

T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM
ANABİLİM DALI
PROF. DR. HÜSNÜ A. KIŞNIŞÇI

**JİNEKOLOJİK TÜMÖRLERDE
AKTİVE PROTEİN C, PROTEİN S DÜZEYLERİ
VE CERRAHİ İLE İLİŞKİSİ**

UZMANLIK TEZİ

DR. JOHN M. OKOYE

ANKARA 1991

25417

T . C
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM
ANABİLİM DALI
PROF. DR. HÜSNÜ A. KİŞNİŞÇİ

JİNEKOLOJİK TÜMORLERDE
AKTİVE PROTEİN C , PROTEİN S DÜZEYLERİ
VE CERRAHİ İLE İLİŞKİSİ

U Z M A N L I K T E Z İ

DR. JOHN M. OKOYE

ANKARA 1991.



3024.93

Ö N S Ö Z

Dört yıllık asistanlık eğitimim sırasında çalışmalarımda kıymetli yardım ve teşviklerini esirgemeyen bölüm başkanımız Prof. Dr. Hüsnü A. Kişnişçi'ye ve tüm değerli hocalarıma ayrıca tezimin hazırlanmasında ıstık tutan, değerli katkılarıyla beni yönlendiren Prof. Dr. Ali Ayhan'a ve büyük yardımlarını gördüğüm Hematoloji danışmanım Prof. Dr. Semra Dünder'a, Hematoloji Baştetnisyeni Şerafettin Kirazlı'ya, Olguların toplanmasında yardımlarını esirgenmeyen bütün asistan arkadaşlarıma teşekkürü borç bilirim.

Dr. John M. Okoye.

Mayıs, 1991.

İ Ç İ N D E K İ L E R İ

	<u>SAYFA NO.</u>
AMAÇ VE GİRİŞ.....	4
GENEL BİLGİLER	5
MATERYAL VE METOD.....	12
BULGULAR.....	20
TARTIŞMA.....	29
SONUÇ.....	32
ÖZET.....	33
KAYNAKLAR.....	34

A M A Ç V E G İ R İ Ş

Jinekolojide malign ve selim tümörler sıklıkla karşılaşılan patolojik antitelerdir.Cerrahi tedavileri, genellikle konservatif ve radikal olarak değişmektedir.

Her cerrahi işlemin nadir de olsa komplikasyonları olabilmektedir.Bu komplikasyonların en önemlilerden biri şüphesiz koagülasyonla yani postoperatif trombozla ilgili olanlardır.Çünkü bunların bir kısım fatal olarak sonuçlanabilmektedir.

Bilinen pıhtılaşma ve pıhtı çözülme mekanizmalarında protein C ve protein S'in kan düzeylerinin rolü olduğu gösterilmiştir.(2, 3,4,10) (şekil 4). Özellikle değerler düştükçe derin ven trombozuna yatkınlığın arttığı bildirilmektedir.(10,19,22,23,45).

Protein C ve protein S düzeylerinin özellikle malign ve selim jinekolojik tümörlerde normale göre dikkati çekecek derecede düştüğü saptanmıştır. Ayrıca cerrahi endotel harabiyetiyle bu protein değerlerinin daha da düşük seviyelerde seyrettiği vurgulanmaktadır.(19,32,39).(şekil 5).

Pratik açıdan, düşüş arttıkça postoperatif tromboemboli riskinin yükseldiği gösterilmektedir.(17,71,72).

Bu özellikler göz önüne alınarak protein C ve protein S'in kandaki miktarları ile venoz tromboz arasında bir ilişki olup olmadığı saptanmak amacıyla iki aşamalı bir araştırma planlandı:

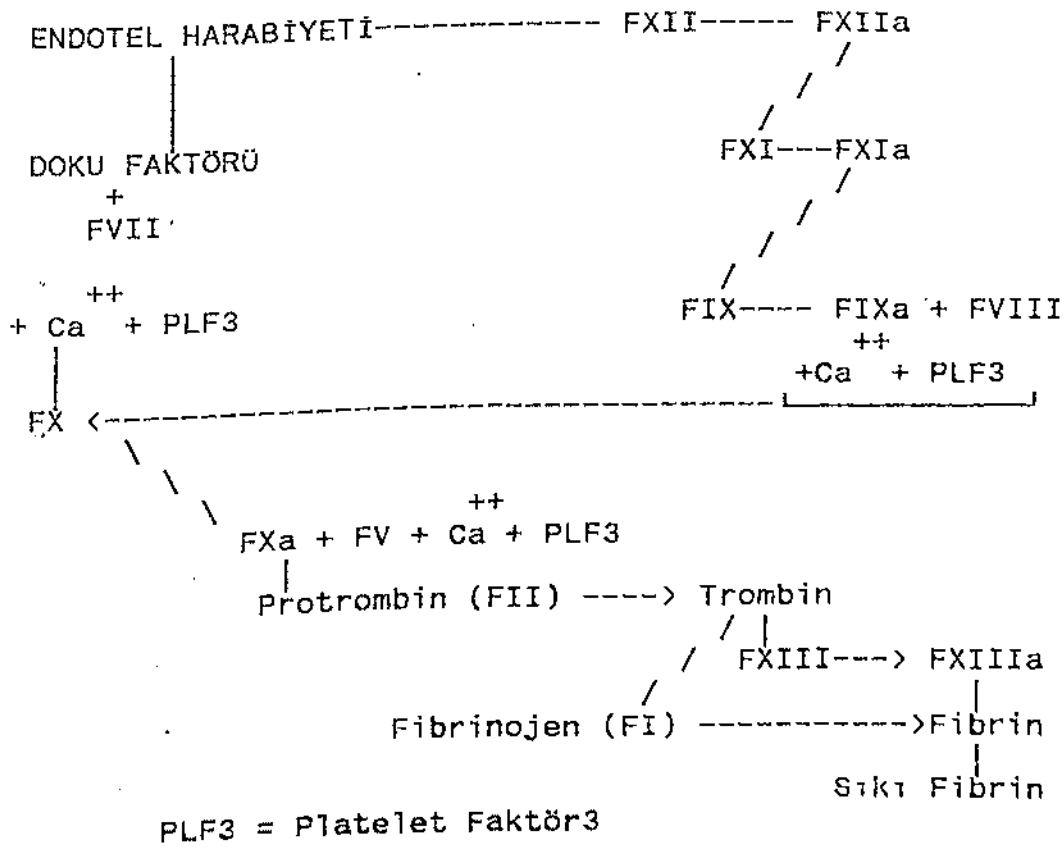
- 1). Bu proteinlerin normal kadınlar, selim ve malign jinekolojik hastalardaki düzeyleri ve cerrahi ile ilişkileri.
- 2). Klinik ve subklinik venoz trombozlu hastalardaki değerlerin durumu. İkinci kısım çalışmaları halen devam ettiğinden bu sunuda sadece çalışmaların birinci kısmı ile ilgili sonuçlar verilecektir.

GENEL BİLGİLER

Bilindiği gibi hemostaz olayının başlangıcında endotel harabiyeti rol alır. Damar bütünlüğünün bozulması sonucu doku faktörü (tF) (doku tromboplastini; faktör III) açığa çıkıp koagülasyon sisteminin ekstresek yolunu aktive eder. Diğer yandan endotel harabiyeti sonucu açığa çıkan kollegen ile temasa geçen faktör XII intrinsek yolu da aktive eder. (7,61,62).

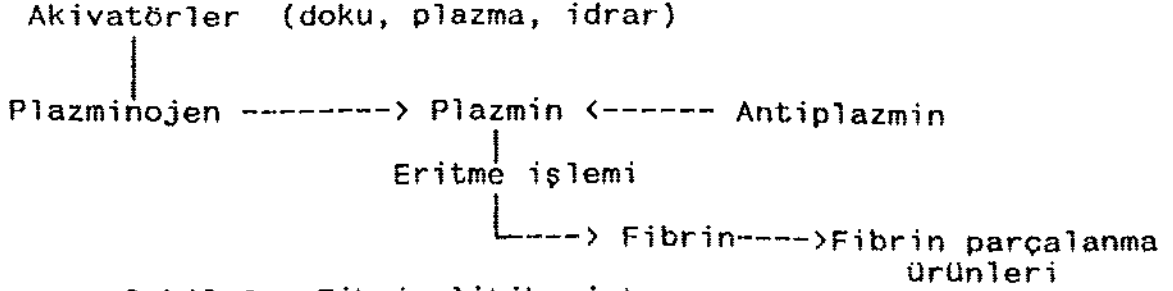
Endotel hücrelerinden sentezlenen Von willebrand faktörünün yardım ile trombositler de subendotelyal yapılara yapışarak oluşan pıhtı içinde yerlerini alırlar.(6,7).

Intrinsek ve ekstresek yolun işleyişi ve pıhtılaşma olayı aşağıda özet olarak sunulmuştur. (şekil 1).



Şekil 1. intrinsek ve ekstresek koagülasyon sistemleri.

Koagulasyon sonucu oluşan fibrini ortadan kaldırmaya yönelik olarak harekete geçen fibrinolitik enzim sisteminin işleyişi aşağıda şematize edilmiştir. (şekil 2.)



Şekil 2.: Fibrinolitik sistem.

Bilindiği gibi pıhtılaşmayı hızlandıran; platelet faktör 1, 2,3,4; diğer yandan α 2-makroglobulin, α 1-antitripsin, Protein C ve Protein S ve antitrombin III de pıhtılaşmayı inhibe eder.

P R O T E İ N C

1960'da Seegers ve arkadaşları, kısmen purifiye protrombini trombinle işleme soktuklarında güçlü bir antikoagulanın oluştuğunu keşfettiler; ve bunu "autoprotrombin II-A" olarak isimlendirdiler. (63).

1967' de Marciniak ve arkadaşları (64) saflaştırdıkları autoprotombin II-A'nin pıhtılaşma zamanını uzattığını gösterdiler. 1976' da Stenflo plazmadaki vitamin-K bağımlı proteinleri karakterize ederken izole ettikleri yeni bir proteini, iyon exchange kromatografi kolonundaki pozisyonundan dolayı "Protein C" olarak isimlendirdi.(64).

