

TAMOKSİFENİN PLAZMA DOKU FAKTÖRÜ DÜZEYİ ÜZERİNE ETKİSİ

Uğur YILMAZ¹, İlhan ÖZTOP¹, Halil ATEŞ¹, Arzu YAREN¹, İnci ALACACIOĞLU¹, Hayri ÖZSAN¹

ÖZET

Amaç: Kanser hastaları tromboembolik olaylar açısından yüksek riske sahiptir. Kanserli hastalarda artmış doku faktörü düzeyleri rapor edilmesine rağmen tamoksifen gibi hormonal tedavilerin bu konudaki etkisi henüz netleştirilememiştir.

Yöntem: Bu pilot çalışmada, adjuvan hormonal tedavi olarak tamoksifen alan erken evre meme kanserli 10 hastada prospektif olarak, ELISA yöntemiyle plazma doku faktörü düzeyleri ölçülmüş ve tamoksifen almayan erken evre meme kanserli 10 hastanın plazma doku faktörü düzeyleri ile karşılaştırılmıştır.

Bulgular: Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, tamoksifen ile tedavi edilen grupta plazma doku faktörü düzeylerinde hafif yükseklik gözlemlendi. Ancak bu yükseklik istatistiksel olarak anlamlı değildi (p=0.5). Tamoksifen ile tedavi edilen grupta ortalama plazma doku faktörü düzeyi 63,87 pg/ml ± SEM 23,63 (12,59-267,11) iken kontrol grubunda 42,83 pg/ml ± SEM 7,56 (5,43-78,88) idi. Grupta hiçbir hastada trombotik komplikasyon gözlemlenmedi.

Sonuç: Mevcut sonuçlarla tamoksifen alan erken evre meme kanserli hastalarda izlenebilen trombotik komplikasyonların gelişiminde doku faktörünün de rolü olabilir demek mümkün değildir, daha fazla hasta içeren çalışmalara ihtiyaç vardır

Anahtar kelimeler: Meme kanseri, tamoksifen, doku faktörü.

Effects of tamoxifen on plasma tissue factor levels

ABSTRACT

Aim: Cancer patients have a high risk of thromboembolic disease. Although the increased levels of tissue factor (TF) in cancer patients have been reported in various studies, the effect of hormonal therapy i.e. tamoxifen on this manner has not been illuminated yet.

Method: In this pilot study, ten patients with localized breast cancer receiving adjuvant tamoxifen were studied for plasma tissue factor levels by the ELISA method, and test results were compared with the results of ten patients with localized breast cancer who not receiving adjuvant tamoxifen treatment.

Results: There was a slightly increase of plasma tissue factor levels in tamoxifen terated group compared with control group, but this increase was not statistically significant. Mean plasma TF level of the tamoxifen treated group was 63,87 pg/ml SEM 23,63 (range 12,59 to 267,11) and of the control group was 42,83 pg/ml SEM 7,56 (range 5,43 to 78,88). No thrombotic complications were observed in both groups.

Conclusion: According to these results, it is not possible to say that tamoxifen treatment can lead to the increase in plasma tissue factor levels and thereby hypercoagulability in patients with breast cancer. Further studies including more patients are needed to show the difference between two arms.

Key words: Breast cancer, tamoxifen, tissue factor.

Kanser hastaları, tromboembolik olaylar açısından yüksek riske sahiptir. Farklı malignitelere sahip hastaları içeren çalışmalarda, arteriyel ve venöz trombotik komplikasyon sıklığının %1-11 oranında olduğu bildirilmektedir¹. Patogenezde cerrahi, immobilizasyon, antineoplastik ajanlar, venöz kateterler gibi ekstrensek faktörler ile intrensek tümör prokoagulan aktivitesi gibi pek çok mekanizma sorumlu tutulmaktadır².

