

T.C.
İSTANBUL BİLİM ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANA BİLİM DALI
TIBBİ ONKOLOJİ BİLİM DALI

PSGL-1 VNTR POLİMORFİZMİ, DOKU FAKTÖRÜ ve
SOLUBL P-SELEKTİNİN ADENOKANSER
HASTALARINDA TROMBOZA KATKISI

Uz. Dr. Mustafa Bozkurt

Uzmanlık Tezi

Tez Danışmanı:

Prof. Dr. Osman Gökhan DEMİR

İSTANBUL-2012

DNA tells what possibly,

RNA what probably and

Proteins what actually happens

TEŞEKKÜR

Yandal asistanlığım süresince akademik katkılarından öte hekimlik felsefeme katkıları için değerli hocam Prof. Dr. Osman Gökhan DEMİR başta olmak üzere, eğitimime büyük katkı sağlayan değerli hocalarım Prof. Dr. Reyhan DİZ KÜÇÜKKAYA' ya, Prof. Dr. Levent ERDEM' e, Prof. Dr. Mutlu ARAT' a, Prof. Dr. Süheyla APAYDIN' a, Prof.Dr. Aslı Çungurlu'ya, Doç. Dr. Şefik İĞDEM' e, Prof. Dr. Gülen BÜLBÜL DOĞUSOY' a, Rektörümüz Prof. Dr. Hakan BERKKAN' a ve Dekanımız Prof. Dr. Çavlan ÇİFTÇİ' ye teşekkür ederim.

Tezimin yapım aşamasında büyük yardımlarını gördüğüm Prof. Dr. Zafer AKÇALI ve Yrd. Doç. Dr. Veysel Sabri Hançer'e, tezimin şekillerini çizen sevgili kardeşim Kemal BOZKURT'a teşekkür ederim.

Yandal asistanlığım boyunca birlikte çalıştığım değerli arkadaşlarım Dr.Kerem OKUTUR, Dr.Kübra AYDIN'a, Dr.Esat NAMAL, Dr.Akın ÖZTÜRK ve Dr.Kezban Nur Güneş'e; İç Hastalıkları Anabilimdalı asistan hekimlerine; Sorumlu Hemşirelerimiz Tijen, Duygu ve Meltem Hemşire şahsında tüm hemşirelere ve personeline teşekkür ederim.

Beni bu noktaya taşıyan fedakar anneme, babama; üç yıllık maratonda ipi hep birlikte göğüslediğimiz eşim Ayşegül ve oğullarım Alptuğ ve Göktuğa çok teşekkür ederim.

KISALTMALAR

PSGL-1 VNTR	: P-selectin Glycoprotein Ligand-1 Variable Numbers of Tandem Repeats
F V	: Faktör V
F VIII	: Faktör VIII
F IX	: Faktör IX
FX	: Faktör X
F XI	: Faktör XI
PAI-1	: Plasminogen activator inhibitor-1
PAI-2	: Plasminogen activator inhibitor-2
DF	: Doku faktörü
TFPI	: Tissue Factor Pathway Inhibitör
LMWH	: Düşük molekül ağırlıklı heparin
VTE	: Venöz tromboemboli; alt ekstremitte derin ven trombozu, pulmoner emboli, port trombozu ve satral/proksimal ven trombozunu ifade eden genel kısaltma
Alt ekstremitte DVT	: Alt ekstremitte derin ven trombozu
PE	: Pulmoner emboli
AT	: Antitrombin
MET	: MET onkogeni
MAPK	: Mitogen-activated protein kinase
PI3K	: Phosphatidylinositol 3'-kinase
VEGF	: Vascular endothelial growth factor
PAR	: Protease-activated receptors

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	iii
KISALTMALAR	iv
İÇİNDEKİLER.....	v
I-GİRİŞ.....	10
II-KANSER ve TROMBOZ.....	13
KANSERDE TROMBOZ EPİDEMİYOLOJİSİ	13
Venöz Tromboembolinin Doğal Seyri	14
Kanserde Venöz Tromboemboli: Mortalite ve reküran VTE.....	15
III-KOAGULASYON BİYOLOJİSİ	17
HÜCRE TEMELLİ KOAGULASYON MODELİ	18
Aktive Trombositlerin Rolü	20
Trombosit-Lökosit ve Trombosit-DF İlişkisinin Rolü	21
KANSER ve HEMOSTATİK SİSTEM BAĞLANTISININ KLİNİK KANITLARI.....	24
KANSERİN HEMOSTATİK SİSTEME ETKİLERİ	25
Prokoagulan, fibrinolitik ve proagregan aktiviteler.....	25
Tümör Kaynaklı Sitokinler.....	25
HEMOSTAZIN KANSER GELİŞİMİNE ETKİLERİ	25
Koagulasyon Bağımsız Mekanizma	25
Koagulasyon Bağımlı Mekanizma	25
PROKOAGULAN FONKSİYON VE METASTAZ	26
IV- KANSER ve VTE RİSK FAKTÖRLERİ.....	27
Hospitalizasyon ve Cerrahi	27
Kemoterapi	27
Hormonoterapi	28
Anti-anjiyojenik Tedavi	28
Santral Venöz Kateter	28
Yüksek Trombosit ve Lökosit Sayısı	28
Doku Faktörü.....	29
Solubl P-selektin	29
Kanser Tipi.....	29
Tanı Sonrası Erken Dönem	29
ADENOKANSER VE TROMBOZ	30
AMAÇ.....	31
V-GEREÇ VE YÖNTEM	32

DF VE SOLUBL P-SELEKTİN DÜZEYLERİNİN ELISA YÖNTEMİ İLE BELİRLENMESİ ...	32
PSGL-1 VNTR POLİMORFİZMİNİN ARAŞTIRILMASI	33
SONUÇLARIN YORUMLANMASI	33
VI-BULGULAR.....	35
VII-TARTIŞMA.....	40
Port Trombozu-Santral/proksimal ven Trombozu.....	40
Doku Faktörü.....	41
Solubl P-selektin	42
Çalışmanın Eleştirisi.....	42
VIII-ÖZET	43
IX-SUMMARY.....	44
KAYNAKLAR.....	45

FIGÜRLER LİSTESİ

Figur 1.1 - Armand Trousseau 1801-1867	10
Figur 1.2 - Prokuagulan aktivite onkogen mutasyonuyla, karsinogenez sürecinin parçası olarak başlar. Bu durum, kanser tanısı konulmadan çok önce tromboz oluşumunu açıklamaktadır (Yardena Samuels, Alberto Bardelli, Carlos López-Otín. The Cancer Genome. DeVita, Hellman, and Rosenberg's Cancer: Principles & Practice of Oncology, 9e. 2011. p.3 Figur 1.1'den modifiye edilmiştir)	12

TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 1.1- Patogenez: Virchow Triadı.....	11
Tablo 4.1- Kemoterapi VTE risk çalışmaları	27
Tablo 4.2- Adenokarsinomda VTE riski	30
Tablo 6.1- Bulgu özeti.....	35
Tablo 6.2- PSGL-1 polimorf tipi ile VTE lokalizasyon ilişkisi	38
Tablo 6.3- Doku Faktörünün ilişkili olduğu değişkenler	39

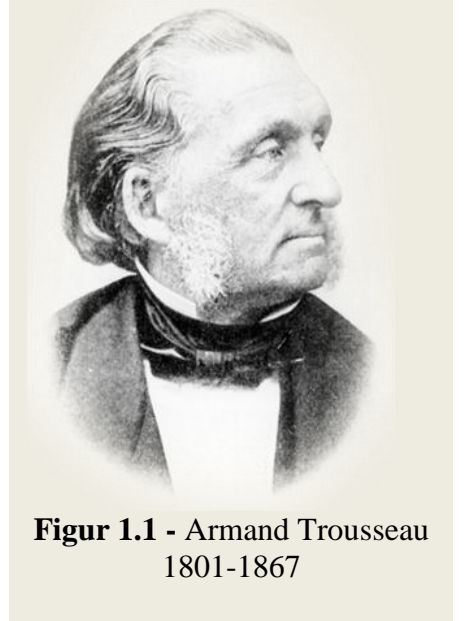
ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1- Khorana, A.A., et al. J Clin Oncol, 2006. 24(3): p. 484-90.....	15
Şekil 2.2- Prandoni, P. et al. Blood, 2002. 100(10): p. 3484-8.	16
Şekil 3.1- Colman, R.W. J Exp Med, 2006. 203(3): p. 493-5.....	17
Şekil 3. 2- Dougald M. Monroe III, M.H., Harold R. Roberts, <i>Williams Hematology</i> 2010, McGraw-Hill. p. 1835-1839'dan modifiye edilmiştir.	18
Şekil 3.3- Dougald M. Monroe III, M.H., Harold R. Roberts, <i>Williams Hematology</i> 2010, McGraw-Hill. p. 1835-1839'dan modifiye edilmiştir.	19
Şekil 3.4- Dougald M. Monroe III, M.H., Harold R. Roberts, <i>Williams Hematology</i> 2010, McGraw-Hill. p. 1835-1839'dan modifiye edilmiştir.	20
Şekil 3.5- Dougald M. Monroe III, M.H., Harold R. Roberts, <i>Williams Hematology</i> 2010, McGraw-Hill. p. 1835-1839'dan modifiye edilmiştir.	21
Şekil 3.6- Diz-Kucukkaya, R., et al. Ann Rheum Dis, 2007. 66(10): p. 1378-80.	22
Şekil 3.7- Dougald M. Monroe III, M.H., Harold R. Roberts, <i>Williams Hematology</i> 2010, McGraw-Hill. p. 1835-1839'dan modifiye edilmiştir.	23
Şekil 3.8- Miller, G.J. et al. J Thromb Haemost, 2004. 2(12): p. 2107-14.	24
Şekil 4.1- Varki, A. Blood, 2007. 110(6): p. 1723-9.	31
Şekil 5.1- PCR ürünlerini gösteren agaroz jel fotoğrafı. 1,4,5,7 AA (558 bp); 3,8,10,11 AB (558+528 bp), 9 BB (528 bp).	33
Şekil 6.1- VTE, adenokanser hastalarında genel sağkalımı kısaltmaktadır.	36
Şekil 6.2- Solubl p-selekti ROC eğrisi (a) AUC %65 (p=0.036) (b) çapraz tablo (c) ve grafik anlatım(d)	37
Şekil 6.3- PSGL-1 heterozigot polimorfik tip port trombozu ve santral/proksimal ven trombozunda daha sıktır.	38

I-GİRİŞ

Kanser hastalığında tromboz sıklığının yüksek olduğu uzun zamandan beri bilinmektedir. Daha sonra kendi adıyla Trousseau Sendromu olarak literatüre geçecek klinik tablo Armand Trousseau tarafından 1865 yılında dile getirildi. Aslında, 1823’de Bouillaud üç kanser hastasında bacak veninde “*fibrin pıhtısı*” nedeniyle oluştuğu açıklamasını getirdiği ödemden bahsetmişti [1-3]. Trousseau, Clinique Medicale de l'Hotel-Dieu de Paris’te verdiği derste, şimdi artık derin ven trombozu (DVT) olarak bildiğimiz “*Phlegmatia alba dolens*” terimini ağırlı, beyaz ödem için kullanarak, kanserle ilişkilendirdi.

“ I have long been struck with the frequency with which cancerous patients are effected with painful edema in the superior or inferior extremities, whether one or other was the seat of cancer. This frequent concurrence of phlegmasia alba dolens with an appreciable cancerous tumor, led me to the inquiry whether a relationship of cause and effect did not exist between the two, and whether the phlegmasia was not the consequence of the cancerous cachexia. I have since that period had an opportunity of observing other cases of painful edema in which, at the autopsy , I found visceral cancer, but in which during life there was no appreciable cancerous tumor”.



Figur 1.1 - Armand Trousseau
1801-1867

Bu yazı, kanser ile trombozun ilişkisini tanımlayan ilk belgedir. Bu yazıda kanser hastalarındaki trombozun yanı sıra, ancak otopside kanser tanısı koyduğu hastalarda gözlediği tromboza da dikkat çekti.

“ We must not suppose that painful edema of the inferior extremities in cases of cancer of the testicle, uterus, or rectum, results from the inflammation of the veins of the primary diseased parts being propagated to the deep-seated veins; nor are we to believe that the edema is the mechanical consequence pressure exerted on the abdominal veins by tumors or diseased glands. Such opinions are untenable, for whoever carefully analyses cases will find, that cancerous tumors of the stomach or breast give rise to this kind of phlegmasia”.

Yine bu yazıda testis, uterus ve rektum kanserinde görülen ve ven sistemine bası sonucu olduğu ileri sürülebilecek trombozun, mide ve meme kanserinde de görülmesinin, aslında kanser hastalığının venöz trombozu kolaylaştıran bir “*kan krizi*” ile ilgisi olduğu sonucuna vardı. Tromboz tanılı hastaya yaklaşımı anlatırken “ *...as its primary cause, a special alteration of the blood,...* ” kandaki değişikliklerin pıhtılaşmayı kolaylaştırdığını yazdı. Böylece, büyük bir öngörü ile kanser hastalığında trombozun nedeni olarak kandaki değişikliklerden söz eden ilk bilim adamı oldu [4, 5].

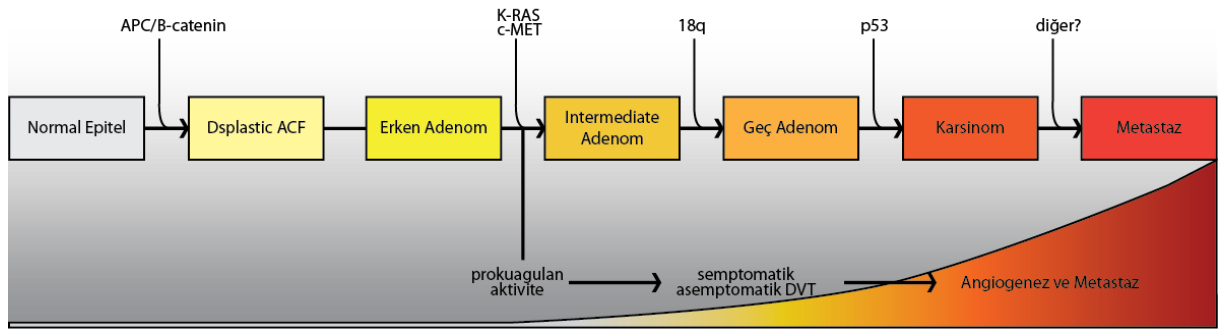
Günümüzden 150 yıl önce Rudolph Virchow venöz tromboembolinin patofizyolojisini, bu gün artık Virchow Triadı olarak bildiğimiz şekliyle yazdı; Venöz staz, endotel hasarı ve hiperkoagulabilite (Tablo 1a)[6].

Tablo 1.1- Patogenez: Virchow Triadı	
Venöz Staz	Yatağa bağımlılık ve hareketsizlik Vene dıştan kitle basısı
Kandaki değişiklikler (hiperkoagulabilite)	Tümör prokoagulanları Makrofaj-monosit prokoagulanları İnflamatuvar sitokinler
Endotel Hasarı	Direkt tümör invazyonu Santral venöz kateter Kemoterapi

İngiliz bilim adamları James ve Matheson, trombozun tanı konmamış kanserin ilk bulgusu olabileceğini 1935’de teyid etti [7]. Yine uzun aradan sonra 1951’de kohort çalışmasında tromboz ile başvuran hastalarda tanı konulmamış kanser insidansı % 9 olarak verildi [8]. Kanser, prokoagulan bir hastalık olup aktif maligniteli hastaların neredeyse tamamında subklinik hemostaz bozukluğu bulunur [9].

Bu gün artık kanser ve trombozun multipl patofizyolojik mekanizmalarla bağlantılı olduğunu biliyoruz. Tümör hücresi, ürettiği prokoagulanlar ile trombin ve fibrin oluşumunu direkt tetikleyeceği gibi, endotel, lökositler ve trombositleri sitokinler aracılığıyla uyararak, ayrıca müsinöz glikoproteinler ve doku faktörü taşıyan mikropartiküller aracılığıyla da trombozu kolaylaştırır. Koagulasyon sisteminin aktivasyonu sonucu oluşan fibrin ağ ve

trombosit agregasyonu, tümör hücreleri için immun sistemden kaçmayı sağlayan kamuflej kıyafeti gibi davranarak, metastaz sürecini de başlatır. Tümörün beslenme ve metastazı için elzem bir diğer süreç olan angiogenez de yine koagulasyon sisteminin aktivasyonu ile indüklenmektedir. Tromboz, tanı konulmamış kanser hastalığı habercisi de olabilir. Son dönemde, onkojenik mutasyonların tümör prokoagulanlarının üretimini tetiklediği gösterildi. Trombozun, kanser tanısı konulmadan önce de oluşabilmesi, onkogen-prokoagulan ilişkisi ve metastaza katkısı mevcut paradigmayı değiştirmeye aday bir tablo oluşturmaktadır [10-15].