Seegers ve arkadaşları protein C'nin daha önce bulunan autoprotrombin II-A ile aynı molekül olduğunu gösterdiler.(31,33). Kısa süre içinde iki araştırmacı grubu (34,35) Protein C'nin antikoagulan etkisini, bir endotel hücre glikoproteini olan

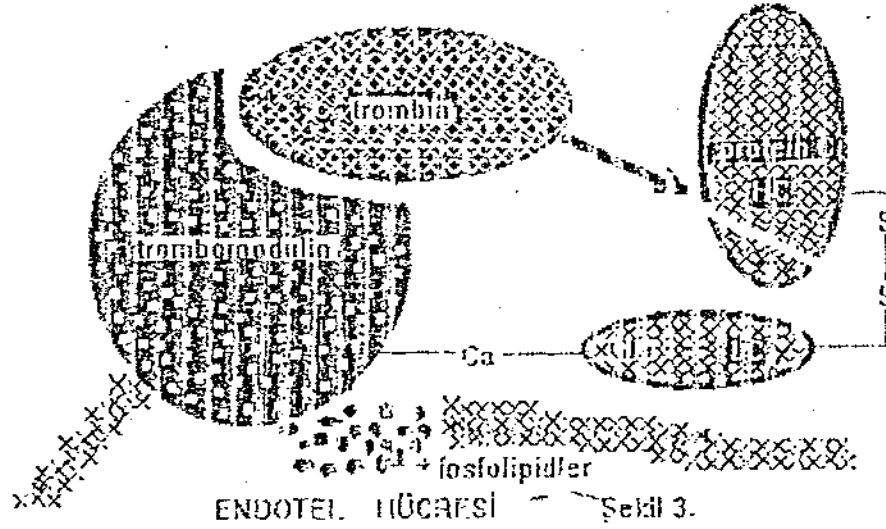
trombomodulin ile kompleks oluşturan trombin tarafından aktive edildiğinde faktör Va ve VIIla' yı inaktive ederek gösterdiğini belirlediler. Diğer vitamin-K bağımlı proteinlerde olduğu gibi serbest kalsiyum (Ca^{2++}) ve fosfolipidlerin protein C aktivasyon ve fonksiyonunda önemli bir rol oynadığı gösterildi.(10,37). (şekil 3.)(38,39).

62,000 dalton moleküler ağırlıkta bir protein olan protein C, Karaciğerde 42 amino asitlik tek zincirli bir pre-pro protein olarak sentezlenir. Bu öncü protein karaciğerde geniş bir ko- ve post translasyonel modifikasyona uğrarak çift zincirli olgun plazma proteinini oluşturur. Yarı ömrü 6-8 saat olan protein C'nin plazma değeri 4-5µg/ml'dir. Normal sağlıklı insanda protein C'nin plazma düzeyi normalin %65 ile %140'ı arasında değişip, 30 yaşından sonra her 10 yılda ortalama olarak %4 artış gösterir. (4,36).

Protein C'nin koagülasyonda oynadığı rol aşağıdaki şemada özetlenmiştir.(şekil 4.)(4,39).

PROTEİN S

1980 Yılında Seattle'da izole edilen protein S (S=Seattle) hepatositler, endotel hücreleri, ve megakaryoitlerde sentezlenen vitamin-K'a bağımlı bir proteindir.(36,38,50,65-67). 41 amino asitlik tek zincirli protein S'in aktiflenmesi için post-translasyonel bir modifikasyon gerekmez. İnsanda protein S'in moleküler ağırlığı 70,690 dalton'dur. Faktör Va ve VIIla'nın inaktivasyonunda aktive protein C'nin ko-faktörü olarak rol oynayan protein S'in yarı ömrü 2 gündür. Normalde plazma

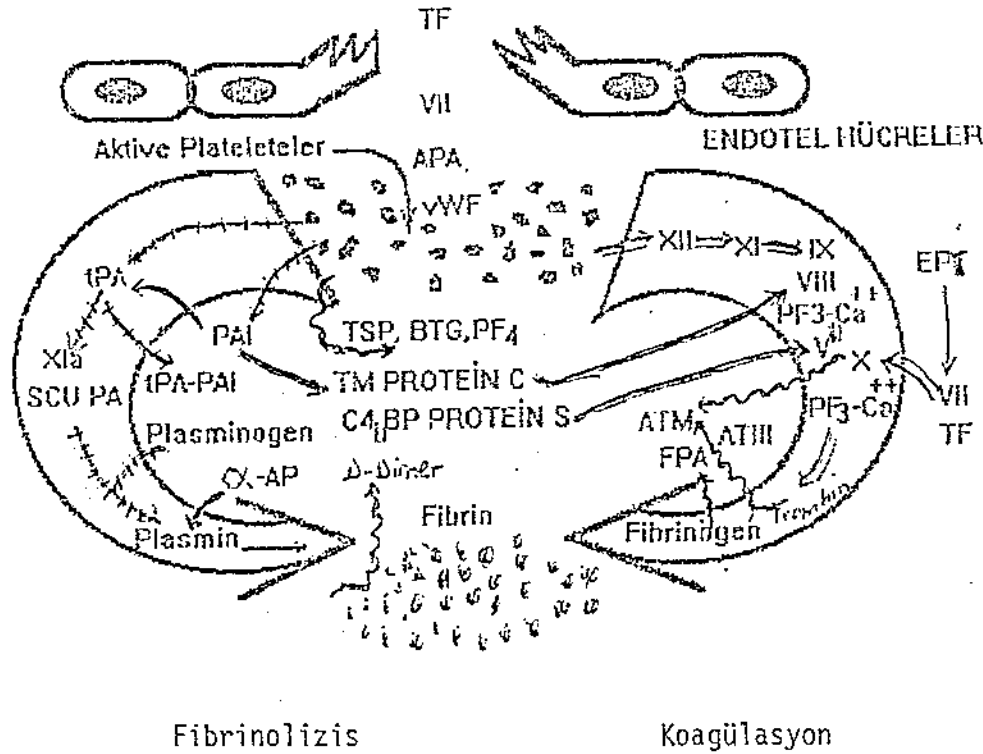


Şekil 3.

Endotelial hücre yüzeyinde protein C aktivasyon.

Protein C'nin ağır zincirinin parçalanması trombin ve trombomodulin(TM) arasında oluşturulan kompleks katalizlerin TM endotelial hücre yüzeyindeki fosfolipidlerle etkileşir. Bu etkileşimi PC taşıyıcı kısımla, TM ve PC hafif zincirinin Gla kısmının Ca^{2+} ya bağımlı etkileşiminin bir araya gelmesiyle sonuçlanır.

KOAGULASYON VE FİBRİNOLİSİS



alfa2-AP=Alpha2-Antiplasmin
 APA=Antifosfolipid antikörler
 AT 111=Antitrombin 111
 ATM=Antitrombin (modifiye)
 Beta-TG=Beta-Tromboglobulin
 C4bBP=C4b-binding protein
 EPI=Ekstremsk pathway inhibitor
 FPA=Fibrinopeptid-A
 PAI=Plasminogen Aktivatorler inhibitorler
 tPA-PAI=tPA-PAI kompleks
 TSP=Trombospondin
 vWF=Von willebrand faktor
 PF3=Platelet faktor 3
 PF4=Platelet faktor 4
 Scu-PA=Single chain urokinase type plasminogen aktivator
 TF=Tissue faktor
 TM=Trombomodulin
 tPA=Tissue Plasminogen aktivator

Inhibitor $\Rightarrow$

Aktivasyon markers $\Rightarrow$

Fibrinolysis pathway $\Rightarrow$

Procoagulant $\Rightarrow$

Şekil 4.

konsantrasyonu 35µg/ml.'dir.Sağlıklı insanda protein S'nin plazma düzeyi %65 normalinile %140'ı arasında değişir. (68). PS'nin koagülasyonda oynadığı rol aşağıdaki şemada özetlenmiştir. (şekil 4).

Tromboz ve karsinoma arasındaki ilişki ilk olarak 1865'de Trousseau ve arkadaşları tarafından belirlenmiştir.(9). Özellikle terminal dönemdeki hastalarda tromboembolik olayların sıklığı bilinmektedir.(5,8,15).

Kanserli hastalarda tromboz oluşumda bazı faktörler rol oynamaktadır:

- 1] Özellikle inferior vena cava ve iliak venlere yakın yerleşim gösteren tümörler (örneğin urogenital ve retroperitoneal tümörler-lenfoma) lokal venöz bası yaratırlar.
- 2] Cerrahi travmaya veya tümör invazyonuna bağlı endotel hücre harabiyeti koagülasyon sistemini aktive eder.
- 3] Tümör hücrelerinden salınan çeşitli doku faktörü benzeri aktivatörler (CPA=canser pro-coagulant-A) faktör VII'e bağımlı olarak ya da direkt olarak faktör X'u aktive ederler. Bu aktivatörler lösemili hastalardan ve çeşitli solid tümörlerden ekstrakte edilmiştir.(17,18,28).
- 4] Kanserli hastalarda tromboz eğilimini artıran faktörler arasında bazı sitostatik ilaçların prokoagulan aktivitesi, hastaların immobilizasyonu ve protein C, S ve antitrombin III seviyelerinde kemoterapiye bağlı muhtemel azalma rol oynar. (13,14). Kanserli hastalarda fibrinojen, V, VII, IX ve X faktörlerinin düzeylerinin yüksek olduğu bildirilmiştir.

Yukarıda bahsedilen nedenlerle artan tromboz riskinin fizyolojik mekanizmalar ile dengelenmeye çalışılmasının invivo antikoagulan etkiye sahip aktive protein C ve co-faktörü protein S seviyelerinde azalmaya neden olması beklenmektedir.

M A T E R Y A L V E M E T O D

Bu çalışma Kasım 1989 ile Aralık 1990 tarihleri arasında, Hacettepe Üniversitesi Kadın Hastalıklar ve Doğum Anabilim Dalında 99 vakada uygulandı.

Çalışma kapsamına alınan 99 vaka üç gruba ayrılarak prospektif olarak incelendi. Hastaların ortalama yaşı 49.5 (25-87) idi.

Birinci gruptaki 33 hasta jinekolojik malign tümörler nedeni ile cerrahi tedavi gördü. Hastaların ortalama yaşı 53 (26-87) idi. Hastaların tümör tiplerine ve uygulanan cerrahi girişimlere göre dağılımı tablo 1'de belirtildi.

Tablo:I Malign jinekolojik patolojisi olan hastalar.

