



T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ GENETİK ANABİLİM DALI

İNME TANISI İLE TAKİP EDİLEN OLGULARDA TROMBOFİLİ İLE İLİŞKİLİ GENETİK POLİMORFİZMLERİN ROLÜ

UZMANLIK TEZİ
DR. SERKAN KURTGÖZ

DANIŞMAN
PROF. DR. GÖKAY BOZKURT

AYDIN -2012

T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ GENETİK ANABİLİM DALI

**İNME TANISI İLE TAKİP EDİLEN OLGULARDA
TROMBOFİLİ İLE İLİŞKİLİ
GENETİK POLİMORFİZMLERİN ROLÜ**

UZMANLIK TEZİ

DR. SERKAN KURTGÖZ

DANIŞMAN
PROF. DR. GÖKAY BOZKURT

AYDIN - 2012

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim boyunca, akademik bir ortamda çalışmamız için bilgi ve tecrübelerini hiçbir zaman esirgemeyen çok değerli hocam sayın Prof. Dr. Gökay Bozkurt'a,

Asistanlığım süresince birlikte çalıştığım ve bilgi paylaşımında bulunduğum Uzm. Dr. Salih Coşkun'a, Araş. Gör. Dr. Ece Keskin'e, Araş. Gör. Dr. İlker Güney'e, Uzm. Dr. Nesibe Kahraman Çetin'e ve laboratuarda birlikte çalıştığımız Metin Çalışkan'a, Yeşim Canözler'e ve Aylin Üsküplü'ye,

Rotasyonlarımı yaptığım, bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım değerli hocalarım Doç. Dr. Ayşe Tosun'a, Doç. Dr. Ayça Özkul'a, Prof. Dr. Mahmut Çoker'e, Uzm. Dr. Emin Karaca'ya, Uzm. Dr. Ebru Canda'ya, Uzm. Dr. Mehtap Kağnıcı'ya, Uzm. Dr. Melis Köse'ye ve Uzm. Dr. Samim Özen'e,

Ayrıca tüm eğitimim boyunca maddi ve manevi olarak desteklerini her zaman yanımda hissettiğim canım aileme,

Hayatıma anlam katan, arkadaşım, sırdaşım, yoldaşım canım eşim Pervin Kurtgöz'e sonsuz teşekkürler.

Dr. Serkan Kurtgöz

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
TEŞEKKÜR	i
İÇİNDEKİLER	ii
TABLO DİZİNİ	iv
ŞEKİL DİZİNİ	v
SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ	vi
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Serebrovasküler hastalıklar	3
2.2. Epidemiyoloji	3
2.3. Fizyopatoloji	4
2.4. Etiyoloji ve Sınıflandırma	5
2.4.1. Serebral İnfarkt	5
2.4.1.1. Geniş Arter Ateroskleroza	7
2.4.1.2. Kardiyoembolizm	9
2.4.1.3. Küçük Damar Oklüzyonu (Lakün)	10
2.4.1.4. Diğer Belirlenen Nedenlere Bağlı İskemik İnme	11
2.4.1.5. Nedeni Belirlenemeyen İskemik İnme	14
2.4.2. İntraserebral Kanama	15
2.5. Risk Faktörleri	16
2.5.1. Değiştirilemeyen risk faktörleri	17
2.5.1.1. Yaş	17
2.5.1.2. Cinsiyet	17
2.5.1.3. Irk	18
2.5.1.4. Aile öyküsü	18
2.5.2. Değiştirilebilen risk faktörleri	18
2.5.2.1. Kesinleşmiş faktörler	18
2.5.2.2. Kesinleşmemiş faktörler	22
2.6. Hemostaz Mekanizması	27
2.6.1. Pıhtılaşma Sistemi	27

2.6.2. Doğal Koagülasyon İnhibitörleri ve Fibrinolitik Sistem	29
2.7. Trombofili	29
2.7.1. Kalıtsal Trombofili Nedenleri	31
3. GEREÇ VE YÖNTEM	44
3.1. Kullanılan Cihaz Ve Kimyasallar	44
3.2. DNA İzolasyonu Kiti	45
3.2.1 High Pure PCR DNA izolasyon kiti içeriği	45
3.3. Polimorfizmlerin Analizi İçin Çalışma Protokolü	46
3.3.1. DNA izolasyon aşamaları	46
3.3.2. DNA konsantrasyonunun ölçülmesi	47
3.3.3. Gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (RealTime PCR)	47
3.3.4. LightCycler Mutasyon belirleme kiti karışımı ve çalışma protokolü	52
3.4. İstatistiksel Analiz	55
4. BULGULAR	56
5. TARTIŞMA	64
6. SONUÇ	79
7. ÖZET	80
8. SUMMARY	81
9. KAYNAKLAR	82

TABLO DİZİNİ

	Sayfa
Tablo I. TOAST sınıflamasına göre kardiyoembolizm risk faktörleri	10
Tablo II. Emboli kaynağı olabilecek kalp hastalıkları ve bunların tüm kardiyoembolik enfarktlar içindeki sıklıkları	10
Tablo III. İskemik ve hemorajik inmeli hastalardaki risk faktörlerinin görülme yüzdeleri	16
Tablo IV. İnme risk faktörlerinin sınıflandırılması	17
Tablo V. Kalıtsal trombofili nedenleri	30
Tablo VI. Kalıtsal trombofili nedenlerinin genel toplumda ve trombozlu hastalarda görülme sıklıkları	31
Tablo VII. MTHFR A1298C termal profili	53
Tablo VIII. RT-PCR karışımı	54
Tablo IX. TOAST sınıflamasına göre inme alt gruplarında yaş ortalamaları	56
Tablo X. BAMFORD sınıflamasına göre inme alt gruplarında yaş ortalamaları	56
Tablo XI. TOAST sınıflaması ve Bamford sınıflamasına göre iskemik inme alt tiplerine ilişkin tanımlayıcı istatistikler	57
Tablo XII. Polimorfizmlerin genotipik dağılımına ilişkin tanımlayıcı istatistikler	58
Tablo XIII. TOAST sınıflamasına göre alt gruplarda gen polimorfizmlerinin genotipik dağılımı	60
Tablo XIV. BAMFORD sınıflamasına göre alt gruplarda gen polimorfizmlerinin genotipik dağılımı	62

ŞEKİL DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 1. Ekstrakranial ve intrakranial damarlarda ve bunların bifurkasyon bölgelerinde aterom plakları	8
Şekil 2. Kranial arterlerin trombüsle tıkanması	8
Şekil 3. Koagülasyon kaskadı	28
Şekil 4. Karbon siklusunda homosistein ve MTHFR'nin rolü	35
Şekil 5. Renin-Anjiyotensin ve Kinin-Kallikrein sistemi	41
Şekil 6. Hibridizasyon problemleri	49
Şekil 7. Annealing basamağında eksite olan problemler	50
Şekil 8. LC cihazının optik kanallarının ölçüm yaptığı dalga boyları, kanallar arasındaki etkileşimler ve kullanılan floresan boyalar	51
Şekil 9. Kanal 2 (640)'de A1298C polimorfizmi için MTHFR geninin 1298. pozisyonunda görülebilecek üç muhtemel genotipinin erime eğrisi analiz sonuçları	59

SİMGELER VE KISALTMALAR

DNA	Deoksiribonükleik Asit
MTHFR	Metilen Tetrahidrofolat Redüktaz
PAI-1	Plazminojen Aktivatör İnhibitörü 1
ACE	Anjiyotensin Dönüştürücü Enzim
ApoE	Apolipoprotein E
eNOS	Endotelyal Nitrik Oksit Sentaz
ADÜ	Adnan Menderes Üniversitesi
DSÖ	Dünya Sağlık Örgütü
NMDA	N-metil-D-aspartik asid
Ca ⁺²	Kalsiyum
NO	Nitrik Oksit
GİA	Geçici İskemik Atak
TOAST	Trial of Org 10172 in Acute Stroke Treatment
BBT	Bilgisayarlı Beyin Tomografisi
KMR	Kraniyal Manyetik Rezonans
DUSG	Doppler Ultrasonografi
CADASIL	Cerebral Autosomal Dominant Arteriopathy with Subcortical Infarcts and Leukoencephalopathy
MELAS	Mitokondrial Myopati, Ensefalopati, Laktik Asidoz ve Stroke Benzeri Epizotlar
FMD	Fibromusküler displazi
SLE	Sistemik Lupus Eritematozis
STOP	Stroke Prevention Trial in Sickle Cell Anemia
GB3	Globotriaosilseramid
ACST	Medical Research Council Asymptomatic Surgery Trial
tPA	Doku Plazminojen Aktivatörü
MI	Miyokard İnfarktüsü
CRP	C-Reaktif Protein
Faktör II	Protrombin
DFYI	Doku Faktör Yolu İnhibitörü
AT-III	Antitrombin-III
DVT	Derin Ven Trombozu

CBS	Sistationin-B Sentaz
LDL	Düşük Yoğunluklu Lipoprotein
HDL	Yüksek Yoğunluklu Lipoprotein
VLDL	Çok Düşük Dansiteli Lipoprotein
EDTA	Etilendiamintetraasetiksit
RT- PCR	Gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu, RealTime PCR
LC	LightCycler
LED	Light Emitting Diode
FRET	Fluoresance Resonance Energy Transfer

1- GİRİŞ VE AMAÇ

İnme; hastalar, aileleri ve sağlık kurumları için ruhsal ve sosyoekonomik sorunlara yol açan, uzun dönem sakatlığın önemli nedenlerinden biridir (1). Amerika Birleşik Devletleri'nde (ABD) yaklaşık olarak yılda 750 bin kişi yeni veya tekrarlayıcı inme geçirmektedir ve yıllık insidansı yaklaşık 60/100000'dir. (2). Her yıl yaklaşık 270 bin kişinin ölümüyle sırasıyla kalp hastalığı ve kanserden sonra en yüksek 3. ölüm nedenidir (3). Türkiye'de ise 15 yaş üzeri ölümlerin en sık ikinci nedeni serebrovasküler hastalıklardır (4). İnme başlangıcından sonraki ilk bir ay içinde ölüm oranı ortalama %23'dür. Bu oran primer intraserebral kanamalar için %42, subaraknoid kanamalar için %32 ve iskemik inmeler için %16'lardadır (5). Son yıllarda inmeye bağlı mortalitede azalma izlenmekle birlikte, inme insidansı, inmeye bağlı hastane yatışları ve ekonomik maliyette artışlar saptanmıştır (1). İnme dünya toplumlarında en sık ölüm nedenlerinden biri, sakatlık ve engellilik yapan hastalıklar arasında birinci nedendir. İskemik inme etiyolojisinde genel kabul görmüş risk faktörleri yanında son yıllarda yapılan çalışmalar genetik faktörlerin de rolü olduğunu göstermektedir. İskemik inme görülme sıklığı yaşla birlikte artan, genetik ve çevresel faktörlerden etkilenen ve çok sayıda risk faktörünü barındıran multifaktöriyel bir hastalıktır. İnmede altta yatan genetik mekanizmanın inme riskini artıran faktörleri etkilediği düşünülmektedir (6). İnmeye yatkınlık oluşturduğu düşünülen çok sayıda genetik mutasyon ve polimorfizm tespit edilmistir. Faktör V, Metilen Tetrahidrofolat Redüktaz (MTHFR), Protrombin, Faktör XIII, Plazminojen Aktivatör İnhibitörü 1 (PAI-1), β -Fibrinojen, Anjiyotensin dönüştürücü enzim (ACE), Apolipoprotein E (ApoE) ve Endotelyal Nitrik Oksit Sentaz (eNOS) genlerinin polimorfizmleri bu mutasyonlar arasında yer almaktadır (6). Faktör V Leiden polimorfizmi, Faktör Va'nın aktive protein C tarafından inaktivasyonunu engellemekte ve tromboza eğilim artmaktadır (7). MTHFR gen polimorfizmi varlığında plazma homosistein düzeyi artışı ile tromboza eğilim artar (8). Protrombin genindeki polimorfizm varlığında serum protrombin düzeyi yükselerek tromboz riskini artırır (9). Faktör XIII genindeki polimorfizmin trombozdan koruyucu etkisi olduğu bildirilmektedir (10). PAI-1 genindeki polimorfizm varlığında, serum PAI-1 düzeyi artışı sonucu fibrinolitik aktivitenin azalması ile tromboza eğilim artar (11). β -Fibrinojen geninde polimorfizm varlığında plazma fibrinojen düzeyi artarak tromboza eğilimi artar (12). ACE genindeki polimorfizm, anjiyotensin dönüştürücü enzim aktivitesi artışıyla, vasküler hipertrofi ve vazokonstrüksiyona

katkıda bulunarak tromboza yatkınlığı artırır (13). APO E genindeki polimorfizmler kan lipoprotein düzeyini etkileyerek ateroskleroz gelişiminde rol oynarlar (14). eNOS genindeki polimorfizmler, nitrik oksit sentaz enzimi sentezinde ve salınımında düzensizliğe, bunun sonucunda da endotel disfonksiyonuna zemin hazırlayarak tromboza eğilimi artırır (15).

Çalışmamızda gen polimorfizmleri ile inme arasındaki ilişkiyi araştırmayı amaçladık. Adnan Menderes Üniversitesi (ADÜ) Tıp Fakültesi Nöroloji Anabilim Dalı polikliniğinde takip edilen hastalar içinden, inme geçirmiş olgularda trombofili ile ilişkili genetik polimorfizmlerin sıklığı değerlendirilmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Serebrovasküler hastalıklar

Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) inmeyi en geniş anlamıyla serebral işlevlerdeki fokal bozukluğa ilişkin 24 saatten uzun süren ya da vasküler kökenli bir neden dışında belirgin bir neden olmaksızın ölüme yol açan, hızlı gelişen klinik belirtiler olarak tanımlamıştır (16). Geçici iskemik atak, tüm belirtileri ilk 24 saatte düzelen beyin iskemisi durumudur. İskemik atak ilişkili nörolojik belirti ve bulgular üç saatten uzun sürerse 'kısa ömürlü inmeler' olarak isimlendirilir. Çünkü, bu hastaların büyük bir kısmında manyetik rezonans görüntülemeye beyin infarktüsünü düşündüren patolojik bulgular elde edilmiştir (17).

2.2. Epidemiyoloji

İnme insidansı, belirli bir zaman periyodunda bir popülasyonda ortaya çıkan yeni inme olgularını ifade eder, serebrovasküler olayların epidemiyolojisini incelemede en geçerli verilerden bir tanesidir. İnme insidansının yaşın ilerlemesi ile birlikte arttığı gözlenmiştir. Örneğin 45 yaş altı kişilerde inme oranı 0.2/1000 kişi/yıl iken 75-84 yaş arasında 16.0/1000 kişi/yıl olarak değişmektedir. Yaş standardizasyonu yapıldıktan sonra 55 yaş ve üstünde toplam inme insidansı 5.3/1000 kişi/yıl olarak saptanmıştır (5).

İnme prevalansı belirli bir zamanda bir popülasyondaki inmeli olguların toplam sayısıdır. Bu sayı inme insidansına ve yaşayabilen hastalara bağlıdır. Prevalans yaşla birlikte artmaktadır. Yaşın standardize edildiği çalışmalarda 65 yaş ve üzerinde 1000 kişilik popülasyonda inme prevalansı 58.6 oranındadır. Erkeklerde inme prevalansı 72.4/1000, kadınlarda ise 48.6/1000 olarak bulunmuştur (5).

Türkiye'de yapılan, 2000 yılında yayınlanan, 3100 hastayı içeren çok merkezli bir inme çalışmasında iskemik inme oranı %72, hemorajik inme oranı %28 olarak bulunmuştur (18). Genelde iskemik inme hemorajik inmeden 3-4 kat daha sık görülmektedir ve tüm inme olgularının %75'ini oluşturmaktadır. İntraserebral kanama olguların %30'unu oluşturmaktadır. Subaraknoid kanama sıklığı intraserebral kanama sıklığının genellikle üçte biri ile yarısı kadardır. İnfarkt alt tiplerinin sıklığı olguların seçildiği örnekleme, çalışmanın yapıldığı coğrafi alana ve araştırmacı tarafından oluşturulan tanı algoritmalarına bağlıdır. Serebral infarkt

olgularının yaklaşık %15-30'unun kardiyoembolizm kaynaklı infarkt, %14-40'ının büyük damar aterosklerotik infarkt, %15-30'unun küçük damar laküner infarkt olduğu gözlenmiştir. Arterit ya da diseksiyon gibi diğer belirlenmiş nedenlerden kaynaklanan inmeler genellikle %5'den azdır. Bilinmeyen nedenlere bağlı infarktlar iskemik infarktların yaklaşık %40'ını oluşturur (19).

2.3. Fizyopatoloji

Normal bir erişkinde istirahat serebral kan akımı dakikada yaklaşık 50-55 ml/100gr'dır ve serebral metabolik oksijen oranı dakikada 165 mmol/100gr'dır (20). İstirahatte, her kardiyak kasılma sonrasında 70 ml kan salınır; bunun 10-15 ml'si beyine tahsis edilir. Normal serebral kan akımını sağlamak üzere, her bir internal karotid arterde dakikada 350 ml, vertebrobaziller sistemde ise dakikada 100-200 ml kan akımı söz konusudur (19).

İskemik inme hipotansiyon veya hemodinamik nedenlerle oluştuysa arteriyel sınır veya "watershed" alanları tutulabilir. Kollateral kan akımının varlığında ana arter oklüzyonu mevcut ise arteriyel sulama alanının merkezinde kama şeklinde infarkt oluşabilir. Kollateral kanlanma alanının yokluğunda arter tarafından sulanan tüm alanda infarkt meydana gelir. İnternal karotid arter gibi büyük bir arter tıkanmasında multilobar infarkt ile bunu çevreleyen ödem gelişebilir. Emboli nedeniyle oluşan infarktlar serebral korteks ile beyaz cevher arasındaki bileşkeye yerleşme eğilimindedirler. İnfarktın erken reperfüzyonu pıhtı lizise uğradığı zaman oluşur bu da hemorajik transformasyona neden olabilir. Kardiyak emboliler genelde rekanalize olma eğilimindedir. Kırksekiz saat sonra çekilen anjiyografide %90 oranında açılma gözlenir. Bu rekanalizasyon eğilimi kardiyoembolik inme sonrası daha sık görülen hemorajik transformasyonun nedeni olabilir (21).

İskemi beyin enerji metabolizmasında bozulmaya, aerobik glikoliz kaybına, intraselüler sodyum ve kalsiyum birikimine, eksitotoksik nörotransmitterlerin salınımına, lokal asidoz ile birlikte laktat seviyelerinde yükselmeye, serbest radikal üretimine, hücre şişmesine, lipaz ve proteazların fazla aktivasyonuna ve hücre ölümüne neden olur (22). Kan akımı normalin %16'sından daha fazla azaldığı zaman (<12ml/100 gr./dak) ATP hızla tükenir, anoksik depolarizasyon ortaya çıkar (23). Akut dönemde aşırı glutamat salınması nedeniyle N-metil-D-aspartik asid (NMDA) ve non-NMDA reseptörleri aktive olur.

Hücre içine NMDA reseptörlerinden yoğun kalsiyum (Ca^{+2}) girişı sonucunda Ca^{+2} bağımlı enzimlerin aktivasyonu ve serbest radikal oluşumu ile gecikmiş hücre ölümü gerçekleşir. Serbest radikaller nükleik asitlere, lipidlere ve proteinlere bağlanarak hücreleri zedeler. Kan beyin bariyerini bozarak beyin ödemine, kanamaya ve inflamatuvar hücrelerin beyin parankimine geçişine neden olur. Nöron kaynaklı nitrik oksit (NO) artışı nörotoksiktir, endotel kaynaklı NO ise rezidüel kan akımını artırarak koruyucu rol oynar. Reperfüzyon sırasında endotel kaynaklı NO ve peroksinitrit oluşumu kan beyin bariyeri hasarına yol açabilir. Kalsiyumun hücre içindeki artışı lipaz, proteaz, endonükleazların aktivasyonu, mitokondriyal yüklenme ve serbest radikal oluşumunu arttırarak nöron ölümünü tetikler. Ölüm reseptörlerinin uyarılması ve mitokondriyal yolun aktivasyonu kaspaz 3,7 gibi yürütücü kaspazların aktif formlarına dönüşmesine ve çeşitli nükleer, sitoplazmik ve membranöz proteinlerin parçalanmasına neden olur. Katepsin ve kalpain gibi proteazların sınırlı aktivasyonu apoptozu tetiklerken şiddetli aktivasyonu nekroz gelişimine neden olur. Matriks metalloproteazlar damar bazal laminasındaki bağ dokusunu yıkarak kan beyin bariyeri hasarını artırır. İskemik bölgeye lökosit infiltrasyonunun olması geç iskemik hasarın ilerlemesine yol açar (24).

2.4. Etiyoloji ve Sınıflandırma

2.4.1. Serebral İnfarkt

Ciddi ateroskleroz ve üzerine yerleşmiş tromboz kaynaklı oklüzyon, arter ya da kardiyak kaynaklı embolizm, daha nadir görülen arteriyel diseksiyon, vaskülitler, hiperkoagülasyon durumları, vazospazm, sistemik hipotansiyon, disproteinemi ve polisitemi gibi hiperviskozite nedenleri, moya moya hastalığı, fibromüsküler displazi, tümör tarafından damarın kompresyonu gibi pek çok nedenle serebral perfüzyonda azalma ve bunun sonucunda infarkt gelişebilir.

İnmeler nöroradyolojik, kardiyolojik, hematolojik ve biyokimyasal tetkikler göz önüne alınarak; serebral iskemi (%60-80), intraserebral hemoraji (%10-15), subaraknoid kanama (%3-10) olmak üzere 3 ana grupta toplanmıştır (20). Bogousslavsky ve arkadaşları tüm inmelerin %89'unun iskemik, bunun da %42'sinin aterosklerotik nedenli inmeler olduğunu göstermişlerdir (25). Ülkemizde, Ege Üniversitesi'nde yapılan bir çalışmada, tüm inmelerin %77'si iskemiktir. Bunun da %37'si ateroskleroza bağlı inmelerdir (26). Batı toplumu ve Amerika'da tüm

inme hastalarının %85 kadarı iskemik inmeli hastalardır. İskemik inmenin %5 kadarını geçici iskemik ataklar oluşturmaktadır (27).

İskemik İnmeler zaman içindeki klinik gelişimlerine göre:

- 1) Geçici iskemik atak (GİA)
- 2) Reversibl iskemik nörolojik defisit
- 3) İlerleyici inme (Progresif stroke)
- 4) Yerleşmiş inme (Complete stroke)

olarak sınıflandırılır.

GİA'lar çoğunlukla 2-15 dakika süreli, nadiren 24 saate kadar uzayabilen, vasküler kaynaklı, geçici fokal serebral fonksiyon bozukluklarıdır. Kalıcı nörolojik hasar bırakmaz. Klinik tablonun bir günden daha uzun sürede (genellikle üç haftadan kısa) sekelsiz ya da tama yakın iyileşmesi durumuna reversibl (geri dönebilen) iskemik nörolojik defisit, bu süreyi aşan ve genellikle değişmeden kalanlara “yerleşmiş inme”, hastanın gözlem altında tutulduğu sırada nörolojik defisit artması ya da yeni nörolojik belirtilerin eklenmesi durumuna ‘ilerleyici inme’ denir (28). Gelişmiş ülkelerde ortalama yaşam süresinin artması bu grup hastalıkların görülme sıklığını artırmıştır. Bu sebeple risk faktörlerinin tespiti, primer ve sekonder profilaksi, erken tanı, inme rehabilitasyon ünitelerinin devreye girmesi mortalite ve morbiditeyi azaltmada nöroloji pratiğinde önemli bir çalışma alanını oluşturmaktadır.

Bamford ve arkadaşları klinik bulguları gözетerek iskemik serebrovasküler hastalıkları;

1. Total anterior dolaşım infarktları (TACI),
2. Parsiyel anterior dolaşım infarktları (PACI),
3. Posterior dolaşım infarktları (POCI),
4. Laküner infarktlar (LACI) olarak sınıflandırmışlardır (29).

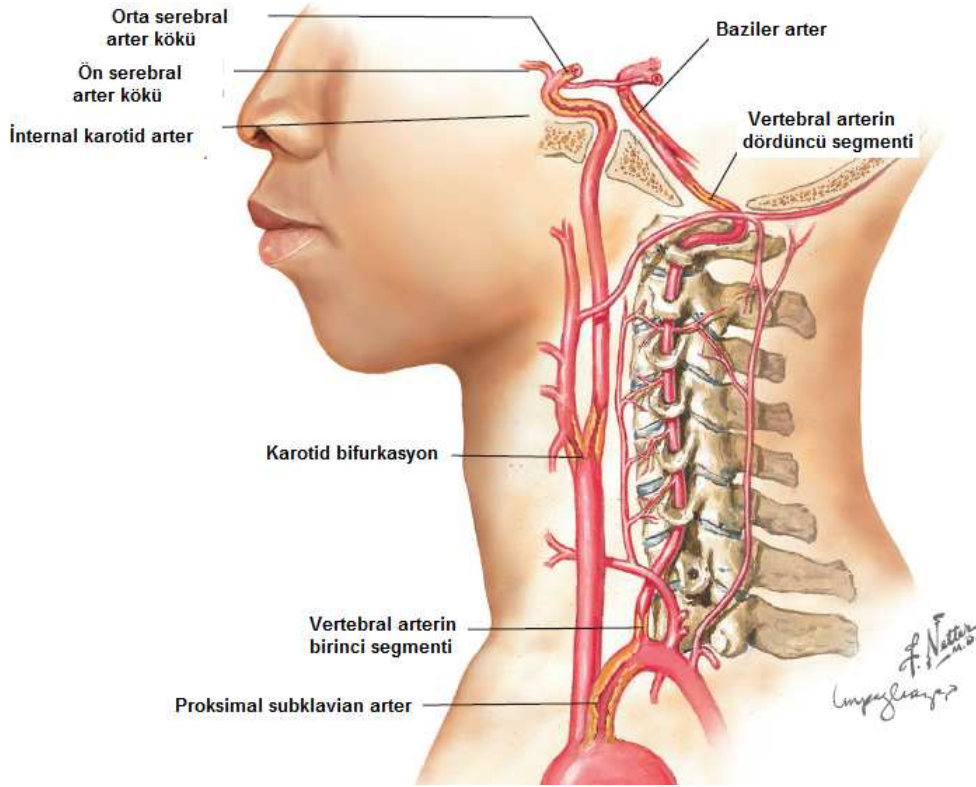
Bu sınıflandırma olası etiyolojik nedenler gözетilmediği için çok kullanılmamaktadır (30). “Trial of Org 10172 in Acute Stroke Treatment” (TOAST) çalışmasında kullanılan sınıflandırma ise klinik bulguların yanı sıra etiyolojik nedenleri de gözетir. Bu sınıflandırma 5 kategoriden oluşur;

1. Geniş arter ateroskleroza (tromboz veya emboli),
2. Kardiyoembolizm,
3. Küçük damar oklüzyonu (lakün),
4. Diğer belirlenen nedenlere bağlı iskemik inme,

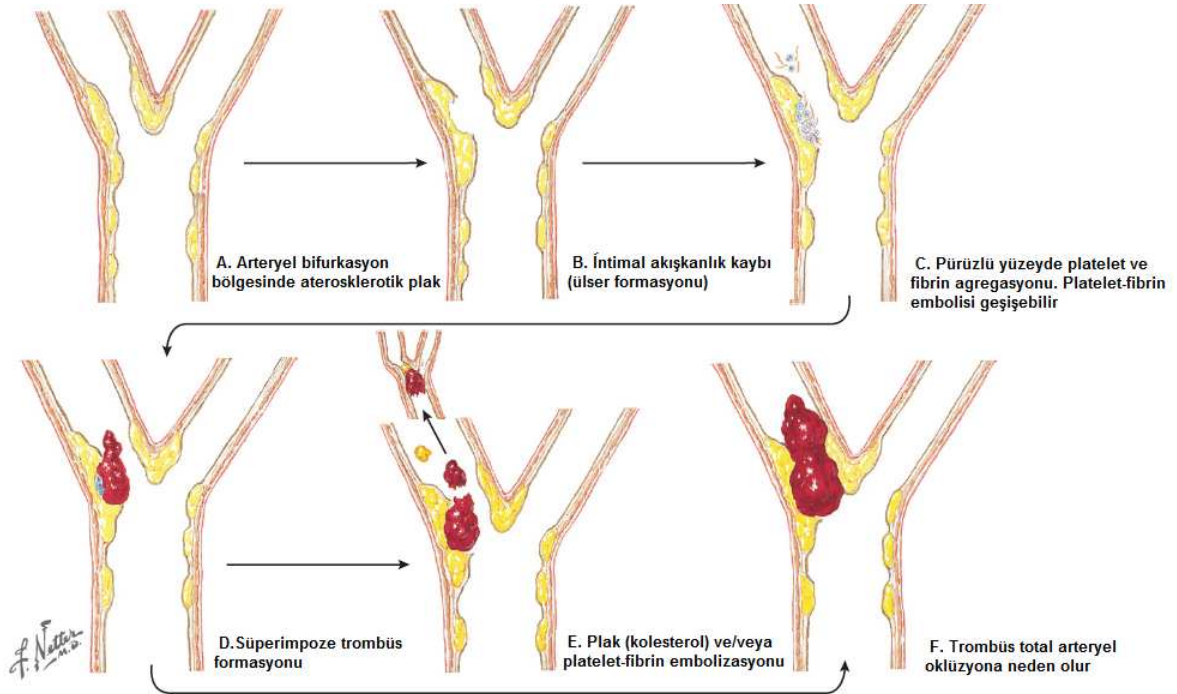
5. Nedeni belirlenemeyen iskemik inme şeklindedir (31).

