

Romatizmal Kalp ve Koroner Arter Hastalarında Plazma β -Tromboglobulin ve Trombosit Faktör 4

Uz. Dr. Osman YEŞİLDAĞ, Prof. Dr. Semra DÜNDAR, Prof. Dr. Şevket UĞURLU, Prof. Dr. Sırrı KES, Prof. Dr. Ali OTO, Şerafettin KİRAZLI

Hacettepe Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Kardiyoloji ve Hematoloji Üniteleri, Ankara

ÖZET

Bu çalışmada 21 koroner hastası, 22 romatizmal kalp hastası, 21 protez kapak hastası ve 15 sağlıklı kontrolde plazma beta-tromboglobulin (BTG), trombosit faktör 4 (PF4) ve trombosit sayısı belirlendi. Koroner arter hastalarında, diğer gruplara göre BTG ve PF4 belirgin ölçüde yüksek bulundu ($p<0.05$). Bütün gruplarda BTG ve PF4, normal kontrollerden yüksekti ($p<0.05$). Protez kapak takılmış olanlarda paradoks olarak BTG ve PF4, takılmamış olanlara göre daha düşük bulundu ($p<0.05$). Tüm gruplarda trombosit sayımı yönünden fark yoktu ($p>0.05$). Sonuç olarak trombosit inhibitör ilaçların etkinliğinin kontrolü için BTG ve PF4 tayininin yararlı olabileceği bu çalışmamızda gösterilmiştir.

Anahtar kelimeler: Kalp kapak hastalığı, β -tromboglobulin, trombosit faktör 4, koroner arter hastalığı

Protez kapak hastalarında tromboembolik komplikasyonlar korkulan bir olaydır. Ekseriya trombüs arteriyel sistemde gelişir. Bu nedenle muhtemelen trombositler emboli oluşumunda önemli bir rol oynamaktadır. Bu da antikoagülan tedavinin niçin tromboembolik olayları tamamen önleyemediğini açıklar. Kapağın tipi ve pozisyonu olayın husulünde rol oynar. Ayrıca kapak yerindeki türbülans da önemlidir (1). Ek olarak protez kapak hastalarında trombosit aktivasyon olduğu trombosit yaşam süresinde azalma ve tromboxane β 2 artışıyla da kanıtlanmıştır (2,3). Koroner arter hastalarında da anormal trombosit fonksiyonu olduğu ve hastaların trombotik olaylara duyarlı olduğu bilinmektedir (4,5).

Trombositlerin aktivasyonu sonucunda alfa granüllerden düşük molekül ağırlıkta trombosit özgül 2 protein de salınır. Bunlar trombosit faktör 4 (PF4) ve afinitesi düşük trombosit faktör-4 (LA-PF4)'dür (6,7). LA-PF4'ün plazmada preteolizisi sonucu β -tromboglobulin ortaya çıkar (8). BTG ve PF4 endojen heparinle birleşerek onu nötralize ederler ve koagülasyonu hızlandırırlar. PF4'ün antiheparin aktivitesi BTG'ye göre 6,5 kat fazladır (9). Beta-tromboglobulin ilk kez Moore ve ark. (7) tarafından izole edilmiş olup, molekül ağırlığı 8850 dalton olan dört alt gruptan oluşur. Tetramer olarak molekül ağırlığı 36000 daltondur. Trombosit faktör 4 trombositlerden proteoglikanla molekül ağırlığı 350.000 olan bir kompleks halinde salınır. Bu kompleks plazmada çözünür. PF4 molekül ağırlığı 7700 olan birbirinin aynı dört alt gruptan oluşan bir tetramerdir. Tetramer olarak ağırlığı 30000 daltondur. PF4 salındıktan sonra endotel hücrelerine hemen yapışarak dolaşımdan temizlenir. BTG ise böbrekler yoluyla temizlenir. Bu nedenle PF4'ün yarı ömrü 10 dakika, BTG'nin ki ise 100 dakikadır.

BTG ve PF4 trombositlere özgül proteinler oldukları için plazma düzeylerinin artması in vivo trombosit aktivasyonunun güvenilir bir ölçütü kabul edilmektedir (10). Bu çalışmada romatizmal kalp ve koroner hastalarında BTG, PF4 ve trombosit sayımı yapılarak, bu hastalarda trombosit aktivasyonunun derecesinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

MATERYEL ve METOD

Çalışma 3 grup hasta üzerinde yapılmıştır. 1. grupta 21 koroner arter hastası, 2. grupta 22 romatizmal kalp hastası, 3. grupta 21 protez kapak hastası yer al-

