

Sağlıklı Çocuklarda Faktör V Leiden ve Protrombin 20210 A Mutasyon Sıklıkları

Cengiz ERTÜRK*, Öznur DÜZOVALI*, Necati MUŞLU**, Gülçin ESKANDARI**,
Arzu KANIK***, Esat YILGÖR*

* Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı,

** Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı,

*** Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyoistatistik Anabilim Dalı, MERSİN

ÖZET

Sağlıklı çocuklarda venöz tromboza eğilim yaratan kalıtsal faktörlerden en sık görülen ve bölgesel farklılıklar gösterilen Faktör-V Leiden (FVL) ve protrombin 20210A mutasyon sıklıklarının araştırılması amaçlandı.

Bu çalışmada 258 erkek, 238 kız toplam 496 sağlıklı çocuk çalışmaya alındı. PCR yöntemiyle FV 1691A ve protrombin 20210A mutasyonları araştırıldı.

Ortanca yaş 5 yıl (10 ay-16 yıl) bulundu. Otuzdört vakada heterozigot, bir vakada homozigot olmak üzere toplam 35 vakada (%7.1) FVL mutasyonu saptandı. Otuzüç heterozigot, bir vaka homozigot olmak üzere toplam 34 vakada (%6.9) protrombin 20210A mutasyonu gösterildi. Bir vakada hem heterozigot FVL hem de heterozigot protrombin 20210A mutasyonu birlikteliği saptandı. FVL mutasyonu ve protrombin 20210A mutasyonu varlığı cinsiyet ve ailede tromboz öyküsü varlığından bağımsız bulundu.

Bilgilerimize göre çocukluk çağında FVL ve protrombin 20210A mutasyon sıklığı konusunda Çukurova Bölgesi'nde yapılan ilk çalışmadır. Bulgularımız FVL mutasyon sıklığının ülkemizdeki diğer bölgelerle benzer olduğunu, protrombin 20210A mutasyon sıklığının Ankara ve Edirne'deki çalışmalara göre daha yüksek olduğunu düşündürmüştür.

Anahtar Sözcükler: Faktör V Leiden mutasyonu, Protrombin 20210A mutasyonu, Tromboz

ABSTRACT

The Frequencies of Factor V Leiden and Prothrombin 20210A Gene Mutations in Healthy Children

The aim of this study was to evaluate the frequencies of Factor V Leiden (FVL) and prothrombin 20210A mutations in healthy children.

In this study, 496 healthy children were enrolled. We studied FVL and prothrombin 20210A mutations with real-time polymerase chain reaction. Median age was 5 years (10mos -16 yrs). The frequency of FVL mutation was 7.1%. While thirty four of 35 cases had heterozygous, one patient had homozygous FVL mutation. Similarly, the frequency of prothrombin 20210A mutation was 6.9%. Thirty three of 34 cases had heterozygous, one patient had homozygous prothrombin 20210A mutation. One patient had both FVL and prothrombin 20210A heterozygous mutations. The presence of FVL and prothrombin 20210A mutations were statistically independent from gender and family history of thrombosis.

To the best of our knowledge, this is the first study, investigating the frequencies of FVL and prothrombin 20210A mutations in childhood in Çukurova region. Our findings suggest that while the frequency of FVL mutation in our trial is similar to the results of the other studies reported in our country, the frequency of prothrombin 20210A mutation is higher than those of reported from Ankara and Edirne.

Key Words: Factor V Leiden mutation, Prothrombin 20210A mutation, Thrombosis

GİRİŞ

Çocukluk çağında tromboz gelişme sıklığı yılda 1/100.000 oranıyla erişkinlere göre daha düşük olmakla birlikte önemli bir morbidite ve mortalite nedenidir. Tromboz gelişmesinde sıklıkla Faktör V Leiden mutasyonu (aktive protein C rezistansı), protrombin 20210A mutasyonu, homosistinüri, protein C ve protein S, antitrombin III eksiklikleri gibi kalıtsal ve kateter varlığı, cerrahi girişim, malin hastalıklar, diyabet ve infeksiyonlara bağlı damar hasarı gibi edinsel etkenlerin karşılıklı etkileşimi rol oynamaktadır. Tromboza eğilim yaratan birden çok kalıtsal tablonun birlikte görülebildiği ve bu vakaların daha ağır ve sık trombotik atak geçirmeye eğilimli oldukları bildirilmektedir (1,2).

