

TÜRK HEMATOLOJİ DERNEĞİ

HematoLog

2012: 2 ■ 2

Dr. Sefer Gezer

Rush University, Medical Center, Chicago, Illinois, USA
e-posta: sefer_gezer@rush.edu
Tel: 001 312 942 35 85

Anahtar Sözcükler

Kanamaya diyatezleri, Vasküler bozukluklar, Trombosit bozuklukları

KOAGÜLASYON TESTLERİNİN KLİNİKTE KULLANIMI

GİRİŞ

Bu yazı, konunun kolayca anlaşılması amacı ile üç ayrı bölümde incelenecektir. Birinci bölümde; normal hemostatik mekanizmanın nelerden oluştuğu ve nasıl işlediği incelenecek ikinci bölümde ise; koagülasyon testlerinin klinikteki kullanımına geçilecektir. Üçüncü bölümde; anormal pıhtılaşma zamanlarının incelenmesini ve karışım testine yer verilecektir.

Hemostatik mekanizma

Koagülasyon testlerinin klinikte kullanımını tartışmadan önce hemostatik mekanizmaya kısaca bir göz atmak gerekir. Hemostazın en basit tanımı, kanamanın durdurulması şeklinde yapılabilir. Kan damarlarındaki olası bir yaralanma, koagülasyon sisteminde bir takım reaksiyonların oluşumuna ve sonuçta kan pıhtısı gelişimine neden olur. Böylelikle, yara yeri onarılır ancak damar duvarının devamlılığını sağlamak amacıyla da daha önceden oluşan pıhtı fibrinolitik mekanizma tarafından çözülmeye başlar (1).

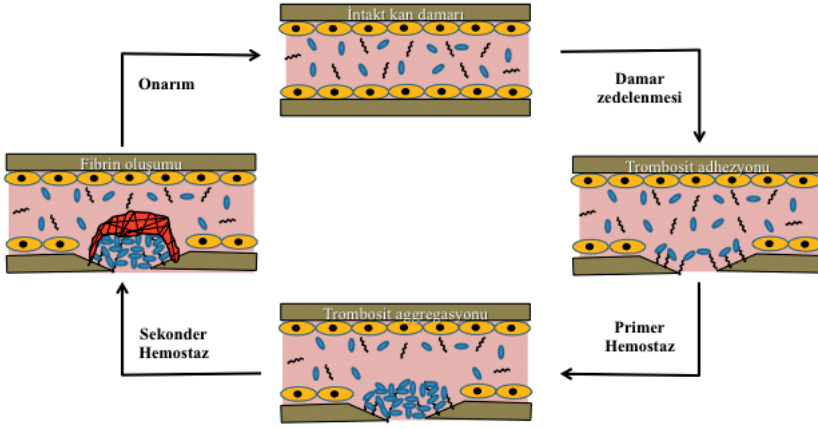
Damar duvar yaralanmasından kısa bir süre sonra kanamayı durdurmak amacıyla o bölgede *vazokonstriksiyon* oluşur. Bu süreç içerisinde trombositler, von Willebrand faktörü (vWF) aracılığı ile damar duvarındaki bulunan subendotel tabakasındaki tip-IV kollajene yapışarak bir köprü oluştururlar ki bu olaya *trombosit adhezyonu* adı verilir (2). Endotel hücreleri tarafından salınan bazı maddeler, daha sonra trombositlerin küme oluşturmalarına neden olur ve bu olayda *trombosit aggregasyonu* olarak bilinir (2). Tüm bu öncül olaylar sonucunda, hasarlanan damar duvarında trombosit tıkaçı

oluşmasına **birincil hemostaz** adı verilmektedir. Bu olayın gerçekleşmesinde yukarıda da tartışıldığı üzere; damar duvarı, endotel hücreleri, vWF ve trombositler rol oynar. Ancak şunu da unutmamak gerekir ki, birincil hemostazla oluşan trombosit tıkaçı genelde zayıf bir tıkaç olarak bilinir.

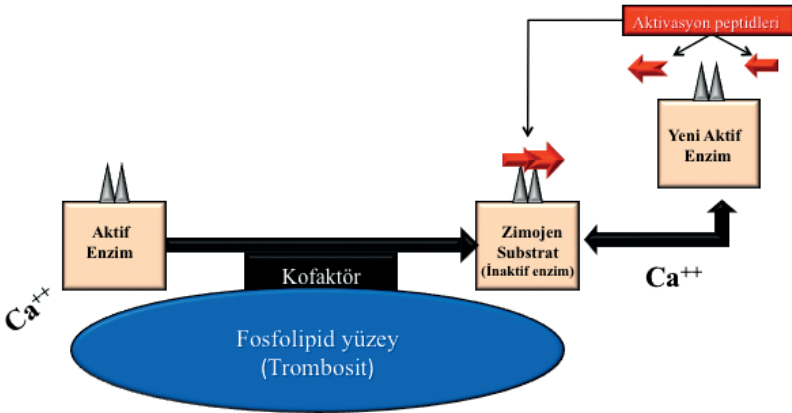
Olay sürecinde gerek damar duvarına çekilen monositlerden ve gerekse yaralanan endotel hücrelerin yüzeyinden doku faktörü (DF, Faktör III, Trombokinaz, CD 142 salınır (3, 4). Dolaşımdaki faktör VII kolaylıkla bu bölgeye gelir ve daha sonra doku faktörü tarafından bağlanarak aktive edilir (FVIIa). Doku faktörü tarafından bağlanarak aktive olan faktör VII'nin (FVIIa) enzimatik aktivitesi faktör VII'ye karşı birkaç bin kez daha fazladır. VIIa'da görülen bu patlama, koagülasyon kaskadındaki birtakım enzimatik reaksiyonların gerçekleşmesine ve sonuçta da fibrin oluşumuna neden olur (5) (Şekil 1).

