

# KOAGÜLASYON TESTLERİ VE KLİNİK KULLANIMI

Ahmet İfran

GATA Hematoloji Bilim Dalı, Ankara

**H**emostatik sistemin işleyişini temel olarak bilmek, koagülasyon testlerinin doğru yorumlanması için gereklidir. Normal şartlar altında, trombositler ve koagülasyon faktörleri inaktif durumdayken, kan damar içinde serbest olarak akar. Ancak vasküler hasar olduğunda, genel olarak primer ve sekonder olarak ayrılacak olan hemostatik sistem aktive olur. Primer hemostaz; (1) vazospazm, (2) vWF aracılı trombosit adezyonu ve (3) trombosit aktivasyonu ve agregasyonundan oluşur. Sekonder hemostazda ise doku faktörü açığa çıkar ve koagülasyon yolağını aktifler, böylece hemostatik fibrin tıkaçı oluşur. Ancak bu iki ayrı sistemin *in vivo* ortamda içiçe fonksiyon gösterdiğini akılda bulundurmak gerekir. Örneğin, fibrin oluşumu için fibrinogeni parçalayan anahtar enzim olan trombin aynı zamanda güçlü bir trombosit agregasyonu sağlarken, bazı koagülasyon faktörlerinin aktivasyonu için de anyonik membran fosfolipidlerini açığa çıkarır. Her bir bölümün veya her ikisinin birden anormallikleri kanama bozukluğuna neden olabilir.

Koagülasyon testleri açıklanamayan kanama varlığında, rutin tarama testleri sırasında saptanan anormal bir test sonucunun açıklanması amacıyla veya antikoagülan tedavinin takibi için yapılır. Genellikle hasta ve aileye ait ayrıntılı öykü, kanama semptomlarının tipi ve fizik muayene hemostatik bozukluğun yeri hakkında yeterli ipuçları sağlar ve yapılacak testleri yönlendirir.

**Klinik yaklaşım:** Kanama yatkınlığının incelenmesi için değişik noktaları göz önünde bulundurmak gerekir;

1. Klinik olarak şüphelenilen kanama yatkınlığının araştırılması: İnceleme öykü ile başlar. Öykü kazanılmış veya doğumsal bir bozukluğa yönlendirebilir. Yine primer veya sekonder hemostaza ait bir bozukluğu düşündürebilir. Eğer kanama öyküsü veya aile öyküsü belirleyici ise spesifik testler yapılmalı ve sadece tarama testleri ile yetinilmemelidir.

2. Anormal bir birinci basamak testinin araştırılması: Birinci basamak testte saptanan bozukluk, ileri testler için yönlendirici olacaktır.