Tablo 1. Grupların yaş ve cinsiyet dağılımı

Grup	Sayı	Yaş	Erkek	Kadın
Koroner arter hastaları	21	55.5±9	16	5
Romatizmal kalp hastaları	22	34.8±11.4	6	16
Protez kapak hastaları	21	37.5±10.7	9	12
Normal kontroller	15	33.6±8.9	8	7

maktaydı. Koroner hastaların hepsinde infarktüs ve angina hikayesi mevcuttu. Hastaların hiçbiri diabetik değildi. Ayrıca değişik koroner ilaçları ve anti-agreganlar kullanmaktaydılar. İkinci gruptaki hastaların 14'ü mitral, 2'si aort, 5'i aort ve mitral ve biri 3 kapak hastasıydı. Üçüncü grupta 15 adet tek ve 6 adet çift protez kapaklı hasta bulunuyordu. Romatizmal kalp ve protez kapak hastalarının hiçbirinde kan alınma esnasında enfeksiyöz hastalık veya romatizmal aktivasyon yoktu.

Tromboemboli hikayesi sadece 1 hastada mevcuttu. 1 hastada bioprotez vardı. Hastaların yaşı ve cinsiyeti Tablo 1'de gösterilmiştir. Protez kapak takılan romatizmal kalp hastalarının hepsi oral antikoagülan ve anti-trombosit ajan kullanmaktaydılar. Kontrol grubu olarak 15 normal, sağlıklı kişi alındı.

Antekubital venden 4.5 ml venöz kan turnikesiz olarak alındı. Alınan kan trombosit anti-agreganı olarak teofilin adenozin ve dipridamol içeren özel tüplere aktarıldı. Tüpler buz kabına yerleştirildi. 15 dak. beklendi. Tüpler 1 saat içinde 2-8° C'de 2500 devirde 30 dakika santrifüj edildi. Trombositten fakir plazma dikkatlice alınarak -20° C'de saklandı. Asserachrom kiti kullanılarak enzim immünoassay (ELISA) yöntemiyle tüm hasta ve kontrollerde BTG ve PF4 tayini yapıldı. Ayrıca hastaların hepsinde counter yardımıyla trombosit sayısı ölçüldü.

Bulgular ortalama ve standart sapma olarak ifade edildi ve t-testi kullanarak analiz edildi. Gruplar arası fark varyans analizi ile arandı.

BULGULAR

Bütün gruplarda BTG ve PF4 düzeyi normallerden yüksek bulundu ($p<0.05$). Koroner arter hastalarında hem PF4 ve hem de BTG romatizmal kalp hastalarına göre daha yüksekti ($p<0.05$) (Tablo 2). Protez kapak takılmış olanlarda takılmamış olanlara göre BTG ve PF4 daha düşük bulundu ($p<0.05$).

Protez kapak hastaları grubunda tek ve çift kapak takılanlar arasında BTG ve PF4 bakımından fark bulunamadı ($p>0.05$). Romatizmal kalp hastası olup protez kapak takılmayan grupta da benzer şekilde tek veya çift kapak tutulumu olanlarda BTG ve PF4 farklı bulunamadı ($p>0.05$). Emboli geçiren bir hastada (romatizmal kalp hastalarından) BTG, 190 IU/ml, PF4 ise 35 IU/ml bulundu. Üç kapak tutulumu olan 1 hastada BTG 200 IU/ml, PF4 50 IU/ml idi. Romatizmal kalp hastaları ve protez kapak hastaları grubunda cinsiyet ve yaş bakımından fark yoktu ($p>0.05$). Koroner arter hastalarında BTG ve PF4 diğer gruplara göre belirgin ölçüde yüksek bulundu ($p<0.05$). Bu grupta erkek hastalar çoğunlukta idi (16 erkek, 5 kadın). Hastaların ortalama yaşı 55.5±9.3 olup diğer gruplara göre farklı bulundu ($p<0.05$). Her

Tablo 2. Gruplarda BTG, PF4 ve trombosit ortalama değerleri

Grup	BTG (IU/ml)	PF4 (IU/ml)	Trombosit ($10^3/mm^3$)
Normal kontroller	60.0±9.5	10.06±2.6	263.3±58.1
Romatizmal kalp hastaları	147.0±34.5	23.5±12.8	243.3±46
Protez kapak hastaları	107.6±21.8	17.6±4.4	256.4±70.1
Koroner arter hastaları	166.4±31.0	28.2±10.0	294.4±72.7

3 grupta da ortalama trombosit sayıları arasında normallere göre fark bulunamadı ($p>0.05$).

TARTIŞMA

BTG ve PF4 trombosit aktivasyonunun basit ve güvenilir bir ölçütü olup, trombosit fonksiyonlarını yansıtır ve trombosit yaşam süresi ile ilgilidir (11). Protez kapak ve koroner arter hastaları trombotik olaylara duyarlıdır. Trombositlerin ateroskleroz ve arteriyel trombozda önemli rolleri olduğu bilinmektedir (12). Aterosklerozun klinik bulguları olan iskemik kalp hastalarında trombosit yaşam süresinde kısalma olduğu gösterilmiştir (13). Bu hastalarda BTG ve PF4'ün yüksek olduğunun gösterilmesi, trombositlerin bu olayda önemli rolü olduğunu desteklemektedir (14,15).

