

**ISIYA DİRENÇLİ ALKALEN FOSFATAZ (IDAF)) :**  
**I. NORMAL GEBELİKTEKİ DÜZEYİ**

**Atilla KÖKSAL \*      Tuncay ÖZGÜNEN \*\***

**(Dergiye geliş tarihi : 13 Temmuz 1976)**

**ÖZET**

26 normal sağlıklı, üreme çağındaki gebe olmayan kadınla, her ay izlenen 16 normal, sağlıklı gebe ve her üç aylık dönem içinde bir kere kontrole gelen 26 normal sağlıklı gebeden serum ısıya dirençli alkalen fosfataz aktiviteleri tayin edilmiştir. Buna ek olarak her ay izlenen 16 gebede doğum sırasında anne ve bebekten, doğumu izleyen 8., 24., 48., saatlerde ve 4. günde serum örnekleri alınmıştır.

Buzlukta saklanan örnekler çalışma sırasında 1 : 1 oranında fosfat tamponla (pH 7.43) dilüe edilmiş ve 56°C'lık su banyosunda yarım saat tutulup derhal soğutulmuştur.

Enzim aktiviteleri Technicon AutoAnalyzer - I'de AMP tampon ve p - nitro fenil fosfat substratı kullanılarak saptanmıştır.

Bu yöntemle sağlanan kontrol grubuna ait serum IDAF düzeyi  $1.77 \pm 0.3$  uU/ml. dir

Normal sağlıklı gebelerde serum IDAF düzeyi genellikle 4. aydan başlayan ve terme kadar devam eden bir artış göstermekte, doğum sırasında anne IDAF düzeyi bazı olgularda artış, bazılarında azalış arz ederken bebeğe ait IDAF düzeyi daima anneye oranla düşük, normale oranla yüksek bulunmakta, doğumu izleyen 8. saatte doğum öncesine oranla daima yüksek olan anne IDAF düzeyi loğusalık süresince Herleyici bir azalma göstermektedir.

Gebelik süresince IDAF düzey artışında tüm gebeleri kapsayacak genel bir patern saptanamamış olup tek tek ele alınan gebelere ait kendi artış grafikleri de belirli bir yol izlememektedirler.

(\*) Gülhane Askeri Tıp Akademisi Kadın Hastalıkları - Doğum Kliniği Baş Asistanı

(\*\*) Gülhane Askeri Tıp Akademisi Biyokimya Enstitüsü Uzmanı

## SUMMARY

**HEAT STABLE ALKALINE PHOSPHATASE LEVELS: I. DURING THE NORMAL PREGNANCIES.** The purpose of this study was to evaluate the possible correlation between the serum heat stable alkaline phosphatase activity (HSAP) and the date of pregnancy.

The sera diluted 1 : 1 with the phosphate buffer (pH 7.43) and HSAP levels were determined by the Technicon AutoAnalyzer - II method (AMP buffer, p - nitrophenylphosphate substrate) following the heat denaturation (30 minutes; 56°C).

Determinations were performed on 26 nonpregnant women, and 42 normal healthy pregnant women. Serum samples were collected from 26 normal healthy pregnant women for each trimester and from 16 pregnancies for each month, during the labor (from the mother and newborn), and 8 hours, 24 hours, 48 hours and 4 days after the delivery.

The mean values for the series of nonpregnant controls in the childbearing age was  $1.77 \pm 0.3$  mU/ml.

In pregnancies, after the fifteenth week, HSAP levels tend to rise and usually reach their peak at term. Our results in normal pregnancies tend to indicate that there is no significant pattern for this increase. On the other hand, we did not find any correlation between the graphs of each pregnancy.

While the HSAP activities from the sera collected 8 hours after delivery were always higher than those of pregnancies, the values during the labor presented great changes. But as a general rule, the HSAP levels tend to decrease during the puerperium progressively.

HSAP activities in the newborns were found significantly lower than that of its mothers but significantly higher than that of controls.

It appears reasonable to conclude that there is no pattern which includes all pregnancies and it was suggested that the best way to use the HSAP levels as an index of placental function is to perform the test individually for each pregnancy beginning from the 15th week until the term and to determine the shifts from its own tendency.

