

Trombomodulin

Trombomodulin

Tufan Ermiş

Nevbahar Turgan

Biltan Ersöz

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı, Bornova, İzmir

ÖZET

Trombomodulin (TM), proteoglik an yapısında gl ikozile bir transmembran proteindir. Endotel hücrelerinde lokalize trombin reseptörüdür. Trombin fonksiyonları üzerinde düzenleyici rolü nedeniyle trombomodulin olarak isimlendirilmiştir. 557 amino asitten oluşur. Fonksiyonlarının bir kısmını trombinle kompleks yaparak protein C ve trombinle aktive edilen fibrinolizis inhibitörü (TAFI) üzerinden; bir kısmını da trombinden bağımsız olarak yapar. Trombinden bağımsız olarak inflamasyon, embriyogenez, inme, kanser, diyabet ve kollajen vasküler hastalıklarda etkindir.

Protein C, FVa ve FVIIIa'yı inaktive eden fizyolojik bir antikoagülandır. Aktivasyonu TM varlığına bağlıdır. Bu etkisinden dolayı TM, koagülasyon ve fibrinolitik süreçler arasındaki dengede önemli bir rol oynar.

TM gen polimorfizmleri nadir olmakla birlikte, toplumda sık görülen diyabet, ateroskleroz gibi hastalıkların patogeneğinde önemli görünmektedir. Tedavide kullanımı halen deneme aşamasındadır.

Anahtar Sözcükler: Trombomodulin, trombin, protein C, antikoagülan, tromboemboli, inflamasyon, fibrinoliz

ABSTRACT

Trombomodulin (TM) is a 557 amino acid a glycosylated transmembrane protein and is a thrombin receptor located on endothelial cell surface. It was named as thrombomodulin due to its modulator role on the functions of thrombin. While a part of TM's physiological functions are through the activity of the TM-thrombin complex on protein C and on thrombin activated fibrinolysis inhibitor (TAFI), a substantial number TM functions are independent from thrombin. The latter includes TM's effects on inflammation, embryogenesis, stroke, cancer, diabetes mellitus and collagen vascular disease.

Protein C is a physiological anticoagulant protein which inactivates FVa and FVIIIa, thus inhibiting excessive coagulation. Activation of Protein C is dependent on TM availability, rendering TM an important an important actor in the regulation of the coagulation and fibrinolytic cascades.

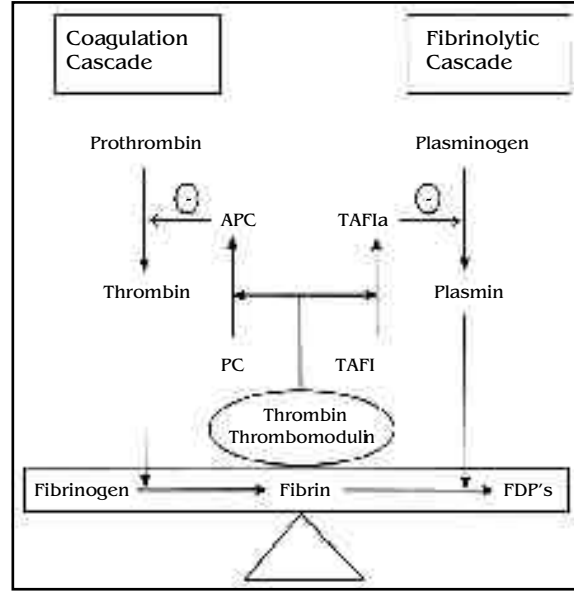
TM gene polymorphisms are rare but important in the pathogenesis of some common disease states like vascular diseases and angiopathic complications of diabetes. Therapeutic usage of TM in several pathological conditions including septic shock and vascular pathologies is under current investigation.

Key Words: Trombomodulin, thrombin, protein C, anticoagulant, thromboembolism, inflammation, fibrinolysis

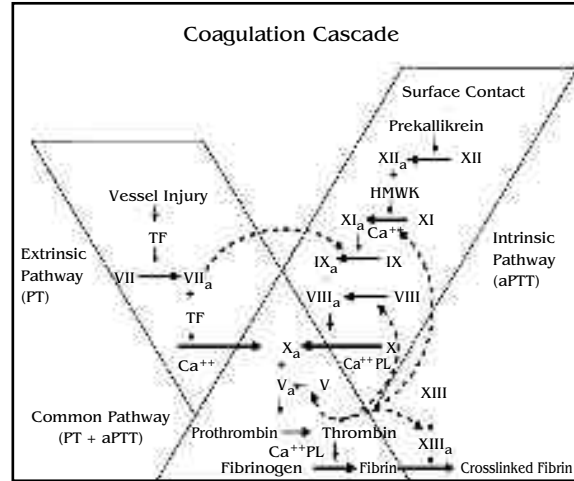
GİRİŞ

Hemostaz, koagülasyon ve fibrinoliz arasındaki hassas dengenin sonucunda oluşan bir fizyolojik süreçtir. Bu dengenin koagülasyon lehine bozulması trombüs oluşumuna, fibrinoliz artışına ise kanamaya neden olmaktadır (1). Trombomodulin (TM), endotel hücrelerinde lokalize trombin reseptörüdür (2). Endotel hücreleri yüzeyinde bulunan antikoagülant etkili bir integral membran glikoproteinidir olup trombin ile 1:1 kompleks oluşturur. TM'in 1981'de iki Amerikalı bilim adamı Esmon ve Owen tarafından keşfi, protein C'nin antikoagülasyondaki rolüne de dikkat çekmiştir. Protein C antikoagülant yolağının başlangıcındaki kritik rolünün keşfinden sonra, TM'in biyokimyasal yapısı, işlevleri üzerinde yoğun olarak çalışılmaya başlanmıştır. Trombinin, bu yüksek afiniteli reseptörüne bağlanması, trombinin substrat spesifitesinde değişikliğe yol açar. TM, protrombotik etkili trombinin fizyolojik bir antikoagülana dönüştürür. Trombinin işlevini bu şekilde modüle etme özelliğinden dolayı trombomodulin olarak adlandırılmıştır. Trombin-trombomodulin kompleksinin protein C'yi aktifleme gücü, tek olarak trombinin etkisinden 1000 kez yüksektir. Aktive protein C, kofaktörü protein S ile birlikte FVa ve FVIIIa'yı parçalayarak protrombotik aktiviteyi azaltır. PC ve trombin üzerinden oluşturduğu antikoagülant etkilerin yanı sıra, son zamanlarda, fibrinoliz, inflamasyon, kanser ve embriyogenezle ilişkili olarak PC ve trombinden bağımsız etkileri de güncel araştırmalara konu olmaktadır (3) (Şekil 1a ve 1b).

