T. C.

SAĞLIK BAKANLIĞI

HAYDARPAŞA NUMUNE EĞİTİM VE ARAŞTIRMA HASTANESİ

5. İÇ HASTALIKLARI KLİNİĞİ

Klinik Şef Vekili: Doç. Dr. M. Funda TÜRKMEN

TROMBOZLU HASTALARDA FAKTÖR V LEİDEN SIKLIĞI

Dr. Eray YILDIZ

(Uzmanlık Tezi)

Tez Danışmanı: Doç. Dr. M. Funda TÜRKMEN

İSTANBUL 2010

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ	iv
KISALTMALAR	v
TABLOLAR	viii
ŞEKİLLER	x
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Tanım ve Tarihçe	3
2.2. Pıhtılaşma Fizyolojisi	5
2.2.1. Primer Hemostaz	7
2.2.2. Sekonder Hemostaz	10
2.3. Trombofili Nedenleri	18
2.3.1. Antitrombin (AT) Sistemi	27
2.3.2. Heparin Kofaktör II (HC II) Eksikliği	29
2.3.3. Doku Faktörü Yolu İnhibitörü (TFPI) Eksikliği	30
2.3.4. Protein C Eksikliği	30
2.3.5. Protein S Eksikliği	35
2.3.6. Trombomodulin Eksikliği	38
2.3.7. Hiperhomosisteinemi ve MTHFR gen mutasyonu	38
2.3.8. PT gen mutasyonu (G20210A polimorfizmi)(hiperprotrombinemi)	41
2.3.9. Aktive Protein C Rezistansı (Faktör V Leiden mutasyonu)	41
2.3.9.a. Diğer Faktör V gen mutasyonları	49
2.3.10. Faktör VIII Aktivitesinde Artma	50

2.3.11. Hiperlipoproteinemi 50

2.3.12. Anormal Fibrinoliz 50

2.3.12.a. Disfibrinojenemi 50

2.3.12.b. Plazminojen Eksikliği ve Displazminojenemi 51

2.3.12.c. Doku Plazminojen Aktivatör (t-PA) Eksikliği 51

2.3.12.d. Plazminojen Aktivatör İnhibitör (PAI-1) Fazlalığı 51

2.4. Kombine Bozukluklar 52

2.5. Kalıtsal Trombotik Hastalıkların Laboratuvar Bulguları İle Ayırt Edilmesi 53

2.6. Kalıtımsal Trombofililerde Tedavi Yaklaşımı 54

3. MATERYAL VE METOD 56

4. BULGULAR 60

5. TARTIŞMA VE SONUÇ 83

7. ÖZET 88

8. KAYNAKLAR 90

ÖNSÖZ

Asistanlık eğitimim süresince büyük destek ve yakınlığını gördüğüm, bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım, hoşgörü ve yardımlarıyla her konuda bizlere yol gösteren, eğitimimde büyük katkısı olan değerli hocam ve tez danışmanım Doç. Dr. M. Funda TÜRKMEN'e,

Asistanlık eğitimimin ilk yıllarından itibaren bilgi ve deneyimlerini esirgemeyen, klinik deneyin ve becerilerimi arttırmada büyük katkıları olan Uzm. Dr. Sabri ŞAHİN'e, Uzm. Dr. Neslihan AYDIN'a, Uzm. Dr. Ali ÖZTÜRK'e, Uzm. Dr. Celal DUMAN'a, Uzm. Dr. Müzeyyen KARASAKAL'a,

Eğitimimde katkısı olan, destek ve yardımlarını esirgemeyen 3. Dahiliye Klinik Şefi ve Dahiliye genel koordinatörü Doç. Dr. Refik DEMİRTUNÇ'a,

Destek ve yardımlarını esirgemeyen ve tezime olan katkılarından dolayı Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi Genetik Hastalıklar Tanı Merkezi sorumlusu Uzm. Dr. Pınar ATA EREN'e,

Rotasyonlarım süresince deneyimlerinden yararlandığım Ankara Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi Göğüs Hastalıkları Klinik Şefi Prof. Dr. Canan HASANOĞLU'na, Kartal Koşuyolu Yüksek İhtisas Eğitim ve Araştırma Hastanesi Kardiyoloji Klinik Şefi Doç. Dr. Muhsin TÜRKMEN'e, Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi İntaniye Klinik Şefi Doç. Dr. Paşa GÖKTAŞ'a, Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi Klinik Biyokimya Şef Vekili Uz. Dr. Sacide ATALAY'a,

Çalışmaktan büyük mutluluk duyduğum, aile gibi oldugumuz, daima yanımda olduklarını bildiğim 5. Dahiliye servisindeki tüm asistan arkadaşlarıma,

Birlikte uyum içinde çalıştığımız, destek ve yardımlarını esirgemeyen 5. Dahiliye servisi sorumlu hemşiresi Gözde Tosun Kurtuluş'a ve birlikte çalıştığımız tüm hemşire arkadaşlarıma,

Daima bize yardımcı olan, fedakârlıkla çalışan 5. Dahiliye kliniğindeki tüm personel ve sekreter arkadaşlarıma,

Yardımlarını esirgemeyen Genetik Hastalıklar Tanı Merkezi sekreteri Seda SARIYILDIZ'a,

Yardımlarını ve sevgilerinin benden esirgemeyen, destekleri ile her zaman yanımda olan aileme,

Farklı şehirlerde olsak da sevgisi ve desteği ile her zaman yanımda hissettiğim eşime,

TEŞEKKÜR EDERİM.

KISALTMALAR

FVL	Faktör V Leiden
PC	Protein C
APC	Aktive Protein C
APC-R	Aktive Protein C rezistansı
APC-SR	Aktive Protein C duyarlılık oranı
EPCR	Endotelyal Protein C reseptörü
PS	Protein S
MTHFR	Metilen tetrahidro folat redüktaz
AT III	Antitrombin III
PT	Protrombin
F	Faktör
TF	Doku faktörü
TFPI	Doku faktörü yolu inhibitörü
gp	Glikoprotein
vWF	Von Willebrand Faktör
ADP	Adenozin difosfat
ATP	Adenozin trifosfat
PgG_2	Prostoglandin G_2
PgI_2	Prostasiklin
TxA_2	Tromboksan A_2
Ca	Kalsiyum
Da	Dalton

kDa	Kilodalton
gr	Gram
mgr	Miligram
pgr	Pikogram
ngr	Nanogram
ml	Mililitre
dl	Desilitre
L	Litre
µmol	Mikromol
KC	Karaciğer
NO	Nitrik Oksit
PL	Fosfolipid
t-PA	Doku plazminojen aktivatörü
t-PAI	Doku plazminojen aktivatör inhibitörü
u-PA	Ürokinaz plazminojen aktivatörü
PAI	Plazminojen aktivatör inhibitörü
IL-1	İnterlökin 1
TNF	Tümör Nekrozis Faktör
HC II	Heparin Kofaktör II
OD	Otozomal Dominant
OR	Otozomal Resesif
PCR	Polimeraz zincir reaksiyonu
VTE	Venöz Tromboembolizm
PTE	Pulmoner Tromboemboli

SVO	Serebrovasküler olay
DVT	Derin Ven Trombozu
AMI	Akut Miyokard İnfarktüsü
DIC	Dissemine intravasküler koagulasyon
Lp a	Lipoprotein a
aPTT	Aktive parsiyel tromboplastin zamanı
PTZ	Protrombin zamanı
INR	İnternational normalized ratio
Hgb	Hemoglobin
Htc	Hematokrit
Plt	Trombosit sayısı
C4b	Kompleman 4b
SMA	Süperior mezenterik arter

TABLOLAR

Tablo 1. Kalıtsal trombofilide saptanan parametreler ve keşif tarihleri

Tablo 2. Bazı önemli trombosit membran glikoproteinleri

Tablo 3. Pıhtılaşma faktörlerinin sinonimleri, molekül ağırlıkları ve normal plazma konsantrasyonları

Tablo 4. Plazma proteaz inhibitörleri

Tablo 5. Kuvvetli ve zayıf trombofilik durumlarda önerilen testler

Tablo 6. Toplumda belli bir sıklığa ulaşabilen kalıtsal trombofili nedenleri

Tablo 7. Nadir rastlanılan kalıtsal trombofili nedenleri

Tablo 8. Edinsel trombofili nedenleri

Tablo 9. Fizyolojik antitrombotik mekanizmalar

Tablo 10. Protein C ve Protein S eksikliği, tipleri, şekilleri ve klinik belirtileri

Tablo 11. Grup I ve Grup II'nin demografik özelliklerinin değerlendirilmesi

Tablo 12. Grup I ve Grup II olgularda bölgelerin dağılımı

Tablo 13. Grup I'e ilişkin bilgilerin dağılımı

Tablo 14. Grup I'de kadın olguların düşük öyküsü dağılımı

Tablo 15. Grup I'de görüntüleme yöntemi ve FVL mutasyonu dağılımı

Tablo 16. Grup I'de FVL mutasyonu ile tromboz değerlendirmesi

Tablo 17. Grup I'de FVL mutasyonu ile tromboz yerleşimi ve yerinin değerlendirilmesi

Tablo 18. Grup I'de FVL mutasyonu ile aile öyküsü değerlendirmesi

Tablo 19. Grup I'de FVL mutasyonu ile kadın olgularda düşük öyküsü değerlendirmesi

Tablo 20. Grup I'de FVL mutasyonuna ilişkin karşılaştırmalar

Tablo 21. Grup I'de FVL mutasyonuna göre yaş değerlendirmesi

Tablo 22. Grup I'de cinsiyete göre yaş değerlendirmesi

Tablo 23. FVL mutasyonu pozitif olan Grup I ve Grup II olguların biyokimyasal parametrelerinin değerlendirilmesi

Tablo 24. Grup I ve Grup II olguların FVL mutasyonu açısından değerlendirilmesi

Tablo 25. FVL mutasyonu pozitif olan Grup I ve Grup II olguların biyokimyasal parametrelerinin değerlendirilmesi

ŞEKİLLER

Şekil 1. Hemostatik denge

Şekil 2. Koagulasyon fazı(klasik görüş)

Şekil 3. Koagulasyon fazı(yeni görüş)

Şekil 4. Koagulasyon sistemi ve dogal inhibitörler

Şekil 5. Antitrombotik mekanizmalar

Şekil 6. Protein C'nin aktivasyonu

Şekil 7. Metilen Tetrahidrofolat Redüktaz(MTHFR) enziminin fonksiyonu

Şekil 8. Grup I ve Grup II'de bölgelerin dağılımı

Şekil 9. Grup I olgularda tromboz dağılımı

Şekil 10. Grup I olgularda tromboz yerleşimi dağılımı

Şekil 11. Grup I olgularda tromboz yeri dağılımı

Şekil 12. Grup I olgularda aile öyküsü dağılımı

Şekil 13. Grup I'de kadın olguların düşük öyküsü dağılımı

Şekil 14. Grup I olguların görüntüleme yöntemi dağılımı

Şekil 15. Grup I olgularda FVL mutasyonu dağılımı

Şekil 16. Erime eğrisinde FVL normal ve heterozigot mutant örneklerin görünümü

Şekil 17. Erime eğrisinde FVL heterozigot mutant örneklerin görünümü

Şekil 18. Erime eğrisinde FVL homozigot mutant örneklerin görünümü

Şekil 19. Grup I ve Grup II olguların PTZ düzeyi dağılımı

Şekil 20. Grup I ve Grup II'de FVL mutasyonu dağılımı

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Trombofili (Thrombo-philia: trombozu sevme), tromboza eğilim yaratan tabloları tanımlamakta kullanılan bir terimdir. Tromboz morbidite ve mortalitenin önemli bir sebebibidir. Patogenezi multifaktöriyeldir, edinsel ve genetik faktörleri içerir. Tromboza yol açtığı bilinen pek çok durum olmasına rağmen, olguların büyük bir kısmında neden bulunamamaktadır. Genetik risk faktörleri arasında Antitrombin III (AT III), Protein C (PC) ve Protein S (PS) eksikliği, Faktör V Leiden (FVL), Protrombin (PT) ve Metilen Tetrahidrofolat Redüktaz (MTHFR) gen mutasyonu en önemlileridir.(1)

FVL genetik risk faktörleri arasında en sık görülenlerden biri olup; sıklığı toplumlar ve ırklar arasında farklılık göstermektedir. Avrupa populasyonunda mutasyon sıklığı %7-10 oranında saptanmıştır. Ülkemiz de Avrupa populasyonuna benzer şekilde mutasyonun en sık görüldüğü yerlerden olup insidans %7,1-%9,1 arasında değişmektedir(1).

Türkiye'de Nejat Akar ve arkadaşlarının 4276 hasta üzerinden yaptıkları bir çalışmada FVL mutasyon taşıyıcılığı %7,9 olarak saptanmıştır(1). Yine yenidoğanlarda yapılan bir çalışmada FVL taşıyıcılık sıklığı %10,9 olarak saptanmıştır(1).

Arteriyel ve venöz sistemde trombüs oluşumunun farklı olması, bu iki sistemde farklı etyolojilerin rol oynadığını düşündürmektedir. Arteriyel sistemde endotel hasarı ve trombositlerin fonksiyonel bozuklukları önemli rol oynarken, venöz sistemde ise daha çok staz ve pıhtılaşma sistemine ait pıhtılaşma sistemini kontrol altında tutan doğal mekanizmaların bozukluklarının rolü olduğu gösterilmiştir.

FVL, PT ve MTHFR gen mutasyonunun venöz tromboembolizmde risk faktörü olduğunu gösteren bir çok çalışma vardır, ancak arteriyel trombozisteki rolleri hakkında yapılan çalışmalar sınırlı sayıdadır ve bu çalışmaların sonuçları çelişkilidir.

Rahimi Z. ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada; FVL'nin venöz sinüs trombozu ile birlikteliği araştırılmış ve FVL mutasyonunun venöz sinüs trombozu riskini 9,8 kat arttırdığını saptanmıştır(2).

Pestana ve arkadaşları Venezuella'da Derin ven trombozu (DVT), Akut myokard infarktüsü (AMI) ve strok tanısı konulan büyük bir hasta popülasyonunda yaptıkları bir araştırmada FVL mutasyonunun DVT için riski 4 kat arttırdığını saptamışlar, ancak AMI ve strokla FVL mutasyonu arasında ilişki bulamamışlar(3).

Arijit Biswas ve arkadaşlarının Asya toplumunda yaptıkları bir çalışmada FVL mutasyonu olan kişilerde DVT sıklığının 13 kat arttığını saptamışlar(4).

Türkiye'de Bahadır Ercan ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada FVL mutasyonu varlığının koroner arter hastalığı riskini arttırmadığı saptanmıştır(5).

FVL mutasyonunun arteriyel tromboz için risk faktörü olmadığını savunan çalışmalardan farklı olarak; Füsun Özmen ve arkadaşları tarafından arteriyel trombozda FVL, MTHFR, PT gen mutasyon sıklığının araştırıldığı bir çalışmada, periferik arteriyel trombozu olan hastalarda FVL mutasyonu sıklığı kontrol grubundan anlamlı olarak yüksek bulunmuştur(6).

Gözlemsel, olgu-kontrollü ve retrospektif olarak tasarlanan bu çalışmamızdaki amacımız;

Trombozu olan hastalarda FVL mutasyonu sıklığını, Türk populasyonunda FVL mutasyonunun coğrafi dağılımında farklılık olup olmadığını, yaş ve cinsiyet ile ilişkisini, arteriyel ve venöz tromboz ile ilişkisini, her bir tromboz hastalığı için FVL mutasyon sıklığını saptamaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Tanım ve Tarihçe

Trombofili (Thrombo-philia: trombozu sevme) tromboza eğilim yaratan tabloları tanımlamakta kullanılan bir terimdir. Kanamaya neden olan bozukluklar yüzyıllardır bilindiği halde, bunun tersi yani tromboza neden olan bozuklukların tanımı oldukça yenidir. Rudolph Virchow' un 1856'da tarif ettiği triad hala geçerliliğini korumaktadır(12). Buna göre trombüs gelişiminde 3 faktör(12) rol oynamaktadır:

1) Damar hasarı
2) Kan akımında yavaşlama (staz)
3) Kanın bileşimindeki değişiklikler

Tromboz gelişimi multifaktöriyeldir. Çok sayıda edinsel ve kalıtsal faktörün değişik mekanizmalarla tromboz oluşumuna neden olduğu bilinmektedir. Arteriyel ve venöz sistemde trombüs oluşumunun farklı olması, bu iki sistemde farklı etyolojilerin rol oynadığını düşündürmektedir. Arteriyel sistemde endotel hasarı ve trombositlerin fonksiyonel bozukluklarının, venöz sistemde ise daha çok staz ve pıhtılaşma sistemine ait bozuklukların rol oynadığı bilinmektedir. Pıhtılaşma sistemindeki bozuklukları içeren kalıtsal trombofilik sendromların büyük bir kısmında sadece venöz tromboz eğiliminin olması dikkat çekicidir.(13)

Trombotik olayların ailesel olabileceği yüzyılın başında dikkati çektiği halde, ancak 1960'ların sonunda kalıtsal trombofililer aydınlatılmaya başlanmıştır. İlk kez 1965'de AT III eksikliğinin tromboza eğilim yarattığı gösterilmiştir(13). Ardından 1981'de PC eksikliği ve 1984'de PS eksiklikliği tanımlanmıştır. Bu üç eksiklik, kalıtsal trombofililerin sadece %15'inden sorumludur(13,88). 1993'de Dahlback ve arkadaşlarının(67) Aktive Protein C direnci(APC-R)'ni ve 1994'de Bertina'nın(72) FVL mutasyonunu tanımlamaları trombofilili ailelerin %50'sinde, trombozlu hastaların ise

%20'sinde etyolojinin aydınlatılmasını sağlamıştır. 1994'de hiperhomosisteineminin(89), 1996'da protrombin geninde bir mutasyonun (protrombin G20210A alleli)(66) kalısal trombofiliye yol açtığı gösterilmiştir. Bunlar dışında her geçen gün kalıtsal trombofiliye neden olduğu iddia edilen bozukluklar tanımlanmaktadır. Günümüzde hala kalıtsal trombofili olduğu düşünülen vakaların %40-60'ında tüm incelemelere rağmen nedeni ortaya koymak mümkün olamamaktadır(13). Kalıtsal trombofili'de günümüze kadar saptanan parametreler ve bunların keşif tarihleri Tablo 1'de izlenmektedir(66).

Tablo 1. Kalıtsal trombofilide saptanan parametreler ve keşif tarihleri(66).

Antitrombin III eksikliği	1965
Protein C (PC) eksikliği	1981
Protein S (PS) eksikliği	1984
Aktive protein C direnci (APCR)	1993
Faktör V Leiden G5061A mutasyonu	1994
MTHFR C667T mutasyonu	1995
Protrombin G20210A mutasyonu	1996

Klinik çalışmalar ve toplum taramaları kalıtsal trombofili nedenlerinin hemen hemen tamamının venöz tromboza eğilim yarattığını göstermektedir. Hiperhomosisteinemi dışında, diğer kalıtsal nedenlerin arteriyel tromboz eğilimi yarattığını gösteren toplum çalışması yoktur. Kalıtsal trombofili nedenlerini genetik olarak taşıyan bireylerde tromboz riski artmakla birlikte, yaşamları boyunca hiçbir trombotik atak geçirmemeleri de mümkündür. Ayrıca bu kişilerde tekrarlayan trombotik ataklar arasında uzun süren asemptomatik dönemler olabilmektedir. Bu durum tek başına kalıtsal nedenlerin yeterli olmadığını, tromboz gelişiminde bazı edinsel faktörlerin de katkısı olduğunu göstermektedir.(12,88,90,91,92,93)

2.2. Pıhtılaşma Fizyolojisi

Pıhtılaşma sisteminin uyarılması, fibrin oluşumu ile sonlanan bir dizi karmaşık olayları içerir. Pıhtılaşma mekanizması damar hasarı ile başlar ve 20'den fazla farklı proteinin başlangıçtaki birkaç adet molekülden yeterli büyüklükte, tamamen gelişmiş bir pıhtı oluşmasını sağlayacak şekilde hızlı ve kontrollü etkileşimlerini içerir(94). Pıhtı oluşumunda rol oynayan mekanizmalar şunlardır(94);

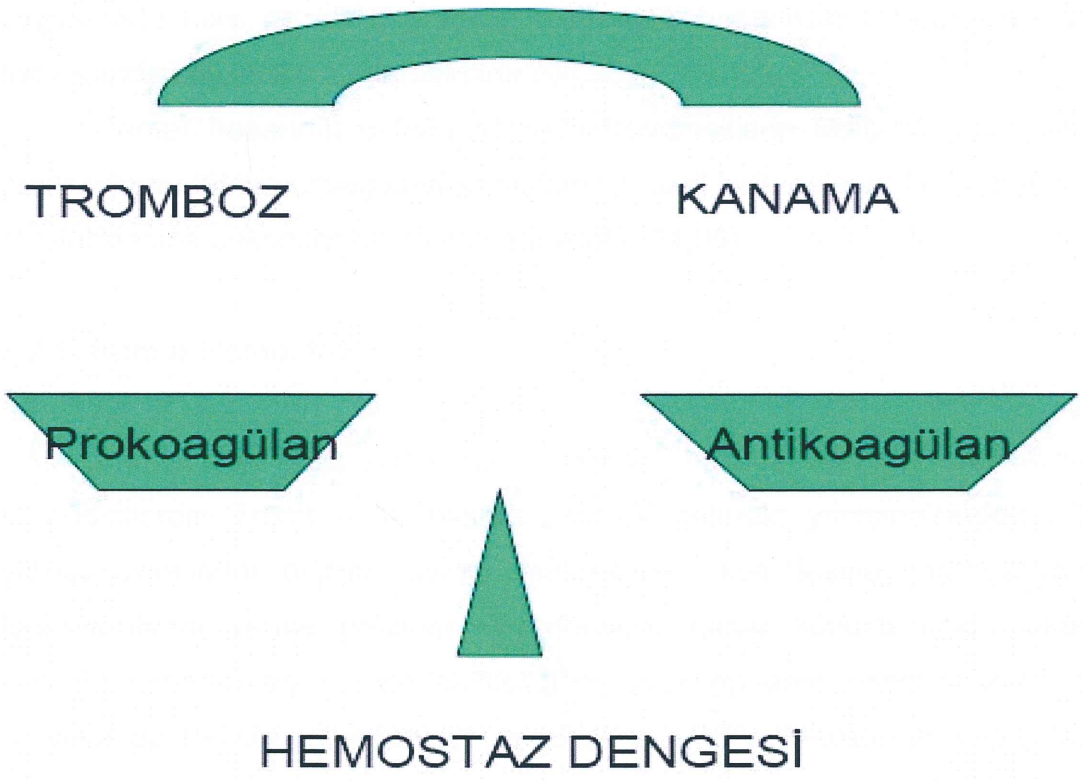
1. Vazokonstrüksiyon
2. Trombosit adhezyonu ve agregasyonu
3. Fibrin oluşumu

Pıhtı oluşumunu başlatan olaylar, damar hasarına yanıt olarak ortaya çıkan vazokonstrüksiyonla başlar. Endoteldeki hasar sonucu ortaya çıkan subendotelyal doku, hem trombositlerin yapışması için zemin hazırlar, hem de FaktörVII(FVII)'ye bağlanarak pıhtılaşmayı başlatacak olan Doku faktörünün (Tissue Factor,TF) kaynağıdır(94,95).

Trombositlerin subendotelyuma yapışmasını (adhezyon) takiben, trombosit kümeleşmesi (agregasyon) başlar. Endotel hasarı oluştuktan sonra, trombositler saniyeler içinde subendotelyal kollojen fibrillerine Ia ve IIa olarak adlandırılan ve glikoprotein(gp) yapısında olan reseptörleri ile yapışırlar. Von Willebrand faktörü (vWF) trombositlerdeki gpIb reseptörleri ile kollajen lifler arasında köprü oluşturur. Agregasyonu aktive eden subendotel dokuda bulunan kollojen tip IV, tipV ve mikrofibrillerdir. Agregasyon sırasında trombositlerden salınan adenozin difosfat (ADP), prostaglandin G_2 (PgG_2) ve tromboksan A_2 (TxA_2) gibi maddeler agregasyonun artarak devamını sağlarlar. Diğer yandan eş zamanlı olarak başlayan pıhtılaşma faktörlerinin aktivasyonu ile oluşan trombin de trombosit agregasyonuna katkıda bulunur.(94,96)

Normal kan akışı; koagülan, antikoagülan ve fibrinolitik sistemler arasındaki hassas dengenin korunması ile sağlanmaktadır. Bu hemostatik

denge (Şekil-1) hem kanamayı hem de uygun olmayan pıhtı oluşumunu önlemektedir(94).



Şekil 1. Hemostatik denge(94)

Fizyolojik hemostaz, gereken vasküler lokalizasyonda gereken miktarda pıhtı oluşumu ile kanamayı kontrol altına alır. Primer hemostaz, damar sistemi ve trombositlerden oluşur ve platelet tıkacını meydana getirir. Sekonder hemostaz, koagülasyon sistemi ve fibrinolitik proteinlerden oluşup stabil fibrin birikimiyle pıhtı tıkacını oluşturur. Primer ve sekonder hemostaz bozukluklarında kanamalar ortaya çıkmaktadır. Her iki hemostaz bozukluğunun da kendine has klinikopatolojik tabloları vardır. Kalıtsal veya

kazanılmış nedenlerle hemostazın bozulması kanamalı klinik tabloların ortaya çıkmasına neden olur.(94)

Trombositler, koagülasyon proteinleri ve fibrinolitik sistem elemanları hemostazın sağlanmasında esas rolü oynarlar. Hemostatik süreç aslında bir bütün olmasına rağmen, klinik pratikte primer ve sekonder hemostaz olarak alt aşamalarda incelenebilir. Böyle bir ayrım hem öğrenim kolaylığı sağlamakta hem de klinik pratikte hemostatik hastalıkların ayırıcı tanı ve tedavisinde kolaylıklar sağlamaktadır.(94,96)

Damar hasarının olduğu bölgede trombositlerin tıkaç oluşturmasına primer, bunu takiben koagülasyon sisteminin aktif hale gelerek fibrin pıhtısını oluşturmasına sekonder hemostaz adı verilir.(94,96)

2.2.1. Primer Hemostaz

Primer hemostaz sisteminin bileşenleri başlıca vasküler endotel ve trombositlerdir. Trombositler hasarlı bölgeye gelerek, yapışma (adezyon), granül içeriklerini ortama salma (sekresyon), kümeleşme (agregasyon) fonksiyonlarını yerine getirirler. Trombositler hasar sonucu açığa çıkan vasküler subendotelyal bölgedeki kollojene direkt gp Ia/IIa reseptörü aracılığı ile veya gp Ib-IX/V reseptörü ile endoteldeki vWF'e bağlanarak yapışırlar. Takiben trombosit granül içeriklerini salgılayarak yeni trombositlerin aktif hale gelmesini sağlarlar. Aktive olmuş trombositler gp IIb-IIIa reseptörleri ve fibrinojen aracılığı ile kümeleşerek primer hemostatik tıkacı oluştururlar. Eğer endotel hasarı küçük ise oluşan bu trombosit tıkacı kanamayı durdurmakta yeterli olabilir, ancak daha büyük yaralanmalarda koagulasyon proteinlerinin de aktive olarak sekonder hemostazı başlatması gerekir. Damar hasarının onarılması koagulasyon sistemini oluşturan birçok reaksiyonun dengeli bir şekilde meydana gelmesi ile olur.(94,96)

Trombositler, kemik iliğinde megakaryosit fragmanlarından oluşan ve nükleus içermeyen periferik kan elemanlarıdır. Periferik kanda normal trombosit sayısı 150,000-450,000/mm3 olarak belirtilir. Normal hemostazın sağlanması için trombositlerin sayısal olarak yeterli olması yanı sıra

fonksiyonları da normal olmalıdır. Trombosit adezyon ve agregasyonu hemostazın başlangıç olaylarındandır. Koagulasyon reaksiyonları, meydana gelen trombosit tıkacının üzerine 'fibrin pıhtı' oluşumu ile sonuçlanır. Trombositler, subendotelyal kollojene bağlanmak için gereken gp reseptörler (gp Ia-IIa, gp VI) ve vWF (gp Ib-IX/V) reseptörleriyle adezyon sürecini gerçekleştirirler. Trombosit fibrinojen reseptör (gp IIb-IIIa) sonraki agregasyon için gereklidir. Bazı önemli trombosit membran glikoproteinleri Tablo 2'de izlenmektedir. Trombosit reseptörlerine bağlanan liganlar, subendotelyal matriks proteinleri, plazma proteinleri ve salınım sonrasında bizzat aktive trombosit içi proteinlerdir.(94,96)

Tablo 2. Bazı önemli trombosit membran glikoproteinleri(97).