MALİGN TÜMÖRLER	HASTA SAYISI	CERRAHİ GİRİŞİM
OVER	10	TAH + BSO + PA-BPLND+
ENDOMETRİUM	10	OMT + APP. TİP II Histerektomi+BSO+ +PA-BPLND+APP.
SERVİKS	10	TİP III Histerektomi+BSO +PALND +BPLND+ APP.
VULVA	3	Radikal Vulvektomi+BPLND +BSİLND + BDİLND
TOPLAM =	33	

TAH = Total Abdominal Histerektomi

BSO = Bilateral Salpingo Oforektomi

PA-BPLND = Para-aortik/Bilateral Pelvik Lenf Noduler Disseksiyon

OMT = Omentektomi

APP = Appendektomi

BSİLND = Bilateral Superfisiyal İnguinal Lenf Noduler Disseksiyon

BDİLND = Bilateral Derin İnguinal Lenf Noduler Disseksiyon

VH = Vaginal Histerektomi

ÖAO = Ön Arka Onarım

Selim jinekolojik patolojiler nedeniyle cerrahi tedavi gören 33 hasta ikinci grubu oluşturdu. Bu gruptaki ortalama yaş 45 (25-69) idi. Hastaların selim patoloji tiplerine ve uygulanan cerrahi girişimlere göre dağılımı tablo II'de sunuldu.

Tablo=II Selim jinekolojik patolojisi olan hastalar.

SELİM TÜMÖRLER	HASTA SAYISI	CERRAHİ GİRİŞİM
Myoma uteri	18*	TAH+BSO
Endometrial Hiperplazi	4	TAH+BSO
Over kisti	2	Kistektomi
Pelvik relaksasyon	9	VH +BSO+ÖAO
Toplam =	33	

* = Myomektomi (1)

Üçüncü grubu oluşturan 33 sağlıklı kadın kontrol olarak kullanıldı. Bu grupta ortalama yaş 51 (30-55) idi.

Araştırma kapsamına alınan hastaların hiçbirinde koagulasyon mekanizmasını etkileyecek risk faktörü (sigara,oral kontraseptif, antikoagulan ve ilaç kullanım, metabolik ve organik bozukluk, trombotik olay öyküsü) olmadığı öykü,fizik muayene ve laboratuvar bulgularla teyid edildi..Araştırma kapsamına alınan hastaların tümüne gerekli bilgi verildi.

Tüm hastalardan venöz kan örnekler ameliyat öncesi ve ameliyat sonrası birinci ve yedinci günlerde alındı. Kontrol grubundaki kadınlardan sadece bir kez kan örneği alındı. Her seferinde, 20 dakika istirahat eden hastalardan alınan 5cc venöz kan 0.5cc %3.8 Na Citrate ile antikoagule edilip 3000 devirde 10 dakika süre ile santrifuj edilerek plazması ayrıldı. Ayrılan plazmalar çalışma öncesi tekrar çözülünceye kadar -30°C 'de

bekletildi.

Aktive protein C seviyeleri " Rapid Clotting Assay of Protein C, functional activity " STACLOT PROTEIN C (Cat. no.0445, Diagnostica Stago, FRANCE) yöntemi ile ölçüldü.

Protein C Agkistrodon Contortrix zehirden elde edilen spesifik bir aktivatörün varlığında aktive olur. Bu aktive protein C, ölçülecek protein C dışındaki tüm gerekli faktörleri içeren bir sistemde - faktor V ve VIII'ye bağlanarak - aktive parsiyel tromboplastin zamanının (aPTT) uzatır.

T E S T İ N U Y G U L A M A S I :

100'er mikrolitre Owren buffer solusyonu, protein C içermeyen standart plazma, platelet faktor 3 (PLF3) ekivalanı (taze donmuş cephalin ve özellikle protein C ölçümü için seçilmiş silis tipinde bir aktivator partikül) ve protein C aktivatoru içinde 1/10 oranında dilue edilen hasta plazması 37°C, 180 saniye inkube edilir. 37°C'de 100µl, kalsiyum kloride (0.025M) karışıma eklenir ve meydana gelen pıhtılaşmanın süresi belirlenir.

Kontrol amacıyla sağlıklı insanlardan elde edilen plazmanın Owren buffer solusyon içindeki 1/10, 1/20, 1/40 ve 1/80'lik dilusyonları kullanılır. Testin tanımlanması itibarı ile

1/10	dilasyon	%100 Aktiviteye
1/20	"	% 50 "
1/40	"	% 25 "
1/80	"	%12.5 " tekabül eder.

Kontrol plazmalar kullanılarak elde edilen sonuçlar - (% olarak aktivite horizontal eksen üzerinde , pıhtılaşma süresi vertikal eksen üzerinde olacak şekilde) bir bilogaritmik grafik kağıdı

üzerinde işaretlenerek elde edilen eğriden incelenen hasta plazmasındaki protein C aktivitesi saptanır. (şekil. 5).

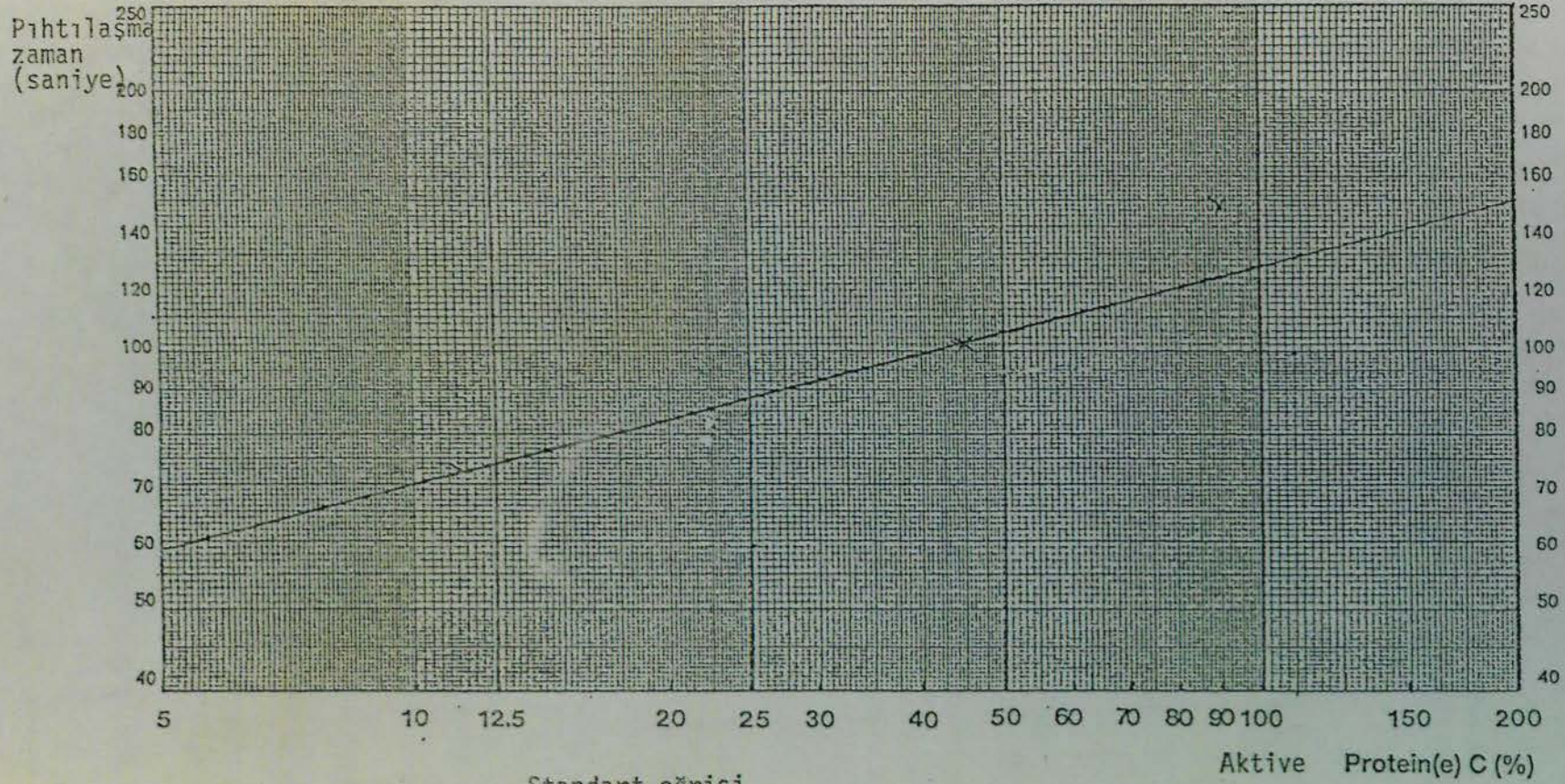
Protein S seviyeleri enzyme immunoassay yöntem ile ölçüldü. (Asserachrom Protein S, Cat. no. 0429; Diagnostica Stago, FRANCE).

Protein S ölçümü amacı ile tavşandan elde edilen antiprotein S antikordan yararlanılır. Hasta plazmasında ölçülerek istenen Protein S bu antikor ile karşılaştırıldığında bir antigenik determinant ile bu antikora bağlanır.

Bu karşım üzerine eklenen anti-protein S, antikor peroksidaz enzim kompleksi protein S'in açıkta kalan determinanlarına bağlanarak bir sandviç oluşturur.