Geçen iki dekatta, kanser hastalarında kemoterapotik ve hormonal ajanların vasküler toksisiteye neden olabileceğini bildiren çalışmaların sayısı giderek artış göstermesine karşın, burada rolü olan mekanizmalar ya da patogenez henüz tam olarak aydınlatılmamıştır. Ancak, meme kanserinde, adjuvan tedavi olarak özellikle tamoksifen gibi hormonal tedavilerin kemoterapi ile birlikte uygulamalarında venöz tromboembolizm riskinin arttığı ifade edilmektedir^{2,3}.

Tamoksifen meme kanseri tedavisinde yaygın olarak kullanılan antiöstrojen hormonal bir ajandır. Son yıllara kadar tamoksifenin koagulasyon sisteminin en önemli fizyolojik inhibitörü olan antitrombinin fonksiyonel aktivitesini azalttığı vurgulanmakla birlikte günümüzde, artmış tromboembolik komplikasyon oranının daha ziyade tamoksifenin paradoksal östrojenik etkisinden kaynaklandığı rapor edilmektedir⁴. Fakat tromboembolik hastalıkların yalnızca tamoksifene mi bağlı olduğu ya da kanser hastalarında var olan artmış in vivo trombin aktivitesi ile birlikte hiperkoagulabilite durumuna mı bağlı olduğunu ortaya koymak güçtür.

Kanser hastalarında tromboza eğilime neden olan faktörlerden biri de doku faktörüdür (DF)⁵. Doku faktörü, fonksiyonel reseptör görevi gören ve faktör VII/VIIa için katalitik kofaktör rolü oynayan bir ekstraselüler domeyni bulunan bir hücre yüzeyi

¹Dokuz Eylül Üniversitesi Onkoloji Enstitüsü, İnciraltı-İZMİR

transmembran proteinidir. Faktör VIIa, doku faktörü ile birlikte DF-VIIa kompleksini oluşturarak faktör IX ve X'u proteolitik olarak aktive eder. Oluşan protrombinaz kompleksi trombini oluşturur ve sonuç olarak fibrin (trombüs) oluşumuna ve trombin reseptör aracılığı ile trombosit aktivasyonuna neden olur. Doku faktörü, koagülasyon sisteminin en potent başlatıcısı olup normal kan akımının olduğu dolaşım sisteminde, aktive olmamış hücrelerde ekspres edilmez. Fakat bazı fizyolojik ya da patolojik yanıtlarda endotel hücreleri ve lökositler doku faktörü ekspresyonu için uyarılır. Kanser hastalarında doku faktörü düzeylerinde artış gözlemlendiği rapor edilmiştir⁵. Antitrombin ya da protein C yolağındaki proteinler gibi antikoagulan faktörlerin azalmış seviyeleri sonucunda artmış trombin oluşumu olasılığı daha az dikkat çekici olmuştur⁶. Pek çok çalışmada kanser hastalarında artmış doku faktörü düzeyleri rapor edilmesine rağmen tamoksifen gibi hormonal tedavilerin bu konudaki etkisi henüz netleştirilememiştir.

Adjuvan hormonal tedavi olarak tamoksifen alan erken evre meme kanseri hastalarında, tamoksifenin plazma doku faktörü düzeyi üzerine etkileri konusunda fikir sahibi olmak amacıyla bu pilot çalışmayı planladık.

GEREÇ VE YÖNTEM:

Hastalar

Bu prospektif klinik izlem çalışmasına, modifiye radikal mastektomi operasyonu sonrasında sistemik kemoterapi almış olan 20 meme kanserli hasta alındı. 10 hastanın hormon reseptörleri pozitif ve en az 6 aydır tamoksifen tedavisi alıyordu. Kontrol grup olarak belirlenen diğer 10 hastanın ise hormon reseptörleri negatif ve tamoksifen tedavisi almıyorlardı. Her iki gruptaki hastaların sistemik kemoterapileri 6 ay öncesinde tamamlanmıştı. Hastalarda makroskopik metastazlar, kemik taraması, kalan meme dokusunun mammografisi, akciğer grafisi ve abdominal ultrasonografi ile dışlandı. Hastaların hiçbirisinde, karaciğer fonksiyon bozukluğu, kardiyovasküler hastalık, renal yetmezlik, sepsis bulunmuyordu ve Karnofski indeksleri %70'in üzerindeydi. Her hastadan çalışma öncesi bilgilendirilmiş onay alındı. Çalışma süresince hastaların hiçbirisi koagülasyon sistemi üzerine etkili başka ilaç almıyordu. Çalışma Dokuz Eylül Üniversitesi Rektörlüğü Araştırma Fon Saymanlığı'nın 0909.20.02.02 nolu projesinin desteğinde gerçekleştirilmiştir.

