

**T.C.
Süleyman Demirel Üniversitesi
Tıp Fakültesi
İç Hastalıkları Anabilim Dalı**

**İLERİ EVRE KANSER HASTALARINDA DÜŞÜK MOLEKÜL
AĞIRLIKLIL HEPARİNLERİN ANJİYOGENETİK FAKTÖRLER
ÜZERİNDEKİ ETKİLERİ**

Dr. Nesibe KARAKUŞ

UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN

Doç. Dr. H. Şenol COŞKUN

**Bu tez Süleyman Demirel Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim
Birimi tarafından 0987-TU-05 proje numarası ile desteklenmiştir**

Mayıs 2006, ISPARTA

İÇİNDEKİLER

İÇİNDEKİLER	i
KISALTMALAR	iii
TEŞEKKÜR.....	iv
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Anjiyogenez ve Tümör Anjiyogenezi.....	2
2.1.1. Anjiyogenez Fیزیopatolojisi.....	3
2.1.1.1. Bazal Membranın Proteolitik Enzimler Tarafından Yıkılması	3
2.1.1.2. Endotel Hücrelerde Göçme ve Çoğalma.....	4
2.1.1.3. Kapiller Oluşumu ve Damar Olgunlaşması	4
2.1.2. Anjiyogenik Faktörler	5
2.1.2.1. Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü (VEGF).....	6
2.1.2.2. Epidermal Büyüme Faktörü (EGF).....	7
2.1.2.3. Fibroblast Büyüme Faktörü (FGF).....	7
2.1.2.4. Trombosit Kaynaklı Büyüme Faktörü (PDGF)	7
2.1.2.5. Transforme Edici Büyüme Faktörü- β (TGF- β).....	7
2.1.2.6. Tümör Nekroz Faktörü- α (TNF- α).....	8
2.1.2.7. Hepatosit Büyüme Faktörü (HGF).....	8
2.1.2.8. Anjiyogenez İnhibitörleri.....	9
2.1.2.9. Adezyon molekülleri.....	9
2.2. Kanser ve Tromboz.....	10
2.3. Kanser Hastalarında Düşük Molekül Ağırlıklı Heparin Kullanımı	13
3. MATERYAL ve METOD	19
3.1. Çalışma Grubu	19
3.2. Kontrol Grubu.....	19
3.3. DMAH Kullanımı	20
3.4. Çalışma Düzeni.....	21
3.4. Kan Örneklerinin Alınışı ve Hazırlanışı	21
3.5. Kullanılan Kimyasal Madde ve Reaktifler	21
3.6. İstatiksel Analiz ve Etik.....	22

4. SONUÇLAR	24
4.1. Anjiyogenik Faktörler	24
4.2. Adezyon Molekülleri	27
4.3. Anjiyogenetik Faktörler'in DMAH ile Değişimi	29
4.4. Adezyon Moleküllerin'nin DMAH ile Değişimi	32
4.5. Adenokanser Histolojisine Göre Anjiyogenik Faktörler ve Adezyon Molekülleri	34
4.6. Korelasyon Analizleri	36
5. TARTIŞMA	37
ÖZET	42
SUMMARY	43
KAYNAKLAR	44

KISALTMALAR

DMAH	: Düşük molekül ağırlıklı heparin
EGF	: Epidermal growth faktör
FBGF	: Fibroblast growth faktör
VEGF	: Vasküler endotelyal growth faktör
HGF	: Hepatosit growth faktör
PDGF	: Platelet derive growth faktör
ICAM	: İntraselüler adezyon molekülü
MMM	: Matriks metalloproteinaz
ECM	: Ekstraselüler matriks
TGF-β	: Transforme Edici Büyüme Faktörü β
TNF-α	: Tümör Nekroz Faktör α
UFH	: Anfraksiyone aheparin
OAK	: Oral antikoagulan
VTE	: Venöz Tromboemboli

TEŞEKKÜR

Tıpta uzmanlık eđitimim ve tez çalıőmam sűresince verdiđi yakın destek ve deđerli katkılarından dolayı tez danıőmanım Doç. Dr. H. Őenol COŐKUN'a, uzmanlık eđitimim boyunca eđitimime deđerli katkı ve desteklerinden dolayı Anabilim Dalı Baőkanımız Prof. Dr. M. Tuđrul SEZER'e, eđitimimin ilk gűnűnden itibaren tűm asistanlıđım boyunca deđerli bilgilerinden yararlandıđım űđretim űyesi hocalarım Prof. Dr. Mehmet İŐLER, Prof. Dr. M. Numan TAMER, Prof.Dr. Ŭlkű SARITAŐ, Prof.Dr. Yıldıran SONGŪR, Doç.Dr. Ercan TUNÇ, Doç.Dr. Cem KOÇKAR, Yrd. Doç. Dr. Mehmet ŐAHİN, Yrd. Doç. Dr. Gűhan ALANOđLU, Yrd. Doç. Dr. Z. Dilek AYDIN ve Yrd. Doç. Dr. Altuđ ŐENOL'a, biyokimyasal analizlerimin yapılmasındaki yardımlarından dolayı Dr. Onur AKTŪRK'e, tez hazırlamama yardımlarından dolayı Dr. Hűseyin AKIN'a, Dr. Sema SEZGİN GŪKSU'ya, birlikte alıőtđım tűm asistan arkadaşlarıma, tez çalıőmalarım ve eđitimim sűresince benden sevgi ve desteklerini esirgemeyen eőime, çocuklarıma, ailelerimize ve Jale'ye sonsuz teőekkűrlerimi sunuyorum.

Dr. Nesibe KARAKUŞ

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Kanser ve tromboz ilişkisi çok eskiden beri bilinmektedir. Kanserli hastalarda kronik intravasküler koagülasyon neticesinde hiperkoagülabilite olduğu ve bunun sonucunda rekürren trombozlar meydana geldiği bilinmektedir. Çalışmalar, koagülasyon sisteminin ve trombosit aktivasyonunun tümörün yaygınlığı ve büyümesi ile ilgili olduğunu göstermiştir. Hastanede yatan, tromboz için risk taşıyan kanserli hastalarda düşük molekül ağırlıklı heparin (DMAH) kullanılarak yapılan çalışmalarda venöz tromboembolilerin azaldığı gösterilmiştir (1,2,3).

Klinik çalışmalar DMAH'in derin venöz trombozu olan veya olmayan kanser hastalarında yaşam süresini uzattığını göstermiştir (4). Trombozlu kanser hastalarında antikoagulanlar ile ilgili yapılan çalışmalarda; anfraksiyone heparin ve DMAH'in tümör büyümesi ve metastazı üzerine birçok yoldan etkili olduğu; bu etkisini fibrin formasyonu, heparin bazik fibroblast growt faktör (FGF) ve vasküler endotelial growht faktör (VEGF) gibi anjiyogenik büyüme faktörlerine bağlanması, büyüme faktörlerinin modülasyonu, dokufaktör yolak inhibitörünün salınması gibi mekanizmalarla gösterebileceğine dair bulgular mevcuttur (2,4,5,6).

Biz bu çalışmada anjiyogenezde önemli rol alan büyüme faktörlerinin ve adezyon moleküllerinin DMAH altındaki değişimini incelemeyi planladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Anjiyogenez ve Tümör Anjiyogenezi

Anjiyogenez, mevcut kan damarlarından yeni kan damarlarının gelişmesidir. Vücutta doğal olarak ortaya çıkan bir süreç olup, bazı patolojik durumlarda da olabilir.

Fizyolojik anjiyogenez, embriyogenez, yara iyileşmesi ve kadın üreme sisteminde gözlenir. İnflamatuvar hastalıklarda (artrit, kronik inflamasyon, inflamatuvar bağırsak hastalıkları, psöriazis), çeşitli kanserlerde (meme, mesane, kolon, akciğer, nöroblastom, melanom, böbrek, pankreas, uterus, serviks, glioblastom) ve göz hastalıklarında (yaşla ilişkili maküler dejenerasyon, proliferatif retinopati) anjiyogenez patolojik olarak ortaya çıkmaktadır. Periferik arter hastalıklarında ve gecikmiş yara iyileşmesinde ise anjiyogenezin yetersizliği söz konusu olmaktadır (7,8).

Anjiyogenezin düzenlenme evreleri pek çok büyüme faktörünün ve düzenleyici proteinin kontrolü altındadır. Anjiyogenez oldukça karmaşık bir mekanizma ile gerçekleşir. Ekstraselüler matriks ve matriksi çevreleyen hücrelerden salınan pek çok büyüme faktörü, sitokinler ve bunların reseptörleri anjiyogeneizde temel rol oynar (7,8). Damar endotelini oluşturan endotel hücreleri, anjiyogenez süreci içinde yer alan temel hücrelerdir. Perisitler ile birlikte kapiller damar duvarlarını oluştururlar ve ana damarları, dalları ve kapiller ağı oluşturucu genetik bilgileri içerirler. Anjiyogenezin sıkı denetlendiği kadın üreme sistemi ve yara iyileşmesi gibi fizyolojik durumlar dışında anjiyogenez organizmada oldukça sınırlıdır (8).

Proanjiogenik ve antianjiogenik faktörler arasındaki denge bozulduğunda anjiyogenez kontrol edilemez. Henüz tüm anjiyogenik etkileşimler net olarak ortaya konulamamıştır. Anjiyogenik uyarıcılar ve anjiyogenez inhibitörleri arasındaki denge, normalde damarsal yapıların sessiz halde kalmasını sağlamaktadır. Anjiyogenik uyarıların artışı veya anjiyogenez inhibitörlerinin azalışı anjiyogenezi başlatmaktadır (7,8). Anjiyogenik ve antianjiyogenik faktörler tablo 1'de gösterilmektedir.

Tablo 1. Anjiyogenik faktörler ve anjiyogenezi önleyen faktörler

Anjiyogenik Faktörler	Anjiyogenezi Önleyen Faktörler
VEGF (Vasküler endotelial büyüme faktör)	Trombospondin- 1
PGF (Plasental büyüme faktör)	Anjiostatin
FGF (Fibroblast büyüme faktör)	Endostatin
FGF-3 (Fibroblast büyüme faktör-3)	Vazostatin
FGF-4 (Fibroblast büyüme faktör-4)	Vasküler endotelial büyüme faktörü inhibitörü
TGF- α (Transforme edici büyüme faktör- α)	Trombosit faktör-4 fragmanı
TGF- β (Transforme edici büyüme faktör- β)	Prolaktin derivesi
EGF (Epidermal büyüme faktör)	Restin
HGF (Hepatosit büyüme faktör)	Proliferinle ilgili protein
TNF- α (Tümör nekroz faktör- α)	İnterferon-a-p
PDGF (Trombosit kaynaklı büyüme faktör)	Anjiopoetin-2
GCSF (Granülosit koloni uyaran faktör)	Antitrombin-3 fragmanı
IL- 8 (İnterlökin-8)	İnterferon ile indüklenebilen protein- 10
Anjiogenin	
Proliferin	

2.1.1. Anjiyogenez Fiziopatolojisi

Yeni damar oluşumu; bazal membranın proteolitik enzimler tarafından yıkılması, endotel hücrelerin aktivasyonu, proliferasyonu, göçü, tübül oluşumu, olgunlaşması, damar stabilizasyonu ve ekstrasellüler matriksin yeniden şekillenmesini kapsayan çok basamaklı bir süreçtir.

2.1.1.1. Bazal Membranın Proteolitik Enzimler Tarafından Yıkılması

Anjiyogenez süreci damar endotelini döşeyen kollajen, laminin gibi glikoproteinlerden ve heparan sülfat gibi proteoglikanlardan oluşan bazal membranın proteolitik yıkımı ile başlar (8). Endotel hücreleri göç etmek ve çoğalmak üzere uyarıldığında membran ve hücreler arasında bir bölünme meydana gelir. Normalde, endotel hücreleri yayılma etkisi göstermeyen tek bir tabaka oluştururlar. Ancak anjiyogenez sırasında çoğalıp yayılma gösterirler. Normal, hastalıklı yada hasarlı dokularda üretilip salgılanan anjiyogenik büyüme faktörleri komşu dokulara difüzyon yolu ile geçer. Anjiyogenik büyüme faktörleri yakınındaki önceden var olan kan damarlarının endotel hücrelerinde bulunan özgün reseptörlere bağlanırlar.

Büyüme faktörleri tarafından aktive edilen proteolitik enzimler bazal membranın ve endotel hücrelerini döşeyen ekstraselüler matriks (ECM) bileşenlerinin yıkımına neden olur. ECM'nin enzimatik yıkılımını, endotel hücrelerinin uyarılması ve kapiller filizlenme izler (7,8). Endotel hücrelerinin invazyon ve göç süreçleri, plazminojen aktivatör (PA) ve matriks metaloproteinaz (MMP) sisteminin işbirliği içinde aktive olmasını gerektirir. Ürokinaztip (uPA) ve dokutip (tPA) plazminojen aktivatörleri, plazminojeni plazmine çeviren serin proteazları grubuna aittirler. ECM bileşenlerinin yıkılması ve MMP-1, MMP-3, MMP-9, elastaz gibi matriks metaloproteinazlarının aktivasyonu da plazminin işlevleri arasındadır (4, 8).

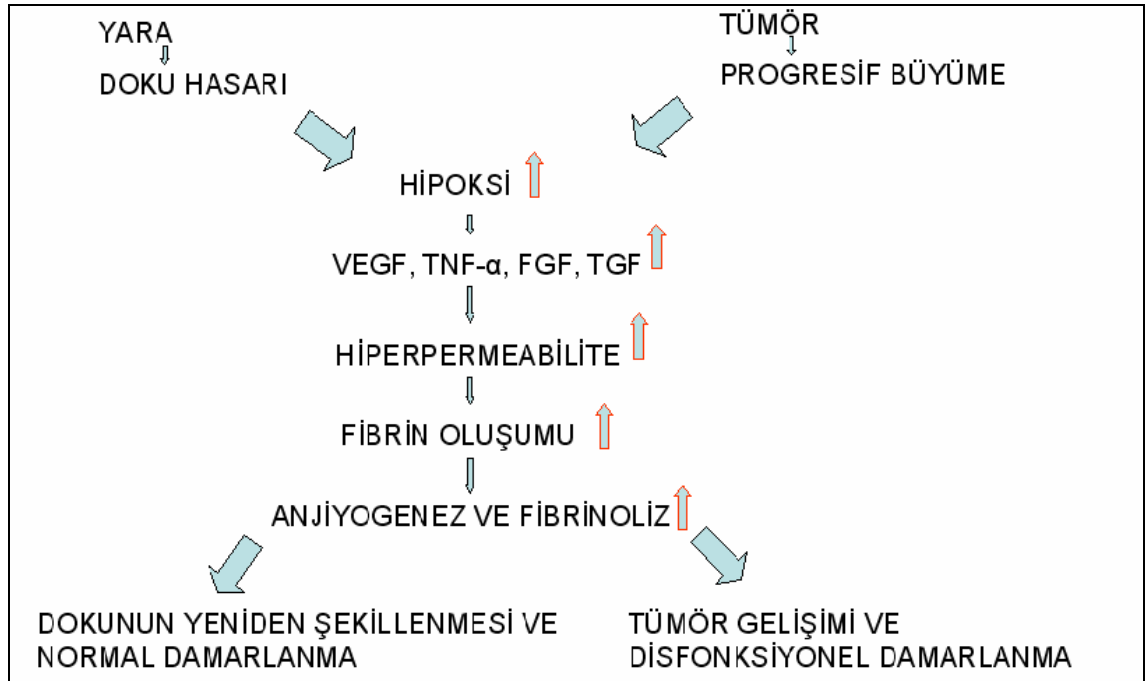
2.1.1.2. Endotel Hücrelerde Göçme ve Çoğalma

Anjiyogenik uyarı, proteolitik yıkım ile kısa bir süre sonra endotel hücreleri aktive eder. Endotel hücreleri ekstraselüler matrikse göç eder ve çoğalır. Bu süreçte en etkili anjiyogenik faktör VEGF'dir (8,9).

