

DERİN VEN TROMBOZUNDA ANTİFOSFOLİPİD ANTİKORLARININ POZİTİFLİĞİ

ANTIPHOSPHOLIPID ANTIBODIES POSITIVITY IN THE DEEP VEIN THROMBOSIS

Hasan KAYA, M. Celal APAYDIN, A. Rıza ODABAŞ, Vural AKAY

Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Erzurum

Özet

Antifosfolipid sendromu derin ven trombozu nedenleri arasında önemli bir yer tutmaktadır. Bu çalışmada major risk faktörü bulunmayan derin ven trombozu (DVT) tanısı almış hastalarda antikardiyolipin antikor (AKA) IgG ve IgM izotipleri ile lupus antikoagulanı (LA) pozitiflik oranı araştırıldı. Çalışmaya major risk faktörü bulunmayan DVT tanısı almış 30 kişiden oluşan hasta grubu ile sağlıklı 20 kişiden oluşan kontrol grubu alındı. Hasta grubunun yaş ortalaması $35,7\pm 4,6$ yıl ve kontrol grubunu oluşturan 20 sağlıklı kişinin yaş ortalaması $34,5\pm 6,9$ yıl idi. Bu iki grup arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark yoktu ($p>0,05$). AKA IgG ve AKA IgM izotipleri ELISA yöntemi, LA aktive parsiyel tromboplastin zamanı ve seyreltilmiş "Russell viper venom" zamanı (sRVVZ) testleri ile değerlendirildi. AKA IgG izotipi 11 (%37) hastada pozitif, AKA IgM izotipi ve LA tüm hastalarda negatif bulundu. Kontrol grubunda bu antikorların tamamı negatif idi. Major risk faktörü bulunmayan DVT'lu hastalarda antifosfolipid antikorlarının araştırılmasının uygun olacağı sonucuna varıldı.

Anahtar kelimeler: *Derin ven trombozu, Antifosfolipid antikorlar*

Summary

Antiphospholipid syndrome occupies an important place among the reasons of deep vein thrombosis. In the present study we aimed at investigating anticardiolipin antibodies (ACA) IgG, and IgM and lupus anticoagulants (LA) in patients with deep vein thrombosis with no predisposing illnesses. The study included two groups, the patient group of 30 who have had deep vein thrombosis and 20 healthy subjects as control group. The mean age in the patient group was $35,7\pm 4,6$ years and this was $34,5\pm 6,9$ years in control group. ACA IgG and ACA IgM isotypes were detected by ELISA method and LA by the tests of activated partial thromboplastin time and diluted Russell's venom time. ACA IgG isotype was positive in 11 (37%) patients. ACA IgM isotype and LA were found negative in the patient group. All of these antibodies were negative in control group. It was concluded that these antibodies need to be studied in the patients who have had deep vein thrombosis with no predisposing illnesses.

Key words: *Deep vein thrombosis, Antiphospholipid antibodies*

Giriş

İlk kez 1983 yılında Hughes tarafından tanımlanmış olan antifosfolipid sendromu (AFS), orta-yüksek düzeylerde antifosfolipid antikor (AFA) yapımı ve spesifik klinik özellikler olan otoimmün bir hastalıktır. En sık görülen klinik belirtiler, trombotik olaylar, trombositopeni ve abortusdur (1-3). AFS olgularının yaklaşık yarısında, eşlik eden bir sistemik hastalık yoktur ve bunlar primer AFS olarak adlandırılır. Diğer yarısında ise başta sistemik lupus eritematosus (SLE) olmak üzere, diğer kollajen doku hastalıkları ile birliktelik vardır ve bunlar sekonder AFS olarak tanımlanır (4,5). Kısmen yeni bir sendrom olarak nitelendirilebilen AFS, bugün için hiperkoagülopatinin başta gelen nedenlerinden birini oluşturmaktadır (3,6). AFA'lar çeşitli fosfolipid ve protein komplekslerini tanıyan heterojen bir otoantikor grubudur. AFA'ları, lupus antikoagülanı (LA) ve antikardiolipin antikorlar (AKA) olarak bilinmektedir (3,7). Son yıllarda AFA'lar çok sayıda araştırmaya konu olmuş ve venöz veya arteriyel trombozun en önemli sebeplerinden biri olarak gösterilmektedir. AFA titreleri yüksek trombozlu hastaların tedavisi ile rekürren venöz trombozların büyük ölçüde azaldığı gösterilmiştir (3,8). Bu çalışmada derin ven tromboz (DVT) tanısı almış hastalarda AFA pozitiflik oranının tespiti amaçlandı.

