

Preeklampitik Gebelerde Trombosit Fonksiyonlarının Agregometre ile Değerlendirilmesi

Sadık Şahin¹, Mustafa Eroğlu¹, Özlem Bingöl Özakpınar², Aysın Tulunay³,
Birsen Konukçu¹, Şermin Tetik²

¹Zeynep Kamil Kadın ve Çocuk Hastalıkları E.A.H., İstanbul, Türkiye

²Marmara Üniversitesi Eczacılık Fak. Biyokimya AD., İstanbul, Türkiye

³Marmara Üniversitesi Pendik Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Hematoloji & İmmunoloji AD., İstanbul, Türkiye

ÖZET:

Amaç: Trombositlerin preeklampsi patogenezinde rolü olduğu düşünülmektedir. Bu çalışmadaki amacımız, üçüncü trimesterdeki preeklampitik gebelerde trombosit fonksiyonlarını agregometre ile değerlendirmektir.

Metod: Çalışmamıza gebeliğinin üçüncü trimesterinde olan preeklampitik (Grup 1, n=10) ve normotensif gebeler (Grup 2, n=10) dahil edilmiştir. Tüm gebeler poliklinik şartlarında takip edilmiş, klinik ve laboratuvar parametreleri prospektif olarak kaydedilmiştir. Trombosit agregasyon yanıtı, bir trombosit agonisti olan adenozin difosfat (ADP) ile oluşturulmuş ve her iki gruba ait trombosit agregasyon değerleri ölçülmüştür.

Bulgular: Çalışmamızda preeklampitik gebelerde ortalama yaş 27.6 ± 4.3 ve kontrol grubundaki gebelerde ortalama yaş 26.7 ± 2.2 idi. Preeklampitik gebelerde kontrollere kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek intrauterin gelişme geriliği (IUGR) ve gebeliğin erken sonlandırılması gözlemlendi ($p < 0.05$). Trombosit agregasyonu preeklampitik gebelerde normotensif gebelere oranla anlamlı ölçüde düşük bulundu (sırasıyla %43 ve %67, $p < 0.05$). Şiddetli ve hafif preeklampitik hastalar arasında trombosit agregasyon yanıtları açısından farklılık tespit edilemedi.

Sonuçlar: Çalışmamız 3. trimesterdeki preeklampitik gebelerde trombosit agregasyonunda azalma olduğunu göstermiştir. Trombosit agregasyonundaki bu azalmanın preeklampitik gebelerde görülen endotel hücre disfonksiyonu ile ilişkili olabileceğini düşünmekteyiz.

İletişim Bilgileri

Sorumlu Yazar : Uz. Dr. Sadık Şahin

Yazışma Adresi : Zeynep Kamil Kadın ve Çocuk Hastalıkları E.A.H. Opr. Dr. Burhanettin Üstünel Cd No:10, Üsküdar, İstanbul, Türkiye

Gsm : (0 532) 518 15 95

Tel : (0 216) 391 06 80

Fax : (0 216) 391 06 90

E-mail : drsadiksahin@gmail.com

Makalenin geliş tarihi: 10.05.2013

Makalenin kabul tarihi: 20.06.2013

Anahtar kelimeler: Preeklampsi, trombosit agregasyonu, agregometre

ABSTRACT

Evaluation of Platelet Aggregation by Aggregometry in Preeclamptic Women

Objective: Platelets are thought to be involved in the pathogenesis of preeclampsia. Our objective was to determine the platelet aggregation in preeclamptic patients by aggregometry in the third trimester.