2.1.1.3. Kapiller Oluşumu ve Damar Olgunlaşması

Endotel hücre çoğalmasından sonra ECM bileşenlerinin depolanması ve bir araya getirilmesi için ekstraselüler proteoliz mutlaka lokal olarak inhibe edilmelidir. Kapiller filizlenme oluşuktan sonra yine bu filizlenmenin ucunda yeni oluşmuş ECM'de yıkılma ortaya çıkar ve bu sayede daha ileri yayılımı mümkün olur. Bazal membranın yıkılması endotel hücre göçüne ve filiz oluşumuna izin verir. Endotelin yol alması ve uzaması sırasında hücre içi ve hücreler arası boşlukta, sonunda kendilerinden damarların oluştuğu lümenler gelişir. Böylece, ECM proteolizinin birbirini sırayla izleyen aktivasyon ve inhibisyonları sonucunda kapillerler oluşur. Proteolitik yıkılma ve endotel hücresi göçünden sonra yeni oluşan kapillerler, yeni bazal membranı oluştururlar. Bu nedenle, endotel hücrelerinin yeni kapiller yapılar oluşturabilmeleri için birbirlerine ve ECM'e tutunma gereksinimi vardır. Damar olgunlaştıktan ve uygun anjiyogenez ortaya çıktıktan sonra anjiyogenik faktörlerde azalma görülürken, anjiyogenez inhibitörlerinde artış gözlenir. Böylece endotel hücreleri sessiz bir hale bürünür ve damarlar kan akımını başlatmaya hazır hale gelmiş olur (8).

Bu olayları özetleyecek olursak, FGF ve VEGF gibi büyüme faktörlerinin aktivasyonu, hücrelerin çoğalmasını ve ECM içine göç etmesini uyarır. Aynı zamanda, büyüme faktörleri tarafından aktive edilen proteolitik enzimler bazal membranın ve endotel hücrelerini döşeyen ECM bileşenlerinin yıkılmasına neden olur. Mitojenik endotel hücreleri kapiller filizleri oluşturur. İntegrinler gibi membran proteinleri de bu süreç içinde yer alır ve endotel hücrelerinin birbirine ve ECM'ye tutunmalarına yardımcı olurlar, böylece yeni kapillerler oluşur. Büyüme faktörlerinin inhibisyonu veya büyüme faktör inhibitörlerinin varlığı anjiyogenezi azaltır. ECM'nin proteolitik yıkımı da inhibe olur ve yeni oluşmuş kapillerler etrafında matriks bileşenleri sentez edilir. Normal doku onarımı ve tümörde anjiyogenezi uyaran ortak yollar şekil 1'de gösterilmektedir.



Şekil 1: Normal doku onarımı ve tümörde anjiyogenezi uyaran ortak yollar

2.1.2. Anjiyogenik Faktörler

Anjiyogenezi kavramının tarihçesine bakıldığında yaklaşık 100 yıl önce tümör içerisinde yeni damar gelişimlerinden bahsedildiği görülmektedir. 1939 yılında, yaralanma sonucunda oluşan yeniden damarlanmanın bir süre sonra durduğu ve gerilediği, ancak tümör implantında damar gelişiminin giderek arttığı fark

edilmiştir (8). 1971 yılında Folkman "tümör gelişimi anjiyogeneze bağımlıdır" diyerek anjiyogenez konusunda asıl gelişimi başlatmıştır. 80'li yılların ortalarında, bir araya getirilen bulgular gerçekten de tümörlerin anjiyogenezi uyardığını kanıtlamıştır. Tümörün büyüklüğü $0,5 \text{ mm}^3$ 'ün üstüne çıkınca tümörün beslenmesi anjiyogeneze bağımlı iken, $0,5 \text{ mm}^3$ 'den daha küçük bir tümör, oksijen ve besinleri difüzyon ile alabilmektedir (8).

Tümör anjiyogenezinin düzenlenmesi normal fizyolojik anjiyogeneze göre farklılık göstermektedir. Uyarıcılar ve inhibe ediciler arasındaki dinamik denge bozulmakta, bu dengenin bozulmasında ise tümör ve endotel hücreleri temel bir rol oynamaktadırlar. Bir yada birden fazla anjiyogenik büyüme faktörleri belirgin olarak aşırı eksprese olmadıkça, tümör büyümesinin olmayacağı gösterilmiştir. Anjiyogenezi uyarmak için yalnızca anjiyogenik faktörlerin artması yeterli olmayıp, tümörün anjiyogenik özellik kazanması için anjiyogenez inhibitörlerinin de azalması gereklidir (7,8).

Anjiyogenezin tümörün metastazını kolaylaştırdığı varsayımını destekleyici deneysel ve klinik kanıtlar bulunmaktadır. Metastatik kaskadın başında olduğu kadar sonunda da anjiyogeneze ihtiyaç vardır. Tümör hücresi metastaz yapmış olsa bile hedef organda hemen damarlanmayabilir ve mikroskobik düzeyde kalabilir. Klinik veriler metastatik özelliğin anjiyogenezin şiddetine bağlı olduğunu göstermektedir (7,8).

2.1.2.1. Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü (VEGF)

VEGF; anjiyogeneze rol oynayan temel faktörlerden biridir. VEGF postnatal damarlanma, yara iyileşmesi, kanser, romatoid artrit, retinada yeni damarlanma ve kalp damar hastalıkları dahil olmak üzere çok sayıdaki patofizyolojik durumda önemlidir. VEGF, başlangıçta damar geçirgenliğini artıran bir faktör olarak tanımlanmıştır. Endotel hücrelerinin çok sayıdaki biyolojik fonksiyonunu, sitokin sentezi ve salınımı, trombolitik ve pıhtılaşma yollarında yer alan moleküllerin ekspresyonu ve düz kas hücre hiperplazisini düzenler (8,9).

2.1.2.2. Epidermal Büyüme Faktörü (EGF)

EGF; polipeptit yapılı olup birçok dokuda bulunur ve trombosit degranülasyonu sırasında salınır. Epitel hücreleri için temel büyüme faktörüdür. Anjiyogenezi ve kollajenaz aktivitesini uyarır (8).

2.1.2.3. Fibroblast Büyüme Faktörü (FGF)

FGF; mezenkimal hücreler için mitojendir. Endotel proliferasyonu ve motiliteyi arttırarak anjiyogenezi hızlandırır. Ayrıca heparinin etkilerini güçlendirmek, kollajen sentezini uyararak yaranın kontraksiyonunu ve epitelizasyonu sağlamak, fibronektin ve proteoglikan sentezini uyararak adhezyonu kolaylaştırmak gibi etkileri vardır (7,8).

2.1.2.4. Trombosit Kaynaklı Büyüme Faktörü (PDGF)

PDGF; trombositlerin alfa granülleri içinde bulunur. Tümörler, endotel hücreler, makrofajlar, düz kas hücreleri ve trombositler PDGF benzeri büyüme faktörleri salgırlar. Makrofajlar ve polimorf nüveli lökositlerin kemotaksisini uyarır. Fibroblast ve düz kas hücrelerinde hem kemotaksis hem de mitogenezi uyarır. Kollajen ve fibronektin sentezini uyarır; ayrıca kollajenaz aktivitesini arttırır (8).

2.1.2.5. Transforme Edici Büyüme Faktörü- β (TGF- β)

TGF- β ; trombositler, makrofajlar, lenfositler, kemik, böbrek gibi farklı dokulardan izole edilmiştir. Trombositlerin alfa granülleri içinde yoğun miktarda bulunur, hasarlanan bölgeye degranülasyonla salınır. Düşük dozda anjiyogenik, yüksek dozda antianjiyogenik özellikler gösterir. Monositleri uyararak FGF, PDGF, TNF- α , IL-1 gibi büyüme faktörlerinin salınımını sağlar. Makrofajlar için kemotaktiktir. Fibroblast kemotaksisi ve proliferasyonunu uyarır. Kollajen sentezini uyarırken, diğer taraftan da kollajenazı aktive eden faktörlerin etkisini azaltır. Fibroblastlar da fibronektin ve proteoglikan sentezini uyararak yara kontraksiyonunda rol oynar. Matriksin yeniden şekillenmesinde görev yapar. Ayrıca epitelyal hücre proliferasyonunu uyarır (7,8).

2.1.2.6. Tümör Nekroz Faktörü- α (TNF- α)

TNF- α , birçok hücre tipi tarafından salgılanan ve kanserli hücrelerin yıkımını sağlayan bir sitokindir. Kanser kaşeksisi ve endotoksik şokta yer alır . α ve β olmak üzere iki tipi vardır. α tip; TNF α (kaşektin), β tip; TNF β (lenfokin) olarak bilinir.

TNF- α , makrofajlar ve bazı diğer hücreler tarafından üretilir. TNF- β ise T hücre lenfositleri tarafından üretilir. İnterlökin-1 (IL-1) ile birçok özellik paylaşmaktadır. TNF, IL-1 ile birlikte ya da ayrı ayrı sistemik enflamasyonu tetiklemekte ve bununla ilgili belirtilerin (örn., ateş) ortaya çıkmasına neden olmaktadır. Gram-negatif bakterilerin hücre duvarı yapısında bulunan ve aynı zamanda bir endotoksin olan lipopolisakkarid (LPS), TNF α üretimini tetikler. Ayrıca TNF, nötrofil ve monositler için kemotaktiktir ve nötrofil aktivitesini artırır.

TNF'nin lokal konsantrasyonunun artması, bakteriyel enfeksiyonlarla ilişkili olan belirtilere neden olur (septik şok, ateş, kas ağrısı, uyuşukluk, baş ağrısı, mide bulantısı ve enflamasyon). Hipotalamusta, kortikotropin salgılatıcı hormon, (*CRH*) salınımını uyararak hipotalamus hipofiz adrenal aksını uyarır, iştahı baskılar, ateşe neden olur. Karaciğerde, akut faz yanıtını uyarır ve kanda C-reaktif proteinin artmasına neden olur. Nötrofilleri çeker ve migrasyon için endotelyum hücrelerine yapışmalarına yardım eder. Makrofajlarda, fagositozu ve IL-1, oksidanlar, enflamasyon lipidleri ve prostaglandin E2 üretimini uyarır. Diğer hücrelerde insülin direncini artırır. Düşük dozda endotelyal hücre çoğalmasını ve tübül oluşumunu sağlarken, yüksek dozda zıt etki gösterir. Proinflamatuvar özellikleri ile in vivo olarak yeni damar oluşumuna yol açar (8).

2.1.2.7. Hepatosit Büyüme Faktörü (HGF)

HGF; endotel hücrelerinde proliferasyon ve migrasyonda rol alır. Etkisini c-met protoonkojeni ürünü olan transmembran tirozin kinaza yüksek afinite ile bağlanarak gerçekleştirir (8).

2.1.2.8. Anjiyogenez İnhibitörleri

Son yıllarda anjiyogenez üzerinde yapılan çalışmalar kanser tedavisinde yeni yaklaşımları da beraberinde getirmiştir. Antianjiyojenik ilaçların kullanımları ile ilgili çalışmalar ilerlemiştir. Anjiyogenez inhibitörleri, farklı mekanizmalarla etki göstermektedir. Bunlar arasında, matriks yıkılımının engellenmesi, anjiyogenez aktivatörlerinin inhibisyonu veya endotel hücrelerinin doğrudan inhibisyonu gibi etkiler yer almaktadır. Anjiyogenez inhibitörlerinin, kemoterapik tedavi ile birleştirilmesi daha etkili sonuçlar vermiştir. Bu anjiyogenez inhibitörlerinin hücre hedeflerinin sitotoksik ajanlardan farklı olması ile açıklanmıştır. Ayrıca yan etkiler daha az izlenmiştir. Tümör gelişiminde başlıca rol oynamasından dolayı VEGF ve reseptörleri, kanser tedavisinde iyi bir hedefdir. Anti-VEGF monoklonal antikor kullanımı, VEGF bağlanmasını inhibe eden peptitler veya VEGF reseptör sinyalini durduran ajanlar tedavide denenmektedir (7,8,10).

İlk çalışmalarda anjiyogenezin sadece kanser, artrit ve psöriasis için önemli olduğu ileri sürülmüşken son yıllarda özellikle aşırı, yetersiz veya bozuk anjiyogenezin çok sayıda hastalığın patojenezinde rol oynadığı belirlenmiştir. Bu nedenle anjiyogenezi önleyici veya başlatıcı faktörlerle tedaviler önem kazanmıştır. Ancak tek bir anjiyogenez inhibitörü ile yapılan tedavilerin özellikle kanser hücreleri tarafından oluşturulan çok sayıdaki anjiyogenik faktörler ile mücadelede yetersiz kalabileceği düşünülmektedir. Bu nedenle gelecek yıllarda anjiyogenik hastalıkların moleküler temellerinin daha iyi belirlenmesi yeni tedavi modellerinin geliştirilmesi açısından önemli olabilecektir (7,8).

2.1.2.9. Adezyon molekülleri

Hücre adezyon molekülleri, hemen hemen tüm hücrelerin yüzeyinde eksprese edilen glikoprotein moleküllerinden oluşan bir gruptur. Hücrelerin, sıklıkla da lökositlerin, birbirlerine, endotel hücrelerine veya ekstrasellüler matrikse bağlanmalarını sağlayan yüzey proteinleridirler.

Yaralanma ve enfeksiyona yanıtta oluşan özel sinyaller bazı adezyon moleküllerinin ekspresyonunu ve aktivasyonunu kontrol etmektedir. Hücre adezyon

moleküllerinin, reseptörlerine ve ligandlarına bağlanmaları ile oluşan yanıt ve etkileşim sayesinde; doku / organ gelişimi ve hücre proliferasyonu, embriyogenez, immün ve inflamatuvar hücrelerin inflamasyon bölgesine migrasyonu, immün yanıtın başlatılması ve yayılması, ekstrasellüler matriksten hücreye bilgi akışı, yara iyileşmesi, kanser metastazında rol oynadıkları bilinmektedir.

Selektinler: Geçici transmembran bağlayıcı divalan katyon bağımlı glikoproteinlerdir. Kalsiyum varlığında hücrelerin spesifik oligosakkaritlerini tanıyarak onları başka bir hücreye bağlarlar. Heterofilik adezyon yaparlar. Ligandları genellikle sialik glikanlardır. E-selektin, p-selektin ve l-selektin olmak üzere üç tipi vardır. L-selektin ve p-selektin birlikte çalışarak dolaşımdaki lökositlerin endotel hücreleri ile etkileşimine aracılık ederler. Başlangıçtaki bu zayıf etkileşimi e-selektin ve integrinlerin rol oynadığı kuvvetli etkileşim takip eder ve böylece lökositler endotele sıkı bir şekilde yapışırlar.

ICAM-1: Endotelyal hücrelerde, antijen prezente eden hücrelerde vb. eksprese edilen bir Ig superailisi üyesidir. Lökositlerin yapışmasında, migrasyonunda, immün ve inflamatuvar hücrelerin aktivasyonunda önemli role sahiptir.

Karsinogenez de hücre adezyon moleküllerinin rol aldığı bir başka durumdur. Başarılı bir karsinogenez için hücre adezyonunda normal doku çatısının bozulmasını kolaylaştıran bir değişiklik ve tümörün büyümesini sağlamak için angiogenez olmalıdır.

Son zamanlarda tanımlanan selektin ligandı sialik glikoproteinler, kolon adenokanserinin metastazında selektin aracılı adezyon için belirteçtirler.

2.2. Kanser ve Tromboz

Kanserli hastalar üzerinde yapılan birçok klinik, patolojik ve labratuvar çalışmaları hemen her çeşit tümör olgularında koagülasyon sisteminin lokal ve sistemik olarak aktive olabileceğini göstermiştir (11,13).

