

T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
GÖĞÜS HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**PULMONER TROMBOEMBOLİ
TANILI HASTALARDA GENETİK
RİSK FAKTÖRLERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

Dr. Muzaffer Onur TURAN

UZMANLIK TEZİ

Danışman Öğretim Üyesi: Prof. Dr. Atila AKKOÇLU

İZMİR - 2010

ÖNSÖZ

Uzmanlık eğitimim süresince, bilgi ve deneyimleriyle bana her zaman destek olan değerli hocalarıma; başta tez danışmanım Prof. Dr. Atila Akkoçlu olmak üzere, Prof. Dr. Eyüp Sabri Uçan, Prof. Dr. Arif Hikmet Çımrın, Prof. Dr. Oya İtil, Prof. Dr. Oğuz Kılınç ve Prof. Dr. Can Sevinç'e sonsuz teşekkür ve saygılarımı sunarım.

Tezimin hazırlanmasında katkıda bulunan Prof. Dr. Bülent Ündar ve Doç. Dr. Türkan Günay'a, DEÜTF Merkez Laboratuvarı'nda biyolog Eylem Sönmez ve Elif Turanlıoğlu; Hematoloji Laboratuvarı'nda tıbbi biyoloji uzmanı Sunay Tunalı'ya teşekkürü bir borç bilirim.

Asistanlık hayatım boyunca birçok şeyi paylaştığım asistan arkadaşlarım ve tüm sağlık personeline teşekkür ederim.

Desteklerini hep hissettiğim, her şart ve koşulda yanımda olan aileme, varlığı ve sevgisiyle beni hep ayakta tutan Dr. Pakize Ayşe Yeğın'e içten sevgilerimi sunarım.

Bu tezi, benim doktorluk mesleğini seçmemi sağlayan, uzaklarda olsa da varlığını hep yanımda ve kalbimde hissettiğim, beni her zaman bir yerlerden izlediğine inandığım sevgili babama armağan ediyorum.

Dr. M. Onur TURAN

İÇİNDEKİLER	Sayfa
I. ÖZET	1
II. SUMMARY	2
III. GİRİŞ VE AMAÇ	3-4
IV. GENEL BİLGİLER	5-22
A. PULMONER TROMBOEMBOLİ	
1. Tanım	
2. Epidemiyoloji	
3. Prognoz	
4. Patogenez	
5. Risk faktörleri	
6. Klinik tablo	
7. Tanı	
8. Tedavi	
9. Tedavi süresi	
10. Nüks	
11. Kalıtsal trombofili	
V. GEREÇ VE YÖNTEM	23-28
1. Hasta seçimi	
2. Örneklerin toplanması ve laboratuvar analizleri	
3. Hastaların gruplandırılması	
4. İstatistiksel değerlendirme	
VI. BULGULAR	28-36
VII. TARTIŞMA	37-39
VIII. SONUÇLAR	40
IX. KAYNAKLAR	41-49

TABLO VE ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Tablo 1: PTE için kalıtsal ve edinsel risk faktörleri	7
Tablo 2: PTE’de semptom ve klinik bulgular	9
Tablo 3: PTE’de uzun süreli tedavi önerileri	17
Tablo 4: Ülkemizdeki kalıtsal trombofili oranları	18
Tablo 5: Kalıtsal trombofili aranması önerilen hastalar	19
Tablo 6: Hasta dışlama kriterleri	23
Tablo 7: PTE gelişiminde rol oynayan risk faktörlerinin sayısal dağılımı	29
Tablo 8: Kalıtsal trombofili mutasyonlarının dağılımı	30
Tablo 9: PTE hastalarında genetik markerların serum düzeyleri	30
Tablo 10: PTE+DVT birlikteliğiyle kalıtsal trombofilinin ilişkisi	31
Tablo 11: PTE+DVT / izole PTE’de genetik markerların serum düzeyleri	32
Tablo 12: VTE nüks varlığına göre kalıtsal trombofili serum değerleri	32
Tablo 13: VTE nüksü ve kalıtsal trombofili arasındaki ilişki	33
Tablo 14: PTE aile öyküsü olanlarla kalıtsal trombofili arasındaki ilişki	34
Tablo 15: PTE aile öyküsü olanlarda kalıtsal trombofili serum değerleri	35
Tablo 16: VTE öyküsü olanlarda tek veya çoklu genetik risk faktörleri	35
Tablo 17: PTE risk faktörlerinde kalıtsal trombofili mutasyon dağılımı	36
Tablo 18: PTE risk faktörlerinde genetik markerların serum düzeyleri	36
Şekil 1: Pulmoner tromboembolizm kuşkusunda tanısasal yaklaşım	12
Şekil 2: PTE Tedavi Algoritmi	15

KISALTMALAR

AC Ca : Akciğer kanseri

AKG : Arter kan gazı

APCR : Aktive protein C rezistansı

aPTT: Aktive parsiyel tromboplastin zamanı

AT : Antitrombin

BT : Bilgisayarlı tomografi

DİK : Dissemine intravasküler koagülasyon

DMAH : Düşük molekül ağırlıklı heparin

DVT : Derin ven trombozu

EKG : Elektrokardiyografi

EKO : Ekokardiyografi

FVL : Faktör V Leiden

GRF : Genetik risk faktörü

INR : International Normalized Ratio

KVA : K vitamini antagonisti

MR : Manyetik rezonans

MTHFR : Metilen tetrahidrofolat redüktaz

OKS : Oral kontraseptif

PAB : Pulmoner arter basıncı

PCR : Polimeraz zincir reaksiyonu

PTE : Pulmoner tromboemboli

PTM : Protrombin

PVD : Pulmoner vasküler direnç

VTE : Venöz tromboemboli

V/Q : Ventilasyon / perfüzyon

UFH : Unfraksiyone (fraksiyone olmamış) heparin

I. ÖZET

Pulmoner Tromboemboli Tanılı Hastalarda Genetik Risk Faktörlerinin Araştırılması

AMAÇ: Pulmoner tromboembolide (PTE), kazanılmış risk faktörleri dışında, kalıtsal trombofili varlığının PTE gelişiminde ve rekürrensinde pay sahibi olduğu düşünülerek, PTE tanısıyla tedavi görmüş ve görmekte olan hastalarda genetik risk faktörleri varlığının araştırılması amaçlandı.

METOD: 2006-2009 yılları arasında hastanemizde PTE tanısı almış 281 hastanın hastane bilgilerine ulaşıldı. Önceden kalıtsal trombofili varlığına bakılmış veya dışlama kriterlerini karşılayan hastalar çalışmaya alınmadı. Telefonla aranılan ve çalışmaya katılmayı kabul eden 90 hasta araştırmaya dahil edildi. Çağrılan hastaların anamnezleri alındı ve demografik özellikleri kaydedildi. Hastaların kanları alınarak, bu örneklerden aktive protein C rezistansı (APCR), protein C, protein S, antitrombin (AT) III, Faktör VIII düzeyleri ile, Faktör V Leiden (FVL), Protrombin G20210A (PTM) ve metilen tetrahidrofolat redüktaz (MTHFR C677T ve A1298C) gen mutasyonları hastane laboratuvarlarında çalışıldı.

BULGULAR: 42 erkek (% 46.7) ve 48 kadından (% 53.3) oluşmakta olan hasta grubunun yaş ortalaması $62.6 \pm 13,4$ idi. En çok araştırılan genetik risk faktörleri olan FVL ile PTM mutasyonları, AT III, protein C ve S eksikliği toplam hastaların % 30'unda görüldü (FVL mutasyonu: % 19.1, PTM G20210A :% 3.4, ATIII eksikliği: % 1.1, protein C eksikliği : % 5.7, protein S eksikliği: % 13.6). Kalıtsal trombofili pozitifliği açısından; derin ven trombozu varlığı, tromboemboli aile öyküsü olup olmaması gibi alt gruplar arasında anlamlı fark yoktu. PTE nüksü olan 10 hastada (% 12.2) tromboemboli rekürrensi ile protein S eksikliği arasında anlamlı ilişki mevcuttu ($p = 0.040$). Protein C serum düzeyi ise, bu alt grupta ilk kez PTE geçirmiş hastalara göre anlamlı olarak düşük bulundu ($p = 0.049$). İkinci tromboemboli atağı olan hastaların tümünde en az bir genetik risk faktörünün varlığı dikkat çekiciydi. Kanser hastalarında FVL ve PTM mutasyonları yüksek iken, operasyon veya immobilizasyon risk faktörlerinde kalıtsal trombofili varlığı düşük olarak bulundu.

SONUÇ: Genetik risk faktörleri, tüm PTE hastalarında yüksek oranlarda saptanmıştır. Protein C ve S eksikliğinin, PTE nüksünde rol oynayan genetik risk faktörleri arasında yer alabileceği sonucuna varılmış olup bu genetik markerların olası bir nüks ihtimalini öngörmesi açısından hastalarda araştırılabileceği kanaatine varılmıştır. PTE gelişen hastalarda en az bir kalıtsal trombofili varlığının olması hastada nüks gelişebileceğinin göstergesi olabilir. Eşlik eden DVT ve ailede PTE öyküsü bulunmasının, kalıtsal trombofili varlığıyla ilişkisi olmadığı gözlemlendi. Operasyon veya immobilizasyon risk faktörlerinde kalıtsal trombofili araştırılması öncelikli değildir. Kanser hastalarında FVL ve PTM mutasyonları yüksekliği dikkate alınmalıdır.

II. SUMMARY

Investigation of Genetic Risk Factors In Pulmonary Embolism Patients

AIM: Besides acquired risk factors, inherited thrombophilias were thought to play an important role in the etiology of pulmonary embolism (PE) and its recurrence. It was aimed to research the presence of genetic factors in PE patients with a past or ongoing medical treatment for PE.

METHODS: We reached the hospital data of 281 patients objectively diagnosed as PE between 2006 and 2009. The patients who were already detected about genetic risk factors for PE or met the exclusion criteria were excluded. 90 patients who accepted to join the study were called; anamnesis about PE history and demographic characteristics were recorded. The screening for thrombophilia included mutations of Factor V Leiden, prothrombin G20210A, MTHFR C677T and A1298C; the serum levels of antithrombin III, protein C, protein S, factor VIII and activated protein C resistance.

RESULTS: 42 male (46.7 %) and 48 female (53.3%) patients had a mean age of 62.6 ± 13.4 . The main inherited thrombophilias (FVL, PTM mutations, AT III, protein C and S deficiencies) were found in 30 % of all cases (FVL: 19.1 %, PTM G20210A : 3.4 %, ATIII deficiency: 1.1 %, protein C deficiency : 5.7 %, protein S deficiency: 13.6 %). There were no statistically significant results in subgroups of patients combined with deep venous thrombosis (DVT), and family history of PE about presence of inherited thrombophilias. A significant association between recurrence of PE (10 patients-12.2 %) and protein S deficiency was established ($p = 0.040$). Serum protein C level was also significantly lower in the subgroup of recurrent PE patients ($p = 0.049$). It was remarkable that all patients with PE recurrence had minimum one type of inherited thrombophilias. While FVL and PTM mutations were high in cancer patients, the presence of inherited thrombophilia was low in PE patients with risk factors of surgery and immobilization.

CONCLUSION: Genetic risk factors were found high in PE patients. It was found that protein C and S deficiencies may play role in PE recurrence, so routine screening for protein C and S may predict about the recurrence of PE. The presence of a genetic risk factor (at least one) can be a sign for possible recurrence of PE. DVT combined with PE or the family history of PE didn't seem to be related with inherited thrombophilias. Surgery and immobilization were thought not to have priorities for the detection of genetic risk factors in PE. The high percentages of FVL and PTM mutations in cancer patients with PE should be considered.

III. GİRİŞ VE AMAÇ

Pulmoner tromboembolizm (PTE), yaklaşık olarak her 1000 kişiden ikisinde görülen ve yaşamı tehdit edebilecek özelliğe sahip bir hastalıktır (1). PTE geçiren ve yaşayan hastaların yaklaşık 2/3'ünde doğru tanı konulamamaktadır; postmortem çalışmalarda tüm ölümler içerisinde PTE tanısı alan hastaların sıklığının daha fazla olması bu durumun bir göstergesidir (2). Bu hastalarda mortalite oranı % 30'lara ulaşmaktayken, doğru tanı konulup tedavi edilenlerde ise bu oran % 3'e kadar düşebilmektedir (3,4).

Multifaktöriyel bir patogeneze sahip olan PTE'de çevresel ve klinik risk faktörleri kadar, genetik risk faktörleri de önemli bir yere sahiptir (5). Özellikle genç yaşta görülmesi, aile öyküsünün olması, nüks gelişmesi, kazanılmış risk faktörü bulunmaması gibi durumlar, genetik risk faktörlerinin, bir diğer deyişle kalıtsal trombofilinin mutlaka araştırılması gereken durumlardır (6). PTE oluşumuna yol açabilecek başlıca kalıtsal trombofili sebepleri arasında; faktör V Leiden mutasyonu, antitrombin III eksikliği, protein C ve S bozuklukları ve hiperhomosisteinemi yer almaktadır. Gerçek prevalansı net olarak bilinmemekle birlikte, kalıtsal faktörlerin PTE hastalarının yaklaşık % 20'sinden sorumlu olduğu öne sürülmektedir (7).

PTE rekürrensi, hiç de azımsanamayacak kadar sık görülen bir durumdur. Yapılan bir çalışmada, en az 3 ay antikoagülan tedavi almış PTE varlığı bulunan 355 hasta 8 yıllık süre için takip edilmiş, bu hastaların % 17.5'unda 2 yıl, % 25'inde 5 yıl ve % 30'unda 8 yıl içerisinde PTE rekürrensine rastlanmıştır (8). Bu çalışmada, kanser varlığı ve genetik risk faktörleri rekürren PTE gelişiminde en sık sebepler olarak bulunmuşlardır. Trombüs epizodu geçirip antikoagülan tedavi sonlandıktan sonra trombotik olayın tekrarlama riski, PTE için kalıtsal defekti olanlarda, kalıtsal anormalliği olmayanlara göre 2 kat yüksek olarak bulunmuştur (9).

Pulmoner emboli rekürrensini sık olarak görülebildiğini göz önünde bulundurursak, kalıcı risk faktörleri dışında, geçici risk faktörlerinin ortadan kalktığı durumlarda da kalıtsal trombofili varlığının emboli rekürrensine yol açabileceği ön planda akla gelmektedir. Ayrıca kanser varlığı gibi kalıcı risk faktörü olan ve operasyon öyküsü, ilk derin ven trombozu (DVT) atağı gibi kalıcı risk faktörü olmayan hastaların yalnızca bir kısmında PTE veya PTE nüksü meydana gelmekteyken, diğer hastalarda rekürrens gelişmemesi, bu hastalarda da kalıtsal trombofili varlığının araştırılmasının anlamlı olabileceğini göstermektedir.

PTE'de, kazanılmış risk faktörleri dışında, kalıtsal trombofili varlığının da PTE gelişiminde ve rekürrensinde pay sahibi olduğu düşünülerek, PTE tanısıyla tedavi görmüş ve görmekte olan hastalarda genetik risk faktörlerinin varlığının araştırılması amaçlandı.

Bu sayede;

- PTE tanısı almış ve kalıtsal trombofili varlığına bakılmamış hastalarda PTE genetik risk faktörlerinin incelenmesi,
- Tekrarlayan tromboemboli varlığı, ailede PTE öyküsü, DVT'nin eşlik etmesi gibi durumların olduğu alt gruplarda kalıtsal trombofilinin değerlendirilmesi,
- Geçici risk faktörü olduğu düşünülen hastalarda genetik risk faktörü varlığında tedavi planının ve süresinin gözden geçirilmesi,
- Olası bir PTE rekürensini önlenmesi için seçilmiş hasta grubunun izlenmesi,
- Saptanacak olan kalıtsal trombofiliye göre, gerekirse aile bireylerinin taranması,
- PTE hastalarında Türkiye için genetik risk faktörleri prevalansına katkıda bulunulması amaçlanmaktadır.

IV. GENEL BİLGİLER

A. PULMONER TROMBOEMBOLİ (PTE)

1) TANIM:

Pulmoner tromboemboli, pulmoner arter veya dallarının sistemik derin venlerde meydana gelen trombüslerden kopan parçaları tarafından tıkanması sonucu gelişen bir hastalıktır. Genelde derin ven trombozunun bir komplikasyonu olup, çoğunlukla kaynak bacak derin venleridir. PTE ve DVT'nin genellikle birlikte görülmesi nedeniyle, tanımlarken iki olayı birden ifade eden venöz tromboembolizm (VTE) terimi de kullanılmaktadır.

PTE; mortalite ve morbiditesi yüksek, tekrarlayabilen, bazen tanısı güç olan ve sık atlanılabilen bir hastalık olup, erken tanı ve tedavi hayat kurtarıcı olmaktadır (10).

2) EPİDEMİYOLOJİ:

VTE'nin ortalama yıllık insidansı endüstrileşmiş ülkelerde 1-2 / 1000 olarak gösterilmiştir (11). Amerika Birleşik Devletleri verilerine göre PTE insidansı 1/1000 olarak belirtilirken (12), yıllık 600.000'den fazla hastanın PTE tanısı aldığı ve bu rakamın, tüm hastaların % 8.3- 33.3'ü olduğu bildirilmektedir (13). Türkiye'de PTE ile ilgili standardize bir kayıt sistemi olmadığından, sınırlı epidemiyolojik veriler bulunmaktadır; en son veri 2001 yılına kadar geçen sürede 13.403 hasta ve 487 ölüm şeklindedir (14).

3) PROGNOZ:

Yapılan bir çalışmada, 20 yıllık süreç içerisinde 42 milyon ölümün yaklaşık % 1.5'unu (600.000 hasta) PTE tanısının oluşturduğu öne sürülmüştür (15). Tedavi edilmemiş hastalarda PTE'ye bağlı mortalite yaklaşık % 25-30 iken, uygun tedavi ile mortalitenin % 2-8'e düştüğü gösterilmiştir (16,17); hastaların yaklaşık % 11'i ilk saat içinde kaybedilmektedir. PTE hastalarında mortalite genellikle kanser, kardiyopulmoner komorbidite ve ileri yaş ile ilişkiliyken (18), sağ ventrikül disfonksiyonu, serumda artmış atrial natriüretik peptid, troponinde artış da mortalite riskinin yüksek olduğunun göstergeleri arasında yer almaktadır (12, 19).

Prognozu belirleyen bir diğer faktör PTE nüksüdür. PTE hastalarının % 5-23'ünde tedaviye rağmen nüks görülmektedir (20). Kanser ve herediter trombofili hastalarında nüks oranları da yüksektir (21). Türkiye'de PTE rekürrensiyle ilgili net ulaşılmış veriler bulunmamaktadır.

4) **PATOGENEZ:**

PTE genellikle alt ekstremitelerdeki derin venöz sistemde oluşan trombüslere bağlı gelişir (22); iliofemoral venler çoğunlukla PTE'nin kaynağını oluşturur (23). Sık gözlenmeyen fakat önemli olan diğer bir kaynak, özellikle kadınlarda pelvik venlerdir. Bazen sağ kalp, pelvik, renal veya üst ekstremitelerdeki venleri de emboli kaynağı olabilir (24).

