

# Kronik karaciğer hastalığı olan çocukluklarda doğal antikoagülan düzeyleri

## Natural anticoagulant levels in children with chronic liver disease

E. Mahir Gülcan, Tufan Kutlu\*, Tülay Erkan\*, Fügen Çullu Çokuğraş\*

Yeditepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Çocuk Gastroenteroloji, Hepatoloji ve Beslenme Bilim Dalı, İstanbul, Türkiye  
\*İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Çocuk Gastroenteroloji, Hepatoloji ve Beslenme Bilim Dalı, İstanbul, Türkiye

### Özet

**Amaç:** Bu çalışmanın amacı, kronik karaciğer hastalığı olan çocuklarda doğal antikoagülan düzeylerini araştırmak, karaciğer hastalığının derecesinin saptanmasında bir gösterge olarak kullanılabilirliğini belirlemektir.

**Gereç ve Yöntem:** Hepatit B'ye bağlı kronik hastalığı olan 44 çocuk (26 kronik hepatit, 18 siroz) ile 20 sağlıklı kontrolün protein C, protein S ve antitrombin seviyeleri, sırası ile otomatik fonksiyonel pıhtılaşma yöntemi, otomatik fonksiyonel yöntem ve kromojenik yöntem ile ölçüldü.

**Bulgular:** Sirozlu grubun protein C değerleri kronik hepatitli olgularınki ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulundu. Bu iki grup arasında protein S ve antitrombin düzeylerinde anlamlı bir fark yoktu. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında kronik karaciğer hastalarında her üç doğal antikoagülan düzeyi anlamlı derecede düşük saptandı.

**Çıkarımlar:** Kronik karaciğer hastalığı olan çocuklarda doğal antikoagülanlarda azalma yaygındır ve protein C seviyeleri hepatoselüler hasarın bir göstergesi olarak kullanılabilir. (*Türk Ped Arş 2010; 45: 238-41*)

**Anahtar sözcükler:** Çocukluk çağı, doğal antikoagülanlar, karaciğer sirozu, kronik hepatit

### Summary

**Aim:** The aim of this study was to evaluate the serum levels of natural anticoagulants and their possible role as a marker in determining the severity of liver disease.

**Material and Method:** Protein C, protein S and antithrombin levels were measured in 44 children with hepatit B-related chronic liver disease (26 chronic hepatitis, 18 cirrhosis) and in 20 healthy controls using an automated functional clotting assay, automated functional assay and chromogenic assay, respectively.

**Results:** In comparison with chronic hepatitis patients, cirrhotics had significantly decreased protein C levels. There was no significant difference in protein S and antitrombin levels between these two groups. All anticoagulants were significantly reduced in chronic liver patients in comparison to the control group.

**Conclusions:** In children with chronic liver disease, reduction of natural anticoagulants is common, and protein C levels may used as a marker of hepatocellular damage. (*Turk Arch Ped 2010; 45: 238-41*)

**Key words:** Childhood, chronic hepatitis, liver cirrhosis, natural anticoagulants

### Giriş

Normal çalışan bir hemostaz sistemi doğrudan karaciğer işlevleri ile ilişkilidir. Karaciğer parankim hücrelerinde fibrinolitik sistem ile pıhtılaşma faktörleri ve koagülasyon inhibitörleri yapılmaktadır (1). Karaciğer koagülasyon proteinleri ile koagülasyon inhibitörlerinin yapılması ve fibrin yıkım ürünleri ile koagülasyon faktörlerinin uzaklaştırılması arasında karmaşık bir denge sağlayarak hemostazın devamında

önemli bir rol oynar (2). Protein C (PC), protein S (PS) ve antitrombin (AT) pıhtılaşmanın düzenlenmesi, fibrinoliz ve trombozun önlenmesinde çok önemli rol oynayan doğal antikoagülanlardır. Bunların eksiklikleri, kalıtsal veya karaciğer hastalıklarında olduğu gibi sonradan kazanılmış olabilir (3).