Koagülasyon kaskadının hemen her basamağında birbirine benzer reaksiyonlar oluşur. Başlangıçta bir enzim, bazı kofaktörler tarafından katalize edilerek, inaktif bir enzimi (zimojen) aktive eder ve yeni bir enzim oluşturur. Yeni oluşan bu enzim daha sonra kendisinin kofaktörüne bağlanarak diğer bir zimojeni aktive eder. Enzimlerin bu şekilde birbirlerini yukarıdan aşağıya doğru aktive etmeleri olayına *koagülasyon kaskadı* adı verilmektedir (6). Son oluşan enzim *trombin* olarak bilinir ve bu da fibrinojen molekülünden dört fibrinopeptidi (ikişer tane fibrinopeptid A ve B) ayırarak *fibrin monomerlerinin* ortaya çıkmasına neden olur ve bunun sonucunda jel şeklinde *solubl fibrin*'i oluşur (7). Yeni oluşan soluble fibrin, fazla dayanıklı olmadığından kolayca çözünebilir. Faktör XIII (fibrini stabilize edici faktör); fibrin monomerlerini, fibrin polimerlerine çevirerek pıhtıyı stabil hale getirir ve buna da *insoluble fibrin* adı verilir (8,9). İşte bu süreçteki pıhtı oluşumuna da **ikincil hemostaz** adı verilmektedir. Bu olayın gerçekleşmesinde; plazma koagülasyon faktörlerine, fosfolipid yüzeye (trombositler) ve kalsiyuma gereksinim vardır. Fibrin pıhtısı, daha önce yaralanan damar duvarında oluşan zayıf trombosit tıkaçı (birincil hemostaz) üzerinde adeta bir harç etkisi göstererek onu sıvar ve güçlendirir ve aynı zamanda, fibroblastların zedelenen damar duvarını tamir etmeleri için de bir iskele oluşturur (Şekil 2).

Oluşan fibrin, daha sonra bir grup enzimatik reaksiyonlar sonucu parçalanır ki buna da **fibrinoliz** adı verilir. Fibrinoliz, daha fazla pıhtı oluşumunu önlediği gibi hemostaz için gerekli olmayan pıhtıları da ortadan kaldırır. İnaktif bir enzim olan *plazminojen*, fibrin oluşur oluşmaz onu bağlar. Endotel hücreleri üzerinde oluşan bu fibrin, yine endotel hücreleri tarafından doku plazminojen aktivatörü (tPA)'nın salınımına neden olarak adeta kendi parçalanmasını tetikler (10). Daha sonra, tPA fibrine bağlanarak plazminojeni edimsel şekli olan *plazmin*'e dönüştürür. Plazmin, fibrin molekülünde çapraz bağlı d-dimerler ortaya çıkana kadar onu devamlı bir şekilde küçük parçalara bölmeye devam eder. D-dimerler, fibrinolizin olduğunu gösteren en duyarlı ve en özgün ürünlerdir (11). Fibrine bağlı



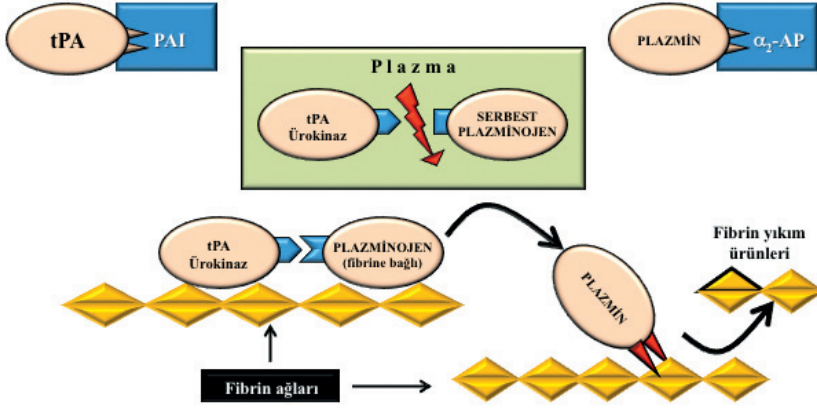
Şekil 1 - Fibrin pıhtısı oluşumu.



Şekil 2 - Koagülasyon kaskadının alt birimleri.

olmayan plazminojen, tPA tarafından aktive edilemez ve bu nedenle de, tPA'nın fibrine özgün olduğu düşünülmektedir. TPA'nın bu etkisi, aktive olmuş trombosit ve endotelden salınan plazminojen aktivatör inhibitörleri (PAI) tarafından inhibe edilir (12, 13). Fibrin yüzeyinden ayrılan plazmin ise daha sonra alfa-2 antiplazmin (α_2 -AP) tarafından nötralize edilmektedir (14). TPA'nın rakipsiz kaldığı veya α_2 -AP eksikliği durumlarında fibrinolitik mekanizma sürekli olarak edimsel kalacağından, henüz damar duvarı onarılmadan erken fibrin parçalanması oluşur ve bu durum da hemostaz'ın bozulmasına neden olur (15) (Şekil 3).

Koagülasyon sistemini bu şekilde kısaca inceledikten sonra tüm koagülasyon faktörlerini ve bunlarla ilgili özelliklerini Tablo 1 ve Tablo 2'de görüldüğü gibi özetlemek mümkündür.



Şekil 3 - Fibrinolitik yolun ana bileşenleri.

Tablo 1 - Koagülasyon Faktörleri ve İşlevleri

Adı	Fonksiyonu
I (fibrinojen)	Pıhtıyı oluşturur (fibrin)
II (protrombin)	Edimsel formu (IIa) ve I, V, VII, VIII, XI, XIII, Protein C ve trombositleri aktive eder
Doku faktörü (TF)	VIIa'nın kofaktörüdür (önceleri faktör III olarak adlandırılırdı)
Kalsiyum	Koagülasyon faktörlerinin fosfolipidlere bağlanmasını sağlar (önceleri Faktör IV olarak adlandırılırdı)
V (proakselerin, labil faktör)	Faktör X'un kofaktörüdür ve protrombinaz kompleksini oluşturur
VI	Atanmamıştır (önceleri Va olarak adlandırılırdı)
VII (prokonvertin, stabil faktör)	Faktör IX ve X'u aktive eder
VIII (Antihemofilik faktör-A)	Faktör IX'un kofaktörüdür ve tenaz kompleksini oluşturur
IX (Antihemofilik faktör-B)	Christmas faktörü, Faktör X'u aktive eder, Faktör VIII'le tenaz kompleksini oluşturur
X (Stuart-Prover faktörü)	Faktör II'yi aktive eder ve Faktör V ile protrombinaz kompleksini oluşturur
XI (Plazma tromboplastin öncülü)	Faktör IX'u aktive eder
XII (Hageman faktörü)	Faktör XI, VII ve prekalikrein'i aktive eder
XIII (fibrini stabilize eden faktör)	Fibrin monomerlerini fibrin polimerlerine dönüştürür
von Willebrand Faktör	Faktör VIII'e ve subendoteldeki kollajene bağlanır, trombositlerin adhezyonunu sağlar
Prekallikrein (Fletcher faktörü)	Faktör XII ve prekalikrein'i aktive eder, yüksek moleküler ağırlıklı kininojeni böler
Yüksek moleküler ağırlıklı kininojen (YMAK) (Fitzgerald faktörü)	Faktör XII, XI ve prekalikrein'in karşılıklı aktivasyonunu destekler