Figür 1.2 - Prokuagulan aktivite onkogen mutasyonuyla, karsinogenez sürecinin parçası olarak başlar. Bu durum, kanser tanısı konulmadan çok önce tromboz oluşumunu açıklamaktadır (Yardena Samuels, Alberto Bardelli, Carlos López-Otín. The Cancer Genome. DeVita, Hellman, and Rosenberg's Cancer: Principles & Practice of Oncology, 9e. 2011. p.3 Figür 1.1'den modifiye edilmiştir)

II-KANSER ve TROMBOZ

KANSERDE TROMBOZ EPİDEMİYOLOJİSİ

Kanser, tromboz için en güçlü risk faktörüdür ve tromboemboli tanısı giderek daha sık konulmaktadır . Toplum tabanlı MEGA (Multiple Environmental and Genetic Assessment of risk factors for venous thrombosis) çalışması kanser hastasında tromboz riskinin hastalıksız popülasyona göre 7 kat fazla olduğunu gösterdi [16]. California Discharge Data Set kullanılarak yapılan çalışmada 1996 yılında VTE tanısı almış 21002 hastanın %21'nin kanser tanısı vardı. Genel populasyon için VTE kaba insidansı 100.000'de 90 olarak verilmişti [17]. Heit ve ark'nı yaptığı toplum tabanlı vaka kontrollü çalışmada kanser hastalığı VTE için en önemli risk faktörü olarak görülüyordu. Bu çalışmada 1976-1990 arası VTE tanısı alan 625 hastanın %18'i kanser %12'si travma ve %10'u kalp yetmezliği tanısı ile izlenmekteydi. Daha çarpıcı olanı ise, bu hastalardan hastaneye yatırılarak izlenen kesiminde kanser hastası oranı %65'ti [18].

Tanısal yöntemlerin duyarlılıklarının artışı beraberinde VTE insidansında artış getirdi. 1995-2003 arasında hastanede tedavi görmüş bir milyonu aşkın kanser tanılı hastanın verilerinin retrospektif incelemesi, pulmoner emboli sıklığı artışı iki kattan fazla olmak üzere VTE sıklığında %28 artış gösterdi, fakat kanserle ilişkisiz tromboembolide artış bu derece belirgin değildi.[19].

Kanser tipi de tromboz sıklığı ile yakından ilgilidir. Hematolojik maligniteler %28'le bir kenara alındığında, solid tümörler içinde başı %22 ile akciğer, %20 ile gastrointestinal sistem tümörleri çekmektedir[16]. Akciğer, mide, pankreas, beyin ve over gibi VTE'nin sık görüldüğü grupta risk baş-boyun,mesane,meme,özofagus, uterus ve serviks gibi seyrek görülen gruba göre 4.2 kat fazladır. VTE atağı geçiren kanser hastalarında, VTE'nin tekrarlama riski de kanser olmayan kohorta göre atmıştır. The Medicare Provider Analysis and Review Record (MEDPAR) verileri kullanılarak yapılan çalışmada 1988-90 arası hospitalize edilen 8177634 kanser dışı hastada VTE tanısıyla yatış sıklığı %0.57 iken, 1211944 kanser hastasında %0.6; 6 ay içinde tekrarlayan VTE ile yatış ilk grupta %8, ikinci grupta ise 3 kata yakın fazlalıkla, %22 idi. Benzer şekilde, 6 ay içinde ölüm riski birinci grupta %29, kanser hastalarında ise %94 olarak bildirilmiştir[20].

VTE'nin tanı konulmamış “gizli” bir kanserin habercisi olabilmesi, bu konunun en ilginç başlıklarından olup, toplum tabanlı çalışmalarla test edilmiştir. Danish National Registry of Patients verilerinden 26653 VTE olayında, beklenen kanser sayısı 1372 iken 1737 olarak gerçekleşmiş, 1.3 kat risk artışı ifade etmiştir. Kanser tanı ihtimali ilk 6 ayda 3 kat artmışken, birinci yıla doğru genel popülasyonla aynı seviyeye geldiği, aslında VTE'nin sebep değil sonuç olduğunu göstermektedir. En sıkı ilişki ise pankreas, karaciğer, over ve beyin tümörlerinde gözlenmiştir[21]. Murchison ve ark'nın yaptığı çalışmada da 1981-2000 arası National Health Service in Scotland verilerinden elde edilen 59534 VTE hastasında, ilk 6 ayda kanser riskini 4.2 kat arttırdığı ve iki yıl sonunda genel popülasyonla aynı seviyeye geldiği, en sıkı ilişkinin over, Hodgkin ve Non-Hodgkin lenfomada olduğu görüldü[22]. İdiyopatik DVT'lerde artmış kanser riskinin kanıta dayalı olarak gösterilmesi, “gizli” kanserin ortaya konulabilmesi için izlenecek yöntemi gündeme getirdi. Monreal ve ark'nın dizayn ettiği prospektif çalışmada, VTE'li 864 hasta önce basit yöntemle; anamnez, fizik muayene ve kolay ulaşılabilen tanı araçlarıyla incelendi, 34 tanesi kanser tanısı aldı. Geri kalan 830 hasta ileri yöntemlerle; tümör marker ve batin ultrason taramasına tabi tutuldu, 13 hasta daha kanser tanısı aldı. Geriye kalan 813 hasta bir yıl boyunca izlendi, 14 hastaya da bu sürede kanser tanısı konulmuş oldu. Bu çalışmadan çıkan en önemli sonuç, ileri yöntemle taranan ve kanser tanısı alan 13 hastanın erken evre olmasıydı. Bu sonuç, VTE'nin erken tanı için dikkat uyandırması gereken bir olay olduğunu göstermektedir [23].

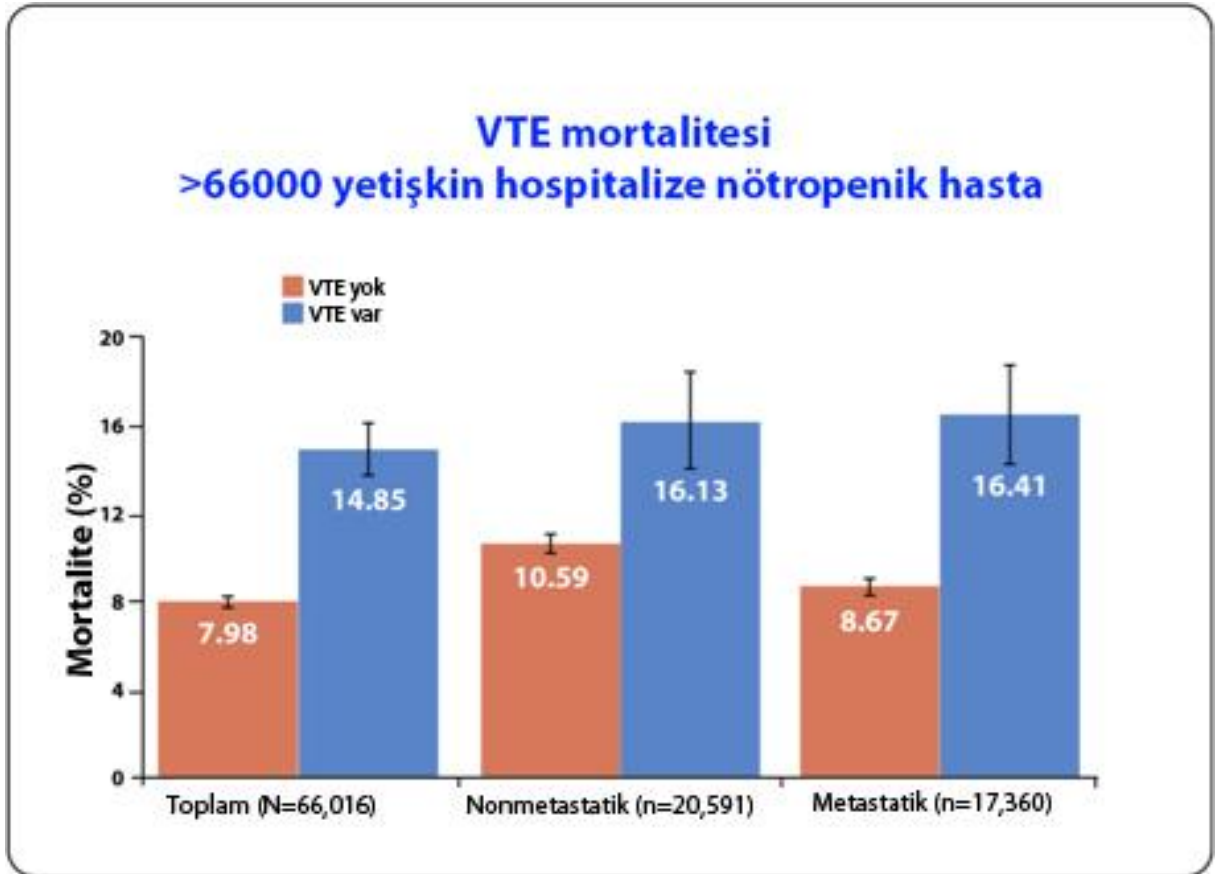
Venöz Tromboembolinin Doğal Seyri

VTE'nin doğal seyri ilk kez 1969'da Kakkar ve ark'ı tarafından incelendi. Ameliyat sonrası dönemde 132 hasta, alt ekstremitelerde DVT varlığını göstermek için I¹²⁵ işaretli fibrinojen ile test edildi. Kırk hastada (%30) DVT vardı, 14 tanesi 72 saat içinde spontan lizis olurken 26 hastada sebat ederek 4'ünde PE gelişti. Bu çalışma, cerrahi olmuş hastalarda DVT'nin genel bir sorun olduğunu göstermesinin ötesinde, yüksek morbidite ve mortaliteye sahip PE'ye ileleyişini sıklığını göstermesi açısından da değerliydi [24]. Venöz trombüs, stazın belirgin olduğu dolaşım bölgeleri ve venöz valv ceplerinde oluşur. Venöz akımın trombüsle engellendiği bölgelerde ven duvarı ve çevre dokuda oluşan inflamasyonun da katkısıyla, en ciddi ise pulmoner dolaşıma embolize olmasıyla semptom gelişir. Baldır ven trombozu genellikle semptomsuz iken, diz seviyesi üzerine ilerledikçe veya diz seviyesi üzerinde orijin aldığı PE riski artar. Alt ekstremitte ven trombozu PE ile yakın ilişkilidir. DVT'leri yarısında PE, PE'lerin ise %79'unda asemptomatik DVT gösterilmiştir. PE semptomları en çok, trombüsün pulmoner arterdeki lokalizasyon ve yaygınlığına, ayrıca

salınan setonin gibi vasoaktif-bronkoaktif maddelerin etkisine bağı olarak oluşur. Sonuçta sağ ventrikül afterloadı artarak dilatasyon, disfonksiyon ve iskemi gelişir. PE'de ölüm sebebi sağ venrikül yemezliğidir [25].

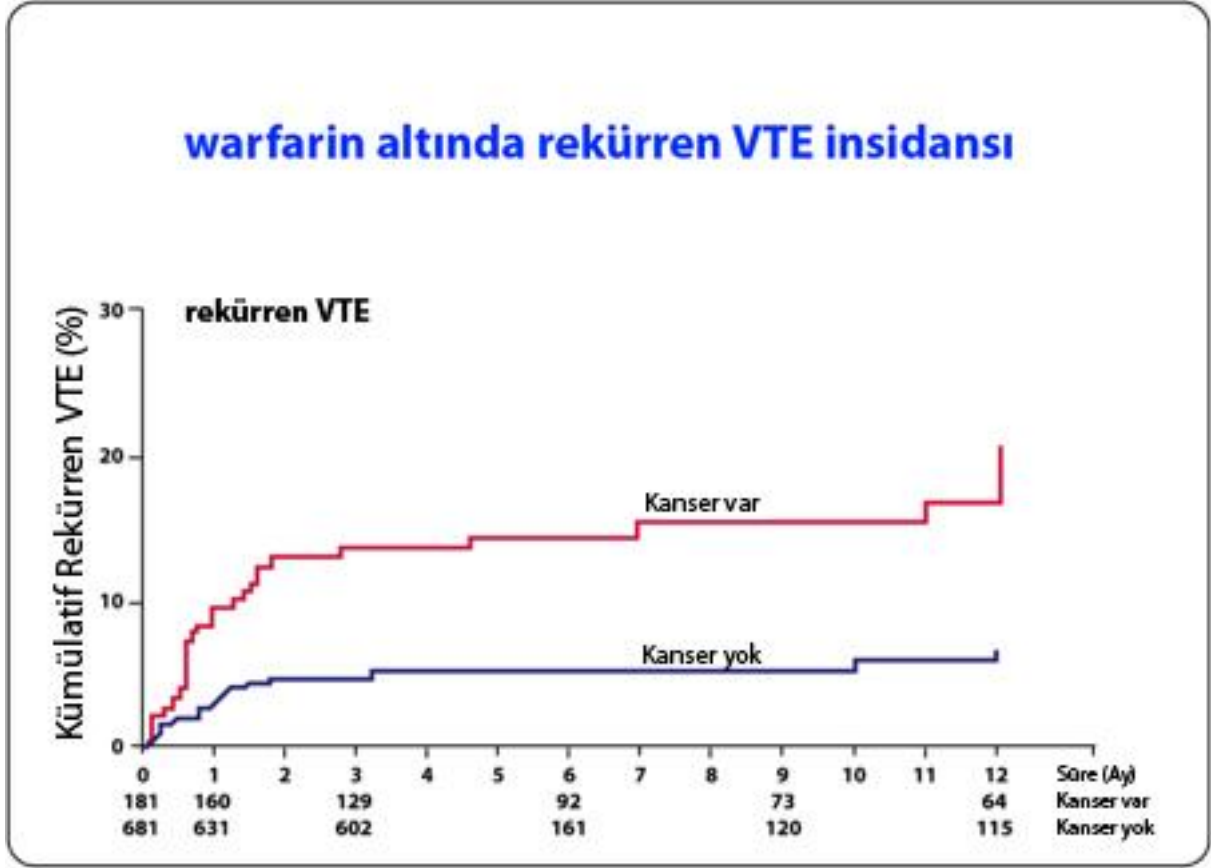
Kanserde Venöz Tromboemboli: Mortalite ve reküran VTE

VTE, kanser hastalarında ölüm riskini iki katına çıkarır. Çok merkezli, retrospektif, 66000 yetişkin nütropenik hastanın, 88000'den fazla hastane yatışı ile izlendiği kohortta, VTE gelişen grupta hastanede ölüm %14.85, VTE gelişmeyen grupta ise %7.98 idi (Şekil 2.1) [26]. Sorensen ve ark kanser tanısı sırasında VTE'si olan hastaları VTE'si olmayan kanser hastalarıyla karşılaştırdı. Tanı sırasında VTE'si olan hastalarda bir yıl sonunda hayatta kalma oranı oranı %12 iken, kontrol grubunda %36 idi ($p<0.001$) [27]



Şekil 2.1- Khorana, A.A., et al. J Clin Oncol, 2006. 24(3): p. 484-90.

Diğer çarpıcı bilgi ise, kanser hastalarında antikoagulan tedavi altında dahi tekrarlayan VTE'nin sıklığıdır. Prandoni ve ark'nın prospektif çalışmasında, warfarin kullanan kanserli hastalarda tekrarlayan VTE %20.7, buna karşılık kanser tanısı olmayan hastalarda %6.8 bulundu(Şekil 2.2) [28].



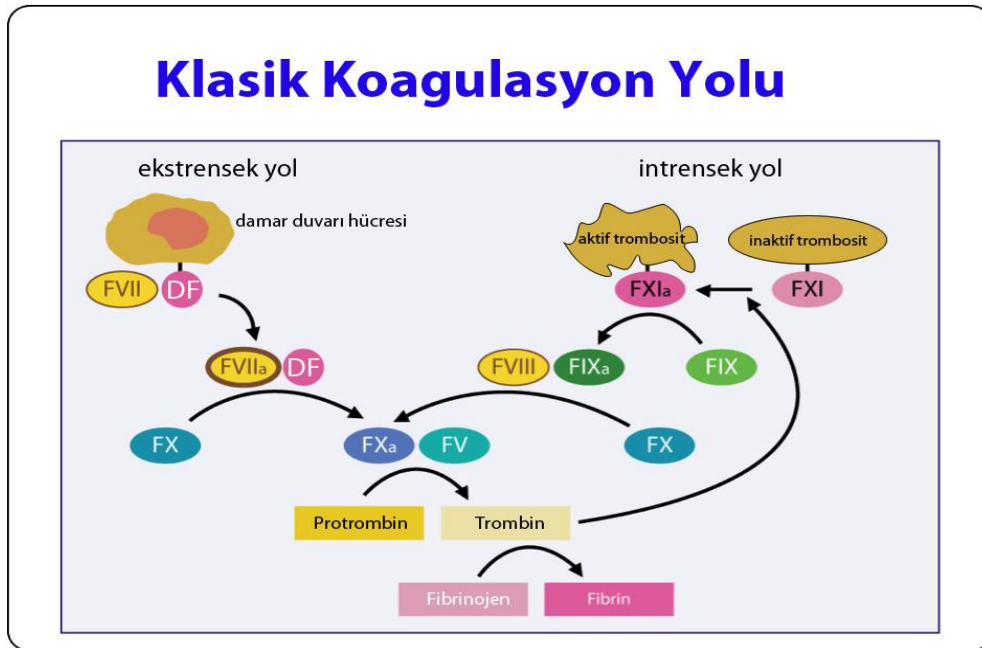
Şekil 2.2- Prandoni, P. et al. Blood, 2002. 100(10): p. 3484-8.