Çocuklarda veri olmamakla birlikte bu doğal antikoagülanların kronik karaciğer hastalıklarında, özellikle sirozlu hastalarda değişik derecelerde azaldığı bazı erişkin çalışmalarında gösterilmiş, bu hastalarda karaciğer hasarının

derecesini belirlemede bir gösterge olabileceği ileri sürülmüştür. Özellikle sirozlu hastalarda tromboz riskinin artmasına bağlı olarak portal ven trombozu (PVT) etiolojisinde doğal antikoagülan düzeylerinde düşüklüğün rol oynayabileceği bildirilmiştir (4-8).

Bu çalışmanın amacı, kronik hepatitli ve sirozlu çocuklarda PC, PS ve AT düzeylerini saptamak, karaciğer hasarının derecesini göstermede kullanılabilirliğini belirlemektir.

## Gereç ve Yöntem

Bu ileriye dönük çalışmaya Çocuk Gastroenteroloji, Hepatoloji ve Beslenme Bilim Dalı'nda 26'sı kronik hepatit, 18'i siroz olmak üzere hepatit B'ye bağlı kronik karaciğer hastalığı tanısı ile izlenen 44 hasta alındı. Kontrol grubu olarak herhangi bir hastalığı olmayan ve çeşitli nedenlerle kan alınan, hasta grubuyla istatistiksel olarak aralarında anlamlı fark olmayan benzer yaş ve benzer cinsiyet özelliklerine sahip sağlıklı 20 çocuk, ailelerinin izni alınarak çalışmaya dahil edildi.

Kronik hepatit B tanısı, serumda hepatit B yüzey antijeni (HBsAg) ve hepatit B e antijeninin (HBeAg) altı aydan uzun süre bulunması, birer ay arayla en az iki kez saptanan hepatit virüs DNA (HBV-DNA) pozitifliği (>10 pg/ml), son altı ay içinde yapılan karaciğer biyopsisinde kronik hepatit bulgularının saptanması ile konuldu. Bu grubu oluşturan olguların hiçbirinde hepatit C ve hepatit D virüsü enfeksiyonu, dekompanse karaciğer hastalığı, otoimmün hepatit, alfa-1-antitripsin eksikliği, Wilson hastalığı gibi diğer karaciğer hastalıkları yoktu. Bu olgular interferon ve/veya lamivüdin tedavisi gibi herhangi bir tedavi şeklinin daha uygulanmaya başlanmadığı dönemde çalışmaya alındı.

Siroz tanısı, klinik ve biyokimyasal bulgular ile karaciğer biyopsisi sonucunda histopatolojik inceleme sonucunda konuldu. Sirotik hastalar Pugh ve ark.'ları (9) tarafından tanımlanan Child-Pugh sınıflandırmasına göre Child A, B ve C olarak evrelendirildi. Bu sınıflandırmada ansefalopati ve asit varlığı ile bunların düzeyi, laboratuvar bulguları olarak da bilirubin, albümin değerleri ile protrombin zamanından oluşan toplam beş değışkene göre oluşturulan sirozun ağırlık derecesi belirlenmektedir.

Çalışma grubunu oluşturan tüm olgularda PVT tanısı, üst sindirim sistemi kanaması öyküsü, splenomegali varlığı, özofagus varislerinin endoskopik olarak tespiti, portal ve/veya splenik vendeki bloğun veya blok etrafında portal kavernöz oluşumun doppler ultrasonografi ile gösterilmesi ile koyuldu.

Kronik karaciğer hastalığı olan olgular ile kontrol grubunu oluşturan tüm çocuklardan PC, PS ve AT ölçümleri yapıldı.

Tüm hastalardan ve kontrol grubunu oluşturan çocuklardan büyük bir periferik venden, steril koşullarda venöz kan alındı. Bir kısım 3,8 g/dL (129 mmol/L) trisodyum sitrat ile dokuz kısım taze venöz kan karışımı örnek olarak kullanıldı.

Kan alınır alınmaz karıştırıldı ve 1000 x g'de 10 dakika santrifüj edilerek sitratlı plazma elde edildi.

Ayrılan tüm serum ve plazma örnekleri, bekletilmeden derin dondurucuya koyularak ölçüm yapıncaya kadar -20 °C'de (en geç bir aya kadar) saklandı.