2.4.1.1-Geniş Arter Ateroskleroza

Tüm iskemik inmelerin yaklaşık yarısı geniş arter ateroskleroza bağlıdır (31). Geniş arter ateroskleroza genelde ekstrakraniyal ve daha nadir olmak üzere intrakraniyal damarlarda ve bunların bifurkasyon bölgelerinde oluşan aterom plaklarının rüptürü ve bunu takip eden tromboza bağlı olarak gelişir. Proksimal arterlerin %70-80 ve üzerindeki darlıklarında geniş arter aterosklerozundan söz edilir. Aterosklerotik inmeler genelde sabah erken saatlerde ve günün aktif saatlerinde gerçekleşir. Ancak uykudan uyanınca fark edilen inmelerin büyük bir çoğunluğu da bu grupta yer alır. Aterosklerotik inmeler %44 oranında sonbahar mevsiminde gelişme eğilimindedirler (32). Kliniğinde sıklıkla yüksek kortikal fonksiyon bozuklukları, duyuusal ve motor etkilenmeler, nadiren de beyin sapı ve serebellar fonksiyon bozuklukları görülebilir. İnmenin geniş arter aterosklerozuna bağlı olduğunu söyleyebilmek için muhtemel kardiyoemboli kaynağı olmaması, bilgisayarlı beyin tomografisi (BBT) ve kraniyal manyetik rezonansda (KMR) bir arter sulama alanına uyan infarkt çapının 1.5 cm'den büyük olması, Doppler ultrasonografi (DUSG) ve anjiyografi de semptomdan sorumlu damarda %50'den fazla stenoz veya oklüzyon tespit edilmesi gereklidir. Bu tetkiklerin normal olduğu hastalarda geniş arter aterosklerozuna bağlı inme tanısı konulamaz (30).



Şekil 1. Ekstrakranial ve intrakranial damarlarda ve bunların bifurkasyon bölgelerinde aterom plakları (31)



Şekil 2. Kranial arterlerin trombüsle tıkanması (31)

2.4.1.2. Kardiyoembolizm

Tüm iskemik inmelerin %20'sini oluşturan kardiyoembolizmde, arteriyel oklüzyonun nedeni kalpten kaynaklanan embolilerdir (32). Emboliye yol açan kalp hastalıkları, yüksek riskli ve orta riskli olmak üzere alt gruplara ayrılmıştır. Kardiyoembolizme neden olan kalp hastalıkları akut miyokard infarktüsü, sol ventrikül anevrizması, kardiyak aritmiler, dilate kardiyomiyopati gibi sıralanabilir. Orta yaş ve üzerinde en sık görülen kardiyoemboli nedeni miyokard infarktüsü, ileri yaşta ise nonvalvüler atriyal fibrilasyondur (34). Kardiyoembolik inmelerin %52 gibi büyük bir kısmı sabah uyanmayı takip eden ilk saatlerde gerçekleşir ve mevsimsel fark göstermez (33). Kliniği geniş arter aterosklerozuna benzer. Ayırımı kardiyak emboli kaynağının gösterilmesi ile yapılır. Kardiyoembolik infarkt yıllardır epileptik nöbet açısından tartışmalı bir risk faktörü olarak bilinmektedir (35, 36). Ancak son yapılan çalışmalar kardiyoembolik inme ile epileptik nöbet gelişimi arasında bir birliktelik olmadığını düşündürmektedir (37). Kardiyoembolik inmeli bazı olgularda bulguların hızla düzelme eğilimi göstermesi kardiyoembolik infarktın rekanalizasyonu ile açıklanabilir. Tıkalı damarın erken rekanalizasyonu iskemik lezyonun hemorajik lezyona dönüşümüne de neden olabilir. Kardiyoembolik infarktta BT veya MR'da, geniş arter aterosklerozunda olduğu gibi, bir arter alanına uyan geniş kortikal infarktlar görülebilmekle birlikte, değişik vasküler alanlarda birden fazla lezyonun varlığı ayırıcı tanıda yol göstericidir (30).

Tablo I. TOAST sınıflamasına göre kardiyembolizm risk faktörleri

Yüksek Risk Faktörleri

- Mekanik prostetik kapak
- Atrial fibrilasyonlu mitral stenoz
- Atrial fibrilasyon
- Sol atrial trombüs
- Hasta sinus sendromu
- Yeni geçirilmiş miyokard infarktusu (<4 hafta)
- Sol ventrikuler trombus
- Dilate kardiyomiyopati
- Akinetik sol ventrikuler segment
- Atrial miksoma
- İnfektif endokarditis

Orta Risk Faktörleri

- Mitral valv prolapsusu
- Mitral annulus kalsifikasyonu
- Mitral stenoz
- Atrial septal anevrizma
- Patent foramen ovale
- Konjestif kalp yetmezliği
- Hipokinetik sol ventrikuler segment
- Miyokard infarktusu (>4 hafta, <6 ay)

Tablo II. Emboli kaynağı olabilecek kalp hastalıkları ve bunların tüm kardiyembolik enfarktler içindeki sıklıkları

	Görülme Sıklıkları
Nonvalvuler atrial fibrilasyon	%45
Akut miyokard enfarktüsü	%15
Geç dönem miyokard enfarktüsü (akinetik segment vb.)	%10
Romatizmal kalp hastalığı	%10
Romatizmal kalp hastalığı	%10
Diğer nedenler*	%10

*Diğer nedenler; (mitral kapakçık prolapsusu, mitral anulus kalsifikasyonu, nonbakteriyel trombotik endokardit, kalsifiye aort stenozu, kardiyak miksoma, paradoksal emboli, noniskemik dilate kardiyomyopati, infektif endokardit)

2.4.1.3. Küçük Damar Oklüzyonu (Lakün)

Genellikle, hipertansiyon veya diyabeti olan yaşlı hastalarda ortaya çıkan bu inme tipi tüm iskemik inmelerin %25'ini oluşturur (32). Laküner infarktlar penetran arterlerin aterosklerozuna bağlı oklüzyon veya mikroemboli sonucu ortaya çıkabilir. Küçük damar oklüzyonu tanısı için BT/MR'da saptanan infarkt çapının 1.5 cm'den küçük olması gereklidir. Bu olgularda emboliye yol açabilecek bir kalp hastalığı veya ipsilateral arterde %50'den fazla stenoza yol açan büyük damar hastalığı bulunmamalıdır (30). Lakünler tek veya çoklu, semptomatik veya asemptomatik olabilirler. En az 20 tip laküner sendrom tanımlanmıştır (38). Bunlar arasında en sık görülenler saf motor hemiparezi, saf duyusal inme, duyusal motor inme, ataksik hemiparezi, disartri-beceriksiz el sendromudur. Çok sayıda lakünler kognitif yetide azalmaya neden olabilir.

2.4.1.4. Diğer Belirlenen Nedenlere Bağlı İskemik İnme

Tüm iskemik inmelerin %5'inden daha az oranda görülürler (32). Bu grupta santral sinir sisteminin birincil ve ikincil vaskülitleri, fibromusküler displazi, moya moya hastalığı, migren, CADASIL (Cerebral Autosomal Dominant Arteriopathy with Subcortical Infarcts and Leukoencephalopathy, Serebral Otozomal Dominant Arteriyopati Subkortikal İnfarktlar ve Lökoensefalopati), Sneddon sendromu, Fabry hastalığı, kollojen doku hastalıkları (Marfan sendromu, psödoksantoma elastikum, osteogenezis imperfekta), serebral amiloid anjiyopati, mitokondriyal hastalıklar (MELAS, Mitokondriyal myopati, Ensefalopati, Laktik asidoz ve Stroke benzeri epizotlar), travma ve diseksiyon ile kan hastalıkları (orak hücre anemisi) yer alır. Anjiyografi, leptomeningeal biyopsi ve ayrıntılı hematolojik, biyokimyasal ve mikrobiyolojik testlerle tanı konulur. Potansiyel kardiyembolizm ve geniş arter aterosklerozu dışlanmalıdır (30).

2.4.1.4.1 Fibromusküler displazi (FMD)

FMD etyolojisi belli olmayan ve multifokal tutulum gösteren non-ateromatöz bir hastalıktır. Distal ekstrakranial vertebral, karotis ve renal arterleri tutar ve genç bayanlarda daha sık görülür. FMD'de damarlarda düz kas hiperplazisi, elastik membran harabiyeti ve arteryel duvar bozukluğu mevcuttur. Vasküler lezyonlar daha çok asemptomatik olmakla birlikte servikal ve serebral arterlerin diseksiyonları, intrakranial dev anevrizmalar, arteriovenöz fistüller

görülür (38). Arteriografide tutulan damarlarda 'tesbih dizisi' şeklinde zaman zaman genişlemiş ve daralmış arter lümeni görülür. İntrakranial anevrizmalara sık rastlandığından dolayı bu hastalarda serebral angiografi yapılmalıdır. Hipertansiyonu olan hastalarda FMD tutulumu yönünden renal arterler de görüntülenmelidir (39).

2.4.1.4.2 Moyamoya hastalığı

Tüm dünyada görülmekle birlikte ilk olarak Japon çocuklarında tanımlanmış bir hastalıktır(40). Moyamoya hastalığı genç erişkinlerde iskemik inmeye, daha yaşlılarda intraserebral kanamaya yol acar. Çocuklarda ise tekrarlayan iskemik olaylar, yavaş ilerleyen mental yıkım, istemsiz hareketler ve epileptik nöbetler görülebilir. Yıllık insidansı 1/100.000'dir (28). Bir veya iki karotis arterin oklüzyonu ile beyin tabanında internal karotid arterlerin terminal bölümlerini dolduran birçok küçük kollateral damarlar oluşur (40). Hastalığın başlangıç yaşı %47,8 vakada 10 yaş altında olmasına rağmen klinik daha çok 25-49 yaşları arasında gözlenir. Tanı için konvansiyonel anjiografi gereklidir (39).

2.4.1.4.3 Sneddon sendromu

İdiyopatik livedo retikularis ve serebrovasküler hastalıkların birlikte olduğu bir durumdur. Birçok olguda ilk semptomlar 20-40 yaşlarında görülür ve kadınlarda daha sık rastlanır. Serebral damar bozuklukları, GlA ve inmeler şeklinde kendini gösterir. İnfarktlar genellikle orta çaplı arter alanlarında sınırlıdır. Serebral anjiografilerde normal ya da serebral arterlerin distal dallarında multipl tıkanmalar görülebilir (41). Sistemik lupus eritematozis (SLE) ve diğer kollojen doku hastalıklarıyla birlikte görülebilen antifosfolipid antikorları, Sneddon sendromunda da görülüp, trombotik komplikasyon riskini artırmaktadır (42).

2.4.1.4.4. Migren

Daha önceden auralı migreni olan bir kişide, inme bir atak sırasında gelişebilir. İnmeye yol açabilecek bütün etyolojik faktörler ekarte edilmelidir. Ortaya çıkan nörolojik defisit inme daha önceki migren atakları sırasında görülen bulgulara benzer olması durumunda migren ile inme arasında bir ilişki kurulabilir (50). Populasyonda oldukça sık görülmesine rağmen migrenden kaynaklanan inme oldukça nadirdir (39, 42). Yapılan çalışmalarda migrene bağlı inme gençlerde

%1.25-25 gibi geniş bir aralıkta değişen oranlarda bulunmuştur (43, 44). Bevan ve ark.'nın serisinde %38 oranında migren tanısı konulmasına rağmen ancak bir hastada tek neden olarak migren bulunmuştur (43). Migrene bağlı inme en sık posterior serebral arter sulama alanında görülüp, serebral vazospazm, trombosit agregasyonundaki artış bundan sorumlu tutulur (42).

2.4.1.4.5. CADASIL

CADASIL çoğunlukla otozomal dominant geçişli, 19. kromozomda NOTCH3 geninde mutasyonun gözlemlendiği bir genetik hastalıktır. Belirtiler ortalama 45 yaşlarında görülür. Tekrarlayan subkortikal iskemik inmeler, demans, migren baş ağrıları, nöropsikiyatrik semptomlar sık görülen belirtilerdir (39). CADASIL'da en sık GİA ve iskemik inme görülmekle birlikte demans, psödübulber paralizi, üst motor nöron bulguları ve üriner inkontinansa da sıkça rastlanır (39, 40). Hastaların %40'ında 20-40 yaşları arasında auralı veya aurasız migren atakları görülebilir ve bunlar hastalığın ilk belirtisi olabilir (42). Vakaların %20'sinde bipolar affektif bozukluk ya da depresyon gibi psikiyatrik semptomların görüldüğü CADASIL hastalığında aynı zamanda %6-7 oranında nöbetler ve sağırılık gözlenebilir. Lezyonlar daha çok periventriküler bölge ve sentrum semiovalede görülüp, hastalığın patolojisinde serebral arteriollerde kalınlaşma, miyelinli yollarda diffüz soluklaşma tespit edilir (39).

2.4.1.4.6. MELAS

Mitokondrial miyopati, ensefalopati, laktik asidoz, inmeye benzer epizotlarla karakterize, mitokondrial DNA'da mutasyon sonucu ortaya çıkan, herediter bir hastalıktır. Kısa boy, tekrarlayan inmeye benzeri epizodlar, epilepsi, migren tipi baş ağrıları başlıca belirtileridir. Hastalarda daha sonra demans gelişir. Çocuklarda, gençlerde veya orta yaşlı kişilerde görülebilir (42).

2.4.1.4.7. Orak hücreli anemi

Otozomal dominant geçişlidir. Serebrovasküler hastalıklar orak hücreli anemide mortalite ve morbiditenin en önemli nedenidir. Orak hücreli anemisi olan olguların 20 yaşına kadar olan inme prevalansı %11'dir. "Stroke Prevention Trial in Sick Cell Anemia (STOP)" çalışmasında sık kan transfüzyonları uygulanan grupta, inme riskinin %10'dan %1'e düştüğü gösterilmiştir. Orak hücreli anemisi

olan hastalarda transkraniyal doppler USG ile serebral kan akımının hızında artış saptanması, inme riskinin %10 arttığını göstermektedir (45).

2.4.1.4.8. Fabry hastalığı

Fabry hastalığı Xq22'de lokalize α -galaktosidaz A genindeki mutasyonlara bağlı gelişen X'e bağlı kalıtılan bozukluktur. α -galactosidase A geninde 150'den fazla mutasyon tanımlanmıştır. Mutasyonlar nedeniyle lizozomal hidrolaz α -galaktosidaz A enzim aktivitesi çok düşük seviyeye iner (46). Enzim eksikliği ile özellikle globotriaosilseramid (GB3) ve gliosfingolipitler başta vasküler endotel ve düz kas hücrelerinde olmak üzere myokard, renal epitel ve santral sinir sisteminde birikir. Cilt damarlarının dilatasyonu ve proliferasyonu ile anjiokeratom gelişir. İnsidans 1/117000 canlı doğumdur (47). Çoğunlukla çocukluk veya adölesan dönemde nöropatik ağrı, akroparestezi, anhidroz, cilt ve mukozalarda anjiokeratomlar gelişir. Gözde korneal opasiteler, retrolentiküler katarakt, tortüyo retinal damarlar saptanır. Dördüncü dekatta kardiyak, renal ve serebro vasküler yetmezlik sonucu ciddi morbidite gelişir (46, 48). Serebrovasküler bulgular geniş ve küçük arterlerin patolojilerine bağlı gelişir. Kortikal geniş enfartlar ektazik arterlerdeki arter-arter embolilerine bağlı gelişir ve bu durum protrombotik yatkınlığı düşündürmektedir (49). Buna rağmen Fabry hastalığında inme patofizyolojisi anlaşılamamıştır.

2.4.1.5. Nedeni Belirlenemeyen İskemik İnme

Bu grupta ayrıntılı tetkiklere rağmen etiyolojisi saptanamayan serebral infarktlarla yeterli tetkik edilemeyen olgular yer alır. Ayrıca, yapılan tetkiklerde birden fazla etiyolojik neden saptanan olgular da bu grupta değerlendirilmelidir (30).

2.4.2. İntraserebral Kanama

İnmelerin %15-20'sini oluşturur. Serebral kanamalar %6-8 oranında subaraknoid, %80 oranında intraparaknimal, %12-14 oranında karışık tiptedir (18).

İntraserebral kanamanın ana nedeni hipertansiyondur. Hipertansiyon diğer inme gruplarına göre intraserebral kanama için daha önemli bir risk

faktörüdür. İntraserebral kanama nedeniyle başvuran hastalarda diğer inme hastalarına göre hipertansiyon öyküsü ve sol ventrikül hipertrofisi olma sıklığı daha fazladır (%72-81) (50). İntraserebral kanamalar arasında hipertansiyonun neden olduğu olguların oranı yaklaşık %50'dir (51).

İntraserebral kanamanın nedenleri arasında kafa içi anevrizmalar, arteriyovenöz malformasyonlar, küçük damar patolojileri de yer almaktadır. Anjiyografi yapılan yaş ortalaması 46 olan 38 intraserebral kanamalı genç hastanın 23'ünde arteriyovenöz malformasyon, 9'unda anevrizma saptanmıştır (50). Arteriyovenöz malformasyonlar özellikle genç intraserebral kanamalı olguların önemli bir kısmında saptanmaktadır. Vasküler malformasyonlarda kendiliğinden kanamalar olabildiği gibi, travmaya ikincil kanamalar da gelişebilir (52). Küçük arteriyovenöz malformasyonlar veya kavernöz anjiyomlar nedeniyle oluşan kanamalar genelde serebral hemisferin subkortikal beyaz cevherinde yerleşme eğilimindedirler ve hipertansiyon kaynaklı intraserebral kanamalara göre daha küçük hacimlidirler. Genelde küçük arteriyovenöz malformasyonlar veya kavernöz anjiyomlar nedeniyle oluşan kanamalara daha genç hastalarda rastlanır.

Serebral tümörlerin içine kanama nadir görülür ve tüm intraserebral kanamaların %10'undan azını oluşturur. Bu komplikasyona en sık neden olan tümör tipleri glioblastoma multiforme, melanoma veya bronkojenik karsinom ve renal hücreli karsinom metastazları olarak sıralanabilir. Malign beyin tümörüne ikincil intraserebral kanamada prognoz kötüdür.

Hemofili gibi kanama bozukluklarından kaynaklanan intraserebral kanama vakaları da nadir görülür. Bu tür kanamalar genelde 18 yaşından küçük hastalarda gelişir.

Oral antikoagülan tedavisi alan hastalarda intraserebral kanama görülme sıklığı oral antikoagülan tedavi almayan hastalara oranla daha fazladır (50). Ciddi lökoariyozis bulunan hastalarda oral antikoagülanların intraserebral kanama geliştirme yönündeki etkisi daha belirgindir (53). Benzer şekilde serebral amiloid anjiyopati gibi bazı anjiyopatilerin varlığında oral antikoagülanların kullanımı intraserebral kanama riskini artırmaktadır (54).

Tüm incelemelere rağmen intraserebral kanamaların %20'sinin nedeni belirlenememektedir (18).

2.5. Risk Faktörleri

Bir hastalığın oluşmasında yatkınlık yaratan etkenler risk faktörü olarak tanımlanır. İnme için risk faktörlerinin saptanması, koruyucu hekimlik uygulamaları açısından önem arz etmektedir. Bazı risk faktörlerinin değiştirilmesi mümkün değildir. Ancak bir takım risk faktörleri tıbbi tedavi ve/veya cerrahi uygulamalarla rahatlıkla kontrol altına alınabilmektedir. Tablo III'te iskemik ve hemorajik inmeli hastalardaki risk faktörlerinin görülme yüzdeleri verilmiştir (18).

Tablo III. İskemik ve hemorajik inmeli hastalardaki risk faktörlerinin görülme yüzdeleri (18)

	İskemik (%)	Hemorajik (%)
Hipertansiyon	62.4	79.2
Kardiyopati	59.4	22.5
Obezite	50	50.6
Ateroskleroz	41	38.6
Sigara	41	34.9
Horlama	30	30.4
Hiperlipidemi	25	25
Diyabetes Mellitüs	23	11.9
Yüksek hematokrit	17.2	13.8

Tablo IV. İnme risk faktörlerinin sınıflandırılması (18)

A. Değiştirilemeyen risk faktörleri
• Yaş
• Cinsiyet
• Irk
• Aile öyküsü
B. Değiştirilebilen risk faktörleri
a) Kesinleşmiş faktörler
• Hipertansiyon
• Diyabetes Mellitus
• Kalp hastalıkları
• Hiperlipidemi
• Sigara
• Asemptomatik karotid stenozu
• Orak hücreli anemi
b) Kesinleşmemiş faktörler
• Alkol kullanımı
• Obezite
• Beslenme alışkanlıkları
• Fiziksel inaktivite
• Hiperhomosisteinemi
• İlaç kullanımı ve bağımlılığı
• Hormon tedavisi
• Uykuda solunum bozuklukları
• Fibrinojen
• İnflamasyon
• Enfeksiyon
• Migren
• Hiperkoagülabilite

2.5.1. Değiştirilemeyen risk faktörleri

2.5.1.1. Yaş

İleri yaş inme için en güçlü risk faktörüdür. Tüm inmelerin yaklaşık yarısı 70 yaş üstü bireylerde görülür (20). İnme insidansının, yaş artışı ile progressif bir şekilde yükseldiği gözlenmiştir. Örneğin, 45 yaş altı kişilerde inmenin oranı 0.2/1000 kişi/yıl iken 75-84 yaş arası 16.0/1000 kişi/yıl olarak değişmektedir (5).

2.5.1.2. Cinsiyet

Erkeklerde inme görülme sıklığının kadınlardakinden daha fazla olduğu bilinmektedir. Ancak 35-44 yaşları arasında ve 85 yaş üstü kadınlarda, inme

insidansı erkeklere göre biraz daha fazla bulunmuştur. İnmeyle bağlı ölümler de kadınlarda daha fazladır (5).

2.5.1.3. Irk

Hispaniklerde ve siyah ırkda inme sıklığı daha fazladır. Ayrıca Japon'larda, Çin'lilerde ve Kore'lilerde beyaz ırka göre intraserebral kanama daha çok görülür. Amerika Birleşik Devletleri ve Batı Avrupa'da intraserebral kanama sıklığı %20'iken, Japonya'da bu oran %40'dır (20).

2.5.1.4. Aile öyküsü

Aile öyküsü varlığı artmış inme riski ile paralellik gösterir. Aile öyküsünün inme üzerine etkisinde genetik faktörlerin yanı sıra ailede paylaşılan sosyokültürel yaşam koşulları da etkili olmaktadır (5). Kalıtsal dislipoproteinemiler, kalıtsal aterosklerotik olmayan vaskülopatiler (Marfan sendromu, Sturge-Webersendromu gibi), kalıtsal kardiyak hastalıklar (ailesel atrial miksoma, kalıtsal kardiyomiyoopatiler, kalıtsal kardiyak iletim hastalıkları gibi), kalıtsal hematolojik bozukluklar (Protein C, S veya antitrombin eksikliği gibi) ve hâlâ tartışmalı olan protrombin gen mutasyonlarının ailesel yatkınlığa neden olduğu düşünülmektedir. Framingham çalışmasında tek yumurta ikizlerinde inme görülme riski farklı yumurta ikizlerine göre 5 kat daha fazla bulunmuştur (55).

2.5.2. Değiştirilebilen risk faktörleri

2.5.2.1. Kesinleşmiş faktörler

2.5.2.1.1. Hipertansiyon

Serebral infarkt ve intraserebral kanama için en önemli risk faktörüdür (56). Arteriyel hipertansiyon sistolik kan basıncının 140 mmHg'nin üzerinde, diyastolik kan basıncının 90 mmHg'nin üzerinde olması şeklinde tanımlanır. Optimal kan basıncı değerinin sistolik için 120 mmHg, diyastolik için ise 80 mmHg'nin altında olması amaçlanır (57). İskemik inmeli olguların %62.7'sinde, hemorajik inmeli olguların %79.2'sinde hipertansiyon saptanmıştır (18). Kan

basıncı 140/90 mmHg'nın üzerinde ölçülen hipertansif hastalarla hipertansiyonu olmayan hastalar karşılaştırıldığında inme geçirme riski hipertansif hastalarda 3-4 kat daha fazladır. Kan basıncı 130-139/85-89 mmHg arasında ölçülen sınırdaki hipertansif hastalarda hipertansiyonu olmayan hastalarla karşılaştırıldığında inme riski 1.5 kat artmıştır (56).

Arteriyel hipertansiyonun aterosklerozu artırarak ve kalp hastalığına gidişi hızlandırarak inmeye neden olduğu düşünülmektedir. Özellikle izole sistolik hipertansiyon ve artmış nabız basıncı olan hastalar inmeye daha yatkındır. Sistolik kan basıncının 10-12 mmHg ve diyastolik kan basıncının da 5-6 mmHg düşürülmesi ile inme insidansında %38'lik azalma gözlenmiştir (58). Hipertansiyon büyük damarlarda ateroskleroz sürecini başlatarak arteriyel embolik ve hemodinamik tipte iskemik inmelere neden olabilir. Hipertansiyona ikincil gelişen kalp hastalıklarının komplikasyonları kardiyembolik inmelere neden olabilir. Hipertansiyonun serebral küçük damar hastalıkları için oluşturduğu risk daha belirgin ve dolaysızdır. Hipertansif serebral mikroanjiyopatiler laküner tip iskemik inme ve primer intraserebral kanamaların en az 2/3'ünden direkt olarak sorumludur (56).

Hipertansiyon tedavisi ile inme geçirmiş hastalarda yineleme riski de azalır. Yani antihipertansif tedavi inmenin ikincil korunmasında da etkilidir. Antihipertansiflerle yapılan çalışmaların meta-analizinde yineleyici inme riskinin %24 oranında azaldığı gösterilmiştir (58).

2.5.2.1.2. Diyabet

Hiperinsülinemi ve glukoz intoleransı ile karakterize diyabeti olan hastalarda, diyabeti olmayan bireylere göre inme riskinin yaklaşık 4 kat arttığı tahmin edilmektedir. Diyabetli hastalarda inme sonrası mortalite ve morbidite daha yüksektir. Arteriyel hipertansiyona diyabetin eklenmesi inme riskini daha da artırır (19).

2.5.2.1.3. Kalp hastalıkları

Tüm iskemik inmelerin yaklaşık %20'si kardiyemboliye bağlıdır (30). Kardiyembolizm genellikle yineleyici inmeye neden olur. Sıklıkla tedavi şansının

olması nedeniyle inme etiyolojisinde önemli bir yeri vardır (39). Kardiyoembolik inmeler için en önemli risk faktörleri yapısal kalp kapak hastalıkları ve atriyal fibrilasyon başta olmak üzere aritmilerdir. Atriyal fibrilasyon inme riskini 5 kat artırmaktadır (60). Atriyal fibrilasyonlu hastalarda warfarin tedavisi kullanılarak INR değerinin 2-3 arasında tutulması inme sıklığını yaklaşık %67 oranında azaltır (30).

Gençlerde görülen en önemli kardiyoembolizm nedenleri mitral stenoz, kapak replasmanı ve bu hastalarda görülebilen infektif endokardit, kardiyak tümörler, Libman-Sack endokarditi ve dilate kardiyomiyopatilerdir (30). Özellikle gelişmekte olan ülkelerde romatizmal kalp hastalıklarına ikincil gelişen kardiyoembolizm sık gözlenir. Son yıllarda patent foramen ovale ile iskemik inme arasında anlamlı bir ilişki saptanmıştır (39).

Orta yaş ve üzerinde ise en sık görülen kardiyoembolizm nedeni miyokard infarktüsüdür (MI). Miyokard infarktüsünden sonra inme gelişme riski ilk 2 hafta içinde yükselmiştir. Ön duvar infarktüslerinde ve düşük ejeksiyon fraksiyonu bulunan hastalarda risk daha da artmaktadır.

İleri yaşta en önemli kardiyoembolik risk taşıyan hastalık nonvalvüler atriyal fibrilasyondur. Yaş arttıkça görülme sıklığı da artan bu hastalığın prevalansı 80-89 yaşları arasında %8.8'dir. Nonvalvüler atrial fibrilasyonu olan hastalarda inme görülme sıklığı yılda %2-12 olmakla birlikte, daha önce geçirilmiş inme ve geçici iskemik atak öyküsü olanlarda, ileri yaşta, kadınlarda ve hipertansiyonu olan hastalarda bu risk daha da artmaktadır (30).

2.5.2.1.4. Hiperlipidemi

Birçok çalışmada serum kolesterol düzeyi ile aterosklerotik damar hastalıkları arasında kuvvetli bir ilişki gösterilmiştir (61). Arteriyel sistemdeki lipid anormalliklerinin ilk belirtisi erken yaşlarda gözlenebilen yağ çizgileridir. Bu yağ çizgileri türbülant akımın olduğu bölgelerde fibröz plaklara dönüşür. Orta ya da ileri yaşlarda plağın yüzeyi damarın stenozuna ve damarın o segmentinden geçen kan akımının azalmasına yol açar (62). Plak yüzeyinde zedelenme sonucunda o bölgede tromboz gelişebilir ve emboli atabilir. Hiperlipidemisi olan olgularda ateroskleroza bağlı damar stenozu veya tromboemboli mekanizmaları nedeniyle iskemik inme gelişme riski daha yüksektir. Ülkemizde 40 nöroloji merkezinin katıldığı 3100 inme olgusunun hastane tabanlı verilerinin analiz edildiği çalışmada iskemik inme olgularının %41.5'inde, hemorajik inmeli olguların ise %78.7'sinde

serum kolesterol yüksekliği saptanmış ve hiperkolesteroleminin hem iskemik hem de hemorajik inme için bağımsız bir risk faktörü olduğu gösterilmiştir (18).