III-KOAGULASYON BİYOLOJİSİ

Hemostaz, kan dolaşımının devamlılığı için hem kanın sıvı halini, hem de damar hasarı gibi durumlarda kan kaybını önlemek için fibrin tıkaç üreten kan katılaşmasını sağlayan mekanizmadır. Tromboz, fibrin tıkaç üretiminin genetik ve kanser hastalığında olduğu gibi kazanılmış sebeplerle hasarlı damar bölgesi dışına uzanmasıdır.

Günümüzden 150 yıl önce Rudolph Virchow gözlemlerine dayanarak, VTE oluşumu için üç patofizyolojik element tanımladı. Venöz staz, endotel hasarı ve hiperkoagulabilite. Sistemik ve moleküler protrombotik faktörler bu üç elementten en az birini etkilemektedir. Kanser hastalığında her üç element direk ve indirekt yolla etkilenir

1960'lardan beri bilinen şekliyle, fibrin tıkaç üretimiyle sonuçlanan süreç ekstrinsik ve intrinsik olarak adlandırılan iki mekanizma ile başlar. Dolaşıma dışarıdan geldiği ve bu haliyle dolaşımın dışında olduğu düşünülen DF ile başlayan sistem ekstrinsik yoldur. Travma veya cerrahi gibi doku hasarı oluşturan olay ile, subendotelyal tabakada yerleşik DF kan akımıyla karşılaşır. Faktör VII'ye bağlanarak aktive eder, bu kompleks sırasıyla Faktör X ve Faktör V'i aktive eder. Son iki aşamada protrombin trombine dönüşerek fibrinojenden fibrin parçacıkları ve sonunda fibrin parçacıklarından pıhtı oluşumu ile misyon tamamlanır. Dolaşımın içinde, yani intravasküler olduğu düşünülen faktörler ile başlayan sistem intrinsik sistem olarak tarif edilir. Uyarılmış trombosit membranında Faktör XI aktive olarak Faktör IX'u aktif formuna dönüştürür. Aktif Faktör IX, Faktör VIII'in varlığında Faktör X'u aktive eder, bundan sonraki süreç ekstrinsik yol ile aynıdır (Şekil 3.1) [29].

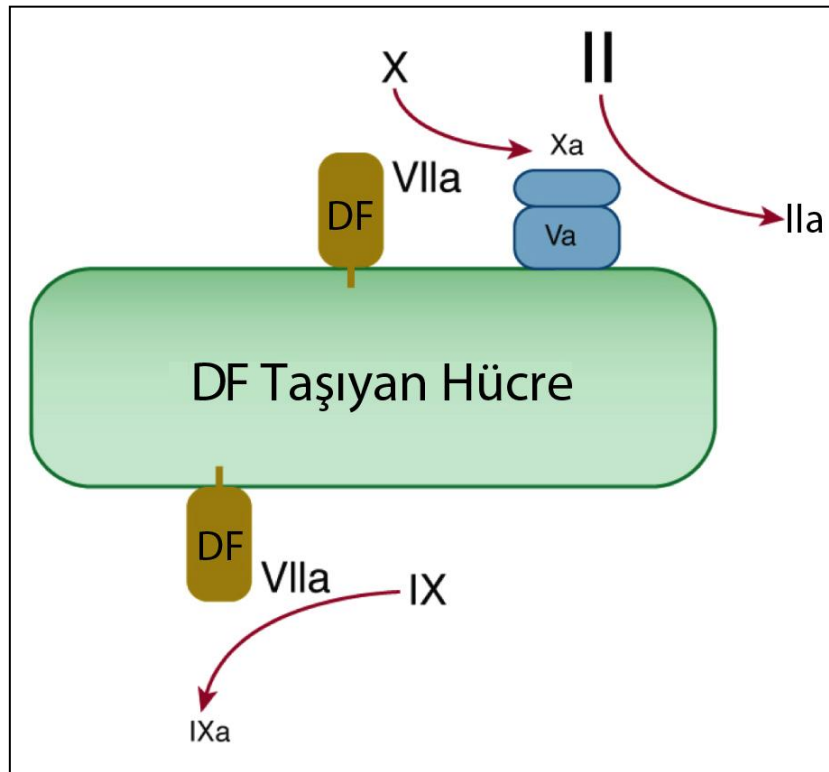


Şekil 3.1- Colman, R.W. J Exp Med, 2006. 203(3): p. 493-5.

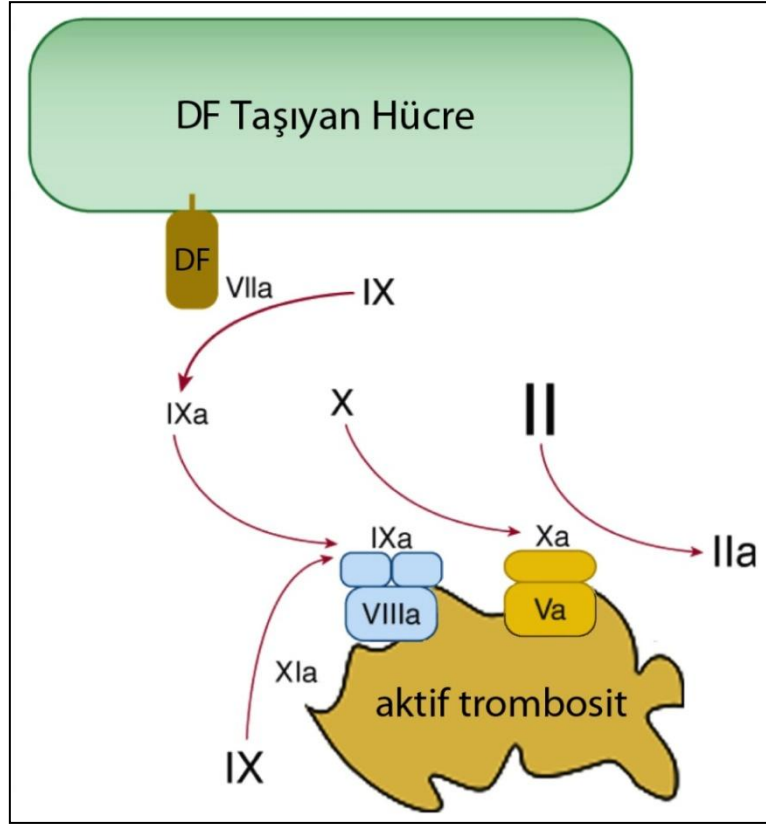
Dikkatli gözlemler koagulasyon mekanizmasına bakışı değiştirdi. Son dönemde, iki ayrı işleyişin olmadığı ve tüm pıhtılaşma faktörlerinin birbiriyle ilişkide olduğu anlaşıldı. Doku hasarı bölgesinde oluşan VIIa/DF kompleksinin sadece FX'u değil, FXI' de aktive ettiği ve *in vivo* hemostaz mekanizmasını başlatan yapı olduğu görüldü [30]. TFPI başta olmak üzere plazma inhibitörlerinin ve koagulasyon reaksiyonlarını hücre yüzeyine sınırlayan koagulasyon kontrol mekanizmalarının önemi daha iyi anlaşıldı. En önemlisi ise kanser başta olmak üzere, infeksiyon durumu ve aterosklerotik damar hastalıklarında intravasküler DF varlığı belirlendi[31]. Kakkar ve ark'ı 106 solid tümürlü ve 72 sağlıklı bireyde DF, Faktör VIIa, trombin-antitrombin kompleks ve protrombin 1+2 fragmanlarını ölçerek koagulasyon aktivitesini ölçümlendi. Solid tümör grubunda DF %67 (p=.0006), Faktör VIIa %46 daha yüksekti (p=.0002) [32].

HÜCRE TEMELLİ KOAGULASYON MODELİ

Endotel hasarı, damar duvarında yerleşik DF taşıyan hücrelerin kan ile karşılaşmasıyla sonuçlanır. Transmembran domain ile hücre duvarına bağlı DF, Faktör VII'yi aktive eder. Faktör VII/DF kompleksi iki önemli reaksiyonu katalize eder: (1) Faktör X aktivasyonu ve (2) Faktör IX aktivasyonu (Şekil 3.2) [33].



Şekil 3. 2- Dougald M. Monroe III, M.H., Harold R. Roberts, *Williams Hematology* 2010, McGraw-Hill. p. 1835-1839'dan modifiye edilmiştir.

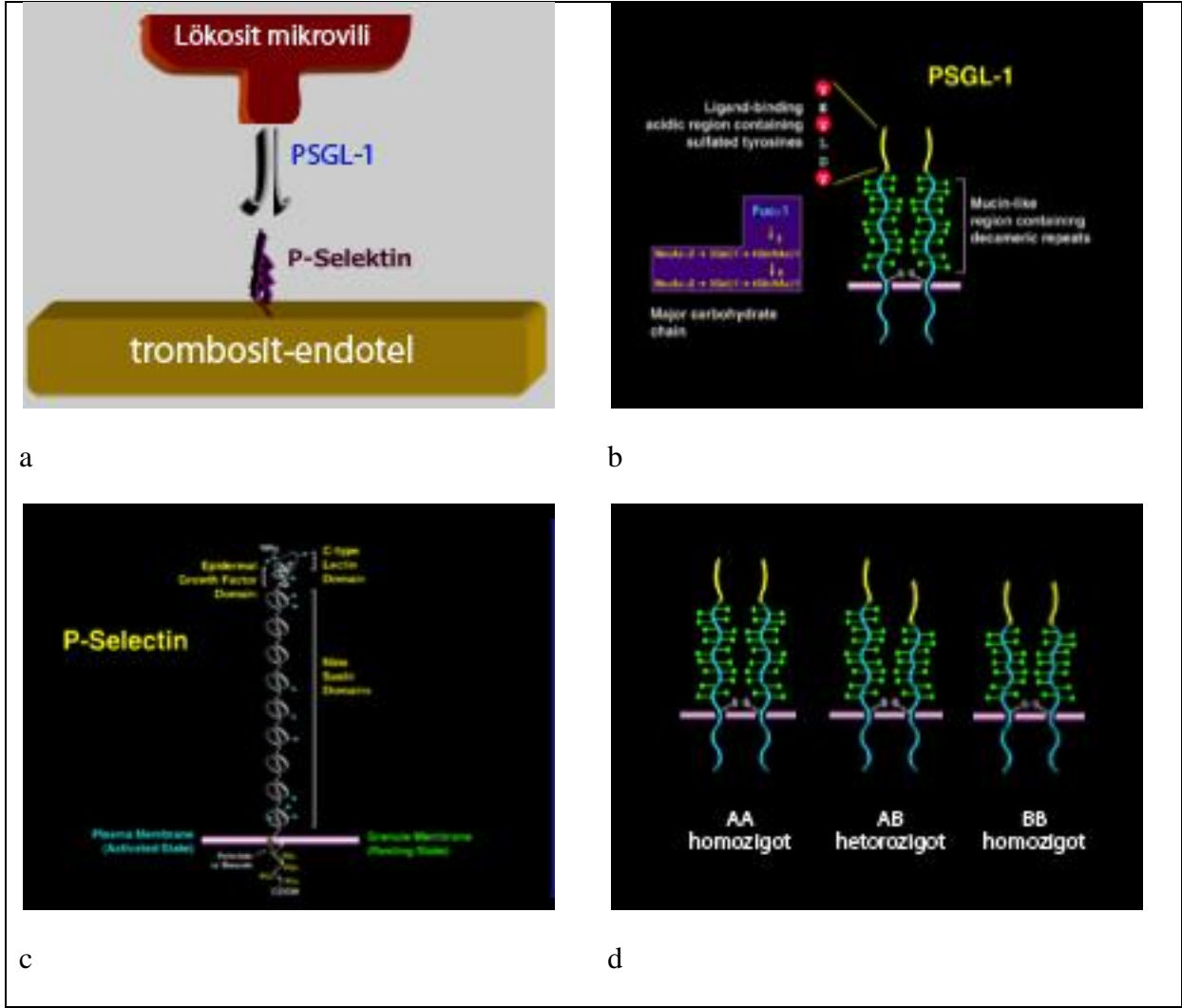


Şekil 3.5- Dougald M. Monroe III, M.H., Harold R. Roberts, *Williams Hematology* 2010, McGraw-Hill. p. 1835-1839'dan modifiye edilmiştir.

Trombosit-Lökosit ve Trombosit-DF İlişkisinin Rolü

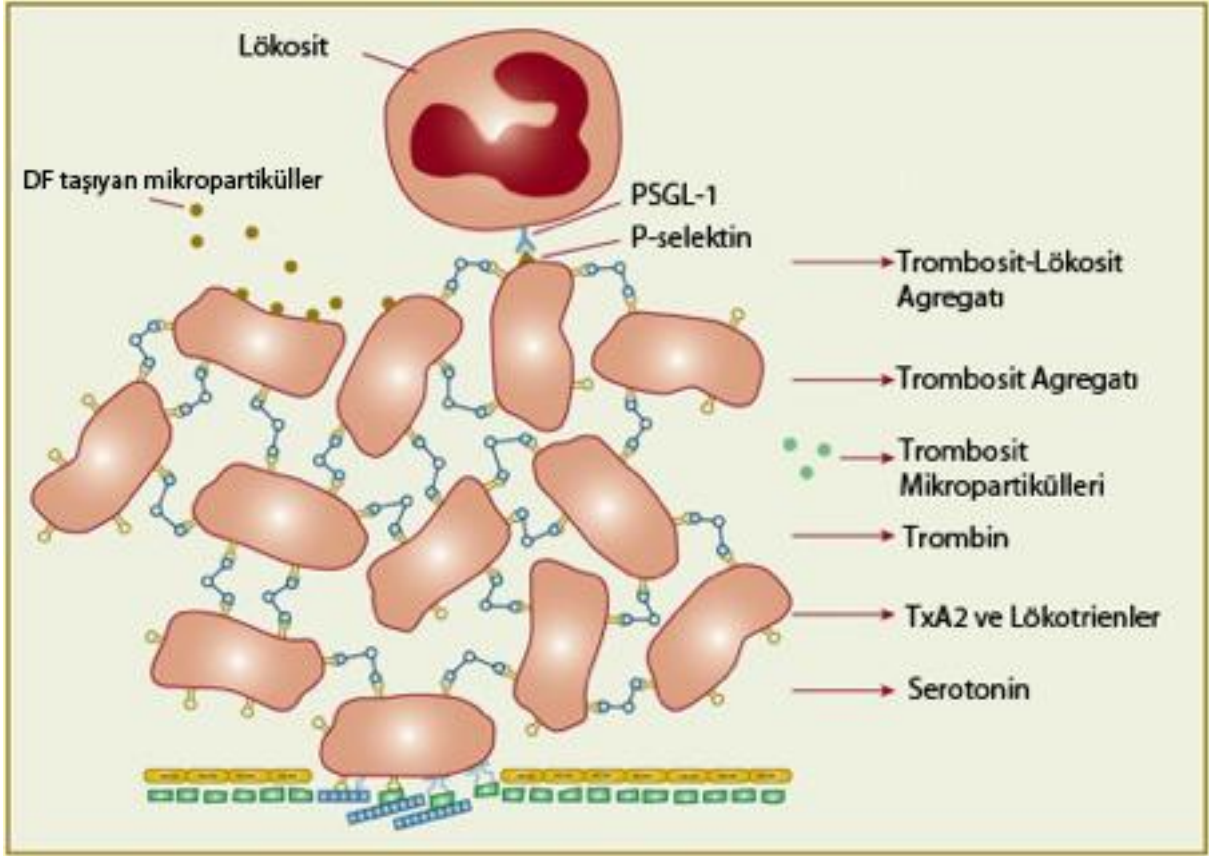
Lökositler aktive trombositlere bağlanarak, endotel hasarından sonra saatler içinde trombosit pıhtı üzerinde bir tabaka oluşturur. Bu bağlanma aktive trombosit yüzeyindeki P-selektin ve nötrofil ve monosit yüzeyindeki PSGL-1 interaksyonu ile gerçekleşir [36-42]. P-selektin, trombositlerde α -granüllerinde ve endotelde Weibel-Palade cisimciklerinde bulunur, aktiflenmeyle birlikte membranla birleşir. Aktive bir trombosit yüzeyinde ortalama 13.000 P-selektin molekülü bulunur. P-selektin glikoprotein yapıda molekül ağırlığı 140.000'dir. Solubl P-selektin, P-selektin'in alternatif parçalanma ürünü olup transmembran domaini bulunmayan, plazmada dolaşan formudur [43].