Protein C düzeyleri, "IL Test ProClot (Instrumentation Laboratory, Italy)" kiti kullanılarak belirlendi. Bu test, "IL Koagülasyon Sistemi" üzerinde PC'nin insan plazmasında niceliksel tespitine yönelik bir otomatik fonksiyonel pıhtılaşma testi olup aktive PC varlığında, aPTT'nin uzaması esasına dayanır. Plazma örneklerinde aktive PC, "Angistrodan contortrix contortrix" yılanının venomundan elde edilen hızlı bir invitro PC aktivatörü olan "Protac" ile elde edilir.

Protein S düzeyleri, sitratlı insan plazmasında "IL Koagülasyon Sistemi" üzerinde PS'nin niceliksel tayinine yönelik otomatik fonksiyonel test yöntemi ile "IL Test Protein S (Instrumentation Laboratory, Italy)" kiti kullanılarak ölçülmüştür. Bu test ile PS'in fonksiyonel aktivitesi sığır tromboplastini, kalsiyum iyonları ve aktive PC varlığında protrombin zamanının uzama derecesinin ölçümü ile yapılmaktadır. Aktive PC, PS eksik olan plazmanın "Protac" ile aktive edilmesiyle elde edilir.

Antitrombin tayini, AT'nin heparin varlığında kuvvetli ve hızlı bir antitrombin aktivasyonuna sahip olması esasına dayanır. Yöntem, "IL Test Antitrombin III (Instrumentation Laboratory, Italy)" kiti kullanılarak iki aşamada uygulanmaktadır: 1) Heparin varlığında örneğin fazla miktardaki trombin ile enkübasyonu, 2) Rezidüel trombin aktivitesinin sentetik kromojenik substrat üzerinde tespiti. 450 nm'de gözlenen paranitroanilin salınımı, AT seviyesi ile ters orantılıdır.

Normal test değerleri PC için %66-129, PS için %61,9-145,3 ve AT için %80-120 idi.

İstatistiksel değerlendirmelerde gruplar arası kıyaslamalarda Kruskal Wallis tek yönlü varyans analizi, üçlü kıyaslamalardan sonra hangi iki grup arasında fark olduğunu saptamak için de Benferroni düzeltilmesi yapılmış Mann Whitney U testi kullanıldı. Sıklık dağılımlarının değerlendirilmesi için ise ki-kare testi yapıldı. İstatistiksel olarak p<0,05 anlamlı kabul edildi.

## Bulgular

Kronik karaciğer hastalığı olan 44 olgu içinde kronik hepatit B'li 26 olgunun yaş ortalamaları 9,1±4,6 yıl, 10'u kız, 16'sı erkek, sirozlu 18 olgunun yaş ortalamaları 9,1±3,2 yıl, 7'si kız, 11'i erkek idi. Kontrol grubu ise yaş ortalamaları 10,7±2,9 yıl olan 7'si kız, 13'ü erkek 20 çocuktan oluşmaktaydı. Her üç grup arasında yaş ve cins olarak istatistiksel açıdan anlamlı bir fark yoktu (p>0,05). Sirozlu olguların tümü Child-Pugh sınıflandırmasına göre Child A evresinde idi.

Sağlıklı kontrol grubundaki çocuklarda ortalama+SS PC düzeyi %106,6±10,8, PS düzeyi %100,5±16,2 ve AT düzeyi %129,2±17,7 bulundu. Bu gruptaki tüm olguların doğal antikoagülan düzeyleri normal sınırlar içindeydi. Kronik ka-

raciğer hastalığı grubunu oluşturan kronik hepatit B ve sirozlu toplam 44 olguda ortalama±SS PC düzeyi %70,5±28,3, PS düzeyi %75,5±30,6 ve AT düzeyi ise %108,7±27,4 idi. Bu üç antikoagülan düzeyi açısından kronik karaciğer hastaları ile kontrol grubu karşılaştırıldığında aralarındaki fark istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulundu ( $p<0,05$ ).

