

Akciğer Tümörlü Hastalarda Antitrombin III, Faktör X ve Von Willebrand Faktör Değerlerinin Evrelere Göre Değerlendirilmesi

C. PAPILA¹, T. ÇAĞATAY², R. PIŞİRİCİLER³, H. YANARDAĞ²,
F. ÇELİKOĞLU¹, S. KÖKSAL⁴, R. İŞIKVEREN⁵

ÖZET

Solid tümörlü hastalarda pihtlaşma parametrelerinin değişkenlik gösterdiği tespit edilmiştir. Çalışmamızda 30 kişilik akciğer tümörlü hasta grubunda bazı koagülasyon parametrelerini evrelere göre gözden geçirdik ve 15 kişilik sağlıklı kontrol grubu ile karşılaştırdık. Tümörlü grupta sağlıklı gruba göre anlamlı yükseklikler tespit ettik.

Anahtar Kelimeler: Akciğer tümörü, koagülasyon parametreleri.

SUMMARY

THE EVALUATION OF ANTITHROMBIN III, FACTOR X AND VON WILLEBRAND FACTOR IN LUNG TUMOR

The abnormalities of coagulation parameters were observed in many patients with solid tumors. In this study coagulation parameters were measured in 30 patients with lung tumor. These parameters were found highly significant in lung tumor patients compared with healthy subjects.

Key Words: Lung tumor, coagulation parameters.

Kanserli hastalarda bazı pihtlaşma parametrelerinin anlamlı şekilde artışının nedeni tümör hücrelerinin bizzat kendisi tarafından salgılanan prokoagulan maddelere bağlı olabileceği gibi doku nekrozu; infeksiyon, radyasyon ve kemoterapiyle ilgili olarak tümör hücrelerinin parçalanması ve bu parçalanma ürünlerinin pihtlaşma mekanizmasını aktive etmesine bağlıdır (1, 2).

Hücrelerarası fibrin, tümör hücrelerini sitotoksik hücrelerin destrüksiyonundan korumaktadır. Fibrin matriksinin tümör stromasının oluşumunda ve neoangiogenezis safhasında, tümör

gelişiminin desteklenmesinde önemli rolü olduğu tespit edilmiştir (3, 4).

Tümörlü birçok hastada, klinik olarak tromboflebit, dissemine intravasküler koagülasyon belirtileri görülmenden de bu parametrelerin arttığı gözlenmiştir (5, 6).

Akciğer tümörlerinde, bilhassa küçük hücreli tiplerinde, trombin formasyonunun tümör dokusu içinde bir büyümeye faktörü gibi davrandığı ve malign procesi hızlandırdığı tespit edilmiştir. Trombin fibrinojeni fibrine çevirmekte, fibrin de tümör matriksinin devamlılığını desteklemektedir. (7, 8).

¹ Doç.Dr. İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı, İSTANBUL

² Yrd.Doç.Dr. İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı, İSTANBUL

³ Biolog İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı, İSTANBUL

⁴ Yrd.Doç.Dr. İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Koruyucu Hekimlik ve Halk Sağlığı A.B..D., İSTANBUL

⁵ Biolog İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Merkez Biyokimya Laboratuvarı, İSTANBUL

Bu çalışmada amacımız Onkoloji Bilim Dalı'nda yatan tümörlü hastalarda oldukça sık görülen, gerek kemoterapi uygulaması, gerekse tümör gelişiminin hızlanması nedeniyle oluşan kanama-pıhtılaşma bozukluğu problemlerini kısaca gözden geçirmek; klinik belirtiler kendini gösterdiği takdirde bilinçli davranışmasını sağlamaktır.