PSGL-1, majör P-selektin ligandı olup nötrofil, lökosit ve az miktarda da lenfosit ve trombositlerde bulunur. PSGL-1 transmembran yerleşimli, disülfid bağla birbirine bağlanmış homodimerden oluşan molekül ağırlığı 220.000 olan bir glikoproteindir. Bir lökositte 18.000-25.000 molekül olup, P-selektin ile interaksyonu kolaylaştırmak için lökosit mikrovililerinin tepesinde yerleşmiştir (şekil 3.6) [44-46].



Şekil 3.6- Diz-Kucukkaya, R., et al. Ann Rheum Dis, 2007. 66(10): p. 1378-80.

Ekstrasellüler domaini, tekrarlayan dekamerik ünitelerle membrandan 50 nm yukarıya yükseltilmiştir. PSGL-1— P-selektin interaksyonu hızlı tut-bıraklar şeklinde olup, lökositlerin trombosit tabaka üzerinde yuvarlanarak hareket etmesini ve bağlanmasını sağlar. Bu bağlanma DF sentezini uyarır [47]. Solubl P-selektin de plazmada DF taşıyan mikropartikülleri artırarak protrombotik ortam yaratır [48]. PSGL-1 ve P-selektinin genetik ve farmakolojik hedef alındığı deneysel hayvan modellerinde, bu reseptörlerin tromboliz, restenoz, serebral iskemi ve infarkt, DVT ve metastazda etkili olabildiği gösterilmiştir (şekil 3.7) [49-51].



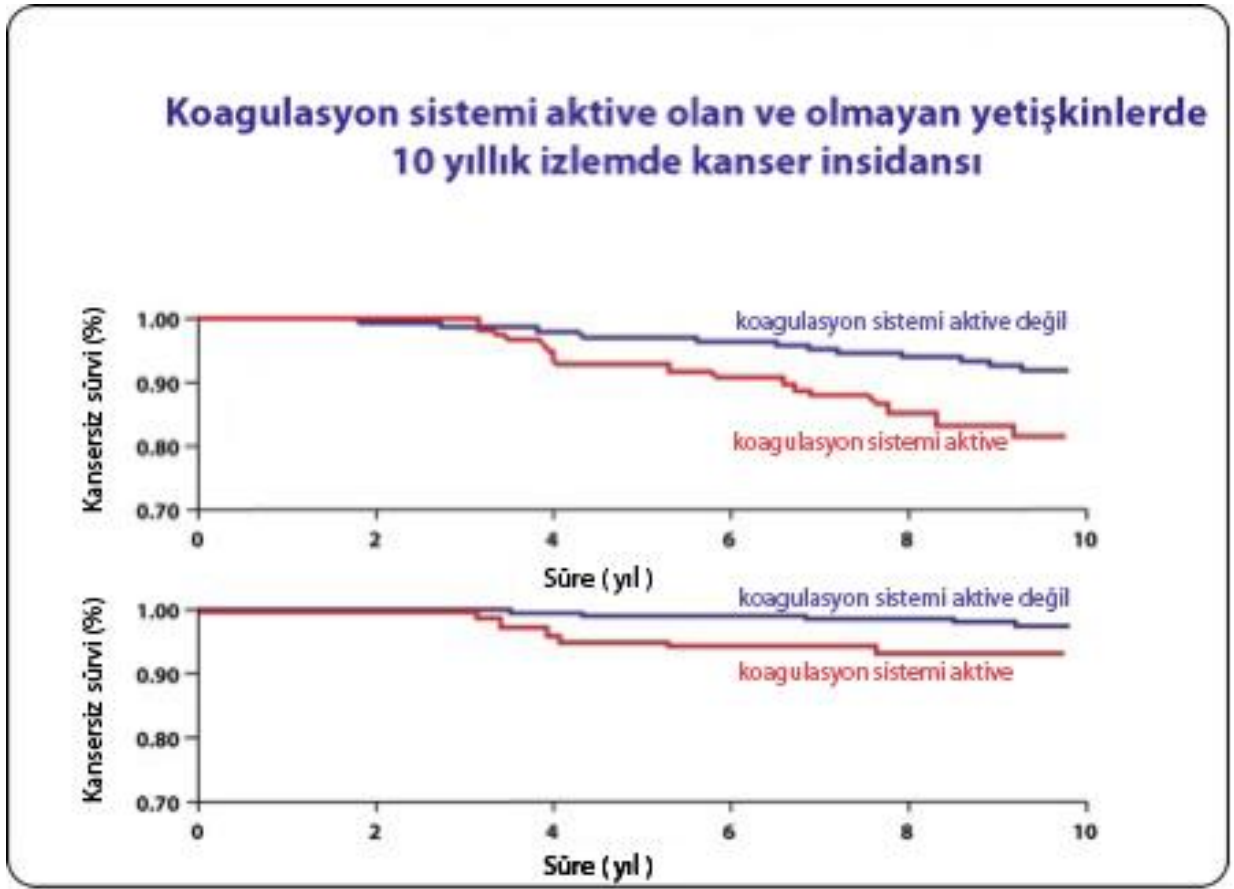
Şekil 3.7- Dougald M. Monroe III, M.H., Harold R. Roberts, *Williams Hematology* 2010, McGraw-Hill. p. 1835-1839'dan modifiye edilmiştir.

Trombosit-Lökosit agregatı, tek başına trombosit veya lökositte göre trombin oluşumunu belirgin şekilde artırır [52, 53]. Trombosit ve lökositlerin koinkübasyonu PSGL-1— P-selektin interaksyonu üzerinden çalışan mekanizmayla DF aktivitesi üretir. Bu hem *denovo* DF sentezi hem de latent DF'nün açığa çıkması (“deencryption”) ile gerçekleşir. Latent DF'nün açığa çıkmasıyla (“deencryption”) lökositlerden DF taşıyan mikropartiküller salınır. Kan kaynaklı intravasküler DF varlığı bulgusu ile beraber [54] bu gözlemler birleştirildiğinde, PSGL-1— P-selektin interaksyonunun trombosit pıhtıya mikropartiküler DF ile destek olduğu model test edildi [55].

Trombosit-Lökosit interaksyonunun vasküler hastalıklarda rolünü gösteren çalışmalarda, sirkulasyonda trombosit-lökosit agregatlarının varlığı ve bunun kötü prognozla ilişkili olduğu gösterildi [56, 57]. Bazı çalışmalarda PSGL-1 VNTR polimorfizminde, uzun PSGL-1 polimorfik molekülünün trombosit-lökosit agregat oluşumunu kolaylaştırdığı ve trombotik vasküler olaylarla ilişkili olduğu gösterildi[58-63]

KANSER ve HEMOSTATİK SİSTEM BAĞLANTISININ KLİNİK KANITLARI

Miller ve ark, klinik olarak malignitesi olmayan 3052 orta yaşlı erkeğin koagulasyon aktivitesini 4 yıl boyunca yıllık protrombin fragman 1 + 2 ve fibrinopeptide A ölçümleri yaparak izledi. İki yıl üst üste ölçümleri üst persantilin üstünde çıkan grupla normal ölçülen grubu kanser insidansı açısından 10.9 yıl izledi. Koagulasyon sistemi aktive grupta ölüm hızı daha yüksekti (17.1/1000 kişi/yıl vs 9.7/1000 kişi/yıl; p=0.015). Bu farklılık kanserden ölüm insidansından kaynaklanıyordu (11.3/1000 kişi/yıl vs 5.1/1000 kişi/yıl; p=0.001). GIS kaynaklı kanserden ölüm 3 kat fazlaydı (6.3/1000 kişi/yıl vs 1.9/1000 kişi/yıl; p=0.004) (Şekil 3.8) [64].



Şekil 3.8- Miller, G.J. et al. J Thromb Haemost, 2004. 2(12): p. 2107-14.

Hemostatik sistemin birincil uyarıcısı DF ekspresyonunun pankreas kanseri diferensiasyonu ile ters orantılı olarak arttığı gösterildi [65]. Nod negatif, kasa invaziv mesane tümöründe, DF ekspresyonunun mesane kanserine bağlı genel sağkalımla ilişkisi gösterildi [66]. Bu bulgular kanserde prokoagulan aktivitenin epifenomen olmadığını, karsinogenezle başladığını göstermektedir.

KANSERİN HEMOSTATİK SİSTEME ETKİLERİ

Prokoagulan, fibrinolitik ve proagregan aktiviteler

Kolorektal kanser hücre modelinde DF ekspresyonunun, RAS onkogeni aktivasyonu ve p53 supresör geni inaktivasyonu ile MEK/MAPK ve PI3K aktivasyonuna bağımlı şekilde arttığı bulundu [15]. Glioma hücre modellerin de de tümör supresör geni PTEN mutasyonunun, DF ekspresyonunu uyardığı gösterildi [67]. Tümör hücrelerinin fibrinolizisi kontrol eden ürokinaz ve doku tipi plazminojen aktivatörleri , PAI-1 ve 2 ve plazminojen aktivatör reseptörleri de eksprese ettiği gösterildi [68].

Tümör Kaynaklı Sitokinler

Tümör kaynaklı TNF- α , interlökin 1 β ve VEGF, VTE gelişimi ile ilgili olabilir. TNF- α ve interlökin 1 β damar duvarında DF yapımını uyarırken trombomodülin yapımını baskılayarak protrombotik ortam oluşturur. Ayrıca fibrinoliz inhibitörü olan PAI-1 yapımını artırır. Sitokinler lökosit ve trombositleri damar cidarına çekerek, bölgesel koagulasyon aktivitesi oluşumuna zemin hazırlar.

HEMOSTAZIN KANSER GELİŞİMİNE ETKİLERİ

Kanser ile hemostatik sistem arasındaki ilişkilerde merkezi rolü DF almış gibi görünmektedir. Tümör progresyonuna koagulasyona bağımlı ve koagulasyondan bağımsız mekanizmalarla etki yapar.

Koagulasyon Bağımsız Mekanizma

DF reseptörü stoplazmik ucunun fosforillenmesi VEGF transkripsiyonunu artırırken, antiangiogenic trombospondin yapımını inhibe eder. Bu şekilde hücre iskeleti mobilize olur ve migrasyon gerçekleşir [69].

Koagulasyon Bağımlı Mekanizma

Koagulasyon süreci sonunda tümör hücresi etrafında trombosit ve fibrin ağ pıhtısı, trombositlerden salınan proangiogenik faktörlerle tümör damarlanmasını başlatır [70]. Fibrin ayrıca angiogenik faktörler olan IL-8 ve VEGF ekspresyonunu uyarır. Ortamdaki Faktör VIIa/DF kompleksi, PARs aktive ederek, hücre içi kalsiyum depolarını serbestleştirir ve MAPK yolu uyarılır. MAPK yolunun uyarılmasıyla proliferasyo, migrasyon ve angiogenezele ilgili genler indüklenir.

PROKOAGULAN FONKSİYON VE METASTAZ

DF'nün merkezi rolü burada da kendini göstermektedir. Over kanserinde preoperatif DF seviyesi kanserden ölüm için bağımsız prognostik faktör olarak bulunmuş [71], yine uzun yaşam süreli hepatosellüler karsinomda nüks için prediktif olduğu gösterilmiştir [72]. Tümör hücrelerinde DF ekspresyon seviyesinin metastaz potansiyeline katkısı hücre modelinde araştırılmış. Bromberg ve ark., yüksek ve düşük seviyede DF ekspresyon eden melanom hücre modellerini, ağır immün eksikli farelere yerleştirdiğinde yüksek DF grubunda metastazı %86 iken diğer grupta %5 olduğunu tespit etmiş [73]. DF'nün metastaz potansiyeline katkısı Faktör VIIa/DF kompleksi üzerinden gerçekleşir [74]

IV- KANSER ve VTE RİSK FAKTÖRLERİ

Altmış beş yaş üstü olmanın bir çalışmada riski %23 artırdığı bildirilmiş [26] olmakla beraber, diğer bir çalışmada yaşla risk artımı bildirilmedi [75]. Aynı çalışmada cinsiyet de risk faktörü olarak bildirilmedi. Toplum tabanlı kohort çalışmasında evre risk faktörü olarak bildirilmiş olmakla birlikte [76], performansı iyi ayaktan izlenen kemoterapi hastalarının incelendiği çalışmada bu bilgi teyid edilmedi [77].

Hospitalizasyon ve Cerrahi

LMWH profilaktik etkinliğinin test edildiği MEDENOX çalışması verilerine göre hospitalize edilen kanser hastası, kanser olmayan göre VTE için 1.62 kat artmış risk altında [78]. Benzer şekilde, risk artışı Zakai ve ark'nın çalışmasında 2.8 kat olarak verilmiş [79]. Cerrahi tedavi uygulanan kanser hastasında 2 kattan fazla risk artışı bildirilmiş. Önemli tarafı ise cerrahi sonrası otuz gün ötesinde de riskin artmış olarak devam etmesi [80].

Kemoterapi

Toplum tabanlı, biri retrospektif diğeri ise vaka kontrollü iki çalışmada kanser hastalığının VTE riskini 4.1 kat artırdığı, kemoterapi alan kanser hastasında riskin 6.5 kat arttığı bildirildi [81, 82]. Khorana ve ark'nın prospektif çalışmasında 2.4 ay izlenen yeni kemoterapi başlanmış hastalarda genel VTE insidansı %1.93, aylık %0.8 ile tüm kanser hastalarındaki aylık %0.04'göre çok yüksektir [77]. Tablo 4.1'de kemoterapi alan kanser hastalarında VTE risk çalışmaları verilmiştir.

Tablo 4.1- Kemoterapi VTE risk çalışmaları			
referans	OR %95 CI	çalışma tipi	yorum
Heit 2000 [82]	6.5 (2.1-20.2)	toplum tabanlı vaka kontrollü	Kanser hastaları genel popülasyonla karşılaştırıldı
Sallah 2002 [83]	2.9 (1.8-4.6)	retrospektif kohort	Hospitalize edilmiş kemoterapi alanlar ile almayanlar karşılaştırıldı
Blom 2006 [84]	2.2 (1.8-2.7)	retrospektif kohort	Kemoterapi alan ve almayanlar karşılaştırıldı
Kroger 2006 [85]	2.15 P=0.008	prospektif kohort	Kemoterapi alan ve almayanlar karşılaştırıldı

Hormonoterapi

Meme kanserinde adjuvan Tamoksifen tedavisi VTE riskini artırır. Saphner ve ark 1977-87 arası ECOG çalışmalarına alınmış 2600'den fazla hastanın kayıtlarını vasküler komplikasyonlar açısından inceledi. Arteriyel ve venöz tromboz adjuvan tamoksifen alan grupta %5.4 iken tedavisiz izlene grupta %1.6 idi ($p=0.0002$). Premenopozal hastalarda arteriyel trombozu sık iken (%1.6 v %0, $p= .004$)postmenopozal hastalarda VTE daha sıklıkla (%8.0 vs %0.4, $p<0 .0001$) [86]. ATAC (Arimidex, Tamoxifen alone or in Combination) çalışması aromataz inhibitöründe tamoksifene göre VTE riskinin daha az olduğu görüldü. Bu çalışmada 9366 postmenopozal kadın tamoksifen yada anastrozole randomize edildi. Altmışsekiz aylık izlemde tamoksifen grubunda %4.5 VTE gözlenirken anastrozol grubunda %2.8'di [87].

Anti-anjiojenik Tedavi

Tek başına talidomidde risk $<2\%$ iken, deksametazon veya kombine kemoterapide risk %12-26 olarak bildirilmiştir [88, 89]. Lenalidomidde ise profilaktik aspirinle birlikte kullanıldığında, deksametazon kombinasyonunda bile VTE riski talidomidde için göre daha azdır (%3) [90]. İlk klinik çalışmalarında yüksek VTE oranları [91] bildirilmişken, 2011 yılında yayınlanan 6055 hasta ve 10 randomize çalışmanın meta-analizi, bevacizumabın VTE için risk oluşturmadığı bildirdi [92].