İlk olarak 1865 yılında Armand Trousseau'nun mide kanserli bir grup hastada venöz tromboz insidansının arttığını göstermesiyle, kanser ve tromboembolik hastalıkların birlikteliği ortaya konmuştur. İlk olarak gezici venöz tromboz olarak tanımlanmakla birlikte, malignite sürecinde görülen arteriyel ve venöz sistemin tromboembolik olayları da Trousseau Sendromu adı altında toplanmaktadır (9,12,13,15).

Tromboembolik hastalıklar sıklıkla, pankreas ve gastrointestinal sistemin müsin üreten adenokarsinomları, akciğer ve over kanserlerine eşlik ederler. Trousseau sendromu ve pankreas kanseri birlikteliği sık olmasına karşın, daha fazla görülen akciğer kanserinde tromboemboli gelişen olgu sayısı daha yüksektir (13,15,16).

Tromboembolizm kanserin önemli bir komplikasyonu olup sık görülen bir paraneoplastik sendrom olarak da kabul edilmektedir. Ayrıca kanser hastaları için önemli bir mortalite ve morbidite sebebidir (9,13,14).

Klinik olarak arteriyel ve venöz tromboemboli, gezici tromboflebit, pulmoner emboli, nonbakteriyel trombotik endokardit, akut veya kronik yaygın damar içi pıhtılaşma (DIC), yeni tanımlanan varyantlar olan periferik vasküler hastalık ve iskemik kalp hastalığı da Trousseau sendromu başlığı altında toplanmaktadır (9,15,16).

Tümör büyümesi ve hiperkoagulabilite arasında yakın ilişki vardır. Trombozu olmayan kanser hastalarında da koagülasyon testlerinde anormalliklerin olması bu hastalarda sürekli bir fibrin yapım ve yıkım sürecinin olduğunu düşündürmektedir. Fibrin ve diğer pıhtılaşma komponentleri trombojenezde rol aldığı gibi kanser hücrelerinin adezyonunda da rol alırlar. Birçok histopatolojik çalışmada fibrin ve trombosit plakları değişik tümörlerin çevresinde gösterilmiştir. Koagülasyonu lokal olarak aktive olması tümörün büyümesinde rol almaktadır (9,13).

Kanser hastalarında koagülasyon aktivasyonu, karmaşık ve çok faktörlüdür. Genel olarak protrombotik mekanizma kişinin tümöre karşı olan cevabı, kemoterapi, radyoterapi ve en önemlisi tümörün kendisi ile ilişkilidir. Kişinin tümöre karşı olan

cevabı; akut faz reaksiyonu, paraprotein üretimi, enflamasyon, nekroz ve hemodinamik bozukluklardır (14).

Kanser hücrelerinin koagulasyon sistemini aktive etmesi , prokoagulan madde üretmesi, fibrinolitik ve proagregan özelliklerinin olması, proinflamatuvar ve proanjyogenik sitokinlerin salınması, kan hücreleri ve damarlarla tümör arasında direk etkileşimi (endotel hücreleri, trombositler, lökositler) sonucunda gerçekleşmektedir Tümör hücrelerinin ürettiği prokoagulan maddelerden en çok bilinenleri doku faktörü ve kanser prokoagulanı olup, doku faktörü faktör VII ile kompleks oluşturarak faktör X ve IX'u aktive ederek koagulasyon sisteminin aktive olmasını sağlar. Kanser prokoagulanı, bir sistein proteinaz olup faktör V' ten bağımsız olarak da faktör X' u direk aktive eder (4). Bu madde ise normal dokularda bulunmazken kanser hücresi, amnion ve korion dokularında gösterilmiştir. İnterlökin 1 β , tümör nekroz faktör α (TNF α) gibi sitokinler ve bakteriyel lipopolisakkaritler bu faktörün ekspresyonunu arttırlar. Kanser hücresinde de bu faktör önemli oranda eksprese edilmektedir. Ayrıca tümör hücreleri fibrinolitik sistemi düzenleyen proteinleri de eksprese edebilir. Plazminojen aktivatör inhibitör aktivitesi artışı tromboz oluşumuna katkıda bulunur (4,9,13).

Tümör hücresi kaynaklı olan TNF- α , İnterlökin 1 β , VEGF gibi sitokinlerin esas hedefi damar endoteli ve lökositler olup, damar endotelinde prokoagulan aktiviteyi arttırlarken antikoagulan özelliği olan trombomodülin aktivitesini azaltırlar. Ayrıca plazminojen aktivatör inhibitör-1 aktivitesini arttırarak antitrombotik cevabıda azaltırlar. VEGF ise damar endotelinden doku faktörü salınımı ve neovaskülarizasyonu arttırır (9,13).

Tümör hücre yüzeyinde bulunan adezyon molekülleri sağlıklı hücrelerle tümör hücrelerinin etkileşimini sağlarlar. Kanserlerin hematojen yayılım sürecinde bu etkileşim kanser hücreleri ile endotel hücreleri, plateletler ve lökositlerle olmaktadır Doğrudan etkileşim ve buralardan salınan sitokinlerin etkisi ile tromboz oluşumu aktive olmaktadır. Tümöre özel protrombotik durum tümör büyümesi ve yayılımına katkıda bulunmaktadır. Trombin oluşumu ve fibrin yapımı sonucu koagulasyon bağımlı ve koagulasyon bağımsız tümör progresyonu oluşabilir (4,9,13).

Kanser hastalarında tromboz sıklığı tam olarak bilinmemektedir. Kanserinin tipine göre değişmekle birlikte gizli tromboz oranları %28 'in üzerinde görülürken otopsi serilerinde bu oran %50'ye kadar çıkmaktadır. Kanser hastalarında tromboembolik komplikasyon riski tanının ilk birkaç ayı ve uzak metastaz döneminde oldukça artmıştır (14).

Kanser hastalarındaki tromboz riski kanserin evresi ile de ilişkilendirilmiştir. Evre II meme kanserinde % 5-10 olan tromboz oranı evre IV meme kanserinde % 17.6 olarak tesbit edilmiştir. Ayrıca kalıtsal trombofilik yatkınlıkta tromboz riski daha fazladır (17,18,19).

Kanser hastalarında venöz tromboemboli riskini arttıran durumlar şunlardır:

1) İmmobilizasyon: Otopsi raporlarında kanser nedeni ile hastaneye yatan hastaların %14'ünde, kanser dışı nedenlerle hastaneye yatan hastaların %8'inde pulmoner emboli tesbit edilmiştir (20).

2) Cerrahi: Kanser hastalarında profilaksi yapılmazsa postoperatif dönemde iki kat fazla tromboemboli görülmektedir.

3) Kemoterapi: Kemoterapi alan yüksek grade gliomlarda %16, evre II meme kanserinde %7 oranında tromboz gösterilirken daha ileri meme kanserinde bu oran daha da artmaktadır. Tedaviye hormonoterapi eklenmesi de riski arttırmaktadır (21).

4) Santral venöz katater: Profilaksi yapılmadığında bir flebografi çalışmasında %37'ye ulaşan venöz tromboz bildirilmiştir (22).

5) Tromboemboli hikayesi: Bir kez tromboembolik olay geçiren kanser hastalarında rekürrens riski daha yüksektir (22).

2.3. Kanser Hastalarında Düşük Molekül Ağırlıklı Heparin Kullanımı

İntravenöz heparin yarım yüzyıldan uzun bir süredir venöz tromboembolide (VTE) etkili bir tedavi ve korunma sağlanmıştır ancak tedavinin izlemi ve yeterli serum düzeyinin sağlanması sorun olmuştur. Laboratuvar yöntemleri ile izlemi ve

doz ayarlaması gerektirmeyen DMAH'in biyoyararlanımı daha yüksektir ve plazma yarıömrü daha uzundur, böylece günde 2-3 enjeksiyona gerek kalmadan tedavi uygulanabilir. DMAH kullanım kolaylığının yanısıra etkinlik açısından da yeterli bulunmuştur. Klinik çalışmalarda ve metaanalizlerde DMAH ile tekrarlayan tromboembolizm ve ölüm oranlarının unfraksiyone heparine göre daha düşük olduğu saptanmıştır. DMAH ile kanama riskinin düşük doz heparin ve oral antikoagulan tedaviye göre daha az olduğu da belirtilmektedir. Ayrıca heparine bağlı trombositopeni ve osteoporoz da azalmıştır (2,4,5,23).

Kanserli hastalarda kronik intravasküler koagülasyon neticesinde hiperkoagülabilite olduğu ve bunun sonucunda rekürren trombozların meydana geldiği çok eskiden beri bilinmektedir. Çalışmalar, koagülasyon ve trombosit aktivasyonunun tümörün yaygınlığı ve büyümesi ile ilgili olduğunu göstermiştir. Bu hasta grubunda düşük molekül ağırlıklı heparin (DMAH) kullanılarak yapılan çalışmalarda venöz tromboembolilerin azaldığı gösterilmiştir (5,14,16,24).

Yaygın kanseri olan hastalarda VTE'nin önlenmesi için DMAH'in kullanıldığı çalışmada, VTE önlenmesi için DMAH'in oral antikoagulanlara iyi bir alternatif olduğu, laboratuvar takibi gerektirmediği, kanama ve trombositopeni gibi komplikasyonların sık gözlenmediği, tromboemboli profilaksisinin sağlandığı gösterilmiştir. Klinik çalışmalar DMAH'in derin venöz trombozlu kanser hastalarında yaşam süresini uzattığını göstermektedir (11,14).

Mousa SA. Ve arkadaşlarının yaptığı kanser ve tromboziste antikoagulanlar ile ilgili çalışmada, anfraksiyone heparin (UFH) ve DMAH'in tümör büyümesi ve metastazı üzerine birçok yoldan etkili olduğunu, heparin basic fibroblast growth faktör ve VEGF gibi anjiogenik büyüme faktörlerine bağlanması, büyüme faktörünün modülasyonu, doku faktör yolak inhibitörünün salınması gibi mekanizmalarla bu etkisini gösterebileceğini ve ayrıca UFH karşılaştırıldığında DMAH'in derin venöz trombozlu kanser hastalarında yaşam süresini uzattığını göstermiştir (2,4,5,6).

Kanser hastalarında hangi hastalara profilaksi yapılması gerektiği sorusunun net cevabı yoktur. Daha önce tromboz hikayesi olan ve trombozun yinelemesi için yüksek risk faktörleri taşıyan hastalarda tromboprofilaksi uygulanmalıdır. Bu hastalar

için profilaksi önemli bir konudur. Çünkü tromboz gelişimi prognozu kötüleştirilmektedir (25).

Düşük riskli grupta olan ancak cerrahi girişim yapılan veya uzun süreli immobilizasyonu olan hastalara profilaksi önerilmektedir. Büyük bir cerrahi operasyon geçiren kanser hastasında, venöz tromboemboli riski oldukça artar. Klasik profilaksi dozundan daha yüksek dozda veya sık olarak DMAH veya UFH veya oral antikoagulan (OAK) ile profilaksi önerilmektedir (11,14).

Yakın zamanda yapılan bir metaanalizde, uzun dönem tromboemboli tedavisinde OAK ve DMAH etkinlik yönünden karşılaştırılmış, etkinlikleri birbirlerine yakın bulunurken istatistiksel anlamlılığa ulaşmamakla birlikte DMAH kullanılan kanser hastalarında daha az tekrarlayan tromboz riski ve daha az kanama riski saptanmıştır. Bu bulguları destekleyen başka çalışmalarda vardır (23).

Prospektif kohort ve popülasyon temelli çalışmalarda kanser ve trombozu bulunan ve warfarin tedavisini kesen hastalarda aynı durumda kanseri olmayan hastalara göre rekürrens riski iki kat artmaktadır. Bu durumda warfarin tedavisine kontroendikasyon gelişmediği sürece INR değeri 2 –3 arasında olacak şekilde malignite aktif olduğu sürece devam edilmelidir (26). Aynı şekilde antikoagulan tedavi alan kanser hastalarında tedavi altında rekürrens riski, kanseri olmayan tromboz hastalarına göre 3-4 kat daha fazladır. Bu risk kanserin yaygınlığı ile ilişkilidir. Daha agresif ve uzun süreli tedavi ile risk azaltılabilir. Ancak komplikasyonların artmaması için iyi laboratuvar takibi yapmak gerekiyor (14).

DMAH oral antikoagulanlara göre daha maliyetli olmalarına rağmen, uygulaması kolaydır, gıdalardan, karaciğer yetmezliğinden etkilenmez, ilaçlar ve kemoterapotiklerle etkileşime girmez, uzun süreli ve güvenli bir şekilde kullanılabilir (1,14).

CLOT çalışması olarak bilinen çalışmada; semptomatik proksimal derin ven trombozu ve/ veya pulmoner embolisi bulunan 676 kanser hastası alınmıştı. Bir grup başlangıçta deltaparin ve 6 ay OAK, diğer grup ise sürekli deltaparin olacak şekilde randomize edilmişti. Çalışmanın sonlanım noktası; tekrarlayan tromboemboli, major

kanama oranları ve 1 yıllık sağkalım oranıdır (27). Altı ayda tekrarlayan tromboemboli insidansı; Deltaparin kolunda % 8.1, OAK kolunda %16 bulundu. Major kanama yönünden iki grup arasında anlamlı fark yoktu. Altı aylık deltaparin tedavisi rekürrens riskini daha yüksek oranda azaltırken bu tedavi en az OAK tedavisi kadar güvenli bulunmuştur. Oniki aylık kümülatif mortalite oranlarında metastatik kanser hastalarında sağkalım farkı göstermemiştir. Sınırlı kanser hastalarının bulunduğu alt grupta DMAH sağkalım avantajı (%20'ye karşı %35 P=0.03) saptandı (27).

Zacharski ve arkadaşları 1981 yılında küçük hücreli akciğer kanserinde, 1984 yılında diğer solid tümörlerde OAK kullanımının sağkalım üzerine olumlu etkisini göstermiştir (26).

1990'lı yıllarda çalışmalar UFH ve DMAH üzerine odaklanmıştır. 1994 yılında Lebeau ve arkadaşları çok merkezli ve 274 hastalık randomize çalışmalarında; bir gruba subkutan 5 hafta boyunca kemoterapi ile birlikte UFH uygulanmıştır. Plesoba koluna göre anlamlı tedavi cevabı ve sağkalım avantajı gözlenmiştir. Fakat bu sağkalım avantajı yaygın hastalık grubunda anlamlı düzeye ulaşmamıştır (28).

2000 yılında yapılan bir metaanalizde, venöz tromboembolide UFH ile DMAH kullanılan 30 çalışma, uzun dönem takip olan 9 çalışmanın 8' inde DMAH kullanan hastalarda sağkalım avantajı göstermiştir. Alt grup analizi yapılan 5 çalışmada bu avantajın kanser hastalarından kaynaklandığı belirtilmiştir. DMAH'in günde tek doz uygulanması iki doz uygulanması kadar etkili bulunmuştur. Majör ve minör kanama, tekrarlayan venöz tromboz, pulmoner emboli ve trombositopeni yönünden fark bulunmamıştır (29).

Kakkar AK ve arkadaşlarının "FAMOUS" olarak bilinen çalışmasında, 382 ileri evre solid tümörlü ve trombozu bulunmayan hasta, profilaktik dozda deltaparin ve plesebo gruplarına randomize edilmiştir. Her iki grup arasında sağkalım farkı yok iken (p=0.29), 17 ay ve üzerinde yaşayan iyi prognozlu hasta grupları karşılaştırıldığında anlamlı sağkalım avantajı görülmüştür (p=0.04) (16).

Altınbaş ve arkadaşlarının yaptığı randomize çalışmada, küçük hücreli akciğer kanseri hastaları (n=84) kemoterapi süresince Deltaparin proflaktik dozda alan ve almayan olarak randomize edilmiştir. Tedaviye bağlı komplikasyon görülmemiştir. Özellikle sınırlı hastalık grubunda daha belirgin olmak üzere tüm hastalarda tedavi ve sağkalım avantajı DMAH kullanan grupta ortaya konmuştur (30).