İlk olarak 1960'da trombin ile muamele edilen plazmada antikoagülant aktivitenin gösterilmesi ile başlayan tarihsel süreçte, Stenflo tarafından 1976'da protein C'nin keşfi önemli bir kilometre taşıdır. Bu gelişmeden kısa bir süre sonra 1981'de Esmon ve Owen protein C aktivatörünün plazmada değil endotel hücrelerinde olabileceğini ileri sürerek keşfettikleri bu bileşiğe trombomodulin (TM) adını verdiler. TM önce tavşan akciğere izole edildi. Sonra insan plasenta-



Şekil 1a. Hemostatik dengede trombomodulinin rolü (APC: aktive protein C, TAFIa: trombinle aktive edilen fibrinoliz inhibitörü, PC: protein C, FDP's: fibrin yıkım ürünleri).



Şekil 1b. İntrensek ve ekstrinsek pıhtılaşma yolları.

sından, sığır, fare ve sıçan akciğerinden izolasyon yapıldı (4).1987'de insan TM'nin DNA dizini ilk kez Wen ve ark. tarafından tanımlandı (3).

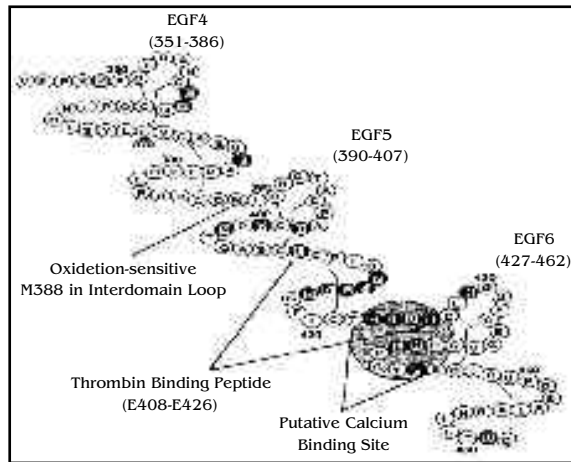
TROMBOMODULİN (TM) GENİNİN BİYOKİMYASAL YAPISI

Önemli bir vazoprotektif molekül olan TM, bir transmembran protein olup konstitütif olarak başlıca endotel hücrelerinde eksprese edilir. Molekülün büyük bir kısmı ekstra-

sellüler olup, trombin bağlayıcı bölge de burada bulunur. TM-trombin kompleksi hücre içine alınarak endotel hücresi içinde parçalanır. Bu şekilde, TM, arter duvarını koruyucu ve trombotik eğilimi azaltıcı etki oluşturur. TM geninin ekstrasellüler kısmı ayrılarak dolaşıma geçer ve solübl TM olarak adlandırılır.

Doku Trombomodulin (hücresel form)

Glikozile tip 1 transmembran molekülü (intrensek membran glikoproteini). 557 amino asitten oluşan tek bir zincirden meydana gelir. 60.3 kD ağırlığındadır. TM geninin yapısı NMR spektroskopisi ve X-ışını kristalografisi ile incelendiğinde aşağıdaki kısımlardan oluştuğu gözlenmiştir: 21 a.a.'den oluşan bir sinyal peptidi, 223 a.a.'den oluşan bir amino terminal ligand bağlayıcı bölgesi (hidrofob), bu kısım C-tipi lektinlerle yapısal benzerlik gösterir, reseptör endositozundan sorumlu olan kısımdır, tümör büyümesi ve endotel inflamasyonunun düzenlenmesinde etkindir. 236 a.a.'den oluşan EGF ile homolog kısmı, : tekrarlayan 6 bölümden oluşur. EGF 4.-5.-6. bölgeler kalsiyum, trombin, protein C'yi; EGF 3 ise trombinle aktive edilen fibrinolizis inhibitörü (TAFI) bağlayan kısımları içerir. Bölgeler arasında disülfid bağları bulunur. EGF, TM'nin posttranslasyonel modifikasyonunda sinyal fonksiyonu görür (1,3,4,5). (Şekil 2). 34 a.a.'den oluş-



Şekil 2. TM geni üzerindeki EGF bölgeleri 4, 5 ve 6, trombin ve kalsiyumu bağlayan bölgeler.

şan bir serin ve treoninden zengin bölgesi, (posttranslasyonel glikozilasyona uğrar, kondroitin sülfat içerir). Kondroitin sülfat, trombin yüzeyine bağlanır, heparinle etkileşerek trombinin TM'e olan affinitesini 10-20 kat artırır. Böylece trombinin konformasyon ve spesifitesini değiştirerek daha güçlü bir koagülasyon inhibitörü olmasını sağlar (5,6). 23 a.a.'den oluşan ve membranı kateden (transmembran) bir kısım: Endotel membranına tutunmayı sağlar (5). 38 a.a.'den oluşan bir karboksi terminal sitoplazmik kuyruk (serbest sistein içerir) sinyal iletiminde ya da proteinlerarası etkileşimde rol aldığı bilinen ve bugüne kadar yapısı aydınlatılmış hiçbir proteine benzemeyen bir yapıya sahiptir (3,5). Fosforilasyon için hedef bölgelerden biridir. Fosforilasyon, artmış endositoz ve yıkım için gereklidir (4).

EGF-benzeri bölgeler taşıyan ve bu nedenle TM ile yapısal homoloji gösteren diğer proteinler arasında pıhtılaşma faktörleri VII, IX ve X, protein C, doku plasminojen aktivatörü ve ürokinaz sayılabilir.