Santral Venöz Kateter

Santral venöz kateter VTE için major risk faktörüdür [93].Son dönemde çalışmalarda daha düşük sayılar verimle beraber, 2003 yılına ait yayında semptomatik DVT için %0.3 ile %28, venografi ile %66'ya ulaşan inisidans verileri bulunmaktadır [94]. Kateter takılırken birden fazla denemede takılması, daha önceden kateter takılmış olması, sol taraflı kateter, over kaseri ve kateter ucunun sağ atrium yerine süperior vena kavada olması riski artırmaktadır [95]

Yüksek Trombosit ve Lökosit Sayısı

Khorana ve ark 2701 ayaktan izlenen hastanın katıldığı prospektif gözlem çalışmasında trombosit sayısının 350 binden ve lökosit sayısının 11 binden fazla olmasının VTE riskini sırasıyla 1.8 ve 2.2. kat arttırdığını gösterdi [96].

Doku Faktörü

Khorana ve ark' nın retrospektif çalışmasında, cerrahi olarak çıkarılmış pankreas kanseri tümör dokusunda IHC ile DF skoru yüksek grupta VTE %26.3 iken düşük olan grupta %4.5'ti (p=0.04) [97]. Benzer şekilde, over kanseri tümör dokusunda IHC ile değerlendirilen DF ekspresyon skorunun VTE sıklığı ile korele olduğu belirtilmiştir [98].

Solubl P-selektin

P-selektin ve karsinom müsinleri interaksiyonları, Trousseau Sendromu'nda muhtemel mekanizmalardan biri olarak ileri sürüldü [10, 99]. Yeni tanı almış veya nüks etmiş 687 kanser hastasının gözlemlendiği prospektif çalışmada, solubl p-selektin plazma seviyesinin 53.1 ng/ml'nin üzerinde olması, diğer bir anlatımla 75. persantil üzerinde oluşunun VTE riskini 2.6 (%95 CI, 1.4-4.99) arttırdığı bildirildi [100].

Kanser Tipi

California Cancer Registry 1993-1995 yılları arasında yeni tanı konulan 235149 kanser hastasının analizinde pankreas ve mide kanserinde VTE sıklığı sırasıyla %20 ve %10.7 iken prostat ve meme kanserinde sırasıyla %0.9 ve %2.8 idi [76]. Histolojik tip de VTE sıklığında etkili olarak bulunmuştur. Blom ve ark'nın retrospektif çalışmasında, 537 küçük hücre dışı akciğer kanserinde VTE riski genel popülasyona göre 20 (14.6–27.4) kat fazlayken, adenokarsinom histolojisinde VTE sıklığı skuamöz hücre histolojisine göre 3.1 (95% CI: 1.4–6.9) kat fazlaydı [101]. VTE'li hastalarda adenokarsinom histolojisinin sık oluşu, adenokarsinomda VTE'nin sıradan olduğu gibi bir algı oluşturdu. Bu birliktelik karsinom müsinlerinin prokoagulan aktiviteleriyle açıklandı [10, 102]. Biz de retrospektif incelememizde adenokarsinomda VTE riskini 1.8 [95% CI:1.1-2.9] olarak bulduk [103].

Tanı Sonrası Erken Dönem

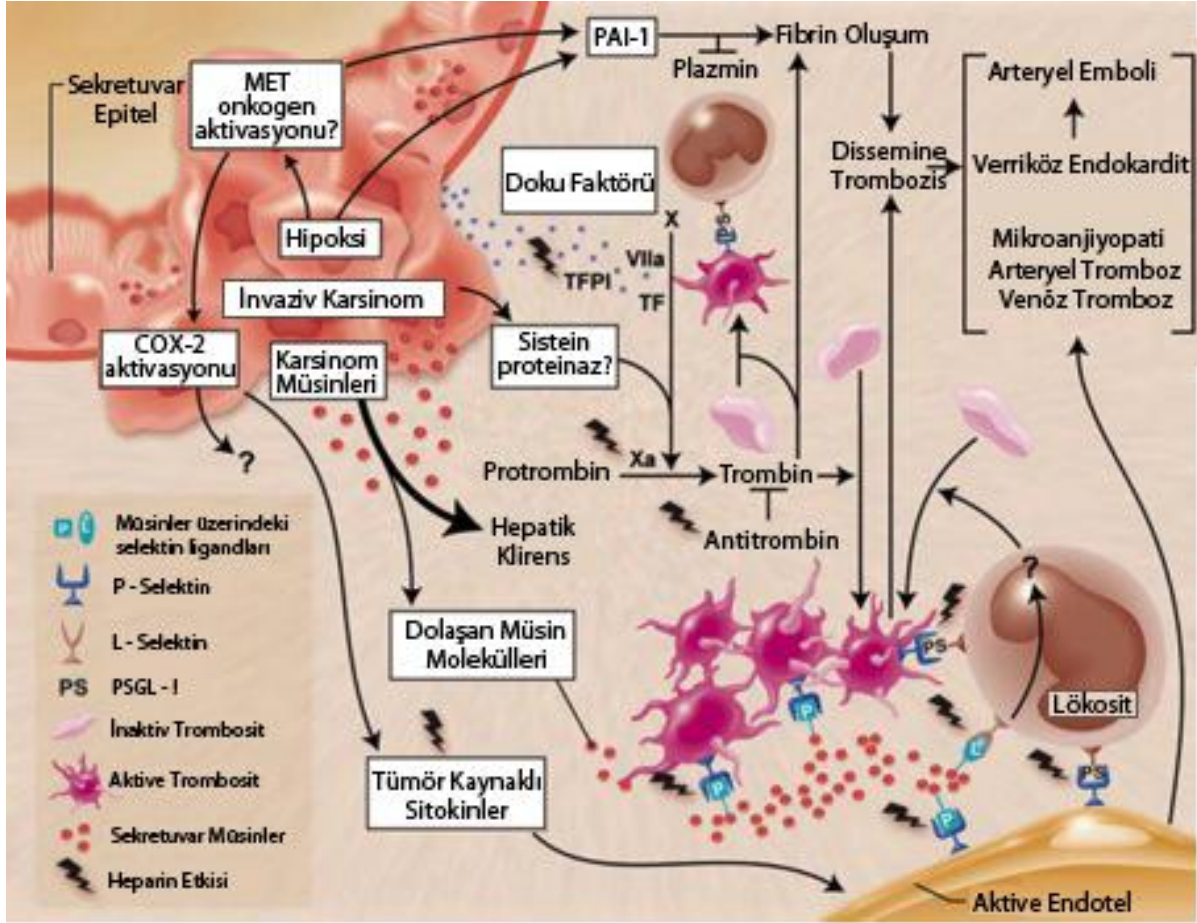
Toplum tabanlı çalışmada tanı sonrası ilk üç ayda VTE riski 53.5 [95% CI:8.6-334.3] kat artmış olarak bildirildi. Risk üç ay-bir yıl arası 14.3 [95% CI:5.8-35.2], bir yıl-üç yıl arası periyodda ise 3.6 [95% CI:2-6.5] gibi rakamlara düşerken, genel toplum seviyesine inmesi 15 yılda mümkündür [16]. Bizim çalışmamızda ilk üç ayda VTE riski 3.6 [95% CI:2.6-4.9] kat artmıştı (Tablo 4.2) [103].

Tablo 4.2- Adenokarsinomda VTE riski

Tümör tipi	Dağılım (%)	histoloji & VTE için OR	evre
kolorektal	21 (%20)	A D E N O K A R S İ N O M %80 OR= 1.9 [95% (CI):1.2-3]	Evre III %23 Evre IV %65
mide	17 (%16)		
pankreas	13 (%12)		
meme	12 (%11)		
akciğer	12 (%11)		
Diğer (<i>lenfoma, GBM, over, prostat, testis, sarkom, özofagus, kolanjiokarsinom, uterus, primeri bilinmeyen, pelvis renalis, mesane</i>)	30 (%30)		

ADENOKANSER VE TROMBOZ

Bazen içiçe geçmiş mekanizmalarla, kanser hastalarında tromboz riski artmıştır. Tromboz riskini en çok artıran tümörler epitelyal orijinli adenokarsinomlardır. Her zaman olamamakla beraber bu tümörlerde müsin yapımı artmıştır. Bu tümörlerce salgılanan ve yoğun şekilde glikan içeren müsinlerin bir kısmı karaciğer tarafından bertaraf edilirken, bir kısmı P-selektin ve L-selektin ligandları aracılığıyla trombositten zengin trombüs oluşumuna neden olur. Yine bu tümörler yüzeylelerinde taşıdıkları ve/veya dolaşıma verdikleri doku faktörü taşıyan mikroveziküller aracılığıyla fibrin ve trombosit agregatları oluşturan süreci başlatır. Tümör hücrelerinde salınan sistein proteinaz da FX'u direkt aktive ederek trombin oluşturabilir. Lökositler, mikrovilileri üzerinde taşıdıkları PSGL-1'in endotel ve trombositlerdeki p-selektin ile interaksyonları ile bu sürece katılır. Tümör hipoksisi ve MET aktivasyonu ürettikleri doku faktörü ve PAI-1 ile, tümör kaynaklı sitokinlerin de yardımıyla süreci tromboza doğru taşır. Heparin bu süreçte birden çok basamakta durdurucu yapıda olup, antikoagulanlara üstünlüğünü açıklar. (Şekil 4.1)



Şekil 4.1- Varki, A. Blood, 2007. 110(6): p. 1723-9.

AMAÇ

Kanser ve VTE arasındaki bu yakın ilişki kanser hücrelerinin, hemostatik sistemin ancak doğru yerde-doğru zamanda tetiklendiğinde koagülasyonun başlamasıyla sonuçlanan ince ayarlı mekanizmasına müdahil olduğunu göstermektedir. Kanıtlar kanserde prokoagulan aktivitenin epifenomen olmadığını, karsinogenezle başladığını göstermektedir. Bu tezin amacı kanser hastalığında tromboemboli mekanizmalarını açıklayacak bilgi üretmektir. Bu amaçla adenokarsinom hastalarından EDTA'lı kan ve plazma örneği alındı. PSGL-1 VNTR polimorfizmi, DF ve solubl p-selektin ölçümlenerek VTE olan ve olmayan grup karşılaştırıldı. Ayrıca VTE öyküsü olmayan 203 sağlıklı birey PSGL-1 polimorfik tipi VTE olan ve olmayan adenokanser grubuyla karşılaştırıldı. VTE olan grupta PSGL-1 VNTR heterozigot polimorfik tipin fazla olduğu, DF ve solubl p-selektin seviyelerinin yüksek olduğu savı test edildi.

V-GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma vaka kontrollü retrospektif bir çalışmadır. Ekim 2007- Mart 2012 arasında İstanbul Bilim Üniversitesi Tıbbi Onkoloji Bilimdalı' nda takip edilmiş 18 yaşından büyük, histolojik olarak kanıtlanmış adenokarsinom hastaları çalışmaya alınmıştır. Çalışma İstanbul Bilim Üniversitesi Etik Kurulunca onaylanmış, hastalardan bilgilendirilmiş olur formu alınmıştır. Bu çalışma İstanbul Bilim Üniversitesi Bilimsel Araştırma Destek Fonu tarafından desteklenmiştir.

Semptomatik ve asemptomatik, görüntüleme yöntemleri ile VTE tanısı konulmuş hastalardan, VTE tanısı aldıktan sonra rasgele zamanda EDTA'lı kan ve plazma örneği alındı. Yaptığımız çalışmada [103] tanı tarihinden itibaren VTE olayı gerçekleşme median zamanı 29 hafta (7.25 ay)dır. Bu bilgiye dayanarak en az 29 haftadır izlenip VTE'si olmayan, kanser tipi ve histolojisi, yaş cinsiyet ve evresi eşleşen kontrol grubu hastalarından, 29 haftalık izlem sonrası rasgele zamanda EDTA'lı kan ve plazma örneği alındı. VTE sınıflaması NCCN rehberine göre yapıldı. Venöz tromboemboli (1) alt ekstremitte DVT'u, (2) PE, (3) port trombozu ve (4) santral/proksimal (juguler ven ve subklavian ven) olarak 4 grupta tanımlandı.

Hastalarda plazma DF ve solubl p-selektin düzeylerine bakılmış ve PSGL-1 VNTR polimorfizminin sıklığı taranmıştır. Bütün işlemler İstanbul Bilim Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik AD laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.

DF VE SOLUBL P-SELEKTİN DÜZEYLERİNİN ELISA YÖNTEMİ İLE BELİRLENMESİ

Hastalardan venöz kan örnekleri alındı. Venöz 2 ml kan örneği %3.2 sodyum sitrat içeren tüplere konup, 3000 devirde 15 dakika santrifüj edilerek plazmaları ayrıldı ve -80 °C'da saklandı. Doku faktör antijeni monoklonal antikor anti-TF kullanılarak sandwich ELISA yöntemi ile hücre eriyiği süspansiyonlarında çalışıldı. Örnekler DF için üretici firmanın tavsiyelerine uygun olarak "Assaymax Human Tissue Factor ELISA Kit (Katolog no: ET1002-1 Lot:3901260 - ASSAYPRO-USA) ile çalışıldı. DF ve solubl PSGL-1 ölçüm sonuçları birimi pg/ml olarak verildi. Standart eğri rekombinant protein standartları kullanılarak oluşturuldu. PSGL-1 düzeyi de benzer şekilde, firmanın önerdiği biçimde çalışıldı.

PSGL-1 VNTR POLİMORFİZMİNİN ARAŞTIRILMASI

Hastalardan EDTA'lı vakumlu tüplere 2 ml venöz kan örnekleri alınıp, kan örneklerinden spin kolonlu DNA izolasyon kiti (*Roche Diagnostics*) ile genomik DNA izole edildi. Bu çalışmada PSGL-1 VNTR gen bölgesine özgün olarak tasarlanmış aşağıdaki primerler kullanılmıştır.

5'- CAT gAg AgA CAT CgC CTC Tg-3'

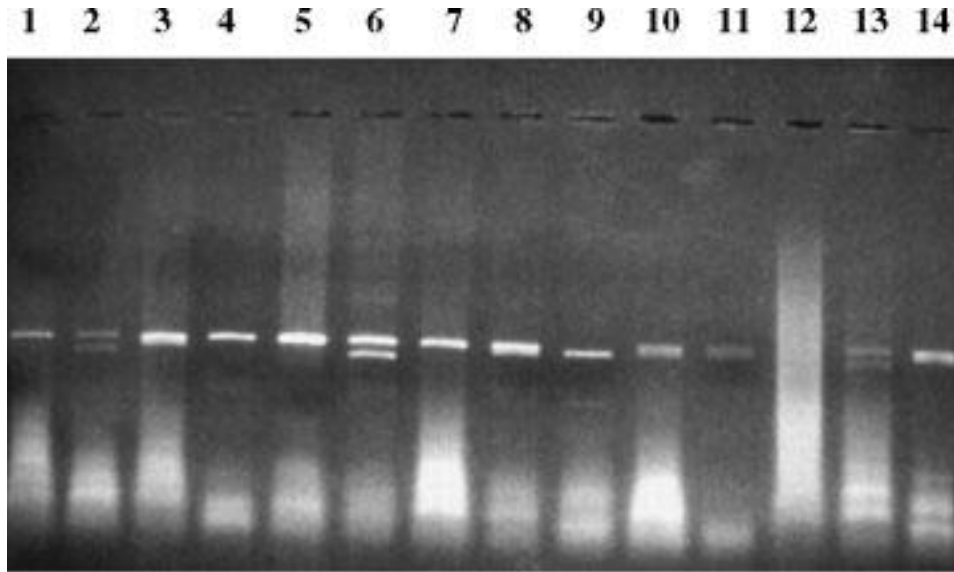
5'- gAC CTA ACA TgT TCT AgC CAg AAg- 3'

PCR KOŞULLARI: (50 µL 'lik reaksiyon için)

Steril su 15.5 µl, 10x PCR Buffer 3 µl, 25 mM MgCl 1,3 µl, 20 nM dNTP mix 1,5µl, primer–reverse, 0.3 µl, primer-forward 0.3 µl, Taq polymerase 0.2 µl (2U), DNA 2 µl. Bu karışım vortekslendi ve 'thermal cycler' a kondu. Thermal cycler'da 95 °C'de 3 dakika, 95 °C'de 45 saniye, 56°C'de 60 saniye olmak üzere toplam 35 döngü hazırlandı. Son siklуста uzatma zamanı (extension time) 10 dakika yapıp siklus sonlandırıldı. PCR ürünleri (8µl) alınıp 2µl loading buffer eklendi, %1'lik agarozda kontrol edildi.

SONUÇLARIN YORUMLANMASI

A/A (homozigot) genotipinde 558 bp'lik bir parça, heterozigot bireylerde ise (A/B) beklenildiği gibi 558 ve 538 bp'lik 2 parça oluşmuştur.



