

T.C.

AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ

İÇ HASTALIKLARI ANA BİLİM DALI

AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
MERKEZ KÜTÜPHANESİ

HEMATOLOJİK MALİGNİTELİ HASTALARDA FİBRİNOLİTİK SİSTEM

(İç Hastalıkları Uzmanlık Tezi)

Dr. M. Cemal Ertuğrul

T948/1-1

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Levent Ündar

(Kaynakça gösterilerek tezinden yararlanılabilir)

ANTALYA - 1995

AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
MERKEZ KÜTÜPHANESİ

948

Tezimin hazırlanmasının her aşamasında bilgi ve yardımlarını esirgemeyen değerli hocam Doç. Dr. Levent Ündar 'a ve tezimin laboratuvar çalışmalarında büyük yardımlarını gördüğüm Kim. Müh. Firuzan Öztürk 'e teşekkürü bir borç bilirim.

Dr. M. Cemal Ertuğrul

Tezimin hazırlanmasının her aşamasında bilgi ve yardımlarını esirgemeyen değerli hocam Doç. Dr. Levent Undar 'a ve tezimin laboratuvar çalışmalarında büyük yardımlarını gördüğüm Kim. Müh. Firuzan Öztürk 'e teşekkürü bir borç bilirim.

Dr. M. Cemal Ertuğrul

KISALTMALAR

ALL	: Akut Lenfoblastik Lösemi
AML	: Akut Miyeloblastik Lösemi
α_2 -AP	: Alfa-2-Antiplasmin
AT-III	: Antitrombin-III
DIC	: Disseminated intravascular coagulation (Yaygın damarıçi pıhtılaşma)
ELISA	: Enzyme-linked Immunosorbent Assay
FDP	: Fibrin Degradation Products (Fibrin yıkım ürünleri)
FSP	: Fibrin Split Products (Fibrin yıkım ürünleri)
HMWK	: High Molecular Weight Kininogen (Yüksek molekül ağırlıklı kininojen)
IL	: İnterlökin
KLL	: Kronik Lenfositik Lösemi
MDS	: Miyelodisplastik Sendrom
(min - max)	: minimum - maximum (en küçük - en büyük)
PAI	: Plasminojen Aktivatör İnhibitör
PAP	: Plasmin-Antiplasmin (kompleks)
(SD)	: Standart Deviation (Standart Sapma)
TAT	: Trombin-Antitrombin (kompleks)
TNF	: Tümör Nekroz Faktörü
t-PA	: Tissue Plasminogen Activator (Doku plasminojen aktivatörü)
u-PA	: Ürokinaz
VO	: Venöz Oklüzyon

İÇİNDEKİLER

1. GENEL BİLGİLER

1.1. FİBRİNOLİZİS.....	1
1.1.1. FİBRİNOLİTİK ENZİM SİSTEMİNİN KOMPONENTLERİ	
1.1.1.1. PLASMİNOJEN.....	2
1.1.1.2. PLASMİNOJEN AKTİVATÖRLER	2
1.1.1.2.1. Doku Plasminojen Aktivatörleri (t-PA).....	3
1.1.1.2.2. Ürokinaz (u-PA).....	5
1.1.1.2.3. Streptokinaz.....	5
1.1.1.2.4. Plasminojen Aktivasyonunun "Sıvı Fazı"	6
1.1.1.3. PLASMİNOJEN AKTİVATÖR İNHİBİTÖRLER (PAI).....	7
1.1.1.4. ANTİPLASMİNLER.....	8
1.1.1.4.1. α_2 -Antiplasmin.....	8
1.1.2. FİBRİNOLİZİSİN FİZYOLOJİSİ	
1.1.2.1. AKTİVATÖR SALIVERİLİŞİ.....	9
1.1.2.2. PLAZMİNOJEN AKTİVASYONU VE İNHİBİSYONU.....	9
1.1.2.3. FİBRİNİN PROTEOLİTİK PARÇALANMASI.....	10
1.1.2.4. FİBRİN YIKIM ÜRÜNLERİNİN BİYOLOJİK ETKİLERİ.....	12
1.1.2.5. FİBRİNOLİZİSİN FİZYOLOJİK VARYASYONLARI.....	13
1.2. BOZULMUŞ FİBRİNOLİZİS VE TROMBOZİS.....	13

1.3. KANSER VE TROMBOZİS.....	15
1.4. KANSER VE FİBRİNOLİZİS	
1.4.1. GİRİŞ.....	17
1.4.2. SOLİD TÜMÖRLER.....	18
1.4.3. HEMATOLOJİK MALİGNİTELER.....	22
1.5. FİBRİNOLİTİK KAPASİTENİN ÖLÇÜMÜNDE VENÖZ OKLÜZYON TESTİ.....	25
2. ÇALIŞMANIN AMACI.....	27
3. GEREÇ VE YÖNTEM	
3.1. HASTALAR.....	28
3.2. ÖRNEKLERİN ALINMASI VE SAKLANMASI.....	28
3.3. LABORATUAR ANALİZ.....	29
3.4. İSTATİSTİK DEĞERLENDİRME.....	31
4. SONUÇLAR.....	31
5. TARTIŞMA.....	38
6. ÖZET.....	44
7. KAYNAKLAR.....	46

1- GENEL BİLGİLER

1.1.FİBRİNOLİZİS

Damar içinde oluşan fibrinin erimesini sağlayan spesifik bir olay olan fibrinolizis, doğal antitrombotik mekanizmanın bir parçasıdır¹. Endotel hücrelerinden salınan doku plasminojen aktivatörü (t-PA) fibrinolizisi uyaran önemli bir faktör olup plasminojenden, fibrin parçalayan bir enzim olan "plasmin" in oluşumuna neden olur^{1,2}. Ancak, t-PA 'nın spesifik inhibitörü olan plasminojen aktivatör inhibitör-1 (PAI-1)' in varlığı, plazmada t-PA ile kompleks oluşumuna ve t-PA aktivitesinin tümünün inhibisyonuna neden olur¹. Serbest dolaşan plasmin ise hızla α_2 -antiplasmin (α_2 -AP) tarafından inaktive edilir³.

Fibrinin uzaklaştırılmasında plasminojen-plasmin sisteminden bağımsız olarak diğer mekanizmalar da önemli olabilir⁴. Örneğin, nötrofiller tarafından plazmaya salınan elastaz ve katepsin-G gibi lökosit proteazları da fibrini parçalar^{5,6}. Makrofajların ve nötrofillerin üzerindeki reseptörlerle fibrin veya fibrin türevlerinin yakalanması ve fagosite edilmeleri fibrinin uzaklaştırılmasında önemli bir rol oynar^{5,6}.

Fibrinolizis hakkındaki bilgiler fazla olmakla birlikte bunların çoğu *in vitro* çalışmalarla elde edilmiştir⁷. Fibrinolizisin *in vivo* yönü ise son zamanlarda yapılan çalışmalarla açıklığa kavuşturulmaya çalışılmaktadır.

1.1.1. FİBRİNOLİTİK ENZİM SİSTEMİNİN KOMPONENTLERİ

1.1.1.1. PLASMINOJEN

Plasminojen, 740 aminoasit ve 24 disülfid içeren tek bir polipeptid zincirinden oluşan 88 kD molekül ağırlığında bir β -globulindir⁸. Molekül 22-24 nm uzunluğunda, 2.2-2.4 nm çapında bir filamentle kaplıdır⁹. Doğal plasminojenin N-terminali glutamik asittir (glu-plasminojen)⁹. 83 kD molekül ağırlıklı kısmen parçalanmış formu N-terminal lizin içerir (lys-77-plasminojen)⁹. Plasminojenin kısmen parçalanmış diğer formu 38 kD moleküler ağırlıklı valin 442-plasminojen 'dir⁹.

Plasminojen karaciğerde sentezlenir¹⁰. Kemik iliğinde eozinofillerce de üretildiği veya depolandığı ve bu hücreler içinde olarak dolaşıma geçebildiği gösterilmiştir¹¹. Plazmada 20.3 ± 2.6 mg/dl konsantrasyonda bulunur¹². Yarı ömrü 2.2 ± 0.29 gün olup büyük miktarı ekstravasküler alandadır¹².

Plasminojen, pıhtı oluştuğunda fibrinojen ve fibrin ile kompleksler oluşturarak fibrin kitlesi içinde adsorbe edilir¹³.

1.1.1.2. PLASMINOJEN AKTİVATÖRLER

Birçok hücrenin lizozomları içinde yoğun olarak bulunan ve plasminojeni plasmine dönüştüren maddelerin oluşturduğu bir gruptur¹⁴.

1.1.1.2.1. Doku Plasminojen Aktivatörleri (t-PA)

t-PA, en çok küçük venlerde ve renal vaskuler yapılarda, daha az miktarda da büyük damarlarda olmak üzere endotelde yüksek konsantrasyonda bulunur¹⁵. Makrofajlardan da salıverilebilir ve bu, T hücrelerden salınan lenfokinlerle artırılır¹⁶. Aktivatörler lökositlerde, eritrositlerde, trombositlerde, fibroblast kültürlerinde, Sertoli hücrelerinde ve overin granülosa hücrelerinde saptanmıştır^{17,18}. Ovulasyon sırasında overin granülosa hücrelerinde fizyolojik bir rol oynadığı düşünülmektedir¹⁹. İdrarda ve süt, göz yaşı, safra, tükürük ve semen gibi çeşitli vücut sıvılarında da bulunur ve ekskretuar kanalların açıklığının sürdürülmesinde fizyolojik bir rol oynar^{20,21}. Plasminojen aktivatörlerinin çeşitli neoplastik veya transforme olmuş hücrelerden salgılandığına değin bilgiler de vardır²²⁻²⁴.

t-PA'nın yapısı köken aldığı dokuya ve saptamada kullanılan tekniklere bağlı olarak değişiklik gösterir²⁵. t-PA'nın doğal formu 68 kD molekül ağırlığında ve tek zincirlidir²⁶. Plasmin ile iki zincirli proteolitik enzime dönüşür²⁶. Hem tek zincirli hem de iki zincirli t-PA plasminojeni plasmine çevirir²⁶. Her iki formun aktivatör gücü plasminojen varlığında artar²⁷. t-PA, ayrıca, plasminojenin fibrine bağlanmasını artırıcı rol oynar²⁸. t-PA, fibronektine benzeyen bölge ve epidermal büyüme faktörüne eş bir bölge içerir²⁹. Fibrinin yokluğunda iki zincirli t-PA'nın proteolitik aktivitesi tek zincirli olana göre daha fazladır³⁰. Fibrin varlığında ise, tek zincirli t-PA'nın moleküler konfigürasyonundaki değişiklik sonucu her iki form eşit aktiviteye sahip olur³⁰.

t-PA fibrinoliziste esansiyel bir rol oynar, fibrinolitik olayı başlatır³¹. Dolaşımda, t-PA'nın büyük çoğunluğu inhibitörü olan PAI-1 ile kompleks oluşturmuştur, bu form inaktivedir³². Sadece serbest formu aktiftir³². Endotelden saliverilişi azaldığında veya inhibitörünün aşırı arttığı durumlarda yetersiz fibrinolizis nedeniyle tromboz riski artar^{33,34}. Anoksi, kanın stazı veya bir lezyon nedeniyle endotel hiperaktivitesi t-PA düzeyinin artışına yol açar³⁵. Ancak, t-PA düzeyindeki artış, buna paralel olarak PAI-1'de de bir artışa yol açabileceğinden, fibrinolitik gücün mutlaka artması gerektiğini göstermez³⁵.

Endotelde yapılan ve genel dolaşıma verilen t-PA , karaciğer tarafından hızla uzaklaştırıldığı için dolaşımda geçici bir süre ve 5-10 µg/l gibi eser miktarlarda bulunur^{25,36}.

t-PA düzeyleri fizyolojik olarak değişiklikler gösterebilir. Yaşla, fiziksel ekzersizle ve stresle artar³³. Venöz staz t-PA düzeyinin artışına yol açar³².

t-PA düzeyi patolojik olarak değişiklikler gösterebilir. Endotelyal hasar antijenik t-PA düzeyinin artışına neden olur³⁷. Respiratuvar distres, miyokard infarktüsü, şok, sepsisemi, ciddi karaciğer hastalığı ve aşırı t-PA nedeni ile olan konjenital hiperfibrinolizis durumlarında t-PA düzeylerinde artış bildirilmiştir³⁷.

1.1.1.2.2. Ürokinaz (u-PA)

u-PA idrardan izole edilmiştir³⁸. Endotel hücresi, böbrek hücreleri ve çeşitli tümör dokularında da saptanabilir^{22,39}. Ürokinazın doğal formu (pro-ürokinaz) 54 kD moleküler ağırlıkta, tek zincirli inert bir proenzimdir⁴⁰. Plasminin yol açtığı ayrılma ile bir disülfid köprüsü ile birbirine bağlı iki zincirli bir molekülden oluşan aktif forma dönüşür⁴¹. Ürokinazın fibrine afinitesi düşük olup fibrine bağlı plasminojen ürokinazı seçici olarak aktive eder⁴².

1.1.1.2.3. Streptokinaz

β -Hemolitik streptokoktan elde edilen, 47 kD molekül ağırlığında, tek zincirli bir polipeptittir⁴³. Streptokinaz plasminojeni, diğer plazma proteinleri ile ilişkiye girdikten sonra indirekt olarak aktive eder⁴⁴. Streptokinaz, plasminojen ile kompleks oluşturduktan sonra, plasminojeni daha fazla aktifleme yeteneği kazanır⁴⁵. Plasminojen-streptokinaz kompleksi çeşitli yollarla aktif plasmin oluşturur⁴⁶.

a. Kompleks oluşturan plasminojen plasmine dönüşür.

b. Kompleks içinde, plasmin ve streptokinaz proteolitik parçalanmaya uğrayarak plasminojen aktivatörlerinin özel formunu oluşturur. Örneğin, plasminin β zinciri ve streptokinaz arasındaki kompleks oldukça güçlü bir plasminojen aktivatördür.

Streptokinazın fibrinolitik olarak aktif komplekslerinin fibrine karşı afinitesi düşüktür⁴⁷.

1.1.1.2.4. Plasminojen Aktivasyonunun " Sıvı Fazı "

Fibrinolizis, yukarıda sözü edilen doku aktivatörleri aracılığıyla " ekstrensek " yolla aktive olabildiği gibi kontakt aktivasyon sonucu " intrinsek " yolla da aktive olur⁴⁸. Bu hipotez, hüresiz plazmada kontakt aktivasyonun fibrinolitik aktivitede belirgin artışa yol açtığı, buna karşın plazmada faktör XII, faktör XI, HMWK ve prekallikrein 'in olmaması durumunda fibrinolitik aktivitede söz konusu artışın gözlenmediği çalışmalara dayanır⁴⁸. Deneysel *in vivo* çalışmalar sonucunda faktör XII 'nin fibrinolize aracılık etmede önemli rolü olduğu saptanmıştır⁴⁸. Son zamanlarda, tüm sıvı faz plasminojen aktivasyonunun, kallikreinin yol açtığı pro-ürokinaz aktivasyonu veya t-PA'nın plazma formuyla açıklanabileceği ortaya konulmuştur^{36,49}. Tüm bu süreçlerin fizyolojik önemi bilinmemektedir⁴⁹.

Intrinsek yolla fibrinolizisin aktivasyonunda bir diğer faktörün de protein C / protein S sistemi olduğu düşünülmektedir⁵⁰. Bu sistem doğal koagülasyon inhibitörlerinden olup aktive faktör V ve VIII 'i inhibe etmektedir⁵⁰.