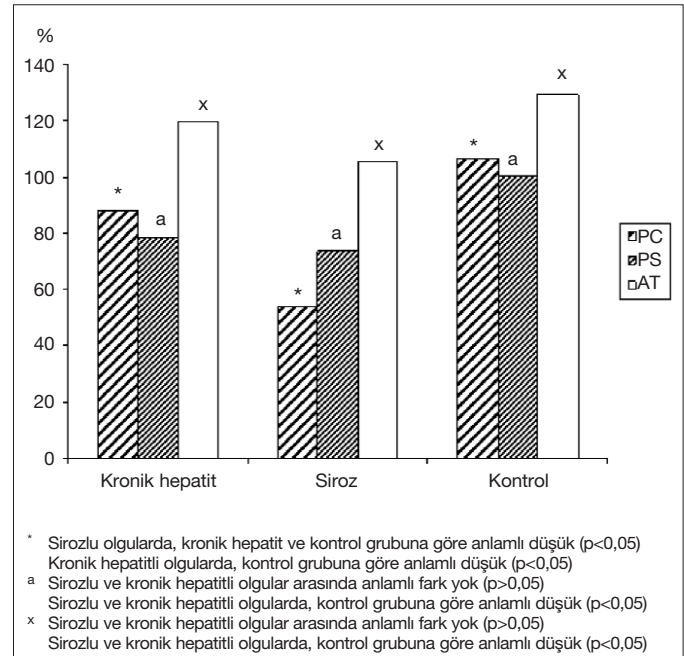
Kronik hepatitli olgularda ortalama±SS PC düzeyi %87,9±19,9, PS düzeyi %78,4±23,8, AT düzeyi %119,9±19, sirozlu olgularda PC düzeyi %53,7±11,7, PS düzeyi %73,8±16,1 ve AT düzeyi %105,5±25,2 idi. Normal değerlerin altında doğal antikoagülan düzeyi olan olgu sayıları ise kronik hepatitli ve sirozlularda sırası ile PC için 8 (%30) ve 14 (%77), PS için 7 (%26) ve 6 (%33), AT için 7 (%26) ve 6 (%33) bulundu. Sirozlu grubun kronik hepatitli olgularla karşılaştırıldığında PC değerleri istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük saptandı ( $p<0,05$ ). Bu iki grup arasında PS ve AT aktiviteleri arasında ise anlamlı bir fark bulunmadı. Her iki hasta grup ile kontrol grubu arasında PC, PS ve AT değerleri açısından fark anlamlı idi ( $p<0,05$ ). Tablo 1'de olguların genel özellikleri ve doğal antikoagülan düzeyleri, Şekil 1'de ise istatistiksel olarak karşılaştırılmaları gösterilmiştir. Kronik karaciğer hastalığı olan olguların hiçbirinde PVT tespit edilmedi.

## Tartışma

Karaciğer parankimal hücrelerinde fibrinolitik sistem ile pıhtılaşma faktörleri ve koagülasyon inhibitörleri yapılıması ve aktivasyon ürünlerinin temizlenmesinde karaciğerin önemli bir rolü olmasından dolayı hemostazdaki bozukluk, karaciğer hasarının boyutlarına bağlıdır. İleri derecede bir bozukluk özellikle karaciğer sirozlu hastalarda ortaya çıkmaktadır. Protein sentezindeki bozulma nedeniyle, çoğu pıhtılaşma faktörleri ve inhibitörleri ile fibrinolitik sistem önemli derecede bozulur (1,8,10).

Çocuklarda veri olmamakla birlikte doğal antikoagülanlar olan PC, PS ve AT'nin kronik karaciğer hastalığı olan erişkinlerde değişik derecelerde azaldığı bazı çalışmalarda