Solübl TM

Hücresel formun ekstrasellüler kısımlarına topluca verilen addır. Yapısında transmembranik bölge, oligosakkarid zincir ve sitoplazmik kuyruk bulunmaz (5). Plazma ve idrarda saptanır. Sağlıklı bir kişinin plazmasında 20 ng/ml düzeyinde bulunur. Endotel fonksiyonlarının bir göstergesi olarak kabul edilir (7).

Trombomodulin geni

İnsan trombomodulini 20. kromozom üzerinde ve tek kopya olarak yer alır. Gen, intron taşımaz (8). İntronsuz genlerin avantajı azalmış mRNA işleme işine bağlı olarak artmış protein sentezi olabileceği ileri sürülmüştür. Vücudumuzdaki diğer intronsuz genler: beta adrenerjik reseptörler, alfa ve beta interferon, rodopsin, anjiogenin, bazı memeli ısışok genleri ve mitokondrial genlerdir. Northern blot hibridizasyonu ile TM mRNA'sının 3700

baz, cDNA'sının ise 3693 baz içerdığı gösterilmiştir (4).

TM gen ekspresyonunun kontrolü

TM geni 3' bölgesinde cAMP cevap elementi, 5' bölgesinde retinoik asit cevap elementi bulunur. C-AMP'yi ve retinoidleri arttıran ajanlar TM ekspresyonunu artırır. IL-4 ve Vasküler epitelyal büyüme faktörü (VEGF) TM ekspresyonunu baskılar. İnflamatuvar cevap sürecinde damarsal yapıları trombotik hasardan korumak için histamin ve ilave diğer mediatörler TM sentezini uyarırlar. Ancak genelde, IL-1, endotoksin, TNF- α , TGF- β gibi inflamatuvar mediatörler ve viral enfeksiyonlar, TM fonksiyonlarını azaltırlar. Hipoksi, c-AMP cevap elementi yoluyla TM ekspresyonunu azaltır. TM salınımı azaltan bir diğer faktör, inflamasyon sırasında ortaya çıkan aktiflenmiş lökositlerin endotel hücreleriyle etkileşimidir. Nötrofil elastaz enzimiyle salınan proteolitik ürünler TM'inin yıkımını uyarır. TNF, nötrofil elastaz ile endotel hücrelerinden TM salınımını artırır (4).

TM lokalizasyonu

TM esas olarak kapiller damar sisteminde bulunur. İmmünohistokimyasal çalışmalarda lenfatik ve kan damarlarında varlığı gösterilmiştir. İstisna olarak Santral sinir sistemi lenfatikleri ve hepatik sinüoidler, lenf nodlarının postkapiller venüllerinde bulunmaz.

Plasentada sinsitiotroblastlarda bulunmaktadır (4). Koriokarsinomda TM ekspresyonu izlenmiştir. Tavşanlarda yapılan bir histokimyasal çalışmada bağ dokusu, kas dokusu, sekretuvar epitel ve nöronal dokuda TM bulunmamışken, plevra, perikard gibi non-vasküler alanlarda varlığı gösterilmiştir (9). İnsan trombositlerinde hücre başına 60 TM molekülü bulunmaktadır. Bu oran endotel hücrelerinde 50 000 ila 100 000 arasındadır. İnsan kan ve idrarında da tespit edilmiştir. Solubl TM in vitro ortamda kan pıhtılaşmasında fonksiyoneldir. Protein C'ye olan afinitesi doku TM'den 2 kat fazladır.

TROMBOMODULİNİN İŞLEVLERİ

TM'in antikoagülan işlevi, trombin ve protein C ile etkileşimi ile ortaya çıkar. Endotel hücrelerinin membranına bağlı olarak bulunan TM, trombine yüksek afinite ile bağlanır. Oluşan TM/trombin kompleksi, trombinin fibrinojenle etkileşimini inhibe, protein C'yi güçlü bir şekilde aktive ederek antikoagülan etki gösterir. Aktive protein C (APC), FVa ve FVIIIa'yı inaktive ederek daha fazla trombin oluşumunu engeller. Aktive protein C (APC), FVa ve FVIIIa'yı parçalamanın yanı sıra, lökosit aktivasyonunu inhibe ederek sepsisdeki organ hasarı ve mikrotrombüs oluşumunu azaltır (10).

Inflamasyonda aktive nötrofillerden salınan proinflamatuvar sitokinler (intersellüler adhezyon molekülü-1 (ICAM-1) TM/APC sisteminde bozukluğa yol açar, sepsisdeki DIC'un nedeni budur (11). Ayrıca, APC antiapoptotik etkilidir (12). Protein C'yi aktiflemesinin yanı sıra, TM, trombinin prokoagülan aktivitesini de inhibe eder, bu şekilde trombinin: fibrinojeni ve faktör V'i aktive edici, trombosit agregasyonunu artırıcı, protein S'yi inaktive edici etkileri ortadan kalkar.

TM-Trombin ilişkisi

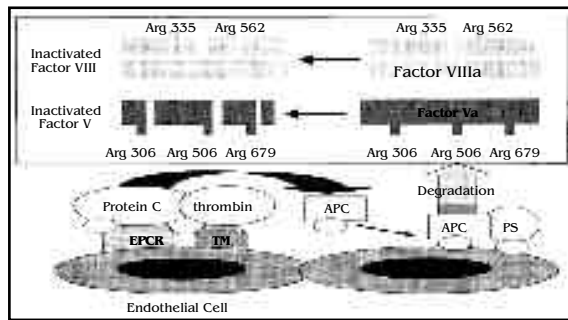
Trombin, koagülasyon sisteminde koagülan, prokoagülan ve antikoagülan özellikte en önemli proteinlerden biridir. Trombin serin proteazların kimotripsin ailesinin üyesidir (13). TM, trombinin fibrinojen ve trombosit bağlayıcı bölgelerini maskeleyerek, trombinin bunlar üzerine olan etkilerini bloke eder (2). Serbest trombin güçlü bir prokoagülan enzimken, TM'e bağlandığı zaman antikoagülan ve antifibrinolitik özellik kazanmaktadır. Vasküler hasara cevapta, koagülasyon kaskadında üretilen serbest trombin pıhtı oluşmasını katalizler. Bu arada oluşan trombin/trombomodulin kompleksi koagülasyon kaskadını inhibe eder.

