

T.C.  
Süleyman Demirel Üniversitesi  
Tıp Fakültesi  
Biyokimya Anabilim Dalı

**GENÇ SEREBRAL İNFARKTLI HASTALARDA  
PROTROMBOTİK GEN MUTASYONLARININ  
ARAŞTIRILMASI**

**DR. AYNUR KILBAŞ**  
**TIPTA UZMANLIK TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI**  
**DOÇ. DR. İRFAN ALTUNTAŞ**

**Bu tez Süleyman Demirel Üniversitesi Araştırma Projeleri Yönetim Birimi  
tarafından 0951-TU-04 proje numarası ile desteklenmiştir.**

**ISPARTA-2007**

## TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve deneyimleriyle örnek olan, yüksek kalite ve donanımda bir laboratuvarın üniversitemiz bünyesinde hizmet vermesinde büyük emeği geçen, değerli hocam Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Namık DELİBAŐ'a,

Uzmanlık tezimin hazırlanmasında gerek bilgi ve önerileriyle gerek yardımseverliği ve hoşgörüsüyle katkılarını esirgememiş olan tez danışmanım Doç. Dr. İrfan ALTUNTAŞ'a,

4 yıldan uzun süren eğitim periyodunda destekleriyle her zaman yanımda olan değerli hocalarım; Prof. Dr. Hüseyin VURAL, Doç. Dr. Fatih GÜLTEKİN, Doç. Dr. Recep SÜTÇÜ, Yard. Doç. Dr. Mehmet AKDOĞAN ve Yard. Doç. Dr. Duygu Kumbul DOĞUÇ'a, laboratuvar içerisinde beraber çalıŐmaktan mutluluk duyduğum araştırma görevlisi ve teknisyen arkadaşlarıma,

Tezimin hazırlanmasında her zaman yanımda olarak manevi desteğini ve yardımlarını esirgemeyen hayat arkadaşım Nöroloji Uzmanı Dr. Serkan KILBAŞ'a ve biricik oğlumuz Ahmet Erdem'e, anneme, babama ve kardeşlerime sonsuz teşekkürler...

Dr. Aynur KILBAŞ

## İÇİNDEKİLER

Teşekkür	i
Simgeler ve kısaltmalar	iii
Şekil ve Tablo Listesi	iv
<b>1. GİRİŞ VE AMAÇ</b>	1
<b>2. GENEL BİLGİLER</b>	3
<b>2.1.Serebrovasküler Hastalıklar</b>	3
2.1.1.Fizyopatoloji	4
2.1.2.Etiyoloji	7
2.1.3.Risk Faktörleri	9
<b>2.2.Genç Erişkinlerde İnme</b>	10
2.2.1.Epidemiyoloji	10
2.2.2.Genç Erişkinlerde Potansiyel İskemik İnme Nedenleri	11
2.2.3.Genç İnmede Tanı Yöntemleri	15
2.2.4.Genç İnmede Tedavi ve Prognoz	16
<b>2.3. Pıhtılaşmanın Fizyolojisi</b>	18
2.3.1. Trombofilinin Nedenleri	18
2.3.2. Antitrombin Sistemi	22
2.3.3.Trombomodulin-Protein C-Protein S Sistemi	24
<b>2.4.Faktör V Gen Mutasyonu</b>	30
2.4.1.Faktör V Gen Mutasyonları	31
2.4.2. Faktör V Eksikliğinin Klinik Sınıflandırılması	33
<b>2.5. MTHFR Gen Mutasyonu</b>	34
2.5.1.MTHFR Enziminin Yapısı ve Görevi	35
2.5.2.MTHFR Gen Mutasyonları	35

<b>2.6. Protrombin G20210A Gen Mutasyonu</b>	40
<b>2.7. Plazminojen Aktivatör İnhibitör 1 (PAI-1) Gen Polimorfizmi</b>	41
<b>2.8. Fibrinojen Gen Mutasyonu</b>	43
<b>2.9. Human Platelet Alloantigens (HPA) Gen Polimorfizmi</b>	44
<b>2.10. Faktör XIII Gen Mutasyonu</b>	45
<b>3. MATERYAL VE METOD</b>	47
<b>3.1. Örneklerin Toplanması ve Laboratuvar Analizleri</b>	48
<b>3.2. Trombofilik Mutasyonların Çalışılması</b>	48
3.2.1. DNA izolasyonu	48
3.2.2. Protrombotik genler için polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) yöntemi	49
3.2.3. Revers insitu hibridizasyon yöntemi	49
3.2.4. Sonuçların Okunması	49
<b>3.3. İstatistik</b>	52
<b>4. BULGULAR</b>	52
<b>5. TARTIŞMA VE SONUÇ</b>	55
<b>6. ÖZET</b>	67
<b>7. SUMMARY</b>	68
<b>8. KAYNAKLAR</b>	69

## SİMGELER VE KISALTMALAR

°C	: Santigrat derece
%	: Yüzde oran
Å	: Angstrom
ark.	: Arkadaşları
AFA	: Antifosfolipid Antikor
AH	: Alzheimer Hastalığı
APC	: Aktive Protein C
APCR	: Aktive Protein C Rezistansı
aPTT	: Aktive Parsiyel Tromboplastin Zamanı
AT III	: Antitrombin III
BOS	: Beyin Omurilik Sıvısı
DF	: Doku Faktörü
DFYİ	: Doku Faktör Yolu İnhibitörü
ĐİC	: Dissemine İnvasküler Koagulasyon
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
DTR	: Derin Tendon Refleksi
EMG	: Elektromyografi
FV	: Faktör 5
FVIII	: Faktör 8
ĞİA	: Geçici İskemik Atak
HC-2	: Heparin Kofaktör 2
HDL	: Yüksek Dansiteli Lipoprotein
HPA	: Human Platelet Alloantijen
İKK	: İnvasküler Kanama
IL-1	: İnterlökin 1
Kc	: Karaciğer
LDL	: Düşük Dansiteli Lipoprotein
Lip a	: Lipoprotein a
MI	: Miyokard İnfarktüsü
µg	: Mikrogram
MMP	: Matriks Metalloproteinazları
MR	: Mental Retardasyon
MRA	: Magnetik Rezonans Anjiyografi
MRG	: Magnetik Rezonans Görüntüleme
MS	: Metiyonin Sentetaz
MTHFD	: Metilen Tetrahidrofolat Dehidrogenaz
MTHFR	: Metilen Tetrahidrofolat Redüktaz
MTRR	: Metiyonin Sentaz Redüktaz
NMDA	: N-Metil D-Aspartat
NO	: Nitrik Oksit
NOS	: Nitrik Oksit Sentetaz
PAI-1	: Plazminojen Aktivatör İnhibitörü 1
PAN	: Poliarteritis Nodoza
PC	: Protein C

PCR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
PH	: Parkinson Hastalığı
PS	: Protein S
PT	: Protrombin
RİND	: Reversible İskemik Nörolojik Defisit
SKA	: Serebral Kan Akımı
SLE	: Sistemik Lupus Eritematozis
SPSS	: “Statistical Package for Social Sciences” (Sosyal bilimler için istatistik paketi)
SSS	: Santral Sinir Sistemi
TG	: Trigliserit
TNF	: Tümör Nekrozis Faktör
tPA	: Doku Plazminojen Aktivatörü
uPA	: Urokinaz Plazminojen Aktivatörü

## ŞEKİL ve TABLO LİSTESİ

- Şekil 1. Antitrombotik mekanizmalar
- Şekil 2. Protein C'nin aktivasyonu
- Şekil 3. Bir CVD stripinin görüntüsü
- Tablo 1. Toplumda belli bir sıklığa ulaşabilen primer trombofili nedenleri
- Tablo 2. Nadir rastlanan primer trombofili nedenleri
- Tablo 3. Sekonder trombofili nedenleri
- Tablo 4. Protein C'nin özellikleri
- Tablo 5. Protein C ve protein S eksikliği tipleri , şekilleri ve klinik belirtileri
- Tablo 6. Genç İnme ve Kontrol Gruplarının Bazı Tanımlayıcı Özellikleri
- Tablo 7: Risk faktörlerinin gruplara göre yüzdelik dağılımları
- Tablo 8 Grupların etken faktörlere göre heterozigotluk ve homozigotluk dağılımı (\*  
Ki – kare testi,  $p < 0.05$ ).
- Tablo 9: PAI-1 ve HPA-1 protrombotik gen mutasyonlarının gruplara göre dağılımı

# 1.GİRİŞ ve AMAÇ

Serebrovasküler hastalıklar (inme, strok), koruyucu tıp alanında sağlanan gelişmelere rağmen halen daha gelişmiş ülkelerde kalp hastalıkları ve kanserden sonra üçüncü, dünya genelinde ise ikinci en sık ölüm nedenidir (1). Avrupa ülkelerinde her yıl 100-200/100.000 yeni olgu bildirilirken, ABD’de yılda 600.000 yeni olgu ya da tekrarlayan inme meydana gelmektedir (1,2). Risk faktörlerinin daha iyi tanınması ve tedavi edilmesiyle, inme sıklığı ve buna bağlı mortalite son yıllarda azalmıştır. İnme alt tipleri arasında iskemik inme %70-80 oranında görülmektedir (3). İskemik inme, insidansı yaşla birlikte artan, genetik ve çevresel faktörlerin etkilediği kompleks multifaktöryel bir bozukluktur (4). İnmenin yol açtığı yaşamsal ve sosyoekonomik kayıp göz önüne alındığında, inme risk faktörlerinin detaylı belirlenerek, prevalansının ve insidansının azalmasına yönelik çalışmalar temel oluşturmaktadır (4,5). Üst yaş sınırı kesin olmamakla beraber, 45 yaşın altında görülen inmeler genç inme olarak tanımlanır (6). Gençlerde inme insidansı 2,5-40/100.000 arasında değişmektedir. Bütün inmelerin % 4-10 kadarı gençlerde görülür (6,7). Gençlerde inme etiyojisinin gerçek sıklığını belirlemek oldukça güçtür. Çeşitli çalışmalarda inme etiyojileri arasında büyük farklılıklar görülmektedir. Genç iskemik inmeli hastalarda etiyojistik faktörler ileri yaş popülasyonuna oranla daha heterojen olup vakaların %15-40’ında neden bulunamamaktadır (8,9). Hemostazın trombotik hastalıklarda önemli bir rol oynadığı uzun süredir bilinmektedir ve hemostatik prosesi etkileyen değişik genetik faktörlerin venöz tromboz riskini arttırdığı saptanmıştır (10,11). Daha önce yapılan çalışmalarda gençlerdeki iskemik inmenin yaklaşık %4’ünün koagülasyon parametrelerindeki bozukluğa bağlı olduğu bildirilmiştir (10-12). Başlangıçta yapılan tarama testlerinde orak hücreli anemi, polisitemi gibi nedenler yoksa, eğer iskemik inmenin nedeni bulunamamışsa, ailede tromboz, hastada rekürren inme varsa, inme lokalizasyonu nadir



görülen bir lokalizasyonda ise, hastalar konjenital ve edinsel koagülopati nedenleri yönünden değerlendirilmelidir (13,14). Beraberinde uygulanacak antikoagülan tedavinin süresi ve dozu, bu trombotik provakasyonun kalıcı veya geçici olmasına göre düzenlenmektedir. Bu nedenle, akkiz ve/veya kalıtsal risk faktörlerinin spesifik laboratuvar testleriyle araştırılması çok sık rastlanan bu hastalığın uygun bir şekilde takibi için gereklidir (14). Bunlar içerisinde hiperhomosisteinemi ve antifosfolipit antikolar gençlerdeki inme risk faktörlerinin araştırıldığı hematolojik parametreler arasında yüksek oranda yerini almışlardır (15,16). Bununla birlikte geçen 10 yılı aşkın bir süredir iskemik inme patogenezinde farklı protrombotik gen mutasyonlarının incelendiği birçok çalışma yapılmıştır. Özellikle Faktör V geninin G1691A mutasyonu, protrombin geninin G20210A mutasyonu ve MTHFR geninin C6777T mutasyonu en çok yapılan çalışmalar arasındadır (17-20). Ancak bu protrombotik mutasyonların iskemik inme etiyopatogenezindeki etkisi halen netlik kazanmamıştır. Daha önceki çalışmalarda bu protrombotik gen mutasyonlarının etkisi 3 şekilde incelenmiştir (20):

1. Bilinen risk faktörlerinden bağımsız etkileri
2. Bilinen risk faktörleri üzerine tek ve/veya kümülatif etkileri
3. Prognoz üzerine etkileri

Biz de bu çalışmada Ekim 2004 - Mart 2006 tarihleri arasında Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi Nöroloji Kliniğinde yatırılarak takip edilen 45 yaş altındaki genç iskemik inmeli 53 hastada protrombotik gen mutasyonlarının sıklığını araştırmayı amaçladık.

## 2.GENEL BİLGİLER

### 2.1.SEREBROVASKÜLER HASTALIKLAR

Serebrovasküler hastalıklar (inme,strok); travmatik olmayan nedenlerle ortaya çıkan, beyin damar hastalığına bağlı, ani başlangıçlı, sıklıkla fokal nörolojik defisitlere yol açan ve 24 saatten uzun süren ya da 24 saatten daha kısa sürede ölümle sonlanabilen bir klinik tablodur (21). İnme, kaynaklandığı damara göre arteriyel veya venöz olabilir. Arteriyel kaynaklı olan inme iskemik veya hemorajik özelliğindedir. Batı toplumu ve Amerika’da tüm inme hastalarının %85 kadarı iskemik, %14’ü ise hemorajik inmeli hastalardır. Yine tüm inmelerin % 0,5 -1 kadarı ise venöz inme özelliğindedir. İskemik inmenin %5 kadarını geçici iskemik ataklar oluşturmaktadır (22,23). Ülkemizde Türk Beyin Damar Hastalıkları Derneği sponsorluğunda 1995-1996 yıllarında 3100 hastayı içeren çok merkezli inme çalışmasında iskemik inme %72, hemorajik inme ise %28 oranında bulunmuştur (24). İskemik inme okluzif veya non-okluzif mekanizmalara bağlı olarak gelişebilir. Okluzif nedenler olarak aterotromboz, emboli veya lipohyalinozis sayılabilir. Nonokluzif iskemik inme, şiddetli vazospazm veya artere dışardan bası yapan herhangi bir yer kaplayıcı neden sonucunda gelişebilir. Non-okluzif mekanizma ile oluşan inmelere diğer bir örnek, hemodinamik yetmezliklerin oluşturduğu Watershed (borderzone) infarktlarıdır (25).

İnmeler zaman içindeki klinik gelişimlerine göre:

- 1- Geçici iskemik atak (GİA)
- 2- Reversibl iskemik nörolojik defisit (RİND)
- 3- İlerleyici inme (Progressif inme)
- 4- Yerleşmiş inme (Komplete inme) olarak sınıflandırılır (22-24).

GİA’lar çoğunlukla 2-15 dakika süreli, nadiren 24 saate kadar uzayabilen,

vasküler kaynaklı, geçici fokal serebral fonksiyon bozukluğudur. GIA'ların % 90'nı karotis sisteminden, % 7'si vertebobaziler sistemden, %3'ü ise her iki sistemden beraber kaynaklanmaktadır. Kalıcı nörolojik defisit bırakmaz. Klinik tablonun bir günden daha uzun sürede (genellikle 3 haftadan kısa) sekelsiz ya da tama yakın iyileşmesi durumuna RİND, bu süreyi aşan ve genellikle değişmeden kalanlara 'yerleşmiş inme', hastanın gözlem altında tutulduğu sırada nörolojik defisit artmasına ya da yeni nörolojik belirtilerin eklenmesi durumunda 'ilerleyici inme'den söz edilir (22-25).

### 2.1.1.FİZYOPATOLOJİ

Bir dakikada 750 ml kan alan beyin, bu kanın 500 ml'sini karotid arterler, 250 ml'sini vertebobaziler sistemden sağlamaktadır (25). Serebral kan akımı (SKA) normalde ortalama 50-55 ml/100 gr beyin dokusu/dakikadır. Bu değer fonksiyonel aktivitenin arttığı bölgelerde daha yüksektir. Gri cevherde SKA ortalama 70-80 ml/100gr beyin dokusu/dk iken, beyaz cevherde 30 ml /100gr beyin dokusu/dk'dır. Beyindeki bu yüksek düzeydeki kanlanma sayesinde 3.3 ml/100gr beyin dokusu/dk oksijen, 5 mg/100gr beyin dokusu/dk glikoz tüketimi olabilmektedir (25,26). Nöronal disfonksiyon, SKA'nın 22 ml/100gr beyin dokusu/dk düzeylerine düşmesi ile oluşmaya başlar ve 12 ml/100gr beyin dokusu/dk'nın altına düşmesi durumunda ise nöronal ölüm meydana gelir (25). Beyin kan akımının tamamen durması, saniyeler içinde nöronal elektriksel aktivitenin kesilmesine, birkaç dakika içinde enerji durumunun ve kan hemostazının bozulmasına yol açar. Yüksek enerjili fosfatların tükenip membran iyon pompasının iflas etmesi,  $K^+$ 'nın hücre dışına,  $Na^+$ ,  $Ca^{++}$ ,  $Cl^-$  ve suyun hücre içine girmesine yol açarak membran depolarizasyonuna neden olur. ATP anaerob yolla üretilmeye başlanır. Buraya kadar meydana gelen olaylar geri dönüşümlü olup, kalıcı

hasar meydana gelmeyebilir (27). ATP'nin anaerobik yolla üretilmesiyle laktat ve hidrojen iyonları birikmeye başlar. Bu iyonlar da serbest radikallerin oluşumunu başlatır. Anoksik depolarizasyona eksitator aminoasitlerin toksik düzeyde salınımı eşlik eder (25,27).

### **Glutamat eksitotoksitesisi**

Ekstrasellüler glutamat artışı NMDA ve non-NMDA reseptörlerinin (AMPA, kainat) aşırı aktivasyonuna yol açar. Normalde magnezyum ile bloke halde bulunan ve eksitotoksiteden sorumlu olan NMDA reseptör kanalı, voltaja bağımlıdır. İskemik dokuda nöronal membran depolarizasyonu oluşunca açılarak nöron içine  $Na^+$ ,  $Cl^-$  ve suyun girmesine neden olur; hücrede şişme meydana gelir (28). Aktivasyonun daha uzun sürmesi durumunda hücre içine giren  $Ca^{++}$ , gecikmiş hücre ölümüne, fosfolipaz  $A_2$  ve diğer  $Ca^{++}$ 'a bağımlı enzimlerin aktivasyonuna ve serbest radikal oluşumuna neden olur (29).

### **Kalsiyum sitotoksitesisi**

Kalsiyum, fosfolipazı aktive ederek membrana bağlı gliserofosfolipidlerden serbest yağ asitlerinin hidrolizine ve diğer membran lipidlerinin serbest radikal peroksidasyonuna neden olur. Bununla birlikte araşidonik asitten, siklooksijenaz ve lipooksijenaz yolları ile prostoglandin ve lökotrien salınımını sağlar. Ayrıca kalsiyum, proteazları aktive ederek proteinlerin lizisine ve nitrik oksit sentetaz (NOS)'ın aktivasyonu ile serbest radikallerin ortaya çıkmasına neden olur (27).

### **Serbest Radikaller**

Normalde oluşan serbest radikaller, biyolojik korunma mekanizmaları ile ortamdan uzaklaştırılır. Süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz ve katalaz gibi enzimlerle zararsız hale getirilirler. Akut hücre hasarı oluşması için serbest radikallerin fazla üretimi veya detoksifikasyon mekanizmalarının yetersiz olması gereklidir. Oksijen serbest radikallerinden olan hidroksil radikali ve süperoksit iyonu aşırı reaktif olup,

nükleik asitlere, proteinlere, karbonhidratlara ve lipidlere bağlanarak onları zedeler (30). Okside glutatyon ve endojen serbest radikal tutucu enzimler iskemi sırasında hızla azalır. Reperfüzyonda yeniden oksijen sağlanmasıyla serbest radikal oluşumu aşırı derecede artar. İskemide ve özellikle reperfüzyonda serbest radikal oluşumu kan-beyin bariyerinin bozulması yoluyla vazojenik ödem oluşmasına ve iskemik bölgeye inflamatuvar hücre girişine yol açar (30,31).

### **Nitrik Oksit**

İskemiye takip eden dönemde, endotelden veya perivasküler sınırlardan salınan nitrik oksit kan akımını artırarak ve diğer hemodinamik faktörler üzerine etkisi ile koruyucu rol oynarken, nöronal nitrik oksitin fazla üretimi nörotoksik etki göstermektedir (31). Nitrik oksit (NO); nitrik oksit sentetaz (NOS) aracılığı ile L-arjinin'den sentezlenir. Yüksek miktarlardaki NO, mitokondrial solunumu inhibe eder. Glikolizi deprese ederek ve intrasellüler glutatyon seviyesini azaltarak sitotoksiteye neden olur. Ayrıca ribonükleotid redüktaz aktivitesini azaltarak DNA sentezini; DNA nitrasyonu, oksidasyonu ve deaminasyonu ile de DNA yapısını zedeler (31).

### **İnflamasyon**

Lokal bir reaksiyon olan inflamasyon, hücrelerin ve sıvının intravasküler alandan dokuya geçerek koruma ve tamir görevi yaptıkları süreçtir. Akut inmeden 12-72 saat sonra iskemik dokuda oluşan inflamasyon, oksijen serbest radikalleri ve NO yapımına yol açarak nöronlarda toksik etkiye neden olabilir. Lökositlerin endotel hücrelerine adezyonu ve mikrovasküler tıkanmalar, sekonder iskemik olayları meydana getirir (32).

### **Hücre Ölümü**

İskemik hücre zedelenmesi esas olarak üç tür ölüme yol açar. Bazı hücreler eksitotoksik şişme, osmotik parçalanma ve nekroz ile fokal iskeminin başlangıç aşamalarında ölürken, bir kısmı apoptoz ile daha yavaş olarak ölür. Diğer bir kısmı da apoptoz ve nekroz kombinasyonu ile ölür. Apoptoz, programlanmış hücre ölümüdür.

Aslında normal yaşamın bir parçası olan apoptoz hücrelerin ayıklanması için gereklidir. İskemik inmede yeteri kadar zarar görmüş, yıpranmış hücrelerde bu apoptotik süreç hızlanır (33).

### **2.1.2.ETİYOLOJİ**

İskemik inme alt tipini belirlemek için en çok kullanılan sınıflamalardan biri, TOAST (Trial of Org 10172 in Acute Stroke Treatment) sınıflamasıdır (34). Bu sınıflama başlıca etiyolojiye dayanıp, klinik özellikler ve yardımcı inceleme bulguları, hastanın hangi gruba sokulacağını belirler.

TOAST sınıflaması 5 kategoriye ayrılır:

- 1-Büyük arter ateroskleroza
- 2-Kardiyoembolizm
- 3-Küçük arter oklüzyonu (lakün)
- 4-Belirlenebilen diğer nedenlere bağlı inme
- 5-Etiyolojisi belirlenemeyen inme

#### **Büyük Arter Ateroskleroza**

Beyni besleyen ana damarlardan birinde ya da kortikal dalında, ateroskleroza bağlı olduğu düşünülen %50'den fazla darlık veya tıkanma olan hastalar bu gruba girer. Klinik tablo, tıkanan artere göre gelişip, lezyon kortekste, subkortekste, serebellumda ya da beyin sapında olabilir. Lezyon 1,5 santimetreden büyüktür. Potansiyel kardiyoemboli kaynağı yoktur. Yüksek kortikal fonksiyon bozuklukları, motor ve duyuusal etkilenmeler sık görülmekle birlikte beyin sapı ve serebellar fonksiyon bozukluğu da bulunabilir. Hastalarda risk faktörü vardır. Geçici iskemik atak, koroner ya da periferik arter hastalığı öyküsü bulunabilir. Hastalara yapılan ekstrakranial karotid-vertebral arter USG'si veya serebral anjiyografi normal ya da minimal değişiklik gösteriyorsa

ateroskleroza bağlı iskemik inme tanısı konulamaz (34.35).