Method: Normotensive (Group 1, n=10) and preeclamptic patients (Group 2, n=10) were included into the study. All patients were evaluated in outpatient clinic and both clinical and laboratory parameters were recorded prospectively. Platelet aggregation was induced by the

Results: In our study, mean age was 27.6 ± 4.3 and 26.7 ± 2.2 years in preeclamptic and normotensive pregnant women respectively. The rates of intrauterine growth retardation (IUGR) and preterm delivery were significantly higher in the preeclamptics with respect to the controls ($p < 0.05$). Platelet aggregation was statistically significant in preeclamptic patients compared to the normotensive controls (%43 vs %67, respectively) ($p < 0.05$). There was no difference with regard to the platelet aggregation between severe and mild preeclamptics.

Conclusion: Our study demonstrated a reduction in platelet aggregation in preeclamptic patients in third trimester. We thought that the observed reduction in platelet aggregation in preeclamptic patients might be related to the endothelial cell dysfunction seen in preeclampsia.

Key words: Preeclampsia, platelet aggregation, aggregometry

GİRİŞ

Preeklamps, gebeliğin 20 haftasından sonra görülen hipertansiyon ve proteinüri olarak tanımlanmaktadır. Gebelikte sık görülen bir komplikasyon olmakla beraber görülme sıklığı hipertansif gebelerin yaklaşık olarak %10'u olarak bildirilmektedir (1,2). Preeklamps, maternal ve fetal mortalite ve morbiditenin önemli bir sebebidir. Etiyopatogenezi tam olarak aydınlatılamamakla beraber hem maternal hem de fetal-plasental faktörlerin rol oynadığı düşünülmektedir.

Plasenta hipoksi ve iskemisi, maternal endotel disfonksiyonu, bazı anti-anjiyogenik faktörlerin salınımı ve trombosit fonksiyonlarındaki değişikliklerin preeklampsinin ortaya çıkmasında önemli olabileceği ileri sürülmüştür (3). Preeklampside hem trombosit sayısında hem de trombosit fonksiyonlarında önemli değişiklikler görülmektedir. Bu hastalarda ortaya çıkan endotel disfonksiyonu, prostasiklin ve nitrik oksid salınımını azaltmakta ve böylece trombosit aktivasyonu meydana gelmektedir (4). Bu çalışmamızda, preeklampsisi nedeniyle takip edilen hastalarda trombosit fonksiyonları agregometre ile değerlendirilmiş ve preeklampsinin patogenezi ile trombosit fonksiyonları arasındaki ilişki araştırılmıştır.

YÖNTEM VE HASTALAR

Çalışma protokolü

Çalışmaya Zeynep Kamil Eğitim ve Araştırma Hastanesi lokal etik kurulundan alınan onay sonrasında başlanmıştır. Çalışmaya 10 normal gebeliği olan (grup 1) ve 10 preeklampşik (grup 2) gebe dahil edilmiştir. Çalışmaya dahil edilen tüm hastalara çalışma protokolü dahilinde hazırlanmış onam formu imzalatılmıştır. Çalışmaya gebe polikliniğe başvuran 18-40 yaşları arasında ve 28 hafta ve üzeri gebeler dahil edilmiştir. Preeklamps tanısı ACOG (American College of Obstetricians and Gynecologist) kriterlerine göre konmuştur (3). Preeklampşik gebeler de hafif preeklamps ve ağır preeklamps olarak sınıflandırılmıştır. Hafif preeklamps gebeliğin 20. haftasından sonra en az 6 saat arayla ölçülen tansiyon değerlerinin >140/90

mmHg'nın üstünde olması ve 24 saatlik idrarda 0.3 gram/L proteinüri olarak tanımlanmaktadır. Ağır preeklamps ise aşağıdaki faktörlerinin en az birinin olması olarak tanımlanmaktadır. Altı saat arayla ölçülen tansiyon değerlerinin >160/110 mmHg'nın üstünde olması, 24 saatlik idrarda 5 gram/L proteinüri, pulmoner ödem ve siyanoz, oligüri (< 400 mL/ 24 saat), şiddetli baş ağrısı, epigastrik ağrı ve/veya karaciğer fonksiyon testlerinde artış, trombositopeni, oligohidramnios, gelişme geriliği veya ablasyo plasenta.

