

Klinik Çalışma

HAYDARPAŞA NUMUNE EĞİTİM VE ARAŞTIRMA HASTANESİNDE SON İKİ YILDA ARTERİYEL VE VENÖZ TROMBOZ SAPTANAN HASTALARDA FAKTÖR V LEİDEN SIKLIĞI

Toluy ÖZGÜMÜŞ¹, Müjdat KAHRAMAN¹, Tolga GÜMÜŞKEMER¹, Mustafa M. GÜLDÜ¹, Ozan DURMAZ¹, Alper BAYRAK¹, Eray YILDIZ¹, Pınar Ata EREN², Funda TÜRKMEN¹

ÖZET

Amaç: Faktör V Leiden (FVL) gen mutasyonu, tromboza eğilim yaratan genetik risk faktörleri arasında en sık görülenlerden biridir. Bu çalışmada son iki yılda Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesine tromboz saptanan olgularda, FVL gen mutasyonunun sıklığını, arteriyel ve venöz tromboz ile ilişkisini araştırmayı amaçladık.

Gereç ve Yöntem: Gözlemsel, olgu- kontrollü, retrospektif olarak tasarlanan çalışmaya, 2008-2010 tarihleri arasında nöroloji, genel cerrahi, iç hastalıkları kliniklerinde yatarak veya ayaktan izlenen, arteriyel ve/veya venöz trombozu klinik olarak saptanan ve radyolojik yöntemler ile de trombozu kanıtlanmış ve FVL gen mutasyonu tetkiki yapılmış olgular alındı. Periferik kandan DNA izolasyonu sonrasında FVL 1691 nükleotid mutasyonu Real-time PCR yöntemi ile çalışıldı. PCR'ı takiben 100-300 ngr genomik DNA kullanılarak erime eğrisi analizi ile mutasyon varlığı değerlendirilmiştir. Çalışmada elde edilen bulgular değerlendirilirken, istatistiksel analizler için NCSS (Number Cruncher Statistical System) 2007&PASS 2008 Statistical Software (Utah, USA) programı kullanıldı.

Bulgular: Çalışmaya 67 trombozlu olgu ve kontrol

grubu olarak 22 olgu alındı. Trombozlu grubun yaş ortalaması 42,94±14,52 (Ortalama ± 1 Standart Sapma), cinsiyet dağılımı 37 (%55,2) kadın, 30 (%44,8) erkek iken; kontrol grubunun yaş ortalaması 42,09±11,19 (Ort. ± 1SD) , cinsiyet dağılımı 13 (%59,1) kadın, 9 (%40,9) erkek şeklindedir. Çalışmamızda 67 trombozlu olgunun 18(%26.9)inde, 22 kontrol grubunun 5(%22.7)'inde FVL mutasyonu pozitif bulundu. Trombozlu grupta FVL mutasyonu pozitif saptan 18 olgunun 16(%23.9)'sında FVL heterozigot mutant, 2(%3)'sinde ise homozigot mutant bulundu.

Sonuç: FVL mutasyon sıklığı ülkemizde, gen polimorfizminden söz ettirecek kadar yaygın olmakla birlikte tek başına heterozigot mutant varlığı, santral/periferik, gerek arteriyel, gerekse venöz tromboz için bir risk faktörü gibi görünmemektedir. Olgu sayısının az olması nedeni ile homozigot mutant olguların tromboz risk değerlendirilmesini yapamamakla birlikte, FVL gen mutasyonunun varlığında, tromboz riski ilave diğer genetik ve edinsel risk faktörlerine bağlı gibi görünmektedir.

Anahtar Kelimeler: Faktör V Leiden, Mutasyon, Tromboz

1. Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi 5.İç Hastalıkları Kliniği

2. Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Moleküler Genetik Bölümü.

FACTOR V LEIDEN MUTATION PREVALENCE IN PATIENTS WITH ARTERIAL AND VENOUS THROMBOSIS IN THE LAST TWO YEARS

ABSTRACT

Purpose: Factor V Leiden(FVL) Mutation is one of the most common causes of genetic risk factors for thrombosis. In this study, we aimed to determine the frequency of, and association to arterial and venous thrombosis with FVL Mutation in patients diagnosed with thrombosis in the last two years in Haydarpaşa Numune Research and Training Hospital

Material and Method: In this observational, case-controlled, retrospective study; patients diagnosed with thrombosis between the years 2008-2010 in the Internal Medicine, Neurology, and General Surgery Clinics who had this diagnosis confirmed by radiological methods: and had Factor V Leiden Mutation screening done were chosen. Following DNA isolation from peripheral blood, FVL 1691 nucleotide mutation was searched using Melting Curve Analysis following Real-Time PCR. NCSS (Number Cruncher Statistical System) 2007&PASS 2008 Statistical Software (Utah, USA) programs were use for statistical analysis.