Tablo 2 ■ Koagülasyon Faktörleri ve İşlevleri

Adı	Fonksiyonu
Fibronektin	Hücre ahezyonuna aracılık eder
Antitrombin III (Antitrombin)	IIa, Xa ve bazı diğer proteazları inhibe eder
Heparin kofaktör II (minör antitrombin)	IIa'yı inhibe eder, heparin ve dermatan sülfatın kofaktörüdür
Protein C	Va ve VIIIa'yı inaktive eder
Protein S	Aktive protein C (APC)'nin kofaktörüdür
Protein Z	Trombinin fosfolipidlere bağlanmasında aracılık eder, ZPI aracılığı ile faktör X'nun parçalanmasını uyarır
Protein Z-ilişkili proteaz inhibitörü (ZPI)	Protein Z ile birlikte Faktör X'nun parçalanmasına yardımcı olur, kendi başına Faktör XI'i parçalar
Plazminojen	tPA ve ürokinaz aracılığı ile plazmine dönüşerek fibrini ve diğer bazı proteinleri parçalar
Alfa 2-antiplazmin	Plazmini nötralize eder
Doku plazminojen aktivatörü (tPA)	Plazminojeni aktive eder
Ürokinaz	Plazminojeni aktive eder
Plazminojen aktivatör-1 (PAI-1)	Endotelial PAI olup tPA ve ürokinazı etkisiz hale getirir
Plazminojen aktivatör-2 (PAI-2)	Plasental PAI olup tPA ve ürokinazı etkisiz hale getirir
Kanser prokoagülanı	Patolojik Faktör X ve II aktivatörü olup kanserli hastalarda tromboza neden olabilir

Koagülasyon testleri

Öyküsünde ve fizik muayenesinde kanama yönünden anormallik bulunan hastalarda, koagülasyon testlerinin bozuk olarak saptanması büyük bir olasılıktır. Ancak laboratuvar yanlışısını önlemek amacıyla anormal olarak saptanan koagülasyon testlerinin tekrarı da zorunludur. Anormal olarak saptanan bazı testler, klinikte her zaman bir anlam içermeyebilir. Örneğin; Faktör XII, Prekalikrein (PK) ve yüksek molekül ağırlıklı kininojen (HMWK) eksikliği olan hastalarda bu faktörlerin eksiklikleri, APTT'de uzamaya neden olmasına karşın, klinik olarak herhangi bir kanama görülmez ve bu durum sadece biyokimyasal bir bozukluk olarak nitelendirilir (16, 17, 18). Bu hastalara eğer herhangi bir cerrahi girişim gerekli ise bu durum engellenmemeli ve cerrahi girişim öncesi, taze donmuş plazma ve kriyoglobulinler de verilmemelidir. Böyle koşullarda, cerrah ile iyi bir iletişim kurularak kendilerine gerekli bilgi ve destek verilmelidir.

Koagülasyon tarama testleri; dolaşan trombositler ve koagülasyon yolları gibi hemostazın değişik bileşenlerini incelemede yardımcı olur. En önemli

tarama testleri arasında, *trombosit sayımı*, *protrombin zamanı (PZ)*, *aktive parsiyel tromboplastin zamanı (aPTZ)* ve *Trombin zamanı* vardır (19). Eğer bu testlerde herhangi bir anormallik varsa, daha spesifik testlere geçilerek, bozulduğu nerede olduğunu saptamak gerekir. *Fibrin yıkım ürünleri*'nin saptanması ise in-vivo olarak fibrinolitik oluştuğunu gösterir.

Koagülasyon testlerinin doğru bir şekilde yorumlanabilmesi için, kanın önce koagülasyon testlerine uygun bir tüpe alınması ve antikoagülan/kan oranının doğru olması gerekmektedir. Koagülasyon testleri için tam kan genelde % 3.2'lik sodyum sitratlı tüplere alınır. Antikoagülan/kan oranı, normalde bir kısım antikoagülan ve dokuz kısım tam kan (1:9) şeklindedir. Ancak bu oran bazı koşullarda değişebilir. Örneğin polisitemide (Htk > 55), plazma düzeyi azaldığından, normal tüplerdeki sitrat oranı göreceli olarak azaltılmalıdır (0.5/9). Bu duruma dikkat edilmediğinde, bu hastaların pıhtılaşma zamanlarında yalancı bir uzama görülebilir (20). Eğer vakumlu tüpler kullanılıyorsa, erişkinler için kullanılan 5 mL'lik tüpün % 60–80'i, pediatrik hastalar için kullanılan 2.5–2.7 mL'lik tüplerin ise % 90'ı kan ile doldurulmalıdır. Buna dikkat edilmemesi durumlarında ise, pıhtılaşma zamanlarında yalancı bir uzamanın görülmesi kaçınılmaz olacaktır (21,22). Koagülasyon testleri için kan intravenöz sıvının verildiği taraftan alınmamalı, zor alınan kan örnekleri de laboratuvara yollanmamalıdır. Heparinize sentral venöz kateterlerden alınan kan örnekleri koagülasyon için kullanılmamalı ancak zorunlu ise mutlaka çift enjektör tekniği kullanılmalı ve birinci enjektördeki kan örneği atılmalıdır. Antikoagülanlı tüpe kan alınır alınmaz, tüp yavaşça aşağı ve yukarıya çevrilerek iyi bir kan:antikoagülasyon karışımı sağlanmalıdır. Alınan kan örnekleri eğer oda ısısında (22–24°) saklandıysa 2 saat içinde, buz dolabında (2–4°) saklandı ise de 4 saat içinde alışımalıdır.