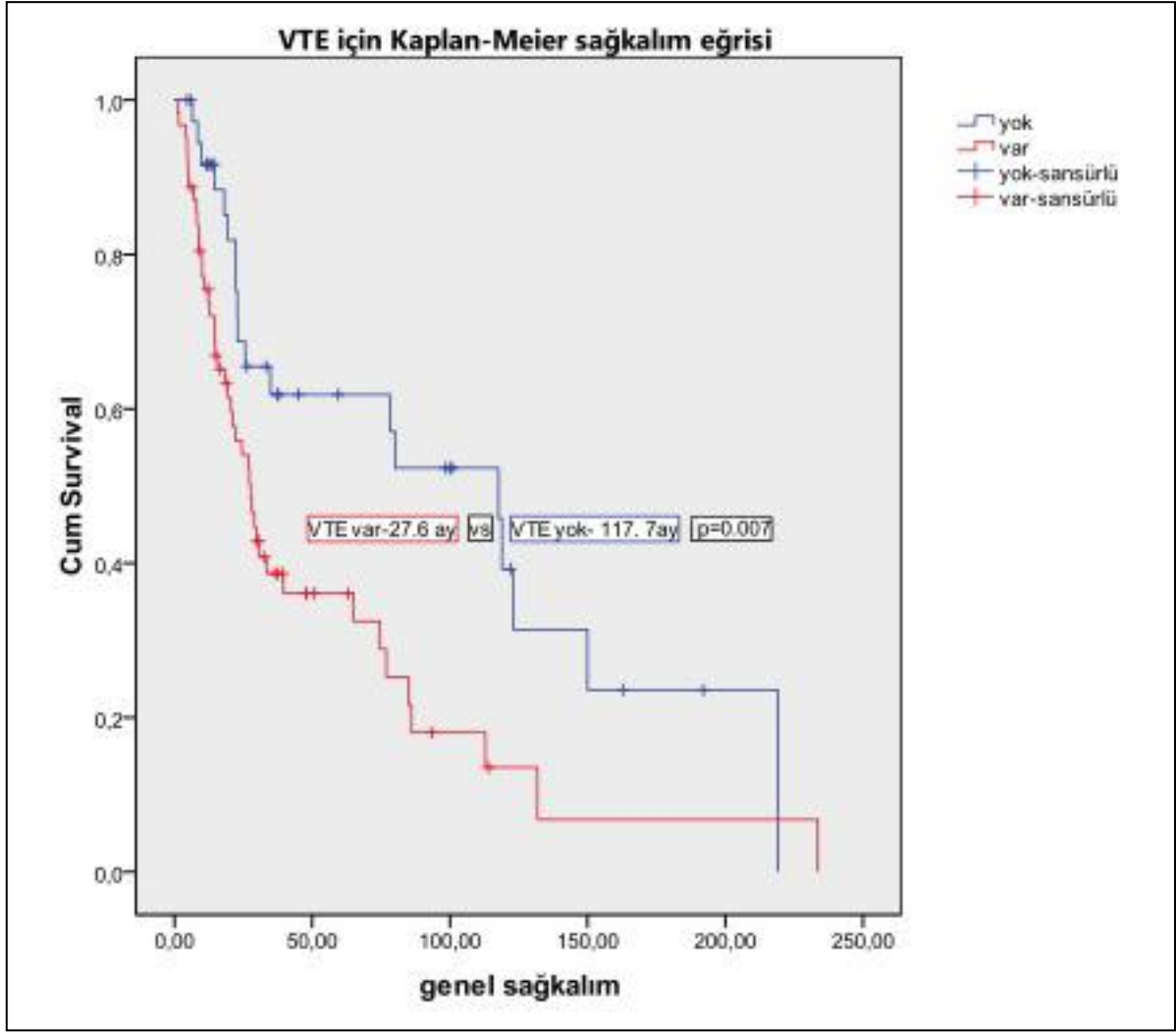
Şekil 5.1- PCR ürünlerini gösteren agaroz jel fotoğrafı. 1,4,5,7 AA (558 bp); 3,8,10,11 AB (558+528 bp), 9 BB (528 bp).

İstatistik analizler SPSS versiyon 17 yazılımı kullanılarak yapıldı. Değişkenlerin normal dağılıma uygunluğu görsel (histogram ve olasılık grafikleri) ve analitik yöntemlerle (Kolmogorov-Smirnov/Shapiro-Wilk testleri) incelendi. Tanımlayıcı istatistikler normal dağılan değişkenler (yaş) için ortalama±standart sapma, normal dağılmayan değişkenler için ortanca ve minimum-maksimum değerler, kategorik değişkenler için frekans tabloları kullanılarak verildi. İstatistik, koşullara göre student T testi Mann-Whitney U ve Ki-kare yada Fisher testleri kullanılarak yapıldı. Sağkalım hızları Kaplan-Meier analizi kullanılarak yapıldı. Sağkalım analizlerinde süre başlangıcı, tanı konulma tarihi olarak alındı. P-değerinin 0.05'in altında olduğu durumlar istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar şeklinde değerlendirildi.

VI-BULGULAR

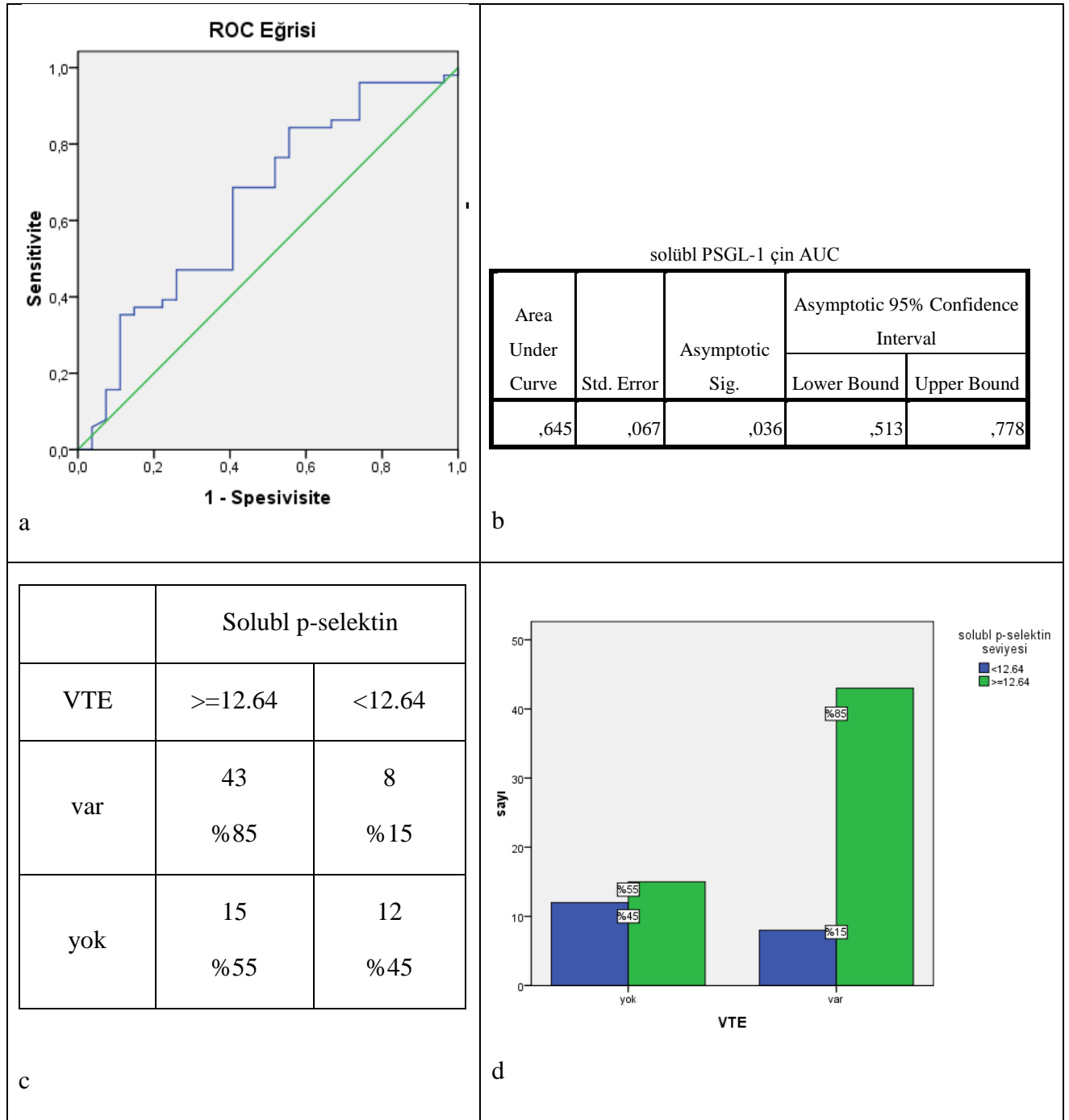
Gruplar arasında yaş ve cinsiyet farkı yoktu. PSGL-1 polimorfizm sıklıkları farklı değildi. Doku faktörü gruplar arasında fark göstermemişken solubl p-selektin tromboz grubunda anlamlı olarak yüksekti (p=0.036). Bulguların özeti Tablo 6.1’de verilmiştir. VTE, ölüm riskini 2.3 (%95 CI: 1.007-5.32; p=0.038) artırıyordu. Bu ilişki Kaplan-Meier eğrisinde de görüldü, VTE olan grubun ortanca sağkalımı 27.6 ay iken VTE olmayan grubun ortanca sağkalımı 117.7 ay idi (p=0.007) (şekil 6.1)

Tablo 6.1- Bulgu özeti				
		venöz tromboemboli		
		var n=63	yok n=38	p değeri;%95 CI
cinsiyet (erkek) n=55		%55	%53	0.775
yaş		61.1±12 (37-85)	57.6±12.7 (30-84)	0.168
PSGL-1 sağlıklı kontrol vs adenokanser N=203 N=101	AA n=69 (%68.3)	41(%65)	28(%73.6)	0.612
	AB n=25(%24.8)	17(%27)	8(%21.1)	
	BB n=5(%5)	3(%4.8)	2(%5.3)	
	AC n=2(%2)	2(%3.2)	0	
	AA n=139 (%68.5)			
	AB n=45(%22.2)			
	BB n=10(%4.9)			
	AC n=9(%4.4)			
homozigot (AA+BB) n=74		44(%69.8)	30(%78.9)	0.222
heterozigot (AB+AC) n=27		19(%30.2)	8(%21.1)	
Doku Faktörü (pg/ml) n=77		302 (13-800)	330 (14-800)	0.94
solubl p-selektin (pg/ml) n=78		16 (5.99-39.9)	14.31 (7.26-39.91)	0.036
ex n=63		44	19	0.038
hayatta n=38		19	19	
				2.3(1.007-5.32)
kolorektal	n=31(%31)	17	14	0.93
mide	n=18 (%19)	12	6	
pankreas	n=14(%14)	10	4	
akciğer	n=12(%12)	8	4	
meme	n=11(%11)	6	5	
over	n=5(%5)	3	2	
prostat	n=5(%5)	3	2	
kolanjiokarsinom	n=3(%3)	2	1	
primeri bilinmeyen	n=2(%2)	2	0	
alt ekstremitte DVT	%46	29		
PE	%36	23		
santral/proksimal	%10	6		
port trombozu	%8	5		



Şekil 6.1- VTE, adenokanser hastalarında genel sağkalımı kısaltmaktadır.

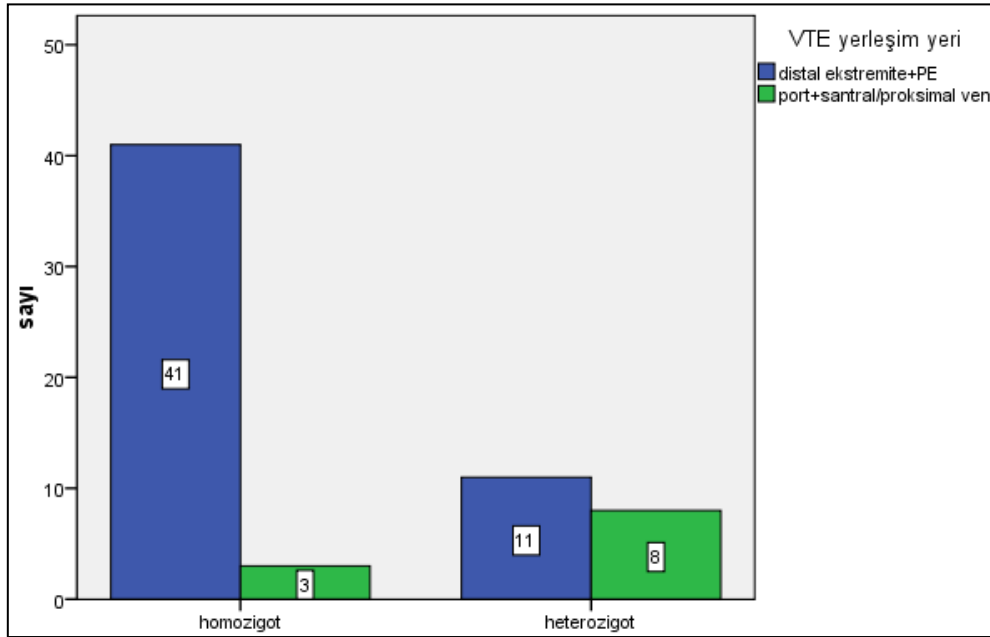
ROC (*Receiver Operation Characteristics*) analizinde Solubl p-selektin değerlerinin VTE'yi öngörmeye tanısal değeri olduğu görüldü [AUC 0.65; 95% CI:0.513-0.778 (p=0.036)]. Optimal sensitivite ve spesifite değerleri sırasıyla %88 ve %44 olup solubl p-selektin cut-off değeri 12.64 olarak görüldü. 12.64 değerinin VTE için pozitif prediktif değeri %74, negatif prediktif değeri %60 olarak hesaplandı. Yine solubl p-selektinin cut-off değerinin üzerinde olması VTE riskini 4.3 (95% CI:1.5-12.5) kat artırıyor.



Şekil 6.2- Solubl p-selekti ROC eğrisi (a) AUC %65 (p=0.036) (b) çapraz tablo (c) ve grafik anlatım(d)

PSGL-1 polimorfizmi VTE ile ilişkili olmamakla birlikte, VTE lokalizasyonu ile ilişkiliydi. AB ve AC polimorfik tip, port trombozu ve santral/proksimal lokalizasyonunda daha sıklıkla (p=0.02). Polimorfik tip heterozigot/homozigot olarak ayrıldığında bu birliktelik daha sıkı olarak görülüyordu (p=0.007) (Tablo 6.2, şekil 6.3).

Tablo 6.2- PSGL-1 polimorfik tipi ile VTE lokalizasyon ilişkisi					
VTE yerleşim yeri					p değeri
PSGL-1 polimorfik tipi	DVT n=29	PE n=23	santral/proksimal n=6	port trombozu n=5	
AA n=41	23 (%79.4)	16 (%69.6)	1 (%16.7)	1 (%20)	0.02
AB n=17	4 (%13.8)	6 (%26.1)	4 (%66.7)	3 (%60)	
BB n=3	1 (%3.4)	1 (%4.3)	1 (%16.7)	0	
AC n=2	1 (%3.4)	0	0	1 (%20)	
homozigot n=44	24 (%82.8)	17 (%73.9)	2 (%33.3)	1 (%20)	0.007
heterozigot n=41	5 (%17.2)	6 (%26.1)	4 (%66.7)	4 (%80)	



Şekil 6.3- PSGL-1 heterozigot polimorfik tip port trombozu ve santral/proksimal ven trombozunda daha sıklıkla görülür.

Solubl p-selektin PSGL-1 heterozigot polimorfik tipinde istatistik anlamı olmamakla beraber daha düşüktü [14.85 (5.99-30.49) vs 19.04 (7.26-39.91); p=0.35)]. Fakat,doku faktörü PSGL-1 heterozigot polimorfik tipinde daha yüksekti (p=0.042). Doku faktörü kemoterapi almakta olan VTE'li hastalarda istatistik anlamlılığa ulaşmamakla birlikte daha düşüktü (p=0.079). Doku faktörü seviyesi tümör tipleri arasında farklılık gösteriyordu (p=0.011). En yüksek seviyeler pankreas kanserinde ve hemen ardından kolorektal kanserde, en düşük seviyeler ise mide, meme ve akciğer kanserinde gözlemlendi. Pankreas kanserinde doku faktörü seviyeleri diğer tümör tiplerinden anlamlı derecede yüksekti (p=0.047)(Tablo 6.3).