Klerk ve arkadaşlarının çalışmasında, lokal ileri evre veya metastatik trombozu bulunmayan 148 hasta altı hafta proflaktik dozda nadroparin, 154 hasta da plesoba almışlardır. Bir yıllık median takip sonunda tüm hastalar için sağkalım süresi nadroparin kolunda 8 ay iken, plesebo kolunda 6.6 ay rapor edilmiştir. Altı aydan daha uzun yaşam süresi olan hastalar için sağkalım nadroparin kolunda 15.4 iken plesebo kolunda 9.4 ay bulunmuştur (31).

Heparin, warfarin ve özellikle DMAH preparatlarının hastaların yaşam süresine olumlu etkilerinin olduğu rapor edilmiştir. Trombozun bizzat kendisinin ortadan kalkmasının bu sonucu doğurduğu söylene de, başka mekanizmalar da ileri sürülmüştür. Bunlar, tümör neovaskülarizasyonu inhibisyonu, tümör gelişimi engellenmesi, fetal tromboembolizmin önlenmesi olarak sayılabilir (23,32).

İdyopatik tromboembolizm gelişen hastalarda gizli kanser bulunma riski 3-19 kat daha fazladır. Prospektif bir çalışmada, d-dimer'in yüksek konsantrasyonlarının (≥ 400 mg/dl) saptandığı ve 60 yaşın altı hasta grubunda gizli kanser riski daha yüksektir. Bu çalışmada 218 derin ven trombozu hastası ve median 34 aylık takipte, yüksek d-dimer düzeyi olanların %13'ünde, düşük d-dimer düzeyi olanların %4'ünde kanser saptanmıştır (p= 0.048) (33).

Yeni teşhis konmuş kanser hastalarında idiyopatik tromboembolizm gelişme sıklığı %10 olarak bildirilmiştir. Yine bu hastalarda bilateral venöz tromboz riski de normalden daha fazladır. Bu konuda 3 büyük popülasyon temelli çalışma Danimarka, İsveç ve İskoçya'da yapılmıştır (11).

Danimarka toplum kökenli bir çalışmada; tromboemboli nedeni ile hastanede yatırılan hastalarda özellikle ilk bir yıl içerisinde kanser riskinin arttığı, en

sık pankreas, over, primer karaciğer ve beyin kanserlerinin genellikle ileri evrelerde başvurdukları gözlenmiştir. İsveç ve İskoç çalışmalarında tromboembolik olaydan 10 yıl sonra bile kanser riskinin arttığı gözlemlenmiştir (11).

Klinik çalışmalar DMAH'in derin venöz trombozlu kanser hastalarında yaşam süresini uzattığını göstermektedir. Ayrıca, anfraksiyone ve DMAH'in tümör büyümesi ve metastazı üzerindeki birçok yoldan etkin olabileceği ve ayrıca anfraksiyone heparinle karşılaştırıldığında DMAH'in derin venöz trombozlu kanser hastalarında yaşam süresini uzattığını göstermiştir (2,5,7,23).

Benzer şekilde derin venöz trombozlu kanser hastalarında düşük molekül ağırlıklı heparinin antifaktör 7a ve rekombinant doku faktör yolak inhibitörünün; anjiogenez, tümör büyümesi ve tümör metastazı üzerindeki modülasyonunu tanımlamıştır (1,2).

3. MATERİYAL ve METOD

Çalışmada profilaktik DMAH alan hastalarda, anjiogenez üzerine etkili olan büyüme faktörleri ve adezyon moleküllerinin değişiminin incelenmesi planlandı.

3.1. Çalışma Grubu

Çalışmaya, profilaktik DMAH kullanan metastatik ileri evre 32 kanser hastası alındı. Tüm hastalarda karaciğer tutulumu vardı. Çalışmaya alınan 40 ile 80 yaş arasındaki hastaların ortanca yaşı 64.5 yıldır.

Öyküsünde, kanama diyatezi, son 3 gün içinde cerrahi müdahale, aktif kanama, perikardit, yeni geçirilmiş kafa travması, kronik karaciğer hastalığı, kronik böbrek yetmezliği, periferik damar hastalığı, diabetes mellitus ve son üç ay içinde tromboembolik olay olan hastalar çalışma dışı bırakıldı.

Hastaların 14'ü kadın 18'i erkekti. Hastaların tanılarına göre dağılımında; mide kanseri 8, primeri belli olmayan metastatik karaciğer kanseri 5, kolorektal kanser 5, akciğer kanseri 4, ve meme kanseri 2 hasta olarak bulundu. Diğer kanserler birer hasta ile mesane kanseri, koledok kanseri, tiroit kanseri, endometriyum kanseri, abdominal liposarkom, abdominal leiomiyosarkom, böbrek kanseri, ve malign melanomdu. Tablo 2'de hasta ve kontrol grubu özellikleri gösterilmiştir.

3.2. Kontrol Grubu

16 sağlıklı gönüllü, kontrol grubu olarak çalışmaya alındı. Yaş ve cinsiyet olarak hasta grubuna benzer özelliklerde 1/2 oranında seçildiler. Kontrol grubu yaşları ortanca olarak 62 yıl ve sınırları 47 ile 70 yaş arasındaydı. Kontrol grubunun 6'sı kadın, 10'u erkekti. Hasta ve kontrol grubu arasında yaş ve cinsiyet bakımından anlamlı fark saptanmadı (Tablo 2).

Tablo 2: Hasta ve kontrol grubu özellikleri

Hasta grubu	
Hasta sayısı	32
Yaş (ortanca ve sınırlar)(yıl)	64.5(40-80)
Cinsiyet	
Kadın	14 (%43.7)
Erkek	18 (%56.3)
Tanı	
Mide kanseri	8
Primmeri bilinmeyen karaciğer metastazı	5
Kolorektal kanser	5
Akciğer kanseri	4
Meme kanseri	2
Diğer kanserler	8
Kontrol grubu	
Kontrol sayısı	16
Yaş (ortanca ve sınırlar)(yıl)	62 (47-70)
Cinsiyet	
Kadın	6 (%37.5)
Erkek	10 (%62.5)

3.3. DMAH Kullanımı

Hastalara, yaygın evre kanser hastaları olması ve sistemik tedavi planı nedeniyle profilaktik DMAH verilmesi planlandı. Profilaktik DMAH 60 kg'ın altında olanlara 2500 Ü Deltaparin sodyum, vücut ağırlığı 60 kg'ın üzerinde olanlara 5000 Ü Deltaparin sodyum olarak uygulandı. Tedavinin başlangıcında ve 7. gününde serum büyüme faktörleri ve adezyon molekülleri için kan örnekleri alındı.

3.4. Çalışma Düzeni

Çalışmada DMAH öncesi hasta grubundan ve kontrol grubundan serum örnekleri toplandı. 7 günlük profilaktik DMAH sonrası hasta grubunda tekrar serum örneği alındı.

Hastaların ve kontrol grubunun klinik olarak değerlendirilmesinden sonra, hasta grubunun tam kan sayımları, PT, APTT, fibrinojen, CRP, renal fonksiyonları, karaciğer fonksiyolarına bakıldı. Hastalar DMAH aldıkları dönemde derin ven trombozu ve kanama açısından değerlendirildi.

Hasta grubunda DMAH öncesi ve 7. günde elde edilen serum örnekleri ve kontrol grubunun ayrılan serum örneklerinde aynı zamanda HGF, EGF, PDGF, VEGF, FGF, p-selektin, e-selektin, ICAM çalışıldı.

3.4. Kan Örneklerinin Alınışı ve Hazırlanışı

Çalışmaya dahil ettiğimiz 32 hastadan çalışmaya alındıkları gün kan örnekleri alındı. DMAH tedavisinin 7. gününde tekrar kan örnekleri alındı. Alınan kanlar santrüfuj edildikten sonra serum ve plazması ayrılarak kapaklı ependorf tüplerine kondu ve -80 °C'de saklandı. Kontrol grubundan kan örnekleri bir kez alındı. Aynı uygulamalarla hazırlandı ve saklandı.. Numunelerin tümü birlikte çalışıldı.

3.5. Kullanılan Kimyasal Madde ve Reaktifler

EGF: RayBio markalı Human E-Selectin elisa kiti ile kullanım talimatına uygun şekilde serumdan çalışıldı. Sonuçlar pg/ml olarak verildi.

FBGF: BIOSOURCE markalı FGF basic elisa kiti ile kullanım talimatına uygun şekilde serumdan çalışıldı. Sonuçlar pg/ml olarak verildi.

VEGF: BIOSOURCE markalı VEGF elisa kiti ile kullanım talimatına uygun şekilde plazmadan çalışıldı. Sonuçlar pg/ml olarak verildi

HGF: BIOSOURCE markalı HGF elisa kiti ile kullanım talimatına uygun şekilde plazmadan çalışıldı. Sonuçlar pg/ml olarak verildi.

PDGF: RayBio markalı Human PDGF-BB elisa kiti ile kullanım talimatına uygun şekilde serumdan çalışıldı. Sonuçlar pg/ml olarak verildi.

e-Selektin: RayBio markalı E-Selectin elisa kiti ile kullanım talimatına uygun şekilde serumdan çalışıldı. Sonuçlar pg/ml olarak verildi

p-Selektin: Bender MedSystems markalı Human P-selectin elisa kiti ile kullanım talimatına uygun şekilde plazmadan çalışıldı. Sonuçlar ng/ml olarak verildi.

ICAM: CELL COM markalı SICAM-1 ELISA IM3247 elisa kiti ile kullanım talimatına uygun şekilde plazmadan çalışıldı. Sonuçlar ng/ml olarak verildi.

Tam kan sayımı: CELL-DYN 1800- ABBOTT / GERMANY markalı cihaz ile çalışıldı.

PT, aPTT, Fibrinojen: Sysmex CA-500 SERIES DADE BEHRING /GERMANY markalı cihaz ile çalışıldı.

Biyokimyasal parametreler: ABBOTT AERSET/JAPONYA markalı cihaz ile çalışıldı.

B12: BIODPC IMMULITE 2000/ USA markalı cihaz ile çalışıldı.

Folik asit, TSH, Ferritin: ABBOT ARCHİTET / JAPONYA markalı cihaz ile çalışıldı.

3.6. İstatiksel Analiz ve Etik

Çalışma başlangıcında Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu'ndan onay alındı. Çalışmaya katılan hasta ve sağlıklı kontrol grubundan yazılı olur formu alındı.

İstatistik analizler için istatistik paket programı kullanıldı. Hasta ve kontrol grubunun tanımlayıcı özelliklerinin belirlenmesinde deskriptif istatistik, hasta ve

kontrol grubunun serum seviyelerin belirtilmesinde ortanca, minimum ve maksimum değerler kullanıldı. Hasta grubu ile kontrol grubunun bağımsız değerlerinin karşılaştırılmasında Mann Whitney U testi kullanıldı. Hasta grubunda tedavi öncesi ve sonrası serum seviyelerin karşılaştırılmasında Wilcoxon testi kullanıldı. Deęerlerin kendi aralarındaki korelasyonu için pearson korelasyon analizi kullanıldı. İstatistiki anlamlılık olarak $p < 0,05$ kabul edildi.

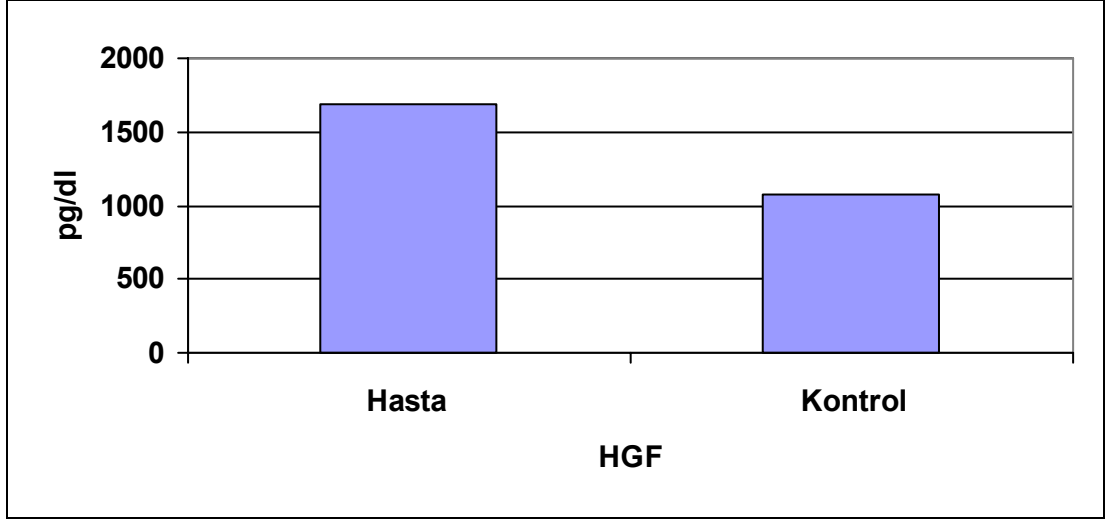
4. SONUÇLAR

Çalışmaya alınan 32 hastadan bir tanesi çalışmaya devam etmek istemediği için, biride ilk 7 gün içinde tümör progresyonu nedeniyle kaybedildiği için çalışma dışı bırakıldı. Toplam 30 hasta ve 16 kontrol grubunda anjiyogenik faktörler ve adezyon molekülleri çalışıldı. İlk 7 günlük tedavide DMAH kullanımı ile ilgili yan etki gözlenmedi. Bu dönemde hastalara kemoterapi verilmedi.

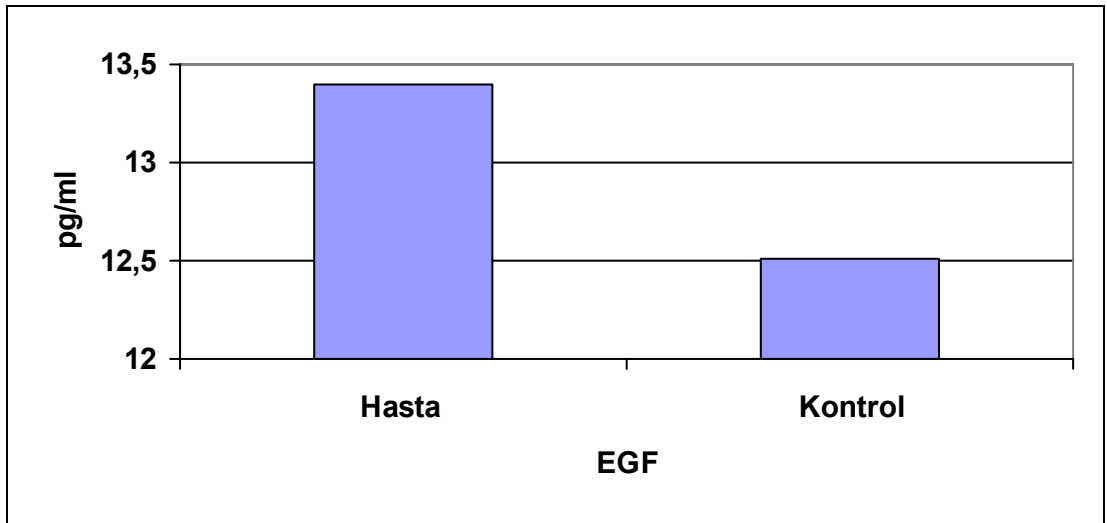
4.1. Anjiyogenik Faktörler

İleri evre kanser hastalarının tedavi öncesi anjiyogenik faktörlerin serum seviyelerinin kontrol grubunun kan seviyeleri ile karşılaştırılması tablo 3’de özetlenmiş ve şekil 2-6’de gösterilmiştir. Hasta grubunda anjiyogenik faktörlerden; HGF, EGF ve VEGF kontrol grubuna göre yüksek, PDGF ve FGF seviyeleri ise düşük saptandı. HGF’nin kan seviyesi hasta grubunda ortalama 1686,75 ng/ml, kontrol grubunda ise 1009,11 ng/ml saptandı. Hasta grubunun HGF seviyesi kontrol grubuna göre yüksek ve istatistiksel anlamlı bulunurken ($p = 0,006$) diğer faktörler istatistiksel anlamlığa ulaşmadı.