### **Kardiyoembolizm**

Klinik ve lokalizasyon özellikleriyle büyük damar aterosklerozuna benzer. En ayırt edici fark, kardiyak bir emboli kaynağının gösterilmesidir. Kardiyak emboli kaynağı, yüksek riskli ve orta riskli grup olarak ikiye ayrılır. Ani başlangıç tipik olup, genellikle bilinç bozulur ve maksimum defisit beş dakika gibi kısa sürede gelişebilir. Semptomların çok hızlı gerilemesi de kardiyoembolik inme lehinedir. Hastaların özgeçmişinde, birden fazla arter alanını etkileyen geçici iskemik atak ya da inme öyküsü bulunabilir (34). Görüntüleme yöntemleriyle farklı arter alanlarında multipl infarktlar saptanabilir. Tıkanmış damarın erken rekanalizasyonu ve iskemik lezyonun hemorajik transformasyonu görülebilir. İnfarkt dokusundaki hemoraji, peteşiyal kanamadan masif hematoma kadar değişik derecelerde olabilir (35).

### **TOAST Sınıflamasına Göre Kardiyoembolizm Risk Faktörleri (34):**

#### ***Yüksek Risk Faktörleri***

- |   |                                   |
|---|-----------------------------------|
| -Mekanik prostetik kapak                        | -Sol ventriküler trombus          |
| -Atrial fibrilasyonlu mitral stenoz             | -Dilate Kardiyomiyopati           |
| -Atrial fibrilasyon                             | -Akinetik sol ventriküler segment |
| -Sol atrial trombus                             | -Atrial miksoma                   |
| -Hasta sinüs sendromu                           | -İnfektif Endokardit              |
| -Yeni geçirilmiş miyokard infarktüsü (<4 hafta) |                                   |

#### ***Orta Risk Faktörleri***

- |                                |                                      |
|--------------------------------|--------------------------------------|
| -Mitral valv prolapsusu        | -Patent Foramen ovale                |
| -Mitral annulus kalsifikasyonu | -Konjestif Kalp Yetmezliği           |
| -Mitral stenoz                 | -Hipokinetik sol ventriküler segment |
| -Atrial septal anevrizma       | -Miyokard infarktüsü(>4 hafta,<6ay)  |

## **Küçük Arter Oklüzyonu**

Semptomları açıklayan tarafta %50'den daha fazla bir stenoz bulunmamalı ve kardiyak etiyojji dışlanmalıdır. Radyolojik görüntülemelerde ya hiç lezyon görülmez yada klinikle uyumlu 1,5 santimetreden daha küçük bir infarkt saptanır (35). İnme yol açan laküner infarkt, subkortikal yerleşimli olup, bir perforan arterin tıkanması sonucu gelişir. Bazal ganglia, talamus, korona radiata, internal kapsül ve beyinsapı, infarktın görülebildiği bölgelerdir. Klasik laküner inme sendromlarından biri meydana gelebilir (35). Hastaların hipertansiyonu, diabetes mellitusu bulunması tanıyı destekler. Hiperlipidemi ve sigara kullanma öyküsü de risk faktörü olarak kabul edilebilir.

## **Belirlenen Diğer Nedenlere Bağlı İnme**

Klinik ve görüntüleme yöntemleriyle iskemik inme tanısının konduğu, ancak yukarıdaki üç gruba ilişkin tipik özelliklerin bulunmadığı hastalıklar, vaskülitler, hematolojik bozukluklar, koagülopatiler ve genç hastalarda iskemik inmeye neden olan diğer nadir görülen hastalıklar bu gruba dahil edilir (34,35).

## **Etiyolojisi Belirlenemeyen İnme**

İskemik inme nedeninin bulunamadığı durumlardır. Ya ayrıntılı incelemeye rağmen etiyojji saptanamamış ya da aynı olayı açıklayabilecek birden fazla neden söz konusudur. İncelemeleri eksik kalmış hastalar da bu gruba girer (34,35).

### **2.1.3.RİSK FAKTÖRLERİ**

Bir etkene risk faktörü denilebilmesi için, hastalıkla nedensel ilişkinin gösterilmiş olması gerekir (22). Risk faktörleri ya nöronal doku elamanlarını ya da kan-beyin bariyerini veya vasküler sistem elamanları olan endotel, damar çapı, kan akımı, koagülasyon dengesi, fibrinolitik denge ve perfüzyon basıncındaki dengeyi etkileyerek inmeye yol açmaktadır (22-24).



### **Değiştirilemez Risk Faktörleri**

- Yaş
- Cinsiyet
- İrk
- Genetik

### **Değiştirilebilir Risk Faktörleri**

- Hipertansiyon
- Dislipidemi
- Sigara
- Oral kontraseptif kullanımı
- Atrial Fibrilasyon
- Diabetes Mellitus
- Obesite
- Alkol

## **2.2.GENÇ ERİŞKİNLERDE İNME**

Çocuklarda ve gençlerde serebrovasküler hastalık insidansı yaşla birlikte artmasına rağmen, orta yaş ve yaşlı kişilere göre daha az sıklıkta görülür. Ancak gençlerde görülen inmelerin yaşamları üzerindeki olumsuzlukları ve yıkıcı etkileri yaşlılara göre daha da fazladır. Genç inmelerde %70'den fazla iyileşme görülmesine rağmen serebral emboli ve intraserebral kanama kötü prognoza sahiptir. Bu nedenle önleyici tedbirler, tanı ve tedavi çok önemlidir. Gençlerde inme nedenlerinin çoğu tedavi edilebilir özelliktedir ve uygun tedavi ile inme riski düşürülebilir, sekel oranı azaltılabilir (3,8,36,).

### **2.2.1.EPIDEMİYOLOJİ**

Genç inmeli hastalarda günümüze kadar inmeyle ilgili çok çalışma yapılmış, yıllık inme insidansı değişik çalışmalarda farklı olarak bildirilmiştir. Batı ülkelerinde 15-45 yaş grubunda tüm inmelerin %5'inden azı görülürken, bu oran gelişmekte olan ülkelerde %19-30'lara kadar artmaktadır (3,6). İtalya'da yapılan bir çalışmada iskemik inme için yıllık insidans 5.8/100.000 iken, Kuzey İsveç'de bu oran 11.3/100.000 olarak bulunmuştur. İsrail'de yapılan çalışmada ise 18-44 yaşları arasında iskemik inme insidansı 5/100.000 olarak bildirilmiştir (8). Genç inmelerde cinsiyet dağılımına bakıldığında, 30 yaşın üstündeki inme insidansı erkeklerde, 30 yaşın altında inme insidansı ise kadınlarda daha fazladır. Bu fark 30 yaşın altındaki kadınlarda gebelik ve

oral kontraseptif kullanımının daha sık olmasına bağlanır (3,8). Genç inmeli hastalarda mortalite hızı çok iyi bilinmemektedir. Yapılan araştırmalarda akut iskemik inme sonrası 1 aylık dönemdeki mortalite, yaşlı popülasyona göre daha azdır. Marini ve ark. genç inmeli hastalarda 35 yaşın üstünde erkek olmayı ve kardiyak hastalığın mevcudiyetini kötü prognoz işareti olarak saptamışlardır (37). L' Aquila grubu 45 yaş altı genç inmeli hastalarda 30 günlük mortalite hızını %11,2 olarak bulmuşlardır (38). Ayrıca 45 yaş üstü inmeli hastalarda prognoz 45 yaş altına göre daha kötü olduğu belirtilmektedir (39).

### **2.2.2.Genç Erişkinlerde Potansiyel İskemik İnme Nedenleri**

Genç erişkinlerde iskemik inme etiyojisi oldukça değişkenlik göstermektedir. Arteriopati sıklığı %11-17 arasında değişirken, kardiyak emboli nedenleri %11-35 arasında değişkenlik göstermektedir. Etiyojide rol alan faktörler aşağıdaki şekilde sınıflandırılabilir (3,6,8).

#### **A. Arteriopatiler**

##### **1.Aterosklerotik Arteriopati**

##### **2.Non-aterosklerotik Arteriopati**

###### **a)Noninflamatuvar:**

\*Disseksiyonlar

\*Moyamoya Hastalığı

\*Fabry hastalığı

\*Kontraseptiflerin indüklediği hiperplazi

\*CADASIL (Cerebral Autosomal Dominant Arteriopathy with Subcortical Infarcts and Leucoencephalopathy)

\*Dilate Arteriopati (Doikiloektazi)

\*Fibromuskuler displazi

\*Sneddon sendromu

\*Marfan sendromu

\*Migrenöz inme

###### **b)İnflamatuvar:**

\*Takayasu hastalığı

\*Enfektif artritler (sifiliz, tüberküloz, riketsiya, brucella, AIDS, herpes zoster, malaria, mikoplazma pnömonisi, mikozlar)

\*Granülomatöz artritler

\*Sistemik artritler (Wegener granülomatozis, romatoid artrit, sarkoidoz, poliarteritis nodosa, Behçet hastalığı, ülseratif kolit)

\*Toksik anjiopatiler,

## **B. Kardiyak Nedenler**

### **1.Kongenital Kalp Hastalıkları**

\*Ventriküler septal defekt

\*Aort Koarktasyonu

\*Atrial septak defekt

\*Pulmoner atrezi

\*Patent duktus arteriosus

\*Eisenmenger sendromu

\*Pür pulmoner stenoz

\*Ebstein anomalisi

\*Fallot tetralojisi

### **2.Kalp Kapak Hastalıkları**

\*Romatizmal kalp hastalıkları

\*Prostetik kalp hastalıkları

\*Mitral valv prolapsus

\*İnfektif endokardit

\*Non-bakteriyel trombotik endokartitis

### **3.Kardiyak Aritmiler**

### **4.İntrakardiyak Tümörler**

### **5.Paradoksal Embolizme Neden Olan İntrakardiyak Defektler**

## **C. Hiperkoagülasyona Yol Açan Hematolojik Bozukluklar**

### **1.Primer Nedenler**

\*Antitrombin III Eksikliği

\*Fibrinolitik sistemin hastalıkları

\*Protein C eksikliği

\*Disfibrinojenemi

\*Protein S eksikliği

\*Lupus antikoagülanları

\*Aktive Protein C rezistansı

\*Orak hücreli Anemi

### **2.Sekonder Nedenler**

\*Maligniteler

\*Hiperviskozite sendromları

\*Hamilelik

\*Homosistinüri

- \*Oral kontraseptif kullanımı
- \*Nefrotik sendrom
- \*Myeloproliferatif hastalıklar
- \*Paroksizmal nokturnal hemoglobinüri
- \*Trombotik trombositopenik purpura

#### **D. Diğer Nedenler ve Genetik Geçişli Hastalıklar**

- \*Yağ embolileri, tümör embolileri, hava embolileri, iatrojenik emboliler
- \*Nöroleptik malign sendrom,
- \*Konjenital odontoid aplazi,
- \*Atlantoaksiyal subluksasyon,
- \*Migren
- \*MELAS (Mitochondrial Encephalopathy with Lactic Acidosis and Strokeliike Episodes)
- \*MERRF (Myoclonic Epilepsy with Ragged-Red Fibers)
- \*Fabry Hastalığı
- \*Leigh Hastalığı
- \*Nörokutanöz Sendromlar
- \*Sneddon Sendromu
- \*Organik Asidemiler (Metilmalonik, Propyonik, Isovalerik, Glutarik asidüri Tip II)

#### **Hematolojik Bozukluklar**

Genç iskemik inmeye yol açabilecek hematolojik nedenler arasında, koagülasyon inhibitör proteinlerin herediter eksikliği, antifosfolipid antikorları, lupus antikoagülanı, orak hücreli anemi ve esansiyel trombositoz sayılabilir (10,11). Hiperkoagülasyona yol açan hastalıklar, inmeli hastaların %1'inde görülürken bu oran genç inmeli hastalarda %1-14 arasında bulunmuştur (3,11,41). Protein C, protein S, antitrombin III eksikliği, faktör V Leiden ve protrombin gen mutasyonu, aktive protein C rezistansı gibi bozukluklar, hiperkoagülasyona yol açarak daha çok venöz trombozlara neden olurlar (11). Genç inmeli hastalarda kriptojenik arteriyel inmelere de neden oldukları belirtilmiştir (11,40,41). Antitrombin III, endotel yüzeyindeki heparine

bağlanarak trombin ve diğer pıhtılaşma faktörlerini inhibe edici özelliğini artırır. 45 yaş altı venöz tromboz saptanan vakalarda antitrombin III eksikliği prevalansı %4-6 olarak bildirilmiştir (11). Hamilelik, ameliyat, oral kontraseptif kullanımı gibi nedenler bu vakalarda tromboembolizm riskini daha çok artırmaktadır (43). Protein C ve protein S antikoagülan etkisi olan ve K vitaminine bağımlı plazma proteinleridir (40). PC, antikoagülan etkisini aktive faktör V ve VIII'i parçalayarak gösterir. Doku plazminojen aktivatör inhibitör 1 (PAI-1)'i de nötralize ederek profibrinolitik etki gösterir. Hemostazın düzenlenmesinde önemli rol alır. PC ve PS'nin konjenital eksikliği tekrarlayan venöz trombotik epizodlara neden olur (40). PS, asıl olarak karaciğerde K vitaminine bağlı olarak sentez edilir. Az miktarda trombositler ve endotel hücreleri tarafından da sentez edilir. Kendi başına enzim aktivitesine sahip olmayıp, aktive protein C'nin aktivasyon hızını artıran bir kofaktör olarak görev alır (40). Lupus antikoagülanı (LA) ve antikardiolipin (aCL), antifosfolipid antikorları (AFA) olup, iskemik inme ile bu antikorlar arasında anlamlı ilişki bulunmuştur (16,42.). 50 yaş altında idiopatik tromboembolizmi, multipl düşükleri olan, venöz veya arteriyel trombus geçiren, livedo retikularisli, SLE tanısı alabilecek hastalarda antikardiolipin ve lupus antikoagülan antikorları araştırılmalıdır (16,42). Antifosfolipid sendromunda, antifosfolipid antikorları fosfolipidlere bağlanarak serebral venöz ve arteriyel tromboza yol açarlar. Bu antikorlar IgG, IgM, IgA izotipinde olabilirler ve SLE'de görüldüğü gibi bağımsız olarak da görülebilirler. Antikorların anormal fonksiyonları bilinmemektedir. Ancak vasküler endotelin PC ve PS aracılı normal fonksiyonunu bozarak etkili olabileceği düşünülmektedir (16,42). Geçici iskemik atak, inme, retinal arter tıkanmaları ve tekrarlayıcı fetal düşüklere neden olabilir. Genç inmeli olgularda inme tekrarının normal gruba göre 8 kat artmış olduğu görülmüştür (42). AFA'nın prevalansı sağlıklı kişilerde %0-2 arasında olup, genç iskemik hastalarda bu oran daha da yüksektir (16).

Faktör V Leiden mutasyonu, bilinen en yaygın ailevi trombotik hastalıktır. FV mutasyonlu hastaların çoğunda serebral venöz tromboz görülmekle birlikte serebral arteriyel tromboz da görülür. Aktive protein C rezistansının genetiği, FV'deki nokta mutasyonudur. Bu mutasyon APC'nin prokoagülan FV'i kesip inaktive ettiği noktada olur. Mutasyona uğramış FV'in prokoagülan özelliği devam ederek tromboz için bir risk oluşturur (18,19).

### **2.2.3.Genç İnmede Tanı Yöntemleri**

İskemik inme şüphesi olan genç hastaların hepsinde kraniyal BT, EKG, transtorakal ekokardiyografi, tam kan sayımı, kan şekeri ve elektrolitler, karaciğer fonksiyon testleri, kan üre ve kreatinin, PT, aPTT ve sedimentasyon değerlerine bakılmalıdır (3,8). Ekstrakranial ve intrakranial Doppler USG iskemik inmeli her hastada uygulanabilir. MRG'ye, BT'in yetersiz kaldığı durumlarda başvurulabilir. Kardiyembolik inme düşünülen hastalarda transözofajial ekokardiyografinin, emboli odağının gösterilmesinde transtorakal ekokardiyografiye üstünlüğü vardır. Yeni seçilmiş vakalarda 24 saatlik Holter monitorizasyonu yapılmalıdır. İntrakranial MRA, intrakranial dolaşımı göstermede her zaman yeterli olmayabilir. Konvansiyonel anjiyografi, genellikle her hastaya yapılmalıdır. Ancak tipik migren ya da non-arteriyel etyolojilere bağlı inmelerde yapılmayabilir. Başlangıçta yapılan tarama testlerinde orak hücreli anemi, polisitemi gibi nedenler yoksa, iskemik inmenin nedeni bulunamamışsa, hastada rekürren inme varsa, inme lokalizasyonu nadir görülen bir lokalizasyondaysa, hastalar konjenital ve akkiz koagülopati nedenleri yönünden araştırılmalıdır. Bu nedenle PC, PS, antitrombin III, lupus antikoagülanı, antifosfolipid antikoru, fibrinojen, fibrin yıkım ürünleri ve D-dimer gibi ileri hematolojik incelemeler yapılmalıdır. İnmenin ateroskleroza bağlı olduğu düşünülürse lipid anormallikleri de araştırılmalıdır. Hastada

kolesterol, HDL, LDL ve trigliseridler incelenmelidir. SSS infeksiyonu veya beyin damarlarına ait vaskülitik süreçleri araştırmak üzere BOS incelenmesi yapılmalıdır. İnme için risk faktörü olduğu düşünölen homosisteinemiyi araştırmak için, sistasyon beta sentaz aktivitesine bakılmalıdır (3,8,11,13,14).

#### **2.2.4.Genç İnmede Tedavi ve Prognoz**

İskemik inme nedeninin belirlenmesi tedavi seçeneklerini de belirler. Bir damarın tromboembolik mekanizmayla tıkanması iskemik inmeye yol açan en önemli nedendir. Bu amaçla trombolitik, antikoagölan, antiplatelet tedaviler uygulanabilir (3). Trombolitik tedavi, doku plazminojen aktivatörü ile intravenöz yolla yapılır. İskemik inmenin ilk 3 saatinde uygulanırsa prognozda iyileşmeye yol açar. Ancak bu tedavinin erken döneminde intrakranial hemoraji riski vardır ve bu oran %8-10 olarak bildirilmektedir (3,8).

İskemik inmeli hastada inmenin akut döneminde heparin veya düşük moleköl ağırlıklı heparinle antikoagölan tedavinin yararı kesin değildir. Hatta serebral ve sistemik kanama riskini artırarak prognozu daha da kötüleştirir (14). Akut iskemik inmede aspirin tedavisinin etkinliği gösterilmiştir. Herhangi bir kontrendikasyon yoksa ilk 48 saat içerisinde 160-300 mg dozu uygulandığında küçük de olsa anlamlı bir yarar sağlar (38). Akut iskemik inmede cerrahi tedavi endikasyonları çok sınırlıdır. Geniş serebellar enfarktler beyin sapına bası yaparak ölüme yol açarlar. Bu tip enfarktlarda arka çukur dekompresyon cerrahisi hayat kurtarıcı olabilir. İskemik inme geçiren hastayı ikinci bir inmeden korumada aterotrombotik inme için antiplatelet tedavi, kardiyembolik inmede antikoagölan tedavi, ekstrakranial karotis hastalığında ise cerrahi tedavi, yararı kanıtlanmış tedavi yöntemleridir (3,5,8,14). Karotis cerrahisine uygun vakalar dışında kalan aterotrombotik inmeli hasta grubunda antiplatelet tedavi

olarak aspirin, klopidogrel, tiklopidin ve aspirin-dipridamol kombinasyonundan biri seçilebilir (38). İskemik inme geçiren hastalarda uzun süreli oral antikoagülan kullanımının hastayı yeni bir inmeden koruduğu sadece non valvüler atriyal fibrilasyona bağlı kardiyembolik inme geçiren hastalarda gösterilmiştir. Kanama riski bakımından hasta grubunun iyi seçilmesi ve tedavi süresince INR değerinin 2.0-3.0 arasında tutulması gerekir. Kalbinde yüksek riskli emboli kaynağı (protez kapak, romatizmal mitral stenoz, taze miyokard infarktüsü, akinetik segment, dilate kardiyomiopati) olan ve kardiyembolik inme geçiren hastalarda da koruyucu olarak antikoagülan tedavi uygulanır (5,14,38).

Karotis endarterektomisi, karotis alanına ait iskemik atak veya hafif sekellerle düzelen inme geçiren hastaları yeni bir inmeden koruyan cerrahi tedavi yöntemidir. Semptomatik karotis hastalığı olan hastalarda Kuzey Amerika çalışmasında kullanılan ölçme yöntemi ile %50'nin üzerinde darlık saptanan hastaların cerrahiden yararlandıkları görülmüştür. Asemptomatik %60'ın üzerinde karotis darlığı saptanan hastaların da endarterektomiden yararlandığı görülmüştür. Son yıllarda karotis endarterektomisine uygun olan hastalarda endovasküler tedavi (balon anjioplasti veya stent) ile endarterektomiye karşılaştıran çalışmalar yürütülmektedir. Cerrahi olarak ulaşılamayan (a. basilaris, a. cerebri media gibi) intrakraniyal aterosklerotik darlıklara da endovasküler tedavi yöntemleri uygulanmaktadır (38).

İskemik inmede damarsal risk faktörlerinin kontrol altına alınması tedavinin diğer önemli bir parçasıdır. Hipertansiyon en sık ve tedavi edilebilir risk faktörüdür. Yine hiperlipidemi ve diabetes mellitus ilaç tedavisi mümkün olan diğer risk faktörleridir. Sigara, alkol kullanımı, beslenme ve fiziksel aktivite gibi hastaların yaşam tarzıyla ilgili risk faktörleri de önemli olup onlara yönelik önlemler alınmalıdır (3,14,38).



Prognoz altta yatan etiyolojik nedene bağlıdır. Uzun süreli prognozda risk faktörlerinin bulunup bulunamaması da seyri etkiler. İnmenin akut döneminde etiyoloji hesaba katılmaksızın genel popülasyonda mortalitesi yüksektir (3). Ölüm oranı intraserebral kanamada fazlayken, serebral infarktta daha azdır. Yapılan değişik çalışmalarda akut dönemde ölüm oranı genç hastalarda %1.5-7,3 arasında bulunmuştur (14). Yakın tarihli GİA hastalarının da dahil edildiği bir çalışmada ilk 1 ay için ölüm riski % 2.1 olarak bulunmuştur. Bu oran farklı serilerde %2.6-12 arasında değişmektedir (38). İskemik inmeli genç hastalarda, akut dönem geçtikten sonra ilk günlerden itibaren nörolojik disfonksiyonda düzelme başlar. Düzelme ne kadar erken ve hızlı başlarsa o kadar tam ya da tama yakın olacaktır. Hastaların büyük çoğunluğunda düzelme sonrası daha önceki iş ve aktivitelerine geri dönmelerinden dolayı, takip çalışmalarının çoğu yetersiz kalmaktadır ( 3,14,38).

## **2.3. PIHTILAŞMANIN FİZYOLOJİSİ**

### **2.3.1. Trombofilinin Nedenleri**

Doğal pıhtılaşma inhibitörlerinde ve fibrinolitik sistemde rol oynayan proteinlerin eksikliğinde veya işlevsel bozukluğunda, tromboz oluşumunun kolaylaştığı bilinmektedir (43,44). Tromboz oluşumunu kolaylaştıran klinik durumlar ikiye ayrılır. Birincisi, genç yaşta ortaya çıkan ve herediter geçiş gösteren primer (kalıtsal) trombofil durumları, ikincisi ise her yaş grubunda ortaya çıkabilen bazı risk faktörlerinin tromboz oluşumunu kolaylaştırdığı sekonder (edinsel) trombofil durumlarıdır. Tablo 1 ve 2’de sırasıyla toplumda belli bir sıklığa ulaşabilen primer trombofil nedenleri ve nadir rastlanan primer trombofil nedenleri (45-51), tablo 3’te ise sekonder trombofil nedenleri gösterilmiştir (45,51,52,53). Patoloji, antitrombotik plazma proteinleri ve

fibrinolitik moleküllerle ilgili ise primer trombofilik durum; trombozun nedeni iyi açıklanamıyorsa, kompleks hemostatik anormallikleri içeriyor ve multifaktöriyel ise sekonder trombofilik durum söz konusudur.

Kalıtsal trombofili;

- 1- 40-45 yaşından önce ve nedeni açıklanamayan tromboembolizm atakları olanlarda,
- 2- Alışılmadık bölgelerde (serebral, üst ekstremiteler, batin içi damar) tromboz gelişenlerde
- 3- Tekrarlayıcı, gezici veya yoğun tromboz öyküsü saptananlarda
- 4- “Warfarine” bağlı deri nekrozu öyküsü olanlarda
- 5- Neonatal tromboz öyküsü olanlarda düşünülmelidir (45,47,48).

