3. DNA Amplifikasyonu

Genomik DNA, spesifik primerler kullanılarak thermal cycler ile amplifiye edildi. PCR çalışması için Tablo 3.1'de verilen PCR mix kullanıldı. PCR, thermal cycler'da (SensoQuest Lab-cyclers, GmbH, Hilden, Germany) Tablo 3.2'de verilen PCR

prosedürü kullanılarak pirosekanslamada kullanılmak üzere amplifikasyon işlemi tamamlandı.

Tablo 3.1. PCR Karışımı

Reaksiyon Karışımı	Miktar
PCR Master Mix (Qiagen GmbH, Hilden, Germany)	18,5 µl
İleri primer (F)	2 µl
Geri primer (R)	2 µl
Taq DNA Polimeraz (5U/µl)	0,5 µl
Genomik DNA	10 µl
Steril Su (H ₂ O)	17 µl
Toplam Hacim	50 µl

Tablo 3.2. Thermal Cycler İçin PCR Prosedürü

Reaksiyon Aşaması	Sıcaklık °C	Süre	Döngü Sayısı
Başlangıç denatürasyonu	95	15 Dakika	1
Denatürasyon	94	1 Dakika	
Primer bağlanması	56	1 Dakika	32
Zincir uzaması	72	80 Saniye	
Son uzama	72	15 Dakika	1

3.4. Pirosekanslama ile Mutasyonların Tespiti

Faktör II g.20210G>A, Faktör V Leiden, MTHFR C677T, MTHFR A1298C, PAI-1, B-Fibrinojen, Faktör XIII A (V34L) ve Glikoprotein IIIA (L33P) polimorfizmleri için spesifik primerler ile QIAGEN® Pyromark Q24 cihazı ile dizi analizi gerçekleştirildi. Pirosekanslama değerlendirmeleri “Pyromark Q24 Advanced Software” programı kullanılarak analiz edildi.

Verilerin analizinde IBM (SPSS) Statistics v.12.0 (SPSS Inc., Chicago, IL) programı kullanılmıştır. Çalışmada sürekli değişkenler ortalama ± standart sapma,

medyan (1. çeyreklik-3. çeyreklik), minimum ve maksimum olarak gösterilmiştir. Kategorik değişkenler ise sayı ve yüzdelerle belirtilmiştir. Sayısal değişkenlerin dağılımının normal dağılıma uyup uymadığı Shapiro-Wilk testi ile analiz ve yorumlanmıştır. Gruplar arası karşılaştırmalar, kategorik değişkenler için *ki*-kare testi, normal dağılım gösteren sürekli değişkenler için bağımsız örneklem Student *t*-testleri ve normallik varsayımı sağlanmadığında değişkenler için yapılan bağımsız iki grup karşılaştırmaları Mann-Whitney U testi kullanılarak değerlendirilmiştir. Korelasyonlar, Pearson veya Spearman'ın korelasyon testleri kullanılarak değerlendirildi. Bölümler arasında genetik parametrelerde farklılık olup olmadığını belirlemek için Kruskal-Wallis testi yapıldı. İstatistiksel anlamlılık düzeyi olarak $p < 0.05$ alınmıştır.

4. BULGULAR

Bu çalışmada 20 farklı klinikten gönderilen hastalara ait kan sonuçları incelenmiştir. Kanları incelenen kişilerin yaş ortalamaları 34.7 ± 10.8 (2-87) yılıdır. Yaş gruplarına göre sınıflandırılma yapıldığında %50'si 18-34 yaş arasındaydı (tablo 4.1) ve %78.5'i kadın idi (tablo 4.2). (grup 1: <17, 2:18-34, 3:35-49, 4:50-64, 5:>64).

Tablo 4.1. Hastaların Yaş Gruplarına Göre Dağılımları

Gruplar	n	%
1 (< 17 yaş)	52	2,6
2 (18-34 yaş)	1017	50,8
3 (35-49 yaş)	741	37,0
4 (50-64 yaş)	169	8,4
5 (64< yaş)	22	1,1
Total	2001	100,0

Tablo 4.2. Hastaların Cinsiyetlerine Göre Dağılımları

		n	%
Cinsiyet	Erkek	431	21,5
	Kadın	1570	78,4
	Total	2001	100,0

İncelenen kanların %48,5'i nöroloji, %29'u da kadın doğum hastalıkları ve infertilite kliniklerinden gönderilmiştir. İncelenen kanların gelen kliniklere göre dağılımları tablo 7'de özetlenmiştir.

Tablo 4.3. İncelenen Kanların Gelen Kliniklere Göre Dağılımları

	Klinikler	Hasta Sayısı	%
1	Beyin Cerrahi	1	0,1
2	Cildiye	4	0,2
3	Dahiliye	132	6,6
4	Fizik Tedavi ve Rehabilitasyon	2	0,1
5	İnfertilite	235	11,8
6	Kardiyoloji	5	0,3
7	Kulak Burun Boğaz	2	0,1
8	Nöroloji	969	48,5
9	Organ Nakli	77	3,9
10	Psikiyatri	2	0,1
11	Kadın Hastalıkları ve Doğum	343	17,2
12	Kalp Damar Cerrahi	43	2,2
13	Çocuk Hastalıkları	43	2,2
14	Göğüs Hastalıkları	11	0,6
15	Obsterik Gebelik	19	1,0
16	Genel Cerrahi	5	0,3
17	Göz Hastalıkları	2	0,1
18	Medikal Onkoloji	1	0,1
19	Tıbbi Genetik	100	5,0
20	Enfeksiyon Hastalıkları	4	0,2
	Genel Toplam	2000	100

Trombofili paneli ile belirlenen genotiplerin sıklığının dağılımını incelendiğinde; Faktör II G20210A polimorfizmi için %4,6 oranında heterozigot genotip, Faktör V Leiden polimorfizmi için %8,8 oranında heterozigot ve %0,4 oranında homozigot genotip, MTHFR C677T polimorfizmi için %37,2 oranında heterozigot ve %7,6 oranında homozigot mutant genotip, MTHFR A1298C polimorfizmi için %48,1

heterozigot ve %15,7 homozigot mutant genotip, PAI-1 polimorfizmi için %38,8 heterozigot ve %13 homozigot mutant genotip, β -Fibrinojen polimorfizmi için %30,3 heterozigot ve %4 homozigot mutant genotip, Faktör XIII A (V34L) polimorfizmi için %23,3 heterozigot ve %2,4 homozigot mutant genotip, Glikoprotein III A (L33P) polimorfizmi için %17,7 heterozigot ve %1,5 homozigot mutant genotip taşıdıkları belirlendi (tablo 4.4.).

Tablo 4.4. Trombofili Paneli ile Belirlenen Genotiplerin Sıklığının Dağılımı

	Normal		Pozitif		Homozigot		Heterozigot		Toplam (n)
	n	%	n	%	n	%	n	%	
Faktör II G20210A	1908	95,4	92	4,6	-		92	4,6	2000
Faktör V Leiden	1816	90,8	184	9,2	7	0,4	177	8,8	2000
MTHFR C677T	1103	55,2	898	44,8	151	7,6	747	37,2	2000
MTHFR A1298C	719	36,2	1270	63,8	313	15,7	957	48,1	1989
PAI-1	962	48,2	1036	51,8	261	13	775	38,8	1998
β -Fibrinojen	1313	65,7	687	34,3	80	4	607	30,3	2000
Faktör XIII A (V34L)	1483	74,3	513	25,7	47	2,4	466	23,3	1996
Glikoprotein III A (L33P)	1616	80,8	383	19,2	30	1,5	353	17,7	1999

Ulusal Hematoloji Kalıtsal Trombofili Tanı ve Tedavi Klavuzuna göre risk gruplarına göre genetik trombofili panellerinin dağılımı tablo 4.5’de özetlenmiştir.