Findings: Two groups were formed for the study. Group 1 consisted of 67 patients diagnosed with thrombosis and group 2(control group) consisted of 22 healthy individuals. Group 1 had a mean age of 42,94±14,52 (Mean ± 1SD), 37 (%55,2) of whom were female and 30 (%44,8) were male; whereas Group 2's mean age was 42,09±11,19 (Mean ± 1SD), consisting of 13 (%59,1) female and 9 (%40,9) male healthy people. 18(%26.9) of 67 patients and 5(%22.7) of 22 healthy people tested positive for FVL mutation. Of the 18 patients of group 1 who tested positive for FVL mutation, 16(%23.9) were heterozygote mutant and , 2(%3) were homozygote mutant.

Conclusion: Although FVL mutation is frequent enough in our country to contemplate gene polymorphism, heterozygote FVL mutation doesn't seem to be a risk factor for either arterial or venous or central or periphery thrombosis by itself. Due to the small number of patients in the study we were not able to assess the risk for homozygote mutation. However, it seems likely that in the presence of FVL mutation, the risk for thrombosis is related to the other present risk factors.

Keywords: Factor V Leiden, Mutation, Thrombosis

GİRİŞ VE AMAÇ: Faktör V Leiden (FVL) gen mutasyonu, tromboza eğilim yaratan genetik risk faktörleri arasında en sık görülenlerden biri olup, sıklığı toplumlar ve ırklar arasında farklılık gösterir. Avrupa popülasyonunda mutasyon sıklığı %7-10, ülkemizde %7.1-10.9 oranında 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 daha çok staz ve pıhtılaşma sistemine ait bozukluklar rol oynar.FVL gen mutasyonunun venöz tromboembolizde risk faktörü olduğunu gösteren bir çok çalışma vardır,ancak arteriyel trombozisteki rolleri hakkında yapılan çalışmalar az sayıda olup,sonuçları çelişkilidir.Bir çalışmada FVL gen mutasyonunun venöz tromboz riskini 9.8 kat arttırdığı bulunmuştur(2).Diğer bir çalışmada derin ven trombozu (DVT) riskini 4 kat arttırdığı saptanmış,akut miyokard infarktüsü,(AMI) ve strok ile ilişki bulunamamıştır(3). Asya toplumunda yapılan bir çalışmada FVL mutasyonunun DVT sıklığını 13 kat arttırdığı saptanmıştır(4). Ülkemizde Ercan ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada FVL mutasyonu koroner arter hastalığı ile ilişkili bulunmamış,buna karşılık Özmen ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada periferik arteriyel tromboz ile ilişkili bulunmuştur(5,6).

Biz de bu çalışmamızda, tromboz saptanan olgularda FVL gen mutasyonunun sıklığını, arteriyel ve venöz tromboz ile ilişkisini araştırmayı amaçladık.

MATERYAL-METOD

Gözlemsel, olgu-kontrollü, retrospektif olarak tasarlanan çalışmaya, 2008-2010 tarihleri arasında nöroloji, genel cerrahi, iç hastalıkları kliniklerinde yatarak veya ayaktan izlenen, arteriyel ve/veya venöz trombozu klinik olarak saptanan ve radyolojik yöntemlerle de trombozu kanıtlanmış ve FVL gen mutasyonu tetkiki yapılmış olan, 15-80 yaşları arasındaki, warfarin tedavisi almakta olan olgular alındı. Tablo-1'de çalışma ve kontrol grubunun demografik özellikleri izlenmektedir.

Tablo 1: 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	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

Çalışmaya alınan olguların yaşı, cinsiyeti, memleketi, kullandığı ilaçlar, ailede tromboz öyküsü, kadınlar için düşük öyküsü olup olmadığı, tromboz yeri (Santral/periferik yerleşim, arteriyel/venöz yerleşim), tromboza bağlı komplikasyon olup olmadığı, tromboz tanısı koymada kullanılan radyolojik yöntemlerin sonuçları ve FVL mutasyon analizi sonuçları kaydedildi. Bu bilgilere ulaşamayan hastalar çalışma dışı bırakıldı. Ayrıca trombozu olmayan sağlıklı gönüllülerden bir kontrol grubu oluşturuldu.

FVL 1691 nükleotid mutasyonu Real-time PCR yöntemi ile çalışılmıştır. Periferik kandan genomik DNA ekstraksiyonunu takiben 100-300 ngr genomik DNA kullanılarak erime eğrisi analizi ile değerlendirilmiştir. Mutant örnekler erime analizinde 55C'de tepe noktası verirken ,yabanıl tipler 65C 'de tepe noktasına ulaştılar.