MATERIAL - METOD VE SONUÇLAR

1995 yılında Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Onkoloji ve Bronkoloji Bilim Dalı'na başvuran 30 kişiden oluşan akciğer tümörlü hasta grubunda antitrombin III, Von Willebrand faktör ve faktör X gibi koagülasyon mekanizmasında aktif rolü olan bazı parametreleri inceledik. Sonuçları 15 kişilik sağlıklı kontrol grubu ile karşılaştırdık. Akciğer tümörlü grupta hastalarımızın 27'si erkek, üçü kadındı (ort yaş $60,5 \pm 6,2$). Olguların 17'si dördüncü evrede, 13'ü üçüncü evrede idi ve operasyon geçirmemişlerdi. Hepsinde sistemik kemoterapi uygulanmıştır. Sağlıklı grupta 10 erkek, 5 kadın vardı. Bu kişilerde oral antikoagulan kullanım anamnesi ve kardiak hastalık yoktu. Yaş ortalaması $57,3 \pm 5,2$ idi. İki grup arasında yaş ortalamaları açısından önemli bir fark tespit edilmemiştir ($\chi^2 = 3,72$; $P = 0,053$).

Antitrombin III

Antitrombin III doğal antikoagulanlar arasındadır; altı adet antitrombin tanımlanmıştır. Bunlardan klinik olarak en önemlisi antitrombin III'dür. AT III, a2 globülündür. Plazma antitrombin aktivitesinin %70'i AT III'e aittir. Normal kabul edilen değeri %65-125'dir.

Heparin kofaktör aktivitesinin belirlenmesi için kullanılır.

Faktör X

Faktör X, karaciğerde sentez edilir. Yapımı için K vitaminine ihtiyaç vardır. Bu faktörlere protrombin kompleksi pıhtılaşma faktörleri adı verilir. Normal kabul edilen değeri %85-125'dir.

Laboratuvar Tekniği: 1:9 oranında sodyum sitratlı kan 15 dakika 1600 - 2000 grad devirde santrifüj edilir. Plazma 1:5 oranında buffer ile dilüe edilir. Dilüe edilen plazmadan $100\mu\text{l}$ alınır. Üzerine $100\mu\text{l}$ faktör X substrat (factor deficient substrate plasma) konur. 37°C 'de 3 dakika beklettiğten sonra tromboplastin miarından $200\mu\text{l}$ koyup koagülasyon süresi takip edilir. Elde ettiğimiz saniyeyi grafikteki yerine koyup faktör X'un aktivitesinin kaç rastgeldiğini tespit etmiş oluruz.

Von Willebrand Faktör

İki protein molekülünün birleşmesi ile oluşan kompleks bir moleküldür.

Von Willebrand protein endotel hücrelerinde ve megakaryositlerde sentez edilir. Otozomal dominant geçiş gösterir. Molekül ağırlığı 1.000.000 - 15.000.000 arasında değişen heterojen bir büyük polimer topluluğu halindedir. Nonkovalan bağlarla koagulan protein ile birleşerek faktör VIII kompleksini oluşturur. Hemofili A'da koagulan protein kısım azalmıştır. Von Willebrand proteinini normaldir.

Bakis Tekniği: Faktör VIII ilişkili antijene karşı antiserum içeren agar jel ortamında yapılır. Agar içindeki kuyucuklara $10\mu\text{l}$ plazma örneği konulduktan sonra elektroforez ile proteinler antikor alanına doğru göçtürülür. Göçme doğrultusunda roket tarzında resipitin (çökelti) oluşur. Bu roketin uzunluğu antijen konsantrasyonu ile orantılıdır. Normal kabul edilen değer %50-160'dır.

Bu parametreler Merkez Laboratuvarı'nda tespit edilmiştir.

Sonuçlar, Student t-testi ve Mann Whitney-U testi ile değerlendirilmiştir. Akciğer tümörlü grupta Von Willebrand faktör ortalaması $162,8 \pm 42,9$ 'dur. Sağlıklı grupta $89,3 \pm 19,8$ 'dır (Mann Whitney-U test, $z=4,2$; $P<0,001$).