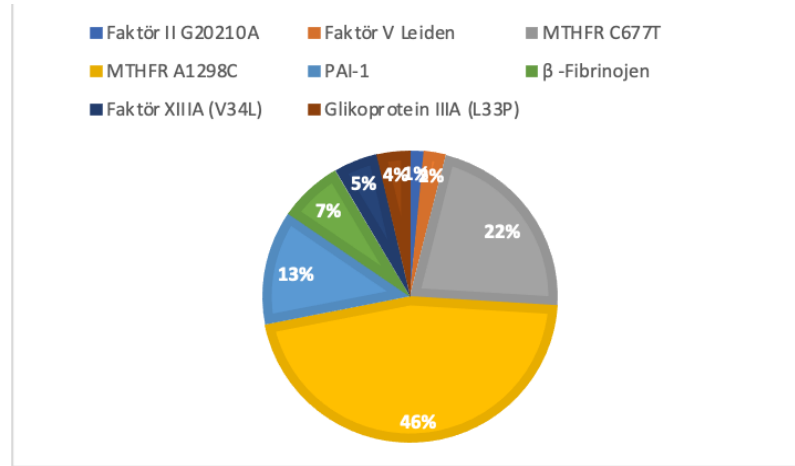
Tablo 4.5. Genetik Trombofili Paneli Sonuçlarına Göre Yüksek ve Düşük Risk Grubundaki Bireylerin Sıklığının Dağılımı

		Homozigot ve Heterozigot (n, %)
Yüksek Risk Grubu	FAKTÖR II G20210A (Prothrombin)	92, %4,6
	Faktör V Leiden	184, %9,2
Düşük Risk Grubu	MTHFR C677T	898, %44,8
	MTHFR A1298C	1270, %63,8
	PAI-1	1036, %51,8
	β -Fibrinojen	687, %34,3
	Faktör XIII A (V34L)	513, %25,7
	Glikoprotein IIIA (L33P)	383, %19,2

Genetik trombofili paneli incelenen kişilerin %16,5'inde sadece bir genotip bozukluğu vardı (tablo 4.6).

Tablo 4.6. Trombofili Paneli ile Belirlenen Tek Bir Genotip Bozukluğunun Pozitif Olma Sıklığı

	n	%
Faktör II G20210A	5	0.25
Faktör V Leiden	8	0.4
MTHFR C677T	73	3.6
MTHFR A1298C	152	7.6
PAI-1	42	2.1
β -Fibrinojen	23	1.1
Faktör XIII A (V34L)	16	0.8
Glikoprotein IIIA (L33P)	12	0.6
Toplam	331	16.5



Şekil 4.1. Trombofili Paneli ile Belirlenen Tek Bir Genotip Bozukluğunun Pozitif Olma Sıklığı

İki genotip bozukluğunun birlikte olma durumu incelendiğinde %33,2’de MTHFR A1298C ve PAI-1 birlikteliği vardı. Faktör V Leiden ve Faktör II birlikteliği %0,8 idi.

Tablo 4.7. Trombofili Paneli ile Belirlenen İki Genotip Bozukluğunun Birlikte Olma Sıklığı

	Faktör II G20210A	Faktör V Leiden	MTHFR C677T	MTHFR A1298C	PAI-1	β -Fibrinojen	Faktör XIII A (V34L)	Glikoprotein III A (L33P)
Faktör II G20210A		16	36	57	47	35	22	24
Faktör V Leiden	16		92	105	83	71	50	37
MTHFR C677T	36	92		426	489	295	236	182
MTHFR A1298C	57	105	426		665	458	322	245
PAI-1	47	83	489	665		364	265	214
β -Fibrinojen	35	71	295	458	364		172	144
Faktör XIII A (V34L)	22	50	236	322	265	172		94
Glikoprotein III A (L33P)	24	37	182	245	214	144	94	

Kliniklere göre genotip bozuklukları incelendiğinde dahiliye, infertilite, kadın hastalıkları ve doğum, kalp damar cerrahisi, nöroloji, organ nakli ve tıbbi genetik kliniklerinden gelen kanlarda incelenen 8 genotipte en az bir bozukluk vardı (tablo 4.8).

Tablo 4.8. Kliniklere Göre Genotip Bozukluk Sayıları

Klinikler	FAKTOR II G20210A	FAKTOR V (Leiden)	MTHFR C677T	MTHFR A1298C	PAI-1 (5G/4G)	βFIBRİNOJEN (455G>A)	F XIIIa (V34L)	GPIIIa (L33P)
Dahiliye	12	18	55	56	66	45	32	24
Enfeksiyon	1		4	1	3	2	2	1
İnfertilite	7	20	99	114	150	86	65	45
Kadın D	13	29	161	161	167	125	90	75
KVC	9	15	16	15	29	20	8	12
Nöroloji	40	78	443	485	481	326	247	181
Organ Nakli	3	4	42	38	38	16	19	11
Psikiyatri	1	1		2	1	1	1	
Genetik	7	11	40	52	53	34	26	20
Çocuk		6	16	15	22	15	11	6
Göğüs		1	3	3	4	2	1	1
Obstetrik Gebelik		3	7	6	12	7	6	3
Cildiye			3	3	3	2	1	1
FTR			1	1	2		1	
Genel Cerrahi			3	3	4	3	1	
Göz			1	1	2	1		
Kardiyoloji			3	2	2	1	1	2
KBB				1				1
Beyin Cerrahi					1	1	1	1

Cinsiyete göre genotip bozukluk değerlendirilmesi yapıldığında cinsiyetler arası fark bulunmamıştır.

Yaş gruplarına göre genotip bozukluk değerlendirilmesi yapıldığında yaş grupları arasında fark bulunmamıştır ($p>0.05$).

5. TARTIŞMA

Kanda pıhtılaşma eğiliminin arttığı durumlar için genel olarak trombofili terimi kullanılmaktadır. Trombofili klinikte genellikle inme, kalp krizi, gebelik döneminde düşükler, derin ven trombozu ve/veya pulmoner emboli gibi mortalite ve mortalitesi yüksek tromboembolik olaylar ile karşımıza çıkar.

Tromboz gelişiminde kalıtsal (primer) ve edinsel (sekonder) birçok multifaktöriyel değişkenlerin rol aldığı bilinmektedir. FVL mutasyonu, PC eksikliği, PS eksikliği, protrombin gen mutasyonu ve AT eksikliği kalıtsal trombofilinin en önemli nedenlerindedir.⁸⁷ En sık görülen genetik trombofili risk faktörü ise Faktör V Leiden polimorfizmidir.⁸⁸ Bilimsel çalışmalarda venöz tromboz riskinin Faktör V Leiden'in heterozigot polimorfizmi ile 7-10 kat artar iken homozigot polimorfizmi ile 100 kat daha yüksek riske sahip olduğu gösterilmiştir.⁸⁹ Faktör II G20210A ve Faktör V Leiden polimorfizmlerinin VTE ile ilişkisi birçok araştırmacı tarafından kabul edilir iken arteriyel tromboz üzerindeki etkileri hala araştırılmaktadır.^{90,91} Faktör V Leiden'in homozigot ya da çift heterozigot protein C ve S eksiklikleri neonatal purpura fulminans gibi mortalitesi yüksek klinikler ile de karşımıza çıkmaktadır.⁹²⁻⁹⁴ Literatürde Faktör V Leiden mutasyonlu hastalarda serebral ven trombozları diğer hastalara oranla 5-6 kat daha fazla olduğu bildirilmiştir. Özellikle çocuklarda Faktör V Leiden polimorfizmi yetişkinlere göre daha sık serebral infarktlarla ilişkilendirilmektedir.^{1,25} Kalça veya diz ameliyatından sonra VTE riski aktif protein C direnci olan hastalarda yaklaşık beş kat artmıştır.⁹⁵

Trombofilik genlerdeki mutasyonların sıklığı toplumlara ve etnik kökenlere göre değişiklik gösterir. Faktör V geninin haplotip analizi, Faktör V Leiden mutasyonun yaklaşık 21.000-34.000 yıl önce Moğollardan, Kafkasya'da ortaya çıktığı ileri sürülmektedir. Bu mutasyonun daha sonra 10.000 yıl önce Avrupa ve Hindistan'a

yayıldığı tahmin edilmektedir.⁹⁶ Faktör V Leiden mutasyonu Kafkas Toplulukları'nda %15 civarında görülür iken, diğer en yüksek yaygınlık oranları Akdeniz ülkelerinde görülmüştür. Ürdün (%12,3), Lübnan (%14,4), Yunanistan (%13,3) ve Kıbrıs (%12,1).⁹⁷ Avrupa toplumlarında ise %3-8 civarında olduğu rapor edilmiştir.⁹⁸ Japon, Çin, Afrika ve Amerikan yerlileri gibi bazı popülasyonlarda mutasyon bulunmaz iken Hindistan Panjabi Bölgesindeki toplumlarda %1,3 civarında bildirilmiştir.^{99,100} Bu dağılımlar popülasyon göçlerinin kavşağında bulunan ülkemiz ve özellikle de bölgemiz için önem arz etmektedir. Bu nedenle ciddi sonuçları olan bu mutasyonun bölgeler arasındaki değişimi ve sıklığı araştırılması gerekmektedir. Ülkemizde Faktör V Leiden mutasyonu ile ilgili çalışmalar mevcut olup prevalansı yaklaşık %10'dur.^{101,102} Bölgesel olarak yapılan bazı çalışmalarda Faktör V Leiden mutasyonunun oranı Ankara için %7,1, Denizli için %8,4, Güney Bölgesi'nde %8,7, Edirne için %4,2, Sivas için %4,9, Gaziantep için %8 olarak saptanmıştır.¹⁰³⁻¹⁰⁸ Biz de çalışmamızda Doğu Anadolu Bölgesi, özellikle Erzurum ve çevresinde trombofilik genlerin en sık görülen tek nükleotid polimorfizmlerinin görülme sıklıklarını inceledik. Ülkemizde Kafkas topluluklarının en sıklıkla yaşadığı ve iletişimde olduğu bölge Erzurum ili ve çevresidir. Ayrıca Erzurum Bölgesi ülkemizde Karadeniz, Güney, Doğu ve İç Anadolu Bölgeleri'nin kesişim noktası halindedir. Tarih boyunca birçok etnik kökenlere ev sahipliği yapmış bir bölgedir. Bu nedenle bu çalışma ülkemizdeki diğer bölgelerde yapılan çalışmalardan farklılık teşkil etmektedir. Bizim çalışmamızda incelenen hastalarda Faktör V Leiden prevalansı %9,2 olarak bulundu. Bu oran batı illerine oranla daha yüksek olarak değerlendirildi.