## GİRİŞ

Gebelik döneminde anne serum alkalen fosfataz aktivitesinin artış gösterdiği ilk kez 1934 yılında Coryn (4) tarafından belirlenmiştir. Bu bulgu daha sonra çeşitli yazarlar tarafından da onaylanmış olup bu süre içinde yapılan araştırmalar iki ana yönde ilerlemiştir. Bu yönlerden birincisi artan bu alkalen fosfatazın kaynağı-

nın saptanması, ikinci yön ise bu artışın gebeliğin seyrine ilişkin bir gösterge olarak kullanılıp kullanılamayacağıdır.

Gebelikte artan alkalin fosfatazın kaynağının belirlenmesi için sarf edilen gayretler bugün aşağı yukarı sonuçlanmış olup ana neden plasentadan gelen bir izoenzimidir.

Bu izoenzimin saptanmasında günümüzde birçok yöntem kullanılmakta ise de bu yöntemlerin içinde en pratik ve en fazla uygulananı plasenter alkalin fosfataz izoenziminin ısıtmaya olan direncinin ayırımı için kullanılmasıdır (5, 7).

Isı denatürasyonu yöntemi ile saptanan ısıya dirençli izoenzimin klinik anlamı hakkında birçok çalışma yapılmıştır. Bu grup içinde olmak üzere Levine ve Wood (10) 1965 yılında plasenta işlevinin bir göstergesi olarak ısıya dirençli izoenzimi incelemişler ve normal gebelikte riskli gebelikler arasında bir farklılık bulamamışlardır. Bu yazarlar ısıya dirençli alkalin fosfatazın (IDAF) gebeliğin ikinci üçayından sonra arttığını bildirmişlerdir. Lee ve Lewis ise hipertansif toksemi bulunan gebelerdeki IDAF düzeyinin normal gebelerle gebe olmayanlara oranla önemli derecede farklılık gösterdiğini bildirmişlerdir (9), Messer (12) ise tek tek yapılan analizlerin anlamlı olmadığını, ancak 34 haftadan sonra yapılacak tek bir analizde düzeyin çok düşük olması halinde fetal distress'den bahsedilebileceğini, seri analizlerin kişiden kişiye çok farklı olduğunu ancak belirli bir kişi için seyrin paterninin sabit olduğunu bildirmişlerdir. 34 riskli gebeyi inceleyen Bader ve ark. (1) çeşitli patolojik paternlerin varlığını ileri sürmektedir. Bu konuda çalışan diğer birçok araştırmacı (2, 8, 11, 13, 14, 16) aşağı yukarı birbirine benzer sonuçlar elde etmiş olup Fishman ve ark., 162 normal gebede IDAF seyrini inceledikten sonra bu düzeyin gebeliğin yaşının üslü bir işlevi olduğunu ileri sürmüştür (6).

#### **GEREÇ VE YÖNTEM**

Bu çalışmaya GATA Antenatal Bölümünde kayıtlı ve devamlı olarak izlenen tamamen sağlıklı 16 normal gebe ile her trimestir içinde gelişi güzel bir anda kontrole alınmış tamamen sağlıklı ve normal 26 gebe ve üreme çağında, sağlıklı 26 gebe olmayan denek alınmıştır.

Gebeliğin seyri gerek fizik muayene ve gerek daha sonraki laboratuvar muayeneleri ile değerlendirilmiş ve normal sağlıklı doğumla kesin kanıt sağlanmıştır.

Çalışılan gebelerden kan örnekleri birinci aydan başlanarak gebelik süresince her ay, doğumda anne ve bebekten, puerperiumda ise 8., 24., 48. saatlerde ve 4. günde alınmıştır. 26 gebeden ise kan trimestir içinde kontrole geldikleri herhangi bir anda alınmıştır. Bu olgulara ait doğum ve loğusalık örnekleri alınmamıştır.

Deneklerden kan kuru enjektörle kuru tüpe 7 ml hacminde alınmış, pıhtılaşmayı takiben 3000 rpm'de 15 dakika santrifüje edilip serumlar ayrılmıştır. Serumlar analiz yapılincaya kadar buzlukta dondurularak saklanmıştır.

