

Tekrarlayan Abortuslarda Trombin Üretim Ölçümü (Thrombin Generation Assay) Testinin Önemi

The Significance of Thrombin Generation Test in Recurrent Early Pregnancy Loss

Ahmet TAYYAR,^a
Ahter Tanay TAYYAR,^b
Tuncay ÖZGÜN,^b
Mehmet TAYYAR,^b
Ferhan ELMALI^c

^aKadın Hastalıkları ve Doğum Kliniği,
Niğde Devlet Hastanesi, Niğde
^bKadın Hastalıkları ve Doğum AD,
^cBiyostatistik AD,
Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi,
Kayseri

Geliş Tarihi/Received: 10.09.2012
Kabul Tarihi/Accepted: 18.02.2013

Yazışma Adresi/Correspondence:
Ahmet TAYYAR
Niğde Devlet Hastanesi,
Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniği,
Niğde,
TÜRKİYE/TURKEY
ahmet_tyyr@yahoo.com

ÖZET Amaç: Bu çalışmada, tekrarlayan abortus (TA) tanısı konulan, trombofilisi dışında patoloji saptanmayan hastalarda trombin üretim ölçümü [Thrombin Generation Assay (TGA)] testinin kullanımını araştırmayı amaçladık. **Gereç ve Yöntemler:** Erciyes Üniversitesi (ERÜ) Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı'na başvuran ve TA tanısı konulan 100 hasta ve 25 sağlıklı, tekrarlayan düşüklere olmayan kadın olmak üzere toplam 125 kadın çalışmaya alınmıştır. Çalışmaya olgu grubunda alınan kişiler trombofilisi sonuçlarına göre trombofilisi pozitif ve negatif olanlar olmak üzere ikiye ayrılmışlardır. Kontrol grubuna alınanlar ise rastgele örnekleme ile sağlıklı doğum yapmış kadınlardan seçilmiştir. Her iki gruptaki kadınlardan trombofilisi faktörleri ve koagülasyonu değerlendirmede tanımlanmış bir test olan TGA için kan örnekleri alınmış ve ERÜ Hematoloji ve Genetik Laboratuvarları'nda analiz yapılmıştır. **Bulgular:** Araştırmamıza trombofilisi pozitif olan 51 hasta, trombofilisi negatif 49 hasta dâhil edilmiş olup, kontrol grubundaki 25 kişinin de 2'sinde trombofilisi saptanmıştır. TGA testinde en değerli parametre olan endojen trombin potansiyeli (ETP) değeri trombofilisi pozitif grupta en yüksek değere sahipken, trombofilisi negatif grup ve kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır. Duraklama zamanı, pik zamanı ve kuyruk başlangıcı, TA'sı olan hastalarda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha uzun bulunmuştur. TGA'nın, trombofilisi belirteçlerinden bağımsız olarak %96 (%95 güven aralığı-GA 86,5-99,4) duyarlılık ve %96 (%95 GA 79,6-99,3) özgüllük ile trombofilisi pozitifliği bulunan TA'lı hastaların saptayabildiği gösterilmiştir. **Sonuç:** Son yıllarda koagülasyonu değerlendirmede kullanılan TGA testinin TA'sı olan hastaların taranmasında etkili, hassas ve diğer testlerden bağımsız olarak kullanılabilirliği, literatürde ilk defa bu çalışmada gösterilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Trombofilisi; düşük, tekrarlayan; trombin

ABSTRACT Objective: We aimed to study the use of thrombin generation assay (TGA) test in patients diagnosed with recurrent abortion (RA) and with no pathological findings except thrombophilia. **Material and Methods:** A total of 125 women who presented to the Erciyes University (ERU) Medical School Department of Obstetrics and Gynecology were included in the study. Patients diagnosed with recurrent abortion (RA) comprised the study group (n=100) and healthy subjects without RA were considered the control group (n=25). The study group was divided into two subgroups as thrombophilia positive or thrombophilia negative according to their thrombophilia results. The women included in the control group were selected by random sampling among women who gave healthy births. Blood samples were drawn from the women in both groups for TGA, which is a defined test to analyse thrombophilia factors and coagulation. TGA analyses were run in the Haematology and Genetics Laboratory of ERU. **Results:** The study included 51 thrombophilia positive and 49 thrombophilia negative patients. In addition, 2 out of 25 women in the control group were thrombophilia positive. The thrombophilia positive group had the highest scores for endogenous thrombin potential (ETP) values, which is the most significant parameter in TGA tests; however, there was no significant difference between the thrombophilia negative group and the control group. A significant difference was detected between women with RA and the control group regarding the length of lag time, time to peak, and start tail. TGA is suggested to identify patients with RA who are thrombophilia positive independently from thrombophilia markers with a sensitivity of 96% (95% confidence interval-CI 86.5-99.4) and a specificity of 96% (95% CI 79.6-99.3). **Conclusion:** This study suggested for the first time in the literature that the TGA test, which is recently used to analyse coagulation may be used as an effective, sensitive and independent indicator to screen patients with RA.

Key Words: Thrombophilia; abortion, habitual; thrombin

doi 10.5336/medsci.2012-32010

Copyright © 2013 by Türkiye Klinikleri

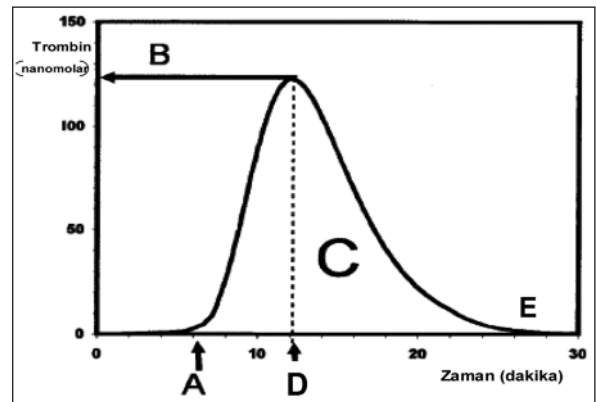
Türkiye Klinikleri J Med Sci 2013;33(3):845-53