Protein C ve protein S kombinasyonunun *in vitro* pıhtı erimesini arttırdığı ve protein C'nin doku kültüründe t-PA ve inhibitörleri arasındaki dengeyi değiştirdiği gösterilmiştir⁵⁰. Aktive protein C infüzyonu ile köpeklerde endotelial plasminojen aktivatörlerinin düzeyinde bir artışın olduğu ve buna geçici bir fibrinolitik yanıtın eşlik ettiği saptanmıştır⁵¹.

1.1.1.3. PLASMINOJEN AKTİVATÖR İNHİBİTÖRLER (PAI)

PAI-1, 45-50 kD molekül ağırlığında tek zincirli bir glikoprotein olup endotel hücrelerinde ve hepatositlerde sentezlenir⁵². Trombin, interlökin-1, bazı endotoksinler ve büyüme faktörleri PAI-1 sentezini artırır⁵³. Trombositlerde de sentezlendiği ve α -granüllerinde depolandığı ve buradan salıverildiği de bilinmektedir⁵².

PAI-1 aktive veya latent formdadır⁵². Aktive kısmı molekülün C-terminal ucundadır⁵². Serbest olarak eser miktardadır⁵⁴. t-PA ve ürokinaz ile 1:1 oranında kompleks yapmış olarak da bulunur⁵⁵.

PAI-1 fibrinolizisin düzenlenmesinde önemli bir rol oynar⁵³. Ayrıca aktive protein C 'yi de inhibe eder⁵³.

PAI-1 düzeyi sabah saatlerinde en üst düzeyde olmak üzere fizyolojik olarak diurnal bir dalgalanma gösterir⁵⁶. Ayrıca, gebelik sırasında artar, doğumdan sonra hızla azalır⁵⁶.

PAI-1 düzeyi patolojik olarak da değişiklikler gösterebilir. Trombozlu, maligniteli, karaciğer hastalıklı, septik şoklu birçok hastada ve operasyon sonrası dönemde düzeyinin arttığı bildirilmiştir⁵⁷⁻⁶⁰. Ayrıca obezite, hiperinsülinemi, hipertrigliseridemi gibi ateroskleroz için bazı risk faktörleri ile PAI-1 düzeyi arasında bir ilişki vardır⁶¹.

Plazmada bulunmayan farklı PAI'ler de izole edilmiştir⁶². Makrofaj ve plasentadan izole edilene PAI-2, idrardan izole edilene PAI-3 ve deri fibroblastlarından izole edilene protease nexin-I denir⁶².

1.1.1.4. ANTIPLASMINLER

Plazmada serbest plasmini nötralize eden proteinlerdir⁶³. Bunlardan α_2 -antiplasmin (α_2 -AP) ve α_2 -makroglobulin plasmini hızla nötralize eder⁶³. Plasmin, α_2 -AP sature olana dek α_2 -makroglobulin veya α_1 -antitripsin ile reaksiyona girmez⁶⁴. α_1 -antitripsin yavaş etkili bir antiplasmin olup α_2 -AP ve α_2 -makroglobulin sature olana dek plasmin ile bağlanmaz⁶⁴.

1.1.1.4.1. α_2 -Antiplasmin

70 kD moleküler ağırlığı tek zincirli bir α_2 -glikoprotein olup karaciğerde sentezlenir⁶⁵. Plazma düzeyi 60 mg/ml 'dir⁶⁵. Plazma antiplasmin sistemlerinin en önemlisidir¹³. Plasmin ile hızla 1:1 oranında kompleks oluşturur¹³. Bu nedenle fibrinolitik tedavi sonucunda plazma serbest α_2 -AP düzeyi düşer¹³.

1.1.2. FİBRİNOLİZİSİN FİZYOLOJİSİ

1.1.2.1. AKTİVATÖR SALIVERİLİŞİ

Birçok fizyolojik ve patolojik uyarın *in vivo* olarak plasminojen aktivatörlerinin saliverilişine yol açar⁶⁶. Bu uyarınlar; ekzersiz, elektrik şoku ve diğer stres formları, DDAVP, epinefrin, histamin, bakteryel pirojen, intravenöz nikotirik asit, iskemi, staz, hipoksi, trombin, faktör Xa ve trombositlerden saliverilen maddelerdir^{1,66-69}. Endotelial aktivatörlerin saliverilişii Ca⁺⁺ 'a bağımlıdır⁷⁰.

Endojen veya eksojen t-PA 'nın plazma ömrü kısa olmasına karşın fibrinolitik aktivite daha uzun sürer⁹. Bu farklılık t-PA ve plasminojenin fibrin kitlesine adsorbe olmasından kaynaklanır⁹.

1.1.2.2. PLASMINOJEN AKTİVASYONU VE İNHİBİSYONU

Plasminojen, "fibrine bağılı plasminojen" ve "serbest plasminojen" olarak iki şekilde bulunur⁷¹. Her ikisi de plasminojen aktivatörlerce aktive edilebilir ve "fibrine bağılı plasmin" ile "serbest plasmin" oluşur⁷¹. Bağılı plasmin fizyolojik proteolizise neden olurken serbest plasmin patolojik proteolizise yol açar⁷¹.

Serbest plasmin plazmada antiplasminlerce hızla yıkılır ve proteolitik parçalanma yapamaz⁷¹. Plasmin, fibrine, lizin bağılanan kısmından bağılanır⁷¹. Fibrine bağılı

plasmin antiplasminlerden en az şekilde etkilenerek fizyolojik fonksiyonu olan fibrinin lizisini kolayca yerine getirir⁷¹.

Antiplasminlerin fibrin trombüsü içinde etkisiz oluşunun nedeni tam olarak açıklanamamıştır⁷¹. Antiplasminlerin fibrin kitlesine plasminojen aktivatörleri kadar hızlı olarak difüze olamadıkları düşünülmektedir⁷¹. Ayrıca, plasminojenin, fibrine antiplasminler gibi lizin rezidüleri ile tutunduğu bilinmektedir⁷¹. Plasminojenin fibrine tutunması ile antiplasminlerin bağlanma alanları bloke olmakta ve sonuçta plasmin inaktivasyondan korunmaktadır⁷¹.

Plasmin, fibrinojen dışındaki plazma proteinlerinin bazılarına da arginin ve lizin üzerinden bağlanır⁷². Plasminin bağlanabildiği plazma proteinleri; hormonlar, sentetik esterler, kompleman komponentleri, kininler ve çeşitli koagülasyon faktörleridir⁷². Bu proteinler yalnızca serbest plasmin tarafından proteolitik olarak parçalanırlar⁷¹. Ancak, bunun için, ortamda plasmin inhibitörlerinin kapasitesini aşacak miktarda serbest plasmin bulunmalıdır⁷¹. Bu patolojik olaya fibrinojenoliz (patolojik proteolizis) denir⁷¹.

1.1.2.3. FİBRİNİN PROTEOLİTİK PARÇALANMASI

Plasminin fibrin veya fibrinojen üzerine proteolitik etkisi sonucu "soluble protein fragment ailesi" oluşur (fibrin yıkım ürünleri, fibrin degradation veya split products, FDP, FSP)⁷³.

Fibrinin parçalanması adım adım ilerleyen bir olaydır. Başlangıçta, fibrinojen molekülünün yaklaşık olarak % 20 'si uzaklaştırılır ve *fragment X* adı verilen ilk ürün oluşur⁷⁴. *Fragment X* 'in moleküler ağırlığı 250 kD 'dur⁷⁴. *Fragment X* 'in proteolizisi, molekül ağırlığı 100 kD ile 200 kD arasında değişen intermediate fragmentler denen çeşitli fibrin yıkım ürünleri oluşturabilir⁷⁵. Fakat, fizyolojik durumlarda, *fragment X* asimetrik olarak parçalanarak bir molekül *fragment D* ve bir molekül *fragment Y* oluşturur⁷⁶. *Fragment Y* 'nin moleküler ağırlığı 155 kD 'dur⁷⁷. *Fragment Y*, bir molekül *fragment D* ve bir molekül *fragment E* 'ye parçalanır⁷⁷. *Fragment D* 'nin moleküler ağırlığı 90 kD, *fragment E* 'ninki ise 30-50 kD arasındadır⁷⁷. *Fragment D* ve *E*, plasmin tarafından artık daha fazla yıkılmaya karşı dirençli olmakla birlikte daha küçük moleküler ağırlıklı *fragment "d"* adlı bir ürün de izole edilmiştir⁷⁸.

Plasmin, fibrine tamamen bağlanıp fibrini parçaladığında büyük bir parçalanma ürünü oluşur⁷⁷. Double-D dimer denilen bu fragment 180 kD moleküler ağırlığa sahiptir ve çok sayıda disülfid bağı içerdiği için daha ileri proteolizise dirençlidir⁷⁷. Fibrine bağlanma, trombin varlığını gerektirir ve plazmada fibrin yıkım ürünleri düzeyi, intravasküler trombin formasyonunun bir indeksini gösterir⁷⁷. Fibrin monomeri ve soluble X ile Y fragmentleri fibrinojen ile kompleks yapar⁷⁹. Bu kompleksler alkol ve protamin sülfat varlığında jel formu oluşturur ve presipite olur⁸⁰. Bu olaya parakoagulyasyon denir⁸⁰. Bu kompleksler soğukta ve heparinize plazmada da presipite olur (cryofibrinogen)⁸¹. Fibrin monomerleri, kompleks oluşturmayan bir formda eriyik halde kalabilir⁸².

Normal kişilerin kanında az miktarda fibrin yıkım ürünleri saptanabilir⁷³. Bu, kanın alınması sırasında trombin ile proteolize olan az miktardaki fibrinden köken alır⁷³. Bu fragmentlerin yarı ömrü erkekte yaklaşık olarak 9 saat olarak hesaplanmıştır⁷³. Fibrin yıkım ürünleri dolaşımdan karaciğer, böbrek ve retiküloendotelial sistemin klirens mekanizmalarınca uzaklaştırılır⁷³. Parçalanmış fibrinin klirensi, fibrin mikropartiküllerinin veya soluble fibrinin fagositozu ile de sağlanır⁸³. Fragment D ve E böbrek tarafından kısmen katabolize edilir⁸⁴. Üremik hastalarda fibrin yıkım ürünlerinin plazma düzeyinin artmış olması, renal damarlarda lokalize intravasküler koagulasyondan çok, fonksiyonel renal dokunun kaybını yansıtabilir⁸⁴.

1.1.2.4. FİBRİN YIKIM ÜRÜNLERİNİN BİYOLOJİK ETKİLERİ

Fibrin yıkım ürünleri ve kompleksleri hemostatik olayda bozulmaya neden olur⁷³. Bu durum intravasküler koagulasyonda ve fibrinolitik sistemde kanamanın önemli bir nedenidir⁷³. En güçlüsü fragment Y olmak üzere tüm fibrin yıkım ürünleri koagülasyon inhibitörüdür⁷³. Bunlar, antitrombinler (antitrombin VI) gibi etki gösterirler⁷³. Ayrıca, fibrin monomeri veya fibrinojen ile koagüle olmayan veya yavaşça koagüle olan kompleksler oluştururlar⁷³. Fragment Y ve D, fibrin polimerizasyonunu inhibe ederler⁸⁵. Fragment D fibrine bağlandığında, yapısal olarak defektif fibrin polimeri oluşturur⁷⁵. Pürifiye fragment E trombinin güçlü bir inhibitörüdür⁸⁵. Koagülasyonun diğer basamakları üzerine de olumsuz etkileri ortaya konmuştur⁷³.

Fibrin yıkım ürünleri trombosit fonksiyonunu da bozarlar⁸⁶. Bu olayın ayrıntısı anlaşılammıştır⁸⁶. Küçük dializable peptidlerin etkileri sonucunda ADP'nin indüklediği trombosit agregasyonu inhibe olur⁸⁷.

Bu küçük peptidlerin vazokonstriktör olarak rol oynayabildiği, kemotaktik özelliklerinin bulunduğu, vasküler permeabiliteyi arttırabildiği, uterusun kontraktilesini inhibe edebildiği veya akut pulmoner disfonksiyona yol açabildiği de gösterilmiştir^{88,89}.

1.1.2.5. FİBRİNOLİZİSİN FİZYOLOJİK VARYASYONLARI

Fibrinolitik aktivite gece saatlerinde daha belirgin olmak üzere sirkadiyan bir ritm izler⁵⁶. Fibrinolitik aktivite yaşlılarda ve kadınlarda daha fazla, şişmanlarda daha azdır^{61,90}. Mens döneminden etkilenmez⁹¹. Gebelik boyunca yüksek PAI-1 nedeniyle normalin altında olan fibrinolitik aktivite doğumdan hemen sonra hızla normal üstü düzeye ulaşır⁹². Plasminojen, t-PA ve PAI-1 düzeyleri yaşla birlikte anlamlı olarak artar⁹³.

1.2. BOZULMUŞ FİBRİNOLİZİS VE TROMBOZİS

Bozulmuş fibrinolizis idiopatik derin ven trombozlu hastaların büyük bölümünde saptanmaktadır^{66,94}. Düşük fibrinolitik kapasiteli hastalarda arteriyel tromboembolizm ve venöz tromboz insidansı, normal fibrinolitik aktivitelilere göre daha yüksektir^{66,95,96}.

Tromboembolik hastalığı olanlarda anormal fibrinolizis insidansı yaklaşık olarak % 40 'tır'⁹⁷.

Harbourne ve arkadaşları⁹⁴ yaptığı çalışmada, idiopatik venöz trombozlu 74 hastada fibrinolitik aktiviteyi araştırmış ve bu hastalarda anormal fibrinolizisi % 86 oranında saptamışlardır . Sekonder venöz trombozda bu oranı % 29 olarak bulmuşlardır⁹⁴. Araştırmacılar, hipofibrinolizisin, t-PA'daki azalma veya PAI'daki artma ile ilgili olduğunu; spontan venöz tromboz gelişiminde anormal fibrinolizisin etiolojik bir faktör olabileceğini belirtmektedir⁹⁴.

Maligniteli hastalarda koagulasyon gibi fibrinolizis sistemlerinin de kazanılmış biokimyasal anormallikleri sıktır. Bu anormalliklerin altta yatan mekanizmaları henüz tam olarak anlaşılamamıştır⁹⁸⁻¹⁰⁰. Çeşitli çalışmalarda, maligniteli hastalarda plazma fibrinojen, faktör VIII, FDP, D-dimer ve fibrinopeptid-A düzeylerinde artış; AT III, protein C ve plasminojen düzeylerinde azalma gibi çeşitli kan koagulasyon ve fibrinolizis sistem anormallikleri olduğu bildirilmiştir^{3,99,102,103}. Artan fibrinojen, FDP, D-dimer ve plasminojen aktivatörlerinin önemli prognostik faktörler olduğu, hastalığın progresyonu ile ilişkili olduğu bildirilmiştir^{3,100}. Ayrıca, bu maddelerin artmasının kanserin metastazına ve yayılımına katkıda bulunabileceği bildirilmiştir¹⁰¹. AT III'ün kolon, over, prostat kansinomlarında ve lösemide düşük düzeyde olabileceği bildirilmiştir^{100,102}. Metastatik hastalıkta daha düşük düzeyde bulunur^{100,102}.