GP	Ligand	İşlev
gp Ia/IIa	Kollojen	Trombosit-kollojen yapışması
gp Ib/IX	von Willebrand faktör	Trombosit-subendotelyal mikrofibril yapışması, trombini de bağlar
gpIc/IIa	Fibronektin	?Trombositin yayılması ?Fibroblastın damar duvarına bağlanması
gp IIb/IIIa	Fibrinojen	Trombosit-trombosit agregasyonu
gp IV	Trombospondin	?Trombosit agregasyonu Kollojen fibrillerinide baglar
7-transmembran zinciri gp'leri	Trombin, adrenalin	Trombosit agregasyonu ve sekresyonu

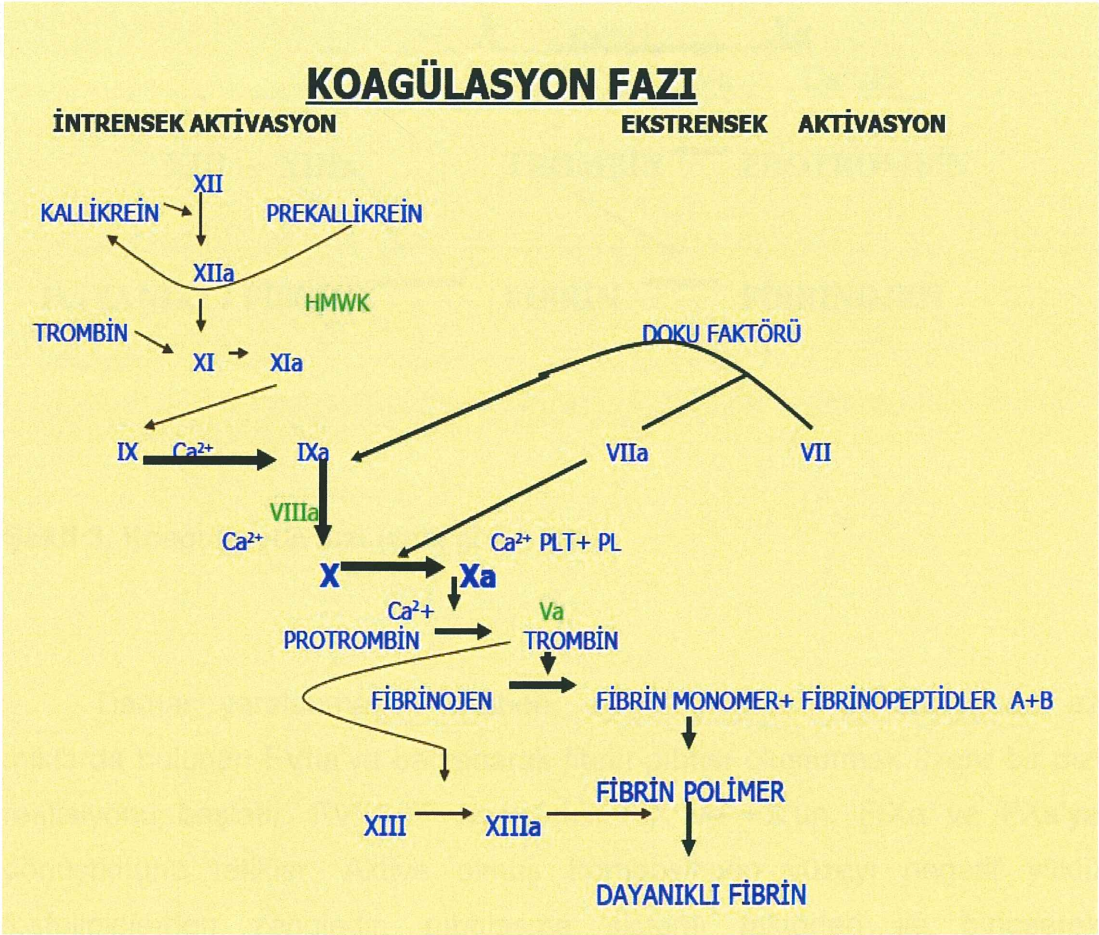
Trombosit granülleri (alfa granüller ve yoğun granüller) trombosit fonksiyonları için gereken pek çok molekülün sekrete edildiği kritik hücresel yapılardır. Alfa granül proteinleri, başlıca vWF, platelet faktör 4, fibrinojen, FV'dir. Yoğun granüller; kalsiyum(Ca), ADP, ATP ve seratonin içerir. Başlıca anyonik fosfolipid yapısında olan trombosit membranı, kanalikülleriyle birlikte, hemostatik reaksiyonlar (özellikle trombin oluşumu) için kritik bir yüzey teşkil eder. Diğer trombosit bileşenleri (lizozomlar) ve platelet metabolizmasıda (başlıca prostaglandin ve tromboksan deriveleri) direkt veya indirekt olarak hemostaz sürecinde rol alır. ADP ve TxA_2 trombosit aktivasyon molekülleridir. Araşidonik asit'ten TxA_2 sentezi bir trombosit enzimi olan siklooksijenaz ile katalize edilir. Aspirin, bu enzimi, trombosit yaşam süresi boyunca inaktive ederek antiagregan 'terapötik ve/veya profilaktik klinik ilaç' özelliğini gösterir. Trombosit prokoagülan aktivitesi, membran, reseptör, granül, protein, ligand, mediatör molekül işbirliğinin en üst düzeyde karmaşık etkileşimi ile gerçekleştirilir.

Trombosit hücre membran glikoproteinleri, tüm karmaşık platelet yapıları arasında kritik rolleri ile ön plana çıkarlar. gp IIb-IIIa (trombosit fibrinojen reseptörü) integrin ailesinden bir adezyon molekülüdür. Hücre temasları ve hareketinde rol alması yanı sıra başta trombosit alfa granüllerinden salınan fibrinojen olmak üzere değişik agonist ligandlarla aktive olduğunda agregasyon sürecinin vazgeçilemez bir öğesi durumundadır. Agonistler, gp IIb-IIIa reseptöründe yapısal bir değişiklik doğurarak sonraki trombositin yapışmasını sağlarlar ve agregasyon gerçekleşir. Gp IIb-IIIa eksikliği, Glanzman trombastenisi hastalığına neden olur. Anti gp IIb-IIIa antikorları, trombositopeni'ye neden olur. Bu antikorlar kalıtsal yada kazanılmış immünolojik hastalıklarda önemli bir sorun olarak karşımıza çıkmaktadır. Gp Ib-IX/V, vWF reseptörüdür ve adezyonda rol alır. Ancak dolaşan vWF normalde gp Ib-IX/V'e bağlanmaz. Gp Ia-IIa ve gp VI, kollojene bağlanan trombosit membran integrin reseptörleridir. Kollojen ile trombosit subendotelyal bölgede temas ettiğinde ise bu bağlanma gerçekleşir. Bu durum travmatik damar hasarı, inflamasyon, ağır enfeksiyon, cerrahi gibi pıhtılaşma sürecini aktifleştiren pek çok durumda ortaya çıkar.

Konjenital gp Ib-IX/V eksikliği Bernard-Soulier hastalığına neden olur. Tüm bu reseptörlerin değişik polimorfizimlerinin trombotik hastalıklar ile birlikte olabileceği belirtilmiştir. Trombosit tıkacının meydana gelmesi ile birlikte sekonder hemostaz bileşenleri olan koagulasyon sistemi ve fibrinolitik sistemler devreye girer.

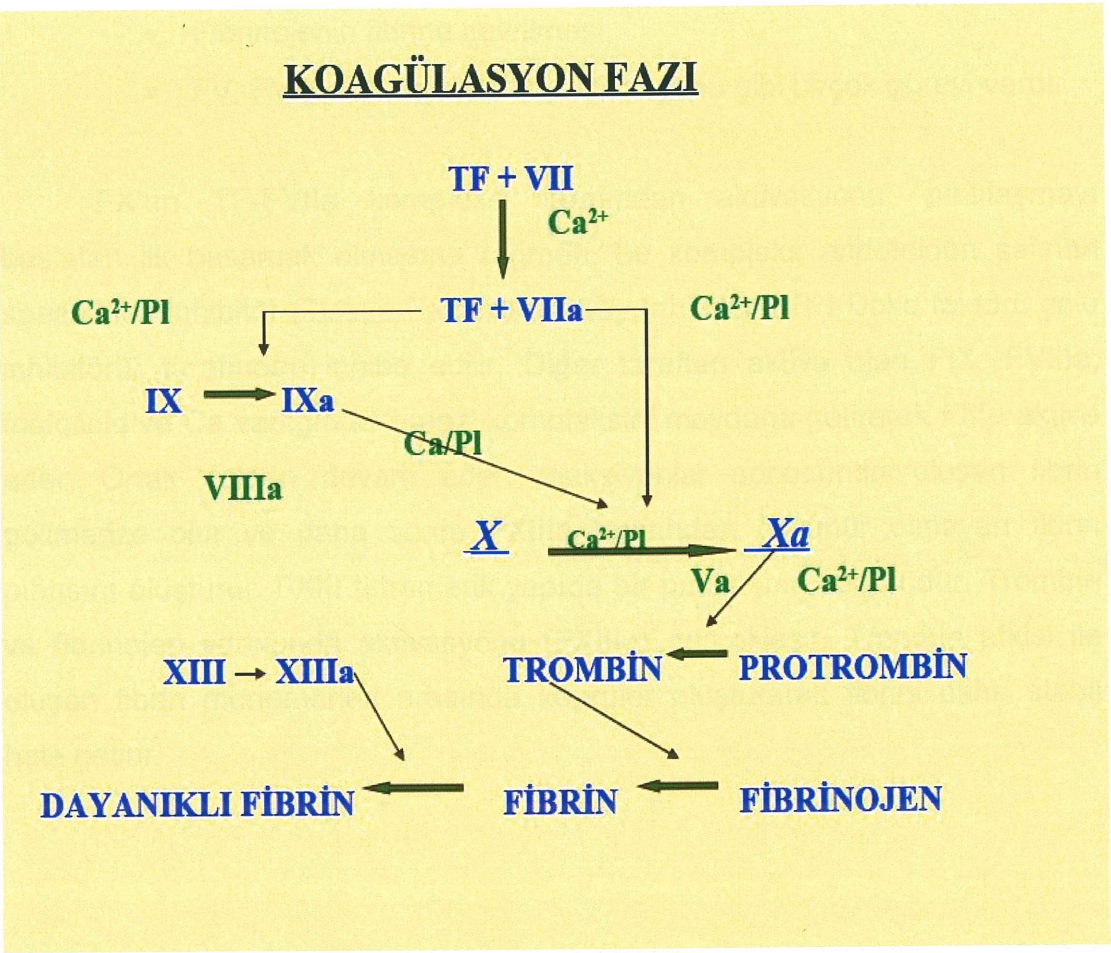
2.2.2. Sekonder Hemostaz

Sekonder hemostaz sisteminin başlıca bileşenleri koagülasyon ve fibrinolitik sistemlerdir. Eski yıllarda koagülasyonun FXII'den başlayarak intrinsik yoldan veya FVII'den başlayarak ekstrinsik yoldan aktive olduğu kabul ediliyordu. Klasik görüşteki koagulasyon fazı Şekil 2'de izlenmektedir.



Şekil 2. Koagulasyon fazı (klasik görüş)(98).

Günümüzde ise pıhtılaşma sisteminin in vivo şartlarda, sadece doku faktörü üzerinden aktive olduğu anlaşılmıştır. Yeni görüşteki koagulasyon fazı Şekil 3'de izlenmektedir.



Şekil 3. Koagulasyon fazı (yeni görüş)(98)

Damar yaralanmasını takiben, açığa çıkan TF'ü, dolaşımda az miktarda bulunan FVIIa'ya bağlanarak fibrin pıhtısı oluşturmak üzere bir dizi reaksiyonu başlatır. FVIIa-TF kompleksi FIX ve FX'un, FIXa ve FXa'ya dönüşümünü tetikler. Aktive olmuş trombositlerin yüzeyi negatif yüklü fosfolipidlerden zengindir, pıhtılaşma sistemi faktörleri ile birleşerek reaksiyonların devamını sağlarlar. FXa, aktive FV(FVa), Ca ve fosfolipid

varlığında protrombin'i trombin'e dönüştürür. Trombin ise fibrinojenin fibrine dönüşmesini sağlar. Trombin pıhtılaşma sisteminin en önemli enzimidir;

- Trombositlerin aktivasyonu,
- Fibrinojenin fibrine çevrilmesi,
- FV, FVIII, FXI ve FXIII'ün aktivasyonu gibi birçok görevi vardır.

FX'un TF-FVIIa kompleksi tarafından aktivasyonu, pıhtılaşmayı başlatan ilk basamak olmasına rağmen, bu kompleks endotelden salınan spesifik bir inhibitör (Tissue Factor Pathway Inhibitor-TFPI-Doku faktörü yolu inhibitörü) tarafından inhibe edilir. Diğer taraftan aktive olan FIX, FVIIIa, fosfolipid ve Ca varlığında 'tenaz' kompleksini meydana getirerek FX'u aktive eder. Ortak yoldan devam eden reaksiyonlar sonucunda oluşan fibrin polimerize olur ve daha sonra FXIIIa tarafından çözünür olmayan fibrin pıhtısını oluşturur. FXIII tetramerik yapıda bir pıhtılaşma faktörüdür. Trombin ve fibrinojen varlığında aktivasyonu (FXIIIa) gerçekleşir. Trombin etkisi ile oluşan fibrin monomerleri arasında köprüler oluşturarak fibrini daha stabil hale getirir.

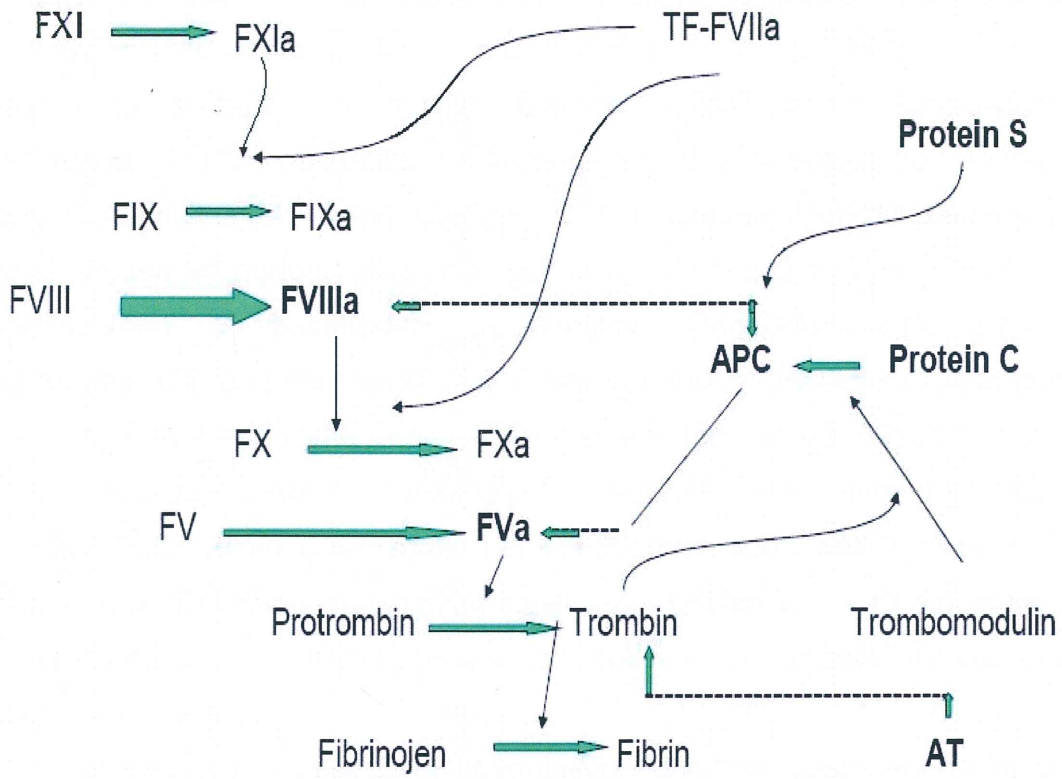
Tablo 3. Pıhtılaşma faktörlerinin sinonimleri, molekül ağırlıkları ve normal plazma konsantrasyonları.

Faktörler	Sinonimleri	Molekül ağırlıkları (Dalton)	Plazma konsantrasyonları (mgr/dl)
I	Fibrinojen	340000	200-400
II	Protrombin	70000	10
III	Doku faktörü	44000	0
IV	Kalsiyum	40	9-10
V	Labil faktör	330000	1
VII	Stabil faktör	48000	0,05
VIII(vWF)	Antihemofilik faktör	330000	0,01
IX	Christmas faktör	55000	0,3
X	Stuart-Prower faktör	59000	1
XI	Plazma tromboplastin	160000	0,5
XII	Hageman faktör	80000	3
XIII	Fibrin stabilize edici faktör	320000	1-2
Prekallikrein	Fletcher faktör	85000	5
Yüksek molekül ağırlıklı kininojen (HMWK)	Fitzgerald, Flaujeak, Williams faktör	120000	6

Koagulasyon sisteminin invivo fizyolojik başlatıcısı olan TF, FVIIa ile birlikte görev yapan 45 kDa'luk bir membran reseptörüdür. Perivasküler subendotelyal fibroblastlar, monositler ve nötrofiller, başlıca TF kaynağıdır. Damar hasarı, endotoksinler, infeksiyonlar, inflamasyon, kanser TF salınımını uyarabilir ve sekonder hemostazı başlatabilirler. TF-FVIIa kompleksi (ekstrinsik tenaz), FX ve FIX'u aktive eder. FX'un sürekli aktivasyonu ayrıca FIXa-FVIIIa kompleks (intrinsik tenaz) aktivitesine de gereksinim duyar. Her iki tenaz kompleks aktivitesi de fosfolipid bağımlıdır ve ayrıca ortamda Ca bulunması gereklidir. FII, FVII, FIX, FX vitamin K bağımlı olarak karaciğer(KC)'den sentezlenirler. Trombin tarafından aktive olan FV (KC ve trombosit alfa granül kökenli) ve FVIII, bu prokoagulan süreçlerde aktif kritik kofaktörlerdir. Eksikliklerinde kanamalı hastalıklar oluşur. vWF, FVIII stabilitesi ve taşınması için yaşamsal öneme haiz bir moleküldür. vWF kalitatif yada kantitatif eksikliklerinde FVIII plazmadan hızlıca temizlenir. Protrombinaz kompleksi (FXa, FVa, membran fosfolipidleri, Ca), protrombin(FII)'i trombin(FIIa)'e çevirir. Trombin, koagülasyon sisteminin başlıca etkin molekülüdür. Trombin, koagulasyon kaskadını retrograd olarak aktive ederek tenaz komplekslerini uyarır. Fibrinojeni fibrine çevirir. Trombin ve fibrinojen varlığında aktivasyonu gerçekleşen FXIII trombin etkisi ile oluşan fibrin monomerleri arasında köprüler oluşturarak stabil fibrin oluşmasını sağlar. Trombin, ayrıca potent bir trombosit agonistidir. Bunun yanısıra monositler ve granülositler için kemoattraktan olduğundan ek TF kaynağı sağlar. Düz kas kontraksiyonu ve proliferasyonu yaparak vasküler endotel üzerinden de primer hemostazı uyarır.

Koagulasyon kaskadı, aktivatör ve inhibitör mekanizmalarla çok sıkı denetlenen bir sistemdir. Bu reaksiyonlar devam ederken, pıhtılaşmayı sadece gerekli bölgeye sınırlamak için doğal koagulasyon inhibitörleri devreye girer. Antitrombin, Protein C ve Protein S değişik koagülasyon faktörlerinin fizyolojik inhibitörleridir. Diğer yandan fibrinolitik sistem global hemostaz sürecinde en az pıhtılaşma sistemi kadar önemli diğer bir sistemdir. Plazmin, fibrinojen ve fibrin pıhtısını eriterek pıhtının sınırlanmasını sağlar.

İnsan vücudunda dolaşım devamlılığını ve kanın akışkanlığını koruyabilmek amacıyla çok sayıda fizyolojik antitrombotik protein görev yapmaktadır. Bunlara "doğal inhibitörler" (Şekil 4) adı verilir. Bu proteinlerin görevlerini en iyi şekilde yapabilmeleri damar endotelinin normal yapıda olmasına bağlıdır. Vücudumuzda tromboza karşı en güçlü savunma, doğal inhibitörlerden önce, endotel hücre tabakası tarafından yapılmaktadır(98). Endotelin en önemli görevlerinden biri de adhesiv olmayan damar iç yüzeyini sağlamaktır. Bu antikoagülan, fibrinolitik ve antitrombotik mekanizmalar ile sağlanır. Endotel hücrelerinden kaynaklanan PgI_2 (prostasiklin) trombosit agregasyonunu inhibe eder. Trombositlerden kaynaklanan endoperoksitler endotel hücreleri tarafından PgI_2'e dönüştürülür. Endoperoksitler endotel hücrelerine ek bir antitrombojenik potansiyel katar. Endotelden kaynaklanan relaksasyon faktörü, Nitrik oksit(NO), trombosit adezyonu ve agregasyonunu inhibe eder. Endotelyal ADP'az damar duvarında lokal nükleotid konsantrasyonunu azaltarak damar duvarıyla temas eden trombositlerin aktivasyonlarını etkileyebilir.



Şekil 4. Koagulasyon sistemi ve doğal inhibitörler.

Endotel hücreleri heparin benzeri glikozaminoglikan'ları sentez eder. Bu AT III'ü bağlar ve trombin, FX gibi pıhtılaşma proteazlarının aktivasyonunu katalize eder. Böylece vasküler yüzeye güçlü antitrombin aktivite sağlar ve trombüs oluşumuna karşı korur. Trombin, koagulasyon sürecinde sayılan görevleri yerine getirirken eş zamanlı olarak endoteldeki reseptörü, trombomodulin'e bağlanarak vücuttaki en güçlü antikoagulan süreçlerden birisi olan PC antikoagulan yolunu başlatır. Trombin-Trombomodulin kompleksinin PC'yi aktive etme sürecinde Endotelyal Protein C Reseptörü(EPCR)'de kolaylaştırıcı rol bir oynar. İnflamasyon ve

endotoksinler de bu süreci uyarabilirler. Aktifleşmiş PC, PS varlığında FVa ve FVIIIa'nın inaktivasyonunda görev alır. Dolaşımdaki PS'in önemli bir kısmı bir akut faz proteini olan C4b-binding protein ile taşınır. Bu nedenle infeksiyon, inflamasyon, kanser gibi akut faz yanıtını uyaran patolojik durumlarda serbest PS düzeyi azalabilir. Diğer doğal koagulasyon inhibitörleri, AntiXa ve AntiIIa özelliklerine sahip antitrombin ve TF-FVIIa komplekslerini inaktive eden TFPI'dır. TFPI plazmada lipoproteinlere bağlı olarak dolaşır ve endotel yüzeyinde glikozaminglikanlara bağlanır. TFPI, bu inaktivasyonu iki basamakta gerçekleştirir. Öncelikle; TFPI, FXa'ya bağlanarak Ca bağımlı olarak FX inhibisyonunu gerçekleştirir. Ardından TFPI-FX kompleksi FVIIa inhibisyonu yapar. Heparin ve düşük molekül ağırlıklı heparin endotel havuzunda bulunan TFPI'nın salınımını potent biçimde uyarır. Böylece heparinler hem antitrombin üzerinden hem de TFPI üzerinden antitrombotik-antikogulan özelliklerini gösterirler. TFPI molekülleri, ayrıca trombositlerin alfa granüllerinde bulunur ve platelet aktivasyonu sırasında salınırlar.

Koagulasyon süreci, doğal koagulasyon inhibitörleri yanı sıra fibrinolitik sistem ile de dengededir. Fibrinolitik sistemin amacı, fibrini parçalamaktır. Bu süreci aktif enzim plazmin ile yapar. Plazminojen ön enziminin aktivasyonu ile plazmin oluşur. Bu süreci katalizleyen t-PA (doku plazminojen aktivatörü) ile onu inaktive eden PAI-1 (plazminojen aktivatör inhibitör 1) arasındaki dinamik denge endojen fibrinolitik yanıtı belirler. t-PA ve PAI-1, vasküler endotelde sentezlenir. PAI-1, trombosit alfa granüllerinde de vardır. Fibrinoliz inhibitörleri, alfa2 antiplazmin (plazmin inhibitörü) ve PAI-1'dir. Streptokinaz, ürokinaz, rekombinan t-PA gibi profibrinolitik ilaçlarla farmakolojik olarak fibrinoliz uyarılabilir ve bu yaklaşım akut arteriyel ve venöz tromboz tedavisinde kullanılabilir.

Pıhtılaşma sistemi, serin proteazların aktivasyon zinciri olduğu için bu sistemin sınırlandırılması ve kontrolü ancak proteazların inhibisyonu ile mümkün olmaktadır. İnhibitör proteinler olarak adlandırılan bu moleküller içinde, önemli görevleri olan ve çok iyi bilinen bazı proteinlerle birlikte,

inhibisyonda rolleri daha az olan ve işlevleri kesinlik kazanmayan proteazlar da vardır. Tüm plazma proteaz inhibitörleri Tablo 4'de özetlenmiştir(98).

Tablo 4. Plazma proteaz inhibitörleri(98).

	Plazma konsantrasyonu		**Moleküler ağırlık**	**Hedef enzimler**
	µgr/dl	**nM**	**Dalton**	
cd- proteaz inhibitör	2500	4500	55000	FXI, elastaz
Antitrombin III	290	470	62000	aFX,trombin
α2 makroglobulin	2500	340	72500	Kallikrein,plazmin
C1 inhibitör	240	230	105000	aFXII, kallikrein
α2 antiplazmin	70	105	67000	Plazmin
Heparin Kofaktör II	40	60	65000	Trombin
Plazminojen aktivatör aktivatörü	10	20	50000	Doku plazminojeni
Protein C inh.(PAI-3)	5	1	53000	Protein C,kallikrein
Doku faktörü yolu inhibitörü	0,1	0,25	40000	aFVII+ TF aFX+ TF

2.3. Trombofili Nedenleri

Doğal pıhtılaşma inhibitörlerinde ve fibrinolitik sistemde rol oynayan proteinlerin eksikliğinde veya işlevsel bozukluğunda, tromboz oluşumunun kolaylaştığı bilinmektedir(93). Tromboz oluşumunu kolaylaştıran klinik durumlar ikiye ayrılır. Birincisi, genç yaşta ortaya çıkan ve herediter geçiş gösteren primer (kalıtsal) trombofili durumları (Tablo 6 ve Tablo 7) (12,13,88,90,91,93), ikincisi ise her yaş grubunda ortaya çıkabilen bazı risk faktörlerinin tromboz oluşumunu kolaylaştırdığı sekonder (edinsel) trombofili (Tablo 8) (12,13,88,90,91,93) durumlarıdır.

Patoloji, antitrombotik plazma proteinleri ve fibrinolitik moleküllerle ilgili ise primer trombofilik durum, trombozun nedeni iyi açıklanamıyorsa, kompleks hemostatik anormallikleri içeriyor ve multifaktöriyel ise sekonder trombofilik durum söz konusudur(88,90).

Kalıtsal trombofili taraması yapılması önerilen hastalar(13,88,90);

- Genç hasta populasyonu (<50 yaş altı)
- Açıklanamayan etyolojili tromboz
- Tekrarlayan ve gezici venöz tromboz öyküsü
- Diğer aile bireylerinde tromboz öyküsü
- Alışılmamış lokalizasyonlarda tromboz (serebral sinüsler, hepatik ven, portal ven, mezenterik ven)
- Açıklanamayan ciddiyette tromboz (masif tromboz)
- Spontan neonatal tromboz (purpura fulminans)
- Oral antikoagulan tedavi sırasında ortaya çıkan deri nekrozu
- Tekrarlayıcı fetal kayıplar

Öneriler olgunun olasılık olarak kuvvetli veya zayıf trombofilik olmasına göre uygulanır(13,88,90). Kuvvetli ve zayıf trombofilik durumlarda önerilen testler Tablo 5'de özetlenmiştir.

Kuvvetli trombofilik durumlar;

- İlk venöztromboembolizm (VTE) atağının,
- Tekrarlayan trombotik atak öyküsünün,
- 50 yaşından önce tromboz saptanmış birinci dereceden akrabanın olması.

Zayıf trombofilik durumlar;

- 50 yaş ve üzerinde ilk idiopatik VTE atağının,
- Tromboz yönünden negatif aile öyküsünün olması.

Tablo 5. Kuvvetli ve zayıf trombofilik durumlarda önerilen testler(13,88,90)

Test önerilen durum	Kuvvetle trombofilik	Zayıf trombofilik
Aktive protein C direnci	Evet	Evet
Protrombin mutasyonu	Evet	Evet
Antifosfolipid antikor	Evet	Evet
Plazma homosisteini	Evet	Evet
Antitrombin III eksikliği	Evet	Hayır
Protein C eksikliği	Evet	Hayır
Protein S eksikliği	Evet	Hayır

Tablo 6. Toplumda belli bir sıklığa ulaşabilen kalıtsal trombofili nedenleri(12,13,88,90,91,93).

Bozukluk	Toplumdaki sıklık (%)	Trombozlu hastalarda sıklık (%)	Tromboz riski (X)
Faktör V Leiden	3-6	20	
Homozigot			80-100
Heterozigot			7-10
Protrombin gen mutasyonu (G20210A polimorfizmi)	1-2	6	2-6
MTHFR (Hiperhomosisteinemi)	5-10	10-25	2,7-3,5
Protein C eksikliği	0,2	3	31
Protein S eksikliği	0,1	1-2	36
AT III eksikliği	0,02	1	40
FVIII yüksekliği	11	25	4,8

Tablo 7. Nadir rastlanılan kalıtsal trombofili nedenleri(12,13,88,90,91,93).

Disfibrinojenemi
Displazminojenemi
Heparin kofaktör II eksikliği
Histidinden zengin glikoprotein eksikliği veya yüksekliği
FVII eksikliği
Doku plazminojen aktivatör (t-PA) eksikliği
Trombomodulin gen mutasyonları(Trombomodulin eksikliği)
Plazminojen aktivatör inhibitör (t-PAI) düzeyi yüksekliği
Hiperlipoproteinemi

Tablo 8. Edinsel trombofili nedenleri(32,90,93,94).

