

ÖZGÜN ARAŞTIRMA / ORIGINAL ARTICLE

## Venöz tromboemboli yerleşim yeri üzerine Faktör V Leiden, Protrombin G20210A ve MTHFR C677T Gen mutasyonlarının belirleyici rolü

*The predictive value of factor V Leiden, prothrombin G20210A and MTHFR C677T Gene mutations on the location of venous thromboembolism*

Muammer Bilici<sup>1</sup>, İbrahim İlker Öz<sup>2</sup>, Sevil Uygun İlikhan<sup>1</sup>, Müzeyyen Arslaner<sup>3</sup>, Elif Kahraman<sup>1</sup>  
Beyza Kılavuz<sup>1</sup>, Zeynep Özdamar<sup>1</sup>, Şehmus Ertop<sup>3</sup>

### ÖZET

**Amaç:** Venöz tromboembolizmin (VTE) kalıtsal etyolojik nedenleri arasında en sık görülen faktör V Leiden (FVL), Protrombin G20210A (PTM) ve Metilentetrahidrofolat redüktaz (MTHFR) C677T gen mutasyonları ile tromboz yerleşim bölgeleri arasındaki ilişkinin değerlendirilmesi.

**Yöntemler:** Yüz kırk dört idiopatik VTE hastasında FVL, PTM ve MTHFR gen mutasyonu geriye dönük olarak tarandı. Hastalar tromboz bölgelerine göre pulmoner emboli (PE), derin ven trombozu (DVT), PE ile DVT birlikteliği, serebral (SVT) ve intraabdominal ven trombozu olarak gruplandırıldı. Genetik mutasyonlar ile VTE lokalizasyonları arasındaki ilişki analiz edildi.

**Bulgular:** Hastaların ortalama yaşı 41,16±13,23 yıl ve erkek/kadın oranı 1,18 idi. VTE bölgelerine göre hastaların 44 (%30,6)'ü sadece DVT, 41 (%28,5)'i sadece PE, 26 (%18,1)'i DVT ile PE birlikteliği, 23 (%16)'ü SVT ve 10 (%6,9)'u karın içi bölgesinde tromboz gelişmiş olanlar idi. Toplamda hastaların %46,5'inde FVL mutasyonu, %13,2'sinde PTM ve %45,1'inde MTHFR gen mutasyonu tespit edildi. Genetik mutasyonlarla tromboz bölgesi arasında istatistiksel anlamlı bir ilişki gözlenmedi (p>0,05).

**Sonuç:** Venöz tromboembolizmin için bilinen risk faktörlerinden genetik mutasyonlar, tromboz oluşum yerinin belirlenmesinde bağımsız birer risk faktörü değildir.

**Anahtar kelimeler:** Venöz tromboembolizm, faktör V Leiden, protrombin G20210A, MTHFR C677T

### ABSTRACT

**Objective:** In the present study, we aimed to consider the relation between the manifestations of venous thromboembolism (VTE) and gene mutations including factor V Leiden (FVL), prothrombin G20210A and MTHFR C677T.

**Methods:** One hundred and forty four patients with idiopathic VTE were enrolled in this study. The data of patients were obtained from the medical records in hospital information system. The patients were grouped according to the location of VTE. In all subjects FVL, prothrombin G20210A, and MTHFR C677T were analyzed by specific polymerase chain reactions and restriction enzymes. Univariate and multivariate analysis were used to evaluate the relation between the groups and the gene mutations including factor V Leiden (FVL), prothrombin G20210A and MTHFR C677T.

**Results:** The mean age of patients was 41.16 ± 13.23 years and the male / female ratio was 1.18. Among the patients with VTE, 44 (30.6%) had only DVT, 41 (28.5%) had only PE, 26 (18.1%) had both DVT and PE, 23 (16%) had cerebral veins thrombosis (CVT) and 10 (6.9%) had abdominal vein thrombosis. The prevalence was found to be 46.5% for FVL, 13.2% for prothrombin G20210A and 45.1% for MTHFR C677T gene mutation among patients. There was no statistically difference between the manifestations of VTE regarding the gene mutations (p>0,05).