Protrombin zamanı (PZ): Bu test, sitratlı plazmaya tekrar kalsiyum eklenerek ve ortama tromboplastin (doku faktörü) ilavesi ile yapılır. Genelde, ekstremler ve ana yoldaki bozuklukları taramada kullanılan bir testtir. Bunlar arasında faktör VII, X, V, II (protrombin) ve fibrinojeni (I) sayabiliriz. Protrombin zamanının yardımcı olduğu durumlar aşağıdaki gibi özetlenebilir;

- K vitamini eksikliği
- Karaciğer hastalıkları
- Yaygın damar içi pıhtılaşması (YDP)
- Varfarin izleminde

PZ, mutlaka hasta ve normal kan örneklerinde çalışılmalıdır. Bu, laboratuvarlar arasındaki görülen farklı okuma değerlerini ortadan kaldıracak gibi aşağıda görüldüğü üzere protrombin zamanının değişik şekillerdeki incelenmesine de fırsat verecektir. Normalde; PZ 10–13 saniye arasında değişir. Eğer PZ normalden 3 saniye uzun ve INR 1.5' tan daha fazla ise nedeni mutlaka araştırılmalıdır.

Uluslararası Normalleştirilmiş Oran [International Normalized Ratio (INR)]: Bu değer, hastanın protrombin zamanının, kontrol protrombin zamanına bölündükten sonra, ISI değer kuvvetine yükseltilmesiyle bulunur [$INR=(PZ_{\text{hasta}} / PZ_{\text{normal}})^{ISI}$]. ISI, uluslararası duyarlılık indeksi [international sensitivity index (ISI)] olarak bilinir. Her üretici firma, ürettiği doku tromboplastinini (faktörünü) dünya sağlık örgütüne (WHO) yollayarak oradan bir ISI değeri almak zorundadır veya diğer bir deyişle yeni üretilen bu doku tromboplastini, uluslararası olarak standardize edilen plazma örneklerinde kullanılan WHO'daki doku faktörü (genelde tavşan tromboplastini) ile kıyaslanmaktadır (23, 24). Varfarin alan hastaların değişik laboratuvarlarda ölçülen protrombin zamanları böylelikle standartize edilmiş olmaktadır (25). Bunu kısaca şu örnekle açıklamak mümkündür. Örneğin; $PZ_{\text{hasta}} = 24$ saniye, $PZ_{\text{kontrol}} = 12$ saniye olsun. Hastada, ISI değeri değişik iki doku tromboplastini ile INR saptandığında iki ayrı sonuç ortaya çıkmaktadır. Birinci doku tromboplastinin ISI değeri=1 olsun. Hastadaki $INR=(24/12)^1 = 2^1=2$ olacaktır. Oysaki ISI=2 olan doku tromboplastini kullanıldığında hastadaki $INR=(24/12)^2 = 2^2 = 4$ olur. Eğer WHO'ya göre standardize edilmiş bir doku tromboplastini kullanılacak olursa laboratuvarlar arası veya ülkeler arası farklılıklar kolaylıkla ortadan kalkacaktır.

Protrombin zamanı oranı (PZr): Bu oran, hastanın protrombin zamanının, kontrol protrombin zamanına bölünmesiyle elde edilir [$PZr=(PZ_{\text{hasta}} / PZ_{\text{kontrol}})$]. Yukarıdaki örnek burada da kullanılacak olursa; $PZr=(24/12)=2$ olacaktır. Bunun anlamı, hastanın protrombin zamanı kontrole kıyasla iki kat daha uzundur veya kanı iki kat daha incedir.

Protrombin zamanı indeksi (PZI): Bu oran, normal protrombin zamanının, hastanın protrombin zamanına bölünmesi ve bu değerın 100 ile çarpılmasıyla elde edilir. [$PZI=(PZ_{\text{kontrol}} / PZ_{\text{hasta}}) \times 100$]. Yukarıdaki örneğini tekrar burada kullanacak olursak; $PZI=(12/24) \times 100 = 0.5 \times 100 = 50$. Bunun anlamı, hastanın protrombin zamanı kontrole kıyasla % 50 daha uzun veya kanı % 50 daha incedir.

Aktive Parsiyel Tromboplastin zamanı (aPTZ): Bu test, sitratlı plazmaya tekrar kalsiyum eklenerek ve ortama doku faktörü içermeyen tromboplastin (parsiyel tromboplastin) ve negatif yüklü bir madde (ör. Selit, kaolin, silika) konarak yapılır. Bu ortam kontakt faktör aktivasyonuna neden olarak pıhtılaşmayı intrinsek yoldan başlatır (26). Bu test genelde intrinsek ve ana yoldaki anormallikleri taramada kullanılır. Bunlar arasında aşağıdaki testleri sayabiliriz:

- Prekalikrein, yüksek moleküler ağırlıklı kininojen (HMWK)
- Faktör XII, XI, IX, VIII, X ve V
- Protrombin (II) ve fibrinojen (I)

aPTZ; Faktör VII ve XIII eksiklikleri dışında tüm diğer koagülasyon faktörlerinin eksikliğini ölçen bir testtir. Normal aPTZ değeri, bu yollardaki

koagülasyon faktörlerinin en azından % 30 düzeyinde olduğunu gösterir. Heparin aPTZ'yi uzattığından, heparin tedavisi gören kimselerde onu monitorize etmede de kullanılmaktadır. Terapötik değerler, aPTZ'nin orijinal değerinden 1.5–2.5 kat artmasıyla anlaşılır. Bu düzeydeki antikoagülasyon, kan heparin düzeyini protamin sülfat yöntemiyle 0.2–0.4 unite/mL'ye ve kromojenik anti-Xa yöntemi ile de 0.3–0.7 unite/mL'ye yükseltir. Düşük moleküler ağırlıklı heparinler (DMAH), aPTZ'yi uzatmaz ancak kandaki varlıkları anti-Xa aktivitesi ile gösterilebilir. aPTZ'yi uzatan diğer bir durum ise kandaki inhibitörlerdir. Bunlar spesifik olabildiği gibi (ör. Faktör VIII inhibitörleri), non-spesifik de olabilirler (ör. Lupus antikoagulanları ve/veya antifosfolipid antikoları). aPTZ'nin normal sınırları genelde 28–34 saniye arasında değişmektedir. aPTZ yöntemleri, İNR'de olduğu gibi standartize edilmediğinden değişik reaktif ve aletler kullanıldığında test sonuçlarında farklılıklar görülebilir (27).