Venöz trombozun kalıtsal nedenleri arasında ilk sırada yer alan aktive protein C rezistansı ilk olarak Dahlback ve ark. (3) tarafından tanımlanmıştır. Trombinin endotelial yüzeyde trombomodüline bağlanması ile aktive olan protein C (APC), faktör V ve faktör VIII'i inaktive ederek trombin oluşumu engellemektedir. APC rezistansı olan vakaların yaklaşık olarak %90-95'inde faktör V'in 506 pozisyonundaki mutasyon sonucunda, arjininin yerine glutamin sentezlenmektedir. Bu nedenle Faktör V ve VIII inaktive edilememekte, trombin oluşması devam etmekte ve sonuçta tromboz gelişme riski artmaktadır (4). Venöz trombozun sık görülen kalıtsal nedenlerinden ikincisi protrombin geninde 20210 pozisyonundaki mutasyon sonucu protrombin seviyesinde artışla tromboz gelişmesine eğilimin artmasıdır. FVL ve protrombin 20210A gen mutasyon sıklıklarının ülkelere göre değiştiği bildirilmiştir (5-17).

Bu çalışmada sağlıklı çocuklarda venöz tromboza eğilim yaratan kalıtsal faktörler arasında en sık

görülen ve bölgesel farklılıklar gösterebilen FVL ve protrombin 20210A mutasyon sıklıklarının araştırılması amaçlandı.

HASTALAR VE YÖNTEM

15.5.2003-15.10.2003 tarihleri arasında Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı'na çeşitli yakınmalarla başvuran, 0-18 yaş arasındaki 496 vaka hasta/ aile onayıyla rastgele seçilerek çalışmaya alındı. Bu vakaların kişisel bilgileri, 50 yaş altında diyabet, hipertansiyon ve hiperlipidemisi olmaksızın serebrovasküler atak, miyokard infarktüsü, akciğer embolisi ve derin ven trombozu yönünden aile öyküleri alınarak fizik muayeneleri yapıldı.

EDTA'lı tüplere 2 ml kan örnekleri alındı. Alınan tam kan örneklerinden DNA izolasyonu yapıldı (High Pure PCR Template Kit, Catalog No: 1 796 828 Roche Diagnostics, Mannheim, Germany). Faktör V Leiden ve Protrombin 20210A gen mutasyonları real-time PCR yöntemi ile çalışıldı (Light-Cycler Real Time PCR, Roche Diagnostics, Mannheim Germany).

Bu çalışmada FVL ve protrombin 20210 A gen mutasyon sıklığı ile cinsiyet ve ailede tromboz öyküsü arasındaki ilişki ki-kare testi ile; mutasyon varlığı ile diğer etkenler logistik regresyon analizi yapılarak değerlendirildi. Çalışmamızda saptanan sıklık değerleri referans değerler ile z oran testi kullanılarak karşılaştırıldı.

BULGULAR

Mutasyon analizi yapılan 258 erkek, 238 kız olmak üzere toplam 496 çocukta ortanca yaş 5 (10ay-16 yıl) bulundu. Tüm vakaların %11'inde ailede venöz

Tablo 1. Faktör V Leiden Mutasyonu Saptanan Hastaların Özellikleri

Mutasyon tipi	Vaka sayısı n (%)	Ailede tromboz öyküsü olan n (%)
Heterozigot	34 (97.2)	2 (5.7)
Homozigot	1 (2.8)	-
Toplam	35 (100)	2 (5.7)

Tablo 2. Protrombin 20210A Gen Mutasyonu Olan Hastaların Özellikleri

Mutasyon tipi	Vaka sayısı		Ailede tromboz öyküsü olan	
	n	(%)	n	(%)
Heterozigot	33	(97.0)	3	(8.8)
Homozigot	1	(3.0)	-	
Toplam	34	(100)	3	(8.8)

tromboz öyküsü saptandı.