1.3. KANSER VE TROMBOZİS

Maligniteli hastaların yaklaşık olarak % 50'sinde, metastaza sahip hastaların yaklaşık olarak % 90'ında hemostazın bazı anormallikleri saptanmaktadır¹⁰⁰. Kanserin tipi ve yaygınlığına göre subklinik koagülasyon anormalliklerinin prevalansının % 98'e kadar ulaştığı bildirilmektedir¹⁰³. Bu hastaların % 20'sinden fazlasında klinik olarak DIC gelişir ve bunların yaklaşık olarak % 15'inde morbidite ve mortalitede anlamlı artışa yol açan tromboz veya hemoraji komplikasyonu gelişir¹⁰⁰. Trombotik komplikasyonlar hem arteriyel hem de venöz sistemleri tutar¹⁰⁰. Maligniteli hastalarda, koagülasyon aktivasyonunun tromboembolizm riskinde önemli olduğu ileri sürülmektedir^{98,99}. Çeşitli malignitelere sahip hastalarda klinik olarak belirgin tromboembolik olayların insidansının % 15'in üzerinde olduğu bildirilmektedir^{98,100,104}. Tromboembolik olaylar bu hastalarda bildirilen ölüm nedenleri arasında ikinci sırayı, hospitalize edilen hastalarda ilk sırayı almaktadır^{98,100,104}.

Geniş bir nekropsi çalışmasında, farklı malignitelere sahip hastalarda pulmoner embolizm insidansının yaklaşık olarak % 50 olduğu saptanmıştır⁹⁸. Bu çalışmada tromboembolik komplikasyonların insidansının adenokarsinomlu hastalarda malign lenfomalı hastalara göre daha yüksek olduğu bildirilmektedir⁹⁸.

Maligniteli hastalarda koagülasyon aktivasyonu için tromboplastin benzeri maddelerin salınımı, fibrin birikimi, tümör proteazları tarafından faktör X'un direkt aktivasyonu, tümör proteazlarınca endotelial hücrelerin destriksiyonu, subendotelial doku veya

doku faktörlerince aktivasyonun sürdürülmesi gibi çeşitli mekanizmalar öne sürülmüştür¹⁰³. Tümörler doku faktör koagulanları, faktör X'un direkt aktivatörleri, plasminojen aktivatörler ve elastaz benzeri proteazlar gibi koagulasyon sistemini etkileyebilen çeşitli maddeler üretir^{100,105}. Maligniteli hastalarda monositler doku faktörleri üretir ve bunların hastalığın progresyonu ile korele olduğu bilinmektedir^{100,105}. Tümör hücrelerinden prokoagulan aktivite salıverilişinin bu olayın ana tetik mekanizması olabileceği bildirilmiştir^{98,99}. Tümörün büyümesi ile fibrin üretimi arasında paralel bir ilişki varlığı bilinir¹⁰⁵. Metastatik malignitelerde sıklıkla saptanan hemostatik anormalliklerin ana nedeninin düşük derecede DIC ve olasılıkla semptomatik olmayan venöz tromboz olduğu öne sürülmektedir⁹⁸. Tümör hücreleri, hematojen metastazın seyrinde kan damarlarında yer alır, olasılıkla pıhtılaşma aktivasyonundan sorumludur⁹⁸. Bununla birlikte, malignitede sistemik pıhtılaşma aktivasyonunun primer olarak intravasküler olmadığına inanılır, solid tümör büyüme alanlarında ekstravasküler pıhtılaşma olaylarını plazma içine dökülenlerin başlatabileceği de gösterilmiştir⁹⁸. Ancak, maligniteli hastalarda görülen trombozisin kesin mekanizması bilinmemektedir^{101,104,106}.

1.4. KANSER VE FİBRİNOLİZİS

1.4.1. GİRİŞ

Çeşitli tümör tiplerinde güçlü bir fibrinolitik aktivatör olan t-PA'nın salgılandığı ortaya koyulmuştur¹⁰³. Yapılan çalışmalarda, bu hastalarda trombozun semptom veya klinik işaretleri olmadan fibrinoliziste bozulma olabileceği gösterilmiştir¹⁰⁶. Bozulan fibrinolizis, hastada yineleyen tromboza predispozisyon yaratabilir¹⁰⁶. Defektif fibrinolizis nedeni ile görülen venöz tromboz için öne sürülen mekanizmalar, t-PA'nın kötü salınımı ve artan PAI düzeyidir^{97,106}. Maligniteli ve fakat trombozu olmayan hastaların plazmasında fibrinolitik sistem araştırıldığında saptanan başlıca genel bulgular, PAI aktivitesinin ve karsinomun tipine göre t-PA veya u-PA'nın yüksek düzeyde bulunmasıdır¹⁰⁷. Kalıtsal anormallik, ciddi karaciğer hastalığı, akut myokard infarktüsü, pankreatit ve malignite gibi altta yatan bilinen bir hastalığı bulunmayan hastalarda, yüksek PAI-1 düzeylerinin tromboz gelişimi için öngörücü olduğu bulunmuştur¹⁰⁶. Çeşitli çalışmalarda solid tümörlerin metastatik yayılımında fibrinolizisin önemine dikkat çekilmiştir¹⁰⁷. Primer tümörün yüksek fibrinolitik aktivitesinin lokal invazyonu ve dolaşım içine tümör hücrelerinin saliverilişini arttırdığı belirtilmiştir¹⁰⁷.

1.4.2. SOLİD TÜMÖRLER

Rocha ve arkadaşlarının¹⁰⁴ yaptığı çalışmada, maligniteli 149 hastada (65 hasta lokal hastalıklı, 84 hasta metastazlı; tümörlerin 61'i gastrointestinal sistem, 17'si pulmoner, 24'ü ürolojik, 16'sı jinekolojik kaynaklı ve kalan 30'u diğer yerlerde) PAI aktivitelerinde anlamlı olarak artış saptanmıştır. t-PA aktivitesi ve antijeninde, α_2 -AP düzeylerinde hastalar ve sağlıklı kontrol grubu arasında anlamlı fark saptanmamıştır. Fibrinolitik aktivite ile t-PA arasında ve t-PA ile PAI arasında korelasyon bulunmamıştır. Araştırmacılar, çalışmada, maligniteli hastalarda fibrinolitik sistemde bir bozukluk olduğunu; fibrinolitik sistemdeki değişikliklerin, trombotik fenomenin patogenezinde yer aldığı düşünüldüğü için ek risk getirdiğini bildirmektedir. t-PA aktivitesi ile tüm fibrinolitik aktivite arasında korelasyon saptanmamasını t-PA'dan farklı diğer plasminojen aktivatörlerinin total aktiviteye katkıda bulunabileceği şeklinde açıklamaktadırlar. PAI ve t-PA arasındaki ilişkisizlik sürpriz olarak kabul edilmemiş olup, her iki maddenin de vasküler endotelial hücrelerden birbirlerinden bağımsız olarak salgılanmasının buna neden olabileceği belirtilmektedir. PAI aktivitesindeki artışın, fibrinolitikteki bozulmaya katkıda bulunabileceği ve bunun maligniteli hastalarda tromboz eğilimine ek risk getirebileceği belirtilmektedir.

Nanninga ve arkadaşlarınınca¹⁰³, tedavi edilmemiş primer kanserli (meme, jinekolojik, gastrointestinal sistem, ürolojik ve akciğer kanserli) 69 hastada yaş ve cins uyumlu sağlıklı kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, hemostatik anormalliklerin, başlıca, fibrinolitik sistemin aktivasyonu sonucu ortaya çıktığı belirtilmiştir.

Primer tümör ve metastazdan alınan doku örneklerinde plasminojen aktivatör aktivitesi düzeylerinde sağlıklı kontrol deneklere göre anlamlı olarak artış olduğu saptanmıştır¹⁰⁸. Karaciğer, meme, kolon, prostat, pankreas ve uterus maligniteli hastalarda plazma u-PA düzeyinin artmış olduğu gösterilmiştir¹⁰⁸.

Dobrowska ve arkadaşlarının³ yaptığı çalışmada, akciğer karsinomlu hastaların plasmasında α_2 -AP düzeyi normal sınırlarda saptanmıştır.

Yapılan birçok çalışmada, malign hücrelerin plasminojen aktivatör üretimi ile metastatik potansiyeli arasında anlamlı ilişki bulunmuştur^{3,103}. İnsanda meme, kolon ve prostat kanserinde u-PA ekspresyon, artan u-PA aktivitesi ile kanserin histolojik grade'i arasında korelasyon saptanmıştır³. Ayrıca, u-PA ekspresyonu ile klinik olarak hastalığın progresyonu arasında korelasyon saptanmıştır^{3,23}. Yapılan çeşitli çalışmalarda, tümör dokularında yüksek düzeyde plasminojen aktivatörlerin üretildiği, ancak, sistemik dolaşımdaki düzeylerinin bunu tamamen yansıtmadığı gösterilmiştir³.

Mannucci ve arkadaşları¹⁰⁷, maligniteli hastalarda fibrinolitik sistemin sadece tümör hücrelerinin varlığından değil, aynı zamanda ilerlemiş malignitenin oluşturduğu sekonder hastalıklardan (karaciğer hastalığı, venöz tromboembolizm, DIC gibi), kemoterapiden ve cerrahi tedaviden etkilenebileceğini belirtmişlerdir. Araştırmacılar erken evre (lokalize tümör veya sadece regional lenf bezi tutulumu olan tümör) meme kanseri ve malign melanomu olan 125 hastada sağlıklı kontrol deneklere göre PAI, t-PA antijen düzeyleri anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Tümör tipi ve evresi ne

olursa olsun solid tümörlü hastalarda fibrinoliziste sağlıklı kontrol deneklere göre önemli ölçüde artmanın olduğu bildirilmektedir. PAI düzeyinin artışından doku hasarı ve neoplastik büyümeye bağlı akut faz reaksiyonu sorumlu tutulsa da paralel artışın t-PA'da da olduğu vurgulanmaktadır.

Layer ve arkadaşlarının¹⁰⁹ meme kanserli 26 hastada yaptığı çalışmada, tümörlü hastalardan alınan normal meme dokusu ile benign meme biopsilerinin plasminojen aktivatör içeriğinin benzer olduğu, malign meme biopsilerindeki fibrinolitik aktivitenin ise benign meme biopsilerine oranla anlamlı olarak artmış olduğu saptanmıştır. Ayrıca, malign dokuda t-PA'da anlamlı değişiklik olmadan u-PA'da artış olduğu gösterilmiştir¹⁰⁹. Her iki plasminojen aktivatörü de farklı artış gösterdiğinden, bu durum, doku vaskülaritesindeki değişiklikler veya hücre yoğunluğu ile açıklanamamıştır¹⁰⁹.

Meme kanserli hastalarda, tümörün boyutu ve metastazlı aksiller lenf nod sayısı ile u-PA aktiviteleri arasında korelasyona eğilim saptanmıştır³⁹. Yüksek düzeyde u-PA antijeni olan hastalarda lenf nod tutulumu ile veya negatif hormon reseptörü ile ilişkili olma eğilimi vardır³⁹. Bu hastalarda , düşük düzeyde antijene sahip olan hastalara oranla anlamlı ölçüde daha sık relaps olur³⁹. Tersine, östrojen reseptörü negatif olan, epidermal büyüme faktör reseptörü pozitif olan hastalarda t-PA aktivitesi anlamlı oranda düşüktür³⁹. t-PA antijeni yüksek düzeyde olan hastalarda hastalısız periyodlar anlamlı oranda uzundur, sürvi anlamlı oranda uzundur³⁹.

Sumiyoshi ve arkadaşlarının³⁹ yaptığı çalışmada meme kanserli 75 hastada fibrinolizis incelenmiştir. Kanserli meme dokusunda u-PA antijen düzeyi fibroadenoma göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Malign ve benign tümörler arasında t-PA antijen düzeyleri bakımından fark bulunmamıştır. Çalışmada bu durumun nedeni bulunamamıştır. Kolorektal ve gastrik kanserli hastalarda yaptıkları diğer çalışmalarda da benzer sonuçlar bulmuşlardır. Kanser dokusunda PAI-1 düzeyi fibroadenoma oranla anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Ayrıca, lenf nod metastazı olan kanser dokusunda PAI-1 antijen düzeyi, lenf nod metastazı olmayan kanser dokusuna göre anlamlı oranda yüksek bulunmuştur. Bu sonucun, PAI-1'in, kanser hücrelerinin metastatik kapasitelerinin saptanmasında kullanılabileceğini göstermekte olduğunu ve bu bulgunun daha önceden bilinmediğini belirtmektedirler.

Beyin tümörü olan hastalarda fibrinolitik sistem ile ilgili yapılan çalışmalarda elde edilen bilgiler çelişkilidir¹¹⁰. İlk kapsamlı çalışmayı Morozov¹¹⁰ yayınlamıştır. Bu çalışmada benign beyin tümörü olan hastalarda plazmada fibrinolitik aktivitede değişiklik olmadan koagulant özelliklerde azalma eğilimi olduğunu, malign tümörü olan hastalarda ise fibrinolitik aktivitede orta dereceli bir azalma olduğunu belirtmiştir.

Scharrer ve Hubner¹¹⁰ ise primer beyin tümörlü hastaların fibrinolitik aktivitelerinde hafifçe artma olduğunu, metastatik hastalıkta bu aktivitede orta dereceli bir azalma olduğunu belirtmiştir.

Kirchheimer ve arkadaşlarının¹⁰⁸ yaptıkları çalışmada, daha önce tedavi edilmemiş 69 uterus maligniteli (endometrium ve serviks kanseri) hastada plazma u-PA düzeyinin sağlıklı kontrol grubuna göre anlamlı olarak arttığı, ileri evre kanserlerde u-PA düzeyinin erken evre kanserlere göre anlamlı olarak arttığı, her iki kanser grubunda da t-PA ve PAI düzeylerinin sağlıklı kontrol grubuna göre anlamlı farklılık göstermediği saptanmıştır¹⁰⁸.

Koelbl ve arkadaşları¹¹¹, çalışmalarında, endometrium kanseri olan 17 hastada ve serviks kanseri olan 52 hastada plazma u-PA düzeylerinin yaş uyumlu sağlıklı kontrol deneklere göre anlamlı olarak artmış olduğunu saptamışlardır. Ayrıca, hasta grubu ile sağlıklı kontrol grubu arasında t-PA antijeni ve PAI aktivitesi bakımından anlamlı fark bulunmamıştır¹¹¹.

1.4.3. HEMATOLOJİK MALİGNİTELER

Akut lösemili hastalarda hemostatik hastalıklar çok siktir¹¹². Majör hemostatik problem mikrotrombozisten çok hemorajidir¹¹³. Tanı sırasında hastaların yaklaşık olarak % 60'ında minör veya majör kanama belirtileri görülür¹¹². Trombositopeni sıklıkla vardır¹¹². Ancak, hemorajik sendromun nedeni sadece trombositopeni değildir^{112,114}. Bu hastalarda vasküler fonksiyon değişiklikleri, megakaryosit sisteminde hasar, karaciğer disfonksiyonu yanında koagülasyon ve fibrinolizis sistemlerinde değişiklikler bildirilmiştir^{112,113}. Hastaların % 40 'ında klinik olarak ve/veya laboratuvar sonuçlarına göre DIC vardır¹¹². AML'de koagülopati nedeninin DIC ile ilişkili mekanizmalar sonucu

veya primer hiperfibrinolizisten bağımsız olarak proteazlar ile pıhtılaşma faktörlerinin proteolizisi olduğu öne sürülmektedir¹¹⁴.