**Tablo-1: Toplumda belli bir sıklığa ulaşabilen primer trombofili nedenleri**

Bozukluk	Toplumdaki sıklığı (%)	Trombozlu hastalarda sıklığı (%)
Antitrombin eksikliği	0.02	1
Protein C eksikliği	0.2	3
Protein S eksikliği	0.1	1-2
APC direnci/FV Leiden mutasyonu	3-6	20
Hiperhomosisteinemi	5-10	10-25
Protrombin 20210 alleli	1-2	6
F VIII yüksekliği	11	25

**Tablo-2: Nadir rastlanan primer trombofili nedenleri**

Disfibrinojenemi
Hipo-displazminojenemi
Heparin kofaktör II eksikliği
Histidinden yüksek glikoprotein eksikliği veya yüksekliği
F VII eksikliği
Doku plazminojen aktivatör eksikliği
Trombomodulin gen mutasyonları
Plazminojen aktivatör inhibitör düzeyi yüksekliği

**Tablo- 3: Sekonder trombofili nedenleri**

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

Venöz trombüs, kan akımının yavaşladığı veya türbülant olduğu büyük venlerde ve sinüslerde, çoğunluğu fibrin ve eritrositlerden, daha az oranda lökosit ve trombositlerden oluşan kırmızı trombüsler şeklinde meydana gelmektedir. Arteriyel sistemde oluşan ve beyaz trombüs adı verilen pıhtılar, asıl olarak fibrin lifleri ve trombosit içerir. Trombüsün oluşumu, gelişimi ve dağılması trombojenik uyarılarla,

koruyucu mekanizmalar arasındaki dengelere bağlıdır. Venöz tromboemboli oluşumunda, staz ve hiperkoagulabilite birlikteliğinin daha etkili olduğu, fakat staz ve endotel zedelenmesi birlikteliğinin daha az etkili olduğu deneysel olarak gösterilmiştir (52,54). Venöz trombozda bölgesel olarak damar içi uyarılarla pıhtılaşma başlamakta, var olan staz aktifleşmiş pıhtılaşma proteinlerinin o bölgeden temizlenmesini engellemekte ve akımın türbülant olmasını sağlamaktadır. Doku zedelenmesi ile birlikte, interlökin 1 (IL-1), tümör nekrozis faktör (TNF) ve endotoksinler, endotelden kaynaklanan plazminojen aktivatör inhibitörü 1 (PAI-1) ve endotelial doku faktörü sentezini ve salınımını artırır. Sonuçta tromboz oluşumu kolaylaşır (2).

İnsan vücudu bir taraftan kanamayı önlemek için hemostaz mekanizmalarının oluştururken, diğer taraftan da dolaşım devamlılığı ve kan akışkanlığını koruyabilmek amacıyla çok sayıda fizyolojik, antitrombotik mekanizmaları harekete geçirir. Tromboz oluşumunun önlenmesinde etkili olan antitrombotik mekanizmaların düzenlenmesi “doğal inhibitörler” adı verilen proteinler ile sağlanır (50).

Bilinen doğal inhibitörler etki mekanizmalarına göre 3 gruba ayrılır (51,52):

- 1) Antitrombin sistemi
- 2) Doku faktörü yolu inhibitörü
- 3) Trombomodulin-protein C-protein S sistemi

Koagulasyon sisteminin bütün önemli basamaklarını kontrol altında tutacak şekilde etki göstererek dolaşımında fibrin oluşumunu ve depolanmasının sınırlandırmaya ve durdurmaya çalışan antitrombotik mekanizmalar Şekil 1 de özetlenmiştir (53).



tanımlanmıştır. Homozigot şekli hayatla bağdaşmaz. Antitrombin III eksikliğinde venöz tromboemboli riski artar (56,57,59-61). Yıllık prevalansı yaklaşık 1/2000-5000'dir. İlk kez Egeberk 1965 yılında ailesel tromboz hikayesi olan Norveç'li bir ailede, AT III aktivitesini normalin %40-50 si olarak bulmuştur (62).

Genel popülasyonda AT III eksiklik prevalansı yaklaşık 1/250-5000 olarak bildirilmiştir (63-65). Antitrombin III eksikliği saptanan bireylerin yaklaşık %65'i, en az bir kez venöz trombotik bir atak geçirirler. Atak, genellikle 10 yaşından sonra olmakla birlikte, risk yaşı, yaşlanmayla artar (63). İlk tromboz atağında vakaların % 58'inde gebelik, travma, cerrahi müdahale, oral kontraseptif kullanımı gibi bilinen risk faktörlerinden biri saptanırken, % 42 vakada kolaylaştırıcı bir risk faktörü tespit edilemez. Tekrarlayıcı tromboz ataklarına % 60'ında rastlanırken, pulmoner emboli yaklaşık % 40'ında görülür (62). Kalıtsal AT III eksikliği iki ana gruba ayrılmaktadır;

Tip I eksiklik: AT III molekülü biyolojik olarak az miktarda sentezlenir. Miktar azlığına bağlı olarak fonksiyonel aktivitesi de düşüktür.

Tip II eksiklik: Genin bazı özel bölgelerindeki defekt sonucu varyant AT III molekülü oluşur. AT III miktar olarak normaldir, ancak fonksiyonu bozuktur (62). Bunun da 3 tipi vardır:

Tip II Reaktif Site: AT III'ün 'reaktif site' defekti.

Tip II Heparin Binding Site: 'Heparin binding site' defekti.

Tip II Pleiotropic Effect: 'Pleiotropic effect'. Multipl fonksiyonel defekt.

Akut tromboz, karaciğer parankim hastalığı, nefrotik sendrom, östrojen tedavisi ve heparin tedavisi gibi durumlarda edinsel olarak AT III eksikliği görülebilmektedir (62).

**Heparin kofaktör II (HC-II):** Molekül ağırlığı 64.000 dalton olan bir glikoproteindir. Trombin ve kimotripsini inhibe eden HC-II'nin , AT III'ün aksine, FXa,

FXIa, FIXa ve plazmin üzerine önemli etkisi yoktur. Heparin kofaktör II'nin inhibitör etkisi heparin, dermatan sülfat, dekstran sülfat ve diğer sülfatlı polisakkaritler varlığında artar. Nadir rastlanan kalıtsal HC-II eksikliğinin geçiş şekli otozomal dominanttır. HC-II eksikliğinin trombozla ilişkisi kesin değildir. Klinik tablo arteriyel ya da venöz trombozdan, semptomsuz HC-II eksikliğine kadar uzanan geniş bir spektruma dağılmıştır (53,66).

***Doku faktörü yolu inhibitörü (DFYİ):*** Son yıllarda, daha önceleri lipoproteinle ilişkili pıhtılaşma faktörü (lipoprotein- associated coagulation inhibitör) olarak bilinen, DFYI (tissue factor pathway inhibitör: TFPI) adında yeni bir inhibitör protein olduğu saptanmıştır (53). Plazma lipoprotein fraksiyonunda yer alan DFYİ, endotel yüzeyine bağlanır. Heparin, endotelden DFYİ salınımına neden olur. Doku faktörü yolu inhibitörü, asıl görevi olan DF/FVIIa kompleksini inaktive edebilmek için önce FXa'ya bağlanmalıdır. Doku faktörü yolu inhibitörünün FXa'ya bağlanması sırasında FXa da inaktive olur. Antitrombin III, PC ve PS eksikliğinde tromboz geliştiği kesin olarak bilinmektedir, ancak şimdiye dek DFYİ eksikliği ve trombozu olan hasta tanımlanmamıştır. Bu nedenle klinik önemi bilinmemektedir (66,67).

### **2.3.3.Trombomodulin-Protein C-Protein S Sistemi:**

Hemostazın kontrolünde heparin-AT III sisteminden sonra, ikinci zimojen protein sistemi, Protein C antikoagülasyon yoludur. PC ve etkilerinin varlığı 1960'lı yılların başında bilinirken, elde edilmesi ancak 1976 yılında Stenflo tarafından gerçekleştirilmiştir (62). 1961'de Seegers ve Ulutin "Autoprothrombin IIa" adıyla ilk kez insandan elde etmişlerdir (68). Daha sonra yapılan çalışmalar sonucunda maddenin PC olduğu anlaşılmıştır. PC eksikliğine bağlı olarak saptanan, kalıtsal tromboz olayı ise ilk kez Griffin tarafından bildirilmiştir (69).

### Protein C:

İnsan Protein C molekülünün yapısını kodlayan gen, 2. kromozom üzerinde (2q13-2q14) ve yaklaşık 11 kilobaz içermektedir. Dokuz ekzonu, 461 aminoasitli bir öncü proteini kodlar. Geriye kalan 91 ekzon, K vitaminine bağlı proteinleri kodlayan genlerin yapısı ile benzerdir. PC'nin yapısı, diğer K vitaminine bağlı proteinlerin yapısı ile benzerlik gösterir. Hafif zincir üzerinde  $Ca^{++}$  iyonu bağlayan G1a kısmı, epidermal büyüme faktörü kısmı (iki kısım) ve ağır zincir üzerinde serin proteaz kısmı olarak tanımlanan üç bölümü vardır. Olgun PC molekülünün yaklaşık %25'i karbonhidrattır. Glikozillenmemiş (N-oligosakkaritlenmemiş) moleküller isimlendirilmiş olup birincisine  $\beta$  protein C, ikincisine  $\gamma$  protein C denilmiştir (68). Protein C nin özellikleri Tablo 4 te verilmiştir.

**Tablo-4: Protein C'nin özellikleri**

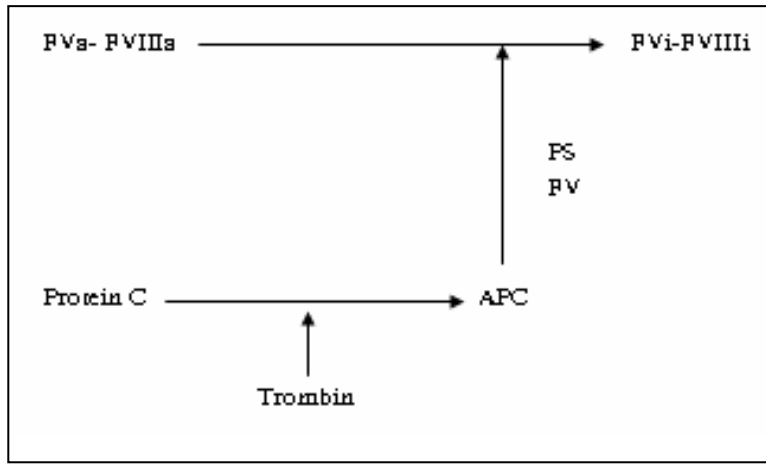
Yapısı	-Sülfidril bağlarla birbirine bağlanan glikoprotein yapısında iki zincirden yapılmıştır. -Moleküler ağırlığı 57000 Da'dur. -Vitamin K'ya bağlı sentezlenir ve 10 adet $\gamma$ -karboksiglutamik asid kökü içerir.
Aktivasyon	-Ağır zincirin N-terminal ucundan parçalanarak aktifleşir. -İnvitro trombin ile aktivasyon yavaştır. -Trombin-trombomodulin kompleksi ile aktivasyon hızlı olup kalsiyum iyonuna gereksinim vardır.
İşlev	-Proteolitik olarak FVa ve FVIIIa'yı parçalar. -Plazminojen aktivatör inhibitörü nötralize ederek trombolizi kolaylaştırır.
Normal konsantrasyon	4.8±1.0 µg/ml veya %100±30 aktivitededir.

PC plazmada 4mg/L konsantrasyonda bulunur ve yarılanma ömrü yaklaşık 10 saattir. Plazma düzeyi cinsine göre değişmekte, ancak yaşla az da olsa önemli ölçüde artmaktadır (dekat başına %4) (62,68). PC nin en önemli aktivatörü trombin olup, invitro ortamda PC- trombin ilişkisi oldukça sınırlı ve yavaş olmaktadır. Esmon ve Owen, bu tepkimenin hızlandırılması için, son derece önemli olan bir endotel faktöre gereksinim olduğunu gösterdiler (70). Trombomodulin adı verilen bu endotel faktörün etkisi ile



tepkime hızı, yani PC'nin uyarılması 20.000 kat artmaktadır.

Trombomodulinin varlığı endotelyal hücre kültürlerinde de gösterilmiş ve kısa zaman sonra da, tavşan akciğer dokusundan elde edilmiştir (70-72). Trombin, trombomoduline bağlandığında prokoagulan özelliğini yitirir ve PC'nin potent bir aktivatörü olur (şekil 2). Aktive protein C antikoagulan etkisini, pıhtılaşma sisteminde önemli kofaktör görevleri olan, FVa ve FVIIIa'yı proteolitik olarak parçalayarak yapmaktadır.



**Şekil-2: Protein C'nin aktivasyonu**

Aktive PC'nin FV ve FVIII'e spesifik bu etkisi için PS ile kompleks oluşturması ve uygun bir fosfolipid yüzey olması gereklidir. FV ve FVIII birbirinin benzeri ve yüksek molekül ağırlıklı glikoproteinlerdir. Faktör V ve FVIII'in uyarılması trombin ile olmakta, APC esas olarak FVa ve FVIIIa'yı parçalamakta, fakat inaktif FV ve FVIII'e etki etmemektedir. Faktör Xa ve protrombin de FVa ve FVIII'e bağlanmakta, hatta FXa ile APC FVa-FVIII'ya bağlanmak için bir yarış içinde olmaktadırlar. Faktör Xa, FVa-FVIIIa'yı APC'nin yıkıcı etkisinden korumaktadır (73,74)

APC aynı zamanda fibrinolitik sistem ile de ilişkili olup, fibrinolizisi uyarmaktadır. Plazminojen aktivatör inhibitör (PAI) ile kompleks oluşturup, PAI'nın

fibrinolizisi düzenleyici etkisini ortadan kaldırarak plazmini serbest bırakmaktadır (68,75).

PC karaciğer ve endotelde yapılmaktadır. Yapımın düzenlenmesinde etkili faktörler henüz bilinmemektedir. APC'nin inhibisyonu en az iki sistemle olmaktadır. Birincisi PC inhibitör olarak bilinmekte ve yapısı kallikrein bağlayan proteine oldukça benzemektedir. Molekül ağırlığı 57000 Dalton olup, plazmada yaklaşık % 5 mg/L düzeyinde bulunmaktadır. Heparin, APC ile PC inhibitör arasındaki etkileşme hızını 30 kat arttırmaktadır. PC inhibitör aynı zamanda trombin, FXa, tPA, kallikrein, tripsin ve kimotripsin gibi enzimatik etkileri olan proteinlerin etkilerini de inhibe eder ve bu inhibisyonun hızı heparin ile artar. APC'nin ikinci ana inhibitörü de  $\alpha$ 1-antitripsin, esas olarak heparinin yokluğunda etki etmektedir. Bunun dışında APC ayrıca,  $\alpha$ 2-makroglobulin,  $\alpha$ 2-antiplazmin, elastaz ve katepsin G tarafından da inhibe olmaktadır, fakat bu proteinlerin etkilerinin ve işlevlerinin önemi tam anlaşılabilmiştir (68).

### **Protein C eksikliği:**

İlk kez 1981 yılında Griffin ve ark., PC'nin antijenik yapısı normalin %50'sinin altında bulunan ve tekrarlayıcı tromboz hikayesi olan bir hastada tarif etmişlerdir (63). Ardından birçok araştırmacı, heterozigot PC eksikliğini bildirmiştir (76,77). PC eksikliğinin heterozigot şekli ise otozomal dominant, homozigot şekli ise otozomal resesif geçişlidir. PC eksikliği olan aile bireylerinin yaklaşık %75'i bir veya daha fazla sayıda trombotik atak geçirirler. İlk atak yaklaşık %70 oranında spontan olup, ancak %30'unda uyarıcı bir faktör gösterilebilmiştir. İlk 20 yaş içinde tromboz rastlanma oranı az iken, 50 yaşına doğru tromboz olasılığı artmaktadır. En sık görülme yeri ise alt ekstremitelerde derin venleri, iliofemoral ve mezenterik venlerdir. Bu hastaların yaklaşık %40'ı, akciğer embolisi adaydır. Venöz sistem dışında, arteriyel sistemde de tromboz

görülmektedir (62). Bazı araştırmacılar tarafından iskemik inmede de, heterozigot PC eksikliği olduğu gösterilmiştir (78,79).

Fonksiyonel testlerde PC aktivitesi normalde %70-140 arasındadır. Heterozigot eksiklikte bu aktivite %50'den, homozigotlarda ise %5'ten azdır. Heterozigot PC eksikliği klinik bulgu vermezken, homozigot şekli purpura fulminans denen ağır bir klinik tablo oluşturur.

Protein C eksikliği Tip I (klasik) ve Tip II olmak üzere iki ana gruba ayrılmaktadır (Tablo 5) (47,48,50):

*Tip I PC (klasik tip) eksikliği:* PC plazma düzeyi normalin %50'sinin altına düşmüş olup, fonksiyonel testlerde bozukluk vardır. Genetik bozukluk olarak PC geninde çok sayıda farklı mutasyonlar saptanmıştır. Ayrıca bu genetik bozukluklara ek olarak promotor mutasyon, çerçeve kayması delesyonu ve insersiyonu görülebilmektedir.

*Tip II PC eksikliği:* PC düzeyi normaldir, ancak fonksiyonu bozuktur. Yaklaşık 22 adet nokta mutasyonuna bağlı tip II PC eksikliği bildirilmiştir (62).

Venöz tromboembolisi olan hastaların %2-5'inde PC eksikliği saptanmıştır. Bu prevalans genç ve tekrarlayan vakalarda %10-15'e kadar çıkmaktadır (62). Genel toplumda sıklığı 200-300'de bir olarak bildirilmiştir.

Edinsel PC eksikliği nedenleri tablo 5'te özetlenmiştir (45,47,80,81).

### **Protein S:**

İlk kez 1977'de bulunan PS, molekül ağırlığı 70.000 Dalton olan sentezi K vitaminine bağımlı bir plazma glikoproteinidir. Karaciğerde, endotel hücrelerinde, megakaryositlerde ve testis Leydig hücrelerinde sentezlenir. Plazma konsantrasyonu 25 µg/ml'dir. Serbest PS, APC'nin FVa ve FVIIIa'nın inaktivasyonunda kofaktördür. PS,

normalde plazmada ve trombositlerin  $\alpha$ -granüllerinde bulunur. Plazma PS miktarının yaklaşık %40-50'si C4b-bağlayıcı protein (C4b-BP)'e bağlı, %50-60'ı serbesttir. Aktif olan kısmı, serbest PS'dir, bu kısım C4b-BP'ye bağlı kısımla denge halindedir. PS'nin kendisi de tenaz ve trombinaz komplekslerini inhibe edebilir, bu reaksiyon APC'den bağımsızdır. PS aktivitesinin %30'dan az olması konjenital eksiklik lehine değerlendirilmektedir. Geni 3. kromozomdadır. (3p11.1-3p11.2). (62,72).

### **Protein S eksikliği:**

İlk kez 1984 yılında Comp ve Schwartz tarafından birbirinden farklı zamanlarda tarif edilmiştir (83,84). Homozigot ve heterozigot şekli tanımlanmıştır. Homozigot şekli otozomal resesif geçişli, heterozigot şekli otozomal dominant geçişlidir. Homozigot PS eksikliğinde, PC eksikliğinde olduğu gibi yenidoğan purpura fulminansı gelişebilir. Semptomlar genellikle 30 yaşından önce başlar ve hastanın soy geçmişinde genellikle trombotik bir hastalık öyküsü vardır. Semptomsuz PS eksikliği de olabilir. PS eksikliğine bağlı tromboz bildirilen hastaların büyük bir bölümünün PS düzeyleri normalin %15 ile %37'si arasında değişir ve bunlar heterozigottur (83-85). Aynen PC eksikliğinde olduğu gibi PS eksikliğinde de benzer edinsel tablolar söz konusu olmaktadır (85). 3 tip PS eksikliği tanımlanmıştır (Tablo 5) (47-51).

Tip I : Total ve serbest PS miktarları azalmış olup fonksiyonu bozuktur.

Tip II : Total ve serbest PS miktarları normal olup fonksiyonu bozuktur.

Tip III : Total PS miktarı normal, serbest PS miktarı azalmıştır ve fonksiyonu bozuktur.

Edinsel protein S eksikliği nedenleri tablo 5 te özetlenmiştir (85).

**Tablo-5: Protein C ve protein S eksikliği tipleri, şekilleri ve klinik belirtileri**

Tip	Geçiş Şekli		Nedenler	Klinik Belirtiler
Protein C eksikliği	Kalıtsal	Heterezigot		Venöz tromboembolik hastalık Warfarine bağlı deri nekrozu
		Homozigot		Neonatal purpura fulminans Venöz tromboembolik hastalık
	Edinsel		Kc hastalığı, üremi, DİC, şok akciğeri, solid tümörler	
Protein S eksikliği	Kalıtsal	Heterezigot		Venöz veya arteriyel hastalık
		Homozigot		Venöz tromboembolik hastalık
	Edinsel		Kc hastalığı, DİC, nefrotik sendrom, gebelik, akut trombotik olay sonrası, SLE	Venöz tromboembolik hastalık

**Kc: Karaciğer DİC: yaygın damar içi pıhtılaşma SLE:Sistemik Lupus Eritematozis**

#### 2.4. FAKTÖR V GEN MUTASYONU

Faktör V, molekül ağırlığı yaklaşık 330.000 Da olan tek zincirli bir glikoproteindir. Yapısında A1, A2 ve B olmak üzere 3 önemli alt birimi vardır. Bunlar içerisinde koagülasyondaki aktiviteden sorumlu olan B alt birimidir. B alt birimi ağır (150.000Da) ve hafif (4.000 Da) zincirlerden oluşmaktadır. Plazmadaki konsantrasyonu 4-10 ng/ml olup % 80'ni serbest halde bulunurken % 20'si trombositlerde bulunmaktadır. Trombositlerdeki FV seviyesi ve fonksiyonu hem normal hem de anormal hemostazda önemli rol oynamaktadır. Megakaryositler ve lökositler tarafından üretilen FV endotel hücreleri, trombositler ve monositlerin yüzeylerinde de bulunmaktadır. FV kan koagülasyon proteinlerinden en önemlilerinden biridir. Trombin tarafından aktiflenir ve oluşan aktif FV (faktör Va) N-terminal kısmı 105 kDa, C-terminal kısmı ise 74kDa olan heterodimerik bir yapıdadır. Her iki alt birim  $Ca^{++}$

iyonuyla nonkovalent olarak bir arada tutulur. Kendisi APC'nin kofaktörü olarak fonksiyon görür. APC, faktör Va ve faktör VIIIa'yı inaktive ederek kanın pıhtılaşmasını engelleyen bir serin proteaz enzimidir (110-118).

#### **2.4.1.Faktör V Gen Mutasyonları**

İnsan Faktör V geni 1.kromozomunda (1q21-25) yer alır ve 25 ekzona sahiptir. İnsan ve fare Faktör V geni üzerinde yapılan çalışmalar sonucunda değişik mutasyonlar belirlenmiştir. Bunlar içerisinde trombofiliyle en sık ilişkili olanlar Faktör V ( G1691A) ve Faktör V ( H1299R) mutasyonlarıdır. Her iki mutasyon da aktive edilmiş protein C rezistansı ile ilişkili olarak tromboza eğilimi arttırmaktadır(100,101,116-118).