Plazma toplanması ve saklanması

Diurnal etkileşimi önlemek için kanlar her hastadan sabah saat 09.00 ile 11.00 arasında alındı. Kan örnekleri venöz girişim ile alınarak sitratlı tüplere aktarıldı (antikoagulan solüsyon olarak %3,8 Tri sodyum sitrat içeren, kan/antikoagulan solüsyon oranı 1/1). Kan örnekleri 3000 rpm'de 10 dakika santrifüj

edildikten sonra -70°C'de saklandı.

Doku faktörü düzeyinin çalışılması

Doku faktör antijeni monoklonal antikor anti-DF kullanılarak sandwich ELISA yöntemi ile hücre eriyiği süspansiyonlarında çalışıldı. Doku faktörü vorteks ajitasyonu ile 37°C'de 30 dakika pH 7,5 (60 µL) ortamda %0,1 BSA, %0,1 Triton X-100, 0,1 M NaCl, 0,05 M Tris/HCl ile hücre eriyiğinin (1 mL) inkübasyonu ile çözüldü. Tüp içeriği ELISA plaklarına alındı. ELISA üretici tavsiyelerine uygun olarak "Imubind Tissue Factor ELISA Kit (American Diagnostica)" ile çalışıldı. Sonuçlar pg/ml olarak verildi. Standart eğri rekombinant "human tissue factor lyophilized protein standart (American Diagnostica)" kullanılarak oluşturuldu.

İstatistik

Sonuçlar, ortalama ± Standard error of mean (SEM) olarak verildi. Değerler arasındaki karşılaştırmalar için non-parametrik testlerden Mann Whitney U testi kullanıldı, p<0,05 değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

Günde iki kez olmak üzere toplam 20 mg tamoksifen alan 10 meme kanserli hastanın plazma doku faktörü düzeyleri, tamoksifen almayan 10 meme kanserli hastanın sonuçları ile karşılaştırıldı. Her iki grup ortanca yaş (tamoksifen grubu 55 (range 40-69), kontrol grubu 53 (range 38-67), p=0,32), operasyondan sonraki ortanca süre (tamoksifen grubu 28 ay (range 17-42), kontrol grubu 26 ay (range 15-39) p=0,24), uygulanan kemoterapi sonrası ortanca süre (tamoksifen grubu 18 ay (range 9-33), kontrol grubu 16 ay (range 8-30), p=0,37) ve menapoz durumu (her iki grupta da 8'er hasta menapozda) açısından benzerdi. Grupları oluşturan hastaların demografik özellikleri **tablo 1**'de gösterilmiştir.

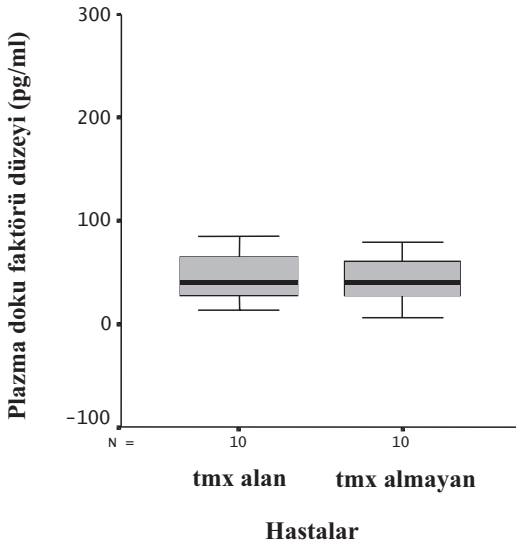
Tablo 1. Çalışma grubu ve kontrol grubunun karakteristik özellikleri