2.5.2.1.5. Sigara

İnme sigara içenlerde, içmeyenlere oranla 2-3 kat daha sık görülmektedir. Sigaranın inme sıklığını artırmadaki rolü net değildir. Sigara kullanımı trombosit kümelenmesinde artışa, damar kompliyanısında ve kan oksijen kapasitesinde azalmaya, kardiyak aritmilere, HDL kolesterol seviyesinde düşüşe neden olmaktadır. Ayrıca ani kan basıncı yüksekliğine bağlı arter rüptürüne neden olabileceği öne sürülmüştür. Otuziki çalışmanın meta-analizinde sigaranın iskemik inme için relatif riski 1.9, subaraknoid kanama için relatif riski 2.9 olarak bulunmuştur (1). Bu risk sigara bırakıldıktan 5 yıl sonra içmeyenlerle aynı düzeye gerilemektedir. Diğer tütün ürünlerine geçiş bu riski azaltmamaktadır (30).

2.5.2.1.6. Asemptomatik karotid stenozu

Altmışbeş yaş üstü erkeklerde ve kadınlarda %50'nin üzerinde asemptomatik karotid stenozu görülme sıklığı sırası ile %7-10 ve %5-7'dir. Bu yaş grubunda %75-99 arasında stenoz görülme sıklığı erkeklerde %1.2, kadınlarda %1.1 bulunmuştur. Asemptomatik karotid stenozu oranı %50-99 arasında olan olguların yıllık ipsilateral inme geçirme riski %1-3.4 arasında bulunmuştur (1). Bir çalışmada intraserebral kanamalı olguların histopatolojik incelemelerinde ekstrakranial arter duvar yapılarında aterosklerozun tüm aşamalarının yoğun bir şekilde gözlendiği bildirilmiştir (63). Bu alışma damar duvarlarında artan hiyalinizasyonun hipertansiyonun yarattığı strese direnci azalttığı sonucunu desteklemektedir. "Medical Research Council Asymptomatic Surgery Trial (ACST)" alışmasına göre karotid endarterektomisi ile medikal tedavi karşılaştırıldığında yıllık inme riski %2.4'den %1.3'e inmiştir (64).

2.5.2.1.7. Orak hücreli anemi

Otozomal dominant geçişlidir. Serebrovasküler hastalıklar orak hücreli anemide mortalite ve morbiditenin en önemli nedenidir. Orak hücreli anemisi olan olguların 20 yaşına kadar olan inme prevalansı %11'dir. "Stroke Prevention Trial in Sickle Cell Anemia (STOP)" alışmasında sık kan transfüzyonları uygulanan grupta, inme riskinin %10'dan %1'e düştüğü gösterilmiştir. Orak hücreli anemisi

olan hastalarda transkraniyal doppler USG ile serebral kan akımının hızında artış saptanması, inme riskinin % 10 arttığını göstermektedir (1).

2.5.2.2. Kesinleşmemiş faktörler

2.5.2.2.1. Alkol kullanımı

Geniş ölçekli çalışmalar inme ile alkol tüketimi arasındaki ilişkinin J-şeklinde olduğunu desteklemektedir. Günde 2 kadehe kadar olan alkol tüketimi HDL kolesterolünü artırarak, trombosit agregasyonunu ve fibrinojen miktarını azaltarak inmeden koruyucu rol oynamaktadır (1). Ancak yüksek miktarlarda alkol tüketimi hipertansiyon, hiperkoagülabilité ve kardiyak aritmilere neden olarak inme riskini artırmaktadır. Fazla miktarda alkol tüketen kişilerde anevrizmal ve nonanevrizmal intraserebral kanama riskinde de 3 kata varan artış olduğu saptanmıştır (30).

2.5.2.2.2. Obezite

Vücut kitle indeksinin 30 kg/m²'nin üzerinde olmasıdır. Obezite prevalansı gelişmiş ülkelerde %18'e kadar ulaşmaktadır. Yetişkin Amerikan halkının %65.7'si fazla kilolu, %30.4'ü obezdir (1). Özellikle trunkal ve abdominal obezite, dislipidemi, hipertansiyon, hiperglisemi ve hiperinsülineminin bir arada bulunduğu metabolik sendrom tüm yaşlardaki kadın ve erkeklerde vasküler hastalıklar açısından önemli bir risk faktörüdür (30). Daha önce bu birliktelikler nedeniyle inme ile vücut kitle indeksi arasındaki ilişkinin gerçekte olduğundan daha zayıf olduğu düşünülmüştür (1). Ancak Northern-Manhattan çalışmasında, metabolik sendromlu hastalarda diğer sosyodemografik faktörler ve risk faktörleri dışlandığında obezitenin iskemik inme için bağımsız bir risk faktörü olduğu saptanmıştır (65).

2.5.2.2.3. Beslenme alışkanlıkları

Koroner kalp hastalığıyla diyet arasında güçlü bir ilişki bulunmuş olmasına rağmen iskemik inmeyle diyet arasındaki ilişki hâlâ çelişkilidir (30). Vitamin destekli sebze meyve tüketimi ile koroner arter hastalığı arasında kuvvetli ters ilişki varken, iskemik inme ile vitamin destekli sebze meyve tüketimi arasındaki ters ilişkinin önemsiz olduğu bulunmuştur (66). Yüksek oranda sebze meyve

tüketiminin koroner arter hastalığından koruyucu etkisinin gücü kabul edilmektedir. Bununla birlikte eldeki veriler yüksek oranda sebze tüketiminin inme açısından koruyucu etkisini destekleyici nitelikte değildir (67). Bazı çalışmalar diyetteki sodyum miktarının azaltılması ve potasyumun artırılmasının inme riskini azalttığı yönünde ipuçları verse de bu ilişkinin hipertansiyondan bağımsız olup olmadığı net değildir (30).

2.5.2.2.4. Fiziksel inaktivite

Düzenli fiziksel aktivitenin inme riskini azalttığı yönünde veriler mevcuttur. Düzenli fiziksel aktivite kan basıncını düzenler, diğer kardiyovasküler risk faktörlerini kontrol altına alır, diyabet ve artmış vücut kitle indeksi üzerine de olumlu etkileri vardır. Bunların dışında plazma fibrinojen düzeyinin azalması ve doku plazminojen aktivatörü (tPA) ve HDL kolesterol seviyelerinde de artışa neden olur. Bütün bu mekanizmalar fiziksel aktivitenin inme riskini azaltmasını açıklar niteliktedir. “National Institute of Health” tarafından her gün en az 30 dakikalık fiziksel aktivitenin koruyucu olduğu belirtilmiştir (1).

2.5.2.2.5. Hiperhomosisteinemi

Plazma homosistein düzeyi standardize edilmemiş olmakla birlikte, genellikle 5-15 $\mu\text{mol/l}$ düzeyi normal olarak kabul edilmekte ve 16 $\mu\text{mol/l}$ 'nin üzerindeki değerler hiperhomosisteinemi olarak kabul edilmektedir (30). Yaşa bağlı olarak homosistein plazma seviyesi hafif artma eğilimi gösterir. Hiperhomosisteinemi inme oluşumunda önemli bir risk faktörü olarak görülmektedir (68). Çok sayıda inmeli hastanın 15 aylık takibi sonucunda total homosistein düzeyi ile inme rekürrensi arasında anlamlı bir ilişki bulunmuştur (69).

2.5.2.2.6. Zararlı madde kullanımı ve bağımlılığı

İnme yasa dışı ilaç kullanımı ve sayısız semptomimetik ilaç kullanımı ile oluşabilir (13). Bu konuda geniş epidemiyolojik çalışmalar yoksa da sınırlı sayıdaki çalışmalar ilaç kötüye kullanımı ve bağımlılığının inme riskini yaklaşık 7 kat arttırdığını bildirmektedir (20). Yasa dışı ilaç kullanımı ile ilgili inme mekanizmaları yabancı cisim embolizasyonu, vaskülit, vazospazm, arteriyel hipertansiyon veya

hipotansiyon, endotelyal hasar, artmış ateroskleroz, hiper veya hipokoagülabilite, kardiyak aritmiler, miyokard infarktüsü (MI), AIDS, enfektif endokardit şeklinde sıralanabilir. İskemik veya hemorajik inmeler yasa dışı ilaç kullanımını takiben saatler içinde gelişebilir. Genç atletlerde anabolik androjen steroid kötüye kullanımı veya rekombinant eritropoetin kullanımı sonucu da inme gelişebilir (20).

2.5.2.2.7. *Hormon tedavisi*

Östrojen içeriği 50 µg ve üzerinde olan eski oral kontraseptiflerle yapılan çalışmalarda, oral kontraseptif tedavinin inme sıklığını artırdığına yönelik bilgiler elde edilmiştir (70). Düşük doz östrojen içeren güncel oral kontraseptiflerin kullanımının bile iskemik inme riskini, eskiye göre azalmış olmakla birlikte, artırıcı etkisi vardır (71). Hemorajik inme ile oral kontraseptifler arasında da bir ilişki olduğunu gösteren az sayıda yayın vardır. Bu yayınlar oral kontraseptiflerle hemorajik inme riski arasındaki ilişkinin iskemik inmeden daha düşük olduğunu gösterir. Ancak yaşlı bayanlarda oral kontraseptif kullanımı ile hemorajik inme riskinin genç bayanlara oranla daha çok arttığı gösterilmiştir (72). Oral kontraseptif kullanan 35 yaş üstündeki, sigara kullanan, hipertansif, diyabetik bayanlar inme için yüksek riskli gruba girerler.

2.5.2.2.8. *Fibrinojen*

Fibrinojen tromboz esnasında trombositleri çapraz bağlayarak aterosklerotik plakların önemli bir komponentini oluşturur. Fibrinojen yüksekliği inme riskini artırır (20). Yakın zamanda yapılan 5113 hastalık bir meta-analizde fibrinojen düzeyi ortalamanın üzerinde olan hastaların 5 yıllık takibinde iskemik inme riskinde hafif bir artış saptanmıştır (73).

2.5.2.2.9. *İnflamasyon*

Ateroskleroz endotelial yüzeydeki hasara bağlı olarak ortaya çıkan kronik inflamatuvar bir olaydır. Akut inflamatuvar cevabın plak destabilizasyonu yaparak semptomların açığa çıkmasını kolaylaştırdığı düşünülmektedir (30). Birçok çalışmada inflamatuvar belirleyiciler inmede risk faktörü olarak araştırılmaktadır. Akut faz reaktanı olan C-reaktif protein (CRP) ile inme arasında ilişki olduğu bulunmuştur (1). CRP düzeyi 1.08 mg/dl'nin üzerinde olanlarda inme için rölatif risk 2, CRP düzeyi 4.19 mg/dl'nin üzerinde olanlarda ise 3 olarak hesaplanmıştır (74).

“CARE” çalışmasında pravastatinin CRP’yi düşürerek inme riskini azalttığına ilişkin veriler elde edilmiştir (75).

2.5.2.2.10. *İnfeksiyon*

Birçok olgu-kontrol çalışmasında inmeli olguların büyük bir kısmında son bir hafta içinde geçirilmiş infeksiyon öyküsü bulunmaktadır (1). Aterosklerotik karotid plakları içinde zorunlu hücre içi patojen olan *Chlamydia pneumoniae* bulunmuştur (76). “Northern Manhattan Stroke” çalışmasında yüksek *Chlamydia pneumoniae* immünglobülin A düzeyi ile iskemik inme riski arasında yaş, cinsiyet, ırk gibi faktörlerden bağımsız olarak bir ilişki saptanmıştır (77). Çok sayıda çalışmada inmeli hastalarda *Chlamydia pneumoniae* antikorlarının yüksek titrede bulunmasına rağmen, inme riskini azaltmak amaçlı herhangi bir antibiyoterapi önerilmemektedir (1).

2.5.2.2.11. *Migren*

Migren ile inme arasında zayıf bir ilişki bildirilmiştir. “Physicians Health Study” çalışmasında migreni olan olgularda migreni olmayanlara göre inme ve özellikle iskemik inme riskinde artış saptanmıştır (78, 79). “Women’s Health Study” çalışmasında, auralı migren öyküsü olan 55 yaş altındaki kadınlarda, iskemik inme için mutlak risk artışı yılda her 10.000 kadında 3.8 ek vakaya karşılık gelecek şekilde saptanmıştır (80). Başlangıcından itibaren yedi gün içinde tam olarak düzelmeyen bir veya daha fazla aura semptomu ve iskemik infarktı doğrulayacak görüntüleme bulgularının varlığı migrenöz infarkt tanısı koydurur. Migrenöz infarktlar sıklıkla kortikal ve posterior serebral arter sulama alanı yerleşimlidir. Migrenöz infarktı olan hastalar artmış tekrarlayıcı inme riskine sahiptirler (20).

2.5.2.2.12. *Uykuda solunum bozuklukları*

Tıkayıcı uyku apnesi olan olgularda inme daha sık görülür. Horlama genellikle hipertansiyon kontrolünü güçleştirerek inme riskini artırır. Uykuda solunum bozukluğu olan olgularda ortaya çıkan oksijen saturasyonu düşüklüğü kardiyak aritmilere ve dolayısıyla inmeye yol açabilir (30, 81).

2.5.2.2.13. Hiperkoagülabilite

Hemostaz değişiklikleri özellikle iskemik olmak üzere inme sıklığında artmaya neden olur. Kriptojenik inmelerin büyük bir kısmının hiperkoagülabilite ile açıklanabileceği düşünölmektedir. Tespit edilebildiği ölçüde hiperkoagülabilite tüm inmelerin %1'inden, genç inmelerin %2-7'sinden sorumlu bulunmuştur. Hiperkoagülabilite birincil ve ikincil olabilir. Tromboza neden olabilecek kalıtsal hastalıklar özellikle venöz dolaşımı etkiler. Birincil hiperkoagülabilite nedenleri antitrombin eksikliği, protein C ve S eksikliği, faktör V Leiden mutasyonu ile birlikte olan veya olmayan aktive protein C rezistansı, protrombin G20210 mutasyonu, afibrinojenemi, hipofibrinojenemi, disfibrinojenemi, hipoplazminojenemi, anormal plazminojen, plazminojen aktivatör eksikliği, lupus antikoagölünü ve antikardiyolipin antikor varlığı şeklinde sıralanabilir. İkincil hiperkoagülabilite nedenleri malignite, gebelik, lohusalık, oral kontraseptif kullanımı, overiyen hiperstimölasyon sendromu, nefrotik sendrom, polistemia vera, esansiyel trombositopeni, paroksizmal nokturnal hemoglobinüri, diabetes mellitüs, heparin ilişkili trombositopeni, homosistinüri, orak hücreli anemi, trombotik trombositopenik purpura ve kemoteropatik ilaç kullanımıdır (20).

2.6. Hemostaz Mekanizması

Hemostaz, insan bedeninde gereken yerde ve gereken miktarda fibrin oluşumunu sağlayan süreçtir (82). Hemostazı sağlamak için pıhtılaşma sistemi, doğal antikoagölünü ve fibrinolitik sistem denge halinde olmalıdır (83).

Hemostaz, yapı ve işleyiş bakımından birincil ve ikincil hemostaz olarak ayrı ayrı ele alınır. Birincil hemostaz hasar yerinde trombosit tıkaçının oluştuğu olaya verilen isimdir. Hasarı izleyen saniyeler içinde gelişir. Esas olarak küçük damarlardan kan kaybının durdurulmasını amaçlar.

Trombositler birincil hemostazın temel belirleyicisidirler ve kemik iliğinin pluripotent kök hücrelerinin miyeloblast alt grubunun megakaryosit hücrelerinden üretilirler. Çapları 2-4 µm olan, bikonveks, çekirdeksiz hücrelerdir. Periferik kanda normal trombosit miktarı 125 000-450 000 / mm³ olarak belirtilir (82). Kandaki ömürleri 6-8 gün kadardır ve 1/3'ü dalakta bulunur (84).

Birincil hemostazın etkin olabilmesi için gereken aşamalar trombosit adezyonu, trombosit sekresyonu ve trombosit agregasyonudur. İkincil hemostaz

plazma pıhtılaşma reaksiyonlarını içerir ve sonuçta fibrin oluşur. İkincil hemostaz büyük damarlardan olan kan kaybının kontrolünde rol oynar (85).

2.6.1. Pıhtılaşma Sistemi

Geleneksel olarak pıhtılaşma sistemi intrinsik, ekstrinsik ve ortak yol olmak üzere üç bölümde incelenir;

- Ekstrinsik yol:

Faktör X'u aktive eden doku faktörü (DF) ve Faktör VIIa kompleksidir.

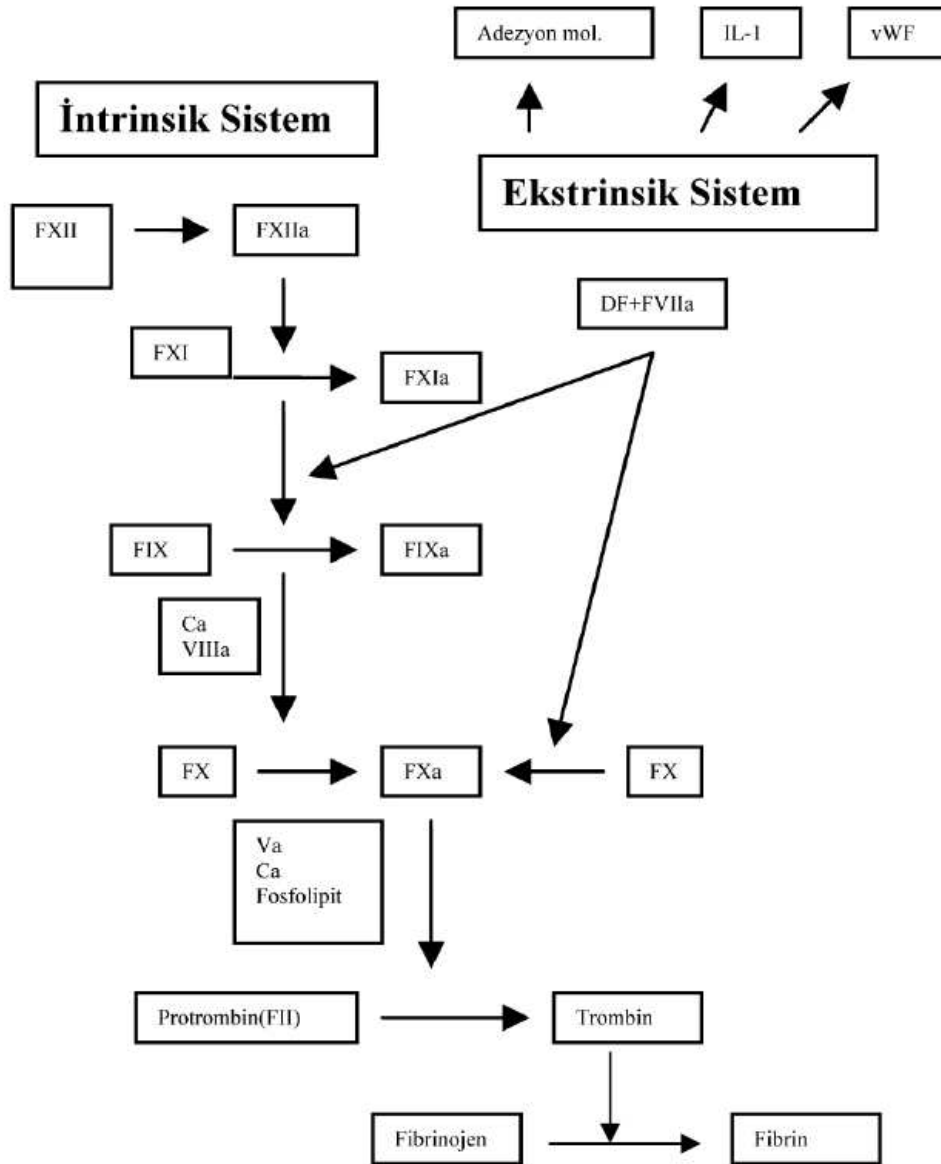
- İntrinsik yol

Yüksek molekül ağırlıklı kininojen, prekallikrein, Faktör XII, Faktör XI, Faktör IX, Faktör VIII'i içerir. Bu yol da Faktör X'u aktive eden Faktör IXa, Faktör VIIa, Ca⁺² ve trombosit fosfolipid kompleksidir.

- Ortak yol

Faktör Xa ile protrombinden (Faktör II) trombin (Faktör IIa) oluşumu sağlanır. Bu olay Faktör Va, Ca⁺² ve trombosit fosfolipid kompleksi (protrombinaz kompleks) tarafından kolaylaştırılır. Ortak yolun ürünü fibrinojenden oluşan fibrindir. Bu fibrin çözünebilir özelliktedir. Daha sonra Faktör XIIIa tarafından çözünür olmayan fibrin pıhtısına dönüştürülür (Şekil 3) (39).

Eskiden hem intrinsik hem de ekstrinsik yolun pıhtılaşma sistemini başlatabileceği düşünülmüştür. Günümüzde pıhtılaşma sisteminin in vivo şartlarda sadece doku faktörü (DF) üzerinden aktive olduğu anlaşılmıştır (86).



Şekil 3. Koagülasyon kaskadı (39)

2.6.2. Doğal Koagülasyon İnhibitörleri ve Fibrinolitik Sistem

Pıhtılaşmanın sadece gerekli bölgede sınırlandırılmasında doğal koagülasyon inhibitörleri ve fibrinolitik sistem görevlidir. Koagülasyon süreci doğal koagülasyon inhibitörleri ve fibrinolitik sistemle dengelenir.

Antitrombin, protein C, protein S değişik koagülasyon faktörlerinin fizyolojik inhibitörleridir. Bir başka doğal antikoagülan endotelden salınan özgün bir inhibitör olan doku faktör yolu inhibitörüdür (DFYI). DFYI plazmada lipoproteinlere

bağlı olarak dolaşır ve endotel yüzeyinde glikozaminoglikanlara bağlanır. DFYI antikoagülan etkisi iki basamaklıdır. Birinci basamakta, faktör Xa'ya bağlanarak ve Ca^{+2} bağımlı olarak Faktör Xa inhibisyonunu gerçekleştirir. İkinci basamakta DFYI-Faktör X kompleksi, Faktör VIIa'yı inhibe eder. Fibrinolitik sistemde ise plazmin rol oynar. Bu süreçte fibrinolitik yanıtı t-PA (doku plazminojen aktivatörü) ile PAI-1 (plazminojen aktivatör inhibitörü 1) arasındaki dinamik denge belirler (82).

2.7. Trombofili

Tromboz oluşumunu kolaylaştıran hemostatik bozukluklar genel olarak trombofili olarak adlandırılır. Normal hemostazın temel öğelerinden bir ya da birkaçının eksikliğinde (antitrombin, protein C, protein S gibi) ya da fazlalığında (trombositoz, pıhtılaşma faktörlerinde artma gibi), endotel bütünlüğünün bozulmasına yol açan durumlarda (travma, ateroskleroz, diyabet gibi), kanda mevcut bir anormallikte (antifosfolipid sendromu, sepsis, inflamasyon, bazı kanserler gibi) hemostaz patolojik seyreder ve istenmeyen bir trombozla sonuçlanabilir (85).

Trombozis patogenezi yaklaşık 100 yılı aşan bir süre önce Virchow tarafından

- Damar duvarı değişimi (Endotel hasarı gibi),
- Kan bileşenlerinin değişimi (Hiperkoagülabilité durumları),
- Kan akımı değişimi (Staz nedenleri) üçlüsü ile açıklanmıştır (87).

Kalıtsal trombofili nedenleri arasında daha sık olarak Faktör V Leiden mutasyonu, protrombin gen mutasyonu, metilentetrahidrofolat redüktaz geninde homozigot C677T mutasyonu, antitrombin-III, protein C ve S eksikliği, homosisteinemi, nadir olarak da disfibrinojenemi ve plazminojen defekti sayılabilir (87). Kalıtsal trombofili nedenleri ve toplumda görülme sıklıkları tablo 3 ve 4'de gösterilmiştir. Kalıtsal trombofililerde klinik genel olarak tekrarlayıcı venöz tromboz şeklindedir, arteriyel tromboz görülme sıklığı nadirdir (89).

Tablo V. Kalıtsal trombofili nedenleri (88)

- Pıhtılaşma faktör anormallikleri
Faktör V Leiden / Aktive protein C rezistansı
Faktör II – protrombin G20210A mutasyonu
Artmış faktör VIII düzeyi
Disfibrinojenemi (nadir)

 - Doğal antikoagülan ajanlarda eksiklikler ve defektler
Antitrombin eksikliği
Protein C eksikliği
Protein S eksikliği
Plazminojen eksikliği

 - Anormal Metabolizma
Hiperhomosisteinemi

 - Diğerleri
Heparin Kofaktör II
Fibrinolitik defektler
PAI-1 artmış yapımı
Trombomodülin defekti
HbS hastalığı
-

Tablo VI. Kalıtsal trombofili nedenlerinin genel toplumda ve trombozlu hastalarda görülme sıklıkları (90).

Bozukluk	Genel toplum (%)	Trombozlu hastalar (%)
Antitrombin eksikliği	0.02	1
Protein C eksikliği	0.2	3
Protein S eksikliği	0.1	1-2
APCR/FV Leiden mut.	3-6	20
Hiperhomosisteinemi	5-10	10-25
Protrombin 20210 aleli	1-2	6
Faktör VIII yüksekliği	11	25

2.7.1. Kalıtsal Trombofili Nedenleri

2.7.1.1. Antitrombin-III (AT-III) yetmezliği

Antitrombin karaciğerde üretilen, gen lokusu 1. kromozom üzerinde olan (1q23-1q24) bir glikoproteindir (91). Kandaki anti-trombin α aktivitesinin %70'ini ATIII oluşturmaktadır. AT-III endotelial hücre yüzeyindeki endojen ya da eksojen heparine bağlanan bir plazma glikoproteinidir ve molekül ağırlığı 58 kD'dur. AT-III vasküler endotel ve hepatositlerde üretilir, plazma yarı ömrü ise 65 saattir. Heparinin antikoagülan etkinliği için gerekli olan AT-III bir serin proteaz inhibitörüdür. Özellikle trombin inhibitörü olmakla birlikte, Faktör IXa, Xa, XIa, XIIa ve kallikrein gibi diğer aktif serin proteazları da inhibe eder. Etkisi heparin ve heparin benzeri moleküllerin varlığında artar. AT-III eksikliği ilk olarak 1965'te Egeberg tarafından tanımlanmıştır (92). Trombozlu ve kalıtsal trombofilili hastaların yaklaşık olarak % 1-2'sinde AT-III eksikliği saptanmıştır (93). AT-III eksikliği genelde otozomal dominant geçiş gösterir (20). Homozigot olgular çoğunlukla fetal yaşamda kaybedilir, bu nedenle saptanan olguların büyük çoğunluğu heterozigottur. Bir çalışmada konjenital AT-III eksikliği olan 400'den fazla olgu bildirilmiş ve bunların %20'sinde inme rapor edilmiştir (94). Ailesel AT-III yetmezliğinin iki tipi vardır;

- Tip I kalıtsal olguların %90'ını oluşturur. AT-III'ün hem serum düzeyi hem de fonksiyonel aktivitesi düşüktür.

- Tip II'de serum düzeyi normal olmasına rağmen AT-III disfonksiyonu yani varyant AT-III vardır. Bu varyantlar

1. AT-III reaktif bölge defekti
2. AT-III heparin bağlayıcı bölge defekti
3. AT-III multifonksiyonel defektidir (95, 96).

Tromboz genç yaşlarda oluşabildiği için olguların %50'sinde ilk trombotik olay 25 yaşından öncedir ve genelde tekrarlayan trombozlar şeklinde seyreder (96). ATIII yetersizliği protein C ve S eksikliğinden daha ciddidir.

2.7.1.2. Protein C ve S yetmezliği

Protein C geni 2. kromozomda (2q13-2q14), Protein S geni 3. kromozomdadır (3p11.1-3p11.2). Protein C ve kofaktörü protein S karaciğerde K vitaminine bağımlı olarak üretilir. Protein C 62 kD'luk bir glikoproteindir, plazma yarılanma ömrü 6-8 saattir. Protein S'nin ise molekül ağırlığı 69 kD'dur ve plazma yarı ömrü 42 saattir. Protein S'nin tek başına hiçbir enzimatik aktivitesi yoktur. Aktive protein C'nin antikoagülan aktivitesi için kofaktör olarak görev yapar. Plazmada protein S'nin sadece %40'ı serbesttir, %60'ı akut faz proteini olan C4b Binding proteine bağlı halde inaktif durumdadır. Akut inflamasyon, infeksiyon, kanser ve stres durumlarında C4b-Binding proteine bağlı protein S düzeyi artar bu da protein S'nin inaktif olduğu anlamına gelir. Bu durum inflamasyon, infeksiyon, kanser ve stres halinde artan tromboz eğilimini açıklar. Plazmadaki protein C inaktiftir. Endotel yüzeyinde pıhtılaşmanın başlaması ile trombin tarafından parçalanarak aktive olur. Trombin ve Protein S protein C'nin aktivasyonunu sağlar. Aktive protein C-S kompleksi Faktör Va ve VIIIa'yı inaktive eder. Ayrıca plazminojen aktivatör inhibitörü (PAI-1) bloke ederek indirekt fibrinolitik etki de gösterir (95).