Trombin zamanı (TZ): Bu test, pıhtılaşma sisteminin son basamağındaki fibrinojenin, fibrine dönüşüm süresini ölçer. Testin ölçümü, sitratlı plazmanın, bovin veya insan trombini kullanılarak tekrar kalsifiye edilmesi ile yapılır (28, 29). Trombin zamanının uzadığı durumlar ise aşağıdaki gibi özetlenebilir:

- Heparin ve direkt trombin inhibitörlerinin (Lepirudin, Argatroban) kullanımını
- Hipofibrinojenemi (<100 mg/dL), disfibrinojenemi, hiperfibrinojenemi (> 400 mg/dL)
- Trombin inhibitörleri (testte insan trombini kullanılırsa uzama saptanmayabilir)
- Fibrin polimerizasyonunun inhibitörleri (fibrin yıkım ürünlerinin varlığı, paraproteinler, amiloid, dekstran)

Reptilaz Zamanı (RZ): Reptilaz, trombine benzer bir enzim olup Bothrops yılanlarının zehirinde bulunur. Trombinin fibrinojen molekülünden hem fibrinopeptid A ve hem de fibrinopeptid B'yi ayırmasına karşın, reptilaz fibrinojenden sadece fibrinopeptid A'yı ayırmaktadır ve bu nedenle heparinin inhibitör etkisine (ATIII yoluyla) direnç gösterir. Reptilaz zamanı aynı trombin zamanında olduğu gibi fibrinojenin fibrine dönüşümünü ölçer (30, 31). Reptilaz zamanının uzadığı durumlar ise aşağıdaki gibi özetlenebilir:

- Fibrinogen anormallikleri
- Heparin kontaminasyonu

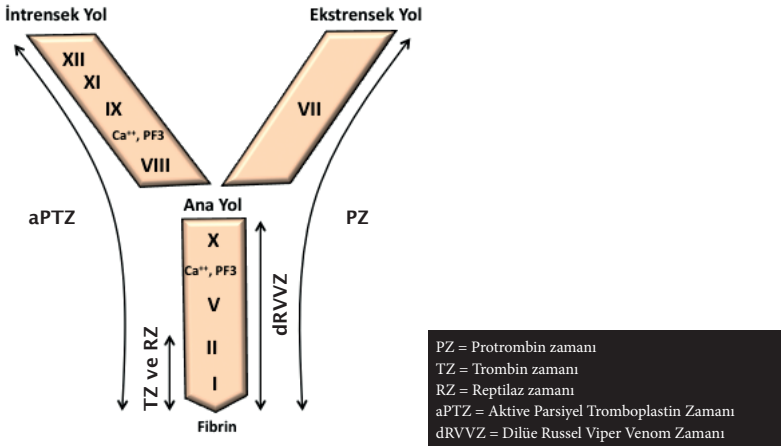
Ekarin pıhtılaşma zamanı (EPZ): Ekarin bir metalloproteinaz olup Echinocarinatus denilen yılan zehirinden elde edilir. Ekarin protrombini meizotrombine (protrombin-trombin ara ürünü) dönüştürür ancak bunun fibrinojeni fibrine dönüştürme etkisi trombine karşın oldukça azdır yani

düşük bir prokoagülan aktivite gösterir. Bu aktivite, hirudin veya diğer direkt trombin inhibitörleri tarafından inhibe edilir ancak antitrombin ve heparine bu aktiviteyi inhibe edemez çünkü test bunlara karşı duyarsızdır (32). EPZ, varfarinden ve lupus antikoagülanı gibi fosfolipid bağımlı antikoagülanlardan da etkilenmemektedir. EPZ, artan hirudin konsantrasyonları ile özgün ve linear bir artış gösterir. Ekarin pıhtılaşma zamanının uzadığı durumlar ise aşağıdaki gibi özetlenebilir:

- Direkt trombin inhibitörlerinin (DTİ) (ör. hirudin, lepirudin, argatroban, dabigatran) kullanımı (33, 34)
- Heparin kontaminasyonu

Dilüe Russel Viper venom zamanı (dRVVZ): Bu test genel olarak karışım deneylerinde aPTZ'nin düzelmediği durumlarda, lupus antikoagülanlarının tanısında kullanılır. Antifosfolipid sendromu (AFS) aslında kanamadan çok trombozlarla beraber giden bir hastalıktır. Ancak aPTZ'yi uzatması yönünden burada da incelenmesinde büyük yarar vardır. Russel yılanının zehirindeki koagülan, Faktör X'u direkt olarak ana yoldan aktive eder ve faktör V, protrombin (II), fosfolipid ve kalsiyum eşliğinde pıhtı oluşturur. Bu test (dRVVZ) uygulanırken düşük konsantrasyonlarda yılan zehiri kullanıldığından, reaksiyon hızında sınırlama olur ve normalde testin oluşturduğu pıhtılaşma zamanı 23–27 saniye arasında değişir ve böylelikle test lupus antikoagülanlarının varlığına çok sensitif bir duruma gelir. Lupus antikoru, fosfolipidlerin pıhtı yapıcı etkilerini engelledikleri için dRVVZ'yi uzatırlar. Bu test lupus antikoru saptamada aPTZ'den daha sensitif bir testtir, çünkü Faktör VIII, IX ve XI'in eksikliklerinden veya bunlara karşı oluşan antikordan etkilenmez (35, 36, 37).

Koagülasyon sistemi ve klinikte sıklıkla kullanılan pıhtılaşma zamanları Şekil 4'de şematik olarak gösterilmiştir. Bu şekil pıhtılaşma zamanlarının



anlaşılmasında ve kanama diyatezini çözmede büyük kolaylıklar sağlamaktadır.