Trombosit agregasyonu için gebeliğinin 28-40 hafta arasında olan gebelerden sitratlı tüpe alınan kan kullanılmıştır. Hastalara ait klinik parametreler prospektif olarak kaydedilmiştir. Çalışmamızda araştırma dışı bırakılma kriterleri;

1. Trombositler ve koagülasyon sistemi üzerine etkisi olabilecek ilaç kullananlar (aspirin, düşük molekül ağırlıklı heparin, nonsteroid antienflamatuvar ilaçlar gibi)
2. Kalıtsal kan hastalığı olanlar (Hemofili)
3. Geçirilmiş tromboz hikayesi olanlar
4. Akut veya kronik enfeksiyon
5. Son 14 gün içinde antibiyotik kullanımı olan hastalar
6. Başvuruda in utero mort fetüs durumu olması
7. Karaciğer ve böbrek hastalığı olanlar olarak sıralanmıştır.

Çalışmaya dahil edilen hastalar ve normal gebelik geçirenler gebe polikliniğinde takip edilmiştir. Her iki gruptaki gebelerden hemogram, rutin biyokimya (karaciğer fonksiyon testleri, böbrek fonksiyon testleri, total protein, albumin), tam idrar tetkiki ve 24 saatlik idrarda protein tayini yapılmıştır. Aynı zamanda tüm hastalarda rutin Obstetrik Doppler Ultrasonografi (USG) ile umbilikal arter ve uterin arter akım hızları, amniyotik sıvı indeksi, intrauterin gelişme geriliğinin (IUGR) tespiti ve rutin fetal ölçümler yapılmıştır. Oligohidramnios; dört kadrandan ölçülen amniyotik sıvı indeksinin 50 mm'nin altında olması olarak tanımlanmıştır. Trombosit agregasyonunun agregometre ile değerlendirilmesi: Tam kan örnekleri %3.8 sodyum sitrat içeren tüplere alındı. Trombosit miktarı otomatik

sayıcı ile ölçüldü. Kan alımını takip eden 1 saat içinde oda sıcaklığında bekletilen örnekler 10 dakika süreyle 800 rpm’de trombosit zengin plazma (PRP) elde etmek için santrifüjlendi. Trombosit fakir plazma (PPP) 3000 rpm’de 20 dakika santrifüj edilerek elde edildikten sonra ve örneklerin base line optikal yoğunluğu PPP ile belirlendi. Agregasyon 10 mM adenosin-5’-difosfat (ADP) ile Chronolog Lumi Agregometer’da değerlendirildi. Primer ve sekonder agregasyonun maksimum amplitud eğrileri cm cinsinden kaydedildi. İstatistiksel değerlendirme Veriler SPSS 16.00 programı kullanılarak istatistiksel değerlendirme yapılmıştır. Sürekli değişkenler ortalama $\pm$ standart sapma (SD) olarak belirtilirken kategorik değişkenler yüzde dilimi olarak gösterilmiştir. İstatistiksel değerlendirme “Student t test” ve “Fisher Exact test” kullanılarak yapılmıştır. P değeri 0.05’in altında ise sonuç istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

SONUÇLAR

Çalışmaya dahil edilen grup 1 ve grup 2’ye ait demografik bilgiler Tablo 1’de verilmiştir.