Hastalar ve Yöntem

Çalışmaya tromboz oluşumunda bilinen risk faktörü olmayan, klinik bulgular ile alt ekstremitelerinde trombozu düşündüren ve Doppler ultrasonografi ile DVT'ü teyit edilen 30 (21 kadın, 9 erkek) kişiden oluşan hasta ve 20 (13 kadın, 7 erkek) sağlıklı kişiden oluşan kontrol grubu alındı. Ortalama yaş hasta grubunda 35,7±4,6 yıl ve kontrol grubunda 34,5±6,9 yılı idi. AKA'lar için kan biyokimya tüplerine alındı ve 15 dakika santrifuj (3000g) edilerek serumu ayrıldı. Hemolizli ve lipemik görünümlü serumlar çalışmadan çıkarıldı. Elde edilen serum antikoagülan içermeyen cam tüplere toplandı ve çalışma yapılana kadar -30 °C'de saklandı. Lupus antikoagülanı için kan, antikoagülan/kan oranı 1/9 olacak şekilde sitrat içeren plastik tüplere alındı. Alınan kan 15 dakika santrifuj (3000g) edilerek trombositlerden fakir plazma elde edildi. Trombositlerden fakir plazma, ayrıca 0,22 mm'lik filtreden geçirildi ve -30 °C'de saklandı ve en geç 15 gün içerisinde çalışıldı (3,9). AKA'ların IgG ve IgM izotipleri daha önce tarif edilen bir metoda göre enzimle-linked immunosorbent assay (ELISA) yöntemiyle tayin edildi (2,9). Standartlara göre kalibrasyonu yapılan sonuçlar uluslararası ünite (AKA IgG için GPL, AKA IgM için MPL) olarak gösterildi. Kitlerde (Biotech, USA) önerilen

(IgG izotipi için 13 GPL unit'den yüksek, IgM izotipi için 13 MPL unit'den yüksek) değerler pozitif kabul edildi. Daha düşük titredeki değerler klinik olarak anlamsız kabul edildi. Lupus antikoagülan varlığı daha önceden bildirilen kriterlere göre yapıldı. Bu kriterlerde en az 2 test kullanılması gerektiği bildirilmektedir. LA'ını saptamak için aktive parsiyel tromboplastin time (aPTT) (Stago, France) ve seyreltilmiş "Russell's viper venom" zamanı (sRVVZ) (Stago, France) testleri yapıldı. Herhangi bir hatayı önlemek için her iki test de iki defa çalışıldı. Lupus antikoagülan varlığı testlerle ilgili aşağıdaki bildirilen uygulamalarının müspet olması durumunda kabul edildi. Buna göre öncelikle her iki testten en az birinin normalden uzun olması, hasta plazmasına 1/2 oranında normal bir plazma eklenmesi ile normalden uzun olan testin düzelmemesi ve hasta plazmasına trombosit lizati eklenmesi halinde normalden uzun olan testin normale dönmesi gerekir (9-11). Çalışmada karşılaştırma için Student t-testi, oranların hesaplanmasında yüzde hesabı kullanıldı.

