

## Habitüel Abortuslu Hastalarda Trombofilinin Araştırılması

İtibar Eminli<sup>1</sup>, Mustafa Kara<sup>1</sup>, Ercan Yılmaz<sup>1</sup>, Tufan Öge<sup>1</sup>, Cüneyt Evrûke<sup>2</sup>

1 Ağrı Kadın Doğum Ve Çocuk Hastalıkları Hastanesi

2 Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi

Adres : Ağrı Doğumevi Ağrı Ağrı - Türkiye

Tel: 4722164737 Cep: 05336226501 e-mail: pekererdal@hotmail.com

### ÖZET:

**Amaç:** Bu çalışmada tekrarlayan gebelik kayıpları olan hastalarda trombofili faktörlerinin etkisini araştırmayı amaçladık.

**Materyal ve Metod:** Çalışmaya Aralık 2004- Mart 2006 tarihleri arasında Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalına habitüel abortus tanısı ile başvuran hastalar dahil edilmiştir. Hasta grubu 66, kontrol grubu 74 kişiydi. Kontrol grubunda aynı yaş grubunda, habitüel abortus öyküsü ve sistemik hastalığı olmayan, tromboz açısından bireysel ve ailesel öyküsü olmayan, herhangi bir obstetrik komplikasyon gelişmeden vaginal yolla veya sezaryenle doğum yapmış sağlıklı 74 kadın mevcuttu.

**Sonuç:** Hasta grubunun yaş ortalaması 29,3±5.4, kontrol grubunun yaş ortalaması ise 27.4±5,2 olup iki grup arasındaki yaş farkı istatistiksel olarak anlamlı değildi. Çalışma sonucunda habitüel abortus ve kontrol grupları arasında Protein C ve Antitrombin III (AT III) değerleri açısından anlamlı fark bulunurken, Faktör V Leiden, Protrombin G20210A, MTHFR C677 T mutasyonları ve Protein S değeri arasındaki fark istatistiksel olarak anlamsız bulunmuştur.

**Tartışma:** Maternal trombofililer (Faktör V Leiden, Protrombin G20210A, MTHFR C677 T mutasyonu, Protein C, Protein S ve AT III eksiklikleri) obstetrik açıdan önemlidir. Habitüel abortuslu hastalarda çalışmaların çoğu, Faktör V Leiden ve vasküler plasental yetmezlik arasında sıkı bir bağ olduğunu göstermektedir. Sonuç olarak, Antitrombin III ve Protein C hasta grubunda daha düşük düzeylerde bulunmuş ve bu fark istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir. Protein S, Faktör V Leiden, Protrombin G20210A ve MTHFR C677 T mutasyonları açısından hasta ve kontrol grubu arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Habitüel abortus, faktör V Leiden, antitrombin III

### SUMMARY:

**Evaluation of Trombophilia in Habitual Abortion Cases**

**Objective:** We aimed to research the effect of the thrombophilia factors in the cases of habitual abortion.

**Material and Methods:** The patients who participated to the Cukurova University Faculty of Medicine, Department of Gynecology and Obstetrics between in December 2004 to March 2006 with the diagnosis of habitual abortion were included to the study. The number of the patient group was 66 and the control group was 74. There were 74 healthy women in the control group, at the same age, without the story of habitual abortion and systemic disease and without familial and individual history of thrombosis and delivered by vaginal way or by caesarean without developing any obstetric complication.

**Results:** The average age of the patient group was 29.3 ± 5.4, the control group was 27.4 ± 5.2 years and the difference between the two groups were not statistically significant. The difference of the Protein C and Antitrombin III values between habitual abortion and control groups was found significant, while the differences in terms of values of Factor V Leiden, Protrombin G20210A, and MTHFR C677 T mutations and Protein S values was not statistically significant at the end of the study.

**Conclusion:** Maternal thrombophilias (Factor V Leiden, Protrombin G20210A, MTHFR C677 T mutation, Protein C, Protein S and AT III deficiencies) is important in terms of obstetric way. The majority of the studies have shown that a tight link between factor V Leiden and vascular placental insufficiency in the patients with habitual abortion. Finally, in the patient group Antitrombin III and Protein C levels were found lower than the control group and this difference was not statistically significant. There was not a significant difference between patient and control groups in terms of Protein S, Factor V Leiden, Protrombin G20210A and MTHFR C677 T mutations.