Conard ve ark. (16), romatizmal kalp hastalarında β -tromboglobulin düzeylerinin yükseldiğini ve emboli hikayesi olanlarda BTG seviyesinin daha da arttığını bildirmişlerdir. Bizim bulgularımız da diğer çalışmaları desteklemektedir. Emboli hikayesi olan bir hastamızda BTG 190 IU/ml, PF4 35 IU/ml bulunmuştur.

Protez kapak takılmayan hastalarımızda BTG ve PF4 seviyelerinin daha yüksek bulunuşu, paradoks görünse de muhtemelen tüm protez kapak hastalarının anti-trombosit ilaç (aspirin veya dipiridamol) kullanmalarıyla ilgili olduğu düşünülmüştür. Koroner arter hastalarında BTG ve PF4'ün yüksek bulunuşu koroner ve periferik damarlardaki aterosklerotik plakların trombositleri aktive etmesiyle açıklanabilir (17).

Diabetik hastalarda plazma BTG ve PF4 seviyelerinin arttığı gösterilmiştir (18). Yaşlı ve sağlıklı kişilerde in vivo trombosit aktivasyonunun arttığı bildirilmiştir (19). Koroner patolojinin yaygınlığı ile trombosit aktivasyon artışı arasında korelasyon bulunmuştur (15). Koroner hastaları grubumuzda BTG ve PF4 artışı kısmen yaşla ilgili gözükse de, normal kontrollere göre 3 misline yakın artışın sadece yaş faktörüyle açıklanamayacağı kanısındayız. Anti-agregan ilaç kullanmalarına karşın koroner arter hastalarımızda BTG ve PF4'ün yüksek bulunuşu trombosit aktivasyonunun önemli olduğunu düşündürmüştür.

Pumphrey ve ark. (14), normal kişilerde koroner risk faktörlerinin trombosit aktivitesinde önemli değişiklik yapmadığını, koroner hastalarında ise ancak 2 veya daha fazla risk faktörü mevcudiyetinin β -tromboglobulin düzeyini arttırdığını bildirmişlerdir.

Çalışmamızda çift kapak takılanlarda tek kapak takılanlara göre BTG ve PF4 bakımından fark bulunmamıştır. Literatürde tek ve çift kapak arasında tromboz ilişkisi açısından fark gösterilmemişse de, çift kapaklı hastalarda trombosit yaşam süresi daha kısa bulunmuştur (20,21). Pumphrey ve ark (22), çift kapak takılanlarda tek kapak takılanlara göre β -tromboglobulinin daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Protez kapak takılsın veya takılmasın BTG'nin yüksek bulunuşu romatizmal kalp hastalarında trombosit aktivasyonu olduğunu kanıtlamaktadır. İnfeksiyöz durumlarda ve inflamasyonda PF4'ün arttığı bildirilmiştir (23). Hastalarımızda infeksiyon delili ve romatizmal aktivasyon bulunmaması PF4 artışının infeksiyonla ilgili olmadığını düşündürmüştür. İn vivo olarak protez kapak hastalarında trombosit ∞ -granüllerinde azalma olduğu gösterilmiştir (24). Bu da ∞ -granülleri içindeki β -tromboglobulinin salındığını ortaya koymaktadır. Romatizmal kapak hastalarında trombosit sayısı konusunda çelişkili bulgular söz konusudur. Bir kısmında bizdekine benzer şekilde trombosit sayısının azalmadığı belirtildiği (2) halde, diğer çalışmalarda azaldığı (16,25) gösterilmiştir. Antirombosit ilaçlar β -tromboglobulin düzeylerini azaltarak tromboz riskini düşürebilirler. Bir çalışmada (26) sulfonpirazonun plazma BTG seviyesini düşürdüğü ve trombosit yaşam süresini uzattığı gösterilmiştir.

Sonuç olarak trombosit inhibitör ilaçların etkinliğinin kontrolü için BTG ve PF4 tayini ölçü olarak kullanılabilir. Tromboz riskini belirlemede bu laboratuvar testleri yol gösterici olabilir. Bu çalışma uyarınca koroner arter hastalarında, romatizmal kalp hastalarına göre trombositler daha fazla aktive olduğuna göre, anti-trombosit ajan kullanmanın yararlı olabileceği düşünülebilir.