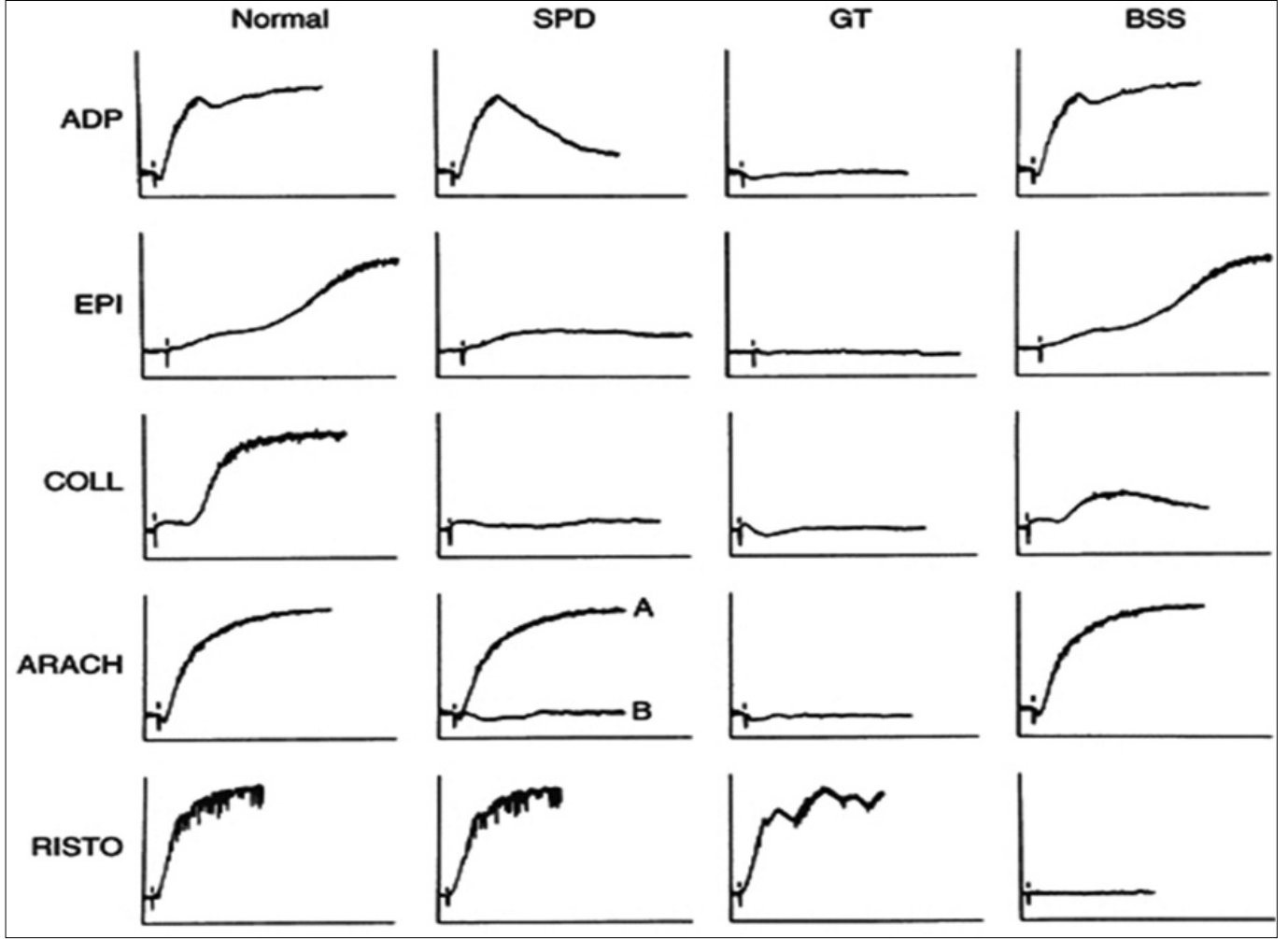
3. Akut bir hemostatik bozukluğun araştırılması: Bu durum çoğu zaman akut bir hastada veya cerrahi sırasında veya sonrasında gerekli olur. Araştırma genellikle disemine intravasküler koagülasyon (DİK) veya daha önce saptanmamış olan bir bozukluğun teşhisine yöneliktir. Olay öncesine ait koagülasyon taramasının varlığı ve ayrıntılı sorgulama tanı için yönlendirici olabilir.

## Trombosit testleri

**Trombosit sayımı ve periferik yayma:** Tam kan sayımında trombositopeni trombosit sayısının  $150 \times 10^9/L$  altında olmasıdır. Düşük trombosit sayıları saptandığında periferik yayma ile doğrulanmalıdır. Parmaktan yapılan yaymada kümelerin varlığı veya yokluğu yanısıra, trombositlerin şekilleri ve yapısı da değerlendirilir. Glanzmann trombositinde trombosit sayısı normal sınırlardadır ancak küme görülmez. Bernard-Soulier sendromunda ise trombosit sayısı azalmıştır ve trombositlerde şekil bozuklukları mevcuttur. Psödotalrombositopeni düşünüldüğünde EDTA'lı tüpe alınmış kandan yapılan periferik yayma değerlendirilir; antikoagülanlı kanda küme saptanması tanıyı doğrular. Trombositlerin yanı sıra eritrosit ve granülositlerdeki bulgular da trombositleri etkileyen kalıtsal veya kazanılmış hastalıklara ait ipuçları verebilir.