**Key words:** Habitual abortion, factor V Leiden, antitrombin III.

## GİRİŞ

Abortuslar, mekanik ya da farmakolojik girişim olmaksızın gebeliğin 20. haftadan önce sonlanmasını ifade etmek için kullanılan bir terimdir. 12.gebelik haftasına kadar olan abortuslar erken abortus, 12–20. gebelik haftaları arasında olan abortuslar ise geç abortus olarak adlandırılmaktadır (1). Erken ve spontan abortuslar sık karşılaşılan jinekolojik problemlerdir. Günümüzde transvajinal ultrasonografinin kullanımının yaygınlaşması, serum  $\beta$ -HCG ve progesteron düzeyi gibi biyokimyasal belirteçlerin ölçülmesi ile abortuslar; fizyolojik kanama, ektopik gebelik ve trofoblastik hastalıktan ayırt edilebilmektedir. Böylece spontan gebelik kayıplarının tedavisinde cerrahi seçeneğe ilave olarak tıbbi tedavi ve gözlem uygulanabilmektedir. Tekrarlayan gebelik kaybı sendromu her yıl 500.000'den fazla kadını etkileyen yaygın bir obstetrik problemdir (2). Tekrarlayan düşükler genellikle iyi tanımlanmış defektler nedeniyle oluşurlar. Habituel abortustaki etyolojik faktörleri; kan koagülasyon proteinleri ve trombositlerdeki defektler (% 53), anatomik nedenler (% 15), hormonal anomaliler (% 15), kromozomal nedenler (% 7) ve diğer nedenler olarak gruplandırabiliriz (% 10) (3). Bu çalışmada habitüel abortuslu hastalarda trombofili faktörlerinin etkisini araştırmayı amaçladık.

## MATERYAL ve METOD

Bu çalışmaya Aralık 2004 - Mart 2006 tarihleri arasında Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı'nda habituel abortus tanısıyla izlenen, 20 – 40 yaş arasında ve gebe olmayan 66 hasta alındı. Kontrol grubu olarak aynı yaş grubundan habituel abortus öyküsü ve sistemik hastalığı olmayan, tromboz açısından bireysel ve ailesel öyküsü olmayan, herhangi bir obstetrik komplikasyon gelişmeden vaginal yolla veya sezaryenle doğum yapmış sağlıklı 74 kadın çalışmaya dahil edildi. Hasta ve kontrol grubundaki tüm kadınlardan Na-sitratlı ve EDTA'lı tüplere venöz kan alındı. Protein C, protein S ve antitrombin III için; içinde sodyum sitrat olan tüplere 2 cc kan alınarak bekletilmeden chromogenic yöntemle

Hematoloji Laboratuvarı'nda çalışıldı. Faktör V Leiden mutasyonu, protrombin 20210 mutasyonu ve MTHFR 677 mutasyonu için; EDTA'lı tüplere 2 cc kan alınarak +4 santigrat derecede saklanarak biriktirildi ve real time PCR yöntemi ile DNA elde edilerek, Hematoloji Laboratuvarı'nda çalışıldı. Prospektif vaka-kontrol olarak dizayn edilen çalışmada Student-T, Ki-kare ve Korelasyon testi ile oddsratio ve relatif risk hesaplandı. Bu hesaplamalarda SPSS 14,0 versiyonu kullanıldı.

## SONUÇLAR

Hasta grubunun yaş ortalaması  $29,3 \pm 5,4$ , kontrol grubunun yaş ortalaması ise  $27,4 \pm 5,2$  olup iki grup arasındaki yaş farkı istatistiksel olarak anlamlı değildi. Hasta ve kontrol grupları arasında AT-III değerleri açısından anlamlı bir fark olduğu saptandı ( $p < 0,0001$ ;  $6,75 \pm 2,50$ , Protein-C değerleri açısından her iki çalışma grubunda anlamlı bir fark saptanmıştır ( $p < 0,0001$ ,  $20,703 \pm 4,34$ . Protein- S değeri için her iki grup arasında anlamlı bir fark saptanmamıştır ( $p = 0,276$ ).

Faktör V Leiden için p değeri 0,771 dir ve iki grup arasında Faktör V Leiden değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir. Protrombin G20210A için p değeri 0,232 dir ve bu iki grupta da Protrombin G20210A değerleri benzer bulunmuştur. MTHFR C677T için p değeri 0,679'dir ve her iki grup arasında anlamlı fark bulunmamıştır.