Kahne ve arkadaşları¹¹⁴ promyelositik lösemili 5 hastada 125 I- α_2 -AP 'in artan turnover 'ı ile ileri düzeyde α_2 -AP eksikliğini göstermişler; DIC'ten çok, proteolizisin koagulopatiden sorumlu olduğunu belirtmişlerdir. Ancak, akut lösemili hastaların plazmasında yapılan fibrinolizis ile ilgili çalışmalar farklı ve zaman zaman zıt sonuçlar vermektedir¹¹².

Guarini ve arkadaşları¹¹² 46 akut lösemili hastada (34'ü AML, 12'si ALL) yaptıkları çalışmada, fibrinolitik parametrelerin (t-PA antijen, PAI aktivitesi, α_2 -AP) kontrol değerlerine göre anlamlı olarak düşük düzeyde olduğunu saptamışlardır. Fibrinolitik aktivite euglobulin lizis zamanı ile değerlendirilmiş ve kontrollere göre anlamlı olarak düşük düzeyde bulunmuştur. Hastaların FAB sınıflamasına göre değerlendirilmesi sonucu, sadece M₃ subgrubunda fibrinolitik aktivitenin normal olduğu, diğer subgrublarda fibrinolitik aktivitede azalma olduğu bulunmuş. t-PA antijen, PAI aktivitesi hastalarda anlamlı olarak düşük; antiplasmin aktivitesi normal olarak bulunmuştur. Bu bulgularla çeşitli farklı biokimyasal parametreler veya hematolojik değerler (dolaşan lösemik hücre sayısı, trombositler vd) ya da kanama-DIC 'in klinik ve/veya laboratuvar özellikleri arasında korelasyon saptanmamıştır. Çalışmada, akut lösemili hastalarda beklenmedik oranda fibrinolitik aktivitede azalma saptanmıştır. Bu durumun, lösemik hücrelerden salınan proteazlarca t-PA'nın parçalanmasına veya

t-PA ve/veya u-PA benzeri ürünleri sentezleme yeteneğinde olan lösemik hücrelerce üretilebilecek bilinmeyen inhibitörlere bağlı gelişebileceği yorumu yapılmaktadır.

Cofrancesco ve arkadaşları¹¹⁴ yeni tanı konan 21 AML'li hastada α_2 -AP, AT III ve plasminojen düzeylerini araştırmışlardır. DIC saptanan AML'li hastalarda kemoterapi öncesi başlangıç α_2 -AP düzeyleri anlamlı olarak düşük düzeyde iken, kemoterapi sonrası ilik selüleritesindeki düzelme sırasında α_2 -AP düzeyleri anlamlı olarak arttığını saptamışlardır. DIC saptanmayan hastaların başlangıç α_2 -AP düzeyleri, normal sağlıklı deneklerdeki düzeylerle karşılaştırıldığında düşük olarak saptanmış, ancak, bu düşüklüğün anlamlı olmadığı ve hastalığın seyri sırasında da değişiklik olmadığı saptanmıştır.

Zurborn ve arkadaşlarının⁹⁸ yaptığı bir çalışmada, 30 non-Hodgkin lenfomalı hastada sağlıklı kontrol grubuna göre serum D-dimer düzeyinde anlamlı olarak bir artış olduğu saptanmış ve bunun sonucunda fibrinolizisin bu hasta grubunda anlamlı olarak arttığı saptanmıştır.

James ve arkadaşlarının¹⁰⁶ yaptıkları çalışmada; çeşitli malignitelere (non-Hodgkin lenfoma, hodgkin hastalığı, akut lösemi ve diğer solid tümörler) sahip 35 hastada, spontan venöz tromboz öyküsü olup malignitesi olmayan 35 hastada ve sağlıklı 30 denekte fibrinolitik sistem venöz oklüzyon testi uygulanarak araştırılmıştır. Maligniteli hasta grubu ile spontan venöz trombozislili hasta grubu arasında venöz oklüzyon

öncesi ve sonrası t-PA, PAI ve euglobulin lizis zamanı bakımından anlamlı fark olmadığı, her iki gruptaki hastalarda bazal PAI düzeylerinin sağlıklı kontrol grubuna göre anlamlı olarak daha yüksek olduğunu saptanmıştır.

Dabrowska ve arkadaşları¹⁰³ Hodgkin'li 24 hastada kemoterapi öncesi ve sonrası plazma α_2 -AP düzeylerini araştırmışlardır. Hastalarda, tedavi öncesi α_2 -AP plazma düzeyi sağlıklı kontrollere göre yüksek iken, tedavi sonrası normal düzeylere döndüğü, bu değişimin anlamlı olduğu saptanmıştır. Tedavi öncesi α_2 -AP düzeyindeki artışın sekonder fibrinolizisin indüklenmemesi sonucu olabileceği, tedavi sonrası bu maddedeki azalmanın ise fibrinolizisteki artma ile tüketim sonucu olabileceği bildirilmektedir.

1.5. FİBRİNOLİTİK KAPASİTENİN ÖLÇÜMÜNDE VENÖZ OKLÜZYON TESTİ

Fibrinolitik kapasite fibrinolitik sistemin yapay olarak uyarılmasından sonra ölçülebilir⁶⁶. Bu uyarılma fiziksel ekzersiz, DDAVP'nin intravenöz olarak infüzyonu veya kolda staz alanı oluşturarak yapılan 10-20 dakikalık venöz oklüzyon sonrası sağlanabilir^{1,66-68}. Fibrinolitik aktivitenin mediatörleri staz oluşturulan koldan venöz oklüzyon sonunda alınan kan örneklerinde ölçülür. Uyarılma sonrası alınan kan örneklerinde fibrinolitik aktivite euglobulin lizis zamanı ve fibrin plate testi gibi global testlerle veya t-PA aktivitesi, t-PA antijeni ve PAI aktivitesi gibi fibrinolitik sistemin spesifik faktörleri ile ölçülebilir⁶⁶. Birçok teknik nedenlerle t-PA ve PAI ölçümleri pahalıdır ve güvenilebilir sonuçlar sadece özelleşmiş laboratuvarlardan elde

edilebilir⁶⁶. Ayrıca, gönderilen örneklerden çalışılan t-PA ve PAI aktivite analizi sonuçları şüphelidir, bu nedenle hastaların analiz yapılan laboratuvara gitmeleri istenir⁶⁶.

Venöz oklüzyona kötü fibrinolitik yanıt, bu uyarı sonrası fibrinolitik aktivitenin yokluğu veya az miktarda artış olması ile tanımlanmıştır¹¹⁵. Venöz oklüzyon sonrası fibrinolitik aktivitede artışın olmaması; bazal PAI-1'in yüksek düzeyde olması veya venöz oklüzyon sonrası t-PA artışının düşük düzeyde olması ya da her ikisinin varlığı nedeniyledir¹¹⁵. Euglobulin lizis zamanı sadece serbest plasminojen aktivatör aktivitesini gösterir, intravasküler pıhtılaşma sırasında endotelial t-PA sentez ve salıverilişi hakkında yeterli bilgi sağlamaz¹¹⁶. Ayrıca, euglobulin fraksiyonlarının fibrinolitik aktiviteleri pH, inkubasyon işlemleri ve iyonik güçten etkilenir⁹⁵. Bundan başka, bu testte pıhtı lizisinin değerlendirilmesi görsel işlem gerektirir⁹⁵.

2. ÇALIŞMANIN AMACI

Kanserli hastalarda tromboembolik olaylar sık görülen komplikasyonlardandır. Yineleyen tromboembolik olaylara neden olan mekanizmalardan biri de fibrinolitik yoldaki bozukluklardır. Yapılan çalışmalarda, kanserli hastalarda trombozun klinik bulguları olmasa bile fibrinolitik yolda bozulmanın olabileceği gösterilmiştir.

Kanserli hastalarda koagülasyonun aktivasyon mekanizmaları ve önemi konusunda ilerlemeler kaydedilmiş olmasına rağmen, fibrinolitik yolun bozulmasına ve tromboz oluşumuna neden olan mekanizmalar tam olarak belirlenememiştir. Bu hastalarda fibrinolitik yolun aktifliğini gösteren t-PA düzeyinde artış izlenmektedir. Ancak, fibrinolitik yolun inhibisyonuna yol açan PAI-1 düzeyindeki artış daha baskın olmakta ve sonuçta fibrinolitik aktivitede azalma ve dolayısı ile tromboza eğilim oluşabilmektedir. Solid organ tümörlü ve hematolojik malignensili hastalarda yapılan fibrinolitik sistem ile ilgili çalışmalarda farklı sonuçlar gözlenmektedir, bu farklı sonuçlar aynı kanser türü üzerinde yapılan ayrı çalışmalarda da gözlenmiştir.

Bu çalışmada hematolojik malignitelerde fibrinolitik sistemdeki değişikliklerin kapsamlı bir biçimde incelenmesi amaçlanmıştır.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. HASTALAR

Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Servisi'nde yatmış ve yeni tanı alıp kemoterapi/radyoterapi uygulanmamış olan çeşitli hematolojik maligniteli (11 lenfoma/KLL, 6 myeloma, 2 ALL, 5 MDS) 24 hasta (11 kadın ve 13 erkek, ortalama yaş 48, yaş aralığı 20-77) ile yaş ve cinsiyet uyumlu 19 sağlıklı kontrol denek (9 kadın ve 10 erkek, ortalama yaş 43, yaş aralığı 30-58) çalışmaya alındı. Hastalarda ve sağlıklı deneklerde kan örneği alınması sırasında kanama veya tromboembolik olay ve tromboz öyküsü yoktu. Test tarihinden en az iki hafta öncesinden itibaren koagülasyonu ve fibrinolizisi etkileyebilecek ilaç almamışlardı. Hasta ve sağlıklı deneklerin tümüne çalışma hakkında bilgi verildi ve çalışmaya katılmaları için izin alındı.

3.2. ÖRNEKLERİN ALINMASI VE SAKLANMASI

Plazma t-PA ve PAI-1 düzeylerinin diurnal değişkenlik göstermesi nedeni ile bazal kan örneği, 12 saatlik açlığı ve 30 dakika yatar pozisyonda dinlenmeyi takiben 08⁰⁰ - 10⁰⁰ saatleri arasında antecubital venden alındı. Kan alma işleminin trombosit ve koagülasyon sisteminin aktivasyonuna yol açmaması için venöz basınç uygulanmadı. Kan örneği, vakumlu toplama sistemi kullanılarak, içinde 1/10 volüm antikoagulan-antitrombosit C.T.A.D. solüsyonu içeren (% 3.8 trisodium citrate,

theophylline, adenosine, dipyridamol; Diatube H, Diagnostica Stago, Asnieres, France) tüplere alındı. İlk tüp çalışma dışı tutuldu.

Venöz Oklüzyon Testi: İlk kan örnekleri alındıktan sonra diğer kola sfigmomanometre ile, sistolik ve diastolik kan basınçlarının ortalaması olan basınç 15 dakika süreyle uygulandı. Bu sürenin bitiminde, basınç ortadan kaldırılmadan hemen önce ikinci kan örnekleri yine yukarıda tanımlanan vakumlu tüplere alındı. İlk tüp yine kullanılmadı.

Alınan kan örnekleri hemen buzlu su banyosu içerisine koyuldu ve en geç yarım saat içerisinde + 4⁰ C de 15 dakika süre ile 3000 g'de santrifüje edildi ve trombositten fakir plazma alikotlara ayrılıp kullanılacağı zamana dek - 70⁰ C de saklandı.

3.3. LABORATUAR ANALİZ

Plazma t-PA antijen düzeyi ELISA yöntemi ile ölçüldü (Asserachrom t-PA, Diagnostica Stago, Asnieres, France). Bu kit, gerek serbest gerekse kompleks oluşturmuş tek ve çift zincirli t-PA'nın tümünü ölçmektedir.

Plazma PAI-1 antijen düzeyi ELISA yöntemi ile ölçüldü (Asserachrom PAI-1, Diagnostica Stago, Asnieres, France). Bu kit de dolaşan serbest veya t-PA ile kompleks oluşturan, vitronectin ile bağlı olan veya olmayan PAI-1 ve trombosit PAI-1'ini kapsamak üzere total PAI-1 düzeyini ölçmektedir.

Plazma t-PA-PAI-1 kompleks antijen düzeyi ELISA yöntemi ile ölçüldü (Asserachrom t-PA-PAI-1, Diagnostica Stago, Asnieres, France).

Plazma α_2 -Antiplasmin aktivitesi sentetik kromojenik substrat metodu ile saptandı (Stachrom Antiplasmin, Diagnostica Stago, Asnieres, France). Bu kit ile ölçülen antiplasmin aktivitesi hemen tümüyle α_2 -AP ile ilişkili olup bu özgüllük değişik yöntemlerle gösterilmiştir. Bununla birlikte çok yüksek α_2 -makroglobulin düzeylerine sahip olan hastalarda bir interferansın olabileceği bildirilmektedir.

Yukarıda belirtilen ölçümlere ek olarak, venöz oklüzyonun neden olduğu değişiklik bazal değere göre "katsal artış" olarak hesaplandı (venöz oklüzyon sonrası değer/bazal değer).

Ayrıca net fibrinolitik kapasiteyi yansıtabilmek amacıyla t-PA/PAI-1 oranı hesaplandı.

Tüm parametreler dublike olarak çalışıldı. Her bir hasta ve sağlıklı deneğin bazal ve venöz oklüzyon sonrası örnekleri aynı seride ve hasta ve sağlıklı deneklerin örnekleri paralel şekilde çalışıldı. Üretici firmanın verdiği prosedürler titizlikle uygulandı.

Olguların serum total protein ve albumin düzeyleri ölçüldü. Hastalar ile kontroller arasında venöz oklüzyonun neden olduğu hemokonsantrasyon yönünden anlamlı bir fark gözlenmediğinden venöz oklüzyon sonrası değerlerde düzeltme yapılmadı.

3.4. İSTATİSTİK DEĞERLENDİRME

Venöz oklüzyonun neden olduğu değişiklikler "Wilcoxon's signed-rank test" ile değerlendirildi. İki grubun karşılaştırılması ise "Mann-Whitney's rank-sum test (" U ")" ile yapıldı. 0.05'in altındaki değerler istatistik yönden anlamlı olarak kabul edildi.

Tablolardaki değerler ortalama (SD) ve ortanca (min-max), şekillerdeki değerler ise ortanca olarak verildi.

4. SONUÇLAR:

1. Bazal plazma t-PA, PAI-1 ve t-PA-PAI-1 kompleks düzeyleri hasta grubunda sağlıklı kontrol grubuna göre anlamlı olarak daha yüksekti (Tablo-1, Şekil-1,-2, ve -3).
2. Bazal plazma α_2 -AP düzeyi ve t-PA/PAI-1 oranında iki grup arasında anlamlı bir farklılık yoktu (Tablo-1).
3. Venöz oklüzyon testi her iki grupta da plazma t-PA, t-PA-PAI-1 kompleks ve α_2 -AP düzeyleri ile t-PA/PAI-1 oranında anlamlı bir artışa neden oldu (Tablo-2 ve 3, Şekil-1,-3,-4 ve -5).

4. Ancak venöz oklüzyonun neden olduğu bu artışta (katsal artış) iki grup arasında anlamlı bir fark yoktu (Tablo-4, Şekil-6).

5. Venöz oklüzyon testi her iki grupta da PAI-1 düzeyinde anlamlı bir değışiklik oluşturmadı (Tablo-2 ve 3, Şekil-2).

Tablo-1: Hasta ve kontrol grubunda fibrinolitik sistem parametrelerinin bazal değerlerinin karşılaştırılması.