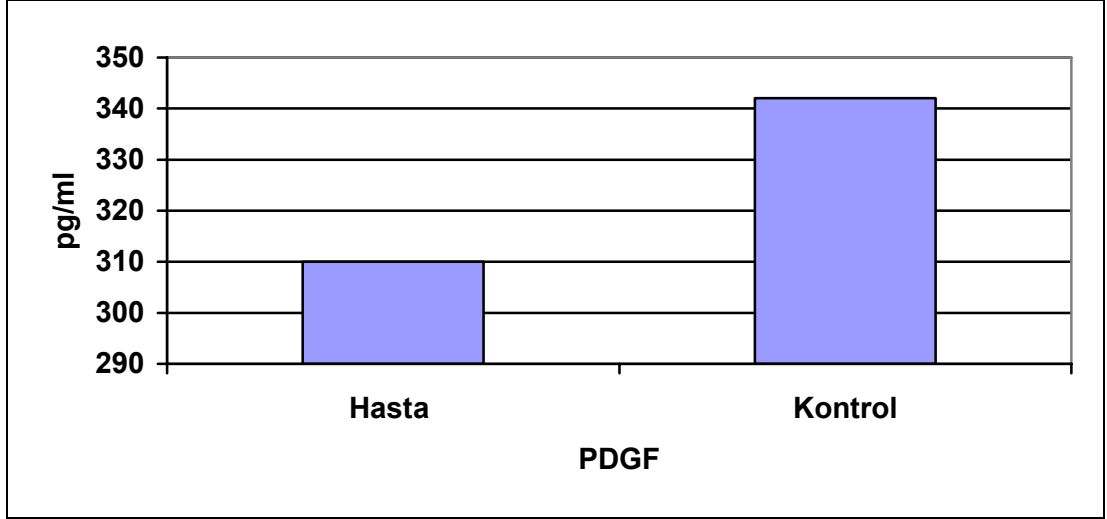
Anjiyogenik Faktörler	Hasta Grubu Ortanca (Sınırlar)	Kontrol Grubu Ortanca (Sınırlar)	p
HGF (pg/ml)	1686,75 (582,00-20900,90)	1069,11 (622,75-2367,40)	0,006
EGF (pg/ml)	13,40 (0,56-865,32)	12,51 (1,82-101,49)	0,782
PDGF (pg/ml)	310,38 (139,35-1356,41)	342,13 (342,1-384,56)	0,628
VEGF (pg/ml)	126,24 (15,33-386,77)	99,26 (12,78-272,64)	0,426
FGF (pg/ml)	51,23 (24,21-1901,61)	59,07 (41,18-104,18)	0,146



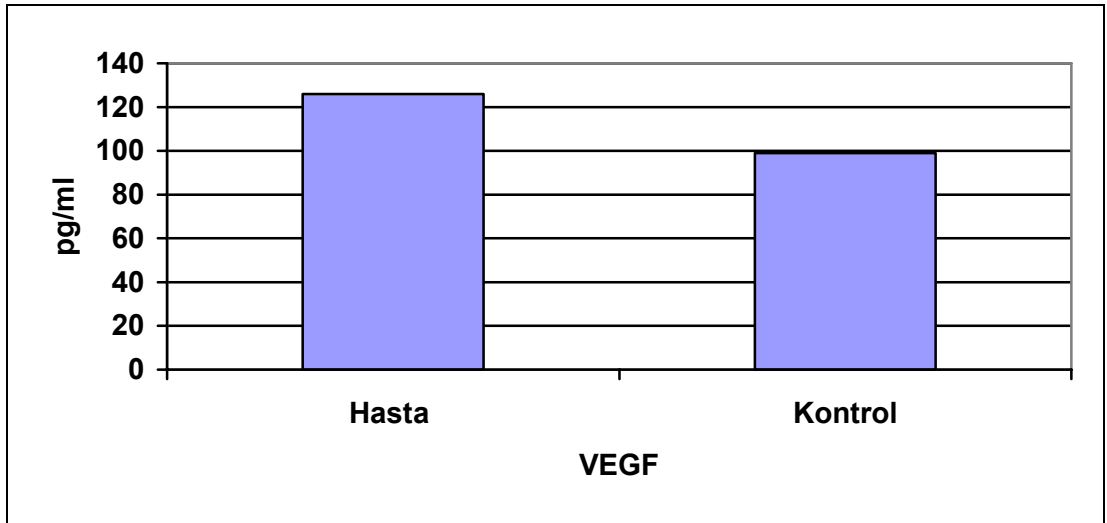
Şekil 2: HGF nin hasta ve kontrol gruplarında karşılaştırılması (P= 0,006)



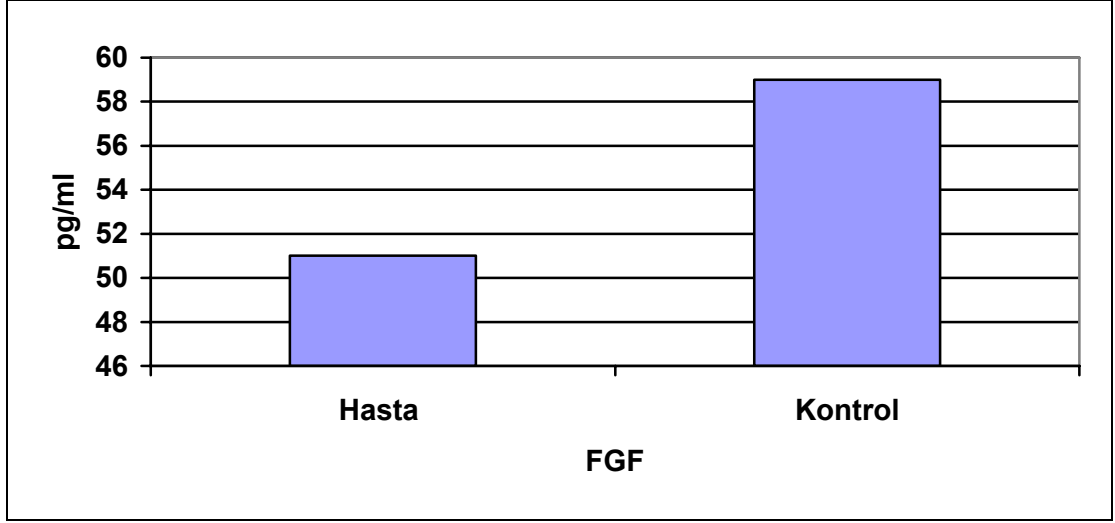
Şekil 3: EGF nin hasta ve kontrol gruplarında karşılaştırılması (p>0,05)



Şekil 4: PDGF nin hasta ve kontrol gruplarında karşılaştırılması ($p>0,05$).



Şekil 5: VEGF'ün hasta ve kontrol gruplarında karşılaştırılması ($p>0,05$).



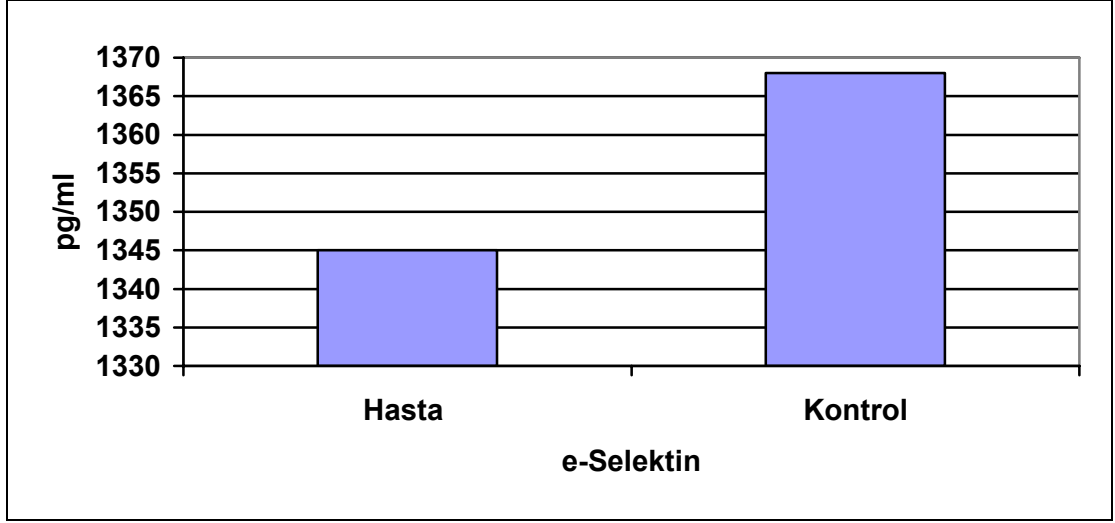
Şekil 6: FGF nin hasta ve kontrol gruplarında karşılaştırılması ($p>0,05$).

4.2. Adezyon Molekülleri

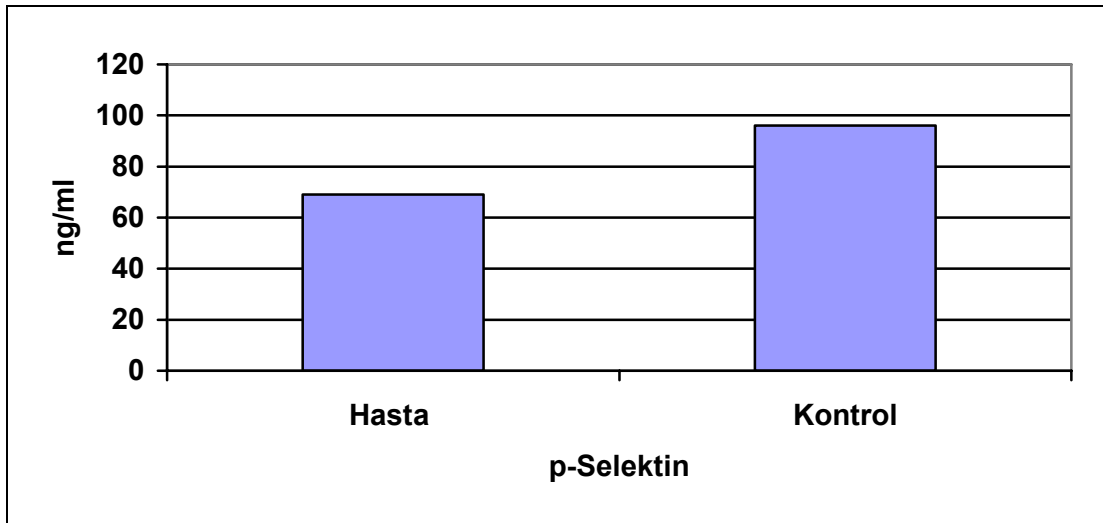
İleri evre kanser hastalarının tedavi öncesi adezyon moleküllerinin serum seviyelerinin kontrol grubu ile karşılaştırılması tablo 4 ve şekil 7-9’de gösterilmiştir. e-Selektin ve p-selektin seviyeleri hasta grubunda düşük bulundu. ICAM seviyeleri hasta grubunda 2,52 ng/ml’ye karşın kontrol grubunda 1,96 ng/ml olarak bulundu. Hasta grubunun ICAM seviyeleri kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı yüksekti ($p= 0,007$). e-Selektin ve p-selektin arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi.

Tablo 4: Adezyon moleküllerinin tedavi öncesi kontrol ile karşılaştırılması

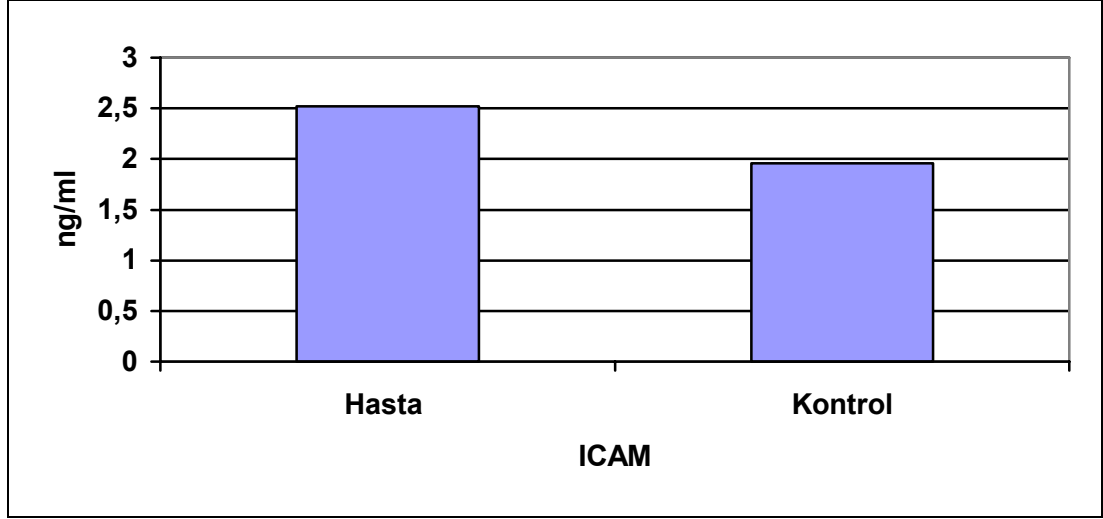
Adezyon Molekülleri	Hasta Grubu (Ortanca ve sınırlar)	Kontrol Grubu (Ortanca ve sınırlar)	p
e-Selektin (pg/ml)	1345,50 (946-1800)	1368,50 (1251-1606)	0,43
p-Selektin (ng/ml)	69,85 (1,30-403)	96,15 (30,90-256,40)	0,4
ICAM (ng/ml)	2,52 (0,67-3,27)	1,96 (1-2,79)	0,007



Şekil 7: e-Selektin'in hasta ve kontrol gruplarında karşılaştırılması ($p>0,05$).



Şekil 8: p-Selektin'in hasta ve kontrol gruplarında karşılaştırılması ($p>0,05$)



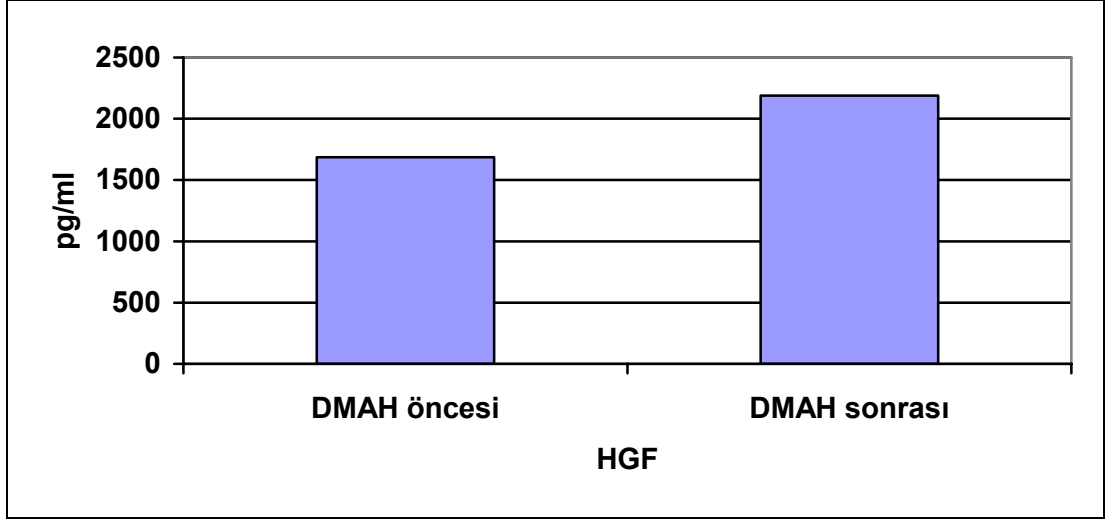
Şekil 9: ICAM nin hasta ve kontrol gruplarında karşılaştırılması ($p=0,007$).