Arteriyel tromboz nedenleri	Venöz tromboz nedenleri
İleri yaş	İleri yaş
Ateroskleroz	Genel cerrahi girişim
Sigara içme	Ortopedik cerrahi girişim
Hipertansiyon	Travma
Diabetes mellitus	İmmobilizasyon
Antifosfolipid sendromu	Antifosfolipid sendrom
LDL kolesterol yüksekliği	Konjestif kalp yetmezliği
Hipertrigliseridemi	Nefrotik sendrom
Sol kalp yetmezliği	Obezite
Atrial fibrilasyon	Malignite
Oral kontraseptif kullanımı	Varisler
Östrojen kullanımı	Gebelik
Lipoprotein a yüksekliği	Postpartum dönem
Polisitemi	Oral kontraseptif kullanımı
Myeloproliferatif hastalıklar	Östrojen kullanımı
Hiperviskozite sendromları	Behçet hastalığı
Lökostazis sendromları	
Yaygın damar içi pıhtılaşma sendromu	
Trombotik trombositopenik purpura	
Hemolitik üremik sendrom	
Vaskülitik sendromlar	

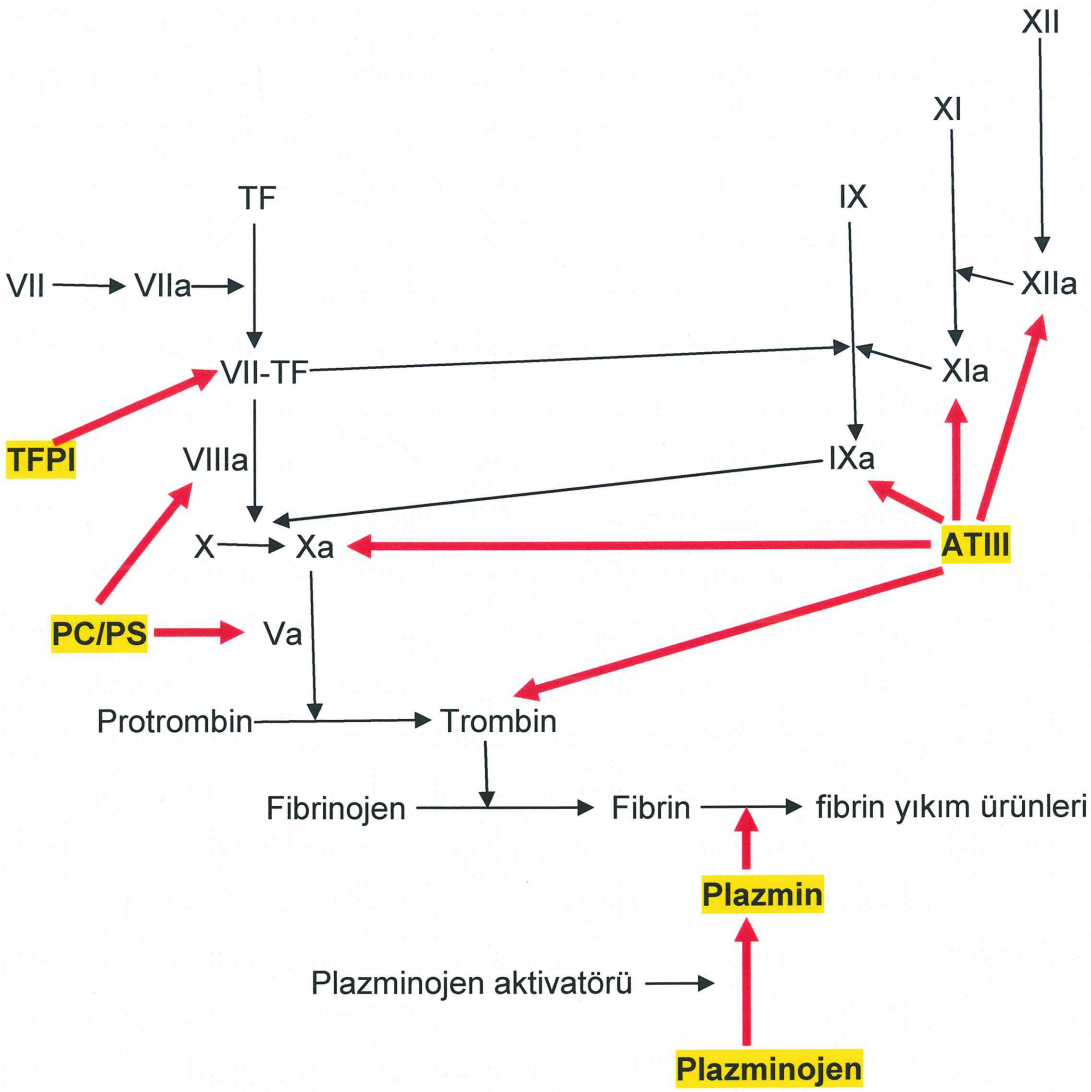
Venöz trombüs, kan akımının yavaşladığı veya türbülan olduğu büyük venlerde ve sinüslerde, çoğunluğu fibrin ve eritrositlerden, daha az oranda lökosit ve trombositlerden oluşan kırmızı trombüsler şeklinde meydana gelmektedir. Arteriyel sistemde oluşan ve beyaz trombüs adı verilen pıhtılar, asıl olarak fibrin lifleri ve trombosit içerir. Trombüsün oluşumu, gelişimi ve dağılması trombojenik uyarılarla, koruyucu mekanizmalar arasındaki dengelere bağlanır. Venöz tromboemboli oluşumunda, staz ve hiperkoagulabilitenin birlikteliğinin daha etkili olduğu, fakat staz ve endotel zedelenmesi birlikteliğinin daha az etkili olduğu deneysel olarak gösterilmiştir(94,100). Venöz trombozda bölgesel olarak damar içi uyaranlarla pıhtılaşma başlamakta, var olan staz, aktifleşmiş pıhtılaşma proteinlerinin o bölgeden temizlenmesini engellemekte ve akımın türbülan olmasını sağlamaktadır. Doku zedelenmesi ile birlikte, IL-1(interlökin 1), TNF(tümör nekrozis faktör) ve endotoksinler, endotelden kaynaklanan PAI- 1 ve endotelyal TF sentezini ve salınımını arttırır. Bunların sonucu tromboz oluşumu kolaylaşmaktadır(100).

İnsan vücudu bir taraftan kanamayı önlemek için hemostaz mekanizmalarını oluştururken, diğer taraftan dolaşımın devamlılığını ve kanın akışkanlığını koruyabilmek amacıyla çok sayıda fizyolojik, antitrombotik mekanizmaları (Tablo 9) harekete geçirir. Tromboz oluşumunun önlenmesinde etkili olan antitrombotik mekanizmaların düzenlenmesi 'doğal inhibitörler' adı verilen proteinler ile sağlanır(11).

Tablo 9. Fizyolojik antitrombotik mekanizmalar

Antitrombosit mediatörler	PgI_2 Endotelden derive olmuş genişletici faktör Adenosin difosfataz (ADPaz)
Antikoagulan mediatörler	Antitrombin III (ATIII) (heparin kofaktör I) Heparin kofaktör II (HC II) Protein C-protein S-Trombomodulin Doku faktörü inhibitörü Heparin sülfat-dermatan sülfat-glikozamin glikanlar
Fibrinolitik mediatörler	Plazminojen Doku plazminojen aktivatörü (t-PA) Ürokinaz tipi plazminojen aktivatörler (u-PA'ler) Hücre yüzey reseptörleri (plazminojen aktivatörler,t-PA,u-PA'ler için)

Koagülasyon sisteminin bütün önemli basamaklarını kontrol altında tutacak şekilde etki göstererek dolaşımda fibrin oluşumunu ve depolanmasını sınırlandırmaya ve durdurmaya çalışan antitrombotik mekanizmalar şekil 5'de özetlenmiştir(101).



Şekil 5. Antitrombotik mekanizmalar(101).

2.3.1. Antitrombin (AT) Sistemi

Kanda dolaşan, etki açısından heparine bağlı ve heparinden bağımsız birçok antitrombin vardır. Bunlar arasında klinik olarak önemli olanların AT III ve HC II olduğu bilinmektedir.

AT III bir plazma glikoproteini olup, hem karaciğer hem de vasküler endotel hücreleri tarafından sentez edilen serin proteaz inhibitörüdür. AT III 58000 Da ağırlığındadır ve erişkinde normal plazma konsantrasyonu ortalama 140gr/ml düzeyindedir. Yeni doğanlarda erişkindekinin yarısı kadardır, giderek miktarı artar ve 6. ayda erişkindeki düzeye ulaşır(7,8,9). Elektroforetik olarak alfa2-globulin gibi hareket eder. AT III pıhtılaşma faktörlerinin aktif formlarını inhibe eder. AT III, primer olarak trombini inhibe eder. Ayrıca diğer aktif serin proteazlardan olan FIXa, FXa, FXIa, FXIIa ve kallikrein'ide inhibe eder. Dolayısıyla fibrin oluşumunun en güçlü inhibitörüdür. Heparin ve proteoglikanlar (özellikle heparan sülfat), AT III'ün endotele bağlanmasını hızlandırarak inhibitör etkisini 1000 kat kadar arttırır(10,11). AT III'ü kodlayan gen 1. kromozom üzerindedir(1q23-1q25) (12,13). Eksikliği Otozomal Dominant(OD) kalıtım gösterir. Homozigot ve heterozigot şekli tanımlanmıştır. Homozigot şekli hayatla bağdaşmaz. Tip I (Kantitatif eksiklik) ve Tip II (Kalitatif bozukluk) olmak üzere 2 tipi vardır.

Tip I eksiklik: Hem immünolojik (antijenik) hem de fonksiyonel (aktivite) ölçümlerde AT III düşük bulunur. AT III molekülü biyolojik olarak az miktarda sentezlenir. Miktar azlığına bağlı olarak fonksiyonel aktivitesi de düşüktür.

Tip II eksiklik: Genin bazı özel bölgelerindeki defekt sonucu varyant AT III molekülü oluşur. Miktarı normal olduğu halde fonksiyonel AT III aktivitesi azalmıştır. 3 tipi vardır(9,14).

Tip II RS(Reaktif Site): AT III'ün reaktif kısmının defekti.

Tip II HBS(Heparin Binding Site): AT III'ün heparin bağlayan kısmının defekti.

Tip II PE: 'Pleitropic Effect'. Multipl fonksiyonel defekt.

AT III eksikliği ilk kez 1965 yılında yılında tanımlanmıştır(15). Yıllık prevalansı 1/2000-5000'dir. Genel populasyonda prevalansı yaklaşık 1/250-500 olarak bildirilmiştir(16,17).

AT III eksikliğinin en önemli klinik bulgusu tekrarlayan venöz tromboembolilerdir. Tromboemboliler, olguların %70'inde 35 yaşından önce ortaya çıkar ve hemen hemen her vende, mezenterik venlerde bile görülebilir. AT III eksikliği saptanan hastaların yaklaşık %65'i en az bir kez venöz trombotik bir atak geçirir. İlk tromboz atağında yaklaşık %42 oranında kolaylaştırıcı bir risk faktörü saptanmazken, %58 oranında ise gebelik, travma, cerrahi müdahale, oral kontraseptif kullanımı gibi risk faktörlerinden biri saptanır. Tekrarlayan tromboz ataklarına AT III eksikliği olanların %60'ında saptanırken, pulmoner emboli yaklaşık %40'ında görülür(14,15,19). AT III eksikliği olan kadınlarda abortuslar da sık görülür(21). Bazı olgularda AT III eksikliği tanısı, yüksek dozda heparin verildiği halde terapötik sınırlara ulaşmamış aPTT(aktive parsiyel tromboplastin zamanı)'nın saptanması ile konur(20).

AT III eksikliği olan hastalarda PTZ(protrombin zamanı) ve aPTT normaldir. AT III, hem fonksiyonel hem de immunolojik olarak ölçülebilir(7,13,22). Fonksiyonel (aktivite) ölçüm, hem tip I AT III eksikliğini hem de tip II AT III eksikliğini gösterdiği için tercih edilir. AT III aktivitesinin normal sınırları oldukça dar olup ortalama normal değerinin %70-130'udur. %70'den küçük değerler AT III eksikliğini gösterir. AT III tayininin heparin almayan ve trombotik atağı yeni olmayan hastalarda yapılması gerekir. Heparin alan ve yeni trombotik atak geçiren hastalarda AT III'ün plazmadaki düzeyi ve aktivitesi düşük olacağından yanlış değerlendirmeye sebep olabilir. Diğer aile bireylerinden alınan kanda yapılacak tetkikler kalıtımsal AT III eksikliğinin tanısında yardımcı olur(9,14,22).

Birçok hastalığın seyri sırasında plazma AT III düzeyi düştüğü için herediter eksikliğin ortaya konması zordur. Heparin ve oral antikoagulan kesildikten sonra plazma AT III düzeyi tekrar ölçülmelidir. Aile bireylerinin plazma AT III düzeyleri ve/veya aktivitesi ayırıcı tanıda yardımcı olur.

AT III eksikliği olan bazı hastalarda heparine karşı bir direnç görülebilir. Bazı hastalarda heparin ile birlikte AT III preparatlarının veya taze donmuş plazmanın verilmesi ile terapötik bir antikoagulasyon sağlanabilir. Tekrarlayan trombozlu hastalarda International Normalized Ratio(INR)'yu 2,0-3,0'de tutacak düzeyde varfarin verilir(7,23). Eğer bir tek trombotik atak geçirmişse varfarin tedavisine en az 3-6 ay devam edilir. Masif venöz tromboz veya pulmoner emboli olan hastalarda trombolitik tedavi uygulanabilir. AT III eksikliği olan hastalarda gebelikleri boyunca ve cerrahi girişimlerden önce profilaktik antikoagulan tedavi uygulanabilir(22,23). Asemptomatik olgularda tedaviye gerek yoktur. AT III eksikliği olan hastalara östrojen verilmemelidir(23).

Akkiz AT III eksikliği, AT III KC'de sentez edildiği için KC parankim hastalıklarında, albumin ile idrarla atıldığı için nefrotik sendrom'da, protein kaybettiren enteropatide, gebelikte ve preeklampsi'de, heparin ve L-Asparaginaz tedavisi sırasında, yaygın damar içi pıhtılaşması(DIC)'nda ve oral kontraseptif kullananlarda görülebilir(15,24,25,26,27).

2.3.2. Heparin Kofaktör II (HC II) Eksikliği

HC II 64.000 Da molekül ağırlığında bir glikoproteindir. HC II heparine bağımlı bir trombin inhibitörüdür ve etkisini endotelde eksprese olan dermatan sülfata bağlanarak gösterir(7,28). Yalnız trombini inhibe eder. AT III'ün aksine FIX, FX, FXI ve FXII ve plazmin üzerine etkisi yoktur. HC II eksikliği OD olarak geçer. Yapılan birçok çalışmada tromboz açısından önemli bir risk faktörü oluşturmadığı bildirilmiştir(7,28,29,30,31).

Akkiz şekli uzun süre dializ uygulamasından sonra, DIC'den sonra, KC parankim yetmezliği ve preeklampside görülür.

2.3.3. Doku Faktörü Yolu İnhibitörü (Tissue Factor Pathway Inhibitor: TFPI) Eksikliği

Son yıllarda, daha önceleri lipoproteinle ilişkili pıhtılaşma inhibitörü (lipoprotein-associated coagulation inhibitör) olarak bilinen, TFPI adında yeni bir inhibitor protein olduğu saptanmıştır(32). Plazma lipoprotein fraksiyonunda yer alan TFPI, endotel yüzeyine bağlanır. Heparin, endotelden TFPI salınımına neden olur. TFPI, asıl görevi olan TF-FVIIa kompleksini inaktive edebilmek için önce FXa'ya bağlanmalıdır. TFPI'nın FXa'ya bağlanması sırasında FXa'da inaktive olur. AT III, PC ve PS eksikliginde tromboz geliştiği kesin olarak bilinmektedir, ancak şimdiye dek TFPI eksikliği ve trombozu olan bir hasta tanımlanmamıştır. Bu nedenle klinik önemi bilinmemektedir.(32,34)

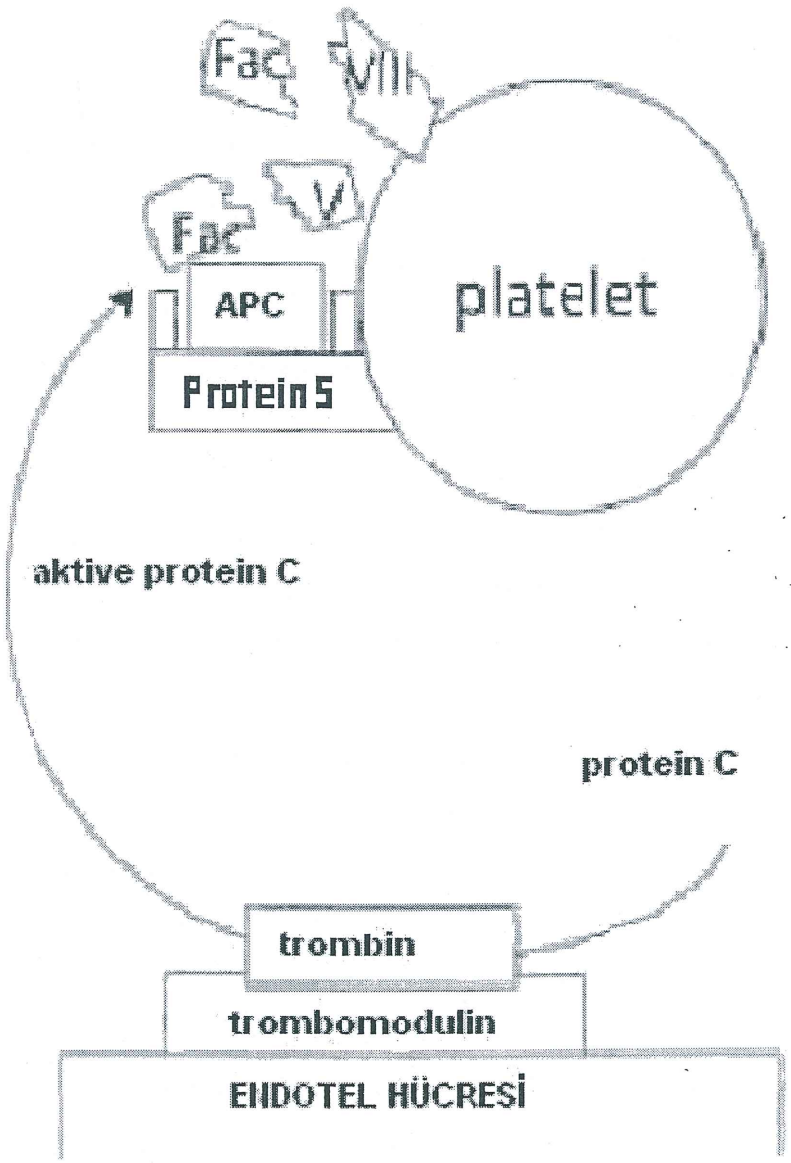
2.3.4. Protein C Eksikliği

PC K vitaminine bağımlı bir glikoprotein olup KC'de sentez edilir. PC'nin yapısı, diğer K vitaminine bağlı proteinlerin yapısı ile benzerlik gösterir. Yapısında hafif zincir üzerinde Ca iyonu bağlayan G1a kısmı, epidermal büyüme faktörü kısmı ve ağır zincir üzerinde serin proteaz kısmı olarak tanımlanan üç bölümü vardır. Olgun PC molekülünün yaklaşık %25'i karbonhidrattır.

İnsan PC molekülünün yapısını kodlayan gen 2. Kromozom üzerindedir(2q13-2q14).

Erişkinde PC'nin normal değeri ortalama 4gr/ml'dir(35,36). Yeni doğanda erişkindeki düzeyinin %20-40'ı kadardır. Plazma düzeyi cinse göre değişmemekte, ancak yaşla azda olsa artış göstermektedir (dekat başına yaklaşık %4) (15,37). PC'nin en önemli aktivatörü trombin olup, invitro ortamda PC-trombin ilişkisi oldukça sınırlı ve yavaş olmaktadır. Bu ilişkinin fizyolojik olarak önemi bulunmamaktadır. Bu tepkimenin hızlandırılması için, son derece önemli bir endotelyal faktöre gereksinim vardır. Trombomodulin adı verilen bu endotelyal faktörün etkisi ile tepkime hızı, yani PC'nin

uyarılması 20,000 kat artmaktadır. Trombin, trombomoduline bağlandığında prokoagulan özelliğini yitirir ve PC'nin potent bir aktivatörü olur. Aktive Protein C (APC) antikoagülan etkisini, pıhtılaşma sisteminde önemli kofaktör görevleri olan, FVa ve FVIIIa'yı proteolitik olarak parçalayarak yapmaktadır(38) (Şekil 6).



Şekil 6. Protein C'nin aktivasyonu(32)(APC: Aktive Protein C, FV: Faktör V, FVIII: Faktör VIII)

APC'nin FV ve FVIII'e spesifik bu etkisi için PS ile kompleks oluşturması ve uygun bir fosfolipid yüzey olması gereklidir. FV ve FVIII birbirine benzer molekül yapısında ve yüksek molekül ağırlıklı glikoproteinlerdir. FV ve FVIII'in uyarılması trombin ile olmakta, APC esas olarak FVa ve FVIIIa'yı parçalamakta, fakat inaktif FV ve FVIII'e etki göstermemektedir. FXa ve protrombin'de FVa ve FVIIIa'ya bağlanmakta, hatta FXa ile APC FVa-FVIIIa'ya bağlanmak için bir yarış içinde olmaktadırlar. FXa, FVa-FVIIIa'yı APC'nin yıkıcı etkisinden korumaktadır(38,39).

APC aynı zamanda fibrinolitik sistem ile de ilişkide olup, fibrinolizisi uyarmaktadır. PAI ile kompleks oluşturup, PAI'nin fibrinolizisi düzenleyici etkisini ortadan kaldırarak plazmini serbest bırakmaktadır(37).

PC, KC'de ve endotelde yapılmaktadır. Yapımının düzenlenmesinde etkili faktörler henüz bilinmemektedir. APC'nin inhibisyonu en az iki sistemle olmaktadır. Birincisi PC inhibitör olarak bilinmekte ve yapısı kallikrein bağlayan proteine oldukça benzemektedir. Heparin, APC ile PC inhibitör arasındaki etkileşme hızını 30 kat arttırmaktadır. PC inhibitör aynı zamanda trombin, FXa, tPA, kallikrein, tripsin ve kimotripsin gibi enzimatik etkileri olan proteinlerin etkilerini de inhibe eder ve bu inhibisyonun hızı heparin ile artar. APC'nin ikinci ana inhibitörü de alfa1-antitripsin olup, esas olarak heparinin yokluğunda etki etmektedir. Bunun dışında ayrıca alfa2-makroglobulin, alfa2-antiplazmin, elastaz ve katepsin G tarafından da inhibe olmaktadır, fakat bu proteinlerin etkilerinin ve işlevlerinin önemi anlaşılamamıştır(37).

PC eksikliğinin de AT III eksikliği gibi tip I (kantitatif eksiklik) ve tip II (kalitatif bozukluk) olmak üzere iki tipi vardır. Hastaların çoğu heterozigottur. PC eksikliğinin heterozigot şekli OD, homozigot şekli OR geçişlidir.

Fonksiyonel testlerde PC aktivitesi %70-140 arasındadır. %70'in altındaki değerler düşük sayılmalıdır. Heterozigot eksiklikte aktivite %50'den, homozigotlarda %5'den azdır. Heterozigot PC eksikliği klinik bulgu vermezken, homozigot şekli ise purpura fulminans denen ağır bir klinik tablo oluşturabilir.

Tip I PC eksikliği: PC geninde çok farklı mutasyonlar sonucu meydana gelir. PC plazma düzeyi normalin %50'sinin altına inmiştir. Dolayısıyla fonksiyonel testlerde de bozukluk vardır.

Tip II PC eksikliği: PC düzeyleri normaldir, ancak fonksiyonu bozuktur. PC'nin fonksiyonunu etkileyen nokta mutasyonları daha sık görülür.(7,9,13,14,23,27)

PC eksikliği olan aile bireylerinin yaklaşık %75'i bir veya daha fazla sayıda trombotik atak geçirirler. İlk atak %70 oranında spontan olup, ancak %30'unda uyarıcı bir faktör gösterilebilmiştir. İlk 20 yaş içinde tromboz rastlanma oranı az iken, 50 yaşına doğru tromboz olasılığı artmaktadır. PC eksikliğinin en sık semptomu tekrarlayan venöz tromboembolilerdir. En sık görülme yeri ise alt ekstremite derin venleri, iliofemoral ven ve mezenterik venlerdir. Bu hastaların yaklaşık % 40'ı pulmoner emboli adayıdır. Venöz sistem dışında, iskemik inme dahil arteriyel sistemde de tromboz görülmektedir(15). Bazı araştırmacılar tarafından iskemik inmede de, heterozigot PC eksikliği olduğu gösterilmiştir(40,41). PC eksikliği olan kadınlarda abortuslar görülür(7,9,13,14,27). Venöz tromboembolisi olan hastaların %2-5'inde PC eksikliği saptanmıştır. Bu prevalans genç ve tekrarlayan vakalarda % 10-15'e kadar çıkmaktadır(15). Genel toplumda sıklığı 1/200-300 olarak bildirilmiştir.

PC eksikliği üç klinik sendrom şeklinde görülür.(7)

1- Heterozigot erişkinlerde venöz tromboembolizm
2- Homozigot yeni doğanda neonatal purpura fulminans
3- Bazı heterozigot erişkinlerde varfarine bağlı deri nekrozu

Neonatal purpura fulminans, heterozigot anne ve babanın homozigot çocuklarında görülür. Bu çocuklarda daha doğum sırasında yaygın damar içi pıhtılaşması gelişir. Bununla birlikte yaygın venöz ve/veya arteriyel trombozlarda görülür. Bu hastalarda kanda PC düzeyi oldukça düşüktür(7,9,13,14,42).

Varfarin'e bağlı deri nekrozları tedavide heparin kullanılmaya başlanmasından önce heterozigot PC eksikliği olan bazı hastalarda yüksek doz varfarin kullanıldıktan sonra görülmüştür(7,9,14,43,44,45). Varfarin kandaki PC düzeyinin K vitaminine bağımlı prokoagulan faktörlerden daha hızlı bir şekilde düşmesine ve yeni trombüslerin meydana gelmesine sebep olur. Kandaki PC düzeyinin hızla düşmesinin sebebi PC'nin yarı ömrünün 5-6 saat gibi çok kısa olmasıdır.

Heterozigot PC eksikliği olgularında PTZ ve aPTT normaldir. Homozigot PC eksikliğinde ise DİC'e bağlı olarak koagulasyon testleri bozulmuştur(7). Kandaki PC düzeyini ölçmek için hem fonksiyonel (aktivite) hem de immunolojik (antijenik) ölçüm metodları vardır. İmmunolojik ölçümler Tip II PC eksikliğini göstermediği için fonksiyonel ölçüm metodları kullanılması önerilmektedir(7,9,14).

PC eksikliği olan olguların çoğu asemptomatiktirler. Bunlar tarama testleri sırasında tanı alırlar. Bunları tedavi etmeye gerek yoktur, ancak cerrahi müdahale gibi yüksek risk taşıyan durumlarda profilaksi yapılmalıdır. Semptomatik PC eksikliğinde heparin ile antikoagulasyon uygulandıktan sonra INR değeri 2,0-3,0 olacak şekilde varfarin ile uzun süreli bir profilaksi uygulanmalıdır. Bir tek trombotik atak geçiren hastalarda varfarin ile tedaviye en az 3-6 ay devam edilmelidir. Birden fazla trombotik atak geçiren veya hayatı tehdit edici bir tek tromboembolik duruma maruz kalan hastalarda yaşam boyu antikoagulasyona devam edilmelidir. Pulmoner emboli veya masif trombozlu hastalarda trombolitik tedavi uygulanabilir.(7,9,14,19)

PC, K vitaminine bağımlı bir protein olduğu için varfarin kullanımı, KC hastalığı ve malnutrisyon gibi K vitamini eksikliğine neden olan bütün hastalıklar PC eksikliğine sebep olur. PC düzeyi, trombin aktivasyonuna ve APC tüketimine neden olan DİC'de ve böbrek hastalıklarında özellikle nefrotik sendromda düşer.(7,46,47,48)

2.3.5. Protein S Eksikliği

İlk kez 1977'de bulunan PS, molekül ağırlığı 70.000 Da olan sentezi K vitaminine bağlı bir plazma glikoproteinidir. KC'de, endotel hücrelerinde, megakaryositlerde ve testis leydig hücrelerinde sentezlenir. PS, normalde plazmada ve trombositlerin alfa granüllerinde bulunur. Aktive olmuş PC'nin FVa ve FVIIIa üzerindeki inaktivasyonunda kofaktördür. Ayrıca FXa'yıda inhibe eder. Homozigot ve heterozigot şekli tanımlanmıştır. Hastaların çoğu heterozigottur. Homozigot şekli OR geçişli, heterozigot şekli ise OD geçişlidir. PS kanda serbest(total PS'in %40'ı) ve kompleman 4b(C4b)'ye bağlı(total PS'in %60'ı) olarak bulunur. Biyolojik olarak aktif (kofaktör aktivitesine sahip) olan serbest PS'dir(7,8,9,14,19,27,49).

PS eksikliğinin Tip I, Tip IIa ve Tip IIb olmak üzere üç tipi vardır. Tip I PS eksikliği kantitatif bir bozukluk olup PS'in fonksiyonel aktivitesi, total antijen ve serbest antijen düzeylerinin hepsi normal değerlerinin %50'sinin altına düşmüştür. Tip IIa'da total PS düzeyi normal, serbest PS düzeyi düşüktür. Tip IIb'de hem total PS hem de serbest PS düzeyleri normaldir, PS'in fonksiyonel aktivitesi düşüktür.(7,9,14)

Akkiz tip IIa PS eksikliği, C4b-bağlayıcı protein düzeyindeki artmaya veya serbest PS inhibitörünün varlığına ve otoantikorların oluşmasına bağlı olarak serbest PS düzeyinin düşmesi sonucunda gelişir.

PS eksikliği olan hastaların çoğunda AT III ve PC eksikliği olan hastalardaki gibi venöz tromboemboliler meydana gelir. Hastaların yaklaşık %25 kadarında inme gibi arteriyel trombozlarda meydana gelebilir. PS eksikliği olan hastaların çoğunda APC-R, östrojen kullanımı veya gebelik gibi risk faktörleride mevcuttur. Neonatal purpura fulminans, fetal kayıplar ve varfarin'e bağlı deri nekrozları da PS eksikliği ile birlikte görülebilir(7,8,9,14,19,27).

Heterozigot PS eksikliği olan hastalarda PTZ ve aPTT normal sınırlardadır. PS, C4b-bağlayıcı proteinin yüksek olması, APC-R'nın birlikteliği, FVIII aktivitesinde artma ve varfarin kullanımı gibi bazı risk faktörlerinin varlığında düşük çıkar (7,9,14,50,51).

C4b-bağlayıcı protein bir akut faz reaktanı olup tromboembolide yükselir ve bunun sonucu olarak serbest PS düzeyi düşer. Sonuç olarak akut trombozda PS düzeyinin ölçülmesi hatalı sonuçlara sebep olabilir. Aynı şekilde APC-R olan hastalarda da fonksiyonel PS ölçümleri yalancı pozitif sonuçlara sebep olabilir. PS, K vitaminine bağımlı bir protein olduğu için varfarin tedavisi gören hastalarda PS düzeyleri düşük bulunabilir(7,14).

Normal kişilerde total PS antijeninin ortalama konsantrasyonu 23pgr/ml'dir. Bunun %40'ı serbest, %60'ı C4b'ye bağlı bulunur. Yenidoğan sağlıklı bir bebekte erişkindeki miktarının %15-30'u kadardır.(7,9,14)

Asemptomatik olgularda tedaviye gerek yoktur. Cerrahi müdahale gibi hastayı yüksek risk altında bırakan durumlarda profilaksi yapılabilir. Semptomatik olgularda PC eksikliğinde olduğu gibi antikoagulan tedavi uygulanır. Tekrarlayan trombozu olan olgularda ve bir tek hayatı tehdit edici tromboembolik olay geçiren hastalarda antikoagulan tedaviye yaşam boyu devam edilmelidir(7).