Akciğerlere ulaştıktan sonra, büyük trombüslere ana pulmoner arter bifurkasyonuna yerleşip damar yatağının %50'sinden fazlasını aniden tıkayarak hemodinamik anstabilite ve kardiyovasküler kollapsa (sistemik hipotansiyon, şok) yol açabilir (25). Birkaç gün içerisinde vücuttaki endojen trombolitik sisteminin aktive olması ile tıkanan damarların rekanalizasyonu başlar ve 10-14 gün içerisinde büyük ölçüde tamamlanır (26). Hastaların ancak yarısında embolinin tam rezolüsyonu gerçekleşir; diğer yarısında ise trombüs organize olur ve rezidüel trombüs kalabilir (27).

PTE'deki gaz değişim bozukluğu, sadece vasküler yatağın mekanik obstrüksiyonuyla açıklanamaz; inflamatuvar medyatörlerin salınımı, surfaktan disfonksiyonu, atelektazi ve fonksiyonel intrapulmoner şant ile de ilişkilidir (28). Damar yatağının tıkanmasıyla birlikte, çeşitli nörohumoral maddelerin (serotonin, histamin gibi) salınımı gerçekleşir; buna bağlı olarak vazokonstriksiyon gelişir. Bu durum hem pulmoner vasküler dirençte (PVD) artışa yol açar, hem de pulmoner dolaşımı kısıtlayarak perfüzyonun kesildiği, ventilasyonun sürdüğü bölgelerde ventilasyon / perfüzyon dengesizliğine, ölü boşluk ventilasyonuna neden olur; ayrıca damar duvar reseptörlerinin etkilenmesi sonucu refleks yolla bronkospazm da meydana gelir (29).

PTE'de pulmoner arter yatağının ne oranda tıkanmış olduğu, dolayısıyla meydana gelen pulmoner arter basıncı (PAB) ve PVD'de artış ve sağ ventrikül yetmezliğinin boyutu, hastalığın seyrini ve hastanın prognozunu önemli ölçüde etkiler. Pulmoner arterin % 50'sinden fazlasının tıkanmış olduğu masif PTE'lilerde, PAB'da ani artış, akut sağ ventrikül dilatasyonu ile kardiyak outputta azalmaya, hipotansiyon ve şok gelişmesine yol açar (25). Önceden mevcut olan kardiyopulmoner hastalığı olan hastalarda ise, bu boyutta olmayan bir tıkanıklık bile PAB'de önemli artışa sebep olarak benzeri sonuçlar oluşturabilir (10) ve sistolik disfonksiyon ile kardiyovasküler kollaps (sistemik hipotansiyon, şok) gelişebilir (27).

PTE'de ortaya çıkan hipoksemi ise birkaç mekanizmanın etkisiyle gelişmektedir. Pulmoner arter basıncındaki artışa sekonder, pulmoner arteriyel-venöz anastomozların açılması ile meydana gelen şant, hipokseminin en önemli sebebidir (29). İlerleyen durumlarda, kanın foramen ovale yoluyla sağdan sola şantı da meydana gelebilir. Ayrıca, salınan medyatörler sonucu oluşan bronkospazm ve miksojen venöz oksijen içeriğinde düşüklük (azalan kardiyak outputu kompanse etmek için, oksijen içeriği düşük anatomik venöz karışımın artması sonucu) de arteriyel hipoksemi gelişmesine katkıda bulunur.

Hastalarda, hava yolu epiteli ve interstisyumda bulunan reseptörlerin refleks olarak uyarılmaları ve mevcut hipoksemi varlığının neden olduğu düşünülen hiperventilasyon, ölü boşluk ventilasyonu ile birlikte alveoler hipokapniye neden olur (29). Ayrıca, tıkanmış olan damar yatağının distalindeki bölgede, perfüzyonu bozulan segmentlerde surfaktandaki azalma nedeniyle alveoler kollaps ve atelektaziler meydana gelebilir (30).

Akciğer infarktları ise, küçük çaptaki periferik damarların tıkanması ve bronşial dolaşımın, anastomozlarla trombüsten etkilenen bölgeyi besleyemediği durumlarda, yaklaşık % 10 hastada gelişir (31).

5) RİSK FAKTÖRLERİ:

“Virshow triadı”, yani endotel hasarı, hiperkoagülabilité ve alt ekstremitelerde staz, damar içerisinde pıhtılaşma sürecini başlatan üç temel faktör olarak bilinmektedir (16). PTE vakalarının % 75’inde bu üç predispozan mekanizmadan birisine yol açan edinsel ve/veya kalıtsal faktörler tespit edilir (32); kalıtsal trombofililerin yarısında eşlik eden edinsel risk faktörü de bulunmaktadır (33). Alt ekstremitelerde meydana gelen staz, genellikle mobilitesi azalmış hasta grubunda kan akımının yavaşlaması nedeniyle gerçekleşir. Endotel hasarı gelişen hastalarda ise, travma ve cerrahi gibi ana sebepler bu süreci başlatır. Hiperkoagülasyon ise, genellikle kalıtsal trombofililer ile birlikte gözlenen bir mekanizmadır. Tablo 1’de PTE’nin edinsel ve kalıtsal risk faktörleri gösterilmektedir (33).

Tablo 1: PTE için kalıtsal ve edinsel risk faktörleri

<u>KALITSAL RİSK FAKTÖRLERİ</u>	<u>EDİNSEL RİSK FAKTÖRLERİ</u>
§ Faktör V Leiden mutasyonu	§ Maligniteler
§ Protrombin gen mutasyonu	§ Santral venöz kateter varlığı
§ Protein S eksikliği	§ Cerrahi
§ Protein C eksikliği	§ Travma
§ Antitrombin (AT) III eksikliği	§ Gebelik
§ Aktive protein C rezistansı	§ Oral kontraseptif (OKS) kullanımı
§ Hiperhomosisteinemi	§ Hormon replasman tedavisi
§ Faktör VIII artışı	§ Uzun süreli seyahat
	§ Immobilizasyon
	§ Konjestif kalp yetersizliği
	§ Antifosfolipit antikor sendromu
	§ Myeloproliferatif hastalıklar
	§ Paroksizmal nokturnal hemoglobinuri
	§ İnflamatuvar bağırsak hastalığı
	§ Nefrotik sendrom
	§ Hiperviskosite
	§ Orak hücreli anemi
	§ HIV / AIDS

Kalıtsal risk faktörleri ilerleyen bölümlerde anlatılacaktır.

- **Edinsel risk faktörleri**

Cerrahi girişim, PTE'ye neden olan en önemli edinsel risk faktörlerinden birisidir. Operasyon sürecinde meydana gelen mobilite azlığı, lokal travma ve endotel hasarı sonucu meydana gelen hiperkoagülasyon, uygulanan genel anestezinin neden olabileceği protrombotik süreç ile hastalarda PTE gelişme riski artar (6). 45-90 günlük süre içerisinde operasyon öyküsü olması tromboemboli gelişme riskinde 6-22 kat artışa yol açmaktadır (34); bu embolilerin % 25'i hastaneden taburcu olduktan sonra meydana gelmektedir (35). Kalça, diz, abdominopelvik bölge cerrahileri venöz tromboemboli gelişmesi için en yüksek riske sahip operasyonlardır (36).

Travma da PTE gelişimi için bir risk faktörüdür; travmanın lokalizasyonu venöz trombüs gelişimi açısından önemlidir. DVT, en sık sırasıyla alt ekstremitte, spinal kord, kafa, göğüs ve karın travmalarından sonra gözlenir (37).

Malignite varlığında; artmış hiperkoagülabilitate, kemoterapi, artmış immobilizasyon, uygulanan cerrahi girişimler, santral venöz kateter takılması gibi faktörler PTE gelişme riskini arttırır (29). Malignite hastalarında % 4-28 arasında değişen oranda tromboemboli gelişebileceği bildirilmiştir (38). Pankreas, akciğer, over ve müsinöz gastrointestinal sistem kanserlerinde bu risk daha fazladır (39).

İmmobilite, PTE'de en çok rastlanılan, diğer bazı risk faktörleriyle de birlikte bulunabilen bir durumdur; mobilitenin bir hafta süreyle azalmasının bile, PTE oluşturma riskini arttırdığı gösterilmiştir (40). Geçirilmiş cerrahi, malignite, uzun süreli seyahat öyküsü gibi durumlarda immobilite varlığı, PTE gelişimine yol açan önemli bir risk faktörüdür.

Geçirilmiş venöz tromboemboli öyküsünün bulunması, hastada yeniden PTE gelişmesi için önemli bir bağımsız risk faktörü olup, bu durum "PTE nüksü" kısmında daha ayrıntılı olarak anlatılacaktır.

VTE gelişme riskinin gebelikte yaklaşık 5 kat arttığı belirtilmektedir (41). Uterusta genişlemeye bağlı venöz staz, trombin ürünleri ve çeşitli pıhtılaşma faktörlerinde artış gebelerde PTE riskini arttırmaktadır (29).

Oral kontraseptif (OKS) kullanımının, PTE riskini yaklaşık 3-7 kat arttırdığı gösterilmiştir (6), bu durumun östrojen dozuyla bağlantılı olduğu düşünülmektedir. Kadınlarda, postmenapozal dönemde kullanılan hormon replasman tedavisinin de PTE için bir risk faktörü olduğu belirtilmektedir (42).

Uzun süreli seyahat öyküsü, konjestif kalp yetersizliği, antifosfolipit antikor sendromu, myeloproliferatif hastalıklar, obezite gibi bazı durumlar da PTE için edinsel risk faktörleri arasında yer almaktadır.

6) KLİNİK TABLO:

PTE'de direkt olarak tanı koyduracak spesifik semptom ve bulgular yoktur; bu yüzden risk faktörlerinin varlığı da ayırıcı tanıda göz önünde bulundurulmalıdır. PTE'de görülen semptom ve klinik bulgular tablo 2'de belirtilmiştir (26). En sık görülen semptomlar; dispne (%73), plöritik ağrı (%44), öksürük (%34) olarak sıralanmaktadır (43).

En sık gözlenen klinik bulgular ise; takipne (%54) ve taşikardi (%24) olarak bulunmuştur (43). Alt ekstremitelerde ağrı, eritem, ısı ve çap artışı, gode bırakan ödem, ayağın dorsofleksiyonu ile baldır ağrısı (Homan's belirtisi) gibi DVT bulguları ise % 47 hastada mevcuttur (43).

PTE'de ortaya çıkan klinik tablolar; masif, submasif ve masif olmayan emboliler olarak sınıflandırılabilir. Masif PTE, damar yatağının yarısından fazlasının tıkanmasıyla meydana gelen, akut sağ ventrikül dilatasyonu, şok, hipotansiyon ve/veya kardiyopulmoner arrest ile seyreden, yaşamı tehdit edici bir klinik tablodur. Submasif PTE'de ise, sağ ventrikül yüklenmesi varken, hasta hemodinamik açıdan stabildir. Masif olmayan PTE'de, sistemik kan basıncı ve sağ ventrikül fonksiyonları normal olarak bulunur.

Tablo 2 : PTE'de semptom ve klinik bulgular

<u>Semptomlar</u>	<u>Bulgular</u>
<ul style="list-style-type: none">• Dispne• Batıcı göğüs ağrısı• Hemoptizi• Çarpıntı• Retrosternal göğüs ağrısı• Senkop / presenkop	<ul style="list-style-type: none">• Takipne (>20/dk)• Taşikardi (>100/dk)• Raller• DVT bulguları• Ateş (>38 °C)• Gallop ritmi

7) TANI:

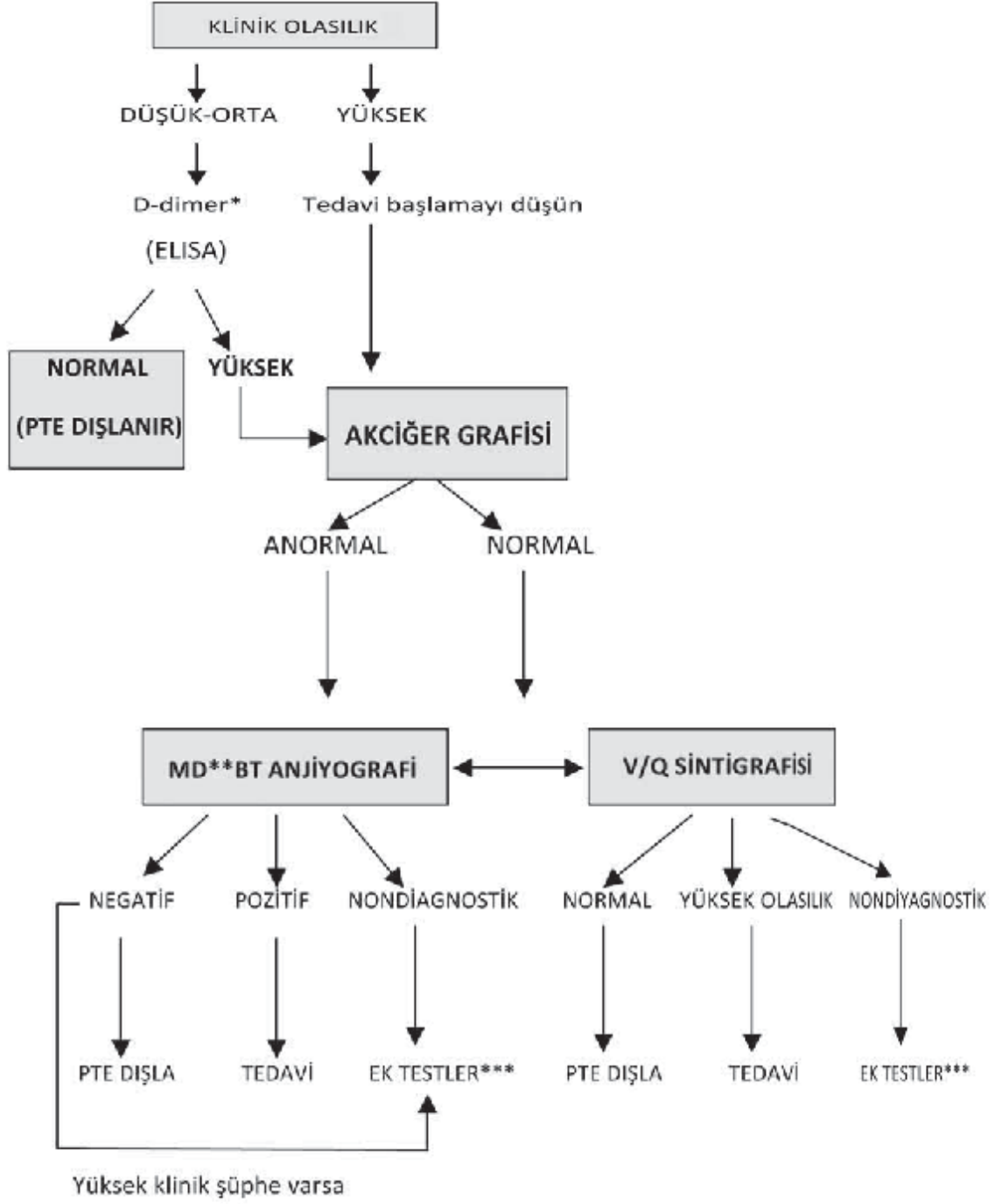
Hastalarda ilk değerlendirmede kesin tanısal olmayan, ancak klinik değerlendirmeye katkı yaparak ayırıcı tanılar açısından yönlendirici olabilen laboratuvar incelemeleri, akciğer grafisi, elektrokardiyografi (EKG) ve arter kan gazı (AKG) analizi yapılmaktadır.

- **Laboratuvar:** Non-spesifik olan bu testler sonucunda lökositoz, sedimentasyon artışı, laktat dehidrogenaz veya AST yükselmesi gözlenebilir.
- **Akciğer grafisi:** PTE'de radyolojik anormallikler sık görülse de, hastaların % 20'sinde akciğer grafisi normal olarak görülür (26). Atelektazi, pulmoner parankimal patoloji ve plevral effüzyon en sık görülen akciğer grafisi bulgularıdır (44). Dispne ve taşikardi ile başvurmış, akciğer filmi normal olup, AKG'da hipoksemi saptanan bir hastada hava yolu obstrüksiyonunu düşündüren bulgular yoksa PTE ayırıcı tanıda öncelikle akla gelmelidir (26).
- **Arteriyel kan gazı (AKG):** Arteriyel hipoksemi, hipokapni ve respiratuar alkaloz sık olarak gözlenir (44). Alveolo-arteriyel oksijen gradienti artabilir. Masif PTE'de ise; hiperkapni, kombine respiratuar ve metabolik asidoz gözlenebilir.
- **Elektrokardiyografi (EKG):** EKG bulguları, PTE olmayan hastalarda da benzer şekilde görülebileceği için, tanısal açıdan sınırlı yarara sahiptir (45). S1Q3T3 patterni, sağ ventrikül yüklenme bulguları gibi EKG değişiklikleri ise PTE'de nadir olarak gözlenen değişikliklerdir (46).
- **D-dimer:** D-dimer, spesifik bir fibrin yıkım ürünü olup trombüsün fibrinolitik sistem tarafından parçalanmasıyla salınır (47). D-dimer testi yüksek sensitivite ve negatif prediktif değeri, düşük spesifite ve pozitif prediktif değeri olan bir testtir (48). D-dimer düzeyinde yükselme PTE için tanı koydurucu değilken, klinik skorlama sistemlerine göre düşük veya orta olasılıklı hastalarda D-dimer düzeyinin de düşük olması PTE'nin ayırıcı tanılar içinden dışlanmasını sağlamaktadır (48,49).
- **Akciğer sintigrafisi:** PTE'de pulmoner arterlerdeki perfüzyon defektlerini belirlemede kullanılan, yüksek sensitivite, düşük spesifitesi olan bir tetkiktir; özellikle klinik olasılık yöntemiyle birlikte değerlendirilince tanısal açıdan belirleyiciliği artar (49). Toraks BT anjiografisi sonrası daha az kullanılan, BT angiografi bulunmayan veya hastaya uygulanması kontrendike olan durumlarda daha çok kullanılır. Özellikle perfüzyon sintigrafisinin normal olarak bulunduğu durumlarda, PTE riskinin % 1'in altında olduğu gösterilmiştir (50). Yüksek klinik olasılıkla PTE şüphesi olan hastada, ventilasyon / perfüzyon (V/Q) sintigrafisi de yüksek olasılıklı olarak gelirse, tedaviye başlanması önerilir (49).