**Conclusion:** The findings of this study suggest that gene mutations including factor V Leiden (FVL), prothrombin G20210A and MTHFR C677T are not sufficient to determine the location of VTE.

**Key words:** Venous thromboembolism; factor V Leiden; prothrombin G20210A; MTHFR C677T

<sup>1</sup> İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Bülent Ecevit Üniversitesi, Zonguldak, Türkiye

<sup>2</sup> Radyoloji Anabilim Dalı, Bülent Ecevit Üniversitesi, Zonguldak, Türkiye

<sup>3</sup> Hematoloji Bilim Dalı, Bülent Ecevit Üniversitesi, Zonguldak, Türkiye

**Yazışma Adresi /Correspondence:** Muammer Bilici,

Bülent Ecevit Üniversitesi, Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Zonguldak, Türkiye Email: drmbilici@hotmail.com

Geliş Tarihi / Received: 28.09.2015, Kabul Tarihi / Accepted: 06.12.2015

Copyright © Dicle Tıp Dergisi 2015, Her hakkı saklıdır / All rights reserved

## GİRİŞ

Trombofili tek başına bir hastalık olmamakla birlikte artmış venöz tromboemboli (VTE) gelişim riskini ifade etmektedir. VTE multifaktöriyel olup edinsel ve kalıtsal durumlar ile ilişkilendirilmektedir. Kalıtsal trombofili nedenlerine sahip bireyler artmış tromboz riski taşır ancak bu bireylerin çoğunda tromboz gelişmemektedir [1]. VTE olgularının çoğunda tromboz oluşumuna zemin hazırlayıcı edinsel etkenler saptanmaktadır [2]. Dolayısıyla olguların tamamında malignite, geçirilmiş cerrahi öykü, travma ve immobilizasyon başta olmak üzere edinsel trombofili nedenleri araştırılmalıdır [3,4].

Kazanılmış tetikleyici bir nedenin bulunmadığı VTE olgularında; 40 yaş altı, aile hikayesi, tekrarlayıcı veya masif tromboz öyküsü, beyin, karın içi, ve üst ekstremitelerde gibi alışık olunmayan bölgelerde tromboemboli gelişmesi durumlarında, kalıtsal trombofili nedenleri araştırılmalıdır [2,5,6].

En sık kalıtsal trombofili nedenleri arasında faktör V Leiden (FVL), protrombin G20120A (PTM) ve metilentetrahidrofolat redüktaz (MTHFR) C677T gen mutasyonları yer almaktadır [7]. Bunlara ek olarak nispeten daha az sıklıkta gözlemlenen antitrombin III, protein C ve protein S eksikliği gibi nedenlerin de tetkik edilmesi uygundur [7]. VTE, sıklıkla pulmoner emboli (PE) ve derin ven trombozu (DVT) kliniği ile karşımıza çıkmasının yanı sıra retinal, serebral (SVT), intraabdominal venler veya üst ekstremitelerde gibi lokalizasyonlarda da oluşabilmektedir [8]. Kalıtsal risk faktörlerinin VTE lokalizasyonu ile ilişkisinin araştırıldığı çalışmalar sınırlı sayıdadır.

Bu çalışmamızda, idiopatik VTE olgularında kalıtsal en sık trombofili nedenlerinden FVL, PTM ve MTHFR gen mutasyonları ile tromboz lokalizasyonları arasındaki ilişkiyi değerlendirmeyi amaçladık.

## YÖNTEMLER

Ocak 2010 ve Temmuz 2015 yılları arasında Bülent Ecevit Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'ne başvuran, idiopatik VTE tanısıyla tedavi alan 144 hasta, retrospektif olarak etiyolojik risk faktörleri açısından incelendi. Hastalara ait bilgiler hastanemiz hasta veri-kayıt sisteminden geriye dönük tarama

yapılarak elde edildi. Türk Hematoloji Derneği Kalıtsal Trombofili Tanı ve Tedavi Kılavuzu'na (2011) göre kalıtsal trombofili risk faktörleri taraması önerilme kriterlerine göre tetikleyici edinsel risk faktörleri taşıyan, kalıtsal risk faktörleri taraması yapılmamış olan ve retinal ven trombozu ile kateter ilişkili trombozlu hastalar çalışmaya dahil edilmedi [2]. Toplamda 44 DVT, 41 PE, 26 DVT ve PE birlikteliği olan, 23 SVT ve 10 intraabdominal venlerde tromboz gelişmiş hasta, FVL, PTM ve MTHFR C677T gen mutasyon varlığı açısından analiz edildi.