Dünya Sağlık Örgütü, tekrarlayan abortus (TA) için ardışık olarak üç veya daha fazla gebeliğin 20. gebelik haftasından önce sonlanması veya 500 g ağırlığın altında fetusun doğması şeklinde bir tanım yapmıştır.¹ Daha önce canlı doğum öyküsü olmayan hastalarda iki abortustan sonra abortus riski %30, üç abortustan sonra abortus riski ise %33 olarak saptanmıştır.² Abortusların birçok etiyolojik sebebi vardır ve henüz bilinmeyen nedenleri olduğu da düşünülmektedir.^{3,4} TA etiyolojisini açıklamak için birçok neden öne sürülmüştür. Bunlar, genetik, anatomik, endokrinolojik faktörler, plasental anomaliler, enfeksiyon, sigara ve alkol tüketimi ve çevresel faktörler (iyonize radyasyon, kimyasal ajanlar) olarak sıralanabilir.⁵ Bunlara ilave olarak otoimmün ve alloimmün faktörler de TA'da önemli rol oynamaktadır.^{6,7} Ancak TA olgularının %40-50'sinde altta yatan gerçek neden hala açıklanamamıştır ve oran tam olarak bilinmemekle birlikte bunların bir kısmında trombofililer rol almaktadır.^{2,8-10}

Koagülasyon sisteminde trombinin önemli rol oynadığı bilinmektedir. Trombin en güçlü trombosit aktivatörüdür ve hemostazda önemli bir yere sahiptir.¹¹ Trombin üretiminde görülen bozukluğun tromboz riskini artırdığı bildirilmiştir.¹² Genetik trombofilik defektlerin gebelik prognozunu önceden tahmin etmede değerinin sınırlı olması, TA'sı olan kadınların araştırılmasında hemostatik sistemi genel olarak değerlendiren testlerin kullanılmasına neden olmuştur. Genel fonksiyon testi olarak koagülasyon sisteminin hem prokoagülan hem de antikoagülan yönlerini değerlendirebilen trombin üretim ölçümü (thrombin generation assay) [TGA] testi geliştirilmiştir.¹³⁻¹⁵ TGA testi ile bireyin trombin kapasitesi ölçülerek hem yüksek trombin üretimi olan trombotik durumlar hem de düşük trombin üretimi olan hemorajiye yatkın durumlar değerlendirilebilmektedir.¹⁶ Trombin üretimine neden olan mekanizmaların aşırı derecede karmaşık olmasından dolayı faktör konsantrasyonları ve genel pıhtılaşma fonksiyonu arasındaki ilişki tam olarak açıklanamamaktadır. Bu nedenle TGA testi tek faktörün belirlenmesi ile elde edilemeyecek bilgileri gösterebilmektedir.¹⁷

TGA testinde trombin aktivitesi, kromojenik veya florojenik substrat moleküllerinin ayrılmasının sürekli ölçümü ile değerlendirilmekte ve sonuçta trombin üretim eğrisi elde edilmektedir; buna trombogram ismi verilmektedir (Şekil 1). Bu eğrideki veriler, özellikle de eğri altında kalan alan, kanama ve tromboz riskini tayin etmede ve medikal tedavilerden sonra bu parametrelerde ortaya çıkan değişikliklerin yorumlanmasında faydalı bulunmuştur.^{17,18} Florojenik yöntemin daha eski olan kromojenik yöntemle göre daha duyarlı olduğu gösterilmiştir.¹⁹ Bu testle bireyin trombin kapasitesini ölçerek hem proteazların hem de inhibitörler arasındaki ilişkinin en son sonucunu değerlendirme imkânı bulunabilmektedir. Böylelikle hem fazla trombin üretimi ile birlikte olan trombotik durumlar hem de düşük trombin üretimi ile birlikte olan hemorajiye meyilli durumlar değerlendirilebilmektedir.²⁰

TGA testi ile bakılan parametrelerden grafiğin altında kalan alanın karşılık geldiği değer ETP olarak ifade edilmektedir. Tromboz riski, ETP'nin ölçülmesiyle değerlendirilmektedir.^{17,18} Duraklama zamanı ise pıhtılaşma zamanını gösterir ve hemofili, heparin kullanımı gibi kanamaya eğilimin arttığı durumlarda uzamaktadır.¹⁴



ŞEKİL 1: TGA testi sonucunda elde edilen trombogram.^{17,21}

- A. Duraklama zamanı (lag zamanı): Trombin formasyonunun başladığı zaman, birimi dakikadır.
- B. Pik yüksekliği: Trombinin maksimum konsantrasyonu, birimi nanomolar trombindir.
- C. Endojen trombin potansiyeli (ETP): Trombogram eğrisinin altında kalan alan, birimi nanomolar trombin X dakikadır (nM×dk).
- D. Pik zamanı: Pik olması için gereken süre, birimi dakikadır.
- E. Kuyruk başlangıcı (start tail [ST]): Trombin üretiminin sona erdiği zaman, birimi dakikadır.

Bu çalışmada, Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı'na (ERÜTFKHDAD) başvuran, trombofili dışında patolojisi bulunmayan TA'lı hastaların hiperkoagülabilitate durumunu ve bu hastaların değerlendirilmesinde TGA testinin kullanımının faydalarını araştırmayı amaçladık.