Faktör II (Protrombin) G20210A mutasyonu, Faktör V Leiden hastalığından sonra protrombotik polimorfizmin ikinci en sık nedenidir. Protrombin 20210 G/A mutasyonunda, protrombin geninde 20210. nükleotidde G'nin yerine A'nın gelmesi ile

protrombin konsantrasyonunda artış olmakta ve venöz tromboz riski 2-3 kat artmaktadır.¹⁰² Protrombin G20210A polimorfizmi dünyada değişik prevalanslarda olmakla birlikte %3'e yakın sıklıkta görülmektedir.^{109,110} Venöz tromboembolisi olan hastalarda ise bu polimorfizmin sıklığı %6 olarak bildirilmektedir. Protrombin gen polimorfizmi Afrika ve Asyalılar'da çok nadir görülmektedir.¹¹¹ Türkiye'de Protrombin G20210A polimorfizm prevalansı %2,6 olarak bildirilmiştir.¹⁰² Ayyıldız ve ark. Diyarbakır'da yaptıkları çalışmada sağlıklı kişilerde Protrombin G20210A mutasyonu sıklığı %1,2 iken VTE hastalarında %6,5 olarak rapor edilmiştir.¹¹² Dölek ve ark. yaptıkları çalışmada ise sağlıklı kişilerde %1,8 iken VTE hastalarında % 8,6 oranında rapor edilmiştir.¹¹³ Oztuncu ve ark. Gaziantep Bölgesi'nde yaptıkları çalışmada G20210A polimorfizm prevalansını %4,6 (%3,4 heterozigot, %0,2 homozigot) olarak bildirmişlerdir.¹⁰⁸ Bizim çalışmamızda da %4,6 (heterozigot) olarak tespit edilmiştir.

Faktör II (Protrombin) G20210A ve Faktör V Leiden polimorfizmlerinin birlikte bulunması VTE riskini 6-10 kata kadar artırmaktadır.¹⁰² Dolek ve ark. ülkemizde yaptıkları çalışmada bu iki polimorfizmin birlikteliğini %1,5 oranında olduğunu bildirmişlerdir. Bizim çalışmamızda ise Faktör V Leiden ve Faktör II birlikteliği %0,8 idi.¹¹³

MTHFR eksikliğinde homosistein metiyonine dönüşemez ve kandaki seviyesinde artış olur. MTHFR'de birkaç polimorfizm tanımlanmıştır, ancak sadece C677T ve A1298C polimorfizmlerinin enzim aktivitesini etkilediği doğrulanmıştır.^{45,46} MTHFR C677T polimorfizminin toplumda görülme sıklığı %12 olarak bildirilmiştir.¹¹⁴ Türkiye'de yapılan çalışmalarda sağlıklı bireylerde homozigot mutant genotip oranı %5, heterozigot mutant genotip oranı ise %35 olarak bildirilmiştir.¹¹⁵ Avrupalılar arasında %24-64 arasında, Kuzey Amerikalılarda %6-64 arasında, Güney Amerikalılarda %2-48 arasında, Afrikalılarda %0-35 arasında ve Sibiryalılarda %8-31 arasında

değişmektedir.⁴⁹. Çalışmamızda MTHFR C677T mutasyonu için prevalansı %44.8 (%37.2 heterozigot, % 7.6 homozigot) olarak bulunmuştur.

MTHFR C677T için heterozigot taşıyıcı veya homozigot mutant kadınların gebeliklerinde hiperhomosisteinemi nedeniyle nöral tüp defektleri açısından risk mevcuttur. Bizim çalışmamızda kadın doğum kliniğinden gelen kanlarda en fazla genotip bozukluğu olan iki genden birisi %19 sıklıkla MTHFR C677T polimorfizmi idi.

MTHFR A1298C allel frekansı küresel olarak, Asya'da %10-70, Avrupa'da %24-46, Afrika'da %13-32 ve Amerika'da %0-15 arasında değişmektedir.⁴⁹ Ülkemizde yapılan çalışmalarda ise bu oran %50-65 arasında olduğu bildirilmiştir.¹¹³ Bizim çalışmamızda MTHFR A1298C mutasyonu prevalansı %63.8 (%48.1 heterozigot, %15.7 homozigot) olarak bulunmuştur. Bizim çalışmamızdaki en fazla oranda tespit edilen gen poliorfizmi MTHFR A1298C mutasyonu idi. MTHFR A1298C mutasyonunda enzim aktivitesi azdır ancak tek başına hiperhomosisteinemiye neden olmaz. MTHFR C677T ve A1298C mutasyonu eğer diğer genetik risk faktörleri özellikle de faktör V Leiden mutasyonu varsa venöz tromboz riskini oldukça artırır.^{30,31} Bizim çalışmamızda MTHFR C677T + Faktör V Leiden birlikteliği %4,6, MTHFR A1298C + Faktör V Leiden birlikteliği %5,25 oranında idi. Dölek ve ark. yaptığı çalışmada MTHFR C677T + Faktör V Leiden birlikteliği %13, MTHFR A1298C + Faktör V Leiden birlikteliği ise %17 olarak bildirilmiştir.¹¹³ Bizim bölgemizde bu iki genin Faktör V Leiden ile birlikteliği diğer çalışmalara göre daha düşük bulunmuştur. MTHFR C677T + Faktör V Leiden + Faktör II (Protrombin) G20210A birlikteliği %0,25 idi. Kabukçu ve ark. da bizim çalışmamıza benzer olarak MTHFR C677T + Faktör V Leiden + Faktör II (Protrombin) G20210A birlikteliğini %0,3 olarak bildirmişlerdir.⁹⁷

PAI-1 geninde en yaygın görülen insersiyon/delesyon polimorfizmi, PAI-1 geni promotör bölgesi içinde transkripsiyon başlama noktasının 650 baz yukarısında yer alan dört veya beş guanin bazlık (4G/5G) değişikliktir. Her iki allel de transkripsiyonel aktivatöre bağlanır, fakat 5G alleli baskılayıcı bir proteine bağlanarak transkripsiyonu azaltır ve dolaşımda PAI-1 seviyelerinin düşük olması ile ilişkilidir.¹¹⁶ Kore popülasyonunda yapılan bir araştırmaya göre, gebelik kaynaklı hipertansiyon sendromu (PIHs) grubundaki PAI-1 geninin genotip frekansları 4G/4G için %47,4, 4G/5G için %41,5 ve 5G/5G için %11,1 idi.¹¹⁷ Bu genotip gebe bayanlarda PIHs için majör risk faktörlerinden birisi olarak gösterilmiştir. Ülkemizde yapılan çalışmalarda ise PAI-1 4G/5G mutasyon sıklığı %45 olarak rapor edilmiştir.¹⁰⁸ Bizim çalışmamızda PAI-1 polimorfizmi %51,8 (%38,8 heterozigot, %13 homozigot) olarak bulunmuştur. Kadın doğum hastalıkları ve gebelik kliniklerinden gelen kanların %48'inde PAI-1 (4G/5G) polimorfizmi mevcuttu. Ayrıca bizim çalışmamızda en fazla iki gen birlikteliği MTHFR A1298C + PAI-1 (%32,5) ve MTHFR C677T + PAI-1 (%24,4) polimorfizmi birlikteliği idi.