- **Spiral BT anjiografi:** Pulmoner arterlerin kontrast madde verilmesi ile incelenebilmesini ve trombüsün doğrudan görülebilmesini sağlayan, PTE şüphesi olan hastalarda tanısal modaliteye olan katkısı nedeniyle günümüzde PTE'yi belirleme amacıyla en çok kullanılan radyolojik tetkiktir (51). Yüksek sensitiviteye sahip olması, akciğer parankimi, mediasten, plevra gibi diğer toraks yapılarını da gösterebildiği için ayırıcı tanı açısından katkıda bulunması gibi avantajları bulunmaktadır (45).
- **Alt ekstremitte venöz Doppler ultrasonografi :** DVT araştırmak için en sık kullanılan yöntemdir. Klinik olarak PTE düşünülen hastada alt ekstremitte ultrasonografisinde DVT saptanmasıyla, ileri incelemeye gerek kalmadan antikoagülan tedaviye başlanılabilir (26).
- **Pulmoner anjiografi:** PTE'de kesin tanıyı koyduran altın standart bir test olarak kabul edilse de, olası komplikasyonları ve invaziv bir tetkik olması nedeniyle öncelikle tercih edilmez. Kateterizasyon ile pulmoner arterlere direkt olarak kontrast madde verilmesi ile tetkik gerçekleştirilir.
- **Manyetik rezonans (MR) anjiografi:** Solunumsal ve kardiyak hareketlerin oluşturacağı görüntü sorunları tetkikin kullanımını sınırlandırmıştır (52); BT anjiografi çekilmesi kontrendike hastalarda gündeme gelebilir.
- **Ekokardiyografi (EKO):** Sağ ventrikül dilatasyonunu göstererek masif ve submasif emboli olabilecek hastaların belirlenmesini, masif emboliyle karışabilen aort disseksiyonu, perikard tamponadı gibi tanıların ayırt edilmesini sağlayan yöntemdir (26). EKO bulgularıyla masif tromboemboli olduğunu göstererek trombolitik tedavi verilme endikasyonu ortaya çıkabilir (53).

PTE ile ilgili tanısal algoritim, şekil-1'de gösterilmiştir (26, 54).

Sekil 1: Pulmoner tromboembolizm kuşkusunda tanısal yaklaşım



* Klinik olasılık düşük ise orta duyarlılık testler (Latex, simpli-RED) kullanılabilir.

** Multidetektörlü

*** Alt ekstremité kompresyon ultrasonografisi, seri ultrasonografi, pulmoner anjiyografi

8) TEDAVİ:

PTE'de antikoagülan tedavi ile mortalite riski azalmaktadır (15); bu durum etkili tedaviye zaman kaybetmeden başlanması önemini gösterir. Ampirik antikoagülan tedaviye, PTE ön tanılı hastada yüksek klinik kuşku varsa ve yüksek kanama riski yoksa başlanmalıdır (55).

• **Antikoagülan tedavi:**

Yeni trombus oluşumunu engelleyerek mevcut trombusün büyümesini önler (26). Fraksiyone olmamış heparin (UFH), düşük molekül ağırlıklı heparin (DMAH), oral warfarin ve diğer antikoagülanlar bu tedavinin içinde yer alır.

- **Fraksiyone olmamış heparin (UFH):** Antitrombin III'ün trombine bağlanmasını arttırarak, ayrıca faktör Xa'nın etkisini inhibe ederek antikoagülan etkisini gösterir. Antikoagülan etkisinden bağımsız bir mekanizma ile trombositler ve endotel hücrelerini etkileyerek kanamaya neden olabilir. Özellikle PTE'ye bağlı persistan hipotansiyon varlığında, masif embolide trombolitik tedavi sonrasında ve kanama riskinin yüksek olduğu durumlarda tamamen nötralize edilebilmesi özelliğiyle tercih edilir (56). Ayrıca aktive parsiyel tromboplastin zamanı (aPTT) ile monitörize edilebildiği için etkinlik düzeyinin izlenebilmesi de bir başka avantajdır. En önemli ve en sık görülen yan etkisi kanamadır (57). Intravenöz yükleme dozunun ardından sürekli infüzyon şeklinde uygulanmaktadır.

- **Düşük molekül ağırlıklı heparin (DMAH):** Trombine yeteri oranda bağlanmayıp bu yönden etkileri azalmış iken, faktör Xa'nın inhibe edici etkisi UFH ile benzerdir (29). UFH ile karşılaştırıldığında, daha uzun yarı ömrü, daha iyi biyoyararlanımı, daha az yan etkisi olan bir tedavi şeklidir (58). Özellikle hemodinamik açıdan stabil hastalarda tercih edilir. Majör kanamanın azlığı ve daha az emboli nökslerinin bildirilmesi de diğer avantajları arasındadır (59). Günde bir veya iki kez subkütan olarak uygulanır. Böbrek yolu ile atılırlar. Plasentaya geçmediği için, UFH gibi, gebelerde güvenle kullanılabilir.

- **Fondaparinux:** Aktif faktör Xa'nın selektif bir inhibitörü olup, etkisini trombini inhibe etmeden gerçekleştiren bir maddedir (56). Hemodinamik anstabilitesi bulunmayan hastalarda, UFH tedavisi kadar güvenilir ve etkin olduğu gösterilmiştir (60).

- **Oral antikoagülan (warfarin):** Oral antikoagülanların çoğunluğunu oluşturan K vitamini antagonistleri (warfarin), K vitaminine bağlı pıhtılaşma faktörlerinin (faktör II, VII, IX ve X) sentezlerini inhibe ederek etki gösterirler. Heparinize edilen hastaya tedavinin ilk 24 saatinde warfarinin eklenmesi uygulanan tedavi yoludur. Bu etkileri birkaç günü geçtikten sonra istenilen düzeye gelen hastalarda, bu tedavinin ayrıca antikoagülan etkili protein C ve S'i de düşürme etkisi olduğu için, etkili heparin düzeyi sağlandıktan sonra warfarin tedavisine başlanmalıdır; direkt olarak tedaviye oral antikoagülan ile başlanması uygun değildir. Hastalarda antikoagülan etkinlik, günlük "International Normalized Ratio" (INR) ölçümü ile izlenir. Warfarin ile uzun süreli tedavi, PTE rekürrensini önlemede etkin olarak bulunmuştur (61). En önemli yan etkisi kanamadır. Warfarin, pek çok ilaç ve besinle etkileşme özelliğine sahiptir; ayrıca plasentaya geçiş özelliği olduğu için teratojenik etkisinden dolayı gebelerde kullanılması kontrendikedir.

- **Diğer antikoagülanlar:** En çok; hirudin, bivalirudin ve argatroban kullanılır (direkt trombin inhibitörleri).

- **Reperfüzyon tedavisi:** Trombolitik tedavi ve pulmoner embolektomiyi kapsamaktadır.

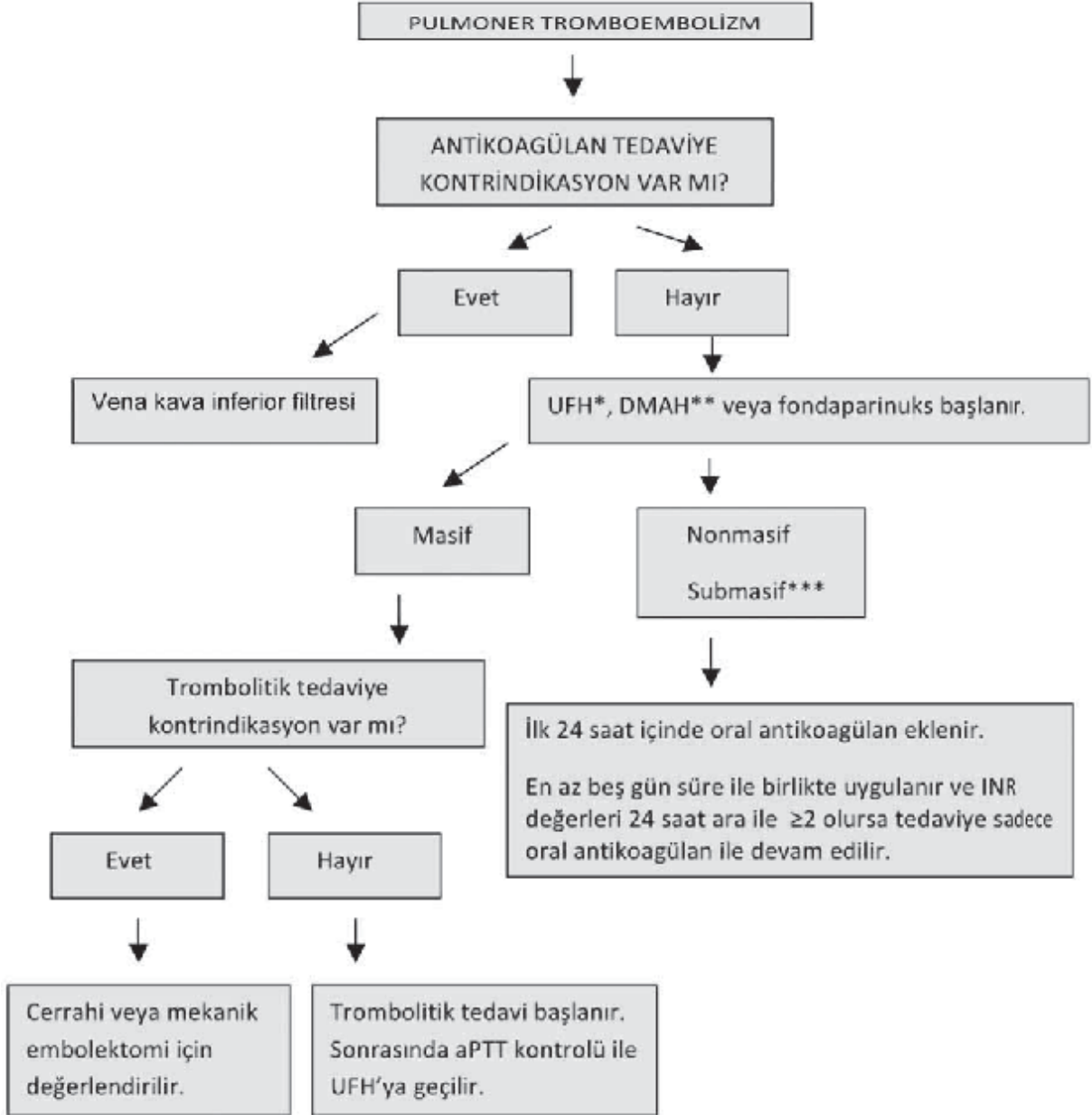
§ **Trombolitik tedavi:** Trombüsün parçalara ayrılıp eritilmesini sağlayarak, hemodinami, sağ ventrikül fonksiyonları ve perfüzyonda hızlı bir düzelme sağlayabilir (55). Masif PTE’de etkin ve özellikle ilk 24 saat içerisinde hızlı trombüs rezolüsyonu ile hayat kurtarabilecek bir tedavi yöntemidir (62). En önemli ve ciddi komplikasyonu kanamadır. Streptokinaz, ürokinaz ve rekombinan doku plazminojen aktivatörü trombolitik ajanlar arasında yer almaktadır.

§ **Pulmoner embolektomi:** Masif PTE’de, trombolitik tedavi kontrendike ise veya bu tedaviye rağmen hemodinamide düzelme yoksa gündeme gelen bir tedavi yöntemidir (61). İşlemin % 25-60 oranlarına varan düzeyde mortalite riski bulunmaktadır (26). Kateter yoluyla veya cerrahi yöntemle embolektomi uygulanması mümkündür.

- **Vena Kava İnférieur filtreleri:** Antikoagülan tedavinin mutlak kontrendike olduğu veya antikoagülan tedavi ile majör kanama, trombositopeni gibi ciddi komplikasyonların geliştiği durumlarda düşünülmelidir (61). Antikoagülan tedavi altında tekrarlayan PTE veya masif PTE’de ölümcül yeni bir atağın önlenmesi amacıyla uygulanması konusunda görüş birliği yoktur; ancak masif PTE’de erken nüks ve mortaliteyi azalttığı gösterilmiştir (63).

PTE tedavi algoritmi şekil 2’de yer almaktadır (26).

Sekil 2: PTE Tedavi Algoritmi



* Fraksiyone olmamış heparin (unfractionated heparin “UFH”),

** DMAH: Düşük molekül ağırlıklı heparin

*** Submasif pulmoner embolizmde (ekokardiyografi ile sağ ventrikül disfonksiyonu saptanan PTE) kanama riski düşük, seçilmiş hastalarda (Ciddi hipoksemi, spiral BT veya sintigrafide yaygın tutulum, EKG’de S1Q3T3 paterni, troponin yüksek ± beyin natriüretik peptid [BNP] yüksek) trombolitik tedavi verilebilir.

9) TEDAVİ SÜRESİ:

PTE’de, nüksü ve olası komplikasyonları (pulmoner hipertansiyon gibi) engellemek amacıyla antikoagülan idame tedavisi belli bir süre uzatılmaktadır; bu duruma “sekonder profilaksi” adı verilir. Sekonder profilaksinin süresi, hastanın geçirdiği venöz tromboemboli atağının ilk olup olmaması ve PTE risk faktörünün geçici / kalıcı olmasına göre değişmektedir. Uzun süreli antikoagülan tedavi ile rekürrens oranı azaltılırken, kanama riski de belli bir oranda artar; genel yaklaşım, kanama için risk faktörü bulunmayan ve INR takibini düzenli olarak yapabilecek hasta grubunda uzun süreli tedavi yapılması (ortalama 6 ay) şeklindedir (61).

- **İlk PTE atağı:**

Hastada tedavi süresi DVT veya PTE’nin olası risk faktörünün değerlendirilmesi ile belirlenir. Cerrahi, travma, uzun yolculuk öyküsü, immobilizasyon, gebelik gibi geçici risk faktörleri mevcut hastalarda en az 3 aylık warfarin tedavisi önerilir (61). Antikoagülan tedavinin 3 aydan kısa süreli verilmesi PTE nüksünü arttırırken (64), bu hastalarda 3 aydan uzun süren tedavinin ek katkı sağlamadığı, rekürrensin azaltılmasına katkısı olmadığı gösterilmiştir (65).

PTE için net bir risk faktörü gösterilememiş hastalarda 2008 American College of Chest Physicians (ACCP) Konsensusu önerilerine göre, 3 aylık warfarin tedavisi ardından değerlendirme yapılması, kanama risk faktörü bulunmayanlarda tedavinin daha uzun süreli (altı ay) olması önerilmektedir (61).

- **Birden çok VTE atağı:**

2 veya daha fazla VTE atağı geçiren hastalara uzun süreli antikoagülan tedavi önerilmektedir (56).

- **Kanser varlığı:**

PTE risk ve rekürrens oranının yüksek olduğu malignite hastalarında, en az 3-6 ay antikoagülan tedavi kullanılması, tedavide DMAH’in kullanımının tercih edilmesi belirtilerek, yine ACCP Konsensusu’na göre antikoagülan tedavinin mevcut kanser tam kür olana kadar süresiz olarak verilmesi önerilmektedir (61).

PTE’de uzun süreli tedavi önerileri tablo-3’de gösterilmektedir (66).

Tablo 3 : PTE’de uzun süreli tedavi önerileri

Öneriler: uzun süreli tedavi	Sınıf - a	Düzey - b
Geçici (geri dönüşlü) bir risk faktörüne ikincil PTE’si olan hastalarda, bir KVA ile 3 aylık tedavi uygulanması tavsiye edilmektedir	I	A
Uyarılmamış PTE’si olan hastalarda, bir K vitamini antagonisti (KVA) ile en az 3 ay süreyle tedavi uygulanması tavsiye edilmektedir	I	A
İlk uyarılmamış PTE atağını geçiren ve kanama riski düşük olan, kararlı antikoagülasyonun sağlanabileceği hastalarda uzun süreli antikoagülasyon uygulanması düşünülebilir	IIb	B
İkinci uyarılmamış PTE atağını geciren hastalarda uzun süreli tedavi uygulanması tavsiye edilir	I	A
Uzun süreli antikoagülan kullanan hastalarda, bu tür bir tedaviye devam etmenin risk/yarar oranı, düzenli aralıklarla değerlendirilmelidir	I	C
PTE’li kanser hastalarında, ilk 3-6 ayda DMAH kullanılması düşünülmelidir	IIa	B
Bu dönemden sonra, KVA ya da DMAH ile tedaviye kanserde şifa sağlandığı düşünülene kadar ya da süresiz olarak devam edilmelidir	I	C
PTE’li kanser hastalarında, KVA dozu, tedavi süresine bakılmaksızın, hedef INR 2.5 (2.0-3.0 aralığında) olacak şekilde ayarlanmalıdır	I	A

a – Öneri sınıfı

b – Kanıt düzeyi

10) NÜKS:

PTE nüksü, % 4-9 oranlarında mortalitesi (17), kronik pulmoner hipertansiyona yol açabilme özelliği (67, 68) nedeniyle önemli ve önüne geçilmesi gereken bir durumdur.

PTE, antikoagülan tedavi altında bile nüks ihtimali bulunan bir hastalık olup, uzun süreli oral antikoagülan tedavi uygulandığında mevcut nüks riskinin yaklaşık % 90 azaldığı gösterilmiştir (69). Nüks, en çok tedavi bitiminden sonraki ilk 6 ayda görülmekteyken, tedavi sırasında düşük olan rekürrens riski ilerleyen yıllarda gitgide azalmaktadır (8, 70). PTE rekürrens riskinin kümülatif oranı 5 yıl içinde % 25 ve 10 yıl içinde % 30 olarak bulunmuştur (8).

Türkiye’de PTE rekürrensiyle ilgili net ulaşılmış veriler bulunmamaktadır. Bir çalışma nedeniyle, 2006–2007 yıllarını kapsayan dönemde kliniğimizde izlenen 104 PTE tanılı hasta incelendiğinde; bu hastalarda herediter trombofili sayısı: 6 (% 5.8), geçirilmiş DVT ve pulmoner emboli öyküsü olan hasta sayısı ise 22 (% 21.2) olarak bulunmuştur (71).

PTE’de, kanser varlığı ile birlikte, rekürren PTE gelişiminin en çok görülen nedenlerinden birisinin genetik risk faktörleri olduğu gösterilmiştir (8).

11) KALITSAL TROMBOFİLİ:

Kalitsal trombofili, venöz tromboemboli için genetik yatkınlığı gösteren bir kavramdır. 1965'den bu yana PTE için birçok genetik risk faktörü ortaya konulmuştur. 1993 yılından önce % 5-15'lik VTE hastasında saptanan bu oran, bu yıldan sonra özellikle Faktör V Leiden (FVL) ve protrombin (PTM) G20210A mutasyonlarının keşfedilmesinin ardından belirgin ölçüde artış göstermiştir (72).

Gerçek prevalansı net olarak bilinmemekle birlikte, kalitsal faktörlerin PTE hastalarının yaklaşık % 20'sinden sorumlu olduğu öne sürülmektedir (7). Bu oran, bazı araştırmalarda % 25-50'lere kadar yükselmektedir (73). Türkiye'de ise, PTE için genetik risk faktörlerinin sağlıklı toplum ve hasta gruplarındaki oranları, Türk Toraks Derneği Pulmoner Tromboembolizm Tanı Ve Tedavi Uzlaşım Raporu'nda yer almaktadır; bu veriler tablo-4'de gösterilmiştir (26).