Kanama zamanı: Hernekadar bu test, damar duvarı ile trombosit etkileşmesini değerlendirmede kullanılan bir tarama testi olarak bilinirse de klinikte inanılabilirliği oldukça şüphelidir. Sensitivitesi ve tekrarlanabilirliği oldukça düşüktür. Bunun nedeni de, bu testin sadece sayısal ve kalitatif trombosit fonksiyonlarını gösteren bir test olmaması ve aynı zamanda damar duvarının bütünlüğü ve derinin kalitesi ile de çok yakından ilişkili olmasıdır. Kanama zamanı ilk kez Duke tarafından 1910 senesinde keşfedilmiştir ve test kulak memesi kullanılarak uygulanmıştır (38). Daha sonraları bu test, Ivy tarafından ön kolun volar yüzü kullanılarak yapılmaya başlanmış ve daha sonrada standartize edilmiştir (39, 40). Template kanama zamanında; test, tansiyon aletininin monşonu üst kola takıp 40 mm Hg'ya şişirildikten sonra ön kolun volar yüzeyine tek kullanımlık ve içten yaylı bir aletle standart bir çift insizyon yapılarak başlatılır. Her iki insizyondaki yara dudaklarından akan kan, kanama durana dek her 30 saniyede bir filtre kağıdına emdirilir. Kanamanın durduğu an kanama zamanı olarak değerlendirilir. Sonuç olarak ise, her iki insizyon yerinden saptanan değerlerin ortalaması verilir. Ancak yapılan çalışmalar, genel cerrahi veya kardiyak bypass cerrahisinden, karaciğer ve böbrek biyopsisinden önce kanama riskini kestirmede herhangi bir değerinin olmadığını göstermiştir (41, 42, 43, 44).

Kanama zamanının uzadığı durumlar ise aşağıdaki gibi özetlenebilir:

- Trombositopeniler
- Kalitatif trombosit bozuklukları
- von Willebrand hastalığı
- Glanzman trombastenisi
- Bernard Soulier sendromu
- Birincil damar duvarı bozuklukları
- Asipirin, NSAİİ gibi ilaçların kullanımı

Anormal Pıhtılaşma zamanlarının incelenmesi:

Yukarıda kısaca tartışılan pıhtılaşma zamanları, kanama diyatezi olan bir hastaya yaklaşımda yardımcı olabileceği gibi, heparin ve varfarin tedasının monitöründe de büyük fayda sağlar. Bunları üç ayrı bölümde incelemek mümkündür.

Sadece protrombin zamanının (İNR) uzadığı durumlar: Bu durum genelde problemin ektrensek yolda olduğunu gösterir. Protrombin zamanının uzadığı durumlar ise aşağıdaki gibi özetlenebilir:

- Faktör VII eksikliği (doğumsal, varfarin kullanımı, karaciğer hastalığı, K vitamini eksikliği)

- Faktör VII inhibitörleri (nadir)

Sadece aktive parsiyel tromboplastin zamanının uzadığı durumlar: Bu durum genelde problemin intrinsek yolda olduğunu gösterir. aPTZ'nin uzadığı durumlar ise aşağıdaki gibi özetlenebilir:

- Faktör VIII, IX, XI eksiklikleri (doğumsal veya edinsel)
- Faktör VIII, IX, XI inhibitörleri
- Faktör XII, Prekalikrein, YMAK eksiklikleri (klinikte kanama görülmez)
- Heparin kullanımı
- Lupus antikoagülan ve/veya antifosfolipid antikorların varlığı

Hem aktive parsiyel tromboplastin zamanının ve hem de protrombin zamanının (INR) birlikte uzadığı durumlar: Bu durum genelde problemin ana yolda olduğunu gösterir. Bunun nedenleri ise aşağıdaki gibi özetlenebilir:

- Faktör II (protrombin), V ve X eksiklikleri (doğumsal, karaciğer hastalığı, YDP, aşırı antikoagülasyon)
- Faktör II (protrombin), V ve X antikorları
- Eğer PZ ve aPTZ'nin yanı sıra TZ de uzamışsa, trombin zamanı altında yukarıda anlatılan bozuklukları düşünmek gerekir.

PZ ve aPTZ'si normal fakat klinikte belirgin kanaması olanlarda ise aşağıdaki durumlar düşünülmelidir:

- Trombositopeni
- İşlevsel trombosit bozuklukları
- Hafif von Willebrand hastalığı
- Vasküler bozukluklar
- Faktör XIII eksikliği

Bazı özel durumların; PZ, aPTZ, kanama zamanı ve trombositlerle olan ilişkileri Tablo 3'te özetlenmiştir.

Karışım çalışması: Pıhtılaşma testlerinde bozukluk saptandıktan sonra bunların nedenlerinin araştırılması zorunludur. Bu sorunu en iyi şekilde çözen test *karışım çalışmasıdır*. Karışım çalışması 1:1 oranda normal plazma ile yapılmaktadır. Karışım çalışmasında genel kural şu şekilde kısaca özetlenebilir. Eğer normal plazma ile 1:1 karışım, pıhtılaşma zamanlarında düzelmeye neden oluyorsa *faktör eksikliği*, düzelme olmadığı durumlarda ise *spesifik veya non-spesifik inhibitörler* düşünülür (45). Bunların nedenleri ise aşağıdaki gibi özetlenebilir:

Tablo 3 ■ Bazı Özel Durumların; PZ, aPTZ, Kanama Zamanı ve Trombositlerle Olan İlişkileri

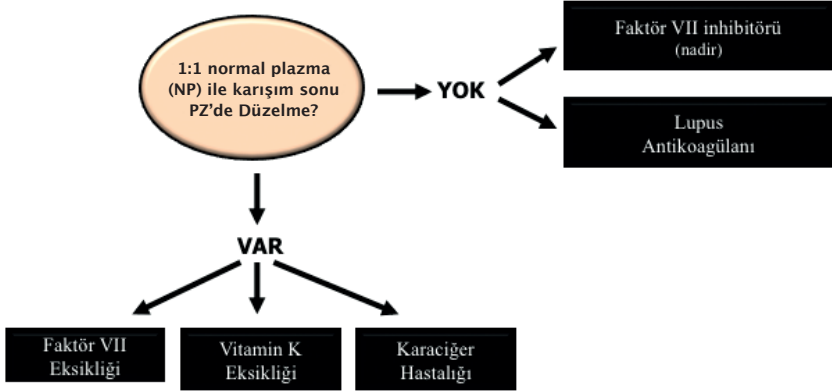
Koşul	PZ	aPTZ	Kanama Zamanı	Trombositler
K vitamini eksikliği	Uzun	Uzun	Normal	Normal
Varfarin tedavisi	Uzun	Uzun	Normal	Normal
YDP	Uzun	Uzun	Uzun	Azalmış
vWH	Normal	Uzun	Uzun	Normal
Hemofili	Normal	Uzun	Normal	Normal
Asetil salisilik asit	Normal	Normal	Uzun	Normal
Trombositopeni	Normal	Normal	Uzun	Azalmış
Karaciğer hastalığı- erken	Uzun	Normal	Normal	Normal
Karaciğer hastalığı- geç	Uzun	Uzun	Uzun	Azalmış
Üremi	Normal	Normal	Uzun	Normal
Afibrinojenemi	Uzun	Uzun	Uzun	Normal
Faktör V eksikliği	Uzun	Uzun	Normal	Normal
Faktör X eksikliği	Uzun	Uzun	Normal	Normal
Glanzman Trombastenisi	Normal	Normal	Uzun	Normal
Bernard-Soulier sendromu	Normal	Normal	Uzun	Azalmış