PS eksikliğinin akkiz formu daha sık görülür. Oral kontraseptif kullananlarda plazma PS düzeyi düşer. Gebelik sırasında kompleman aktivitesinin artmasına bağlı olarak komplemana bağlı olan PS'in miktarının artması, serbest PS miktarının azalması (normalin %20-30'una kadar) sonucu tromboemboliye eğilim görülür. Oral antikoagulan alan hastalarda K vitamini sentezinin blokajına bağlı olarak, DİC'de ve akut tromboembolilerde tüketime, KC hastalıklarında sentezinin yetersiz olması sonucu hem total hem serbest PS miktarı azalır. İnflamatuar hastalıklarda C4b'nin artmasına bağlı olarak serbest PS miktarının düşmesi sonucu PS eksikliği görülür.(7,9,13,14,27,52)

HIV(Human immunodeficiency virus) infeksiyonlarında hem total hem de serbest PS miktarı düşer. Nefrotik sendromda idrarla serbest PS'in atılması ve C4b-bağlayıcı proteinin artması sonucu plazmadaki PS düzeyi düşer.(53)

Çocuklarda varicella ve diğer infeksiyonları takiben PS'e karşı otoantikorların oluşması sonucu PS eksikliği gelişebilir.(54)

Tablo 10. Protein C ve Protein S eksikliği, tipleri, şekilleri ve klinik belirtileri(55).

Tip	Geçiş şekli	Nedenler	Klinik belirtiler
Protein C eksikliği			Venöz tromboembolik olay, varfarine bağlı deri nekrozu
Kalıtsal	Homozigot		Neonatal purpura fulminans, venöz tromboembolik olay
	Heterozigot		
Edinsel		KC hastalıkları, üremi, DİC, şok AC'i, solid tümörler	
Protein S eksikliği			
Kalıtsal	Heterozigot		Venöz veya arteriyel hastalık
	Homozigot		Venöz tromboembolik hastalık
Edinsel		KC hastalıkları, DİC, nefrotik sendrom, gebelik, akut trombotik olay sonrası(ilk yedi gün), SLE	Venöz tromboembolik hastalık

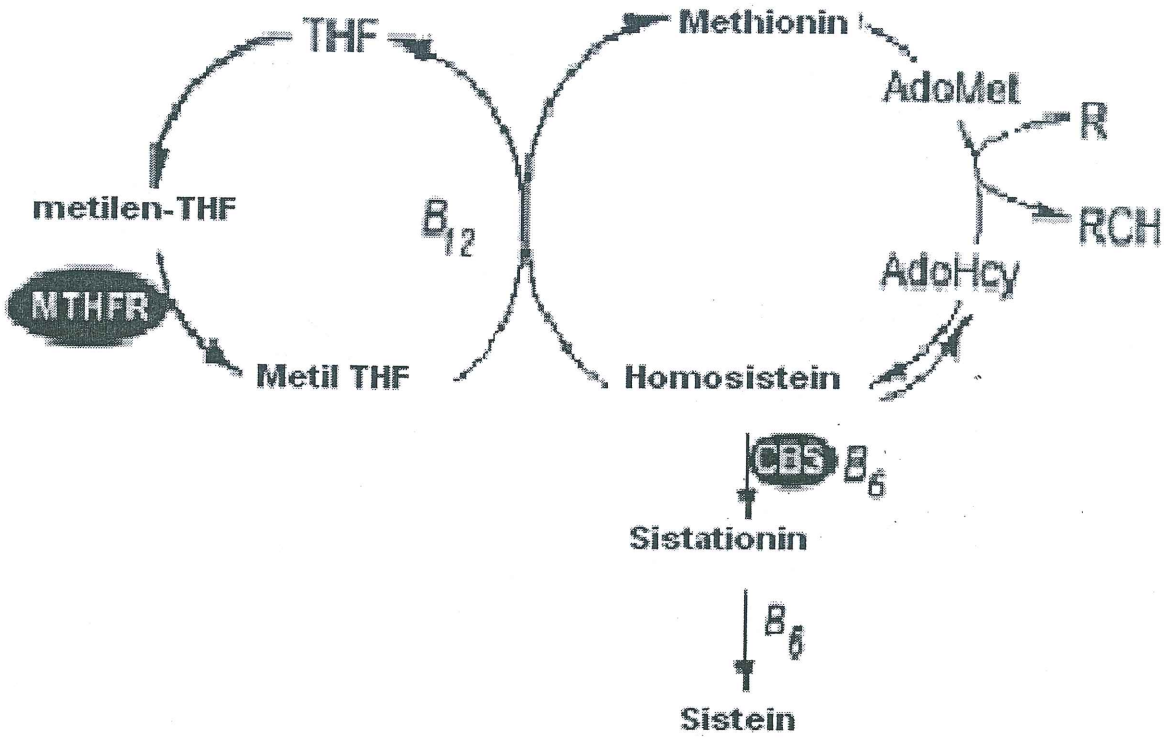
2.3.6. Trombomodulin Eksikliği

Trombomodulin-PC-PS sisteminin üçüncü komponenti olan trombomodulin, beyin kapiller endoteli hariç tüm endotel hücre yüzeyinde yerleşmiş integral bir proteindir. Trombomodulin trombinle, PC'nin aktivasyonu için gerekli olan bir kompleks oluşturur. Bu nedenle teorik olarak trombomodulin eksikliğinin hiperkoagulabiliteye sebep olduğu düşünülmektedir. PC'nin antikoagülan olarak iş görebilmesi için, aktive edilmesi yani APC'ye dönüşmesi gerekir. Trombin PC'yi aktif duruma getirmekte, ama bu aktivasyon fizyolojik bakımdan önem taşımayacak derecede yavaş olmaktadır(39). Molekül ağırlığı 68.000 Da ağırlığında olan trombomodulin, Ca iyonları varlığında trombine bağlanır ve APC meydana getirilme hızını 1000 kat arttırır. Trombomodulin pıhtılaşma sistemini 3 yolla etkilemektedir. Birincisi PC'nin trombin ile aktivasyonunda kofaktör rolü oynamakta ve PC aktivasyon hızını arttırmaktadır. İkincisi trombomodulin trombini bağlayarak pıhtılaşma sisteminde trombinin diğer basamaklardaki etkisini yok eder ve büyük moleküller üzerindeki proteolitik etkisini engeller. Üçüncüsü ise, yapısında galaktozaminoglikan içerdiğinden AT III yolu ile trombinin inaktivasyonunu arttırmaktadır. Ortamdaki Ca iyonu, trombin ile PC'nin uyarılmasını inhibe ederken, ortamda trombomodulin varlığında bu olayı aktive eder(38,39). Trombomodulinin eksikliği veya yapısal bozukluğu ile ilgili bir tromboza yatkınlık durumu bildirilmemiştir. Trombomodulin eksikliğini gösterebilecek rutin laboratuvar tetkiki henüz mevcut değildir ve trombomodulin eksikliğinin sık görülen kalıtımsal bir bozukluk olup olmadığı da henüz bilinmemektedir. Buna rağmen miyokard enfarktüsü'ne sebep olan trombomodulin gen mutasyonları bildirilmiştir(56,57).

2.3.7. Hiperhomosisteinemi ve Metilen Tetrahidrofolat Redüktaz (MTHFR) gen mutasyonu

Homosistein, Vitamin B12(kobalamin) sentezinde metioninin sisteine dönüşmesi sırasında oluşan bir sülfidril grubu aminoasittir. Homosisteinin,

metionin oluşturmak üzere remetilasyonu için MTHFR enzimine ihtiyaç vardır. Homosisteinin transsülfürasyonu ile sistein oluşması için ise sistationin sentaz enzimi gerekir (şekil 7). MTHFR'yi kodlayan genin 677. pozisyonda sitozin ile timinin yer değiştirmesi ile 222. aminoasitte alanin yerine valin geçmesi ile ortaya çıkan noktasal mutasyon sonucu homosisteinemi veya homosistinüri meydana gelir(7,9,14,58).



Şekil 7. Metilen tetrahidrofolat redüktaz(MTHFR) enziminin fonksiyonu

Homosisteinin hangi mekanizma ile tromboz oluşturduğu bilinmemekle beraber damar duvarındaki endotel hücresinde deskuamasyon yaptığı, LDL(düşük dansiteli lipoprotein) oksidasyonuna sebep olduğu, monositlerin endotele adezyonunu sağladığı, FV'in aktivasyonunu ve trombin oluşumunu sağladığı düşünülmektedir. Ayrıca homosistein etkisi ile endotelde meydana gelen deskuamasyon sonucu açığa çıkan subendotelyal kollojen liflere

trombositlerin adezyon ve agregasyonuda tromboz oluşumuna katkıda bulunur.(58,59,60)

Homosisteinemi resesif kalıtım gösterir. MTHFR mutasyonunun heterozigot taşıyıcılarında folik asit düzeyi düşmedikçe plazma homosistein düzeyi normal sınırlarda bulunur. Ağır homosisteinemi sistationin sentaz'ın homozigot eksikliği sonucu gelişir. Çocuklarda tromboz, mental retardasyon, ektopik lens ve iskelet anomalileri görülür.

Homosisteinemi koroner arter hastalığı, periferik damar hastalığı ve serebrovasküler hastalık yönünden risk faktörüdür. Tekrarlayan venöz tromboembolilere de sebep olabilir.(58,59,60)

Kanda ve idrarda homosistein bakılarak tanı konursada en duyarlı test oral metionin yüklenmesinden önce ve sonra serum homosistein düzeyinin tayinidir (oral metiyonin yükleme testinde vücut kilogramı başına 0,1gr metiyonin verilip 4-8 saat arasında tekrar ölçüm yapılır). Normalde açlık plazma homosistein konsantrasyonu 5-15 mikromol/L(µmol/L)'dir. Hiperhomosisteinemiler hafif(15-30µmol/L), orta(30-100µmol/L), ciddi(>100µmol/L) olmak üzere 3 gruba ayrılmaktadır(62). Ayrıca deri biopsi örneklerinde sistationin sentaz aktivitesi tayin edilebilir.

MTHFR gen mutasyonu sağlıklı toplumlarda %2-15 ve ilk VTE atağı geçirenlerde ise %10-25 oranında görülmektedir(7). Hiperhomosisteinemi (18,5µmol/L) VTE için 2,7-3,5 kat relatif risk taşımaktadır(61).

Hem arteriyel hem de venöz tromboza neden olabildiği gösterilmiş tek kalıtsal trombofili nedenidir.(59)

Trombotik olaylar diğer kalıtımsal trombotik hastalıklarda olduğu gibi tedavi edilir. Ayrıca metionin metabolizması için önemli olan B6 vitamini, B12 vitamini ve folik asit gibi vitaminlerin miktarlarını arttırarak homosistein düzeyini düşük tutmaya çalışmak gerekir(7,58).

2.3.8. Protrombin Gen Mutasyonu (G20210A polimorfizmi) (Hiperprotrombinemi)

Protrombin G20210A mutasyonu ikinci sıklıkta hiperkoagulabiliteye sebep olan kalıtımsal predispozan bir durumdur. Protrombin geninin 3'-untranslated bölgesindeki nükleotid 20210'daki Guanin'in yerine Adenin'in geçmesi ile meydana gelen bir polimorfizimdir(7,9,14,27,32,63). Son zamanlarda protrombin geninin 20209 pozisyonunda yeni bir nokta mutasyonu daha tanımlanmıştır. Klinik önemi henüz bilinmemekle beraber bu mutasyon C20209T olarak tanımlanmaktadır(7,14,64).

Protrombin G20210A mutasyonu sonucunda protrombin düzeyi yükselir ve venöz trombozlar meydana gelir. Protrombin G20210A mutasyonu gebelik ve oral kontraseptif kullanımı ile birlikte venöz tromboemboli riski artar(7,14,27). Bu mutasyonu taşıyanlarda serebral venöz tromboz riskide artar(64).

Mutasyon beyaz populasyonda %1-5 oranında bulunmaktadır. Mutasyon sıklığı Kuzey Avrupa'dan Güney'e inildikçe artar. Kuzey Avrupa'da %1,7 olan insidans Güney Avrupa ve Akdenizde %3-5'dir.(107)

Tanıda moleküler genetik incelemeler önerilir. Mutasyon bölgesini tanıyan primerler aracılığı ile PCR(polimeraz zincir reaksiyou) yöntemi kullanılarak gen amplifikasyonu yapılır ve ürün uygun enzimlerle kesilerek mutasyonun varlığı saptanır.(64,65)

Plazma protrombin düzeyinin ölçümü pek çok klinik durumdan etkilenebileceğinden tarama amacı ile kullanılmamaktadır.(12,13,66)

2.3.9. Aktive Protein C Resistansı (Faktör V Leiden Mutasyonu)

Dahlback ve arkadaşları(67) 1993 yılında, birbirleri ile akraba olmayan 3 hastanın plazmasına APC eklenmesiyle beklenen antikoagülan yanıtın az veya hiç olmaması durumunu bildirmişlerdir (Normal plazmaya APC eklendiğinde, FVa ve FVIIIa'nın parçalanmasına bağlı olarak aPTT uzar). Plazmaya APC eklendiginde aPTT uzaması beklenirken, bu grup hastalarda

beklenen uzama daha az veya hiç olmamaktadır. Bu durumu APC rezistansı olarak tanımlamışlardır. Aynı hastanın venöz tromboz öyküsü olan yakınlarında da APC direncinin saptanması bu bozukluğun genetik bir defekte bağlı olabileceğini düşündürmüştür. Dahlback, APC direncinin PC'nin aktivasyonunda rol oynayan bir kofaktörün eksikliğine yada FV veya FVIII genlerindeki bir mutasyona bağlı olabileceğini ileri sürmüştür(68). Daha sonra yapılan çalışmalarda, APC dirençli olguların plazmalarına saf FV eklendiğinde, APC direncinin olmadığı gözlenmiştir(69). Dahlback(70) ve Griftin(71) yaptıkları çalışmalarda, APC direncine neden olan bozukluğun FV molekülünde olduğunu bildirmişlerdir. APC direncinin moleküler patolojisi ilk kez Bertina ve arkadaşları tarafından 1994 yılında aydınlatılmıştır(72). Birinci kromozomun uzun kolunda bulunan FV geninin 1691. pozisyonundaki Adenin ile Guanin'in yer değiştirmesi sonucu ortaya çıkan mutant gende, FV'in ağır zincirinin 506. pozisyonundaki Arginin yerine Glutamin'in geçmesine neden olmaktadır. Bertina ve arkadaşları(72), bu mutant genden sentezlenen FV molekülünü, Faktör V Leiden olarak tanımlamışlardır. Yapılan çalışmalarda bu olgularda, APC'nin FV'i parçaladığı ağır zincir üzerindeki noktada bir mesajlı mutasyonun varlığına dikkat çekmişlerdir(73,74).

Faktör V molekülü, yapısında 2196 aminoasid içeren, 330.000 Da molekül ağırlığında tek bir glikoprotein zincirinden meydana gelmiştir. Trombin tarafından parçalanan FV ağır ve hafif olmak üzere iki parçaya ayrılır. Ağır zincir üzerinde iki kısım(A1,A2), hafif zincir üzerinde ise 3 kısım(A3,C1,C2) vardır. Trombin tarafından parçalanarak aktifleşen FV (FVa), APC tarafından parçalanır. APC, FVa'yı 3 yerinden parçalar. Arginin 306, Arginin 506, ve Arginin 679 noktaları APC için spesifik noktalardır. 506 noktasında Arginin yerine Glutamin gelmesi ile oluşan mutant FVa, APC'nin parçalayıcı etkisine karşı dirençli olacak ve hiperkoagülabilite tablosu oluşacaktır(75). APC dirençli olguların %90-95'inde, FV R506Q mutasyonu gösterilmiştir(7,14,27,72,76,77,78).

APC direnç testi, aPTT uzamasına dayanan bir test olup, hasta plazmasında iki kez aPTT ölçümü yöntemine dayanmaktadır(7,67,75,82). Birincisinde ortamda APC varlığında, ikincisinde ortamda APC olmadan

aPTT ölçümü yapılır. Normal bir insanda ortamda APC varlığında, aPTT uzayacaktır. Buna karşın, APC direncinde ortamda APC varlığındaki aPTT uzaması ortamda APC olmadığı duruma eşit olacaktır(83). Bu iki sonucun birbirine oranlanması ile APC duyarlılık oranı(APC- Sensitivity Ratio) elde edilir. (APC-SR=aPTT+APC/ aPTT-APC). Bu formül ile bulunan değer, normal kişilerin APC ilave edilmiş ve edilmemiş plazmalarının parsiyel tromboplastin zamanlarının oranı ile bulunan referans değerlerle karşılaştırılır. Hastanın aPTT uzaması kontrolün aPTT uzamasından daha az ise yani oran daha düşük ise hastada APC-R vardır.

PCR ile de APC-R tayin edilebilir. Arg506Gln mutasyonu DNA testi ile de saptanabilir.

Vasse ve arkadaşları(84), APC direncini üç farklı yöntemle değerlendirmişlerdir. İki yöntem farklı kitler kullanılarak aPTT uzamasına, üçüncü yöntem ise PTZ uzamasına dayalı yöntemlerle gerçekleştirilmiştir. Çeşitli faktörlerin üç teste etkileri karşılaştırılmıştır. İnflamatuar cevaplarda FVIII düzeyi arttığından aPTT düzeyleri azalabilir. Bu durum APC oranında düşmeye neden olacağından APC direnci ile karışabilir. Desmopressin uygulamasını takiben 30 dakika içinde yine FVIII düzeylerinin artması ile APC cevabında düşme gözlenmiştir. APC direncini, PTZ üzerinden ve kromojenik yolla saptamak da mümkündür. Bu iki yolla elde edilen sonuçlar aPTT üzerinden elde edilen sonuçlar ile paralellik göstermiştir. Serbest PS eksikliğinde de APC'ye karşı direnç gözlenmiştir(84,85).

Gebelikte de APC'nin antikoagülan cevabında anlamlı bir düşme görülmüştür. Cumming ve arkadaşları(86), yaptıkları prospektif bir çalışmada gebeliğin çeşitli dönemlerinde %42-55 arasında APC direnci gelişimi gözlemişlerdir. Yapılan diğer bir çalışmada gebelikle ilişkili venöz tromboembolinin %60'ında ve oral kontraseptifler ile ilişkili venöz tromboemboli'nin %30'unda APC direnci saptanmıştır(87).

APC-SR üzerine cinsiyetin etkisi de gösterilmiş, APC-SR oranı erkeklerde kadınlara göre daha yüksek saptanmıştır(84). Svensson ve arkadaşları(83) ise, APC-SR ile yaş, cins ve vücut ağırlığı arasında bir ilişki olmadığını bildirmişlerdir.

Genel populasyonda heterozigot APC direnci rastlanma sıklığı %1,7-9,5, homozigotluk prevalansı ise 1/1600 olup, APC dirençli birinin APC direnci olan biriyle evlenme olasılığı %5'dir. Ailesel trombozda APC direnci rastlanma sıklığı %20-60 oranında bildirilmiştir(71,83). Bilindiği gibi genetik hastalıklarda etnik grup ve coğrafik yerleşim APC direncini etkilemektedir. Rees ve arkadaşları(102,103), FVL mutasyonunun dünya dağılımını saptamak için, hemoglobinopati taraması yapılmak üzere gönderilen örneklerden FVL mutasyon sıklığı araştırmışlardır.

FVL mutasyonunun sıklığı toplumlar ve ırklar arasında farklılık göstermektedir. FVL mutasyonu prevalansı normal populasyonda %2-14 olarak bildirilmiş, dağılımdaki farklılık etnik ve coğrafik değişikliklere bağlanmıştır. Avrupa ve Kuzey Amerika'da insidans yüksek olmasına rağmen Çin, Japonya, Afrika ve Amerika yerlilerinde mutasyon saptanmamıştır. İlginç olarak Afrika'dan göç eden Amerikan vatandaşlarında da mutasyon saptanmamıştır. Avrupa ülkelerinde prevalans %7-10 civarında olup yapılan çalışmalarda en yüksek insidans Yunanistan'da(%14), Kıbrıs Rum toplumunda(%12) ve isveç'te(%14,7), en düşük insidans ise Hollanda(%2,9) ve İtalya'da(%2,5) saptanmıştır(61). Türk populasyonunda mutasyon sıklığı Avrupa populasyonuna benzer olup %7,1-9,1 olarak bildirilmiştir(1,61,102,103). Japonya, Çin ve Afrika'da mutasyon saptanmamasına rağmen Avrupa, Ortadoğu ve özellikle Anadolu'da yüksek prevalans oranlarının görülmesi mutasyonun Asya ve Avrupa arasında köprü görevi gören Anadolu'dan yayılmış olabileceğini düşündürmektedir. Daha önceden yapılan çalışmalar Türkiye'de FVL mutasyon sıklığını %7,4-10,8 aralığında bildirmişlerdir. Çalışmalar arasındaki oranlardaki tutarsızlıklar coğrafik farklılıklardan kaynaklanıyor olabilir(6). Gül ve arkadaşları(122) İstanbul populasyonunda, Akar ve arkadaşları(123) ise Ankara populasyonunda çalışmışlardır. Orta Doğu populasyonunda ise Avrupa populasyonuna yakın oranlar tespit edilmiştir. Tüm bunlar mutasyonun tek orijinli olduğunu düşündürmektedir(61,102,103).

FVL genotipik olarak homozigot yada heterozigot olabilmekte, ancak her iki formda da fenotipik olarak APC direncine sebep olmaktadır.

Genel populasyonda heterozigot APC direnci rastlanma sıklığı %1,7-9,5, homozigotluk prevalansı ise 1/1600 olup, APC dirençli birinin APC direnci olan biriyle evlenme olasılığı %5'dir. Ailesel trombozda APC direnci rastlanma sıklığı %20-60 oranında bildirilmiştir(71,83). Bilindiği gibi genetik hastalıklarda etnik grup ve coğrafik yerleşim APC direncini etkilemektedir. Rees ve arkadaşları(102,103), FVL mutasyonunun dünya dağılımını saptamak için, hemoglobinopati taraması yapılmak üzere gönderilen örneklerden FVL mutasyon sıklığı araştırmışlardır.

FVL mutasyonunun sıklığı toplumlar ve ırklar arasında farklılık göstermektedir. FVL mutasyonu prevalansı normal populasyonda %2-14 olarak bildirilmiş, dağılımdaki farklılık etnik ve coğrafik değişikliklere bağlanmıştır. Avrupa ve Kuzey Amerika'da insidans yüksek olmasına rağmen Çin, Japonya, Afrika ve Amerika yerlilerinde mutasyon saptanmamıştır. İlginç olarak Afrika'dan göç eden Amerikan vatandaşlarında da mutasyon saptanmamıştır. Avrupa ülkelerinde prevalans %7-10 civarında olup yapılan çalışmalarda en yüksek insidans Yunanistan'da(%14), Kıbrıs Rum toplumunda(%12) ve isveç'te(%14,7), en düşük insidans ise Hollanda(%2,9) ve İtalya'da(%2,5) saptanmıştır(61). Türk populasyonunda mutasyon sıklığı Avrupa populasyonuna benzer olup %7,1-9,1 olarak bildirilmiştir(1,61,102,103). Japonya, Çin ve Afrika'da mutasyon saptanmamasına rağmen Avrupa, Ortadoğu ve özellikle Anadolu'da yüksek prevalans oranlarının görülmesi mutasyonun Asya ve Avrupa arasında köprü görevi gören Anadolu'dan yayılmış olabileceğini düşündürmektedir. Daha önceden yapılan çalışmalar Türkiye'de FVL mutasyon sıklığını %7,4-10,8 aralığında bildirmişlerdir. Çalışmalar arasındaki oranlardaki tutarsızlıklar coğrafik farklılıklardan kaynaklanıyor olabilir(6). Gül ve arkadaşları(122) İstanbul populasyonunda, Akar ve arkadaşları(123) ise Ankara populasyonunda çalışmışlardır. Orta Doğu populasyonunda ise Avrupa populasyonuna yakın oranlar tespit edilmiştir. Tüm bunlar mutasyonun tek orijinli olduğunu düşündürmektedir(61,102,103).

FVL genotipik olarak homozigot yada heterozigot olabilmekte, ancak her iki formda da fenotipik olarak APC direncine sebep olmaktadır.

Rosendaal ve arkadaşları, 471 trombozlu ve 474 sağlıklı kontrol olgusunda yaptıkları çalışmada heterozigot formda tromboz riskinin 7 kat arttığını, homozigot formda ise 80 kat arttığını rapor etmişlerdir(81). Yapılan başka bir çalışmada FVL'e bağlı tromboz riski heterozigot olgularda 5-10 kat, homozigot olgularda ise 50-100 kat artmaktadır(79,80). Başka bir çalışmada ise heterozigot mutasyonun venöz tromboz riskini 4-80 kat, homozigot mutasyonun ise 30-140 kat arttırdığı saptanmıştır(126).

FVL mutasyonu ve venöz tromboz birlikteliği ile ilgili 2 büyük çalışma bulunmaktadır. LETS(The Leiden Thrombophilia Study)(127) çalışmasında 70 yaş altında, kanser tanısı olmayan ve ilk DVT atağı olan Alman hastalar alınmış. LITE(The Longitudinal İnvestigation of Thromboembolism)(128) çalışmasında 65-100 yaş arası, kadın ve erkek, FVL mutasyonu pozitif olarak saptanmış 21680 Amerika Birleşik Devletleri vatandaşı çalışmaya alınmış ve DVT ve PTE açısından takip edilmiş. Heterozigot FVL mutasyonu saptanan hastalarda LETS çalışmasında venöz tromboz için risk 8,1 kat, LITE çalışmasında ise 3,7 kat artmış olarak saptanmış. Homozigot FVL mutasyonu saptanan hastalarda risk sırası ile LETS çalışmasında 80 kat, LITE çalışmasında ise 24 kat artmış olarak saptanmış. FVL'e bağlı tromboz riski heterozigot olgularda 5-10 kat, homozigot olgularda ise 50-100 kat artmaktadır(79,80). Ailesel tromboz öyküsü olanlarda FVL'e bağlı APC direnci yaklaşık %50 oranında bulunmuştur. APC-R sağlıklı kontrollerde %2-3 oranında, venöz trombozlu hastaların %50'sinde görülür.

Venöz trombozla FVL mutasyonu birlikteliğini gösteren çok sayıda çalışma olmasına rağmen, FVL mutasyonu ile serebrovasküler olaylar, koroner arter hastalığı ve periferik arter hastalığı gibi arteriyel tromboz birlikteliği ile ilgili sınırlı sayıda çalışma olup sonuçları birbiri ile uyuşmamaktadır.

Bahadır Ercan ve arkadaşlarının(5) FVL mutasyonu ve koroner arter hastalığı birlikteliği ile ilgili yaptıkları bir çalışmada 181 anjiografik olarak >%50 koroner arter darlığı olan hasta ile 106 kontrolü karşılaştırmışlar. 106 kontrol grubunun 7(%6,6)'sinde ve 181 hastanın 11(%6,1)'inde FVL mutasyonu pozitif olarak tespit edilmiş. Koroner arter hastalığı olan kişilerde

FVL mutasyonu kontrol grubuna göre daha fazla saptanmasına rağmen koroner arter hastalığı ile FVL mutasyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı birliktelik saptanmamış.

Yine arteriyel trombozla FVL mutasyonu birlikteliğinin araştırılmasına yönelik Susanna Moskau ve arkadaşlarının(124) iskemik strok ve genetik koagulasyon faktörlerinin birlikteliğini araştırdıkları çalışmada 167 iskemik stroklu hasta ve 500 kontrol araştırılmış ve sonuçta FVL mutasyonu ve PT gen mutasyonu ile iskemik SVO arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmamıştır.

Arteriyel tromboz ve FVL mutasyonu birlikteliğinin olmadığını kanıtlayan diğer çalışmaların aksine Füsun Özmen ve arkadaşları(6) 30 akut okluzif periferik arter hastası ve 90 sağlıklı kontrol grubunda FVL mutasyon sıklığına bakmışlar. Hasta grubundaki 30 hastanın 6(%20)'sında ve 90 kontrolün 6(%6,6)'sında FVL mutasyonunu pozitif olarak saptamışlar. Hasta grubundaki bu oran kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı oranda yüksek bulunmuştur ($p=0,03$ $p<0,05$). Eski çalışmalarla kıyaslandığında bu çalışmada saptanan arteriyel trombozlu hastalardaki FVL mutasyon sıklığı şimdiye kadar saptanan en yüksek değer olarak bulunmuştur.

Arteriyel trombozlu olgularda FVL mutasyonunun bir risk faktörü olup olmadığı konusunda fikir birliği yoktur. Arteriyel trombozda, FVL mutasyonunun etkisini araştırmak üzere epidemiyolojik ve kontrollü çalışmalara gereksinim olduğu bildirilmiştir. FVL mutasyonunun arteriyel trombozda rolü olduğu, sınırlı sayıda olgu bildirileri ile gösterilmiş, fakat patofizyolojisi hakkında kesin kanıya varılamamıştır. Özellikle homozigot vakalarda ve sigara içen bayanlarda olmak üzere FVL mutasyonu ve arter trombozu arasında ilişki olduğunu bildiren yayınlar vardır(104,105). 1995 yılında bir taramada; heterozigot taşıyıcılık ile miyokard infarktüsü veya strok şeklinde arter trombozu arasında ilişki bulunamamış, FVL mutasyonunun daha çok ailesel venöz tromboz oluşumunda risk faktörü olduğu bildirilmiştir(106).

FVL mutasyonu ile birlikte sigara kullanımı, obezite ve hipertansiyon myokard infarktüsü riskini arttırır. Özellikle sigara içen genç bayanlarda FVL mutasyonu varlığında başka risk faktörü olmasa bile myokard infarktüsü riskinin 30 kat kadar arttığı bildirilmiştir(109).

APC-R OD geçen bir hastalıktır. FVL mutasyonu APC-R olgularının %92'sinden sorumludur. Geri kalan %8'lik grup ise gebelik, oral kontraseptif kullanımı, kanser, antifosfolipid antikor varlığı, plazma glukozil-seramid eksikliği ve diğer Faktör V nokta mutasyonlarına bağlıdır(63). APC-R, her zaman FVL ile sinonim değildir. APC-R, venöz tromboemboli için FVL yokluğunda da bağımsız bir risk faktörüdür(110).

APC-R'nın en sık görülen klinik bulgusu derin ve yüzeyel ven trombozudur. Pulmoner emboli ve diğer yerlerdeki trombozlar AT III, PC, PS eksikliklerinde görülenden daha az sıklıkla görülür(106). Derin ve yüzeyel ven trombozlarını abortuslar takip eder. APC-R serebral venöz trombozlarda da en sık görülen kalıtımsal risk faktörüdür(2). APC-R hepatik ven trombozu'na da sebep olabilir.(7,14,19,27)

APC-R, venöz yetmezliği olan hastalarda bacak ülseri gelişmesine neden olabilir.(7,14)

Kadınlarda APC-R ile birlikte gebelik veya oral kontraseptif kullanmanın ilave bir risk oluşturduğu unutulmamalıdır.