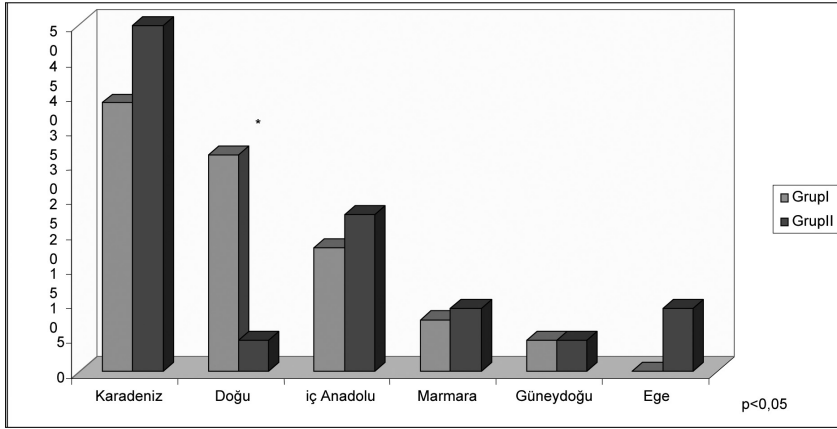
Çalışmada elde edilen bulgular değerlendirilirken, istatistiksel analizler için NCSS (Number Cruncher Statistical System) 2007&PASS 2008 Statistical Software (Utah, USA) programı kullanıldı. Çalışma verileri de-

ğerlendirilirken 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

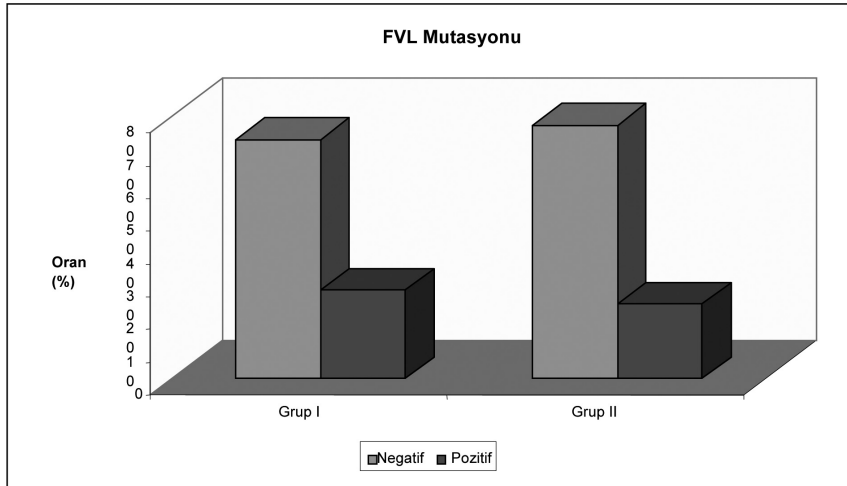
p<0.05 düzeyinde değerlendirildi.

Tablo 2: 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



Şekil 1: Grup I ve Grup II'de bölgelerin dağılımı



BULGULAR: Çalışmaya 67 trombozlu olgu ve kontrol grubu olarak 22 olgu alındı. Şekil-1'de tromboz ve kontrol grubunun bölgesel dağılımı izlenmektedir.

Tablo 3: 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

Tromboz grubunda Doğu Anadolu bölgesinden gelen hasta sayısı ,kontrol grubundan anlamlı olarak yüksekti.($p=0.031$) Olguların tromboz dağılımı Tablo-2'de izlenmektedir.

Olguların 26 (%38.8)'ında tromboz yerleşimi arteriyel,41(%61.2)inde venöz ,31(%46.3)'inde tromboz yeri santral,36(%53.7)'inde periferikti.Olguların sadece 4(%6)'ında aile öyküsü ve kadın olguların 9(%13.4)'ünde düşük öyküsü vardı.Ortalama düşük sayısı $2.33 \pm 1.22(1-4)$ 'dü.

Görüntüleme yöntemi olarak olguların 25(%37.3)'inde-USG, 27(%40.3)'ünde MRI, 14(%20.9)'ında BT ve 1(%1.5)'inde MR anjio kullanıldı.

Tromboz grubunda 18 olguda (%26.9),kontrol grubunda 5(%22.7)FVL pozitif bulundu.Gruplar arasında FVL mutasyonu pozitifliği görülme oranları açısından istatistik-

sel olarak anlamlı bir fark yoktu.($p=0.700$) Tromboz grubunda 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.