## TARTIŞMA

Gebeliğin sağlıklı bir şekilde seyretmesi için etkili bir uteroplasental dolaşım şarttır ve bu dolaşım hemostaz bozukluklarından etkilenebilir. Bu nedenle maternal trombofililer (Faktör V Leiden, Protrombin G20210A, MTHFR C677T mutasyonu, Protein C, Protein S ve AT III eksiklikleri) obstetrik açıdan önemlidir (4). Uteroplasental dolaşım bozukluğu fetal kayıplarda önemli bir faktördür (5). Tekrarlayan fetal kayıpları olan hastalarda Faktör V Leiden ve vasküler plasental yetmezlik arasında çalışmaların çoğu sıkı bir bağ olduğunu göstermektedir (4, 5, 6, 7, 8,19,20).

Faktör V Leiden, Protein C, Protein S eksikliği olan kadınlarda herediter trombofilik bozukluklarla, fetal kayıplar arasındaki ilişki incelendiğinde, özellikle kombine defektli veya Antitrombin III eksikliği olan kadınlar başta ölü doğum olmak üzere obstetrik açıdan artmış riske sahiptir (6, 9, 10, 11, 12). Faktör V Leiden varlığı, gebelikte derin ven trombozu (8 kat artmış risk), preeklampsi (mutasyonu taşıyan bireylerin % 26'sı), plasental yetmezlik (10 kat artmış risk), plasental ablasyon (mutasyonu taşıyanların % 29,6'sı) ve 2–3. trimester gebelik kayıpları (mutasyonu taşıyanların % 31,3'ü) gibi komplikasyonlara neden olabilir (13). Literatürde tekrarlayan gebelik kaybı tanısı alan hastaların trombofili panelini inceleyen çalışmalar gözden geçirildiğinde; Z.J.Foka ve arkadaşlarının 80 habitüel abortuslu hasta ve 100 kontrol grubu üzerinden yaptıkları bir çalışmada Faktör V Leiden mutasyonu varlığının 80 hastanın 15'inde, Protrombin G20210A mutasyonu varlığının 80 hastanın 7'sinde görüldüğünü, bu mutasyonların prevalansının 2. trimester düşüklerinde daha belirgin olduğunu saptamışlardır. Fetal kayıplar açısından bu hastaların 4 kat artmış riske sahip oldukları belirtilmiştir. Bu değerler kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı bulunmuştur ( sırasıyla P=0.003 ve P=0.038 ). Aynı çalışmada 80 hastanın 6'sında ve 100 kontrol vakasının 15'inde MTHFR C677T mutasyonu homozigot olarak tespit edilmiş olup anlamsız bulunmuştur ( p = 0.134 )(14).Bizim çalışmamızda 66 tekrarlayan gebelik kaybı olan hastanın 3'ünde protrombin G20210A heterozigositesi saptanırken (% 4,55), kontrol grubunda prevalans % 2,7 (2 / 74) olarak bulundu. (**Tablo 1**). Bu fark istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmedi (p=0,551 ).

**Tablo-1:** Hasta ve kontrol gruplarında Protrombin G 20210A mutasyonunu gösteren karşılaştırmalı tablo

	Homozigot	Heterozigot	Toplam
Hasta	63	3	66
Kontrol	72	2	74
Toplam	135	5	140

N.M. Yusoff ve arkadaşları 3 ve daha fazla 1. ve 2. trimester tekrarlayan gebelik kaybı olan 46 Malezya kökenli hasta ve kontrol grubu olarak herhangi bir obstetrik komplikasyonu olmayan 46 sağlıklı bayanda Faktör V Leiden mutasyon prevalansını araştırdılar. Araştırmanın sonucunda ne hasta grubunda ne de kontrol

grubunda Faktör V Leiden mutasyonuna rastlanmamış olup, sonuç olarak Malezya popülasyonunda tekrarlayan 1. ve 2. trimester gebelik kaybı ile Faktör V Leiden mutasyonu arasında herhangi bir ilişki saptanmamıştır (15). Bizim çalışmamızda vaka ve kontrol grupları Faktör V Leiden mutasyonu açısından araştırıldığında habitüel abortusu olan 4 hastanın Faktör V Leiden açısından heterozigot (% 6,06) olduğu görüldü. Kontrol grubunda ise 5 hastada (% 6,76) Faktör V Leiden heterozigositesi saptandı (**Tablo 2**). İki grup arasında istatistiksel olarak fark bulunmamıştır (p=0,884).