	HASTALAR		KONTROLLER		P
	ORTALAMA (SD)	ORTANCA (min-max)	ORTALAMA (SD)	ORTANCA (min-max)	
t-PA (ng/mL)	9.3 (7.2)	6.5 (3.7-33.0)	4.9 (1.7)	4.3 (3.4-10.0)	0.001
PAI-1 (ng/mL)	22.0 (12.8)	19.6 (7.0-48.0)	10.6 (9.4)	8.7 (2.5-43.0)	0.0016
t-PA-PAI-1 kompleks (ng/mL)	0.78 (0.49)	0.65 (0.35-2.75)	0.55 (0.12)	0.55 (0.35-0.37)	0.04
a-2-Antiplasmin (aktivite)	0.74 (0.29)	0.74 (0.10-1.61)	0.80 (0.13)	0.79 (0.56-1.01)	>0.05
t-PA / PAI-1 oranı	0.43 (0.20)	0.41 (0.10-0.82)	0.73 (0.47)	0.55 (0.20-1.72)	>0.05

Tablo-2: Hasta grubunda fibrinolitik sistem parametrelerinin bazal ve venöz oklüzyon (VO) testi sonrası değerlerinin karşılaştırılması

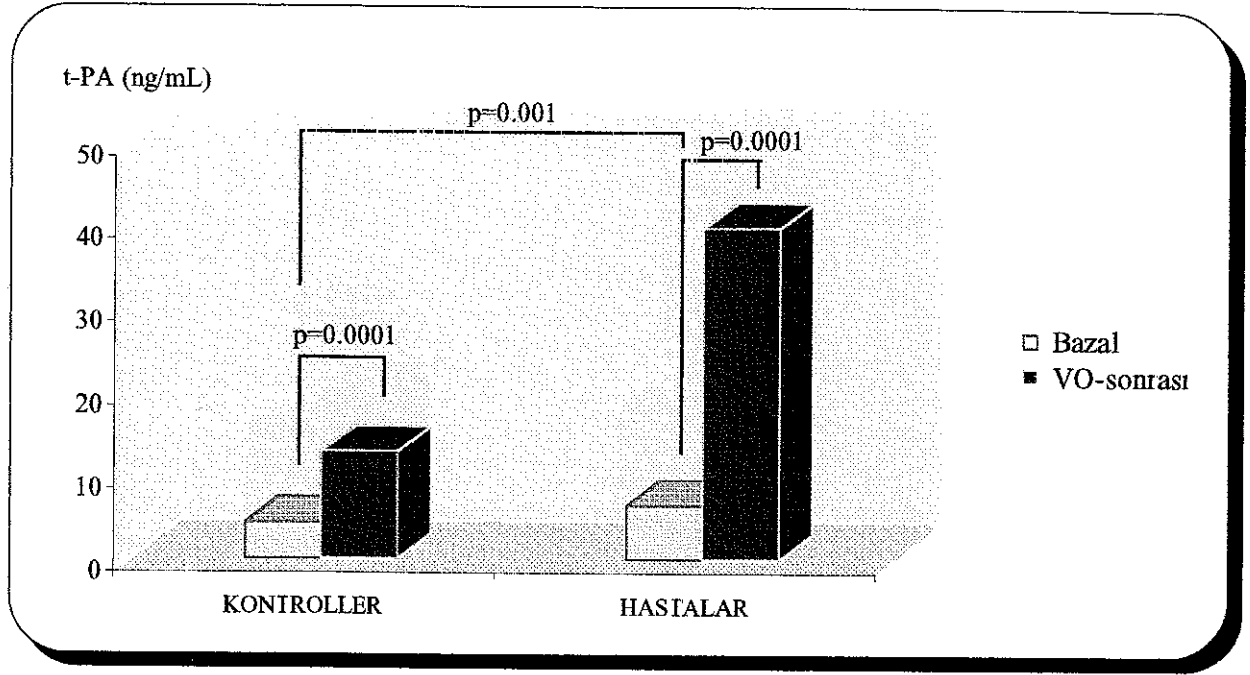
	HASTALAR				P
	BAZAL		VO - SONRASI		
	ORTALAMA (SD)	ORTANCA (min-max)	ORTALAMA (SD)	ORTANCA (min-max)	
t-PA (ng/mL)	9.3 (7.2)	6.5 (3.7-33.0)	54.6 (64.0)	40.0 (4.9-254.0)	0.0001
PAI-1 (ng/mL)	22.0 (12.8)	19.6 (7.0-48.0)	24.4 (14.6)	20.3 (3.5-54.0)	>0.05
t-PA-PAI-1 kompleks (ng/mL)	0.78 (0.49)	0.65 (0.35-2.75)	3.48 (5.65)	1.25 (0.45-20.05)	0.001
a-2-Antiplasmin (aktivite)	0.74 (0.29)	0.74 (0.10-1.61)	0.87 (0.23)	0.89 (0.36-1.20)	0.017
t-PA / PAI-1 oranı	0.43 (0.20)	0.41 (0.10-0.82)	2.35 (2.05)	1.57 (0.31-7.10)	0.0001

Tablo-3: Kontrol grubunda fibrinolitik sistem parametrelerinin bazal ve venöz oklüzon (VO) testi sonrası değerlerinin karşılaştırılması

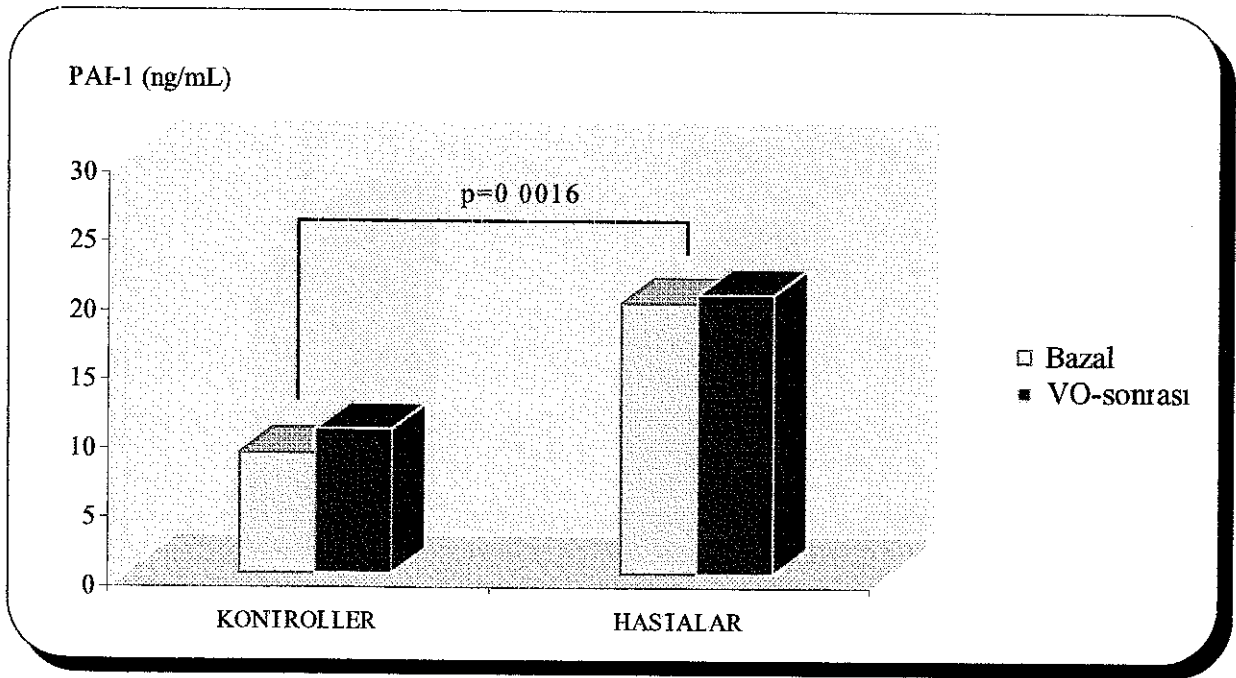
	KONTROLLER				P
	BAZAL		VO - SONRASI		
	ORTALAMA (SD)	ORTANCA (min-max)	ORTALAMA (SD)	ORTANCA (min-max)	
t-PA (ng/mL)	4.9 (1.7)	4.3 (3.4-10.0)	19.3 (14.8)	13.0 (6.8-61.4)	0.0001
PAI-1 (ng/mL)	10.6 (9.4)	8.7 (2.5-43.0)	13.9 (10.6)	10.5 (2.6-43.8)	>0.05
t-PA-PAI-1 kompleks (ng/mL)	0.55 (0.12)	0.55 (0.35-0.37)	0.98 (0.64)	0.75 (0.40-2.75)	0.0009
a-2-Antiplasmin (aktivite)	0.80 (0.13)	0.79 (0.56-1.01)	0.96 (0.18)	1.01 (0.53-1.37)	0.0065
t-PA / PAI-1 oranı	0.73 (0.47)	0.55 (0.20-1.72)	1.94 (1.76)	1.24 (0.48-7.57)	0.0003

Tablo-4: Hasta ve kontrol grubunda venöz oklüzon testinin fibrinolitik parametrelerde yol açtığı katsal artışın karşılaştırılması

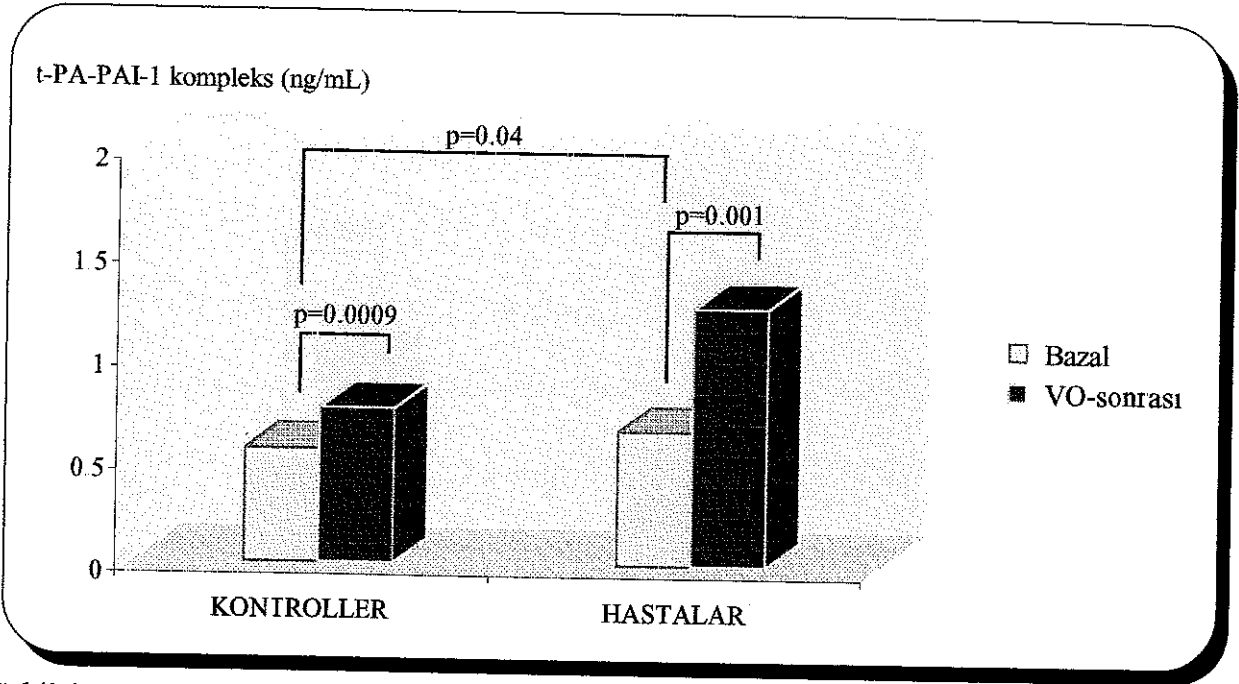
	HASTALAR		KONTROLLER		P
	ORTALAMA (SD)	ORTANCA (min-max)	ORTALAMA (SD)	ORTANCA (min-max)	
t-PA	6.8 (8.4)	5.0 (0.8-38.7)	4.1 (3.1)	2.9 (1.2-12.0)	>0.05
PAI-1	1.2 (0.6)	1.1 (0.5-2.9)	1.7 (1.1)	1.4 (0.2-4.1)	>0.05
t-PA-PAI-1 kompleks	4.5 (6.9)	1.7 (0.4-26.7)	1.9 (1.3)	1.3 (0.8-5.4)	>0.05
a-2-Antiplasmin	1.6 (1.8)	1.1 (0.5-9.9)	1.2 (0.3)	1.2 (0.7-1.6)	>0.05



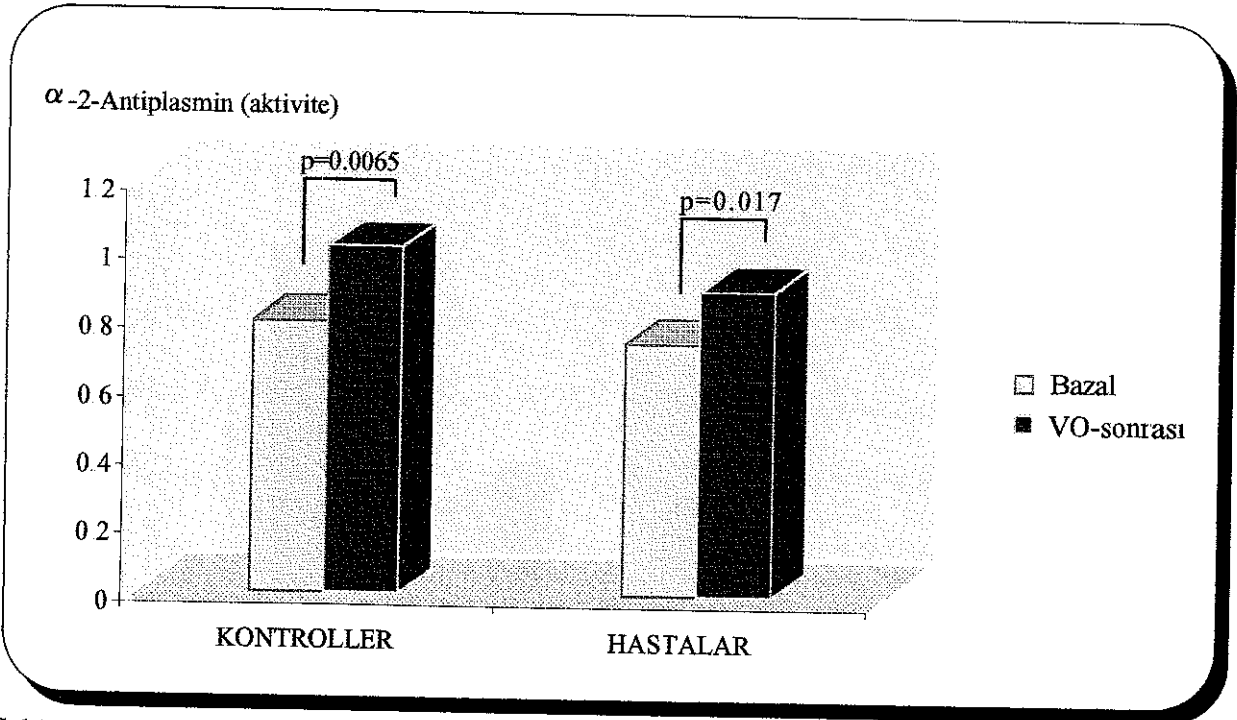
Şekil-1: Hasta ve kontrol grubunda bazal ve venöz oklüzyon (VO) sonrası plazma t-PA değerlerinin karşılaştırması (kolonlar ortanca değerleri göstermektedir).



