

İnflamatuar Barsak Hastalığında Platelet Fonksiyonları

Dr. Uğur YILMAZ, Dr. Selim AYAZ, Dr. Ahmet TEZEL, Dr. Ülkü DAĞLI,
Dr. Çağlar BAŞAK, Dr. Aysel ÜLKER

Özet: İnflamatuar barsak hastalığında artmış tromboembolizmin patogenezi aydınlatmaya yönelik olarak platelet aktivasyonu ve inflamasyon şiddeti ile ilişkisi araştırıldı. Ülseratif kolit (ÜK, n=35), Crohn hastalığı (CH, n=10) ve kontrol (n=20) gruplarında β tromboglobulin (β TG), platelet faktör 4 (PF4) düzeyleri ve diğer hemostaz testleri (koagülasyon testleri, protrombin zamanı) araştırılarak endoskopik aktivite indeksi ve akut faz reaktanları ile ilişkisi araştırıldı. β TG ÜK grubunda CH ve kontrollere göre anlamlı olarak yüksek ($p<0.001$), PF4, ÜK ve CH gruplarında kontrollere göre anlamlı olarak yüksek ($p<0.001$) bulundu. β TG ve PF4 düzeylerinin endoskopik aktivite ve CRP ile korelasyonu saptanmadı ($p>0.05$). İnflamatuar barsak hastalığında platelet aktivasyonunun inflamatuvar aktivite şiddetinden bağımsız olarak yüksek bulunmasının hastalık patogenezi ve artmış tromboembolizmde önemli rolü olabileceği kanısına varıldı.

Anahtar kelimeler: İnflamatuar barsak hastalığı, komplikasyon, patogenezi, platelet faktör 4, β -tromboglobulin.

İnflamatuar Barsak Hastalığında (İBH) major tromboembolizm riski artmıştır. Otopsi çalışmalarında İBH'lılarda %39'a varan oranda tromboembolizm gösterilmiştir (1). Artmış tromboembolizm riski, etyopatogenezi primer koagülasyon bozukluğu olabileceğini düşündürmüştü ve bu yönde çalışmalar yapılmıştır. İBH'da Faktör V, Faktör VIII, fibrinojen, fibrinopeptid A düzeylerinde artış (2), serbest protein S düzeylerinde düşme (3,4), platelet sayısında artma ve spontan platelet agregasyonu gösterilmiştir (5,6).

Platelet Faktör 4 (PF4) ve betatromboglobulin (β TG) plateletlerin α granüllerinden salgılanan peptidler olup platelet agregasyonunun iyi birer

Summary: PLATELET FUNCTIONS IN INFLAMMATORY BOWEL DISEASE

Platelet activation and its correlation with activity of disease were evaluated to determine the pathogenesis of hypercoagulability state in inflammatory bowel disease (IBD). β -thromboglobulin (β TG), platelet factor 4 (PF4), and other coagulation tests (Prothrombin time, Factor V, Factor VIII) were evaluated in groups of ulcerative colitis (UC, n=35), Crohn's disease (CD, n=10) and control (n=20). Serum β TG levels were significantly high in the patients with UC than those patients with CD and controls ($p<0.001$), and also serum PF4 levels were high in patients with UC and CD when compared with controls ($p<0.001$). No correlation was seen between the serum β TG and PF4 levels with disease activity. It was concluded that the increased activity of platelets unrelated to disease activity played a major role in the pathogenesis of IBD and hypercoagulability state.

Key words: Inflammatory bowel disease, complication, pathogenesis, platelet factor 4, β -Thromboglobulin.

göstergesidirler (7). Bu proteinler diabet, kronik renal yetmezlik, myeloproliferatif hastalıklarda hiperkoagülasyonun izlenmesinde kullanılmaktadırlar (7). Bu peptidlerin invitro tayini geçmişte invivo düzeylerini yansıtmamaktaydı, ancak günümüzde bu güçlükle aşılması ve invivo düzeylerini yansıttacak biyokimyasal yöntemler geliştirilmiştir (8,9).