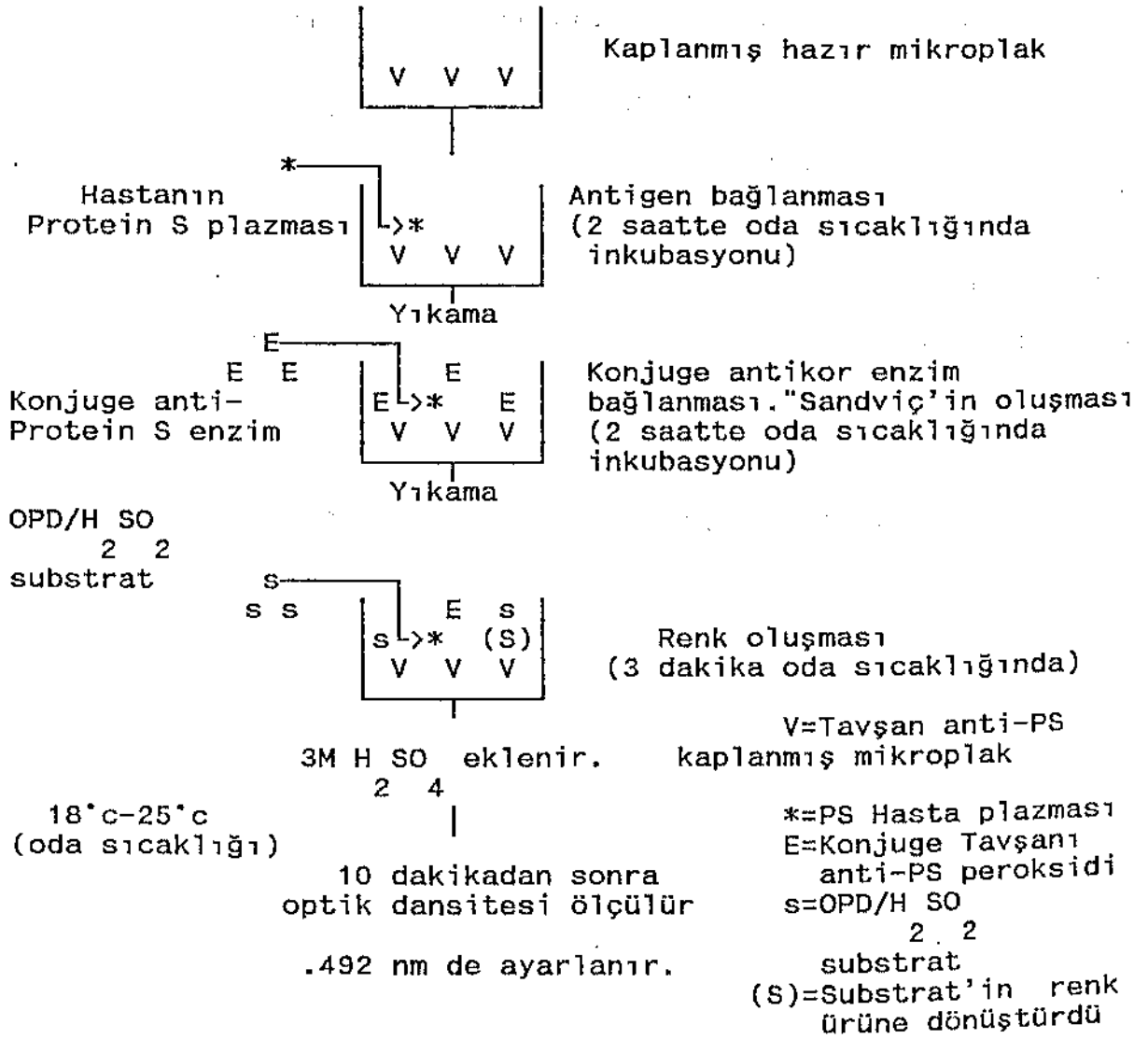
Sandviç oluşumuna katılan peroksidaz enzim, Hidrogen peroksid H_2O_2 varlığında substrat olan OPD (Orto-phenylenediamine)

üzerindeki renk değiştirici etki eder. Oluşan renk değişikliği ölçülmek istenilen Protein S konsantrasyonun direk bir göstergesidir.(aşağıdaki şemada özetlemiştir).



Şekil 5

ASSERACHROM PROTEIN S ŞEMASI



TESTİN UYGULANMASI

Yukarıda bahsedilen enzimatik assay yönteminde kullanılarak sandviç'in oluşturulmasında tavşandan elde edilen spesifik anti-protein S antikorları ile kaplanmış hazır mikroplaklardan yararlanılır. Bu tüpler içinde oda sıcaklığında 2 saat süre ile inkube edilen 200 mikrolitre plazma supernatant üzerine 200 mikrolitre anti-protein S antikor peroksidaz enzim kompleksi eklenir. 2 saatlik bir inkubasyon süresinden sonra yıkama solusyon ile 5 kez yıkanır. 200 mikrolitre OPD/H O₂ substrat eklenir. 3 dakika beklendikten sonra 50 mikrolitre 3M

H₂SO₄ ile reaksiyon durdurulur. Meydana gelen renk

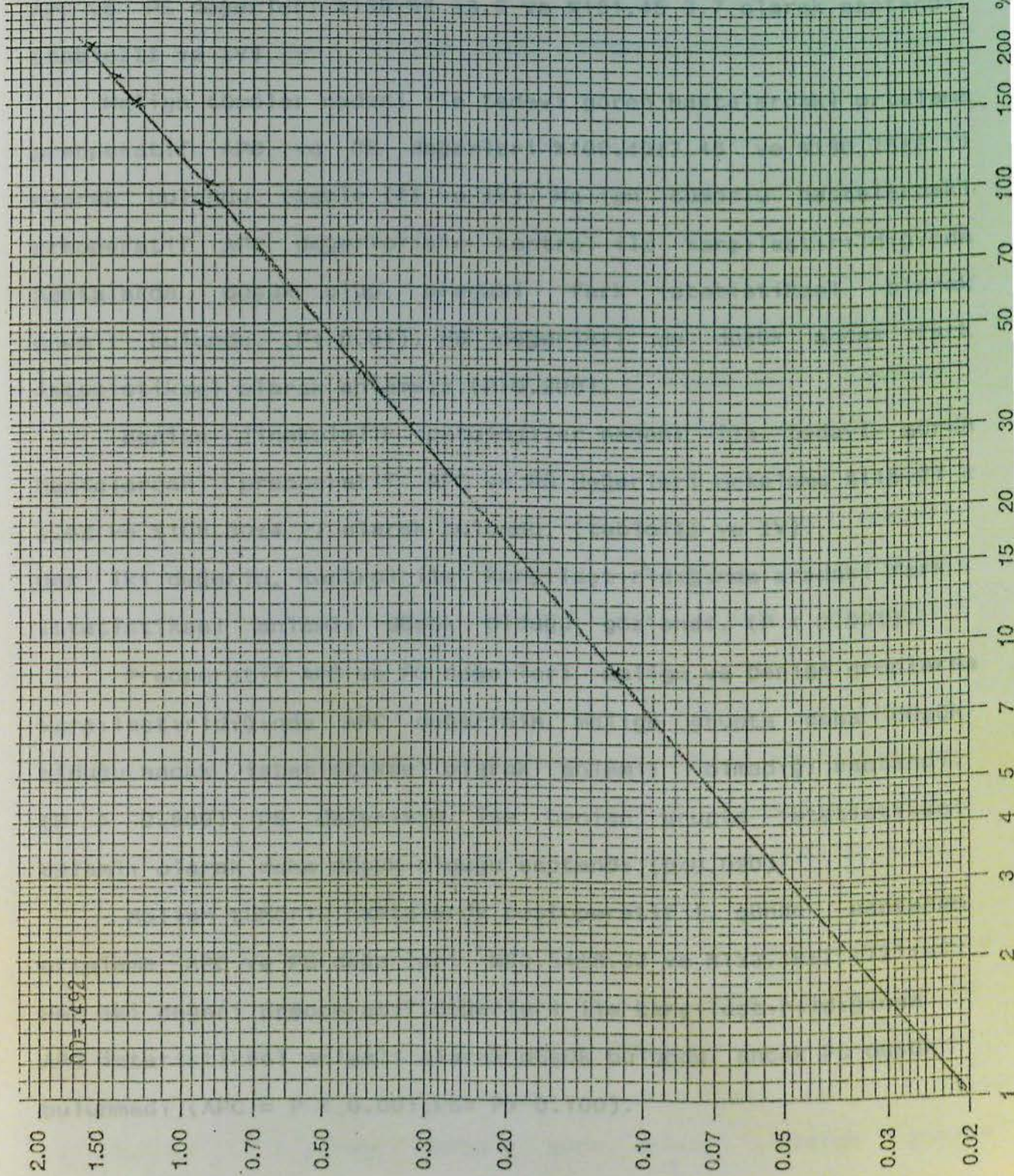
değişikliği, oda sıcaklığında 10 dakika aradan sonra .492 nm'de spektrofometrik olarak ölçülerek optik dansitesi saptanır.

Protein S değerleri horizontal eksen üzerinde optik dansite vertikal eksen üzerinde olacak şekilde logaritmik kağıda çizilen eğri kullanılarak incelenen hasta plazmasındaki protein S değeri belirlenir.(şekil 6).

Sonuçların istatistiksel değerlendirilmesinde Hacettepe Üniversitesi Bilgi işlem merkezinde, student's T-test kullanıldı. P<0.05 anlamlı değeri olarak kullanıldı.

BULGULAR

Kontrol grubu olarak kullanılan 33 sağlıklı vakada ortalama



B U L G U L A R

Kontrol grubu olarak kullanılan 33 sağlıklı vakada ortalama APC ve PS değerleri $\%136.52 \pm 3.6$ ve $\%131.45 \pm 3.7$ olarak saptandı. (tabloIII ve IV).

Malign tümöler nedeni ile tedavi gören hastalardaki ortalama preoperatif APC ve PS değerleri $\%109.40 \pm 7.46$ ve $\%130.75 \pm 8.11$ olarak bulundu. (tablo III ve IV). Malign tümörlü hastalardaki preoperatif APC değerlerinin kontrol ile karşılaştırıldığında hastalarda düşük olup, aradaki fark istatistiksel olarak önemli bulundu. ($P < 0.01$). PS değerleri de düşük ancak fark istatistiksel olarak anlamsız. ($P > 0.200$).

Benign jinekolojik patolojiler nedeni ile tedavi gören hastalardaki preoperatif APC ve PS değerleri ortalama $\%115.27 \pm 4.62$ ve $\%108.30 \pm 4.27$ olarak bulundu. (tabloIII ve IV). Her iki değer, kontrol ile karşılaştırıldığında aradaki fark istatistiksel anlamlı düşük olduğu gözlemlendi. ($P < 0.001$).

Preoperatif APC ve PS değerleri malign ve benign gruplarda karşılaştırıldığında APC değerinin malign grupta daha düşük olduğu ancak istatistiksel olarak anlamlı olmadığı saptandı. ($P > 0.500$). PS değerinin ise benign grupta istatistiksel anlamlı olarak daha düşük olduğu saptandı. ($p < 0.020$).