**Kanama zamanı:** Kanama öyküsü olan hastalarda 20.yı başlarından beri trombosit fonksiyonlarının ve operasyon öncesi hemostatik fonksiyonun değerlendirilmesinde rutin olarak kanama zamanı kullanılmamıştır. Hemostatik fonksiyonu değerlendirmede yeterliliği gösterilememiştir. Kanama zamanı ile cerrahi kanama riski arasında belirgin bir ilişki yoktur. Trombositlere ait bozuklukların yanı sıra, trombosit fonksiyonlarını etkileyen vWF ve fibrinogen gibi plazma proteinlerine ait bozukluklarda da kanama zamanını uzatır. von Willebrand hastalığı (vWD) kanama zamanını uzatan en yaygın kalıtsal has-





Şekil1. Trombosit aggregasyon paternleri (GT:Glanzmann Trombastenisi, BSS:Bernard-Soulier Sendromu, SPD:Storage Pool Defect)

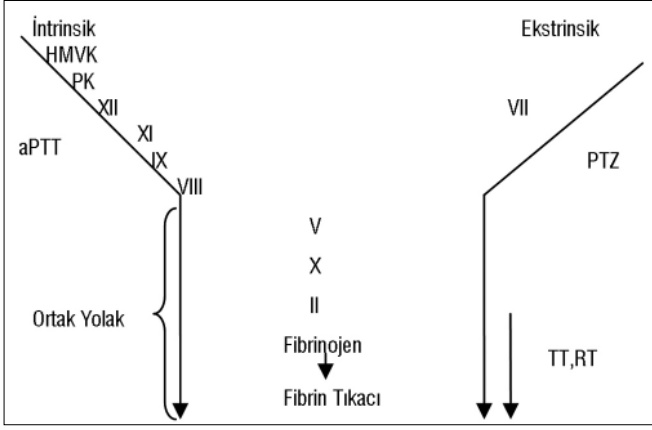
talıktır. Trombosit fonksiyonlarını etkileyen ilaç kullanımında da kanama zamanı uzayabilir. Yine cilt ve damar yapısındaki bozukluklar da test sonucunu olumsuz olarak etkileyebilir. Test yapılış tekniği, trombosit sayısı, yakın zamanda kullanılan ilaçlar gibi bir çok faktörden etkilenir. Bunun yanı sıra sonlanım noktası kesin değildir. İnvaziv bir test olması kullanılabilirliğini ve tekrarlanabilirliğini kısıtlayan unsurlardır.

**Trombosit fonksiyon testleri:** Trombosit sayısı normal iken kanama zamanının uzun olması trombosit fonksiyonlarında bir problemi gösterir. Trombosit fonksiyon anormalliklerinin tanısında trombosit aggregasyon çalışmaları kullanılır. Trombosit zengin plazmada veya tam kanda çalışılabilir. Kullanılan agonistler genellikle kollajen, ADP, epinefrin, araşidonik asit ve ristosetindir. Kalıtsal hastalıklara ait aggregasyon yanıtları şekil 1'de gösterilmiştir. Ristosetinle indüklenmiş aggregasyon yanıtları hem vWD hem de Bernard-Soulier sendromunda bozuktur. Ayırıcı tanıda trombosit morfolojisinin yanısıra, ristosetin kofaktör aktivitesinin vWD'da bozuk olması da kullanılabilir. Yine normal plazmanın hasta plazmasına ilavesi vWD'da aggregasyon yanıtını düzeltirken, Bernard-Soulier sendromunda düzelme olmaz.

**PFA-100:** Kanama bozukluklarının tanısında ve antiplatelet tedavinin takibinde kullanılan yarı otomatik cihazdır. Sitratlı kanın agonistle kaplanmış yüzeylere yapışması esasına dayanır ve bu yüzeyde yer alan deliğin "kapanma zamanını" ölçer. Çeşitli kartuşlar değişik durumlarda kullanılabilir. Yapılan çalışmalar vWD tanısı için kanama zamanından daha spesifik ve sensitif olduğunu göstermiştir.