Tablo 6.3- Doku Faktörünün ilişkili olduğu değişkenler			
	Doku Faktörü seviyesi		P değeri
polimorfik tip n=77	heterozigot (%27) 356 (14-800)	Homozigot (%73) 74 (13-800)	p=0.042
VTE sırasında KT n=50	evet (%68) 99 (13-800)	hayır (%32) 328 (14-800)	p=0.079
tümör tipi n=77	pankreas (%15) 800 (16-800)	diğerleri (%85) 99 (13-800)	p=0.047

VII-TARTIŞMA

Bu çalışmada, Armand Trousseau'nun kanser hastalığında venöz trombozu kolaylaştırıcı faktör olarak anlattığı “*kan krizi*” yapbozunun yeni parçaları arandı. PSGL-1 heterozigot formlarının, port trombozu ve santral/proksimal ven olarak sınıflanan subklavien ve juguler ven gibi büyük damar trombozuna katkı yaptığı bulgusu yapbozun yeni parçası olmaya aday gibi görünmektedir. Solubl p-selektin ve doku faktörü ile ilgili bulgular, daha önceki bulguları destekler nitelikte olup yine PSGL-1 heterozigot formlarıyla doku faktörünün ilişkisi yeni alanların kapısını aralıyor gibi görünmektedir.

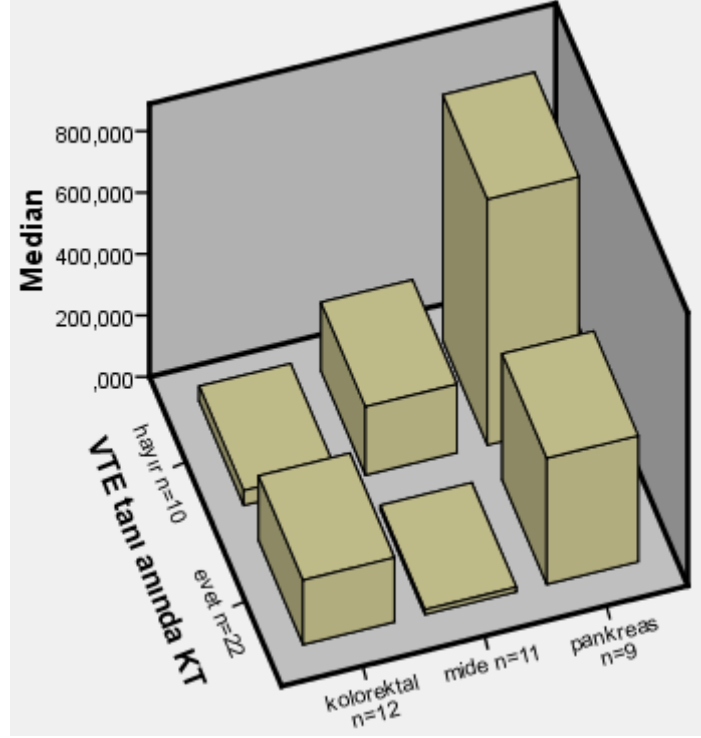
Port Trombozu-Santral/proksimal ven Trombozu

Lee ve ark'nın prospektif çalışmasında santral venöz kateter, tromboz için major risk faktörü olarak bildirilmiş ve insidansı %4.3 olarak verilmiştir [93]. İlk çalışmalarda %28, venografik incelemede ise çoğu asemptomatik olmak üzere %27 ile %66 arasında insidans bildirilirken [94], toplam 16 çalışmayı kapsayan 2169 hastanın alındığı sistematik gözden geçirmede insidans %12 olarak bildirilmiştir [104]. İnsidansın yıllar içinde bu düşüşü, daha çok kateter kalitesinde artış ve yerleştirilmesinde artan tecrübeyle açıklandı [94]. Venografik incelemeler kateter yerleştildikten sonra ilk 24 saat içinde çevresinde bir fibrin kılıf oluştuğunu, kateter yerinde kaldıkça fibrin kılıfın da sebat ettiğini fakat bu sürecin her zaman tromboza ilerlemediğini göstermektedir [105]. Kateterin lümeninde fibrin pıhtı oluşabilmekte ve kateterden kan alımını engelleyebilmektedir[106]. Fakat bu sürecin tromboza nasıl ilerlediği açık değildir. Tesselaar ve ark kateteri olan 243 kanser hastasında, over kanserinin port trombozu riskini artırdığı [95], Lee ve ark'nın çalışmasında da yine over kanserinin riski 4.8 kat arttırdığı bildirdi [93]. Yine, Hickman tipi kateteri olan 168 solid tümör hastasında akciğer adenokanserinin akciğer, baş-boyun ve özofagus skuamöz hücreli kansere göre port trombozu riskini arttırdığı gösterildi [107]. Çalışmamızda, port trombozlu hastalarda artmış PSGL-1 heterozigot formlarının, yine PSGL-1 heterozigot formlarında artmış doku faktörüyle birlikte port trombozunun oluşumuna giden koagülasyon mekanizmasını tetiklediği sonucuna varılmıştır. Kemoterapi alan hastalarda doku faktörünün düşük bulunuşu da, PSGL-1 heterozigot formlarının koagülasyon mekanizmalarını aktiflediği, doku faktörü yüksek seviyesi için önemli bir aktör olduğu ve arttırdığı doku faktörü seviyesi ile birlikte süreci tromboza taşıdığını göstermektedir. Santral/proksimal venler olarak gruplandırılan subklavien, juguler ve iliak ven gibi büyük damarlardaki tromboza ait literatür bilgisi yoktur.

Kohortumuzdaki santral/proksimal ven trombozu toplamı altı olup biri iliak ven, diğeri subklavian vende ve arta kalan dördü juguler vende yerleşmiştir. Kohortumuzda kateterin yerleştirildiği ven subklavian ven olup PSGL-1 heterozigot fomlarının aynı boy ve yapıda venlerdeki trombozla ilgili olması ilgi çekicidir. Lökositler kanın büyük elelmanları olmaları nedeniyle kan akımında damar duvarına yakın, endotelle yakın temas halinde hareket eder. Subklavie ven, juguler ven gibi orta büyüklükteki damarlarda kan akımı özellikleri, lökositin endotelle daha yakın temasına ve heterozigot PSGL-1 alellerinin p-selektin ile daha sıkı bağ kurarak bu bölgede aktive olmasına neden olabilir. Yine subklavian vene takılmış bir kateter hem kan akımını yavaşlatarak, hem de kendisi üzerindeki fibrin kılıfla birlikte lökositler için bölgesel aktivite noktaları oluşturabilir [108].

Doku Faktörü

Pankreas kanserinde, malign transformasyonun erken döneminde doku faktörü ekspresyonunun başladığı, angiogenezele ilişkisi ve VTE için prediktif olabileceği gösterilmişti [97, 109]. Çalışmamızda, doku faktörü pankreas kanserinde diğer tümör tiplerinden anlamlı derecede yüksekti ($p=0.047$). Kemoterapi doku faktörü seviyesini düşürüyor (şekil 7.1). ($p=0.079$). Bu veri, tümör hücersinin önemli bir doku faktörü kaynakğı olduğunun indirekt bulgusu olarak değerlendirildi. Bu veri pankreas kanserinde k-ras mutasyonunu erken dönemde %45 pozitif oluşu ve diferensiasyonun azalmasıyla pozitifliğinin artmasıyla birebir örtüşmektedir [110]. Yine bu veri prokoagulan aktivitenin onkogenik aktivite ile başladığını kanıtlar niteliktedir [15].



Şekil 7.1- Kolorektal kanser grubunda kemoterapi almayan sadece bir hasta vardı. Verisi beşin altında olan tanıları grafiğe konulmadı.

Solubl P-selektin

Solubl p-selektin plazma seviyesinin 53.1 ng/ml'nin üzerinde (75. persantil üzerinde) olmasının VTE riskini 2.6 arttırdığı bildirilmiştir [100]. Çalışmamızda solubl p-selektin yüksek değerlerinin VTE için pozitif prediktif olduğu görüldü. Bununla beraber, çalışmamızda hesaplanan cut-off değeri 25. persantil üzerine denk geliyordu.

Çalışmanın Eleştirisi

Bu çalışmanın en zayıf noktası retrospektif olmasıdır. Solubl p-selektin ve doku faktörü ölçümünün yapıldığı plazma, hastalardan rastgele zamanda temin edilmiştir. Diğer bir nokta tüm histolojik tiplerin adenokanser olmasına rağmen farklı tümör tipleri nedeniyle kohortun heterojen oluşudur. Daha yüksek hasta sayıları, PSGL-1 polimorfizmi tromboz arasında ilişki olduğunu kanıtlayabilir.

VIII-ÖZET

Amaç: Kanser ve venöz tromboemboli arasında uzun zamandan beri var olduğu bilinen yakın ilişki kanser hücrelerinin, hemostatik sistemin ancak doğru yerde-doğru zamanda tetiklendiğinde koagülasyonun başlamasıyla sonuçlanan ince ayarlı mekanizmasına müdahil olduğunu ve cckanserde prokoagulan aktivitenin epifenomen olmadığını, karsinogenezle başladığını göstermektedir. Bu tezin amacı kanser hastalığında tromboemboli mekanizmalarını açıklayacak bilgi üretmektir.

Gereç ve Yöntem: Ekim 2007- Mart 2012 arasında İstanbul Bilim Üniversitesi Tıbbi Onkoloji Bilim Dalı'nda takip edilmiş 18 yaşından büyük, histolojik olarak kanıtlanmış adenokarsinom hastaları çalışmaya alınmıştır. PSGL-1 VNTR polimorfizmi, DF ve solubl p-selektin ölçülerek VTE olan ve olmayan grup karşılaştırıldı. Ayrıca VTE öyküsü olmayan 203 sağlıklı birey PSGL-1 polimorfik tipi VTE olan ve olmayan adenokanser grubuyla karşılaştırıldı. VTE olan grupta PSGL-1 VNTR heterozigot polimorfik tipin fazla olduğu, DF ve solubl p-selektin seviyelerinin yüksek olduğu savı test edildi.

Bulgular: Solubl p-selektin tromboz grubunda anlamlı olarak yüksekti ($p=0.036$). PSGL-1 polimorfizmi VTE lokalizasyonu ile ilişkiliydi. AB ve AC polimorfik tip, port trombozu ve santral/proksimal lokalizasyonunda daha sıklıkla ($p=0.02$). Polimorfik tip heterozigot/homozigot olarak ayrıldığında bu birliktelik daha sıkı olarak görülüyordu ($p=0.007$). Doku faktörü seviyesi tümör tipleri arasında farklılık gösteriyordu ($p=0.011$). Pankreas kanserinde doku faktörü seviyeleri diğer tümör tiplerinden anlamlı derecede yüksekti ($p=0.047$).

Sonuç: PSGL-1 heterozigot formlarının, port trombozu ve santral/proksimal ven olarak sınıflanan subklavien ve juguler ven gibi büyük damar trombozuna katkı yaptığı bulgusu yapbozun yeni parçası olmaya aday gibi görünmektedir. Solubl p-selektin ve doku faktörü ile ilgili bulgular, daha önceki bulguları destekler nitelikte olup yine PSGL-1 heterozigot formlarıyla doku faktörünün ilişkisi yeni alanların kapısını aralıyor gibi görünmektedir.

IX-SUMMARY

Purpose: It appears that cancer cells interact with delicate coagulation mechanisms and causes thrombosis when this interaction occur right time, right place. Evidence shows that procoagulant activity in cancer is not an epiphenomen, starts with carcinogenesis. The purpose of this thesis is to produce knowledge explaining mechanisms in cancer-related thrombosis.

Material and Methods: Patients older than eighteen years old with histologically confirmed adenocarcinoma followed at Department of Medical Oncology, İstanbul Bilim Üniversitesi between October 2007- March 2012 are drawn blood for PSGL-1 VNTR polymorphism, tissue factor and soluble p-selectin. It is tested if heterozygous PSGL-1 VNTR polymorphic type, tissue factor and soluble p-selectin is high at cancer patients with thrombosis.

Results: Soluble p-selectin was high at patients with thrombosis ($p=0.036$). PSGL-1 polymorphism was related with thrombosis localisation. AB and AC types was frequent at catheter related and central/proximal vein thrombosis ($p=0.02$) and, with heterozygosity (AB+AC) relationship was more prominent ($p=0.007$). The level of tissue factor was different between different tumor types ($p=0.011$). Tissue factor was high at pancreatic carcinoma ($p=0.047$).

Conclusion: Difference of PSGL-1 VNTR polymorphism between thrombosis localisations may be a new piece for puzzle.

KAYNAKLAR

1. Bouillaud, S., *De l'Obliteration des veines et de son influence sur la formation des hydropisies partielles: consideration sur la hydropisies passive et general.* Arch Gen Med, 1823. **1**: p. 188-204.
2. Noble, S. and J. Pasi, *Epidemiology and pathophysiology of cancer-associated thrombosis.* Br J Cancer, 2010. **102 Suppl 1**: p. S2-9.
3. H. R. BULLER, F.F.V.D., G. L. VAN SLUIS and P. W. KAMPHUISEN, *Cancer and thrombosis from molecular mechanisms to clinical.* J Thromb Haemost, 2007. **5**(suppl. 1): p. 246-254.
4. Trousseau, A., *Phlegmatia alba dolens,* in *Clinique Medicale de l'Hotel-Dieu de Paris* 1868, J.-B. Bailliere et Fils. p. 652-694.
5. Trousseau, A., *Phlegmasia alba dolens,* in *Lectures on clinical medicine, delivered at the Hotel-Dieu de Paris,* K.B. John Rose Cormack, Editor 1872, The New Sydenham Society: London. p. 281-332.
6. Virchow, R., *Thrombose und Embolie. Gefässentzündung und septische Infektion.* *Gesammelte Abhandlungen zur wissenschaftlichen Medicin,* ed. V. RLK(1846-1856), Frankfurt am Main: Von Meidinger & Sohn. 219-732.
7. Illtyd James T, M.N., *Thromboplebitis in cancer.* Practitioner, 1935. **134**: p. 683-4.
8. Ackerman R, E.J., *Prognosis in idiopathic thrombophlebitis.* Ann Intern Med, 1951. **34**: p. 902-10.
9. Lyman GH, B.R., Robson E, Ambrus JL, Urban H., *Fibrinogen kinetics in patients with neoplastic disease.* Cancer, 1978. **41**(3): p. 1113-22.
10. Varki, A., *Trousseau's syndrome: multiple definitions and multiple mechanisms.* Blood, 2007. **110**(6): p. 1723-9.
11. Lyman, G.H. and A.A. Khorana, *Cancer, clots and consensus: new understanding of an old problem.* J Clin Oncol, 2009. **27**(29): p. 4821-6.

12. Prandoni P, L.A., Buller HR, et al. , *Deep-vein thrombosis and the incidence of subsequent symptomatic cancer*. N Engl J Med, 1992. **327**: p. 1128-1133.
13. Boccaccio, C., et al., *The MET oncogene drives a genetic programme linking cancer to haemostasis*. Nature, 2005. **434**(7031): p. 396-400.
14. Boccaccio, C. and P.M. Comoglio, *Genetic link between cancer and thrombosis*. J Clin Oncol, 2009. **27**(29): p. 4827-33.
15. Yu, J.L., et al., *Oncogenic events regulate tissue factor expression in colorectal cancer cells: implications for tumor progression and angiogenesis*. Blood, 2005. **105**(4): p. 1734-41.
16. Blom, J.W., et al., *Malignancies, Prothrombotic Mutations, and the Risk of Venous Thrombosis*. JAMA: The Journal of the American Medical Association, 2005. **293**(6): p. 715-722.
17. White, R.H., et al., *Effect of ethnicity and gender on the incidence of venous thromboembolism in a diverse population in California in 1996*. Thromb Haemost, 2005. **93**(2): p. 298-305.
18. Heit, J.A., et al., *Relative Impact of Risk Factors for Deep Vein Thrombosis and Pulmonary Embolism: A Population-Based Study*. Arch Intern Med, 2002. **162**(11): p. 1245-1248.
19. Khorana, A.A., et al., *Frequency, risk factors, and trends for venous thromboembolism among hospitalized cancer patients*. Cancer, 2007. **110**(10): p. 2339-46.
20. Levitan, N., et al., *Rates of initial and recurrent thromboembolic disease among patients with malignancy versus those without malignancy. Risk analysis using Medicare claims data*. Medicine (Baltimore), 1999. **78**(5): p. 285-91.
21. Sorensen, H.T., et al., *The risk of a diagnosis of cancer after primary deep venous thrombosis or pulmonary embolism*. N Engl J Med, 1998. **338**(17): p. 1169-73.