Malign tümörlü hastalarda postoperatif 1. günde saptanan ortalama APC ve PS değerleri $\%63.54 \pm 8.32$ ve $\%133.18 \pm 7.172$ ' idi. Her iki değeri preoperatif değerleri ile karşılaştırıldığında APC istatistiksel anlamlı olarak düşük bulundu, ancak PS düşük bulunmadı (APC = $P < 0.001$; PS = $P > 0.100$).

Benign patolojisi olan hastalarda postoperatif 1.gündeki APC ve PS değerleri ortalama $\%82.81 \pm 7.67$ ve $\%92.00 \pm 5.62$ olarak saptandı. Preoperatif değerler ile karşılaştırıldığında her iki değer in istatistiksel olarak düşük olduğu saptandı. ($P < 0.001$; $P < 0.001$).

Malign tümörü ve benign patolojisi olan hastalardaki postoperatif 1.gündeki APC ve PS değerleri birbirleri ile karşılaştırıldığında sadece PS değeri benign patolojisi olan hastalarda istatistiksel olarak anlamlı düşük bulundu. ($P < 0.050$)

Malign tümürlü hastalarda postoperatif 7.gündeki APC değeri ortalama $\%78.40 \pm 8.31$ olarak bulundu. Postoperatif 7.gündeki APC değeri kontrol grubu ve preoperatif dönemdeki değerleri ile karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı olarak düşük bulundu. ($P < 0.001$; $P < 0.01$). Postoperatif 1.gündeki değeri ile karşılaştırıldığında postoperatif 7.gündeki APC değerinin yükseldiği görüldü ancak istatistiksel olarak anlamlılık belirlenmedi. ($P > 0.200$).

Aynı grup hastalarda postoperatif 7.gündeki ortalama PS değeri $\%118.78 \pm 6.68$ olarak saptandı. Bu değeri kontrol grubu, preoperatif ve postoperatif 1. gündeki değerler ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı değildi. ($p > 0.100$; $p > 0.200$; $p > 0.500$).

Jinekolojik benign patolojisi nedeni ile cerrahi tedavi gören hastalar postoperatif 7.gündeki ortalama APC değeri $\%115.81 \pm 5.48$ olarak belirlendi. Bu değer kendi içinde karşılaştırıldığında kontrol grubuna göre istatistiksel olarak düşük ($P < 0.01$); postoperatif 1.gündeki değere göre anlamlı olarak yüksek ($P < 0.001$), ve preoperatif döneme göre anlamsız bulundu.

Aynı grup hastalarda postoperatif 7.gündeki ortalama PS değeri 114.39 ± 2.56 'dir. Bu değerin kontrol grubu ve ortalama değere göre istatistiksel anlamlı ($P < 0.001$) olarak düşük , postoperatif 1.güne göre ise yüksek olduğu saptandı. ($P < 0.001$). Preoperatif değere istatistiksel anlamlı fark bulunmadı. ($P > 0.200$).

Malign tümörü ve benign patolojisi olan hastalardaki postoperatif 7.gündeki APC ve PS değerleri birbirleri ile karşılaştırıldığında sadece APC değerinin malign tümörlü hastalarda benign tümörlü hastalardakinden istatistiksel olarak düşük olduğu belirlendi, ($P < 0.010$).

APC = Aktive Protein C
PS = Protein S
(K) = Kontrol vakalar
(M) = Malign vakalar
(B) = Benign vakalar
(0) = Preoperatif Malign
(1) = Postoperatif 1.gün
(7) = Postoperatif 7.gün

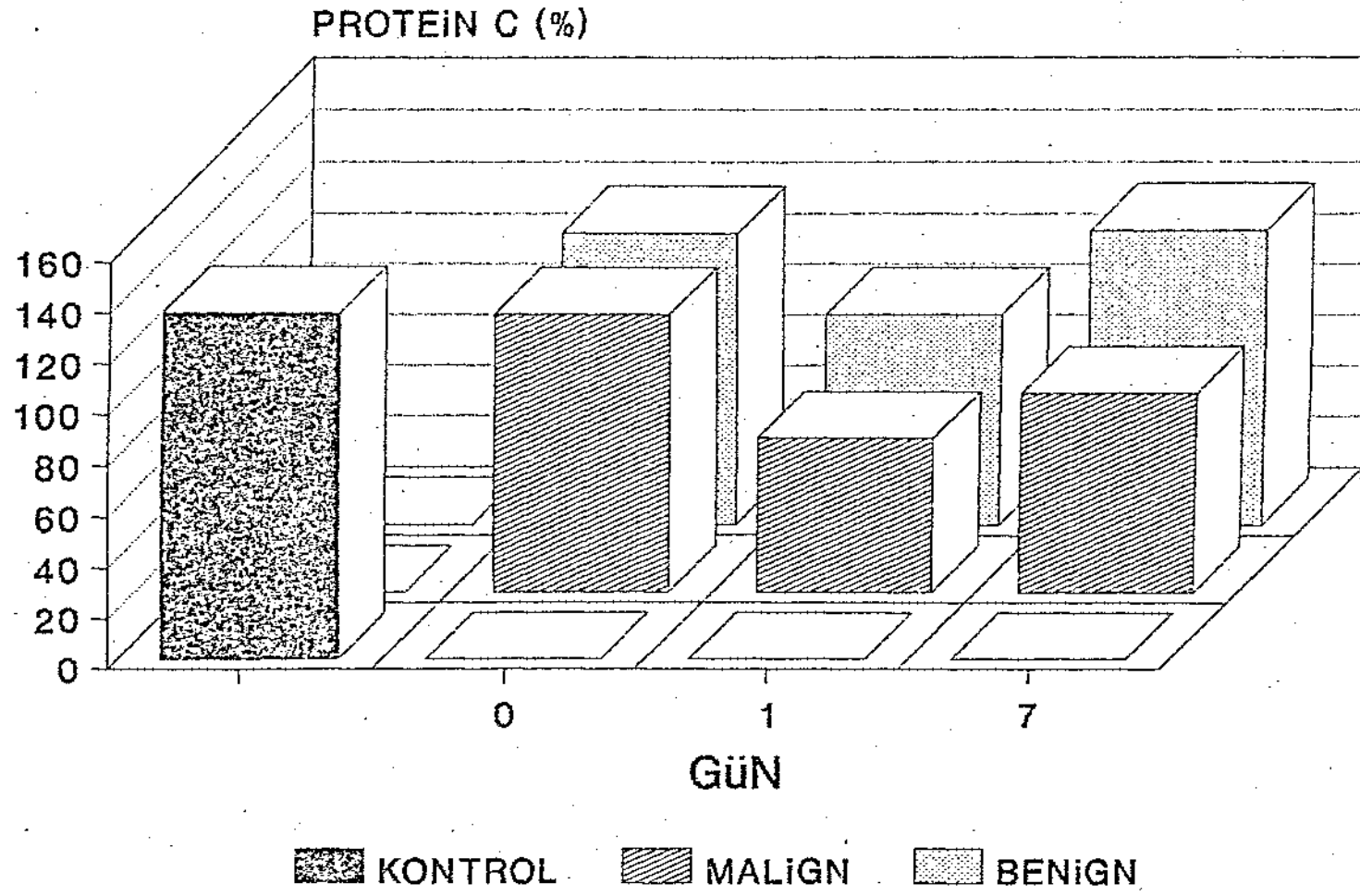
Aktive Protein C değerleri için üç grup arasında yapılan varyans analizinde:

Tablo:III

	<u>Ortalama (%)</u>	<u>Standart sapma</u>	<u>Standart hata</u>
1) APC(K)	136.52	20.80	3.62
2) APC(M0)	109.40	42.87	7.46
3) APC(M1)	63.54	47.81	8.32
4) APC(M7)	78.40	47.74	8.31
5) APC(B0)	115.27	26.54	4.62
6) APC(B1)	82.81	44.07	7.67
7) APC(B7)	115.81	31.53	5.48

Student's t-Testi sonuçları:

- 1). APC(K) ve APC(M0) = $P < 0.01$ (nemli)
- 2). APC(K) ve APC(B7) = $P < 0.01$ (nemli)
- 3). APC(K) ve APC(M1) = $P < 0.001$ (nemli)
- 4). APC(K) ve APC(M7) = $P < 0.001$ (nemli)
- 5). APC(K) ve APC(B0) = $P < 0.001$ (nemli)
- 6). APC(K) ve APC(B1) = $P < 0.001$ (nemli)
- 7). APC(M0) ve APC(M1) = $P < 0.001$ (nemli)
- 8). APC(M0) ve APC(M7) = $P < 0.01$ (nemli)
- 9). APC(M0) ve APC(B0) = $P > 0.500$ (nemsiz)
- 10). APC(M1) ve APC(M7) = $P > 0.200$ (nemsiz)
- 11). APC(B0) ve APC(B1) = $P < 0.001$ (nemli)
- 12). APC(B0) ve APC(B7) = $P > 0.500$ (nemsiz)
- 13). APC(B1) ve APC(B7) = $P < 0.01$ (nemli)
- 14). APC(M1) ve APC(B1) = $P > 0.050$ (nemsiz)
- 15). APC(M7) ve APC(B7) = $P < 0.010$ (nemli)