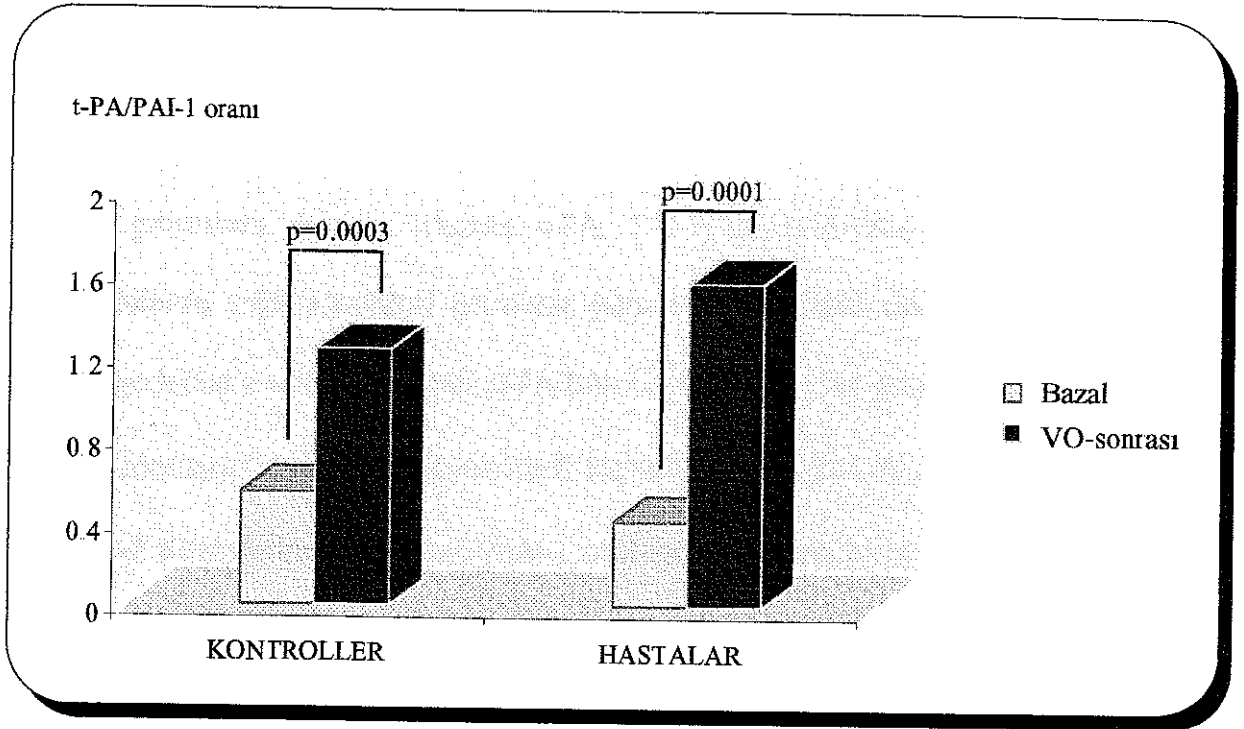
Şekil-2: Hasta ve kontrol grubunda bazal ve venöz oklüzyon (VO) sonrası plazma PAI-1 değerlerinin karşılaştırması (kolonlar ortanca değerleri göstermektedir).



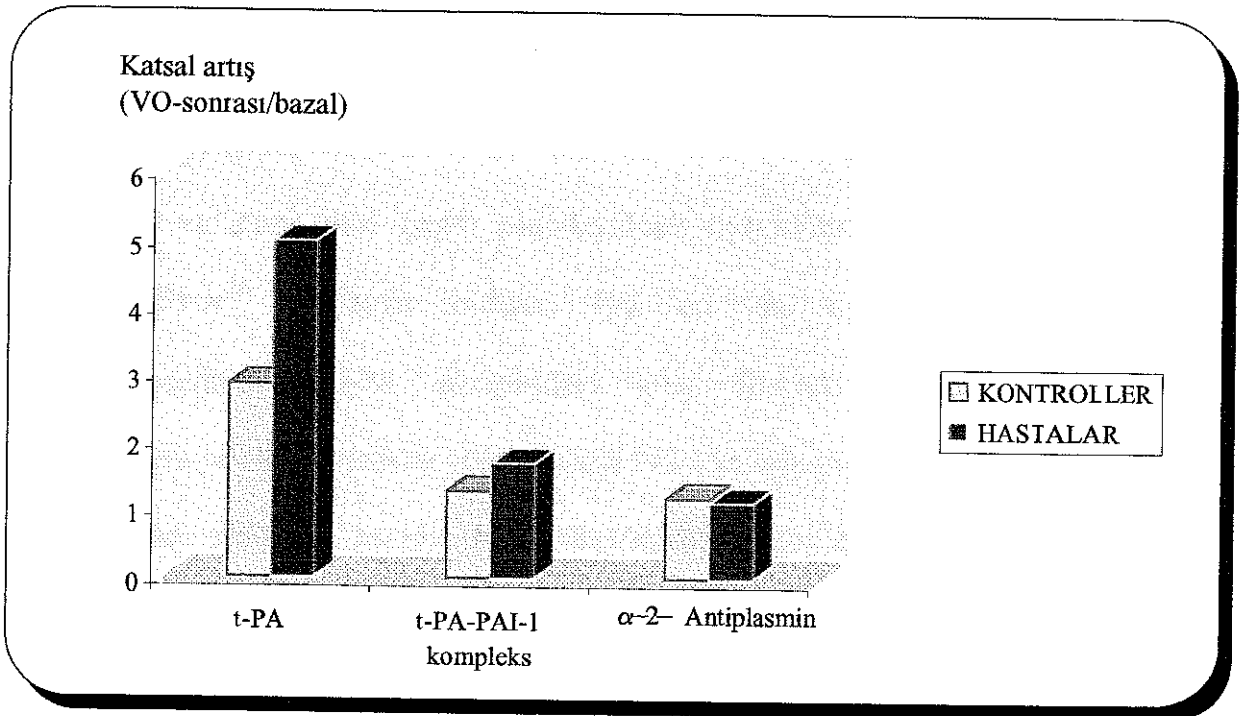
Şekil-3: Hasta ve kontrol grubunda bazal ve venöz oklüzyon (VO) sonrası plazma t-PA-PAI-1 kompleks değerlerinin karşılaştırması (kolonlar ortanca değerleri göstermektedir).



Şekil-4: Hasta ve kontrol grubunda bazal ve venöz oklüzyon (VO) sonrası plazma α -2-Antiplasmin değerlerinin karşılaştırması (kolonlar ortanca değerleri göstermektedir).



Şekil-5: Hasta ve kontrol grubunda bazal ve venöz oklüzyon (VO) sonrası plazma t-PA/PAI-1 oranı değerlerinin karşılaştırması (kolonlar ortanca değerleri göstermektedir).



Şekil-6: Hasta ve kontrol grubunda t-PA, t-PA-PAI-1 kompleks ve α -2-Antiplasmin katsal artışlarının (venöz oklüzyon (VO) sonrası / bazal) karşılaştırması (kolonlar ortanca değerleri göstermektedir) ($p > 0.05$).

5. TARTIŞMA

Bu çalışmada, bazal plazma t-PA, PAI-1 ve t-PA-PAI-1 kompleks düzeylerinin hastalarda sağlıklı kontrol grubuna göre anlamlı olarak daha yüksek olduğu, buna karşın bazal α_2 -AP düzeyi ve t-PA/PAI-1 oranının her iki grup arasında farksız olduğu bulunmuştur. Venöz oklüzyon testi her iki grupta da t-PA, t-PA-PAI-1 kompleks ve α_2 -AP düzeylerinde ve t-PA/PAI-1 oranında anlamlı bir artışa neden olurken PAI-1 düzeyinde anlamlı bir değişiklik oluşturmamıştır. Venöz oklüzyonun neden olduğu t-PA ve t-PA-PAI-1 kompleksindeki artış oranı iki grup arasında farksızdır. t-PA, PAI-1 ve t-PA-PAI-1 kompleksindeki katsal artış hastalarla kontroller arasında farksızdır.

Plazma t-PA antijen ve t-PA-PAI-1 kompleks düzeyleri fibrinolitik sistemin aktive olduğunu göstermektedir³⁵. Bu nedenle de endotel uyarımına neden olan lezyon, anoksi ve stazis gibi çeşitli patofizyolojik durumların tanı ve izleminde oldukça yararlıdır³⁵. Bununla birlikte, PAI-1'de de paralel bir artış sözkonusu olabileceğinden, t-PA düzeyindeki artış fibrinolitik gücün artışı sonucunu doğurmayabilir³⁵. Nitekim yüksek bazal PAI-1'in düzeylerine yüksek bazal t-PA antijen ve venöz oklüzyon sonrası düşük fibrinolitik yanıtın eşlik ettiği gösterilmiştir. Hasta grubunda bazal PAI-1 düzeylerinde yüksekliğe neden olabilecek obesite, hipertrigliseridemi, hiperinsülinemi veya diabet gibi sorunlar sözkonusu olmadığından bu grupta anlamlı olarak daha yüksek bulunan bazal PAI-1, t-PA ve t-PA-PAI-1 kompleks değerlerinin bu faktörlerin etkisi ile ortaya çıkmadığını, altta yatan malign sürecin bir sonucu olabileceğini düşündürmektedir.

Grimaudo ve arkadaşlarınınca¹¹⁷ idiyopatik derin ven trombozlu ve/veya pulmoner embolizmli hastalarda kontrollere göre venöz oklüzyona düşük bir fibrinolitik yanıt olduğu ve t-PA antijen ve PAI-1 düzeylerinde yükseklik olduğu gösterilmiştir. Bazal t-PA antijen, PAI-1, fibrinojen, plasminojen ve FVII düzeyleri hipertrigliseridemik hastalarda normal kontrollere göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur.

Ho ve Jap¹¹⁸ diabetli ve hiperlipidemili hastalarda t-PA düzeyinin normal kontrollere göre anlamlı olarak arttığını bulmuştur.

Stegnar ve arkadaşları¹¹⁵ derin ven trombozlu hastalarda bazal ve venöz oklüzyon sonrasında t-PA antijen düzeyinin kontrollere göre yüksek olduğunu bulmuş ve bunun yüksek bazal PAI-1 aktivitesine bağlı olduğunu düşünmüşlerdir.

Newland ve Haire¹⁰⁶ lösemi ve lenfomalı hastaların PAI-1 düzeylerinin tromboz öyküsü olan hastalarinki gibi normal kontrol olgulara göre daha yüksek düzeyde olduğunu saptamışlardır. Kalıtsal anormallik, ciddi karaciğer hastalığı, akut miyokard infarktüsü, pankreatit ve malignite gibi altta yatan bilinen bir hastalığı bulunmayan hastalarda yüksek PAI-1 düzeylerinin tromboz gelişimi için öngörücü olduğu bulunmuştur.

Syrjala ve arkadaşları⁶⁶, öyküsünde idiyopatik tromboz bulunan 18 hasta ile yaptıkları çalışmada, trombozlu hastalarda bazal t-PA antijen düzeylerinin sağlıklı kontrol

deneklerine göre daha yüksek düzeyde olduğunu saptamışlardır. Bu durumun, sürekli salınımın bir sonucu olarak t-PA depolarının azalması sonucu olabileceğini söylemişlerdir. Ayrıca, bazal t-PA antijen ile bazal PAI-1 arasında güçlü bir korelasyon olduğunu saptamışlardır. Bu durumun fizyolojik ilişkisini açıklayamamışlardır. Araştırmacılar, bu durumun önceki çalışmalarda, ya genel bir regülasyon sistemi sonucu olarak görüldüğü veya PAI-1 ile kompleks oluşturan t-PA'nın yarı ömrünün uzaması sonucu görüldüğü şeklinde açıklandığını belirtmişlerdir.

Uchiyama ve arkadaşları⁹⁹, değişik solid tümörlü 67 hastada yaptıkları araştırmada, bu hastaların plazmalarında, metastaz varlığına bakmaksızın, plasminojen aktivatörlerinin ve PAI-1'in, sağlıklı kontrol deneklerin plazmalarındaki düzeylere göre anlamlı olarak daha yüksek olduğunu saptamışlardır.

PAI-1 endotel hücrelerinden, damar düz kas hücrelerinden, fibroblastlardan ve çeşitli malign hücrelerden salınır³⁹. PAI-1 'in aşırı ekspresyonu ile malignitenin progresyonu arasındaki korelasyon hakkında 3 varsayım öne sürülmektedir³⁹:

1. varsayım: PAI-1'in üretimi, tümör hücrelerinden veya ekstrasellüler matriks çevresinden bilinmeyen feedback mekanizmaları sonucunda indüklenir. PAI-1, plasminojen aktivatörlerinin aktivitesini inhibe ederek ekstrasellüler matriksin çevresinde tümörün büyümesini önleyebilir.
2. varsayım: Bilinmeyen bir stimülasyon sonucu, kanser hücrelerinde PAI-1'in aşırı ekspresyonu olur. Bu durum hücrenin maligniteye dönüşümü ile ilişkili olabilir.

3. varsayım: PAI-1 malign hücreler için otokrin bir şekilde "büyüme uyarıcısı" aktivitesine sahip olabilir. Kanseri hücrelerinden salgılanan PAI-1, her ne kadar hücre yüzeyinde PAI-1 reseptörlerinin varlığı gösterilememiş olmakla birlikte, "özel hücre yüzey reseptörleri" ne bağlanabilir ve hücrenin malign transformasyonu ile sonuçlanan kaskadı başlatabilir.

PAI-1 aynı zamanda bir akut faz proteindir¹⁰⁶. IL-1 ve endotoksin PAI-1 düzeylerini belirgin olarak artırır¹⁰⁶. Trombin, endotoksin ve TNF, IL-1 yapımını indüklerler¹⁰⁶. TNF kendisi de bizzat endotel hücrelerinden PAI-1'in üretimini uyarabilir¹⁰⁶. TNF'nin PAI-1 messenger RNA düzeyini belirgin olarak arttırdığı gösterilmiştir¹⁰⁶. Çalışma grubundaki kanserli hastalardaki olasılıkla artmış olan TNF yapımı bu gruptaki bazal PAI-1 yüksekliğine neden olmuş olabilir.

Kanserli hasta grubundaki artmış olan bazal t-PA antijen düzeyi, hastalık sürecinin endotel hücrelerinde hiperaktivite ya da yıkıma neden olmasının bir sonucu olabileceği gibi yüksek olan bazal PAI-1 düzeyini kompanse etmek için minimal bir fibrinolitik aktivitenin sürdürülmesini sağlayan bir feedback mekanizmayı da yansıtır olabilir. İlk olasılık t-PA'nın bir endotelial marker olduğunu kanıtlar.