4.3. Angiyojenetik Faktörler'in DMAH ile Değişimi

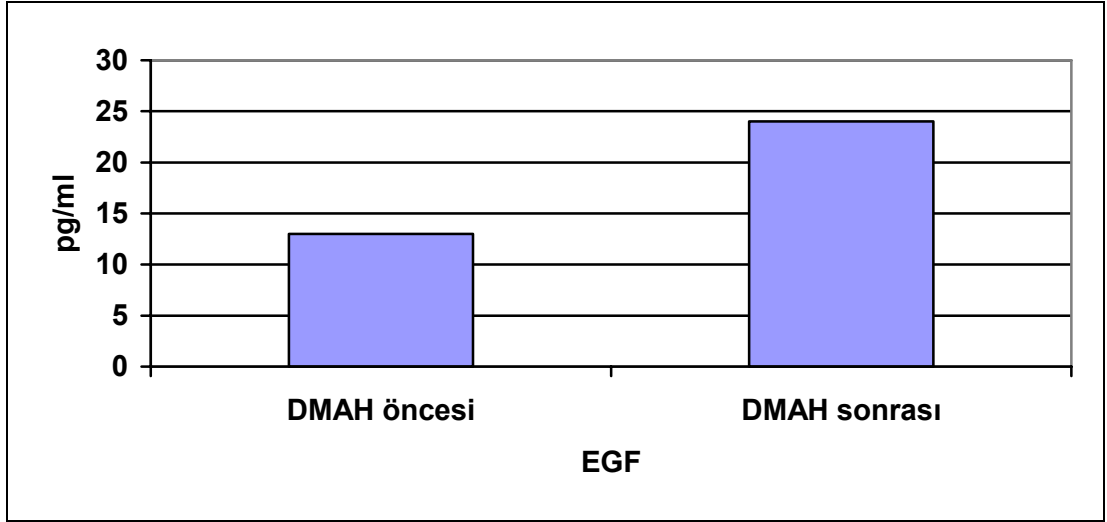
Hastaların anjiyogenik faktörlerinin seviyelerinin DMAH kullanımından önce ve sonraki karşılaştırması tablo 5 ve şekil 10-14'da özetlenmiştir. HGF ve EGF seviyeleri DMAH kullanımından sonra yükselirken VEGF, FGF ve PDGF seviyeleri azalmıştır. Tedavi öncesi ve sonrası saptanan değişiklikler hiçbir faktörde anlamlı değildir.

Tablo 5: Anjiyojenetik faktörler'in DMAH tedavisi öncesi ve sonrası değişimi

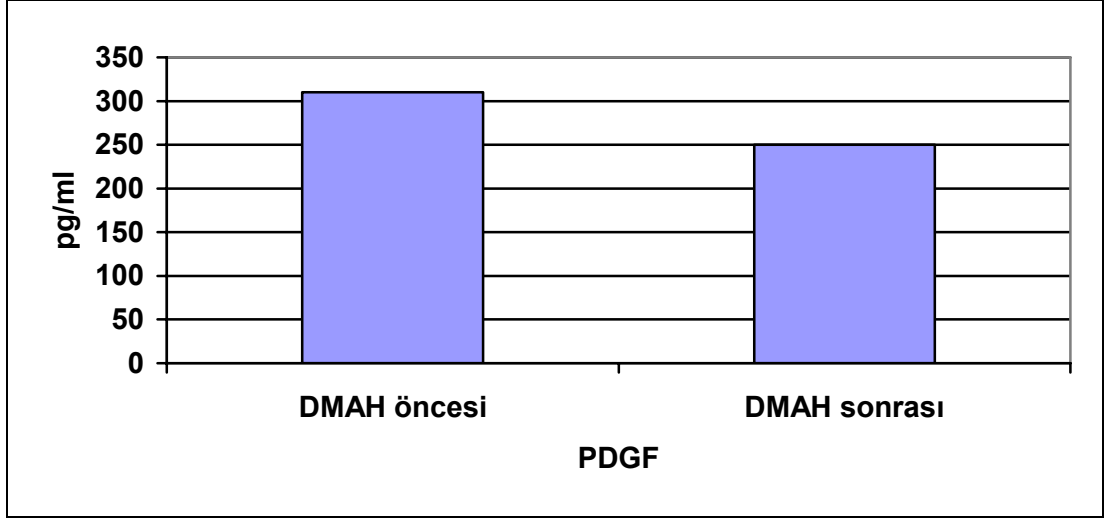
Anjiyogenik faktörler	Tedavi Öncesi (Ortanca ve sınırlar)	Tedavi Sonrası (Ortanca ve sınırlar)	p
HGF (pg/ml)	1686,75 (582,00-20900,90)	2188,85 (455,47-19345,60)	0,517
EGF (pg/ml)	13,40 (0,56-865,32)	24,87 (2,16-522,33)	0,153
PDGF (pg/ml)	310,38 (139,35-1356,41)	250,09 (52,03-1602,23)	0,894
VEGF (pg/ml)	126,24 (15,33-386,77)	115,43 (24,10-433,86)	0,877
FGF (pg/ml)	51,23 (24,21-1901,61)	49,37 (26,53-489,15)	0,153



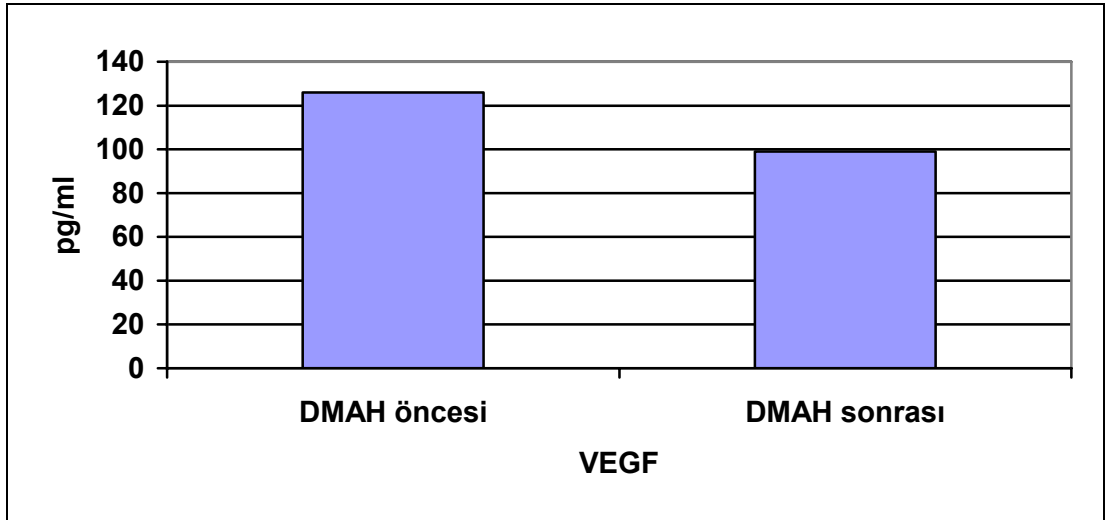
Şekil 10: HGF seviyelerinin hastaların DMAH kullanımından öncesi ve sonrası karşılaştırılması ($p>0,05$)



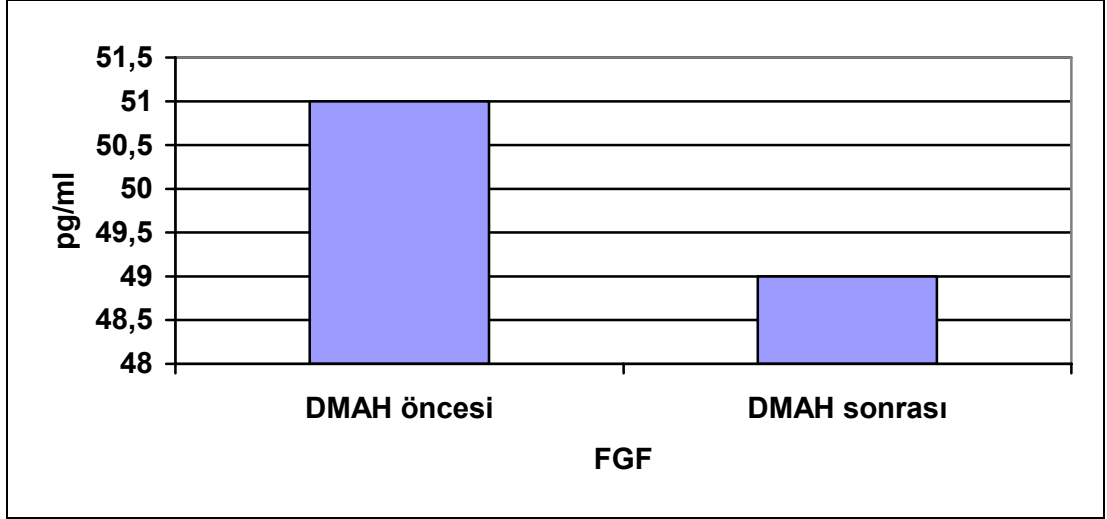
Şekil 11: EGF seviyesinin hastaların DMAH kullanımından öncesi ve sonrası karşılaştırılması ($p>0,05$)



Şekil 12: PDGF seviyelerinin hastaların DMAH kullanımından öncesi ve sonrası karşılaştırılması ($p>0,05$)



Şekil 13: VEGF seviyelerinin hastaların DMAH kullanımından öncesi ve sonrası karşılaştırılması ($p>0,05$)



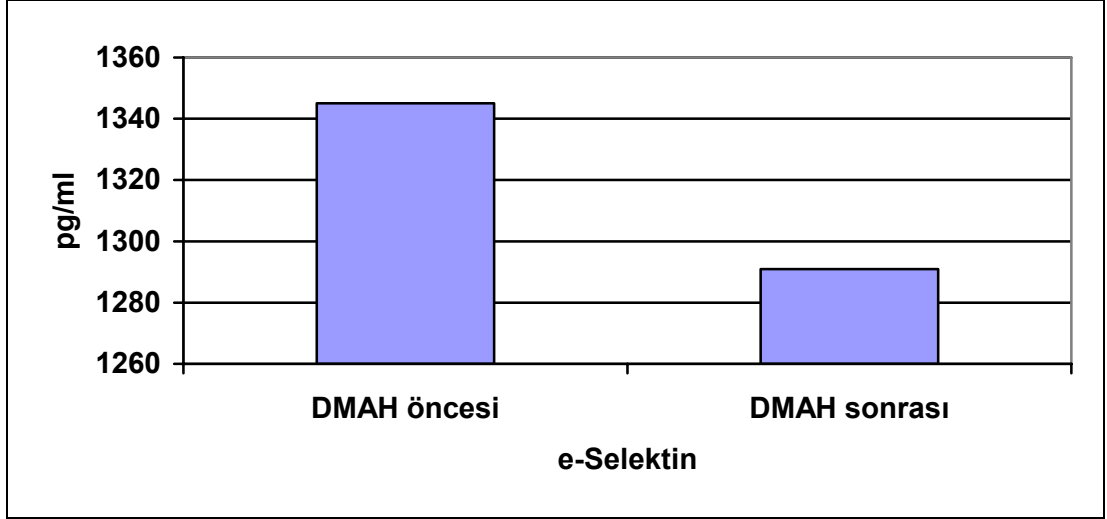
Şekil 14: FGF seviyelerinin hastaların DMAH kullanımından öncesi ve sonrası karşılaştırılması ($p>0,05$)

4.4. Adezyon Moleküllerinin DMAH ile Değişimi

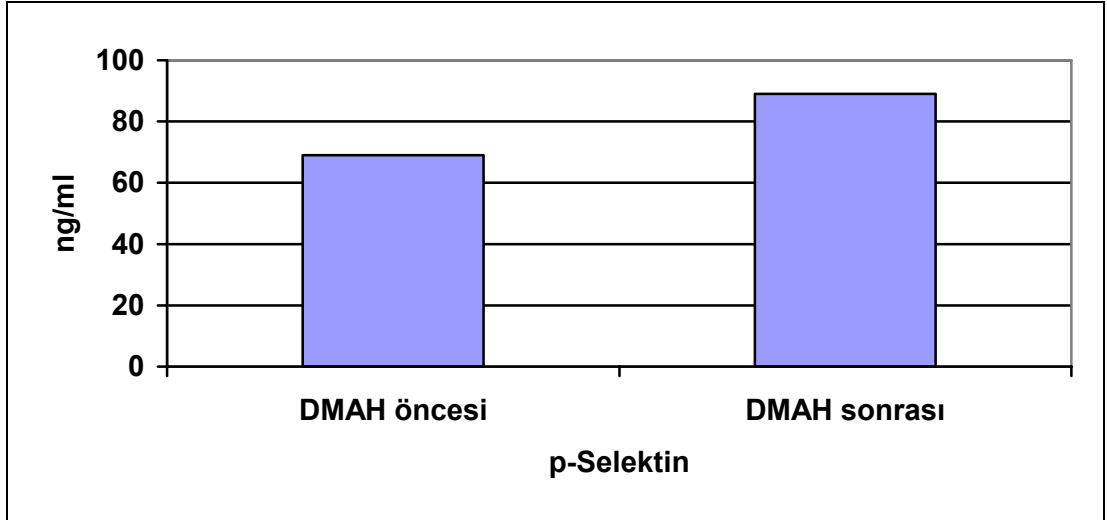
Hastalarının DMAH öncesi adezyon moleküllerinin serum seviyeleri DMAH sonrası adezyon moleküllerinin serum seviyeleri ile karşılaştırıldı. ICAM ve e-Selektin'de DMAH ile tedaviden sonra serum seviyelerinde düşme gözlenmiştir. DMAH ile tedavi sonrası p- Selektin seviyesi ise artmıştı. Tedaviden sonra görülen değişim e-selektin ve p-selektinde anlamlı değilken ICAM'da anlamlılığa yakın bulundu ($p=0,067$). Sonuçlar tablo 6'da ve şekil 15-17'de özetlenmiştir.