Protein C eksikliği otozomal dominant geçişlidir. Genel popülasyonda sıklığı 1/500-1/700 arasındadır. İki fenotipi tanımlanmıştır:

- Tip I'de protein C miktarı azalmıştır ve fonksiyonu yetersizdir.
- Tip II'de protein C miktarı normaldir ancak fonksiyonu bozuktur.

Protein S eksikliği de otozomal dominant geçişlidir. Kırkbeş yaş altındaki derin ven trombozlu (DVT) olgularının %10'unda neden protein S eksikliğidir.

Protein S eksikliğini AT-III yetmezliği ve protein C yetmezliğinden ayıran temel özellik, arteriyel trombozlara da yatkınlık oluşturmaktır (92).

2.7.1.3. Aktive Protein C Direnci ve Faktör V Gen Polimorfizmi

Aktive protein C direnci antitrombin, protein C ve S eksikliğinden 5-10 kez daha sık görülür ve otozomal dominant geçişlidir (20). Kalıtsal trombofililerin %50'sinde aktive protein C direnci olduğu bildirilmiştir (97). Aktive protein C direnci kalıtsal trombofili nedenlerinin en sık görülenidir; aktive protein C direnci olan olguların %90-95'inde Faktör V Leiden polimorfizmi mevcuttur (98).

2.7.1.3.1. Faktör V Leiden Polimorfizmi

Türkiye'de yapılmış bir çalışmada heterozigot Faktör V Leiden polimorfizmi prevalansı %7.1 olarak bulunmuştur (98). Faktör V (Labil Faktör) tek zincirli bir plazma glikoproteinidir. Yarılanma ömrü 12-36 saattir. Molekül ağırlığı yaklaşık 330 kD'dur.

Faktör V'in %80'i plazmada %20'si trombositlerde bulunur (100). Aktif şekli (FVa) Faktör Xa ile birlikte protrombinaz kompleksinde yer alır ve trombin oluşumunu gerçekleştirir. Aktive protein C Faktör Va'yı parçalayarak antikoagülan etki gösterir. Bazı bireylerde aktive protein C'nin bu etkisine karşı direnç olduğu ve sonuçta tromboza eğilimin arttığı gösterilmiştir (98).

Faktör V geni 1. kromozomdadır (1q21-25). Genin 10. exonunun 1691 no'lu nükleotidinde guanin ile sitozin değişimi olması, molekülde aminoasit dizisini Arginin-506-Glutamin şeklinde değiştirmektedir. Bu değişime Faktör V Leiden mutasyonu denir. Faktör V Leiden mutasyonu, Faktör Va'nın aktive protein C tarafından inaktivasyonunu engellemektedir (101). Sonuçta tromboza eğilim artmaktadır (102). Faktör V Leiden mutasyonunun arteriyel trombozdaki rolü henüz tam olarak netleşmemiştir (103). Bazı çalışmalarda inme için risk faktörü olarak belirtilmiş olmasına rağmen başka çalışmalarda bu ilişki doğrulanmamıştır (100, 103). Faktör V Leiden mutasyonu olan aktive protein C rezistansının inme etyolojisinde önemli olmadığı, buna karşılık Faktör V Leiden mutasyonundan bağımsız aktive protein C direncinin inmede önemli olduğu görüşü ağırlık kazanmıştır (104).

Sistationin-B sentaz enzim eksikliği otozomal resesif geçişlidir. Homozigot formu yaklaşık olarak 1/200.000 sıklıkta görülür ve 200-400 µmol/L gibi ciddi hiperhomosisteinemiye neden olur. Kliniğinde mental retardasyon, tromboembolizm, iskelet yapısında bozukluk ve ektopik lentis gibi bozukluklar gelişebilir. Heterozigot formu yaklaşık %1-2 sıklıkta ortaya çıkar ve bu hastalarda açlık homosistein düzeyi yaklaşık olarak 20-30 µmol/L düzeyindedir. Erişkin yaşta görülen inme gelişiminde CBS enzim eksikliğinin MTHFR gen mutasyonundan daha az etkili olduğu düşünülmektedir (68, 107).

Hiperhomosisteineminin önemli bir diğer nedeni de metilentetrahidrofolat redüktaz enziminin eksikliğidir (108). Metilentetrahidrofolat redüktaz homosisteinin metionine metilasyonunda hız kısıtlayıcı basamağı katalizleyen folat bağımlı bir enzimdir (109). Bu enzim 656 aminoasitten oluşmaktadır. MTHFR geni 1. kromozomdadır (1p36.3) (110). MTHFR genindeki fonksiyonel polimorfizmler azalmış enzim aktivitesinin yaygın bir nedenidir. Genel populasyonun %15-20'si, MTHFR C677T veya A1298C varyantlarının biri açısından heterozigotur (110). Metilentetrahidrofolat redüktaz geninin C677T ve A1298C polimorfizmlerinin total plazma homosistein seviyesi üzerine artırıcı etkileri mevcuttur. Son çalışmalarda MTHFR mutasyonlarının toplumda çok sık görüldüğü ve folik asit eksikliği olmayan mutantlarda homosistein düzeyinin normal olduğu gösterilmiştir. Yani yükselmiş plazma homosistein düzeyi ile MTHFR gen mutasyonları arasındaki birliktelik serum folat düzeyine bağlıdır (106, 111).

2.7.1.4.1. Metilentetrahidrofolat Redüktaz C677T Polimorfizmi

Metilentetrahidrofolat redüktaz geninin 677 no'lu nükleotidi olan sitozin ile timinin yer değiştirmesi 222. aminoasit olan alaninin valine dönüşümüyle sonuçlanmaktadır. Bu değişim enzimi termolabil hale getirir ve in-vitro koşullarda MTHFR enzim aktivitesini homozigotlarda %70, heterozigotlarda ise %35 oranında azaltır (112). Mutant MTHFR'nin varlığı homosistein düzeyinin artması ile sonuçlanmaktadır. Bu mutasyonun prevalansı etnik gruplara göre değişkenlik gösterir. Türk populasyonunda inme hastalarında MTHFR C677T homozigot mutasyon prevalansı yüksek bulunmuştur (113). Türk toplumunda MTHFR C677T heterozigot mutasyon sıklığı %47.4 iken MTHFR C677T homozigot mutasyon sıklığı %9.6 olarak saptanmıştır (114). Bu aleli heterozigot formda taşıyan bireylerde plazma homosistein düzeyi intermediyer aralıklardadır (113). MTHFR

C677T homozigot mutasyonlu hastaların plazma homosistein seviyeleri genelde 20-40 µmol/L arasındadır (68).

2.7.1.4.2. *MTHFR A1298C Polimorfizmi*

MTHFR geninin 1298 no'lu nükleotidi olan adenin ile sitozinin yer değişimi sonucu, MTHFR proteininin C terminal bölgesindeki glutamat alanine dönüşür. Metilentetrahidrofolat redüktaz enziminin aktivitesi C677T mutasyonunda olduğu gibi bu mutasyonla da azalır. Yapılan bir çalışmada plazma homosistein konsantrasyonundaki artışta MTHFR A1298C homozigot mutasyonunun C677T homozigot mutasyonu kadar etkili olmadığı düşünülmektedir (115). İn-vitro koşullarda A1298C alleli homozigot olan bireylerde enzim aktivitesi %40 kadar azalmıştır ancak plazma homosistein düzeyleri kontrollere göre yüksek değildir (112). MTHFR A1298C homozigot mutasyonunun çeşitli ülkelerde görülme sıklığı % 1-12 arasında değişmektedir, bu oran Türkiye'de % 6 olarak tespit edilmiştir (115).

2.7.1.5. *Protrombin G20210A Polimorfizmi*

Protrombin 11. kromozomun uzun kolundaki bir genle kodlanmıştır (116). Karaciğerde K vitaminine bağımlı olarak sentezlenen bir proteindir ve trombinin öncülüdür. Protrombin G20210A mutasyonu otozomal dominant kalıtım gösterir. Protrombin geninin 20210 pozisyonundaki guanin bazının adenine değişimi sonucunda gelişir (92). Bu mutasyon protrombin sentezini mRNA ve protein sentezi düzeyinde artırarak plazma protrombin miktarını çoğaltır. Protrombin G20210A mutasyonu normal kontrollere göre % 30 daha fazla serum protrombin seviyelerine neden olur (117). Protrombin G20210A mutasyonunun sıklığı trombozlu hastalarda %6.2 iken sağlıklı popülasyonda %2.3'dür. Protrombindeki polimorfizme bağlı ortaya çıkan tromboz riski protrombin düzeyi ile direk ilişkilidir. Protrombin miktarı 115 IU/dl'nin üzerinde ise derin ven trombozu riski iki kat artar (95). Bu mutasyonun miyokard infarktüsü ve inme için risk faktörü olduğuna dair veriler yetersizdir ve bu konu hâlâ tartışılmaktadır (118, 119, 120).

2.7.1.6. *Faktör XIII Polimorfizmi*

Faktör XIII pıhtılaşma sisteminin son basamağında rol alan bir transglutaminaz enzimidir. Bir heterotetramer olan Faktör XIII aktif form olan A alt-

ünite ile inaktif formda taşıyıcı görev yapan B alt-ünitesinden oluşur. Koagülasyon kaskadının sonuç fazında trombin ve Ca^{+2} tarafından aktive edilir. Trombin, Faktör XIII-A' nın N terminal ucundan Arginin 37-Glisin 38 peptit bağını ayırır. Daha sonra Ca^{+2} varlığında Faktör XIII-B subüniti ayrılır ve Faktör XIII aktif forma dönüşür. Aktif Faktör XIII fibrin monomerleri arasında kovalant bağlar oluşumunu sağlar. Ayrıca fibronektin, kollajen, a2-antiplazmin çapraz bağlarının stabilizasyonunda görev alır (121, 122). Faktör XIII fonksiyon bozukluğu yapan mutasyonlar en sık Valin34Lösin olmak üzere, Prolin564Lösin, Tirozin204Fenilalanin, Glutamat651Glisin şeklinde sıralanabilir.

Faktör XIII Valin34Lösin (FXIII V34L) mutasyonu faktör XIII geninin 34. pozisyonunda valin yerine lösinin geçmesiyle ortaya çıkar ve trombinin kesme bölgesinden 3 aminoasit uzaktaki bölgede değişime yol açar.

Son zamanlardaki yayınlarda FXIII V34L mutasyonunun paradoksik olarak hafif düzeyde arteriyel ve venöz trombozdan koruyucu etkisinden söz edilmektedir. FXIII V34L mutasyonu varlığının serebral infarkttan koruyucu olduğu ancak hemorajik inme riskini artırdığı görülmektedir (123).

2.7.1.7. PAI-1 Gen Polimorfizmleri

Fibrinolitik (plazminojen) sistem normal hemostaz ve tromboz gelişimi arasında kilit rol oynar. Schleef ve arkadaşları 1989'da cerrahi ve travma sonrasında şiddetli kanama öyküsü olan yaşlı hiperfibrinolizi olan bir hastada PAI-1 defekti saptamışlardır (124). Plazminojen aktivator inhibitor-1 doku ve ürokinaz kaynaklı plazminojeni hızlı ve güçlü şekilde inaktive eder. Plazminojen aktivator inhibitor-1 karaciğerde ve vasküler endotelde üretilir, ayrıca aktive olmuş trombositlerden de salgınır. Bu faktör endotele veya fibrine bağlanıp lokal fibrinolizi sınırlandırır. Eksikliği oldukça nadirdir. Düzeyinin arttığı durumlarda ise plazminojen aktifleşemeyeceği için tromboza eğilim olur. Plazminojen aktivator inhibitor-1 geni 7. kromozomdadır (7q21.3-q22). En sık rastlanan PAI-1 gen polimorfizminin genotip analizlerinde PAI-1 geninin promoter bölgesinin 675. pozisyonunda Guanin nükleotidinin insersiyon (5G) / delesyon (4G)'u ile ilişkili bulunmuştur. Bu durumda artmış PAI-1 mesajcı RNA salınımı ile dolaşımda PAI-1 protein düzeyleri yükselmektedir. Miyokard infarktılı, inmeli, ve diyabetli hastaları içeren çalışmalarda artmış PAI-1 aktivitesinin azalmış fibrinolitik aktiviteden sorumlu olduğu gösterilmiştir. Bir çalışmada yüksek PAI-1 aktivitesi ile inme riskinin

arttığı saptanmıştır (125). Engesser ve arkadaşları 1989'da yüksek plazma PAI-1 seviyesi ile ailesel trombofili ve kalıtım arasında bağ kuramamış olmasına rağmen artmış PAI-1 ve tromboz arasındaki neden sonuç ilişkisi birbirini destekler görünmektedir (126, 127). Farelerde yapılan transgenetik bir çalışmadan PAI-1'in artmış seviyesinin arteriyel değil venöz tıkanıklık gelişimine katkıda bulunduğu sonucu çıkarılmıştır (127). Plazminojen aktivator inhibitor-1 4G/4G ve 4G/5G varyantlarının diğer kalıtsal trombofili nedenleri kadar etkili olmasa da trombozlu olgularda daha sık saptandığı bildirilmiştir (128). Plazminojen aktivator inhibitor-1 4G/4G genotipli hastalarda artmış trigliserit konsantrasyonları olduğu gösterilmiştir. Plazminojen aktivator inhibitor-1 seviyesinin PAI-1 4G/4G genotipli hastalarda 5G/5G genotipli hastalardan %25 daha yüksek olduğu belirtilmiştir (129).

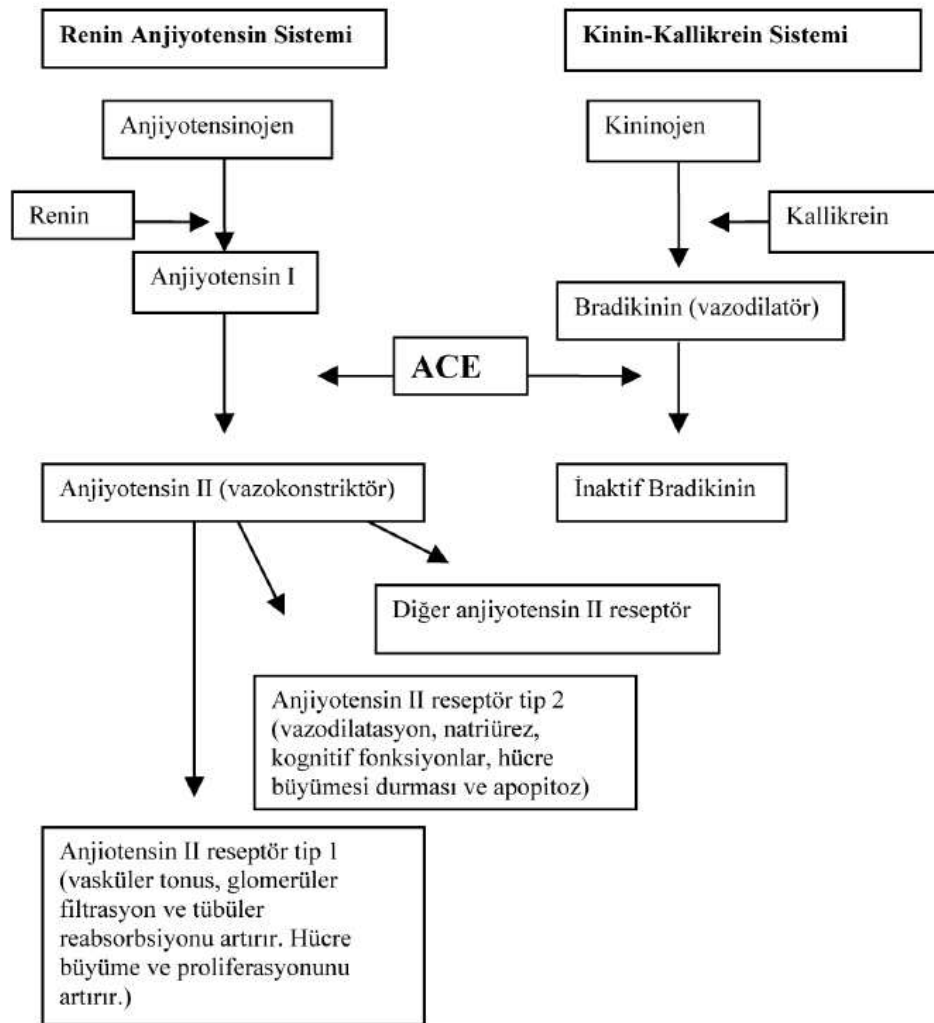
2.7.1.8. Fibrinojen Gen Polimorfizmi

Fibrinojen 600-700 Å uzunluğunda ve 38 Å genişliğinde, disülfid köprüleri ile bir arada tutulan, elipsoid ya da çomak şeklinde moleküllerden oluşmuş plazma proteinidir. Fibrinojen molekülü 2A α , 2 β ve 2 γ olmak üzere altı polipeptit zincirinden oluşur. Fibrinojen molekülünün uçları yüksek oranda negatif yüklüdür, bu özelliği suda çözünürlüğe katkıda bulunur ve diğer fibrinojen moleküllerinin uçlarını uzaklaştırarak agregasyonu önler. Karaciğerde sentezlenir. Plazmada fibrinojen düzeyi 200-400 mg/dl kadardır. Fibrinin öncülü ve bir akut faz reaktanıdır (130). β -Fibrinojen -455GA mutasyonu, β -Fibrinojen geninin promotor bölgesinde -455. pozisyonda bulunan guanin nükleotidinin adenin nükleotidi ile yer değiştirmesi sonucu gelişir ve fonksiyonel fibrinojen molekülü sentezinde hız kısıtlayıcı basamak olan beta zincir transkripsiyonunda 1.2-1.5 kat artışa neden olur. Böylece yüksek plazma fibrinojen seviyesi ile ilişkilidir. β -Fibrinojen -455 AA genotipi taşıyanlarda fibrinojen düzeyleri, β -Fibrinojen -455 GG ve β -Fibrinojen -455 GA taşıyanlara göre daha yüksektir (131). Sigara içenlerde bu mutasyon daha belirgin beta zincir transkripsiyonu artışına neden olur (132). A alelinin varlığı erkeklerde ve postmenopozal kadınlarda daha belirgin olmak üzere fibrinojen seviyesinin artmasına katkıda bulunur. Bir çalışmada A alelinin görülme sıklığı iskemik kalp hastalığı görülenlerde ve görülmeyenlerde benzer bulunmuş ve bu mutasyonun varlığının iskemik kalp hastalığı için hazırlayıcı olmadığı düşünülmüştür (133). Kessler ve arkadaşlarına göre ise fibrinojen platelet agregasyonunu artırarak kanın akışkanlığını azaltır bu nedenle hiperfibrinojenemi

kardiyovasküler hastalıklar ve iskemik inme için önemli bir risk faktörü olarak değerlendirilmiştir (134). Martiskainen ve arkadaşları β -Fibrinojen -455GA homozigot mutasyon taşıyanların küçük damar hastalığına bağlı inme ile (135), Liu ve arkadaşları ise büyük damar hastalığına bağlı inme ile ilişkili olduğunu göstermişlerdir (136).

2.7.1.9. ACE Gen Polimorfizmi

ACE epitelyal ve endotelyal hücrelerin yüzeylerinde yaygın olarak dağılım gösteren çinkolu bir metalloproteazdır. ACE anjiyotensin I'i anjiyotensin II'ye dönüştürüp, vasküler hipertrofi ve vazokonstrüksiyon yaparak aterosklerotik sürece dahil olur. Ayrıca ACE, nitrik oksit üretimini stümüle ederek vazodilatatör etki gösterdiği kabul edilen bradikininin indirgenmesinden de sorumludur (137). Şekil 5'de renin anjiyotensin ve kinin-kallikrein sistemi gösterilmiştir (13).



Şekil 5. Renin-Anjiyotensin ve Kinin-Kallikrein sistemi (13)

ACE geni 26 eksondan oluşur, 17. kromozom üzerinde 21 kb'lık yer kaplar ve 1306 aminoasitli bir protein kodlar. Bu dizide sık görülen intron 16'da 287. baz eşleşmesinde tekrar dizisi varlığı (I aleli) veya yokluğu (D aleli) ile oluşan polimorfizmden söz edilir (13, 138). Anjiyotensin dönüştürücü enzimin genetik polimorfizmi ACE aktivitesinde belirleyici rol alır. Örneğin D aleli için homozigot olan bireyler I aleli için homozigot olanlarla karşılaştırıldığında ACE D/D geni taşıyanlarda ACE aktivitesinin %56 oranında arttığı gösterilmiştir (139). Anjiyotensin dönüştürücü enzim I/D genotipli kişiler orta derecede ACE aktivitesi artışı gösterirler (140). Anjiyotensin dönüştürücü enzimin I/D gen polimorfizminin değişik etnik gruplarda miyokard infarktüsü, inme, diyabetik nefropati ve hipertansiyon gibi bir takım hastalıklar için risk faktörü olduğu öne sürülmüştür, ama çalışmalar sonucunda elde edilen veriler bu düşüncüyü desteklememektedir (141). Türkiye'de yapılan bir çalışmada da ACE I/D polimorfizminin, iskemik inme gelişiminde genetik risk faktörü olmadığı yönünde sonuçlar elde edilmiştir (13).

2.7.1.10. Apo E Gen Polimorfizmi

Genetik faktörler lipoprotein düzeyini etkileyerek aterosklerozun oluşumunda önemli bir rol oynar. Lipoproteinlerin plazma düzeyleri ve metabolik hızları yüzeylerinde bulunan apolipoproteinler tarafından kontrol edilmektedir (142). Bir lipoprotein bileşeni olan protein yapısındaki Apo E düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) reseptörleri için ligand olarak görev yapar, şilomikronların ve çok düşük dansiteli lipoproteinlerin (VLDL) taşınmasında rol oynar (143). ApoE'nin yapı ve işlevindeki değişiklikler lipoprotein konsantrasyonunu etkiler. Apo E başlıca karaciğer tarafından sentezlenmekle birlikte diğer plazma proteinlerinden farklı olarak santral sinir sisteminde astrositler, schwann hücreleri ve oligodendrositler tarafından da sentezlenir (144). Apo E 19. kromozomun uzun kolundaki 19q13.2 geniyle kodlanır (145), molekül ağırlığı 34.000 daltondur (142). Apo E geni polimorfiktir; $\epsilon 2$, $\epsilon 3$, $\epsilon 4$ olmak üzere üç alele sahiptir ve bu aleller $\epsilon 2/\epsilon 2$, $\epsilon 2/\epsilon 3$, $\epsilon 2/\epsilon 4$, $\epsilon 3/\epsilon 3$, $\epsilon 3/\epsilon 4$, $\epsilon 4/\epsilon 4$ genotiplerini oluşturur. Sonuçta E2, E3, E4 diye isimlendirilen üç tane izomorfik protein açığa çıkar. Apo E2 protein taşıyan bireylerde en az bir $\epsilon 2$ aleli, Apo E4 protein taşıyan bireylerde en az bir $\epsilon 4$ aleli bulunmaktadır. Apo E3 protein taşıyan bireyler $\epsilon 3$ aleli için homozigottur (144). Her

üç fenotipin ateroskleroz riski açısından diyet ve çevreye yanıtları farklıdır. Apo E'nin E4 polimorfizmi olan bireylerde E2 polimorfizmi olan bireylere göre plazma LDL konsantrasyonu daha yüksektir. Hem E2, hem de E4 polimorfizmi olan bireylerde ise homozigot E3 polimorfizmi olanlara göre trigliserit konsantrasyonu daha yüksektir (146,147). Apo E4 polimorfizminin lipid profilinde neden olduğu değişiklikler ve okside LDL ile olan muhtemel bağlantısının aterosklerotik kalp hastalığına yatkınlık sağladığını düşündüren çalışmalar (142) olmakla birlikte, hemorajik ve iskemik inme geçirmiş hastalar üzerinde yapılan bir çalışmada Apo E polimorfizmlerinin kontrol grubuna göre farklı olmadığı gösterilmiştir (148).

2.7.1.11. *Endotelial nitrik oksit sentaz (eNOS) gen polimorfizmi*

eNOS geni kromozom 7q35-36'da lokalizedir ve 21 kb'lık 26 exon içerir. Bu gende meydana gelebilecek bir varyasyon nitrik oksit sentaz (NOS) enziminde fonksiyon değişikliklerine yol açar. eNOS geninin, yakın bir zamanda fonksiyonel olarak polimorfik olduğu gösterilmiştir.

DNA'daki eNOS geni varyasyonları ile vasküler hastalıklar arasındaki ilişkiyi ortaya koymak için yapılmış pek çok araştırma mevcuttur. Bugüne kadar iskemik inme, miyokard enfarktüsü, hipertansiyon koroner arter hastalığı ve renal hastalıklar gibi pek çok vasküler bozukluk eNOS geni polimorfizmi ile ilişkili bulunmuştur (149, 150).

Bu gen için çeşitli polimorfizmler tanımlanmıştır bu polimorfizmlerin NOS sentezinde ve salınımında düzensizliğe, bunun sonucunda da endotel disfonksiyonuna zemin hazırlamaktadır (150).

894. pozisyonda guanin-timin nükleotid yer değişimi, 298. kodonda glutamik asidin aspartik aside değişimiyle uyumludur. Bu polimorfizmin azalmış NO üretimi ve değişmiş NO metabolizması ile ilişkili olduğu düşünülmektedir (151).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamızda Şubat-2011 ve Şubat-2012 tarihleri arasında Adnan Menderes Üniversitesi Uygulama ve Araştırma Hastanesi Nöroloji polikliniği/kliniğine başvuran ve inme tanısı ile takip edilen hastaların takip dosyaları retrospektif olarak tarandı. Dosyalarda kayıtlı olan trombofili ile ilişkili genetik polimorfizmlerin analiz raporu sonuçları kaydedildi. Çalışmaya dahil edilmesi gereken minimum kişi sayısının belirlenmesi için Power (güç) analizi uygulandı. Gülyaz ve ark. (152) yaptıkları tez çalışmasına göre $\alpha=0,05$, power analizi % 80, toleransı % 10 olacak şekilde örnek hacmi en az 40 olarak belirlendi. Bu nedenle çalışmaya 44 hastanın dahil edilmesi power analizine göre çalışma sonuçlarımızın istatistiksel güvenliği yönünden yeterli olacağı görüldü. Mutasyon analizleri real-time PCR kiti (Way2Gene ve TIB MOLBIOL) kullanılarak Faktör V Leiden (G1691A), Metilen Tetrahidrofolat Redüktaz (MTHFR) C677T/A1298C, Prothrombin G20210A , Faktör XIII V34L, Plazminojen Aktivatör İnhibitör 1 (PAI-1) 4G-5G, β -Fibrinojen -455 G/A, Anjiyotensin Dönüştürücü Enzim (ACE) I/D, Apolipoprotein E (ApoE) E2/E3/E4 ve eNOS G894T olmak üzere dokuz farklı gende 10 adet polimorfizme araştırıldı.

Hastalardan EDTA'lı (Etilendiamintetraasetiksit) vakumlu tüplere alınan 2 ml kan örneği genetik laboratuvarına gönderildi. Roche DNA izolasyon kiti (spin kolon yöntemi) ile DNA izolasyonu yapıldı ve DNA örnekleri spektrofotometrede ölçülüp değerleri kaydedildi.