22. Murchison, J.T., L. Wylie, and D.L. Stockton, *Excess risk of cancer in patients with primary venous thromboembolism: a national, population-based cohort study*. Br J Cancer, 2004. **91**(1): p. 92-5.
23. Monreal, M., et al., *Screening for occult cancer in patients with acute deep vein thrombosis or pulmonary embolism*. J Thromb Haemost, 2004. **2**(6): p. 876-81.
24. Kakkar, V.V., et al., *Natural history of postoperative deep-vein thrombosis*. Lancet, 1969. **2**(7614): p. 230-2.
25. Tapson, V.F., *Acute pulmonary embolism*. N Engl J Med, 2008. **358**(10): p. 1037-52.
26. Khorana, A.A., et al., *Thromboembolism in hospitalized neutropenic cancer patients*. J Clin Oncol, 2006. **24**(3): p. 484-90.
27. Sorensen, H.T., et al., *Prognosis of cancers associated with venous thromboembolism*. N Engl J Med, 2000. **343**(25): p. 1846-50.
28. Prandoni, P., et al., *Recurrent venous thromboembolism and bleeding complications during anticoagulant treatment in patients with cancer and venous thrombosis*. Blood, 2002. **100**(10): p. 3484-8.
29. Colman, R.W., *Are hemostasis and thrombosis two sides of the same coin?* J Exp Med, 2006. **203**(3): p. 493-5.
30. Nemerson, Y., *The tissue factor pathway of blood coagulation*. Smin Hematol, 1992. **29**: p. 170.
31. Kasthuri, R.S., M.B. Taubman, and N. Mackman, *Role of tissue factor in cancer*. J Clin Oncol, 2009. **27**(29): p. 4834-8.
32. Kakkar, A.K., et al., *Extrinsic-pathway activation in cancer with high factor VIIa and tissue factor*. Lancet, 1995. **346**(8981): p. 1004-5.
33. Dougald M. Monroe III, M.H., Harold R. Roberts, *A Cell-Based Model Of Coagulation*, in *Williams Hematology*, M.A.L. Kenneth Kaushansky, Ernest Beutler, Thomas J. Kipps, Uri Seligsohn, Josef T. Prchal, Editor 2010, McGraw-Hill. p. 1835-1839.

34. Monkovic DD, T.P., *Activation of human factor V by factor Xa and thrombin*. *Biochemistry*, 1990. **29**: p. 1118.
35. Eilertsen, K.E. and B. Osterud, *Tissue factor: (patho)physiology and cellular biology*. *Blood Coagul Fibrinolysis*, 2004. **15**(7): p. 521-38.
36. Larsen, E., et al., *PADGEM protein: a receptor that mediates the interaction of activated platelets with neutrophils and monocytes*. *Cell*, 1989. **59**(2): p. 305-12.
37. Hamburger, S.A. and R.P. McEver, *GMP-140 mediates adhesion of stimulated platelets to neutrophils*. *Blood*, 1990. **75**(3): p. 550-4.
38. Yeo, E.L., J.A. Sheppard, and I.A. Feuerstein, *Role of P-selectin and leukocyte activation in polymorphonuclear cell adhesion to surface adherent activated platelets under physiologic shear conditions (an injury vessel wall model)*. *Blood*, 1994. **83**(9): p. 2498-507.
39. Diacovo, T.G., et al., *Neutrophil rolling, arrest, and transmigration across activated, surface-adherent platelets via sequential action of P-selectin and the beta 2-integrin CD11b/CD18*. *Blood*, 1996. **88**(1): p. 146-57.
40. Sheikh, S. and G.B. Nash, *Continuous activation and deactivation of integrin CD11b/CD18 during de novo expression enables rolling neutrophils to immobilize on platelets*. *Blood*, 1996. **87**(12): p. 5040-50.
41. Kirchhofer, D., M.A. Riederer, and H.R. Baumgartner, *Specific accumulation of circulating monocytes and polymorphonuclear leukocytes on platelet thrombi in a vascular injury model*. *Blood*, 1997. **89**(4): p. 1270-8.
42. Konstantopoulos, K., et al., *Venous levels of shear support neutrophil-platelet adhesion and neutrophil aggregation in blood via P-selectin and beta2-integrin*. *Circulation*, 1998. **98**(9): p. 873-82.
43. Ishiwata, N., et al., *Alternatively spliced isoform of P-selectin is present in vivo as a soluble molecule*. *J Biol Chem*, 1994. **269**(38): p. 23708-15.

44. Li, F., et al., *Visualization of P-selectin glycoprotein ligand-1 as a highly extended molecule and mapping of protein epitopes for monoclonal antibodies*. J Biol Chem, 1996. **271**(11): p. 6342-8.
45. Moore, K.L., et al., *P-selectin glycoprotein ligand-1 mediates rolling of human neutrophils on P-selectin*. J Cell Biol, 1995. **128**(4): p. 661-71.
46. Yago, T., et al., *Distinct molecular and cellular contributions to stabilizing selectin-mediated rolling under flow*. J Cell Biol, 2002. **158**(4): p. 787-99.
47. Celi, A., et al., *P-selectin induces the expression of tissue factor on monocytes*. Proc Natl Acad Sci U S A, 1994. **91**(19): p. 8767-71.
48. Ridker, P.M., J.E. Buring, and N. Rifai, *Soluble P-selectin and the risk of future cardiovascular events*. Circulation, 2001. **103**(4): p. 491-5.
49. Cambien, B. and D.D. Wagner, *A new role in hemostasis for the adhesion receptor P-selectin*. Trends Mol Med, 2004. **10**(4): p. 179-86.
50. Ludwig, R.J., M.P. Schon, and W.H. Boehncke, *P-selectin: a common therapeutic target for cardiovascular disorders, inflammation and tumour metastasis*. Expert Opin Ther Targets, 2007. **11**(8): p. 1103-17.
51. Polgar, J., J. Matuskova, and D.D. Wagner, *The P-selectin, tissue factor, coagulation triad*. J Thromb Haemost, 2005. **3**(8): p. 1590-6.
52. Goel, M.S. and S.L. Diamond, *Neutrophil cathepsin G promotes prothrombinase and fibrin formation under flow conditions by activating fibrinogen-adherent platelets*. J Biol Chem, 2003. **278**(11): p. 9458-63.
53. Goel, M.S. and S.L. Diamond, *Neutrophil enhancement of fibrin deposition under flow through platelet-dependent and -independent mechanisms*. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2001. **21**(12): p. 2093-8.
54. Giesen, P.L., et al., *Blood-borne tissue factor: another view of thrombosis*. Proc Natl Acad Sci U S A, 1999. **96**(5): p. 2311-5.

55. Furie, B. and B.C. Furie, *Role of platelet P-selectin and microparticle PSGL-1 in thrombus formation*. Trends Mol Med, 2004. **10**(4): p. 171-8.
56. Ott, I., et al., *Increased neutrophil-platelet adhesion in patients with unstable angina*. Circulation, 1996. **94**(6): p. 1239-46.
57. Mickelson, J.K., et al., *Leukocyte activation with platelet adhesion after coronary angioplasty: a mechanism for recurrent disease?* J Am Coll Cardiol, 1996. **28**(2): p. 345-53.
58. Lozano, M.L., et al., *Polymorphisms of P-selectin glycoprotein ligand-1 are associated with neutrophil-platelet adhesion and with ischaemic cerebrovascular disease*. Br J Haematol, 2001. **115**(4): p. 969-76.
59. Bugert, P., et al., *The variable number of tandem repeat polymorphism in the P-selectin glycoprotein ligand-1 gene is not associated with coronary heart disease*. J Mol Med (Berl), 2003. **81**(8): p. 495-501.
60. Roldan, V., et al., *Short alleles of P-selectin glycoprotein ligand-1 protect against premature myocardial infarction*. Am Heart J, 2004. **148**(4): p. 602-5.
61. Ozben, B., et al., *The association of P-selectin glycoprotein ligand-1 VNTR polymorphisms with coronary stent restenosis*. J Thromb Thrombolysis, 2007. **23**(3): p. 181-7.
62. Diz-Kucukkaya, R., et al., *P-selectin glycoprotein ligand-1 VNTR polymorphisms and risk of thrombosis in the antiphospholipid syndrome*. Ann Rheum Dis, 2007. **66**(10): p. 1378-80.
63. Tauxe, C., et al., *P-selectin glycoprotein ligand-1 decameric repeats regulate selectin-dependent rolling under flow conditions*. J Biol Chem, 2008. **283**(42): p. 28536-45.
64. Miller, G.J., et al., *Increased incidence of neoplasia of the digestive tract in men with persistent activation of the coagulant pathway*. J Thromb Haemost, 2004. **2**(12): p. 2107-14.
65. Kakkar, A.K., et al., *Tissue factor expression correlates with histological grade in human pancreatic cancer*. Br J Surg, 1995. **82**(8): p. 1101-4.

66. Patry, G., et al., *Tissue factor expression correlates with disease-specific survival in patients with node-negative muscle-invasive bladder cancer*. Int J Cancer, 2008. **122**(7): p. 1592-7.
67. Rong, Y., et al., *PTEN and hypoxia regulate tissue factor expression and plasma coagulation by glioblastoma*. Cancer Res, 2005. **65**(4): p. 1406-13.
68. Prandoni, P., A. Falanga, and A. Piccioli, *Cancer and venous thromboembolism*. Lancet Oncol, 2005. **6**(6): p. 401-10.
69. Fernandez, P.M. and F.R. Rickles, *Tissue factor and angiogenesis in cancer*. Curr Opin Hematol, 2002. **9**(5): p. 401-6.
70. Kubota, S., et al., *Abundant retention and release of connective tissue growth factor (CTGF/CCN2) by platelets*. J Biochem, 2004. **136**(3): p. 279-82.
71. Han, L.Y., et al., *Preoperative serum tissue factor levels are an independent prognostic factor in patients with ovarian carcinoma*. J Clin Oncol, 2006. **24**(5): p. 755-61.
72. Kaido, T., et al., *Tissue factor is a useful prognostic factor of recurrence in hepatocellular carcinoma in 5-year survivors*. Hepatogastroenterology, 2005. **52**(65): p. 1383-7.
73. Bromberg, M.E., et al., *Tissue factor promotes melanoma metastasis by a pathway independent of blood coagulation*. Proc Natl Acad Sci U S A, 1995. **92**(18): p. 8205-9.
74. Bromberg, M.E., et al., *Role of tissue factor in metastasis: functions of the cytoplasmic and extracellular domains of the molecule*. Thromb Haemost, 1999. **82**(1): p. 88-92.
75. Stein, P.D., et al., *Incidence of venous thromboembolism in patients hospitalized with cancer*. Am J Med, 2006. **119**(1): p. 60-8.
76. Chew, H.K., et al., *Incidence of venous thromboembolism and its effect on survival among patients with common cancers*. Arch Intern Med, 2006. **166**(4): p. 458-64.
77. Khorana, A.A., et al., *Risk factors for chemotherapy-associated venous thromboembolism in a prospective observational study*. Cancer, 2005. **104**(12): p. 2822-9.

78. Alikhan, R., et al., *Risk factors for venous thromboembolism in hospitalized patients with acute medical illness: analysis of the MEDENOX Study*. Arch Intern Med, 2004. **164**(9): p. 963-8.
79. Zakai, N.A., J. Wright, and M. Cushman, *Risk factors for venous thrombosis in medical inpatients: validation of a thrombosis risk score*. J Thromb Haemost, 2004. **2**(12): p. 2156-61.
80. Agnelli, G., et al., *A clinical outcome-based prospective study on venous thromboembolism after cancer surgery: the @RISTOS project*. Ann Surg, 2006. **243**(1): p. 89-95.
81. Silverstein, M.D., et al., *Trends in the incidence of deep vein thrombosis and pulmonary embolism: a 25-year population-based study*. Arch Intern Med, 1998. **158**(6): p. 585-93.
82. Heit, J.A., et al., *Risk factors for deep vein thrombosis and pulmonary embolism: a population-based case-control study*. Arch Intern Med, 2000. **160**(6): p. 809-15.
83. Sallah, S., J.Y. Wan, and N.P. Nguyen, *Venous thrombosis in patients with solid tumors: determination of frequency and characteristics*. Thromb Haemost, 2002. **87**(4): p. 575-9.
84. Blom, J.W., et al., *Incidence of venous thrombosis in a large cohort of 66,329 cancer patients: results of a record linkage study*. J Thromb Haemost, 2006. **4**(3): p. 529-35.
85. Kroger, K., et al., *Risk factors for venous thromboembolic events in cancer patients*. Ann Oncol, 2006. **17**(2): p. 297-303.
86. Saphner, T., D.C. Tormey, and R. Gray, *Venous and arterial thrombosis in patients who received adjuvant therapy for breast cancer*. J Clin Oncol, 1991. **9**(2): p. 286-94.
87. Howell, A., et al., *Results of the ATAC (Arimidex, Tamoxifen, Alone or in Combination) trial after completion of 5 years' adjuvant treatment for breast cancer*. Lancet, 2005. **365**(9453): p. 60-2.
88. Cavo, M., et al., *Deep-vein thrombosis in patients with multiple myeloma receiving first-line thalidomide-dexamethasone therapy*. Blood, 2002. **100**(6): p. 2272-3.

89. Zangari, M., et al., *Increased risk of deep-vein thrombosis in patients with multiple myeloma receiving thalidomide and chemotherapy*. *Blood*, 2001. **98**(5): p. 1614-5.
90. Rajkumar, S.V., et al., *Combination therapy with lenalidomide plus dexamethasone (Rev/Dex) for newly diagnosed myeloma*. *Blood*, 2005. **106**(13): p. 4050-3.
91. Shah, M.A., D. Ilson, and D.P. Kelsen, *Thromboembolic events in gastric cancer: high incidence in patients receiving irinotecan- and bevacizumab-based therapy*. *J Clin Oncol*, 2005. **23**(11): p. 2574-6.
92. Hurwitz, H.I., et al., *Venous thromboembolic events with chemotherapy plus bevacizumab: a pooled analysis of patients in randomized phase II and III studies*. *J Clin Oncol*, 2011. **29**(13): p. 1757-64.
93. Lee, A.Y., et al., *Incidence, risk factors, and outcomes of catheter-related thrombosis in adult patients with cancer*. *J Clin Oncol*, 2006. **24**(9): p. 1404-8.
94. Verso, M. and G. Agnelli, *Venous thromboembolism associated with long-term use of central venous catheters in cancer patients*. *J Clin Oncol*, 2003. **21**(19): p. 3665-75.
95. Tesselaar, M.E., et al., *Risk factors for catheter-related thrombosis in cancer patients*. *Eur J Cancer*, 2004. **40**(15): p. 2253-9.
96. Khorana, A.A., et al., *Development and validation of a predictive model for chemotherapy-associated thrombosis*. *Blood*, 2008. **111**(10): p. 4902-7.
97. Khorana, A.A., et al., *Tissue factor expression, angiogenesis, and thrombosis in pancreatic cancer*. *Clin Cancer Res*, 2007. **13**(10): p. 2870-5.
98. Uno, K., et al., *Tissue factor expression as a possible determinant of thromboembolism in ovarian cancer*. *Br J Cancer*, 2007. **96**(2): p. 290-5.
99. Thomas, G.M., et al., *Cancer cell-derived microparticles bearing P-selectin glycoprotein ligand 1 accelerate thrombus formation in vivo*. *J Exp Med*, 2009. **206**(9): p. 1913-27.
100. Ay, C., et al., *High plasma levels of soluble P-selectin are predictive of venous thromboembolism in cancer patients: results from the Vienna Cancer and Thrombosis Study (CATS)*. *Blood*, 2008. **112**(7): p. 2703-8.

101. Blom, J.W., S. Osanto, and F.R. Rosendaal, *The risk of a venous thrombotic event in lung cancer patients: higher risk for adenocarcinoma than squamous cell carcinoma.* J Thromb Haemost, 2004. **2**(10): p. 1760-5.
102. Wahrenbrock, M., *Selectin-mucin interactions as a probable molecular explanation for the association of Trousseau syndrome with mucinous adenocarcinomas.* Journal of Clinical Investigation, 2003. **112**(6): p. 853-862.
103. M. Bozkurt, K.O., K. Aydin, E. Namal, A. Öztürk, C. Tecimer, Z. Akcali, G. Demir, *The impact of early thromboembolic event on prognosis in cancer patients: A single-center analysis of 1,838 patients.*, in *J Clin Oncol 29: 2011 (suppl; abstr e19694)* 2011.
104. Kuter, D.J., *Thrombotic complications of central venous catheters in cancer patients.* Oncologist, 2004. **9**(2): p. 207-16.
105. De Cicco, M., et al., *Central venous thrombosis: an early and frequent complication in cancer patients bearing long-term silastic catheter. A prospective study.* Thromb Res, 1997. **86**(2): p. 101-13.
106. Raad, II, et al., *The relationship between the thrombotic and infectious complications of central venous catheters.* JAMA, 1994. **271**(13): p. 1014-6.
107. Anderson, A.J., et al., *Thrombosis: the major Hickman catheter complication in patients with solid tumor.* Chest, 1989. **95**(1): p. 71-5.
108. Sundd, P., et al., *Biomechanics of leukocyte rolling.* Biorheology, 2011. **48**(1): p. 1-35.
109. Khorana, A.A., et al., *Plasma tissue factor may be predictive of venous thromboembolism in pancreatic cancer.* J Thromb Haemost, 2008. **6**(11): p. 1983-5.
110. Hruban, R.H., et al., *Progression model for pancreatic cancer.* Clin Cancer Res, 2000. **6**(8): p. 2969-72.