Yüksek bazal t-PA düzeyi, kanserli hastalarda olasılıkla süregitmekte olan koagülasyon aktivasyonuna sekonder de olabilir. Artan koagülabiliteye fibrinolitik aktivitedeki artış eşlik ettiği bilinmektedir^{33,34}. Trombinin endotel hücrelerinden t-PA salınımını uyardığı bilinmektedir¹¹⁹. Ayrıca, t-PA tarafından plasminojenin aktivasyonu fibrin

varlığında önemli ölçüde artmaktadır²⁸. Nitekim, gerek koagulasyon aktivasyonunu ve fibrin oluşumunu gösteren protrombin ve TAT kompleks düzeylerinin, gerekse de fibrinolizisi gösteren FDP, D-dimer ve PAP kompleks düzeylerinin değişik kanserli hastalarda kontrol olgulara göre daha yüksek olduğu gösterilmiştir^{98,99,103}.

Venöz oklüzyon testi, her iki grupta da α_2 -AP düzeylerinde belirgin artışa neden olmuştur. α_2 -AP fibrinolizisin başlıca inhibitörüdür¹³. Fibrinolizisin aktivasyonu, plazma α_2 -AP ve plasminojen düzeylerinde düşmeye neden olmaktadır¹³. Diğer fibrinolitik parametrelerde de venöz oklüzyon sonrası yükselme olmasına karşın α_2 -AP düzeyinde bir düşmenin görülmemesi, venöz oklüzyonun neden olduğu koagulasyon ve fibrinolizis aktivasyonunun α_2 -AP düzeylerinde düşmeye neden olacak bir yoğunlukta olmadığını ya da venöz oklüzyon sonrası α_2 -AP artışının tümüyle hemokonsantrasyona bağlı olduğunu düşündürmektedir.

Sonuç olarak bu çalışma, hematolojik maligniteli hastalarda bazal koşullarda süregitmekte olan bir fibrinolitik sistem aktivasyonunun var olduğu ve bunun gerek aktivatör gerekse de inhibitör yüksekliği ile birlikte olduğu göstermiştir. t-PA ve PAI-1'in endotel hücrelerinden salıverilişleri birbirlerinden bağımsız olduğundan¹⁰⁴ hangisinin primer olarak yükselip diğerinin onu kompanse etmeye çalıştığını söylemek oldukça güç görünmektedir. Ayrıca, maligniteli hastalarda endotelden kaynaklanan ürünler sağlıklılara göre farklı bir yol izleyebilirler. Ancak PAI-1'in bir akut faz reaktanı da olduğu gözönüne alınacak olursa asıl sorunun PAI-1 yüksekliği olduğu daha kuvvetle olasıdır. t-PA'daki artışa rağmen aynı anda ve belki de daha belirgin PAI-1

artışı nedeni ile net fibrinolitik aktivitede bir azalma söz konusu olabilir. Bu da maligniteli hastalarda insidansı yüksek olan trombotik komplikasyonların oluşumuna katkıda bulunabilir. Ancak, trombofilik durumların saptanması için fibrinolitik sistemin değerlendirilmesinde bir stimülasyon testi olarak kullanılan venöz oklüzyon ile hastaların t-PA yanıtı sağlıklılardan farksız bulunmuştur. Bu da bu grup hastaların fibrinolitik kapasitelerinin bozuk olmadığını ve t-PA'nın bazal koşullarda yüksek olmasına karşın henüz "tüketilmemiş" olduğunu göstermektedir.

Maligniteli hastalarda fibrinolitik sistem hakkında daha derin bilgi sahibi olunması, daha iyi profilaksi ve daha etkin tedavi girişimlerini de beraberinde getirecektir. Aktive olmuş bazal fibrinolizisin bu hastalarda neden olabileceği sonuçlar, özellikle de kanser biyolojisi ile ilişkileri ise yapılacak diğer çalışmalara hak kazandırmaktadır.

6. ÖZET

Kanserli hastalarda tromboembolik olaylar sık görülen komplikasyonlardandır. Yineleyen tromboembolik olaylara neden olan mekanizmalardan biri de fibrinolitik sistemdeki bozukluklardır. Kanserli hastalarda koagülasyonun aktivasyon mekanizmaları ve önemi konusunda ilerlemeler kaydedilmiş olmasına rağmen, fibrinolitik sistemin bozulmasına ve tromboz oluşumuna neden olan mekanizmalar tam olarak belirlenememiştir.

Bu çalışmada, hastahaneye yatırılan ve yeni tanı alıp kemoterapi/radyoterapi uygulanmamış olan çeşitli hematolojik maligniteli (11 lenfoma/KLL, 6 myeloma, 2 ALL, 5 MDS) 24 hasta ile yaş ve cinsiyet uyumlu 19 sağlıklı kontrol denekte bazal ve venöz oklüzyon testi sonrası plazma t-PA antijen, PAI-1 antijen, t-PA-PAI-1 kompleks antijen ve α_2 -AP aktivitesi ölçüldü. Venöz oklüzyonun neden olduğu değişiklik bazal değere göre "katsal artış" olarak hesaplandı (venöz oklüzyon sonrası değer/bazal değer). Ayrıca, net fibrinolitik kapasiteyi yansıtabilmek amacıyla t-PA/PAI-1 oranı hesaplandı.

Bazal plazma t-PA, PAI-1 ve t-PA-PAI-1 kompleks düzeyleri hastalarda sağlıklı kontrol grubuna göre anlamlı olarak daha yüksekti. Bazal α_2 -AP düzeyi ve t-PA/PAI-1 oranı her iki grup arasında istatistik yönden farksızdı. Venöz oklüzyon testi her iki grupta da t-PA, t-PA-PAI-1 kompleks, α_2 -AP düzeylerinde ve t-PA/PAI-1 oranında anlamlı bir artışa neden olurken PAI-1 düzeyinde anlamlı bir değişiklik oluşturmadı. Venöz

oklüzyonun neden olduğu bu artışta (katsal artış) iki grup arasında anlamlı bir fark yoktu.

Sonuç olarak bu çalışma, hematolojik maligniteli hastalarda bazal koşullarda süregitmekte olan bir fibrinolitik sistem aktivasyonunun varolduğunu ve bunun gerek aktivatör gerekse de inhibitör yüksekliği ile birlikte olduğunu göstermiştir. t-PA ve PAI-1'in endotel hücrelerinden salınmaları birbirlerinden bağımsız olduğundan hangisinin primer olarak yükselip diğerinin onu kompanse etmeye çalıştığını söylemek oldukça güç görünmektedir. Ancak PAI-1'in bir akut faz reaktanı da olduğu gözönüne alınacak olursa asıl sorunun PAI-1 yüksekliği olduğu daha kuvvetle olasıdır. t-PA'daki artışa rağmen aynı anda ve belki de daha belirgin PAI-1 artışı nedeni ile net fibrinolitik aktivitede bir azalma söz konusu olabilir. Bu da maligniteli hastalarda insidansı yüksek olan trombotik komplikasyonların oluşumuna katkıda bulunabilir. Ancak, venöz oklüzyon testi ile hastaların t-PA yanıtının sağlıklılarından istatiki olarak farksız bulunması bu grup hastaların fibrinolitik kapasitelerinin bozuk olmadığını ve t-PA'nın bazal koşullarda yüksek olmasına karşın henüz "tüketilmemiş" olduğunu göstermektedir.

7. KAYNAKLAR

1. Gaussem P, Gandrille S, Molho-Sabatier P, Capron L, Fiessinger JN, Aiach M. A plasma clot lysis assay based on the release of fibrin degradation products: Application to the diagnosis of hypofibrinolytic states. *Thromb Haemost* 1990; 1: 76-81.
2. Lijnen HR, Collen D. Tissue-type plasminogen activator. *Ann Biol Clin* 1987; 45: 198-201.
3. Wajima T. Fibrinolytic profiles in patients with small cell carcinoma of the lung. *Semin Thromb Hemost* 1991; 17: 280-5.
4. Lewis JH, Szeto IL, Bayer WL, Curiel DC. Leukofibrinolysis. *Blood* 1972; 40: 844-55.
5. Francis CW, Marder VJ. Degradation of cross-linked fibrin by human leukocyte proteases. *J Lab Clin Med* 1986; 107: 342-52.
6. Plow EF. The major fibrinolytic proteases of human leukocytes. *Biochim Biophys Acta* 1980; 630: 47-56.
7. Francis CW, Marder VJ. Physiologic regulation and pathologic disorders of fibrinolysis. *Hum Pathol* 1987; 18: 263-74.
8. Wiman B. Primary structure of the β -chain of human plasmin. *Eur J Biochem* 1977; 76: 129-37.
9. Robbins KC. The plasminogen-plasmin enzyme system. In: Colman RW, ed. *Hemostasis and Thrombosis*. 2nd ed, Philadelphia, Lippincott, 1987, 74-87.

10. Bohmfalk JF, Fuller GM. Plasminogen is synthesized by primary cultures of rat hepatocytes. *Science* 1980; 209: 408-10.
11. Riddle JM, Barnhart MI. The eosinophil as a source of profibrinolysin in acute inflammation. *Blood* 1965; 25: 776-80.
12. Schleef RR, Bevilacqua MP, Sawdey M, Gimbrone MA, Loskutoff DJ. Cytokine activation of vascular endothelium. *J Biol Chem* 1988; 263: 5797-803.
13. Machin SJ, Mackie IJ. Fibrinolysis. In: Chanarin I, ed. *Laboratory Haematology*, Second edition, Hong Kong, Churchill Livingstone Longman Group (FE) Ltd, 1991, 361-9.
14. Soszka T. Partial purification and some properties of the tissue plasminogen activator from the human myometrium. *Thromb Res* 1977; 10: 823-32.
15. Todd AS. Localization of fibrinolytic activity in tissue. *Br Med Bull* 1984; 20: 210-7.
16. Gordon S, Newman W, Bloom B. Macrophage proteases and rheumatic diseases: Regulation of plasminogen activator by thymus-derived lymphocytes. *Agents Actions* 1978; 8: 19-26.
17. Rohlich ST, Rifkin DB. Patterns of plasminogen activator production in cultured normal embryonic cells. *J Cell Biol* 1977; 75: 31-5.
18. Lacroix M, Smith FE, Fritz IB. Secretion of plasminogen activator by Sertoli cell-enriched cultures. *Mol Cell Endocrinol* 1977; 9: 227-36.

19. Strickland S, Beers WH. Studies on the role of plasminogen activator in ovulation. *J Biol Chem* 1976; 251: 5694-702.
20. Lucas ON, Fujita D. Histochemical identification of plasminogen activator in rat salivary glands. *Arch Oral Biol* 1974; 19: 455-60.
21. Oshiba S, Ariga T. Purification and characterization of the biliary plasminogen activator bilokinase. *J Biol Chem* 1983; 258: 622-8.
22. Gelister JSK, Mahmoud M, Lewin MR, Gaffney PJ, Boulos PB. plasminogen activators in human colorectal neoplasia. *Br Med J* 1986; 293: 728-31.
23. Fukao H, Tanaka N, Ueshima S, Okada K, Yasutomi M, Matsuo O. Plasminogen activator inhibitor in stomach and colorectal carcinomas. *Semin Thromb Hemost* 1991; 17: 276-9.
24. Ricken DC, Collen D. Purification and characterization of the plasminogen activator secreted by human melanoma cells in culture. *J Biol Chem* 1981; 256: 7035-41.
25. Collen D, Lijnen HR. Tissue-type plasminogen activator. Mechanisms of action and thrombolytic properties. *Haemostasis* 1986; 16: 25-32.
26. Bilezikian SB, Nossel HL. Unique pattern of fibrinogen cleavage by human leukocyte proteases. *Blood* 1977; 50: 21-8.
27. Hoylaerts M, Ricken DC, Lijnen HR, Collen D. Kinetics of the activation of plasminogen by human tissue plasminogen activator. *J Biol Chem* 1982; 257: 2912-9.

28. Tran-Thang C, Kruithof EK, Bachmann F. Tissue-type plasminogen activator increases the binding of glu-plasminogen to clots. *J Clin Invest* 1984; 74: 2009-16.
29. Banyai L, Varadi A, Patthy L. Common evolutionary origin of the fibrin-binding structure of fibronectin and tissue-type plasminogen activator. *FEBS Lett* 1983; 163: 37-41.
30. Ricken DC, Hoylaerts M, Collen D. Fibrinolytic properties of one-chain and two-chain human extrinsic (tissue-type) plasminogen activator. *J Biol Chem* 1982; 257: 2920-5.
31. Matsuo O, Rijken DC, Collen D. Comparison of the relative fibrinogenolytic, fibrinolytic and thrombolytic properties of tissue plasminogen activator and urokinase *in vitro*. *Thromb Haemost* 1981; 45: 225-9.
32. Juhan-Vague I, Valadier J, Alessi MC, Aillaud MF, Ansaldi J, Philip-Joet C, Holvoet P, Serradimigni A, Collen d. Deficient t-PA release and elevated PA inhibitor levels in patients with spontaneous or recurrent deep venous thrombosis. *Thromb Haemost* 1987; 57: 67-72.
33. Mellbring G, Dahlgren S, Wiman B, Sunnegardh O. Relationship between preoperative status of the fibrinolytic system and occurrence of deep vein thrombosis after major abdominal surgery. *Thromb Res* 1985; 39: 157-63.
34. Paramo JA, Alfaro M], Rocha E. Postoperative changes in the plasmatic levels of tissue-type plasminogen activator and its fast-acting inhibitor-Relationship to deep vein thrombosis and influence of prophylaxis. *Thromb Haemost* 1985; 54: 713-6.

35. Juhan-Vague I, Moerman B, De Cock F, Aillaud MF, Collen D. Plasma levels of specific inhibitor of tissue-type plasminogen activator (and urokinase) in normal and pathological conditions. *Thromb Res* 1984; 33: 523-30.
36. Wun TC, Capuano A. Spontaneous fibrinolysis in whole human plasma. *J Biol Chem* 1985; 260: 5061- 6.
37. Aznar J, Estelles A, Vila V, Reganon E, Espana F, Villa P. Inherid fibrinolytic disorder due to an enhanced plasminogen activator level. *Thromb Haemost* 1984; 52: 196-200.
38. Leusk A. Biochemical and biophysical studies of human urokinase. *Thromb Haemost* 1967; 18: 293-6.
39. Sumiyoshi K, Baba S, Sakaguchi S, Urano T, Takada Y, Takada A. Increase in levels of plasminogen activator and type-1 plasminogen activator inhibitor in human breast cancer: Possible roles in tumor progression and metastasis. *Thromb Res* 1991; 63: 59-71.
40. Wun TC, Ossowski L, Reich E. A proenzyme form of human urokinase. *J Biol Chem* 1982; 257: 7262-8.
41. Barlow GH, Francis CW, Marder VJ. On the conversion of high molecular weight urokinase to the low molecular weight form by plasmin. *Thromb Res* 1981; 23: 541-7.
42. Pannell R, Gurewich V. Pro-urokinase: A study of its stability in plasma and of a mechanism for its selective fibrinolytic effect. *Blood* 1986; 67: 1215-23.