- Heparin kontaminasyonu
- Faktör inhibitörleri (faktör VIII, IX veya X'a karşı)
- Diğer faktör inhibitörleri (nadir)
- Lupus antikoagülanları ve/veya antifosfolipid antikoları
- Trombin inhibitörleri (fibrin yıkım ürünleri, d-dimer)

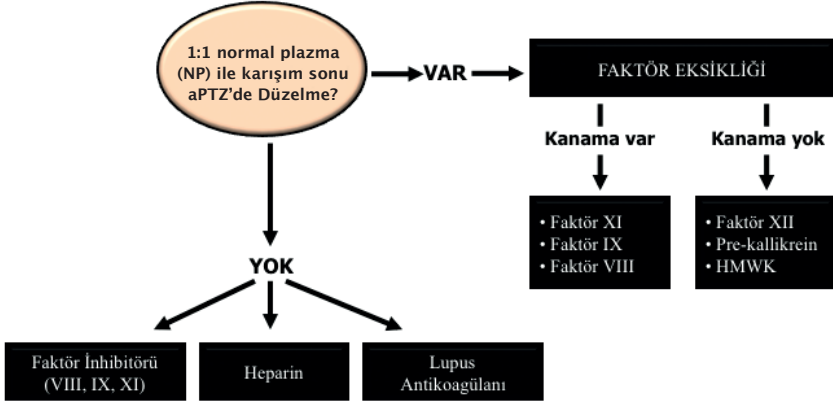
Karışım deneylerini Şekil 5, 6, ve 7'da görüldüğü gibi kısaca özetlemek mümkündür ve bunlar kanamalı hastanın tanısında son derece yararlı olacaktır.

Tarama testlerinde alınan normal sonuçlar birçok kanama diyatezinin ekarte edilmesinde yardımcı olur. Ancak, unutmamak gerekirkî, tarama sürecinde bazı kural dışı nedenler de olabilir. Bunların arasında; Faktör XIII eksikliğini, hafif von Willebrand hastalığını, hafif Faktör XI eksikliğini (hastanın genelde kanaması yok ancak cerrahi girişimlerden sonra görülen kanamalar) ve ender görülen fibrinolitik sistemi kontrol eden faktör eksikliklerini sayabiliriz. PZ ve aPTZ'de uzama olması için koagülasyon faktörlerinde % 70 azalma olması gerektiğinden eğer hastanın kanama öyküsü pozitif ise, PZ ve aPTZ'nin normal olmasına karşın bazı koagülasyon faktör aktivitelerinin direkt olarak ölçülmesinde büyük yarar vardır.

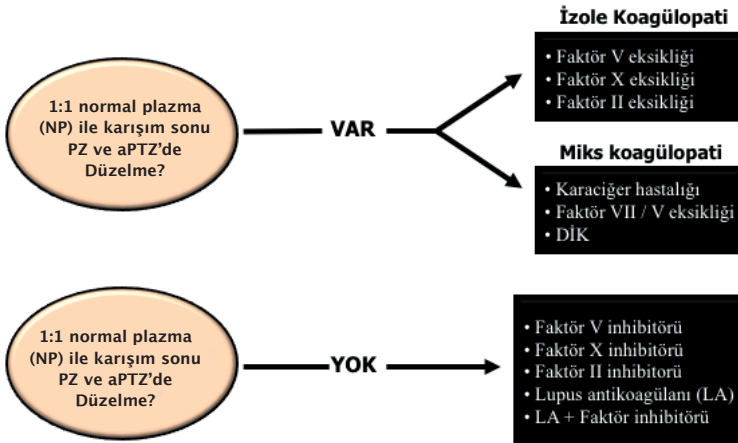
Kanama öyküsü pozitif olan hastalarda, eğer belirgin bir dış kanama sap-



Şekil 5 ■ Uzamış protrombin zamanı.



Şekil 6 ■ Uzamış aktive parsiyel tromboplastin zamanı.



Şekil 7 ■ Uzamış protrombin ve aktive parsiyel tromboplastin zamanı.

tanamıyorsa ve özellikle de hemoglobin düzeyleri düşükse, kompüterize tomografi çekilerek gizli kanamalar, retroperitoneal kanamalar ve özellikle baş ağrısı olan, kafa travması geçiren ve bilinç bozukluğu olan hastalarda intrakraniyel kanamalar mutlaka araştırılmalıdır.