Tablo 6: Adezyon molekülleri'nin DMAH ile değişimi

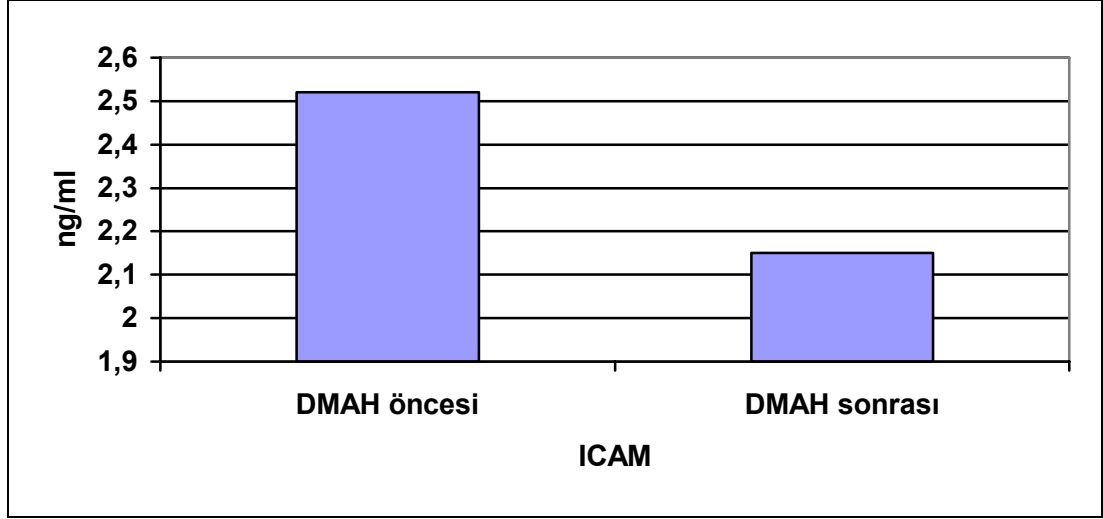
Adhezyon Molekülleri	Tedavi Öncesi (Ortanca ve sınırlar)	Tedavi Sonrası (Ortanca ve sınırlar)	p
e-Selektin (pg/ml)	1345,50 (946-1800)	1291,50 (782,00-1729)	0,185
p-Selektin (ng/ml)	69,85 (1,30-403)	89,80 (23,30-510,70)	0,478
ICAM (ng/ml)	2,52 (0,67-3,27)	2,15 (0,89-3,29)	0,067



Şekil 15 : e-Selektin seviyelerinin hastaların DMAH kullanımından önce ve sonrası karşılaştırılması ($p>0,05$)



Şekil 16: p-Selektin seviyelerinin hastaların DMAH kullanımından önce ve sonrası karşılaştırılması ($p>0,05$)



Şekil 17: ICAM seviyelerinin hastaların DMAH kullanımından önce ve sonrası karşılaştırılması (p=0.067)

4.5. Adenokanser Histolojisine Göre Anjiyogenik Faktörler ve Adezyon Molekülleri

Hastalar adenokanser olan 17 hasta ile diğer histopatolojiye sahip 13 hasta grubunda değerlendirildiğinde, iki hücre tipi arasında tedavi öncesinde analiz edilen tüm faktörler için birbirinden anlamlı farklı değildi. DMAH tedavisi sonrasında büyüme faktörleri ve adezyon moleküllerinde e-selektin ve p-selektinde anlamlı değişim bulunmadı. ICAM adenokanserlerde 2,6 ng/ml'den 2,17 ng/ml'ye gerileyerek anlamlı bir azalma gösterirken (p=0.001) diğer histopatolojik tiplerde stabil kalmıştı. Adenokanserler ve diğer hücre tipleri için sonuçlar tablo 7 ve 8'de özetlenmiştir.

Anjiyogenik faktörler	Tedavi Öncesi		Tedavi Sonrası	
	Adenokanser (Ortanca ve sınırlar)	Diğer kanserler (Ortanca ve sınırlar)	Adenokanser (Ortanca ve sınırlar)	Diğer kanserler (Ortanca ve sınırlar)
HGF (pg/ml)	1862,3 (727,6-19825,3)	1420,8 (582,0-20900,9)	2292,9 (455,4-17784,7)	1155,3 (790,1-19345,6)
FGF (pg/ml)	47,6 (24,2-15,1)	57,3 (41,6-1901,6)	49,2 (26,5-72,9)	50,5 (29,0-489,1)
EGF (pg/ml)	8,9 (2,1-865,3)	22,5 (0,56-120,1)	29,0 (2,1-522,3)	24,4 (2,2-244,0)
PDGF (pg/ml)	296,6 (175,4-575,6)	324,0 (139,3-1356,4)	314,8 (52,0-1095,8)	207,2 (98,3-1602,2)
VEGF (pg/ml)	138,1 (15,3-372,5)	123,8 (53,8-386,7)	126,9 (24,1-433,8)	103,2 (32,8-185,2)

Adezyon molekülleri	Tedavi Öncesi		Tedavi Sonrası	
	Adenokanser (Ortanca ve sınırlar)	Diğer kanserler (Ortanca ve sınırlar)	Adenokanser (Ortanca ve sınırlar)	Diğer Kanserler (Ortanca ve sınırlar)
e-Selektin (pg/ml)	1301 (1011-1649)	1452 (946-1800)	1275 (782-1729)	1342 (974-1705)
p-Selektin (ng/ml)	51,40 (1,3-3,1)	106,60 (18-403)	72,60 (23,30-510,70)	115,40 (38,5-508,6)
ICAM (ng/ml)	2,6* (2,0-3,2)	2,1 (0,6-2,7)	2,17* (0,8-3,1)	2,1 (1,5-3,2)

*p=0.001

4.6. Korelasyon Analizleri

Tedavi öncesi ve sonrası tüm faktörlerin kendi aralarındaki korelasyonları incelendi. Tedavi öncesi HGF; PDGF, p-selektin ve VEGF ile, PDGF; VEGF, e-selektin, p-selektin ile, EGF ile p-selektin, e-selektin ile p-selektin korele bulundu. Tedavi sonrası HGF; PDGF ve EGF ile, PDGF; FGF, p-selektin ile, EGF; ICAM ile korele olarak saptandı.

Anjiyogenik faktörlerin ve adezyon moleküllerinin tedavi öncesi ve sonrası birbiri ile korelasyonları anlamlı bulunan sonuçlar tablo 9'da özetlenmiştir.

Tablo 9: Tedavi öncesi ve sonrası korelasyon sonuçları

	R	p
Tedavi öncesi korelasyon		
HGF ve PDGF	0,488	0,006
HGF ve p-selektin	0,369	0,045
HGF ve VEGF	0,393	0,032
PDGF ve p-selektin	0,661	0,000
PDGF ve VEGF	0,456	0,011
PDGF ve e-selektin	0,622	0,000
EGF ve p-selektin	0,496	0,005
e-selektin ve p-selektin	0,458	0,011
Tedavi sonrası korelasyon		
HGF ve PDGF	0,475	0,008
HGF ve EGF	0,440	0,015
PDGF ve FGF	0,455	0,012
PDGF ve p- selektin	0,821	0,000
EGF ve ICAM	-0,545	0,002

5. TARTIŞMA

Tromboz kanser hastalarında sık rastlanan bir komplikasyon ve ölüm nedenidir. Tromboz altta yatan malignitenin ilk semptomu olabileceği gibi, tedavi anında ve sonrasında da görülebilir. Cerrahi, radyoterapi ve kemoterapi gibi tüm kanser tedavileri tromboz riskini artırmaktadır (5,16).

Kötü prognozlu kanser tiplerinde daha yüksek sıklıkla tromboembolik komplikasyon gelişmekle birlikte, trombozun farklı tümör tiplerinde sıklığı değişmektedir. Kanser hastalarında gizli ya da klinik bulgulu tromboz olayları %28'in üzerinde görülürken bu oran otopsi serilerinde %50'ye kadar çıkabilmektedir (17,18). Pankreas ve gastrointestinal sistemin musin üreten adenokarsinomaları, akciğer kanseri, over kanseri, endometriyal kanser, gliyal tümörler, akut promyelositik lösemi, myeloproliferatif hastalıklar ve meme kanseri venöz tromboemboli ile en sık ilişkili tümör tipleridir (16).

Kanser hastalarında tromboembolik komplikasyon riski tanının ilk birkaç ayı ve uzak metastaz döneminde artmıştır (17,18). Tromboembolik atak geçiren yada tromboembolik komplikasyon sonrası tanı konan hastaların, tromboz gözlenmeyen hastalara göre prognozu daha kötüdür (16).

Malignitede koagülasyon ve trombosit aktivasyonu, tümör büyümesi ve yayılımı üzerinde anlamlı etkiye sahiptir. Son bulgular tümörün uyardığı koagülabilitenin sadece tromboza yatkınlığı değil, ayrıca tümör anjiyogenezi ve metastaza da katkı sağlayabileceğini göstermektedir (5). Çalışmalar, kanser hastalarında tromboz profilaksisini giderek daha fazla önermektedir. Pek çok çalışmada kanser hastalarında DMAH ile tedavinin yaşam süresi üzerinde önemli katkı sağlayabileceği gösterilmiştir.

Kanser ve tromboziste antikoagulanlar ile ilgili çalışmalarda, anfraksiyone heparin ve DMAH'in tümör büyümesi ve metastazı üzerinde birçok yolda etkin olduğunu, bu etkisinde heparin basic fibroblast growt faktör ve VEGF gibi anjiogenik büyüme faktörlerine bağlanıp büyüme faktörünü modüle ederek ve doku

faktör olarak inhibitörünün salınmasını sağlayarak gösterebileceği belirtilmiştir (2,4,5,6).

Bu çalışmada anjiyogenezde önemli rol alan büyüme faktörlerinin ve adezyon moleküllerinin DMAH altındaki değişimin incelenmesi planlanmıştır. Tromboz tedavisinde genellikle önce heparin veya DMAH ile bir indüksiyon tedavisi başlanmakta ve sonrasında oral antikoagulanlarla tedaviye devam edilmektedir. Son çalışmalarda daha uzun süreli DMAH kullanılmasını cesaretlendiren klinik sonuçlar vardır. Özellikle kanser hastalarında DMAH kullanımı ile sağkalım katkısının gösterilmiş olması kanserli hastalarda oral antikoagulanlara geçmeden DMAH ile idame tedavisinin yapılması gerektiği fikrini ortaya çıkarmaktadır. Çalışmalarda orta ve uzun süreli DMAH kullanımının güvenle yapılabileceğini ve bunun yaşam süresine olumlu yansıtılabileceğini düşündüren bulgular vardır.

Kanserli hastalarda derin ven trombozu tedavi çalışmalarında heparin ve DMAH'in kısa bir indüksiyon kullanımından sonra oral antikoagulanlara geçilmiş yada profilaktik kullanımda DMAH'ler nisbeten kısa süreli kullanılmıştır. Bu nedenle bu çalışmada DMAH'in anjiyogenezde etkili olan faktörler üzerine etkileri kısa süreli DMAH kullanımı sonrası değişimi incelenmiştir. Çalışmada 5 büyüme faktörü, HGF, EGF, PDGF, FGF ve VEGF ile 3 adezyon molekülü e-selektin, p-selektin ve ICAM'ın kısa süreli DMAH kullanımı ardından değişimleri incelenmiştir.

Çalışmada ilk önce beş büyüme faktörü ve 3 adezyon molekülünün serum seviyeleri hasta grubu ve sağlıklı kontrol grubunda karşılaştırıldı. Hasta grubunda HGF, EGF, VEGF ve ICAM seviyeleri yüksek saptanırken, PDGF, FGF, e-selektin ve p-selektin kontrol grubunda yüksek bulundu. Aradaki farklardan sadece HGF'ün hasta grubunda yüksek bulunması anlamlı değerleri istatistiksel olarak anlamsızdı.

Bu faktörlerden VEGF nin ekspresyonunun çeşitli solid tümörlerde anjiyogenez ve kötü prognoz ile ilişkili olduğu daha önceki çalışmalarda gösterilmiştir (34). Özellikle meme ve prostat kanseri gibi hormon bağımlı tümörlerde östrojen ve androjenlerin tümör dokusunda VEGF ekspresyonunu artırdığı gösterilmiştir (34). VEGF pek çok kanser için aynı zamanda prognozun da kötü bir göstergesidir. FGF düzeylerinin mesane kanseri, meme kanseri, glioma,

hepatoselüler kanser, melenoma, küçük hücre dışı akciğer kanseri, pankreatik adenokarsinom, prostat adenokarsinom, renal hücreli kanserde klinik ile korele olduğu gösterilmiştir (35). Ayrıca kök hücreden kaynaklanan lösemi ve lenfomalarda da düzeyi artar (36). Ayrıca serum FGF ve VEGF düzeyleri yüksekliği artmış endotelial aktivite, enfeksiyon, doku yıkımı, enflamasyon ve ayrıca normal hücre içeren aktive makrofaj, renal glomerular epitelyal ve mesengiyal hücrelerde, keratinositlerde de gösterilmiştir (34). EGFR karsinojenetik yolda hücre büyümesi, apoptozis, anjiyogenez, hücre hareketi ve metastazda rol oynar (38). EGF reseptörünün küçük hücre dışı akciğer kanseri, baş boyun kanserleri, kolorektal kanserler, meme kanseri gibi çeşitli insan kanserlerinde çok fazla eksprese olduğu bilinmektedir (38). PDGF arteriyal düz kas hücrelerinin proliferasyonunun dan sorumlu olduğu gösterilen serumdaki ilk komponenttir. Çok çeşitli dokularda bulunur ve pek çok görevi vardır. PDGF ve PDGF reseptörü, santral sinir sistemi tümörleri, sarkomlar, germ hücre tümörleri ve gastrointestinal karsinomları da içeren pek çok tümör tipinde eksprese edilir (39). HGF yine pek çok kanser türünde serum seviyeleri artmış olarak bulunmaktadır.

Genelde çalışmalarda kanser hastalarında büyüme faktörlerinin serum seviyelerinin artmış gözlenmesine karşın bizim kontrol grubu ile karşılaştırmamızda istatistiksel anlamlılığı olmasa da değişken sonuçlar bulundu. Bunun hastaların tümör tipi açısından homojen olmaması ile ilişkisi olabileceği düşünülmüştür.

Selektinler lokositler, trombositler ve endotelial hücreler arasında adezyonu sağlayan bir grup hücre lektindir. Selektinler normalde hücre yüzeyinde çok az miktarda eksprese edilirler. İnflamatuvar uyarı olunca p-selektin endotelial hücrelerin depo granüllerinden salgılanır, e-selektin ise uyarı olduğunda sentezlenir ve inflamatuvar mediyatörler tarafından endotel hücrelerinin yüzeyine gönderilir (40). Selektinlerin artmış miktarı lokositlerin yavaşlamasına ve damar duvarına yapışmasına neden olur. Selektinler ayrıca dolaşımdaki tüm kanser metastazı sırasında tümör hücrelerinin endotele yapışmasını sağlarlar (40). e-Selektin'in meme ve kolon kanserlerinde metastazda çok güçlü rol oynadığı düşünülmektedir, kolon kanser hücrelerinin endotel hücrelerine yapışmasını sağladığı gösterilmiştir. p-Selektinin de çeşitli tümör hücrelerine bağlandığı gösterilmiştir (41). ICAM,

endotelial hücrelerde ve bazı lökositlerde ekspresyon edilir. Ekspresyonu tümör tarafından salınan sitokinlerce artırılır. Artmış ICAM I düzeyleri daha önce kolorektel kanser, meme kanseri, mide kanserinde ve melanomada gösterilmiştir. Serum düzeyi daha önceki çalışmalarda tümörün evresi ve metastaz gelişimi üzerine etkisi korele görülsede yaşam süresi ile tam olarak ilişkisi bilinmemektedir (41).

Çalışılan üç adezyon molekülünden ICAM hasta grubunda anlamlı yüksek iken diğer iki molekül e-selektin ve p- selektin kontrol grubunda yüksekti fakat fark istatistiksel olarak anlamsızdı. Yine bu değişken sonuçlar hasta heterojenitesi ile ilişkili olabilir.

DMAH tedavisinden sonra HGF ve EGF seviyeleri yükselirken VEGF, FGF ve PDGF seviyeleri azalmıştır. Adezyon moleküllerinden p-selektin tedavi ile artarken e-selektin ve ICAM azalmıştır. Değişiklikler istatistiksel anlamlılığa ulaşmamıştır. Sadece ICAM için DMAH sonrası düşmesi istatistiksel anlamlılığa yaklaşmıştır (p=0.067).

HGF'nin plazma düzeylerinde yükselme trombozisle ilişkili bulunmuş, ancak nedeni tam açıklığa kavuşturulamamıştır. Mast hücrelerinde trombin reseptörleri bulunmaktadır. Trombüs oluşumu ile trombin miktarı artar ve trombin mast hücrelerindeki reseptörlerine bağlanıp mast hücrelerinin degranülasyonuna neden olur. Salınan heparin benzeri faktör hızla HGF artışına neden olur. "Matsumoto K, Nakamura T. Heparin functions as a hepatotrophic factor by inducing of hepatocyte growth factor" isimli çalışmasında deneysel hepatektomi yapılan farelerde heparin tedavisinden 12 saat sonra HGF düzeylerinde artış gösterilmiştir (34). Yine klinik çalışmalarda meme kanseri ve sağlıklı gönüllülerde heparin enjeksiyonundan 30 dk sonra HGF düzeylerinde yükselme tesbit edilmiştir (37). Diğer faktörlerin heparinden etkilenmesi ile ilgili net bulgular yoktur.