3.1. Kullanılan Cihaz ve Kimyasallar

Cihazlar	Marka
• Buzdolabı	Arçelik
• Derin dondurucu (-20 °C)	Uğur
• LightCycler 1.5 real-time PCR cihazı	Roche
• Otomatik mikropipet seti	Eppendorf
• Mikrosantrifüj	Nüve
• Termomikser	Eppendorf
• Spektrofotometre	Thermo
• Vorteks	Nüve

Kimyasal Maddeler

- DNA izolasyon kiti (Roche High pure PCR template preparation kit)
- Etanol (Merck Chemicals International)
- İsoopropanol (AppliChem)
- MTHFR C677T Mutasyon Belirleme Kiti (Way2Gene)
- MTHFR A1298C Mutasyon Belirleme Kiti (Way2Gene)
- Faktör V Leiden (G1691A) Mutasyon Belirleme Kiti (Way2Gene)
- Prothrombin G20210A Mutasyon Belirleme Kiti (Way2Gene)
- Faktör XIII V34L Mutasyon Belirleme Kiti (Way2Gene)
- PAI-1 4G-5G Mutasyon Belirleme Kiti (TIB MOLBIOL)
- β -Fibrinojen -455 G/A Mutasyon Belirleme Kiti (Way2Gene)
- ACE I/D Mutasyon Belirleme Kiti (Way2Gene)
- ApoE E2/E3/E4 Mutasyon Belirleme Kiti (Way2Gene)
- eNOS G894T Mutasyon Belirleme Kiti (Way2Gene)

3.2. DNA İzolasyonu Kiti

3.2.1 High Pure PCR DNA izolasyon kiti içeriği

1. Binding Buffer: 6 M guanidine-HCl, 10 Mm urea, 10 Mm Tris –HCl, %20 Triton X-100 (v/v), pH 4.4 (25°C)
2. Proteinaz K (4,5 mL steril distile su ile çözüldükten sonra küçük miktarlara bölünüp -20°C'de çalışılmak üzere saklandı)
3. İnhibitor Removal Buffer: 5 M guanidine–HCL, 20 mM Tris– HCL, pH6.6, 25°C (20 ml ethanol ilave edildikten sonra kullanılmıştır)
4. Wash Buffer: 20 mM NaCl, 2 mM Tris–HCl, pH 7.5, 25°C (80 ml ethanol ilave edildikten sonra kullanılmıştır)
5. Elution Buffer: 10 mM Tris, pH 8.5, 25°C
6. High Pure filtreli tüpler
7. Toplama (Collection) tüpleri

3.3. Polimorfizmlerin Analizi İçin Çalışma Protokolü

3.3.1 DNA izolasyon aşamaları

1. EDTA'lı tüp içerisine alınan kan örneğinden 200 µl steril bir eppendorf tüp içerisine alınır.
2. Üzerine 200 µl Binding Buffer ve 40 µl Proteinaz K pipetlenir.
3. Karışım, pipet ile iyice karıştırıldıktan sonra daha önce 72°C'ye getirilmiş olan 'thermomikser' cihazında 10 dakika inkübasyona bırakılır.
4. Inkübasyonun sonunda karışıma 100 µl isopropanol eklenir ve pipet ile iyice karıştırılır.
5. Karışım bir toplama tüpün içine yerleştirilmiş filtreli tüp içine pipetlenir.
6. 8.000 rpm'de 1 dakika santrifüj edilir.
7. Altta biriken sıvı toplama tüpü ile birlikte atılır. Filtre temiz bir toplama tüp içine yerleştirilir.
8. Filtreli tüpün üzerine 500 µl inhibitör removal buffer pipetlenir. 8.000 rpm'de 1 dakika santrifüj edilir.
9. Altta biriken sıvı toplama tüp ile birlikte atılır. Filtre temiz bir toplama tüp içine yerleştirilir. Filtreli tüpün üzerine 500 µl wash buffer pipetlenir.
10. 8.000 rpm'de 1 dakika santrifüj edilir.
11. Altta biriken sıvı toplama tüpü ile birlikte atılır. Filtre temiz bir toplama tüp içine yerleştirilir.
12. Filtreli tüpün üzerine tekrar 500 µl wash buffer pipetlenir.
13. 8.000 rpm'de 1 dakika santrifüj edilir.
14. Toplama tüpte biriken sıvı dökülür ve filtreli tüp aynı toplama tüp içine yerleştirilir.
15. 8.000 rpm'de 10 saniye santrifüj edilir.
16. Altta biriken sıvı toplama tüp ile birlikte atılır. Filtre temiz bir eppendorf tüp içerisine yerleştirilir.
17. Önceden thermomixer'de 70°C'de 10dk ısıtılmış elution buffer'dan 200 µl filtreli tüp içine pipetlenir.
18. 8.000 rpm'de 1 dakika santrifüj edilir.

19. Filtreli tüp atılır. İzole DNA içeren eppendorf tüp üzerine hasta adı-soyadı, numarası yazılır ve DNA -20 °C’de saklanır.

3.3.2. DNA konsantrasyonunun ölçülmesi

İzole edilen DNA’nın miktarı ve saflığı Nanodrop 2000C cihazında 2 µl DNA örneği kullanılarak ölçülmüştür. Örnekler spektrofotometrede 260 nm ve 280 nm dalga boyları arasında okutulmuştur. A260 nm dalga boyunda DNA konsantrasyonunu, A280 nm dalga boyunda protein konsantrasyonunu, OD260/OD280 formülü ise DNA saflığını vermektedir. A260/A280 oranının 1.8 ile 2.0 arasında olması beklenir. OD’nin 2.0’nin üzerinde olması protein kontaminasyonuna, 1.8’in altında olması RNA kontaminasyonuna işaret eder. Bu durumda PCR sonuçlarının sağlıklı çıkması için DNA’nın temizlenmesi gerekir. Real-time PCR kitinde (Way2Gene, TIB MOLBIOL) mutasyon analizi için istenilen optimum DNA konsantrasyonu 1-100 ng/ µl ve DNA miktarı 5-500 ng/reaksiyon değerleri arasındadır.

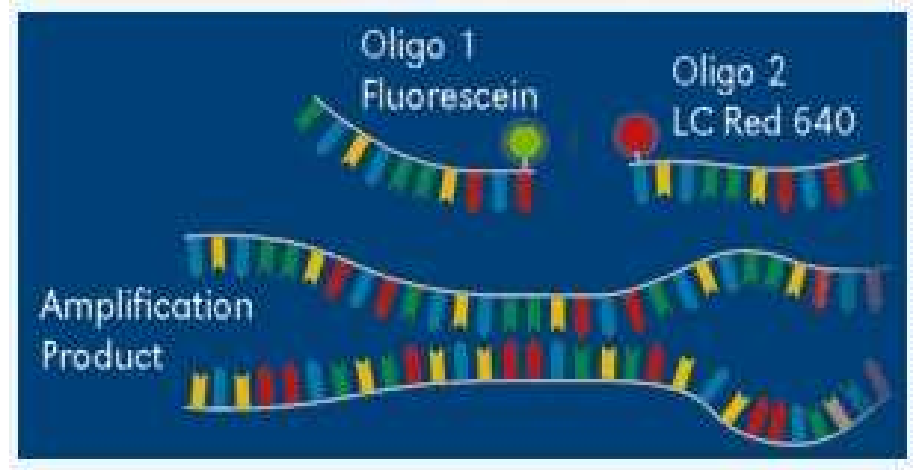
3.3.3. Gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (RealTime PCR)

LightCycler (LC) cihazı, kullanılarak yapılan gerçek zamanlı PCR reaksiyonu, moleküler genetikte bir reaksiyonda polimorfik DNA bölgelerinin kantifikasyonunun ve tek nükleotid polimorfizm genotiplendirilmelerinin yapılabildiği yeni bir tekniktir (153). Bu teknik kullanılarak nükleik asit amplifikasyonu ile eş zamanlı olarak artış gösteren floresans sinyalinin ölçülmesiyle kısa sürede kantitatif değerler elde edilebilmektedir. Hızlı ısıtma ve soğutma özelliğine sahip olan LC cihazı, 20-30 dakika içinde 30-40 PCR döngü gerçekleştirdiğinden çalışmalarda oldukça avantaj sağlamaktadır (153, 154). Gerçek zamanlı-PCR cihazı yüksek hızı yanında, kontaminasyon riskini de minimuma indirmektedir. Ayrıca, amplifikasyon işlemi eş zamanlı olarak bilgisayarda görüntülenebildiği için PCR döngüsü başarısız olduğunda, reaksiyon çok geçmeden sonlandırılabilenkte veya döngü artışı yapılabilmektedir (153). Elektroforeze gerek kalmadan amplifikasyon ürünlerinin gözlenmesi en büyük kolaylığı sağlamaktadır.

LC cihazı ile genotipleme çalışmalarında özgün primerlerin yanında testin özgüllüğünü arttırmak amacıyla hedefe özgü hibridizasyon problemleri kullanılmaktadır. Bu hibridizasyon problemleri, floresans boyalarla işaretlenen diziye

özgü oligonükleotid probleleridir. DNA zincirine baş ve kuyruk pozisyonunda hibridize olacak şekilde dizayn edilen bu probleler, DNA zincirindeki polimorfik bölgeyi örten sensor hibridizasyon probu ile bu proba yakın bir bölgeye bağlanan anchor problelerden oluşmaktadır (Şekil 6) (153).

Hibridizasyon probleleri amplifikasyon süresi boyunca DNA segmentine bağlıdır. Probleler hedef DNA dizisi üzerinde birbirine 1-5 nükleotit uzaklıktaki mesafede bağlanmakta ve floresan boya ile işaretlenmiş olan uçlar yan yana gelmektedir. LC cihazının ışık kaynağından (LED: Light Emitting Diode) yayılan 470 nm'deki mavi ışık, fluorescein ile işaretlenmiş olan sensor problemini uyararak daha uzun dalga boyundaki (530 nm) yeşil floresans ışığın yayılmasına neden olmaktadır.



Şekil 6. Bu hibridizasyon problelerinden sensor prob 3' ucundan Fluorescein (donör boya) ile anchor prob ise 5' ucundan LC Red 640 (alıcı boya) ile işaretlenmiştir. Denatürasyon basamağında hibridizasyon probleleri solüsyon içerisinde ayrı ayrı durmaktadırlar (153).

İki floresan boya ile işaretlenmiş olan problelerin yan yana gelmesiyle açığa çıkan enerji, ikinci prob üzerindeki alıcı boyayı etkileyerek floresans oluşumuna yol açmakta ve yeşil ışığın enerjisi LC Red 640 boyası içinde farklı bir dalga boyundaki (640 nm) kırmızı floresan ışığın yayılmasına neden olmaktadır. İki prob arasında meydana gelen bu enerji transferi "Fluorescence Resonance Energy Transfer (FRET) olarak adlandırılmaktadır. Bu enerji transferi sonucunda oluşan floresans miktarı, ortamdaki hibridizasyonun derecesine diğer bir ifadeyle PCR siklusu süresince oluşan ampliconların miktarına bağlı olarak artmaktadır (153). LC cihazının optikle ilgili birimi olan F2 kanalı, 640 nm'deki kırmızı ışığın yoğunluğunu

ölçmektedir. Ölçüm, ısımanın maksimum olduğu annealing fazı sonunda yapılabilir (Şekil 7).

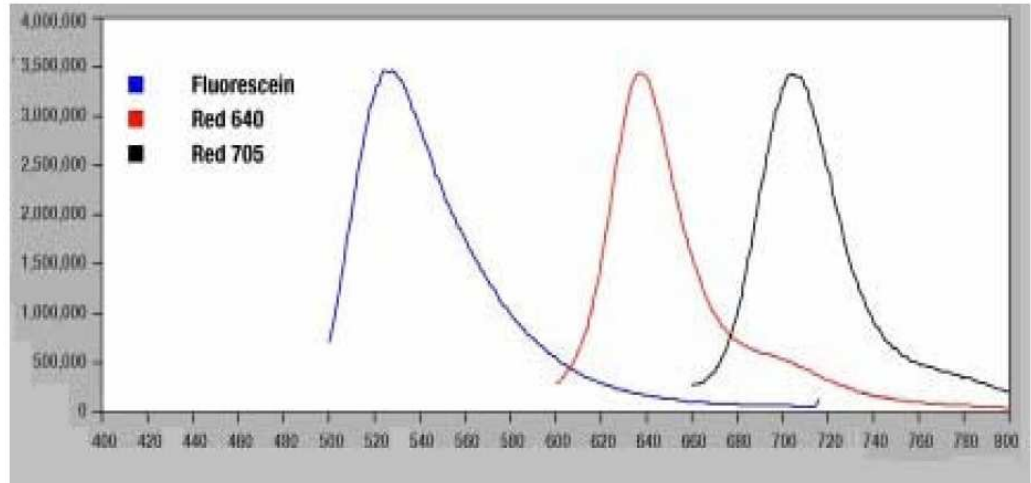


Şekil 7. Annealing basamağında, prob lar hedef DNA dizisine yan yana bağlanır. Birinci boyanın emisyon enerjisi ikinci boyayı eksite eder. Eksite olan ikinci boya da emisyon enerjisi yayar (153).

Annealing fazından sonra, sıcaklık artar ve hibridizasyon problemleri başlayan uzama (elongation) aşaması sırasında ampikondan ayrılırlar. Elongation aşamasından sonra oluşan ampikonlar çift iplikli olduklarından hibridizasyon problemleri ile hibridize olamazlar. Bu durumda, iki prob birbirlerinden uzakta ve serbest halde oldukları için FRET gerçekleşemez.

3.3.3.1 LightCycler sistemi için kullanılan floresan boyalar ve ölçüm yapılan kanallar

LC cihazının optik ünitesi, 3 farklı kanal ile aynı zamanda floresans ölçümü yapabilmektedir. 530 nm’de Kanal 1 (F1) SYBR Green I ve flourescein boya larını kullanarak, 640 nm’de LC Red 640 boyasını kullanarak Kanal 2’de (F2), 705 nm’de LC Red 705 boyası kullanarak Kanal 3’de (F3) sinyalleri ölçer (Şekil .8.) (153).



Şekil 8. LC cihazının optik kanallarının ölçüm yaptığı dalga boyları, kanallar arasındaki etkileşimler ve kullanılan floresan boyalar (153).

3.3.3.2. Erime Eğrisi (melting curve) Analizi

Amplifikasyon metodunun online olarak görüntülenmesine ek olarak amplifikasyondan sonra erime eğrisi analizi aşamasında diziye özgü hibridizasyon problemlerinin tek iplikli DNA'ya hibridizasyonu ile mutasyonların, SNP'lerin belirlenmesini ve online olarak görüntülenmesi gerçekleştirilmektedir. Her çift sarmal DNA (dsDNA), kendine özgü %50'sinin tek zincirli hale geçmesi için gerekli olan erime sıcaklığı (melting temperature= T_m) değerine sahiptir. Bu erime sıcaklıkları öncelikle çift sarmal DNA'nın uzunluğuna (Zincirin uzunluğu arttıkça T_m sıcaklığı artar), GC içeriğinin derecesine (GC' den zengin fragmentlerde T_m sıcaklığı yüksektir), zincirler arasındaki bütünlüğün derecesine (zincirlerden bir tanesinin farklı bir baz içermesi T_m sıcaklığını düşürür) bağlı olarak belirlenmektedir. Bu aşamada sıcaklık yavaş yavaş 40°C'den 75°C'ye yükselir. Hibridizasyon problemlerinin DNA zincirine hibridizasyonunu sağlayan kritik sıcaklık (T_m), mutasyon veya SNP'nin var olup olmadığının belirleyicisidir (153). Herhangi bir baz değişikliğinin oluşmadığı bir durumda, hibridizasyon probu DNA kalıbı ile tam olarak eşleşir. Baz değişikliğinin söz konusu olduğu durumlarda ise hibridizasyon probu DNA kalıbı ile tam olarak eşleşemez. İki eşleşme karşılaştırıldığında baz değişikliğini içermeyen DNA kalıbı, baz değişikliğini içeren DNA kalıbına göre daha yüksek erime sıcaklığı derecesine sahip olmaktadır. İki T_m derecesi arasındaki fark ile DNA zincirinde mutasyon olup olmadığı belirlenebilmektedir.

Bu erime eğrisi analizi sonucunda, floresan şiddetinin düşüşüne neden olan sıcaklık derecesine göre değerlendirilerek hastanın o gen için

genotiplendirilmesi yapılmaktadır. Buna göre homozigot wild type genotipler yüksek sıcaklıkta tek pik, homozigot mutant genotipler düşük sıcaklıkta tek pik, ve heterozigot genotipler ise düşük ve yüksek sıcaklıkta 2 pik olusturmasına göre 3 farklı genotip belirlenebilmektedir.

3.3.4. *LightCycler Mutasyon belirleme kiti karışımı ve çalışma protokolü*

Dokuz farklı genin polimorfizm bölgelerine özgül primerleri ve hibridizasyon probu karışımını içermektedir.

1. Primerler ve Probların karışımını içeren Reagent mix (Fluorescein / SYBR Green I ve LCRed640 / LC SimpleProbe ile işaretli)
2. Enzim karışımı (FastStart mix)
3. $MgCl_2$
4. H_2O
5. Pozitif Kontrol
6. Negatif Kontrol

MTHFR A1298C / C677T, Faktör V Leiden (G1691A), Prothrombin G20210A, Faktör XIII V34L, PAI-1 4G-5G, β -Fibrinojen -455 G/A, ACE I/D, ApoE E2/E3/E4, eNOS G894T mutasyon belirleme kitlerinin içinde belirtilen termal profil; denatürasyon, amplifikasyon, erime eğrisi analizi ve soğutma programlarından oluşmaktadır ve LC cihazının analiz programına çalışma protokolü olarak kaydedilmiştir.

Protokol şu programları içerir:

- Program 1 : Örneklerin denaturasyonu ve enzimlerin aktivasyonu
- Program 2 : Hedef DNA'nın PCR-Amplifikasyonu
- Program 3 : Genotiplerin belirlenmesi için Erime eğrisi (melting curve) analizi
- Program 4 : Soğutma (cooling)

MTHFR A1298C mutasyon belirleme kiti içinde belirtilen termal profil
Tablo VII’de gösterilmiştir.

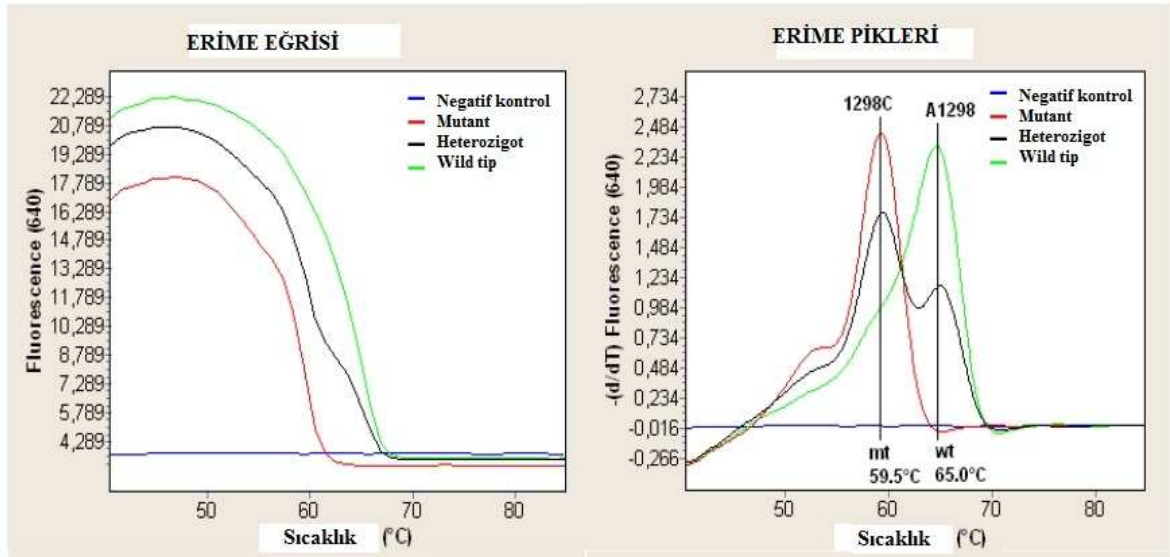
Tablo VII. MTHFR A1298C termal profili

Denaturasyon		Amplifikasyon			Melting curve					Cooling
Parametre										
Analiz modu	yok	Kuantifikasyon modu			Erime Eğrisi modu					Yok
Döngü	1	45			1					1
Hedef [°C]	95	95	60	72	72	95	40	40	85	40
Süre [hh:mm:ss]	00:10:00	00:00:05	00:00:10	00:00:10	00:00:30	00:00:20	00:00:01	00:00:30	00:00:01	00:00:30
Ramp.Rate [°C/s]	20	20	20	20	20	20	0.2	20	0.5	20
Acquisition Mode	Yok	yok	single	yok	yok	yok	yok	yok	step	yok

Her bir hasta örneği MTHFR A1298C polimorfizmini belirlemek için aşağıda Tablo. VIII’de belirtilen karışımlara göre ayrı ayrı hazırlandıktan sonra, LC cihazına ait özel camdan yapılmış 20 µl’lik kapiller tüp içerisine koyuldu. Kapiller tüpler 2500 rpm’de 10 saniye santrifüj edildi. Reaksiyon karışımının her bir kapiller tüpün dibine çöktüğü kontrol edildi. Tüpler reaksiyon tepsisine dizildikten sonra tepsi ile birlikte LC cihazına yerleştirildi. Real-time PCR’a başlandı ve yaklaşık bir saat sonra sonuçlar elde edildi. MTHFR A1298C polimorfizminin belirlenmesi için yapılan çalışmada kanal 2’den floresan ölçümü yapıldı (Şekil 9). MTHFR A1298C homozigot yabanıl tip (wild tip) (65°C) ve homozigot mutant genotiplerde (59.5°C) tek sıcaklık derecesinde erime piki oluşurken, heterozigot genotipde (59.5 °C ve 65°C) ise iki farklı sıcaklık derecesinde erime piki oluşmaktadır.

Tablo VIII. RT-PCR karışımı

	Miktar (µl)
Reagent mix	4.0
FastStart Mix	2.0
H ₂ O	7.4
MgCl ₂	1.6
Genomik DNA	5.0
Toplam	20



Şekil 9. Kanal 2 (640)'de A1298C polimorfizmi için MTHFR geninin 1298. pozisyonunda görülebilecek üç muhtemel genotipinin erime eğrisi analiz sonuçları

MTHFR C677T, Faktör V Leiden (G1691A), Protrombin G20210A, Faktör XIII V34L, PAI-1 4G-5G, β -Fibrinojen -455 G/A, ACE I/D, ApoE E2/E3/E4, eNOS G894T mutasyon belirleme kitlerinin içeriğinde önerilen çalışma protokollerine göre her hasta örneği için çalışma yapıldı ve analizler kaydedildi.

3.4. İstatistiksel Analiz

İnme hastalarında MTHFR A1298C / C677T, Faktör V Leiden (G1691A), Prothrombin G20210A, Faktör XIII V34L, PAI-1 4G-5G, β -Fibrinojen -455 G/A, ACE I/D, ApoE E2/E3/E4, eNOS G894T polimorfizmlerinin LC PCR cihazı ile analizleri yapıldıktan sonra elde edilen bulguların değerlendirilmesinde istatistik analiz için SSPS-windows 14 programında Ki-kare Testi ve t-test analiz testleri kullanıldı.

4. BULGULAR

Çalışmamızda Şubat-2011 ve Şubat-2012 tarihleri arasında Adnan Menderes Üniversitesi Uygulama ve Araştırma Hastanesi Nöroloji polikliniği/kliniğine başvuran ve inme tanısı ile takip edilen toplam 44 hasta incelendi. Hastaların yaş ortalaması 53.61 ± 13.54 'dür. Hastalar arasında en yüksek yaş 70, en düşük yaş 22'dir. Kadın hastaların sayısı 20 (%45.5), erkek hastaların sayısı 24 (%54.5)'dir. Kadınların yaş ortalaması 51.00 ± 16.24 , erkeklerin yaş ortalaması 55.79 ± 10.68 'dir.

TOAST ve BAMFORD sınıflamasına göre, yaş ortalaması ile inme alt tipleri arasında ilişki Tablo IX. ve Tablo X'da sunulmuştur. Yaş ortalaması ile inme alt tipleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (p: 0.981 ve p: 0.238)

Tablo IX. TOAST sınıflamasına göre inme alt gruplarında yaş ortalamaları

YAŞ						
	N	Ortalama	Std. Sapma	Minimum	Maksimum	p değeri
Geniş Arter Aterotrombozu	11	54.90	13.85	22	70	0,981
Kardiyoembolizm	16	52.81	13.83	26	70	
Küçük Damar Okluzyonu	12	53.10	14.24	31	70	
Diğer	5	54.40	14.41	32	69	

Tablo X. BAMFORD sınıflamasına göre inme alt gruplarında yaş ortalamaları

YAŞ						
	N	Ortalama	Std. Sapma	Minimum	Maksimum	p değeri
PACI	26	50,73	13,93	22	70	0,238
POCI	8	58,37	10,82	43	70	
LACI	10	57,30	13,65	31	70	

PACI (parsiyel anterior dolaşım infarktları), POCI (posterior dolaşım infarktları), LACI (laküner infarktlar).

TOAST sınıflandırmasına göre çalışma grubumuzda geniş arter aterotrombozu olan 11 (%25) hasta, kardiyembolik enfarktı olan 16 (%36.4) hasta, küçük arter oklüzyonu olan 12 (%27.3) hasta, diğer sebebi belirlenemeyen 5 (%11.4) hasta mevcuttu.

Bamford sınıflandırmasına göre PACI grubunda hasta sayısı 26 (%59.1), POI grubunda 8 (%18.2) hasta, LACI grubunda ise 10 (%22.7) hasta mevcuttu (Tablo XI).

Tablo XI. TOAST sınıflaması ve Bamford sınıflamasına göre iskemik inme alt tiplerine ilişkin tanımlayıcı istatistikler

		n (44)	Yüzde (%)
TOAST	Geniş Arter Aterotrombozu	11	25
	Kardiyembolizm	16	36.4
	Küçük Damar Oklüzyonu	12	27.3
	Diğer	5	11.4
BAMFORD	PACI	26	59.1
	POI	8	18.2
	LACI	10	22.7

PACI (parsiyel anterior dolaşım infarktları), POI (posterior dolaşım infarktları), LACI (laküner infarktlar).

Faktör V Leiden (G1691A), MTHFR A1298C / C677T, Protrombin G20210A, Faktör XIII V34L, PAI-1 4G-5G, β -Fibrinojen -455 G/A, ACE I/D, ApoE E2/E3/E4, eNOS G894T polimorfizmlerinin genotipik dağılımına ilişkin tanımlayıcı istatistikleri Tablo XII'da sunulmuştur.

Tablo XII. Polimorfizmlerin genotipik dağılımına ilişkin tanımlayıcı istatistikler

Gen	Polimorfizm	n	Yüzde (%)
Faktör V G1691A	G/G	35	79.5
	G/A	9	20.5
	A/A	9	20.5
MTHFR A1298C	A/C	21	47.7
	C/C	24	31.8
	C/C	24	54.5
MTHFR C677T	C/T	17	38.6
	T/T	3	6.9
	G/G	42	95.5
FaktörII G20210A	G/A	2	4.5
	G/G	31	70.5
	G/G	31	70.5
Faktör XIII V34L	G/T	11	25
	T/T	2	4.5
	4G / 4G	14	31.8
PAI-1	4G / 5G	18	40.9
	5G / 5G	12	27.3
	G/G	23	52.3
BFibrinogen-455 G/A	G/A	19	43.2
	A/A	2	4.5
	I / I	8	18.1
ACE	I / D	20	45.5
	D / D	16	36.4
	E2 / E2	1	2.3
APOE	E2 / E3	6	13.6
	E2 / E4	1	2.3
	E3 / E3	32	72.7
ENOS G894T	E3 / E4	4	9.1
	G/G	23	52.3
	G/T	15	34.1
	T/T	6	13.6

TOAST sınıflamasına göre alt gruplarda gen polimorfizmlerinin genotipik dağılımı Tablo XIII. da sunulmuştur. İnme alt grupları ile gen polimorfizmleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p > 0,05$).

Tablo XIII. TOAST sınıflamasına göre alt gruplarda gen polimorfizmlerinin genotipik dağılımı

		TOAST				p değeri
		Geniş Arter	Kardiyoembolizm	Küçük Damar	Diğer	
Faktör V	Yabanıl tip	9	11	10	5	0,462
	Heterozigot	2	5	2	0	
MTHFR A1298C	Yabanıl tip	1	5	3	0	0,265
	Heterozigot	4	6	7	4	
	Homozigot	6	5	2	1	
MTHFR C677T	Yabanıl tip	5	10	6	3	0,641
	Heterozigot	6	5	4	2	
	Homozigot	0	1	2	0	
Faktör II	Yabanıl tip	11	14	12	5	0,300
	Heterozigot	0	2	0	0	
Faktör XIII	Yabanıl tip	6	10	11	4	0,551
	Heterozigot	4	5	1	1	
	Homozigot	1	1	0	0	
PAI-1	4G / 4G	4	5	2	3	0,592
	4G / 5G	3	7	7	1	
	5G / 5G	4	4	3	1	

Tablo XIII. TOAST sınıflamasına göre alt gruplarda gen polimorfizmlerinin genotipik dağılımı

		TOAST				p değeri
		Geniş Arter	Kardiyoembolizm	Küçük Damar	Diğer	
Beta Fibrinojen	Yabanıl tip	2	10	8	3	,260
	Heterozigot	8	5	4	2	
	Homozigot	1	1	0	0	
ACE	I / I	1	2	2	3	,204
	I / D	4	9	6	1	
	D / D	6	5	4	1	
	E2 / E2	0	0	1	0	
	E2 / E3	2	1	3	0	
APOE	E2 / E4	8	13	7	4	,577
	E3 / E3	1	2	0	1	
	E3 / E4	0	0	1	0	
	Yabanıl tip	7	7	7	2	
ENOS	Heterozigot	3	6	4	2	,933
	Homozigot	1	3	1	1	

BAMFORD sınıflamasına göre alt gruplarda gen polimorfizmlerinin genotipik dağılımı Tablo XIV’de sunulmuştur. Örneklemimizde PACI alt grubunda MTHFR C677T ve B Fibrinojen gen polimorfizmi heterozigot olarak daha sık rastlandı ve istatistik olarak anlamlı bulundu (**p: ,047 ve p: ,007**).

Tablo XIV. BAMFORD sınıflamasına göre alt gruplarda gen polimorfizmlerinin genotipik dağılımı

		BAMFORD			p değeri
		PACI	POCI	LACI	
Faktör V	Yabanıl tip	20	7	8	0,810
	Heterozigot	6	1	2	
MTHFR A1298C	Yabanıl tip	4	1	4	0,425
	Heterozigot	12	5	4	
	Homozigot	10	2	2	
MTHFR C677T	Yabanıl tip	12	5	7	0,047
	Heterozigot	14	2	1	
	Homozigot	0	1	2	
Faktör II	Yabanıl tip	24	8	10	0,484
	Heterozigot	2	0	0	
Faktör XIII	Yabanıl tip	18	5	8	0,694
	Heterozigot	6	3	2	
	Homozigot	2	0	0	
PAI-1	4G / 4G	8	1	5	0,311
	4G / 5G	9	5	4	
	5G / 5G	9	2	1	
Beta Fibrinojen	Yabanıl tip	11	4	8	0,007
	Heterozigot	15	2	2	
	Homozigot	0	2	0	
ACE	I / I	5	0	3	0,470
	I / D	11	4	5	
	D / D	10	4	2	
APOE	E2 / E2	0	0	1	0,535
	E2 / E3	4	0	2	
	E2 / E4	18	7	7	
	E3 / E3	3	1	0	
ENOS	E3 / E4	1	0	0	0,676
	Yabanıl tip	12	5	6	
	Heterozigot	9	3	3	
	Homozigot	5	0	1	

PACI (parsiyel anterior dolaşım infarktları), POCI (posterior dolaşım infarktları), LACI (laküner infarktlar).

