

Tip 2 Diyabetiklerde Protein C ve Serbest Protein S Düzeyleri

Protein C and Free Protein S Levels in Type 2 Diabetic Patients

Nazan Tunçbilek *

Asuman Orçun*

Nuray Kolcu*

Mehmet Sargın**

İnci Küçükercan*

Gülcan Baloğlu*

Kartal Dr. Lütfi Kırdar Eğitim ve Araştırma Hastanesi, İstanbul
*Biyokimya Bölümü, **Endokrinoloji/Diyabet Bölümü

ÖZET

Amaç: Doğal antikoagülanlardan Protein C ve onun kofaktörü serbest Protein S'in diyabetiklerde tromboz gelişiminde önemli rol oynadığı düşünülmektedir. Çalışmamızda tip 2 diyabetiklerde protein C ve serbest Protein S aktivitesini sağlıklı kontrol grubu ile karşılaştırdık ve bu proteinlerin iyi ve kötü kontrollü diyabetiklerdeki değişimini saptadık.

Gereç ve Yöntem: 30 kişilik hasta grubu (yaş ortalaması 58.66±7.42 yıl) 18 kadın ve 12 erkekten, 20 kişilik kontrol grubu (yaş ortalaması 55.05±5.28 yıl) 13 kadın ve 7 erkekten oluşmakta idi. Diyabetik grup HbA1c düzeylerine göre iyi kontrollü (HbA1c≤% 8.0), (n=39) ve kötü kontrollü (HbA1c>%8.0), (n=11) olarak 2 alt gruba ayrıldı. Tüm olguların Protein C, serbest Protein S, açlık serum glukozu, mikroalbumin/kreatinin, HbA1c düzeyleri saptandı. Protein C ve serbest Protein S yüzde aktiviteleri IL firmasına ait IL-Test kitleriyle ACL Futura cihazında (Instrumentation Lab., Milena, Italy) ölçüldü. İstatistiksel analizlerde nonparametrik Mann-Whitney U ile Spearman korelasyon kullanıldı.

Bulgular: Hasta ve kontrol grubuna ait ortalama değerler Protein C aktiviteleri için sırası ile %94.54±16.40 ve %119.23±14.31 (p<0.0001), serbest Protein S için ise sırası ile %91.82±13.72 ve %101.26 ±12.82 (p=0.028) olarak bulundu. Her iki grubun açlık serum glukoz, mikroalbumin/kreatinin, HbA1c düzeyleri anlamlı farklılık gösterdi (p'ler<0.0001). Diyabetiklerin Protein C düzeyleri ile açlık serum glukozları (r=-0.208) ve HbA1c'leri (r=-0.246), (p'ler<0.01) arasında düşük düzeyde negatif korelasyon saptandı. İyi kontrollü diyabetiklerin Protein C aktiviteleri (ort±SD) %109.35±17.62, serbest Protein S aktiviteleri %96.60±14.39; kötü kontrollü diyabetiklerin PC aktiviteleri 87.76±17.04, serbest Protein S aktiviteleri 91.98±11.84 olarak bulundu. İyi ve kötü kontrollü diyabetiklerin Protein C aktiviteleri arasındaki fark istatistiksel olarak ileri derecede anlamlı iken (p=0.0019), serbest Protein S anlamlı farklılık göstermedi (p=0.29).

Sonuç: Çalışmamızda tip 2 diyabetiklerde serum Protein C ve serbest Protein S aktivitelerinin sağlıklı olgulara göre anlamlı düşüş gösterdikleri ve diyabetin patogenezinde etkili olabileceği sonucuna vardık.

Anahtar Sözcükler: Diyabetes mellitus, Protein C, serbest Protein S, tromboz

ABSTRACT

Objective: A natural anticoagulant Protein C and its cofactor free Protein S, play an important role in the development of thrombosis in diabetics. In this study, we compared Protein C and Protein S concentrations in type 2 diabetic patients and healthy controls and observed their changes between well and poor controlled diabetics.