**Tablo-2:** Hasta ve kontrol gruplarında Faktör V Leiden mutasyonu karşılaştırmalı tablosu.

	Homozigot	Heterozigot	Toplam
Hasta	62	4	66
Kontrol	69	5	74
Toplam	131	9	140

R.Pihusch ve arkadaşları iki ve daha fazla tekrarlayan düşüğü olan 102 hasta ve 128 sağlıklı bayandan oluşan kontrol grubunda Faktör V Leiden, MTHFR C677T ve Protrombin G20210A mutasyonlarını analiz ederek prevalanslarını karşılaştırmışlardır. MTHFR ve Faktör V Leiden prevalansında farklılıklar olmadığı gösterilmiştir. Protrombin G20210A mutasyonundaki heterozigotluk ise kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir ( P=0.027) (16). Dilley A. ve arkadaşları üç veya daha fazla düşük öyküsü olan 22–45 yaş arası 60 hasta ve aynı yaş grubunda en az bir başarılı gebeliği olan 92 sağlıklı kadın ile yaptığı çalışmada Faktör V Leiden, Protrombin G20210A ve MTHFR C677T mutasyon taşıyıcıları ile mutasyon taşımayanlar arasında habitüel abortus riski açısından anlamlı fark bulunamamışlardır (17). Çalışmamızda tekrarlayan gebelik kaybı olan 25 hastada (% 37,9) MTHFR C677T heterozigot iken, 9 hastada (% 13,6) homozigot olarak tespit edilmiş olup hasta grubunda toplam MTHFR C677T aleli taşıyıcılığı oranı % 51,5 (34/66) olarak bulunmuştur. Kontrol grubunda ise 31 hasta heterozigot (% 41,9), 8 hasta ise homozigot (% 10,8) olarak saptanmış olup kontrol grubunda toplam MTHFR C677 T aleli taşıyıcılığı oranı % 52,7'dir (39/74) (**Tablo 3**). Her iki grup arasında MTHFR C677T taşıyıcılığı açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ( p=0,988).

**Tablo-3:** Hasta ve kontrol gruplarında MTHFR C677T mutasyonu için karşılaştırma tablosu.

	Homozigot	Heterozigot	Toplam
Hasta	32	34	66
Kontrol	35	39	74
Toplam	67	73	140

Ogasawara M.S. ve arkadaşları iki veya daha fazla ilk trimester düşüğü olan 536 hastayı çalışmaya almış ancak; bu hastaların 112'si daha önce düşük doz aspirin tedavisi aldığı için çalışmadan çıkarılmıştır. Geri kalan 424 hastanın Protein S, Protein C ve Antitrombin III düzeylerine bakılarak hastalar her bir parametre için normal ve anormal (düşük) olarak iki gruba ayrılmıştır. Her iki grupta da bir sonraki gebeliğin düşükle sonuçlanma riskinin Protein S, Protein C ve Antitrombin III değerleri ile ilişkili olmadığı tespit edilmiştir (18). Biz bu çalışmada 2 veya daha fazla 1. ve 2. trimester gebelik kaybı olan hasta grubu ile en az bir sağlıklı doğum yapmış ve gebelik kaybı olmayan kontrol grubu arasında Antitrombin-III, Protein-S ve Protein-C değerlerini karşılaştırdık. İki grup arasında Antitrombin III ve Protein-C bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu. P değerleri sırasıyla 0,002 ve 0,001. İki grup arasında Protein-S değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülemedi ( $p=0,156$ ). Bu sonuçlar Ogasawara ve arkadaşlarının yaptığı çalışma ile uyumlu bulunmuştur. Kalıtsal trombofililer başlığı içinde yer verilen; Tip 1 PAI-1 (Plazminojen Aktivatör İnhibitör - 1) genindeki (homozigot) mutasyon da önemli bir yer tutar. Kalıtsal trombofililer içinde en sık görülen ve en az trombojenik olan bu durum, venöz tromboembolizm riskinde "orta derecede" artış nedeni olabilmekte iken; bunun yanısıra bu durumun gebelikteki olası yansımaları arasında: 2.-3. trim. fetal kayıplar, şiddetli IUGR, Dekolman Pl, Ağır ve erken başlangıçlı Preeklampsi, Preterm doğum, tekrarlayan 1. trimester fetal kayıplara yer verilmektedir. Edinsel Trombofililer (APS) de habitüel abortus sebepleri arasındadır. Bunun da gebelikteki olası yansımaları arasında: Fetal kayıplar, Preeklampsi, IUGR, Plasental yetersizlik, Preterm doğum, Rekürren gebelik kayıpları'na yer verilmektedir. Ancak biz bu çalışmada daha çok konjenital sebepleri göz önünde bulundurduk.

Sonuç olarak, Antitrombin III ve Protein C hasta grubunda daha düşük düzeylerde bulunmuş ve bu fark istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir. Protein S, Faktör V Leiden, Protrombin G20210A ve MTHFR C677T mutasyonları açısından hasta ve kontrol grubu arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır.