5. TARTIŞMA

Son yıllarda özellikle venöz tromboembolide önemleri ön plana çıkan protrombotik gen mutasyonlarının arteriyel inmede de rol alabilecekleri düşünülmüş ve yapılan epidemiyolojik çalışmalardan elde edilen sonuçlar birbirinden farklılık gösterebilmektedir (16).

Faktör V Leiden mutasyonu, Faktör Va'nın aktive protein C tarafından inaktivasyonunu engellemektedir (101). Sonuçta tromboza eğilim artmaktadır (102). Faktör V Leiden mutasyonu derin ven trombozu ile ilişkilidir. Faktör V Leiden mutasyonunun arteriyel trombozdaki rolü henüz tam olarak belirlenememiştir (103). Faktör V ve protrombin homozigot gen mutasyonlarının inme riskini artırdığı düşünülse de heterozigot mutasyonlardaki artışın inme riski ile açık bir ilişkisi yoktur (157). Bazı çalışmalarda inme için risk faktörü olarak belirtilmiş olmasına rağmen başka çalışmalarda bu ilişki doğrulanmamıştır (100, 103).

Grossmann ve ark., 50 yaş altındaki iskemik inme öyküsü olan 93 hasta ve 186 sağlıklı bireyi karşılaştırmıştır. Kontrol grubunda 13, hasta grubunda 15 hastada Faktör V Leiden mutasyonu saptanmıştır (kontrol grubunda %6,9, hasta grubunda %16,1). Bu çalışma sonucunda Faktör V Leiden mutasyonunun genç erişkinlerde inme için önemli bir risk faktörü olduğu kanaatine varılmıştır (158).

Voetsch ve ark. 45 yaş altı 153 arteriyel iskemik inme hastası ile 225 sağlıklı bireyi karşılaştırmıştır. Bu çalışma sonucunda Faktör V Leiden mutasyonunun genç erişkinlerde arteriyel inme için önemli bir risk faktörü olmadığı saptanmıştır (159).

Hankey ve ark. 219 iskemik inme hastası ile 205 sağlıklı bireyi karşılaştırmışlardır. Faktör V Leiden mutasyonu gibi kalıtsal trombofili faktörlerinin iskemik inme gelişimi prevalansında hasta ve kontrol grubunda anlamlı farklılık saptamamışlardır (160).

Slooter ve ark. 20-49 yaş arası iskemik inme öyküsü bulunan 193 kadın hasta ile 767 sağlıklı bireyi karşılaştırmıştır. Bu çalışma sonucunda doğum kontrol hapı kullanan ve Faktör V Leiden mutasyonu taşıyan kadınlarda iskemik inme gelişiminde risk artışı olduğu saptanmıştır (161).

Longstreth ve ark. yaş ortalaması 36,6 yıl olan 106 kadın hasta ve yaş ortalaması 37,7 yıl olan 391 sağlıklı kadını karşılaştırmıştır (119). Hasta grubunun 2'sinde venöz inme, 104'ünde arteriyel (54'ü hemorajik, 41'i iskemik, 9'u arteriyel diseksiyon kaynaklı olmak üzere) inme saptamışlardır. Kontrol grubunda 16, hasta

grubunda ise sadece 1 hastada Faktör V Leiden mutasyonu saptanmıştır (hasta grubunda %0.9, kontrol grubunda %4.1). Bu çalışma sonucunda Faktör V Leiden mutasyonunun genç kadınlarda inme için önemli bir risk faktörü olmadığı kanaatine varılmıştır.

Chaturvedi ve ark. 55 yaş altı 38 Afrika kökenli Amerika'lı hastayla yaptıkları çalışmada Faktör V Leiden mutasyonunun inme için majör bir risk faktörü olmadığını bildirmişlerdir (162).

Ridker ve ark. 374'ü miyokard infarktüsü, 209'u inme ve 121'i derin ven trombozu veya pulmoner emboli geçirmiş hastaları karşılaştırmışlardır. Faktör V Leiden mutasyonu miyokard infarktüsü geçirenlerde %6.1 oranında, inme geçiren hastalarda %4.3 oranında, derin ven trombozu veya pulmoner emboli geçirenlerde ise %11.6 oranında saptanmıştır (163). Bu çalışmadan da arteriyel inme ile Faktör V Leiden mutasyonu arasındaki ilişkinin, derin ven trombozu ile Faktör V Leiden mutasyonu arasındaki ilişkiye göre daha hafif düzeyde olduğu anlamı çıkarılabilir.

Kontula ve ark. yaptıkları bir çalışmada da 236 iskemik inmeli hastayla 137 kişilik kontrol grubu karşılaştırılmış ve hastalar arasında Faktör V Leiden heterozigot mutasyonu %3.8, kontrol grubunda ise %2.9 bulunmuştur (164).

Albucher ve ark. 30 iskemik inme geçirmiş hastanın 3'ünde Faktör V Leiden heterozigot mutasyonu ve aktive Protein C direnci saptamışlardır (165). Aynı çalışmada sağlıklı 75 bireyin sadece 1'inde aktive Protein C direnci bulunmuşlardır (%1.33). Bu çalışmadaki sonuçlar aktive Protein C direncinin iskemik inme için risk faktörü olduğunu destekler görünmektedir.

Press ve ark. iskemik serebrovasküler olay ile hiperkoagülabilitateye neden olan bu yaygın durum arasındaki bağı belirlemek için inmeli hastalarla kontrol grubu arasında Faktör V Leiden mutasyonun görülme sıklığını karşılaştırmışlardır (103). Press ve ark. çalışmalarında akut iskemik inmeli 161 yaşlı hastanın, 116'sında yaş dışında risk faktörü tanımlanamamıştır. Kontrol grubu ise 54'ü yaşlı sağlıklı yaşlı ve diğerleri genç sağlıklı olan 287 bireyden oluşturulmuştur. İskemik inme geçirenlerin grubunda Faktör V Leiden heterozigot mutasyon oranı %2.5 olarak bulunmuştur. Yaşlı inme geçiren hastalarla kontrol grubu Faktör V Leiden heterozigot mutasyon yaygınlığı açısından karşılaştırıldığında anlamlı bir farklılık görülmemiştir. Sonuç olarak venöz tromboz yatkınlığına neden olan ve yaygın görülen, Faktör V Leiden heterozigot

mutasyonunun yaşlılarda iskemik inme gelişimi için önemli bir genetik risk faktörü olmadığı düşüncesine varılmıştır.

Bizim çalışmamızda inmeli olguların %20.5'sinde heterozigot Faktör V Leiden mutasyonu bulunmuştur. Faktör V Leiden mutasyonu ile TOAST ve BAMFORD sınıflamalarına göre inme alt tipleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p>0.05$). Farklı çalışmalarda iskemik inmeli olgulardaki Faktör V Leiden mutasyonu oranı %2.5 ile %10 arasında değişmektedir (91, 147, 148, 149). Bizim çalışmamızda elde ettiğimiz %20.5'lik oran bu değerlere göre oldukça yüksekti. Daha önce Türkiye'de yapılan başka bir çalışmada Faktör V Leiden mutasyonu prevalansı %7.1 olarak bildirilmiştir (99).

Metilentetrahidrofolat redüktaz geninin 677 no'lu nükleotidi olan sitozin ile timinin yer değiştirmesi 222. aminoasit olan alaninin valine dönüşümüyle sonuçlanmaktadır. Bu değişim MTHFR enzimini termolabil hale getirir. Mutant MTHFR'nin varlığı homosistein düzeyinin artması ile sonuçlanır ve bu da hiperkoagülabilitateye neden olur. Metilentetrahidrofolat redüktaz C677T mutasyonunun venöz trombozla ilişkisi gösterilmiş olmasına rağmen iskemik inme ile ilişkisi hala net değildir (113).

Sağlıklı bireylerde de bu mutasyona sık olarak rastlanılmaktadır. Örneğin Avusturalya, Kuzey Amerika ve Avrupa'da sağlıklı bireylerin %17'sinde homozigot, %51'inde heterozigot MTHFR C677T mutasyonu bulunmuştur (166). Türkiye'de Sazcı ve ark. 1004 kadın, 680 erkek üzerinde yaptıkları incelemede MTHFR C677T görülme sıklığı %42.9, MTHFR C677C görülme sıklığı %47.4, MTHFR T677T görülme sıklığı %9.6 olarak bulunmuştur (114). Bu oranlar MTHFR mutasyonunun Türkiye'de de oldukça yaygın görüldüğünün bir delilidir.

Visy ve ark. (167) hasta ve sağlıklı bireyler arasında C677T genotip dağılımı ve allel sıklığı yönünden istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadığını saptamışlardır.

Harmon ve ark. (105), inme hastaları ile sağlıklı kontrollerde homosistein düzeyi ile MTHFR C677T polimorfizmi ilişkisini göstermişlerdir.

İnme hastaları ile yapılan bazı çalışmalarda hasta MTHFR C677T gen polimorfizminin TT (homozigot) genotipinde, CT (heterozigot) ve CC (normal) genotiplerine göre total homosistein düzeyinin daha yüksek olduğu rapor edilmiş olup, kontrol grubunda ise C677T genotipleri arasında homosistein değeri bakımından farklılık bulunmadığı belirtilmiştir (167,168, 169). Biz de çalışmamızda

homosistein düzeyleriyle MTHFR genotipleri karşılaştırmayı planladık ancak elimizdeki verilerin yetersizliği nedeniyle tüm olguları karşılaştıramadık.

Wolfgang ve ark. yaşları 28 ile 89 arasında değişen geçici iskemik atak ve/veya iskemik inme geçirmiş 81 Avusturyalı hasta ile yaşları 38 ile 84 arasında değişen 81 sağlıklı bireyi aldıkları bir çalışmada MTHFR C677T mutasyonunun prevalansını, hasta grubunda, %11.1 homozigot, %45.7 heterozigot, kontrol grubunda ise %11.1 homozigot, %49.4 heterozigot olarak bulmuşlardır (166). Sonuçta MTHFR C677T mutasyonunun geçici iskemik atak ya da iskemik inme için ciddi bir risk faktörü olmadığı düşünülmüştür.

Zhaohui Li ve ark. 1823 inme geçirmiş ve 1832 sağlıklı bireyi değerlendiren çok merkezli, geniş ölçekli bir olgu-kontrol çalışması yapmışlardır (170). Bu çalışmada yüksek plazma homosistein seviyesinin iskemik olduğu kadar hemorajik inme ile de bağlantılı olduğu gösterilmiştir. Metilentetrahidrofolat redüktaz C677T mutasyonunun hem vaka hem de kontrollerde yüksek serum homosistein seviyelerine katkıda bulunduğu bildirilmiştir. Ayrıca MTHFR C677T homozigot mutasyonunun Çin'deki iskemik inme ile bağlantılı olduğu sonucuna varılmıştır.

Lopaciuk ve ark. 45 yaş altı 51'i erkek, 49'u kadın 100 iskemik inme geçirmiş hasta ile yine 45 yaş altı kardiyak emboli ve iskemik inme öyküsü olmayan 238 sağlıklı bireyi karşılaştıran çalışmalarında MTHFR T677T oranı hasta grubunda %12, kontrol grubunda %11, MTHFR C677T oranı hasta grubunda %37, kontrol grubunda %40, MTHFR C677C oranı ise hasta grubunda %51, kontrol grubunda %49 olarak bulmuşlardır (171). Sonuç olarak bu mutasyonun iskemik inme için risk faktörü olmadığı düşünülmüştür.

Uçar ve ark. Karadeniz Bölgesi'ndeki Türk popülasyonu üzerinde bir yaptığı çalışmaya 28 ile 78 yaşları arasında 19'u erkek, 11'i kadın iskemik inme geçiren hastalar ile, yaşları 18 ile 65 arasında değişen, 182'si erkek, 60'ı kadın toplam 242 sağlıklı birey almışlardır (113). Çalışma sonucunda MTHFR C677T prevalansı, hasta grubunda %50, kontrol grubunda %49.1 olarak bulunmuştur. Yani hasta grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olmayan bir yükseklik görülmüştür. Bu çalışma sonucunda Karadeniz Bölgesi'ndeki Türk popülasyonunda MTHFR C677T mutasyonunun iskemik inmeyle bağlantısı gösterilememiştir.

Bizim çalışmamızda inmeli olguların %45.4'ünde MTHFR C677T mutasyonu bulunmuştur. Bu mutasyonun %38.6'sı heterozigot, %6.8'i homozigot mutasyon şeklindeydi. Bu da daha önce Türkiye'de ve dünyanın değişik yerlerinde sağlıklı popülasyonda yapılan MTHFR C677T mutasyonu prevalans çalışması sonuçlarına göre daha düşüktü (114, 166). MTHFR C677T heterozigot mutasyonu ile BAMFORD sınıflamasına göre PACI alt tipi arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı ($p \leq 0.05$). Çalışmamızda MTHFR C677T gen polimorfizminin inme için bir risk faktörü olduğu saptanmış ancak; olgu sayısı azlığından ve yeterli homosistein ölçümleri olmadığından, olgu sayısının genişletilmesi ve homosistein seviyelerinin ölçümü ile bir ilişki kurularak değerlendirilmesi gerektiği düşünülmektedir.

Daha önce yapılmış üç çalışmada MTHFR C677T mutasyonunun yüksek oranda saptanmasına rağmen bu mutasyonun iskemik inme riskini artırdığı gösterilememiştir (113, 166, 171). Bir çalışmada MTHFR C677T homozigot mutasyonunun iskemik inme ile bağlantılı olduğu sonucuna varılmıştır (170). Metilentetrahidrofolat redüktaz enziminin aktivitesi MTHFR C677T mutasyonunda olduğu gibi MTHFR A1298C mutasyonunda da azalır. Yapılan bir çalışma, MTHFR A1298C homozigot mutasyonunun, plazma homosistein konsantrasyonundaki artış açısından, MTHFR C677T homozigot mutasyonu kadar etkili olmadığını göstermiştir (115).

Türkiye'de Sazcı ve ark. 1004 kadın ve 680 erkek üzerinde yaptıkları incelemede, MTHFR A1298C görülme sıklığı %43.7, MTHFR A1298A görülme sıklığı %46.3, MTHFR C1298C görülme sıklığı %10.0 olarak bulunmuştur. Aynı çalışmada Türkiye'de MTHFR C677T/A1298C heterozigot mutasyonlarının birlikte görülme sıklığı %21.6 olarak saptanmıştır. Metilentetrahidrofolat redüktaz C677T / A1298C heterozigot mutasyonlarının birlikte görülme sıklığı Kanada'da %15, Hollanda'da %20, Amerika'da ise %17'dir (114).

Bizim çalışmamızda inmeli olguların %79.5'inde MTHFR A1298C mutasyonu bulunmuştur. Bu mutasyonun %47.7'si heterozigot, %31.8'i homozigot mutasyon şeklindeydi. Bu da daha önce Türkiye'de sağlıklı popülasyonda yapılan MTHFR A1298C mutasyonu prevalans çalışması sonuçlarına göre homozigot mutasyon sıklığı daha yüksekti (114). Çalışmamızda MTHFR A1298C mutasyonu ile TOAST ve BAMFORD sınıflamalarına göre inme alt tipleri arasında istatistiksel

olarak anlamlı fark saptanmadı ($p>0.05$). Bu da MTHFR A1298C mutasyonunun iskemik inme gelişiminde önemli olmadığını düşündürür.

Protrombin G20210A mutasyonu, protrombin sentezini, mRNA ve protein sentezi düzeyini artırarak, plazma protrombin miktarını çoğaltır. Protrombin G20210A mutasyonu, normal kontrollere göre %30 daha fazla serum protrombin seviyesine neden olur (125).

Lopaciuk ve ark., 45 yaş altı 51'i erkek, 49'u kadın 100 iskemik inme geçirmiş hasta ile, yine 45 yaş altı kardiyak emboli ve iskemik inme öyküsü olmayan 238 sağlıklı bireyi karşılaştıran çalışmalarında, Protrombin G20210A heterozigot mutasyon oranını hasta grubunda %2.0, kontrol grubunda %2.1 olarak bulmuşlardır (171).

Longstreth ve ark. 45 yaş altı kadınlarda yaptıkları çalışmada 105 inmeli hastanın 2'sinde (%1.9), 382 kontrol bireyin 6'sında (%1.6) Protrombin G20210A mutasyonu saptamışlardır (119).

Gomez ve ark. yaş ortalamaları 26 olan, 100'ü kadın, 100'ü erkek toplam 200 bireyin 4'ünde Protrombin G20210A heterozigot mutasyon bulmuşlar (%2), homozigot mutasyon bulamamışlardır (172).

Madonna ve ark. 132 genç inmeli hasta ve 262 sağlıklı bireyde yaptıkları çalışmada, Protrombin G20210A mutasyonu görülme sıklığını hasta grupta %7.6, kontrol grubunda %6.1 olarak saptamışlardır (173).

De Stefano ve ark. diyabet, hipertansiyon, hiperlipidemi gibi risk faktörleri olmadığı saptanan 72 iskemik inme geçirmiş hasta ile 198 sağlıklı bireyde Protrombin G20210A mutasyonunu incelemişlerdir. Hasta grubunda 7 bireyde Protrombin G20210A heterozigot mutasyonu (%9.7), 2 bireyde Protrombin G20210A homozigot mutasyonu (%2.7), kontrol grubunda 5 kişide Protrombin G20210A heterozigot mutasyonu (%2.5) saptamışlardır. Kontrol grubunda Protrombin G20210A homozigot mutasyonuna rastlamamışlardır (174). Bu çalışmanın sonucunda ise Protrombin G20210A mutasyonunun serebral iskemi riskini artıran bir faktör olduğu düşüncesine varılmıştır.

Bizim çalışmamızda inmeli olguların %4.5'inde heterozigot Protrombin G20210A mutasyonu bulunmuştur, homozigot mutasyon saptanmamıştır. Bu da daha önce sağlıklı popülasyonda yapılan Protrombin G20210A mutasyonu prevalans çalışması sonucundan daha yüksekti (172). Daha önce yapılmış üç çalışmada da Protrombin G20210A mutasyonunun iskemik inme riskini artırdığı

gösterilememiştir (119, 171, 173). Bir başka çalışmanın sonucunda ise Protrombin G20210A mutasyonunun serebral iske mi riskini artıran bir faktör olduğu düşüncesine varılmıştır (174). Çalışmamızda protrombin G20210A mutasyonu ile TOAST ve BAMFORD sınıflamalarına göre inme alt tipleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p>0.05$). Bu da Protrombin G20210A mutasyonunun iskemik inme gelişiminde önemli olmadığını düşündürür.

Plazminojen aktivator inhibitor-1 gen polimorfizminin en sık rastlanan formu, PAI-1 geninin promoter bölgesinin 675. pozisyonunda guanin nükleotidinin insersiyon (5G) / delesyon (4G)'udur. Bu durumda artmış PAI-1 mesajcı RNA salınımı ile dolaşımda PAI-1 protein düzeyleri yükselmektedir. Plazminojen aktivator inhibitor-1 4G/4G ve 4G/5G variantlarının diğer kalıtsal trombofili nedenleri kadar etkili olmasa da trombozlu olgularda daha sık saptandığı bildirilmiştir (120). Plazminojen aktivator inhibitor-1 seviyesinin PAI-1 4G/4G genotipli hastalarda 5G/5G genotipli hastalardan %25 daha yüksek olduğu belirtilmiştir (129).

Johansson ve ark. yaptıkları prospektif bir çalışmada son zamanlarda fibrinolitik işaretleyici olarak kabul edilen tPA/PAI-1 kompleksinin, inme gelişiminden özellikle de hemorajik inme gelişiminden bağımsız olduğu gösterilmiştir (125).

Endler ve ark. 136 geçici iskemik atak veya hafif inme geçirmiş hasta ile 115 sağlıklı bireyi karşılaştırmışlardır (175). Plazminojen aktivator inhibitor-1 4G/4G genotipinin prevalansını hasta grubunda %32, kontrol grubunda %42 olarak bulmuşlardır. Aynı çalışmada 60 yaş altı 61 hastada PAI-1 4G/4G genotipinin prevalansı %20, 60 yaş üstü 75 hastada PAI-1 4G/4G genotipinin prevalansı %42 olarak saptanmıştır. Bu çalışmadan PAI-1 4G/4G genotipinin geçici iskemik atak ve hafif inme için risk faktörü değil koruyucu olduğu sonucu çıkarılmıştır.

Roest ve ark. yaptıkları prospektif çalışmada, 12239 postmenopozal kadını 18 yıl takip etmişlerdir (176). Çalışmanın sonucunda PAI-1 4G/4G genotipi, PAI-1 5G/5G genotipi ile karşılaştırıldığında, PAI-1 4G/4G genotipinin serebrovasküler mortalite riskinde önemli ölçüde azalma sağladığı saptanmıştır.

Hoekstra ve ark. yaptıkları çalışma sonucunda PAI-1 4G/4G genotipinin inmeye karşı koruyucu etkisini bulunca bir hipotez yürütmüşlerdir (177). Bu hipotez PAI-1 4G/4G aleli sayesinde bölgesel olarak artan doku PAI-1 mevcut aterom plağını stabilize eder, böylece serebrovasküler hastalık riski azalır şeklindedir.

Winklund ve ark. yayınladığı iki olgu kontrol çalışmasından PAI-1 4G/4G ve PAI-1 4G/5G genotiplerinin iskemik inme için artmış risk faktörü olduğu sonucu çıkarılmıştır (178).

Bang ve ark. PAI-1 genotipinin inme tipleri ile ilişkisini kavramak için yaptıkları çalışmada, PAI-1 4G/4G genotipi ile aterotrombotik inme arasında güçlü bir ilişki bulunmuştur (179).

Bizim çalışmamızda inmeli olguların %31.8'inde PAI-1 4G/4G, %40.9'unda PAI-1 4G/5G polimorfizmleri bulundu. Çalışmamızda PAI-1 gen polimorfizmi ile TOAST ve BAMFORD sınıflamalarına göre inme alt tipleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p>0.05$).

β -Fibrinojen -455 GA mutasyonu, β -Fibrinojen geninin promotor bölgesinde -455. pozisyonda bulunan guanin nükleotidinin adenin nükleotidi ile yer değiştirmesi sonucu gelişir ve fonksiyonel fibrinojen molekülü sentezinde hız kısıtlayıcı basamak olan beta zincir transkripsiyonunda 1.2-1.5 kat artışa neden olur. Böylece yüksek plazma fibrinojen seviyesi ile ilişkilidir. β -Fibrinojen -455 AA genotipi taşıyanlarda fibrinojen düzeyleri, β -Fibrinojen -455 GG ve β -Fibrinojen -455 GA taşıyanlara göre daha yüksektir (131).

Martiskainen ve ark. , yaşları 55 ile 85 arasında değişen 486 iskemik inme geçiren hasta üzerinde yaptıkları araştırmada, β -Fibrinojen -455 GG görülme oranını %64.9, β -Fibrinojen -455 GA görülme oranını %31.8, β -Fibrinojen -455 AA görülme oranını %3.3 olarak bulmuşlardır. Bu çalışmanın sonucunda, β -Fibrinojen -455 GA mutasyonunu taşımanın laküner infarkt gelişimi için bir risk faktörü olduğu belirtilmiştir (135).

Liu ve ark., 91 iskemik inme geçiren, 74 yaşlı ve 98 genç sağlıklı bireyle yaptıkları çalışmada, iskemik inmeli hastalarda mutasyon görülme sıklığını %22.7, yaşlı kontrol grubunda %7.1, genç kontrol grubunda da %21.3 olarak bulmuşlar. Mutasyon sıklığı açısından kadın grupla erkek grup arasında anlamlı bir fark saptanmamıştır. Kontrol grubunda mutasyonun görülme sıklığının yaşla birlikte azaldığı tesbit edilmiştir (40 yaş altı grupta %21.3, 41-59 yaş arasında %15.4, 60 yaş üzerinde %10.2). Yaşlı erkek hastaların oluşturduğu kontrol grubunda mutasyon saptananların plazma fibrinojen düzeylerinin mutasyon olmayanlara göre yüksek olduğu bulunmuştur. Yaşlı kadınların oluşturduğu kontrol grubunda ise böyle bir eğilim gözlenmemiştir (136).

Kesler ve ark. 227 serebrovasküler hastalık geçirmiş hasta ile 225 kontrol bireyde β -Fibrinojen -455 GA mutasyonu bakmışlardır (134). Çalışma sonucunda serebrovasküler hastalık ile β -Fibrinojen -455 GA mutasyonu arasında anlamlı bir ilişki kuramamışlardır. Ancak serebrovasküler hastalıkların büyük damar hastalığı alt grubuna giren hastalarda β -Fibrinojen -455 AA görölme sıklığının çok yaygın olduğunu bulmuşlardır.

Nishiuma ve ark. 85 hipertansiyonu olan inme geçirmiş hastayı, 85 hipertansiyonu olmayan inme geçirmiş hastayı ve 84 normotansif inme öyküsü olmayan bireyi β -Fibrinojen -455 GA mutasyonu açısından incelemeye almıştır (180). β -Fibrinojen -455 GA mutasyonu hipertansif inme geçirmiş grupta diğer gruplara oranla anlamlı ölçüde fazla bulunmuştur. İnme geçirmemiş hipertansif grupta ise diğer gruplarla kıyaslanınca anlamlı bir yükseklik saptanmamıştır. Bu çalışma sonucunda inme geçiren hastalarla, β -Fibrinojen -455 GA mutasyonu arasında, diğer risk faktörlerinden bağımsız olarak anlamlı bir ilişki bulunduğu sonucuna varılmıştır.

Bizim çalışmamızda inmeli olguların %47.7'sinde β -Fibrinojen -455 GA mutasyonu bulunmuştur. Bu mutasyonun %43.2'si heterozigot, %4.5'i homozigot mutasyon şeklindeydi. Daha önce yapılan bazı çalışmalarda β -Fibrinojen -455 GA mutasyonunun iskemik inme riskini artırdığı gösterilmiştir (135, 180). Bir başka çalışmanın sonucunda ise β -Fibrinojen -455 GA mutasyonunun serebral iske mi riskini artıran bir faktör olmadığı düşüncesine varılmıştır (134). Çalışmamızda β -Fibrinojen -455 GA mutasyonu ile BAMFORD sınıflamasına göre PACI alt tipi arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı ($p \leq 0.05$). Bu da mutasyonun iskemik inme gelişiminde önemli olabileceğini düşündürmektedir.

Faktör XIII pıhtılaşma sisteminin son basamağında rol alan bir transglutaminaz enzimidir. Aktif Faktör XIII fibrin monomerleri arasında kovalent bağlar oluşumunu sağlar. Ayrıca fibronektin, kollajen, α 2-anti plazmin çapraz bağlarının stabilizasyonunda da görev alır (121, 122). Faktör XIII fonksiyon bozukluğu yapan mutasyonlar arasında en sık rastlanan Faktör XIII V34L mutasyonudur. Faktör XIII V34L mutasyonu prevalansı ile ilgili az sayıda bilgi vardır. Daha önce yapılan çalışmalardan elde edilen verilere göre, beyaz ırkta Faktör XIII V34L heterozigot mutasyonu %32, Faktör XIII V34L homozigot mutasyonu %4, Avusturya popölasyonunda ise Faktör XIII V34L heterozigot mutasyonu %26.2, Faktör XIII V34L homozigot mutasyonu %7.8'dir (181).

Catto ve ark. 612 serebrovasküler hastalık geçirmiş birey ve 436 sağlıklı bireyde Faktör XIII V34L mutasyonu bakmışlardır (182). Faktör XIII V34L mutasyonu görülme sıklığı, hemorajik inme geçirmiş hastalarda %54.8, iskemik inme geçirmiş hastalarda %46.5, kontrol grubunda ise %41.7 olarak bulunmuştur. Bu çalışmanın sonucunda iskemik inme ile Faktör XIII V34L mutasyonu arasındaki ilişki gösterilememiş, ancak hemorajik inme ile Faktör XIII V34L mutasyonu arasındaki ilişki gösterilmiştir. Yazarlar, Faktör XIII V34L mutasyonunun, fibrin yapısını zayıflatarak iskemik inmeden koruyucu, hemorajik inmeyi ise kolaylaştırıcı bir faktör olduğu hipotezini ileri sürmüşlerdir.

Bizim çalışmamızda inmeli olguların %29.5'sinde Faktör XIII V34L mutasyonu bulunmuştur. Bu mutasyonun %25.5'i heterozigot, %4.5'si homozigot mutasyon şeklindeydi. Bu da daha önce sağlıklı popülasyonda yapılan Faktör XIII V34L mutasyonu prevalans çalışması sonucundan daha düşüktü (180). Çalışmamızda Faktör XIII V34L mutasyonu ile TOAST ve BAMFORD sınıflamalarına göre inme alt tipleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p>0.05$).