DMAH ile faktörlerin değişken sonuçları HGF dışındaki faktörler için güç izah edilebilmektedir. Bunun muhtemel nedenlerinden biri tedavi süresi ile ilişkili olabilir. Özellikle DMAH'in kanser hastalarında sağkalımı uzattığı gösteren çalışmalarda DMAH daha uzun kullanılmıştır. Bizim çalışmamızda DMAH kullanımı 7 gün ile sınırlıdır.

Çalışmamızda adenokanser olan 17 hasta ile diğer histopatolojiye sahip 13 hasta grubunda değerlendirildiğinde anjiyogenik faktörlerde histopatolojik tipe göre anlamlı değişim yoktu. Adezyon moleküllerinde e-selektin ve p-selektin anlamlı değişim göstermezken ICAM adenokanserlerde istatistiksel anlamlılığa ulaşan düşme gösterdi ($p=0,001$). Adenokanserlerde özellikle müsin üreten tiplerinde çok daha sık görülmesi ve ICAM'ın adenokanser histopatolojisine sahip hastalarada anlamlı düşmenin gözlenmesi DMAH'in etkilerinin bu hasta grubunda daha detaylı incelenmesi için hedef oluşturmaktadır.

Çalışmamızda hastaların tedavi öncesi anjiyogenik faktörleri ve adezyon moleküllerinin korelasyonuna bakıldı. HGF; PDGF, VEGF, p-selektin ile, PDGF; VEGF, p-selektin, e-selektin ile EGF; p-selektin ile ve e-selektin; p-selektin ile korele bulundu. Tedavi sonrası anjiyogenik faktörler ve adezyon moleküllerinin korelasyonunda ise HGF; PDGF, EGF ile, PDGF; FGF, p-selektin ile ve EGF; ICAM ile korele bulundu. Korelasyonların hem tedavi öncesi hem de sonrasında olması bu moleküllerin ortak bir mekanizmada görev aldıklarını desteklemektedir. DMAH sonrası korelasyonun değişik faktörler içinde olması da izahı güç olmakla beraber kanser hastalarında tüm faktörlerin çok yönlü bir etkileşim altında olduğunu düşündürmektedir.

Biz DMAH'in tümör anjiyogenezindeki faktör düzeylerinin değişimini incelemeyi hedefledik. Hastaların kısa bir uygulama sonrası faktör düzeyleri kontrol edildi. DMAH'in sağkalıma katkısını gösteren klinik çalışmalarda diğer profilaktik veya derin ven trombozu çalışmalarından daha uzun süreli kullanıldığı dikkat çekmektedir. Bulduğumuz değişken sonuçlar bu kısa kullanım süresi ile ilişkili olabilir. Daha uzun süreli kullanımda ve homojen hasta grubunda DMAH ve anjiyogenez ilişkisinin incelenmeye devam edilmesi gereklidir.

ÖZET

Kanser ve tromboz ilişkisi çok eskiden beri bilinmektedir. Kanserli hastalarda tromboz hastalığının biyolojisi ve tedavi ile ilişkili olabilir. Klinik çalışmalarda DMAH'in kanser hastalarında yaşam süresini uzattığı gösterilmiştir. DMAH'in tümör büyümesi ve metastazı üzerinde birçok yoldan etkin olduğu düşünülmektedir. Biz çalışmamızda, DMAH tedavisinin anjiyogenik faktörler üzerindeki etkisini araştırdık.

Çalışmada SDÜ Tıp Fakültesi Tıbbi Onkoloji Bilim Dalında profilaktik DMAH kullanan yaşı 18-80 yaş arasında ortanca yaşı 64,5 yıl olan, 32 ileri evre kanserli hasta değerlendirildi. Sağlıklı gönüllülerden yaş ve cinsiyet olarak hasta grubuna benzer özellikte olmak üzere 1/2 oranında 16 kontrol grubu oluşturuldu. DMAH tedavi öncesi ve 7. günde VEGF, HGF, FGF, EGF, PDGF, ICAM, p-selektin ve e-selektin serum düzeyleri incelendi.

Hasta grubunda HGF ve ICAM bazal düzeyleri kontrol grubuyla karşılaştırıldığında daha yüksekti. EGF ve VEGF düzeyleri tedavi grubunda kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı yüksekliğe ulaşmadı. DMAH tedavisinden sonra VEGF, FGF, PDGF, ICAM, e-selektin düzeylerinde düşme gözlenirken, HGF, EGF, p-selektin düzeylerinde yükselme saptandı. Hiçbir değişiklik istatistiksel olarak anlamlı değildi.

Adenokanser histolojisine sahip 17 hastanın diğer kanserler ile karşılaştırmasında tedavi öncesi faktörlerde ve DMAH sonrası faktörlerin değişiminde gruplar arasında ICAM dışında farklılık bulunmadı. ICAM adenokanser grubunda DMAH tedavisi ile istatistiksel anlamlı olarak düştü. DMAH tedavisi öncesi HGF; PDGF, VEGF, p-selektin ile, PDGF; VEGF, p-selektin, e-selektin ile, EGF; p-selektin ile ve e-selektin; p-selektin ile korele bulunurken tedavi sonrası HGF; PDGF, EGF ile, PDGF; FGF, p-selektin ile ve EGF; ICAM ile korele bulundu.

Kısa süreli DMAH uygulamasını takiben ICAM dışındaki faktörlerde belirgin değişiklik saptanmadı. ICAM özellikle adenokanserlerde anlamlı olarak düşük bulundu. DMAH ile anjiyogenik faktörlerin uzun dönem de etkileşiminin incelenmesi gereklidir.

Anahtar kelimeler: Anjiyogenik faktörler, kanser, düşük molekül ağırlıklı heparin

SUMMARY

Effects of low molecular heparin on angiogenic factors in high stage cancer patients

The relationship between cancer and thrombosis is known for many years. Thrombosis can be associated with the biology and therapy of the disease in cancer patients. Low molecular weight heparin (LMWH) is shown to increase the duration of life in several types of cancer in clinical trials. Low molecular weight heparin is thought to be inhibit with tumor growth and metastasis in several ways. In our study, we evaluate effects of LMWH therapy on angiogenic factors.

Thirty-two advanced cancer patients who used prophylactic LMWH before actual chemotherapy in SDÜ School of Medicine whose median age was 18-80, were included in this study. Sixteen healthy volunteers that are of same age and gender with study patients comprised the control group. VEGF, HGF, FGF, EGF, PDGF, ICAM, p-selectin, e-selectin levels were evaluated before and 7 days after LMWH therapy.

In baseline measurements HGF and ICAM levels were higher in treatment group compared the control group. But, levels of EGF and VEGF were not statistically significant higher in the treatment group compared to control group. After LMWH therapy, VEGF, FGF, PDGF, ICAM, e-selectin levels appeared to decrease and HGF, EGF, p-selectin levels appeared to increase but none of these changes were statistically significant. In a subset of seventeen patients with adenocancer, levels of ICAM declined significantly after LMWH therapy this group.

Before LMWH therapy; HGF was correlated with PDGF, VEGF, p-selectin, e-selectin; EGF was correlated with p-selectin; e-selectin was correlated with p-selectin. After therapy HGF was correlated with PDGF and EGF; PDGF was correlated with FGF and p-selectin; EGF was correlated with ICAM.

In summary, with a short course of LMWH therapy a change in angiogenic biomarkers was observed only in adenocancer patients and this change was limited only to ICAM levels in larger studies.

Key words: Angiogenetic factors, cancer, low-molecular weight heparin.

KAYNAKLAR

1. Mousa SA. Low molecular-weight heparin in trombozis and cancer. *Semin Thromb Hemost* 2004; (Suppl 1): 25-30.
2. Mousa SA, Mohamed S. Inhibition of endothelial cell tube formation by the low molecular weight heparin, tinzaparin, is mediated by tissue factor pathway inhibitor. *Thromb Haemost* 2004; 92: 627-633.
3. Samama MM, Cohen AT, Darmon J, et al. A Comparison of enoxaparin with placebo for the prevention of venous thromboembolism in acutely medical patients. *N Engl J Med* 1999; 341: 793-800.
4. Mousa SA. Antikoagulanlar in trombozis and cancer: the missing link. *Expert Rev Anticancer Ther* 2002; 2: 227-233.
5. Amirkhosravi A, Mousa SA, Amaya A and Francis L. Antimetastatic effect of tinzaparin, a low-molecular-weight heparin. *J Thromb Haemost* 2003; 1: 1972-1976
6. Bobek V, Kovarik J. Antitumor and antimetastatic effect of warfarin and heparins. *Biomedicine Pharmacotherapy* 2004; 58: 213-219.
7. Felmeden DC, Blonn AD, Lip GY. Angiogenesis: basic pathophysiology and implications for disease. *Eur Heart J* 2003; 24: 586-603.
8. Konukođlu D, Turhan S. M. Molecular basis of angiogenesis mechanisms and tumor angiogenesis. *Cerrahpařa J Med* 2005; 36: 42-48.
9. Prandoni P, Piccioli A, Girolami A. Cancer and venous thromboembolism: an overview. *Hematologica* 1999; 84: 437-445.
10. Hurwitz H, Fehrenbacher L, Novontny W. et al. Bevacizumab plus irinotecan, fluorouracil and leucovorin for metastatic colorectal cancer. *N Engl J Med* 2004; 350: 2335-2343.
11. Monreal M, Zacharski L, Jimenez JA, Roncales J and Vilaseca B. Fixed-dose low-molecular-weight heparin for secondary prevention of venous thromboembolism in patients with disseminated cancer: a prospective cohort study. *J Thromb Haemost* 2004; 2: 1311-1315.
12. Falanga A. The effect of antikoagulant drugs on cancer. *J Tromb Haemost* 2004; 2:1263-1265.
13. Prandoni P, Falanga A, Piccioli A. Cancer and venous thromboembolism. *Lancet Oncol* 2005; 6: 401-410.
14. Geerts WH, Pineo GF, Bergqvist D, Lassen MR, Colwell CW, Ray JG. Prevention of venous thromboembolism. *Chest* 2004; 126: 338-405.

15. Köksal D, Karnak D, Kayacan O, Beder S. Kanserli hastalarda tromboembolik hastalıklar. *Akciğer Arşivi* 2002; 3: 125-128.
16. Kakkar AK and Levine MN. Thrombosis and cancer: implications beyond Trousseau. *J Tromb Haemost* 2004;2: 1261-1262.
17. Blom JW, Doggen CJM, Osanto S, Rosendal FR. Malignencies, prothrombotic mutations and the risk of venous thrombosis. *JAMA* 2005; 293: 715-722.
18. Xie WZ, Leibl B, Clark MR, Dohrmann P, Kunze T, Gieseler F. Activation of the coagulation system in cancerogenesis and metastation. *Biomdicine & Pharmacotherapy* 2005; 59: 70-75.
19. Levine MN, Hirsh J, Gent M et al. Doubl-blind randomised trial of very low dose warfarin for prevention of thromboembolism in stage IV breast cancer. *Lancet* 1994; 343: 886-889.
20. Mousa SA, Mohamed S. Anti-anjiogenik mechanisms and efficacy of the low molecular weight heparin, tinzaparin: Anti-cancer efficacy. *Oncol Rep* 2004; 4: 683-688.
21. Cheruku R., Tapazoglou E, Ensley J, Kish JA, Cummings GD, Sarraf M. The incidence and significance of thromboembolic complications in patients with high-grade gliomas. *Cancer* 1991; 68: 2621-2624.
22. Kwaa HC, Kee HN. Very low doses of warfarin can prevent thrombosis in central venous catheters. *Ann Intern Med* 1990; 112: 423-428.
23. Iorio A, Guercini F, Pini M. Low molecular weight heparin for the long term treatment of symptomatic venous thromboembolism: meta-analysis of the randomized comparisons with oral anticoagulants. *J Thromb Haemost* 2003; 1: 1906-1913.
24. Büller HR, Agnelli G, Hull RD, Hyers TM, Prins MH, Raskob GE. Antitrombotic therapy for venous thromboembolic disease. *Chest* 2004; 126: 401-428.
25. Enoxacan study group. Efficacy and safety of enoxaparin versus unfractionated heparin for prevention of deep vein thrombosis in elective cancer surgery: a double-blind randomized multicentre trial with venographic assessment. *Br J Surg* 1997; 84: 1099-1103.
26. Zacharski LR, Henderson WG, Rickles FR et al. Effect of warfarin anticoagulation on survival in carcinoma of the lung, colon, head, neck and prostate. *Cancer* 1984; 53: 2046-2052.
27. Lee AY, Levine MN, Baker RI et al. Low molecular weight heparin versus coumarin for the prevention of recurrent venous thromboembolism in patients with cancer. *New Engl J Med* 2003; 349:146-153.
28. Labeau B, Chastang C, Brechot JM et al. Subcutaneous heparin treatment increases survival in small cell lung cancer. *Cancer* 1994; 74: 38-45.

29. Dolovich LR, Ginsberg JS, Douketis JD, Holbrook AM, Cheah G. A Metaanalysis comparing low molecular weight heparins with unfractionated heparin in the treatment of venous thromboembolism. *Arch Intern Med* 2000; 160: 181-188.
30. Altınbaş M., Coskun H.S., Er O. et al. A randomized clinical trial of combination chemotherapy with and without low molecular weight heparin in small cell lung cancer. *J Thromb Haemost* 2004; 2: 1266-1271.
31. Klerk CP, Smoreburg SM, Otten HM et al. The effect of low molecular weight heparin on survival in patients with advanced malignancy. *J Clin Oncol* 2005; 23: 2130-2135.
32. Zachorski LR, Prandoni P, Monreal M. Warfarin versus low-molecular-weight heparin therapy in cancer patients. *The Oncologist* 2005; 10: 72-79.
33. Heit JA, Mohr DN, Silverstein MD, Petterson TM, Fallon WM, Melton LJ. Predictors of recurrence after deep ven thrombosis and pulmonary embolism. *Arch Intern Med* 2000; 160: 761-768.
34. Toi M, Bando H, Weich HA. Vascular endothelial growth factor and its relationships with endogenous inhibitors in a breast cancer microenvironment manipulated by hormonal therapy: a hypothetical consideration. *Biomedicine& Pharmacotherapy* 2005; 59: 344- 347.
35. Presta M, Dell'era P, Mitola S, Moroni E, Ronca R, Rusnati M. Fibroblast growth factor / fibroblast growth factor receptor system in angiogenesis. *Cytokine & Growth Factor Reviews* 2005; 16: 159-178.
36. Khnykin D et al. The expression of fibroblast growth factors and their receptors in hodgkin's lymphoma. *J Pathol* 2006; 208: 431-438.
37. Matsumoto K, Nakamura T, Heparin functions as a hepatrophic factor by inducing of hepatocyte growth factor 1996; 227: 455-461.
38. Rampaul RS, Pinder SE, Nicholson RI, Gullick WJ, Robertson JF, Ellis IO. Clinical value of epidermal growth factor receptor expression in primary breast cancer. *Adv Anat Pathol* 2005; 12: 271-278.
39. Platelet-derived growth factor (PDGF) and glial tumorigenesis. *Cancer Letters* 2006; 232: 139-147.
40. Nair KS, Naidoo R, Chetty R. Expression of cell adhesion molecules in esophageal carcinoma and its prognostic value. *J. Clin. Pathol* 2005; 58:343-351.
41. Alexiou D, Karayiannakis AJ, Syrigos KN, Zbar A, Kremmyda A, Bramis I, Tsigris C. Serum levels of e-selectin, ICAM-1 and VCAM-1 in colorectal cancer patients: correlations with clinicopathological features, patient survival and tumour surgery. *European Journal of cancer* 2001; 37: 2392-2397.