### Koagülasyon testleri

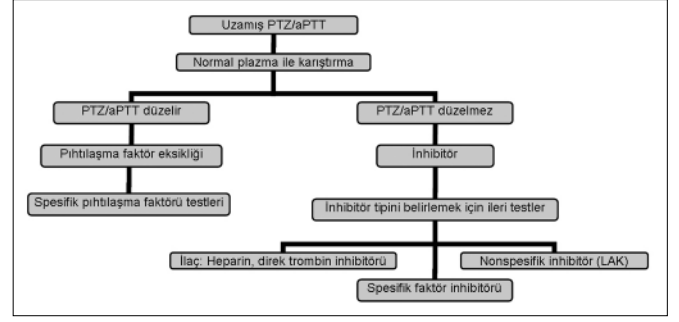
Koagülasyon yolağında rol alan plazma proteinlerinin fonksiyonlarının değerlendirilmesinde genellikle protrombin zamanı ve parsiyel tromboplastin zamanı kullanılır. Tanısal amaçlarla, plazma koagülasyon reaksiyonlarının *in vitro* olarak doku faktörü yolağı (ekstrinsik yolak) ve kontakt aktivasyon yolağı (intrinsik yolak) şeklinde ayrılması kullanışlıdır ancak bu yolakların *in vivo* ortamda ayrı olmadıkları ve kontakt aktivasyon yolağının fizyolojik koagülasyon mekanizmalarında aktif rol oynamadığı akılda bulundurulmalıdır. (Şekil 2)



**Protrombin zamanı (PTZ/INR):** En önemli kullanım alanları intrinsik ve ortak yolakta yer alan FII, FVII, FX, protrombin ve fibrinojenin eksikliklerinin saptanması ve K vitamini antagonisti (coumadin) tedavisinin takibidir. Kullanılan kitler FVII eksikliğine ortak yolaktaki (FV, FX, FII ve fibrinojen) faktörlerin eksikliklerine göre daha hassastır. FII üzerinden etkiyen heparinin teorik olarak PTZ'yi uzatması beklenir. Ancak bunu engellemek için heparini nötralize eden (örneğin Polybrene) maddeler kite ilave edilir (2 Ü/ml'ye kadar olan heparin nötralize edilebilir). Faktör eksikliğine, bir veya daha fazla faktörün sentez eksikliğine (karaciğer hastalığı), faktörlerin proteolitik olarak tüketilmesine (DİK), koagülasyon faktörleri veya fosfolipidlere karşı gelişmiş antikor varlığına bağlı olarak PTZ uzamış olabilir.

**Aktive parsiyel tromboplastin zamanı (aPTT):** İntrensek yolak ve ortak yolaktaki faktörlerin fonksiyonunu belirlemede kullanılır. Bu yollardaki faktörlerin eksiklikleri veya onlara karşı gelişmiş antikor varlığında uzamış bulunur. DİK, karaciğer hastalığı, masif kan transfüzyonu, heparin tedavisi veya örneğe heparin karışması aPTT'yi uzatan diğer nedenlerdir. Faktör seviyesinin yaklaşık olarak normalin %30-50'sine düşmesi aPTT seviyelerini uzattığı kabul edilse de, değişik kitlerin faktörlere karşı duyarlılığı sonuçları etkilemektedir.