Tablo 4 : Ülkemizdeki kalitsal trombofili oranları

	Sağlıklı toplum (%)	DVT'li hastalar (%)	PTE'li hastalar (%)	VTE'li (DVT+PTE) hastalar (%)
Faktör V Leiden mutasyonu (heterozigot + homozigot)	2-12	24.6-28.8	7.9-21	5.4-35
Faktör V Leiden mutasyonu (homozigot)	0-3.0	0-1.6	*	2.6-4.8
Faktör V Leiden mutasyonu (heterozigot)	0-8.8	22.9-28.8	*	17-30
Protrombin 20210A mutasyonu	0-4.8	6.5	0-7.7	5.7-11
Protein C eksikliği	0-2	5.4	2.5	5.8-13.5
Protein S eksikliği	0-3.0	5.4	3.8	3.1-13.5
Antitrombin III eksikliği	0-0.5	0	2.5	1.0-5.4
Artmış faktör VIII	3.0-9.4	*	53.3	53.1-55
Artmış faktör IX	4.7	*	*	*
Hiperhomosisteinemi	8.9	5.4	8.8	11.5 - 17.6
Kalitsal trombofili	15.1	37.4	7.9-8.6	41.6

* Veri yok

Genellikle genç yaşta gelişen ve tekrarlayan tromboembolilerde varlığı araştırılan genetik risk faktörlerinin aranması gereken ve önerilen hasta grubu tablo 5’de gösterilmiştir (7).

Tablo 5 : Kalıtsal Trombofili Aranması Önerilen Hastalar

• Ailede VTE öyküsü,
• 40 yaşından önce oluşan ve nedeni açıklanamayan VTE atakları,
• Olağan dışı bölgelerde (üst ekstremitte, serebral, abdominal venlerde) tromboz,
• Neonatal tromboz öyküsü,
• Tekrarlayıcı, gezici veya masif tromboemboli,
• Warfarine bağlı deri nekrozu öyküsü.

PTE’de görülen başlıca genetik risk faktörleri arasında; Faktör V Leiden mutasyonu, protein C ve S eksikliği, aktive protein C rezistansı, antitrombin (AT) III eksikliği, Faktör VIII artışı, Protrombin G20210A gen mutasyonu ve metilen tetrahidrofolat redüktaz (MTHFR) gen polimorfizmi (MTHFR C677T ve A1298C) yer almaktadır.

- **Faktör V Leiden (FVL) mutasyonu:**

Faktör V Leiden mutasyonu, PTE’de % 8’lerden % 50’lere kadar varabilen oranıyla en sık görülen kalıtsal trombofili tipidir (7, 74). FVL mutasyonu prevalansının genel popülasyonda % 2-15 arasında değiştiği (75), bir araştırmada PTE hastalarında % 24’e kadar yükseldiği gösterilmiştir (76). Faktör Va, koagülasyon kaskadında protrombinin trombine dönüşümünde rol oynayan önemli bir faktördür. FV Leiden, Faktör V geninde 506. pozisyondaki arjinin yerine glutaminin yer alması sonucu meydana gelen tek nokta mutasyonudur (6); bu mutasyon sonucu faktör Va’nın parçalanmaya dirençli olması, FVL’in inaktivasyon hızının normal faktör Va’dan yavaş olması ve serumda artmış aktive FVL varlığının protrombinden trombin oluşumunu hızlandırması ile koagülan etkide artış olur (77). Ayrıca aktive faktör Va’nın faktör VIIIa yıkımında protein C için kofaktör gibi davranma özelliğinde de azalma olur; böylece antikoagülan etkide de azalma gözlenir (78).

Bu mutasyon, homozigot ve heterozigot olarak vücutta taşınabilir. Homozigot FVL mutasyonu olanlar, heterozigot mutasyonu olanlara göre daha fazla risk taşımaktadır; bu durum heterozigot bireylerde normal faktör V’in de bulunması ve bu sayede aktive protein C’nin faktör VIIIa’yı inaktive ederek antikoagülan etkinlik sağlanmasıyla açıklanabilir (79). Tromboz gelişme riskinin, heterozigot FVL taşıyıcılarında 5, homozigotlarda ise 50-100 kat arttığı gösterilmiştir (80).

FVL mutasyonunda klinik tabloyu genellikle venöz tromboembolik hastalık oluşturur; serebral, mezenterik ve portal ven trombozları da gözlenebilir (78). Bu mutasyonunun, PTE nüksünü de anlamlı ölçüde arttırdığı gösterilse de, mortalitede ciddi artışa yol açtığına dair kanıt yoktur (79). İlk trombüs atağını geçiren hastada, FVL mutasyonu olanların olmayanlara göre 2 kat daha fazla trombüs nüksü geçirme ihtimali olduğu gösterilmiştir (81).

- **Aktive protein C rezistansı :**

Aktive protein C rezistansı (APCR), trombinin endoteldeki trombomodulinle birleşmesiyle aktive olan protein C'nin, inaktive etmekle görevli olduğu faktör V'i, mutasyona uğramış olduğu için tanıyamayıp inaktive edememesiyle meydana gelir.

APCR'nin % 90-95'ini FVL'in heterozigot mutasyonu oluşturmaktadır; geri kalan kısmı ise FVL homozigot mutasyonu, edinsel olaylar ve faktör V Cambridge / Liverpool gibi diğer mutasyonlar meydana getirmektedir (77). Genel popülasyonda görülme sıklığı % 3-10 olan APCR'nin, yapılan otopsi çalışmalarında, PTE'li hastalarda daha yüksek oranda görüldüğü tespit edilmiştir (29).

- **Protein C eksikliği :**

Protein C, karaciğerde sentezlenen, K vitamini bağımlı bir antikoagülan olup, pıhtılaşma sisteminin aktivasyonu sırasında trombin tarafından aktive protein C haline dönüştürülür. Aktive protein C, selektif olarak proteolize uğratar; faktör Va ve VIIIa inaktivasyonunda rol oynayarak antikoagülan etkinlik gösterir.

Protein C eksikliği otozomal dominant geçişlidir ve sağlıklı popülasyonda 1/200-1/500 sıklığında yer almaktadır (82). Protein C eksikliğine sekonder VTE oranı % 2-5 olarak bulunmuş olup (83), ilk atağın genellikle spontan olarak ve erken yaşta ortaya çıktığı belirtilmektedir.

Çocukluk çağı ve yetişkinlerde görülen VTE, yenidoğanlarda gözlenen purpura fulminans, warfarine bağlı deri nekrozu ve gebe kadınlarda spontan düşükler şeklinde klinik tablo gözlenebilir (77).

Warfarin tedavisi, protein C aktivitesinde düşüğe yol açtığı için, etkin heparinizasyon sonrası oral antikoagülan tedaviye başlanmalıdır. Karaciğer hastalıkları, şiddetli enfeksiyonlar ve bazı kullanılan ilaçlar (metotreksat gibi) edinsel protein C eksikliğine neden olabilir (84).

- **Protein S eksikliği :**

Protein S, vitamin K bağımlı sentez edilen, otozomal dominant geçiş gösteren, protein C'yi kofaktör olarak aktive eden bir glikoproteindir. Protein S, hem kofaktör olarak aktive ettiği protein C'nin faktör Va ve VIIIa'yı inaktive etmesiyle, hem de direkt olarak protrombinin faktör Va ve Xa ile etkileşimini inhibe etmesiyle antikoagülan etkinliğini gösterir; bu yüzden protein S eksikliği tromboz oluşumu için önemli bir risk faktörü olarak kabul edilmektedir (85).

Protein S eksikliği sağlıklı bireylerde % 0.03 - 0.13 (86), trombofili varlığı olan ailelerde ise % 6 oranında görülmektedir (85). Yapılan çalışmalarda, protein S genini heterozigot taşıyan bireylerde VTE riskinin 6 - 10 kat arttığı gösterilmiştir (87). Derin (aksiller, femoral vs.), mezenterik, serebral ve yüzeysel venlerde trombüse yol açtığı gibi, PTE'ye ve arteriyel trombüs oluşumuna da neden olmaktadır; tekrarlayan VTE ataklarının sebeplerinden birisi olarak da gösterilmektedir (77).

Gebelik, OKS veya östrojen replasmanı kullananlar, nefrotik sendrom, dissemine intravasküler koagülasyon, HIV enfeksiyonu, karaciğer hastalıkları gibi durumlar edinsel protein S eksikliğine yol açabilmektedir (88).

- **Antitrombin III (AT III) eksikliği :**

AT III, kalıtsal trombofililer içerisinde ilk tanımlananlardan birisidir. En önemli doğal proteaz inhibitörleri arasında yer alan, karaciğerde sentezlenen bir glikoprotein olup, trombin ve diğer serin proteazların (Faktör IX a, X a, XI a, XIIa, kallikrein) inhibisyonunu gerçekleştirerek antikoagülan etkinliğini gösterir. Bu özellikleriyle fibrin oluşumunun en önemli ve kuvvetli fizyolojik inhibitörlerinden birisi olarak kabul edilmektedir. İki tip antitrombin III eksikliği vardır; tip I'de sentezinin azalması, tip II'de ise fonksiyonel olarak aktif olmama durumu söz konusudur.

Yapılan bir araştırmada sağlıklı bireylerdeki ölçümlerde AT III eksikliği 1/600 oranında saptanmıştır (89). Bir başka çalışmada, VTE tanısı olan hastalarda % 1.5 oranında AT III eksikliği tespit edilmiştir (90). AT III eksikliğine bağlı VTE'de en çok etkilenen venler femoropopliteal ve iliofemoral venler olup, nüks % 60'lara varan oranda bulunmuştur (91).

Edinsel AT III eksikliğine yol açan başlıca durumlar; dissemine intravasküler koagülasyon (DİK), heparin tedavisi, preeklampsi, eklampsi, gebelik, OKS kullanımı, karaciğer hastalığı ve nefrotik sendrom olarak belirtilmiştir (91).

- **Artmış Faktör VIII :**

Faktör VIII, 10. kromozoma lokalize gene sahip olan, koagülasyon kaskadında faktör IXa ve fosfolipidle kompleks oluşturarak faktör X aktivasyonunu gerçekleştiren bir yapıdır (92). Faktör VIII'de meydana gelen artış, faktör X aktivasyonu ile protrombinden trombin oluşumunu daha da arttırarak koagülasyon aktivitesinde artışa yol açtığı için trombotik risk faktörleri arasında yerini almıştır (93).

Artmış faktör VIII, sağlıklı toplum bireylerinde % 3-9.4 (26), VTE'li hastalarda ise % 11.3 oranında bulunmuştur (94). Yüksek FVIII seviyesinin, normal olanlara göre VTE gelişme riskini yaklaşık 5 kat arttırdığı bildirilmiştir (93). Aynı zamanda, faktör VIII düzeyinin VTE için bağımsız bir risk faktörü olduğu (95), PTE rekürrensi ile de korele olarak bulunduğu gösterilmiştir (96).

- **Protrombin (PTM) G20210A mutasyonu :**

Protrombin (faktör II), koagülasyon kaskadının en son basamağında trombinin prekürsörü olarak görev yapmakta olan, 11. kromozomun kısa kolunda bulunan gene sahip olup karaciğerde sentezlenen, K vitamini bağımlı bir faktördür.

PTE için risk faktörü oluşturan PTM gen mutasyonu, 20210. nükleotidde guaninden adenine dönüşüm olmasıyla ortaya çıkmaktadır (97). Bu mutasyon, mRNA degradasyonunda yavaşlamaya yol açarak serum protrombin düzeyi arttırmakta ve bu da koagülasyonda artışa yol açmaktadır.

Tüm dünyada yaklaşık % 3 sıklıkta bulunan bu mutasyonun (98), VTE bulunan hastalarda % 4 - 17 arasında mevcut olduğu gösterilmiştir (99,100). Heterozigot taşıyıcılarda, normal bireylere göre serum protrombin seviyesinin % 30 daha fazla olduğu ortaya konulmuştur (97).

Heterozigot PTM mutasyonu taşıyıcılarında, DVT ve serebral ven trombozu riski arttığı gibi, rekürren VTE oranında da artış gözlenmiştir (101). Bu mutasyonun, venöz tromboemboli riskini ortalama 3 kat arttırdığı (97, 102), bazı araştırmalarda oranın 8 kata kadar yükseldiği gösterilmiştir (100). İkinci bir kalıtsal risk faktörünün varlığında, özellikle faktör V Leiden mutasyonu ile birlikte, VTE riski ciddi olarak (risk oranında yaklaşık 20 kat artış) yükselmektedir (103).

Bu mutasyonun, gebelik sırasında gelişen tromboembolilerde de rolü olduğu gösterilmiştir (104). Özellikle VTE'li genç hastalar ve tekrarlayan tromboembolisi olan yaşlı hastalarda PTM G20210A mutasyonuna bakılması önerilmektedir (79).

- **Metilen tetrahidrofolat redüktaz (MTHFR) gen polimorfizmi:**

Homosistein, metiyoninin sisteine dönüşmesiyle ortaya çıkan bir aminoasit olup, hiperhomosisteinemi otozomal resesif geçişli, toplumda % 5-7 oranında görülen (105, 106), VTE'nin bilinen risk faktörlerinden birisidir (107). Koagülasyonun faktör V bağımlı aktivasyonunu arttırarak trombüs gelişimine yol açtığı belirtilmektedir (29). Hem arteriyel hem de venöz tromboemboliye yol açabilen bir trombofili tipi olup, kalıtsal olduğu kadar edinsel nedenlerle de (folik asit, pridoksin, kobalamin eksikliği, kronik böbrek yetmezliği, hiperkolesterolemi ilaçları vs.) homosistein düzeyinde artış meydana gelebilir (108, 109).

Genetik geçişli hiperhomosisteineminin en sık görülen sebebi, MTHFR enzim eksikliği ve bu kodlayan gende meydana gelen mutasyonlardır (110). MTHFR, homosistein metabolizmasında folatın 5-metilentetrahidrofolata dönüşümünü sağlayarak etki eden bir enzimdir. Bu enzimde meydana gelen nükleotid değişikliği (en sık 677. nükleotidde sitozin → timin), serum folat düzeylerinde düşüklüğe yol açar; bu durum homosistein düzeyini yükseltir (111).

Bazı çalışmalar, MTHFR mutasyonu ve venöz tromboemboli arasında zayıf bir ilişki olduğunu gösterse de (112, 113), arteriyel ve venöz tromboz riskini (yaklaşık 2.5 kat) yükselttiğini (114), MTHFR C677T, A1298C gibi MTHFR mutasyonu taşıyıcılarında PTE oranının artmış olduğunu gösteren bazı çalışmalar da mevcuttur (107).

V. GEREÇ VE YÖNTEM

1) Hasta seçimi:

2006-2009 yılları arasında Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde (DEÜTF) pulmoner tromboemboli tanısı almış olan hastaların listesi, "DEÜTF Bilgi-İşlem Birimi" ve "DEÜTF Göğüs Hastalıkları Kliniği Hasta Kayıt Defterleri" incelenerek oluşturuldu. Toplam 281 hastanın bu süreçte PTE nedeniyle izlendiği belirlendi.

İzlemleri sırasında önceden PTE-genetik risk faktörlerinin bakılmış olduğu hastane kayıtlarından öğrenilen 45 hasta araştırmaya dahil edilmedi. Yine dışlama kriterlerinin mevcut olduğu 27 hasta çalışma harici bırakıldı (19 hasta kumadinize, 4 hasta hipotiroidi, 2 hasta nefrotik sendrom, 2 hasta ciddi böbrek yetmezliği). Kalan 209 hastadan 28'inin hastane sisteminden veya dosyasından telefonuna ulaşılamadı.

Hasta dışlama kriterleri tablo 6'da yer almaktadır.

Tablo 6: Hasta dışlama kriterleri

- <u>Komorbid hastalıklar</u> Ø Hipotiroidi (4), Ø Hemofili hastalığı (5), Ø DİK, karaciğer hastalığı, sepsis (1,2,3), Ø Böbrek hastalığı veya nefrotik sendrom (1,2,3)	- <u>Tedavi</u> Ø Oral kontraseptif veya östrojen replasmanı (1,3), Ø Metotreksat, fenitoin veya teofilin (4), Ø Warfarin (1,2), Ø Hirudin ve argatropan gibi trombin inhibitörü.
- <u>Vitamin eksikliği</u> Ø B12, folat veya B6 (4), Ø K vitamini eksikliği (1,2)	- <u>PTE tanısını alalı 2 haftadan kısa süre geçmiş olması</u> (1,2,3) - <u>Gebelik ve postpartum dönem</u>

1: Protein C, 2: Protein S, 3 : AT III, 4: Homosistein, 5: Faktör VIII etkilendiği için çalışma dışı.

Ulaşılabilen 181 hastadan 27'si araştırmaya katılmayı reddetti veya çeşitli nedenlerden dolayı gelemeyeceğini belirtti; 64 hastanın vefat ettiği öğrenildi. Telefon ile ulaşılabilen ve araştırmaya katılmayı kabul eden 90 hasta çalışmaya alındı. Araştırma hakkında bilgilendirilen bu hastalardan yazılı onam formu alındı.

Akut tromboz varlığı AT III, protein C ve S konsantrasyonlarını, tüketime bağlı geçici olarak azalttığı için, bu hastalarda tetkikler akut evre geçtikten sonra (2-6 hafta) yapıldı.

Warfarin tedavisi, protein C ve S'in de bulunduğu K vitamini bağımlı faktörleri azalttığı için, bu hastaların kanları tedavi bitiminden en az 2 hafta sonra alındı.

Düşük molekül ağırlıklı heparin tedavisini profilaksi veya tedavi amaçlı kullanan hastaların tetkikleri, DMAH etkinliği son injeksiyon sonrası 12-24 saat sürdüğü için, son uygulamanın üzerinden 24 saat geçtikten sonra yapılmıştır.

2) Örneklerin Toplanması ve Laboratuvar Analizleri:

Araştırmaya dahil edilen 90 hastadan; aktive protein C rezistansı, protein C, protein S, antitrombin (AT) III, Faktör VIII düzeyleri DEÜTF Merkez Laboratuvarı'nda, Faktör V Leiden, Protrombin (G20210A) ve metilen tetrahidrofolat redüktaz (MTHFR C677T ve A1298C) gen mutasyonları ise "real-time PCR" yöntemiyle DEÜTF Hematoloji Laboratuvarı'nda çalışıldı.