VTE tanısı doppler ultrasonografi, bilgisayarlı tomografik (BT), manyetik rezonans (MR) venografi ve sintigrafik görüntüleme yöntemleriyle teyit edildi [9]. FVL, protrombin G20120A ve MTHFR C677T gen mutasyonları için genomik DNA, periferik kan lökositlerinden Macherey-Nagel (MN) Nucleospin blood® DNA ekstraksiyon kiti (katalog no. 740.951.250) kullanılarak, üretici firma önerileri doğrultusunda elde edilmiştir. Genomik DNA'da mutasyonlar Dr. Zeydanlı Tıp I PCR Sistemiyle (Ankara, Turkey) TaqMan® 5' nuclease assay yöntemi kullanılarak ABI 7500 (Applied Biosystems, Foster City, Kaliforniya, ABD) cihazında çalışılmıştır. PCR reaksiyonu üretici firma önerileri doğrultusunda gerçekleştirilmiştir. Reaksiyonlar 95°C de başlatılmıştır. 95°C de 10 dakikalık 32 döngüyü, 60°C de 15 döngü izlemiştir.

Bu çalışma protokolunun Dünya Tıp Birliği'nin Helsinki Bildirgesine (2013) uygunluk onayı Bülent Ecevit Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan alınmıştır.

## İstatistiksel Analiz

Çalışmanın istatistiksel analizleri SPSS 19,0 paket programında yapılmıştır. Sürekli değişkenlere ait tanımlayıcı istatistikler ortalama ve standart sapma ile kategorik değişkenler frekans ve yüzde ile gösterilmiştir. Kategorik değişkenlerin gruplar arası karşılaştırmalarında Pearson ki-kare testi kullanılmıştır. Tüm istatistiksel karşılaştırmalarda p değeri 0,05'in altındaki karşılaştırmalar istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

## BULGULAR

Çalışmaya dahil edilen toplamda 144 VTE tanılı hastanın 44 (%30,6)'ü sadece DVT, 41 (%28,5)'i

sadece PE, 23 (%16)'ü SVT, 26 (%18,1)'sı DVT ile PE birlikteliği ve 10 (%6,9)'u karın içi bölgesinde tromboz gelişmiş olanlar idi. Hastaların 78 (%54,2)'i erkek, 66 (%45,8)'sı kadın olup erkek/kadın oranı 1,18 olarak saptandı. Hastaların ortalama yaşı 41,16±13,23 yıl idi.

Tromboza yatkınlık oluşturan kalıtsal risk faktörlerine bakıldığında, idiopatik VTE geçiren 144 hastanın 67 (%46,5)'sinde FVL mutasyonu, 19 (%13,2)'unda PTM ve 65 (%45,1)'inde MTHFR

gen mutasyonu saptandı. FVL ile PTM ve MTHFR mutasyon birlikteliği sırasıyla 2 (%1,4) ve 23 (%16) hastada varken PTM ve MTHFR mutasyon 7 (%4,9) hastada ve her 3 genin birlikteliği sadece 2 (%1,4) hastada saptandı.

VTE tanılı hastalarda FVL, PTM ve MTHFR gen mutasyonu ile DVT, PE, DVT ve PE birlikteliği, SVT ve karın içi bölgelerinde tromboz gelişimi arasında istatistiksel anlamlı bir ilişki yoktu (sırasıyla p=0,058, p=0,558 ve p=0,412) (Tablo 1).