Antitrombin III değerleri ortalaması, akciğer tümörlü grupta $49 \pm 20,3$; sağlıklı grupta $98 \pm 17,1$ bulunmuştur (Student t-test, $t=8,03$; $P<0,001$).

Faktör X değerleri ortalaması akciğer tümörleri grupta $147,1 \pm 23,9$; sağlıklı grupta $100,1 \pm 16,6$ bulunmuştur (Student t-test, $t=6,8$; $P<0,001$).

Akciğer tümörlü grupta bu değerler evrelere göre incelendiğinde; antitrombin III, faktör X açısından bir anlamlılık tespit edilmemiştir ($t=0,12$; $p=0,9$; $t=0,27$; $p=0,78$).

Von Willebrand faktör ile hastalık evresi arasında pozitif yönde bir ilişki tespit edilmiştir. Üçüncü evrede Von Willebrand faktör $143,1 \pm 51,2$; dördüncü evrede ise $177,9 \pm 28,5$ bulunmuştur. Student t-testine göre ($t=2,37$; $p=0,02$) ve korelasyon testine göre ($r=0,41$; $p=0,02$) anlamlıdır.

Hastalık evresi ilerledikçe Von Willebrand faktör değerleri artmaktadır (Tablo 1,2).

TARTIŞMA

Marek ve arkadaşları akciğer tümör dokusu içinde trombin oluşumu ve fibrin formasyonu için gerekli mekanizmaların tümör hücre proliferasyonunu artırduğunu ve tümörün stromasının oluşumunu hızlandıracak, onu dış faktörlerden koruduğunu tespit etmişlerdir (9,10).

Ayrıca fibrinin tümör matriksi için bir öğe olduğu, tümör kitlesindeki vaskülarizasyonu

artırduğu deneysel çalışmalarla açıklanmıştır (10, 11).

Warfarin tedavisinin bilhassa küçük hücreli akciğer tümörlerinde tümör ilerlemesini önlediği ve yaşam süresini uzattığı yönünde açıklamalar yapılmıştır (12, 13).

Richard ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada kanserli hastalarda faktör V, Von Willebrand faktör, fibrinojen seviyelerinin arttığı tespit edilmiştir. F1 testi (fibrinolitik ürünlerin varlığını gösteren test) pozitif bulunmuş; sağlıklı grupta ise pozitiflik saptanmamıştır. Bu test, tümörlü hastalarda subklinik veya düşük dereceli intravasküler koagülasyona karşı gelişen kompensatuar fazla üretim olarak yorumlanmıştır (14, 15).

Andrew ve arkadaşları, solid tümörlerin %5-15'inde tromboz saptadığını, pankreas kanserlerinde bu oranın %50'ye kadar yükselibileceğini açıklamışlardır (16).

Bick ve arkadaşları pankreas, mide, akciğer, bağırsak ve mesane kanserinin tromboza meyil hazırlayabileceğini; hormonal tedavi, kemoterapi ve cerrahi girişimlerin bu durumu hızlandıracığını açıklamışlardır (17).

Zacharski ve arkadaşları, tümör hücrelerinin parçalanma ürünlerinin pihtlaşma mekanizmasını aktive ettiğini, sistemik kemoterapi görenlerde tümör hücre destrüksyonunun fazla olmasına bağlı olarak pihtlaşma parametrelerinin daha fazla değişkenliğe uğradığını tespit etmişlerdir. Kanserli hastalarda faktör VIII seviyesinin arttığını, protrombin zamanı ve aktive parsiyel tromboplastin zamanının kısallığını açıklamışlardır. Hastalarında tromboembolinin klinik bulgusuna rastlamamışlardır. Ayrıca, değerlerin klinik evrelere

göre bir anlamlılık göstermediğini ifade etmişlerdir (18).

Çalışmamızda faktör X ve antitrombin III değerleri ile tümör klinik evreleri arasında bir ilişki tespit etmedik ve hastalarımızda klinik olarak bir tromboemboli olayına rastlamadık.