GEREÇ VE YÖNTEMLER

Çalışma için ERÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi ve İlaç Araştırmaları Yerel Etik Kurulu'ndan onay alındı (etik kurul karar numarası 09/165, proje numarası B-1003). ERÜTFKHDAD'na Aralık 2009 ile Mart 2010 tarihleri arasında TA şikayeti ile başvuran, 18-40 yaş arasındaki doğum yapmamış, 1. veya 2. trimesterde üst üste iki ve daha fazla abortus yapmış veya bir canlı doğumu takiben 1. veya 2. trimesterde üç veya daha fazla abortus yapmış 100 hastanın dâhil edildiği kesitsel nitelikte bir çalışma olarak planlandı. Tüm hastalardan bilgilendirilmiş olur alındı ve uygulanan işlemlerde Helsinki Deklarasyonu ilkelerine uyuldu. Araştırmaya alınan hastaların değerlendirilmesine anamnezle başlandı. Hastalar ve kontrol grubu son abortus veya gebeliğinden en az altı hafta sonra değerlendirildi. Hastaların yaşı, gravida, parite, abortus sayıları, TA'ların gebelik haftası, jinekolojik öyküsü, geçirilmiş operasyonlar, eşlik eden sistemik hastalıklar [diabetes mellitus (DM), hipertansiyon, kronik karaciğer ve böbrek hastalığı, otoimmün hastalıklar, vs], kanama diyatezi veya trombozu düşündüren belirtiler ve eşi ile akraba evliliği ve ilaç kullanımı sorgulandı. Kontrol grubu olarak benzer yaş grubundan abortus öyküsü ve sistemik hastalığı olmayan, tromboz açısından bireysel ve ailesel öyküsü bulunmayan, herhangi bir obstetrik komplikasyon gelişmeden doğum yapmış sağlıklı 25 kadın çalışmaya dâhil edildi. TA'sı olan hastalar, yapılan trombofili araştırması sonucunda kalıtsal veya edinsel trombofilisi olanlar ve olmayanlar şeklinde iki gruba ayrıldı.

TA'ya neden olabilecek uterin anomali ile uyumlu ultrasonografi, sonohisterografi, histerosalpingografi bulgusu ve servikal yetmezlikle uyumlu öykü olması, kronik sistemik hastalık, antifosfolipit antikor sendromu (AFAS), hiperkoagü-

labilitateye yol açabilecek (hormonal kontrasepsiyon gibi) veya koagülasyonu engelleyen ilaç kullanımı, tromboz öyküsü ve parental kromozomal anomali saptanması, çalışmaya dâhil edilmeme kriterleri olarak kabul edildi. Uterin anomalileri tespit etmek için hastalara öncelikle pelvik ultrasonografi yapıldı. Pelvik ultrasonografi sonucunda uterin anomali şüphesi doğduğunda, sonohisterografi, histerosalpingografi uygulandı ve anomali saptanan hastalar çalışmaya dâhil edilmedi. AFAS tanısı için hastalar lupus antikoagulan (LA), antifosfolipit antikor (AFA) ve antikardiyolipin antikor (AKA) açısından değerlendirildi ve patoloji saptanan olgular çalışmaya dâhil edilmedi.

Çalışma ve kontrol grubundaki tüm kadınlardan sodyum sitrat ve etilendiamintetraasetik asit (EDTA) içeren tüplere son abortus veya gebeliğinden en az altı hafta sonra venöz kan alındı. Protein C (PC), Protein S (PS) ve Antitrombin (AT) III, aktive protein C direnci (APCR) için içinde sodyum sitrat olan tüplere 2 cc kan alındı. PC, PC reagent kiti (Siemens, A.B.D.), PS, PS AC kiti (Siemens, A.B.D.), AT III, Berichrome antitrombin 3 A kiti (Siemens, A.B.D.), APCR, PC global kiti (Siemens, A.B.D.) kullanılarak Sysmex CA 7000 (Siemens, A.B.D.) marka koagülasyon cihazı ile ERÜ Tıp Fakültesi Hematoloji Laboratuvarı'nda çalışıldı.

Faktör V Leiden (FVL) mutasyonu, protrombin G20210A mutasyonu (PGM) ve metilentetrahidrofolat redüktaz (MTHFR) C677T mutasyonu için EDTA'lı tüplere 2 cc kan alınarak +4 santigrat derecede saklanarak biriktirildi ve gerçek zamanlı polimera zincir reaksiyonu (PZR) yöntemi ile DNA elde edilerek, ERÜ Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Laboratuvarı'nda çalışıldı.

Homosistein için 2 cc kan EDTA'lı tüplerde toplandı ve en geç 30 dakika içinde santrifüj edilerek plazma ayrıldı. Plazma -20 santigrat derecede saklandı. Numuneler plazma homosistein kiti (Receipe GmbH, Almanya) ile floresan dedektörlü yüksek güçlü likit kromatografi (high-power liquid chromatography-HPLC) (Zivak, Türkiye) ile ERÜ Tıp Fakültesi Metabolizma Laboratuvarı'nda çalışıldı. Bu çalışmada florojenik olan kalibre edilmiş otomatize trombin üretimi yöntemi [Calibrated au-

tomated thrombogram (CAT)] ve Thrombinoscope marka kit (Thrombinoscope B.V, Hollanda) kullanılarak trombin aktivitesi ölçüldü. Doku faktörü (TF) ve fosfolipit karışımı, trombositten fakir plazmaya eklendi. Daha sonra florojenik substrat (ZGly- Gly-Arg-AMC) ile reaksiyon başlatıldı. Sinyal termo elektron florometre (Fluoroskan, Finlandiya) ile tespit edildi ve Thrombinoscope yazılımı ile trombin üretimi verileri değerlendirildi.

Veriler MedCalc 8.1.1.0, SigmaStat 3.5 ve Minitab 16 istatistik paket programlarında değerlendirildi. Sayısal değişkenlerin normal dağılımına Shapiro-Wilk testi ile bakıldı. Normal dağılım gösteren değişkenlerin özet istatistikleri ortalama±standart sapma, normal dağılmayan değişkenlerin özet istatistikleri ortanca (Q1-Q3) olarak verildi. İki grubun karşılaştırılmasında Mann-Whitney U testi kullanıldı. Üç grubun karşılaştırılmasında normal dağılım gösteren değişkenler için Tek Yönlü Varyans Analizi, çoklu karşılaştırma testi olarak Tukey testi kullanıldı. Normal dağılım göstermeyen değişkenler için Kruskal-Wallis Analizi, çoklu karşılaştırma testi olarak Dunn testi kullanıldı. Dunn testinde ikili karşılaştırmalardaki p değerleri rankların farklarından elde edilen test istatistiği değerlerine bağlı olarak hesaplandı. Kategorik değişkenlerin karşılaştırılmasında Fisher'in kesin ki-kare testi kullanıldı. Değişkenler arasındaki ilişkiler Spearman sıra korelasyon katsayısıyla

incelendi Trombofili pozitif grup ile kontrol grubu arasındaki TGA testi ETP değerinin uygun kesim noktasının bulunmasında ROC Eğrisi Analizi kullanıldı. $p<0,05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

Çalışma ve kontrol gruplarının demografik özellikleri Tablo 1'de sunulmuştur.