Homozigot bireylerde heterozigot bireylerden daha yüksek bir tromboz riski mevcuttur. Heterozigotların %10'unun, homozigotların hemen hepsinin yaşamları süresince venöz tromboz geçirme riski mevcuttur. APC-R tek başına hafif bir hiperkoagulabiliteye sebep olur. Diğer risk faktörlerinin varlığında tromboz riski artar. Bu risk faktörleri PC eksikliği veya PT gen mutasyonu gibi herediter bir defekt olabildiği gibi antifosfolipid antikor sendromu, hiperhomosisteinemi gibi akkiz akkiz bir durum veya inaktivite veya cerrahi girişim gibi sınırlanmış fizik aktivite olabilir. Malignite, inflamatuar hastalıklar, gebelik ve oral kontraseptif kullanımı da tromboz oluşumunu presipite eder.(7,9,14)

Tromboemboliye eğilim yönünden kombine defekt olan hastalarda tek defekt olan hastalara göre daha erken yaşlarda tromboemboliler görülür.

Tromboz etyolojisi olarak FVL mutasyonunun saptanması bireyin birinci derece akrabalarının taranmasına ve henüz tromboz oluşmadan mutasyonu taşıyıp taşımadıklarının saptanmasına (predictif diagnosis) olanak sağlayacaktır. Mutasyonu homozigot olarak taşıyan bireylerin tüm çocukları en azından heterozigot olacaktır. Homozigot bireyin eşinin heterozigot olması durumunda çocukları %50 olasılıkla homozigot, %50 olasılıkla da heterozigot olacaktır. Dolayısıyla özellikle homozigot bireylerin saptanması çocuklarının riskini belirlemesi açısından önemlidir.

ACMG(American College of Medical Genetics)'nin 2001 yılı konsensusuna göre FVL mutasyon testi endikasyonları;

A- FVL mutasyon testi mutlaka yapılması gerekenler;

- 50 yaşından önce venöz tromboz geçirenler
- Herhangi bir yaşta provake edici bir sebep olmaksızın venöz tromboz geçirenler
- Tekrarlayan venöz tromboz
- Alışılmamış lokalizasyonda venöz tromboz(serebral, hepatik, portal, mezenterik venlerde)
- Gebelik ve lohusalık döneminde venöz tromboz geçirenler
- Oral kontraseptif veya hormon replasman tedavisi sırasında venöz tromboz geçirenler
- Ailesinde venöz tromboz hikayesi olanlar

B- FVL mutasyon testi yapılması önerilenler;

- FVL mutasyon taşıyıcısı bireyin asemptomatik aile bireyleri
- Nedeni açıklanamayan 2. ve 3. trimester gebelik kayıpları
- Nedeni açıklanamayan preeklampsi, plasental abrupsiyon, intrauterin gelişme geriliği

- Tamoksifen veya diğer östrojen reseptör blokerleri ile ilişkili venöz trombozu olan kadınlar
- Sigara içen ve oral kontraseptif kullanan kadınlar
- 50 yaşın altında kalp krizi geçiren ve sigara içen kadınlar
- 50 yaşın üstünde malignite olmaksızın provake venöz trombozu olan kadınlar
- 50 yaşın altında arteriyel trombozu olan kadınlar

C- FVL mutasyon testi önerilmeyenler;

- Genel populasyon taraması
- Gebelik başlangıcında normal kontrol testi olarak
- Sağlıklı asemptomatik yenidoğanlara rutin tarama testi olarak
- Arteriyel trombozu olan kişilere rutin başlangıç testi olarak

APC-R sonucu meydana gelen venöz tromboembolinin tedavisi diğer kalıtımsal trombotik hastalıklardakine benzer şekildedir. Heterozigot ve homozigot hastalarda birden daha fazla sayıda trombotik olay veya hayatı tehdit edici tromboemboli gelişmedikçe yaşam boyu profilaksiye gerek yoktur. Asemptomatik olgularda da tedaviye gerek yoktur. Ancak operasyon gibi yüksek risk taşıyan durumlarda profilaksi yapılmalıdır.(7,14)

2.3.9.a. Diğer Faktör V Gen Mutasyonları

Değişik polimorfizimler ve FV gen mutasyonları da APC rezistansına yol açmaktadır. 'Exon 13nt 4070 A-G(His1299Arg)' mutasyonu R2 haplotipi olarak isimlendirilir. Bu mutasyon Somali, Güney Hindistan, İtalya ve Güney Kıbrıs'ta aynı sıklıkta (75/1000) görülmektedir. Aynı ekzonda Somali kökenlilerde '3935'de A→G (His 1254Arg)' mutasyonu R3 haplotipi olarak belirlenmiştir. Kıbrıs kökenlilerde allel sıklığı 65/1000 olarak bulunmuştur. 'FV Cambridge, Arg306 Thr' exon 7'de yer alan bir mutasyon olup, FV'in kırılma

noktasının birisinde oluşmuştur. Bu mutasyon da APC direnci ile ilişkili bulunmuştur.(111)

2.3.10. Faktör VIII Aktivitesinde Artma

Son yıllarda bazı derin ven trombozlu hastalarda Faktör VIII düzeyinin artmış olduğu saptanmış ve bunun ailesel olabileceği belirtilmiştir. Ancak Faktör VIII'in artışına sebep olan genetik bir mutasyon saptanamamıştır. Faktör VIII düzeyi pek çok gen tarafından kontrol edilmektedir. Faktör VIII edinsel olarak da(akut faz reaktanı olarak) artabilmektedir(7,9,14).

2.3.11. Hiperlipoproteinemi

Lipoprotein a(Lp a) hem aterojenik hem de trombojenik etkiye sahiptir. Trombojenik etkisi PAI-1 sentezini stimüle etmesine, vasküler endotelde intraselüler adezyon molekülü-1'in ekspresyonunu arttırmasına, hem plazmojenin hem de t-PA'nın fibrine bağlanmasını inhibe etmesine, t-PA'nın etkisiyle plazminojenin aktivasyonunu inhibe etmesine ve endotel hücresi ile fibrin üzerinde plazminojeni bağlayan bölgelere bağlanmasına bağlıdır. Bu etkiler sonucunda damar duvarında plazminojen plazmine dönüşemez, fibrinolizis inhibe olur ve tromboz riski artar.(7,112)

Lp a'nın plazma konsantrasyonu 20mgr/dl'den yüksekse koroner arter hastalığı, periferik arter okluziv hastalığı ve inme riski artar(112).

2.3.12. Anormal fibrinoliz

2.3.12.a. Disfibrinojenemi

Fibrinojen molekülünde fibrinojenin fonksiyonunu bozacak yapısal bir anormallik söz konusudur. Bu yapısal bozukluk sonucu çoğunlukla kanamalar meydana geldiği halde bazı hastalarda tromboz gelişebilir. Kusurlu fibrinojenin trombine cevabı azalırsa kanama görülür. Anormal

fibrinojenin plazminojene veya plazminojen aktivatöre bağlanma kapasitesi azalabilir ve plazmin ile parçalanmaya dirençli anormal bir fibrin meydana gelir ve bu da trombozla sonuçlanabilir. Disfibrinojenemiye bağlı kalıtımsal trombotik hastalıklar sık değildir. Bununla bağlantılı venöz tromboemboliler bildirilmiştir(7,8,14). Disfibrinojenemili hastalarda PTZ uzayabilir ama disfibrinojenemiyi en iyi gösteren testler fibrinojenin fibrine dönüşmesini gösteren trombin ve reptilaz zamanlarıdır. Disfibrinojenin eş zamanlı fonksiyonel ve immünolojik ölçümleri yapılır ve immünolojik değerinin fonksiyonel değerinden daha yüksek bulunması disfibrinojeneminin varlığını gösterir(14).

2.3.12.b. Plazminojen Eksikliği ve Displazminojenemi

Kantitatif ve kalitatif plazminojen bozukluklarında tekrarlayan venöz trombozlar bildirilmiştir(7). Kalıtımsal plazminojen eksikliği OD kalıtım gösterir. Displazminojenemi ise OR'tir. Hipoplazminojenemi damar duvarından t-PA salınımının azalmasına bağlı olabileceği gibi t-PAI salınımının artmasına da bağlı olabilir. t-PAI, salınan t-PA ile kompleks oluşturup aktivitesini azaltır, bunun sonucunda plazminojen plazmin haline dönüşemez. Antijenik ve fonksiyonel plazminojen düzeyleri ticari kitlerle ölçülebilir(113).

2.3.12.c. Doku Plazminojen Aktivatör(t-PA) Eksikliği

t-PA'nın defektif sentezi veya damar duvarından salınmasındaki bozukluk tromboza sebep olabilir. t-PA'nın hem antijenik hem de fonksiyonel ölçümleri yapılabilir.(7)

2.3.12.d. Plazminojen Aktivatör İnhibitör(PAI-1) Fazlalığı

PAI-1 fazlalığı venöz ve arteriyel tromboza sebep olabilir. Kandaki PAI-1 düzeyinin sabahları en yüksek olmasının bir sonucu olarak fibrinolitik

aktivite diurnal bir ritm gösterir. Sabahları fibrinoliz azalır, akşamları ise düşük PAI-1 düzeyine bağlı olarak artar. Bu nedenle PAI-1 tayini için kan örneklerinin sabah saat 08^{00}-09^{00} arasında alınması gerekir. Ayrıca fibrinolitik komponent düzeyleri akut faz değişikliklerinden etkilendiği için akut trombotik olaydan sonra 2-3 ay geçmeden tetkik yapılmamalıdır(7).

2.4. Kombine Bozukluklar

İki farklı doğal antikoagulan eksikliğinin heterozigot birlikteliği, her bir defektin prevalansının düşük olmasından dolayı son derece nadirdir. Ayrıca heterozigot birliktelik her bir eksikliğin homozigot formlarından daha hafif klinik bulgular oluşturur. FVL mutasyonu en sık görülen kalıtımsal trombofili olduğu için FVL mutasyonu ile birlikte PC, PS ve AT III gibi bir doğal antikoagulan eksikliği tanımlanmıştır. FVL mutasyonu ile birlikte bulunan PT G20210A mutasyonu da bildirilmiştir.(7,114)

Kombine defekt bulunan kişilerde tromboz gelişimi daha erken yaşlarda görülmektedir.

FVL ve PC Eksikliği: Heterozigot PC eksikliği ile FVL mutasyonu birlikteliği, Koeleman ve arkadaşlarının(115) yapmış oldukları bir çalışmada %19 olarak bildirilmiştir. Her iki kalıtsal defekti birlikte taşıyan ailelerde trombotik olay geçirme oranının %73 olduğu rapor edilmiştir.

FVL ve PS Eksikliği: Heterozigot PS eksikliği ve FVL mutasyonu birlikteliği %30 olarak bildirilmiştir. Her iki kalıtsal defekti birlikte taşıyan bireylerdeki ilk trombotik olayın görülme yaşı ortalama 32,5 olarak saptanmıştır. Kombine defekt saptanan aile bireylerinin %72'sinde trombotik olaya rastlanmıştır(116).

FVL ve AT III eksikliği: FV ve AT III'ü kodlayan genlerin her ikiside 1. kromozom üzerinde bulunmaktadır. Heterozigot AT III eksikliği ve FVL mutasyonunun birlikteliği yapılan çalışmalarda %14 olarak bildirilmiştir. Her iki bozukluğu kombine olarak bulunduran kişilerde tromboz gelişim riski, bu genetik patolojilerin birini taşıyan kişilere oranla daha fazla olduğu ileri sürülmüştür(58,59,111).

FVL mutasyonu akkiz trombotik durumlarla birlikte de olabilir(77).

APC-R, PC, PS ve AT III eksikliği, PT gen mutasyonu gibi kalıtımsal defekti olan hastaların çoğunda tromboz gelişimi santral venöz kateter uygulaması, immobilite, cerrahi girişimler, travmalar, kanser, sepsis, gebelik, oral kontraseptif kullanımı gibi nongenetik risk faktörlerinin varlığında presipite olur(9,23,25,27,46,47,52).

Kronik konjestif kalp yetmezliği, metastatik kanserli ve büyük cerrahi operasyon geçiren hastalarda tromboz riski artar. Hasar görmüş damar duvarında, iskemik dokuda ve metastatik tümörde doku faktörünün aktivasyonu venöz staz ve endotel hasarı ile birlikte genellikle venöz trombozların nadiren de arteriyel trombozların oluşmasına sebep olur. Paroksismal nokturnal hemoglobinüri, polisitemia vera ve esansiyel trombositemi gibi bazı kan hastalıklarında kanın viskozitesinin artması ve kan hücrelerindeki değişiklikler sonucu venöz ve arteriyel trombozlar gelişir. Behçet hastalığı, Kawasaki hastalığı, Homosisteinemi gibi endotel hücresi hasarı yapan hastalıklar ve oral kontraseptifler (AT III düzeyini düşürür), L-Asparaginaz (bazı koagulasyon faktörlerinin yapımını inhibe eder) gibi ilaçları kullanan hastalarda tromboz riski artar. Homosisteinemide hem venöz hem de arteriyel trombozlar görülür.(7,8,9,14,109)

2.5. Kalıtsal Trombotik Hastalıkların Laboratuvar Bulguları İle Ayırt Edilmesi

Tekrarlayan trombozları olan veya tek bir trombotik atak geçirmiş olsa dahi ailesinde tromboz öyküsü olan 45 yaşından küçük hastalarda kalıtımsal trombotik hastalıklar düşünülmelidir. Homosisteinemi ve disfibrinojenemi hariç kalıtımsal trombotik hastalıkların hepsi, özellikle en sık görülen dördü (APC-R, PC eksikliği, PS eksikliği, AT III eksikliği) OD geçiş gösterdiği için aile bireylerinde bu hastalıkların bulunup bulunmadığı araştırılmalıdır. Ailede tromboz öyküsü olmayan hastalar vasküler hastalık, malignite, myeloproliferatif hastalıklar ve antifosfolipid antikorların varlığı açısından değerlendirilmelidir.(117,118,119)

Tromboz fonksiyonel koagulasyon ölçümlerini etkileyecek bir akut faz yanıtı olduğu için tanısal amaçlı testler akut olay geçtikten ve hastanın ilacı kesildikten sonra yapılmalıdır. Fonksiyonel ölçümler hem Tip I hem de Tip II defektleri gösterdiği için immünolojik ölçümlere tercih edilmelidir. APC-R'ında, akut faz cevabından ve antikoagulan tedaviden etkilenmeyen DNA testi ile tanı koymak mümkündür(118). Eğer hastanın antikoagulan tedavisini kesmek (en az 3-4 hafta) mümkün değilse testler tedavi almayan aile bireylerinde yapılır veya standardize olmuş bir referans laboratuvarda hastanın PC ve PS tayinleri yapılabilir(118,119).

Arteriyel trombozlu hastalarda Homosisteinemi, Lp a ve PS eksikliği araştırılmalıdır(117).

Tekrarlayan spontan trombozu olan, mezenterik ven gibi alışılagelmiş yerler dışında trombozu olan ve erken yaşta tromboz görülen hastalar kalıtımsal trombotik hastalıklar açısından değerlendirilmelidir. Heparin tedavisine direnç görülen hastalarda AT III eksikliği araştırılmalıdır. Varfarin tedavisi sırasında gelişmiş deri nekrozları görüldüğünde PC ve PS eksikliği düşünülmelidir. Östrojen tedavisi ve gebelik sırasında tromboz gelişirse APC-R'ını veya PT G20210A mutasyonunu düşünmek gerekir.

Fibrin yıkım ürünleri, D-Dimer ve fibrinopeptid A düzeylerinin yükselmesi akut venöz tromboemboliyi düşündürmelidir.

2.6. Kalıtımsal Trombofililerde Tedavi Yaklaşımı

FVL mutasyonuna bağlı tromboz riski heterozigot olgularda 5-10 kat, homozigot olgularda ise 50-100 kat artmaktadır. Mutasyonu taşıyan kişilerde tromboz hiç oluşmayabilir veya ileri yaşlara kadar olmayabilir. Bununla birlikte FVL mutasyonu, diğer genetik defektlerle veya diğer risk faktörleri ile birlikteyse tromboz riski daha yüksektir. Batı Avrupa toplumunda APC direnci prevelansı %3-7 olduğundan, bir kaç bin kişiden birinin homozigot olduğu beklenmektedir. Heterozigot FVL mutasyonu, PC veya PS eksikliği gibi diğer gen defektleri birlikte de olabilir. Tromboz riski homozigotlarda, kombine

kalıtsal defekti olanlarda ve özellikle gebelik, oral kontraseptif kullanımı veya cerrahi gibi faktörlerle birlikteliklerde oldukça yüksektir(38,90).

FVL mutasyonu taşıyan kişiler için profilaktik olarak antikoagulan başlanması konusunda çeşitli görüşler vardır. Öz ve soy geçmişlerinde tromboz öyküsü olmayan FVL geni yönünden heterozigot olan kişilere trombozu provake eden durumlarda kısa süreli profilaktik antikoagulan tedavi önerilmektedir. Homozigotlara ve iki veya daha fazla genetik defekti olan hastalara risk durumlarında profilaktik tedavi verilir. Trombotik bir olaydan sonra yogun antikoagulan tedavi uygulanması önerilmektedir.(82,120)

Asemptomatik PS veya AT III eksikliği olan kişilere yaşam boyu antikoagulan tedavi verilmesi tartışmalıdır. Bu kişilere tromboz riskini arttıran durumlarda kısa süreli antikoagulan tedavi önerilir. PS veya AT III eksikliğine bağlı tromboz gelişmişse ömür boyu antikoagulan tedavi önerilir.(33)

Heterozigot PC eksikliği olan kişiler asemptomatik ise; cerrahi, gebelik, doğum gibi durumlar dışında antikoagulan tedavi gerekmez. Kendisi semptomsuz olmasına karşın aile üyeleri arasında tromboz ataklarının görüldüğü kişilerde profilaktik tedavinin planlanmasına karar vermek zordur.(121)

Gebelik sırasında koruyucu tedavi verilmezse, AT III eksikliğinde %20, PC ve PS eksikliğinde %10 oranında tromboz görülür. Doğum sonrası dönemde, kalıtsal tromboza eğilimi olan kişilere 6 hafta süreyle antikoagulan tedavi verilmelidir.(33)

3. MATERYAL VE METOD

Bu çalışma S.B. Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi'nde gözlemsel, olgu-kontrollü, son iki yıllık hastaları kapsayacak şekilde ve retrospektif olarak tasarlandı. Klinik olarak arteriyel ve/veya venöz tromboz ön tanısı ile FVL mutasyon tetkiki gönderilmiş ve trombozu radyolojik görüntüleme yöntemleri ve laboratuar tetkikleri ile ispatlanmış, nöroloji, genel cerrahi ve iç hastalıkları kliniklerinde yatarak veya ayaktan izlenmiş olguların trombozlu olgular (Grup I) olarak alınması planlandı. Klinik olarak arteriyel ve/veya venöz tromboz ön tanısı ile FVL mutasyon tetkiki gönderilmiş ancak radyolojik görüntüleme yöntemleri ve laboratuvar tetkikleri sonucunda tromboz varlığı saptanmamış, nöroloji, genel cerrahi ve iç hastalıkları kliniklerinde yatarak veya ayaktan izlenmiş olguların kontrol grubu (Grup II) olarak alınması planlandı.

Olgulara ait bilgilere hastane bilgi işlem sisteminden ulaşıldı.

Çalışma grupları (Grup I ve Grup II) için çalışmaya dahil etme kriterleri;

- 15-80 yaş arası olanlar,
- 01.01.2008 ve 01.01.2010 tarihleri arasında nöroloji, genel cerrahi ve iç hastalıkları kliniklerinde yatarak veya ayakta izlenmiş, arteriyel ve/veya venöz trombozu (pulmoner emboli, DVT, serebral venöz sinüs trombozu, AMI, renal arter trombozu, SVO, splenik arter trombozu, fistül trombozu, sol atrial trombüs, süperior mezenterik arter trombozu, portal ven trombozu) klinik olarak saptanan ve tromboz tanısı uygun radyolojik yöntemlerle (USG, BT, MRI, MR anjio) kanıtlanmış olanlar,
- Tromboz etyolojisi açısından FVL mutasyon tetkiki istenmiş olanlar,
- Hemoglobin(Hgb), Hematokrit(Htc), Trombosit sayısı(Plt), PTZ, INR ve aPTT değerlerine ulaşılabilenler,
- Varfarin tedavisi almayanlar,
- Aile öyküsü olup olmadığı bilgisine ulaşılabilenler,

3. MATERYAL VE METOD

Bu çalışma S.B. Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi'nde gözlemsel, olgu-kontrollü, son iki yıllık hastaları kapsayacak şekilde ve retrospektif olarak tasarlandı. Klinik olarak arteriyel ve/veya venöz tromboz ön tanısı ile FVL mutasyon tetkiki gönderilmiş ve trombozu radyolojik görüntüleme yöntemleri ve laboratuar tetkikleri ile ispatlanmış, nöroloji, genel cerrahi ve iç hastalıkları kliniklerinde yatarak veya ayaktan izlenmiş olguların trombozlu olgular (Grup I) olarak alınması planlandı. Klinik olarak arteriyel ve/veya venöz tromboz ön tanısı ile FVL mutasyon tetkiki gönderilmiş ancak radyolojik görüntüleme yöntemleri ve laboratuvar tetkikleri sonucunda tromboz varlığı saptanmamış, nöroloji, genel cerrahi ve iç hastalıkları kliniklerinde yatarak veya ayaktan izlenmiş olguların kontrol grubu (Grup II) olarak alınması planlandı.

Olgulara ait bilgilere hastane bilgi işlem sisteminden ulaşıldı.

Çalışma grupları (Grup I ve Grup II) için çalışmaya dahil etme kriterleri;

- 15-80 yaş arası olanlar,
- 01.01.2008 ve 01.01.2010 tarihleri arasında nöroloji, genel cerrahi ve iç hastalıkları kliniklerinde yatarak veya ayakta izlenmiş, arteriyel ve/veya venöz trombozu (pulmoner emboli, DVT, serebral venöz sinüs trombozu, AMI, renal arter trombozu, SVO, splenik arter trombozu, fistül trombozu, sol atrial trombüs, süperior mezenterik arter trombozu, portal ven trombozu) klinik olarak saptanan ve tromboz tanısı uygun radyolojik yöntemlerle (USG, BT, MRI, MR anjio) kanıtlanmış olanlar,
- Tromboz etyolojisi açısından FVL mutasyon tetkiki istenmiş olanlar,
- Hemoglobin(Hgb), Hematokrit(Htc), Trombosit sayısı(Plt), PTZ, INR ve aPTT değerlerine ulaşılabilenler,
- Varfarin tedavisi almayanlar,
- Aile öyküsü olup olmadığı bilgisine ulaşılabilenler,

- Yaş, cinsiyet ve memleket (hastanın doğum yeri baz alınarak Türkiye coğrafi bölgeler haritasında bölge tespit edildi) bilgisine ulaşılabilenler,
- Kadın hastalar için düşük öyküsü olup olmadığı bilgisine ulaşılabilenler.

Çalışma grupları(Grup I ve Grup II) için dışlanma kriterleri;

- 15 yaşından küçük ve 80 yaşından büyük olanlar,
- FVL mutasyon tetkiki gönderilmemiş olanlar,
- Tromboz için ileri tetkik yapılmayan ve/veya tetkik sonucuna ulaşılamayanlar,
- Aile öyküsü olup olmadığı bilgisine ulaşılamayanlar,
- Yaş, cinsiyet ve memleket bilgisine ulaşılamayanlar,
- Hgb, Htc, Plt, PTZ, INR, aPTT değerlerine ulaşılamayanlar,
- Varfarin tedavisi almakta olanlar,
- Kadın hastalar için düşük öyküsü olup olmadığı bilgisine ulaşılamayanlar.

Grup I ve Grup II olguların dosyaları tarandı. Çalışmaya alınan olguların yaş, cinsiyet, memleket, kullandığı ilaçlar, ailede tromboz öyküsü, kadınlar için düşük öyküsü olup olmadığı, Hgb(gr/dl) ve Htc(%) değerleri, Plt sayısı($10^3/mm^3$), PTZ(saniye), INR, aPTT(saniye) değerleri, tromboz yeri (santral/periferik yerleşim, arteriyel/venöz yerleşim), tromboza bağlı gelişen komplikasyon olup olmadığı, tromboz tanısı koymada kullanılan radyolojik görüntüleme yöntemleri ve FVL mutasyon analizi sonuçları kaydedildi.

Santral sinir sisteminde yerleşen, iskemik SVO, venöz sinüs trombozuna neden olan trombozlar 'santral', diğerleri 'periferik' olarak kaydedildi.

Grup I ve Grup II olgulardan günün herhangi bir saatinde, venöz ponksiyon ile EDTA'lı tüpe 3-4cc kan alınarak hemen laboratuara ulaştırıldı. FVL mutasyonu genetik analizi Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi Genetik Hastalıklar Tanı Merkezi'nde yapıldı.

FVL mutasyon analizi RealTime yöntemi ile çalışıldı.

Alınan kanlardan genomik DNA ekstraksiyonu periferik kan lökositlerinden; sırasıyla eritrosit lizis, lökosit eldesi, lökosit lizis, protein denaturasyonu, isopropil ve % 70'lik etanolde DNA çöktürme ve alkol ile yıkama sonrası TE(Tris-EDTA) tamponunda çözülme işlemleri gerçekleştirildi.

Faktör V Leiden'in saptanması için 20 mikrolitre hacimde 5 mikrolitre (100-300 ngr) genomik DNA kullanılarak LightCycler 2.0 cihazında 95^0C'de denaturasyon 30 saniye, 45 döngü olarak 55^0C'de 10 saniye, 72^0C'de 5 saniye PCR işlemine maruz bırakıldı. Son olarak erime eğrisi analizi 45^0C'den başlayarak 80^0C'ye saniyede $0,1^0$C arttırılarak yapıldı. Mutant örnekler erime analizinde 55^0C'de tepe noktası verirken, yabanıl tip örnekler 65^0C'de tepe noktasına ulaştılar (Şekil 16,17,18).

Çalışmada kullanılan diğer parametrelerin ölçüm metodları;

Hgb: Beckman Coulter İmage 2000i cihazı ile Optic Laser Scatter yöntemi ile spektrofotometrik olarak incelenmiştir.

Htc: Beckman Coulter İmage 2000i cihazı ile Optic Laser Scatter yöntemi ile spektrofotometrik olarak incelenmiştir.

Plt: Beckman Coulter İmage 2000i cihazı ile Optic Laser Scatter yöntemi ile spektrofotometrik olarak incelenmiştir.

PTZ: MDA II cihazında zamana bağlı pıhtı oluşumuyla spektrofotometrik olarak incelenmiştir.

INR: MDA II cihazında zamana bağlı pıhtı oluşumuyla spektrofotometrik olarak incelenmiştir.

aPTT: MDA II cihazında zamana bağlı pıhtı oluşumuyla spektrofotometrik olarak incelenmiştir.

İSTATİKSEL DEĞERLENDİRME:

Çalışmada elde edilen bulgular değerlendirilirken, istatistiksel analizler için NCSS (Number Cruncher Statistical System) 2007&PASS 2008 Statistical Software (Utah, USA) programı kullanıldı. Çalışma verileri değerlendirilirken tanımlayıcı istatistiksel metodların (Ortalama, Standart sapma, frekans) yanısıra niceliksel verilerin karşılaştırılmasında normal dağılım gösteren parametrelerin iki grup arası karşılaştırmalarında Student t test, normal dağılım göstermeyen parametrelerin iki grup arası karşılaştırmalarında Mann Whitney U test kullanıldı. Niteliksel verilerin karşılaştırılmasında ise Ki-Kare testi ve Fisher's Exact test kullanıldı. Anlamlılık $p<0.05$ düzeyinde değerlendirildi.

4. BULGULAR

01.01.2008-01.01.2010 tarihleri arasında S.B. Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi'nde yapılan çalışmaya trombozlu olgular grubu(Grup I) olarak 67 hasta ve kontrol grubu(Grup II) olarak da 22 hasta alındı. Grup I ve Grup II'nin demografik özellikleri Tablo 11'de izlenmektedir.

Tablo 11: Grup I(trombozlu olgular) ve Grup II(kontrol grubu)'nin demografik özelliklerinin değerlendirilmesi

	Grup I (n=67)	Grup II (n=22)	*p*
	Ort±SS	Ort±SS	
[a]Yaş (yıl)	42,94±14,52	42,09±11,19	***0,803***
[b]Cinsiyet	n (%)	n (%)	
Kadın	37 (%55,2)	13 (%59,1)	***0,751***
Erkek	30 (%44,8)	9 (%40,9)	

[a] *Student t test* [b] *Ki-kare test kullanıldı*

Grup I ve Grup II olgularının yaş ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadı (p=0,803 p>0,05).

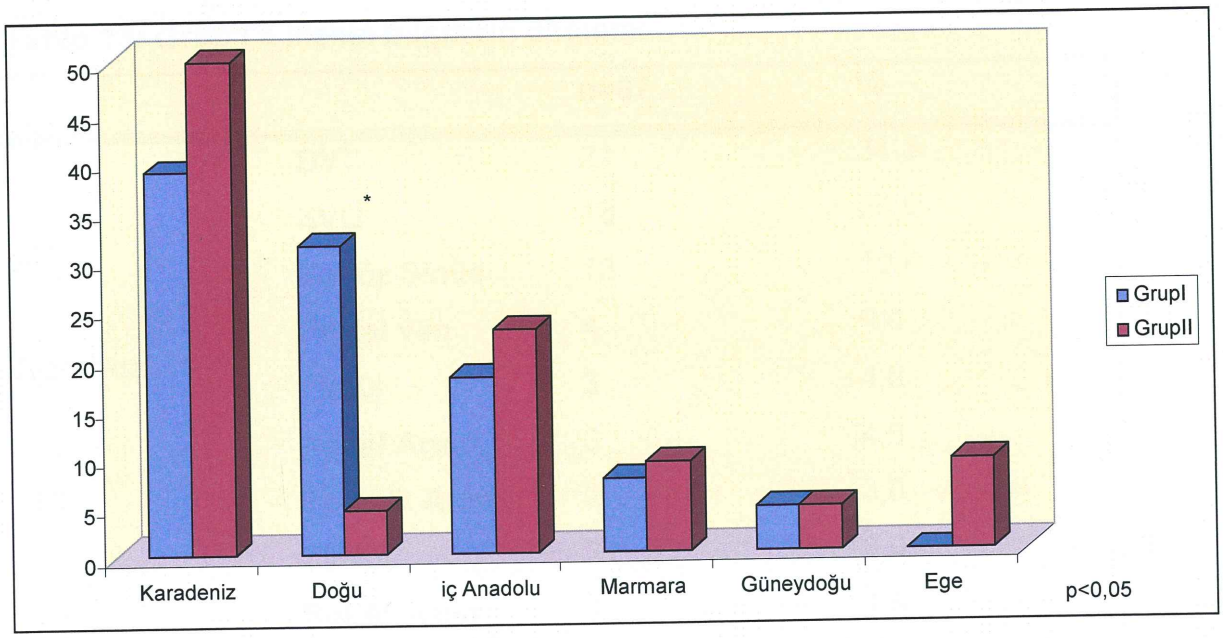
Grup I ve Grup II olgularının cinsiyet dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadı (p=0,751 p>0,05).