Trombin koagülasyon kaskadının sonunda olduğu için feedback işleminde kritik role sahiptir aynı zamanda hemostasisin mediatör-

lüğünü de yapmaktadır. Dolayısıyla trombinin aktivasyon ve inhibisyonu tüm koagülasyon sistemini etkileyecektir. Fibrinojen, trombinin substratıdır ve fibrin haline çevrildikten sonrada trombine bağlı kalmayı sürdürmektedir. TM gen ablasyonu yapılan farelerdeki deneylerde, canlı doğanlarda kısa zamanda arter ve venlerde yaygın ve spontan koagulopati nedeniyle ölüm görülmüştür (5).

Protein C

Protein C doğal antikoagülan sistemin bir parçasıdır. Esas olarak etkisini FVa ve FVIIIa'nın proteolitik yıkımı ile gösterir. Endotel hücre yüzeyindeki TM trombine bağlanır, trombinde konformasyonel değişim olur (14). Normalde trombinin protein C'ye sınırlı bir etkisi vardır. TM'nin yakınında yer alan endotel hücre protein C reseptörü (EPCR), inaktif haldeki protein C'ye bağlanır. Trombin-protein C etkileşimi sonucu protein C aktif hale gelir. (Şekil 3). Aktifleşme ağır zincirdeki 169. pozisyondaki arjininin koparılmasıyla sağlanır. Protein C endotel hücre yüzeyinden salınır, protein S'ye bağlanır. Protein S bir diğer K vitaminiye bağlı faktördür. Endotel hücresi veya trombositlerin fosfolipid yüzeyinde bulunur. Protein C, kofaktörü protein S ile birlikte FVa ve FVIIIa'yı inaktive eder. Protein C'nin antikoagülan etkileri yanında son çalışmalarda inflamatuvar cevabın regülasyonunda ve anti-apoptozda görevli olduğu üzerinde durulmaktadır (15).



Şekil 3. TM/trombin kompleksi-protein C etkileşimi (14 no.lu kaynaktan alınmıştır).

TM'in fibrinoliz üzerine etkileri

TM'in antifibrinolitik etkisi trombin üzerinden ve trombinden bağımsız olmak üzere iki farklı mekanizma ile ortaya çıkmaktadır. TM, trombinle aktive edilen fibrinoliz inhibitörü (TAFI)'nin aktivitesini uyararak, fibrin pıhtılardaki plazminojenin aktivasyonunu ve sonuçta fibrinolizi inhibe eder. Karboksipeptidaz yapısındaki TAFI, TM ile aktive olduktan sonra, fibrin molekülünün karboksit terminalindeki arjinin ve lizini uzaklaştırarak, fibrinolitik enzimlerin fibrin molekülü tarafından tutulmasını önler. Bu şekilde fibrin molekülü lizise dirençli duruma gelir.. TM / trombin kompleksi, TAFI'in yanısıra, ürokinaz plazminojen aktivatörü (uPA) ile de etkileşir (3). u-PA, plazminojeni plazmine çevirerek fibrinoliziste rol alır. TM, uPA'nın inaktivasyonunu hızlandırır (16). TM, trombosit faktör 4'ü uyararak trombosit agregasyonunu ve degranülasyonu hızlandırır. Prokoagülan etki gösterir. Ayrıca trombosit faktör-4, faktör XII'yi yıkarak antikoagülan olarak davranır. TM, bu etkileri trombinden bağımsız olarak gösterir (17).

TM ve inflamasyon

İnflamasyon ve koagülasyon arasındaki kısır döngü başta ateroskleroz ve diyabet gibi sık rastlanan hastalıklar başta olmak üzere, inflamatuvar barsak hastalığı ve romatoid artrit gibi pek çok hastalığın patogeneğinde etkin rol oynar (18-20). İnflamatuvar süreçler, bir yandan koagülasyonu tetiklerken, doğal antikoagülanların yetersizliği de inflamatuvar süreçleri uyarıcı etki yapmaktadır. Sepsis gibi akut inflamatuvar durumlarda doğal antikoagülanların etkili olması da bunu doğrular.

İnflamasyon, trombositlerin prokoagülan aktivitesini artırır. İnflamasyon sonucunda ortaya çıkan kompleman aktivasyonu, apoptoz ve nekroz, koagülasyonun başlayıp sürdürülebilmesini kolaylaştıran membran yüzeylerinin oluşumunu artırırken, IL-6 gibi mediatörler trombosit sentezini uyarır, yeni sentezlenen bu trombositler daha trombojeniktir (10). Doğal antikoagülan mekanizmalar arasında

protein C yolağı, inflamasyonun baskılayıcı etkisine çok duyarlıdır. Endotoksin, IL-1 ve TNF- α , TM ve EPCR sentezini baskılayarak APC konsantrasyonlarını düşürür. Endotel hücresi yüzeyinde nötrofil aktivasyonu sonucunda salınan nötrofil elastaz, TM aktivitesini inhibe eder. Ayrıca, aktive nötrofillerden salınan oksidanlar, TM'deki methioninlerde oksidasyona yol açarak TM aktivitesini bozarlar. Sepsisli hastalarda hem TM hem de EPCR'nin azaldığı immünohistokimyasal yöntemlerle gösterilmiştir (21).