**Tablo 1.** Genetik mutasyonların VTE yerleşim yerine göre dağılımı

	DVT n (%) n=44	PE n (%) n=41	DVT+PE n (%) n=26	SVT n (%) n=23	İAT n (%) n=10	P
Factor V Leiden	24 (54,5)	12 (29,3)	14 (53,8)	10 (43,5)	7 (70)	0,058
Heterozigot	16 (36,4)	12 (29,3)	12 (46,2)	8 (34,8)	6 (60)	
Homozigot	8 (18,2)	-	2 (7,7)	2 (8,7)	1 (10)	
Heterozigot Prothrombin G20210A	5 (11,4)	3 (7,3)	5 (19,2)	4 (17,4)	2 (20)	0,558
MTHFR C677T	18 (40,9)	21 (51,2)	12 (46,2)	12 (52,2)	2 (20)	0,412
Heterozigot	16 (36,4)	13 (31,7)	10 (38,5)	7 (30,4)	1 (10)	
Homozigot	2 (4,5)	8 (19,5)	2 (7,7)	5 (21,7)	1 (10)	

DVT: Derin ven trombozu, PE: Pulmoner emboli, SVT: Serebral ven trombozu, İAT: İntra-abdominal ven trombozu, MTHFR: Metilentetrahidrofolat redüktaz

## TARTIŞMA

VTE, kalıtsal ve edinsel risk faktörleri arasında gerçekleşen karmaşık etkileşim neticesinde ortaya çıkan bir hastalıktır [7]. VTE'in en sık klinik bulguları DVT ve PE olmakla birlikte, SVT ve karın içi bölge gibi alışılmadık dışında da kendini gösterebilir [10]. FVL, PTM ve MTHFR gen mutasyonları, VTE'nin kalıtsal etiyolojik risk faktörleri arasında en sık rastlanılanlarıdır [2,11]. Bizim çalışmamızda DVT, PE, DVT ile PE birlikteliği, SVT ve karın içi bölgesinde VTE olgularında genetik risk faktörleri karşılaştırılmış olup, tromboz gelişim bölgesi ile gen mutasyonlarının arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır.

Literatürde, VTE yerleşimleri ile genetik faktörler arasındaki ilişki birçok çalışmada incelenmiştir [12-16]. PE, genellikle DVT'nin bir komplikasyonu olarak değerlendirildiğinden, her ikisi için de, genetik trombofilik faktörlerinin aynı olduğu düşünülebilir ancak yapılan çalışmalar farklı sonuçlar göstermiştir [17]. Martinelli ve ark. DVT ve PE hastalarında yapmış oldukları bir çalışmada, FVL taşıyan hastalarda izole PE gelişiminin daha az olduğu-

nu ve ayrıca PTM taşıyanların FVL taşımayanlara göre artmış izole PE gelişim riski ile birlikteliğini bildirilmiştir [12]. Manten ve ark. FVL'nin PE için değil ama DVT için artmış bir genetik risk faktörü olduğunu göstermiştir [13]. İlk atak idiopatik DVT hastalarında heterozigot FVL %12-20 ve heterozigot PTM %6 oranlarında bulunabilmektedir [18].

SVT, edinsel ve kalıtsal trombofilik risk faktörleri taşıyan hastalarda görülebilen bir klinik tablodur. Kalıtsal risk faktörlerinden FVL, PTM, antitrombin, protein C ve S en sık görülenler olup olguların %10-15'inden sorumlu olduğu tahmin edilmektedir [19]. SVT'li 40 kadın hasta ile 120 sağlıklı kontrol grubu ile yapılan bir vaka-kontrol çalışmasında hastaların %20'sinin FVL ile PTM birlikte taşıdığı ve bu oranın kontrol grubunda %7 olduğu gösterilmiştir [14]. Dentali ve ark. Tarafından yapılan bir meta analizde FVL taşıyan SVT hastaları için OR 3,38 (%95 CI,2.27-5.05) olarak bulunmuş [20]. Ludemann ve ark. çalışmalarında, heterozigot FVL mutasyon taşıyıcılığını SVT hastalarında %14,5 ve kontrol grubunda %6,25 olarak bildirmişler [21]. Rodrigues ve ark. SVT hastalarında PTM varlığının kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı

bir oranda yüksek olduğunu bulmuşlar [15]. Diğer bir çalışmada ise SVT hastalarında %20 ve kontrol grubunda %18,3 oranında MTHFR gen mutasyonu bulunduğu gösterilmiştir [22].