Anjiyotensin dönüştürücü enzim geni 26 eksondan oluşur, 17. kromozom üzerinde 21 kb'lık yer kaplar ve 1306 aminoasitli bir protein kodlar. Bu dizide sık görülen intron 16'da 287. baz eşleşmesinde tekrar dizisi varlığı (I aleli) veya yokluğu (D aleli) ile oluşan polimorfizmden söz edilir (13, 138). Anjiyotensin dönüştürücü enziminin genetik polimorfizmi ACE aktivitesinde belirleyici rol alır. Örneğin D aleli için homozigot olan bireyler I aleli için homozigot olanlarla karşılaştırıldığında ACE D/D geni taşıyanlarda ACE aktivitesinin %56 oranında arttığı gösterilmiştir (139).

Sipahi ve ark. tarafından, Trakya bölgesinde yaşayan iskemik inme geçirmiş hastalarda ACE insersiyon/delesyon (I/D) gen polimorfizmlerinin sıklığını, vasküler risk faktörleri ve inme alt grupları ile ilişkisini araştırmak amacıyla bir çalışma yapılmıştır. Çalışmaya 162 iskemik inme geçirmiş hasta ile 146 sağlıklı olgu alınmıştır. İskemik inme hastaları, TOAST kriterlerine göre büyük ve küçük damar hastalığı olarak inme alt gruplarına ayrılmıştır. Hasta grubundaki ACE I/D genotip dağılımı (DD=%34.0, ID=%50.0, II=%16.0), kontrol grubundaki genotip dağılımı ile karşılaştırıldığında (DD=%34.3, ID=%49.7, II=%16.1) anlamlı bir fark bulunamamıştır. Ayrıca her iki inme alt grubu arasında ACE I/D polimorfizmi açısından farklılık bulunamamıştır. Bu çalışmadan Trakya bölgesinde yaşayan

bireylerde ACE I/D gen polimorfizminin iskemik inme gelişmesinde genetik risk faktörü olmadığı sonucu çıkarılmıştır (13).

Somay ve ark. yaptıkları bir çalışmada da 29 iskemik inmeli, 20 hemorajik inmeli ve 20 kontrol bireyde, ACE genotip grupları DD, ID, II polimorfizmleri açısından karşılaştırılmıştır (148). Bu çalışmada da ACE DD, ACE ID, ACE II gen polimorfizmlerinde, hemorajik inme ve iskemik inme grubu ile kontrol grubu arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır.

Bizim çalışmamızda ACE I/D gen polimorfizmi iskemik inmeli olguların %45.5'inde bulundu. Daha önce yapılmış bazı çalışmalardan elde edilen sonuçlar ACE I/D gen polimorfizminin iskemik inme için risk faktörü olmadığını düşündürmüştür (13, 148). Çalışmamızda ACE gen polimorfizmi ile TOAST ve BAMFORD sınıflamalarına göre inme alt tipleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p>0.05$). Bizim çalışmamız da ACE I/D gen polimorfizminin iskemik inme için risk faktörü olmadığı düşüncesini desteklemektedir.

Genetik faktörler lipoprotein düzeyini etkileyerek aterosklerozun oluşumunda önemli bir rol oynar. Lipoproteinlerin plazma düzeyleri ve metabolik hızları, yüzeylerinde bulunan apolipoproteinler tarafından kontrol edilmektedir (142). Bir lipoprotein bileşeni olan protein yapısındaki Apolipoprotein E (Apo E) düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) reseptörleri için ligand olarak görev yapar, şilomikronların ve çok düşük dansiteli lipoproteinlerin (VLDL) taşınmasında rol oynar (143). Apo E'nin yapı ve işlevindeki değişiklikler lipoprotein konsantrasyonunu etkiler. Apo E, 19. kromozomun uzun kolundaki 19q13.2 geniyle kodlanır (145). Apo E geni polimorfiktir. $\epsilon 2$, $\epsilon 3$, $\epsilon 4$ olmak üzere üç alele sahiptir ve bu aleller $\epsilon 2/\epsilon 2$, $\epsilon 2/\epsilon 3$, $\epsilon 2/\epsilon 4$, $\epsilon 3/\epsilon 3$, $\epsilon 3/\epsilon 4$, $\epsilon 4/\epsilon 4$ genotiplerini oluşturur. Somay ve ark. yaptıkları bir çalışmada, 29 iskemik inmeli, 20 hemorajik inmeli ve 20 kontrol bireyde, Apo E'nin 3 majör isoformu olan $\epsilon 2$, $\epsilon 3$, $\epsilon 4$ alelleri incelenmiş. Hemorajik inme, iskemik inme ve kontrol grubu arasında Apo E, $\epsilon 2/\epsilon 2$, $\epsilon 2/\epsilon 3$, $\epsilon 3/\epsilon 3$, $\epsilon 3/\epsilon 4$ gen polimorfizmleri açısından anlamlı bir fark bulunamamıştır (148). Çalışmamızda Apo E gen polimorfizmleri ile TOAST ve BAMFORD sınıflamalarına göre inme alt tipleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p>0.05$).

Nitrik oksit, nitrik oksit sentaz enzimi tarafından L-arginin'den sentezlenen güçlü bir vazodilatatördür. Nitrik oksit platelet agregasyonunu ve adezyonunu lökosit kemotaksisini ve adezyonunu inhibe ettiği gibi adezyon molekülü ve kemokin ekspresyonunu, düz kas hücre proliferasyonunu ve

migrasyonunu ve LDL oksidasyonunu da inhibe etmektedir bu nedenle antiaterojenik ve antitromboembolik etki göstermektedir (183).

Nitrik oksit üreten enzimlerin bir izoformu olan eNOS, hem anjiyogenezde, hem vaskülogenezde önemli bir rolü olan endotel hücrelerine spesifik bir enzimdir. eNOS ekspresyonu, eNOS geninin birçok fonksiyonel polimorfizmleri ile etkilenir. Özellikle eNOS gen ekspresyonunu azaltan ekzon 7'deki G894T ve promotor bölgedeki eNOS T786C polimorfizmleri iskemik inmeye zemin hazırladığı düşünülen polimorfizmler arasındadır.

Klaus Berger ve ark. 2007 yılında Almanya'nın iki farklı bölgesinden toplam 1901 iskemik inme hastası ve 1747 kontrol vakasının dahil edildiği iki çalışmanın sonuçlarını yayınladılar. Çalışma kapsamında iskemik inme ile muhtemel ilişkisi olan 63 farklı gendeki toplam 106 tek nükleotid polimorfizmi araştırıldı. 1,417 hasta ve 996 kontrol vakasının olduğu birinci çalışmada hastaların %70'inde hipertansiyon varken kontrol grubunun %13,3'ünde hipertansiyon vardı. Bu çalışmada 5 farklı tek nükleotid gen polimorfizminin (interleukin 13 4045C/T, Selectin P 40G/A, Chemokine receptor 2 46295G/A, NOS3 894G/T, Alpha 2 integrin 873G/A) hasta ve kontrol grubu arasında anlamlı farklılık gösterdiği tespit edildi. 484 hastanın ve 751 kontrol vakasının olduğu ikinci çalışmada hipertansiyona hastaların %69,4'ünde diabetes mellitusa %33,8'inde ve hiperkolesterolemiye hastaların %19,1'inde rastlanırken kontrol grubunun sırasıyla %53,5 %15,1 %29,9'unda tespit edildi. Bu çalışmada hasta ve kontrol grubu arasında istatistiksel anlamlı farklılık gösteren tek polimorfizm eNOS G894T oldu. Çalışmanın sonucunda her iki çalışmada da eNOS G894T tek nükleotid polimorfizmi ile artmış iskemik inme riski arasında ilişki tespit edildi ve eNOS G894T polimorfizminin iskemik inme için bağımsız risk faktörü olduğu sonucuna ulaşıldı (184).

2000 yılında Fransa'da Elbaz A ve ark. 460 iskemik inmeli hasta ve aynı sayıdaki kontrol grubunda eNOS G894T gen polimorfizmini ve TOAST sınıflamasına göre inme alt tipleri ile olası ilişkisini araştırdılar. Gen polimorfizminin genotipik dağılımı hasta ve kontrol grubu arasında anlamlı farklılık gösterdi. eNOS 894GG genotipi (yabanıl tip) hasta grubunda daha sıklıkla bulundu. TOAST sınıflamasına göre alt gruplar değerlendirildiğinde küçük damar oklüzyonu alt grubundaki hastalarda eNOS 894 GG genotipi kontrol grubuna göre anlamlı derecede daha sıklıkla bulundu. Küçük damar oklüzyonu alt grubunda LDL seviyeleri daha yüksek tespit edilmiş ve bu

grupta GG genotipi taşıyanlarda taşımayanlara oranla iskemik inme ile LDL seviyeleri arasında anlamlı ilişki olduğu sonucuna varmışlardır. Yazarlar çalışmalarının sonunda homozigot G allelinin iskemik inme ile özellikle küçük damar oklüzyonu alt grubu ile ilişkili olduğu, LDL kolesterol yüksekliği ve GG genotipi birlikteliğinin sinerjistik etki gösterdiği sonucuna varmışlardır (185).

2008 yılında Türkiye’de Güldiken ve ark. çalışmalarında akut veya kronik dönemdeki iskemik inmeli 146 hasta ile 133 sağlıklı bireyde eNOS G894T gen polimorfizmini ve TOAST sınıflamasına göre inme alt gruplarında genotipik farklılığın inme riskine etkisini araştırdılar. Hastalardan oluşan grupta eNOS 894GG genotipi (yabanıl tip) %56.3 GT genotipi (heterozigot) %40.6 TT genotipi (homozigot) %3.1 iken kontrol grubunda GG genotipi %49.3 GT genotipi %45.8 TT genotipi 4,9 idi. G ve T alleli frekansları hasta grubunda G %76.6, T %23.4 kontrol grubunda G %72.2, T %27.8 idi. TOAST sınıflamasına göre geniş arter aterosklerozu grubunda doğal tip polimorfizmin oranı GG %54.8, heterozigot GT %38.7, homozigot TT %6.5 iken küçük damar oklüzyonu grubunda GG %45, GT %50, TT %5 oranında görüldü. G ve T alel frekans oranları geniş arter aterosklerozu grubunda G aleli %74.1 T aleli % 25.9 küçük damar oklüzyonu grubunda G aleli %70 T aleli % 30 idi. Gruplar arasında istatistik anlamlı fark bulunamadı. Çalışma sonucunda kontrol grubu ile hastalar arasında eNOS G894 polimorfizmi dağılımı ve alel frekansları açısından anlamlı istatistiksel farklılık olmadığı sonucuna vardılar. Bu sonuçlarla eNOS geninde ekson 7’nin 894 üncü pozisyonundaki polimorfizmin iskemik inme ile ilişkisiz olduğu sonucuna varıldı (186).

Macaristan’da 2005 yılında Szolnoki ve ark. 407 akut iskemik inme hastasında MTHFR C677T mutasyonu, ACE I/D polimorfizmi ve eNOS G894T polimorfizmlerinin tek tek ve birlikte iskemik inme ve alt grupları ile olan ilişkilerini incelediler. Hasta grubu geniş arter enfarktı, küçük damar enfarktı ve mikrovaskülopati şeklinde 3 alt gruba ayrıldı. 295 kişilik kontrol grubu aynı bölgede yaşayan sağlıklı bireylerden rastgele seçim yaparak oluşturuldu. Tek tek genotipler gruplar arasında değerlendirildiğinde sadece ACE D/D genotipinin küçük damar enfarktı grubunda risk faktörü olduğu sonucuna ulaşıldı. Gen polimorfizmleri birlikte değerlendirildiğinde MTHFR 677 CT genotipi eNOS 894GT veya eNOS 894TT genotipi ile birlikte kontrol grubuna göre inme grubunda ve ayrıca geniş arter enfarktı alt grubunda anlamlı derecede daha sık görülmekte idi. Benzer şekilde

ACE D/D genotipi ile eNOS 894GT veya eNOS 894TT genotipi inme grubunda ve her 3 inme alt grubunda ayrı ayrı kontrol grubuna göre anlamlı derecede daha sık görüldü. Çalışmalarının sonucunda eNOS 894GT veya eNOS 894TT genotiplerinin tek başına iskemik inme veya inme alt tipleri açısından genetik risk oluşturmadıkları fakat MTHFR 677TT veya ACE D/D polimorfizmleri ile birlikte olduklarında iskemik inme için bağımsız genetik risk faktörü oldukları sonucuna vardılar (187).

Londra kohortunda 1998 yılında yapılan çalışmada Markus ve ark. 361 iskemik inme veya geçici iskemik atak hastasında eNOS G894T polimorfizminin dağılımını incelediler. Farklı etnik gruplar arasında gen polimorfizmleri farklılık gösterebildiğinden çalışmaya sadece beyaz ırktan olanlar dahil edildi. 236 sağlıklı vakadan oluşan kontrol grubunun 129'u hastaların birinci derece akrabalarından seçilirken geri kalan 107 vaka hastaların akrabaları arasından seçildi. eNOS G894T polimorfizminin genotipik dağılımı değerlendirildiğinde hasta ve kontrol grubu arasında anlamlı farklılık tespit edilmedi. Sonuçlar her iki kontrol grubu ile ayrı ayrı karşılaştırıldı ve yine genotipik dağılımda anlamlı farklılık bulunmadı. G ve T allelerinin frekansları ile iskemik inme arasında anlamlı ilişki bulunmadı. İnmeli hastalar TOAST iskemik inme sınıflamasına göre alt gruplara ayrıldı gruplar arasında eNOS G894T plimorfizminin genotipik dağılımında anlamlı farklılığa rastlanmadı (188).

Saidi S ve ark. retrospektif olarak 329 iskemik inme hastasını TOAST iskemik inme sınıflamasına göre alt gruplara ayırdılar ve eNOS T786C eNOS 4 a/b ve eNOS G894T polimorfizmlerinin inme ile ilişkisini araştırdılar. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında eNOS G894T gen polimorfizmi inme ile ilişkili bulundu. Haplotip dağılım analizinde 894T 4b 786T ve 894T 4b 786C, 894T 4a 786T haplotipleri hasta grubunda anlamlı derecede yüksek frekansta görülürken 894T 4b 786T haplotipi ise hasta grubunda anlamlı düzeyde az rastlandı. Çok değişkenli regresyon analizinde 894T 4b 786T, 894T 4b 786C ile birlikte 894T 4a 786T haplotipleri artmış iskemik inme riski ile ilişkili bulundu. Çalışmalarının sonunda eNOS 894 TT genotipi ve eNOS 894 T alelini içeren haplotiplerin bağımsız olarak iskemik inme ile ilişkili olduğu sonucuna vardılar (189).

Bizim çalışmamızda inmeli olguların %47.7'sinde eNOS G894T mutasyonu bulunmuştur. Bu mutasyonun %34.1'i heterozigot, %13.6'si homozigot mutasyon şeklindeydi. Çalışmamızda eNOS G894T mutasyonu eNOS G894T

mutasyonu ile TOAST ve BAMFORD sınıflamalarına göre inme alt tipleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p>0.05$).

Literatürdeki verilerin bir kısmı bizim bulgularımız ile uyumlu olsa da, verilerimizle uyuşmayan sonuçlar elde eden çalışmalar da mevcuttur. Genetik polimorfizmlerin frekansları popülasyonlar arasında farklılık göstermektedir. Bu nedenle her popülasyon, kendi özellikleri dikkate alınarak değerlendirilmelidir. Çalışmamızın handikapları kontrol grubumuzun olmaması, örneklem sayımızın sınırlı olması ve biyokimyasal parametrelere (homosistein, fibrinojen) ait yeterli veri olmamasıdır.

6-SONUÇ

İnme, hastalar, aileleri ve sağlık kurumları için ruhsal ve sosyoekonomik sorunlara yol açan, uzun dönem sakatlığın önemli bir nedenidir. Bu nedenle risk faktörlerinin belirlenmesi ve bu faktörlere karşı mücadele inme ile savaşta temel oluşturmalıdır. İnme etiyojisine yönelik yapılan çeşitli çalışmalarda büyük farklılıklar görülmektedir. Çalışmalardaki örnek sayılarının az olmasının, kullanılan yöntemlerin çeşitliliğinin ve etnik grupların, alınan sonuçlardaki farklılığa katkı sağlaması muhtemeldir.

Bu çalışmanın amacı, trombofili ilişkili gen mutasyonlarının inme gelişimi üzerine etkisini araştırmaktır. Çalışmamıza 44 inme geçirmiş birey alındı. Çalışma sonucunda MTHFR C677T ve β Fibrinojen -455GA polimorfizmi ile BAMFORD sınıflamasına göre PACI alt tipi arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı ($p<0.05$). Çalışmamızda kontrol grubu olmamakla birlikte, Türkiye’de ve dünyanın değişik yerlerinde sağlıklı popülasyonda yapılan MTHFR C677T mutasyonu prevalans çalışması sonuçlarına göre daha düşük olması, bulduğumuz anlamlı farkı olumlu yönde desteklemektedir

Sonuç olarak, bu bulgular ışığında inme etyopatogenezinin multifaktöriyel olup trombofili ilişkili gen polimorfizmlerinin risk oluşturabileceği düşüncesine varmaktayız.

7.ÖZET

İnme, hastalar, aileleri ve sağlık kurumları için ruhsal ve sosyoekonomik sorunlara yol açan, uzun dönem sakatlığın önemli bir nedenidir. Bu nedenle risk faktörlerinin belirlenmesi ve bu faktörlere karşı mücadele inme ile savaşta temel oluşturmalıdır. Çalışmalardaki örnek sayılarının az olmasının, kullanılan yöntemlerin çeşitliliğinin ve etnik grupların, alınan sonuçlardaki farklılığa katkı sağlaması muhtemeldir.

Bu çalışmanın amacı, trombofili ilişkili gen polimorfizmlerinin inme gelişimi üzerine etkisini araştırmaktır. Çalışmamıza 44 inme geçirmiş birey alındı.

Çalışma sonucunda MTHFR C677T ve β Fibrinojen -455GA polimorfizmi ile BAMFORD sınıflamasına göre PACI alt tipi arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı ($p<0.05$).

Sonuç olarak bu bulgular ışığında inme etyopatogenezinin multifaktöriyel olup trombofili ilişkili gen polimorfizmlerinin risk oluşturabileceği düşüncesine varmaktayız.

8.SUMMARY

Stroke is one of the major causes of long-term disability which brings about psychical and socioeconomic drawbacks for patients and their parents as well as medical institutions. In effect, it should form a basis in combating with the stroke to ascertain the risk factors and to eliminate these factors. The scarcity of the samples in the studies, the variety of the methods applied and the ethnic groups have highly likely contributed to the diversity of the results.

The objective of this study has been to investigate the effect of stroke on the development of gene polymorphisms associated with thrombophilia. In our study, we have examined 44 stroke patients.

As a result of the study, a statistically significant difference was found between MTHFR C677T / β Fibrinogen -455GA gene polymorphisms and PACI subtype of the Bamford classification ($p < 0.05$).

To sum up, in the light of these information we have drawn the conclusion that the stroke etiopathogenesis is multifactorial and that gene polymorphisms associated with thrombophilia can only form a risk factor when they appear together with other factors.

9. KAYNAKLAR

1. Goldstein LB, Adams R, Alberts MJ, Appel LJ, Brass LM, Bushnell CD, et al. Primary prevention of ischemic stroke: a guideline from the American Heart Association/American Stroke Association Stroke Council. *Stroke* 2006; 37: 1583-633.
2. Goldstein LB, Amarenco P. Prevention and health services delivery. *Stroke* 2004; 35:401-3.
3. Dickerson LM, Carek PJ, Quattlebaum RG. Prevention of recurrent ischemic stroke. *Am Fam Physician* 2007;76(3):382-8.
4. Sağlık Bakanlığı, RSHMB, Hifzissihha Mektebi Müdürlüğü, Ulusal Hastalık Yüğü ve Maliyet Etkililik Çalışması, Hastalık Yüğü Final Raporu, Ankara: 2004, 138-152.
5. Kumral E. Serebrovasküler hastalıkların epidemiyolojisi. *Türkiye Klinikleri Nöroloji* 2004; 2(1):15-21.
6. Dichgans M, Genetics of ischaemic stroke. *Lancet Neurol* 2007; 6: 149–61.
7. Bertina RM, Koeleman BPC, Koster T, Rosendaal FR, Dirven RJ, De Ronde H, et al. Mutation in blood coagulation factor V associated with resistance to activated protein C. *Nature* 1994;369:64-7.
8. Ucar F, Sonmez M, Ovali E, Ozmenoglu M, Karti SS, Yilmaz M, et al. MTHFR C677T polymorphism and its relation to ischemic stroke in the Black Sea Turkish population. *Am J Hematol* 2004;76:40-3.
9. Ridker PM, Hennekens CH, Miletich JP. G20210A Mutation in prothrombin gene and risk of myocardial infarction, stroke, and venous thrombosis in a large cohort of US men. *Circulation* 1999;99:999-1004.
10. Conejero RG, Cadenas IF, Iniesta JA, Fabregas JM, Obach V, Sabín JA, et al. Role of fibrinogen levels and factor XIII V34L polymorphism in thrombolytic therapy in stroke patients. *Stroke* 2006;37:2288-93.
11. Engesser L, Brommer EJ, Kluft C, Briet E. Elevated plasminogen activator inhibitor (PAI), a cause of thrombophilia? A study in 203 patients with familial or sporadic venous thrombophilia. *Thromb Haemost* 1989;62(2):673-80.
12. Kessler C, Spitzer C, Stauske D, Mende S, Stadlmüller J, Walther R, et al. The apolipoprotein E and beta-Fibrinogen G/A-455 gene polymorphisms are

- associated with ischemic stroke involving largevessel disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997;17(11):2880-4.
13. Sipahi T, Güldiken B, Güldiken S, Üstündağ S, Turgut N, Budak M, et al. The association of gene polymorphisms of the angiotensin-converting enzyme and angiotensin II receptor type 1 with ischemic stroke in Turkish subjects of Trakya region. *Trakya Universitesi Tıp Fakültesi Dergisi* 2009;26(1):1-8.
 14. Somay G, Mısırlı H, Güler M, Çalışkan T, Sayhan N, Erenoğlu YN. Serebrovasküler hastalıklarda apolipoprotein E ve anjiotensin converting enzim gen polimorfizmi. *Türk Beyin Damar Hastalıkları Dergisi* 2002;8(2):113-7.
 15. Vini G, Khurana MD, Youvraj R, et al. Endotelial nitric oxide synthase T786C Single nucleotide polymorphism. A Putative genetic marker differentiating small versus large ruptured intracranial aneurysms. *Stroke* November 2003; 2555-2559.
 16. World Health Organization. Recommendations on stroke prevention, diagnosis and therapy. *Stroke* 1989; 20:1407-31.
 17. Kidwell CS, Alger JR, Di Salle F, Starkman S, Villablanca P, Bentson J, et al. Diffusion MRI in patients with transient ischemic attacks. *Stroke* 1999;30:1174-80.
 18. Özdemir G. Serebrovasküler hastalıklardan stroğa yaklaşım. *Türkiye Klinikleri Nöroloji* 2004; 2: 1-14.
 19. Sacco RL. Pathogenesis, classification, epidemiology of cerebrovascular disease. In: Rowland LP (Ed.). *Merritt's Neurology*. 11th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2005:275-90.
 20. Biler J, Love BB. Ischemic cerebrovascular disease. In: Bradley WG (Ed.). *Neurology in Clinical Practice*. 14th ed. Philadelphia: Butterworth Heinemann; 2004:1197-251.
 21. Berger C, Fiorelli M, Steiner T, Schäbitz WR, Bozzao L, Bluhmki E, et al. Hemorrhagic transformation of ischemic brain tissue: Asymptomatic or symptomatic? *Stroke* 2001;32:1330-35.
 22. Fisher M, Ratan R. New perspectives on developing acute stroke therapy. *Ann Neurol* 2003;53:10–20.

23. Ay H, Dalkara T. İskemik penumra ve terapötik zaman aralığını etkileyen faktörler. Serebrovasküler Hastalıklar. Editör: Balkan S. Ankara: Güneş Tıp Kitabevi Yayınları, 2009: 29-36.
24. Yemişçi M, Gürer G, Dalkara T. İskemik inmede gelişen fizyopatolojik olaylar. Türkiye Klinikleri Nöroloji 2004; 2: 22-30.
25. Bogousslavsky J, Melle GV, Regli F. The Lausanne Stroke Registry: Analysis of 1000 consecutive patients with first stroke. Stroke 1988; 19:1083-92.
26. Kumral E, Özkaya B, Sağduyu A, Şirin H, Vardarlı E, Pehlivan M. The Ege stroke registry. A hospital based study in the Aegian Region, İzmir, Turkey. Analysis of 2000 patients. Cerebrovasc Dis 1998; 8: 278-88.
27. Chancellor AM, Glasgow GL, Ockelford PA ve ark. Etiology, prognosis, and hemostatic function after cerebral infarction in young adults. Stroke 1989;20:477-482.
28. Yaltkaya K, Balkan S, Oğuz Y. Nöroloji Ders Kitabı. Palme Yayıncılık. 1996
29. Bamford J, Sandercock P, Dennis M, Burn J, Warlow C. Classification and natural history of clinical subtypes of cerebral infarction. Lancet 1991; 337:1521-6.
30. Utku U, Çelik Y. İnmede etyoloji, sınıflandırma ve risk faktörleri. Balkan S (Ed.). Serebrovasküler Hastalıklar. 3th ed. Ankara: Güneş Kitabevi 2009: 51-62.
31. Jones H R, Srinivasan J, Allam G J, Baker R A. Netter's Neurology, 2nd edition, Philadelphia, PA Saunders Elsevier 2012: 498-500.
32. Adams HP, Bendixen BH, Kappelle J, Biler J, Love BB, Gordon DL, et al. Classification of subtype of acute ischemic stroke. Definition for use in multicenter clinical trial. Stroke 1993;24:35-41.
33. Sohtaoğlu M, Bendir G, Uludüz D, Göksan B. Aterotrombotik ve kardiyoembolik serebrovasküler olayların mevsimsel ve sirkadiyen dağılım özellikleri. Türk Nöroloji Dergisi 2007;13:60.
34. Emir CB, Öztürk B, Savrun A, Yazıcı I, Adıgüzel E, Budak F ve ark. İskemik inmeli olgularda kardiyak etyoloji spektrumu. Türk Nöroloji Dergisi 2007;13(5):59.

35. So EL, Annegers JF, Hauser WA, O'Brien PC, Whisnant JP. Population-based study of seizure disorders after cerebral infarction. *Neurology* 1996;46:350-5.
36. Misirli H, Ozge A, Somay G, Erdoğan N, Erkal H, Erenoğlu NY. Seizure development after stroke. *Int J Clin Pract* 2006;12:1536-41.
37. Alberti A, Paciaroni M, Caso V, Venti M, Palmerini F, Agnelli G. Early seizures in patients with acute stroke: frequency, predictive factors and effect on clinical outcome. *Vasc Health Risk Manag* 2008; 4(3): 715-20.
38. Gan R, Sacco RL, Kargman DE, Roberts JK, Boden-Albala B, Gu Q. Testing the validity of the lacunar hypothesis: the Northern Manhattan stroke study experience. *Neurology* 1997;48:1204-11.
39. Özdemir AO. Genç Stroklu Hastaya Yaklaşım. *Türkiye Klinikleri*. 2004: Vol 2 No :1:31-40.
40. Gilroy J. Karabudak R Temel Noroloji. Guneş Kitabevi. 2002.
41. Kumral K, Kumral E. Santral Sinir Sisteminin Damarsal Hastalıkları. *Ege Univ. Tıp Fak. Noroloji ABD*. 1993.
42. Oge AE. Noroloji. İstanbul Tıp Fakultesi Temel ve Klinik Bilimler Kitabı. Nobel Kitabevi. 2004.
43. Bevan H, Sharma K and Bradley W. Stroke in young adults. *Stroke* 1990;21:382-386.
44. Carolei A, Marini C, Ferranti E et al. A prospective study of cerebral ischemia in the young. Analysis of pathogenic determinants. *Stroke* 1993;24:362-367.
45. Adams RD, Victor M, Ropper AH. Cerebrovascular Disease. Principles of Neurology. Sixth edition. Mc Graw Hill. 1997;Chapter 34:777-873.
46. Desnick R.J. Galactosidase A deficiency: Fabry disease. In *The metabolic bases of inherited disease* (eds C.R. Scriver, A.L. Beaudet, W.S. Sly, and D.Valle), New York: McGraw Hill, 1995;2741–84.
47. Meikle P.J., Hopwood J.J., Clague A.E., Carey W.F. Prevalence of lysosomal storage disorders. *Journal of the American Medical Association*. 1999;281, 249–54.
48. Brady R.O. and Schiffmann R. Clinical features of and recent advances in therapy for Fabry disease. *Journal of the American Medical Association*. 2000;284, 2771–5.