gösterilmiştir (4-8). Özellikle sirozlu olgularda PC, PS ve AT'nin önemli derecede azaldığı ve hemostaz aktivasyon göstergelerinden biri olan D-Dimer ile aralarında negatif bir ilişki olduğu, hemostaz aktivasyonu ile antikoagülan potansiyeli arasındaki ilişkinin varlığı gösterilmiştir (4). Bazı araştırmacılar ise ileri derecede karaciğer hasarlı olgularda, PC ve AT seviyelerinde önemli bir azalma saptarlarken, bu azalmayı PS'de çok daha düşük oranlarda bulmuşlardır. Özellikle viral hepatitli hastalarda azalmış PC seviyesinin karaciğerin sentez işlevlerinin düzelmesinin erken bir göstergesi olarak kullanılabileceği bildirilmiştir (5,11). Protein C ve AT seviyeleri Child C sirozlu hastalarda önemli derecede düşük, ancak karaciğer hasarının derecesi ile ilişkili olmadığı bulunmuş ve bu sonuçlarla PC'nin hepatoselüler hasarın önemli bir göstergesi olabileceği sonucuna varılmıştır (12). Gürsoy ve ark.'ları (10) viral etkenler sonucu oluşan kronik hepatitli olgularda antitrombin düzeylerinin hasarın derecede-



Şekil 1. Doğal antikoagülanların dağılımı (% ortalama)

Tablo 1. Olguların genel özellikleri ve doğal antikoagülan düzeyleri

	KHB	Siroz	Kontrol
n	26	18	20
Yaş (yıl)	9,1±4,6	9,1±3,2	10,7±2,9
Cins (K/E)	10/16	7/11	7/13
PC (%)	87,9±19,9* 8 (30)#	53,7±11,7* 14 (77)#	106,6±10,8* 0 (0)#
PS (%)	78,4±23,8* 7 (26)#	73,8±16,1* 6 (33)#	100,5±16,2* 0 (0)#
AT (%)	119,9±19* 7 (26)#	105,5±25,2* 6 (33)#	129,2±17,7* 0 (0)#

PC: protein C, PS: protein S, AT: antitrombin, \*: ortalama±SS, #: normalin altında değeri olan hasta sayısı (%), KHB: kronik hepatit B

sinin erken dönemde tespit edilmesinde bir belirteç olarak kullanılabileceğini, sirozlu hastalarda ise özellikle PC ve PS'nin faydalı olduğunu bildirmişlerdir. Al-Gumlas ve ark.'ları (8,13) akut hepatit, kronik viral hepatit, siroz ve hepatoselüler karsinomlu hastaları içeren çalışmalarında AT ve PC düzeylerinin akut hepatit, siroz ve karsinomlu hastalarda anlamlı derecede düştüğünü, PS düzeylerinin ise sağlıklı kontrollerle karşılaştırıldığında tüm hasta gruplarında belirgin olarak azaldığını göstermişlerdir.

Bizim olgularımız içinde sirozlu ve kronik hepatitli olguların PC, PS ve AT aktiviteleri sağlıklı kontrol grubuna göre her üç doğal antikoagülan için de istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulundu. Sirozlu grubun PC aktiviteleri kronik hepatitli olgulardan düşük bulunurken, PS ve AT değerleri açısından ise fark anlamlı değildi. Bu duruma çalışma grubumuzda Child B ve C evresinde sirozlu hastamızın olmamasının da etkisi olabileceği düşünüldü.

Karaciğer hastalığı olanlarda koagülasyon faktörlerinin eksikliği, trombosit disfonksiyonu, trombositopeni, disfibrinemi, ve artmış fibrinolitik genellikle kanama diyatezinde artış ile kendini gösterirken aksine doğal antikoagülanların azalması tromboz riskinde artmaya neden olur (10). Hiperkoagülopatiyeye neden olan birincil veya kazanılmış koagülasyon defektleri PVT veya Budd-Chiari sendromlu hastalarda saptanmıştır. Protein S ve AT eksikliği PVT'li hastalarda çok az sıklıkta bildirilmekle birlikte PC eksikliği %30 civarında saptanmıştır (14). Buna karşın karaciğer hastalıklarında doğal antikoagülan seviyelerindeki düşüş genellikle koagülasyon faktörlerindeki azalma ile dengelendiğinden belirgin bir tromboz riskinin bu hastalarda görülmediği, PC, PS ve AT aktiviteleri ile PVT görülmesi arasında anlamlı bir ilişki bulunmadığı bildirilmektedir (3,11). Bu veriler ile uyumlu olarak Child A evresinde olan sirozlu olgularımızın hiçbirinde PVT saptanmamıştır.