Tablo 12: Grup I ve Gup II olgularda bölgelerin dağılımı

		Grup I	Grup II
		n (%)	n (%)
Bölge	Karadeniz	26 (%38,8)	11 (%50,0)
	Doğu Anadolu	21 (%31,3)	1 (%4,5)
	İç Anadolu	12 (%17,9)	5 (%22,7)
	Marmara	5 (%7,5)	2 (%9,1)
	Güneydoğu	3 (%4,5)	1 (%4,5)
	Ege	0	2 (%9,1)
	Toplam	*67*	*22*

Grup I'de olguların 26(%38,8)'sı Karadeniz, 21(%31,3)'i Doğu Anadolu, 12(%17,9)'si İç Anadolu, 5(%7,5)'i Marmara, 3(%4,5)'ü Güneydoğu Anadolu bölgesindendi. Grup II'de ise olguların 11(%50)'i Karadeniz, 1(%4,5)'i Doğu Anadolu, 5(%22,7)'i İç Anadolu, 2(%9,1)'si Marmara, 1(%4,5)'i Güneydoğu Anadolu ve 2(%9,1)'si Ege Bölgesindendi.

Grup I ve Grup II'nin bölgelere göre dağılımları arasında istatistiki olarak anlamlı farklılık görülmekte idi ($p=0,031$ $p<0,05$). Anlamlılık Doğu Anadolu bölgesinde tromboz görülme oranının kontrol grubundan anlamlı düzeyde yüksek olarak saptanmasından kaynaklanmakta idi.

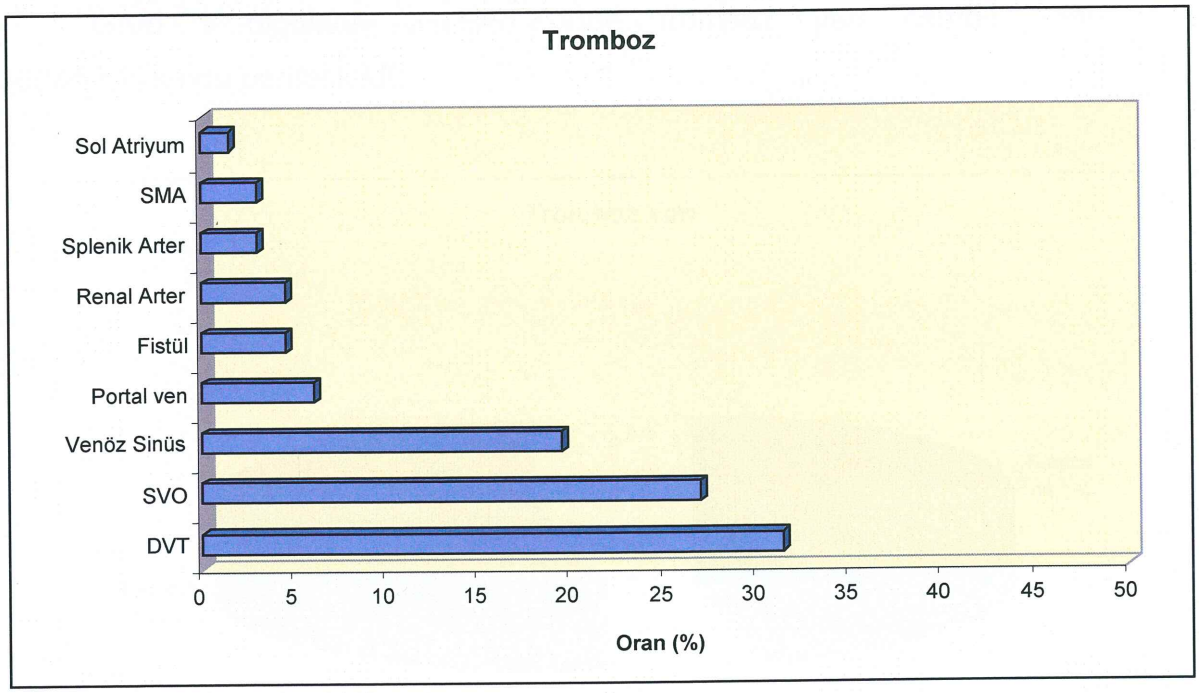


Şekil 8: Grup I ve Grup II'de bölgelerin dağılımı

Tablo 13: Grup I'e ilişkin bilgilerin dağılımı

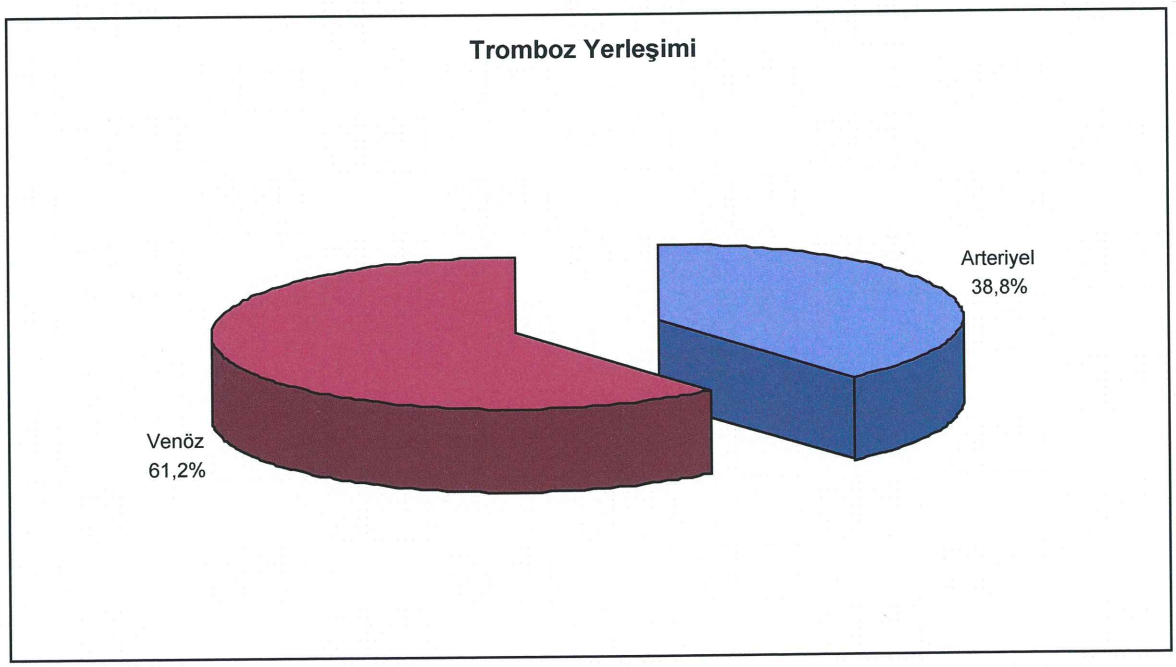
		n=67	%
Tromboz	DVT	21	31,3
	SVO	18	26,9
	Venöz Sinüs	13	19,4
	Portal ven	4	6,0
	Fistül	3	4,5
	Renal Arter	3	4,5
	Splenik Arter	2	3,0
	SMA	2	3,0
	Sol Atriyum	1	1,5
Tromboz Yerleşimi	Arteriyel	26	38,8
	Venöz	41	61,2
Tromboz Yeri	Santral	31	46,3
	Periferik	36	53,7
Aile Öyküsü	Var	4	6,0
	Yok	63	94,0
Toplam		*67*	*100*

Tromboz dağılımları incelendiğinde; olguların 21(%31,3)'inde DVT, 18(%26,9)'inde SVO, 13(%19,4)'ünde venöz sinüs trombozu, 4(%6)'ünde portal ven trombozu, 3(%4,5)'ünde fistül trombozu, 3(%4,5)'ünde renal arter trombozu, 2(%3)'sinde splenik arter trombozu, 2(%3)'sinde superior mezenterik arter trombozu ve 1(%1,5)'inde sol atriyum trombüs olduğu görüldü.



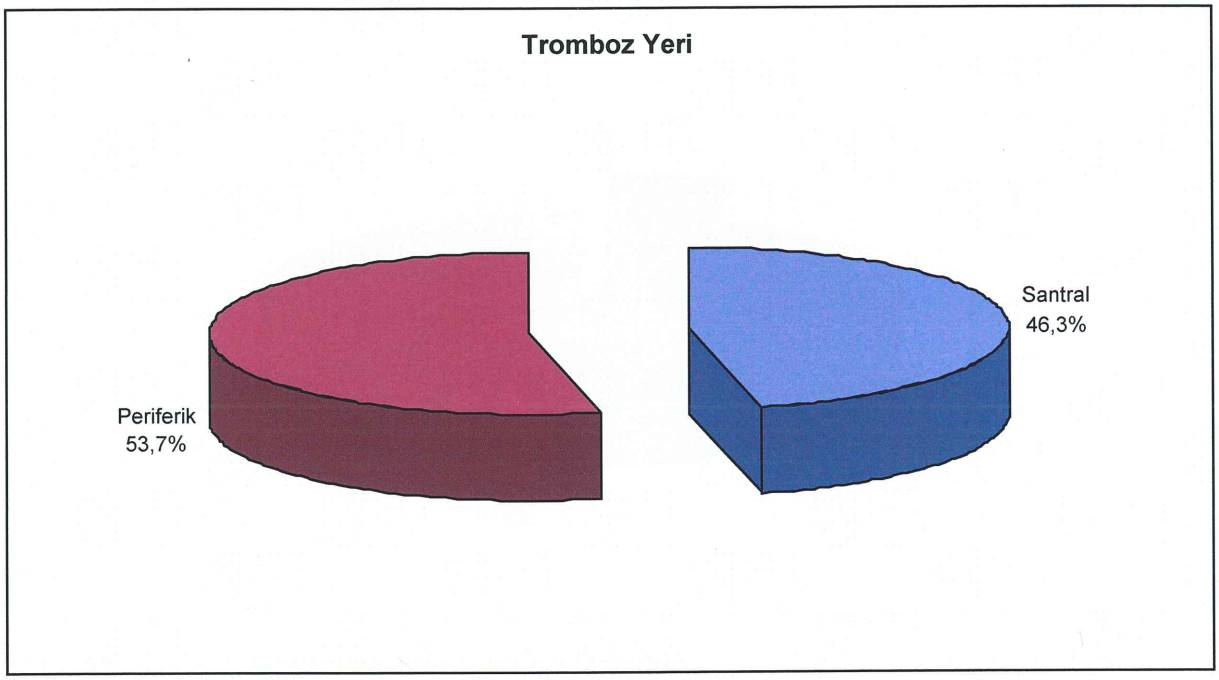
Şekil 9: Grup I olgularda tromboz dağılımı

Grup I olguların 26(%38,8)'sında tromboz yerleşimi arteriyel iken 41(%61,2)'inde venöz idi.



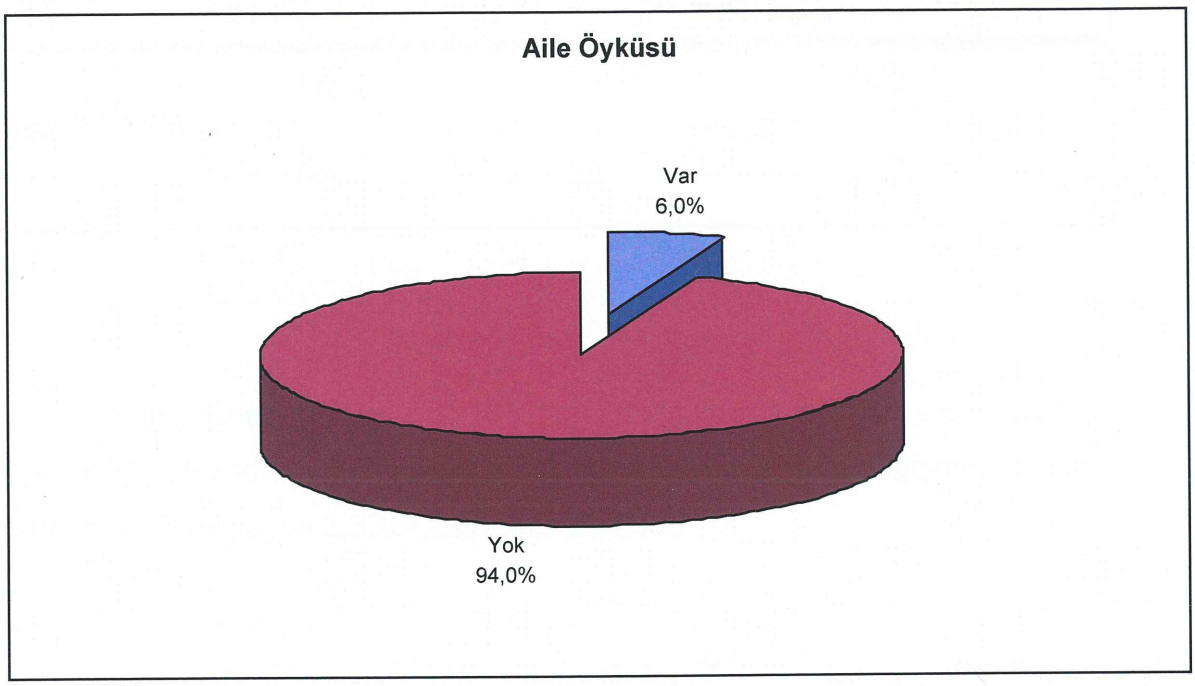
Şekil 10: Grup I olgularda tromboz yerleşimi dağılımı

Grup I olguların 31(%46,3)'inde tromboz yeri santral iken 36(%53,7)'sında periferik idi.



Şekil 11: Grup I olgularda tromboz yeri dağılımı

Grup I olguların 4(%6)'ünde aile öyküsü vardı.

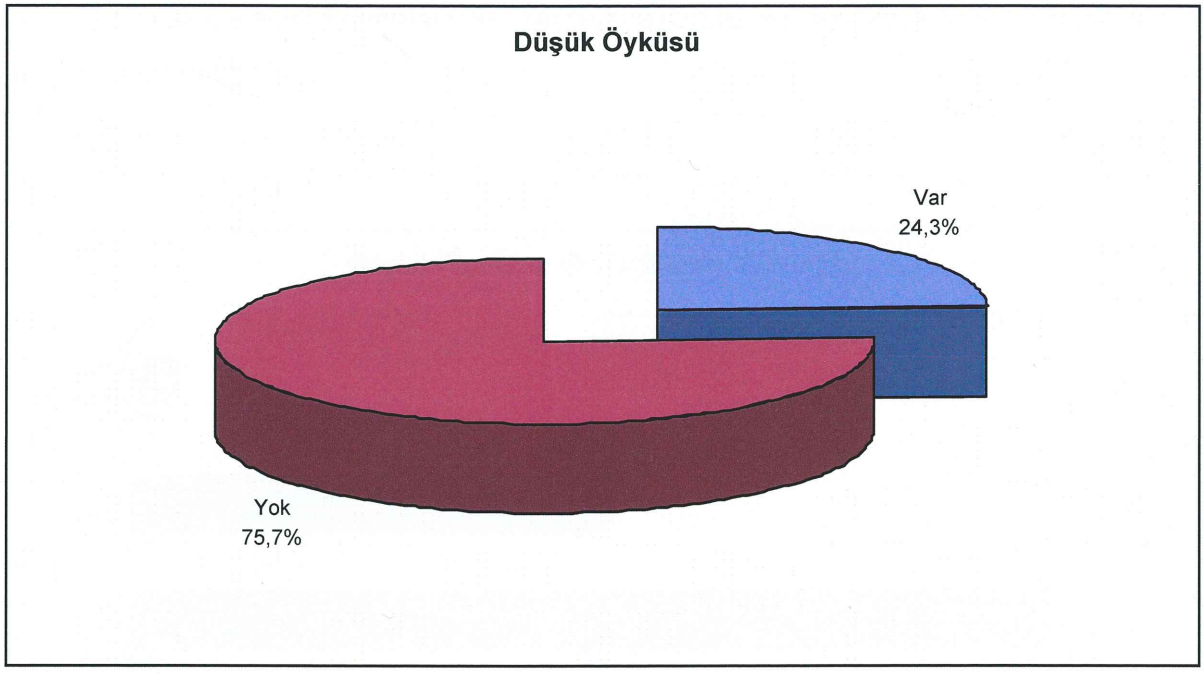


Şekil 12: Grup I olgularda aile öyküsü dağılımı

Tablo 14: Grup I'de kadın olguların düşük öyküsü dağılımı

Sadece kadın(n=37)		n	%
Düşük Öyküsü	Var	9	24,3
	Yok	28	75,7

Grup I'de kadın olguların 9(%13,4)'unda düşük öyküsü vardı. Düşük öyküsü olan 9 kadın olgunun düşük sayıları 1 ile 4 arasında değişmekte olup, ortalama düşük sayısı 2,33±1,22, medyanı 2 idi.

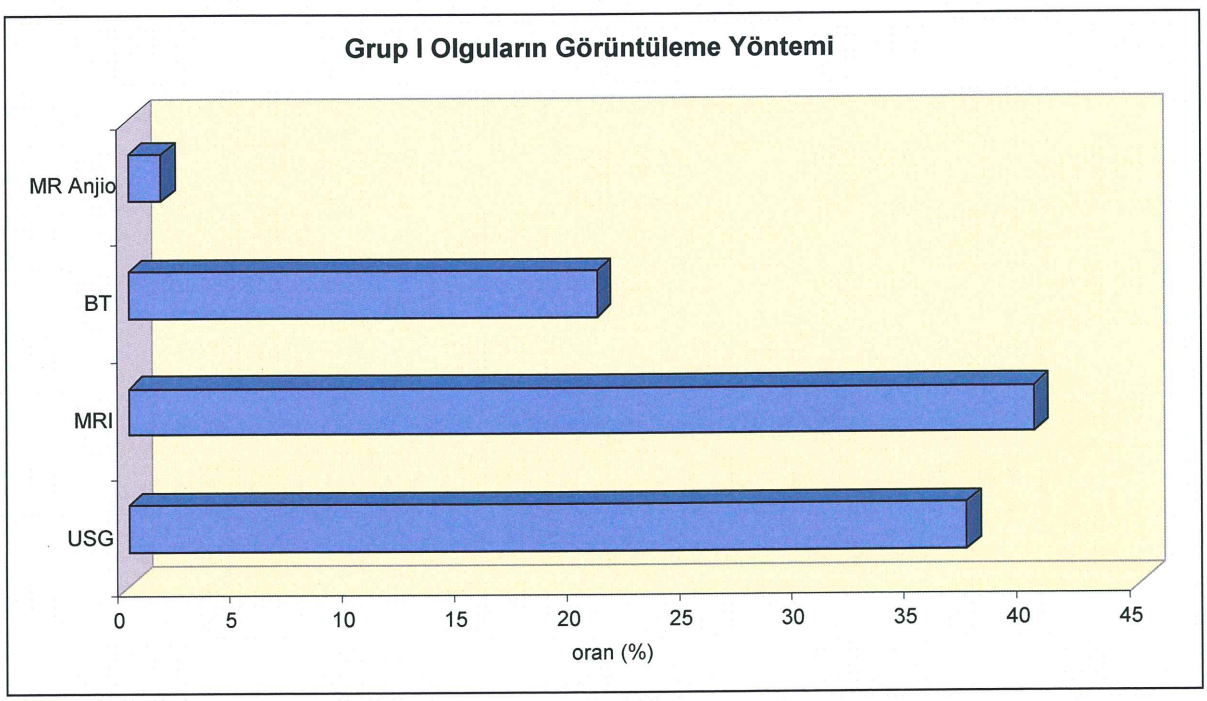


Şekil 13: Grup I'de kadın olguların düşük öyküsü dağılımı

Tablo 15: Grup I'de görüntüleme yöntemi ve FVL mutasyonu dağılımı (n=67)

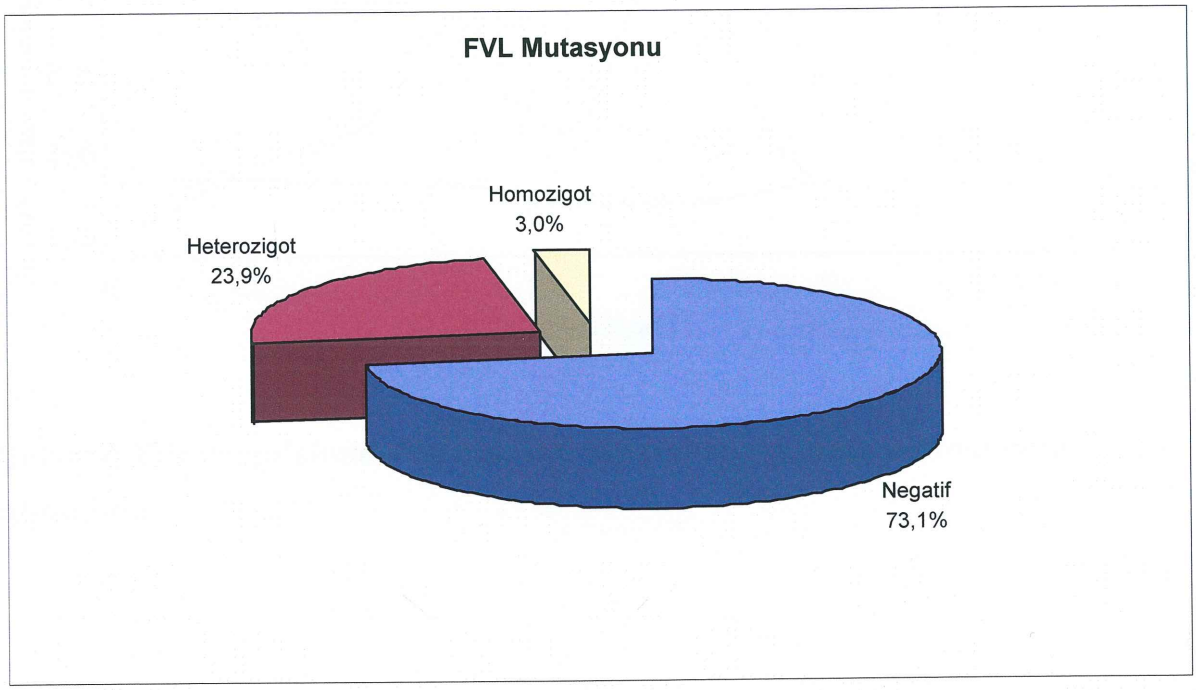
		n	%
Görüntüleme Yöntemi	USG	25	37,3
	MRI	27	40,3
	BT	14	20,9
	MR Anjio	1	1,5
FVL Mutasyonu	Negatif	49	73,1
	Heterozigot	16	23,9
	Homozigot	2	3,0

Grup I olguların 25(%37,3)'inde görüntüleme yöntemi olarak USG; 27(% 40,3)'sinde MRI kullanılırken, 14(%20,9)'ünde BT ve 1(%1,5)'inde MR Anjio kullanılmıştı.

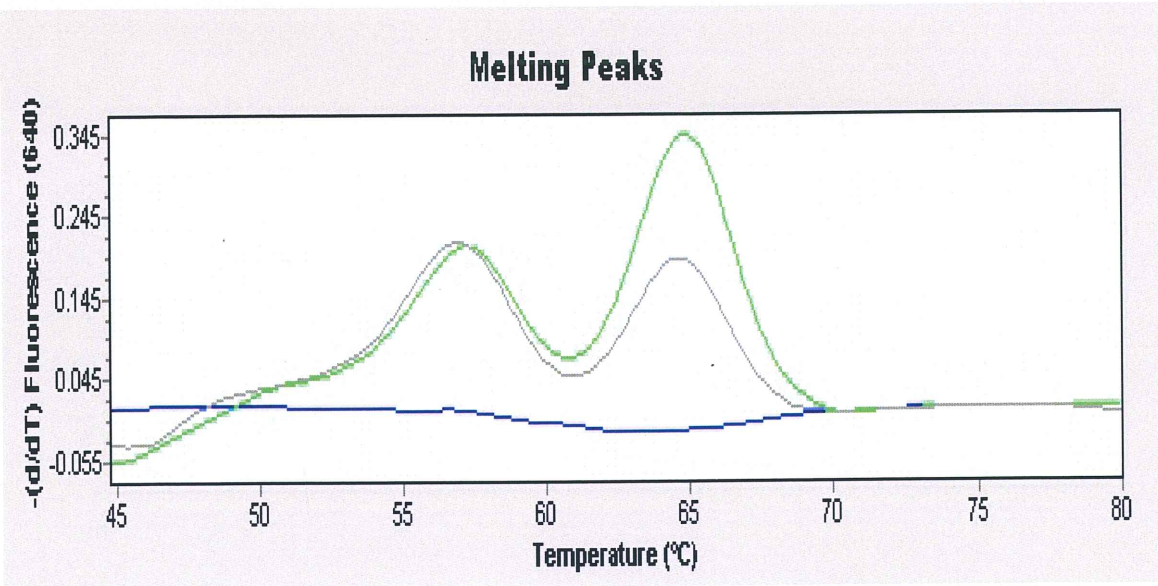


Şekil 14: Grup I olguların görüntüleme yöntemi dağılımı

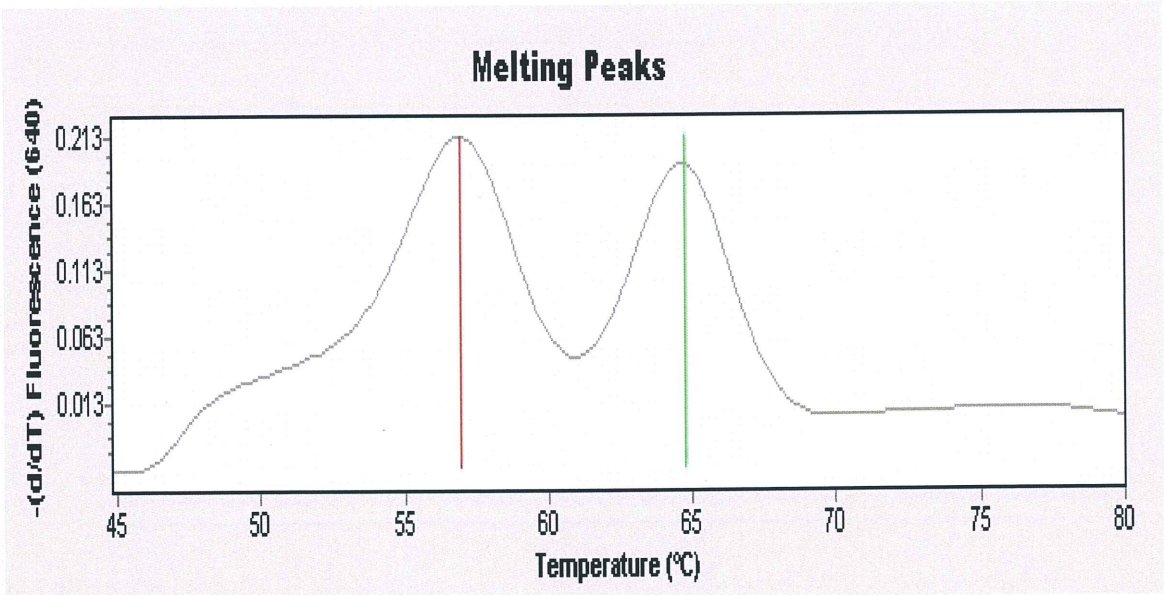
Grup I olguların 49(%73,1)'unda FVL mutasyonu negatif iken, 16(%23,9)'sında heterozigot ve 2(%3)'sinde homozigot pozitif olarak saptandı.



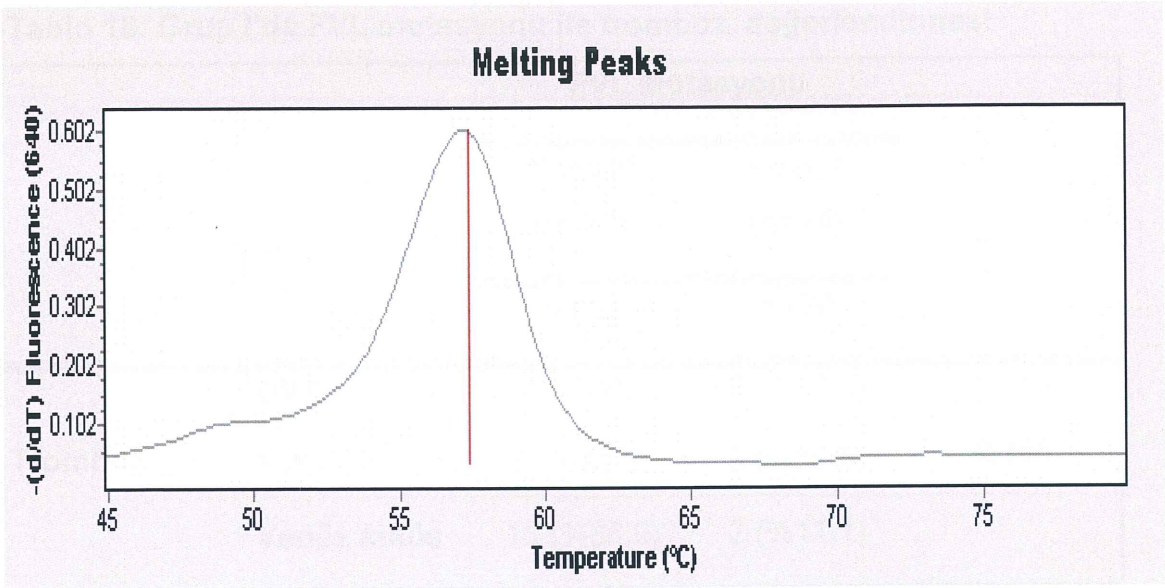
Şekil 15: Grup I olgularda FVL mutasyonu dağılımı



Şekil 16. Erime eğrisinde FVL normal ve heterozigot mutant örneklerin görünümü



Şekil 17. Erime eğrisinde FVL heterozigot mutant örneklerin görünümü



Şekil 18. Erime eğrisinde FVL homozigot mutant örneklerin görünümü

Tablo 16: Grup I'de FVL mutasyonu ile tromboz değerlendirmesi

		FVL Mutasyonu		p
		Negatif (n=38)	Pozitif (n=14)	
		n (%)	n (%)	
Tromboz	DVT	14 (%66,7)	7 (%33,3)	0,165
	SVO	8 (%61,5)	5 (%38,5)	
	Venöz sinüs	16 (%88,9)	2 (%11,1)	

Ki-kare test kullanıldı

Grup I'de trombozlara göre FVL mutasyonu pozitifliği görülme oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadı (p= 0,165 p>0,05). DVT görülen olguların 7(%33,3)'sinde, SVO görülen olguların 5(%38,5)'inde ve venöz sinüs trombozu görülen olguların 2(%11,1)'sinde FVL mutasyonu pozitif olarak saptandı.