VTE'in nadir görüldüğü diğer bir bölge de karın içi venlerdir [23]. Smalberg ve ark. hepatik ven trombozunda FVL gen mutasyonu prevalansının, DVT hastalarınınkine benzer olarak %7-32 arasında olduğunu ancak portal ven trombozlu hastalarda %3-9 düzeylerinde gözlendiğini bildirmişler. Ayrıca PTM gen mutasyonunun portal ven trombozlu hastalarda hepatik ven trombozlarından daha yaygın olduğu görülmüş [16]. Dentali ve ark. tarafından yapılan meta-analizde FVL gen mutasyonunun portal ven trombozundan ziyade hepatik ven trombozu ile ilişkili olduğu gösterilmiş [24]. Amitrano ve ark. tarafından yapılan retrospektif bir çalışmada akut mezenterik ven trombozlu hastaların %25'inde FVL, %25'inde PTM ve %50'sinde MTHFR gen mutasyonu taşıdıkları bulunmuş [25].

Ancak tüm bu çalışmalarda VTE hastalarında belirli lokalizasyonlar için genetik risk faktörü değerlendirmeleri yapılmıştır. Genetik mutasyonların tromboza neden olduğu günümüzde net olarak bilinen bir gerçektir. VTE hastalarında tromboz yerleşim yerinin bir belirteci olarak genetik faktörlerin etkisini araştıran çalışma sayısı sınırlıdır. Ancak bunun tromboz lokalizasyonunun tek başına belirteci olacağı spekülasyon olarak kalmaktadır. Bu çalışmada VTE için risk olduğu bilinen genetik mutasyonların tromboz lokalizasyonu üzerine bir etkisi olmadığı görülmüştür. Lokalizasyon için genetik mutasyonların bağımsız bir risk faktörü olmadığına ve VTE sırasında tanımlanmamış solid kanser, hematolojik hastalık, inflamatuvar hastalıklar gibi edinsel nedenlerin veya kişisel lokal faktörlerin tromboza zemin hazırlamakla birlikte lokalizasyonda belirleyici olabileceğine inanıyoruz. Çalışmamızın tek merkezli, retrospektif bir çalışma olması limitasyonlarımızdan biridir. Bir diğeri ise hasta popülasyonunun nispeten az olmasıdır.

VTE hastalarında tromboz lokalizasyonuna FVL, PTM ve MTHFR gen mutasyonlarının etkisi sınırlı olabileceği gibi bu hastalarda tromboz oluşumunu kolaylaştıran edinsel faktörlerin daha belirleyici olabileceğine inanıyoruz. Daha geniş ve kapsamlı VTE hasta popülasyonunda yapılacak ileri çalışmalarla hastaların kapsamlı bir klinik değeren-

dirme ile edinsel ve kalıtsal trombofili risk faktörlerinin araştırılması aydınlatıcı verilere ulaşılmasını sağlayacaktır.