Uzamış PTZ veya aPTT varlığında örnek normal plazmayla 1:1 oranında karıştırılarak uzamanın faktör eksikliğine mi yoksa inhibitör varlığına mı bağlı olduğu saptanmalıdır. %50 faktör seviyesi varlığında testler normal sonuçlar verir. Karışım sonrası 2 farklı sonuç elde edilir: (1) testlerdeki uzama tamamen düzelir (2) düzelme olmaz veya hafif bir düzelme olur. Faktör eksikliği durumunda bozukluk düzelirken, inhibitör varlığında düzelme görülmez. İnhibitörler 3 türde olabilir: (1) ilaçlar (heparin veya direkt trombin inhibitörleri) (2) spesifik faktörlere karşı gelişmiş antikorlar (FVIII veya FV inhibitörleri gibi) (3) nonspesifik antikorlar (lupus antikoagülanlar gibi). Karışım sonuçlarını yorumlarken akılda tutulması gereken bazı noktalar vardır. Birincisi, düşük titredeki, zayıf reaksiyon veren, testlerde hafif uzamaya neden olan antikor varlığında 1:1 karıştırma işlemi sonuç vermeyebilir.



İkincisi, özellikle ciddi FVIII eksikliği durumunda görülen bazı antikorlar yavaş olarak reaksiyon verirler, karışımın 1-2 saatlik inkübasyon sonrası çalışılması ile saptanabilirler. Buna karşın fosfolipidlere karşı gelişen antikorlar hemen reaksiyon verirler. Uzamış PTZ/aPTT varlığında izlenecek yol şekilde gösterilmiştir.

**Fibrinojen:** Günümüzde kullanılan fibrinojen ölçümleri seyreltilmiş plazmaya trombin eklenmesi ve sonrasında pıhtılaşma zamanının ölçülmesine dayanan fonksiyonel testlerdir (Clauss yöntemi). Fibrin polimerizasyonunu engelleyen fibrinojen yıkım ürünleri (FDP) gibi maddeler varlığında veya fibrinolitik tedavi alan hastalarda fibrinojen değeri olduğundan düşük bulunabilir. Ayrıca fibrinojen immünolojik olarak da ölçülebilir. Ancak immünolojik yöntemde ortamda varolan FDP de ölçüleceği için kullanışlı değildir.

**Trombin zamanı:** Seyreltilmemiş plazmaya fazla miktarda trombin eklenmesiyle trombin zamanı ölçülür. Trombin zamanındaki uzamanın en yaygın sebebi örnekte heparin varlığıdır. Plazmanın protamin gibi heparini nötralize eden bir ajanla muamele edildikten sonra çalışılması ile, uzamanın heparine bağlı olup olmadığı gösterilebilir. Yine reptilase zamanı ölçmek de heparin etkisini dışlamakta kullanılabilir. Düşük molekül ağırlıklı heparinler hafif bir uzamaya neden olurlar. Hipofibrinojenemi (DİK veya konjenital), disfibrinojenemi, FDP varlığı, trombin antikorları varlığında, monoklonal gamapatiler ve amiloidozda da trombin zamanı uzamış bulunabilir. Buna karşın, hiperfibrinojeneminin de trombin zamanında uzamaya neden olabileceği bildirilmiştir.

**5M üre testi:** FXIII ve trombin varlığında oluşan pıhtı, çapraz bağlanma nedeniyle 5M üre içerisinde en az 1 saat stabil kalır. Faktör XIII eksikliğinde ise pıhtı çözünür. Testin duyarlılığı düşüktür ve ancak %2'nin altındaki faktör eksikliklerinde pozitifdir. Ancak normal pıhtılaşma için çok az miktarda FXIII yeterli olduğundan, test bir çok vakada uygulanabilir. Tarama testlerinde anormallik saptanmayan ancak anormal kanama öyküsü varlığında düşünülmelidir. Özellikle gecikmiş kanama öyküsü olanlarda ve neonatal dönemde göbük kordonu bölgesinden kanama olanlarda şüphelenilmelidir. FXIII ölçümü için son zamanlarda ELISA yöntemi geliştirilmiştir.



## A. İfran

Hemostaz laboratuvarlarında sık olarak kullanılan yukarıdaki testler arasından PTZ, aPTT, TT, fibrinojen ve trombosit sayısı tarama testi olarak daha sık kullanılırlar. Tarama testlerindeki bozukluklara göre bazı kombinasyonlar ve izlenecek yollar aşağıda incelenmiştir.