Bypass greftleri ve aterosklerozda gözlenen vasküler hasardan da büyük ölçüde inflamatuvar süreçler sorumludur. Bypass greftlerinde arter değil venlerin kullanıldığı tavşan modellerinde, TM sentezinin aşırı derecede azaldığı, TM'deki bu azalmanın tromboz ve lökosit infiltrasyonu ile korele olduğu bildirilmiştir (22). Bununla uyumlu olarak, Conway ve ark. TM genindeki lektin benzeri bölgenin, endotelin inflamatuvar mediatörlere yanıtını baskılayarak endoteli aşırı lökosit infiltrasyonuna karşı koruduğunu bildirmişlerdir (23). Yine güncel bir çalışmada, TM'deki bu bölgenin, sepsisin ileri dönemindeki ağır organ hasarına katkıda bulunan HMGB1 (high mobility group box 1) proteinini bağlayarak etkisiz duruma getirdiği gösterilmiştir (24). Son çalışmalar, TM'in direkt antiinflamatuvar etki yaptığını, bu etkiden genin N-terminal lektin benzeri bölgesinin sorumlu olduğunu göstermiştir, bu bölgenin protein C ve TAFI aktivasyonu ile ilişkisi olmadığından, TM'in bu antiinflamatuvar etkisi antikoagülan mekanizmalardan bağımsızdır (10).

TM ve Vasküler Hastalıklar

Aterosklerotik plaklardaki endotel, inflamatuvar sitokinlerin etkisi ile, daha az oranda TM ve EPCR eksprese eder (25). Burada ilginç bir klinik bulgu, hücre kültürlerinde statinlerin, TM'deki bu düşüşü azaltmalarıdır (26).

Tavşanlarda yapılan bir çalışmada TM verilmesiyle dilate femoral arterde trombus olu-

şumu, inflamatuvar hücre infiltrasyonu ve matriks yıkımı azalmıştır. Bunun, TM'e bağlı düz kas hücre proliferasyonunun inhibisyonu ve intrasellüler sinyalin değişmesi ile olduğu gözlenmiştir. TM, antiproliferatif etkilerini MAP-kinaz/ERK sinyal yolunun modifikasyonu ile yapar (5). Bir endotel hasarı göstergesi olarak kabul edilen plazma solubl TM düzeylerinin olaydan sonra ki bir yıl boyunca seri halinde ölçüldüğü akut koroner sendromlu hastalarda, artan TM konsantrasyonlarının kötü prognoz ile ilişkili olduğu görülmüştür (7).

TM düzeyleri ve serebrovasküler hastalıklar arasında da ilişki bulunmaktadır. Hemorajik strok ile plazma TM seviyeleri arasında negatif korelasyon olduğu bildirilmiştir (27).

Beyin kapiller bölgede diğer kapiller alana kıyasla çok daha az TM ekspresyonu vardır. In-vitro çalışmalarda astrosit kaynaklı TGF- β 'nin serebral kan damarlarında TM ekspresyonunu baskıladığı görülmüştür. TM astrosit fonksiyonlarını etkileyebilir, APC bağımlı mekanizmalar yoluyla trombin tarafından indüklenen nöronal hücre ölümüne karşı koruyucu olabilir (28).

Bir hayvan çalışmasında solubl TM verilmesinin spinal hasarı büyük oranda iyileştirdiği görülmüştür (29).

TM ve kollajen vasküler hastalıklar

Plazma trombomodulin konsantrasyonu juvenil romatoid artrit, sistemik sklerosis, polimiyozit, dermatomyozit, Wegener granülomatozu, aktif SLE, Behçet hastalığı ve romatoid artrit hastalarında anlamlı olarak yüksek bulunmuş ve yüksek TM düzeyleri tedavi ile düşmüştür (30).

TM ve Diabetes Mellitus

Tip 2 diyabetiklerde, vasküler endoteldeki proteolitik hasara bağlı olarak plazma TM düzeyleri artmıştır (31). Diabetiklerdeki yüksek plazma TM fragmanları düzeyi protein C aktivitesi ile ters orantılı, artmış trombin üretimi ile doğru orantılıdır. Kültür endotel

hücreleri ileri glikasyon son ürünleri (AGE) ile etkileştiğinde endotel hücrelerinde TM ekspresyonu azaldığı görülmüştür. Diabet hastalarının nöron mikrovasküler alanlarında AGE birikmektedir. Yüksek plazma TM düzeyleri mikroangiopati ve periferel nöropati arasında güçlü bağlantı vardır (32). Öte yandan, bazı araştırmacılar, diyabetiklerde TM ve protein C düzeylerinin azaldığını, buna karşılık faktör VII ve trombin gibi koagülasyon faktörlerinin ve doku faktörünün arttığını bildirmişlerdir (33).