##### ***Faktör V geni G1691A (Faktör V Leiden) Mutasyonu***

İlk defa 1947 yılında Owren ve ark. faktör V geninde meydana gelen genetik defektin tromboza meyili arttırdığını belirtmişler ve buna parahemofili adını vermişlerdir (110). Daha sonra 1993 yılında Dahlback ve ark.nın FV geninde meydana gelen genetik defektin aktive edilmiş protein C rezistansına yol açarak tromboza meyili arttırdığını belirtmişlerdir (111). FV geninin 1691'inci nükleotidinde **arginin** yerine **glutamin** gelmesi ile bir nokta mutasyon oluşmaktadır ve oluşan ürüne Faktör V Leiden (FVL) veya faktör V G1691A denilmektedir (112). FVL mutasyonu veya APC rezistansı kalıtsal trombofilinin en sık nedenidir. APC direnci başlangıçta, aPTT testinde hasta plazmalarına APC konmasına rağmen antikoagulan yanıtın kötü olduğunun saptanması ile gösterilmiştir. PC hemostazın düzenlenmesinde anahtar unsur olup plazmada inaktif prekürsör olarak dolaşır. Trombinin vasküler endotel hücreler üzerindeki trombomoduline bağlanması ile süratle APC'ye dönüşür. APC oluşur oluşmaz

koagulasyon kaskadında FVa ve FVIIIa'yı yıkım ile inaktive eder. Böylece FX'un, FXa'ya ve protrombinin trombine dönüşümü engellenmiş olur. APC'ye azalmış cevap, FVL mutasyonundan bağımsız olarak da nonfatal inme ve geçici iskemik atak için artmış risk ile ilişkilidir (103-110). FVL mutasyonu otozomal dominant kalıtım gösterir. Venöz tromboz riski heterozigotlarda normal popülasyondakinin 5-10, homozigotlarda ise 50-100 katına ulaşmaktadır (111-117). Bu mutasyonunun sıklığı ülkeler ve toplumlar arasında farklılık oluşturmakla birlikte genel olarak %5-7 arasında değişmektedir. Türk popülasyonunda FVL (FV G1691A) mutasyonu en sık mutasyonlardan biri olarak bildirilmiştir ve sıklığı %7.1-10.4 arasında verilmiştir.(116).

Homozigot FVL mutasyon prevalansı % 0.02-0.12 arasında olduğu hesaplanmıştır. Homozigot FVL mutasyonuna sahip hastalarda tromboz görülme riski heterozigotlardan daha fazladır. FVL mutasyonuna sahip heterozigot hastalarda tromboz riski sağlıklı bireylere göre 7, homozigotlarda ise 80 kat daha fazladır (116-118). Bununla birlikte kardiyovasküler sağlık çalışmasının erişkinler üzerinde yapmış olduğu inceleme sonucunda FVL mutasyonunun tek başına inme, TIA, miyokard infarktüsü veya anjina gibi koroner kalp hastalıkları için bir risk faktörü oluşturmadığını bildirmişlerdir(113-115). Longstreth ve ark. 45 yaş altındaki genç iskemik inmeli bayanlarda ( hasta sayısı 106, kontrol sayısı 391) yapmış oldukları çalışma sonucunda FVL mutasyon oranını hasta grubunda %0.9, kontrol grubunda % 4.1 olarak bulmuşlardır (105). 704 sağlıklı erkek kontrolle, 209 inme geçiren erkek hastaların (yaş aralığı 40-84) sonuçlarını karşılaştıran Ridker ve ark. inme riski ve FVL mutasyonu arasında bir ilişki bulamamışlardır(106). İnmeli hastalarda FVL heterozigot mutasyon oranını % 4.3 olarak tespit etmişlerdir (106). FVL, pediatrik inme riskinde hemen hemen 5 kat artışla ilişkili bulunmuştur. Bununla birlikte Bonduel ve ark. Arjantinde pediatrik iskemik inmeli ve serebral venöz trombozlu 67 hasta ve 102 sağlıklı çocuklar

üzerinde yapmış oldukları çok merkezli prospektif çalışma sonucunda hem FVL hem de protrombin G20210A mutasyonunun risk oluşturmadığını bildirmişlerdir.

### ***Faktör V geni H1299A Mutasyonu***

Faktör V H1299A gen mutasyonu tüm dünyada etnik gruplar arasında farklılıklar arz etmekle birlikte prevalansının % 9.5-15.2 gibi yüksek oranda olduğu bildirilmiştir. Bununla birlikte tromboemboliyle olan ilişkisi FVL mutasyonuna göre daha azdır. Lew ve ark. Çinde yapmış oldukları çalışma sonucunda (141 koroner arter hastalığı, 175 kontrol) H1299A mutasyonunun risk oluşturmadığını belirtmişlerdir. Bu çalışmada FV geninde yeni bir mutasyonun (R458K) hasta grubunda yüksek çıktığını görmüşlerdir. Faktör V H1299A gen mutasyonu ile ilgili gebelikle ilişkili venöz tromboemboli, koroner arter hastalığı ile ilişkilendirilmiş çalışmalar olsa da inmedeki rolüne yönelik bir çalışmaya rastlanılmamıştır (112-117).

#### **2.4.2. Faktör V Eksikliğinin Klinik Sınıflandırılması**

Faktör V eksikliği trombotik bozukluklara yol açabildiği gibi hemorajik durumlara da yol açmaktadır (116-118):

##### **A.Hemorajik Durumlar**

- \*Homozigot Faktör V eksikliği
- \*Heterozigot Faktör V eksikliği
- \*Kombine faktör V ve faktör VIII eksikliği, tip 1 ve tip 2
- \*Faktör V eksikliğinin yol açtığı diğer durumlar (örneğin, kombine hemofili ve APC rezistansı)
- \*Trombosit kökenli faktör V eksikliği



## **B. Trombotik Durumlar**

\*Homozigot APC rezistansı

\*Heterozigot APC rezistansı

\*Heterozigot faktör V eksikliği ve heterozigot APC rezistansının kombinasyonu

\*Diğer trombotik kombinasyon bzk. (APC rezistansı ve plazminojen eksikliğinin kombinasyonu)

### **2.5. MTHFR GEN MUTASYONU**

Hiperhomosisteinemi; serebrovasküler, periferik vasküler, koroner kalp hastalığı ve tromboz için bilinen bir risk faktörüdür. Yüksek homosistein düzeylerinin direkt olarak endotele toksik olduğu, tromboembolizmi uyardığı ve erişkinlerde inme ve serebrovasküler hastalık için bir risk faktörü olduğu bildirilmiştir (94). Hiperhomosisteineminin ateroskleroz, venöz ve arteriyel tromboza nasıl yol açtığı bilinmemektedir. Ancak endotel hasarı, koagulasyon kaskadının aktivasyonu, trombosit adezivitesinin artışı ve LDL-kolesterolün proaterojenik yoğun küçük parçalara ayrılmasına yol açarak bu olayların geliştiği düşünülmektedir. Hiperhomosisteinemi normal populasyonun % 5-10'unda görülür (94-97). Hiperhomosisteinemili bir hastada venöz tromboembolizm gelişme riski rölatif olarak iki-üç kat artmıştır (98).

Homosistein, sisteine de dönüşebilen ve metioninden sentezlenen bir aminoasiddir. Bu metabolik yolların normal işleyebilmesi için vitamin B12, B6, folik asite ihtiyaç vardır. Metilen tetrahidrofolat redüktaz (MTHFR), metilen tetrahidrofolat dehidrogenaz (MTHFD), metionin sentaz (MS), metionin sentaz redüktaz (MTRR) homosistein metabolizmasında rol oynayan enzimlerdir (94-99). Bu enzim aktivitelerinin eksikliği hiperhomosisteinemi ve homosistinüri ile sonuçlanır. Ayrıca

vitamin B12, B6 ve folik asit eksikliği homosistein metabolizmasını etkileyerek, sirküle olan plazma düzeylerini artırır.

### **2.5.1.MTHFR Enziminin Yapısı ve Görevi**

5,10-metilentetrahidrofolat redüktaz enzimi (MTHFR), folat metabolizmasında görevli önemli bir enzim olup 656 aminoasitten oluşan flavoproteindir. Enzim sitoplazmik bir protein olup, iki altbirimden oluşan homodimer yapıdadır. 70 kDa'luk küçük alt birimlere sahip izoform karaciğerden, 77kDa'luk büyük alt birimlere sahip izoform ise diğer dokulardan purifiye edilmiştir. Memeli enzimi kendisine nonkovalent olarak bağlı FAD (Flavin Adenozin Dinükleotit) koenzimi içerir. Bu koenzim, NADPH'ın metilentetrahidrofolata transferini sağlar (94-98). MTHFR enzimi, homosisteinin remetilasyon döngüsünde görev yapar. MTHFR enzimi, 5-10 MTHF'ı geri dönüşümsüz olarak 5 MTHF'ye dönüştürür. 5 MTHF; DNA metilasyonu ve metiyonin sentezi için metil grubu sağlar. Bunun için 5 MTHF, metil grubunu vererek homosisteinin dönüşümünde rol oynar. 5-10 MTHF ise deoksiüridilatın timidilata dönüşümünde kullanılırken bir taraftan da pürin sentezi için 10-formil THF'ye okside olmaktadır. MTHFR geninde meydana gelen bir mutasyon (en yaygın olanı C677T mutasyonu) enzim aktivitesini azaltmaktadır (97). Azalan MTHFR aktivitesi sonucunda 5 MTHF düzeyi azalmakta, 5-10 MTHF miktarı ile plazma homosistein düzeyi artmaktadır. MTHFR enziminin eksikliği durumunda klinik semptomların geniş bir dağılım gösterdiği anlaşılmaktadır (94-99). Hiperhomosisteinemi ve homosistinürinin ortaya çıktığı ciddi MTHFR eksikliğinde, periferik nöropati, gelişme geriliği, hipotoni, strok, tromboz gibi klinik özellikler görülür (94,96,98).

## 2.5.2.MTHFR Gen Mutasyonları

İnsan MTHFR geni kromozom 1p36.3'de yer alır ve bu genin N-terminal ucunun yapısı tamamen açıklanamamıştır (94-98). İnsan ve fare MTHFR geni üzerinde yapılan çalışmalar sonucunda MTHFR geninde 15 farklı mutasyon belirlenmiştir (96). Bunlar içerisinde en iyi bilinenleri MTHFR C677T ve MTHFR A1298C mutasyonlarıdır.

### *MTHFR geni C677T Mutasyonu*

Homosistein düzeylerinin artışına yol açan MTHFR'nin termolabil formunun senteziyle sonuçlanan, enzimin katalitik bölgesinde alanin-valin değişiminden sorumlu, MTHFR geninde 677. nükleotidde C-T poliformizmini içeren MTHFR 677 C-T mutasyonu oldukça sıktır. Beyaz ırkın % 60'ı MTHFR allelini taşır ve bunun % 5-15'i homozigottur (95). MTHFR'nin 677 mutasyonunda, CC (Alanin/Alanin) homozigot normal, CT (Alanin/Valin) heterozigot ve TT (Valin/Valin) homozigot mutant genotipler görülmektedir (95-97). MTHFR'nin C677T mutasyonunun, kardiyovasküler hastalıklar, nöral tüp defektleri, inme, Down sendromu, diabetes mellitus, migren, meme ve endometrial kanser gibi hastalıklarda bir risk faktörü olabileceği açıklanmıştır (96-99). Yapılan çeşitli araştırmalarda, MTHFR 677 TT genotipli hastalarda, akut lösemi, kolorektal ve akciğer kanserlerine yakalanma riskinin azaldığı, endometrial kanserlerine ise yakalanma riskinin arttığı ileri sürülmüştür (94,95). MTHFR 677 mutasyonunda, MTHFR aktivitesi, homozigot mutant TT genotipinde, heterozigot CT ve homozigot normal CC genotiplerine göre azalırken, homosistein seviyesi önemli oranda yükselir. MTHFR eksikliğinde, homosisteinden metiyonin oluşumundaki bir bozukluk, organizmayı hem metiyonin (ve S-adenozilmetiyonin) azalmasına hem de homosistein birikiminden doğan toksik etkilere maruz bırakır. Koroner, periferik ya da serebral

vasküler hastalığı olan 190 Hollandalı hastada yapılan araştırmada, 677 CT ya da 677 TT genotipinde 677 CC genotipli bireylere göre MTHFR aktivitesi önemli oranda düşmüş ve homosistein seviyeleri yükselmiştir (94-97). Beslenme alışkanlığı, çevresel farklılıklar ve genetik faktörler homosistein konsantrasyonunu etkiler (95-98). Jee ve ark.'nın bir çalışmasında Japonya'da kardiyovasküler hastalıkların artışı ile 677 CT polimorfizmi arasında bir ilişki olduğu bulunmuştur (96). Yine Morita ve arkadaşlarının 256 strok'lu hasta ve 325 kontrol ile yaptığı bir çalışmada, TT genotipi ile strok arasında önemli derecede ilişki olduğu ileri srlmştir (98). Bu çalışmada plazma homosistein seviyelerinin, CC veya CT genotipli hastalara göre, TT genotipli hastalarda daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Bu mutasyonun pediatrik hastalarda serebrovasküler hastalık oluşumundaki etkisine dair çalışmalar tartışmalı veriler ortaya çıkarmıştır. Akar ve ark., Türkiye'de inmeli 28 pediatrik hastanın sadece ikisinde t-MTHFR homozigot olduğunu ve sıklıkta kontrol bireylerden farklı olmadığını bulmuşlardır (86). Bu çalışmada serebral infarktla FV 1691 A, PT 20210 A ve MTHFR 677 T mutasyonlarının varlığı ile iyi korelasyon olduğu ve 18 yaş altında inme patogenezinde rol oynadıkları gösterilmiştir. Akar ve arkadaşlarının, homosistein metabolizması ile ilişkili sık mutasyonların inmeli Türk ocuklarında rolünü değerlendirmek amacıyla yaptıkları daha güncel bir çalışmada, sadece FV 1691 A ve PT 20210 A mutasyonlarının pediatrik serebral infarkt oluşması için önemli olduğunu ortaya koymuşlardır (86). Homosistein metabolizmasını ilgilendiren enzimlerin genlerindeki MTHFR 677 T, MTHFR 1298 C, MTHFR 66 G ve MTHFD 1958 A'nın hiçbirinin risk faktörü olmadığını göstermişlerdir (86). Prengler ve arkadaşlarının güncel bir çalışması, t-MTHFR alleli homozigotitesinin çocuklarda serebrovasküler hastalık, geçici iskemik atak ve inme için bir risk faktörü olabileceğini düşündürmektedir (94). Nowak-Gttl ve ark. nın çok merkezli olgu-kontrol çalışmasında 30 mg/dl üzerinde lipoprotein a (Lip a) düzeyi, PC eksikliği, FV 1691 A mutasyonu, PT ve MTHFR mutasyonunun çocukluk ağı spontan

iskemik inmede risk faktörleri olduğu gösterilmiştir (107).

### ***MTHFR geni A1298C Mutasyonu***

MTHFR geninde belirlenen başka bir mutasyon da, enzimi kodlayan genin 7. ekzondaki 1298. nükleotid olan A (Adenin)'in  $\rightarrow$  C (Sitozin)'e değişimi sonucu, MTHFR proteinindeki Glutamin'in  $\rightarrow$  Alanin'e değişimine neden olan nokta mutasyondur ve enzimin C-uç regülatör bölgesinde etkilidir (94,95). Bu mutasyonda da diğer mutasyon tipinde olduğu gibi MTHFR aktivitesi azalır. A1298C polimorfizminin, plazma homosistein konsantrasyonundaki artışı MTHFR C677T mutasyonu kadar etkilemediği ileri sürülse de, bu mutasyonun önemi henüz tam olarak açıklanamamıştır (96-98). Nöral tüp kusurlarının gelişmesinde A1298C mutasyonunun ilişkisi yalnızca birkaç çalışmayla açıklanmaya çalışılmıştır (97). Bu çalışmalarda, nöral tüp defektli çocuklarda, bu mutasyonun görülme sıklığının yüksek olduğu açıklanmıştır. Lievers ve ark.1298A C mutasyonunda MTHFR enzim aktivitesinde azalma olduğunu ancak bu durumun homosistein düzeyinde önemli bir etki yapmadığını göstermişlerdir (98). Homosisteinin kardiyovasküler hastalıkların gelişimindeki öneminin yanında 1298A C mutasyonunun da kardiyovasküler hastalıklar için önemli bir risk faktörü olabileceği düşünülmektedir (95-97).

### ***MTHFR A1298C ve C677T Mutasyonlarının Kombinasyonu***

MTHFR A1298C ve C677T mutasyonunun sıklığı popülasyonlara göre ve yaşla birlikte önemli farklılık göstermektedir (97). A1298C ve C677T mutasyonlarının birlikte heterozigot olduğu durumda, MTHFR enzim aktivitesi, her iki allelin normal homozigot olduğu durumdaki enzim aktivitesinin %50-60'ı kadardır. Bu aktivite, C677T mutasyonunun heterozigot bireylerinin enzim aktivitesinden daha düşüktür (95-98). MTHFR 677T/1298C heterozigot durumunun birlikte bulunduğu bireylerde, nöral

tüp defektlerinde önemli bir artış olduğu ileri sürülmüştür (97,98). Buna karşılık 677CC/1298AA homozigot normal bireylerde akut lenfoblastik lösemi (ALL) gelişimi fazla iken, 677CT/1298AC heterozigot bireylerde, akut lösemi gelişiminin daha az görüldüğü bildirilmiştir (95,97). 677CC/1298CC genotipine sahip bireylerde 677CC/1298AA genotipli bireylere göre plazma total homosisteininde azalma olduğu açıklanmıştır. Tek başına 677 homozigot mutasyonlu (TT) genotipine sahip bireylerde de plazma homosisteini önemli düzeyde artmaktadır (95,98). Van Der Put ve ark. yaptıkları bir çalışmada, her iki mutasyon bakımından çift heterozigot olan (A1298C/C677T) bireylerde total plazma homosistein konsantrasyonunun önemli derecede arttığını belirtmişlerdir (17,18). Ülkemizden Dikmen ve ark. 203 iskemik inmeli ve 55 sağlıklı kontrol üzerinde yapmış olduğu çalışmada inme oluşumunda MTHFR C677T ve A1298C mutasyonlarının etkisinin direkt olmadığını ancak inme oluşumunda bir risk faktörü olan homosistein artışına C677T mutasyonunun A1298C mutasyonuna göre etkisinin daha yüksek olduğunu görmüşlerdir (86). A1298C mutasyonu, MTHFR enziminin C-uç regülatör bölgesinde meydana gelmesine karşılık, C677T mutasyonu genin N-uç katalitik bölgesinde meydana gelmekte ve bu nedenle A1298C mutasyonlu bireylerde MTHFR enzim aktivitesindeki azalma C677T mutasyonlu bireylerin enzim aktivitesinden daha az olmaktadır (17,18). Daha önceki çalışmalarda da C677T mutasyonunun MTHFR aktivitesinde önemli bir etkiye sahip olduğu açıklanmıştır. Hem heterozigot 677CT hem de homozigot mutant 677TT genotiplerinde, MTHFR enzim aktivitesi homozigot atasal tip (677CC) genotipe göre önemli derecede düşüktür. 677TT genotipi, termolabil MTHFR enzim özelliğine sahiptir (17,18). 1298AC mutasyonunda azalan enzim aktivitelerine rağmen ısı inkübasyonundan sonra 1298AC genotipleri arasında artan aktivasyon yüzdesinde önemli bir farklılık görülmediği için, bu polimorfizmin enzimin termostabilitesini etkilemediği bildirilmiştir (97). 1298AC polimorfizminde MTHFR aktivitesinde önemli

etkiler görülmesine rağmen ne 1298AC, ne de 1298CC genotipinde artan homosistein düzeylerine rastlanmamıştır. 677CC/1298AC ve 677CC/1298CC genotiplerinde MTHFR aktiviteleri, 677CC/1298AA genotip enzim aktivitesi ile karşılaştırıldığında sırasıyla %60-92 ve %52-66 olarak bulunmuştur (97,98). Heterozigot(677CT/1298AC) genotip durumunda MTHFR aktivitesi ise 677CC/1298AA genotipi ile karşılaştırıldığında, %36-62 olarak bulunmuştur (94,98).

## **2.6.PROTROMBİN G20210A GEN MUTASYONU**

Artmış plazma protrombin düzeyi ile karakterize olan ve 1996 yılında tanımlanan bu mutasyonda nükleotid 20210'da glutamin arjinine değişmiştir. Bu mutasyonun pediatrik yaş grubunda serebral infarkt oluşmasında önemli bir risk faktörü olduğu gösterilmiştir (105). Bu mutasyonun heterozigot formları normal kontrollerde % 2.3 oranında, venöz trombozlu hastalarda ise % 6.2 oranında görülmektedir. Bu bulgu, bu tip hastaların venöz tromboz açısından 2.8 kat fazla risk taşıdıklarını göstermektedir (115). Akar ve ark. ülkemizde bu mutasyonun sağlıklı insanlarda % 2.7, derin ven trombozu olan olgularda ise % 6.25 oranında olduğunu göstermişlerdir (98). İzole protrombin yüksekliği de tromboz riskini artırmaktadır. Protrombin düzeyi % 11.5'tan büyük olduğunda tromboz riski 2.1 kat artmaktadır. Bugüne kadar yapılan araştırmalar PT20210 G-A değişiminin klinik olarak derin ven trombozu, serebral ven trombozu, oral kontraseptiflere bağlı trombüslerde özellikle 40 yaş altı miyokard infarktüslerinde olmak üzere 50 yaş altı grupta mutlaka araştırılması gerekliliğini ortaya koymuştur. Bir çalışmada PT20210 G-A gen mutasyonu heterozigot taşıyıcılığı serebral ven trombozlu hastaların % 20'sinde bildirilmiştir (116). Bu mutasyon arteriyel tromboz riskini de artırmaktadır. Heterozigotlarda prematür iskemik inme 3.8 kat artmaktadır. FVL veya PC veya antitrombin III eksikliği ile birlikte PT20210 G-A mutasyonu varsa venöz

tromboz riski daha da artmaktadır (105,115,116).

## 2.7. PLAZMİNOJEN AKTİVATÖR İNHİBİTÖR 1 (PAI-1) GEN POLİMORFİZMİ

Fibrinolitik (plazminojen) sistem, normal hemostaz ve tromboz gelişimi arasında kilit rol oynar. Fibrinolitik sistem, aktif enzim olan plazmine dönüşebilen, inaktif proenzim plazminojeni içerir. Plazmin, fibrini parçalar ve matriks metalloproteinazları (MMP) aktive eder, böylece ekstrasellüler matriksinin parçalanmasını sağlar. İki adet fizyolojik plazminojen aktivatörü tanımlanmıştır; “doku tipi plazminojen aktivatörü”(tPA) ve “ urokinaz tipi plazminojen aktivatörü”(uPA). t-PA aracılı yol daha çok fibrin hemostazında rol alırken, u-PA aracılı yol endotel ve düz kas hücrelerinin migrasyonu ve dokunun yeniden düzenlenmesinde “remodelling”de rol alır (120-124). PAI-1, serpin sınıfından bir antiproteaz olup, doku tipi plazminojen aktivatörünün hızlı bir inhibitörüdür. Endojen fibrinolitik aktivite, doku tipi plazminojen aktivatörü (t-PA) ile bunun inhibitörü (PAI-1) arasındaki denge ile sağlanır. En çok sentezlendikleri yer karaciğer, vasküler endotel ve aktive olmuş trombositlerdir. Bu faktörler endotele veya fibrine bağlanıp, lokal fibrinolizis ile pıhtı oluşumunu sınırlandırır. Düşük derecede fibrinolizis normal endotel yüzeyinde devamlı olarak işleyen bir süreçtir ve PAI ile antiplazminler aracılığıyla regüle edilmektedir. PAI-1 artışı dengeyi bozar. Sabahın erken saatlerinde t-PA düzeyi düşer, PAI-1 yükselir. Yüksek PAI-1 aktivitesinin MI’lı, inmeli, ve DM’li hastalarda azalmış fibrinolitik aktiviteden sorumlu olduğunu gösteren bilgiler mevcuttur. Bununla birlikte, plazma PAI-1 aktivitesi TG (trigliserit) ile pozitif, HDL ile negatif yönde korelasyon göstermektedir (124-130).