Tablo 1. Preeklampitik ve normal gebelere ait demografik değerler

	Grup 1 (kontrol)	Grup 2 (preeklampsi)	P değeri
Yaş	27.6 $\pm$ 4.3	26.7 $\pm$ 2.2	0.556
Gravida	2.8 $\pm$ 0.5	3.1 $\pm$ 0.7	0.290
Parite	2.2 $\pm$ 0.3	2.3 $\pm$ 0.4	0.544
Doğum haftası	39.1 $\pm$ 1.1	35.1 $\pm$ 4.5	0.021
Trombosit sayısı (x1000)	224 $\pm$ 56	178 $\pm$ 34	0.226
Proteinüri (mg/dl)	78 $\pm$ 12	1234 $\pm$ 340	0.000
Preeklampsi şiddeti			
Hafif	6 (%60)	-	
Ağır	4 (%40)	-	
IUGR (gün)	3.1 $\pm$ 0.9	8.3 $\pm$ 5.2	0.009
Oligohidramnios	2 (%20)	0	

Çalışmamızda preeklampitik gebelerde ortalama yaş 27.6 $\pm$ 4.3 ve kontrol grubundaki gebelerde ortalama yaş 26.7 $\pm$ 2.2 idi. Preeklampitik gebelerle normal gebeler arasında yaş, gravida, parite, trombosit sayısı açısından anlamlı bir fark gözlenmemiştir. Preeklampitik gebelerde kontrollere kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek oranda proteinüri tespit edilmiştir. Benzer olarak preeklampitik gebelerde kontrollere kıyasla yüksek

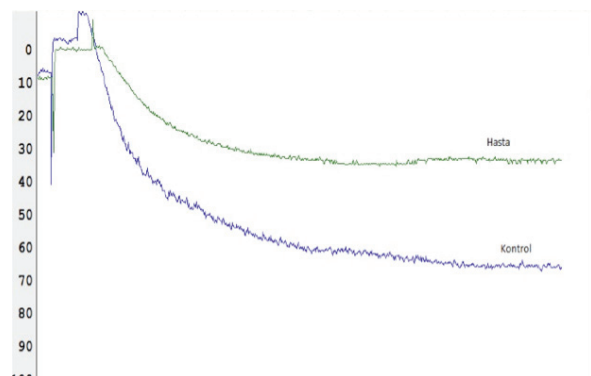
oranda intrauterin gelişme geriliği (IUGR) ve gebeliğin erken sonlandırılması gözlenmiştir (p<0.05). Preeklampitik grupta IUGR ve oligohidramnios nedeniyle 2 hastada gebelik sezeryan doğumla erken dönemde (31. ve 34. gebelik haftalarında) sonlandırılmıştır. Ayrıca preeklampitik ve normotensif gebelerde maternal ve fetal mortalite gözlenmemiştir.

Preeklampitik ve normal gebelere ait agregometre verileri tablo 2’de verilmiştir. Preeklampitik hastalarda normal gebelere kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede azalmış ADP yanıtı tespit edilmiştir. Şekil 1’de preeklampitik ve normal bir gebenin agregometre diyagramı görülmektedir. Preeklampitik hastalar kendi aralarında değerlendirildiğinde; hafif preeklampsi olanlarda (n=6) trombositlerin ADP’ye cevabı % 45 olarak tespit edilirken, ağır preeklampsi olan hastalarda bu değer %42 olarak bulunmuştur. Bu sonuç istatistiksel olarak anlamlı yaratmamaktadır (p>0.05).

Tablo 2. Preeklampitik ve normal gebelere ait agregometre değerleri

	Grup 1 (kontrol)	Grup 2 (preeklampsi)	P değeri
ADP cevabı (%)	%67	%43	0.000

Şekil 1. Preeklampitik ve normal gebelere ait agregasyon diagramı.



TARTIŞMA

Çalışmamızda 3. trimesterdaki preeklampitik gebelerde, agregometrik değerlendirme ile trombositlerin ADP’ye karşı olan agregasyon yanıtları çalışılmıştır. Preeklampitik gebelerde normal gebelere kıyasla istatistik-

sel olarak önemli derecede azalmış trombosit ADP yanıtı tespit edilmiştir. Trombosit ADP yanıtının azalması, trombositlerin agregasyon kabiliyetlerinin azalması anlamına gelmektedir. Bu sonuç, preeklampsi patogenezinde bozulmuş trombosit fonksiyonlarının önemini göstermektedir.