Tablo 17: Grup I'de FVL mutasyonu ile tromboz yerleşimi ve yerinin değerlendirmesi

		FVL Mutasyonu		p
		Negatif (n=49)	Pozitif (n=18)	
		n (%)	n (%)	
Tromboz Yerleşimi	Arteriyel	21 (%80,8)	5 (%19,2)	*0,262*
	Venöz	28 (%68,3)	13 (%31,7)	
Tromboz Yeri	Santral	24 (%77,4)	7 (%22,6)	*0,463*
	Periferik	25 (%69,4)	11 (%30,6)	

Ki-kare test kullanıldı

Grup I'de tromboz yerleşimi arteriyel olan olguların 5(%19,2)'inde, venöz olan olguların 13(%31,7)'ünde FVL mutasyonu pozitif olarak saptandı.

Tromboz yerleşimine göre FVL mutasyonu pozitifliği görülme oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadı (p=0,262 p>0,05).

Grup I'de tromboz yeri santral olan olguların 7(%22,6)'sinde, periferik olan olguların 11(%30,6)'inde FVL mutasyonu pozitif olarak saptandı.

Tromboz yerine göre FVL mutasyonu pozitifliği görülme oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadı (p=0,463 p>0,05).

Tablo 18: Grup I'de FVL mutasyonu ile aile öyküsü değerlendirmesi

		FVL Mutasyonu		p
		Negatif (n=49)	Pozitif (n=18)	
		n (%)	n (%)	
Aile Öyküsü	Var	3 (%75,0)	1 (%25,0)	1,000
	Yok	46 (%73,0)	17 (%27,0)	

Fisher's Exact test kullanıldı

Grup I'de aile öyküsü bulunan olguların 1(%25)'inde, aile öyküsü bulunmayan olguların 17(%27)'sinde FVL mutasyonu pozitif olarak saptandı.

Grup I'de aile öyküsü varlığına göre FVL mutasyonu pozitifliği görülme oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadı (p=1,000 p>0,05).

Tablo 19: Grup I'de FVL mutasyonu ile kadın olgularda düşük öyküsü değerlendirmesi

		FVL Mutasyonu		p
		Negatif (n=25)	Pozitif (n=12)	
		n (%)	n (%)	
Düşük Öyküsü (n=37)	Var	7 (%77,8)	2 (%22,2)	*0,452*
	Yok	18 (%64,3)	10 (%35,7)	

Ki-kare test kullanıldı

Grup I'de düşük öyküsü olan kadın olguların 2(%22,2)'sinde, düşük öyküsü olmayan kadın olguların 10(%35,7)'unda FVL mutasyonu pozitif olarak saptandı.

Düşük öyküsü varlığına göre FVL mutasyonu pozitifliği görülme oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadı (p=0,452 p>0,05).

Tablo 20: Grup I'de FVL mutasyonuna ilişkin karşılaştırmalar

	FVL Mutasyonu		
	Negatif	Pozitif	*p*
	n (%)	n (%)	
Arteriyel	21 (%80,8)	5 (%19,2)	***0,766***
Kontrol	17 (%77,3)	5 (%22,7)	
Venöz	28 (%68,3)	13 (%31,7)	***0,452***
Kontrol	17 (%77,3)	5 (%22,7)	
Santral	24 (%77,4)	7 (%22,6)	***0,990***
Kontrol	17 (%77,3)	5 (%22,7)	
Periferik	25 (%69,4)	11 (%30,6)	***0,517***
Kontrol	17 (%77,3)	5 (%22,7)	

Ki-kare test kullanıldı

Arteriyel grubun 5(%19,2)'inde ve kontrol grubunun 5(%22,7)'inde FVL mutasyonu pozitif olarak saptandı.

Arteriyel ve Kontrol grupları arasında FVL mutasyonu pozitifliği görülme oranları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadı (p=0,766 p>0,05).

Venöz grubun 13(%31,7)'ünde ve kontrol grubunun 5(%22,7)'inde FVL mutasyonu pozitif olarak saptandı.

Venöz ve Kontrol grupları arasında FVL mutasyonu pozitifliği görülme oranları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadı (p=0,452 p>0,05).

Santral grubun 7(%22,6)'sinde ve kontrol grubunun 5(%22,7)'inde FVL mutasyonu pozitif olarak saptandı.

Santral ve Kontrol grupları arasında FVL mutasyonu pozitifliği görülme oranları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadı (p=0,990 p>0,05).

Periferik grubun 11(%30,6)'inde ve kontrol grubunun 5(%22,7)'inde FVL mutasyonu pozitif olarak saptandı.

Periferik ve Kontrol grupları arasında FVL mutasyonu pozitifliği görülme oranları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadı (p=0,517 p>0,05).

Tablo 21: Grup I'de FVL mutasyonuna göre yaş değerlendirilmesi

Hasta Grup	FVL Mutasyonu		*p*
	Negatif	Pozitif	
	Ort±SS	Ort±SS	
Kadın olguların yaşları (yıl)	44,84±15,97	42,33±11,93	***0,633***
Erkek olguların yaşları (yıl)	42,25±15,11	39,00±12,45	***0,631***

Student t test kullanıldı

Grup I'de;

FVL mutasyonu pozitif olan kadın olgular ile negatif olan kadın olguların yaş ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadı (p=0,633 p>0,05).

FVL mutasyonu pozitif olan erkek olgular ile negatif olan erkek olguların yaş ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadı (p=0,631 p>0,05).

Tablo 22: Grup I'de cinsiyete göre yaş değerlendirilmesi

FVL Mutasyonu	Yaş (yıl)		p
	Kadın	Erkek	
	Ort±SS	Ort±SS	
Negatif	44,84±15,97	42,25±15,11	***0,563***
Pozitif	42,33±11,93	39,00±12,45	***0,589***

Student t test kullanıldı

Grup I'de;

FVL mutasyonu negatif olan, kadın olgular ile erkek olguların yaş ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadı (p=0,563 p>0,05).

FVL mutasyonu pozitif olan, kadın olgular ile erkek olguların yaş ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadı (p=0,589 p>0,05).

Tablo 23: Grup I ve Grup II'nin biyokimyasal parametrelerinin değerlendirilmesi

	Grup I (n=67)	Grup II (n=22)	p
	Ort±SS (Medyan)	Ort±SS (Medyan)	
[a]Hemoglobin (gr/dl)	12,50±1,99	12,80±2,12	*0,550*
[a]Hemotokrit (%)	37,61±5,49	38,37±5,30	*0,575*
[a]Plt (10^3/µL)	289,77±118,66	258,13±87,82	*0,253*
[b]PT (sn)	14,24±6,23 (12,5)	12,25±1,44 (12,1)	*0,034**
[b]INR	1,16±0,45 (1,1)	1,03±0,12 (1,0)	*0,135*
[b]aPTT (sn)	33,93±17,41 (30,5)	30,02±4,35 (29,7)	*0,278*

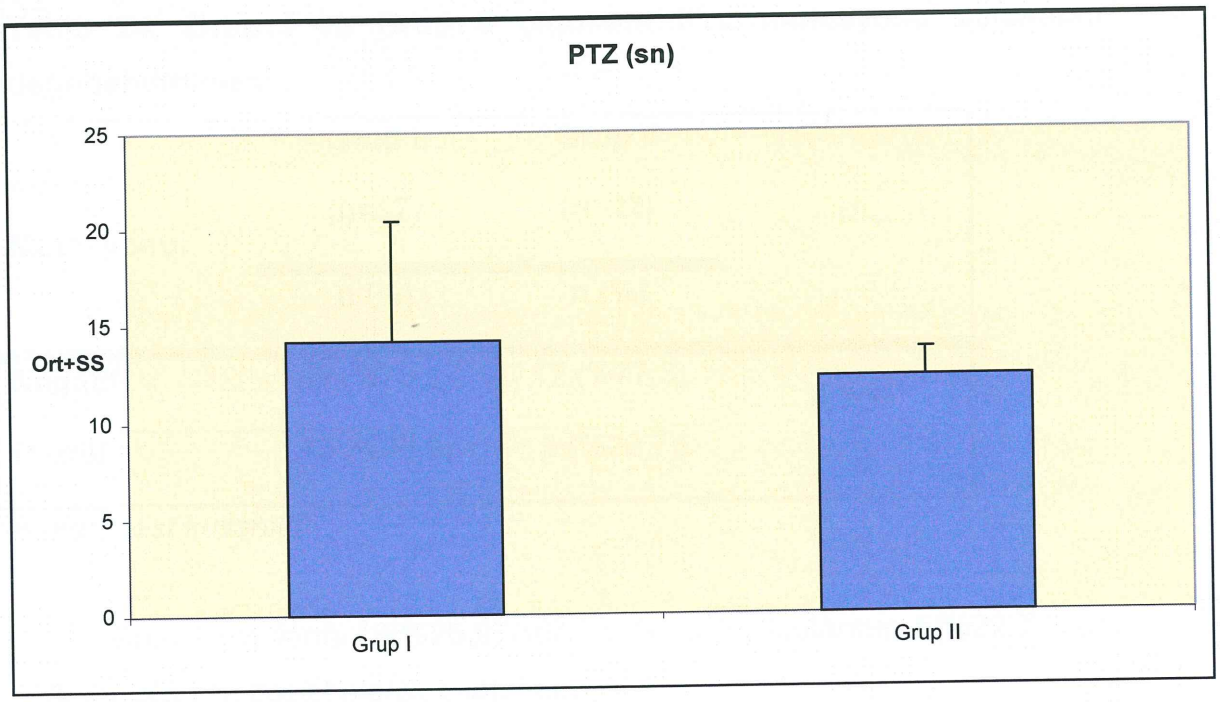
[a] *Student t test* [b] *Mann Whitney U test kullanıldı*

Grup I ve Grup II olguların Hgb düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadı (p=0,550 p>0,05).

Grup I ve Grup II olguların Htc düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadı (p=0,575 p>0,05).

Grup I ve Grup II olguların Plt düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadı (p=0,253 p>0,05).

Grup I olguların PTZ düzeyleri, Grup II olguların PTZ düzeylerinden istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulundu (p=0,034 p<0,05).



Şekil 19: Grup I ve Grup II olguların PTZ düzeyi dağılımı

Grup I ve Grup II olguların INR düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadı (p=0,135 p>0,05).

Grup I ve Grup II olguların aPTT düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadı (p=0,278 p>0,05).

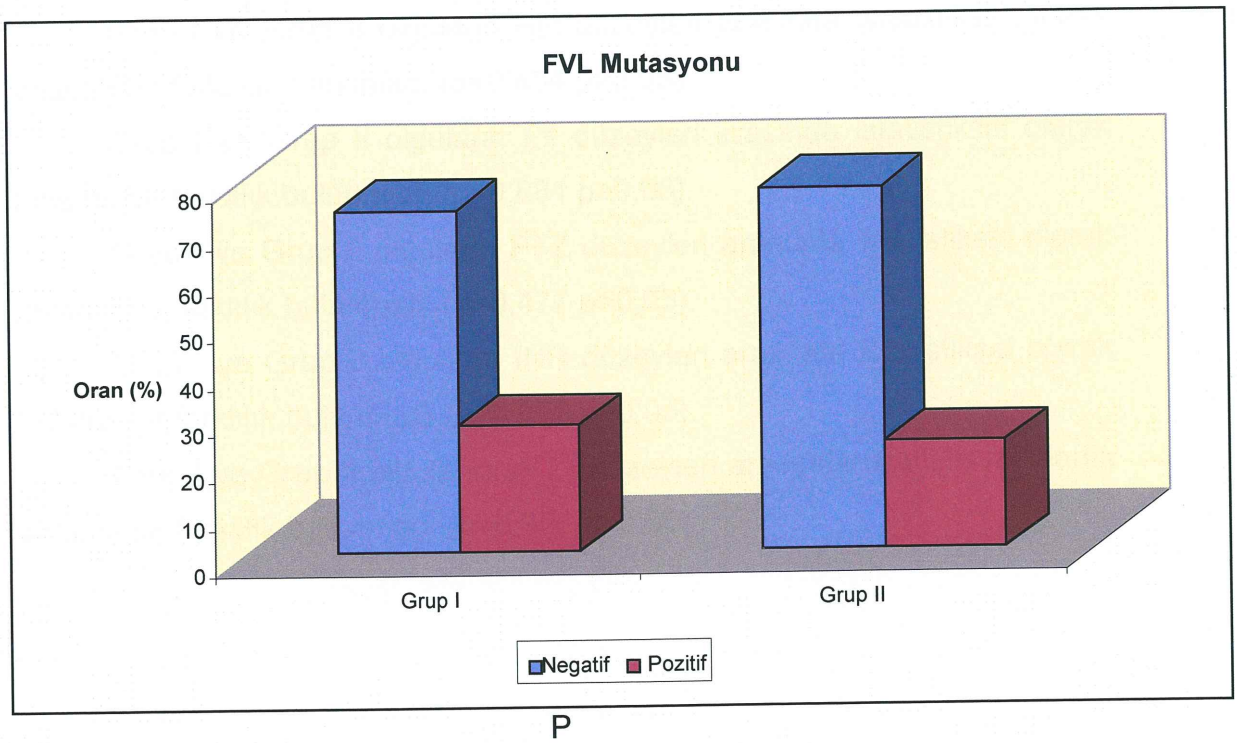
Tablo 24: Grup I ve Grup II olguların FVL mutasyonu açısından değerlendirilmesi

FVL Mutasyonu	Grup I (n=67)	Grup II (n=22)	*p*
	n (%)	n (%)	
Negatif	49 (%73,1)	17 (%77,3)	***0,700***
Pozitif	18 (%26,9)	5 (%22,7)	

Ki-kare test kullanıldı

Grup I olguların 18(%26,9)'inde ve Grup II olgularının 5(%22,7)'inde FVL mutasyonu pozitif olarak saptandı.

Grup I ve Grup II arasında FVL mutasyonu pozitifliği görülme oranları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadı (p=0,700 p>0,05).



Şekil 20: Grup I ve Grup II'de FVL mutasyonu dağılımı

Tablo 25: FVL mutasyonu pozitif olan Grup I ve Grup II olguların biyokimyasal parametrelerinin değerlendirilmesi

FVL Mutasyonu Pozitif	Grup I	Grup II	*p*
	Ort±SS (Medyan)	Ort±SS (Medyan)	
Hemoglobin (gr/dl)	12,59±1,12 (12,8)	11,98±1,64 (12,7)	***0,411***
Hemotokrit (%)	37,79±3,55 (37,9)	36,02±4,09 (38,1)	***0,434***
Plt (10^3/µL)	246,55±119,5(222)	222,80±60,01(210)	***0,881***
PTZ (sn)	12,53±1,80 (12,5)	11,84±0,92 (11,7)	***0,477***
INR	1,07±0,13 (1,0)	0,99±0,11 (0,9)	***0,279***
aPTT (sn)	31,82±4,08 (30,9)	30,38±3,81 (30,3)	***0,550***

Mann Whitney U test kullanıldı

FVL mutasyonu pozitif olan olgularda;

Grup I ve Grup II olguların Hgb düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadı (p=0,411 p>0,05).

Grup I ve Grup II olguların Htc düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadı (p=0,434 p>0,05).

Grup I ve Grup II olguların Plt düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadı (p=0,881 p>0,05).

Grup I ve Grup II olguların PTZ düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadı (p=0,477 p>0,05).

Grup I ve Grup II olguların INR düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadı (p=0,279 p>0,05).

Grup I ve Grup II olguların aPTT düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadı (p=0,550 p>0,05).

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Trombofili (Thrombo-philia: trombozu sevme), tromboza eğilim yaratan tabloları tanımlamakta kullanılan bir terimdir. Tromboz morbidite ve mortalitenin önemli bir sebebidir. Patogenezi multifaktöriyeldir, edinsel ve genetik faktörleri içerir. Tromboza yol açtığı bilinen pek çok durum olmasına rağmen, olguların büyük bir kısmında neden bulunamamaktadır.(1)

FVL mutasyonu genetik risk faktörleri arasında en sık görülenlerden biri olup, sıklığı toplumlar ve ırklar arasında farklılık göstermektedir. FVL mutasyonu prevalansı normal populasyonda %2-14 olarak bildirilmiş, dağılımdaki farklılık etnik ve coğrafik değişikliklere bağlanmıştır(1). Avrupa ve Kuzey Amerika'da insidans yüksek olmasına rağmen Çin, Japonya, Afrika ve Amerika yerlilerinde mutasyon saptanmamıştır. Avrupa ülkelerinde prevalans %7-10 civarında olup Yunanistan ve Kıbrıs Rum toplumu Avrupa'da mutasyonun en sık olduğu yerlerdir. Mutasyon sıklığı Yunanistan'da %14, Kıbrıs Rum toplumu'nda %12 olarak bildirilmiştir(1,61). Japonya, Çin ve Afrika'da mutasyon saptanmamasına rağmen Avrupa, Ortadoğu ve özellikle Anadolu'da yüksek prevalans oranlarının görülmesi mutasyonun Asya ve Avrupa arasında köprü görevi gören Anadolu'dan yayılmış olabileceğini düşündürmektedir.(1,61,102,103)

Biz de bu çalışmada; Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi'nde, son iki yılda yatarak veya ayaktan takip edilen ve tromboz saptanan hastalarda FVL mutasyonu sıklığını, Türk populasyonunda FVL mutasyonunun coğrafi dağılımında farklılık olup olmadığını, yaşla ve cinsiyet ile ilişkisini, arteriyel ve venöz tromboz ile ilişkisini, her bir tromboz hastalığı için FVL mutasyon sıklığını araştırdık. Verileri tromboz saptanmayan kontrol grubu ile karşılaştırdık. 01.01.2008-01.01.2010 tarihleri arasında retrosektif, gözlemsel, olgu-kontrol grubu olarak tasarlanan çalışmamızda 67 trombozlu olgu saptadık. Tromboz saptanmayan 22 olguyu kontrol grubu olarak aldık.

Trombozlu olguların ve kontrol grubu olgularının yaş ve cinsiyetleri arasında istatistiki olarak anlamlı bir fark yoktu.

Tromboz saptanan 67 olgunun 26(%38)'sı Karadeniz bölgesinden olup, en yüksek oranı oluşturuyordu. Trombozlu olan olgularla kontrol grubunun bölgesel olarak karşılaştırılmasında ise Doğu Anadolu bölgesindeki hastaların oranı fazlaydı ($p=0.031$, $p<0,05$). Tablo 12'de trombozlu olguların ve kontrol grubunun bölgesel dağılımı izlenmektedir.

Çalışmamızda 67 trombozlu olgunun 18(%26.9)'inde, 22 kontrol grubunun 5(%22.7)'inde FVL mutasyonu pozitif olarak bulundu. Toplam 89 olgunun 23(%25.8)'ünde FVL mutasyonu pozitif olarak bulundu. Trombozlu grupta FVL mutasyonu pozitif saptanan 18 olgunun 16(%23,9)'sında FVL heterozigot mutant, 2(%3)'sinde ise homozigot mutant idi. Daha önceden yapılan çalışmalar Türkiye'de FVL mutasyon sıklığını %7,4-10,8 aralığında bildirmişlerdir. Başka bir çalışmada Türk populasyonunda mutasyon sıklığı Avrupa populasyonuna benzer olup %7,1-9,1 olarak bildirilmiştir(1,61,102,103). Bizim bu sonuçlarımız daha önceden yapılan çalışmalarla uyumsuz olup, diğer çalışmalara göre çok daha yüksek değerlerdedir. Kabaca her 4 kişiden birinde FVL mutasyonu pozitif saptanmış olup, çalışmamıza göre FVL mutasyonu pozitifliğinin Türk populasyonu için bir gen mutasyonu mu, yoksa polimorfizm mi olduğunu düşündürmektedir. Ancak bu konuda daha geniş populasyonla yapılacak çalışmalar faydalı olabilir.

Çalışmamızda trombozlu FVL pozitif olguların bölgesel dağılımına bakılınca en fazla pozitifliğin %50 ile İç Anadolu bölgesinde olduğu görülmekte idi. Bizim hasta grubumuzda Karadeniz bölgesinden 26 hastanın 7(%26,9)'sinde, Doğu Anadolu bölgesinden 21 hastanın 2(%9,5)'sinde, İç Anadolu bölgesinden 12 hastanın 6(%50)'sında, Marmara bölgesinden 5 hastanın 2(%40)'sinde, Güneydoğu Anadolu bölgesinden 3 hastanın 1(%33,3)'inde FVL mutasyonu pozitif olarak saptandı. Türk populasyonunda bölgesel farklılıklar olması beklenen bir sonuçtur. Literatürde ülkemizde bölgesel farklılıkları gösteren bir çalışma yoktur. Bu tür bir çalışmanın yapılmasına gerek duyulmaktadır. Ayrıca olgu-kontrol sayımızın azlığı da bu sonucu etkiliyor olabilir.

Trombozlu olgu grubundaki 21 DVT'li hastanın 7(%33,3)'sinde, 13 SVO'lu hastanın 5(%38,5)'inde ve 18 venöz sinüs trombozlu hastanın 2(%11,1)'sinde FVL mutasyonu pozitif olarak saptanmış olup trombozlara göre FVL mutasyonu pozitifliği görülme oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı (p=0,165 p>0,05). Trombozlu olgularda, FVL mutasyonu ile tromboz değerlendirmesi Tablo 16'da izlenmektedir.

Venöz trombozla birlikte FVL mutasyonu birlikteliğini gösteren çok sayıda çalışma olmasına rağmen, FVL mutasyonu ile serebrovasküler olaylar, kardiyak problemler ve periferik arter hastalığı gibi arteriyel tromboz birlikteliği ile ilgili sınırlı sayıda çalışma olup sonuçları birbiri ile uyuşmamaktadır.

Bahadır Ercan ve arkadaşlarının(5) FVL mutasyonu ve koroner arter hastalığı birlikteliği ile ilgili yaptıkları bir çalışmada 181 anjiografik olarak >%50 koroner arter darlığı olan hasta ile 106 kontrolü karşılaştırmışlar. 106 kontrol grubunun 7(%6,6)'sinde ve 181 hastanın 11(%6,1)'inde FVL mutasyonu pozitif olarak tespit edilmiş. Koroner arter hastalığı olan kişilerde FVL mutasyonu kontrol grubuna göre daha fazla saptanmasına rağmen koroner arter hastalığı ile FVL mutasyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı birliktelik saptanmamıştır.

Yine arteriyel trombozla FVL mutasyonu birlikteliğinin araştırılmasına yönelik Susanna Moskau ve arkadaşlarının(124) iskemik strok ve genetik koagulasyon faktörlerinin birlikteliğini araştırdıkları çalışmada 167 iskemik stroklu hasta ve 500 kontrol araştırılmış ve sonuçta FVL ve PT gen mutasyonu ile iskemik SVO arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmamıştır.

Arteriyel tromboz ve FVL mutasyonu birlikteliğinin olmadığını kanıtlayan diğer çalışmaların aksine Füsun Özmen ve arkadaşları(6) 30 akut okluzif periferik arter hastası ve 90 sağlıklı kontrol grubunda FVL mutasyon sıklığına bakmışlar. Hasta grubundaki 30 hastanın 6(%20)'sında ve 90 kontrolün 6'sında(%6,6) FVL mutasyonunu saptamışlar. Hasta grubundaki bu oran kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı oranda yüksek bulunmuştur (p=0,03 p<0,05). Eski çalışmalarla kıyaslandığında bu

çalışmada saptanan arteriyel trombozlu hastalardaki FVL mutasyon sıklığı şimdiye kadar saptanan en yüksek değer olarak bulunmuştur.

Bizim çalışmamızda trombozlu olgu grubundaki arteriyel trombozlu toplam 26 hastanın 21(%80,8)'inde FVL mutasyonu negatif ve 5(%19,2)'inde ise FVL mutasyonu pozitif olarak saptandı. Çalışmamızda arteriyel trombozlu hasta grubunun %19,2'sinde ve kontrol grubunun %22,7'sinde FVL mutasyonu pozitif olarak saptandı. Arteriyel trombozlu hastalar ve kontrol grubu arasında FVL mutasyonu pozitifliği görülme oranları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadı ($p=0,766$ $p<0.05$). Arteriyel trombozlu grup ve kontrol grubu arasındaki FVL mutasyonuna ilişkin karşılaştırma Tablo 20'de izlenmektedir.

FVL mutasyonu ve venöz tromboz birlikteliği ile ilgili 2 büyük çalışma bulunmaktadır. LETS(The Leiden Thrombophilia Study)(127) çalışmasında; 70 yaş altında, kanser tanısı bulunmayan ve ilk DVT atağı olan Alman hastalar alınmış. LITE(The Longitudinal İnvestigation of Thromboembolism)(128) çalışmasında; 65-100 yaş arası, kadın ve erkek, FVL mutasyonu pozitif olarak saptanmış 21,680 Amerika Birleşik Devletleri vatandaşı çalışmaya alınmış, DVT ve PTE açısından takip edilmiş. Heterozigot FVL mutasyonu saptanan hastalarda LETS çalışmasında venöz tromboz için risk 8,1 kat, LITE çalışmasında ise 3,7 kat artmış olarak saptanmış. Homozigot FVL mutasyonu saptanan hastalarda risk sırası ile LETS çalışmasında 80 kat, LITE çalışmasında ise 24 kat artmış olarak saptanmış. LETS çalışmasında risk oranlarının daha yüksek saptanması bu çalışmada hasta grubunun daha genç olmasına ve daha çok hastanın OKS kullanmasına bağlanmış. Bu iki çalışmada heterozigot FVL mutasyonu saptanan hastalarda ortalama venöz tromboz geliştirme yaşı 44, homozigotlarda ise 31 olarak saptanmış(127,128).

Rosendaal ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada ise <70 yaş altındaki genel populasyonda heterozigot mutasyonun venöz tromboz riskini 7 kat, homozigot mutasyonun ise 80 kat arttırdığı saptanmış(81).

Başka bir çalışmada da heterozigot mutasyonun venöz tromboz riskini 4-80 kat, homozigot mutasyonun ise 30-140 kat arttırdığı saptanmıştır.(126)

çalışmada saptanan arteriyel trombozlu hastalardaki FVL mutasyon sıklığı şimdiye kadar saptanan en yüksek değer olarak bulunmuştur.

Bizim çalışmamızda trombozlu olgu grubundaki arteriyel trombozlu toplam 26 hastanın 21(%80,8)'inde FVL mutasyonu negatif ve 5(%19,2)'inde ise FVL mutasyonu pozitif olarak saptandı. Çalışmamızda arteriyel trombozlu hasta grubunun %19,2'sinde ve kontrol grubunun %22,7'sinde FVL mutasyonu pozitif olarak saptandı. Arteriyel trombozlu hastalar ve kontrol grubu arasında FVL mutasyonu pozitifliği görülme oranları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadı ($p=0,766$ $p<0.05$). Arteriyel trombozlu grup ve kontrol grubu arasındaki FVL mutasyonuna ilişkin karşılaştırma Tablo 20'de izlenmektedir.

FVL mutasyonu ve venöz tromboz birlikteliği ile ilgili 2 büyük çalışma bulunmaktadır. LETS(The Leiden Thrombophilia Study)(127) çalışmasında; 70 yaş altında, kanser tanısı bulunmayan ve ilk DVT atağı olan Alman hastalar alınmış. LITE(The Longitudinal İnvestigation of Thromboembolism)(128) çalışmasında; 65-100 yaş arası, kadın ve erkek, FVL mutasyonu pozitif olarak saptanmış 21,680 Amerika Birleşik Devletleri vatandaşı çalışmaya alınmış, DVT ve PTE açısından takip edilmiş. Heterozigot FVL mutasyonu saptanan hastalarda LETS çalışmasında venöz tromboz için risk 8,1 kat, LITE çalışmasında ise 3,7 kat artmış olarak saptanmış. Homozigot FVL mutasyonu saptanan hastalarda risk sırası ile LETS çalışmasında 80 kat, LITE çalışmasında ise 24 kat artmış olarak saptanmış. LETS çalışmasında risk oranlarının daha yüksek saptanması bu çalışmada hasta grubunun daha genç olmasına ve daha çok hastanın OKS kullanmasına bağlanmış. Bu iki çalışmada heterozigot FVL mutasyonu saptanan hastalarda ortalama venöz tromboz geliştirme yaşı 44, homozigotlarda ise 31 olarak saptanmış(127,128).

Rosendaal ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada ise <70 yaş altındaki genel populasyonda heterozigot mutasyonun venöz tromboz riskini 7 kat, homozigot mutasyonun ise 80 kat arttırdığı saptanmış(81).

Başka bir çalışmada da heterozigot mutasyonun venöz tromboz riskini 4-80 kat, homozigot mutasyonun ise 30-140 kat arttırdığı saptanmıştır.(126)

Rahimi Z. ve arkadaşlarının Kuzey Irak'ta yaptıkları bir çalışmada FVL mutasyonunun venöz sinüs trombozu riskini kontrol grubuna göre 9,8 kat olacak şekilde anlamlı derecede arttırdığı saptanmıştır.(2)

Bizim çalışmamızda venöz trombozu olan 41 olgunun 13(%31,7)'ünde FVL mutasyonu pozitif olarak saptandı. Kontrol grubundaki 22 olgunun 5(%22,7)'inde FVL mutasyonu pozitif olarak saptandı ($p=0,452$ $p<0,05$). Bizim çalışmamızda diğer çalışmaların aksine venöz tromboz ile FVL mutasyonu arasında anlamlı bir ilişki bulunmadı. Çalışmamızda FVL mutasyonu ile venöz tromboz arasında ilişki olduğunu gösteren diğer çalışmalara göre anlamlı bir ilişki bulunmamasının nedenleri; diğer çalışmalara göre hasta sayısının daha az olması, yapılan diğer tüm çalışmalarda kontrol grubu olarak tamamen sağlıklı bireyler alınmış olması olabilir. Ayrıca bizim çalışmamızda kontrol grubu olarak, klinik olarak tromboz düşünülüp radyolojik görüntüleme ve laboratuvar yöntemleriyle tromboz tanısı ekarte edilmiş olguların alınmış olması sonucu etkiliyor olabilir.