PAI-1 promotor gen polimorfizmiyle ilgili mutasyonların trombotik hastalıklarla ilişkisini gösteren çok sayıda çalışma yapılmıştır. En sık rastlanılan gen



polimorfizmi, PAI-1 geninin başlangıç bölgesinin transkripsiyonundan kaynaklanan tek bazlı çift insersiyon (5G) /delesyon (4G) polimorfizmidir. Bu durumda artmış PAI-1, mesenger RNA ekspresyonu artışı ile sonuçlanmakta ve bu nedenle de dolaşımında PAI-1 protein düzeyleri yükselmektedir (131,132). Başlangıçta değişik çalışmalar, 4G allelinin KAH (Koroner arter hastalığı) için risk faktörü olduğunu öne sürmüşlerdir. Bununla birlikte, çoğu büyük çalışma, bu polimorfizm ile inme arasında ilişki olduğunu açığa çıkarsa da sonuçlar netlik kazanmamıştır (122-125). Catto ve arkadaşları bu konuya işaret eden ilk kişilerdir ve 4G / 5G promotor polimorfizmi ile inme arasında ilişki olmadığını bildirmişlerdir (126). Bir çalışma, genç hastalarda inmeye karşı 4G allelinin koruyucu etkisi olduğunu göstermiştir. Yaşlı bayanlarda yapılan başka bir prospektif çalışmada, 4G/4G homozigotunun 5G/5G homozigotu ile karşılaştırıldığında inme mortalitesinde belirgin azalmış risk saptanmıştır (127-129). Sadece bir çalışmada, Korelilerde 4G aleli ile inme arasında pozitif bir ilişki saptanmış (130-132). 4G alelinin sıklığı kontrol gurubunda %47,5, inmeli gurupta %62,5 saptanmıştır. Korelilerin başka bir çalışmasında kontrol gurubunda 4G alelinin sıklığı benzer saptanmış, KAH'lı kişilerde kontrol gurubu (%60,4) ile hasta gurubu arasında (%59,5) 4G alelinin sıklığı arasında farklılık saptanmamış (132). Tayvan'daki Çinli kişilere dayanan çalışmada, iskemik inme ile PAI-1 geninin 4G/5G promotor polimorfizmi arasında anlamlı bir ilişki bulunmamıştır. Bununla birlikte, regresyon analizi göstermiştir ki, kontrol gurubunda 4G/5G polimorfizmi TG ve HDL düzeyleri ile anlamlı olarak ilişkilidir, ancak inmeli hastalarda böyle bir sonuç görülmemiştir (130).

## 2.8. FİBRİNOJEN GEN MUTASYONU

Fibrinojen, 600-700 Å<sup>0</sup> uzunluğunda ve 38 Å<sup>0</sup> genişliğinde bir elipsoid ya da çomak şeklinde moleküllerden oluşmuş plazma proteindir, karaciğerde sentezlenir.

Fibrinojen molekülü, altı polipeptit zinciri içerir ki bu zincirler  $2\alpha$  (alfa),  $2\beta$  (beta) ve  $2\gamma$  (gama) zinciridir. Fibrinojen molekülünün uçları yüksek derecede negatif olarak yüklüdürler ki bu özellik, suda çözünürlüğe katkıda bulunur ve diğer fibrinojen moleküllerinin uçlarını uzaklaştırarak agregasyonu önler. Plazma fibrinojeninin normal değeri 200-400 mg/dl kadardır (134-136). Kanın pıhtılaşması, solubl plazma proteini fibrinojenin (faktör I), insolubl polimerlerinin fibröz ağı haline enzimatik dönüşümüdür. Fibrinojenin (faktör I) dönüşümünü sağlayan enzim, trombin (faktör IIa)'dir (136-138). Yapılan çalışmalarda kanda artan fibrinojenin iskemik kalp hastalıkları, miyokard infarktüsü, inme, venöz tromboz ve periferik arter hastalığı için bir risk faktörü oluşturduğu gösterilmiştir (135-140). Plazma fibrinojen seviyeleri yaş, cinsiyet, genetik ve hormonal faktörler (obezite, diabetes mellitus, hiperkolesterolemi) oral kontraseptif kullanımı ve sigara içimi gibi fiziksel etmenlerle değişmektedir (139-141). Fibrinojen aynı zamanda akut faz reaktanı olup infeksiyon ve soğuk gibi enflamatuvar durumlarda da artmaktadır. Artmış olan fibrinojen endotel hücreleri ve subendotelyal kollajen kümeleşmesiyle birlikte trombosit agregasyonunda artışla birlikte diğer risk faktörlerinin eşliğinde tromboza eğilimi artırmaktadır. Fibrinojen kan seviyelerindeki artışa yol açan genetik bozukluklar içerisinde en sık  $\beta$  subüniyle ilgili gen polimorfizmleri bulunmaktadır.  $\beta$ -Fibrinojen gen polimorfizmiyle ilişkili olarak yaklaşık 10 mutasyon tanımlanmış olmakla birlikte vasküler patolojide rolü daha iyi anlaşılmış olan  $\beta$ -Fibrinojen -455G/A ( $\beta$  Hae III) gen polimorfizmidir (139-141). Humphries ve ark. plazma kan fibrinojen konsantrasyonları ile  $\beta$ -Fibrinojen gen polimorfizmleri arasındaki ilişkiyi incelemişler ve en fazla artışı -455G/A gen varyantında bulmuşlardır (141). Daha sonra yapılan geniş çaplı vaka kontrol çalışmalarında özellikle miyokard infarktüsü başta olmak üzere iskemik kalp hastalıkları ile plazma fibrinojen seviyeleri arasında anlamlı ilişkiler ortaya konulmuştur(136-141). Bununla birlikte Kristensen ve

ark. 102 genç iskemik inmeli ve 41 sağlıklı kontroller üzerinde yapmış oldukları çalışma sonucunda plazma fibrinojen seviyeleri ile iskemik inme arasında anlamlı ilişki bulamamışlardır (135). Finlandiyadan Martiskainen ve ark. yaşları 55-85 arasında değişen ileri yaş iskemik inmeli 299 hasta üzerinde yapmış oldukları çalışma sonucunda  $\beta$ -Fibrinojen -455 gen polimorfizm sıklığını G/A ( %31.8), A/A (% 3.3) ve G/G (%64.9) olarak bulmuşlardır (139).  $\beta$ -Fibrinojen -455G/A ( $\beta$  Hae III) gen polimorfizm sıklığı İngiltere toplumunda %19, İsveçde %25 ve Japonlarda inmeli hastalarda % 16, normal popülasyonda % 8 olarak bulunmuştur (140-141).

## **2.9. HUMAN PLATELET ALLOANTİGENS (HPA) GEN POLİMORFİZMİ**

Trombositler kanda bulunan küçük (1.5-3.3 $\mu$ m), çekirdeksiz hücreler olup ilk defa 1882 yılında Bizzozero tarafından tesbit edilmişlerdir. Bununla birlikte fonksiyonlarının tam olarak anlaşılmaya başlanması ancak 1960 yılından sonra olmuştur (147,148). Trombositler, kemik iliği kök hücrelerinden farklılaşan megakaryositler tarafından üretilirler. Megakaryositler tüm kemik iliğindeki çekirdekli hücrelerin %0.02 - 0.05 gibi çok az bir kısmını oluştururlar. Her bir megakaryositten yaklaşık 2000-3000 tane trombosit kana verilir. Kandaki trombositlerin yarı ömürleri 7-9 gün olup milimetreküpteki sayıları 150.000 – 400.000 arasındadır (148). Trombositlerin temel amacı kanın pıhtılaşmasını sağlamaktır. Trombositler hemostazın meydana gelmesi için üç aşamadan geçmek zorundadırlar:

1.Adhezyon 2.Aktivasyon ve Sekresyon 3.Agregasyon.

Adhezyon, temel olarak hasara uğramış damarın subendotelial bölgesinde bulunan kollajene trombositlerin yapışması işlemidir. Bu etkileşimin 2 önemli üyesi vardır: 1.Von Willebrand Faktör (vWF), 2.Trombosit hücre zarında bulunan glikoproteinler (GP)'dir. vWF, endotel hücreleri ve megakaryositler tarafından

sentezlenir. Dolaşımda iken faktör VIII'e, hemostaz durumunda ise subendotelyal yataktaki kollajen ile trombosit arasındaki bağlantıyı sağlamak için trombosit zarındaki glikoproteinlere bağlı bulunur. Adhezyonda görev alan bu glikoproteinler içerisinde en önemlileri GPIIIa (HPA-1), GPIb (HPA-2), GPIIb (HPA-3) ve GPIa (HPA-5)'dir (147). Bu glikoproteinler hemostaz esnasında diğer pıhtılaşmada görev alan moleküllerle birlikte kompleksler oluşturarak farklı isimlerle adlandırılırlar: Kollajen reseptör-GPIa-IIa kompleksi ( $\alpha 2\beta 1$ ); Fibronektin reseptör-GPIc-IIa kompleksi ( $\alpha 5\beta 1$ ); Laminin reseptör GPIc-IIa kompleksi ( $\alpha 6\beta$ ); vWF reseptör-GPIb-V-IX kompleksi ve vitronektin reseptör kompleksi ( $\alpha V\beta 3$ ). Bu glikoproteinlerde oluşan fonksiyon bozukluklarının kanamaya eğilimi artırdığı (örneğin GPIIb/IIIa defekti, Glanzmann's trombastenisi; GPIb/V/IX mutasyonu, Bernard-Soulier sendromu gibi) tespit edilmiştir (148). Son 20 yıl içerisinde HPA gen mutasyonlarının arteriyel veya venöz trombotik hastalıklardaki rolü incelenmeye başlanılmıştır. Özellikle koroner arter hastalığı olan hastalarla kontroller üzerinde yapılan çalışmalar sonucunda anlamlılık tespit edilmemiştir. Wolfgang ve ark. Avrupalı genç koroner arter hastalıklı kişilerle sağlıklı kontroller üzerinde yapmış oldukları çalışma sonucunda HPA gen mutasyon sıklığını hasta grubunda %77.2, kontrol grubunda ise %72.0 olarak bulmuşlardır ( $P>0.05$ ) (147). Daha sonra yapılan çalışmalarda da hastalar ile kontrol grupları arasında benzer sonuçlar elde edilmiştir (147-149).

## 2.10. FAKTÖR XIII GEN MUTASYONU

Pıhtılaşma fizyolojisinde yer alan tetramerik yapıdaki Faktör XIII'ün 2 subüniti vardır: Faktör XIII-A (aktif form) ve Faktör XIII-B (inhibitör/taşıyıcı) dir. Plazma faktör XIII'ü koagülasyon kaskadının sonuç fazında  $Ca^{++}$  ve trombin aktivasyonu ile birlikte aktif bir transglutaminaz olan faktör XIII-A' ya dönüşür. Trombin, faktör XIII-A'nın N-Terminal ucundan aktivasyon peptidi olan faktör XIII-AP'yi peptid bağlı Arg37-Gly38'i ayırarak salar. Daha sonra  $Ca^{++}$  varlığında faktör XIII-B ayrılır ve faktör XIIIa

enzimatik olarak aktif bir konfigürasyon üstlenir. Faktör XIIIa'nın temel amacı  $\epsilon$ ( $\delta$ -glutamil)lisil bağılı fibrine fibrin  $\delta$ -,  $\alpha$ -zincirleri ve  $\alpha$ 2-plazmin inhibitörünü bağlamaktır. Bu yolla pıhtının mekanik direncini geliştirir ve fibrinolize karşı direncini artırır (142).

Faktör XIII'ün arteriyel veya venöz tromboembolide risk taşıyan formu Faktör XIII-A'dır. Bugüne kadar faktör XIII-A ile ilişkili 5 çeşit gen polimorfizmi tanımlanmıştır. Bunlar içerisinde en sık rastlanılanı Faktör XIII-A geninin 34. pozisyonunda valin yerine lösinin geçmesiyle ortaya çıkan polimorfizm (faktör XIII-A subünit Val34Leu) dir (142,143). Kafkas popülasyonunda faktör XIII-A subünit Val34Leu polimorfizminin sıklığına yönelik yapılan çalışmalarda heterozigot %32-43, homozigot ise %4-10 olarak bildirilmiştir (142). Bununla birlikte Faktör XIII-A'nın tromboembolideki rolü henüz netlik kazanmamıştır. Beraberinde Ariens ve ark. Val34Leu gen mutasyonunun fibrin yapısında protektif etkili olabileceğini dahi bildirmişlerdir (144).

### 3. MATERYAL VE METOD

Bu çalışma, Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu'ndan onay alınarak, Helsinki Deklarasyonu Kuralları'na uygun olarak yapılmıştır.

Çalışma, Ekim 2004- Mart 2006 tarihleri arasında Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöroloji Anabilim Dalı'na iskemik serebral infarkt tanısı ile yatırılarak tedavi edilen 45 yaş altındaki 53 hasta (28 erkek, 25 kadın, yaş ortalaması  $40.62 \pm 4.38$ ) üzerinde gerçekleştirildi. Hastaların kendilerinden ve/veya yakınlarından anamnez ve özgeçmişleri, ailede geçirilmiş inme öyküsü ve iskemik inme için risk faktörleri araştırıldı. Tüm hastaların açlık kan şekeri, lipit profili, elektrolitler, tam kan sayımı, koagülasyon testleri, sedimentasyon, C-reaktif protein (CRP), antikardiyolipin antikor, lupus antikoagülanı, antinükleer antikor (ANA), antinükleer sitoplazmik antikor (ANCA) tetkikleri ile Beyin Bilgisayarlı Tomografisi (Beyin BT) ve/veya Kranial magnetik rezonans görüntüleme (Kranial MRG), Karotis Vertebral Doppler USG ve kardiyak araştırmalar (elektrokardiyografi, transtorasik ekokardiyografi ve seçilmiş vakalarda transözafagial ekokardiyografi) yapıldı. Bu incelemeler sonucunda hastalar TOAST (Trials of Org 10172 in Acute Stroke Treatment) sınıflamasına göre 5 gruptan (kardiyembolik, aterotrombotik, lakuner, sebebi bilinen diğer nedenler ve sebebi bilinmeyen nedenler) birine dahil edildi. Birden fazla etiyolojik neden saptanan hastalar klinik olarak ön planda olan inme grubu içine alındı.

Kontrol grubu olarak 40 sağlıklı (23 Erkek, 17 kadın) kişi alındı. Yaş ortalaması  $38.75 \pm 6.25$  yıl idi. Bütün kontrol grubu üyeleri venöz trombotik hastalık, periferik arter hastalığı, serebrovasküler hastalık ve kalp hastalığı anamnezine sahip değillerdi.

Çalışmaya alınanlardan trombofilik bozuklukları saptamak için venöz kan örnekleri alındı.

#### 3.1.ÖRNEKLERİN TOPLANMASI VE LABORATUVAR ANALİZLERİ

Faktör V, MTHFR, Protrombin, PAI-1,  $\beta$ -Fibrinojen, Faktör XIII ve HPA gen mutasyonlarını saptamak için EDTA'lı tüpe 3 cc venöz kan örneği alındı. 2 hafta içinde DNA izole edildikten sonra multipleks polimeraz zincir reaksiyonu yöntemi ile bu protrombotik mutasyonların gen dizileri invitro olarak çoğaltıldı. Revers insitu hibridizasyon yöntemi ile, Vienna Lab. Austria marka CVD StripAssay kiti kullanılarak mutasyonlar çalışılmıştır.

### 3.2. TROMBOFİLİK MUTASYONLARIN ÇALIŞILMASI

#### 3.2.1. DNA izolasyonu

Invitek marka Invisorb Spin Blood Mini Kit (Berlin) kullanılarak, sırası ile aşağıdaki işlemler yapılmak suretiyle DNA izole edildi.

- 1- EDTA'lı kan örneklerinden 1.5 ml'lik tüplere 200  $\mu$ l koyuldu, üzerine 200  $\mu$ l lizis buffer A eklendi.
- 2- Örneklerin üzerlerine 20  $\mu$ l proteinaz K koyuldu, vortekslenip 56  $^{\circ}$ C'de termomikserde (Thermo-Rock, Sweden) 10 dakika inkübe edildi.
- 3- İnkübasyondan sonra tüplerin içine 400  $\mu$ l binding buffer B6 konulup, vortekslendi.
- 4- Spinfilter (süzgeç) 2 ml'lik başka ependorflara yerleştirildi. Numunelerin hepsi bu ependorflara pipetlendi ve bir dakika inkübe edildi. 12.000 rpm de iki dakika santrifüj edildi. Altta kalan sıvı atılıp, spinfilterlar içindeki materyalle birlikte yeni bir 2 ml'lik ependorfa yerleştirildi.
- 5- Örneklerin üzerine 500  $\mu$ l lik wash buffer I koyuldu ve 12.000 rpm de bir dakika santrifüj edildi. Altta kalan sıvı atılıp, spinfilterlar tekrar içindeki materyalle birlikte yeni bir 2 ml'lik ependorfa yerleştirildi
- 6- Örneklerin üzerine 800  $\mu$ l wash buffer II koyuldu. 12.000 rpm de bir dakika santrifüj edildi. Alttaki sıvı döküldü ve son hızda dört dakika tekrar santrifüj edildi.
- 7- Spinfilterler içlerindeki materyalle birlikte 1.5 ml lik ependorflara yerleştirilip, üzerlerine 200  $\mu$ l elution buffer D konuldu ve bir dakika inkübe edildi. 10.000 rpm de bir dakika santrifüj edildi. Altta kalan materyal (DNA) -20  $^{\circ}$ C de saklandı.

### 3.2.2. Protrombotik genler için polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) yöntemi

Faktör V, MTHFR, Protrombin, PAI-1,  $\beta$ -Fibrinojen, Faktör XIII ve HPA gen zincirlerine çift primerler kullanılarak PCR multipleks tekniği ile invitro amplifikasyon yapılmıştır.

Polimeraz zincir reaksiyon karışımı (her bir hasta için); 15 $\mu$ l amplifikasyon mix A (Vienna Lab, Austria), 5 $\mu$ l taq polimeraz (Applied Biosystems, Germany), 5 $\mu$ l DNA birinci reaksiyon tüpüne eklendi ve 15 $\mu$ l amplifikasyon mix B (Vienna Lab, Austria), 5 $\mu$ l taq polimeraz (Applied Biosystems, Germany), 5 $\mu$ l DNA ikinci reaksiyon tüpüne eklendi.

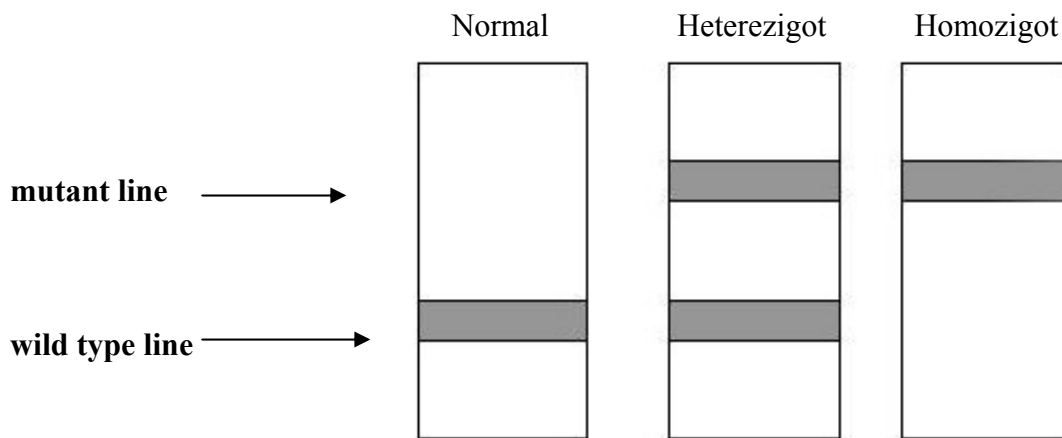
Tüpler, “termal cycler”’a (Applied Biosystems, Germany) yerleştirildi, PCR ilk siklusta 94<sup>0</sup>C’ de iki dakika denaturasyonu takiben; 94 <sup>0</sup>C de 15 saniye (denatürasyon), 58<sup>0</sup>C’ de 30 saniye (renatürasyon) ve 72 <sup>0</sup>C’de 30 saniye (elongation: uzama) olacak şekilde 35 siklusta yapıldı. Son siklustan sonra 72 <sup>0</sup>C’de 180 saniye süren bir siklus daha yapılarak tamamlandı.

### 3.2.3. Revers insitu hibridizasyon yöntemi

Amplifikasyon ürünleri oligonükleotid probolar içeren test striplerle hibridize edilerek dokuz bölgede mutasyon incelemesi yapılmıştır.

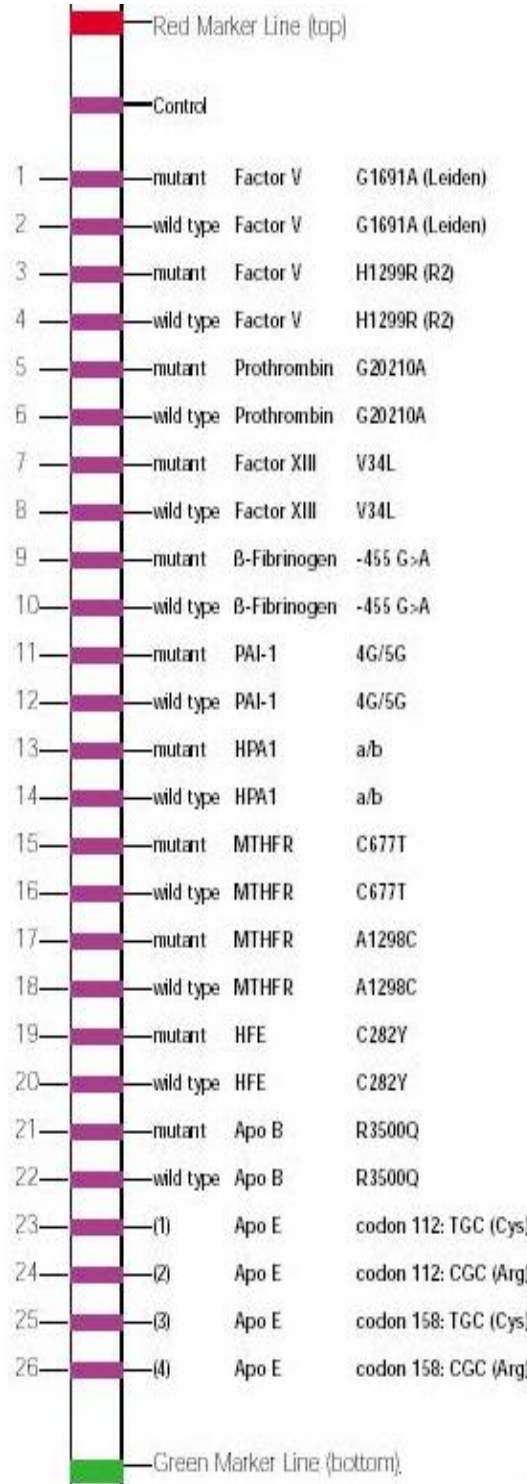
Hibridizasyon işlemi otomatik inkübatör (Auto Lipa Innogenetics, Sweden) içerisinde 2,5 saat süren bir işlemle gerçekleştirildi. Hibridizasyon sonrasında streptavidin alkalen fosfataz kullanılarak ilgili gen dizilerine ait bantların renk gelişimi gözlemlendi.

### 3.2.4. Sonuçların Okunması:





<b>Wild type line</b>	<b>Mutant line</b>	<b>Genotip</b>
<b>Pozitif</b>	Negatif	Normal
<b>Pozitif</b>	<b>Pozitif</b>	Heterezigot
Negatif	<b>Pozitif</b>	Homozigot



Sekil 3: Bir CVD stripinin görüntüsü

### 3.3. İSTATİSTİK

Çalışmanın istatistik analizi, SPSS For Windows (“Statistical Package for Social Sciences”) 10.0 yazılımı kullanılarak yapıldı. Gruplar arası karşılaştırmada, Student t ve ki – kare testleri kullanıldı. P değerinin 0.05’in altında olması, istatistiksel açıdan anlamlı olarak kabul edildi.

## 4. BULGULAR

Bu çalışmaya, 53’ü genç inmeli ve 40’ı da kontrol grubunda olmak üzere toplam 93 hasta dahil edildi. Çalışmaya alınan hasta ve kontrol gruplarının bazı tanımlayıcı özellikleri tablo 6’da gösterilmiştir. Genç inmeli hastaların kendilerinden veya yakınlarından özgeçmişlerine yönelik anamnezleri ve laboratuvar incelemeleri sonucunda ortaya çıkan risk faktörleri belirlendi. Risk faktörlerinin gruplara göre dağılımları tablo 7 de gösterilmiştir. Beklendiği şekilde genç inmeli hastalarda kontrollere göre vakaların konvansiyonel risk unsurları açısından daha yüksek bir prevalansı vardı.