Sonuçlar

Hasta ve kontrol grupları yaş açısından istatistiksel olarak fark yoktu ($p>0,05$). Hastaların hepsinde trombosit sayısı normal idi. 30 DVT'lu hastanın 11 tanesinde (%37) AKA IgG izotipi pozitif olarak bulundu. AKA IgM izotipi ve LA ise hasta grubunun hepsinde negatif bulundu. Kontrol grubunun hepsinde AKA IgG izotipi, AKA IgM izotipi ve LA negatif idi.

Tartışma

AFS'nun tanımlandığı ilk yıllardan itibaren AFA'lar ile venöz trombozlar arasında bir ilişki olduğu gösterilmiştir (1,2,12,13). AFA'lar primer ve sekonder AFS dışında diğer vaskülitlerde, enfeksiyonlarda, malignitelerde ve ilaçlara bağlı olarak da pozitif olabilmektedir (3,6,9). Ancak, bu antikorların primer AFS ve SLE dışında pozitifliğinin klinik önemi tartışmalıdır (2). AFS'da venöz trombozun en yaygın şekli alt ekstremitelerdeki derin ven trombozudur. Retinal, renal, hepatik venlerde de tromboz olabilir (3). AFA'ların birden fazla mekanizma ile tromboza neden olduğu varsayılmaktadır. AFA'ların endotel üzerinde protein C aktivasyonunu veya aktive olmuş protein C'nin FV'i parçalamasını inhibe ettiği kabul edilmektedir. AFA pozitif olan trombozlu hastalarda endotel hücrelerinden VonWillebrand faktör veya doku faktörü salımında artış gibi fonksiyon bozukluğunu yansıtan bulgular tespit edilmiştir (3,14,15). Bundan başka, AFA'ların trombositlere direkt etkisi ile tromboksan sentezi, trombosit agregasyonunda artış yaptığı ve bunun trombozun muhtemel

mekanizmalarından biri olduğu bildirilmiştir (15). Carreras ve arkadaşları ise LA'nın sıgır endotel hücrelerinde prostasiklin üretimini inhibe ettiğini gösterilmişlerdir (16). Son zamanlarda, ELISA testinde antikardiyolipinin, kardiyolipine bağlanmasında kofaktör olarak bulunan β_2 Glikoprotein1(β_2 G1)'in bazı AFS olgularında seviyesinin artmış olduğu gösterilmiş, ancak β_2 G1'in klinik önemi hakkında kesin bir yargıya varılamamıştır. Önümüzdeki yıllarda anti- β_2 G1 antikorlarının AFS'un tanısında yaygın olarak kullanılacağı düşünülmekle birlikte, bugün için testin genel standardizasyonu henüz yapılmış değildir (17,18). Sağlıklı kontrollerde ve sağlıklı gebelerde AKA sıklığı %2'nin altındadır. LA sıklığı normal popülasyonda % 0.5-8 olarak bulunmuştur (6). Rastgele alınan venöz trombozlu 100 kişilik bir seride AKA pozitifliği % 24 ve LA pozitifliği % 4 olarak; rastgele alınan venöz trombozlu 266 kişilik başka bir seride AKA (IgG veya IgM izotipi) pozitifliği %7,1, LA pozitifliği % 0,4; rastgele alınan derin ven trombozlu 176 kişilik başka bir seride LA pozitifliği % 8,5 ve majör risk faktörü bulunmayan derin ven trombozlu 41 kişilik bir seride AKA IgG izotip pozitifliği % 27, AKA IgM izotip pozitifliği % 3 olarak rapor edilmiştir (3,19-21). Bu çalışmada hiçbir hastada AKA IgM izotip pozitifliği bulunmazken, AKA IgG izotip pozitifliği % 37 oranında pozitif bulundu. Çalışmalarda bulunan oranların farklılığı, çalışma yöntemlerinin değişik ve hastaların heterojen olmasından kaynaklanabilir. AKA ve LA'nın farklı antikor gruplarını temsil ettiği, ortak pozitiflik oranının %40-60 oranında olduğu bilinmektedir. AKA tespit edilen hastaların bir kısmında LA'ı beraber bulunabilirse de, birçok vakada LA birlikteliğinin olmayacağı ve aynı zamanda LA'ı pozitifliği tespit edilen hastaların tamamında da AKA birlikteliğinin olmayacağı belirtilmiştir (10). Bu nedenle AFS'dan şüphelenilen vakalarda mutlaka her iki antikor grubuna yönelik testlerin yapılması gerekmektedir. Tanıda AKA IgG izotipinin hem AKA IgM izotipine hem de LA'na göre daha duyarlı olduğu kabul edilmektedir (16). Bu görüşe uygun olarak, bu çalışma neticesinde de AKA IgG izotipinin en duyarlı test olduğu görüldü. Lupus antikoagülan için altın standart bir test yoktur. Çünkü LA hetorejendir. LA'nın tespitinde en fazla kullanılan testler aPTT, sRVVZ ve kaolin pıhtılaşma zamanıdır. Bu testlerin hepsi koagülasyon hızını indirekt ölçtüklüklerinden, LA'dan başka inhibitörler ve faktörlerinin konsantrasyonundan etkilenirler. Bu nedenle LA'nın tespitinde en az iki koagülasyon testinin birlikte kullanılması gerektiği bildirilmektedir. Çeşitli yayınlarda sRVVZ testinin LA'ı saptama duyarlılığının yüksek olduğu söylenmiştir. Ancak bu testin özgüllüğünün aPTT'ye göre daha az olduğunu ortaya koyan çalışmalar da mevcuttur (9,22). Bugün için genel olarak kabul edilen görüşe göre tromboz