Özellikle β -zinciri oluşumunda önemli olan β -455 G/A polimorfizmini de içeren β -Fibrinojen gen polimorfizmlerinin, plazma fibrinojen seviyesinin yükselmesine neden olarak koroner arter hastalıkları ve inme ile yakından ilişkili olduğu gösterilmiştir. Çalışmamızda β -Fibrinojen geni β -455 G/A polimorfizmi için heterozigot prevalansı %30,3 ve homozigot prevalansı %4 olarak bulunmuştur.⁵⁹

FXIII eksikliği, ciddi kanamalara, tekrarlayan düşüklere ve yara iyileşmesinde yetersizliklere yol açan nadir bir hastalıktır. Bu proteinin hem A hem de B ünitelerini kodlayan genler oldukça polimorfiktir. En yaygın tek nükleotid polimorfizmi olan V34L (Valin>Lösin) aktivasyon peptidinde yer alır ve trombotik hastalıklar üzerinde genel bir koruyucu etkiye sahiptir.^{61,118} FXIII-A V34L miyokard infarktüsü (MI) ve koroner arter

hastalıkları riskini azaltmaktadır. Ayrıca FXIII-A V34L'nin venöz tromboembolik hastalıklar üzerindeki koruyucu etkisi azdır.¹¹⁹ Lübnan popülasyonu üzerinde yapılan bir araştırmaya göre, heterozigot ve homozigot genotiplerin Faktör XIII V34L mutasyonu için prevalansı sırasıyla %22,4 ve 3,4 olarak bulunmuştur.¹²⁰ Ülkemizde Öztuzcu ve ark. yaptıkları çalışmada, heterozigot ve homozigot Faktör XIII V34L mutasyon yüzdesi sırasıyla %24,9 ve 2,6 idi.¹⁰⁸ Yazarların çalışmasında Türkiye'nin güneydoğu bölgesinde analiz edilen nüfusta, V34L taşıyıcılarının yaygınlığının (%27,5) genel olarak Kafkasyalı'lardan (%44,3) daha düşük olduğu ve ilginç bir şekilde Siyahi ve Güney Asyalılar'dakine benzer olduğunu belirtmişlerdir. Bizim çalışmamızda Faktör XIII V34L polimorfizmi prevalansı Öztuzcu ve ark. çalışmasına benzer olarak %23,3 heterozigot ve %2,4 homozigot mutasyonu bulunmuştur.¹⁰⁸

GPIIb/GPIIIa kompleksi fibrinojen için bir reseptör olarak etki ederek trombosit agregasyonuna aracılık eder. Bu kompleks aynı zamanda von Willebrand faktörü ve fibronektin içinde bir reseptör görevi yapar.¹²¹ Bu gendeki c.98C> T polimorfizmi, bir p.L33P (L33P) değişimi ile GPIIIa'nın 33. pozisyonunda bir lösin yerine bir prolin gelmesine ve trombositler üzerinde antijenik olarak farklı iki olgun GPIIb/IIIa formunun oluşumuna neden olur. Bu varyantın varlığının, genç Kafkas ırkı kadınlarında prematür akut koroner sendromu ve inme riski ile ilişkili olduğu bulunmuştur.¹²² Bizim çalışmamızda Glikoprotein IIIa (L33P) polimorfizmi prevalansı Kafkas popülasyonuna benzer olarak %19,2 (%17,7 heterozigot, %1,5 homozigot) olarak bulunmuştur.

Kliniğimizde daha önce yapılan çalışmada, Faktör II G20210G ve Faktör V Leiden mutasyonları, arteriyel tromboz, iskemik inme için önemli risk faktörleri olarak bulunmuş, ancak MTHFR (C677T, A1298C), PAI-1, β -fibrinojen, Faktör XIII V34L ve glikoprotein IIIa (L33P) polimorfizmleri ile istatistiksel anlamlı düzeyde ilişki bulunmamıştır.¹²³

Trombofili'nin gen mutasyonuna bağlı etiyolojik nedenlerinin araştırılmasında tartişılması gereken önemli bir diğer konuda trombofili testlerinin ne zaman, kime ve nasıl isteneceği konusudur. Zira klinik olarak trombofilik testlerin rolü ve sonuçlarının etkileri iyi tanımlanmamıştır ve çoğunlukla uzman görüş birliğine dayanmaktadır. Özellikle bu testlerin ne zaman yapılacağı ile ilgili tartişmalar halen devam etmektedir. Malignensi, tekrarlayan travma, immobilite gibi tromboembolik olayı provoke eden bir durum varlığında bu testlerin yapılması önerilmemektedir. Ancak genç yaşta tromboemboli gelişen, özellikle zayıf provoke edici faktörleri olan veya provoke edici etken olmadan tromboemboli gelişen, ailesinde VTE öyküsü (özellikle birinci derece genç yaşta VTE olayı) olan, tekrarlayan VTE ve splanchnik veya serebral damarlar gibi alışılmışın dışındaki bölgelerde VTE gelişen ve tekrarlayan gebelik kaybı olan kişilerde trombofilik testlerin yapılması önem arz eder.¹²⁴ Tüm trombofili mutasyonlarının test edildiği “trombofili panelleri” göndermek yerine, klinik karar vermeyi etkileme olasılığı en yüksek olan veya bölgesel taramalarda tespit edilmiş en yaygın mutasyonları olan belirli trombofili mutasyonlarına odaklanmış testlerin yapılması maliyet faydası yönünden önem kazanır.

Kalıtsal trombofililerin ilk VTE gelişmesinde etkisi olmasına rağmen, rekürrens riski ile ya orta düzeyde bir ilişkisi vardır ya da hiç ilişkisi yoktur. Bu nedenle, bu tür testler, antikoagölan tedavi seğimi veya tedavi süresi ile ilgili kararlarda sınırlı bir rol oynamalıdır.¹²⁴ Yapılan bir çalışmada, ilk VTE'den sonra trombofili testinin rolü değerlendirilmiştir. Testin yapılıp yapılmadığının nüks VTE gelişmesi açısından hiçbir fark göstermediği rapor edilmiştir.¹²⁵ VTE tekrarlama riskini değerlendirmeye yardımcı olacak birden fazla tahmin modeli vardır. Özellikle çoğu nüks için risk hesaplama modelinde trombofili durumu hesaplamaya dahil edilmez. Kalıtsal trombofiliye neden

olan mutasyonların ilk VTE gelişmesi ve rekürrens durumlarla ilişkisi tablo 5.1’de gösterilmiştir.

Tablo 5.1. Başlangıç ve tekrarlayan VTE Riski¹²⁴

Trombofili	İlk VTE Risk	Tekrarlayan VTE Risk
Faktör V Leiden (Heterozigot)	3-4x	-
Faktör V Leiden (Homozigot)	11x	-
Protrombin Gen Mutasyonu (Heterozigot)	4x	-
Protrombin Gen Mutasyonu (Homozigot)	7x	-
Faktör V Leiden + Protrombin gen mutasyonu (Heterozigot)	20x	-
Antitrombin eksikliği	16x	4x
Protein C eksikliği	8x	3x
Protein S eksikliği	7x	↑ ^a
Antifosfolipit antikoru	2-11x ^b	↑↑ ^b

(-): İlişkili olmayan artmış risk,

↑: Hafif artmış risk,

↑↑: Yüksek artmış risk,

VTE: Venöz Tromboembolizm

^a: Tekrarlayan VTE için tehlike oranı iyi çalışılmamıştır.

^b: İlk VTE riski anormal test sonucunun sayısı ve tipine bağlı olarak değişir.

İlk defa derin ven trombozu (DVT) ve pulmoner emboli (PE) tespit edilen hastalarda trombofili testine yaklaşımda; klinik tabloyu tetikleyici malignite, yakın zamanda travma, cerrahi uygulama veya hareketsizlik gibi bir nedenin var olması ve hastada trombofili için şüpheli bir özelliğin olmaması halinde trombofili testi düşünülmemelidir. Hastanın trombofiliyi tetikleyici nedenler yönünden öyküsü yok veya belirsiz, trombofili için şüpheli özellikler mevcut ve trombofili tanısı hasta ve yakınları için uygulanacak tedaviyi değiştirecek ise bu durumda en yaygın trombofili bozukluklarının tespiti için Faktör V Leiden, protrombin gen mutasyonu ile antifosfolipid antikoru testlerinin istenmesi düşünülmelidir.¹²⁴ Tekrarlayan DVT veya PE embolisi olan hastalarda trombofiliyi tetikleyici nedenler yönünden öyküsü var veya belirsiz, trombofili için şüpheli özellikler mevcut ve trombofili tanısı hasta ve yakınları

için uygulanacak tedaviyi değiştirecek ise bu durumda en yaygın trombofili bozukluklarının tespiti için Faktör V Leiden, protrombin gen mutasyonu ile antifosfolipid antikor testlerinin istenmesi düşünölmelidir. Tekrarlayan DVT ve PE olan hastalarda hastalığı tetikleyen bir neden yok ise bu hastalarda trombofili tanısı için en yaygın trombofili bozukluklarının tespiti için Faktör V Leiden, protrombin gen mutasyonu ile antifosfolipid antikor testlerinin istenmesi düşünölmelidir.¹²⁴

Bu çalışmada, trombofili şüphesi ile genetik trombofili markerlarının tespiti için trombofili paneli çalışılan hastalarda Faktör V Leiden, Protrombin G20210A, MTHFR C677T, MTHFR A1298C, PAI-1, β-Fibrinojen, Faktör XIII A (V34L) ve Glikoprotein IIIA (L33P) polimorfizmlerinin görölme sıklıkları incelenerek trombofiliye yatkınlıklarının değerlendirilmiştir.