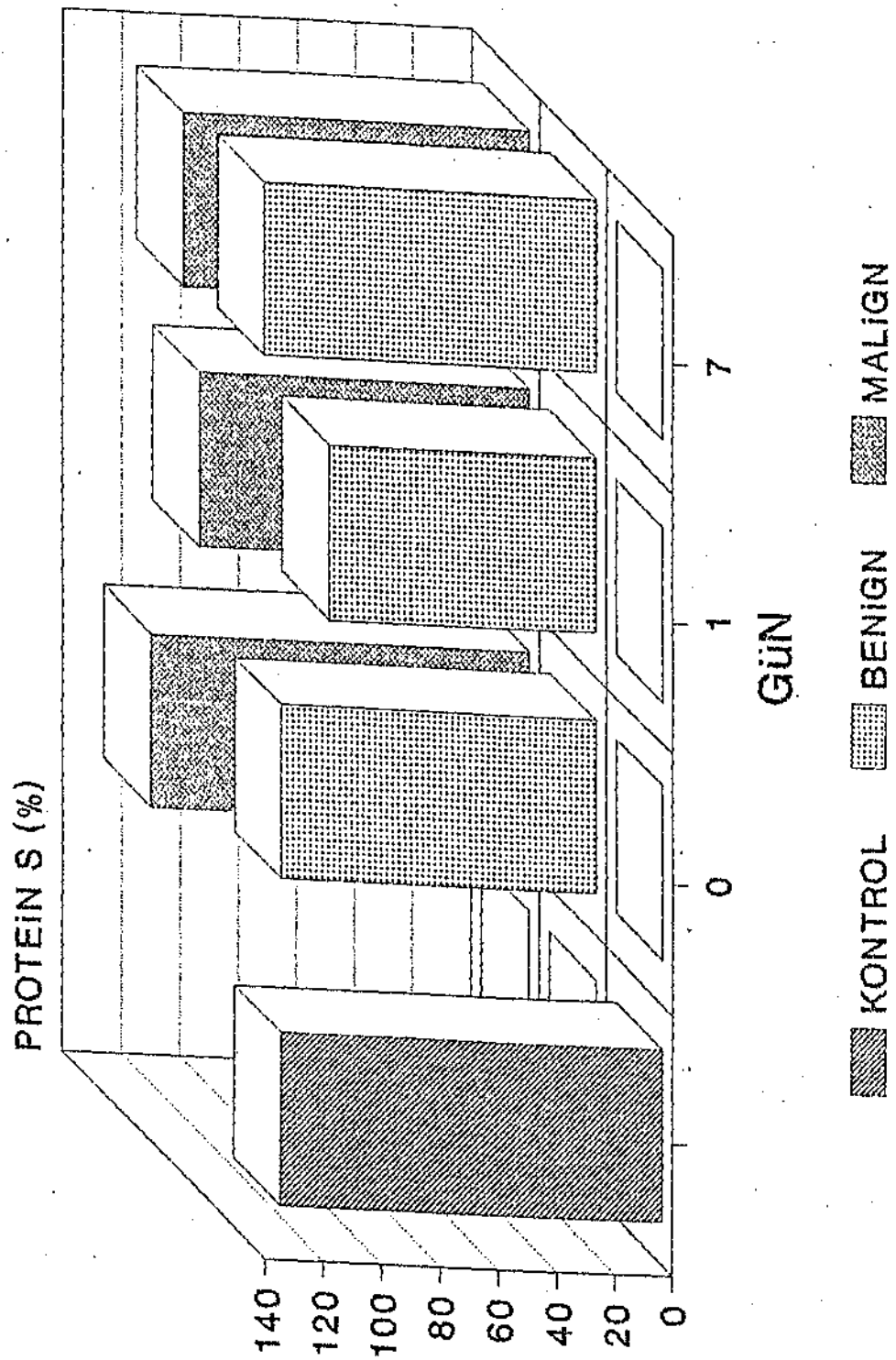
Protein S değerleri için üç grup arasında yapılan varyans analizinde :

Tablo:1V

	<u>Ortalama (%)</u>	<u>Standart sapma</u>	<u>Standart hata</u>
1) PS(K)	131.45	21.17	3.68
2) PS(M0)	130.75	46.60	8.11
3) PS(M1)	113.18	41.18	7.17
4) PS(M7)	118.78	38.40	6.68
5) PS(B0)	108.30	24.57	4.27
6) PS(B1)	92.00	32.30	5.62
7) PS(B7)	114.39	14.72	2.56

Student's t-Testi sonuçları

- 1). PS(K) ve PS(M1) = $P < 0.05$ (Önemli)
- 2). PS(K) ve PS(B0) = $P < 0.001$ (Önemli)
- 3). PS(K) ve PS(B1) = $P < 0.001$ (Önemli)
- 4). PS(K) ve PS(B7) = $P < 0.001$ (Önemli)
- 5). PS(K) ve PS(M0) = $P > 0.200$ (Önemsiz)
- 6). PS(K) ve PS(M7) = $P > 0.100$ (Önemsiz)
- 7). PS(M0) ve PS(M1) = $P > 0.100$ (Önemsiz)
- 8). PS(M0) ve PS(M7) = $P > 0.200$ (Önemsiz)
- 9). PS(M0) ve PS(B0) = $P < 0.020$ (Önemli)
- 10). PS(M1) ve PS(M7) = $P > 0.500$ (Önemsiz)
- 11). PS(B0) ve PS(B1) = $P < 0.001$ (Önemli)
- 12). PS(B0) ve PS(B7) = $P > 0.200$ (Önemsiz)
- 13). PS(B1) ve PS(B7) = $P < 0.001$ (Önemli)
- 14). PS(M1) ve PS(B1) = $P < 0.050$ (Önemli)
- 15). PS(M7) ve PS(B7) = $P > 0.500$ (Önemsiz)



Tablo:V Jinekolojik malign, Benign tümörler ve kontrol gruptaki APC değerleri.

Vaka no.	APC(K)	APC(M0)	APC(MI)	APC(M7)	APC(BO)	APC(BI)	APC(B7)
1-	140	150	130	130	140	140	140
2-	150	140	50	120	140	35	140
3-	125	110	47.5	90	140	140	130
4-	150	150	150	150	100	140	130
5-	125	120	68	80	120	100	130
6-	100	110	35	5	140	110	120
7-	150	160	100	130	120	120	130
8-	100	110	40	120	120	100	110
9-	140	90	5	17.5	120	50	140
10-	140	25	17.5	17.5	130	40	120
11-	100	45	12.5	75	130	100	120
12-	150	140	140	78	120	100	120
13-	150	140	25	100	110	80	100
14-	150	90	12.5	37.5	110	35	140
15-	140	40	15	7	120	55	120
16-	125	100	8	120	120	80	130
17-	125	120	140	100	14	20	130
18-	150	15	7	37.5	110	45	140
19-	110	110	140	100	140	100	110
20-	140	130	130	140	110	55	120
21-	140	140	130	140	120	140	120
22-	130	140	64	10	100	78	120
23-	150	150	75	75	120	110	120
24-	150	110	55	50	140	140	120
25-	100	45	35	27.5	140	140	120
26-	110	78	50	50	140	8	140
27-	120	140	45	35	120	45	110
28-	182	140	30	10	100	140	140
29-	173	12.5	10	35	120	140	140
30-	140	140	50	100	65	65	95
31-	140	140	30	140	100	40	30
32-	170	140	90	130	125	35	40
33-	140	140	60	130	60	7	7

Tablo:V1 Jinekolojik malign ve benign tümörler ve kontrol gruptaki PS değerleri.

Vaka no.	PS(K)	PS(MO)	PS(MI)	PS(M7)	PS(BO)	PS(BI)	PS(B7)
1-	138	200	150	170	100	100	120
2-	140	200	150	140	100	95	110
3-	100	120	120	100	110	100	100
4-	100	200	140	140	120	100	110
5-	140	90	40	55	100	78	95
6-	110	200	150	160	110	150	120
7-	150	200	35	110	110	100	120
8-	130	200	200	80	100	55	95
9-	150	200	100	200	100	95	110
10-	100	200	150	150	100	110	100
11-	150	80	170	140	100	95	110
12-	110	150	170	140	110	100	100
13-	120	140	75	150	100	80	110
14-	100	100	65	95	100	95	110
15-	110	50	100	110	100	55	120
16-	150	100	95	55	100	80	100
17-	110	100	100	140	14	100	120
18-	170	51	65	100	110	45	100
19-	110	100	80	95	110	100	140
20-	140	170	110	130	140	55	100
21-	170	160	160	170	120	85	100
22-	150	100	95	150	110	120	100
23-	140	120	120	110	100	85	120
24-	130	150	140	120	140	140	140
25-	130	90	170	100	100	140	130
26-	120	120	100	95	100	8	120
27-	110	80	95	90	100	110	140
28-	170	80	40	10	110	60	95
29-	125	110	110	120	110	140	140
30-	150	100	95	100	120	90	130
31-	140	110	150	140	150	150	120
32-	125	110	100	160	180	40	140
33-	150	100	95	95	100	80	110

T A R T I Ş M A

Jinekolojik patolojilerde özellikle kitlelerin basısına bağlı venöz staz ve uygulanan cerrahi girişim sonucu endotel harabiyeti ile hiperkoagulabilite arasındaki ilişki güncelliğini sürdürmektedir.(19,29,30,69,71).

Koagulasyon sisteminin fizyolojik inhibitörleri olan aktive protein C ve ko-faktörü protein S'in doğuştan veya sonradan eksikliğinin hiperkoagulabiliteye yol açtığı bilinmektedir. (21-24,32,44,54,56-60).

Bu sunuda, ameliyat öncesi dönemde APC seviyeleri gerek malign gerekse benign jinekolojik patolojili hastalarda kontrole göre istatistiksel anlamlı düşük olduğu saptandı. ($p < 0.01$; $p < 0.001$). Aktive protein C seviyelerinin malign vakaların %18.10' ında, benignlerin ise %9.01'inde bulundu. Literatürde ameliyat öncesi protein C seviyesinin malign vakalarda %3-30 arasında düştüğü ancak benign vakalarda normal sınırlarda kaldığı saptanmıştır.(17,19,32,72). Bu düşüşte, tümör kitlelerin basısına bağlı venöz stazın,muhtemel subklinik dissemine bir intravaskular koagulasyonun ve özellikle malignansilerde "cancer prokoagulant-A" ların rolü olduğunu düşünülmektedir.

Ameliyat öncesi protein S değeri benign gruplarda kontrole göre istatistiksel olarak düşük ancak malign gruplarda ise değildir. ($p < 0.001$; $p > 0.200$). Toplumda PS azlığı, diğer koagulasyon inhibitörleri düşüklüklerine göre en sık olanıdır, ancak klinikte önemli trombotik olaylarda bu sıklıkta saptanmamaktadır. (74). Buna karşılık APC azlığı, eğer %65 altında ise hemen daima trombotik olaylarla birlikte dir. (74). Malign grupta ameliyat öncesi altı hastada (%18)

normalin %65'inde daha düşük bulunduğu halde klinik belirtilerle tromboz gözlenmedi ki bu da tromboz tanısı için sadece klinik bulguların yeterli olamayacağını , non-invasif yöntemler olan Ultrasound-Doppler , I-125 ile işaretli fibrinojen sintigrafisi gibi tekniklerin kullanılması gerekliliğini vurgulamaktadır.