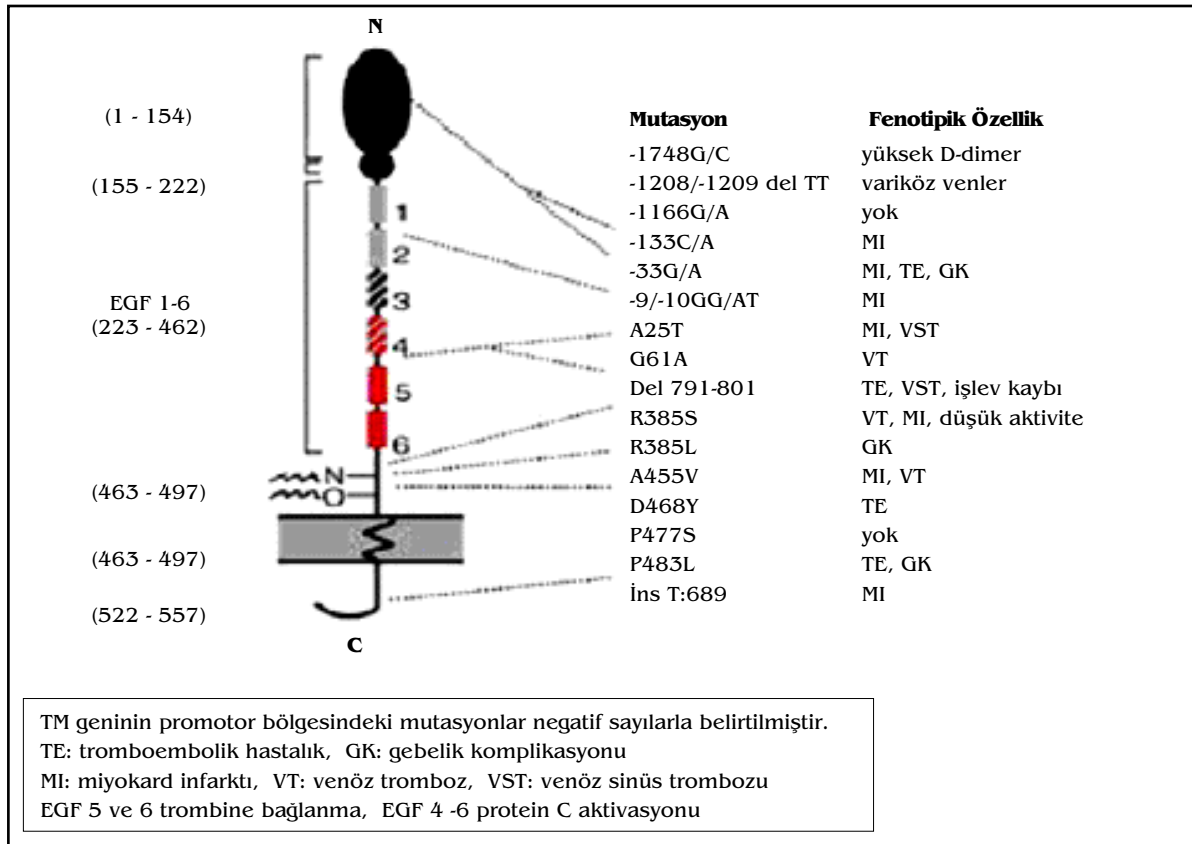
TM ve Tümör Oluşumu

Çeşitli insan tümörlerindeki TM ekspresyonu ve tümör gelişimi ile TM ekspresyonu arasındaki ilişkileri inceleyen araştırmalar, TM'nin tümör gelişimini ve metastazı regüle edebileceğini düşündürmektedir (34). Akciğer, özofagus ve oral skuamoz hücreli karsinomlarda yüksek düzeyde TM ekspresyonu olduğu ve daha iyi diferansiyasyon ve

daha uzun hayatta kalım ile ilişkisi gösterildi (35). Düşük TM ekspresyonu izlenen hepatosellüler karsinom daha hızlı intrahepatik metastaz ve kapsüler invazyon gösterir. Düşük TM ekspresyon eden meme karsinomlarında ise yüksek relaps oranı izlenmiştir. Deneysel çalışmalarda TM ekspresyonu ile tümör hücresi proliferasyonu ile invazyonu arasında ters korelasyon görülmüştür. TM nin tümör invazyonuna etkisi lektin bölgesi üzerinden; antiproliferatif etkisi transmembranöz kısım ve/veya stoplazmik bölgesi aracılı gözükmektedir (5).

TM Gen Polimorfizmleri ve Aterotrombotik Hastalıklar

TM geni üzerinde, işlevsel eksikliğe yol açan bir mutasyon, tromboembolik hastalık riskini artırabilir (Şekil 4). TM geninin promotor/regulator bölgesindeki gen polimorfizmleri (-133C/A ve -3 G/A) transkripsiyonda azalmaya ve sonuçta TM konsantrasyonlarında



Şekil 4. TM geninin yapısı ve polimorfik mutasyonların yerleşimi (5. no.lu kaynaktan alınmıştır).

azalmaya yol açtığından MI ve karotis arteriosklerozu ile ilişkilidir (36). -3 G/A polimorfizmi Asyalılarda %12-15 oranında görülmektedir (37). Genin lektin benzeri bölgesindeki A25T polimorfizminde MI riskinin 2 kat arttığı ve bu polimorfizmin diğer ateroskleroz risk faktörleri ile pozitif etkileşim gösterdiği bildirilmiştir. Ancak bu nokta mutasyonunda TM'in PC'yi aktive etme özelliği etkilenmediğinden, olumsuz etkilerin, TM'in PC'den bağımsız işlevleri ile ilgili olduğu düşünülmektedir (38). Tersine, EGF 4 kısmındaki Arg385Ser polimorfizmi, TM ekspresyonunun ve aktivitesinin belirgin olarak azalmasına yol açar. Bu polimorfizmin toplumdaki sıklığı bilinmemektedir. MI ve venöz trombozla ilişkisi açısından yoğun olarak araştırılan bir diğer polimorfizm ise EGF 6 kısmındaki Ala455Val polimorfizmidir ve bununla ilgili çelişkili sonuçlar bildirilmiştir. Bunun, özellikle Afrika kökenli Amerikalılarda MI ile güçlü bir ilişkisi olduğu düşünülmektedir (39).

İnsanlarda TM işlevlerinin tamamen kaybına yol açan ilk mutasyon, EGF 2'de bir stop kodonu oluşumuna yol açan 10 baz çiftlik bir delesyon (del791-801) olup bu mutasyonu heterozigot olarak taşıyan genç bir hastada pulmoner emboli, serebral venöz tromboz ve strok saptanmıştır. Bu mutasyonda, TM'in plazma düzeyi normalin yarısı kadardır (38).

Tüm bu epidemiyolojik çalışmalardan ortaya çıkan çarpıcı sonuç, TM gen polimorfizmlerinin venlerden çok arterleri ilgilendirmesi, venöz trombozdan çok arterioskleroz ve MI ile ilişkili olmasıdır. Çalışmalar, kanda sTM düzeyi yüksek kişilerde koroner arter hastalığı riskinin azaldığını ortaya koymaktadır. PC yolağında bozukluğa yol açan diğer mutasyonlarda (Faktör V Leiden) venöz tromboz riski arter trombozuna göre daha belirgin arttığı halde, TM mutasyonlarının daha çok arterleri etkilemesinin nedeni, TM'in inflamasyon, kompleman aktivitesi ve fibrinoliz süreçlerini, PC'den bağımsız mekanizmalarla modüle edebilmesidir.

Diğer önemli bir nokta ise, TM işlevlerinde anlamlı azalmaya yol açan mutasyonların nadir görülmesidir. Bu tür mutasyonlar üremeyi etkileyebileceği gibi bakteriyel infeksiyonlarda bireyin direncini de aşırı derecede azaltacağından yaşamla bağdaşmaları mümkün değildir (3,5).