SONUÇ:

FVL mutasyon sıklığının ülkemizde çok yaygın olduğunu ve özellikle bölgesel dağılım açısından anlamlı farlılıklar bulunduğunu söyleyebiliriz. Ancak bölgesel dağılım açısından daha geniş kapsamlı ve populasyonlu çalışmaların yapılması uygun olacaktır. Ayrıca FVL mutasyonunun tromboz için tek başına bir risk faktörü olmadığı, diğer genetik ve edinsel risk faktörleriyle birlikteliğinin tromboz gelişimi için önemli olduğunu söyleyebiliriz.

6. ÖZET

Trombofili (Thrombo-philia: trombozu sevme), tromboza eğilim yaratan tabloları tanımlamakta kullanılan bir terimdir. Patogenezi multifaktöriyeldir, edinsel ve genetik faktörleri içerir(1). FVL mutasyonu genetik risk faktörleri arasında en sık görülenlerden biri olup, sıklığı toplumlar ve ırklar arasında farklılık göstermektedir. FVL mutasyonu prevalansı normal populasyonda %2-14 olarak bildirilmiş, dağılımdaki farklılık etnik ve coğrafik değişikliklere bağlanmıştır. Türk populasyonunda FVL mutasyon sıklığı Avrupa populasyonuna benzer olup %7,1-9,1 olarak bildirilmiştir.(1,61,102,103)

Venöz trombozla FVL mutasyonu birlikteliğini gösteren çok sayıda çalışma olmasına rağmen, FVL mutasyonu ve arteriyel tromboz birlikteliği ile ilgili sınırlı sayıda çalışma olup sonuçları birbiri ile uyuşmamaktadır(104,105).

Retrospektif olarak tasarlanan çalışmamıza 01.01.2008-01.01.2010 tarihleri arasında S.B. Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi'nde klinik olarak arteriyel ve/veya venöz tromboz ön tanısı ile FVL mutasyon tetkiki gönderilmiş ve trombozu radyolojik görüntüleme yöntemleri ve laboratuar tetkikleri ile ispatlanmış, nöroloji, genel cerrahi ve iç hastalıkları kliniklerinde yatarak veya ayaktan izlenmiş olguların trombozlu olgular (Grup I) olarak alınması planlandı. Klinik olarak arteriyel ve/veya venöz tromboz ön tanısı ile FVL mutasyon tetkiki gönderilmiş ancak radyolojik görüntüleme yöntemleri ve laboratuvar tetkikleri sonucunda tromboz varlığı saptanmamış, nöroloji, genel cerrahi ve iç hastalıkları kliniklerinde yatarak veya ayaktan izlenmiş olguların kontrol grubu (Grup II) olarak alınması planlandı.

Çalışmaya alınan olguların yaş, cinsiyet, memleket, aile öyküsü, kadınlar için düşük öyküsü, Hgb ve Htc değerleri, Plt sayısı, PTZ, INR ve aPTT değerleri, tromboz yeri, tromboz tanısında kullanılan radyolojik görüntüleme yöntemi ve FVL mutasyon analizi sonuçları değerlendirmeye alındı.

Çalışmamızda 67 trombozlu olgunun 18(%26.9)'inde FVL mutasyonu pozitif olarak saptandı, bu 18 olgunun da 16(%23,9)'sında FVL heterozigot mutant, 2(%3)'sinde FVL homozigot mutant olarak saptandı, 22 kontrol

grubunun 5(%22.7)'inde FVL mutasyonu pozitif olarak bulundu. Toplam 89 olgunun 23(%25.8)'ünde FVL mutasyonu pozitif olarak bulundu. Türkiye'de yapılan farklı çalışmalarda FVL mutasyon sıklığı %7-12 arasında değişmekte olup, sonuçlarımız daha önceden yapılan çalışmalarla uyumsuz olarak saptandı ve diğer çalışmalara göre daha yüksek değerlerde idi.

Trombozlu olguların ve kontrol grubunun bölgelere göre dağılımları incelendiğinde bölgeler arasında istatistiki olarak anlamlı farklılık görüldü ($p=0,031$; $p<0,05$).

Trombozlu olgularda, trombozlara (DVT, SVO, Venöz sinüs) göre FVL mutasyonu pozitifliği görülme oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadı ($p= 0,165$ $p>0.05$).

Arteriyel ve venöz trombozlu grup kontrol grubu ile karşılaştırıldığında FVL mutasyonu pozitifliği görülme oranları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadı ($p=0,766$, $p=0.452$).

Trombozlu grupta FVL mutasyonu, pozitif olan kadın olgular ile negatif olan kadın olguların, pozitif olan erkek olgular ile negatif olan erkek olguların yaş ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadı ($p=0,633$, $p=0,631$).

Sonuç olarak; FVL mutasyon sıklığının ülkemizde çok yaygın olduğunu ve özellikle bölgesel dağılım açısından anlamlı farlılıklar bulunduğunu söyleyebiliriz. Ancak bölgesel dağılım açısından daha geniş kapsamlı ve populasyonlu çalışmaların yapılması uygun olacaktır. Ayrıca FVL mutasyonunun tromboz için tek başına bir risk faktörü olmadığı, diğer genetik ve edinsel risk faktörleriyle birlikteliğinin tromboz gelişimi için önemli olduğunu söyleyebiliriz.

7. KAYNAKLAR

1. Akar N: Factor V 1691 G-A mutation distribution in a healthy Turkish population. Turk J Hematol 2009: 26; 9-11

2. Rahimi Z, Mozafari H, Bigvand AH, Doulabi R, Vaisi-Raygani A, Afshari D, Razazian N, Rezaei M: Cerebral venous and sinus thrombosis and thrombophilic mutations in Western Iran: Association with Factor V Leiden. Clin Appl Thromb Hemost 2009. In press.

3. Pestana CI, Torres A, Blanco S, Rojas MJ, Mendez C, Lopez JL, de Bosch NB, Porco A: Factor V Leiden and the risk of venous thrombosis, myocardial infarction, and stroke: A case-control study in Venezuella. Genet Test Mol Biomarkers 2009: 13(4); 537-542

4. Biswas A, Bajaj J, Ranjan R, Meena A, Akhter MS, Yadav BK, Sharma V, Saxena R: Factor V Leiden: Is it the chief contributor to activated Protein C resistance in Asian-Indian patients with deep vein thrombosis? Clin Chim Acta 2008: 392; 21-24

5. Ercan B, Tamer L, Sucu N, Pekdemir H, Çamsarı A, Atik U: Factor V Leiden and Prothrombin G20210A gene polymorphisms in patients with coronary artery disease. Yonsei Med J 2008: 49(2); 237-243

6. Özmen F, Özmen M, Özalp N, Akar N: The prevalence of Factor V (G1691A), MTHFR (C677T) and PT (G20210A) gene mutations in arteriyel thrombosis. Ulusal Travma ve Acil Cerrahi Dergisi 2009: 15(2); 113-119

7. Deitcher SR, Rodgers GM: Thrombosis and antithrombotik therapy. Wintrobe's Clinical Hematology. In: Greer JP, Foerster J, Lukens JN, Rodgers GM, Paraskevas F, Glader B (eds). Lippincott (11nd ed). Philadelphia: Williams and Wilkins Co, 2004: 1713-1758

8. Handin RI: Disorders of coagulation and thrombosis. In: Braunwald E, Fauci AS, Kasper DL, Hauser SL, Longo DL, Jameson JL (eds). Harrison's Principles of Internal Medicina (15nd ed). New York: McGraw-Hill Co, 2001: 751-757

9. Schulman S: Inherited thrombophilia. In: Lugassy G, Brenner B, Schulman S, Samama MM, Cohen M (eds). Thrombosis and Antithrombotic Therapy. London 2000: 21-35

10. High KA: Antithrombin III, Protein C ve Protein S. Naturally occuring anticogulant proteins. Arch Pathol Lab Med 1988: 112; 28-36

11. Ulutin ON: Doğal inhibitörler. Klinik gelişim 1991: 26; 1484-1488

12. Rosendaal FR: Venous thrombosis: A multicausal disease. Lancet 1999: 353; 1167-1172

13. De Stefano V, Finazzi G, Mannucci M: Inherited thrombophilia: Pathogenesis, clinical syndromes, and management. Blood 1996: 87; 3531-3544

14. Goodnight SH, Griffin JH: Hereditary thrombophilia. In: Beutler E, Lichtman MA, Coller BS, Kipps TJ, Seligsohn U (eds). Williams Hematology (8nd ed). New York: McGrawHill Co, 2001: 1679-1714

15. Bauer KA: The hipercoagulable state. In: Ratnoff OD, Forbes CD (eds). Disorders of Hemostasis (3nd ed). Philadelphia: WB Saunders Co, 1996: 228-258

16. Hultin MD: Antithrombin III assays. In: Buetler E, Licthman MA, Coller BS, Kipps TS (eds). Williams Hematology (5nd ed). New York: McGrawHill Inc, 1995: 101-109

17. Meade T, Dyer S, Howard WD, İmeson J, Stirling Y. Antithrombin III and procoagulant activity: Sex differences and effects of the menapouse. Br J Heamatol 1989: 74; 77-81

18. Anderson FA Jr, Wheeler HB, Goldberg RJ, et al: A population-based perspective of the hospital incidence and case-fatality rates of deep vein thrombosis and pulmonary embolism. The Worcester DVT Study. Arch Intern Med 1991: 151; 933-938

19. Gastineau DA: Initiation and control of coagulation. Manuel of Clinical Hematology. In: Mazza JJ (eds). Lippincott (3nd ed). Philadelphia: Williams and Wilkins Co, 2002: 355-368

20. Hirsh J, Piovella F, Pini M: Congenital Antithrombin III deficiency. Incidence and clinical features. Am J Med 1989: 87(3B); 34-38

21. Van Boven HH, Vandenbroucke JP, Westendorp RGJ, Rosendaal FR: Mortality and causes of death in inherited antithrombin deficiency. Thromb Haemost 1997: 77(3); 452-455

22. Kottke-Marchant K, Duncan A: Antithrombin deficiency: Issues in laboratory diagnosis. Arch Pathol Lab Med 2002: 126; 1326-1336

23. Hirsh J, Dalen JE, Anderson DR, Poller R, Bussey H, Ansell J, Deykin D, Brandt JT: Oral antikoagulants: Mechanism of Action, Clinicial Effectiveness, and Optimal Therapeutic Range. Chest 114(5 suppl); 1998: 445-469

24. Kauffmann RH, Veltkamp JJ, Van Tilburg NH, Van Es LA: Acquired Antithrombin III deficiency and thrombosis in the nephrotic syndrome. Am J Med 1978: 65; 607-613

25. Friedman KD, Borok Z, Owen J: Heparin cofaktor activity and Antithrombin III antigen levels in preeclampsia. Thromb Res 1986: 43; 409-416

26. Ball AP, McKee PA: Fibrin formation and dissolution in women receiving oral contraceptive drugs. J Lab Clin Med 1977: 89; 751-762

27. De Stefano V, Rossi E, Leone G: Inherited thrombophilia, pregnancy, and oral contraceptive use: Clinical implications. Semin Vasc Med 2003: 3; 47-60

28. Tollefsen DM, Pestka CA, Monafo WJ: Activation of Heparin Cofactor II by dermatan sulfate. J Biol Chem 1983: 258; 6713-6716

29. Corral J, Aznar J, Gonzalez-Conejero R, Villa P, Minano A, Vaya A, Carrel RW, Huntington JA, Vicente V: Homozygous deficiency of Heparin Cofactor II: Relevance of P17 Glutamate residue in serpins, relationship with conformational diseases, and role in thrombosis. Circulation 2004: 110; 1303-1307

30. Dai CW, Zhang GS: Heparin Cofactor II(HCII) activity and antigen assay and their significance in thrombotic diseases. Zhonghua Xue Ye Xue Za Zhi 2003: 24(9); 452-454

31. Bick RL: Prothrombin G20210A mutation, Antithrombin, Heparin Cofactor II, Protein C and Protein S deffects. Hematol Oncol Clin North Am 2003: 17(1); 9-36

32. Bick RL, Kaplan H: Syndromes of thrombosis and hypercoagulability. Congenital and acquired causes of thrombosis. Med Clin Nort Am 1998: 82; 409-458

33. Özdemir O, Dündar S: Trombotik Hastalıklara Yaklaşım. Tromboz Bülteni I-II. 1996 s:3-23

34. Rapaport SI: The extrinsic pathway inhibitor: A regular of tissue factor dependent blood coagulation. Thromb and Haemost 1991: 66(1); 6-15

35. Griffin JH: Control of coagulation reactions. In: Beutler E, Lichtman MA, Coller BS, Kipps TJ, Seligsohn U (eds). Williams Hematology (8nd ed). New York: McGrawHill Co, 2001: 1435-1449

36. Griffin JH, Evatt B, Zimmerman TS, Kleiss AJ, Wideman C: Deficiency of Protein C in congenital thrombotic disease. J Clin İnvest 1981: 68; 1370-1373

37. Broze JG, Miletich JP: Biochemistery and phisyology Protein C, Protein S and Trombomodulin. In: Colman RW, Hirsh J, Marder VJ, Salzman EW (eds). Hemostasis and Thrombosis Basic Principles and Clinical Practices (3nd ed). Philadelphia: JB Lippincott Ca, 1994: 259-276

38. Esmon CT: The regulation of natural anticoagulant pathways. Science 1987: 235; 1348-1352

39. Clouse LH, Comp PC: The regulation of hemostasis: The Protein C system. N Eng J Med 1986: 314; 1298-1304

40. Kohler J, Kasper J, Witt I, Von Reutern GM: Ischemic stroke due to Protein C deficiency. Stroke 1990: 21; 1077-1080

41. Camerlingo M, Finnazi G, Casto L: Inherited Protein C deficiency and nonhemorrhagic arterial stroke in young adults. Neurology 1991: 41; 1371-1373

42. Abu-Amero KK, Al-Hamed MH, Al-Batniji FS: Homozygous Protein C deficiency with purpura fulminans: Report of a new case and a description of a novel mutation. Blood Coagulation and Fibrinolysis 2003: 14; 303-306

43. Roche-Nagle G, Robb W, Ireland A, Bouchier-Hayes D: Extensive skin necrosis associated with warfarin sodium therapy. Eur J Vasc Endovasc Surg 2003: 25; 481-482

44. Scarff CE, Baker C, Hill P, Foley P: Late-onset warfarin necrosis. Australas J Dermatol 2002: 43(3); 202-206

45. Ad-El DD, Meirovitz A, Weinberg A, Kogan L, Arieli D, Neuma A, Linton D: Warfarin skin necrosis: Local and systemic factors. Br J Plast Surg 2000: 53; 624-626

46. Bhattacharyya M, Makharia G, Kannan M, Ahmed RP, Gupta PK, Saxena R: Inherited prothrombotic defects in Budd-Chiari syndrome and portal vein thrombosis: A study from North İndia. Am J Clin Pathol 2004: 121; 844-847

47. Poujol-Robert A, Rosmorduc O, Serfaty L, Coulet F, Poupon R, Robert A: Genetic and acquired thrombotic factor in chronic hepatitis C. Am J Gastroenterol 2004: 99; 527-531

48. Enevoldson TP, Ross Russell RW: Cerebral venous thrombosis: New causes for an old syndrome. Q J Med 1990: 77; 1255-1275

49. Öner F, Kaya A, Doğan R, Numanoğlu N: Genetic risk factors of venous thromboembolism. Tuberk Toraks 2003: 51; 60-69

50. Deitcher SR, Kottke-Marchant K: Pseudo-Protein S deficiency due to activated Protein C resistance. Thromp Res 2003: 112; 349-353

51. Zoller B, Berntsdotter A, Garcia de Frutos P, Dahlback B: Resistance to activated Protein C as an additional genetic risk factor in hereditary deficiency of Protein S. Blood 1995: 85; 3518-3523

52. D'Angelo A, Vigano-D'Angelo S, Esmon CT, Comp PC: Acquired deficiencies of Protein S: Protein S activity during oral anticoagulation, in liver disease, and in disseminated intravasculer coagulation. J Clin Invest 1988: 81; 1445-1454

53. Vigano-D'Angelo S, D'Angelo A, Kaufman CE Jr, Sholer C, Esmon CT, Comp PC: Protein S deficiency occur in the nephrotic syndrome. Ann Intern Med 1987: 107; 42-47

54. Levin M, Eley BS, Louis J, Cohen H, Young L, Heyderman RS: Postinfectious purpura fulminans caused by an autoantibody directed against Protein S. J Pediatr 1995: 127; 355-363

55. Margaret ER: Protein C and Protein S. JAMA 1990: 263; 701-703

56. Kunz G, Ohlin AK, Adami A, Zöller B, Svensson P, Lane DA: Naturally occuring mutations in the thrombomodulin gene leading to impaired expression and function. Blood 2002: 99; 3646-3653

57. Faioni EM, Franchi F, Castaman G, Biguzzi E, Rodeghiero F: Mutations in the thrombomodulin gene are rare in patients with severe thrombophilia. Br J Haematol 2002: 118; 595-599

58. Welch GN, Loscalzo J: Homocysteine and atherothrombosis. N Engl J Med 1998: 338; 1042-1050

59. D'Angelo A, Selhub J: Homocysteine and thrombotic disease. Blood 1997: 90; 1-11

60. Key NS, McGlennen RC: Hyperhomocyst(e)inemia and Thrombophilia. Arch Pathol Lab Med 2002: 126; 1367-75

61. De Stefano V, Chiusolo P, Paciaroni K, Leone G: Epidemiology of Factor V Leiden: Clinical implications. Seminars in Thrombosis and Haemostasis 1998: 24; 367-379

62. Welch GN, Loscalzo J: Homocysteine and Atherothrombosis. N Eng J Med 1998: 338; 1042

63. Deitcher SR, Caiola E, Jaffer A: Demiystifying two common genetic predisposition to venous thrombosis. Cleve Clin J Med 2000: 67; 825-836

64. Warshawsky I, Hren C, Sercia L, Shadrach B, Deitcher SR, Newton E, Kottke-Marchant K: Detection of a novel point mutation of the Prothrombin gene at position 20209. Diagn Mol Pathol 2002: 11; 152-156

65. McGlennen RC, Key NS: Clinical and laboratory management of the Prothrombin G20210A mutation. Arch Pathol Lab Med 2002: 126; 1319-1325

66. 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

67. Dahlback B, Carlsson M, Svensson PJ: Familial thrombophilia due to a previously unrecognized mechanism characterized by poor anticoagulant response to activated Protein C: Prediction of a cofactor to activated Protein C. Proc Natl Acad Sci 1993: 90; 1004-1008

68. Dahlback B: Physiological anticoagulation. Resistance to activated Protein C and venous thromboembolism. Clin J Invest 1994: 74; 923-927

69. Dahlback B, Hildebrand B: Inherited resistance to activated Protein C is corrected by anticoagulant cofaktor activity found to be a property of Factor V. Proc Natl Acad Sci 1994: 91; 1396-1400

70. Dahlback B: Inherited resistance to activated Protein C, a major cause of venous thrombosis, is due to a mutation in the Factor V gene. Haemostasis 1994: 24; 139-151

71. Griffin JH, Evatt B, Wideman C, Fernandez JA: Anticoagulant Protein C pathway defective in majority of thrombophilic patients. Blood 1993: 82; 1989-1993

72. Bertina RM, Koeleman BPC, Koster T, Rosendaal FR, Dirven RJ, Ronde H, et al: Mutation in blood coagulation Factor V associated with resistance to activated Protein C. Nature 1994: 369; 64-67

73. Majerus PW: Bad blood my mutation. Nature 1994: 369; 14-15

74. Vooberg J, Roelse J, Koopman R, Büller H, Berends F, Ten Cate JW, et al: Associated of idiopathic thromboembolism with single point mutation at Arg 506 of Factor V. Lancet 1996: 343; 1535-1536

75. Hillarp A, Zöller B, Dahlback B: Activated Protein C resistance as a basis for venous thrombosis. Am J Med 1996: 101; 534-540

76. Sun X, Evatt B, Griffin JH: Blood coagulation Factor Va abnormality associated with resistance to activated Protein C in venous thrombophilia. Blood 1994: 83; 3120-3125

77. Greengard JS, Sun X, Xu X, Fernandez JA, Griffin JH, Evatt B: Activated Protein C resistance caused by Arg506Gln mutation in Factor Va. Lancet 1994. 343; 1361-1362

78. Zöller B, Dahlback B: Linkage between inherited resistance to activated Protein C and Factor V gene mutation in venous thrombosis. Lancet 1994: 343; 1536-1538

79. Koster T, Rosendaal FR: Activated Protein C resistance in venous thrombosis. Lancet 1994: 343; 541

80. Vandenbroucke JP, Koster T, Briet E, Reistma PH, Bertina RM, Rosendaal FR. Increased risk of venous thrombosis in oral contraseptive users who are carriers of Factor V Leiden mutation. Lancet 1994: 344; 1453-1457

81. 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

82. Dahlback B: Inherited thrombophilia: Resistance to activated Protein C as a pathogenic factor of venous thromboembolism. Blood 1995: 85; 607-614

83. Svensson PJ, Dahlback B: Resistance to activated Protein C as a basis for venous thrombosis. N Eng J Med 1994: 330; 517-522

84. Vasse M, Leduc O, Borg JY, Chretien MH, Monconduit M: Resistance to activated Protein C: Evaluation of three functional assays. Thrombosis Research. 1994: 76; 47-59

85. Varadi K, Moritz B, Lang H, Bauer K, Preston E, Peake I, et al: A chromogenic assay for activated Protein C resistance. Br J Haematol 1995: 90; 884-891

86. Cumming AM, Tait RC, Fildes S, Yoong A, Keeney S, Hay CRM: Development of resistance to activated Protein C during pregnancy. Br J Haematol 1995: 90; 725-727

87. Hellgren M, Svensson PJ, Dahlback B: Resistance to activated Protein C as a basis for venous thromboembolism associated with pregnancy and oral contraseptives. Am J Obstet Gynecol 1995: 173; 210-213

88. Lane DA, Manucci PM, Bauer KA: Inherited thrombophilia: Part-1. Thromb Haemost 1996: 76; 651-662

89. Falcon CR, Cattaneo M, Panzeri D, Martinelli I, Manucci PM: High prevalence of hyperhomocyst(e)inemia in patients with juvenile venous thrombosis. Arterioscler Thromb 1994: 14; 1080-1083

90. Bauer K: The Hipercoagulable State. In: Beutler E, Lichtman MA, Coller BS, Kipps TS (eds). Williams Hematology (5nd ed). New York: McGraw-Hill Inc, 1995: 1531-1550

91. Makris M, Rosendaal FR, Preston FE: Familial thrombophilia: Genetic risk factors and management. J Int Med 1997: 242; 9-15

92. Lane DA, Manucci PM, Bauer KA: Inherited thrombophilia: Part-2. Thromb Haemost 1996: 76; 824-834

93. Rodgers GM: Thrombosis and antithrombotic therapy. In: Lee GR, Ferster J, Lukens J, Paraskevas F, Greer IP, Rodgers GM (eds). Wintrobe's Clinical Hematology Vol 2 (10nd ed). Baltimore: W.W. co, 1999: 1781-1818

94. Joseph L: Pathogenesis of Thrombosis. In: Beutler E, Lichtman MA, Coller BS, Kipps TS (eds). Williams Hematology (5nd ed). New York: McGraw-Hill Inc, 1995: 1525-1531

95. Jolyan J, Yale N: The Pathway of Blood Coagulation. In: Beutler E, Litchman MA, Coller BS, Kipps TS (eds). Williams Hematology (5nd ed). New York: McGraw-Hill Inc, 1995: 1227-1238

96. Parise LV, Proudhon CB, Keely PJ, Naik UP: Platelet in Hemostasis and Thrombosis. In: Lee GR, Ferster J, Lukens J, Paraskevas F, Greer IP, Rodgers GM (eds). Wintrobe's Clinical Hematology Vol 1 (10nd ed). Baltimore: W.W. co, 1999: 661-683

97. Atamer T: Hemostaz mekanizması. Türk Hematoloji Derneği. Temel Hemostaz Tromboz Kursu. 2007

98. Salzman EW: Plasma Coagulation Factors. In: Colman RW, Hirsh J, Marder VJ, Salzman EW (eds). Hemostasis and Thrombosis Basic Principles and Clinical Practice (3nd ed). Philadelphia: JB Lippincott Co, 1994: 3-18

99. Weinmann EE, Salzman EW: Deep-vein thrombosis. N Eng J Med 1994: 331; 1630-1641

100. Salzman EW, Hirsh J: The Epidemiology, Pathogenesis and Natural History Venous Thrombosis. In: Colman RW, Hirsh J, Marder VJ, Salzman EW (eds). Hemostasis and Thrombosis. Basic Principles and Clinical Practice (3nd ed). Philadelphia: JB Lippincott Co, 1994: 1275-1296

101. Schafer AI: Hypercoagulable states: Moleculer genetics to clinical practice. Lancet 1994: 344; 1739-1742

102. Rees DC, Cox M, Clegg JB: World distribution of Factor V Leiden. Lancet 1995: 346; 1133-1134

103. Rees DC: The population genetics of Factor V Leiden (Arg506Gln). Br J Haematol 1996: 95; 579-586

104. Holm J, Zöller B, Berntorp E, Svensson PJ, Erhardt L, Dahlback B: Myocardial infarction associated with homozygous resistance to activated Protein C. Lancet 1994: 344; 952-953

105. Fisher M, Fernandez JA, Ameriso SF, Xie D, Gruber A, Paganini-Hill A, Griffin JH: Activated Protein C resistance in ischemic stroke not due to Factor V Arginin506Glutamine mutation. Stroke 1996: 27; 1163-1166

106. Ridker PM, Hennekens CH, Lindpaintner KA, Stampfer MJ, Eisenberg PR, Milletich JP: Mutation in the gene coding for coagulation Factor V and the risk of myocardial infarction, stroke, and venous thrombosis in apparently healthy men. N Eng J Med 1995: 332; 912-917

107. Rosendaal FR, Doggen CJ, Zivalin A, Arruda VR, Aiach M, Siscovick DS, Hillarp A, Watzke HH, Bernardi F, Cumming AM, Preston FE, Reitsma PH: Geographic distribution of the 20210 G to A prothrombin variant. Thromb Haemost 1998: 79; 706-708

108. Özbek U, Tangün Y: Frequency of Factor V Leiden(Arg506Gln) in Turkey. Br J Haematol 1997: 97; 504-505

109. Rosendaal FR, Siscovick DS, Schwartz SM, Beverly RK, Psaty BM, Longstreth WT Jr, Raghunathan TE, Koepsell TD, Reitsma PH: Factor V Leiden (Resistance to activated Protein C) increases the risk of myokardial infarction in young women. Blood 1997: 89; 2817-2821

110. Rodeghiero F, Tosetto A: Activated Protein C resistance and Factor V Leiden mutation are independent risk factors for venous thromboembolism. Ann Intern Med 1999: 130; 643-650

111. Akar N: Trombozda moleküler değişimler. In: Ulutin O, Cin Ş (eds). Neonatal Hemostaz ve Tromboz. 1999: s.175-185

112. Kullo IJ, Gau GT, Tajik AJ: Novel risk factors for atherosclerosis. Mayo Clin Proc 2000: 75; 369-380

113. Friberger P, Knos M, Gustavsson S, Aurell L, Claeson G: Methods for determination of plasmin, antiplasmin and plasminogen by means of substrate S-2251. Haemostasis 1978: 7; 138-145

114. Rosendaal FR: Risk factor for venous thrombosis: Prevalence, risk, and interaction. Semin Hematol 1997: 34; 171-187

115. Koeleman BPC, Reitsma PH, Allart CF, Bertina RM: Activated Protein C resistance as an additional risk factor for thrombosis in Protein C deficient families. Blood 1994: 84; 1031-1035

116. Zöller B, Berntsdotter A, de Frutos PG, Dahlback B: Resistance to activated Protein C as an additional risk factor in hereditary risk deficiency of Protein S. Blood 1995: 85; 3518-3523

117. Deitcher SR, Carman TL, Sheikh MA, Gomes M: Hypercoagulable syndromes: Evaluation and management strategies for acute limb ischemia. Semin Vasc Surg 2001: 14; 74-85

118. Deitcher SR, Gomes MPV: Hypercoagulable state testing and malignancy screening following venous thromboembolic events. Vasc Med 2003: 8; 33-46

119. Robetorye RS, Rodgers GM: Update on selected inherited venous thrombotic disorders. Am J Hematol 2001: 68; 256-268

120. Bauer KA: Hypercoagulability: A new cofactor in the Protein C anticoagulant pathway. New Eng J Med 1994: 330; 566-567

121. Ohls RK, Christensen RD: Anticoagulant and thrombolytic therapy. In: Behrman RE, Kliehman RM, Jensen HB (eds). Nelson Textbook of Pediatrics (16nd ed). Philadelphia: WB Saunders Company, 2000: 1516-1518

122. Gül A, Özbek U, Öztürk C, İnanç M, Koniçe M, Özçelik T: Coagulation Factor V gene mutation increases the risk of venous thrombosis in Behçet's disease. Br J Rheumatol 1996: 35; 1178-80

123. Akar N, Akar E, Dalgın G, Sözüöz A, Ömürlü K, Cin Ş: Frequency of Faktor V (1691G→A) mutation in Turkish population. Thromb Haemost 1997: 78; 1527-1528

124. Moskau S, Smolka K, Semmler A, Schweichel D, Harbrecht U, Müller J, Pohl C, Klockgether T, Linnebank M: Common genetic coagulation variants are not associated with ischemic stroke in a casecontrol study. Neurol Res 2009

125. Rosendorff A, Dorfman DM: Activated Protein C resistance and Factor V Leiden. Arch Pathol Lab Med 2007: 131; 866-871

126. Ridker PM, Miletich JP, Stampfer MJ, et al: Factor V Leiden and risks of recurrent idiopathic venous thromboembolism. Circulation 1995: 92; 2800-2802

127. Van der Meer FJ, Koster T, Vandenbroucke JP, Briet E, Rosendaal FR: The Leiden Thrombophilia Study (LETS). Thromb Haemost 1997: 78; 631-635

128. W Tsai A, Cushman M, Rosamond WD, Hackbert SR, Tracy RP, Aleksic N, Folsom AR: Coagulation factors, inflammation markers, and venous thromboembolism: The Longitudinal Investigation of Thromboembolism Etiology (LITE). The American Journal of Medicine 2002: 113; 636-642