Bazı otopsi çalışmalarında, klinik olarak tromboz olmadığı halde vakaların %30-35' inde bacak damarlarında tromboz saptanmıştır.(73).

Bu seride postoperatif 1. günde APC düzeylerinde hem benign hem de malign tümörlü hastalarda istatistiksel anlamlı düşme gözlemlendi. Bu düşüşün özellikle malign vakalarda daha belirgin olduğu saptandı.(%73.3).Benign hastalarda ise sadece %39.3 oranda düşük bulundu.PS değerlerindeki düşüklük benign tümörlü hastalarda daha anlamlıdır.Vigano D'Angelo ve arkadaşları çalışmalarında ameliyat öncesine göre postoperatif dönemlerde özellikle birinci haftada aktive protein C düzeylerinin %80 oranında düşük olduğu saptamışlardır($p<0.001$) . Glasgow grubu çalışmalarında postoperatif 1.günde APC düzeylerinde istatistiksel anlamlı bir düşüş saptamışlardır. ($p<0.001$).Leeds grubu ise çalışmalarında derin ven trombozu profilaksisi amacıyla heparin eklenmelerine rağmen postoperatif 1. günde protein C düzeylerinde Glasgow grubununkine eşdeğer şekilde istatistiksel anlamlı bir düşme saptamışlardır.($p<0.001$). (19,32,71).Bu bulgular jinekolojik tümörlü hastalarda cerrahi girişime bağlı endotel harabiyetinin rolünü düşündürmektedir. Çünkü bilindiğı gibi protein C aktivasyonu endotel hücrelerinde trombomodulin ile olur. (şekil 3)(39).

Postoperatif 7. günde benign patolojili hastalarda APC ve PS

seviyelerinin postoperatif 1. güne göre anlamlı olarak yükseldiği gözlemlendi. APC seviyelerinin benign jinekolojik patolojili hastaların %91'inde normale dönerken, malign tümörlü hastaların %39.3'ünde hala düşük seviyede kaldığı saptandı. Glasgow ve Leeds grupları ile, Vigano D'Angelo ve arkadaşları çalışmalarında, postoperatif 7.gün protein C ve S düzeylerinde progresif olarak bir yükselme göstermişlerdir ki çalışmamızda da benzer sonuca elde edildi(19,32).

Bu bulgular cerrahiye bağlı endotel harabiyetinin hızla iyileşmesi ve tümör kitlelerinin ortadan kaldırılması ile açıklanabilir. Malign jinekolojik tümörlü hastalarda daha uzun süreli aktive protein C ve protein S düşüklüğü daha geniş kapsamlı cerrahi girişim sonucu endotel harabiyetine bağlı olarak yorumlanmaktadır. (19,32,71).

Bu noktalardan jinekolojik cerrahi pratiğinde venöz trombozunun klinik belirtiler gözlenmeden APC ve PS değerlerinin takibi ile erken teşhis edilebileceği düşüncesi ile çalışma klinik derin ven trombozu vakaları da dahil edilerek sürdürülmektedir.

S O N U Ç

Bu çalışmada normal kadınlara göre jinekolojik malign ve benign tümörlü hastalarda Aktive protein C ve protein S düzeyleri düşük bulundu. ($p<0.01$; $p<0.001$).Bunu tümör kitlelerin basısına bağlı venöz staz, muhtemel subklinik dissemine intravasküler koagülasyon ve özellikle malign tümörlü hastalarda dolaşıma katılan " cancer prokoagulant-A " lara bağlı olabileceğini düşünülmektedir

Her iki hasta grubunda ameliyat sonrası dönemlerde Aktive protein C ve protein S seviyelerindeki düşüşün özellikle postoperatif 1. gününde daha belirgin olduğu saptandı.Bu bulgu endotel harabiyetine bağlı olarak yorumlandı.

Ayrıca malign jinekolojik hastalardaki Aktive protein C ve protein S düzeylerinin postoperatif günlerde normale dönüşünün daha yavaş olduğu gözlemlendi. Buna "Cancer procoagulant-A"ların ve radikal cerrahi girişimin neden olduğu endotel harabiyetinin yol açtığı düşünüldü.

Çalışmamızın ikinci kısmı devam etmektedir.

Ö Z E T

Bu prospektif çalışma Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kadın Hastalıklar ve Doğum Anabilim dalında ,Kasım 1989 ile Aralık 1990 tarihleri arasında uygulandı.

Çalışma kapsamına alınan jinekolojik malign tümörlü 33 ve benign patolojili 33 hasta ile 33 vakalık kontrol gruplarında Aktive protein C (APC) ve Protein S (PS) düzeyleri plazmada immunolojik yöntemler ile ölçüldü.

Gerek Aktive protein C gerekse Protein S düzeylerinin preoperatif dönemde her iki grup hastada kontrole göre düşük olduğu belirlendi.

Postoperatif 1.günde her iki grup hastada preoperatif döneme kıyasla anlamlı bir düşüş gösteren APC ve PS seviyelerinin postoperatif 7. günde yükseldikleri ancak malign tümörlü vakalarda bu normale dönüşün geciktiği gözlemlendi.

Benign jinekolojik patolojili ve malign tümörlü hastalar arasındaki bu farklılık malign tümörlü hastalarda uygulanan cerrahinin daha geniş kapsamlı olmasına ve cerrahi girişim esnasında dolaşıma katılması muhtemel kanser pro-koagulant-A (CPA)'lara bağlandı.

KAYNAKLAR

- 1). Charles T. Esmon C.T.
New Trends in haemostasis markers of thromboembolik risk.
San Diego July 16, 2. 1985.
- 2). Furie B. Furie B.C.
The molekuler basis of blood coagulation.
Cell 53:505-518,1988.
- 3). Marlar R.A. Kleiss D.J. Griffin J.H.
Mechanism of action of human activated Protein C, a Thrombin-dependent anticoagulant enzyme.
Blood, 59:1067, 1982.
- 4). Recent developments on Protein C, New perspectives in coagulation. Symposium; Paris, October 10,1983.
Xth. International Congress on Thrombosis and Haemostasis San Diego, July 16,1985.
- 5). Tso S.C. Wong V. Chan V. Chan T.K. Todd D.
Deep Vein Thrombosis and changes in coagulation and fibrinolysis after Gynaecological Operations in Chinese: The effect of oral contraceptives and malignant disease.
Brit.J. Haematology, 46:603-612,1980.
- 6) Yegge J.
Changes in blood coagulation and fibrinolysis during the postoperative period. Am. J. Surgery. 119:225-232,1970.
- 7).Nemerson Y.
Tissue factor and Hemostasis.
Blood 71:1-8,1988.
- 8).Clarke-Pearson D.T.
Varriables associated with postoperative deep venous thrombosis:A prospective study of 411 gynecologic patients and the creation of a prognostic model.
Obstet Gynecol 69: 146,1987.
- 9).Rickles F.R. Edwards R.L.
Activation of blood coagulation in cancer. Trousseau's syndrome revisted.
Blood,62:14-31,1983.
- 10).Esmon C.T.
"Protein C biochemistry, physiology and clinical implications"
Blood,62:1155-1158,1983.
- 11).Dvorak H.F. Senger D.R. Dvorak A.M.
Fibrin as a component of the tumor stroma:Origins and biological significance.
Cancer Metastasis Rev.,2:41, 1983.

- 12).Curatolo L. Colucci M. Cambini A.L.
Evidence that cells from experimental tumors can activate
coagulation factor X.
Brit. J. Cancer.40:288,1979.
- 13).Henriksson P. Blomback M. Bratt G. Edhag O. Eriksson A.
Activators and inhibitors of coagulation and fibrinolysis in
patients with prostatic cancer treated with oestrogen or
orchidectomy.
Thromb. Res.,44:783-791,1986.
- 14).Rogers I.S. Murgo A.J. Fontana J.A. Raich P.C.
Chemotherapy for breast cancer decreases plasma protein C and
protein S.
J. Clin. Oncol. 6:276-281,1988.
- 15).Clarke-Pearson D.L. Jelovsek F.R. Creasman W.T.
Thromboembolism complicating surgery for cervical and uterine
malignancy: Incidence ,risk factors ,and prophylaxis.
Obstet Gynecol 61:87 ,1983.
- 16).Aranda A. Paramo J.A. Cuesta B. Fernandez J. Paloma M.J.
Fibrinolytic activity in malignancy.
Thromb. Haemost. 58:110, 1987.
- 17).Gordon S.G. Franks J.J. Lewis B.J.
Comparison of procoagulant activities in extracts of normal and
malignant human tissue.
J. Nat. Cancer Inst. 62:773-776,1979.
- 18).Gralnick H.R. Abrell E.
Studies on the procoagulant and fibrinolytic activity of
promyelocytes in acute promyelocytic leukaemia
Brit. J. Haematol. 24: 89-99, 1973.
- 19).Blamey S.L. Lowe G.D. Bertina R.M. Kluft C. Sue-ling H.M.
Davies J.A. Forbes C.D.
Protein C antigen levels in major abdominal surgery:Relationships
to deep vein thrombosis,malignancy, and treatment with
stanazolol.
Thromb. Haemost. 54(3):622-625, 1985.
- 20).Sue-ling H.M. Davies J.A. Mc Mahon M.J. Johnston D. Philips
P.R. Anderson J.A. Bertina R.M. Verheijen J.H. Kluft C.
Indicators of depressed fibrinolytic in prediction of
postoperative deep vein thrombosis.
Haemostasis, 14:97, 1984. (Abstr.).
- 21).Griffin J.A. Mosher D.F. Zimmerman T.S. Kleiss A.J.
Protein C ,an antithrombotic protein is reduced in hospitalised
patients with intravascular coagulation.
Lancet 2:463-467,1982.