Çalışmanın yapılacağı zaman serumlar oda ısısında tutularak eritilmişler inaktivasyon sırasında serumun tampon özelliği ortadan kalkacağından 1 : 1 oranında fosfat tamponla (pH 7.43) sulandırılmışlardır. Sulandırılan serumlar tüpün ağzı pamukla kapatıldıktan sonra 56°C ( $\pm 0.5^\circ\text{C}$ ) su banyosunda yarım saat tutulup bu süre sonunda derhal buz banyosunda soğutulmuşlardır.

Örneklere ait alkalen fosfataz aktiviteleri Technican Auto Analyzer II'de (15) substrat olarak p-nitrofenil fosfat, % 200 mg, tampon olarak AMP, pH 10.250.625 M kullanılarak saptanmıştır.

## SONUÇLAR

GATA Antenatal Bölümünden sağlanan ve aylık olarak izlenen 16 sağlıklı normal gebeye ait aylarına göre IDAF düzeyleri Tablo I'de verilmiştir.

Bu sonuçlar gebelik süresince IDAF düzeyinde devamlı bir artış olduğunu ancak bu artışın gebeden gebeye farklı bir programı izlediğini göstermektedir.

Aynı sonuçları trimestrilere ait düzeyleri saptamak için bir araya getirirsek elde edilen değerler I. üçay için  $1.87 \pm 0.35$  mU/ml, II. üç ay için lunur. 1. üçaya ait düzey normalden farklı değilken, 2. üçayda normalin yaklaşık 10 misline, 3. üçayda ise normalin 50 misline ulaşmaktadır.

Tablo 2'de ise trimestrilere göre izlenmiş gebelerden sağlanan IDAF düzeyleri verilmektedir.

Tablo 1 — Aylara Göre İzlenen Gebelerde mU/ml Olarak Serum IDAF Düzeyleri

N	Doğum Sonu															
	1. Ay	2. Ay	3. Ay	4. Ay	5. Ay	6. Ay	7. Ay	8. Ay	9. Ay	10. Ay	11. Ay	12. Ay	13. Ay	14. Ay	15. Ay	16. Ay
1	1	2	2	11	18	34	31	53	61	93	20	12	43	26	61	
2	2	4	3	9	14	102	100	107	110	91	75	120	45	45	43	
3	3	4	4	15	18	41	51	80	95	38	0	90	30	28	25	
4	5	6	13	37	52	50	55	63	81	95	21	100	61	52	32	
5	1	4	5	9	10	15	39	29	60	41	8	55	66	33	32	
6	3	3	4	15	23	27	29	32	39	59	12	69	51	41	13	
7	0	0	2	8	12	27	45	61	100	114	16	110	81	75	67	
8	0	0	1	7	15	34	71	90	85	97	33	102	85	63	61	
9	2	1	2	2	5	17	41	68	95	95	18	98	42	37	25	
10	0	0	0	4	9	37	67	91	150	141	63	181	72	41	33	
11	0	0	0	0	3	18	36	63	95	40	8	85	38	25	25	
12	0	0	0	0	0	11	24	30	42	53	0	66	44	33	12	
13	2	0	0	1	3	15	52	75	105	80	3	110	80	41	6	
14	0	0	0	0	0	2	8	23	62	28	0	40	18	14	0	
15	2	2	5	14	18	20	25	61	95	60	71	42	42	38	18	
16	0	0	0	12	21	22	91	125	166	95	18	129	129	115	77	
MV	1.3	1.6	2.7	9	14	29.5	48	66	90	76	23	88	58	44	33	
SE	0.38	0.5	0.89	2.39	3.25	5.9	6.3	7.5	8.9	8.2	6.5	10.5	7	6.44	5.9	

**Tablo 2 — Trimestrilere Göre İzlenen Gebeliklerdeki IDAF Düzeyleri (mU/ml)**

N	I. Üçay	II. Üçay	III. Üçay
1	2	21	43
2	0	12	25
3	0	18	31
4	1	21	74
5	2	40	107
6	2	19	32
7	2	63	110
8	4	22	91
9	2	25	97
10	3	19	28
11	2	18	34
12	0	11	25
13	2	21	73
14	3	31	90
15	1	21	81
16	1	24	78
17	2	20	78
18	0	8	24
19	0	3	35
20	4	59	121
21	5	41	91
22	3	25	67
23	2	21	71
24	0	23	65
25	2	18	43
26	2	8	28
MV	1.81	23.5	63
SE	0.27	2.78	6.11