Tedavide Trombomodulin

Sepsis sonucu gelişen yaygın damar içi pıhtılaşmada (DİK) esas patoloji TNF- ve interlökin (IL)-1 gibi proinflamatuvar sitokinlere bağlı olarak TM ekspresyonundaki azalma sonucu protein C fonksiyonunda bozulmadır. Rekombinant TM verilerek bu patoloji engellenebilir (40). DİK'teki solubl TM düzeyleri organ disfonksiyonu için iyi bir belirteçtir ve kötü prognozu gösterir (41). Sıçanlarda yapılan deneylerde intravenöz solubl TM verilerek venöz tromboz önlenmiştir (42).

Kalça atroplastisi geçiren hastalara rekombinant sTM enjeksiyonu, derin ven trombozu riskinde doza bağımlı bir azalma oluşturmuştur (43).

Sonuç olarak, 25 yıl önceki keşfi ile başlayan süreçte, TM'in işlev ve etkilerinin sadece koagülasyonla sınırlı kalmadığı görülmüştür. Bu molekülü konu alan araştırmaların, bilim dünyasını gelecekte de heyecan verici ve araştırmaya değer yeni hipotezlere ve çığır açıcı tedavi yaklaşımlarına ulaştırması beklenmektedir.

KAYNAKLAR

1. Kumada T, Dittman WA, Majerus PW. A role for thrombomodulin in the pathogenesis of thrombin-induced thromboembolism in mice. *Blood* 1988; 71(3): 728-733.
2. Esmen CT. Thrombomodulin as a model of molecular mechanisms that modulate protease specificity and function at the vessel surface. *The FASEB Journal* 1995; 9: 946-955.
3. Wu KK, Aleksic N, Ballantyne CM, Ahn C, Juneja H, Boerwinkle E. Interaction between soluble thrombomodulin and intercellular adhesion molecule-1 in predicting risk of coronary heart disease. *2003* 107(13): 1729-32.

4. William A. Dittman, Philip W. Majerus Structure and Function of Thrombomodulin: A Natural Anticoagulant Blood 1990; 75(2): 329-336.
5. Weiler H, Iserman BH. Thrombomodulin. Journal of Thrombosis and Haemostasis 2003; 1: 1515-24.
6. Sadler JE. Thrombomodulin: structure and function. Thrombosis and Haemostasis 1997; 78(1): 392-5.
7. Chan SH, Chen JH, Li YH, Lin LJ, Tsai LM. Increasing post-event plasma thrombomodulin level associates with worse outcome in survival of acute coronary syndrome. Int J Cardiol 2006; 111(2): 280-5.
8. Williams Hematology. Editör: William J. William, Beutler, Ernest, et al. 2005: s1423-1456.
9. MC Boffa, Burke B and Haudenschild CC. Preservation of thrombomodulin antigen on vascular and extravascular surfaces. Journal of Histochemistry 1997; 35(11): 1267-1276.
10. Esmon CT. The interactions between inflammation and coagulation. British Journal of Haematology 2005; 131: 417-430.
11. Faust SN, Levin M, Harrison OB, Goldin RD, Lockhart MS, Kondaveeti S, Laszik Z, Esmon CT & Heyderman RS. Dysfunction of endothelial protein C activation in severe meningococcal sepsis. New England Journal of Medicine 2001; 345: 408-416.
12. Riewald M, Petrovan RJ, Donner A, Mueller BM & Ruf W. Activation of endothelial cell protease activated receptor 1 by the protein C pathway. Science 2002; 296: 1880-1882.
13. James C. Fredenburgh, Alan R. Stafford, Caroline H. Pospisil, Jeffrey I. Weitz. Modes and consequences of thrombin's interaction with fibrin. Biophysical Chemistry 2004; 112: 277-284.
14. Kandice Kottke-Marchant. Laboratory Issues in Diagnosing Abnormalities of Protein C, Thrombomodulin, and Endothelial Cell Protein C Receptor. Arch Pathol Lab Med 2002; 126: 1337-1348.
15. Hong Xu, Leslie A. Bush, Agustin O. Pineda, Sonia Caccia, Enrico Di Cera. Thrombomodulin Changes the Molecular Surface of Interaction and the Rate of Complex Formation between Thrombin and Protein C. The Journal of Biological Chemistry 2005; 280(9): 7956-7961.
16. Ellen AM, Schenk-Braat, John Morser, Dingeman C. Rijken. Identification of the epidermal growth factor-like domains of thrombomodulin essential for the acceleration of thrombin-mediated inactivation of single-chain urokinase-type plasminogen activator. Eur J Biochem 2001; 268: 5562-5569.
17. Charlene E. Hafer-Macko, Frederick M. Ivey, Kymberly A. Gyure, John D. Sorkin, a Richard F. Macko. Thrombomodulin Deficiency in Human Diabetic Nerve Microvasculature. Diabetes 2001; 51: 1957-1963.
18. Ballantyne CM, Hoog even RC, Bang H, Coresh J, Folsom AR, Heiss G & Sharrett AR. Lipoprotein-associated phospholipase A2, high-sensitivity C-reactive protein, and risk for incident coronary heart disease in middle-aged men and women in the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) study. Circulation 2004; 109: 837-842.
19. Maradit-Kremers H, Crowson CS, Nicola PJ, Ballman KV, Roger VL, Jacobsen, SJ & Gabriel SE. Increased unrecognized coronary heart disease and sudden deaths in rheumatoid arthritis: a population-based cohort study. Arthritis and Rheumatism 2005; 52: 402-411.
20. Faioni EM, Ferrero S, Fontana G, Gianelli U, Ciulla MM, Vecchi M, Saibeni S, Biguzzi E, Cordani N, Franchi F, Bosari S & Cattaneo M. Expression of endothelial protein C receptor and thrombomodulin in the intestinal tissue of patients with inflammatory bowel disease. Critical Care Medicine 2004; 32: 266-270.
21. Faust SN, Levin M, Harrison OB, Goldin RD, Lockhart MS, Kondaveeti S, Laszik Z, Esmon CT & Heyderman RS. Dysfunction of endothelial protein C activation in severe meningococcal sepsis. New England Journal of Medicine 2001; 345: 408-416.
22. Kim AY, Walinsky PL, Kolodgie FD, Bian C, Sperry JL, Derming CB, Peck EA, Shake JG, Ang GB, Sohn RH, Esmon CT, Virmani R, Stuart RS & Rade JJ. Early loss of thrombomodulin expression impairs vein graft thromboresistance: implications for vein graft failure. Circulation Research 2002; 90: 205-212.
23. Conway EM, Van de Wouwer M, Pollefeyt S, Jurk K, Van Aken Baglin TP, Carrell RW, Theilmeier G. The lectin-like domain of thrombomodulin confers protection from neutrophil-mediated tissue damage by suppressing adhesion molecule expression via nuclear factor kB and mitogen-activated protein kinase pathways. Journal of Experimental Medicine 2002; 196: 565-577.
24. Abeyama K, Stern DM, Ito Y, Kawahara K, Yoshimoto Y, Tanaka M, Uchimura T, Ida N, Yamazaki Y, Yamada S, Yamamoto Y, Yamamoto H, Iino S, Taniguchi N & Maruyama I. The N-terminal domain of thrombomodulin sequesters high mobility group-B1 protein, a novel anti-inflammatory mechanism. Journal of Clinical Investigation 2005; 115: 1267-1274.
25. Laszik ZG, Zhou XJ, Ferrell GL, Silva FG & Esmon CT. Down-regulation of endothelial expression of endothelial cell protein C receptor and thrombomodulin in coronary atherosclerosis. American Journal of Pathology 2001; 159: 797-802.
26. Masamura K, Oida K, Kanehara H, Suzuki J, Horie S, Ishii H & Miyamori I. Pitavastatin-induced thrombomodulin expression by endothelial cells acts via inhibition of small G proteins of the Rho family. Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology 2003; 23: 512-517.