- 22).Eastham R.D.
Protein C, Clinical Haematology
Sixth Edition, Wright Bristol,273:274, 1984.
- 23).Griffin J. Evatt B. Zimmerman T. Kleiss A.
Deficiency of Protein C in congenital thrombotic disease.
J. Clin. Invest. 68:1370-1373,1981.
- 24).Şenen T. DüNDAR S.V. Ayhan A.
Preeklampside hiperkoagulabilite çalışması.
Türkiye klinikleri Tıp Bilimleri Araştırma Dergesi
6(1): 36-44, 1988.
- 25).Owen W. Esmon C.T.
Functional properties of an endothelial cell cofactor for
thrombin-catalyzed activation of Protein C.
J. Biol. Chem. 256:5532-5535, 1981.
- 26).Sala N. Owen W.Ç. Collen D.
A functional assay of Protein C in human plasma.
Blood,63:671-675, 1984.
- 27).Comp P.C. Nixon R. Esmon C.T.
"Determination of functional levels of Protein C , an
antithrombotic protein, using thrombin/thrombomodulin complex."
Blood, 63:16-21, 1984.
- 28).Bezeauda A. Drouet L. Leverger G. Griffin J.H. Guillin M.C.
The effect of L-Asparaginase Therapy for Acute lymphoblastic
leukemia on plasma vitamin k-dependent coagulation factors and
inhibitors
J.Pediatrics, 108:698-701,1986.
- 29).Robinson G.E. Burren T. Mackie I.J. Bounds W. Walshe K.
Faint R. Guillebaud J. Machin S.J.
Changes in haemostasis after stopping the combined contraceptive
pill;implications for major surgery.
Brit. Med. J. , 302:269-271,feb. 1991.
- 30).DüNDAR S.V.
Hiperkoagulabilite ve Tromboz.
İç Hastalıklar El Kitabı,102.Hacettepe Üniversitesi
yayınları,Ankara,1984.
- 31).Ulitin On Emekli N.B.
Protein C and Autoprurorombin 11-Anticoagulant.
New Istnbul contr. clin. Sci. 13:171-185, 1982.
- 32).Manuccio M. Vigano S.
Deficiencies of Protein C, an inhibitor of blood coagulation .
Lancet 2:463 ,1982.

- 33).Seegers W.H. Novoa E. Henry R. Hassouna H.
Relationship of "New" vitamin k-dependent Protein C and "Old"
autoprothrombin II-A.
Thromb. Res., 8:543-553,1976.
- 34).Esmon C.T. Stenflo J. Suttie J.W.
A new vitamin k-dependent protein. A phospholipid binding zymogen
of a serine esterase.
J. Biochem. 251:10, 3052-3056,1976.
- 35).Kisiel W. Canfield W.M. Ericsson L.H. Darie E.W.
Anticoagulant properties of bovine plasma protein C following
activation by thrombin.
Biochem. 16:5824-5831,1977.
- 36).Fair D.S. Marlar R.A.
Biosynthesis and secretion of factor VII, protein C, protein S
and the protein C inhibitors from a human hepatoma cell line.
Blood, 67(I):64-70,1986.
- 37).Nelstewen G.L. Kisiel W. Di Scipio R.G.
Interaction of vitamin k-dependent protein S with membranes.
Biochem. 17:2134,1978.
- 38).Fair D.S. Marlar R.A. Levin E.G.
Human endothelial cells synthesize protein S .
Blood, 67:1168-1171,1986.
- 39).Stern D. Brett J. Harris K. Navroth P.
Participation of endothelial cells in the protein C-Protein S
anticoagulant pathway: The synthesis and release of protein S.
J. cell Biol. 102: 1971-1978, 1986.
- 40).Suzuki K. Nishioka J.
Plasma protein S activity measured using protac, a snake venom
derived activators of protein c.
Thromb. Res. 49:241,1988.
- 41).Van de Waert HarryBruls H. Hemker C. Theo Lindhout
Functional properties of factor Va subunits after proteolytic
alterations by activated protein C.
Biochem. Biophys. Acta,799: 38-44,1984.
- 42).Vehar G.A. Davie E.W.
Preparation and properties of bovine factor V111, antihemphillc
factor.
Biochem.,19:401-410, 1980.
- 43).Comp P.C. Esmon C.T.
Generation of fibrinolytic activity by infusion of activated
protein C into dogs.
J. Clin. Invest. 68:1221-1228, 1981.

- 44).Bertina R.M. Broekmans A.W. Van der Linden I.K. Mertens K.
Protein C deficiency in a Dutch family with thrombotic disease.
Thromb. Haemost., 48:1-5,1982.
- 45).Comp P.C. Charles T. Esmon C.T.
Recurrent venous thromboembolism in patients with a partial
deficiency of protein S.
N. Engl. J. Med. 311:1525-1528,1984.
- 46).Schwarz H. P. Fischer M. Hopmeier P. Batard M. A. Griffin J.
Plasma protein S deficiency in familial thrombotic diseases.
Blood, 64(6): 1297-1300,1984.
- 47).Vigano de Angelo S. D'Angello A. Kaufman C.
Protein S deficiency occurs in the nephrotic syndrome.
Annals Inter. Med.,107:42-47,1987.
- 48).Boeger L.M. Morris P.C. Thurnau G.R. Esmon C.T. Comp P.C.
Oral contraceptives and Gender affect protein S status.
Blood, 69(2): 692-694, 1987.
- 49).Gilabert J.F. Espana F. Aznar J. Estelles A.
Physiological coagulation inhibitors, protein S, protein C and
antithrombin 111, in severe preeclamptic states and in users of
oral contraception.
Thromb. Res.,49:319, 1988.
- 50).Malm J. Laurell M. Dahlback B.
Changes in the plasma levels of vitamin k-dependent protein C and
protein S and of C4b-binding protein during pregnancy and oral
contraception.
Brit. J. Haematol. 68:437-443,1988.
- 51).Gonzalez R. Vicente V. Alberca I.Alegre A. Borrasca A.L.
Protein C and antithrombin 111 in patients under total hip
replacement (THR) meeting.
Thromb. Res., 39:637, 1985.
- 52).Hopmeier P. Halbmayer M.
Protein C and Protein S in mild and moderate preeclampsia.
Thromb. Haemost., 58:794-795, 1987.
- 53).Karpatkin M. Mannucci P.M. Bhogal M. Vigano S. Nardi M.
Low protein C in the neonatal period.
Brit. J. Haematol. 62:137, 1986.
- 54).Malm J. Bennhagen R. Holmberg L. Dahlback S.
Plasma concentrations of C4b-binding protein and vitamin k-
dependent protein S in term and preterm complexes.
Brit. J. Haematol. 68:445-449, 1988.
- 55).Hofsteege J. Taguchi H. Stone S.R.
Effect of thrombomodulin on the kinetics of the interaction of
thrombin with substrates and inhibitors.
Biochem. J.,237:243-251, 1986.

- 56).D'Angelo A. Vigano S. Esmon C.T. Comp P.C.
Acquired deficiencies of protein C, protein S activity during
oral anticoagulant in liver disease and in disseminate
intravascular coagulation.
J. Clin. Invest. 81:1445, 1988.
- 57).Vigano S. Mannucci P.M. Solinas S.
The significance of protein C antigen in acute and chronic liver
biliary disease.
Am. J. Clin. Pathol., 84:454-458,1985.
- 58).Vigano S. Mannucci P.M. Solinas S.
Decrease in protein C antigen and formation of an abnormal
protein soon after starting oral anticoagulant therapy.
Brit. J. Haematol., 57:213-220, 1984.
- 59).Alegre A. Vicente V. Gonzalez R. Alberca L.
Effect of hemodialysis on protein C levels.
Nephron, 46:386-387, 1987.
- 60).Kloczko J. Wojtukiewicz M. Bielawec M.
Reduced protein C levels in patients with essential hypertension.
Thromb. Haemost., 58:793, 1987.
- 61).Berretini M. Lammla B. Griffin J.H.
Initiation of coagulation and relationships between intrinsic and
extrinsic coagulation pathways in thrombosis and haemostasis.
1987, Verstraete M. Vermeylen J. Lijnen R. and Arnout J.
Leuven University Press, Belgium 1987. pp.473-495.
- 62).Hemostatic mechanisms. In. Raoaaoort S.I.
Introduction to hematology, 2nd. edition,1987.
J.B. Lippincot company,Philadelphia,USA. pp.432-458.
- 63).Manmen E.F. Thomas W.R. Seegers W.H.
Activation of purified prothrombin to auto-prothrombin 1 and
autothrombin 11(platelet cofactor 11) or autothrombin 11-A.
Thromb. Diath. Haemorrh., 5:218-250,1960.
- 64).Stenflo J.
"A new vitamin k-dependent protein."
J. Biol.Chem. 251:355-363, 1976.
- 65).Ogura M.Tanabe N. Nishioka J.Suzuki K. Satio H.
Biosynthesis and secretion of functional protein S by a human
megakaryoblastic cell line.(MEG-01).
Blood, 70:301-306, 1987.
- 66).Walker F.J.
Regulation of activated protein C by a new protein .
J. Biol. Chem. , 255:5521-5524, 1980.

- 67).Di Scipio R.G. Hermodson M.A. Yates S.G. Davie E.W.
A comparison of human prothrombin factor 1X(Christmas factor),factor X (Stuart factor) and protein S.
Biochem., 16:698-706, 1977.
- 68).Walker F.J.
Regulation of activated protein C by protein S.
The role of phospholipid in factor Va inactivation.
J.Biol. Chem. 256:11128-11131, 1981.
- 69).Salem H.H. Mitchell C.A. Firkin B.G.
Current views on the patho-physiology and investigations of thrombotic disorders.
Am. J. Hemat., 25(4):463-474, 1987.
- 70).Walker F.J. Chaavin S.I. Fay P.J.
Inactivation of factor VIII by activated protein C and protein S.
Biochem. Biophys. Arch. 252(1):322-328, 1987.
- 71).Vigano D'Angelo S. Gilardoni F. Seveso M.P. Marassi A. Mari G. D'Angelo A.
Reduction of the anticoagulant activity of protein C and protein S during the postoperative period.
Coagulation Service and Cattedra di Patologia Chirurgica;
Istituto Scientifico S. Raffaele, Milano,Italy.
- 72).Zurborn K.H. Kirch W. Bruhn H.D.
Functional and immunological protein C evaluation in disseminated tumors, liver cirrhosis and collagenosis.
Medizinische Universitätsklinik, Schittenhelmstrabe 12,D 2300 Kiel 1.
- 73).Chanavin I. Brozović M. Tidmarsh E. Waters D.A.W.
Blood and its diseases. Pg.215, 1976.
Churchil Livingstone, Edinburgh, London and New York.
- 74).Tobelem G. Seligsohn U.
Hereditary and Acquired Hipercoagulables states.
European School of Hematology.
November,21-25th,1988.