Otuz dört vakada heterozigot, bir vakada homozigot olmak üzere toplam 35 vakada (%7.1) FVL mutasyonu bulundu (Tablo 1). FVL mutasyonunun kızlarda erkeklere oranla daha sık (35 / 22) saptanmasına karşın istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p=0.065$). FVL mutasyonu olan vakaların %5.7'sinde (2/33) ailede tromboz öyküsü vardı. Ancak FVL mutasyonu varlığı cinsiyet ve ailede tromboz öyküsü varlığından bağımsız bulundu (sırasıyla $p= 0.093$; $p= 0.259$).

Otuz üç çocukta heterozigot, bir çocukta homozigot olmak üzere toplam 34 vakada (%6.9) protrombin 20210A mutasyonu gösterildi (Tablo 2). Protrombin 20210A gen mutasyonunun erkeklerde daha sık saptanmasına karşın (34/18) istatistiksel açıdan anlamlı bulunmadı ($p =0.458$). Protrombin 20210A mutasyonu olan çocuklarda ailede tromboz öyküsü %8.8 (3/31) oranındaydı. Ancak protrombin 20210 gen mutasyonu cinsiyet ve ailede trom-

boz öyküsü riskinden bağımsızdı (sırasıyla $p = 0.790$, $p = 0.682$). Bir vakada hem heterozigot FVL hem de heterozigot protrombin 20210A mutasyonu birlikteliği saptandı.

TARTIŞMA

Bilgilerimize göre Çukurova Bölgesi'ne ilişkin, çocukluk çağında yapılan bu ilk çalışmada FVL mutasyon sıklığı %7.1, protrombin 20210A mutasyonu %6.9 bulunmuş, mutasyon varlığı ile ailede tromboz öyküsü arasında ilişki saptanmamıştır.

Ülkemizde sağlıklı çocuklarda FVL mutasyon sıklığı %4-12 arasında bildirilmiştir (5-8). Çalışmamızda FVL mutasyon sıklığı Türkiye'de yapılan diğer çalışmalar ile karşılaştırıldığında benzer bulundu. Ancak Vurkun ve ark. (9) çocuk ve erişkin vakaları içeren çalışmalarında FVL mutasyon sıklığını bizim sonuçlarımıza göre daha düşük saptamışlardır (Tablo 3). Bu ülkemizdeki FVL

Tablo 3. Faktör V Leiden mutasyon sıklığı konusunda Türkiye'de sağlıklı çocuklarda yapılan çalışmaların çalışmamızla karşılaştırılması

	Toplam vaka sayısı	Heterozigot (n)	Homozigot (n)	Sıklık (%)	p
Kıbrıslı Türkler (Akar ve ark.)	99	12	Saptanmamış	12.2	0.145
Ankara (Gürgey ve ark.)	81	6	Saptanmamış	7.1	0.911
Ankara (Akar ve ark.)	285	28	Saptanmamış	9.8	0.188
Edirne (Vurkun ve ark.)	467	18	2	4.2	0.061
İstanbul (Gül ve ark.)	107	11	Saptanmamış	10.3	0.307
İstanbul (Özbek ve ark.)	120	11	Saptanmamış	9.1	0.463
Mersin (Ertürk ve ark.)	496	34	1	7.1	

Tablo 4. Protrombin 20210A mutasyon sıklığı konusunda Türkiye’de sağlıklı çocuklarda yapılan çalışmaların çalışmamızla karşılaştırılması

	Toplam vaka sayısı	Heterozigot (n)	Homozigot (n)	Sıklık	P
Kıbrıslı Türkler (Akar ve ark.)	110	9	Saptanmamış	8.1	0.641
Ankara (Akar ve ark.)	182	5	Saptanmamış	2.1	0.013
Edirne (Vurkun ve ark.)	467	Saptanmamış	Saptanmamış	–	
Mersin (Ertürk ve ark.)	496	33	1	6.9	

mutasyon sıklıklarında coğrafik farklılıklara işaret etmektedir. Homozigot FVL mutasyonu çok nadir görülmektedir (9). Benzer şekilde yalnızca bir vakamızda homozigot FVL mutasyonu saptadık.