## KAYNAKLAR

1. Clark DA, Chauat G. What do we know about spontaneous abortion mechanisms? *Am J Reprod Immunol*, 1989;( 19): 28–37.
2. Wilcox AH, Weinberg CR, O'Connor JF. Incidence of early loss of pregnancy. *N.Engl. j Med*, 1998; (319):189–194.
3. Bick RL. Recurrent miscarriage syndrome and infertility caused by blood coagulation protein or platelet defects. *Hematol Oncol Clin North Am*, 2000; 14(5):1117–31.
4. Preston FE, Rosendaal FR, Walker I.D, Briet E, Berntorp E., Conard J. et. all. Increased fetal loss in women with heritable thrombophilia. *TheLancet*, 1996; 348(5):913–916.
5. Brigden ML. The hypercoagulable state who how and when to test and treatment. *Postgraduate Medicine*, 1997; (101):5249–5268.
6. Blumenfeld Z, Brenner B. Thrombophilia-associated pregnancy wastage. *Fertil Steril*, 1999; 72(5):765–74.
7. Donna S, Dizon-Townson, Sanja K, D Ware B, Kenneth W. The factor V Leiden mutation is not a common cause of recurrent miscarriage. *J reprod Immunol*, 1997; (34): 217–223.
8. Ridker PM, Miletich JP, Buring JE, Ariyo AA, Price DT, Manson JE, et all. Factor V Leiden mutation as a risk factor for recurrent pregnancy loss. *Ann Intern Med*, 1998; 128 (12 Pt 1):1000–3.
9. Aznar J, Villa P, Espana F, Estelles A, Grancha S, Falco C. Activated protein C resistance phenotype in patients with antiphospholipid antibodies. *J Lab Clin Med*, 1997; 130 (2):202–8.
10. Rai R, Regan L. Thrombophilia and adverse pregnancy outcome. *Semin Reprod Med*, 2000; 18(4): 369–77.

11. Bick RL, Madden J, Heller KB, Toofanian A. Recurrent miscarriage: causes, evaluation, and treatment. *Medscape Womens Health*, 1998; 3(3):2.
12. Dekker GA, de Vries JIP, Doelitzsch PM, Huijgens PC, Von Blomberg BME et. al. Underlying disorders associated with severe early onset preeclampsia. *Am J O Gynecol*, 1995; (173):1042–1048.
13. Vincenzo S, Vincenzo A, Francesco M. The impact of the Factor V Leiden mutation on pregnancy. *Hum Reprod Update*. 2000; 6(3):301–306.
14. Foka ZJ, Lambropoulos AF, H.Saravelos , G.B. Kara , A.Karavida , T.Agorastos et. al. Factor V Leiden and prothrombin G20210A mutations, but not methylenetetrahydrofolate reductase C677T, are associated with recurrent miscarriages. *Hum Reprod*, 2000; 15(2):458–62.
15. Yusoff N.M, Abdullah W.Z, Gazali S, Othman M.S, Baba A.A, Abdullah N et.all The absence of faktör V Leiden mutation in Malays with recurrent spontaneous abortions. *Aus NZJ Obstet Gynaecol*, 2002;(42):2:164–6.
16. Pihusch R, Buchholz T, Lohse P, Rubsamen H, Rogenhofer N, Hasbargen U et.all. Thrombophilic gene mutations and recurrent spontaneous abortion: prothrombin mutation increases the risk in the first trimester. *Am J Reprod Immunol*, 2001; 46(2):124–31.
17. Dilley A, Bentino C, Hooper WC, Austin H, Miller C, El-Jamil M et.all. Mutations in the faktor V, Prothrombin and MTHFR genes are not risk factors for recurrent fetal loss. *J Maternal Fetal Neonatal Med*. 2002 Mar; 11(3):176–82
18. Ogasawara MS, Aoki K, Katano K, Ozaki Y, Suzumori K. Factor XII but not protein C, protein S, Antitrombin III, or Factor XIII is a predictor of recurrent miscarriage. *Fertility and Sterility*, 2001 May; 75(5): 916–9.
19. Agnieszka SM, Krzysztof D, Piotr P, Agnieszka KS. Inherited thrombophilia in women with recurrent miscarriages and pregnancy loss in anamnesis. *Ginekol Pol*. 2008 Sep;79(9):630-4. Review. *Polis*
20. Norrie G, Farquharson RG, Greaves M. Screening and treatment for heritable thrombophilia in pregnancy failure: Inconsistencies among UK early pregnancy units. *Br J Haematol*. 2009 Jan;144(2):241-4. Epub 2008 Nov 19