**Tablo 6: Genç İnme ve Kontrol Gruplarının Bazı Tanımlayıcı Özellikleri**

	<b>Genç İnme</b>	<b>Kontrol</b>
<b>Bayan</b>	25 (% 47.2)	17 (% 42.5)
<b>Erkek</b>	28 (% 57.8)	23 (% 57.5)
<b>Yaş Ortalaması</b>	40.62 ± 4.38	38.75 ± 6.25

**Tablo 7: Risk faktörlerinin gruplara göre yüzdelik dağılımları**

	<b>Genç İnme</b>	<b>Kontrol</b>
<b>Sigara</b>	% 35.8	% 27.5
<b>Alkol</b>	% 7.5	-
<b>Diabetes Mellitus</b>	% 11.3	-
<b>Hipertansiyon</b>	% 30.2	-

Çalışmaya katılan tüm grupların protrombotik mutasyonlarına bakıldı. Sırasıyla MTHFR C677T ve A1298C, Faktör V Leiden (G1691A) ve Faktör V H1299R, Protrombin G20210A, Faktör XIII Va34Leu,  $\beta$ -Fibrinojen -455G/A, PAI-1 4G/4G, 4G/5G, 5G/5G ve HPA-1 a/a, a/b ve b/b.

Bu mutasyonlar içerisinde genç inmeli hasta grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı sonucun rastlanıldığı tek mutasyon hem heterozigot hem de homozigot MTHFR C677T gen mutasyonudur. Genç inmeli hasta grubunda heterozigot MTHFR C677T mutasyon sıklığı %41.5, homozigot %15.1 olarak bulundu ( $P<0.05$ ). Kontrol grubunda ise MTHFR C677T heterozigot mutasyon sıklığı %20, homozigot %2.5 idi. Hasta grubunun %43.4 ü ile kontrol grubunun ise %77.5 inde bu mutasyona rastlanılmadı. Bunun yanında Protrombin G20210A gen mutasyonuna genç inmeli hiçbir hastada rastlanılmazken, kontrol grubunda 4 hastada (%10) heterozigot Protrombin G20210A mutasyonuna rastlanıldı. Yine FV H1299R homozigot mutasyonuna hem hasta grubunda hem de sağlıklı kontrol grubunda rastlanılmadı. Diğer taraftan PAI-1 5G/5G mutasyonuna kontrol grubunda %30 oranında rastlanılırken, genç inmeli hasta grubunda %22.6 oranında rastlanıldı. Protrombotik gen mutasyonlarının sıklığı ve istatistiksel anlamlılıkları tablo 8 ve tablo 9 da gösterilmiştir.

**Tablo 8: Grupların etken faktörlere göre heterozigotluk ve homozigotluk dağılımı**

	Genç İnme			Kontrol		
	Yok	Heterozigot	Homozigot	Yok	Heterozigot	Homozigot
<b>Faktör – V Leiden (G1691A)</b>	48	3	2	34	6	-
<b>Faktör – V (H1299R)</b>	47	6	-	38	2	-
<b>MTHFR (C677T)</b> **	23	22	8	31	8	1
<b>MTHFR (A1298C)</b>	20	29	4	16	20	4
<b>Protrombin ** (G20210A)</b>	53	-	-	36	4	-
<b>Faktör – XIII (V34L)</b>	35	15	3	29	8	3
<b>Beta Fibrinojen (-455G&gt;A)</b>	37	14	2	25	13	2

\*\* Ki – kare testi,  $p < 0.05$

**Tablo 9: PAI-1 ve HPA-1 protrombotik gen mutasyonlarının gruplara göre dağılımı**

	Fenotip	Gruplar		Toplam
		Genç İnme	Kontrol	
<b>PAI-1</b>	4G / 4G	13	8	21
		% 24,5	% 20,0	22,6%
	4G / 5G	28	20	48
		% 52,8	% 50,0	51,6%
5G / 5G	12	12	24	
	% 22,6	% 30,0	25,8%	
<b>HPA-1</b>	a / a	41 77,4%	29 72,5%	70 75,3%
	a / b	11 20,8%	10 25,0%	21 22,6%
	b / b	1 1,9%	1 2,5%	2 2,2%

## 5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Gençlerde iskemik inmenin etiopatogenezine yönelik yapılan birçok araştırmaya rağmen halen daha vakaların % 40 'ında neden bulunamamaktadır. Son 10 yıl içerisinde özellikle venöz tromboembolide önemleri ön plana çıkan protrombotik gen mutasyonlarının arteriyel inmede de rol alabilecekleri düşünülerek çalışmalar yapılmıştır. Bununla birlikte protrombotik gen mutasyonları ile genç iskemik inmeli hastalar arasındaki bağlantıyı inceleyen epidemiyolojik çalışmalardan elde edilen sonuçlar birbirinden farklılık arz etmektedir (20). Üzerinde çalışma yapılan etnik grupların ve çalışma tasarımının farklılığı bu durumun ortaya çıkmasında etkili olabilir.

Hiperhomosisteineminin aterosklerozla ve tromboemboliyle yakından ilişkili olduğu bilinmekle birlikte inmedeki etkisi halen net değildir (94). Bununla birlikte MTHFR gen mutasyonlarının (en yaygın olanı C677T olmak üzere, diğeri ise A1298C) gerek plazma homosistein düzeyleri üzerinden gerekse tek başına inme için bir risk faktörü oluşturduğu tartışmalıdır (95). Çünkü sağlıklı bireylerde dahi bu mutasyonlara rastlanılmaktadır. Nitekim Avustralya, Kuzey Amerika ve Avrupada sağlıklı bireylerin % 37.8 – 51'inde heterezigot, % 5.4 – 17'sinde ise homozigot MTHFR C677T mutasyonu görülmüştür (18). Bu yüzden bu mutasyonun arteriyel hastalıklar için yaygın bir genetik risk faktörü olabileceği düşünülmektedir. Marcuss ve ark. iskemik inmeli hastalarında yapmış oldukları geniş ve detaylı incelemeler sonucunda 5,10 MTHFR gen mutasyonunun homozigot taşıyıcılığını hasta grubunda %10,7 kontrol grubunda ise %13,7 bulmuşlardır (96). Fakat bu çalışmada, cinsiyet dağılımı, hasta ve kontrol grubunda farklı olduğu için sınırlayıcıydı. Wolfgang ve ark. Avusturyada geçici iskemik atak ve/veya minör iskemik inmeli 81 hasta (yaş aralığı 28-89) ve 81 sağlıklı kontroller (yaş aralığı 38-84) üzerinde yapmış oldukları çalışmada

MTHFR C677T mutasyonunun prevalansını hasta grubunda homozigot %11.1, heterozigot % 45.7, kontrol grubunda ise homozigot %11.1, heterozigot ise % 49.4 olarak bulmuşlardır (18). Bu sonuçlar MTHFR C677T mutasyonunun geçici iskemik atak ya da minör iskemik inmeli hastalarda major bir risk faktörü olmadığını göstermektedir. Zhaohui Li ve ark. Çinde, birçok merkezin katıldığı vaka kontrollü çalışmada (1823 inme ve 1832 sağlıklı) yüksek plazma homosistein seviyesinin sadece iskemik değil, aynı zamanda hemorajik inmeyle de bağlantılı olduğunu, MTHFR C677T mutasyonunun hem vaka hem de kontrollerde yüksek serum homosistein seviyelerine katkıda bulunduğunu ve MTHFR 677 mutasyonunun TT genotipinin Çinlilerdeki trombotik inmeyle bağlantılı olduğunu bildirmişlerdir (96). Bu durum, Japonlarda ve İtalyanlarda yapılan çalışmalardan elde edilen bulgularla uyumludur. Frosst ve ark. MTHFR C677T mutasyonunun vasküler hastalıklar için bir aday risk faktörü olduğunu öne sürmüşlerdir (97). Fakat, daha sonra elde edilen neticeler tartışmalıdır. İçlerinde meta-analiz de barındıran çalışmaların çoğu, bu tür bir bağlantıyı teyit edememişlerdir (98). Lopaicuk ve ark.nın FVL, MTHFR C677T, Protrombin G20210A mutasyonlarının iskemik strokta araştırılmasını içeren çalışması, 45 yaş altında 100 hasta üzerinde yapılmış olup her üç gen mutasyonunun da risk faktörü taşımadığı sonucuna varılmıştır (99). Çalışmalarında MTHFR C677T mutasyon oranını hasta grubunda homozigot %10.4, heterozigot %34.5 olarak bulmuşlardır. Görüldüğü gibi MTHFR C677T mutasyonu ile ilgili çalışmalarda çelişkili sonuçlar elde edilmiştir. Bizim çalışmamızda MTHFR C677T mutasyonu hasta grubunda homozigot %15.1, heterozigot %41.5 iken kontrol grubunda homozigot %9.7, heterozigot %32.3 olarak bulunmuştur. Bu sonuçlar istatistiksel olarak anlamlıydı ( $P < 0.05$ ). Diğer bir deyişle çalışma sonuçlarımıza bakarak MTHFR C677T mutasyonunun arteriyel iskemik inme açısından etiyolojik faktör olduğunu ifade edebiliriz.

MTHFR A1298C mutasyonu ise hem hasta hem kontrol grubunda yüksek sayıda saptanmıştır. Bu mutasyonu hasta grubunda homozigot %7.5, heterozigot %54.7, kontrol grubunda homozigot %8.6, heterozigot 52.7 olarak tespit ettik ve istatistiksel olarak anlamlı değildi ( $P>0.05$ ). Ancak çalışmamızda her iki grupta da saptanan en yüksek mutasyon sayısı bu faktörde idi. MTHFR A1298C mutasyonu ile ilgili literatür bilgisi kısıtlıdır. Yüksek vaka sayılarıyla yapılacak geniş çaplı bir çalışma, bu mutasyonun üzerinde durulması gereken bir risk faktörü olup olmadığı konusunda daha net sonuçlara ulaşmamızı sağlayacaktır.

FV Leiden mutasyonu kalıtsal trombofilinin en yaygın görülen genetik nedenidir (100). Aktive edilmiş protein C rezistansına yol açan FV'in iki önemli mutasyonu faktör V G1691A (FV Leiden) ve faktör V H1299R dir (100). APCR'ye normal bireylerde %3-5, trombozis öyküsü olan hastalarda %50 civarında rastlanılmaktadır (18). Bu mutasyonun sıklığı, ABD de %6, Avrupa popülasyonunda ise %5 olarak bildirilmiştir (18,102). APCR de, FV deki nokta mutasyonu nedeniyle, PC ile FV arasındaki etkileşim bozulmaktadır. APCR'nin inme patogenezindeki rolü halen tartışmalıdır (101,104). Son yıllardaki genetik çalışmalarda inme etyolojisinde APCR'nin rol oynamadığı, bunun yanında koagülasyon yöntemine dayanan çalışmalarda %9.5-20 oranında APCR'nin risk faktörü olabileceği belirtilmiştir (102,103). APCR olan heterozigotlarda venöz tromboz riski 3-10 kat artarken, homozigot olanlarda bu risk daha fazladır. Kafkas popülasyonunda % 2-4 olan bu mutasyonun sıklığında, heterozigot taşıyıcılarda venöz tromboz riski 3-10 kat, homozigot taşıyıcılarda ise 50-100 kat artmıştır (102). Beraberinde oral kontraseptif kullanımı ve PC eksikliği gibi faktörlerin varlığında risk daha da artmaktadır. Özellikle serebrovasküler hastalıklar olmak üzere arteriyel hastalıklarda FVL'nin rolü çok net



değildir. Chaturvedi ve ark. 55 yaş altındaki iskemik inmeli Afrikan Amerika'lı hastalar üzerinde yapmış oldukları çalışma sonucunda APC rezistans FVL mutasyonunun inme için major bir risk faktörü olmadığını bildirmişlerdir (101). Longstreth ve ark. 45 yaş altındaki genç iskemik inmeli bayanlarda ( hasta sayısı 106, kontrol sayısı:391) yapmış oldukları çalışma sonucunda FVL mutasyon oranını hasta grubunda %0.9, kontrol grubunda % 4.1, Protrombin G20210A mutasyonunun ise hasta grubunda %1.9, kontrol grubunda ise %1.6 olarak bulmuşlardır (105). Çalışma sonucunda FVL ve protrombin G20210A mutasyonlarının genç iskemik inmeli bayanlarda önemli bir risk faktörü olmadığını bildirmişlerdir. 704 sağlıklı erkek kontrollerle, 209 inme geçiren erkek hastaların (yaş aralığı 40-84) sonuçlarını karşılaştıran Ridker ve ark. inme riski ve FVL mutasyonu arasında bir ilişki bulamamışlardır. İnmeli hastalarda FVL heterozigot mutasyon oranını % 4.3 olarak tespit etmişlerdir (106). Finlandiya'da yapılan diğer bir çalışmada 236 iskemik inmeli hastada (60 yaşından küçük) heterozigot FVL prevalansı % 3,8, sağlıklı kontrollerde ise % 2,9 bulunmuştur (107). Landi ve ark. 45 yaş altındaki geçici iskemik atak veya iskemik inmeli 95 hastada heterozigot FVL mutasyon oranını %4.2, 190 kontrol grubunda ise % 1.6 olarak tespit etmişler ve istatistiksel açıdan anlamlı bulmamışlardır (108). Bununla birlikte Albucher ve ark. 45 yaşın altında akut iskemik inmeli 30 hastanın 3'ünde (%10) heterozigot FVL mutasyon oranı bulmuşlardır (109). Bir diğer yüksek mutasyon prevalansı da De Lucia ve ark. tarafından bildirilmiştir. Geçici iskemik ataklı 45 yaşın altındaki 50 hastanın 5' inde homozigot (% 10), 14' ünde ise heterozigot (%28) FVL mutasyonu tespit etmişlerdir (110). Ancak bu iki çalışma da tarama şeklindedir ve kontrol grubu içermemektedir. Yine Nabavi ve ark. 45 yaş altındaki 225 genç inmeli hastalarda FVL heterozigot mutasyon oranını %15.9 olarak bulmuşlar ve bu oran kontrollerden daha yüksek çıkmıştır (111). Bunların aksine

Pres ve ark. genç inmeli hastalarda FVL heterozigot mutasyon oranını %2.5 gibi düşük oranda bulmuşlardır (112). Haywood ve ark. arteriyel iskemik inmeli çocuk hastalar üzerinde yapmış oldukları meta-analiz çalışmasında (hasta sayısı 3235 , kontrol sayısı 9019) tüm protrombotik gen mutasyonlarının iskemik inmeli çocuklarda yüksek bulunmuşlar ve bunlar içerisinde en fazla artışı MTHFR C677T ve FVL mutasyonunda görmüşlerdir (113). Buna rağmen sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Bizim çalışmamızda FVL mutasyonu hasta grubunda heterozigot %5.7, homozigot %3.8, kontrol grubunda heterozigot %15.0, homozigot ise %0 olarak bulunmuştur ve bu sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı değildir ( $P>0.05$ ). Hatta kontrol grubunda mutasyon oranı daha yüksek olup ancak vakaların tümü heterozigot mutasyon idi . FVL mutasyonu arteriyel iskemik inmeyle ilişkili olarak tekrar tekrar çalışılmış bir faktör olarak karşımıza çıkıyor. Kontrol grubuyla yürütülen çalışmalarda anlamlı bir fark saptanamamıştır. Ancak tarama tarzındaki çalışmalarda iskemik inmeli hastalarda belirli mutasyon yüzdeleri saptanmıştır. Bizim çalışmamızda da literatürlerle uyumlu olarak kontrol grubu ile vaka grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç elde edilememiştir.

Faktör V H1299R mutasyonu sonuçlarına baktığımızda ise her iki grup arasında anlamlı ilişki tespit edilmemiştir. ( $P>0.05$ ). Bu mutasyon açısından hasta grubunda heterozigot %11.3, kontrol grubunda heterozigot %5.0 olarak bulunurken her iki grupta da homozigotluk tespit edilmemiştir. Ancak Faktör V H1299R mutasyonu, üzerinde çok az çalışılmış bir faktördür. Bu nedenle vaka sayısı artırılarak yapılacak daha detaylı bir çalışmayla daha net veriler elde edilebilir.

Protrombin G20210A mutasyonu için yapılan çalışmalar MTHFR C677T ve FVL mutasyonları kadar net bir sonuç vermemektedir (105). İlk kez 1996 yılında Poort

ve ark. protrombin geninin 20210 bant bölgesindeki guanin yerine alanin geçmesine olanak sağlayan mutasyonun artmış protrombin seviyeleriyle ilişkili olarak venöz tromboemboli için bir risk oluşturduğunu (özellikle oral kontraseptif kullanan hastalarda) bildirmişlerdir (114). Bunun üzerine çalışmalar arteriyel iskemik inme üzerine yoğunlaşmıştır. Gomez ve ark. genç iskemik inmeli 49 hastanın protrombin düzeyine ve protrombin G20210A mutasyonuna bakmışlar ve 5 hastada mutasyona rastlamışlardır. Bu hastaların 2' sinde geçici iskemik atak, 3'ünde ise iskemik inme tespit edilirken, kontrol grubundan da 4 kişide aynı mutasyona rastlamışlardır (105). Lopaciuk ve ark. genç iskemik inmeli 100 hastanın 2' sinde, kontrol grubunda ise 238 kişinin 5 inde bu mutasyona rastlamışlardır (115). Longstreth ve ark. ise genç iskemik inmeli kadınlar üzerinde yaptıkları çalışmada 41 hastanın 1'inde, 382 kontrolün ise 6' sında protrombin G20210A mutasyonuna rastlamışlardır (116). Yine Madonna ve ark. genç iskemik inmeli hasta ve kontroller üzerinde yapmış oldukları çalışmada protrombin gen mutasyon oranını hasta grubunda % 9.4, kontrol grubunda ise %12.4 olarak tespit etmişlerdir (117). Benzer sonuçlar Voetsch ve ark. tarafından, hasta grubunda % 21, kontrol grubunda ise % 45 olarak bulunmuştur (118). Bunların aksine De Stefano ve ark.nın genç inmeli 72 hasta (diabetes mellitus, hipertansiyon ve hiperlipidemi olmaksızın) ve 198 sağlıklı kontrol üzerinde protrombin G20210A mutasyon sıklığına baktıklarında hasta grubunda heterozigot % 9.7, homozigot % 2.7 iken kontrol grubunda heterozigot % 2.5, homozigot mutasyon ise olmadığını tespit etmişlerdir. Çalışma sonucunda heterozigot Protrombin G20210A mutasyonunun serebral iskemi için artmış risk oluşturduğunu belirtmişlerdir (119). Protombin G20210A mutasyonu ile ilişkili olarak yapılan çalışmalarda çok çelişkili veriler elde edilmiştir. De Stefano ve ark.'nın yaptığı çalışma dışında hiçbir çalışma Protombin G20210A mutasyonu ile serebral

iskemik inme arasında anlamlı bir ilişki kuramamıştır. Bizim çalışmamızda hasta grubunda, gerek heterozigot gerekse homozigot hiçbir mutasyon tespit edilmedi. Aksine kontrol grubunda Protrombin G20210A mutasyon oranı heterozigot %10 olarak bulundu ( $P<0.05$ ). Bulduğumuz bu sonuç literatürlerdeki birçok sonuç ile uyumlu olarak Protrombin G20210A mutasyonunun iskemik inme etiyolojisinde rolü olmadığı kanaatine varmamıza neden olmuştur.

İskemik inmeli hastalarda rolleri olduğu düşünülen fakat etiyopatogenezdeki rolleri henüz netlik kazanmamış diğer protrombotik mutasyonlar PAI-1, HPA-1,  $\beta$ -fibrinojen ve Faktör XIII-A 'dır. PAI-1, doku tipi plazminojen aktivatörünün hızlı bir inhibitörüdür (120). Yüksek PAI-1 aktivitesinin miyokard infarktüsü, inmeli ve diabetes mellituslu hastalarda azalmış fibrinolitik aktiviteden sorumlu olduğunu gösteren bilgiler mevcuttur (121-123,129). Bununla birlikte, plazma PAI-1 aktivitesi TG ile pozitif, HDL ile negatif yönde korelasyon göstermektedir (124). Tek bazlı çift insersiyon (5G) /delesyon (4G) polimorfizminin, plazma PAI-1 düzeylerini değiştirdiği bildirilmiştir. Allel (4G) 'nin delesyonu reseptörlere bağlanmada başarısızlıkla ilişkilidir, bu durum da artmış PAI -1 mesenger RNA ekspresyonu artışı ile sonuçlanmakta ve bu nedenle de dolaşımda PAI-1 protein düzeyleri yükselmektedir (120). PAI-1 gen polimorfizminin 3 tipi vardır. Bunlar 4G/4G, 4G/5G ve 5G/5G olup risk açısından en önemlisi 4G/5G'dir (125). Son zamanlarda, trombotik hastalıkların PAI-1 4G/5G polimorfizmi ile ilgili çok sayıda yayınlar çıkmıştır (120,125). Başlangıçta değişik çalışmalar, 4G allelinin KAH (Koroner arter hastalığı) için risk faktörü olduğunu öne sürmüşlerdir (122,124,125). Bununla birlikte, çoğu büyük çalışma, bu polimorfizm ile inme arasında da ilişki olabileceğini ortaya çıkarmıştır (120,121). Ancak bu konuya ilk işaret eden Catto ve ark. 4G/5G promotor polimorfizmi ile inme

arasında ilişki olmadığını bildirmişlerdir (126). Endler ve ark. 136 genç minör inme ve GİA'lı hastayla, 115 sağlıklı kontrol üzerinde yapmış oldukları çalışma sonucunda, 4G allelinin koruyucu etkisi olduğunu göstermiştir (127). Yaşlı bayanlarda yapılan başka bir prospektif çalışmada, 4G/4G homozigotunun 5G/5G homozigotu ile karşılaştırıldığında inme mortalitesinde belirgin bir azalmış risk saptanmıştır (128). Hollanda'dan, Hoekstra ve ark. 637 ileri yaş iskemik inmeli hastalar üzerinde yapmış oldukları çalışma sonucunda 4G/4G polimorfizminin risk oluşturmadığını bildirmişlerdir (129). Sadece iki çalışmada, PAI-1 4G/4G ile inme arasında pozitif bir ilişki saptanmıştır. Bunlardan birincisi Wiklund ve ark. tarafından İsveç'ten iki vaka kontrol çalışmasıyla bildirilmiştir (130). Ancak burada yapılan çalışmalar 75 yaş altındaki hem iskemik hem de hemorajik inmeli hastaları içermektedir ve bu hastaların birçoğu koroner arter hastalığı risk faktörlerini de taşımaktaydı Diğer çalışma Korelilerde yapılmıştır ve 4G allel sıklığı kontrol grubunda % 47,5, inmeli grupta % 62,5 saptanmıştır ve istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (131). Korelilerin başka bir çalışmasında kontrol grubunda 4G allelinin sıklığı benzer saptanmıştır (132). PAI-1 aktivitesinin serum TG düzeyleri ile anlamlı korelasyon gösterdiğine dair değişik çalışmalar mevcuttur ve bu ilişki PAI-1 promotor geninin bölgesindeki polimorfizmden etkilenmektedir. 4G/5G polimorfizmi ve plazma TG düzeyi arasındaki ilişki, PAI-1 promotor geninin 4G/5G bölgesindeki VLDL TG – duyarlı bölgelerin tanımlanması ile desteklenmiştir. Ancak PAI-1 genotipleri ve diğer lipid ve lipoprotein düzeyleri arasındaki ilişki ile ilgili az sayıda çalışma vardır. Bu bilgiler doğrultusunda Chen ve ark. Tayvan'daki Çinli kişilere dayanan çalışmalarında ( hasta sayısı:100, kontrol sayısı:150) iskemik inme ile PAI-1 geninin 4G/5G promotor polimorfizmi arasında anlamlı bir ilişki bulamamışlardır. Bununla birlikte, regresyon analizi göstermiştir ki, kontrol grubunda 4G/5G polimorfizmi TG ve HDL düzeyleri ile

anlamli olarak iliskilidir, ancak inmeli hastalarda böyle bir sonuç görülmemiştir (120,133). Anderson ve arkadaşlarının belirttiği gibi, PAI değişkenleri diğer spesifik çevresel (sigara, yetersiz egzersiz, yüksek yağlı diyet gibi) ve genetik faktörlerle iliskili durumlarda riski etkiler (133). Bizim alışmamızda PAI-1 4G/4G mutasyon oranı hasta grubunda %24.5, kontrol grubunda %20.0, PAI-1 4G/5G mutasyon oranı hasta grubunda %52.8, kontrol grubunda %50.0 ve PAI-1 5G/5G mutasyon oranı hasta grubunda %22.6, kontrol grubunda %30 olarak bulunmuştur. Sonuçlar arasında istatistiksel açıdan bir anlamlılık tespit edilmemiştir ( $P>0.05$ ). Bu sonuç PAI-1 gen polimorfizmlerinin iskemik inme etiyopatogenezinde önemli bir rolü olmadığını gösteriyor olabilir.