İBH'da platelet aktivasyonunu göstermek üzere plazma β TG ve PF4 düzeyleri ve hastalık aktivitesi ile ilişki araştırıldı.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışma, Yüksek İhtisas Hastanesi Gastroenteroloji Kliniği'nde ülseratif kolit, Crohn hastalığı tanısı ile yatarak veya ayakta izlenen hastalarda ve sağlıklı kontrol grubunda yapıldı.

Türkiye Yüksek İhtisas Hastanesi Gastroenteroloji Kliniği.

Tablo I: Olgularda Koagülasyon Faktörleri, Platelet Sayısı, CRP

	Platelet (1000/mm ³)	Faktör V (IU/dl)	Faktör VII (IU/dl)	CRP (mg/L)
Ülseratif Kolit	350.08±116	109.91±31	132.91±92	58.5±11.6
Crohn Hast.	405.60±196	108.40±31	194.40±122	104.3±143
Kontrol	280.55±112	101.58±37	142.70±52	4.1±3.60

Hasta grubunda her hastaya rektoskopi veya kolonoskopi yapılarak ülseratif kolitlilerde Rachmilewitz'in tanımladığı şekilde yapıldı (10). İndeksi 6'nın üzerinde olanlar aktif olarak değerlendirildi. Hastalarda hastalığın yaygınlığı kolonoskopik bulgulara ve/veya baryumlu grafilere göre yapıldı. Tromboembolizm öyküsü varsa kaydedildi. Endoskopik işlemde en fazla 24 saat sonra kan örnekleri alındı. Kan örneklerinde; 1. Kan sayımı (Hb, lökosit, platelet) 2. Hemostaz testleri (protrombin zamanı, aktif parsiyel tromboplastin zamanı) 3. Koagülasyon faktörleri (FV, FVIII) 4. Kantitatif CRP 5. Biyokimyasal incelemeler 6. PF4, βTG araştırıldı.

PF4 ve βTG tayini için kan örnekleri turnike kullanılmaksızın özel tüplere (Diatube®) alınarak buz kabına yerleştirildi. Otuz dakika içinde 2-8o C'ta santrifüje edilerek plazma alındı. Santrifüj işlemi 3 kez tekrarlanarak plazmada platelet sayısı 10.000/mm³'ün altında olması sağlandı. Plazma örnekleri derin dondurucuda (-50° C) saklanarak örnek toplama işlemi sona erdiğinde oda ısısında çözündürerek ELISA yöntemi ile çalışıldı, sonuçlar IU/ml olarak kaydedildi. İstatistiksel araştırmalarda Fisher exact test, T testi, Spearman rank korelasyon analizi uygulandı, p<0.05 veya daha düşük değerler anlamlı olarak değerlendirildi.

SONUÇLAR

Ülseratif kolit (ÜK) grubu 35 (23 kadın, 12 erkek), Crohn hastalığı (CH) grubu 10 (7 kadın, 3 erkek), kontrol grubu 20 (7 kadın 13 erkek) şeklinde oluştu. Ortalama yaşlar ÜK, CH ve kontrol gruplarında sırasıyla 40.0 İ 16.29, 41.5 İ 16.52, ve 38.2 İ 13.28 yıl idi. Gruplar arasında yaş ve cinsiyet bakımından fark saptanmadı (p>0.05).

CH grubunda 3 olguda (%30) periferik veya portal trombüs, ÜK grubunda 1 olguda (% 3) serebral tromboemboli öyküsü vardı. CH grubundaki

Tablo II: Olgularda βTG ve PF₄ Düzeyleri

	βTG (IU/ml)	PF ₄ (IU/ml)
Ülseratif Kolit	81.3857±83.8774	36.2143±35.8445
Crohn Hast.	48.0000±39.3136	27.7400±16.9892
Kontrol	34.8250±14.5216	4.8400±2.5078

portal trombüs bulunan olguda CH tanısı porta trombozu etyolojisi araştırılırken konuldu.

ÜK grubunda 14 hastada pankolit, 21 hastada sol veya distal tip kolit vardı. Hastalık süresi 15 gün-22 yıl arasında, ortalama 53.67±60.8 ay idi. Endoskopik aktivite indeksleri 0-12 arasında olup ortalama 7.92±2.86 idi. Yirmisekiz olguda indeks 6'nın üzerindeydi. CH grubunda 4 olguda kolit, 2 olguda terminal ileit, 4 olguda ileit vardı. Hastalık süreleri 1 hafta-15 yıl, ortalama 65.7±81.26 ay idi.