Karakteristik	Çalışma grubu (n)	Kontrol grubu (n)
Ortanca yaş	55 (range 40-69)	53 (range 38-67)
Operasyon sonrası ortanca süre	28 ay (range 17-42)	26 ay (range 15-39)
Kemoterapi sonrası ortanca süre	18 ay (range 9-33)	16 ay (range 8-30)
Hastalık evresi		
II	8 (80%)	7 (70%)
III	2 (20%)	3 (30%)

Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, tamoksifen ile tedavi edilen grupta plazma doku faktörü düzeylerinde hafif yükseklik gözlemlendi. Ancak bu yükseklik istatistiksel olarak anlamlı değildi.

($p=0.5$). Tamoksifen ile tedavi edilen grupta ortalama plazma doku faktörü düzeyi $63,87 \text{ pg/ml} \pm \text{SEM } 23,63$ (12,59-267,11) iken kontrol grubunda $42,83 \text{ pg/ml} \pm \text{SEM } 7,56$ (5,43-78,88) idi (**Şekil 1**). Her iki grupta da hiç bir hastada klinik belirti veren trombotik komplikasyon gözlenmedi.

Şekil 1. Çalışma grubu ile kontrol grubunun plazma doku faktörü düzeyleri



TARTIŞMA

Biz bu çalışmada, adjuvan olarak tamoksifen tedavisi alan erken evre meme kanserli hastalarda, tamoksifenin plazma doku faktörü düzeyleri üzerine etkilerini değerlendirdik. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında tamoksifen tedavisi alanlarda plazma doku faktörü düzeyini hafif oranda daha yüksek bulduk. Fakat bu artış istatistiksel olarak anlamlı değildi.

Son yıllara kadar tamoksifen kullanımına ilişkin tromboemboli riskindeki artış tartışılır düzeydeydi. Genellikle riskin minimal olduğu ya da kemoterapi ile kombine kullanıldığında arttığı belirtilmekteydi. Fakat (National Surgical Adjuvant Breast and Bowel and Project) NSABP çalışmasında tamoksifen tedavisinde kesin venöz tromboemboli riski olduğu rapor edilmiş ve bu riskin kanser varlığından ve kemoterapotik ajan kullanımından bağımsız olduğu vurgulanmıştır. Bu çalışmada 50 yaş üzerindeki kadınlarda tamoksifen alan grupta derin venöz tromboemboli ve pulmoner emboli insidansları plasebo grubu ile karşılaştırıldığında yüksek bulunmuştur. Tamoksifen kolunda tromboembolik komplikasyonların (17 pulmoner emboli, 30 derin ven trombozu olgusu) plasebo grubundan (6 pulmoner emboli, 19 derin ven trombozu olgusu) 2 kat daha fazla olduğu gözlenmiştir. 50 yaş altındaki kadınlarda ise artmış vasküler toksisite riski gözlenmediği bildirilmiştir⁷.

Erken evre meme kanserlerinde adjuvan tedavi

olarak tamoksifen tek başına kullanıldığında venöz tromboemboli riski yaklaşık %1-2'dir. Kemoterapi ile birlikte kullanıldığında ise yaşa, menapozal duruma ve olası kemoterapotik ajanların tipine bağlı olarak bu risk %10'a kadar artmaktadır⁸⁻¹⁰.