Yaş ortalaması üç grup arasında istatistiksel olarak farklı değildi. Gravida, parite, abortus ve yaşayan çocuk sayısı açısından trombofili pozitif ve negatif grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu; fakat bu iki grup ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu.

Çalışmamızda araştırdığımız bazı trombofilik gen mutasyonları ile ilgili veriler Tablo 2'de sunulmuştur.

Araştırmamızda trombofili pozitif olan 51 hastanın 40 (%78)'inde trombofilik gen mutasyonları, 24 (%47)'ünde FVL mutasyonu, 15 (%29)'ünde PGM, 14 (%27)'ünde MTHFR homozigot gen mutasyonu bulunmuştur. On iki (%23) hastada birden fazla trombofilik gen mutasyonu saptanmıştır. Trombofili pozitif grupta FVL, PGM ve MTHFR homozigot gen mutasyonları kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermiştir.

TABLO 1: Grupların demografik verileri .

	Grup I	Grup II	Grup III	p		
	Trombofilik pozitif grup (n=51)	Trombofilik negatif grup (n=49)	Kontrol grubu (n=25)			
	Ortanca (Q1-Q3)	Ortanca (Q1-Q3)	Ortanca (Q1-Q3)			
Yaş (yıl)	27 (22-30)	24 (22-31)	28 (24-30)	0,461	I-II	-
					I-III	-
					II-III	-
Gravida	3 (2-4)	2 (2-3)	2 (2-2)	0,001	I-II	0,488
					I-III	<0,001
					II-III	0,035
Parite	0 (0-0,75)	0 (0-0)	2 (2-2)	<0,001	I-II	0,335
					I-III	<0,001
					II-III	<0,001
Abortus	3 (2-3)	2 (2-3)	-	0,654*		

*Mann-Whitney U Testi.

TABLO 2: Gruplardaki bazı trombofilik gen mutasyonları.

	Trombofilik pozitif grup (n=51)	Kontrol grubu (n=25)	p
FVL heterozigot	23 (%45)	1 (%4)	<0,001
FVL homozigot	1 (%2)	0	1,000
PGM heterozigot	14 (%27)	0	0,003
PGM homozigot	1 (%2)	0	1,000
MTHFR homozigot	14 (%27)	1 (%4)	0,016

FVL: Faktör V Leiden; MTHFR: Metilentetrahidrofolat;
PGM: Protrombin G20210A mutasyonu.

TABLO 3: Grupların trombofilik göstergelerine ait veriler.

	Trombofilik pozitif grup (n=51)	Kontrol grubu (n=25)	p
PC eksikliği saptanan olgu sayısı ve oranı	1 (%1.9)	0	1,000
PS eksikliği saptanan olgu sayısı ve oranı	20 (%39.2)	0	<0,001
AT III eksikliği saptanan olgu sayısı ve oranı	0	0	1,000
APCR saptanan olgu sayısı ve oranı	27 (%52.9)	0	<0,001
Homosistein yüksekliği saptanan olgu sayısı ve oranı	9 (%17.6)	0	0,026

PC: Protein C; PS: Protein S; AT: Antitrombin; APCR: Aktive protein C direnci.

Çalışma ve kontrol gruplarındaki trombofilik göstergelerine ait veriler Tablo 3'de sunulmuştur.

Trombofilik pozitif gruptaki 51 hastanın 30 (%58,8)'unda birden çok trombofilik göstergesi pozitif bulunmuştur. Yirmi bir (%41) hastada APCR FVL mutasyonu ile birlikte mevcutken, 6 (%11,7) hastada APCR varlığında FVL mutasyonu saptanmamıştır, 3 (%5,8) hastada ise FVL mutasyonu olmasına rağmen APCR tespit edilmemiştir. PS eksikliği bulunan 20 hastanın 15 (%29,4)'inde FVL mutasyonu da saptanmıştır.

Çalışmamızdaki grupların TGA testi parametrelerinin karşılaştırılması Tablo 4'de sunulmuştur.

TGA testi ETP değeri için trombofilik pozitif, trombofilik negatif ve kontrol grupları birbirleriyle karşılaştırıldığında trombofilik pozitif grup en yüksek değere sahipken, trombofilik negatif grup ve kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır. Duraklama zamanı, pik zamanı ve ST, TA'sı olan hastalarda istatistiksel olarak anlamlı düzeyde uzun bulunmuştur. ST'nin trombofilik pozitif grupta diğer gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı derecede daha uzun olduğu saptanmıştır. Pik değeri trombofilik pozitif grupta en yüksek bulunurken, trombofilik negatif grup ile kontrol

TABLO 4: Grupların TGA testi parametrelerinin karşılaştırılması.

	Grup I Trombofilik pozitif grup (n=51)	Grup II Trombofilik negatif grup (n=49)	Grup III Kontrol grubu (n=25)	p	(Anlamlılık Değeri)
ETP (nanomolar/dakika)	2165.000 (1968.000-2354.750)	1505.000 (1355.500-1712.000)	1400.000 (1198.000-1502.000)	<0,001	I-II <0,001 I-III <0,001 II-III 0,065
Duraklama (Lag) zamanı (dakika)	3.330 (3.000-3.670)	3.000 (2.670-3.330)	2.240 (2.000-2.670)	<0,001	I-II 0,495 I-III <0,001 II-III <0,001
Pik yüksekliği (nanomolar)	392.03±70.24	300.19±55.04	305.87±71.35	<0,001	I-II <0,001 I-III <0,001 II-III 0,933
Pik zamanı (dakika)	6.000 (5.670-6.670)	5.670 (5.330-6.082)	4.700 (4.000-5.670)	<0,001	I-II 0,132 I-III <0,001 II-III <0,001
ST (dakika)	22.000 (21.000-23.000)	20.000 (18.000-21.000)	18.000 (17.000-19.250)	<0,001	I-II <0,001 I-III <0,001 II-III 0,012

ST: Kuyruk başlangıcı; ETP: Endojen trombin potansiyeli.

grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmemiştir.