tespit edilen AKA pozitif hastalarda aspirin ile yapılan profilaksinin yetersiz olduğudur. Profilaksi warfarin ile yapılmalı ve belki de ömür boyu sürdürülmelidir. Derksen ve ark. 8 yıl oral antikoagülan alan 19 AFS'lu hastanın hiçbirinde nüks saptamamışlar, antikoagülan kesilen hastalarda 2 yıl içinde % 50, 8 yıl içinde % 78 nüks olduğunu bildirmişlerdir (23). Ancak, bugün için kanama riski nedeniyle yoğun warfarin tedavisinden kaçınılmaktadır (5). Sonuç olarak, bu çalışmada major risk faktörü bulunmayan DVT'lu hastalarda AFA'ların tespitinde AKA IgG izotipi daha duyarlı bulundu ve bu hastalarda AFA'ların araştırılmasının uygun olacağı kanaatine varıldı.

Kaynaklar

1. Hughes GR. Thrombosis, abortion, cerebral disease and the lupus and the lupus anticoagulant. *BMJ* 1983; 287:1088-1089
2. Harris EN. Screening for anticardiolipin antibody and lupus anticoagulant. *Rheumatol Rev* 1993; 2: 181-189
3. Petri M. Pathogenesis and treatment of the antiphospholipid antibody syndrome advances in Rheumatology. *Med Clin North Am* 1997; 81:151-173
4. Hunt JE, McNeil HP, Morgan GJ, Cramer RM, Krilis SA. A phospholipid-B2 Glycoprotein 1 complex for anticardiolipin antibodies occurring in autoimmune disease but not with infection. *Lupus* 1992; 1: 75-81
5. Dalkılıç E, Karakoç Y, Yavuz M, Yurtkuran M. Antifosfolipid sendromu. *Sendrom* 2000; 3: 88-93
6. Bowles C. Vasculopathy associated with the antiphospholipid antibody syndrome. *Rheum Dis Clin North Am* 1990; 16: 471-490
7. Roubey RAS. Autoantibodies to phospholipid-binding plasma proteins: a new view of lupus anticoagulants and other "antiphospholipid" antibodies. *Blood* 1994; 84: 2854-2867
8. Harris EN, Gharavi AE, Patel SP, Hughes GR. Evaluation of the anticardiolipin antibody test: report of an international workshop held 4 April 1986. *Clin Exp Immunol* 1987; 68: 215-222
9. Exner T, Triplett DA, Taberner D, Machin SJ. Guidelines for testing and revised criteria for lupus anticoagulants. SSC Subcommittee for Standardization of Lupus Anticoagulants. *Thromb Haemost* 1991; 65: 320-322
10. Atamer T. Antifosfolipid sendromunun tanısında laboratuvar. XXVI. Ulusal Hematoloji Kongresi, 31 Ekim-3 Kasım 1998, Hematoloji 1998, Ankara: Mart Matbaacılık Hizmetleri A.Ş. 1998: 243-245
11. Thiagarajan P, Pengo V, Shapiro SS. The use of dilute Russell viper venom time for the diagnosis of lupus anticoagulants. *Blood* 1986; 4: 869-874