27. Johansson L, Jansson JH, Boman K, Nilsson TK, Stegmayr B, Hallmans G. Prospective study on soluble thrombomodulin and von Willebrand factor and the risk of ischemic and hemorrhagic stroke. *Thromb Haemost* 2002; 87: 211-7.
28. Shibata M, Kumar SR, Amar A, Fernandez JA, Hofman F, Griffin JH, Zlokovic BV. Anti-inflammatory, antithrombotic, and neuroprotective effects of activated protein C in a murine model of focal ischemic stroke. *Circulation* 2001; 103: 1799-805.
29. Taoka Y, Okajima K, Uchiba M, Johno M. Neuroprotection by recombinant thrombomodulin. *Thromb Haemost* 2000; 83: 462-8.
30. Ohdama S, Takano S, Miyake S, Kubota T, Sato K, Aoki N. Plasma thrombomodulin as a marker of vascular injuries in collagen vascular diseases. *Am J Clin Pathol* 1994; 101(1): 109-13.
31. Ki-ichi Okumura, Yoshimasa Aso. High plasma homocysteine concentrations are associated with plasma concentrations of thrombomodulin in patients with type 2 diabetes and link diabetic nephropathy to macroangiopathy *Metabolism-Clinical and Experimental* 2003; 52(11): 1517-22.
32. Hafer-Macko CE, Ivey FM, Gyure KA, et al. Thrombomodulin deficiency in human diabetic nerve microvasculature. *Diabetes* 2002; 51: 1957-1963.
33. Mark A Creager, Thomas F Lüscher. Diabetes and Vascular Disease. *Circulation* 2003; 108: 1527.
34. Tabata M, Sugihara K, Yonezawa S, Yamashita S, Maruyama I. An immunohistochemical study of thrombomodulin in oral squamous cell carcinoma and its association with invasive and metastatic potential. *J Oral Pathol Med* 1997; 26: 258-64.
35. Ogawa H, Yonezawa S, Maruyama I, Matsushita Y, Tezuka Y, Toyoyama H, Yanagi M, Matsumoto H, Nishijima H, Shimotakahara T, Aikou T, Sato E. Expression of thrombomodulin in squamous cell carcinoma of the lung: its relationship to lymph node metastasis and prognosis of the patients. *Cancer Lett* 2000; 149: 95-103.
36. Nakazawa F, Koyama T, Shibamiya A, Hirozawa S. Characterization of thrombomodulin gene mutations of the 50-regulatory region. *Atherosclerosis* 2002; 164: 385-7.
37. Li Y, Chen C, Yeh P, Lin H, Chang B, Lin J, Guo H, Wu H, Shi G, Lai M, Chen JH. Functional mutation in the promoter region of thrombomodulin gene in relation to carotid atherosclerosis. *Atherosclerosis* 2001; 154: 713-9.
38. Kunz G, Ohlin AK, Adami A, Zoller B, Svensson P, Lane DA. Naturally occurring mutations in the thrombomodulin gene leading to impaired expression and function. *Blood* 2002; 99: 3646-53.
39. Wu KK, Aleksic N, Ahn C, Boerwinkle E, Folsom AR, Juneja H. Thrombomodulin Ala455Val polymorphism and risk of coronary heart disease. *Circulation* 2001; 103: 1386-9.
40. Marcel Levi, Current understanding of disseminated intravascular coagulation. *British Journal of Haematology* 2004; 124: 567-576.
41. Satoshi Gando, Takashi Kameue, Satoshi Nanzaki and Yoshimi Nakanishi. Cytokines, soluble thrombomodulin and disseminated intravascular coagulation in patients with systemic inflammatory response syndrome. *Thrombosis Research* 1995; 80(6): 519-526.
42. Solis MM, Cook C, Intravenous recombinant soluble human thrombomodulin prevents venous thrombosis in a rat model. *J Vasc Surg* 1991; 4(5): 599-604.
43. Yavin YY, Wolozinsky M, Cohen AT. New antithrombotics in the prevention of thromboembolic disease. *Eur J Intern Med* 2005; 16(4): 257-66.

Yazışma adresi:

Dr. Tufan Ermış
Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi
Biyokimya Anabilim Dalı
35100 Bornova, İzmir
Tel : 0.232 343 82 71
GSM: 0.532 741 92 18
E-posta: tufan.ermis@ege.edu.tr