Daha önce kliniğimizde bu sekiz genotip polimorfizmlerinin tekrarlayan gebelik kaybı öyküsü olan hastalarda ve iskemik strok ile ilişkisi irdelenmiştir. Ancak bu çalışma ilk defa bu sekiz genin birlikte kliniklere göre dağılımı ve birlikte olup olmamasına göre literatürde yapılmış en geniş kapsamlı çalışmadır. Çalışmamız sonucunda, ilgili trombofilik allel mutasyonlarının görölme sıklıklarının literatürde bildirilen değerlerle benzer olduğu ve bölgemize özğü bir dağılım frekansı göstermediği tespit edilmiştir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Yapılan çalışmalar trombofilik gen polimorfizmlerinin tromboz için önemli risk faktörleri olduğunu göstermiştir. Farklı populasyonlarda bu genlerdeki polimorfizmler açısından ırklara göre benzerlikler ve farklılıklar görülmektedir. Bu durum özellikle birinci basamak sağlık hizmetleri açısından önem kazanmaktadır. Çok sayıda faktörün etkin olduğu bu hastalıklarda genetik faktörlerin ağırlığının belirlenmesi bu hastalıklara ve hastaların tedavisinde yaklaşımımızı belirleyecektir. Günümüzde tıbbi genetik çalışmalar, bölgesel ve bireysel farklılıkları belirleyerek hastalıkların tanı ve tedavisine yön vermektedir. Kişiyeye ve bölgeye göre tedavi planı gittikçe yaygınlaşan bir yaklaşım haline gelmiştir. Gen mutasyonlarının dağılımı genellikle bölgeler arasında önemli farklılıklar göstermektedir. Geniş coğrafik bölgeler için elde edilen rakamlar bazen dar coğrafik bölgeleri temsil etmekten uzak olabilir. Bundan dolayı bazen bir mutasyon, bir bölge açısından hastalıkla ilişkisiz görülürken diğer bir bölgede ilişkili bulunabilmektedir. Bu farklı sonuçlar örnek büyüklüğü, eşleştirme yöntemleri ve çalışma ve kontrol gruplarının tanımlanması gibi çeşitli sınırlamalardan kaynaklanabilir.

KAYNAKLAR

1. Atahan E, Çağlar E, Şarkış C, Uğurlu S. Venöz tromboemboli ve kalıtsal trombofili. *Turkish J Thorac Cardiovasc Surg*, 2009, 17: 302-311.
2. Williamson D, Brown K, Luddington R, Baglin C, Baglin T. Factor V Cambridge: a new mutation (Arg306→ Thr) associated with resistance to activated protein C. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*, 1998, 91: 1140-1144.
3. Nussbaum RL, McInnes RR, Willard HF. *Thompson & Thompson Genetics in Medicine*. Eighth edition. Philadelphia: Elsevier/Saunders; 2016. ISBN: 9781437706963 482-484.
4. Rosendaal FR. Venous thrombosis: a multicausal disease. *The Lancet*, 1999, 353: 1167-1173.
5. Lane DA, Mannucci PM, Bauer KA, Bertina RM, Bochkov NP, Boulyjnkov V, Chandy M, Dahlback B, Ginter E, Miletich JP. Inherited thrombophilia: part 1. *Thrombosis and haemostasis*, 1996, 76: 651-662.
6. Makris M, Rosendaal F, Preston F. Familial thrombophilia: genetic risk factors and management. *Journal of Internal Medicine*, 1997, 242: 9-15.
7. Alonso A, Soto I, Urgellés MF, Corte JR, Rodríguez MJ, Pinto CR. Acquired and inherited thrombophilia in women with unexplained fetal losses. *American journal of obstetrics and gynecology*, 2002, 187: 1337-1342.
8. Previtali E, Bucciarelli P, Passamonti SM, Martinelli I. Risk factors for venous and arterial thrombosis. *Blood Transfus*, 2011; 9:120–138.
9. Jensen R. Genetic Alterations Predisposing for thrombosis: screening and confirmation – Part I. *Clinical Haemostasis Review*, 2001;15:1-12.
10. Egeberg O. Inherited antithrombin deficiency causing thrombophilia. *Thrombosis and haemostasis*, 1965, 13: 516-530.

11. Griffin JH, Evatt B, Zimmerman TS, Kleiss AJ, Wideman C. Deficiency of protein C in congenital thrombotic disease. *J Clin Invest*, 1981;68:1370–1373.
12. Comp PC, Esmon CT. Recurrent venous thromboembolism in patients with a partial deficiency of protein S. *New England Journal of Medicine*, 1984, 311: 1525-1528.
13. Dahlbäck B, Hildebrand B. Inherited resistance to activated protein C is corrected by anticoagulant cofactor activity found to be a property of factor V. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 1994, 91: 1396-1400.
14. 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, 88:3698–3703.
15. Stevens SM, Woller SC, Bauer KA, et al. Guidance for the evaluation and treatment of hereditary and acquired thrombophilia. *J Thromb Thrombolysis*, 2016;41:154-164.
16. Heit JA. The epidemiology of venous thromboembolism in the community. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*, 2008, 28: 370-372.
17. Merriman L, Greaves M. Testing for thrombophilia: an evidence-based approach. *Postgrad Med J*. 2006;82:699-704.
18. Campello E, Spiezia L, Simioni P. Diagnosis and management of factor V Leiden. *Expert Rev Hematol*, 2016;9:1139–49.
19. Stone J, Hangge P, Albadawi H, Wallace A, Shamoun F, Knuttien MG, Naidu S, Oklu R. Deep vein thrombosis: pathogenesis, diagnosis, and medical management. *Cardiovascular diagnosis and therapy*, 2017, 7: S276.

20. Heit JA, Sobell JL, Li H, Sommer SS. The incidence of venous thromboembolism among Factor V Leiden carriers: a community-based cohort study. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, 2005;3:305–11.
21. Pabinger I, Vossen CY, Lang J, et al. Mortality and inherited thrombophilia: results from the European Prospective Cohort on Thrombophilia. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, 2012;10:217–22.
22. Dahlbäck B. Advances in understanding pathogenic mechanisms of thrombophilic disorders. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*, 2008, 112: 19-27.
23. Martinelli I, De Stefano V, Mannucci PM. Inherited risk factors for venous thromboembolism. *Nature Reviews Cardiology*, 2014, 11: 140-156.
24. Creasy RK, Resnick R, Iams J, et al (eds): *Creasy Resnick's Maternal-Fetal Medicine: Principles and Practice*. 7th ed. Philadelphia, PA: Saunders/Elsevier;2014.
25. Carraro P; European Communities Confederation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine, Working Group on Guidelines for Investigation of Disease. Guidelines for the laboratory investigation of inherited thrombophilias. Recommendations for the first level clinical laboratories. *Clin Chem Lab Med*, 2003 Mar;41:382-91.
26. Martinelli I, De Stefano V, Mannucci PM. Inherited risk factors for venous thromboembolism. *Nature Reviews Cardiology*, 2014, 11: 140-156.
27. Martinelli I, Bottasso B, Duca F, Faioni E, Mannucci PM. Heightened thrombin generation in individuals with resistance to activated protein C. *Thrombosis and haemostasis*, 1996, 75: 703-705.