Trombozlu olguların 16(%23.9)'ında heterozigot,ve 2(%3)'inde homozigot olarak FVL gen mutasyonu saptandı.(Şekil-2)

Tablo 4: Grup I'de FVL mutasyonu ile tromboz yerleşimi ve yerinin değerlendirilmesi

		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

Trombozlu grupta aile öyküsü ve düşük öyküsü varlığına göre FVL mutasyonu pozitifliği arasında bir ilişki bulunmadı.

Arteriyel ve venöz trombozu olan olguların ,kontrol grubu ile karşılaştırılmalarında FVL mutasyonu pozitifli ile ilişki bulunmadı.Aynı şekilde santral ve periferik trombozu olan olguların kontrol grubu ile FVL pozitifliği yönünden karşılaştırılmalarında da istatistiki olarak anlamlı bir ilişki bulunamadı.(Tablo-5)

Tablo 5: Grup I'de FVL mutasyonuna ilişkin karşılaştırmalar

FVL Mutasyonu p Negatif Pozitif 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

TARTIŞMA :Çalışmamızda 67 trombozlu olgunun 18(%26,9)inde,22 kontrol grubunun 5(%22,7)'inde FVL mutasyonu pozitif bulundu.Trombozlu grupta FVL mutasyonu pozitif saptan 18 olgunun 16(%23,9)'sında FVL heterozigot mutant ,2(%3)'sinde ise homozigot mutant bulundu.Türk popülasyonunda yapılan çeşitli çalışmalarda FVL mutasyon sıklığı %7.1-10.8 arasında bildirilmiş olup,(1,5,6) bizim sonuçlarımız bu oranlardan yüksektir. Çalışmamızda kabaca her

dört kişiden birinde FVL mutasyonu saptanmış olup,bu sonuç FVL mutasyonunun Türk popülasyonu için bir gen mutasyonundan çok gen polimorfizmi olduğunu düşündürmektedir.Bu konuda daha geniş popülasyonla yapılacak çalışmalara ihtiyaç vardır.Ayrıca çalışmamızda trombozlu FVL pozitif olguların bölgesel dağılımına bakılınca en fazla pozitifliğin %50 ile iç Anadolu Bölgesi'nde olduğunu tesbit ettik. Tromboz

grubunda 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 Ülkemizde FVL mutasyonunun bölgesel farklılığı ile ilgili yapılmış bir çalışma yoktur.

Çalışmamızda,literatürde aksi yöne yayınlara rağmen (2,7,8,9) periferik/santral,gerek arteryel,gerek venöz tromboz ile FVL gen mutasyonu arasında bir ilişki bulamadık.

Tablo 5: Grup I'de FVL mutasyonuna ilişkin karşılaştırmalar

	FVL Mutasyonu		p
	Negatif	Pozitif	
	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

SONUÇ: FVL mutasyon sıklığı ülkemizde,gen polimorfizminden söz ettirecek kadar yaygın olmakla birlikte tek başına heterozigot mutant varlığı ,santral/periferik, gerek arteriyel,gerekse venöz tromboz için bir risk faktörü gibi görünmemektedir.Olgu sayımızın az olması nedeni ile homozigot mutant olguların tromboz risk değerlendirilmesini yapamamakla birlikte,FVL gen mutasyonunun varlığında ,tromboz riski ilave diğer genetik ve edinsel risk faktörlerine bağlı gibi görünmektedir.Daha geniş kontrollü çalışmalara ihtiyaç vardır.

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 2010; 16:430-434
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 Venezuela. Genet Test Mol Biomarkers 2009; 13(4): 537-542.
4. Arijit Biswas, Jyoti Bajaj, Ravi Ranjan, Arvind Meena, Mohd. Suhail Akhter, Birendra Kumar Yadav, Vinita Sharma, Renu Saxena. Factor V Leiden: Is it the Chief Contributor to Activated Protein C Resistance in Asian-Indian Patients with Deep Vein

Thrombosis? Clinica Chimica Acta 2008; 392: 21-24

5. Ercan B, Tamer L, Sucu N, Pekdemir H, Çamsan 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 Acil Cerrahi Dergisi 2009; 15(2): 113-119.
7. Rosendaal FR, Koster T, Vandenbroucke JP, Reitsma PH. High Risk Thrombosis in Patients Homozygous for Factor V Leiden (Activated Protein C Resistance). Blood 1995;85:1504-1508.
8. Rosendorff A, Dorfman DM. Activated Protein C and Factor V Leiden. Arch Pathol Lab Med. 2007;131:866-871.
9. Ridker PM, Miletich JP, Stampfer MJ, et al. Factor V Leiden and risks of recurrent idiopathic venous thromboembolism. Circulation. 1995;92:2800-2802.