• DNA izolasyonu:

Hastalardan alınmış olan periferik kanlardan DNA izolasyonu için 2 cc EDTA'lı kan kullanıldı. High Pure PCR Template Preparation Kit ile çalışıldı. Liyofilize haldeki Proteinase K 4.5 ml distile su eklenerek alikotlandıktan sonra İnhibitör Removal Buffer 20 ml etanol eklenerek, Wash Buffer ise 80 ml etanol eklenerek hazırlandı. 1.5 ml'lik ependorf tüplere 200 µl kan örneği alınıp, üzerlerine 200 µl Binding Buffer ve 40 µl Proteinase K eklenerek iyice karıştırıldı. 10 dk 72 °C'de inkübasyona bırakıldıktan sonra, her tüpe 100 µl isopropanol eklendi ve pipetle karıştırıldı; bu sayede DNA'ların çökmesini sağlandı. Hasta sayısı kadar collection tüp çıkartılarak her birine filtreli tüp yerleştirildi. Hazırlanan bu karışım collection tüplere aktarılarak 8000xg'de 1 dk. santrifüj edildi. Ardından, collection tüpler atıldı; filtreli tüpler yeni collectionlara alındı. Her tüpe 500 µl inhibitör removal buffer, ardından 500 µl inhibitör wash buffer eklenerek santrifüjleme ve collection tüplere alma işlemi yineleni. Sonunda bu sıvı dökülerek tekrar 13000x g'de 10 saniye spin yapıldı. Collection tüpler atılıp filtreli tüpler 1.5 ml lik ependorflara alındı. Her tübe önceden ependorflara bölünerek hazırlanmış ve 72 °C de bekleyen elution buffer'dan 200 µl eklendi; 8000xg de 1 dk. santrifüj yapıldı. Sonrasında, filtreli tüpler atıldı ve DNA'lar ependorf içinde toplandı; bu şekilde DNA izolasyonu tamamlanmış oldu.

• Faktör V leiden mutasyonu analizi:

Faktör V leiden Kiti, periferik tam insan kanından izole edilen DNA'dan, FVL mutasyonu olarak adlandırılan insan Faktör V geninde tek nokta mutasyonun tespit edilmesini ve genotiplendirilmesini sağlar.

Test, örneklerden elde edilen Faktör V DNA amplifikasyonunun tespit edilmesi için polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ve amplifiye edilmiş Faktör-V DNA'nın tespit edilmesi ve genotiplendirilmesi için hedefe spesifik florojenik hibridizasyon kullanılarak LightCycler2.0 cihazında gerçekleştirildi. Kalıp DNA'ya hibridizasyondan sonra iki probun oldukça yakınlaşmış iki florofor arasında floresan rezonans enerji transferinin (FRET) gerçekleşmesi sırasında florofor donörü olan floresein, LightCycler2.0 cihazını ışık kaynağıyla uyardı ve uyarma enerjisinin bir kısmı florofor alıcısı olan LightCycler red 640-NHS estere transfer edildi. Yayılan floresan LightCycler2.0 cihazında ölçüldü. Amplikon özel bir HybProbe prob çifti kullanılarak floresanla ölçüldü. HybProb'lar ayrıca amplifikasyon döngüleri tamamlandıktan ve amplikon artan konsantrasyonda mevcut olduktan sonra erime eğrisi analizinin gerçekleştirilmesi yoluyla genotipin tayin edilmesinde de kullanıldı. Red 640 işaretli Hyb-probu mutasyona uğramamış hedef sekansın bir kısmı ile hibritleşti; floresein işaretli Hyb-Prob ise mutasyon bölgesinden geçti (mutasyon probu). Faktör V leiden mutasyonu mevcut hastalarda mutasyon probunun hedefe uyumsuz eşleşmesi hibridi destabilize etmekteydi. Mutasyonu olmayan hastada ise, uyumsuz eşleşme meydana gelmeyerek heterodubleks DNA'nın daha yüksek bir erime sıcaklığına sahip olduğu gözlemlendi. Analiz sonucunda mutasyona uğramamış form 65 °C'de, homozigot tip 55-59 °C'de tek amplifikasyon piki oluştururken, heterozigot tip 55 ve 65 °C'de olmak üzere iki pik oluşturdu. Analiz sonucunda oluşan amplifikasyon eğrilerinin Tm (erime sıcaklığı analizi) değerlerine göre hastanın genotipi saptandı.

- **Protrombin G20210A mutasyonu analizi:**

Faktör II (protrombin) G20210A kiti, periferik tam insan kanından izole edilen DNA'dan insan Faktör II geninde tek noktali mutasyonun (20210 pozisyonunda G'den A'ya) tespit edilmesini ve genotiplendirilmesini sağlar.

Faktör-II geninin 165 bp'lik bir fragmanı spesifik primerler kullanılarak insan genomik DNA'sından amplifiye edildi. Amplikon özel HybProb çifti kullanılarak floresanla ölçüldü, yayılan floresan LightCycler 2.0 cihazında ölçüldü. Hyb-Problar ayrıca amplifikasyon döngüleri tamamlandıktan sonra ve amplikon artan konsantrasyonda mevcut olduktan sonra erime eğrisi analizinin gerçekleştirilmesi yoluyla genotipin tayin edilmesinde de kullanıldı. Red-640 işaretli Hyb-Prob mutasyona uğramamış hedef sekansın bir kısmı ile hibritleşti. Floresein işaretli HybProbu mutasyon bölgesinden geçti. Erime eğrisi analizi sırasında artan sıcaklık floresanın azalmasına neden oldu. Protrombin G20210A mutasyonu mevcut hastalarda, mutasyon probunun hedefle uyumsuz eşleşmesi hibridi destabilize etti. Doğal tipli genotipte uyumsuz eşleşme meydana gelmedi.

- **MTHFR A1298C mutasyon analizi:**

MTHFR A1298C geninin 163 bp lik fragmenti, spesifik primerlerle amplifiye edilip PCR sonuçları Red-640 işaretli hibridizasyon problemleriyle analiz edildi. Genotip spesifik erime eğrisi analizi (Tm)(melting curve) yapılarak saptanıp, MTHFR A1298 C mutasyonu olmayan hastalara 65 °C'de, MTHFR A1298C mutasyonu olan hastalara ise 58.5-59.5 °C'de amplifikasyon analizi yapıldı. LightCycler cihazında 640 nm dalga boyunda analiz gerçekleştirildi.

- **MTHFR C677T mutasyon analizi:**

MTHFR C677T geninin 233 bp'lik fragmenti Red-640 işaretli problarla ve spesifik primerlerle amplifiye edilip, genotip erime eğrisi analizi yapılarak belirlendi. LightCycler cihazında 640 nm dalga boyunda real-time PCR teknolojisi ile ölçümler yapıldı. Normal genotip 62.5 °C'de, mutant olan genotip 55 °C'de amplifikasyon analizi yapıldı. Heterozigot olan genotipe ise 55-62.6 °C olmak üzere iki ayrı noktada amplifikasyon analizi uygulandı.

- **Faktör ve proteinlerin serum düzeylerinin tayini:**

Protein C, protein S, faktör 8 düzeyleri, aktive protein C rezistansı ve Antitrombin III aktivite tayini için alınan kan örnekleri sitrat içeren tüplere alındı. Kan-sitrat oranı; 9 birim kan, 1 birim sodyum sitrat (0,109 M - % 3.2'lik) olacak şekilde idi. Ardından 1500 g'de (3500 rpm) 10 dk santrifüj edildi. Santrifüj işleminden hemen sonra plazma örnekleri Eppendorf tüplerine aktarılarak -40 °C'de donduruldu ve hepsi bir seferde analiz edildi.

Antitrombin III aktivite belirlemesi için Dade Behring Berichrom Antitrombin III (A) Kiti, değerlendirmede BCS cihazı kullanıldı. Örnekteki antitrombinin kitte bulunan trombinin inaktivasyonu sonrasında kalan trombin içeriğinin 405 nm'de oluşan absorbans değişikliği kalibrasyon eğrisine göre hesaplanarak sonuçlar (%) cinsinden verildi. % 75-125 arası, testin normal aktivite sınırları olarak belirtilmiştir.

Protein S aktivitesi, Dade Behring Protein S Ac kullanılarak BCS cihazında çalışıldı. İnsan plazmasında protein S fonksiyonel aktivitesinin tayin eden bu testte, Protein C, koagülasyon dizisinin RVV (russell yılan zehiri) aracılığıyla aktivasyonu sırasında üretilen F Va'yı proteolitik olarak parçalar. Bu reaksiyonda protein S, reaksiyonu hızlandıran bir kofaktör olarak etki gösterir. Bunun sonucunda koagülasyon zamanı örnekteki protein S aktivitesi ile orantılı olarak uzar. Test Protein S aktivite değerini PT zamanının uzamasına dayanarak otomatik olarak vermektedir. % 58-127.5 arası, testin normal değerleri olarak belirtilmiştir.

Protein C aktivitesi, Dade Behring, Berichrom protein C test kiti kullanılarak BCS cihazında çalışıldı. Test fonksiyonel Protein C aktivite değerini aPTT'nin uzamasına dayanarak otomatik olarak vermektedir. Kit, protein C'nin amidolitik olarak aktif bölümünü saptamaktadır. Hasta örneğinde bulunan protein C spesifik bir yılan zehiri ile aktifleştirilmektedir. Sonuçta; 405 nm'deki absorbans artışı ölçülerek kinetik olarak belirlenmektedir. Testin normal aktivite değerleri % 70-140 arasındadır.

Faktör VIII ölçümü, içinde faktör VIII dışında bütün faktörlerin yeterli miktarda bulunduğu ve değişmediği ortamda aPTT yöntemi ile pıhtılaşma zamanının ölçülmesi prensibine dayanır. İntrasek yolun bir komponenti olan faktör VIII eksikliği uzamış aPTT ile sonuçlanacaktır. Faktör VIII'den yoksun plazma ve hasta plazmasının bir karışımı aPTT ile analiz edilir. Sonuç; standart insan plazması ya da eksik plazma ile karıştırılmış normal plazma dilüsyonları ile elde edilen referans eğrisi kullanılarak yorumlanır. Faktör VIII'ü düşük olan hasta plazması, eklediğimiz faktör VIII'den yoksun plazmayı kompanse edemeyecek ve aPTT testi normalden uzun çıkacaktır. Oluşan pıhtının saniye cinsinde değeri kalibrasyon eğrisine göre hesaplanarak normun % cinsinden verilir. % 70-150 arası, testin normal aktivite değerleri olarak belirtilmektedir.

APCR, Pro C Global Test Kiti kullanılarak otomatik koagüloetre (Dade Behring, OQLS) ile ölçüldü. İnsan plazmasındaki Pro C sisteminin antikoagülatör kapasitesinin belirlenmesi için kullanılan bir koagülasyon testi olup, plazmanın Protein C aktivatörü ve bir kontak faz aktivatörü ile inkübasyonu, endojen protein C'nin ve intrinsek koagülasyon yolunun aktivasyonuna neden olur. Koagülasyon, kalsiyum iyonlarının eklenmesiyle tetiklenir. Endojen protein S ile birlikte aktive olmuş protein C, prokoagülasyon faktörleri VIIIa ve Va'yı inaktive eder. Bu olay, pıhtı oluşumunu geciktirmekte olup, pıhtının oluşumu için geçen zaman belirlenir. Protein C sisteminin kapasitesi azalmış olan plazmalarda, koagülasyon zamanı daha az belirgin biçimde uzamıştır. Normal değer aralığı 0.69-1.56 olarak alınmıştır.

İnsan genomunda MTHFR C677T, MTHFR A1298C, Factor V Leiden ve Prothrombin mutasyonlarının tespiti için spesifik primer-problar mevcuttu. Deteksiyon real time PCR ile kapiller tüplü sistemde çalışıldı. Kitler amplifikasyon sonrası melting curve analizine olanak verildi. Kitler floresan rezonans enerji transferi teknolojisine dayalı primerleri, özgül hibridizasyon problarıyla çalışılarak, bu sayede genetik mutasyonu saptadı. Kit tek bir probla homozigot-heterozigot ve mutant-wildtype ayırımını yapabilme özelliğine sahip olup, her kitin içerisinde mutlaka pozitif kontrol verilmiştir. Kitin içinde; parametre spesifik primer probe miski mevcuttu. Kit ile beraber; Real time PCR'a uygun yüksek saflıkta şablon nükleik asit izolasyon kiti, Reallime polimeraz zincir reaksiyonuna uygun olan fast start enzim ve miksi verildi.

Kalitsal trombofili varlığını değerlendirilmesi açısından, 90 hastadan alınan örneklerden Hematoloji laboratuvarı'na giden 1, merkez laboratuvara giden 2 örnek pıhtılı olduğu için analize dahil edilmedi. FVL mutasyonu, PTM (G20210A) gen mutasyonu, MTHFR gen polymorfizmi (C677T ve A1298C) 89, APCR, protein C ve S, faktör VIII, AT III düzeyleri 88 hastada çalışıldı.

Hastaların gruplandırılması:

Çalışmaya dahil edilen tüm hastaların ayrıntılı anamnezleri alındı, demografik bilgileri öğrenildi. Hastane dosyası ve bilgisayar sisteminden; PTE risk faktörleri, komorbid hastalıkları ve diğer gerekli veriler kaydedildi.

Hastalar, PTE'ye DVT'nin eşlik edip etmemesine göre; tanı aldığı dönemde yapılmış olan alt ekstremitte venöz Doppler ultrasonografi sonucuyla; "izole PTE'si olanlar" ve "DVT + PTE'si olanlar" olarak iki alt gruba ayrıldı.

Daha önceden DVT / PTE geçirmiş olduğu öğrenilen hastaların diğer PTE'li hastalardan farklı sonuçlara sahip olabileceği düşünülerek; "tromboemboli nüksü olan hastalar" ayrı bir alt grup olarak değerlendirildi.

Bir diğer alt grubu da, ailesinde PTE olan hastalar oluşturmaktaydı; aile öyküsü olmayanlarla karşılaştırma yapılması amaçlandı.

Hastalar, bir veya birden çok genetik risk faktörü pozitifliği varlığına göre de alt gruplara ayrılıp, iki grup arasında anlamlı sonuç olup olmadığına bakıldı.

3) İstatistiksel değerlendirme:

Çalışmada elde edilen bulgular değerlendirilirken, istatistiksel analizler için “Statistical Package for Social Sciences (SPSS) for Windows 15.0” programı kullanıldı. Çalışma verileri değerlendirilirken tanımlayıcı istatistiksel metodların (Ortalama, Standart sapma) yanı sıra, niceliksel verilerin karşılaştırılmasında normal dağılım gösteren parametrelerin gruplar arası karşılaştırmalarında T testi kullanıldı (Alt gruplar arasında APCR, faktör VIII, AT III düzeylerinin karşılaştırılması). Parametrelerin normal dağılım göstermediği gruplar ise Mann Whitney U testi kullanılarak karşılaştırıldı (Alt gruplar arasında protein C, protein S düzeylerinin karşılaştırılması). Niteliksel verilerin karşılaştırılmasında ise Ki-Kare testi ve Fisher’s Exact testi kullanıldı. Sonuçlar % 95’lik güven aralığında, anlamlılık $p < 0.05$ düzeyinde değerlendirildi.

VI. BULGULAR

Araştırmaya dahil edilen 90 hasta, 42 erkek (% 46.7) ve 48 kadından (% 53.3) oluşmakta olup, yaş ortalaması $62.6 \pm 13,4$ idi.

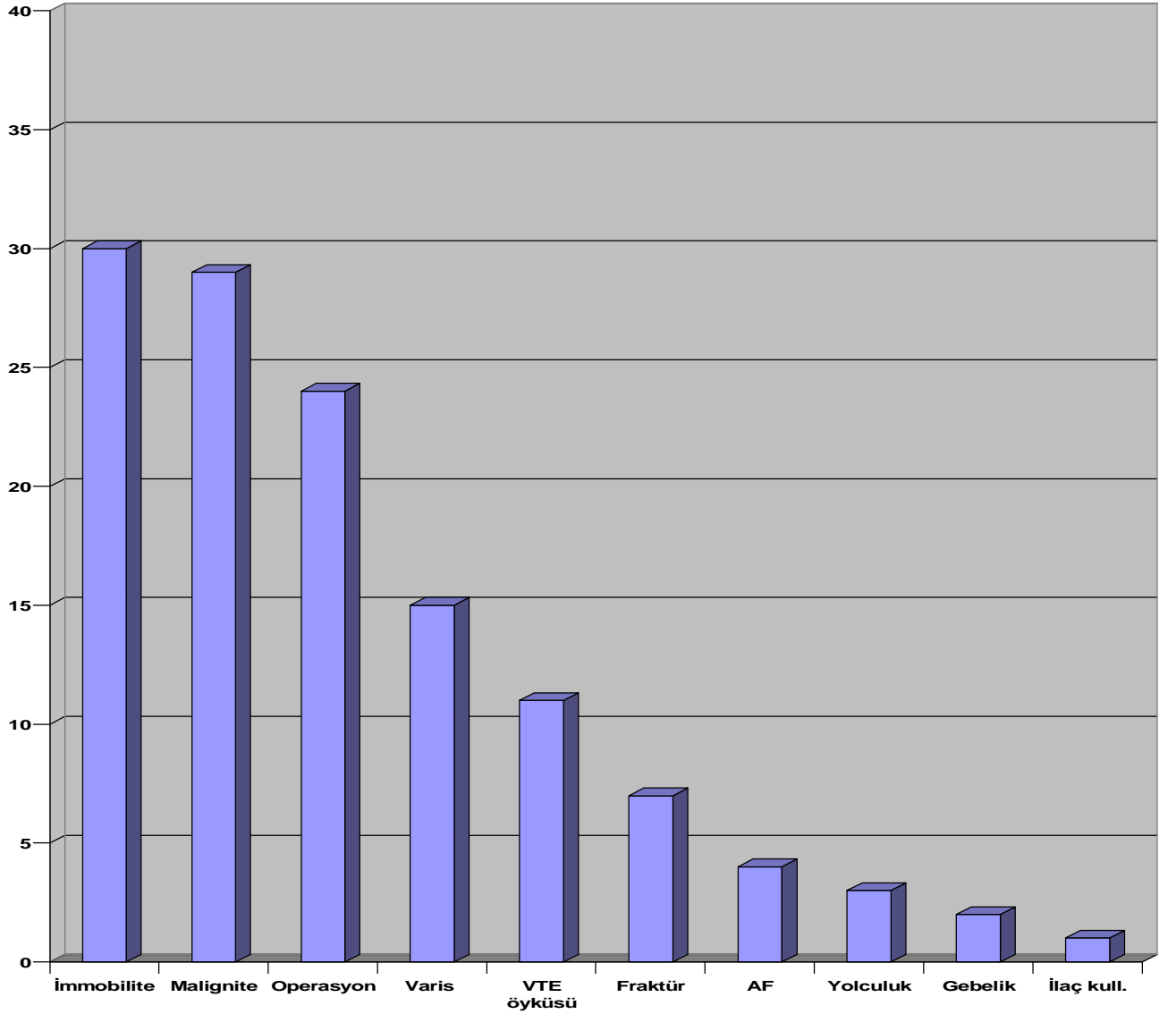
Çalışmaya dahil edilen hastaların 78’ine (% 86.7) spiral BT anjiyografi, 7’sine (% 7.8) akciğer ventilasyon-perfüzyon sintigrafisi (4’ü yüksek olasılıklı sintigrafi, 3’ü miss-match defekt + yüksek klinik olasılık), 3’üne (% 3.3) ekokardiyografi (yüksek klinik olasılık varlığıyla birlikte), 2 hastaya ise (% 2.2) toraks MR anjiyografi ile PTE tanısı konulduğu hasta bilgilerinden öğrenildi.