49. DeGraba, T., Azhar, S., Dignat-George, F., et al. Profile of endothelial and leukocyte activation in Fabry patients. *Annals of Neurology*. 2000;47, 229–33.
50. Kase CS. Intracerebral hemorrhage. In: Bradley WG. *Neurology in Clinical Practice*. 14th ed. Philadelphia: Butterworth Heinemann; 2004:1251-69.
51. Woo D, Sauerbeck LR, Kissela BM, Khoury JC, Szaflarski JP, Gebel J, et al. Genetic and environmental risk factors for intracerebral hemorrhage: preliminary results of a population-based study. *Stroke* 2002;33:1190-96
52. Koçak Y, Öztürk SM, Ege F, Öztürk Ş, Özbakır Ş. Lunapark eğlencesinin tetiklediği intraserebral hematoma-olgu sunumu. *Türk Nöroloji Dergisi* 2007;13(5):75.
53. Smith EE, Rosand J, Knudsen KA, Hylek EM, Greenberg SM. Leukoariosis is associated with warfarin-related hemorrhage following ischemic stroke. *Neurology* 2002;59:193-7.
54. Rosand J, Hylek EM, O'Donnell HC, Greenberg SM. Warfarin-associated hemorrhage and cerebral amyloid angiopathy: a genetic and pathologic study. *Neurology* 2000;55:947-51.
55. Kiely DK, Wolf PA, Cupples LA, Beiser AS, Myers RH. Familial aggregation of stroke: The Framingham Study. *Stroke* 1993;24:1366-71.
56. Balkan S, Topçuoğlu MA. İnme ve hipertansiyon. *Türkiye Klinikleri Nöroloji* 2004;2(1):41-7.
57. Chobanian AV, Bakris GL, Black HR, Cushman WC, Green LA, Izzo JL, et al. The seventh report of the joint national committee on prevention, detection, evaluation and treatment of high blood pressure. *JAMA* 2003;289:2560-72.
58. MacMahon S, Rodgers A. Primary and secondary prevention of stroke. *Clin Exp Hypertens* 1996;18:537-46 .
59. Rashid P, Leonardin BJ, Bath P. Blood pressure reduction and secondary prevention of stroke and other vascular events. *Stroke* 2003;34:2741-9.
60. Tuncel D, Utku U. Atrial fibrilasyon ve inme. *Türk Nöroloji Dergisi* 2007;13(5):63.
61. Benfante R, Yano K, Hwang LJ, Curb JD, Kagan A, Ross W. Elevated serum cholesterol is a risk factor for both coronary heart disease and

- thromboembolic stroke in Hawaiian Japanese men: Implications of shared risk. *Stroke* 1994; 25:814-20.
62. Özeren A. Serebrovasküler hastalıklarda lipidlerin rolü ve statinlerin yeri. *Türkiye Klinikleri Nöroloji* 2004;1(2):48-52.
63. Bıçakcı Ş, Özeren A, Bıçakcı K, Peköz MT, Karayalçın C. İntraserebral kanamada risk faktörleri profili ve MR-Anjiyografi bulguları. *Türk Serebrovasküler Hastalıklar Dergisi* 2007;13(3):87-90.
64. Halliday A, Mansfield A, Marro J, Peto C, Peto R, Potter J, et al. Prevention of disabling and fatal strokes by successful carotid endarterectomy in patients without recent neurological symptoms: randomised controlled trial. *Lancet* 2004;363(9420):1491-502.
65. Boden-Albala B, Sacco RL, Lee HS, Grahame-Clarke C, Rundek T, Elkind MV, et al. Metabolic syndrome and ischemic stroke risk: Northern Manhattan Study. *Stroke* 2008;39(1):30-5.
66. Joshipura KJ, Ascherio A, Manson JE, Stampfer MJ, Rimm EB, Speizer FE, et al. Fruit and vegetable intake in relation to risk of ischemic stroke. *JAMA* 1999;282:1233-9.
67. Joshipura KJ, Hu FB, Manson JE, Stampfer MJ, Rimm EB, Speizer FE, et al. The effect of fruit and vegetable intake on risk for coronary heart disease. *Ann Intern Med* 2001; 134:1106-14.
68. Hademenos J, Alberts MJ, Awad I, Mayberg M, Shephard T, Jagoda A, et al. Advances in the genetics of cerebrovascular diseases and stroke. *Neurology* 2001;56:997-1008.
69. Boysen G, Brander T, Christensen H, Gideon R, Truelsen T. Homocysteine and risk of recurrent stroke. *Stroke* 2003;34(5):1258-61.
70. Lidegaard O. Oral contraception and risk of a cerebral thromboembolic attack: results of a case control study. *BMJ* 1993;306:956-63.
71. Gillum LA, Mamidipudi SK, Johnston SC. Ischemic stroke risk with oral contraceptives: a metaanalysis. *JAMA* 2000;284(1):72-8.
72. Johnston SC, Colford JM, Gres DR. Oral contraceptives and the risk of subarachnoid hemorrhage: a meta-analysis. *Neurology* 1998;51:411-8.
73. Rothwell PM, Howard SC, Power DA, Gutnikov SA, Algra A, Gijn JV, et al. Fibrinogen concentration and risk of ischemic stroke and acute coronary

- events in 5113 patients with transient ischemic attack and minor ischemic stroke. *Stroke* 2004;35:2300-5.
74. Ridker PM, Rifai N, Rose L, Buring JE, Cook NR. Comparison of C-reactive protein and lowdensity lipoprotein cholesterol levels in the prediction of first cardiovascular events. *N Engl J Med* 2002;347:1557-65.
75. Plehn JF, Davis BR, Sacks FM, Rouleau JL, Pfeffer MA, Bernstein V, et al. Reduction of stroke incidence after myocardial infarction with pravastatin: the Cholesterol and Recurrent Events (CARE) study. *Circulation* 1999;99:216-23.
76. LaBiche R, Koziol D, Quinn TC, Gaydos C, Azhar S, Ketron G, et al. Presence of *Chlamydia pneumoniae* in human symptomatic and asymptomatic carotid atherosclerotic plaque. *Stroke* 2001;32:855-60.
77. Elkind MS, Lin IF, Grayston JT, Sacco RL. *Chlamydia pneumoniae* and the risk of first ischemic stroke: the Northern Manhattan Stroke Study. *Stroke* 2000;31:1521-5.
78. Agostoni E, Rigamonti A. Migraine and cerebrovascular disease. *Neurol Sci* 2007;28:156-60.
79. Buring JE, Hebert P, Romero J, Nancy AK, Manson JA, Peto R, et al. Migraine and subsequent risk of stroke in the Physician's Health Study. *Arch Neurol* 1995;52(2):129-34.
80. Kurth T, Slomke MA, Kase CS, Cook NR, Lee M, Gaziano JM, et al. Migraine, headache and the risk of stroke in women: a prospective study. *Neurology* 2005;64:1020-6.
81. Palomaki H, Partinen M, Erkinjuntti T, Kaste M. Snoring, sleep apnea syndrome and stroke. *Neurology* 1992;42:75-82.
82. Haznedaroğlu İC. Hemostaz mekanizmaları. *Türkiye Klinikleri* 2005;1(2):1-5
83. Dahlback B. Blood coagulation. *Lancet* 2000;355:1627-32.
84. Özdemir AÖ, Özdemir G. Homeostaz bozukluklarında nörolojik etkilenim. *Türk Serebrovasküler Hastalıklar Dergisi* 2006;12(2):33-40.
85. Atamer T. Hemostaz mekanizması. www.thd.org.tr/doc/kurs_pdf/2007thtk
86. Morrissey JH. Tissue factor: a key molecule in hemostatic and nonhemostatic systems. *Int J Hematol* 2004;79:103-8.
87. Ülkü B. Trombofili. İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri Sempozyum Dizisi 2003;36:133-42.

88. Koeleman BP, Reitsma PH, Bertina RM. Familial thrombophilia: a complex genetic disorders. *Semin Hematol* 1997;34:256-64.
89. Nagayama T, Shinohara Y, Nagayama M, Tsuda M, Yamamura M. Congenitally abnormal plasminogen in juvenile ischemic cerebrovascular disease. *Stroke* 1993;24:2104-7.
90. Küçükkaya RD, Aydın M. Trombofili genetiği. www.thd.org.tr/doc/kurs_pdf/molhem_13.pdf.
91. De Stefano V, Finazzi G, Mannucci M. Inherited thrombophilia: pathogenesis, clinical syndromes and management. *Blood* 1996;87:3531-44.
92. Sucak G, Haznedar R. Trombofili. *Türkiye Klinikleri Cerrahi Dergisi* 2000;5:59-64.
93. Beyan C. Trombofilili hastaya tanısal yaklaşım. *Türkiye Klinikleri* 2005;1(2):71-81.
94. Barinagarrementeria F, Cantu-Brio C, De La Pena A, Izaguirre R. Prothrombotic states in young people with idiopathic stroke. *Stroke* 1994;25:287-90.
95. Nazlıel B. Gençlerde inme. Balkan S (Ed.). *Serebrovasküler Hastalıklar*. 3th ed. Ankara: Güneş Kitabevi 2009:375-86.
96. Baykal Y, Özet G, Kocabalkan F. Venöz tromboz ile ilişkili risk faktörleri. *Türkiye Klinikleri* 1999;19:236-41.
97. Griffin JH, Evatt B, Wiedeman C, Fernandez JA. Anticoagulant protein C pathway defective in majority of thrombophilic patients. *Blood* 1993;82:1989-93.
98. Dahlback B. Inherited thrombophilia: resistance to activated protein C as a pathogenetic factor of venous thromboembolism. *Blood* 1995;85:607-14.
99. Gürgey A, Mesci L. The prevalence of factor V Leiden (G1691A) mutation in Turkey. *Turk J Pediatr* 1997;39:313-5.
100. Sılan F, Zafer C. Faktör V Leiden mutasyonu. *Düzce Tıp Fakültesi Dergisi* 2004;1:33-6.
101. Bertina RM, Koeleman BPC, Koster T, Rosendaal FR, Dirven RJ, De Ronde H, et al. Mutation in blood coagulation factor V associated with resistance to activated protein C. *Nature* 1994;369:64-7.

102. Sun X, Evatt B, Griffin JH. Blood coagulation abnormality associated with resistance to activated protein C in venous thrombophilia. *Blood* 1994;83:3120-5.
103. Press RD, Liu XY, Beamer N, Coull BM. Ischemic stroke in the elderly: role of common factor V mutation causing resistance to activated protein C. *Stroke* 1996;27:44-8.
104. Fisher M, Fernandez JA, Ameriso SF, Xie D, Gruber A, Paganini-Hill A, et al. Activated protein C resistance in ischemic stroke not due to factor V arginin-506-glutamin mutation. *Stroke* 1996;27:1163-6.
105. Welch GN, Loscalzo J. Homocysteine and atherothrombosis. *N Engl J Med* 1998;338:1042-50.
106. Harmon DL, Doyle RM, Meleady R, Doyle M, Shields DC, Barry R, et al. Genetic analysis of the thermolabile variant of 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase as a risk factor for ischemic stroke. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999;19:208-11.
107. Markus HS, Nadira A, Swaminathan R, Sankaralingam A, Molloy J, Powell J. A common polymorphism in the methylenetetrahydrofolate reductase gene, homocysteine and ischemic cerebrovascular disease. *Stroke* 1997;28:1739-43.
108. Ho GYH, Eikelboom JW, Hankey GJ, Wong CR, Tan SL, Chan JBC, et al. Methylenetetrahydrofolate reductase polymorphisms and homocysteine-lowering effect of vitamin therapy in Singaporean stroke patients. *Stroke* 2006;37:456-60.
109. Wu Y, Tomon M, Sumino K. Methylenetetrahydrofolate reductase gene polymorphism and ischemic stroke: sex difference in Japanese. *Kobe J Med Sci* 2001;47: 255-62.
110. Weisberg I, Tran P, Christensen B, Sibani S, Rozen R. A second genetic polymorphism in methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) associated with decreased enzyme activity. *Mol Genet Metab* 1998;64:169-72.
111. Frederiksen J, Juul K, Grande P, Jensen GB, Schroeder TV, Tybjaerg-Hansen A, et al. Methylenetetrahydrofolate reductase polymorphism (C677T), hyperhomocysteinemia and risk of ischemic cardiovascular disease and venous thromboembolism: prospective and

- case control studies from the Copenhagen City Heart Study. *Blood* 2004;104:3046-51.
112. Tepeli E, Müslümanoğlu MH, Uludağ A, Atlı E, Uzun D, Artan S. Eskişehir ilinde idiyopatik tekrarlayan gebelik kayıpları ile MTHFR C677T ve A1298C polimorfizmleri arasındaki ilişki. *Osmangazi Tıp Dergisi* 2007;29(1):1-11.
113. Ucar F, Sonmez M, Ovalı E, Ozmenoglu M, Karti SS, Yilmaz M, et al. MTHFR C677T polymorphism and its relation to ischemic stroke in the Black Sea Turkish population. *Am J Hematol* 2004;76:40-3.
114. Sazcı A, Ergül E, Kaya G, Kara I. Genotype and allele frequencies of the polymorphic methylenetetrahydrofolate reductase gene in Turkey. *Cell Biochem Funct* 2005;23(1):51-4 107. Akbaş F, Oral E. Kalıtsal trombofili ve gebelik. *Perinatoloji Dergisi* 2002;10(1):1-7.
115. Emiroğulları EF, Saatçi Ç, Ünal A, Özkul Y. Arteriyovenöz fistül trombozu gelişen ve gelişmeyen kronik böbrek yetersizliği olan hastalarda metilentetrahidrofolate redüktaz polimorfizmlerinin araştırılması. *Sağlık Bilimleri Dergisi* 2007;16(3):121-8.
116. Akbaş F, Oral E. Kalıtsal trombofili ve gebelik. *Perinatoloji Dergisi* 2002;10(1):1-7.
117. Pratt RW, Adams D, Balmaceda C. Hematologic and related diseases. In: Rowland LP (Ed.). *Merritt's Neurology*. 11th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2005:1050-64.
118. Rosendaal FR, Siscovick DS, Schwartz SM, Psaty BM, Raghunathan TE, Vos HL. A common prothrombin variant (20210 G to A) increases the risk of myocardial infarction in young women. *Blood* 1997;5:1747-50.
119. Longstreth WT, Rosendaal FR, Siscovick DS, Vos HL, Schwartz SM, Psaty BM, et al. Risk of stroke in young women and two prothrombotic mutation: factor V Leiden and prothrombin gene variant (G20210A). *Stroke* 1998;29:577-80.
120. Ridker PM, Hennekens CH, Miletich JP. G20210A Mutation in prothrombin gene and risk of myocardial infarction, stroke, and venous thrombosis in a large cohort of US men. *Circulation* 1999;99:999-1004.
121. Takahashi N, Tsukamoto H, Umeyama H, Castaman G, Rodeghiero F, Ichinose A. Molecular mechanisms of type II factor XIII deficiency: Novel

- Gly562Arg mutation and C terminal truncation of the A subunit cause factor XIII deficiency as characterized in a mammalian expression system. *Blood* 1998;91:2830-8.
122. 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. *Biochim Biophys Acta* 2006;1764:1420-3.
123. Conejero RG, Cadenas IF, Iniesta JA, Fabregas JM, Obach V, Sabín JA, et al. Role of fibrinogen levels and factor XIII V34L polymorphism in thrombolytic therapy in stroke patients. *Stroke* 2006;37:2288-93.
124. Schleef RR, Higgins DL, Pillemer E, Levitt LJ. Bleeding diathesis due to decreased functional activity of type 1 plasminogen activator inhibitor. *J Clin Invest* 1989;83:1747-52.
125. Johansson L, Jansson JH, Boman K, Nilsson TK, Stegmayr B, Hallmans G. Tissue plasminogen activator, plasminogen activator inhibitor-1, and tissue plasminogen activator/plasminogen activator inhibitor-1 complex as risk factors for the development of a first stroke. *Stroke* 2000;31:26-32.
126. Engesser L, Brommer EJ, Kluft C, Briet E. Elevated plasminogen activator inhibitor (PAI), a cause of thrombophilia? A study in 203 patients with familial or sporadic venous thrombophilia. *Thromb Haemost* 1989;62(2):673-80.
127. Erickson LA, Fici GJ, Lund JE, Boyle TP, Polites HG, Marotti KR. Development of venous occlusions in mice transgenic for the plasminogen activator inhibitor-1 gene. *Nature* 1990;346:74-6.
128. Celkan T. Çocukluk çağında kalıtsal nedenli tromboz. *Türk Pediatri Arşivi* 2003;38:131-45.
129. Nowak-Göttl U, Strater R, Kosch A, von Eckardstein A, Schobess R, Luigs P, et al. The plasminogen activator inhibitor (PAI)-1 promoter 4G/4G genotype is not associated with ischemic stroke in a population of German children. *Eur J Haematol* 2001;66:57-62.
130. Altınışık M. www.mustafaaltinisik.org.uk/89-2-04.pdf.
131. Behague I, Poirier O, Nicaud V, Evans A, Arveiler D, Luc G, et al. B-fibrinogen gene polymorphisms are associated with plasma fibrinogen level

- and coronary artery disease in patients with myocardial infarction. *Circulation* 1996;93:440-9.
132. Humphries SE, Ye S, Talmud P, Bara L, Wilhelmsen L, Tiret L. European atherosclerosis research study: genotype at the fibrinogen locus (G2455-A beta-gene) is associated with differences in plasma fibrinogen levels in young men and women from different regions in Europe. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1995;15:96–104.
 133. Tybjaerg-Hansen A, Agerholm-Larsen B, Humphries SE, Abildgaard S, Schnohr P, Nordestgaard BG. A common mutation (-455G>A) in the β -Fibrinogen promoter is an independent predictor of plasma fibrinogen, but not of ischemic heart disease. *J Clin Invest* 1997;99:3034-9.
 134. Kessler C, Spitzer C, Stauske D, Mende S, Stadlmüller J, Walther R, et al. The apolipoprotein E and beta-Fibrinogen G/A-455 gene polymorphisms are associated with ischemic stroke involving largevessel disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997;17(11):2880-4.
 135. Martiskainen M, Pohjasvaara T, Mikkelsen J, Mantyla R, Kunnas T, Laippala P, et al. Fibrinogen gene promoter -455 A allele as a risk factor for lacunar stroke. *Stroke* 2003;34(4):886-91.
 136. Liu Y, Pan J, Wang S, Li X, Huang Y. Fibrinogen gene 455A/G polymorphism and plasma fibrinogen level in Chinese stroke patients. *Chin Med J(Engl)* 2002;115(2):214-6.
 137. Casas JP, Hingorani AD, Bautista LE, Sharma P. Meta-analysis of genetic studies in ischemic stroke. *Arch Neurol* 2004;61:1652-62.
 138. Hubert C, Houot AM, Corvol P, Soubrier F. Structure of the angiotensin I-converting enzyme gene. *J Biol Chem* 1991;266:15377-83.
 139. Agerholm-Larsen B, Nordestgaard BG, Tybjaerg-Hansen A. ACE gene polymorphism in cardiovascular disease: meta-analyses of small and large studies in whites. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000;20:484-92.
 140. Rigat B, Hubert C, Alhenc-Gelas F, Cambien F, Corvol P, Soubrier F. An insertion/deletion polymorphism in the angiotensin I converting enzyme gene accounts for half the variance of serum enzyme levels. *J Clin Invest* 1990;86:1343-6.
 141. Kunz R, Bork JP, Fritsche L, Ringel J, Sharma AM. Association between the angiotensin-converting enzyme insertion/deletion

- polymorphism and diabetic nephropathy, a methodologic appraisal and systemic review. *J Am Soc Nephrol* 1998;9:1653-63.
142. Aaçhan B, Yılmaz H, Öztürk O, Ergen HA, İsbir CS. Aterosklerozda apolipoprotein E, okside-LDL ve lipid profili ilişkisinin araştırılması. *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi* 2005;19(3):193-7.
143. Coşkun T. Nütrisyonel genomik. *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi* 2007;50:47-66.
144. Mahley RW. Apolipoprotein E: cholesterol transport protein with expanding role in cell biology. *Science* 1988;240:622-9
145. Öztürk Ş. Apolipoprotein E ve Alzheimer hastalığı. *Demans Dizisi* 1999;1:62-7.
146. Mahley RW, Huang Y. Apolipoprotein E: from atherosclerosis to Alzheimer's disease and beyond. *Curr Opin Lipidol* 1999;10:207-17.
147. Hsu CC, KaoWH, Coresh J, Pankow JS, Marsh-Manzi J, Boerwinkle E, et al. Apolipoprotein E and progression of chronic kidney disease. *JAMA* 2005;293:2892-9.
148. Somay G, Mısırlı H, Güler M, Çalışkan T, Sayhan N, Erenoğlu YN. Serebrovasküler hastalıklarda apolipoprotein E ve anjiotensin converting enzim gen polimorfizmi. *Türk Beyin Damar Hastalıkları Dergisi* 2002;8(2):113-7.
149. Vini G, Khurana MD, Youvraj R ve ark. Endotelial nitric oxide synthase T786C Single nucleotide polymorphism. A Putative genetic marker differentiating small versus large ruptured intracranial aneurysms. *Stroke* November 2003;2555-2559.
150. Tajouri L, Martin V, Ovcaric M et al. Investigation of inducible nitric oxide synthase gene (NOS2A) polymorphism in a multiple sclerosis population. *Brain Res Bull* 2004;64: 9-13.
151. Metzger IF, Serto'rio JT, Tanus-Santos JE. Modulation of nitric oxide formation by endothelial nitric oxide synthase gene haplotypes. *Free Radic Biol Med* 2007;43:987-992.
152. Gülyaz F G, Taga Y. İnme Hastalarında Metilentetrahidrofolat Redüktaz (MTHFR) Gen Polimorfizminin Etkisi. 2008.

153. Reuter M, Küpper Y, Schmitz A, Breuer J .P, Wend U, Hennig J. Detection of new single nucleotide polymorphisms by means of real time PCR. *Journal of Genetics* 2005;84: 3.
154. Lohmann S, Lehmann L, Tabiti K. Fast and Flexible Single Nucleotide Polymorphism (SNP) Detection with the LightCycler System, *Biochemica* 2000; 4: 23-28.
155. Van Der Put N. M. J, Gabree Ls F, Stevens E. M. B, Smeitink J. A. M, Trijbels F. J. M, Eskes T. K. B, Van Der Heuvel L.P. and Blom H. J. A Second Common mutaton In The Methyleenetetrahydrofolate Reductase Gene : An Additional Risk Factor For Neural – Tube Defects. *Am. J. Hum. Genet* 1998;62:1.
156. Ortiz Z, Shea B, Suarez-Almazor ME, Moher D, Wells GA, Tugwell P. The efficacy of folic acid and folinic acid in reducing methotrexate gastrointestinal toxicity in rheumatoid arthritis. A metaanalysis of randomized controlled trials. *J Rheumatol.* Jan. 1998;25(1):36-43.
157. Fields MC, Levine SR. Thrombophilias and stroke: diagnosis, treatment, and prognosis. *J Thromb Thrombolysis* 2005; 20: 113-26.
158. Grossmann R, Geisen U, Merati G, Müllges W, Schambeck CM, Walter U, Schwender S. Genetic risk factors in young adults with 'cryptogenic' ischemic cerebrovascular disease *Blood Coagul Fibrinolysis* 2002 Oct;13(7):583-90.
159. Voetsch B, Damasceno BP, Camargo EC, Massaro A, Bacheschi LA, Scaff M, Annichino-Bizzacchi JM, Arruda VR. Inherited thrombophilia as a risk factor for the development of ischemic stroke in young adults. *Thromb Haemost.* 2000 Feb;83(2):229-33.
160. Hankey GJ, Eikelboom JW, van Bockxmeer FM, Lofthouse E, Staples N, Baker RI. Inherited thrombophilia in ischemic stroke and its pathogenic subtypes *Stroke.* 2001 Aug;32(8):1793-9.
161. Slooter AJ, Rosendaal FR, Tanis BC, Kemmeren JM, van der Graaf Y, Algra A. Prothrombotic conditions, oral contraceptives, and the risk of ischemic stroke. *J Thromb Haemost* 2005 Jun;3(6):1213-7.
162. Chaturvedi S, Joshi N, Dzieczkowski J. Activated protein C resistance in young African American patients with ischemic stroke. *J Neurol Sci* 1999;163:137-9.

163. 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* 1995;332:912-7.
164. Kontula K, Ylikorkala A, Miettinen H, Vuorio A, Kauppinen-Makelin R, Hamalainen L, et al. Arg 506 Gln factor V mutation in patients with ischemic cerebrovascular disease and survivors of myocardial infarction. *Thromb Haemost* 1995;73(4):558-60.
165. 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* 1996;27(4):766-7.
166. Lalouschek W, Aull S, Serles W, Schnider P, Mannhalter C, Pabinger-Fasching I, et al. C677T MTHFR mutation and factor V Leiden mutation in patients with TIA/Minor stroke: A case-control study. *Thromb Res* 1999;93(2):61-9.
167. Visy JM, Le Coz P, Chadeaux B, et al. Homocystinuria due to 5,10 methylenetetra-hydrofolate reductase deficiency revealed by stroke an adult siblings. *Neurology* 1991;1:1313-1315.
168. Akar N., Akar E., Özel D. Common mutations at the homocysteine metabolism pathway and pediatric stroke. *Thrombosis Research* 2001;102:115-120.
169. Shpichinetsky V, Raz I, Friedlander Y, et al. The association between two common mutations C677T and A1298C in human methylenetetrahydrofolate reductase gene and the risk for diabetic nephropathy in type II diabetic patients. *J Nutr* 2000;130: 2493-2497.
170. Li Z, Sun L, Zhang H, Liao Y, Wang D, Zhao B, et al. Elevated plasma homocysteine was associated with hemorrhagic and ischemic stroke, but methylenetetrahydrofolate reductase gene C677T polymorphism was a risk factor for thrombotic stroke. *Stroke* 2003;34:2085-90.
171. Lopaciuk S, Bykowska K, Kwiecinski H, Mickielewicz A, Człcankawska A, Mendel T, et al. Faktör V Leiden, prothrombin gene G20210A variant, and methylenetetrahydrofolat reductase C677T genotype in young adults with ischemic stroke. *Clin Appl Thromb Hemost* 2001;7:346-50.

172. Gomez E, Poel S, Jansen JH, Reijden BA, Löwenberg B. Rapid simultaneous screening of factor V Leiden and G20210A prothrombin variant by multiplex polymerase chain reaction on whole blood. *Blood* 1998;91:2208-9.
173. Madonna P, de Stefano V, Coppola A, Cirillo F, Cerbone AM, Orefice G, et al. Hyperhomocysteinemia and other inherited prthrombotic conditions in young adults with a history of ischemic stroke. *Stroke* 2002;33:51-6.
174. De Stefano V, Chiusolo P, Paciaroni K, Casorelli I, Rossi E, Molinari M, et al. Prothrombin G20210A mutant genotype is a risk factor for cerebrovascular ischemic disease in young patients. *Blood* 1998;91:3562-5.
175. 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 patients with minor stroke than in controls. *Br J Haematol* 2000;110(2):469-71.
176. Roest M, van der Schouw YT, Banga JD, Tempelman MJ, de Groot PG, Sixma JJ et al. Plasminogen activator inhibitor 4G polymorphism is associated with decreased risk of cerebrovascular mortality in older women. *Circulation* 2000;101:67-70.
177. HoekstraT, Geleijnse JM, 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* 2003;34(12):2822-8.
178. Wiklund PG, Nilsson L, Ardnor SN, Eriksson P, Johansson L, Stegmayr B, et al. 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* 2005;36(8):1661-5.
179. 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* 2001;11:294-9.
180. Nishiuma S, Kario K, Yakushijin K, Maeda M, Murai R, Matsuo T, et al. Genetic variation in the promoter region of yhe beta-fibrinogen gene is associated with ischemic stroke in a Japanese population. *Blood Coagul Fibrinolysis* 1998;9(4):373-9.

181. Renner W, Koppel H, Hoffman C, Schallmoser K, Stanger O, Toplak H, et al. Prothrombin G20210A, factor V Leiden, and factor XIII Val34Leu; common mutations of blood coagulation factors and deep vein thrombosis in Austria. *Thromb Res* 2000;99:35-9.
182. Catto AJ, Kohler HP, Banan S, Stickland M, Carter A, Grant PJ. Factor XIII Val34Leu: a novel association with primary intracerebral hemorrhage. *Stroke* 1998;29:813-6.
183. Casas JP, Cavalleri GL, Bautista LE et al. Endothelial nitric oxide synthase gene polymorphisms and cardiovascular disease: a HuGE review. *Am J Epidemiol* 2006;164:921–935.
184. Berger K, Stögbauer F, Stoll M et al. The glu298asp polymorphism in the nitric oxide synthase 3 gene is associated with the risk of ischemic stroke in two large independent case–control studies *Hum Genet* 2007; 121:169–178.
185. Elbaz A, Poirier O, Moulin T et al. Association Between the Glu298Asp Polymorphism in the Endothelial Constitutive Nitric Oxide Synthase Gene and Brain Infarction *Stroke* 2000;31:1634-1639.
186. Guldiken B, Sipahi T, Guldiken S et al. Glu298Asp polymorphism of the endothelial nitric oxide synthase gene in Turkish patients with ischemic stroke. *Mol Biol Rep* 2009;36:1539–1543.
187. Szolnoki Z, Havasi V, Bene J et al. Endothelial nitric oxide synthase gene interactions and the risk of ischaemic stroke. *Acta Neurol Scand* 2005;111: 29–33.
188. Markus H, Ruigrok Y, Ali N et al. Endothelial Nitric Oxide Synthase Exon 7 Polymorphism, Ischemic Cerebrovascular Disease, and Carotid Atheroma *Stroke* 1998;29:1908-1911.
189. Saidi S, Mallat SG, Almawi WY et al. Endothelial nitric oxide synthase Glu298Asp, 4b / a, and 786T>C gene polymorphisms and the risk of ischemic stroke. *Acta Neurol Scand*: 2010: 121: 114–119.