C-reaktif protein (CRP) ortalama düzeyleri (Tablo I) CH grubunda kontrollere göre belirgin olarak yüksekti (p<0.01). CH grubunda ÜK grubuna ve ÜK grubunda kontrollere göre anlamlı olarak yüksek bulundu (p<0.05). CRP düzeyleri ÜK grubunda endoskopik aktivite indeksleri ile anlamlı korelasyon gösterdi (p=0.02).

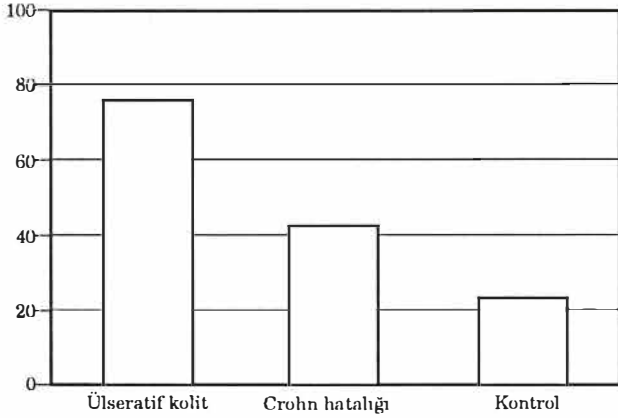
Platelet sayısı (Tablo I) hastalık gruplarında kontrollere göre anlamlı olarak yüksekti (p<0.05). Platelet sayısı ile endoskopik aktivite ile korele olarak yüksek bulundu (p<0.05).

Faktör V (Tablo I) düzeyleri gruplar arasında farklılık göstermedi. F VIII hastalık gruplarında kontrollere göre anlamlı olarak yüksekti (p<0.05). Faktör V ve F VIII düzeylerinin endoskopik aktivite ile korelasyonu saptanmadı.

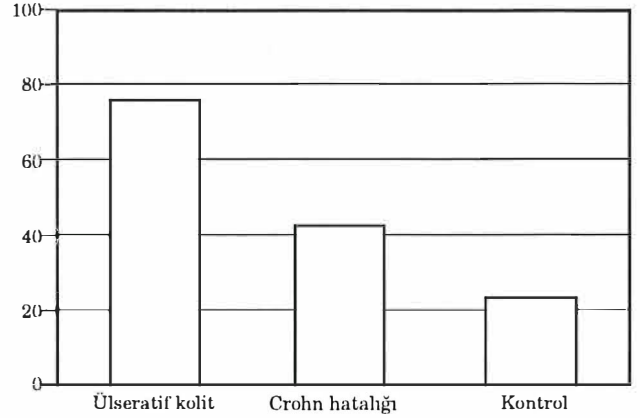
Betatromboglobulin (Tablo I, Şekil 1) ÜK grubunda CH ve kontrollere göre anlamlı olarak yüksekti (p<0.001). PF4 (Tablo I, Şekil 2) ÜK ve CH gruplarında kontrollere göre anlamlı olarak yüksekti (p<0.001). βTG ve PF4 düzeyleri ile endoskopik aktivite ve CRP düzeyleri arasında korelasyon saptanmadı (p>0.05).

TARTIŞMA

Bindokuzyüzseksenli yılların ikinci yarısında Crohn hastalığının etyopatogenezinde multifok-



Şekil 1: Gruplarda Ortalama β TG düzeyleri



Şekil 2: Gruplarda Ortalama PF₄ düzeyleri

al mikrovasküler trombozisin olabileceğine dair önemli deliller elde edildi (11). İnflamatuvar barsak hastalığı olanlarda koagülasyon bozukluklarına yönelik çalışmalarda daha önce bilinen platelet sayısında artış, F V, F VIII düzeylerindeki yükselmeye ek olarak AT III düzeylerinde artma, ve serbest protein S düzeylerinde düşme gösterildi (2,3). Platelet fonksiyonları ile ilgili çalışmalarda spontan platelet agregasyonu, platelet aktivasyon işaretleyicilerinde (P-selectin, GP53 ve β TG düzeylerinde artış saptandı (5,6).