Yapılan birçok çalışma plazma artmış fibrinojen seviyeleriyle iskemik kalp hastalığı, periferik arter hastalıkları, inme ve venöz tromboz arasında anlamlı iliski olduğunu göstermiştir (134-137). Daha sonra yüksek plazma fibrinojen seviyeleri görülen iskemik kalp hastalıkları ve iskemik inmeli hastalarda,  $\beta$ -Fibrinojen gen polimorfizmi incelenmiş ve -455 G/A taşıyıcılarında bu artışın belirgin olduğu tespit edilmiştir.  $\beta$ -Fibrinojen -455 G/A gen polimorfizmi oranı İngilterede %19, İsvete %25, Japonlarda %11 olarak bildirilmiştir (138). Bugüne kadar iskemik inme ile  $\beta$ -Fibrinojen -455 G/A gen polimorfizminin incelendiği 4 büyük çalışma yapılmıştır. Martiskainen ve ark. nın Finlandiya'da yaşları 55-85 arasında değişen 486 iskemik inmeli hasta üzerinde yapmış olduğu çalışma sonucunda,  $\beta$ -Fibrinojen -455 G/A gen polimorfizmi oranını %61.5 olarak bulmuşlar ve bunun multiple lakuner infarktlı hastalarda anlamlı olduğunu bildirmişlerdir (139). Ancak plazma fibrinojen seviyelerine bakmamışlardır. Liu ve ark. in'de ileri yaş inmeli 91 hasta (allel sıklığı %22.7) ve 74 kontrol (allel sıklığı %7.1) grubuyla, 98 sağlıklı genç (allel sıklığı %21.3) zerinde yapmış oldukları çalışma

sonucunda  $\beta$ -Fibrinojen -455 G/A gen polimorfizminin iskemik inmeli erkek hastalarda risk faktörü oluşturduğunu bulmuşlar ancak plazma fibrinojen seviyeleri ile anlamlı bir ilişki bulamamışlardır (138). Kessler ve ark. büyük damar hastalığıyla (140), Nishiuma ve ark. ise özellikle hipertansiyonu bulunan iskemik inmeli hastalarda (141) ,  $\beta$ -Fibrinojen -455 G/A gen polimorfizmi oranını kontrollere göre istatistiksel olarak yüksek bulmuşlardır. Tüm bu çalışmalara bakıldığında ortaya çıkan sonuç,  $\beta$ -Fibrinojen -455 G/A gen polimorfizminin ileri yaş, cinsiyet, sigara ve hipertansiyon gibi faktörler eşliğinde risk oluşturduğu yönündedir. Bizim çalışmamızda  $\beta$ -Fibrinojen -455 G/A mutasyon oranı kontrollerde yüksek bulunmuştur.  $\beta$ -Fibrinojen -455 G/A mutasyon oranı hasta grubunda heterozigot %26.4, homozigot %3.8, kontrol grubunda ise heterozigot %32.5, homozigot %5.0 'dir ( $P>0.05$ ).  $\beta$ -Fibrinojen -455 G/A mutasyon sonuçlarımıza bakıldığında kontrol ve hasta grubunda yüksek oranda mutasyon vardır. Ancak bu iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktur. Bu mutasyon, çevresel ve etnik faktörlerle bir araya geldiğinde iskemik inme oluşturma olasılığını artırıyor olabilir.

Pıhtılaşma fizyolojisinde yer alan tetramerik yapıdaki Faktör XIII'ün 2 subüniti vardır: Faktör XIII-A (aktif form) ve Faktör XIII-B (inhibitör/taşıyıcı) dir. Bunlar içerisinde arteriyel veya venöz tromboembolide rolü olan Faktör XIII-A gen polimorfizmi olup 5 çeşit polimorfizm içerisinde en sık rastlanılanı Faktör XIII-A geninin 34. pozisyonunda valin yerine lösinin geçmesiyle ortaya çıkan polimorfizm (faktör XIII-A subünit Val34Leu) dir (142,143). Kafkas popülasyonunda faktör XIII-A subünit Val34Leu polimorfizminin sıklığına yönelik yapılan çalışmalarda heterozigot %32-43, homozigot ise %4-10 olarak bildirilmiştir (142). Renner ve ark. Avusturya için bu oranı heterozigot %26.2, homozigot %7.8 olarak belirtmişlerdir (144). Faktör XIII-A

subünit Val34Leu polimorfizminin derin ven trombozu ve Mİ gelişme riskini azalttığı, intraserebral hemoraji riskini ise arttırdığı gösterilmiştir (142,145,146). Bununla birlikte, Faktör XIII-A subünit Val34Leu polimorfizminin gençlerdeki iskemik inmedeki rolüne yönelik detaylı çalışmaya rastlanamamıştır. Bizim çalışmamızda faktör XIII-A subünit Val34Leu polimorfizmi hasta grubunda homozigot %5.7, heterozigot %28.3 oranında bulunurken, kontrol grubunda homozigot %7.5, heterozigot 20.0 olarak tespit edilmiştir ve istatistiksel olarak anlamlı değildir ( $P>0.05$ ). Faktör XIII-A subünit Val34Leu polimorfizmi serebral iskemik inme etiyolojisi açısından çok az çalışılmış bir mutasyondur. Genel olarak tarama şeklinde yapılan çalışmalar üzerinden yorum getirilmeye çalışılmıştır. Bizim çalışmamızda,  $\beta$ -Fibrinojende de olduğu gibi Faktör XIII-A mutasyonu, hem hasta hem kontrol grubunda yüksek çıkmıştır. Ancak istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktur. Bu sonuçlar Faktör XIII-A subünit Val34Leu polimorfizminin iskemik inme etiyolojisinde tek başına etkili olmadığını düşündürmektedir.

Trombositlerin aktivasyonu ve agregasyonunun diğer risk faktörleriyle (sigara, DM, dislipidemi) birlikte vasküler sklerozun patogenezinde ve progresyonunda rol oynadığı bilinmektedir (147). HPA (Human Platelet Alloantigen) sistemi trombositlerin agregasyonu ve adhezyonunda görev alan çeşitli glikoproteinleri (GP) içermektedir. Bunlar GPIIIa (HPA-1), GPIb (HPA-2), GPIIb (HPA-3) ve GPIa (HPA-5) dan oluşmaktadır (148). Daha sonra HPA gen polimorfizimleri ile koroner arter hastalığı arasında ilişkiler ortaya konmuş fakat henüz netlik kazanmamıştır (147,148). Ridker ve ark. yapmış oldukları büyük vaka serileri sonucunda HPA gen mutasyonunun Mİ, inme ve venöz tromboz için risk faktörü olmadığını bildirmişlerdir (149). Bu çalışmada, HPA gen mutasyonunun sıklığını hasta grubunda %74.9, kontrol grubunda ise %73.6 olarak bulmuşlardır. HPA gen polimorfizminin iskemik inmeli hastalardaki rolüne yönelik



büyük çaplı çalışma henüz yapılmamıştır. Bizim çalışmamızda, HPA-1 a/a mutasyon sıklığı hasta grubunda %77.4, kontrollerde %72.5, HPA-1 a/b mutasyon sıklığı hasta grubunda %20.8, kontrol grubunda %25.0 ve HPA-1 b/b mutasyon sıklığı hasta grubunda %1.9, kontrol grubunda ise %2.5 olarak bulunmuştur. Ortaya çıkan sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı değildir ( $P>0.05$ ).

Çalışmamızdan elde edilen sonuçlar içerisinde yalnızca MTHFR C677T heterozigot ve homozigot mutasyon oranı, genç inmeli hastalarda istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Diğer protrombotik mutasyonlardan MTHFR A1298C, F XIII-A ve  $\beta$ -Fibrinojen her iki grupta da yüksek oranda saptanmış olup ancak hasta grubuyla kontrol grubu arasında anlamlı bir ilişki bulunmamıştır. Bu da bize genel popülasyonda bazı protrombotik mutasyonların yaygın olduğunu ancak hiperlipidemi, hipertansiyon, DM, sigara, alkol ve stres gibi faktörler varlığında inme oluşma olasılığını arttırdığını düşündürmektedir. Daha önce yapılan bazı çalışmalar içerisinde FVL başta olmak üzere MTHFR ve protrombin gen mutasyonlarının hasta gruplarında daha yüksek insidanda tespit edilmiş olması, başlangıçta da belirttiğimiz gibi üzerinde çalışma yapılan etnik grupların ve çalışma tasarımının farklılığından (arteriyel-venöz) veya çalışmaya katılan kişi sayısının değişken olmasından kaynaklanıyor olabilir. Her şeye rağmen ortaya çıkan sonuçlar doğrultusunda bu mutasyonların genç iskemik inmenin etiyopatogenezinde tek başına ne kadar önem teşkil ettiğine dair fikir yürütmek oldukça zordur. Sonuç olarak, genç iskemik inme etiyopatogenezini multifaktöriyel ve kompleks olup protrombotik gen mutasyonlarının ancak diğer faktörler ile birlikte olduğunda risk oluşturabileceği kanaatine varmaktayız.

## 6. ÖZET

### Genç Serebral İnfarktlı Hastalarda Protrombotik Gen Mutasyonlarının Araştırılması

İskemik inme, insidansı yaşla birlikte artan, genetik ve çevresel faktörlerin etkilediği kompleks multifaktöryel bir bozukluktur. İnmenin yol açtığı yaşamsal ve sosyoekonomik kayıp göz önüne alındığında, inme risk faktörlerinin detaylı olarak belirlenerek, prevalansının ve insidansının azalmasına yönelik çalışmalar temel oluşturmaktadır. Bütün inmelerin % 4-10 kadarı gençlerde görülür. Gençlerde inme etyolojisinin gerçek sıklığını belirlemek oldukça güçtür. Çeşitli çalışmalarda inme etyolojileri arasında büyük farklılıklar görülmektedir. Genç iskemik inmeli hastalarda etiyolojik faktörler ileri yaş popülasyonuna oranla daha heterojen olup vakaların %15-40'ında neden bulunamamaktadır. Yakın geçmişte, protrombotik gen mutasyonlarının gençlerdeki iskemik inme için bir risk faktörü olabileceği ifade edilmiştir. Fakat, bu mutasyonların gerek iskemik gerekse hemorajik inmedeki rolü hala tartışmalı bir konudur. Vaka kontrollü olarak gerçekleştirilen çoğu çalışmada protrombotik gen mutasyonu ile inme arasında müspet bir bağlantının olduğu öne sürülmesine rağmen, bu durum geniş çaplı vaka kontrol çalışmalarında teyit edilmemiştir. Örnek sayısının az olması, etnik grupların ve kullanılan yöntemlerin çeşitliliği, alınan sonuçlardaki farklılıklara katkı sağlamış olabilir. Daha önce gerçekleştirilen çalışmaların çoğu bu protrombotik mutasyonlardan FV Leiden, MTHFR C677T ve Protrombin G20210A üzerinde yoğunlaşmıştır. Bildiğimiz kadarıyla genç iskemik inmeli hastalarda protrombotik gen polimorfizimlerinin çoklu mutasyonlarının sıklığının araştırıldığı çalışma sayısı son derece azdır. Bu çalışmanın amacı, genç iskemik inmeli hastalarda multipl protrombotik gen mutasyonlarının (Faktör V Leiden (G1691A) ve Faktör V H1299R, MTHFR C677T ve MTHFR A1298C, Protrombin G20210A,  $\beta$ -Fibrinojen, PAI-1 4G/4G, PAI-1 4G/5G ve PAI-1 5G/5G, HPA-1 a/a, HPA-1 a/b ve HPA-1 b/b,) kontrol grubuyla karşılaştırmalı olarak sıklığını araştırmaktır. Çalışmaya 45 yaş altında genç iskemik inmeli 53 hasta ve 40 sağlıklı kontrol alındı. Çalışma sonucunda yalnızca MTHFR C677T heterozigot ve homozigot gen mutasyon sıklığını kontrol grubuyla karşılaştırıldığında genç iskemik inmeli hastalarda istatistiksel olarak anlamlı artış bulduk ( $P<0.05$ ). İlginç olarak bazı protrombotik mutasyonları kontrol grubunda daha sık tespit ettik.

Bu sonuçlar tekrar göstermiştir ki genç iskemik inme etiyopatogenezinde protrombotik gen mutasyonlarının etkisi gizemini korumakta ve daha detaylı çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

**Anahtar Sözcükler:** Genç, iskemik infarkt, protrombotik mutasyon

## 7. SUMMARY

### **Investigation of Prothrombic Gene Mutations in Young Patients with Cerebral Infarct**

Ischemic stroke is a complex and multifactorial disorder which is seen more frequently by age and affected from genetical and environmental factors. When one take into consideration the life and socio-economical disabilities caused by stroke, studies which target to decrease the prevalence and incidence of stroke via determining the stroke risk factors constitute an important base. Of the whole stroke cases, 4 – 10 percent is seen among the young people. It is very hard to determine the real frequency of the stroke etiology in young people. In various studies, large differences were observed in reasons of the stroke etiology. Etiological factors are more heterogeneous in young patients with ischemic stroke, when compared with the older age populations and the real cause can not be found in 15 – 40 percent of all cases. In recent past, it has been reported that prothrombic gene mutations could be a risk factor for the ischemic stroke in young people. However, the role of these mutations in both ischemic and hemorrhagic stroke types is a controversial issue. Although it has been proposed in many case-controlled studies that there was a positive correlation between the prothrombic gene mutation and stroke, this has not been confirmed by the large scaled case control studies yet. Insufficient sample size, diversity of the ethnic groups and methods might contribute to the difference in the reported results. Most of the studies conducted before have been focused on FV Leiden, MTHFR C677T and G20210A mutations. To the best of our knowledge, there is a very little number of studies in which the frequency of the multiple mutations of prothrombic gene polymorphisms is investigated in young patients with ischemic stroke. The aim of this study was to investigate the frequency of the multiple prothrombic gene mutations such as Factor V Leiden (G1691A) and Factor V H1299R, MTHFR C677T and MTHFR A1298C, Prothrombin G20210A,  $\beta$ -Fibrinogen, PAI-1 4G/4G, PAI-1 4G/5G and PAI-1 5G/5G, HPA-1 a/a, HPA-1 a/b and HPA-1 b/b in young patients with ischemic stroke, with respect to the control group. 53 young patients under 45 with ischemic stroke and 40 healthy control individuals were included in this study. At the end of the study, we have found a statistically significant increase only in the frequencies of heterozygote and homozygote MTHFR C677T gene mutations in young patients with ischemic stroke, when compared with the control group ( $P < 0,05$ ). Interestingly, we have found some prothrombic mutations more frequently in the control group. These findings have indicated again that the effect of prothrombic gene mutations still remains its enigma in the etiopathogenesis of ischemic stroke and further more detailed studies are required.

**Keywords:** Young, ischemic infarct, prothrombic mutation

## 8. KAYNAKLAR

1. Bots ML, Looman SJ, Koudstaal PJ ve ark. Prevalance of stroke in the general population (The Rotterdam Study). **Stroke**. 27;1499-1501, 1996
2. Truelsen T, Prescott E, Gronbaek M, Schnohr P, Boysen G. Trends in stroke incidence; The Copenhagen City Heart Study. **Stroke**. 28;1903-1907, 1997
3. Chancellor AM, Glasgow GL, Ockelford PA ve ark. Etiology, prognosis, and hemostatic function after cerebral infarction in young adults. **Stroke**. 20:477-482, 1989
4. Bonita R, Beaglehole R, Asplund K. The worldwide problem stroke. **Curr Opin Neurol**. 7:5-10, 1994
5. Feigin VI, Lawes CMM, Bennett DA, Andersen CS. Stroke epidemiology: a review of population-based studies of incidence, prevalence, and case fatality in the late 20th century. **Lancet**. 2;43-53, 2003.
6. Kristensen B, Malm J, Carlberg B, et al. Epidemiology and etiology of ischemic stroke in young aged 18-44 years in Northern Sweden. **Stroke**. 28;1702-9, 1997
7. Kittner SJ, McCarter RJ, Sherwin RW ve ark. Black-white differences in stroke risk among young adults. **Stroke**. 24 (supp I):I-13-I-15, 1993
8. Bevan H, Sharma K ve Bradley W. Stroke in young adults. **Stroke**. 21;382- 386, 1990
9. Bradley SJ, Bernadette BA, Feng L ve ark. Stroke in the Young in the Northern Manhattan Stroke Study. **Stroke**. 33:2789-2793, 2002
10. Barinagarrementeria F, Gonzalez-Duarte A, Cantu-Brita C. Prothrombotic states and cerebral ischemia. **Rev Neurol**. 26(149); 85-91, 1998
11. Hart Rg, Kanter MC. Hematologic disorders and ischemic stroke. **Stroke**. 21;1111-1121, 1990
12. Niazi GA, Awada A, Al Rajeh S, Larbi E. Hematological values and their assessment as risk factor in saudi patients with stroke. **Acta Neurol Scand**. 89;439-445-1994
13. Bushnell CD, Goldstein LB. Diagnostic testing for coagulopatias in patients with ischemic stroke. **Stroke**. 31;3067-78, 2000
14. Lanzino F, Andreoli A, Di Pasquale G, et al. Etiopathogenesis and prognosis of cerebral ischemia in young adults. A survey of 155 treated patients. **Acta Neurol Scand**. 84;321-5, 1991
15. Madonna P, Stefano F, Coppola A, et al. Hyperhomocysteinemia and other inherited prothrombotic conditions in young adults with a history of ischemic stroke. **Stroke**. 33;51-6, 2002
16. Nagraja D, Chrithopher R, Manjiri T. Anticardiolipin antibodies in ischemic stroke in the young: Indian experience. **Jour of the Neurological Sciences**. 2:137-42, 1997
17. Markus HS, Ali N, Swanminathan R, et al. A common polymorphism in the methylenetetrahydrofolate reductase gene, homocysteine, and ischemic cerebrovascular disease. **Stroke**. 28:17389-1743, 1997
18. Wolfgang L, Aull S, Serles W. C677T MTHFR mutation and factor V leiden mutation in patients with TIA/Minor stroke: A case-control study. **Thrombosis research**. 93;61-9, 1999
19. Austin H, Chimowitz MI, Hill HA, et al. Cryptogenic stroke in relation to genetic variation in clotting factors and other genetic polymorphism among young men and women. **Stroke**. 33;2762-9, 2002
20. Pezzini A, Grassi M, Del Zotto E, Archetti S, Spezi R, Vergani V, Assanelli D, Caimi L, Padovani A. Cumulative Effect of Predisposing Genotypes and their Interaction With Modifiable Factors on the Risk of Ischemic Stroke in Young Adults. **Stroke**. 2004
21. Adams RD, Victor M, Ropper AH. Cerebrovascular Disease. **Principles of Neurology**. Sixth edition. Mc Graw Hill. Chapter 34:777-873. 1997
22. Adams H, Bendixen BH, Jaap K, Biler J, Love BB, Gordon DL, Marsh EE. Classification of subtype of akute ischemic stroke. Definitions for use in a multicenter clinical trial. **Stroke**. 24:35-41. 1993
23. Bamford J, Sandercock P, Dennis M et al. Classification and natural history of clinical subtypes of cerebral infarction. **Lancet**. 337:1521-6, 1991

24. Özdemir G, Özkan S, Uzuner N, Özdemir Ö, Gücüyener D. Türkiye’de beyin damar hastalıkları için major risk faktörleri: Türk çok merkezli strok çalışması. **Türk BDH Dergisi.** 6;31-5, 2000.
25. Fieschi C, Piero VD, Lenzi GL ve ark. Pathophysiology of Ischemic Brain Disease. **Stroke** 21:IV-9-IV-11, 1990.
26. Astrup J, Siesjo BK, Symon L. Thresholds in cerebral ischemia-the ischemic penumbra. **Stroke.** 12;723-5, 1981
27. Kristian T, Siesjo BK. Calcium in ischemic cell death. **Stroke.** 29;705-18, 1998
28. Morikawa E, Mori H, Kiyama Y, Mishina M, Asano T, Kirino T. Attenuation of Focal Ischemic Brain Injury In Mice Deficient in the  $\alpha 1$  (NR2A) Subunit of NMDA Receptor. **J Neurosci.** 8;9727-32, 1998
29. Wahlestedt C, Golanov E, Yamamoto S, Yee F, Ericson H, Yoo H, Inturrisi CE, Reis DJ. Antisense oligodeoxynucleotides to NMDA-R1 receptor channel protect cortical neurons from excitotoxicity and reduce focal ischemic infarctions. **Nature.** 363;260-3
30. Chan PH. Reactive oxygen radicals in signaling and damage in the ischemic brain. **J Blood Flow Metab** 21: 2-14, 2001
31. Gürsoy-Özdemir Y, Bolay H, Saribas O, Dalkara T. The role of endothelial nitric oxide generation and peroxynitrite formation in reperfusion injury after focal cerebral ischemia. **Stroke.** 31: 1974-81, 2000
32. Matsuo Y, Onodera H, Shiga Y, Nakamura M, Ninomiya M, Kihara T, Kogure K. Correlation between myeloperoxidase-quantified neutrophil accumulation and ischemic brain injury in the rat.Effect of neutrophil depletion. **Stroke.** 25;1469-75, 1994
33. Endres M, Hirt L, Moskowitz MA. Apoptosis and cerebral ischemia. In: Apoptosis: Role in Disease, Pathogenesis and Prevention. Eds. MP Mattson, Estus S, VM Rangnekar. **Elsevier Science.** 137-197, 2001
34. Kolomiminsky-Rabas PL, Weber M, Gefeller O, Neundoerfer B, Heuschmann PU. Epidemiology of ischemic stroke subtypes according to TOAST criteria: incidence, recurrences, and long-term survival in ischemic stroke subtypes, a population-based study. **Stroke.** 32;2735-40, 2001
35. Adams H, Bendixen BH, Jaap K, Biler J, Love BB, Gordon DL, Marsh EE. Classification of subtype of akute ischemic stroke. Definitions for use in a multicenter clinical trial. **Stroke.** 24:35-41, 1993
36. Carolei A, Marini C, Ferranti E, Frontoni M, Prencipe M, Fieschi C, and the National Research Council Study Group. A prospective study of cerebral ischemia in the young: analysis of pathogenic determinants. **Stroke.** 24;362-367, 1993
37. Marini C, Totaro R, Carolei A ve ark. Long-term prognosis of cerebral ischemia in young adults **Stroke.** 30:2320-2325. 1999
38. Marini C, Totaro R, De Santis F ve ark. Stroke in young adults in the community-based L’Aquila Registry. Incidence and Prognosis. **Stroke.** 32:52-56, 2001
39. Leys D, Bandu L, Henon H. Ve ark. Clinical outcome in 287 consecutive young adults (15 to 45 years) with ischemic stroke. **Neurology.** 59:26-33. 2002
40. Anzola GP, Magoni M, Ascari E, Maffi V. Early Prognostic Factors in Ischemic Stroke: The Role of Protein C and Protein S. **Stroke.** 24(10):1496-1500, 1993
41. Kristensen B, Malm J, Nilsson TK ve ark. Increased fibrinogen levels and acquired hypofibrinolysis in young adults with ischemic stroke. **Stroke.** 29:2261-2267, 1998
42. Ferro D, Quintarelli C, Rasura M ve ark. Lupus anticoagulant and the fibrinolytic system in young patients with stroke. **Stroke.** 1993;24:368
43. Heijboer H, Brandjes DP, Buller HR, et al. Deficiencies of coagulation inhibiting and fibrinolytic proteins in outpatients with deep-vein thrombosis. **N Eng J Med.** 323(22): 1512 - 1516. 1990
44. Weinmann EE, Salzman EW. Deep-vein thrombosis. **N Eng J Med.** 331(24): 1630 - 1641. 1994
45. Bauer KA. The hypercoagulable state. In: Beutler E, Lichtman MA, Coller BS, Kioss TS (Eds.). **Williams hematology.** 5<sup>th</sup> ed. New York: **McGraw-Hill Inc;** p.1531 - 1550. 1995