Avrupa ülkelerinde FVL mutasyon sıklığının %0-7 arasında olduğu bildirilmiştir (10). Bu sonuçlarla karşılaştırıldığında, FVL mutasyon oranlarının en yüksek olduğu ülkelerin Kıbrıs Türk-Rum kesimi (sırasıyla %12.2, %13.3), Türkiye (%7-12), İsveç (%11.1) olduğu görülmektedir (10). Sonuçlarımız Kıbrıs Rum kesimi ve İsveç’e göre düşük, diğer Avrupa ülkelerine göre yüksek bulunmuştur. Ortadoğu, Asya, Afrika, Avustralya ve Amerika’da yapılan FVL mutasyon sıklık çalışmalarında Lübnan (%14.4), Suriye (%13.6) ve Ürdün (%12.3) dışında Avrupa ülkelerine göre daha düşük oranlar bildirilmektedir (11). İsveç, Almanya ve İngiltere’deki yüksek FVL mutasyon oranlarının bu mutasyonun kaynağı olarak değerlendirilen Anadolu ve Akdeniz Bölgesi’nden bu ülkelere göç ile açıklanabileceği ileri sürülmektedir (12).

Çalışmamızda saptadığımız protrombin 20210A gen mutasyon sıklığı ülkemizdeki çalışmalara göre daha yüksek, Kıbrıs sonuçlarına benzer bulunmuştur (9,13) (Tablo 4). Türkiye’de daha önce yapılan çalışmalarda homozigot protrombin 20210A gen mutasyonu bildirilmemişken çalışmamızda bir vakada (%2.9) homozigot mutasyon saptanmıştır. FVL mutasyonundan farklı olarak protrombin mutasyon sıklığı ülkemizde bölgesel olarak büyük farklılıklar göstermektedir.

Avrupa’da on bir farklı merkezin katıldığı 5527 vakalık seride protrombin 20210A gen mutasyonu sıklığı %0.7-4 arasında rapor edilmiştir (14). Bu

çalışmalarda Kuzey Avrupa’da sıklığın Güney Avrupa’ya göre daha düşük olduğu gözlenmiştir (sırasıyla %1.3-2.2 ve %2.3-3.7). Güney Avrupa’da oranların daha yüksek bulunmasının heterojen yapı, ırksal ve coğrafik dağılıma bağlı olabileceği belirtilmektedir (15). Avrupa’da en yüksek oranlar Kıbrıs Türk ve Rum kesimlerinde (sırasıyla %8.1 ve %7.8) görülmektedir (13,16) (Tablo 4). Ortadoğu ve Afrika’da protrombin gen 20210A mutasyonu konusunda az sayıda sıklık çalışmaları yapılmış olup sonuçların Avrupa ülkelerine benzer oranlarda olduğu dikkati çekmektedir (17). A.B.D’de protrombin 20210A gen mutasyon sıklığı %1.6-2.5 arasında değişmektedir. Benzer şekilde Asya ve Avustralya’da düşük oranlar bildirilmiştir (14). Sonuçlarımızın Kıbrıs’tan bildirilenler ile benzer, diğer ülke sıklıklarından yüksek olduğu görülmektedir.