69 hastada PTE tanısını aldığı dönemde derin ven trombozu açısından alt ekstremitte venöz Doppler ultrasonografi yapıldığı, 25 hastada (% 36.2) DVT saptanırken 44 hastada ise (% 63.8) DVT varlığına rastlanmadığı gözlemlendi.

Hastaların % 81.1’inde komorbidite varlığı mevcutken, hipertansiyon (% 27.7) ve diabetes mellitus (% 16.6) en sık eşlik eden hastalıklardı.

83 hastada (% 92.2) PTE için belirgin bir edinsel risk faktörü mevcutken, 7 hastada (% 7.7) net bir risk faktörü tespit edilmedi. 28 hastada (% 31.1) PTE için birden çok risk faktörü kaydedildi. İmmobilite, malignite ve operasyon öyküsü en çok gözlenen risk faktörleri olarak dikkat çekti. Hastalardaki tüm risk faktörlerinin dağılımı tablo 7’de yer almaktadır.

Tablo 7: PTE gelişiminde rol oynayan risk faktörlerinin sayısal dağılımı



Kalıtsal trombofililerin oranı, en çok araştırılan genetik risk faktörleri Faktör V Leiden, Protrombin G20210A mutasyonları, antitrombin III, protein C ve protein S eksikliği hesaba katılırsa % 30, faktör VIII yüksekliği ve APCR ile birlikte % 46.7 olarak bulunmuştur.

Faktör V Leiden mutasyonu, 16 hastada (% 19.1) saptandı; 18 hastada (% 18) heterozigot mutasyon varken, 1 hastada ise homozigot mutasyon mevcuttu (% 1.1).

Protrombin G20210A mutasyonu, 3 hastada (% 3.4) heterozigot olarak tespit edildi.

MTHFR gen polimorfizmi dağılımı, 52 hastada (% 58.4: 46-heterozigot, 6-homozigot) C677T ve 54 hastada (% 60.7: 47-heterozigot, 7-homozigot) A1298C pozitifliği şeklindeydi.

Faktör VIII 11 hastada (% 12.5) yüksek olarak saptandı; hastaların ortalama faktör VIII düzeyi % 111.6 ± 38.5 idi.

Antitrombin III düzeyi sadece 1 hastada (% 1.1) düşüktü; ortalama değeri % 104.4 ± 12.5 olarak bulundu.

Ortalama protein S düzeyi % 75.5 ± 17.1 iken, protein S 12 hastada (% 13.6) düşük olarak tespit edildi.

Protein C eksikliği 5 hastada (% 5.7) varken ortalama protein C düzeyi % 118.1 ± 27.2 idi.

Aktive protein C rezistansı teknik sebeplerden dolayı 76 hastada çalışılabilir. 26 hastada (% 34.2) APCR değeri düşüktü ve ortalaması 0.84 ± 0.26 olarak bulundu.

PTE hastalarındaki risk faktörlerinde kalıtsal trombofil mutasyon ve serum düzeylerinin dağılımı tablo 8 ve 9'da yer almaktadır.

Tablo 8: Kalıtsal trombofil mutasyonlarının dağılımı

Mutasyonlar	Heterozigot		Homozigot		Mutasyon yok		TOPLAM (n)
	(n)	(%)	(n)	(%)	(n)	(%)	
Faktör V Leiden	16	18	1	1.1	72	80.9	89
Protrombin G20210A	3	3.4	-	-	86	96.6	89
MTHFR C677T	46	51.7	6	6.7	37	41.6	89
MTHFR A1298C	47	52.8	7	7.9	35	39.3	89

Tablo 9: PTE hastalarında genetik markerların serum düzeyleri

Kalıtsal trombofil	var		yok		TOPLAM n
	n	%	n	%	
Artmış faktör VIII	11	12.5	77	87.5	88
Antitrombin III eksikliği	1	1.1	87	98.9	88
Protein C eksikliği	5	5.7	82	94.3	88
Protein S eksikliği	12	13.6	76	86.4	88
Aktive protein C rezistansı	26	34.2	50	65.8	76

Daha önce belirlenmiş alt gruplardan, PTE'ye DVT'nin eşlik ettiği ve etmediği hastalar karşılaştırıldı; iki grup arası mutasyon (FVL, PTM G20210A, MTHFR C677T ve A1298C) ve diğer kalıtsal trombofililerin (faktör VIII yüksekliği, APCR, AT III ve protein C-S düşüklüğü) varlığı açısından anlamlı fark bulunmadı (tablo 10). Alt gruplar arasında, faktör VIII, AT III, APCR, protein C ve S düzeyleri açısından da anlamlı fark yoktu (tablo 11).

Tablo 10: PTE+DVT birlikteliğiyle kalıtsal trombofilinin ilişkisi

Kalıtsal trombofili		Sadece PTE		PTE + DVT		p değeri
		n	%	n	%	
Faktör V Leiden mut.	yok	35	63.6	20	36.4	1,000*
	var	8	61.5	5	38.5	
Protrombin G20210A mut.	yok	42	62.7	25	37.3	1,000*
	var	1	100	0	-	
MTHFR C677T mut.	yok	19	59.4	13	40.6	0,534**
	var	24	66.7	12	33.3	
MTHFR A1298C mut.	yok	18	66.7	9	33.3	0,634**
	var	25	61	16	39	
Artmış Faktör VIII	yok	37	63.8	21	36.2	1,000*
	var	6	66.7	3	33.3	
ATIII eksikliği	yok	42	63.6	24	36.4	1,000*
	var	1	100	0	-	
Protein C eksikliği	yok	41	64.1	23	35.9	1,000*
	var	2	66.7	1	33.3	
Protein S eksikliği	yok	39	67.2	19	32.8	0,264*
	var	4	44.4	5	55.6	
APCR	yok	26	68.4	12	31.6	0,465**
	var	13	59.1	9	40.9	

*Fisher's Exact testi

** Ki-Kare testi

Tablo 11: PTE+DVT / izole PTE’de genetik markerların serum düzeyleri

	PTE + DVT	Ortalama	Standart sapma	p değeri
F VIII düzeyi (N:%70-150)	yok (n=43)	119,96	36,43	0,158*
	var (n=24)	106,37	38,93	
AT III düzeyi (N:%75-125)	yok (n=43)	104,71	12,84	0,858*
	var (n=24)	105,26	10,59	
Protein C düzeyi (N:%70-140)	yok (n=43)	121,67	24,77	0,073**
	var (n=24)	111,54	26,52	
Protein S düzeyi (N:%75-125)	yok (n=43)	75,45	16,08	1,000**
	var (n=24)	74,22	18,39	
APCR değeri (N:0,69-1,56)	yok (n=39)	0,81	0,26	0,981*
	var (n=21)	0,82	0,25	

*T testi

** Mann Whitney U testi

Daha önceden tromboemboli geçirmiş (nüks) 11 hasta mevcuttu; bu, tüm grubun % 12.2’sini oluşturmaktaydı. Protein C serum düzeyi ise, tromboemboli nüksü olan hastalarda, ilk kez PTE geçirmiş hastalara göre anlamlı olarak düşük bulundu [p = 0.049] (tablo 12). Tromboemboli nüksü varlığıyla protein S eksikliği arasında anlamlı ilişki mevcuttu [p = 0.040] (tablo 13).

Tablo 12: VTE nüks varlığına göre kalıtsal trombofili serum değerleri

	Tromboemboli nüksü olanlar	Ortalama	Standart sapma	p değeri
F VIII düzeyi (N:%70-150)	yok (n=77)	112.80	39.51	0,432*
	var (n=11)	102.97	30.69	
AT III düzeyi (N:%75-125)	yok (n=77)	104.81	13.11	0,391*
	var (n=11)	101.33	6.66	
Protein C düzeyi (N:%70-140)	yok (n=77)	120.36	26.05	0,049**
	var (n=11)	102.31	30.73	
Protein S düzeyi (N:%75-125)	yok (n=77)	76.62	16.14	0,270**
	var (n=11)	67.55	22.16	
APCR değeri (N:0,69-1,56)	yok (n=68)	0.82	0.27	0,260*

*T testi

** Mann Whitney U testi

Tablo 13: VTE nüksü ve kalıtsal trombofili arasındaki ilişki

Kalıtsal trombofili		Tromboemboli nüksü yok		Tromboemboli nüksü var		p değeri
		n	%	n	%	
Faktör V Leiden mut.	yok	64	88.9	8	11.1	1,000*
	var	15	88.2	2	11.8	
Protrombin G20210A mut.	yok	76	88.4	10	11.6	1,000*
	var	3	100	0	-	
MTHFR C677T mut.	yok	33	89.2	4	10.8	1,000*
	var	46	88.5	6	11.5	
MTHFR A1298C mut.	yok	31	88.6	4	11.4	1,000*
	var	48	88.9	6	11.1	
Artmış Faktör VIII	yok	66	85.7	11	14.3	0,346*
	var	11	100	0	-	
ATIII eksikliği	yok	76	87.4	11	12.6	1,000*
	var	1	100	0	-	
Protein C eksikliği	yok	74	89.2	9	10.8	0,116*
	var	3	60	2	40	
Protein S eksikliği	yok	69	90.8	7	9.2	0,040*
	var	8	66.7	4	33.3	
APCR	yok	44	88	6	12	0,708*
	var	24	92.3	2	7.7	

*Fisher's Exact testi

Ailesinde PTE öyküsü olan hasta sayısı 11 olarak kaydedildi (% 12.2). Aile öyküsü olan hastalarda protein C ve S düzeyleri daha düşük olarak bulunsa da, gruplar arasında istatistiki olarak anlamlı fark yoktu (tablo 14 ve 15).

Tablo 14: PTE aile öyküsü olanlarla kalıtsal trombofili arasındaki ilişki

Kalıtsal trombofili		Aile öyküsü yok		Aile öyküsü var		p değeri
		n	%	n	%	
Faktör V Leiden mut.	yok	64	82.1	8	72.7	0,433*
	var	14	17.9	3	27.3	
Protrombin G20210A mut.	yok	76	97.4	10	90.9	0,330*
	var	2	2.6	1	9.1	
MTHFR C677T mut.	yok	32	41	5	45.5	1,000*
	var	46	59	6	54.5	
MTHFR A1298C mut.	yok	31	39.7	4	36.4	1,000*
	var	47	60.3	7	63.6	
Artmış Faktör VIII	yok	66	85.7	11	100	0,346*
	var	11	14.3	0	-	
ATIII eksikliği	yok	76	98.7	11	100	1,000*
	var	1	1.3	0	-	
Protein C eksikliği	yok	74	96.1	9	81.8	0,116*
	var	3	3.9	2	18.2	
Protein S eksikliği	yok	68	88.3	8	72.7	0,169*
	var	9	11.7	3	27.3	
APCR	yok	44	64.7	6	75	0,708*
	var	24	35.3	2	25	

*Fisher's Exact testi

Tablo 15: PTE aile öyküsü olanlarda kalıtsal trombofili serum değerleri

	Ailede PTE öyküsü	Ortalama	Standart sapma	p değeri
F VIII düzeyi (N:%70-150)	yok (n=77)	113.31	39.54	0,259*
	var (n=11)	99.25	28.70	
AT III düzeyi (N:%75-125)	yok (n=77)	104.42	12.96	0,934*
	var (n=11)	104.08	9.20	
Protein C düzeyi (N:%70-140)	yok (n=77)	119.24	26.35	0,181**
	var (n=11)	110.11	32.49	
Protein S düzeyi (N:%75-125)	yok (n=77)	76.78	16.09	0,404**
	var (n=11)	66.46	21.87	
APCR değeri (N:0,69-1,56)	yok (n=68)	0.84	0.27	0,776*
	var (n=8)	0.81	0.21	

*T testi

** Mann Whitney U testi

Hastaların % 92.2’de en az bir genetik risk faktörü (GRF) varken, en az iki kalıtsal trombofili pozitifliği ise 56 hastada (% 62.2) mevcuttu. Tromboemboli nüksü açısından (2. kez tromboemboli geçiren ve geçirmeyen grubun karşılaştırılması), tek veya birden çok GRF pozitifliği olması anlamlı bulunmadı (p=0.591 ve p=0.741). İkinci VTE atağı olan hastaların tümünde en az bir genetik risk faktörünün var olması dikkat çekiciydi (tablo 16).

Tablo 16: VTE öyküsü olanlarda tek veya çoklu genetik risk faktörleri

Kalıtsal trombofili durumu		Tromboemboli nüksü yok		Tromboemboli nüksü var		p değeri
		n	%	n	%	
En az bir GRF varlığı	yok	7	8.9	0	-	0,591*
	var	72	91.1	11	100	
Birden çok GRF varlığı	yok	29	36.7	5	45.4	0,741*
	var	50	63.3	6	54.6	

*Fisher’s Exact testi

PTE risk faktörlerinin, kalıtsal trombofililerin mutasyon varlığına ve serum düzeylerine göre dağılımı tablo 17 ve 18’de yer almaktadır. Özellikle risk faktörünün malignite olduğu alt grupta, diğer gruplara göre FVL ve protrombin mutasyonlarının sayısal çokluğu dikkat çekiciydi (% 21 ve % 6.9). Akciğer (% 34.5) ve genitoüriner sistem kanserleri (% 33.3), kalıtsal trombofililerin en çok görüldüğü malignite tipleri arasında yer almaktaydı.

Tablo 17 : PTE risk faktörlerinde kalıtsal trombofili mutasyon dağılımı

PTE İçin Risk Faktörleri	F. V Leiden		Protrombin G20210A		MTHFR C677T		MTHFR A1298C	
	n	%	n	%	n	%	n	%
İmmobilite (n=30)	2	6.7	-	-	18	60	21	70
Malignite (n=29)	6	21	2	6.9	17	58.6	16	55.2
Operasyon (n=24)	2	8.3	-	-	16	66.6	15	62.5
Varis (n=15)	2	6.7	-	-	8	53.3	8	53.3
VTE Öyküsü (n=11)	2	18.2	-	-	7	63.6	6	54.5
Fraktür / travma (n=7)	-	-	-	-	5	71.4	6	85.7
Atrial fibrilasyon (n=4)	1	25	-	-	2	50	3	75
Yolculuk öyküsü (n=3)	1	33	1	33	2	66.7	-	-
Gebelik (n=1)	-	-	-	-	1	100	1	100
İlaç kullanımı (n=1)	1	100	-	-	1	100	1	100

Tablo 18 : PTE risk faktörlerinde genetik markerların serum düzeyleri

PTE İçin Risk Faktörleri	Artmış F VIII		ATIII eksikliği		Pr. C eksikliği		Pr. S eksikliği		APCR	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
İmmobilite (n=30)	3	10	-	-	-	-	3	10	8	26.7
Malignite (n=27)	5	18.5	-	-	2	7.4	5	18.5	7	25.9
Operasyon (n=27)	2	7.4	1	3.7	1	3.7	1	3.7	4	14.8
Varis (n=14)	3	21.4	-	-	1	7.1	3	21.4	6	42.9
DVT/PTE Öyküsü (n=11)	-	-	-	-	2	18.2	4	36.4	3	27.3
Fraktür / travma (n=7)	-	-	-	-	-	-	-	-	1	14.3
Atrial fibrilasyon (n=4)	1	25	-	-	-	-	-	-	3	75
Yolculuk öyküsü (n=3)	-	-	-	-	-	-	-	-	1	33.3
Gebelik (n=2)	-	-	-	-	-	-	-	-	1	50
İlaç kullanımı (n=1)	-	-	-	-	-	-	-	-	1	100

VII. TARTIŞMA

Çalışmamızın sonucunda, PTE hastalarında önemli oranda kalıtsal trombofili varlığı saptanmıştır; bu oran, kaynaklarda en çok araştırılan genetik risk faktörleri olan Faktör V Leiden, Protrombin G20210A mutasyonları, antitrombin III, protein C ve protein S eksikliği hesaba katılırsa % 30 olarak bulunmuştur. Bu sonuçlar Türkiye’deki literatür bilgileri ile çoğunlukta benzer oran taşımaktadır (26). Bu sayı, yapılan çalışmalarda daha az oranda araştırılan faktör VIII yüksekliği ve aktive protein C rezistansının da eklenmesiyle % 46,7’ye ulaşmaktadır. Araştırılan hasta grubunun, rutin incelemede kalıtsal trombofili bakılmamış hastalardan oluştuğunu göz önünde bulundurursak, bulunan oranın yüksekliği dikkat çekicidir.

Araştırmamızda, tromboemboli nüksü olan hastalarda, ilk kez PTE geçirenlerle karşılaştırıldığında protein C düzeyi anlamlı olarak düşük bulunmuş olup, geçirilmiş VTE ile protein S eksikliği arasında da anlamlı ilişki saptanmıştır. Protein C ve S eksikliğinin, tromboemboli gelişme riskini normal popülasyona göre 2-11 kat arasında arttırdığı çalışmalarda gösterilmiştir (116, 117). De Stefano ve ark., tromboemboli rekürrensının protein C eksikliğinde 1.4, protein S eksikliğinde ise 1.8 kat arttığını bulmuşlardır (118). “Güçlü trombofili” kavramı içerisinde yer alan protein C ve S eksikliği varlığında, özellikle spontan gelişmiş PTE hastalarında uzun süreli oral antikoagülan tedavi verilmesi gibi konular gündeme gelebilmektedir (119). Araştırmamızda saptanan % 13.6’lık oranıyla protein S eksikliği, hem Türkiye (26) [bakınız: Tablo 4], hem dünya (90) verilerinin üzerindedir. Protein S’i edinsel olarak düşüren hastalıklara sahip olanlar çalışmaya dahil edilmediği için, bu rakamın anlamlı olduğu düşünülse de, bu grupta yer alan hasta sayımızın azlığı (12 hasta) nedeniyle, bu konuda kesin bir görüş bildirilememektedir.

DVT ve PTE’nin arasındaki yakın ilişki ve birliktelik nedeniyle risk faktörlerinin de benzer olabileceği öngörüldü ve PTE hastaları, DVT’nin eşlik edip etmemesine göre 2 gruba ayrılarak kalıtsal trombofili varlığı açısından incelendi. Literatürde DVT mevcut PTE hastalarında, özellikle faktör V Leiden mutasyonunun bir risk faktörü olabileceği bilgisi olsa da (120), çalışmamızda iki grup arası anlamlı fark bulunmamıştır. Bu yüzden, DVT olsun veya olmasın, kalıtsal trombofili varlığının PTE için bir risk faktörü olabileceği düşünülmektedir.

Çalışmamızda, genetik risk faktörü varlığı ile ailede PTE öyküsü arasında anlamlı fark bulunmadı. Son yayınlarda, spontan gelişen tromboemboli öyküsü olan aile bireyi varlığında trombofili testlerinin yapılması görüşü yer almaktayken, herhangi bir kalıtsal trombofili pozitifliğinde rutin aile taraması önerilmemektedir (119).