PF4 ve İTG serum düzeylerinin tayini trombozise eğilimin artmış olduğu iyi bilinen hastalıkların izlenmesinde kullanılmaktadır (7). Plateletler iskemik kalp hastalığı ve diabetes mellitus patogeneğinde önemli rol oynarlar. Plateletlerin inflamasyon sürecinde hemostaz dışında proinflamatuvar özellikleri de vardır. Plateletler ADH, serotonin, platelet aktive edici faktör, β TG, PF4, leukotrienler, 12-HETE, tromboxan gibi maddeler salgırlar. Bu salgı faaliyeti ile vazokonstriksiyon, pıhtılaşma, mononükleer hücre ve fibroblastların kemotaksisi sağlanır. Bu şekilde plateletler inflamatuvar proseste aktif bir rol oynar. Bunun dışında immunoglobulin reseptörleri aracılığıyla serbest oksijen radikalleri metabolize edilir (7).

Bu çalışmada platelet aktivasyonunun göstergesi olarak PF4 ve β TG düzeyleri ve bunların inflamasyonun şiddeti ile ilişkisi araştırılmıştır. PF4 düzeyleri İBH'da kontrollere göre belirgin olarak yüksek, İTG ise ÜK'de anlamlı olarak yüksek bulunmuş, CH'da normallere göre fark saptan-

mamıştır. Bu maddelerin inflamasyon şiddeti veya hastalık aktivitesinin objektif göstergesi sayılabilecek CRP düzeyleri ile korelasyonu saptanmamıştır. Collins ve arkadaşları (6) İTG düzeylerini CH ve ÜK'li hastalarda aynı yaş grubundaki sağlıklı bireyler ve aktif romatoid artritli hastalara göre yüksek bulmuşlardır. ÜK'li hastalarda aktivite ile ilişki bulunmamış, CH'lı olgularda aktif olanlarda yükseklik saptamışlardır. çalışmamızda CH grubunda olgu sayısının azlığı nedeniyle aktivite ayırımına göre istatistiksel araştırma yapılmamış, grubun tümünde ise kontrollere göre fark bulunmamıştır. Aktif romatoid artritlilerde β TG'nin yüksek olmayışı platelet aktivasyonunun yalnızca inflamasyonla açıklanamayacağını göstermektedir. Ayrıca bu çalışmada dolaşımda platelet agregatları saptanmıştır. Webberley ve arkadaşlarının benzer bir çalışmasında β TG ve tromboxan A2 düzeyleri ÜK ve CH'lı hastalarda hastalık aktivitesinden bağımsız olarak yüksek bulunmuş, invitro spontan platelet agregasyonu hastaların bir kısmında gösterilmiştir (5). Her iki çalışmada da aktivite indekslerine göre değerlendirmeler yapılmış ve klinik tablo ile endoskopik bulguların çoğu zaman paralellik göstermediği vurgulanmıştır. Aktivitesi düşük olan bir hastada inflamasyonun şiddetli olabileceği gözönüne alınırsa doğrudan inflamasyon şiddetine göre değerlendirme yapılmasının doğru olacağı düşünülebilir. Biz çalışmamızda bu yöntemi kullandık ve inflamasyon şiddeti ile platelet aktivitesi arasında ilişki saptamadık. Webberley'in çalışmasında NSAID kullanan 2 olguda β TG'nin

yüksek bulunması prostoglandin sentezi ile platelet aktivasyonu arasında ilişki olduğu şeklinde yorumlanmıştır. Ancak ÜK'de NSAID kullanımının inflamasyonu geriletmemesi, lipooksijenaz yolunun bloke edilerek LB4 oluşumunun engellenmesi ile inflamasyonun gerilemesi yukarıda yapılan yorumu gereksiz kılmaktadır.

Bu bulgular IBH'da artmış platelet aktivasyonu başlatan faktörün inflamatuvar değişikliklere bağlı dolaşımdaki immun uyarıcıların olabileceği olasılığını azaltmaktadır. Bakteriyel endotoksin ve lipopolisakkaridler plateletler üzerinde güçlü aktivatör etki gösterirler. IBH'da artmış intestinal geçirgenliğe bağlı olarak dolaşıma geçen endotoksinler sorumlu olabilir. Diğer bir olasılık ise intestinal hasara bağlı splancnic yataktaki vasküler defektlerin plateletleri uyarması olabilir.