ETP ile trombofilik göstergeleri arasındaki korelasyonu incelediğimizde, AT III, PC, PS, APCR ve homosistein açısından istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmamıştır.

Trombofilik pozitif grup ile kontrol grubu arasındaki TGA testi ETP değerinin ROC eğrisi Şekil 2'de sunulmuştur.

TGA testi ETP değerinin trombofilik pozitif grup ile kontrol grubu arasındaki ROC eğrisi, ETP düzeyi 1605 nMxdk üzerindeki değerlerde %96 (%95 GA 86,5-99,4) duyarlılık ve %96 (%95 GA 79,6-99,3) özgüllük ile trombofilik pozitifliği bulunan TA'sı olan hastaları saptayabilmektedir.

TARTIŞMA

TA üreme çağındaki kadınların %1-3'ünü etkilemektedir. Birçok etiyolojik sebep öne sürülse de, hastaların önemli bir kısmında TA nedeni açıklanamamaktadır.^{22,23} Son yıllarda edinsel ve kalıtsal trombofilik bozukluklar TA ve diğer gebelik komplikasyonları ile ilişkilendirilmektedir.^{23,24}

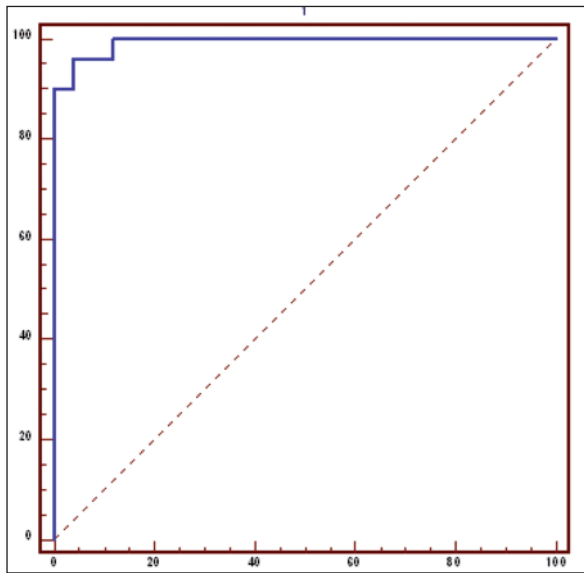
Bu çalışmada, trombofilik dışında patolojisi bu-

lunmayan TA'sı olan hastaların hiperkoagülabilité durumunu ve bu hastaların değerlendirilmesinde TGA testinin kullanımını araştırmayı amaçladık.

Kalıtsal trombofililerin sistemik tromboz ile bağlantısı bilinmesine rağmen TA üzerindeki etkisi halen tartışmalıdır.²⁵ Bunun sebebi, trombofilik mutasyonların gebelik üzerinde olumsuz etkilerini gösteren çalışmaların çoğunluğunun geriye dönük veriye dayalı olmasıdır. Hangi hemostatik testlerin uygulanması gerektiği hakkında henüz yeterli fikir birliği olmaması ve genetik trombofilik bozuklukların gebelik prognozunu önceden tahmin etmede değerinin sınırlı olması, trombofilik yöneltik testlerin, TA nedenlerinin birincil incelemesinde kullanılmasını tartışmalı hale getirmektedir ve TA'sı olan kadınların araştırılmasında hemostatik sistemi genel olarak değerlendiren testlerin kullanılmasına neden olmaktadır.²⁶⁻²⁸ TA'nın etiyolojisinde trombofilik açısından bilinen sebeplerden farklı sebepler olabilir ve buna yönelik yeni testlere ihtiyaç duyulmaktadır.

Çalışmamızda, TGA testi ETP değeri için trombofilik pozitif, trombofilik negatif ve kontrol grupları birbiriyle karşılaştırıldığında, trombofilik pozitif grup en yüksek değere sahipken, trombofilik negatif grup ve kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır (Tablo 4).

Vincent ve ark.nın yaptığı bir çalışmada, trombin üretimini gösteren bir test olan TAT kompleksi ölçümü, gebelik bulunmayan TA'sı olan hastalarda değerlendirilmiştir.²⁹ TAT konsantrasyonu, AFA pozitif ve negatif gruplarda kontrol grubundakine göre daha yüksek bulunmuştur. TA'sı olan hastalarda AFA'lardan bağımsız bir şekilde protrombotik bir durum tespit edilmiş ve bazal protrombotik durumun, gebelikte ortaya çıkan hiperkoagülabilitéyi daha da artırıp fetal kayıba neden olabileceği öne sürülmüştür. TA'sı olan hastalarda artmış TAT değerlerinin, trombojenik potansiyeli olan ve antitrombotik tedaviden fayda görebilecek bir alt grubu belirleyebileceği belirtilmiştir. Rai ve ark.nın yaptığı bir çalışmada, tam kan hemostaz testi olan tromboelastografi, TA'sı olan hastalara uygulanmış ve hastaların bir kısmının gebelik dışı dönemde protrombotik bir du-



ŞEKİL 2: Trombofilik pozitif grup ile kontrol grubu arasındaki ROC eğrisi.