PTZ	Normal
aPTT	Normal
TT	Normal
Fibrinojen	Normal
Trombosit sayısı	Normal

Cerrahi bölgeden veya travma bölgesinden kanayan veya kanama öyküsü olan bir hastada tarama testleri normale; konjenital veya akkiz trombosit bozukluğu, FVIII'in yeteri kadar azalmadığı hafif vWD, rutin testlerin tespit edemediği hafif düzeydeki koagülasyon bozuklukları, FXIII eksikliği, vasküler bozukluklar, anti-plazmin veya PAI-1 eksikliği gibi fibrinoliz bozuklukları akla getirilmelidir.

PTZ	Uzun
aPTT	Normal
TT	Normal
Fibrinojen	Normal
Trombosit sayısı	Normal

Konjenital veya karaciğer hastalığına bağlı FVII eksikliği, antikoagülan tedavi başlangıcı, lupus antikoagülan varlığı (bazı tromboplastinler lupus antikoagülanlara hassastır ve bazı aPTT kitleri antikorlara duyarsızdır), kullanılan kite bağlı olarak aPTT'de uzamaya neden olmayan II, V veya X'da hafif eksiklikler akla gelmelidir.

PTZ	Normal
aPTT	Uzun
TT	Normal
Fibrinojen	Normal
Trombosit sayısı	Normal

İntrinsik yolaktaki faktörlerin (VIII, IX, XI, XII, prekallikrein, HMWK) eksiklikleri, kullanılan kite bağlı olarak PTZ'de uzamaya neden olmayan II, V veya X'da hafif eksiklikler, düşük FVIII seviyesi olan vWD, antikoagülan antikorlar ve inhibitör varlığı, heparin kullanımı veya bulaşması düşünülmelidir.

PTZ	Uzun
aPTT	Uzun
TT	Normal
Fibrinojen	Normal
Trombosit sayısı	Normal

K vitamini eksikliği (PTZ genellikle daha fazla uzamıştır), oral antikoagülan ilaç kullanımı (PTZ genellikle daha fazla uzamıştır), birden çok faktörün eksikliğine neden olan karaciğer

hastalığı (fibrinojen de düşük olabilir), FV, FX, protrombinde kazanılmış veya doğumsal eksiklik veya kombine FV-VIII eksikliği düşünülmelidir.

PTZ	Uzun
aPTT	Uzun
TT	Uzun
Fibrinojen	Normal/Anormal
Trombosit sayısı	Normal

Heparin varlığı (TT orantısız olarak daha fazla uzamıştır), hipo- veya disfibrinojenemi, karaciğer hastalığı ve sistemik hiperfibrinoliz akla gelmelidir.

PTZ	Normal
aPTT	Normal
TT	Normal
Fibrinojen	Normal
Trombosit sayısı	Düşük

Trombosit yapımında azalma veya yıkımında artmayı gösterir. Klinik pratikte heparin kullanımına bağlı trombositopeni de düşünülmelidir.

PTZ	Uzun
aPTT	Uzun
TT	Normal
Fibrinojen	Normal/Anormal
Trombosit sayısı	Düşük

Beklemiş veya plazması arındırılmış kanla masif transfüzyon, özellikle siroz gibi kronik karaciğer hastalığında tarama test sonuçları yukarıdaki gibi olabilir.

PTZ	Uzun
aPTT	Uzun
TT	Uzun
Fibrinojen	Düşük
Trombosit sayısı	Düşük

Akut DİK ve DİK'le seyreden akut karaciğer nekrozunda yukarıdaki tabloda olduğu gibi tüm testlerde anormallik saptanabilir.

### KAYNAKLAR

1. Dacie and Lewis, Practical Haematology. 9th Edition, Churchill Livingstone 2002.
2. Hoffman Hematology, Basic Principles and Practice. 4th Edition, Elsevier Churchill Livingstone 2005.
3. AH Kamal, A Tefferi, RK Pruthi. How to interpret and pursue an abnormal prothrombin time, activated partial thromboplastin time and bleeding time in adults. Mayo Clin Proc, 82;7:864-873,2007.