Trimestriklere göre izlenen gebelere ait düzeylerle aylara göre izlenen gebelere ait düzeyler arasında II. üçay bir yana bırakılırsa herhangi bir farklılık yoktur. Bu farklılık ise kanımızca trimestriklere göre izlenen gebelerin daha çok trimestir sonuna doğru baş vurmasına bağlıdır. Öte yandan trimestriklere göre izlenen gebelere ait IDAF düzeyleri de I. üçayda normalden farklı değilken gebeliğin ilerlemesine koşuk olarak artış göstermekte ancak gebelerin tek tek ele alınması halinde standard bir patern görülmemektedir.

Tablo 3'de ise normal, sağlıklı, gebe olmayan ve üreme çağında bulunan kadınlara ait IDAF düzeyleri verilmektedir.

**Tablo 3 — Normal Geme Olmayan Kadınlardaki IDAF Düzeyleri (mU/ml olarak)**

N	IDAF	N	IDAF	N	IDAF	N	IDAF
1	3	8	1	15	2	22	3
2	3	9	2	16	0	23	0
3	0	10	1	17	2	24	4
4	2	11	3	18	1	25	1
5	6	12	2	19	2	26	1
6	0	13	4	20	2	MV	1.77
7	1	14	0	21	0	SE	0.30

### TARTIŞMA

Elde ettiğimiz sonuçlar normal, sağlıklı gebelerde gebeliğin 4. ayından başlayarak IDAF düzeyinin muntazam bir biçimde artış gösterdiğini belirlemekte ve bu yönden diğer yazarlara ait sonuçlarla uyum göstermektedir. Ancak bu aktivitelerin rakamsal değerleri ele alındığında her yazarın ayrı ayrı değerler saptadığı gözlenmektedir. Bu farklılaşmada kuşkusuz en büyük pay farklı yöntemlerin uygulanmasıdır. Kaldı ki ısı denatürasyon yöntemi de bugün için standardlaştırılmış halde değildir. Farklı sıcaklık derecelerinde farklı süreli denatürasyonu konu alan ve henüz bitirilmemiş olan bir çalışmamıza ait ön sonuçlar denatürasyon süresinin kritik öneme sahip olduğunu ve bu süre sonunda örneklerin derhal soğutulması gerektiğini düşündürmektedir. Öte yandan kaynaklardaki çalışmaların hemen tümü, serumun direkt ısı inaktivasyonuna alınmasını kullanmaktadır. Oysa bu sıcaklık ve sürede serumun tampon sistemi kolayca tahrip olmakta ve pH gibi bir başka parametre de ısı faktörüne eşlik etmektedir. Kanımızca bu kritik etkenlerin öncelikle belirlenip bir standarda bağlanması, çeşitli merkezlerden sağlanacak sonuçların oranlanabilir hale gelmesini sağlayacaktır.

Çalışmamız gebelik sırasındaki IDAF aktivite artışının her gebenin kendine özgü olduğunu göstermiştir. Burada en çarpıcı örnek bir gebede ancak termde ulaşılan bir değer, bir başka gebede daha 4. ayda elde edilmesidir. Bu nedenle gebeliğe ait belirli bir

IDAF paterninden bahsetmenin olanak dışı olduğunu savlayan yazarlara (8, 12) tamamen katılmaktayız. IDAF aktivite saptanmasının plasenta işlevinin bir göstergesi olarak kullanılabilmesi, kanımızca ancak aynı gebeden seri takip yapıldığı zaman olanak kazanır. Bu görüşün ışığı altında, tehditli gebelerde IDAF düzeyinin değerine ilişkin çelişkili raporların bu zıt sonuçlarını açıklamak kanımızca mümkün olmaktadır.

Doğumda bebeğe ait IDAF düzeyi anne düzeyine oranla çok düşük, normale oranla çok yüksektir. Öte yandan IDAF'ın plasenta engelini aşamadığı bilindiğinden, bazı fetal alkalen fosfataz izoenzimeri de ısıya dirençlilik gösterdiğinden bebeğe ait IDAF düzeyinin kaynağı başka yerde aranmalıdır (3, 4). Henüz aydınlanmamış olan bu sonuç çalışmalara açıktır.