Eşik değeri	Duyarlılık	%95 GA	Özgüllük	%95 GA
>1605 nMxdk	96,08	86,5 - 99,4	96,00	79,6-99,3

GA: Güven aralığı; nMxdk: Nanomolarxdakika.

rumda olduğu, ayrıca bu hastaların gelecekteki gebeliklerinde abortus açısından risklerinin artmış olduğu tespit edilmiştir.³⁰ Ayrıca artmış protrombotik durumun, gelecekte başka sağlık problemlerine yol açabileceği ileri sürülmüştür. Isermann ve ark.nın yaptığı çalışmada, farelerde trombinin aşırı üretiminin trofoblast apoptozisine ve trofoblast invazyonunda azalmaya neden olduğu saptanmıştır.²⁷

Son yıllarda yapılan çalışmalarda FVL mutasyonu, protrombin gen mutasyonu (PGM) ve MTHFR C677T mutasyonu dışında da TA ile ilişkili ve trombofiliye neden olan mutasyonlar tanımlanmıştır. F V H1299R, F XIII V34L, B-fibrinogen -455G>A, PAI-1 4G/5G, insan platelet antijeni 1 ve MTHFR A1298C mutasyonları TA için riskli hastaları belirleyebileceği düşünülen tanımlanmış diğer trombofilik gen mutasyonlarıdır.^{31,32}

Maternal trombofili ile TA arasındaki ilişki düşünüldüğünde, hangi genetik mutasyonlara ve trombofilik faktörlere bakılması gerektiği tartışma konusudur. Ayrıca başka bir çalışmada, TA'ların sadece tek bir gen mutasyonundan çok birden fazla trombofili gen mutasyonuna bağlı olabileceği gösterilmiştir.³³

Bizim çalışmamızda da rutinde uygulanan trombofili testleri pozitif olan grupta, diğer gruplara göre ETP değeri istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur; yani trombofili pozitif grupta gebelik dışı dönemde trombin üretiminde artış ve koagülasyona eğilim saptanmıştır. Trombofili pozitif grupta mevcut hiperkoagülabileiteyi artırabilecek, saptayamadığımız başka trombofilik faktörler olabileceğini, daha önceden de belirtildiği gibi, TA tanısı için mevcut trombofili testlerinin tüm trombofilileri taramada yeterli olamayacağını ve gerek koagülan, gerekse antikoagülan sistemdeki herhangi bir problemden etkilenen hassas bir test olan TGA testinin bu eksikliği giderebileceğini düşünmekteyiz. TGA, TA için bakılan diğer trombofili testlerinden bağımsızdır. TGA testi ETP değerinin trombofili pozitif grup ile kontrol grubu arasındaki ROC eğrisini incelediğimizde, TGA'nın, ETP düzeyi 1605 üzerindeki değerlerde %96 duyarlılık ve %96 özgüllük ile trombofili pozitifliği

bulunan TA'sı olan hastaları saptayabildiği görülmektedir (Şekil 2).

Fetal ölümlü hastalarda yapılan bir çalışmada, fetal ölüm ile TAT kompleksi ölçümünün ilişkisi araştırılmıştır. Fetal ölümlerde maternal hipertansiyon veya ablasyo plasenta gibi plasental yetmezlikle ilişkili durumlar önemli yer tutmaktadır. Yapılan bu çalışmada trombin üretimi kontrol grubuna göre normal gebeliği olan hastalarda yüksek, fetal ölümlü hastalarda ise bu iki gruba göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha yüksek bulunmuştur. Bunda, plasentadaki damar lezyonları, endotel hasarına bağlı olarak koagülasyondaki artış ve bozulmuş trofoblastların prokoagulan aktiviteyi baskılayamaması suçlanmıştır.³⁴ Ayrıca sağlıklı kadınlar, sağlıklı gebeler ve preeklampitik gebelerden oluşan gruplarda TGA testinin incelendiği bir çalışmada, ETP değeri, preeklampitik gebelerde sağlıklı gebelere göre ve sağlıklı gebelerde gebe olmayan kadınlara göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha yüksek bulunmuştur.³⁵ Benzer olarak preeklampsi öyküsü olan kadınlar ile sağlıklı kadınlarda TGA testinin incelendiği bir çalışmada, preeklampsi öyküsü olan kadınlarda gebelikten ortalama 15 ay sonra trombin üretimi yüksek olarak saptanmıştır.²¹

Bizim çalışmamızda da özellikle trombofili pozitif olan hasta grubunda TGA testi, ETP değeri sağlıklı kontrol grubuna göre daha yüksek bulunmuştur. Bu testle devam eden gebelikte preeklampsi gibi gebelik komplikasyonlarını ve fetal kaybı öngörebileceğimiz sonucu çıkabilir. Ayrıca ETP değeri yüksek olan veya diğer trombofili testlerinden herhangi birisi pozitif olan ve antikoagulan tedavi başlanan TA öyküsü olan gebelerin takibinde de bu test kullanılabilir. Fakat bu konuyla ilgili daha fazla sayıda ileriye dönük kontrollü çalışma gerekmektedir.

Hiperkoagülabileite, aterotromboz ve venöz tromboemboli ile sonuçlanabilmektedir. Tripodi ve ark.'nın venöz tromboemboli için yüksek riske sahip diabetes mellituslu hastalarda yaptığı çalışmada, TGA testi ile venöz tromboembolinin öngörülebileceği ve verilen mevcut tedavilerin veya trombini ve aktive F X'u inhibe etmeye yönelik

yeni antikoagülan tedavilerin bu hastalarda faydalı olabileceği öne sürülmüştür.³⁶ Bizim çalışmamızda da TA'da önemli bir yeri olan trombofilili hastalarda ve rutin testlerle trombofili göstergesi saptanamayan hastalarda ETP değerinin yüksek olmasının önemli olabileceğini, TA'sı olan hastalarda antikoagülan tedavi başlanmasında ve tedavinin takibinde bu testin yol gösterici olabileceğini düşünmekteyiz. Açıklanamayan TA'sı olan hastalarda antikoagülan kullanımına yönelik yapılan çalışmalarda TGA testi kullanıldığı takdirde hiperkoagülabilitate tespit edilen hastaların ayrıca değerlendirilmesinin sonuçları etkileyebileceği kanaatindeyiz.³⁷

Duraklama zamanı, pik zamanı ve ST, TA'sı olan hastalarda istatistiksel olarak anlamlı düzeyde uzun bulunmuştur. ST'nin trombofili pozitif grupta diğer gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı derecede uzun olduğu saptanmıştır. Pik yüksekliği en fazla trombofili pozitif grupta bulunurken trombofili negatif grup ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmemiştir (Tablo 4).