Tamoksifen için çeşitli trombotik mekanizmalar ortaya atılmış fakat hiçbiri iyi çalışılmamıştır. En kabul gören görüş tamoksifenin paradoksik östrojenik özelliğidir. Çünkü östrojenlerin antitrombin ve protein C seviyelerini azalttığı ve F1+2, trombin-antitrombin (TAT) kompleksi ile karakterize trombofilik duruma neden olduğu bilinmektedir⁴. Fakat koagulasyon belirteçlerindeki değişikliklerin klinik önemi halen tartışmalıdır. Manucci ve arkadaşları¹¹'nin yapmış olduğu randomize, 68 pre- ve post-menapozal kadını içeren bir çalışmada, pıhtılaşma faktörleri, antikoagulanlar ve fibrinoliz proteinleri değerlendirilmiştir (tamoksifen kullanan grup ile primer meme kanserini önleme protokolünün yürütüldüğü plasebo grubu arasında). Burada tamoksifen alan kadınlarda istatistiksel olarak anlamlı ölçüde antitrombin ve protein C düzeylerinde azalma olduğunu tespit etmişler, fakat koagulasyon aktivasyonu ya da fibrinolizi gösteren belirteçlerde (FpA, F1+2, TAT kompleksi, D-dimer) ise değişiklik gözlememişlerdir. Auger ve arkadaşları¹²'nin yapmış olduğu bir başka çalışmada ise tamoksifen tedavisinin koagulasyon sistemi üzerindeki etkileri 3-38 ay (ortalama 14 ay) arasında günde 2 kez, toplam 20 mg tamoksifen alan lokalize meme kanserli 16 hastada değerlendirilmiştir. Bu gruptaki çeşitli koagulasyon parametreleri (antitrombin, protein C, FpA ve in vitro monosit prokoagulan aktivite), tamoksifen almayan lokalize meme kanseri olan 15 hastalık diğer bir grup ile karşılaştırılmıştır. Tamoksifenin bu parametrelerde anlamlı bir değişikliğe neden olmadığı saptanmış ve daha önce tamoksifen alan metastatik meme kanserli hastalarda gözlemlendiği belirtilen azalmış antitrombin aktivitesinin, tamoksifenin koagulasyon sistemi üzerindeki direkt etkisi ile değil hastalık aktivitesi ile açıklanabileceğini vurgulamışlardır.

Kanser ile birlikte görülen hiperkoagulabilite durumunun doku faktörü ve faktör VIIa gibi koagulasyon faktörlerinin düzeylerindeki artışla da ilişkili olduğu bildirilmektedir⁵. Ek olarak 2 farklı çalışmadan; in vitro düzenlenmiş bir çalışmada¹³, doku faktörünün ekstrakorporal dolaşımında monositler üzerinde eksprese edildiği, ve klinik diğer bir çalışmada¹⁴ ise akut miyokard infarktüsünde direkt balon anjioplasti sonrasında yine monositler üzerinde doku faktörünün eksprese edildiği gösterilmiştir. Özellikle metastatik hastalarda olmak üzere meme kanserli hastalarda faktör VIIa ve doku faktörünün artmış seviyelerine ilişkin pek çok çalışma bulunmasına rağmen tamoksifenin doku faktörü seviyeleri üzerindeki etkilerini inceleyen çalışma bulunmamaktadır. Son yıllarda Nijziel ve arkadaşları¹⁵ meme kanseri hastalarında sağlıklı donörler ile karşılaştırıldığında anlamlı ölçüde aktive protein C

rezistansı olduğunu rapor etmişlerdir. Metastazı olan ve olmayan hastalar arasında ise aktive protein C rezistansı açısından fark bulunmamıştır. Bu çalışmada doku faktörüne dayalı aktive protein C tayini kullanılmış, hemostatik dengedeki bozukluğun kanser ilişkili koagulabiliteye bağlı olabileceği bildirilmiştir. Bizim çalışmamızda ise aktive protein C tayini yapılmamakla birlikte, tamoksifen grubunda plazma doku faktörü seviyelerinde hafif artış gözlenmiştir. Bu sonuç doku faktörüne dayalı aktive protein C rezistansı gelişimi açısından önemli olabilir.