Doğum sırasında IDAF düzeyleri bazı olgularda düşerken bazılarında artmaktadır. Buna karşın doğumu izleyen 8. saatte IDAF düzeyi doğum öncesinin de üzerine çıkmaktadır. Üzerinde çalışılmamış olan bu konunun nedenini araştırmak ilginç olacaktır.

Doğum sonu döneminde IDAF düzeyi devamlı bir düşme göstermektedir. Düşme göstermeyen veya IDAF'ın dolaşımdan çekilme süresi olan 14 günden sonra hâlâ yüksek kalmaya devam eden olgularda, başta rest plasenter olmak üzere plasenta patolojilerinin düşünülmesi doğru olur.

## SONUÇ

Serum ısıya dirençli alkalen fosfataz aktivitesi (IDAF) ölçümünü gebeliklerde plasenta işlevini belirleyen bir gösterge olarak kullanmadan önce belirli normal paternlerin saptanması zorunludur. Böyle bir paternin varlığını araştıran çalışmamız kanımızca tüm gebeliklere uygulanacak belirli bir patern saptamanın olanak dışı olduğunu göstermiştir. Buna karşın tek tek incelenen her gebe 4. aydan başlayıp terme kadar devam eden bir artış göstermekte ancak bu artış belirli katsayılar içinde izlenen bir patern sunmamaktadır. Bu nedenle plasenter işlev göstergesi olarak IDAF kullanılmak isteniyorsa tek ölçmelerden sonuca varmak yerine gebenin devamlı izlenme aracılığı ile kendine özgü artış grafiğinin çizilmesi zorunludur.

Doğum sırasında annelere ait IDAF düzeyleri artmakta veya azalmakta, buna karşın bebeğe ait IDAF düzeyleri daima annedeki



düzeiden çok düşük, normaldeki düzeiden ise çok yüksek olarak bulunmaktadir.

Loğusalik döneminde IDAF seviyesi devamlı bir düşme göstermektedir. Bu düşmenin gözlenemediği veya 14 günden sonra IDAF düzeyinin normale dönmediği olguların plasenter patoloji yönünden incelenmesi uygun olur.

IDAF düzeyi saptanmasında ısı denatürasyonunun süresi ve ortam pH'sı kritik öneme sahiptir. Bu nedenle bu alanda bir standardizasyona gidilmesi zorunludur.

#### KAYNAKLAR

1. BADER P, BAERTSCHT U, KELLER PJ, SCHMID J : Schweiz Z Gynaek Geburtsh 2 : 459, 1971
2. BAERTSCHI U, BADER P, SCHMID J, KELLER PJ : Schweiz Z Gynaek Geburtsh 2 : 463, 1971
3. CAYLA J, FABRE F : C. R. Soc. Biol (Paris) 120 : 748, 1935
4. CORYN G : J Chir Ann Soc Belge Chir 31 - 33 : 213, 1934
5. FISHMAN WH : Amer J Clin Path. 57 : 52, 1972
6. Ibid., 57 : 65, 1972
7. FISHMAN WH : Enzymologia 34 : 317, 1968
8. JANISCH H : Zbl Gynaek 94 : 22, 1972
9. LEE ABH, LEWIS PLL : Amer J Obstet Gynec., 87 : 1071, 1963
10. LEVINE B, WOOD W : Amer J Obstet Gynec 91 : 967, 1965
11. McMASTER Y, TENNANT R, CLUBB J, NEALE S, FRANK C, POSEN S : J Obstet Gynec Brit Comm 71 : 735, 1964
12. MESSER RH : Amer J Obstet Gynec. 98 : 459, 1967
13. ÖNOL O : İhtisas Tezi, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, 1974
14. TATRA G, GAUCIG H, SEIDL A : Geburtsh Frauenheilk. 32 : 336, 1972
15. TECHNICON AA - II - 06, Alkaline Phosphatase. Technicon Inst. Inc. Tarrytown New York.
16. YAVUZ H, TANBOGA G : Ankara Üniversitesi Tıp Fak. Mec. XXVI : 64, 1973