Chaireti ark.nın trombofili pozitif olan venöz tromboz hastalarında TGA testi ile ilgili yaptığı çalışmada, tromboz riski olan grupta kontrol grubuna göre duraklama zamanı, pik zamanı ve ST anlamlı olarak uzamış bulunmuştur.³⁸ Bizim çalışmamızda ise TA'sı olan hastalarda kontrol grubuna göre duraklama zamanı, pik zamanı ve ST anlamlı olarak uzun bulunmuştur. Rutin olarak araştırdığımız

trombofili nedenleri dışında trombofili etkenlerinin, bu testin trombofili negatif gruptaki yüksek değerleriyle ve TA ile ilişkili olabileceği kanaatindeyiz. Ayrıca literatürde tromboz riski ile ilgili yapılmış çalışmalarda, trombin formasyonundaki çeşitliliklere bağlı olarak TGA testi parametrelerinin hepsi artmaktadır; fakat en önemli ve trombin oluşumunu gösteren en hassas parametre ETP değeridir.³⁹⁻⁴²

Macey ve ark.nın preeklampitik gebeler, sağlıklı gebeler ve sağlıklı gebe olmayan kadınlarda yaptığı çalışmada ise duraklama zamanı ve pik zamanı preeklampitik gebelerde preeklampsisi olmayan gebelere göre, preeklampsisi olmayan gebelerde ise sağlıklı kadınlara göre daha kısa bulunmuştur.³⁵ Bu çalışmada hastaların trombofili göstergeleri hakkında veri bulunmamaktadır. Farklı protrombotik durumlarda TGA testinin ETP değeri dışındaki parametrelerinin değişimleri hakkında daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.

Sonuç olarak, TGA testinin TA'sı olan hastaların taranmasında etkili, hassas ve diğer testlerden bağımsız olarak kullanılabilen bir belirteç olduğu kanaatindeyiz. Son yıllarda özellikle trombofili ile ilişkili hastalıklarda yaygın olarak araştırılan bu test, TA'larda ilk defa bu çalışma ile kullanılmıştır. TA'larda, özellikle trombofilinin tespitinde, takibinde ve tedavisinde, trombofilinin rol aldığı düşünülen başka hastalıklarda da komplikasyonları önceden tahmin etmede ve yönetimlerinde TGA testinin yol gösterici olabileceği kanısındayız.

KAYNAKLAR

- Schorge JO, Schaffer JI, Halvorson LM, Hoffman BL, Bradshaw KD, Cunningham FG. Williams Gynecology. 1st ed. New York: McGraw Hill; 2008.
- Ford HB, Schust DJ. Recurrent pregnancy loss: etiology, diagnosis, and therapy. Rev Obstet Gynecol 2009;2(2):76-83.
- Fox-Lee L, Schust DJ. Recurrent pregnancy loss. In: Berek JS, ed. Berek and Novak's Gynecology. 14th ed. Philadelphia: Lippincott Williams&Wilkins; 2007. p.1277-322.
- Clifford K, Rai R, Regan L. Future pregnancy outcome in unexplained recurrent first trimester miscarriage. Hum Reprod 1997; 12(2):387-9.
- Kutteh WH. Recurrent pregnancy loss: an update. Curr Opin Obstet Gynecol 1999;11(5): 435-9.
- Jenkins C, Roberts J, Wilson R, MacLean MA, Shilito J, Walker JJ. Evidence of a T(H) 1 type response associated with recurrent miscarriage. Fertil Steril 2000;73(6):1206-8.
- Gleicher N. Introduction--The worldwide collaborative observational study and MULTIANALYSIS on allogeneic leukocyte immunotherapy for recurrent abortion. Am J Reprod Immunol 1994;32(2):53-4.
- Jaslow CR, Carney JL, Kutteh WH. Diagnostic factors identified in 1020 women with two versus three or more recurrent pregnancy losses. Fertil Steril 2010;93(4):1234-43.
- Benedetto C, Marozio L, Tavella AM, Salton L, Grivon S, Di Giampaolo F. Coagulation disorders in pregnancy: acquired and inherited thrombophilias. Ann N Y Acad Sci 2010;1205: 106-17.
- Doğan Y, Has R. 3Pregnancy and thrombophilia. Türkiye Klinikleri J Gynecol Obst-Special Topics 2010;3(1):64-9.
- Sambrano GR, Weiss EJ, Zheng YW, Huang W, Coughlin SR. Role of thrombin signalling in platelets in haemostasis and thrombosis. Nature 2001;413(6851):74-8.
- Broekmans AW, Veltkamp JJ, Bertina RM. Congenital protein C deficiency and venous thromboembolism. A study of three Dutch families. N Engl J Med 1983;309(6):340-4.