Kronik karaciğer hastalığı olan çocuklarda doğal antikoagülan düzeylerinde belirgin bir azalma olduğunu saptadığımız bu çalışmada özellikle protein C seviyelerinin hepatoselüler hasarın bir göstergesi olarak kullanılabilmesi sonucuna varıldı. Doğal antikoagülan düzeylerindeki düşüklükler, birincil hastalık tabloları ve kontrol grubunun sonuçları nedeni ile edinsel olarak kabul edildi. Kronik karaciğer hastalıklı ve kompanse sirozlu çocuklarda doğal antikoagülan seviyeleri ile PVT arasında bir ilişki saptanmadı. Bu sonuçları, olgu sa-

yıları ile, Child B ve C sirozlu olguların çalışma grubumuzda olmamasının da etkilediğini düşünmekteyiz. Ancak bu konuda çocukluk çağı verileri olmadığından sonuçlarımızın sınanması için daha fazla çalışmaya ve geniş serilere gereksinim vardır.

## Kaynaklar

1. Mammen EF. Coagulation defects in liver. Med Clin North Am 1994; 78: 545-54.
2. Shepherd R. Complications and management of chronic liver disease. In: Kelly DA (ed). Diseases of the Liver and Biliary System in Children. London: Blackwell Science, 1999: 189-210.
3. Olcay L, Gürgey A. Herediter trombotik hastalıklar. Katkı Pediatri Dergisi 1995; 16: 887-907.
4. Vukovich T, Teufelsbauer H, Fritzer M, Kreuzer S, Knoflach P. Hemostasis activation in patients with liver cirrhosis. Thromb Res 1995; 77: 271-8. (Abstract) / (PDF)
5. De Caterina M, Tarantino G, Farina C, et al. Haemostasis unbalance in Pugh-scored liver cirrhosis: characteristic changes of plasma levels of protein C versus protein S. Haemostasis 1993; 23: 229-35. (Abstract)
6. Dumontier I, Alhenc-Gelas M, Chatellier G, Brenet P, Aiach M, Petite JP. Changes in levels of blood coagulation inhibitors in cirrhosis. Prospective study in 33 patients. Gastroenterol Clin Biol 1992; 16: 120-5. (Abstract) / (Full Text)
7. Al Mofleh IA, Al Faleh FZ, Allam A, Gader AM. Blood coagulation changes in liver disease. Troph Geogr Med 1989; 41: 247-53. (Abstract)
8. Al-Ghumlas AK, Abdel Gader AGM, Al Faleh FZ. Haemostatic abnormalities in liver disease: could some haemostatic tests be useful as liver function tests? Blood Coagul Fibrinolysis 2005; 16: 329-35. (Abstract)
9. Pugh RN, Murray-Lyon IM, Dawson JL, Pietroni MC, Williams R. Transection of the oesophagus for bleeding oesophageal varices. Br J Surg 1973; 60: 646-9. (Abstract) / (PDF)
10. Gürsoy Ş, Mevlüt B, Torun E, et al. Important of anticoagulant proteins in chronic liver diseases. Turk J Gastroenterol 2005; 3: 129-33. (Abstract) / (Full Text) / (PDF)
11. Sezgin O, Oguz P, Ayaz S. Alterations in serum levels of the natural anticoagulants in chronic liver diseases and their relations to thrombosis. Turk J Gastroenterol 1998; 4: 313-6.
12. Raya-Sanches JM, Gonzales-Reimers E, Rodriguez-Martin JM, et al. Coagulation inhibitors in alcoholic liver cirrhosis. Alcohol 1998; 15: 19-23. (Abstract) / (PDF)
13. Al-Ghumlas AK, Abdel Gader AGM, Al Faleh FZ. Natural anticoagulants and fibrinolytic activity following interferon therapy in chronic viral hepatitis. Blood Coagul Fibrinolysis 2008; 19: 263-7. (Abstract)
14. Amitrano L, Brancaccio V, Guardascione MA, et al. Inherited coagulation disorders in cirrhotic patients with portal vein thrombosis. Hepatology 2000; 31: 345-8. (Abstract) / (PDF)