Preeklampsinin patogenezi tam olarak aydınlatılamamıştır. Gebeliğin ilk trimesterında ortaya çıkan endotel hasarı/disfonksiyonu, preeklampsinin patogenezinde en fazla üzerinde durulan konudur (5). Endotel hücre hasarı, subendotelial kollajenin açığa çıkmasına sebep olmakta ve böylece dolaşımdaki trombositler subendotelial kollajen ile temas etmektedir. Böylece preeklampitik gebelerde gebeliğin erken dönemlerinden itibaren trombosit aktivasyonu ortaya çıkmaktadır. Yapılan bazı çalışmalarda, preeklampitik gebelerde gebeliğin erken dönemlerinde ortaya çıkan trombosit disfonksiyonunun, preeklampsinin erken tanısında kullanılabileceği iddia edilmiştir (6). Ayrıca trombosit aktivasyonunu gösteren CD62 reseptör ekspresyonunda artış, artmış Soluble P-selektin ve beta-thromboglobulin seviyelerinin gebeliğin geç dönemlerinde gelişebilecek preeklampsi ile ilgili olduğu yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (7-9).

Preeklampitik hastalarda trombosit agregasyonunu değerlendirmek amacıyla ADP, kollajen, araşidonik asit ve epinefrin gibi farklı agonist ajanlar kullanılmaktadır. Felfernig-Boehm ve arkadaşları (10), preeklampitik hastalarda ADP, kollajen ve araşidonik asite karşı olan trombosit agregasyon yanıtlarını çalışmışlardır. Bu çalışmada özellikle erken gebelik haftalarında kollajene karşı ortaya çıkan artmış agregasyon yanıtının preeklampsi tanısının konulmasındaki prediktif değerinin %100 olduğu gösterilmiştir. Buna karşın ADP ve araşidonik asite karşı anlamlı agregasyon yanıtları elde edilememiştir. Bu çalışmada kollajene karşı elde edilen yanıtın, preeklampsinin patofizyolojisinde kollajenin öneminin ön plana çıkartılmasına sebep olmuştur. Peraçoli ve arkadaşları (11) ise 3.trimesterdaki preeklampitik kadınlarda normal gebelere kıyasla ADP, epinefrin ve kollajene karşı trombosit agregasyonunun benzer oranlarda azaldığını göstermişlerdir. Aynı çalışma-

da preeklampitik hastalarda transforme edici büyüme faktörünün (TGF- β 1) plazma seviyesi diğer gebelere kıyasla daha yüksek tespit edilmiş ve TGF- β 1'in preeklampsinin patogenezinde önemli olabileceği iddia edilmiştir. Norris ve arkadaşları (12), ciddi preeklampsi tanısı olan gebelerde normotensif gebelere göre trombositlerin ADP, epinefrin ve kollajene karşı agregasyon yanıtlarının anlamlı ölçüde daha az olduğunu göstermişlerdir. Bu bulgu preeklampsinin şiddeti ile trombosit agregasyonu arasında ters bir ilişkinin olduğunu göstermektedir. Çalışmamızda preeklampsi şiddeti ile trombosit agregasyon bozukluğunun derecesi arasında anlamlı bir ilişki tespit edilememiştir. Bu sonucun çalışmamızdaki hasta sayısının az olması ile ilgili olabileceğini düşünmekteyiz. Trombositlerin in vitro (vücut dışı) agregasyon yanıtlarının azalması, in vivo (vücut içi) ortamda gerçekleşen anormal trombosit aktivasyonuna bağlanmaktadır (13). Hasara uğramış endotel yatağında trombositler aktive olmaktadır. Retikuloendotel sistemi agregat olmuş trombositleri dolaşımdan uzaklaştırır. Böylece preeklampitik gebelerde trombosit sayıları azalırken geride kalan trombositler agregasyon özelliği azalmış olan hücrelerdir. Ahlawat ve arkadaşları (14), preeklampitik hastalarda trombositlerin hem hiperagregasyon hem de hipoagregasyon gösterebileceğini ileri sürmüşlerdir.