13. Hemker HC, Béguin S. Thrombin generation in plasma: its assessment via the endogenous thrombin potential. *Thromb Haemost* 1995; 74(1):134-8.
14. Hemker HC, Giesen P, AlDieri R, Regnault V, de Smed E, Wagenvoord R, et al. The calibrated automated thrombogram (CAT): a universal routine test for hyper- and hypocoagulability. *Pathophysiol Haemost Thromb* 2002;32(5-6):249-53.
15. Hemker HC, Al Dieri R, Béguin S. Thrombin generation assays: accruing clinical relevance. *Curr Opin Hematol* 2004;11(3):170-5.
16. van Veen JJ, Gatt A, Makris M. Thrombin generation testing in routine clinical practice: are we there yet? *Br J Haematol* 2008;142(6):889-903.
17. Hemker HC, Al Dieri R, De Smedt E, Béguin S. Thrombin generation, a function test of the haemostatic-thrombotic system. *Thromb Haemost* 2006;96(5):553-61.
18. Hron G, Kollars M, Binder BR, Eichinger S, Kyrle PA. Identification of patients at low risk for recurrent venous thromboembolism by measuring thrombin generation. *JAMA* 2006; 296(4):397-402.
19. Hemker HC, Giesen PL, Ramjee M, Wagenvoord R, Béguin S. The thrombogram: monitoring thrombin generation in platelet-rich plasma. *Thromb Haemost* 2000;83(4):589-91.
20. van Veen JJ, Gatt A, Cooper PC, Kitchen S, Bowyer AE, Makris M. Corn trypsin inhibitor in fluorogenic thrombin-generation measurements is only necessary at low tissue factor concentrations and influences the relationship between factor VIII coagulant activity and thrombogram parameters. *Blood Coagul Fibrinolysis* 2008;19(3):183-9.
21. Rafik Hamad R, Curvers J, Berntorp E, Eriksson M, Bremme K. Increased thrombin generation in women with a history of preeclampsia. *Thromb Res* 2009;123(4):580-6.
22. Regan L, Rai R. Epidemiology and the medical causes of miscarriage. *Baillieres Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol* 2000;14(5): 839-54.
23. Brenner B. Inherited thrombophilia and fetal loss. *Curr Opin Hematol* 2000;7(5):290-5.
24. Kupferminc MJ, Eldor A, Steinman N, Many A, Bar-Am A, Jaffa A, et al. Increased frequency of genetic thrombophilia in women with complications of pregnancy. *N Engl J Med* 1999; 340(1):9-13.
25. Sezer SD, Küçük M, Odabaşı AR, Yüksel H, Bozkurt G, Coşkun S, et al. [The frequency and relation of methylenetetrahydrofolate Reductase (C677T, A1298C), factor V Leiden (G1691A) and prothrombin (G2 21 A) gene mutations in recurrent pregnancy loss]. *Türkiye Klinikleri J Gynecol Obst* 2011;21(3): 175-83.
26. Carp H, Dardik R, Lubetsky A, Salomon O, Eskaraev R, Rosenthal E, et al. Prevalence of circulating procoagulant microparticles in women with recurrent miscarriage: a case-controlled study. *Hum Reprod* 2004;19(1): 191-5.
27. Isermann B, Sood R, Pawlinski R, Zogg M, Kalloway S, Degen JL, et al. The thrombomodulin-protein C system is essential for the maintenance of pregnancy. *Nat Med* 2003; 9(3):331-7.
28. Regan L, Rai R. Thrombophilia and pregnancy loss. *J Reprod Immunol* 2002;55(1-2):163-80.
29. Vincent T, Rai R, Regan L, Cohen H. Increased thrombin generation in women with recurrent miscarriage. *Lancet* 1998; 352(9122):116.
30. Rai R, Tuddenham E, Backos M, Jivraj S, El-Gaddal S, Choy S, et al. Thromboelastography, whole-blood haemostasis and recurrent miscarriage. *Hum Reprod* 2003;18(12):2540-3.
31. Goodman CS, Coulam CB, Jeyendran RS, Acosta VA, Roussev R. Which thrombophilic gene mutations are risk factors for recurrent pregnancy loss? *Am J Reprod Immunol* 2006;56(4):230-6.
32. Coulam CB, Wallis D, Weinstein J, DasGupta DS, Jeyendran RS. Comparison of thrombophilic gene mutations among patients experiencing recurrent miscarriage and deep vein thrombosis. *Am J Reprod Immunol* 2008; 60(5):426-31.
33. Coulam CB, Jeyendran RS, Fishel LA, Roussev R. Multiple thrombophilic gene mutations rather than specific gene mutations are risk factors for recurrent miscarriage. *Am J Reprod Immunol* 2006;55(5):360-8.
34. Erez O, Gotsch F, Mazaki-Tovi S, Vaisbuch E, Kusanovic JP, Kim CJ, et al. Evidence of maternal platelet activation, excessive thrombin generation, and high amniotic fluid tissue factor immunoreactivity and functional activity in patients with fetal death. *J Matern Fetal Neonatal Med* 2009;22(8):672-87.
35. Macey MG, Bevan S, Alam S, Verghese L, Agrawal S, Beski S, et al. Platelet activation and endogenous thrombin potential in pre-eclampsia. *Thromb Res* 2010;125(3):e76-81.
36. Tripodi A, Branchi A, Chantarangkul V, Clerici M, Merati G, Artoni A, et al. Hypercoagulability in patients with type 2 diabetes mellitus detected by a thrombin generation assay. *J Thromb Thrombolysis* 2011;31(2):165-72.
37. Franchini M, Mannucci PM. A new era for anticoagulants. *Eur J Intern Med* 2009;20(6): 562-8.
38. Chairati R, Jennersjö C, Lindahl TL. Thrombin generation and D-dimer concentrations in a patient cohort investigated for venous thromboembolism. Relations to venous thrombosis, factor V Leiden and prothrombin G20210A. The LIST study. *Thromb Res* 2009;124(2): 178-84.
39. Brummel-Ziedins KE, Vossen CY, Butenas S, Mann KG, Rosendaal FR. Thrombin generation profiles in deep venous thrombosis. *J Thromb Haemost* 2005;3(11):2497-505.
40. Chantarangkul V, Clerici M, Bressi C, Giesen PL, Tripodi A. Thrombin generation assessed as endogenous thrombin potential in patients with hyper- or hypo-coagulability. *Haematologica* 2003;88(5):547-54.
41. van Hylckama Vlieg A, Christiansen SC, Luddington R, Cannegieter SC, Rosendaal FR, Baglin TP. Elevated endogenous thrombin potential is associated with an increased risk of a first deep venous thrombosis but not with the risk of recurrence. *Br J Haematol* 2007;138(6): 769-74.
42. Tappenden KA, Gallimore MJ, Evans G, Mackie IJ, Jones DW. Thrombin generation: a comparison of assays using platelet-poor and -rich plasma and whole blood samples from healthy controls and patients with a history of venous thromboembolism. *Br J Haematol* 2007;139(1):106-12.