Tromboemboli nüksü olan tüm hastalarda en az bir genetik risk faktörü pozitifliği bulunmuş olması, hastalarda kazanılmış risk faktörleri ve kalıtsal trombofili varlığı arasında PTE nüksünü tetikleyen bir bağlantı olabileceğini akla getirmektedir. Bu durum, herhangi bir kalıtsal trombofili varlığı olan hastalarda izlemde nüks gelişme ihtimali olduğu anlamına gelebilir. Çalışmamızda araştırılmış olan genetik markerların mevcut olduğu ve olmadığı PTE hastalarında nüks gelişip gelişmeyeceğinin izlenmesi sayesinde bu iki durum arasındaki ilişki ortaya konulabilir.

Kazanılmış ve genetik risk faktörleri birlikteliğinin en dikkat çekici sonuçlarından birisi de malignite hastalarında görüldü. Kanser tanılı PTE hastalarının % 21'inde faktör V Leiden mutasyonu gözlenirken, protrombin G20210A mutasyonunun % 66.7'si malignite varlığında pozitif olarak bulundu (kanserli hastaların % 6.9'da mevcut). Yapılan çalışmalarda, FVL ve PTM mutasyonlarının malignite ile birlikteliği ortaya konulmuş, Blom ve ark. kanser hastalarında FVL varlığının 2, PTM mutasyonunun 4.1 kat VTE gelişme riskini arttırdığını göstermiştir (121). Ramacciotti ve ark. ise, PTE gelişen kanser hastalarında FVL ve PTM mutasyonlarının her ikisini de % 1.5 olarak bulmuştur (122). Türkiye'den yapılan bir çalışmada, kanserli hastalarda FVL prevalansının % 30.2 (123), Amerika'da ise % 5.4 olarak bulunmuş olması (124), Türkiye'de kanserli, özellikle PTE gelişmiş hastalarda FVL ve PTM mutasyonlarının daha çok bulunabileceğinin bir işareti olabilir.

Literatürde kanser tipinin de VTE oluşmasını etkilediği, özellikle beyin, pankreas, over ve akciğer kanserlerinde (AC Ca) VTE riskinin arttığı belirtilmektedir (125). Araştırmamızda PTE'de en çok görülen malignite tipi akciğer kanseri olup (% 34.5), AC Ca hastalarının tamamında genetik risk faktörü pozitifliği saptanmıştır (MTHFR mutasyonları dışında, en çok FVL ve APCR: % 30). AC Ca'da trombofililerin dağılımı ve görülme sıklığı hakkında çok fazla literatür bilgisi olmasa da, yapılan birkaç çalışmada FVL mutasyonunun % 2'lerde bulunduğu gözlenmiştir (126, 127). Çalışmamızda ise, AC Ca'larda bulunan bu yüksek rakam, belki de özellikle PTE gelişmiş olan AC Ca hastalarının sayısal fazlalığını ortaya koyabileceği için, PTE gelişen ve gelişmeyen AC Ca hastalarında FVL varlığına bakılıp karşılaştırma yapılması uygun olabilir, bu konuda yeterli literatür bilgisi yer almamaktadır.

Akciğer kanserinden sonra en çok kalıtsal trombofili gözlenen kanser tipi olan genitoüriner sistem tümörlerinin (% 33.3), özellikle de prostat kanserinin (% 18,5) PTE ve trombofili ile olan ilişkisiyle ilgili yayın bulunmamakla birlikte, ileri inceleme gerektirebileceğini düşünmekteyiz.

Operasyon öyküsü ve immobilizasyon gibi PTE risk faktörlerinin kalıtsal trombofili varlığıyla zayıf bir ilişkisinin olduğu, bu yüzden bu durumlarda rutin olarak genetik markerlara bakılma endikasyonu olmadığı belirtilmektedir (119, 128). Bizim çalışmamızda da, en çok bakılan kalıtsal trombofililer (FVL, PTM mutasyonları, AT III, protein C ve S eksikliği); risk faktörlerinden cerrahide % 8.3, immobilizasyonda % 16.7 gibi düşük oranlarda görülürken, malignitede % 34.5 gibi yüksek bir orandadır. Bu sonuç da, genel görüş ile aynı doğrultuda olup, operasyon veya immobilizasyon sonucu PTE gelişmiş hastalarda kalıtsal trombofili araştırılmasının öncelikli olmadığı şeklindedir.

Kalıtsal trombofililerin bazı özel durumlarla bir araya gelince PTE'ye neden olma ihtimali de mevcuttur. Bu durumlardan birisi de oral kontraseptif (OKS) kullanımudur. Çalışmamızda, OKS kullanan bir hastada heterozigot FVL ve MTHFR mutasyonları pozitif olarak bulundu. Yapılan çalışmalarda FVL veya PTM mutasyonu varlığının OKS kullanımında PTE gelişme riskini 4-8 kat arttırdığı gösterilmiştir (72). Dünya Sağlık Örgütü, FVL ve benzeri mutasyon saptanan kadınlarda OKS kullanılmaması gerektiğini belirtmektedir (129).

MTHFR mutasyonu varlığı yüksek oranda tespit edilen (A1298C: heterozigot - % 52.8 , homozigot- % 7.9; C677T: heterozigot- % 51.7, homozigot- % 6.7) sonuçlarımız, Türkiye'deki sağlıklı popülasyon (115) ile, Naess ve arkadaşlarının (113) trombüslü hastalarda buldukları sonuçlarla benzerdir; çalışmamızda homozigot oranı düşük, heterozigot oranı ise daha yüksek bulunmuştur. Literatürde, özellikle homozigot MTHFR mutasyonlarının sağlıklı bireylere göre VTE riskini arttırdığını gösteren çalışmalar kadar (114), bu mutasyonların tromboemboli ile arasında zayıf bir ilişki olduğunu öne süren yayınlar da çoktur (112, 113). Genel görüş, MTHFR mutasyonlarının PTE riskini ve rekürrensi arttırmadığı (120) ve PTE hastalarında bakılma endikasyonunun olmadığı yönündedir (119).

Çalışmamızda faktör VIII yüksekliği oranı % 12.5 olarak bulunmuş olup, bu rakam Dünya verileriyle (% 9) orantılı olsa da (95), Türkiye'de yapılan çalışmalarda % 50'lerin üstünde bulunduğu görülmüştür (130, 131). Etnik sebeplerden dolayı bu yüksekliğin olabileceği belirtilmiş, aynı zamanda edinsel faktör VIII yüksekliğine yol açabilecek sebeplerin gözönünde tutulması gerektiği belirtilmiştir (130). Biz de aradaki bu ciddi farkın, çalışmamızda edinsel olarak faktör VIII'i arttırabilecek patoloji mevcut olan hastaların dahil edilmemesinden kaynaklandığını düşünüyoruz.

Genel olarak hangi hastalarda ve aile bireylerinde trombofil varlığının araştırılması gerektiği konusunda net bir konsensus yoktur, bu konuda çeşitli kılavuzlarda farklı görüşler yer almaktadır (132,133,134). Bu kılavuzları güncelleyen bir yayında, genetik testlerin yapılmasının başlıca nedeninin "güçlü trombofil" başlığı altında toplanan; homozigot FVL, homozigot PTM, protein C, protein S ve ATIII eksiklikleri ile, çoklu mutasyon birlikteliklerinin (başta heterozigot FVL + PTM) bulunması olduğunu belirtmektedir (119). Bu hasta grubunda, özellikle spontan gelişmiş PTE olanlarda uzun süreli oral antikoagülasyon önerilmesinin gündeme gelmesi en önemli çıkarımlardan birisidir. Kalıtsal trombofililerden; özellikle kanıtlanmış Protein C veya S eksikliği, homozigot faktör V Leiden veya homozigot protrombin G20210A taşıyıcıları, ilk atakları bile olsa sürekli (yaşam boyu) oral antikoagülan kullanımı için aday olarak gösterilse de (15,16), ciddi kanama riskinin de gözönünde bulundurulması önerilmektedir (135). Bu araştırma sonucunda da, "güçlü trombofil" kavramına uyan hastaların takibi ve tedavi planlanması yapılacaktır.

Kalıtsal trombofililerle ilgili yayınlanan, konsensus raporlarının yer aldığı son güncellemede, PTE gelişen hastalarda rutin olarak genetik risk faktörlerine bakılması önerisi yoktur; özellikle immobilizasyon, operasyon, malignite gibi bilinen risk faktörlerinin yol açtığı tromboemboli olgularında kalıtsal trombofilili araştırılma endikasyonu olmadığı söylenmiştir (119). Seçilmiş hasta grubunda; 50 yaşın altında, spontan olarak gelişmiş, tekrarlayan, atipik yerleşimli, ailede spontan tromboemboli öyküsü olan hastalarda bu tetkiklerin yapılması gerektiği bildirilmektedir (119). Araştırmamızda sadece PTE hasta grubu yer almaktadır; sağlıklı kontrol grubunun da yer aldığı ve iki grup arasında kalıtsal trombofilili varlığının karşılaştırıldığı çalışmalar, kimlerde genetik risk faktörlerinin bakılması gerektiği sorusunun cevabını verebilir. Çalışmamızda, nükseden PTE hastalarında protein C ve S eksikliğinin anlamlı bulunmuş olmasından dolayı, bu genetik markerların olası bir nüks ihtimalini öngörmesi açısından araştırılabileceği kanaatine varılmıştır.

Çalışmanın kesitsel yapıda olması ve sonuçları istatistiki açıdan anlamlı bulunan protein C ve S eksiklikleri, tekrarlayan PTE gibi alt gruplarda az sayıda hasta bulunması, araştırmamızın potansiyel kısıtlamaları olarak kabul edilebilir. Kalıtsal trombofilili varlığı bulunan, özellikle PTE rekürrensi açısından riskli olarak adlandırılan hasta grubunda nüks gelişip gelişmeyeceğinin takip edilmesi ile önemli sonuçlara ulaşılacağı düşünülmektedir.

VIII. SONUÇLAR

- Ü Genetik risk faktörleri, tüm PTE hastalarında yüksek oranda görülebilmektedir.
- Ü Protein C ve S eksikliği, PTE nüksünde rol oynayan genetik risk faktörleri arasında yer alabilir.
- Ü DVT'nin eşlik ettiği PTE hastalarında, izole PTE'si olanlara göre kalıtsal trombofili varlığı açısından anlamlı fark görülmemiştir; DVT varlığının, genetik risk faktörü pozitifliğinin bir göstergesi olabileceği düşünülmemiştir.
- Ü Kalıtsal trombofili varlığı ile ailede PTE öyküsü arasında anlamlı fark olmaması, aile öyküsü olsun ya da olmasın, uygun endikasyonlarla genetik risk faktörlerinin araştırılabileceğini göstermektedir .
- Ü Kanser hastalarında faktör V Leiden ve protrombin, akciğer kanserinde ise faktör V Leiden mutasyonlarının yüksekliği dikkat çekmektedir.
- Ü Operasyon veya immobilizasyon sonucu PTE gelişmiş hastalarda kalıtsal trombofili araştırılması öncelikli değildir.
- Ü MTHFR mutasyonları ile ilgili anlamlı sonuçlar bulunmamış olup, toplumda da yüksek oranda var olabileceği bilindiğinden, görüşümüz PTE'de öncelikle bakılma endikasyonu olmadığı yönündedir.
- Ü PTE nüksü gelişen tüm hastalarda en az bir kalıtsal trombofili mevcuttu; yani genetik risk faktörü olmayan hiçbir hastada nüks gerçekleşmemiştir.
- Ü “Güçlü trombofili” kavramına uyan hastaların takibi ve tedavi planlanması yapılmalıdır.
- Ü Homojen ve yüksek sayıda hasta gruplarıyla, bulunan ön sonuçların ileri incelemesi yapılabilir.

IX. KAYNAKLAR

- 1) Robetoyre RS, Rodgers GM. Update on selected inherited venous thrombotic disorders. Am J Hematol 2001; 68: 256-68
- 2) Özsu S, Özlü T, Bülbül Y, Ulusal verilerle pulmoner tromboemboli. Tüberküloz ve Toraks Dergisi 2009; 57-4: 466-82
- 3) Uzun O. Pulmoner tromboembolizm: Klinik. T Klin J Thorax Dis 2003; 1: 109-14
- 4) 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: 933-8.
- 5) Hooper WC, De Staercke C. The relationship between FV Leiden and pulmonary embolism. Respir Res. 2002;3:8.
- 6) Herold et al. Pulmonary embolism: pulmonary vascular disorders, vasculitides, and hemorrhage. Comprehensive respiratory medicine. Philadelphia: Mosby, 1999: 1-12
- 7) Prof. Dr. Orhan Arseven. Venöz Tromboembolizm. TTD Akciğer Hastalıkları Temel Bilgiler Kitabı-2006
- 8) Prandoni P, Lensing A, Cogo A, et al. The long-term clinical course of acute deep venous thrombosis. Ann Intern Med 1996, 125:1-7.
- 9) Kruit WH, de Boer AC, Sing AK, van Roon F. The significance of venography in the management of patients with clinically suspected pulmonary embolism. J Intern Med. 1991; 230: 333-9
- 10) Dalen JE. Pulmonary embolism: What have we learned since Virchow? Chest 2002; 122: 1440-6.
- 11) Silverstein MD, Heit JA, Mohr DN, et al. Trends in the incidence of deep vein thrombosis and pulmonary embolism; A 25-year population-based study. Arch Intern Med. 1998; 158: 585-93.
- 12) Goldhaber SZ, Visani L, De Rosa M. Acute pulmonary embolism: Clinical outcomes in the International Cooperative Pulmonary Embolism Registry (ICOPER). Lancet 1999; 353: 1386-9.
- 13) Wood KE. Major pulmonary embolism review of a pathophysiologic approach to the golden hour of hemodynamically significant pulmonary embolism. Chest 2002; 121:877-905.
- 14) Metintaş S. Venöz trombüs ve pulmoner tromboemboli epidemiyolojisi. Metintaş M (editör).Pulmoner tromboemboli.Eskişehir: Metin Ofset, 2002: 3-15.

- 15) Horlander KT, Mannino DM, Leeper KV. Pulmonary embolism mortality in the United States, 1979-1998: an analysis using multiple-cause mortality data. *Arch Intern Med* 2003; 163:1711-7
- 16) Carson JL, Kelley MA, Duff A, et al. The clinical course of pulmonary embolism. *N Engl J Med* 1992; 326: 1240-5.
- 17) Douketis JD, Kearon C, Bates S, et al. Risk of fatal pulmonary embolism in patients with treated venous thromboembolism. *JAMA* 1998; 279: 458-62
- 18) Nijkeuter M, Söhne M, Tick LW, et al. The natural course of hemodynamically stable pulmonary embolism. *Chest* 2007;131:517-23.
- 19) Pieralli F, Olivotto I, Vanni S, et al. Usefulness of bedside testing for brain natriuretic Peptide to identify right ventricular dysfunction and outcome in normotensive patients with acute pulmonary embolism. *Am J Cardiol* 2006; 97:1386-90
- 20) Cushman M, Tsai AW, White RH, et al. Deep vein thrombosis and pulmonary embolism in two cohorts: the longitudinal investigation of thromboembolism etiology. *Am J Med* 2004; 117; 19-25.
- 21) Uresandi F, Blanquer J, Conget F, et al. Guidelines for the diagnosis, treatment, and follow up of Pulmonary Embolism. *Arch Bronconeumol* 2004; 40: 580-94.
- 22) Sandler DA, Martin JF. Autopsy proven pulmonary embolism in hospital patients: are we detecting enough deep vein thrombosis? *J R Soc Med* 1989; 82: 203-5.
- 23) Kistner RL, Ball JJ, Nordyke RA, Freeman GC. Incidence of pulmonary embolism in the course of thrombophlebitis of the lower extremities. *Am J Surg* 1972; 124:169-76
- 24) Torbicki A, Van Beek EJR, Charbonnier B, et al. Guidelines on diagnosis and management of acute pulmonary embolism. *Eur Heart J* 2000; 21: 1301-36
- 25) Goldhaber SZ, Elliott CG. Acute pulmonary embolism: Epidemiology, pathophysiology and diagnosis. *Circulation* 2003; 108: 2726-9.
- 26) Türk Toraks Derneği Pulmoner Tromboembolizm Tanı Ve Tedavi Uzlaşı Raporu. *Türk Toraks Dergisi* 2009; Cilt 10, Ek 11
- 27) Markel A, Meissner M, Manzo RA, et al. Deep venous thrombosis: rate of spontaneous lysis and thrombosis extension. *Int Angiol* 2003; 22: 376-82
- 28) Nakos G, Kitsioulis EI, Lekka ME. Bronchoalveolar lavage alterations in pulmonary embolism. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 158:1504-10
- 29) Pulmoner tromboemboli. ASD Toraks Yayınları, Eskişehir - 2001
- 30) Ogren M, Bergqvist D, Eriksson H, et al. Prevalence and risk of pulmonary embolism in patients with intracardiac thrombosis: a population-based study of 23796 consecutive autopsies. *Eur Heart J* 2005; 26; 1108-14.