12. Khamashta MA, Cuadrado MJ, Mujic F, Taub NA, Hunt B, Hughes GR. The management of thrombosis in the antiphospholipid antibody syndrome. *N Engl J Med* 1995; 332: 993-997
13. Selva-O'Callaghan A, Ordi-Ros J, Monegal-Ferran F, Martinez N, Cortes-Hernandez F, Vilardell-Tarres M. IgA anticardiolipin antibodies-relation with other antiphospholipid antibodies and clinical significance. *Thromb Haemost* 1998; 79: 282-285
14. Brenner B, Vulfsons SL, Lanir N, Nahir M. Coexistence of familial antiphospholipid syndrome and factor V Leiden. Impact on thrombotic diathesis. *Br J Hematol* 1996; 94: 166-167
15. Graves M. Antiphospholipid antibodies and thrombosis. *Lancet* 1999; 353: 1348-1353
16. Carreras LO, Maclouf J. Antiphospholipid antibodies and eicosanoids. *Lupus* 1994; 3: 271-274
17. İnanç M, Radway-Bright EL, Isenberg DA. Beta2 Glycoprotein 1 and anti-beta2 glycoprotein 1 antibodies: where are we now? *Br J Rheumatol* 1997; 36: 1247-1257
18. Tincani A, Spatola L, Prati E, Allegri F, Ferremi P, Cottaneo R, et al. The anti-beta2-Glycoprotein 1 activity in human anti-phospholipid syndrome series due to monoreactive low-affinity autoantibodies directed to epitopes located on native beta2-glycoprotein 1 and preserved during species evolution. *J Immunol* 1996; 157: 5732-5738

19. Kapiotis S, Spesier W, Pabinger-Fasching I, Kyrle PA, Lechner K. Anticardiolipin antibodies in patients with venous thrombosis. *Haemosthesis* 1991; 21: 19-24
20. Simioni P, Prandoni P, Zanon E, Saracino MA, Scudeller A, Villalta S, et al. Deep venous thrombosis and lupus anticoagulant. a case control-study. *Tromb Haemost* 1996; 76: 187-189
21. Stegnar M, Bozic B, Peternel P, Kveder T, Vene N, Rozman B. Prevalence of antiphospholipid antibodies in deep vein thrombosis and their relationship to blood coagulation and fibrinolysis. *Thromb Res* 1991; 63: 433-443
22. Galli M, Finazzi G, Barbui T, Nieawenhuis HK. Thrombocytopenia in the antiphospholipid syndrome. *Br J Hematol* 1996; 93: 1-5
23. Derksen RH, de Groot PG, Kater L, Nieawenhuis HK. Patient with antiphospholipid antibodies and venous thrombosis should receive long term anticoagulant treatment. *Ann Rheum Dis* 1993; 52: 689-692

Yazışma Adresi:
Dr. Hasan KAYA

Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi
İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Erzurum