Bu araştırmanın pilot bir çalışma olarak planlanması nedeniyle hasta sayısı ve takip süresi sınırlı tutulmuş ve elde edilen sonuçların verdiği bilgiler sınırlı olmuştur. Plazma doku faktörü düzeyinde tamoksifen ile belirli bir artış olduğu gösterilmiş olsa da çalışmanın gücünün düşük olması nedeniyle elde edilen sonuçlar, kesin bir bilgi sağlamak için yeterli değildir. Buna karşın kliniğimizde tamoksifen alan meme kanserli hastalarda tromboza eğilimin araştırılması ile ilgili yürütülen araştırmalarda değerlendirilmesi gereken bir parametre olduğu sonucuna varılmıştır. Ayrıca, tamoksifenin koagülasyon sistemindeki etkilerini göstermek bakımından plazma, monositler ve dokudaki doku faktörü düzeylerinin aktive protein C tayini kullanılarak değerlendirildiği ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

1. Harrington KJ, Bateman AR, Syrigos KN, Rintoul R, et al. Cancer-related thromboembolic disease in patients with solid tumors: A retrospective analysis. *Ann Oncol* 1997; 8: 669-673.
2. Lee AY, Levine MN. The thrombophilic state induced by therapeutic agents in the cancer patient. *Semin Throm Hemos* 1999; 25: 137-145.
3. Saphner T, Tormey DC, Gray R. Venous and arterial thrombosis in patients who received adjuvant therapy for breast cancer. *J Clin Oncol* 1991; 9: 286-294.
4. Caine YC, Bauer KA, Barzegar S, et al. Coagulation activation following estrogen administration to postmenopausal women. *Throm Haemost* 1992; 68: 392-395.
5. Kakkar AK, DeRuvo N, Chinswangwatanakul V, Tebbutt S, Williamson RCN. Extrinsic-pathway activation in cancer with high factor VIIa and tissue factor. *Lancet* 1995; 346: 1004-1005.
6. Nijziel MR, van Oerle R, Thomassen MCLGD, Hamulyak K, et al. Acquired resistance to activated protein C in breast cancer patients. *Thromb Haemost* 82: Abstract 980, 311, 1999.
7. Fisher B, Constantino J, Wickerham L, et al. Tamoxifen for prevention of breast cancer: Report of the National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project P-1 Study. *J Natl Cancer Inst* 1998; 90: 1371-1388.
8. Fisher B, Constantino J, Redmond C, et al. A randomized clinical trial evaluating tamoxifen in the treatment of patients with node-negative breast cancer who have estrogen-receptor-positive tumors. *N Engl J Med* 1989; 320: 479-484.
9. Pritchard KI, Paterson AHG, Paul NA, et al. Increased thromboembolic complications with concurrent tamoxifen and chemotherapy in a randomized trial of adjuvant therapy for women with breast cancer. *J Clin Oncol* 1996; 14: 2731-2737.
10. Rivkin SE, Green S, Metch B, et al. Adjuvant CMFVP versus tamoxifen versus concurrent CMFVP and tamoxifen for postmenopausal, node positive, and estrogen receptor-positive breast cancer patients. A Southwest Oncology Group Study. *J Clin Oncol* 1994; 12: 2078-2085.
11. Manucci PM, Bettega D, Charntarangkul V, et al. Effect of tamoxifen on measurement of hemostasis in healthy women. *Arch Intern Med* 1996; 156: 1806-1810.
12. Auger MJ, Mackie MJ. Effects of tamoxifen on blood coagulation. *Cancer* 1988; 61: 1316-1319.
13. Kappelmayer J, Bernabei L, Edmuns H, Edgington T, Colman R. Tissue factor is expressed on monocytes during simulated extracorporeal circulation. *Circ Res* 1993; 72: 1075-1081.
14. Ott I, Neumann FJ, Kenngott S, Gawaz M, et al. Procoagulant inflammatory responses of monocytes after direct balloon angioplasty in acute myocardial infarction. *Am J Cardiol* 1998; 82: 938-942.
15. Nijziel MR, van Oerle R, Christella M, Thomassen GD, et al. Acquired resistance to activated protein C in breast cancer patients. *Br J Haematol* 2003; 120: 117-122.

YAZIŞMA ADRESİ

Uğur YILMAZ
Dokuz Eylül Üniversitesi Onkoloji Enstitüsü
35340 İnciraltı-İZMİR

Tel : 0 (232) 412 37 21

Fax : 0 (232) 412 37 19

E-Posta : ugur.yilmaz@deu.edu.tr

Geliş Tarihi : 12.01.2004

Kabul Tarihi : 05.05.2004