Bazı araştırmacılar, akciğer tümörlerinde hemostazın yeni sensitif moleküller işaretleyicilerini incelemiştir. Bu parametreler arasında trombin-antitrombin (TAT III) kompleksi, D. Dimer fragmanları plazmin-a2 antiplazmin kompleksleri bulunmaktadır. Akciğer tümörlü hastalarda bu parametrelerde önemli yükseklikler tespit edilmiştir (19, 20).

Stuart ve arkadaşları, insan ve hayvan akciğer tümörlü örneklerinde proteolitik prokoagulanları tespit etmişlerdir. Prokoagulanların serin proteazlar olduğu ve direkt olarak faktör X tarafından aktive edildiği ifade edilmiştir (21, 22).

Tümör hücrelerinin bizzat kendisi otoregulatuar bir yol ile trombin oluşumunu hızlandırmaktadır ve trombin de tümör gelişmesini hızlandırmaktadır. Koagülasyon ve fibrinolitik mekanizma hücre hasarına karşı lokal olarak düzenlenmektede ve organizmada bir denge halinde bulunmaktadır. Bu doğal denge tümörün gelişmesi ile zaman zaman bozulabilmektedir.

Sonuç olarak, bu çalışma kanama-pihtlaşma bozuklıklarının tümörlü hastalarda genellikle subklinik seyrettiğini göstermektedir. Fakat bu denge daha fazla bozulacak olursa, hastalarda tromboz ve kanamalar olusacağından tehlikeli sonuçlar ortaya çıkabilecektir. Bu açıdan laboratuvar testlerinin klinike düzenli takibi ile, gerekli önlemlerin erken dönemde alınmasının önemli olacağı düşüncemizdeyiz.

Tablo 1- Akciğer Tümörü Olgularında Evre, Yaş, Cins, Histopatolojik Tanı, Faktör X, Antitrombin-III ve Von Willebrand Değerleri

Yaş	Cins	Evre	Histopatoloji	Faktör X	Antitrombin III	Von Willebrand
57	E	4	nonoatcell	145	40	180
62	E	4	nonoatcell	160	30	170
66	E	4	nonoatcell	165	55	190
71	E	4	nonoatcell	100	50	180
65	E	4	nonoatcell	110	25	220
60	K	4	nonoatcell	180	75	210
59	E	4	nonoatcell	145	40	200
58	E	4	nonoatcell	150	45	185
63	E	4	nonoatcell	160	80	170
67	E	4	oatcell	160	50	180
64	K	4	oatcell	95	55	190
55	E	4	nonoatcell	180	40	200
49	E	4	nonoatcell	150	35	90
51	E	4	oatcell	150	100	150

56	E	4	nonoatcell	155	38	175
64	E	4	nonoatceli	175	42	165
69	E	4	nonoatcell	140	40	170
63	K	3	oatcell	95	40	75
68	E	3	oatcell	105	30	140
58	E	3	oatcell	175	35	80
54	E	3	nonoatcell	160	30	170
49	E	3	nonoatcell	150	80	80
62	E	3	oatcell	135	35	180
69	E	3	oatcell	145	20	55
65	E	3	oatcell	155	75	200
69	E	3	nonoatcell	170	40	190
53	E	3	nonoatcell	160	70	180
56	E	3	oatcell	140	90	175
58	E	3	nonoatcell	155	45	165
55	E	3	nonoatcell	150	40	170

Tablo 2- Sağlıklı Bireylerde Yaş, Cins, Faktör X, Antitrombin III ve Von Willebrand Değerleri

Yaş	Cins	Faktör X	Antitrombin III	Von Willebrand
58	E	85	90	80
52	E	95	95	70
59	E	100	110	80
60	K	110	100	90
63	K	65	50	110
55	E	140	105	120
48	E	90	120	130
55	E	100	105	100
62	K	105	100	100
60	E	88	85	90
69	K	92	110	80
55	K	107	120	90
54	E	100	85	70
58	E	110	95	70
52	E	115	100	60