KAYNAKLAR

1. Pumphrey CW, Fuster V, Chesebro JH: Systemic thromboembolism in valvular heart disease and prosthetic heart valves. Mod Concepts Cardiovasc. Dis S 1:131, 1982

2. Cella G, Schivazappa L, Casonets A, et al: In vivo platelet release reaction in patients with heart valve prosthesis. *Haemostasis* 9:263, 1980
3. Steele PP, Welly HS, Davies H, Pappas G, Genton E: Platelet survival following aortic valve replacement. *Circulation* 51:358, 1975
4. Steele PP, Welly HS, Davies H, Genton E: Platelet function studies in coronary artery disease. *Circulation* 48:1194, 1973
5. Szczechlik A, Gryglewslü RJ, Musiuc J, Grodguńska L, Serwonoka M, Marcinkiewicz E: Thromboxane generation and platelet aggregation in survivors of myocardial infarction. *Thromb Haemost* 40:66, 1978
6. Niewiarowski S: Proteins secreted by platelet. *Thrombos Haemostas* 38:924, 1977
7. Moore S, Pepper DS, Cash ID: The isolation and characterisation of a platelet-specific beta globulin (β -thromboglobulin) and the detection of anti-urokinase and anti plasmin released from thrombin-aggregated washed human platelets. *Biochim Biophys Acta* 379:360, 1975
8. Niewiarowski S, Waltz D, James P, et al: Identification and separation of secreted platelet proteins by isoelectric focusing. Evidence that low-affinity platelet factor 4 is converted to β -thromboglobulin by limited proteolysis. *Blood* 50:453, 1980
9. Rucinski B, Niewiarowski S, James P, et al: Antiheparin proteins secreted by human platelets. Purification, characterisation and radioimmunoassay. *Blood* 53:47, 1979
10. Kaplan KL, Owen J: Plasma levels of BTG and platelet factor 4 as indices of platelet activation in vivo. *Blood* 57:199, 1981
11. Doyle D, Chesterman C, Cade J, McCready J, Rennie G, Morgan F: Plasma concentration of platelet specific proteins correlated with platelet survival. *Blood* 55:82, 1980
12. Harker LA, Schlichter SJ: Studies of platelet and fibrinogen kinetics in patients with prosthetic heart valves. *N Eng J Med* 283:1302, 1970
13. Fuster V, Chesebro JH, Frye RJ, Elveback LR: Platelet survival and the development of coronary artery disease in the young adult: effects of cigarette smoking, strong family history and medical therapy. *Circulation* 63:546, 1981
14. Pumphrey CW, Daves D: The platelet release reaction in cardiovascular disease: evaluation of plasma β -thromboglobulin as a marker of a prothrombotic state. *Eur Heart J* 5 (suppl. D): 7, 1984
15. Hulsdteijn H, Kolff W, Briet E, et al: Fibrinopeptide A and β -thromboglobulin in patients with angina pectoris and acute myocardial infarction. *Am Heart J* 107:39, 1984
16. Conard LM, Hørellan H, Barillet M, et al: Plasma β -thromboglobulin in patients with valvular heart disease with or without valve replacement: relationship with thromboembolic accidents. *Eur Heart J* 5 (suppl D): 13, 1984
17. Breddin K: Detection of prethrombotic states in patients with atherosclerotic lesions. *Semin Thromb Hemost* 12:110, 1986
18. Fritschi J, Christie M, Lammle B, et al: Platelet aggregation, β -thromboglobulin and platelet factor 4 in diabetes mellitus and in patients with vasculopathy. *Thromb Haemost* 52:236, 1984
19. Zahavi J, Jones NAG, Leyton J, et al: Enhanced in vivo platelet release reaction in old healthy individuals. *Thromb Res* 17:329, 1980
20. Harker LA, Schlichter SJ: Studies of platelet and fibrinogen kinetics in patients with prosthetic heart valves. *N Eng J Med* 283:1302, 1970
21. Steele PP, Welly HS, Davies H, Genton E: Platelet survival in patients with rheumatic heart disease. *N Eng J Med* 290:537, 1974
22. Pumphrey LW, Daves J: Elevation of plasma β -thromboglobulin in patients with prosthetic cardiac valves. *Thromb Res* 22:147, 1981
23. Chesterman CN, McGready JR, Doyle D, Morgan J: Plasma levels of PF4 measured by RIA. *Br J Haematol* 40:489, 1978
24. Pumphrey LW, Dawes J: Platelet α -granule depletion findings in patients with prosthetic heart valves and cardiopulmonary by-pass surgery. *Thromb Res* 130:257, 1983
25. Pumphrey LW, Dawes J: Elevation of plasma β -thromboglobulin in prosthetic cardiac valves. *Thromb Res* 22:147, 1981
26. Cade JF, Doyle DJ, Chesterman CN, et al: Platelet function in coronary artery disease: effects of coronary surgery and sulphynpirazone. *Circulation* 66:29, 1982