28. Zöller B, Holm J, Svensson P, Dahlbäck B. Elevated levels of prothrombin activation fragment 1+ 2 in plasma from patients with heterozygous Arg506 to Gin mutation in the factor V gene (APC-resistance) and/or inherited protein S deficiency. *Thrombosis and haemostasis*, 1996, 75: 270-274.
29. Wu O, Robertson L, Langhorne P, Twaddle S, Lowe GD, Clark P, Greaves M, Walker ID, Brenkel I, Regan L. Oral contraceptives, hormone replacement therapy, thrombophilias and risk of venous thromboembolism: a systematic review. *Thrombosis and haemostasis*, 2005, 94: 17-25.
30. Simioni P, Castoldi E, Lunghi B, et al. An underestimated combination of opposites resulting in enhanced thrombotic tendency. *Blood*, 2005;106:2363–5.
31. Varga EA, Kujovich JL. Management of inherited thrombophilia: guide for genetics professionals, *Clinical genetics*, 2012; 81:7–17.
32. Kyrle PA. Venous thrombosis: Who should be screened for thrombophilia in 2014? *Pol Arch Med Wewn*, 2014; 124, 65–69.
33. Williamson D, Brown K, Luddington R, Baglin C, Baglin T. Factor V Cambridge: a new mutation (Arg306→ Thr) associated with resistance to activated protein C. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*, 1998, 91: 1140-1144.
34. Rosendaal FR. Venous thrombosis: a multicausal disease. *Lancet*, 1999; 353: 1167.
35. Makris M, Rosendaal F, Preston F. Familial thrombophilia: genetic risk factors and management. *Journal of Internal Medicine*, 1997, 242: 9-15.
36. Robertson L, Wu O, Langhorne P, Twaddle S, Clark P, Lowe G, Walker ID, Greaves M, Brenkel I, Regan L. Thrombophilia in pregnancy: a systematic review. *British journal of haematology*, 2006, 132: 171-196.

37. Rosendaal FR, Reitsma PH. Genetics of venous thrombosis. *J Thromb Haemost.* 2009;7 Suppl 1:3014.
38. Robertson L, Wu O, Langhorne P, et al. Thrombophilia in pregnancy: a systematic review. *Br J Haematol* 2006;132:171–96.
39. Poudel S, Zeb M, Kondapaneni V, Gutlapalli SD, Choudhari J, Sodiya OT, Toulassi IA, Cancarevic I. Association of G20210A Prothrombin Gene Mutation and Cerebral Ischemic Stroke in Young Patients. *Cureus*, 2020, 12.
40. Welch GN, Loscalzo J. Homocysteine and atherothrombosis. *New England Journal of Medicine*, 1998, 338: 1042-1050.
41. Lijfering WM, Brouwer JL, Veeger NJ, et al. Selective testing for thrombophilia in patients with first venous thrombosis: results from a retrospective family cohort study on absolute thrombotic risk for currently known thrombophilic defects in 2479 relatives. *Blood*, 2009;113:5314–22.
42. Rey E, Kahn SR, David M, Shrier I. Thrombophilic disorders and fetal loss: a meta-analysis. *Lancet*, 2003;361:901–8.
43. Roque H, Paidas M, Rebarber A, Khan S, Kuczynski E, Lockwood C. 0031 There is no association between maternal thrombophilia and recurrent first-trimester loss. *American journal of obstetrics and gynecology*, 2001, 184.
44. Andreassi MG, Botto N, Maffei S. Factor V Leiden, prothrombin G20210A substitution and hormone therapy: indications for molecular screening, *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)*, 2006; 514-521.
45. Frosst P, Blom HJ, Milos R, et al. A candidate genetic risk factor for vascular disease: a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase. *Nature genetics*, 1995;10: 111–113.

46. Van der Put NM, Gabreels F, Stevens EM, et al. A second common mutation in the methylenetetrahydrofolate reductase gene: an additional risk factor for neural-tube defects? *The American Journal of Human Genetics*, 1998; 62: 1044–1051.
47. Yaliwal LV, Desai RM. Methylenetetrahydrofolate reductase mutations, a genetic cause for familial recurrent neural tube defects. *Indian journal of human genetics*, 2012, 18: 122.
48. Cajavilca CE, Gadhia RR, Román GC. MTHFR Gene Mutations Correlate with White Matter Disease Burden and Predict Cerebrovascular Disease and Dementia. *Brain Sci.* 2019;9:211.
49. Sazci A, Ergul E, Kaya G, Kara I. Genotype and allele frequencies of the polymorphic methylenetetrahydrofolate reductase gene in Turkey. *Cell Biochemistry and Function: Cellular biochemistry and its modulation by active agents or disease*, 2005, 23: 51-54.
50. Sibani S, Christensen B, O'Ferrall E, Saadi I, Hiou-Tim F, Rosenblatt DS, Rozen R. Characterization of six novel mutations in the methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) gene in patients with homocystinuria. *Human mutation*, 2000, 15: 280-287.
51. Yamada K, Chen Z, Rozen R, Matthews RG. Effects of common polymorphisms on the properties of recombinant human methylenetetrahydrofolate reductase. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2001, 98: 14853-14858.
52. Savan K. Tekrarlayan gebelik kayıpları sonrası oluşan gebeliklerin seyri. T.C. Sağlık Bakanlığı Süleymaniye Kadın Hastalıkları ve Doğum Eğitim ve Araştırma Hastanesi. Uzmanlık Tezi. İstanbul, 2007.

53. Glueck CJ, Phillips H, Cameron D, et al. The 4G/4G polymorphism of the hypofibrinolytic plasminogen activator inhibitor type 1 gene: An independent risk factor for serious pregnancy complications. *Metabolism*, 2000;49:845–52.
54. Boekholdt SM, Bijsterveld NR, Moons AH, et al. Genetic variation in coagulation and fibrinolytic proteins and their relation with acute myocardial infarction: a systematic review. *Circulation*, 2001;3063-104.
55. Kohler HP, Grant PJ. Plasminogen-activator inhibitor type 1 and coronary artery disease. *New England Journal of Medicine*, 2000, 342: 1792-1801.
56. Boekholdt SM, Bijsterveld NR, Moons AH, et al. Genetic variation in coagulation and fibrinolytic proteins and their relation with acute myocardial infarction: a systematic review. *Circulation*, 2001;3063-104.
57. Horrevoets AJ. Plasminogen activator inhibitor 1 (PAI-1): in vitro activities and clinical relevance. *British journal of haematology*, 2004, 125: 12-23.
58. Da Li XZ, Huang H, Zhang H. Association of β -fibrinogen polymorphisms and venous thromboembolism risk: A PRISMA-compliant meta-analysis. *Medicine*, 2019, 98.
59. Zöller B, Svensson PJ, He X, Dahlbäck B. Identification of the same factor V gene mutation in 47 out of 50 thrombosis-prone families with inherited resistance to activated protein C. *The Journal of clinical investigation*, 1994, 94: 2521-2524.
60. Scarabin PY, Arveiler D, Amouyel P, et al. Plasma fibrinogen explains much of the difference in risk of coronary heart disease between France and Northern Ireland. The PRIME study. *Atherosclerosis*, 2003; 166: 103-109.
61. Anwar R, Gallivan L, Edmonds SD, Markham AF. Genotype/phenotype correlations for coagulation factor XIII: specific normal polymorphisms are associated with high or low factor XIII specific activity. *Blood*, 1999;93:897–905.

62. Balogh I, Szôke G, Kárpáti L, et al. Val34Leu polymorphism of plasma FXIII: biochemistry and epidemiology in familial thrombophilia. *Blood*, 2000; 96: 2479-86.
63. Zidane M, de Visser MC, ten Wolde M, et al. Frequency of the TAFI -438 G/A and factor XIII A Val34Leu polymorphisms in patients with objectively proven pulmonary embolism. *Thrombosis and Haemostasis*, 2003;90:439-445.
64. F8 coagulation factor VIII [Homo sapiens (human)] Gene ID: 2157, updated on, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/2157>. 28 Haziran 2021.
65. Annucci, P. M., Tuddenham, E. G. D. The hemophilias--from royal genes to gene therapy. *New Eng. J. Med.* 344: 1773-1779, 2001. Note: Erratum: *New England Journal of Medicine*, 345: 384.
66. Di Castelnuovo A, De Gaetano G, Donati MB, Iacoviello L. Platelet glycoprotein IIb/IIIa polymorphism and coronary artery disease. *American Journal of Pharmacogenomics*, 2005, 5: 93-99.
67. Ting HJ, Khasawneh FT. Platelet function and Isoprostane biology. Should isoprostanes be the newest member of the orphan-ligand family? *Journal of biomedical science*, 2010, 17: 1-13.
68. Eisenberg PR, Ghigliotti G. Platelet-dependent and procoagulant mechanisms in arterial thrombosis. *International journal of cardiology*, 1999, 68: 3-10.
69. Kristensen SD, Würtz M, Grove EL, De Caterina R, Huber K, Moliterno DJ, Neumann F-J. Contemporary use of glycoprotein IIb/IIIa inhibitors. *Thrombosis and haemostasis*, 2012, 107: 215-224.
70. Ma YQ, Qin J, Plow E. Platelet integrin α IIb β 3: activation mechanisms. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, 2007, 5: 1345-1352.