- 31) Dalen JE, Haffajee CI, Alpert JS, et al. Pulmonary embolism, pulmonary hemorrhage and pulmonary infarction. *N Engl J Med* 1977; 296: 1431-4.
- 32) White RH. The epidemiology of venous thromboembolism. *Circulation* 2003; 107: I4-I8.
- 33) Bauer KA, et al. Overview of causes of venous thrombosis. <http://www.uptodate.com/home/index.html>. Accessed June 26, 2009.
- 34) Rosendaal FR. Risk factors for venous thrombotic disease. *Thromb Haemost* 1999; 82: 610-9.
- 35) Huber O, Bounameaux H, Borst F, Rohner A. Postoperative pulmonary embolism after hospital discharge. An underestimated risk. *Arch Surg*. 1992 Mar;127 :310-3.
- 36) Hyers TM. Venous Thromboembolism. *Am J Respir Crit Care Med* 1999; 159: 1-14.
- 37) Geerts W, Jay R, Code K, et al. A comparison of low-dose heparin with low-molecular-weight heparin as prophylaxis against venous thromboembolism after major trauma. *N Engl J Med* 1996; 335:701-7
- 38) Lee AYY, Levine MN. Venous thromboembolism and cancer; risk and outcomes. *Circulation* 2003; 107: 17-21
- 39) Hutten BA, Prins MH, Gent M, Ginsberg J, Tijssen JG, Büller HR. Incidence of recurrent thromboembolic and bleeding complications among patients with venous thromboembolism in relation to both malignancy and achieved international normalized ratio: a retrospective analysis. *J Clin Oncol*. 2000 Sep;18(17):3078-83.
- 40) Guidelines on diagnosis and management of acute pulmonary embolism. Task Force on Pulmonary Embolism, European Society of Cardiology. *Eur Heart J*. 2000 Aug;21:1301-36
- 41) Stone SE, Morris TA. Pulmonary embolism during and after pregnancy. *Crit Care Med* 2005; 33: 294-300
- 42) Cushman M, Kuller LH, Prentice R, et al. Estrogen plus progestin and risk venous thrombosis. *JAMA* 2004; 292: 1573-80.
- 43) Stein, PD, Beemath, A, Matta, F, et al. Clinical characteristics of patients with acute pulmonary embolism: data from PIOPED II. *Am J Med* 2007; 120:871-9
- 44) Stein PD, Terrin ML, Hales CA, et al. Clinical, laboratory, roentgenographic and electrocardiographic findings in patients with acute pulmonary embolism and no pre-existing cardiac or pulmonary disease. *Chest* 1991; 100:598-603
- 45) Geibel A, Zehender M, Kasper W, et al. Prognostic value of the ECG on admission in patients with acute major pulmonary embolism. *Eur Respir J* 2005; 25:843-8
- 46) Panos RJ, Barish RA, DePriest WW Jr, et al. The electrocardiographic manifestations of pulmonary embolism. *J Emerg Med* 1988; 6:301-7

- 47) Kearon C, Ginsberg JS, Douketis J, et al. Canadian Pulmonary Embolism Diagnosis Study (CANPEDS) Group. An evaluation of D-dimer in the diagnosis of pulmonary embolism: a randomized trial. *Ann Intern Med* 2006; 144: 812-21
- 48) Kelly J, Rudd A, Lewis RR, Hunt BJ. Plasma D-dimers in the diagnosis of venous thromboembolism. *Arch Intern Med* 2002;162: 747-56
- 49) The PIOPED Investigators. Value of the ventilation/perfusion scan in acute pulmonary embolism. Results of the prospective investigation of pulmonary embolism diagnosis (PIOPED). *JAMA* 1990; 263: 2753-9.
- 50) Hull RD, Raskob GE, Coates G, Panju AA. Clinical validity of a normal perfusion lung scan in patients with suspected pulmonary embolism. *Chest* 1990; 97: 23-6
- 51) Schoepf UJ, Goldhaber SZ, Costello P. Spiral computed tomography for acute pulmonary embolism. *Circulation* 2004; 109:2160-7.
- 52) Tapson VF. Pulmonary embolism — new diagnostic approaches. *N Engl J Med* 1997; 336:1449-51
- 53) Goldhaber SZ. Echocardiography in the management of pulmonary embolism. *Ann Intern Med* 2002; 136:691-700
- 54) Tapson VF. Review: Acute pulmonary embolism. *N Engl J Med* 2008; 358: 1037-52.
- 55) Tapson, VF. Treatment of acute pulmonary embolism. UpToDate. March 2007
- 56) Valentine K. Hull, R. Anticoagulation in acute pulmonary embolism. UpToDate.Oct 2008
- 57) Quinlan DJ, McQuinlan A, Eikelboom JW. Low-molecularweight heparin compared with intravenous unfractionated heparin for treatment of pulmonary embolism. A metaanalysis of randomized, controlled trials. *Ann Intern Med* 2004; 140: 175-83.
- 58) Hirsh J, Salzman EW, Marder VJ. Treatment of venous thromboembolism. In: Colman RW, Hirsh J, Marder VJ, et al. Eds. *Hemostasis and thrombosis: basic principles and clinical practice*. 3rd ed. Philadelphia, PA: Lippincott, 1994; 1346-66.
- 59) van Dongen CJ, van den Belt AG, Prins MH, Lensing AW. Fixed dose subcutaneous low molecular weight heparins versus adjusted dose unfractionated heparin for venous thromboembolism. *Cochrane Database Syst Rev* 2004
- 60) Buller HR, Davidson BL, Decousus H, et al. Subcutaneous fondaparinux versus intravenous unfractionated heparin in the initial treatment of pulmonary embolism. *N Engl J Med* 2003; 349: 1695-702.
- 61) Kearon C, Kahn SR, Agnelli G, et al. Antithrombotic therapy for venous thromboembolic disease: American College of Chest Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines (8th Edition). *Chest* 2008; 133:454-545

- 62) Arcasoy SM, Vachani A. Local and systemic thrombolytic therapy for acute venous thromboembolism. *Clin Chest Med* 2003; 24: 73-91
- 63) Kucher N, Rossi E, De Rosa M, Goldhaber SZ. Massive pulmonary embolism. *Circulation*. 2006; 113: 577-82.
- 64) Schulman S, Rhedin AS, Lindmarker P, et al. A comparison of six weeks with six months of oral anticoagulant therapy after a first episode of venous thromboembolism. Duration of Anticoagulation Trial Study Group. *N Engl J Med* 1995; 332:1661-5
- 65) Campbell IA, Bentley DP, Prescott RJ, et al. Anticoagulation for three versus six months in patients with deep vein thrombosis or pulmonary embolism, or both: randomised trial. *BMJ* 2007; 334:674.
- 66) Avrupa Kardiyoloji Derneği (ESC) Akut Pulmoner Emboli Tanı ve Tedavisi Görev Grubu. Akut Pulmoner Embolide Tanı ve Tedavi Kılavuzu. *Türk Kardiyol Dern Arş* 2008; 36:1-40
- 67) Zhu T , Martinez I, Emmerich J Venous thromboembolism: risk factors for recurrence. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2009; 29:298-310
- 68) Pengo V, Lensing AW, Prins MH, Marchiori A, Davidson BL, Tiozzo F, Albanese P, Biasiolo A, Pegoraro C, Iliceto S, Prandoni P. Incidence of chronic thromboembolic pulmonary hypertension after pulmonary embolism. *N Engl J Med*. 2004;350:2257–64.
- 69) Prins MH, Hutten BA, Kopman MM, Büller HR. Long-term treatment of venous thromboembolism. *Thromb Haemost* 1999; 82: 892-8.
- 70) Hirsh J. The optimal duration of anticoagulant therapy for venous thrombosis. *N Engl J Med* 1995; 332: 1710-1.
- 71) Turan O, Sevinç C, Yılmaz E, Kılınç O, İtil O, Çımrın A, Akkoçlu A, Uçan ES. Pulmoner tromboemboli olgularının klinik, radyolojik ve laboratuvar özellikleri. *Türk Toraks Derneği'nin 11. Yıllık Kongresi, Poster sunumu - 2008*
- 72) Bauer KA. The Thrombophilias: Well-Defined Risk Factors with Uncertain Therapeutic Implications. *Ann Intern Med*. 2001;135:367-73.
- 73) British Thoracic Society Standards of Care Committee Pulmonary Embolism Guideline Development Group. British Thoracic Society guidelines for the management of suspected acute pulmonary embolism. *Thorax* 2003; 58:470–84.
- 74) Bauer KA, et al. Management of inherited thrombophilia. <http://www.uptodate.com/home/index.html>.
- 75) Rees DC, Cox M, Clegg JB. World distribution of factor V Leiden. *Lancet* 1995;346:1133-4.

- 76) Turkstra et al. Is the prevalence of the factor V Leiden mutation in patients with pulmonary embolism and deep vein thrombosis really different ? *Thromb Haemost*. 1999;81:345-8
- 77) Atahan E, Çağlar E, Şarkış C, Uğurlu S. Venöz tromboemboli ve kalıtsal trombofili. *Turkish J Thorac Cardiovasc Surg* 2009;17:302-311
- 78) Bauer KA. Activated protein C resistance and factor V Leiden. UpToDate version 15.1, 2007, www.uptodate.com
- 79) Nizankowska-Mogilnicka E, Adamek L, Grzanka P, Domagala T.B, Sanak M, Krzanowski M, Szczeklik A. Genetic polymorphisms associated with acute pulmonary embolism and deep venous thrombosis. *Eur Respir J* 2003; 21:25-30
- 80) Margaglione M, Brancaccio V, Delucia D, Martinelli I, Ciampa A, Grandone E, Di Mino G. Inherited thrombophilic risk factors and venous thromboembolism. *Chest* 118(5):1405-11
- 81) Simioni P, Prandoni P, Lensing AWA, et al. The risk of recurrent venous thromboembolism in patients with an Arg 506 — Gln mutation in the gene for factor V (factor V Leiden). *N Engl J Med* 1997; 336:399-403
- 82) Tait RC, Walker ID, Reitsma PH, Islam SI, McCall F, Poort SR, et al. Prevalence of protein C deficiency in the healthy population. *Thromb Haemost* 1995;73:87-93
- 83) Mateo J, Oliver A, Borrell M, Sala N, Fontcuberta J. Laboratory evaluation and clinical characteristics of 2132 consecutive unselected patients with venous thromboembolism—results of the Spanish Multicentric Study on Thrombophilia. *Thromb Haemost* 1997;77:444-51.
- 84) Tripodi A, Salerno F, Chantarangkul V, et al. Evidence of normal thrombin generation in cirrhosis despite abnormal conventional coagulation tests. *Hepatology* 2005; 41:553-8
- 85) Bertina RM. Molecular risk factors for thrombosis. *Thromb Haemost* 1999; 82: 601-9.
- 86) Dykes AC, Walker ID, McMahan AD, et al. A study of protein S antigen levels in 3788 healthy volunteers: Influence of age, sex and hormone use, and estimate for prevalence of deficiency state. *Br J Haematol* 2001; 113: 636-41.
- 87) Öner F, Kaya A, Doğan R, Numanoğlu N, Venöz Tromboembolizmde Kalıtsal Risk Faktörleri. *Tüberküloz ve Toraks Dergisi* 2003; 51: 60-69
- 88) Bauer KA. Protein S deficiency. UpToDate version 10.2, January 29, 2002
- 89) Tait RC, Walker ID, Perry DJ, Islam SI, Daly ME, McCall F, et al. Prevalence of antithrombin deficiency in the healthy population. *Br J Haematol* 1994;87:106-12
- 90) Santamaria MG, Agnelli G, Taliani MR, et al. Thrombophilic abnormalities and recurrence of venous thromboembolism in patients treated with standardized anticoagulant treatment. *Thromb Res*. 2005;116:301-6
- 91) Bauer KA. Antithrombin (AT III) deficiency. UpToDate version 10.2, 2002

- 92) Gitschier, J, Wood, WI, Goralka, TM, et al. Characterization of the human factor VIII gene. *Nature* 1984; 312:326-30
- 93) Koster T, Blann AD, Briët E, et al. Role of clotting factor VIII in effect of von Willebrand factor on occurrence of deep-vein thrombosis. *Lancet* 1995; 345:152-5
- 94) Schambeck C, Grossmann R, Zonnur S, et al. High factor VIII (FVIII) levels in venous thromboembolism: role of unbound FVIII. *Thrombosis and haemostasis* 2004; 92:42-6
- 95) Kraaijenhagen RA, in't Anker PS, Koopman MMW, Reitsma PH, Prins MH, van den Ende A, Buller HR. High plasma concentration of factor VIIIc is a major risk factor for venous thromboembolism. *Thromb Haemost* 2000; 83: 5-9
- 96) Kyrle PA, Minar E, Hirschl M, et al. High plasma levels of factor VIII and the risk of recurrent venous thromboembolism. *N Engl J Med* 2000; 343: 457-62
- 97) Poort SR, Rosendaal FR, Reitsma PH, et al. A common genetic variation in the 3'-untranslated region of the prothrombin gene is associated with elevated prothrombin levels and an increase in venous thrombosis. *Blood* 1996; 88:3698-703
- 98) Vink R, Kraaijenhagen RA, Levi M, Buller HR. Individualized duration of oral anticoagulant therapy for deep vein thrombosis based on a decision model. *J Thromb Haemost* 2003; 1:2523-30
- 99) Tosetto A, Missiaaglia E, Frezzato M, F. The VITA project: Prothrombin G20210A mutation and venous thromboembolism in the general population. *Thromb Haemost* 1999;82:1395-8.
- 100) Souto JC, Coll I, Llobet D, et al. The prothrombin 20210A allele is the most prevalent genetic risk factor for venous thromboembolism in the Spanish population. *Thromb Haemost* 1998;80:366-9.
- 101) Eichinger S, Minar E, Hirschl M, et al. The risk of early recurrent venous thromboembolism after oral anticoagulant therapy in patients with the G20210A transition in the prothrombin gene. *Thromb Haemost* 1999; 81:14-17
- 102) Margaglione M, Brancaccio V, Giuliani N, et al. Increased risk for venous thrombosis in carriers of the prothrombin G A20210 gene variant. *Ann Intern Med* 1998; 129:89-93
- 103) Emmerich J, Rosendaal FR, Cattaneo M, et al. Combined effect of factor V Leiden and prothrombin 20210A on the risk of venous thromboembolism--pooled analysis of 8 case-control studies including 2310 cases and 3204 controls. Study Group for Pooled-Analysis in Venous Thromboembolism. *Thromb Haemost* 2001; 86:809-16
- 104) Grandone E, Margaglione M, Colaizzo D, et al. Genetic susceptibility to pregnancy-related venous thromboembolism: Roles of factor V Leiden, prothrombin 20210A, and methylenetetrahydrofolate reductase C677T mutations. *Am J Obstet Gynecol* 1998; 179:1324-8

- 105) Ueland PM, Refsum H. Plasma homocysteine, a risk factor for vascular disease: Plasma levels in health, disease, and drug therapy. *J Lab Clin Med* 1989; 114:473-501
- 106) McCully KS. Homocysteine and vascular disease. *Nat Med* 1996; 2:386-9
- 107) den Heijer M, Rosendaal FR, Blom HJ, Gerrits WBJ, Bos GMJ. Hyperhomocysteinemia and venous thrombosis: a meta-analysis. *Thromb Haemost* 1998;80:874-7
- 108) Kang, SS. Critical points for determining moderate hyperhomocysteinaemia. *Eur J Clin Invest* 1995; 25:806-8
- 109) Desouza C, Keebler M, McNamara DB, Fonseca V. Drugs affecting homocysteine metabolism: impact on cardiovascular risk. *Drugs* 2002; 62:605-16
- 110) Kang SS, Wong PWK, Susmano A, et al. Thermolabile methylenetetrahydrofolate reductase: An inherited risk factor for coronary artery disease. *Am J Hum Genet* 1991; 48:536-45
- 111) Goyette P, Sumner JS, Milos R, Duncan AM, Rosenblatt DS, Matthews RG, Rozen R. Human methylenetetrahydrofolate reductase: isolation of cDNA, mapping and mutation identification. *Nature Genetics* 1994; 7: 195-200.
- 112) Bezemer ID, Doggen CJ, Vos HL, Rosendaal FR. No Association Between the Common MTHFR 677C->T Polymorphism and Venous Thrombosis: Results From the MEGA Study. *Arch Intern Med* 2007; 167:497-501
- 113) Naess IA, Christiansen SC, Romundstad PR, et al. Prospective study of homocysteine and MTHFR 677TT genotype and risk for venous thrombosis in a general population results from the HUNT 2 study. *Br J Haematol* 2008; 141:529-35
- 114) Gaustadnes et al. Intermediate and severe hyperhomocysteinemia with thrombosis. *Thromb Haemost* 2000; 83:554-8
- 115) Sazci A, Ergul E, Kaya G, et al. Genotype and allele frequencies of the polymorphic methylenetetrahydrofolate reductase gene in Turkey. *Cell Biochem Funct* 2005; 23: 51-4.
- 116) Koster T. Venous thrombosis due to poor anticoagulant response to activated protein C: Leiden Thrombophilia Study. *Lancet* 1993, 342:1503-6.
- 117) Martinelli I. Different risks of thrombosis in four coagulation defects associated with inherited thrombophilia: a study of 150 families. *Blood* 1998, 92:2353-58
- 118) De Stefano V. The risk of recurrent venous thromboembolism in patients with inherited deficiency of natural anticoagulants antithrombin, protein C and protein S. *Haematologica* 2006, 91:695-698.
- 119) Foy P, Moll S. Thrombophilia: 2009 Update. *Current Treatment Options in Cardiovascular Medicine* 2009, 11:114-128

- 120) Ivanov P, Komsa-Penkova R, Kovacheva K, et al. Impact of thrombophilic genetic factors on pulmonary embolism: early onset and recurrent incidences. *Lung*. 2008 ;186:27-36.
- 121) Blom JW, Doggen CJ, Osanto S, Rosendaal FR: Malignancies, prothrombotic mutations, and the risk of venous thrombosis. *JAMA* 2005; 293: 715–722
- 122) Ramacciotti E, Wolosker N, Puech-Leao P, et al. Prevalence of factor V Leiden, FII G20210A, FXIII Val34Leu and MTHFR C677T polymorphisms in cancer patients with and without venous thrombosis. *Thromb. Res* 2003;109:171-4.
- 123) Eroglu A, Ulu A, Cam R, Kurtman C, Akar N: Prevalence of factor V Leiden and prothrombin G20210A polymorphisms and the risk of venous thrombosis among cancer patients. *J Thromb Thrombolysis* 2007; 23: 31–34.
- 124) Otterson GA, Monahan BP, Harold N, et al. Clinical significance of the FV:Q506 mutation in unselected oncology patients. *Am J Med* 1996;101:406-12
- 125) Horowitz N, Brenner B. Thrombophilia and cancer. *Pathophysiol Haemost Thromb*. 2008; 36:131-6
- 126) Haim N, Lanir N. Acquired activated protein C resistance is common in cancer patients and is associated with venous thromboembolism. *Am J Med* 2001 Feb; 110: 91-6
- 127) Savaş E , Baltacı V, Şen E, et al. The Frequency of Factor V Leiden Mutation in Patients with Lung Cancer. *Turkish Respiratory Journal*. 2003, Volume 4, Number 3, 113-5
- 128) Baglin T, Luddington R, Brown K, Baglin C. Incidence of recurrent venous thromboembolism in relation to clinical and thrombophilic risk factors: prospective cohort study. *Lancet* 2003;362:523-6
- 129) The World Health Organization. Improving access to quality care in family planning: medical eligibility criteria for contraceptive use. Geneva: WHO 2004.
- 130) Erkeköl FO, Ulu A, Numanoglu N, Akar N. High plasma levels of factor VIII: An important risk for isolated pulmonary embolism. *Respirology* 2006; 11: 70-4.
- 131) Oguzulgen IK, Ekim NN, Akar N, et al. The role of thrombophilic risk factors in the severity of pulmonary thromboembolism. *Eur Respir J* 2002; 19: 709-11
- 132) Grody WW. American College of Medical Genetics consensus statement on factor V Leiden mutation testing. *Genet Med* 2001, 3:139-148.
- 133) Nicolaidis AN. Thrombophilia and venous thromboembolism. International consensus statement. Guidelines according to scientific evidence. *Int Angiol* 2005, 24:1-26.
- 134) Van Cott EM. Laboratory evaluation of hypercoagulability with venous or arterial thrombosis. *Arch Pathol Lab Med* 2002, 126:1281-95
- 135) Schulman S, Granqvist S, Holmström M, et al. The duration of oral anticoagulant therapy after a second episode of venous thromboembolism. *N Engl J Med* 1997, 336:393–8