## KAYNAKLAR

1. Cohoon KP, Heit JA. Inherited and secondary thrombophilia. *Circulation* 2014;129:254-257.
2. Küçükkaya RD, Adıgüzel C, Tetik A, et al. Edinsel Kanama Bozuklukları ve Kalıtsal Trombofili Tanı ve Tedavi Kılavuzu. Özcan M, Atamer T, editors. Ankara: Türk Hematoloji Derneği; 2011.
3. Merriman L, Greaves M. Testing for thrombophilia: an evidence-based approach. *Postgrad Med J* 2006;82:699-704.
4. Cushman M. Epidemiology and risk factors for venous thrombosis. *Semin Hematol* 2007;44:62-69.
5. Pernod G, Biron-Andreani C, Morange PE, et al. Recommendations on testing for thrombophilia in venous thromboembolic disease: a French consensus guideline. *Journal Des Maladies Vasculaires* 2009;34:156-203.
6. Teker ME, Gümüşçü F, Elçi ME. Üst ekstremité derin ven trombozlu hastaların değerlendirilmesi. *Dicle Tıp Dergisi* 2015;42.
7. Varga EA, Kujovich JL. Management of inherited thrombophilia: guide for genetics professionals. *Clin Genetics* 2012;81:7-17.
8. Baglin T, Gray E, Greaves M, et al. Clinical guidelines for testing for heritable thrombophilia. *British journal of haematology* 2010;149:209-220.
9. Tenna AM, Kappadath S, Stansby G. Diagnostic tests and strategies in venous thromboembolism. *Phlebology* 2012;27 Suppl 2:43-52.
10. Martinelli I. Unusual forms of venous thrombosis and thrombophilia. *Pathophysiol Haemostasis Thromb* 2002;32:343-345.
11. Salomon O, Steinberg DM, Zivelin A, et al. Single and combined prothrombotic factors in patients with idiopathic venous thromboembolism: prevalence and risk assessment. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology* 1999;19:511-518.
12. Martinelli I, Battaglioli T, Razzari C, Mannucci PM. Type and location of venous thromboembolism in patients with factor V Leiden or prothrombin G20210A and in those with no thrombophilia. *J Thromb Haemostasis* 2007;5:98-101.
13. Manten B, Westendorp RG, Koster T, et al. Risk factor profiles in patients with different clinical manifestations of venous thromboembolism: a focus on the factor V Leiden mutation. *Thromb Haemostasis* 1996;76:510-513.
14. Martinelli I, Sacchi E, Landi G, et al. High risk of cerebral-vein thrombosis in carriers of a prothrombin-gene mutation and in users of oral contraceptives. *The New England journal of medicine* 1998;338:1793-1797.
15. Rodrigues CA, Rocha LK, Morelli VM, et al. Prothrombin G20210A mutation, and not factor V Leiden mutation, is a risk factor for cerebral venous thrombosis in Brazilian patients. *J Thromb Haemostasis* 2004;2:1211-1212.

16. Smalberg JH, Kruip MJ, Janssen HL, et al. Hypercoagulability and hypofibrinolysis and risk of deep vein thrombosis and splanchnic vein thrombosis: similarities and differences. *Atheroscler Thromb Vasc Biol* 2011;31:485-493.
17. Corral J, Roldan V, Vicente V. Deep venous thrombosis or pulmonary embolism and factor V Leiden: enigma or paradox. *Haematologica* 2010;95:863-866.
18. Al-Juburi A, Scott MA, Shah HR, Raufman JP. Heterozygosity for factor V Leiden and G20210A prothrombin genotypes in a patient with mesenteric vein thrombosis. *Digest Dis Sci* 2002;47:601-606.
19. Agnelli G, Verso M. Epidemiology of cerebral vein and sinus thrombosis. *Front Neurol Neurosci* 2008;23:16-22.
20. Dentali F, Crowther M, Ageno W. Thrombophilic abnormalities, oral contraceptives, and risk of cerebral vein thrombosis: a meta-analysis. *Blood* 2006;107:2766-2773.
21. Ludemann P, Nabavi DG, Junker R, et al. Factor V Leiden mutation is a risk factor for cerebral venous thrombosis: a case-control study of 55 patients. *Stroke* 1998;29:2507-2510.
22. Tufano A, Coppola A, Varricchione N, et al. Predisposing factors in patients with early-onset cerebral vein thrombosis. *Thromb Res* 2005;115:439-440.
23. Leebeek FW, Smalberg JH, Janssen HL. Prothrombotic disorders in abdominal vein thrombosis. *Netherlands J Med* 2012;70:400-405.
24. Dentali F, Galli M, Gianni M, Ageno W. Inherited thrombophilic abnormalities and risk of portal vein thrombosis. a meta-analysis. *Thromb Haemostasis* 2008;99:675-682.
25. Amitrano L, Brancaccio V, Guardascione MA, et al. High prevalence of thrombophilic genotypes in patients with acute mesenteric vein thrombosis. *Am J Gastroenterol* 2001;96:146-149.