71. Erkut MA, Berber İ. Edinsel Trombofili Nedenleri, *Turkiye Klinikleri Journal Hematol-Special Topics*, 2016;9: 7-9.
72. Armstrong EM, Bellone JM, Hornsby LB, Treadway S, Phillippe HM. Acquired Thrombophilia. *Journal Pharm Pract.* 2014 Jun; 27:234-42.
73. Stegeman BH, de Bastos M, Rosendaal FR, van Hylckama Vlieg A, Helmerhorst FM, Stijnen T, Dekkers OM. Different combined oral contraceptives and the risk of venous thrombosis: systematic review and network meta-analysis. *Bmj*, 2013, 347.
74. Baglin T. Inherited and acquired risk factors for venous thromboembolism. *Semin Respir Crit Care Med* 2012;33:127-37.
75. Baglin T In *Inherited and acquired risk factors for venous thromboembolism*, Seminars in respiratory and critical care medicine, (editör).^(editörler). Thieme Medical Publishers: 2012; 127-137.
76. Elting LS, Escalante CP, Cooksley C, Avritscher EB, Kurtin D, Hamblin L, Khosla SG, Rivera E. Outcomes and cost of deep venous thrombosis among patients with cancer. *Archives of internal medicine*, 2004, 164: 1653-1661.
77. Sorensen HT, Mellemkjaer L, Olsen JH, Baron JA. Prognosis of cancers associated with venous thromboembolism. *New England Journal of Medicine*, 2000;343:1846-50.
78. James AH, Jamison MG, Brancazio LR, Myers ER. Venous thromboembolism during pregnancy and the postpartum period: incidence, risk factors, and mortality. *American journal of obstetrics and gynecology*, 2006, 194: 1311-1315.
79. Sagripanti A, et al. Hypercoagulability, intraglomerüler coagulation and thromboembolism in nephrotic syndrome. *Nephron*, 1995;70:181- 271.

80. Kaul M, Erkan D, Sammaritano L, Lockshin MD. Assesment of the 2006 revised antiphospholipid syndrome classification criteria. *Annals of the rheumatic diseases*, 2006;66:927.
81. Çetinkaya E, Ayhan K. Mikrobiyolojide kullanılan bazı moleküler teknikler. *Karaelmas Fen Ve Mühendislik Dergisi*, 2012, 2: 53-62.
82. Saiki RK, Gelfand DH, Stoffel S, Scharf SJ, Higuchi R, Horn GT, Mullis KB, Erlich HA. Primer-directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase. *Science*, 1988, 239: 487-491.
83. Walker J, Dounan G. DNA Probes: A new role in diagnostic microbiology. *J. Appl. Microbiol* 1989;67: 229-230.
84. Walker J, Dougan G. DNA probes: a new role in diagnostic microbiology. *Journal of applied bacteriology*, 1989, 67: 229-238.
85. Lodish H, Berk A, Kaiser CA, et al. *Molecular Cell Biology*. 8th Edition. 2016.
86. Walker J, Dougan G. DNA probes: a new role in diagnostic microbiology. *Journal of applied bacteriology*, 1989, 67: 229-238.
87. Çoğulu Ö. *Tıbbi Genetik Laboratuar ve Klinik*. Ankara Nobel Tıp Kitabevleri 2017;131. ISBN: 978-605-9215-44-2.
88. Ahmadian A, Ehn M, Hober S. Pyrosequencing: history, biochemistry and future. *Clinica chimica acta*, 2006, 363: 83-94.
89. De Stefano V, Finazzi G, Mannucci PM. Inherited thrombophilia: Pathogenesis, clinical syndromes and management. *Blood*, 1996; 87: 3531-44.
90. Lindqvist, PG & Dahlback B. Carriership of Factor V Leiden and evolutionary selection advantage. *Current Medicinal Chemistry*, 2008;15: 1541–1544.

91. Rosendaal FR, Koster T, Vandenbroucke JP & Reitsma PH. High risk of thrombosis in patients homozygous for Factor V Leiden (activated protein C resistance). *Blood*, 1995;85:1504–1508.
92. Kim RJ & Becker RC. Association between Factor V Leiden, prothrombin G20210A, and methylenetetrahydrofolate reductase C677T mutations and events of the arterial circulatory system: A meta-analysis of published studies. *American Heart Journal*, 2003;146:948–957.
93. Mueller T, Marschon R, Dieplinger B, et al. Factor V Leiden, prothrombin G20210A, and methylenetetrahydrofolate reductase C677T mutations are not associated with chronic limb ischemia: The Linz Peripheral Arterial Disease (LIPAD) Study. *Journal of Vascular Surgery*, 2005;41:808–815.
94. Ho WK, Hankey GJ, Quinlan DJ, Eikelboom JW. Risk of recurrent venous thromboembolism in patients with common thrombophilia: a systematic review. *Archives of internal medicine*, 2006, 166: 729-736.
95. Vink R, Kraaijenhagen R, Levi M, Büller H. Individualized duration of oral anticoagulant therapy for deep vein thrombosis based on a decision model. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, 2003, 1: 2523-2530.
96. Marchetti M, Pistorio A, Barosi G. Extended anticoagulation for prevention of recurrent venous thromboembolism in carriers of factor V Leiden-cost-effectiveness analysis. *Thrombosis and haemostasis*, 2000;84:752-7.
97. Lindahl TL, Lundahl TH, Nilsson L, Andersson CA. APCresistance is a risk factor for postoperative thromboembolism in elective replacement of the hip or knee-a prospective study. *Thrombosis and haemostasis*, 1999;81:18-21.
98. Zivelin A, Griffin JH, Xu X, et al. A single genetic origin for a common Caucasian risk factor for venous thrombosis. *Blood*, 1997;89:397.

99. Kabukcu S, Keskin N, Keskin A, Atalay E The frequency of factor V Leiden and concomitance of factor V Leiden with prothrombin G20210A mutation and methylene tetrahydrofolate reductase C677T gene mutation in healthy population of Denizli, Aegean region of Turkey. *Clinical and Applied Thrombosis/Hemostasis*, 2007 Apr;13:166-71.
100. Mazoyer E, Ripoll L, Gueguen R, Tiret L, Collet JP, dit Sollier CB, Roussi J, Drouet L; FITENAT Study Group. Prevalence of factor V Leiden and prothrombin G20210A mutation in a large French population selected for nonthrombotic history: geographical and age distribution. *Blood Coagul Fibrinolysis*, 2009 Oct;20:503-10.
101. Fujimura H, Kambayashi J, Monden M, et al. Coagulation factor V Leiden mutation may have a racial background. *Thrombosis and haemostasis*, 1996;74:1381.
102. Herrmann FH, Koesling M, Schröder W, Altman R, Jiménez Bonilla R, Lopaciuk S, Perez-Requejo JL, Singh JR. Prevalence of factor V Leiden mutation in various populations. *Genetic epidemiology*, 1997;14:403-11.
103. Dahlbäck B. Advances in understanding pathogenic mechanisms of thrombophilia disorders. *Blood*, 2008;112:19-27.
104. Akar N, Misirlioglu M, Akar E ve ark. Prothrombin gene 20210 G-A mutation in the Turkish population. *American Journal of Hematology*, 1998;58:249.
105. Akar N, Akar E, Dalgin G, et al. Frequency of factor V 1691 G-A mutation in Turkish population. *Thrombosis and haemostasis*, 1997;78:1527.
106. Ozbek U, Tangün Y. Frequency of Factor V Leiden in Turkey. *Int J Haematol* 1996;64:291.