Kaynaklar

1. Bajaj Spö Joist JH. New insights into how blood clots: implication for use of APTT and PT as coagulation screening tests and in monitoring of anticoagulant therapy. *Semin Thromb Hemost*. 1999;25:407-18.
2. Nurden A, Nurden P. Advances in our understanding of the molecular basis of disorders of platelet function. *J Thromb Haemost*. 2011; Suppl 1:76-91.
3. Wiiger MT, Prydz H. The changing faces of tissue factor biology. A personal tribute to the understanding of the "extrinsic coagulation activation". *Thromb Haemost* 2011;98: 38-42.
4. Mackman N. Alternatively spliced tissue factor – one cut too many? *Thromb Haemost* 2007;97: 5-8.
5. Mann KG. Biochemistry and physiology of blood coagulation. *Thromb Haemost* 1999;82:165-74.
6. Furie B, Furie BC. Thrombus formation in vivo. *J Clin Invest* 2005;115: 3355-62.
7. Lord ST. Molecular mechanisms affecting fibrin structure and stability (Review). *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2011;31:494-9.
8. Muszbek L, Ariëns RA, Ichinose A. Factor XIII: recommended terms and abbreviations. *J Thromb Haemost* 2011;15: 181-3.
9. Tsurupa G, Mahid A, Veklich Y, Weisel JW, Medved L. Structure, Stability, and Interaction of Fibrin α C-Domain Polymers. *Biochemistry*. 2011 Aug 24 (Epub 'tan basım öncesi).
10. Gebbink MF. Tissue-type plasminogen activator-mediated plasminogen activation and contact activation, implications in and beyond haemostasis. *J Thromb Haemost*. 2011; Suppl 1:174-8.
11. Adam SS, Key NS, Greenberg CS. D-dimer antigen: current concepts and future prospects. *Blood* 2009;113: 2878-87.
12. Vaughan DE. PAI-1 and atherothrombosis. *J Thromb. Haemost* 2005;3:1879-83.
13. Alessi MC, Poggi M, Juhan-Vague I. Plasminogen activator inhibitor-1, adipose tissue and insulin resistance. *Curr Opin Lipido* 2007;18: 240-5.
14. Mutch NJ, Thomas L, Moore NR, et al. TAFI, PAI-1 and alpha-antiplasmin: complementary roles in regulating lysis of thrombi and plasma clots. *J Thromb Haemost* 2007;5: 8127.
15. Collen D. The plasminogen (fibrinolytic) system. *Thromb Haemost*, 1999;82:259-70.
16. Renné T, Gailani D. Role of Factor XII in hemostasis and thrombosis: clinical implications. *Expert Review of Cardiovascular Therapy* 2007;5: 733-4.
17. Nakao T, Yamane T, Katagami T, et al. Severe prekallikrein deficiency due to a homozygous Trp499Stop nonsense mutation. *Blood Coagul Fibrinolysis* 2011;22:337-9.



18. Girolami A, Scarparo P, Candeo N, Lombardi AM. Congenital prekallikrein deficiency. *Expert Rev Hematol*. 2010;3:685–95.
19. Ttipodi A, Chantarangkul V, Manucci PM. Acquired coagulation disorders: revisited using global coagulation/anticoagulation testing. *Br J Haematol* 2009;147:77.
20. Spaet TH. Case 20–1979: False prolongation of prothrombin time in polycythemia. *N Eng J Med* 1979;301:503.
21. Adcock DM, Kressin DC, Mariar RA. Minimum specimen volume requirements for routine coagulation testing: dependence on citrate concentration. *Am J Clin Pathol* 1998;109:505.
22. Chuang J, Sadler MA, Witt DM. Impact of evacuated collection tube fill volume and mixing on routine coagulation testing using 2.5 mL (pediatric) tubes. *Chest* 2004;126:1262.
23. Hirsh J, Poller L. The international normalized ratio. A guide understanding and correcting its problem. *Arch Intern Med* 1994;154:282.
24. Becker DM, Humphreis JE, Walker FB 4th, et al. Standardizing the prothrombin time. Calibrating coagulation instruments as well as thromboplastin. *Arch Pathol Lab Med* 1993;117:602.
25. van den Besselaar AM, Poller L, Tripodi A. Guidelines for thromboplastin and plasmas used to control oral anticoagulant therapy. WHO Technical Report Series 1999;889:64.
26. Schmalzer AH. Contact activation: a revision. *Thromb Haemost* 1997;78:101.
27. D'Angelo A, Seveso MP, D'Angelo SV, et al. Effect of clot detection methods and reagents on activated partial thromboplastin time (APTT). Implications in heparin monitoring by APTT. *Am J Clin Pathol* 1990;94:297.
28. Jim RT, A study of the thrombin time. *J Lab Clin Med* 1957;50:45.
29. Flanders MM, Crist R, Rodgers GM. Comparison of five thrombin time reagents. *Clin Chem* 2003;49: 169–72.
30. Niewiarowski S, Kirby EP, Stocker K. Thrombocytin—a novel platelet activating enzyme from *Bothrops atrox* venom. *Throm Res* 1977;10:863.
31. Van Cott EM, Smith EY, Galanakis DK. Elevated fibrinogen in an acute phase reaction prolongs the reptilase time but typically not the thrombin time. *Am J Clin Pathol* 2002;118: 263–8.
32. Nowak G. The ecarin clotting time, a universal method to quantify direct thrombin inhibitors. *Pathophysiol Haemost Thromb* 2003;33:173.
33. Gosselin RC, King JH, Janatpou KA, et al. Comparing direct thrombin inhibitors using aPTT, ecarin clotting times, and thrombin inhibitor management testing. *Ann Pharmacother* 2004;38:1383.
34. Salmela B, Joutsu-Korhonen L, saarela E, Lasilla R. Comparison of monitoring methods for lepirudin: impact of warfarin, lupus anticoagulant. *Throm Res* 2010:125–538.
35. Gezer S. Antiphospholipid syndrome. *Disease—a-Month* 2003;49:691–742.
36. Moore GW, Tugnait S, Savidge GF. A new-generation dilute Russell's viper venom time assay system for lupus anticoagulants: evaluation of detection utilising frozen reagents and controls. *Br J Biomed Sci* 2005;62: 127–32.

37. Kaul M, Erkan D, Sammaritano L, Lockshin MD. Assessment of the 2006 revised antiphospholipid syndrome classification criteria. *Ann Rheum Dis* 2007;66:927–30.
38. Duke WW. The relation of blood platelets to hemorrhagic disease. *JAMA* 1910;55:1185.
39. Ivy AC, Shapiro PF, Melnick P. The bleeding time in jaundice. *Surgery, Gynecol Obstet* 1935;60:781.
40. Meilke CH Jr, Kaneshiro MM, Maher IA et al. The standartized normal Ivy bleeding time and its prolongation by aspirin. *Blood* 1969;34:204.
41. Rodgers RPC et al: A critical reappraisal of the bleeding time *Semin Throm Hemost* 1990;16:1.
42. Lind SE. The bleeding time does not predict surgical bleeding. *Blood* 1991;72:2547–52.
43. Kitchen SC. Approach to bleeding Time. *Hematol Oncol Clin North Am* 1992;6(5)983.
44. Peterson P. Preoperative bleeding time lacks clinical benefit. *Arch Surg* 1998;133:134–39.
45. Lossing TS, Kasper CK, Feinstein DI. Detection of factor VIII inhibitors with partial thromboplastin time. *Blood* 1977;49:793.