43. Gunzler WA, Steffens GJ, Otting F, Buse G, Flohe L. Structural relationships between human high and low molecular mass urokinase. *Hoppe Seylers Z Physiol Chem* 1982; 363: 133-41.
44. Moroz LA, Gilmore NJ. Mechanism involved in enhancement of plasma fibrinolytic activity by chloroform. *Blood* 1976; 48: 777-90.
45. Bajaj SP, Castellino FJ. Activation of human plasminogen by equimolar levels of streptokinase. *J Biol Chem* 1977; 252: 492-8.
46. Kline DL, Ts 'ao CH. Activation of human plasminogen by streptokinase in absence of plasmin-SK activator. *Am J Physiol* 1971; 220: 440-3.
47. Matsua O. On the fibrinolytic and thrombolytic properties of active-site p-anisoylated streptokinase-plasminogen complex (BRL 26921). *Thromb Res* 1981; 24: 347-52.
48. Iatridis SG, Ferguson JH. Effect of physical exercise on blood clotting fibrinolysis. *J Appl Physiol* 1963; 18: 337-43.
49. Kluft C, Dooijewaard G, Emeis JJ. Role of the contact system in fibrinolysis. *Semin Thromb Haemost* 1987; 13: 50-68.
50. de-Fouw NJ, Haverkate F, Bertina RM, Koopman J, van-Wijngaarden A, van-Hinsbergh VW. The cofactor role of protein S in the acceleration of whole blood clot lysis by activated protein C in vitro. *Blood* 1986; 67: 1189-92.
51. Comp PC, Esmon CT. Generation of fibrinolytic activity by infusion of activated pretein C into dogs. *J Clin Invest* 1981; 68: 1221-8.

52. Declerck PJ, Alessim MC, Verstreken M, Kruithof EKO, Juhan-Vague I, Collen D. Measurement of plasminogen activator inhibitor 1 in biologic fluids with a murine monoclonal antibody-based enzyme-linked immunosorbent assay. *Blood* 1988; 71: 220-5.
53. Schleef RR, Loskutoff DJ. Fibrinolytic system of vascular endothelial cells. *Haemostasis* 1988; 18: 328-41.
54. Urden G, Chemielewska J, Carlsson T, Wiman B. Immunological relationship between plasminogen activator inhibitors from different sources. *Thromb Haemost* 1987; 57: 29-34.
55. Kruithof EKO, Tran-Thang C, Bachmann F. The fast-acting inhibitor of tissue-type plasminogen activator in plasma is also the primary plasma inhibitor of urokinase. *Thromb Haemost* 1986; 55: 65-9.
56. Kluft C, Jie AFH, Ricken DC, Verheijen JH. Daytime fluctuations in blood tissue-type plasminogen activator (t-PA) and its fast-acting inhibitor (PAI-1). *Thromb Haemost* 1988; 59: 329-32.
57. Nguyen G, Horellou MH, Kruithof EKO, Conard J, Samama MM. Residual plasminogen activator inhibitor activity after venous stasis as a criterion for hypofibrinolysis: a study in 83 patients with confirmed deep vein thrombosis. *Blood* 1988; 72: 601-5.
58. Gudinchet A, Bachmann F. Plasminogen activator inhibitor 1 and plasminogen activator inhibitor 2 in various disease states. *Thromb Haemost* 1988; 59: 7-12.

59. Tran-Thang C, Fasel-Felley J, Pralong G, Hofstetter JR, Bachmann F, Kruithof EKO. Plasminogen activators and plasminogen activator inhibitors in liver deficiencies caused by chronic alcoholism or infectious hepatitis. *Thromb Haemost* 1989; 62: 651-3.
60. Pralong G, Calandra T, Glauser MP, Schellekens J, Verhoef J, Bachmann F, Kruithof EKO. Plasminogen activator inhibitor 1: a new prognostic marker in septic shock. . *Thromb Haemost* 1989; 61: 459-62.
61. Juhan-Vague I, Vague Ph, Alessi MC, Badier C, Valadier J, Aillaud MF, Atlan C. Relationship between plasma insulin triglyceride, body mass index, and plasminogen activator inhibitor 1. *Diabete Metab* 1987; 13: 331-6.
62. Sprengers ED, Kluft C. Plasminogen activator inhibitors. *Blood*. 1987; 69: 381-7.
63. Highsmith RF, Rosenberg RD. The inhibition of human plasmin by human antithrombin-heparin cofactor. *J Biol Chem* 1974; 249: 4335-8.
64. Sherman LA. Catabolism of fibrinogen and its derivates. *Thromb Haemost* 1977; 38: 809-22.
65. Wohl RC, Sinio L, Robbins KC. Methods for studying fibrinolytic pathway components in human plasma. *Thromb Res* 1981; 22: 281-6.
66. Syrjala MT, Krusius T, Petaja J, Vahtera E, Rasi V. Venous Occlusion Test: Assesment of fibrinolytic capacity by D-dimer latex agglutination test. *Fibrinolysis* 1993; 7: 41-5.

67. Mizuno A, Isobe J, Shima K. Simplification of a venous occlusion test. *Thromb Res* 1991; 62: 83-92.
68. Brozovic M, Mackie I. Investigation of a thrombotic tendency. In: Dacie JV, Lewis SM, eds. *Practical Haematology*, 7th ed, Edinburg, Churchill Livingstone Longman Group UK Ltd, 1991, 319-34.
69. Levin EG, Stern DM, Nawroth PP, Marlar RA, Fair DS, Fenton JW Harker LA. Specificity of the thrombin-induced release of tissue plasminogen activator from cultured human endothelial cells. *Thromb Haemost* 1986; 56: 115-9.
70. Izaki S, Kitaguchi H. Calcium dependent and independent release of plasminogen activator from the vasculer wall. *Thromb Res* 1977; 10: 765-70.
71. Rakoczi I, Wiman B, Collen D. On the biological significance of the specific interaction between fibrin, plasminogen and antiplasmin. *Biochim Biophys Acta* 1978; 540: 295-300.
72. Reagan CR, Mills JB, Kostyo JL, Wilhelmi AE. Isolation and biological characterization of fragments of human growth hormone produced by digestion with plasmin. *Endocrinology* 1975; 96: 625-36.
73. Wilner GD. Molecular basis for measurement of circulating fibrinogen derivatives. *Prog Hemost Thromb* 1978; 4: 211-48.
74. Mills D, Karpatkin S. The initial macromoleculer derivates of human fibrinogen produced by plasmin. *Biochim Biophys Acta* 1972; 271: 163-73.
75. Fletcher AP, Alkjaersig N, Fisher S, Sherry S. The proteolysis of fibrinogen by plasmin. The identification of thrombin-clottable fibrinogen derivatives which polymerize abnormally. *J Lab Clin Med.* 1966; 68: 780-802.

76. Marder VJ, Budzynski AZ, James HL. High molecular weight derivatives of human fibrinogen produced by plasmin. *J Biol Chem* 1969; 244: 2111 1972; 247: 4775-81.
77. Marder VJ, Budzynski AZ. Data for defining fibrinogen and its plasmic degradation products. *Thromb Haemost* 1975; 33: 199-207.
78. Furlan M, Kemp G, Beck EA. Plasmic degradation of human fibrinogen. III. Molecular model of the plasmin-resistant disulfide knot in monomeric fragment D. *Biochim Biophys Acta* 1975; 400: 95-111.
79. Smith GF, Bang NU. Formation of soluble fibrin polymers. Fibrinogen degradation fragments D and E fail to form soluble complexes with fibrin monomer. *Biochemistry* 1972; 11: 2958-66.
80. Gurewich V, Hutchinson E. Detection of intravascular coagulation by a serial dilution protamine sulfate test. *Ann Intern Med* 1971; 75: 895-902.
81. Ströder W, Hormann H. The cold-insoluble fibrinogen fraction of bovine and human plasma. *Biochim Biophys Acta* 1974; 351: 396-406.
82. Krohnke I, Mahn I, Krell W, Muller-Berghaus G. Studies on circulating soluble fibrin; separation of ¹²⁵I-des-AB fibrin and ¹³¹I-fibrinogen by gel filtration. *Br J Haematol* 1980; 45: 131-41.
83. Sherman LA, Lee J. Specific binding of soluble fibrin to macrophages. *J Exp Med* 1977; 145: 76-85.

84. Lio A. The roles of renal catabolism and uremia in modifying the clearance of fibrinogen and its degradative fragments D and E. *J Lab Clin Med* 1976; 87: 934-9.
85. Arnesen H. The effect of products D and E on the thrombin-induced conversion of fibrinogen to fibrin. *Scand J Haematol* 1974; 12: 165-72.
86. Solum NO, Rigollat C, Budzynski AZ, Mardier VJ. A quantitative evaluation of the inhibition of platelet aggregation by low molecular weight degradation products of fibrinogen. *Br J Haematol* 1973; 24: 419-34.
87. Stachurska J, Lopaciuk S, Gerdin B, Saldeen T, Koroscik A, Kopec M. Effects of proteolytic degradation products of human fibrinogen and of human factor VIII on platelet aggregation and vascular permeability. *Thromb Res* 1979; 15: 663-72.
88. Senior RM, Skogen WF, Griffin GR, Wilner GD. Effects of fibrinogen derivatives upon the inflammatory response. Studies with human fibrinopeptide. *B J Clin Invest* 1986; 77: 1014-9.
89. Sueishi K. Permeability enhancing and chemotactic activities of lower molecular weight degradation products of human fibrinogen. *Thromb Haemost* 1981; 45: 90-4.
90. Aillaud MF, Pignol F, Alessi MC, Harle JR, Escande M, Mongin M, Juhan-Vague I. Increasing in plasma concentration of plasminogen activator inhibitor, fibrinogen, von Willebrand factor VIII:C and in erythrocyte sedimentation rate with age. *Thromb Haemost* 1986; 55: 330-2.

91. Brakman P, Albrechtsen OK, Astrup T. A comparative study of coagulation and fibrinolysis in blood from normal men and women. *Br J Haematol* 1966; 12: 74-85.
92. Kruithof EKO, Tran-Thang C, Gudinchet A, Hauert J, Nicoloso G, Genton C, Welti H, Bachmann F. Fibrinolysis in pregnancy: a study of plasminogen activator inhibitors. *Blood* 1987; 69: 460-6.
93. Hamulyak K, Nieuwenhuizen W, Devilee PP, Hemker HC. Reevaluation of some properties of fibrinogen, purified from cord blood of normal newborns. *Thromb Res* 1983; 32: 301-10.
94. Harbourne T, O'Brien D, Nicolaides AN. Fibrinolytic activity in patients with idiopathic and secondary deep venous thrombosis. *Thromb Res* 1991; 64: 543-50.
95. Haaland AK, Skjonsberg OH, Varet A, Ruyter R, Godal HC. A novel principle for assessment of stimulated fibrinolysis. *Thromb Res* 1991; 62: 725-35.
96. Kahn MB, Palmer S, Marlar RA, Fink L. A modified quantitative whole blood clot lysis method for general laboratory analysis of fibrinolysis. *Thromb Res* 1990; 59: 171-81.
97. Jennings I, Luddington J, Harper PL. Changes in endothelial-related coagulation proteins in response to venous occlusion. *Thromb Haemost* 1991; 4: 374-6.
98. Zurborn KH, Duscha H, Gram J, Bruhn HD. Investigations of coagulation system and fibrinolysis in patients with disseminated adenocarcinomas and non-Hodgkin's lymphomas. *Oncology* 1990; 47: 376-80.

99. Uchiyama T, Matsumoto M, Kobayashi N. Studies on the pathogenesis of coagulopathy in patients with arterial thromboembolism and malignancy. *Thromb Res* 1990; 59: 955-65.
100. Nand S, Fisher SG, Salgia R, Fisher RI. Hemostatic abnormalities in untreated cancer: Incidence and correlation with thrombotic and hemorrhagic complications. *J Clin Oncol* 1987; 5: 1998-2003.
101. Dabrowska M, Kemoni H, Prokopowicz J, Kretowska J, Kiluk S. Serum antithrombin III and alpha-2-antiplasmin concentrations in patients with Hodgkin 's disease in the course of chemotherapy. *Neoplasma* 1991; 38: 249-52.
102. Conlan MG, Haire WD, Kessinger A, Armitage JO. Prothrombotic hemostatic abnormalities in patients with refractory malignant lymphoma presenting for autologous stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant* 1991; 7: 475-9.
103. Nanninga PB, Teunenbroek A, Veenhof CHN, Büller HR, Cate JW. Low prevalence of coagulation and fibrinolytic activation in patients with primary untreated cancer. *Thromb Haemost* 1990; 3: 361-4.
104. Rocha E, Paramo JA, Fernandez FJ, Cuesta B, Hernandez M, Paloma MJ, Rifon J. Clotting activation and impairment of fibrinolysis in malignancy. *Thromb Res* 1989; 54: 699-707.
105. Abbasciano V, Graziano L, Guerra S, Mazzotta D, Pollinzi V, Gilli G, Zavagli G. Coagulation disorders and tumor markers in the diagnosis of pancreatic cancer. *Oncology* 1991; 48: 377-82.

106. Newland JR, Haire WD. Elevated plasminogen activator inhibitor levels found in patients with malignant conditions. *Am J Clin Pathol* 1991; 96: 602-4.
107. Mannucci PM, Cugno M, Bottasso B, Marongiu F, Maniezzo M, Vaglini M, Cascinelli N. Changes in fibrinolysis in patients with localized tumors. *Eur J Cancer* 1990; 26: 83-7.
108. Kirchheimer JC, Kölbl H, Tatra G, Binder BR. Relationship between plasma levels of components of the fibrinolytic system and acute-phase reactants in patients with uterine malignancies. *Eur J Clin Invest* 1990; 20: 79-84.
109. Layer GT, Burnand KG, Gaffney PJ, Cederholm-Williams SA, Mahmoud M, Houlbrook S, Pattison M. Tissue plasminogen activators in breast cancer. *Thromb Res* 1987; 45: 601-7.
110. Sawaya R, Ramo OJ, Glas-Greenwalt P, Wu SZ. Plasma fibrinolytic profile in patients with brain tumors. *Thromb Haemost* 1991; 1: 15-9.
111. Koelbl H, Kirchheimer JC, Tatra G, Christ G, Binder BR. Increase plasma levels of urokinase-type plasminogen activator with endometrial and cervical cancer. *Obstet Gynecol* 1988; 72: 252-6.
112. Guarini A, Mussoni L, Gugliotta L, Chetti L, Niewiarowski T, Catani L, Macchi S, Donati MB, Tura S. Depressed fibrinolysis in patients with acute leukemia. *Br J Haematol* 1987; 66: 327-30.
113. Törnebohm E, Blomback M, Lockner D, Erberg N, Paul C. Bleeding complications and coagulopathy in acute leukaemia. *Leuk Res* 1992; 16: 1041-8.

114. Cofrancesco E, Pogliani E, Salvatore G, Moreo G, Boschetti C, Cortellaro M. Alpha-2-antiplasmin in acute nonlymphoblastic leukemia. *Acta Haematol* 1989; 81: 122-5.
115. Stegnar M, Peternel P, Keber D, Vene N. Poor fibrinolytic response to venous occlusion by different criteria in patients with deep vein thrombosis. *Thromb Res* 1991; 64: 445-53.
116. Francis RB, Seyfert U. Tissue plasminogen activator antigen and activity in disseminated intravascular coagulation: Clinicopathologic correlations. *J Lab Clin Med* 1987; 110: 541-7.
117. Grimaudo V, Bachmann F, Hauert J, Christe MA, Kruithof EKO. Hypofibrinolysis in patients with a history of idiopathic deep vein thrombosis and/or pulmonary embolism. *Thromb Haemost* 1992; 67: 397-401.
118. Ho CH, Jap TS. Fibrinolytic activity in Chinese patients with diabetes or hyperlipidemia in comparison with healthy controls. *Thromb Haemost* 1991; 65: 3-6.
119. Mizuno A, Isobe J, Shima K. Vascular dysfunction detected by a simplified venous occlusion test in NIDDM patients. *Diabet Care* 1993; 16: 1019-21.