107. Ozbek U, Tangün Y. Frequency of factor V Leiden (Arg506Gln) in Turkey. *British journal of haematology*, 1997, 97: 504-505.
108. Kurt C, Tanriverdi K, Kocak R. The frequency of factor V Leiden in southern Turkey. *Ann Med Sci*, 1999;8:56.
109. Vurkun M, Vural Ö, Demir M, et al. The prevalence of activated protein C resistance and F V Leiden in healthy population of Edirne, Turkey. *Turk J Haematol*, 2002;19:287.
110. Ozen F, Kocak N, Yıldırım ME, Ozdemir O. Sivas Populasyonunda Faktör V Genin Leiden (G1691a) ve Hr2 (A4070g) Polimorfizmleri. *İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 2009;16:179-183
111. Oztuzcu S, Ergun S, Ulaşlı M, Nacarkahya G, Iğci YZ, Iğci M, Bayraktar R, Tamer A, Çakmak EA, Arslan A. Evaluation of Factor V G1691A, prothrombin G20210A, Factor XIII V34L, MTHFR A1298C, MTHFR C677T and PAI-1 4G/5G genotype frequencies of patients subjected to cardiovascular disease (CVD) panel in south-east region of Turkey. *Molecular biology reports*, 2014 Jun;41:3671-6.
112. Simioni P, Prandoni P, Lensing AW, et al. Risk for subsequent venous thromboembolic complications in carriers of the prothrombin or the factor V gene mutation with a first episode of deep-vein thrombosis. *Blood*, 2000;96:3329-33.
113. Lindmarker P, Schulman S, Sten-Linder M, Wiman B, Egberg N, Johnsson H, Group DTS. The risk of recurrent venous thromboembolism in carriers and non-carriers of the G1691A allele in the coagulation factor V gene and the G20210A allele in the prothrombin gene. *Thrombosis and haemostasis*, 1999, 81: 684-689.
114. De Stefano V, Finazzi G, Mannucci PM. Inherited thrombophilia: pathogenesis, clinical syndromes, and management. *Blood*, 1996;87:3531-44.

115. Ayyildiz O, Kalkanli S, Batun S, Aybak M, Isikdogan A, Tiftik N, Bolaman Z, Soker M, Muftuoglu E. Prothrombin G20210A gene mutation with LightCycler polymerase chain reaction in venous thrombosis and healthy population in the southeast of Turkey. *Heart and vessels*, 2004, 19: 164-166.
116. Dölek B, Eraslan S, Eroğlu S, Kesim BE, Ulutin T, Yalçiner A, Laleli YR, Gözükırmızı N. Molecular analysis of factor V Leiden, factor V Hong Kong, factor II G20210A, methylenetetrahydrofolate reductase C677T, and A1298C mutations related to Turkish thrombosis patients. *Clinical and Applied Thrombosis/Hemostasis*, 2007, 13: 435-438.
117. Briet E, Broekmans AW, Engesser L. Hereditary protein S deficiency. In: Bertina RM (ed) protein C and related proteins. Edinburgh, UK, Churchill Livingstone, 1988: 203.
118. Güleç S, Aras O, Akar E, et al. MTHFR gene polymorphism and risk of premature myocardial infarction. *Clinical Cardiology* 2001;24:281-4.
119. Horrevoets AJ. Plasminogen activator inhibitor 1 (PAI-1): in vitro activities and clinical relevance. *British journal of haematology*, 2004, 125: 12-23.
120. Kyu-nam K, Kwang-min K, Bom-taeck K, Nam-seok J, Doo-yeoun C, Duck-joo L. Relationship of plasminogen activator inhibitor 1 gene 4G/5G polymorphisms to hypertension in Korean women. *Chinese medical journal*, 2012, 125: 1249-1253.
121. Inbal A, Lubetsky A, Krapp T, Caste D, Shaish A, Dickneite G, Modis L, Muszbek L, Inbal A. Impaired wound healing in factor XIII deficient mice. *Thrombosis and haemostasis*, 2005, 94: 432-437.

122. Chen F, Qiao Q, Xu P, Fan B, Chen Z. Effect of factor XIII-A Val34Leu polymorphism on myocardial infarction risk: a meta-analysis. *Clinical and Applied Thrombosis/Hemostasis*, 2014, 20: 783-792.
123. Mahfouz RA, Sabbagh AS, Shammaa DM, Otrock ZK, Zaatari GS, Taher AT. Factor XIII gene V34L mutation in the Lebanese population: Another unique feature in this community? *Molecular biology reports*, 2008, 35: 375-378.
124. Prandini M, Denarier E, Frachet P, Uzan G, Marguerie G. Isolation of the human platelet glycoprotein IIb gene and characterization of the 5' flanking region. *Biochemical and biophysical research communications*, 1988, 156: 595-601.
125. Newman PJ, Derbes RS, Aster RH. The human platelet alloantigens, PLA1 and PLA2, are associated with a leucine33/proline33 amino acid polymorphism in membrane glycoprotein IIIa, and are distinguishable by DNA typing. *The Journal of clinical investigation*, 1989, 83: 1778-1781.
126. Tasdemir S, Erdem HB, Sahin I, Ozel L, Ozdemir G, Erozu R, Tatar A. Correlation with platelet parameters and genetic markers of Thrombophilia Panel (Factor II g. 20210G> A, factor V leiden, MTHFR (C677T, A1298C), PAI-1, β -Fibrinogen, factor XIII A (V34L), Glycoprotein IIIa (L33P)) in ischemic strokes. *Neuromolecular medicine*, 2016, 18: 170-176.
127. Carroll BJ, Piazza G. Hypercoagulable states in arterial and venous thrombosis: When, how, and who to test? *Vascular Medicine*, 2018, 23: 388-399.
128. Coppens M, Reijnders JH, Middeldorp S, Doggen CJ, Rosendaal FR. Testing for inherited thrombophilia does not reduce the recurrence of venous thrombosis. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, 2008, 6: 1474-1477.

EKLER

EK-1. ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler
<p>Adı Soyadı:</p> <p>Doğum tarihi:</p> <p>Doğum Yeri:</p> <p>Medeni Hali:</p> <p>Uyruğu:</p> <p>Adres:</p> <p>Tel:</p> <p>Faks:</p> <p>E-mail:</p>
Eğitim
<p>Lise:</p> <p>Lisans:</p> <p>Yüksek lisans:</p> <p>Doktora:</p>
Yabancı Dil Bilgisi
<p>İngilizce:</p> <p>Almanca:</p> <p>Rusça:</p>
Üye Olunan Mesleki Kuruluşlar
İlgi Alanları ve Hobiler

EK-2. ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU



SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
Graduate School of Health Sciences

ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU¹

Öğrencinin Adı ve Soyadı	Muhammed Ertuğrul Eğin
Öğrencinin Numarası	
Ana Bilim Dalı	Tıbbi Biyoloji
Öğrencinin Kayıtlı Olduğu Program Türü	Doktora

Yukarıda bilgileri verilen tezin intihal tespit yazılımıyla (Turnitin) yapılan tarama sonucunda elde edilen benzerlik oranları aşağıdaki gibidir. Beyan edilen bilgilerin doğru olduğunu, aksi hâlde doğacak hukuki sorumlulukları kabul ve beyan ederiz.

Bölümler	Benzerlik Oranı	Maksimum Benzerlik Oranları
I. Giriş	% 4	% 15
II. Genel Bilgiler	% 27	% 35
III. Materyal ve Metod	% 28	% 35
IV. Bulgular	% 3	% 15
V. Tartışma	% 16	% 20

Not: Yedi kelimeye kadar benzerlikler ile Başlık, Kaynakça, İçindekiler, Teşekkür, Dizin ve Ekler kısımları tarama dışı bırakılabilir. Yukarıdaki azami benzerlik oranları yanında tek bir kaynaktan olan benzerlik oranlarının %5'den büyük olmaması gerekir.

Tez Yazarı (Öğrenci)	Tez Danışmanı
Muhammed Ertuğrul Eğin	Prof. Dr. Abdulgani TATAR

¹ Bu form bilgisayar ortamında doldurulmalı, çıktısı imzalanıp Tez Savunması Jüri Öneri Formu'yla birlikte Ana Bilim Dalı Başkanlığı aracılığıyla ÜBYS üzerinden Enstitüye iletilmelidir.

EK-3. ETİK KURUL ONAY FORMU



ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU



KARAR

ETİK KURUL BİLGİLERİ	ETİK KURULUN ADI	Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu
	AÇIK ADRESİ:	Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı
	TELEFON	+90 442 234 65 11
	FAKS	+90 442 236 69 68
	E-POSTA	at@etikkurul@gmail.com
SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	Prof.Dr.Abdulgani TATAR	
ARAŞTIRMACININ AÇIK ADI	Doğu Anadolu Bölgesi'nde Bazı Trombofilik Gen Polimorfizmlerinin Bölgesel Görülme Sıklığının İncelenmesi	
KARAR BİLGİLERİ	Toplantı Sayısı: 42 Karar No: 44	Tarih: 27.02.2020
	Yukarıda bilgileri verilen başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın/çalışmanın gerekçe, amaç, yaklaşımları ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve çalışmanın bölgesinin Kovid-19 tarafından kaplı olduğu bilimsel ve etik açıdan sakıncalı olmadığına oy birliği ile karar verildi. Klinik Araştırmalar Hakkında Yönetmelik kapsamında yer alan araştırmalar/çalışmalar için Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu'ndan izin alınması gerekmektedir. Araştırmacıya çalışmalarında başarılar dileriz.	