Sonuç olarak, çalışmamız preeklampitik gebelerde 3. trimesterde trombosit agregasyonunda azalma olduğunu göstermiştir. Trombosit agregasyonundaki bu azalmanın preeklampitik gebelerde görülen endotel hücre disfonksiyonu ile ilişkili olabileceğini düşünmekteyiz. Bu bulgunun kanıtlanması için daha fazla hasta sayısı içeren çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

KAYNAKLAR

1. Hutcheon JA, Lisonkova S, Joseph KS. Epidemiology of pre-eclampsia and the other hypertensive disorders of pregnancy. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol* 2011; 25:391.
2. Guzin K, Tomruk S, Tuncay YA, Naki M, Sezginsoy S, Zemheri E, Yucel N, Kanadikirik F. The relation of increased uterine artery blood flow re-

sistance and impaired trophoblast invasion in pre-eclamptic pregnancies. *Arch Gynecol Obstet.* 2005 ;272:283-8.

3. ACOG Committee on Practice Bulletins--Obstetrics. ACOG practice bulletin. Diagnosis and management of preeclampsia and eclampsia. *Obstet Gynecol* 2002; 99:159.

4. Redman CW, Sacks GP, Sargent IL. Preeclampsia: an excessive maternal inflammatory response to pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 1999; 180:499.

5. Roberts JM, Taylor RN, Goldfien A. Clinical and biochemical evidence of endothelial cell dysfunction in the pregnancy syndrome preeclampsia. *Am J Hypertens* 1991; 4:700.

6. Hutt R, Ogunniyi SO, Sullivan MH, Elder MG. Increased platelet volume and aggregation precede the onset of preeclampsia. *Obstet Gynecol* 1994;83: 146-9.

7. Konijnenberg A, van der Post JA, Mol BW, et al. Can flow cytometric detection of platelet activation early in pregnancy predict the occurrence of preeclampsia? A prospective study. *Am J Obstet Gynecol* 1997; 177:434.

8. Halim A, Kanayama N, el Maradny E, et al. Plasma P selectin (GMP-140) and glycocalicin are elevated in preeclampsia and eclampsia: their significances. *Am J Obstet Gynecol* 1996; 174:272.

9. Ballegeer VC, Spitz B, De Baene LA, et al. Platelet activation and vascular damage in gestational hypertension. *Am J Obstet Gynecol* 1992; 166:629.

10. Felfernig-Boehm D, Salat A, Vogl SE, Mura-bito M, Felfernig M, Schmidt D, Mittlboeck M, Husslein P, Mueller MR. Early detection of preeclampsia by determination of platelet aggregability. *Thromb Res* 2000; 15;98:139-46.

11. Peraçoli MT, Menegon FT, Borges VT, de Araújo Costa RA. Peraçoli JC. Platelet aggregation and TGF-beta (1) plasma levels in pregnant women with preeclampsia. *J Reprod Immunol* 2008; 79:79-84.

12. Norris, L.A., Gleeson, N., Sheppard, B.L., Bonnar, J. Whole blood platelet aggregation in moderate and severe preeclampsia. *Br J Obstet Gynaecol* 1993; 100:684-688.

13. Nisell H, Grunewald C, Berglund M, Karlberg KE, Lunell NO, Sylven C. Platelet aggregation in vitro and ex vivo in normal pregnancy, pregnancy-induced hypertension and preeclampsia. *Hypertens Pregnancy* 1998;17:147-55.

14. Ahlawat, S., Pati, H.P., Bhatla, N., Fatima, L., Mittal, S. Plasma platelet aggregating factor and platelet aggregation studies in preeclampsia. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1996;75: 428-431.