KAYNAKLAR

- Miller SP, Sanchez-Avalos J, Stefanski T, Zuckerman L. Coagulation disorders in cancer. I. Clinical and laboratory studies. *Cancer* 20:1452;1967.
- Soong B, Miller SP. Coagulation disorders in cancer. Fibrinolysis and inhibitors (abstract). *Clin Res* 16:362;1968.
- Gunji Y. and Gorelik E. Role of fibrin coagulation in protection of murine tumor cells from destruction by cytotoxic cells. *Cancer Res* 48:5216- 5221;1988.
- Dvorak H M. Tumors: Wounds that do not heal. *New Engl J Med* 315:1650-1659;1986.
- De Camp DT, Carrera AE, Ochsner A. The hypercoagulable state. *Surgery* 63:173;1968.
- Nora CJ, Sun MD, William M, et al. Hemostatic abnormalities in malignancy: a prospective study of one hundred and eight patients. Part I. Coagulation studies. *Am J Clin Pathol* 71:10-16;1979.
- Wojtukiewicz MZ, Zacharski LR. Abnormal regulation of coagulation/fibrinolysis in small cell carcinoma of the lung. *Cancer* 65: 481-485;1990.
- Zacharski LR, Memoli VA, Rousseau SM. Thrombin specific site of fibrinogen in small cell carcinoma of the lung. *Cancer* 62: 299-302;1988.
- Marek Z, Zacharski LR, Memoli VA. Abnormal regulation of coagulation fibrinolysis in small cell carcinoma of the lung. *Cancer* 65:481-485;1990.
- Zacharski LR, Memoli VA, Rousseau SM, Kisiel W. Coagulation-cancer interaction in situ in small cell carcinoma of the lung. *Cancer* 60: 2675-2681;1987.
- Dvorak HF, Harvey VS, Estrella P, et al. Fibrin containing gels induce angiogenesis. Implications for tumor stroma generation and wound healing. *Lab Invest* 57: 673-686;1987.

12. Olander JV, Bremer ME, Marase JC, Feder J. Fibrin enhanced endothelial cell organization. *J Cell Physiol* 125:1-9; 1985.
13. Chahinian AP, Ware RH, Zimmer B, et al. Update on anticoagulation with warfarin and on alternating chemotherapy in extensive small cell carcinoma of the lung (SCCL) (Abstr). *Proc Am Soc Clin Oncol* 4:191, 1985.
14. Richard B, Davis MD, Kennedy BJ. Comparative studies of blood coagulation and platelet aggregation in patients with cancer and nonmalignant diseases. *Annals of Internal Medicine* 71(1): 67-80; 1969.
15. Merskey C, Kleiner GG, Johnson AJ. Quantitative estimation of split products of fibrinogen in human serum, relation to diagnosis and treatment. *Blood* 28: 1; 1966.
16. Andrew I, Schafer MD. The hypercoagulable states. *Annals of Internal Medicine* 102: 815-828; 1985.
17. Bick RL. Alterations of hemostasis associated with malignancy. *Semin Thromb Hemost* 5:1-26; 1978.
18. Zacharski LR, Vincent AM, Sandra MR, Walter K. Occurrence of blood coagulation factors in situ in small cell carcinoma of the lung. *Cancer* 60:2675-81; 1987.
19. Esteban C, Gabazza MD, Osamu T, et al. Coagulation-Fibrinolysis system and markers of collagen metabolism in lung cancer. *Cancer* 70: 2631-6; 1992.
20. Esteban C, Gabazza MD, Osamu T, et al. Evaluating prethrombotic state in lung cancer using molecular markers. *Chest* 103:196-200; 1993.
21. Hilgard P and Whur P. Factor X activity from Lewis lung carcinoma. *Br J Cancer* 41: 642-643; 1980.
22. Stuart G, Gordon and Barbara AA. Factor X activating cysteine protease from malignant tissue. *J Clin Invest* 67:1665-71; 1981.