46. Rosendaal FR. Venous thrombosis: a multicausal disease. **Lancet**. 353 (9159): 1167 - 1173. 1999
47. De Stefano V, Finazzi G, Mannucci PM. Inherited thrombophilia: pathogenesis, clinical syndromes and management. **Blood**. 87(9): 3531-3544. 1996
48. Lane DA, Mannucci PM, Bauer KA, et al. Inherited thrombophilia: Part-1. **Thromb Haemost** . 76(5): 651 - 662. 1996
49. Makris M, Rosendaal FR, Preston FE. Familial thrombophilia: Genetic risk factors and management. **J Intern Med Suppl**. 740: 9 - 15. 1997
50. Rodgers GM. Thrombosis and Antithrombotic Therapy. In Lee GR, Ferster J, Lukens J, Paraskevas F, Greer IP, Rodgers GM (Eds.). **Wintrobe's Clinical Hematology Vol.2.10<sup>th</sup> ed. Baltimore: W.W.Co; p. 1781 - 1818. 1999**
51. Kolodziej M, Comp PC. Hypercoagulable states due to natural anticoagulant deficiencies. **Curr Op Hematol**. 47: 301-305. 1993
52. Joseph L. Pathogenesis of Thrombosis. In Beutler E, Lichtman MA, Coller BS, Kipps TS (Eds.). **Williams Hematology. 5<sup>th</sup> ed. New York: McGraw-Hill Inc; p.1525 - 1531. 1995.**
53. Bick RL, Kaplan H. Syndromes of thrombosis and hypercoagulability. **Med Clin North Am**. 82(3): 409 -458, 1998
54. Thomas DP, Merton RE, Wood RD, et al. The relationship between vessel wall injury and venous thrombosis: an experimental study. **Br J Haematol**. 59(3): 449 - 57. 1985
55. Ulutin ON. Doğal inhibitörler. *Klinik Gelişim*. 1991; 26: 1484 - 8.
56. High KA. Antithrombin III, protein C and protein S. Naturally occurring anticoagulant proteins. *Arch Pathol Lab Med*. 1988; 112(1): 28 - 36.
57. Nachman RL, Silverstein R. Hypercoagulable states. *Ann Intern Med*. 1993; 119(8): 819 - 827.
58. Schafer AI. Hypercoagulable states: Molecular genetics to clinical practice. *Lancet*. 1994; 334: 1739 - 1742.
59. Rosenberg RD, Bauer KA. The Heparin-Antithrombin System: A Natural Anticoagulant Mechanism. In: Colman RW, Hirs J, Marder VJ, Salzman EW (Eds.). *Hemostasis and Thrombosis Basic Principles and Clinical Practice. 3<sup>rd</sup> ed. Philadelphia: JB. Lippincott Co; 1994. p.837 - 860.*
60. Bick RL. Clinical relevance of antithrombin III. *Semin Thromb Hemost*. 1982; 8(4): 276 - 287.
61. Briet E, Engesser L, Brommer EJ. Regulation of blood coagulation and thrombosis. *Hemostasis*. 1985; 15(4): 228 - 232.
62. Bauer KA. The Hypercoagulable State. In: Ratnoff OD, Forbes CD (Eds.). *Disorders of Hemostasis. 3<sup>rd</sup> ed. Philadelphia: W.B. Saunders Co; 1996. p.228 - 58.*
63. Meade T, Dyer S, Howarth DJ, et al. Antithrombin III and procoagulant activity: Sex differences and effects of the menopause. *Br J Haematol*. 1990; 74(1): 77 - 81.
64. Tait RC, Walker ID, Davidson JF, et al. Antithrombin III activity in healthy blood donors: Age and sex related changes and the prevalence of asymptomatic deficiency. *Br J Haematol*. 1990; 75(1): 141 - 142.
65. Hultin MB. Antithrombin III Assays. In: Beutler E, Lichtman MA, Coller BS, Kipps TS (Eds.). *Williams Hematology. 5<sup>th</sup> ed. New York: McGraw Hill inc; 1995. p. 101-109.*
66. Özdemir O, Dündar S. Trombotik hastalıklara yaklaşım. *Tromboz Bülteni I-II*. 1996. s 3 - 23.
67. Rapaport SI. The extrinsic pathway inhibitor: A regular of tissue factor-dependent blood coagulation. *Thromb Haemost*. 1991; 66(1): 6 - 15.
68. Broze JG, Miletich JP, Biochemistry and Physiology of Protein C, Protein S and Thrombomodulin. In: Colman RW, Hirsh J, Marder VJ, Salzman EW (Eds.). *Hemostasis and Thrombosis Basic Principles and Clinical Practices. 3<sup>rd</sup> ed. Philadelphia: J.B. Lippincott Co; 1994. p.259 - 276.*
69. Griffin JH, Ewatt B, Zimmerman TS et al. Deficiency of protein C in congenital thrombotic disease. *J Clin Invest*. 1981; 68(5): 1370 - 1373.
70. Esmon CT, Owen WG. Identification of an endothelial cell cofactor for the thrombin catalyzed activation of protein C. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1981; 78(4): 2249 - 2252.

71. Owen WG, Esmon CT. Functional properties of an endothelial cell cofactor for the thrombin catalyzed activation of protein C. *J Biol Chem.* 1981; 256(11): 5532 -5535.
72. Esmon NL, Owen WG, Esmon CT. Isolation of a membran -bound cofactor for the thrombin catalyzed activation of protein C. *J Biol Chem.* 1982; 257(2): 859 – 864.
73. Esmon CT. The regulation of natural anticoagulant pathways. *Science.* 1987; 235: 1348 - 1352.
74. Clouse LH, Comp PC. The regulation of hemostasis: The protein C system. *N Eng J Med .* 1986; 314(20): 1298 - 1304.
75. Hinsbergh VW, Bertina RM, Wijngaarden A, et al. Activated protein C decreases plasminogen activator-inhibitor activity in endothelial cell-conditioned medium. *Blood.* 1985; 65(2): 444 - 451.
76. Bertina RM, Broekmans AW, Linden IK, et al. Protein C deficiency in a Dutch family with thrombotic disease. *Thromb Haemost.* 1982; 48(1): 1 - 5.
77. Bowill EG, Bauer KA, Dickerman JD, et al. The clinical spectrum of heterozygous protein C deficiency in a large New England kindred. *Blood.* 1989; 73(3): 712 -717.
78. Kohler J, Kasper J, Witt I, et al. Ischemic stroke due to protein C deficiency. *Stroke.* 1990; 21(7): 1077 - 1080.
79. Camerlingo M, Finnazi G, Casto L, et al. Inherited protein C deficiency and nonhemorrhagic arterial stroke in young adults. *Neurology.* 1991; 41(9): 1371 -1373.
80. Lane DA, Manucci PM, Bauer KA, et al. Inherited thrombophilia: Part-2. *Tromb Haemost.* 1996; 76(6): 824 - 834.
81. Comp PC. Protein C and Protein S. In: Beutner E, Lichtman MA, Collier BS, Kipps TS (Eds.). *Williams Hematology.* 5<sup>th</sup> ed. New York: McGraw Hill Inc. 1995. p.99 - 105.
82. Furmaniak - Kazmierczak E, Hu CY, Esmon CT. Protein S enhances C4b binding protein interaction with neutrophils. *Blood.* 1993; 81(2): 405 - 411.
83. Comp PC, Esmon CT. Recurrent venous thromboembolism in patient with a partial deficiency of protein S. *N Eng J Med.* 1984; 311(24): 1525 - 1528.
84. Schwarz HP, Fischer M, Hopmeier P, et al. Plasma protein S deficiency in familial thrombotic disease. *Blood.* 1984; 64(6): 1297 - 1300.
85. Rick ME. Protein C and protein S. *JAMA.* 1990; 263(5): 701 - 703.
86. Akar N, Yilmaz E, Akar E, Deda G, Sipahi T. Factor V (His 1299 Arg) in young Turkish patients with cerebral infarct. *Haemostasis.* 2000; 30(3): 118 - 122.
87. Dahlback B, Carlsson M, Svensson PJ. Familial thrombophilia due to a previously unrecognized mechanism characterized by poor anticoagulant response to activated protein C: Prediction of a cofactor to activated protein C. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1993; 90(3): 1004 - 1004.
88. Van der Bom JG, Bots ML, Haverkate F, et al. Reduced response to activated protein C is associated with increased risk for cerebrovascular disease. *Ann Intern Med.* 1996; 125(4): 265 - 269.
89. Lynch KJ, Nelson KB, Curry CJ, et al. Cerebrovascular disorders in children with the Factor V Leiden mutation. *J Child Neurol.* 2001; 16(10): 735 - 744.
90. Deveber G, Andrew M, Adams C, et al. Cerebral sinovenous thrombosis in children. *N Engl J Med.* 2001; 345(6): 417 - 423.
91. Heller C, Becker S, Scharrer I, et al. Prothrombotic risk factors in childhood stroke and venous thrombosis. *Eur J Pediatr.* 1999; 158: 117 -121.
92. Martinelli I, Landi G, Merati G, et al. Factor V gene mutation is a risk factor for cerebral venous thrombosis. *Thromb Haemost.* 1996; 75(3): 393 - 394.
93. Kenet G, Sadetzki S, Murad H, et al. Factor V Leiden and antiphospholipid antibodies are significant risk factors for ischemic stroke in children. *Stroke.* 31(6): 1283 – 1288, 2000
94. Morita H, Kurihara H, Tsubaki S, Sugiyama T, Hamada C, Kurihara Y, Shindo T, Oh-hashii Y, Kitamura K, Yazaki Y. Methylene tetrahydrofolate Reductase Gene Polymorphism and Ischemic Stroke in Japanese. *Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology.* 18;1465-1469. 1998
95. Li Z, Sun Li, Zhang H, Liao Y, Wang D, Zhao B, Zhu Z, Zhao J, Ma A, Han Y, Wang Y, Shi Y, Ye J, Hui R. Elevated Plasma Homocysteine Was Associated With Hemorrhagic and

- Ischemic Stroke, but Methylenetetrahydrofolat Reductase Gene C677T Polymorphism Was a Risk Factor Thrombotic Stroke. **Stroke**. 34(9);2085-90, 2003
96. Markus HS, Ali N, Swaminathan R, Sankaralingam A, Molloy J, Powell J. A common polymorphism in the Methylenetetrahydrofolat Reductase gene, homocysteine, and ischemic cerebrovascular disease. **Stroke**. 28;1739-43, 1997
  97. Frosst P, Blom HJ, Milos R, Goyette P, Sheppard CA, Matthews RG, Boers GJ, den Heijer M, Kluijtmans LA, van den Heuvel LP, Rozen R. A candidate genetic risk factor for vascular disease: a common mutation in Methylenetetrahydrofolat Reductase. **Nat Genet**. 10;111-3. 1995
  98. Choi BO, Kim NK, Kim SH, Kang MS, Lee S, Ahn JY, Kim OJ, Kim S, Oh D. Homozygous C677T mutation in the MTHFR gene as an independent risk factor for multiple small-artery occlusions. **Thrombosis Research**. 111;39-44, 2003
  99. Lopaciuk S, Bykowska K, Kwiecinski H, Mickielewicz A, Czlonkowska A, Mendel T, Kuczynska-Zardzewialy A, Szlagowska D, Windyga J, Schroder W, Hermann FH, Jedrzejowska H. Faktör V Leiden, prothrombin gene G20210A variant, and Methylenetetrahydrofolat Reductase C677T genotype in young adults with ischemic stroke. **Clin Appl Thromb Hemost**. 7;346-350, 2001
  100. Dahlbesk B. Resistance to activated protein C, the Arg506 to Gln mutation in the factor V gene, and venous thrombosis. **Thromb Haemost**. 73;739-42. 1995
  101. Chaturvedi S, Joshi N, Dzieczkowski J. Activated protein C resistance in young African American patients with ischemic stroke. **Journal of Neurological Sciences**. 163;137-139. 1999
  102. Godoi LC, Fernandes AP, Vieira LM, Melgaço DA, Bastos M, Riberio M, Carvalho MG, Dusse LMS. Hypercoagulability markers in young asymptomatic heterozygous carriers of factor V Leiden(G1691A) or prothrombin(G20210A) variant. **Clinica Chimica Acta**. 365;304-309. 2006.
  103. Carod-Artal FJ, Nunes SV, Portugal D, Silva TV, Vargas AP. Ischemic Stroke Subtypes and Thrombophilia in Young and Elderly Brazilian Stroke Patients Admitted to a Rehabilitation Hospital. **Stroke**. 36(9);2012-4, 2005
  104. Madonna P, de Stefano V, Coppola A, Cirillo F, Cerbone AM, Orefice G, Di Minno G. Hyperhomocysteinemia and Other Inherited Prothrombotic Conditions in Young Adults With a History of Ischemic. **Stroke**. 33(1);51-6, 2002
  105. Longstreth WT, Rosendaal FR, Siscovick DS, Vos HL, Schwartz SM, Psaty BM, Raghunathan TE, Koepsell TD, Reitsma PH. Risk of stroke in Young Women and Two Prothrombotic Mutations: Factor V Leiden and Prothrombin Gene Variant(G20210A). **Stroke**. 29;577-580, 1998
  106. Ridker PM, Henekens CH, Lindpainter K, Stampfer MJ, Eisenberg PR, Miletich Jp. Mutation in the gene coding for coagulation factor V and the risk of myocardial infarction, stroke, and venous thrombosis in apparently healthy men. **N Engl J Med**. 6;332(14):912-7, 1995
  107. Kontula K, Ylikorkala A, Miettinen H, Vurio A, Kauppinen Mekelin R, Hamalainen L, Palomaki H, Kaste M. Arg506Gln factor V mutation in patients with ischemic cerebrovascular disease and survivors of myocardial infarction. **Thromb Haemost**. 73;558-60, 1995
  108. Landi G, Cella E, Martinelli I, Tagliabue L, Mannucci PM, Zerbi D. Arg506Gln factor V mutation and cerebral ischemia in the young. **Stroke**. 27;1697-8, 1996
  109. Albucher JF, Guiraud Chaumeil B, Chollet F, Cadroy Y, Sie P. Frequency of resistance to activated protein C due to factor V mutation in young patients with ischemic stroke. **Stroke**. 27;766-7, 1996
  110. De Lucia D, Cerbone AM, Belli A, Di Mauro C, Renis V, Conte MM, Rocino A, Papa ML, de Basi R. Resistance to activated protein C in adults with a history of juvenile transient ischemic attacks. **Thromb Haemost**. 76;627-31, 1996
  111. Nabavi DG et al. Factor V gene mutation is a risk factor for cryptogenic stroke of the young. **Cerebrovasc Dis**. 7(suppl 4): 16(abstract), 1997
  112. Press RD et al. Ischemic stroke in the elderly: role of the common factor V mutation causing resistance to activated protein C. **Stroke**. 27;44-8, 1996



113. Haywood S, Liesner R, Pindora S, Ganesan V. Thrombophilia and first arterial ischemic stroke: a systematic review. **Arch Dis Child.** 90;402-5, 2005
114. Poort SR, Rosendaal FR, Reitsma PH, Bertina RM: A common genetic variation in the 3-untranslated region of the prothrombin gene is associated with elevated plasma prothrombin levels and an increase in venous thrombosis. **Blood.** 88:3698, 1996
115. Lopaciuk S, Bykowska K, Kwiecinski H, Factor V Leiden, prothrombin G20210A variant, and methylenetetrahydrofolat Reductase C677T genotype in young adults with ischemic stroke. **Clin Appl Thromb Haemost.** 7;346-50, 2001
116. Longstreth WT, Rosendaal FR, Siscovick DS. Risk of stroke in young women and two prothrombotic mutations:factor V leiden and prothrombin gene variant(G20210A). **Stroke.** 29;577-80, 1998.
117. Madonna P, de Stefano V, Cappola A. Hyperhomocysteinemia and other inherited prthrombotic conditions in young adults with a history of ischemic stroke. **Stroke.** 33;51-6, 2002
118. Voetsch B, Damasceno BP, Camargo ESC. Inherited thrombophilia as a risk factor for the development of ischemic stroke in young adults. **Thromb Haemost.** 83;229-33, 2000
119. De Stefano V, Chiusolo P, P Katia, Casorelli I, Rossi E, Molinari M, Servidei S, A.Tonali P, Leone Giuseppe. Prothrombin G20210A Mutant Genotype Is a Risk Factor for Cerebrovascular Ischemic Disease in Young Patients. **Blood.** 91;3562-3565, 1998
120. Chen CH, Eng HL, Chang CJ, Tsai TT, Lai ML, Chen HY, Liu CJ, Lin TM. 4G/5G promoter polymorphism of plasminogen activator inhibitor-1, lipid profiles, and ischemic stroke. **J Lab Clin Med.** 142(2):100-5. 2003
121. Lindgren A, Lindoff C, Norrving B, Astedt B, Johansson BB. Tissue plasminogen activator and plasminogen activator inhibitor-1 in stroke patients. **Stroke.** 27;1066-71,1996
122. Eriksson P, Kallin B, van't Hooft FM, Bavenholm P, Hamsten A. Allele-specific increase in basal transcription of the plasminogen-activator inhibitor 1 gene is associated with myocardial infarction. **Proc Natl Acad Sci USA.** 92:1851-5. 1995
123. Juhan-Vague I, Roul C, Alessi MC, Ardisson JP, Heim M, Vague P. Increased plasminogen activator inhibitor activity in non-insulin dependent diabetic patients;relationship with plasma insulin. **Thromb Haemost.** 61;370-3, 1989
124. Juhan-Vague I, Pyke SD, Alessi MC, Jespersen J, Haverkate F, Thompson SG. Fibrinolytic factors and risk of myocardial infarction or sudden death in patients with angina pectoris. ECAT Study Groups Europaeen Concerted Action on Thrombosis and Disabilities. **Circulation.** 94;2057-63. 1996
125. Quezada SR, Del Mercado MZ, RojasIP, Villalobos HR, Aguilera CB, Orozco LVS, Vale JFM. Genotype and allele frequency of PAI-1 promoter polymorphism in healthy subjects from the west of Mexico.Association with biochemical and hematological parameters. **Annales de Genetique.** 47;155-162. 2004
126. Catto AJ, Carter AM, Stickland M, Bamford JM, Davies JA, Grant PJ. Plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) 4G/5G promoter polymorphism and levelsin subjects with cerebrovascular disease. **Thromb Haemost.** 77:730-4, 1997
127. Endler G, Lalouschek W, Exner M, Mitterbauer G, Haring D, Mannhalter C. The 4G/4G genotype at nucleotide position -675 in the promotor region of the plasminogen activator inhibitor I (PAI-1) gene is less frequent in young patientswith minor stroke than in controls. **Br J Haematol.** 110;469-71, 2000.
128. Roest M, van der Schouw YT, Banga JD, Tempelman MJ, de Groot PG, Sixma JJ et al. Plasminogen activator inhibitor 4G polymorphism is associated wiyh decreased risk of cerebrovascular mortality in older women. **Circulation.** 101;67-70. 2000
129. HoekstraT, GeleijnseJM, Kluft C, Giltay EJ, Kok FJ, Schouten EG. 4G/4G genotype of PAI-1 gene is associated with reduced risk of stroke in elderly. **Stroke.** 34(12);2822-8,2003
130. Wiklund PG, Nilsson L, Ardnor SN, Eriksson P, Johansson L, Stegmayr B, Hamsten A, Holmberg D, Asplund K. Plasminogen activator inhibitor I (PAI-1) 4G/5G gene polymorphism and risk of stroke:replicated findings in two nested case-control studies based on independent cohorts. **Stroke.** 36(8);1661-5, 2005

131. Bang CO, Park HK, Ahn MY, Shin HK, Hwang KY, Hong SY, 4G/5G polymorphism of the plasminogen activator inhibitor I gene and insertion/deletion polymorphism of the tissue-type plasminogen activator gene in atherothrombotic stroke. **Cerebrovasc Dis.** 11;294-9, 2001
132. Song J, Yoon YM, Jung HJ, Hong SH, Park H, Kim JQ. Plasminogen activator inhibitor-1 4G/5G promoter polymorphism and coagulation factor VII Arg353 Gln polymorphism in Korean patients with coronary artery disease. **J Korean Med Sci.** 15;146-52, 2000
133. Anderson JL, Muhlestein JB, Habashi J, Carlquist JF, Bair TL, Emler SP, et al. Lack of association of a common polymorphism of the plasminogen activator inhibitor-1 gene with coronary artery disease and myocardial infarction. **J Am Coll Cardiol.** 34;1778-83, 1999
134. Ernst E, Resch KL. Fibrinogen as a cardiovascular risk factor: a meta-analysis and review of the literature. **Ann Intern Med.** 118;956-963, 1993
135. Kristensen B, Malm J, Nilsson T, Hulthén J, Carlberg B, Olsson T. Increased fibrinogen levels and acquired hypofibrinolysis in young adults with ischemic stroke. **Stroke.** 29;2261-2267, 1998
136. Koster T, Rosendaal FR, Reitsma PH, van der Velden PA, Briet E, Vandenbroucke JP. Factor VII and fibrinogen levels as risk factors for venous thrombosis. **Thromb Haemost.** 71:719-722. 1994
137. Fowkes FGR, Connor JM, Smith FB, Wood J, Donnan PT, Lowe GDO. Fibrinogen genotype and risk of peripheral atherosclerosis. **Lancet.** 339;693-696, 1992
138. Liu Y, Pan J, Wang S, Li X, Huang Y. B-fibrinogen gene -455A/G polymorphism and plasma fibrinogen level in Chinese stroke patients. **Chin Med J(Eng).** 115(2);214-6, 2002
139. Martiskainen M, Pohjasvaara T, Mikkelsen J, Mantyla R, Kunnas T, Laippala P, Ilveskoski E, Kasta M, Karhunen PJ, Erkinjuntti T. Fibrinogen Gene Promoter -455 A Allele as a Risk Factor for Lacunar Stroke. **Stroke.** 34;886, 2003
140. Kessler C, Spitzer C, Stauske D, Mende S, Standlmüller J, Walther R, Rettig R. The apolipoprotein E and B-fibrinogen G/A -455 gene polymorphism are associated with ischemic stroke involving large-vessel disease.
141. Nishiuma S, Kario K, Yakushijin K, Maeda M, Murai R, Matsuo T, Ikeda U, Shimada K, Matsuo M. Genetic variation in the promoter region of the beta-fibrinogen gene is associated with ischemic stroke in a Japanese population. **Blood Coagul Fibrinolysis.** 9;373-379, 1998.
142. Shemirani AH, Haramura G, Bagoly Z, Muszbek L. The combined effect of fibrin formation and factor XIII A subunit Val34Leu polymorphism on the activation of factor XIII in whole plasma. *Biochimica et Biophysica Acta* 1764;1420-1423, 2006.
143. Francis CW. Factor XIII polymorphisms and venous thromboembolism, **Arch.Pathol.Lab.Med.** 126:1391-1393. 2002
144. R.A. Ariens, H.Philippou, C. Nagaswami, J.W. Weisel, D.A.Lane, P.J. Grant. The factor XIII V34L polymorphism accelerates thrombin activation of factor XIII and affects cross-linked fibrin structure. **Blood.** 96:988-995. 2000
145. Renner W, Koppel H, Hoffman C, Schallmoser K, Stanger O, Toplak H, Wascher TC, Pilger E. Prothrombin G20210A, factor V Leiden, and factor XIII Val34Leu; common mutations of blood coagulation factors and deep vein thrombosis in Austria. **Thromb Res.** 99(1);35-9, 2000
146. Catto AJ, Kohler HP, Banan S, Stickland M, Carter A, Grant PJ. Factor XIII Val34Leu: a novel association with primary intracerebral hemorrhage. **Stroke.** 29;813-816, 1998
147. Sperr WR, Huber K, Roden M, Janisw M, Lang T, Graf S, Maurer G, Mayr WR, Panzer S. Inherited Platelet Glycoprotein Polymorphisms and a Risk for Coronary Heart Disease in Young Central Europeans. **Thrombosis Research.** 90;117-123,1998.
148. Rozman P. Platelet antigens. The role of human platelet alloantigens (HPA) in blood transfusion and transplantation. *Transplant Immunology.* 10;165-181, 2002
149. Ridker PM, Hennekens CH, Schmitz C, Stampf MJ, Lindpaintner K. PI A1/A2 polymorphism of platelet glycoprotein IIIa and risks of myocardial infarction, stroke and venous thrombosis. **Lancet.** 349:385-8, 1997