Sonuç olarak IBH'da platelet aktivasyonu inflamasyonun şiddetinden bağımsız olarak artmıştır

ve dolaşımda platelet agregatları bulunabilir. Dolaşımın herhangi bir nedenle yavaşlaması veya dolaşan agregatların büyüklüğüne bağlı olarak herhangi kolaylaştırıcı bir neden olmaksızın spontan tromboemboli gelişebilir. IBH'da ATIII, protein S gibi doğal antikorların serum düzeylerinin düşük olması hiç şüphesiz bu olayı kolaylaştırıcı faktörlerdir. Otopsi çalışmalarında %40'lara varan oranda venöz trombüs saptanması yatkınlığın ne kadar fazla olduğunu göstermektedir. Bu yatkınlığa dayanarak bazı araştırmacılar IBH'da rutin olarak antitrombotik ajanların kullanımını önermekte, bazıları ise platelet agregasyon testlerinin rutin uygulanarak riskli hastalarda bu ajanları önermektedirler. Rektal kanaması olan aktif hastalarda heparin kullanarak hastayı remisyona soktuğunu iddia eden araştırmacılar da bulunmaktadır (12). Riskli hastalarda (uzun süre yatma, operasyon vb.) platelet agregasyon testleri yapılarak antitrombotik tedavi vermenin uygun olacağı kanısındayız.

KAYNAKLAR

1. Graef V, Baggenstoss AH, Sauer WG, Spittell JB; Venous thrombosis occurring in nonspecific ulcerative colitis: a necropsy study. *Arch Intern Med* 1966; 58: 17-31.
2. Aadland E, degaard OR, Roseth A, Try K. Free protein S deficiency in patients with chronic inflammatory bowel disease. *Scand J Gastroenterol* 1992; 27:957-60
3. Ghosh S, Mackie MJ, McVerry BA, Galloway M, Ellis A, McKay J. Chronic inflammatory bowel disease, deep-venous thrombosis and antithrombin activity. *Acta Haematol* 1983; 70: 50-53.
4. Yılmaz U, Ayaz S, Baysal Ç, Yıldırım B, Ülker A, Onaran L; Inflamatuvar Barsak Hastalığında Serbest Protein S Düzeylerindeki Düşüklüğün önemi. *Gastroenteroloji*, 1994; 5 (2): 300-4
5. Webberley MJ, Hart MT, Melikian V; Thromboembolism in inflammatory bowel disease: role of platelets. *Gut* 1993; 34: 247-51
6. Collins CE, Cahill MR, Newland AC, Rampton S; *Gastroenterology* 1994; 106:840-5.
7. Freed J, Bick RL, Squillaci G, Walenga JM, Bernes EW; Molecular markers of hemostatic disorders: implications in the diagnosis and therapeutic management of thrombotic and bleeding disorders. *Clin Chem* 1983; 29(9): 1641-58.
8. Files JC, Malpass TW, Yee EK, Ritchie JL, Harker LA; Studies human platelet a-granule release in vitro. *Blood* 1981; 58(3): 607-18
9. Kaplan KL, Owen J; Plasma levels of b-thromboglobulin and platelet factor 4 as indices of platelet activation in vivo. *Blood* 1981; 57(2):199-203.
10. Rachmilewitz D. Coated mesalazine (5-aminosalicylic acid) versus sulphasalazine in the treatment of active ulcerative colitis: a randomized trial. *BMJ* 1989; 82-86.
11. Hudson M, Piasecki C, Sankey EA, Sim R, Wakefield AJ, More LJ, Sawyerr AFM, Dhillon AP, Pounder RE. A ferret model of acute multifocal gastrointestinal infarction. *Gastroenterology* 1992; 102: 1591-96
12. Gaffney PR, O'Leary JJ, Doyle CT, Hogan J, Smew F, Annis P. Response to heparin in patients with ulcerative colitis. *Lancet* 1991; 337:238-39