Bilgilerimize göre, çalışmamız ülkemizde FVL ve protrombin 20210A mutasyon sıklığı konusunda sağlıklı çocuklarda, Çukurova Bölgesi’nde yapılmış ilk çalışma olma özelliği taşımaktadır. Sonuçlarımız ülkemizdeki diğer çalışmalarla karşılaştırıldığında; FVL mutasyon sıklığı Edirne’deki sonuçlar dışında benzer oranda, protrombin 20210A mutasyon sıklığı ise Ankara ve Edirne bölgesinde yapılan çalışmalara göre daha yüksek bulunmuştur. Çalışma sonuçlarımız bölgemizde kalıtsal nedenlerle ilişkili tromboz riskinin yüksek olabileceğini ve ülkemizdeki diğer bölgelere göre protrombin 20210A mutasyonu ile ilişkili tromboz riskinin artmış olabileceğini düşündürmektedir. Bu konuda yapılacak çalışmalar konuya açıklık getirecektir.

KAYNAKLAR

1. Federman G.D, Kirsner S.R. An update on hypercoagulable disorders. Arch Intern Med 161: 1051-1056, 2001.
2. De Stefano V, Finazzi G, Mannucci M.P. Inherited thrombophilia: Pathogenesis, clinical syndromes and management. Blood 87(9): 3531-3544, 1996.
3. 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 90:1004-1008, 1993.
4. Bertina RM, Koeleman BPC, Koster T, et al. Mutation in blood coagulation factor V associated with resistance to activated protein C. Nature 369: 64-67, 1994.
5. Gürgey A, Mesci L. The Prevalence of Factor V Leiden (1691G A) Mutation Turkey. Turk J Pediatr 39: 313-315, 1997.
6. Akar N, Akar E, Dalgin G, et al. Frequency of factor V (1691G --> A) mutation in Turkish population. Thromb Haemost 78: 1527-1529,1997.
7. Özbek U, and Tangün Y. Frequency of factor V Leiden (Arg506Gln) in Turkey. Int J Haematol 64: 291- 292, 1996.
8. Akar N, Akar E, Yılmaz E, Sözüöz A. Frequency of FV 1299 His-Arg (A4070G) in Turkish Cypriots. Turk J Haematol 18: 243-244, 2001.
9. Vurkun M, Vural F, Demir M, et al. The prevalence of activated protein C resistance and FV Leiden in healthy population of Edirne, Turkey. Turk J Haematol 19 (2):287-291, 2002.
10. Rees DC, Cox M, Clegg JB. World distribution of factor V Leiden. Lancet 346: 1133-1134, 1995.
11. Ferrer-Antunes C, Palmeiro A, Green F, et al. Polymorphisms of fibrinogen, factor VII and factor V genes: Comparison of allele frequencies in different ethnic groups. [Abstract]. Thromb Haemost 73:1379, 1995.
12. Lucotte G and Mereier G. Frequency of Factor V Leiden (Arg506Gln) in France. Br J Haematol 99: 237-241, 1997.
13. Akar N, Mısıroğlu M, Akar E, et al. Prothrombin gene 20210 G A mutation in the Turkish Population. Am J Hematol 58: 249, 1998.
14. Rosendaal FR, Doggen CJM, Zivelin A, et al. Geographic distribution of the 20210 G to A prothrombin variant. Thromb Haemost 79: 706-708, 1998.
15. Franco F.R, Trip M.D, Cate H.T, et al. The 20210 G_A mutation in the 3-untranslated region of the prothrombin gene and the risk arterial thrombotic disease. Br J Haematol 104: 50-54, 1999.
16. Angelopoulou K, Nicolaides A, Constantinou Deltas C. Prevalence of genetic mutations that predispose to thrombophilia in a Greek Cypriot population. Clin Appl Thromb Hemost 6: 104-107, 2000.
17. Tamim H, Finan R.R, Almawi W.Y. Prevalence and distribution of the prothrombin G20210 mutation. Am J Hematol 71 (3): 235-236, 2002.

Yazışma Adresi:

Doç. Dr. Öznur Düzovalı
Mersin Üniversitesi
Çocuk Onkolojisi Bilim Dalı
Zeytinlibahçe 33079
MERSİN

Tel: (0.324) 337 43 00 / 1190
Faks: (0.324) 337 43 05
E-posta: oduzovali@mersin.edu.tr