Method: 30 diabetic patients (age mean 58.66 ± 7.42 years) consisted of 18 women and 12 men and 20 healthy controls (age mean 55.05 ± 5.28 years) consisted of 13 women and 7 men. Patient group was subdivided according to their HbA1c levels as well controlled ($HbA1c \leq 8.0$), (n=29) and poor controlled ($HbA1c > 8.0$), (n=11) diabetics. Protein C and free Protein S, glucose, microalbumin/creatinine and HbA1c concentrations of all individuals were determined. Percent activities of Protein C and free Protein S were determined by use of IL-test commercial kits on ACL Futura analyser (Instrumentation Lab, Milena, Italy). Non-parametric Mann-Whitney U and Spearman correlation tests were used in statistical calculations.

Results: Patient and control groups' Protein C activities were found $94.54\% \pm 16.4$ and $119.23\% \pm 14.31$ ($p < 0.0001$), and free Protein S activities as $91.82\% \pm 13.72$ and $101.26\% \pm 12.82$ ($p = 0.028$), respectively. Glucose, microalbumin/creatinine, HbA1c concentrations of 2 groups differed significantly from each other (p 's < 0.0001). In patient group, Protein C activities were inversely and weakly correlated with fasting plasma glucose ($r = -0.208$) and HbA1c ($r = 0.246$), (p 's < 0.01) concentrations. Well controlled diabetic group's Protein C activities were (mean \pm SD) $109.35\% \pm 17.62$, free Protein S activities were $96.60\% \pm 14.39$; poor controlled diabetics' Protein C activities were $87.76\% \pm 17.04$ and free Protein S activities were $91.98\% \pm 11.84$. Protein C activities significantly differed between 2 groups ($p = 0.0019$), free Protein S activities didnot show a significant difference ($p = 0.29$).

Conclusion: In this study we found serum Protein C and free Protein S activities were significantly lower in type 2 diabetics than in healthy controls and concluded that they may be efficient in the pathogenesis of diabetes mellitus.

Key Words: Diabetes mellitus, Protein C, Protein S, thrombosis

GİRİŞ

Morbidite ve mortalite nedeni olarak mikro ve/veya makrovasküler komplikasyonların önemli oranda yer aldığı diyabette, hematolojik bozuklukların ortaya çıktığı uzun yıllardan beri bilinmektedir (1,2). Diyabetin hiperkoagülabiliteye eğilim oluşturduğu çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir (3-5). Diyabetlilerin çoğunluğunda mortalite, koagülasyon mekanizma bozukluklarına bağlı olarak ortaya çıkmaktadır. %80'lik trombotik ölüm riskinin %75'i kardiovasküler komplikasyonlar, kalan %5'lik kısmı ise serobrovasküler olaylar ve periferik vasküler komplikasyonlara bağlı gelişir (3).

Diyabetiklerde artmış koagülasyon potansiyeli, hemostatik sistemin devam eden aktivasyonu, kronik trombosit aktivasyonu ve azalmış fibrinolitik potansiyel ile ilgili önemli laboratuvar bulguları ortaya konmuştur (4-6). Bunun yanı sıra biyopsi materyali üzerinde

yapılan deneylerde anormal endotel fonksiyonu gösterilmiştir. Doğal antikoagülanlardan olan Protein C (PC) ve kofaktörü serbest Protein S (fPS)'nin de bu süreçte değişikliğe uğrayabilmesi muhtemeldir (3).

Çalışmamızda tip 2 diyabetik grupların PC ve fPS aktivitelerini sağlıklı kontrol olguları ile karşılaştırdık ve metabolik kontrol derecesinin bu proteinlerin aktivitelerine etkisini araştırdık.

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma Kartal Eğitim ve Araştırma Hastanesi Klinik Biyokimya Bölümünde, Endokrinoloji/Diyabet Ünitesi tarafından takip edilen 30 tip 2 diyabetli (18 kadın, 12 erkek) ve 20 sağlıklı kontrol grubu (13 kadın, 7 erkek) kullanılarak, Nisan-Aralık 2003 tarihleri arasında yapıldı. Kontrol grubu diyabetik aile anamnezi ve klinik bulguları olmayan; açlık serum glukozu, HbA1c, kolesterol, trigliserid,

HDL-kolesterol, t am kan sayımı, tam idrar tetkiki sonuçlarına göre sağlıklı kabul edilen ve sigara kullanmayan kişilerden oluşturuldu. Kadınların oral kontraseptif kullanmıyor olmasına dikkat edildi. Kontrol grubunun yaş ortalaması 55.05±5.28 (48-63) yıl idi. Diyabetik grup, Diyabet Ünitesinde daha önceden tanısı konmuş ve takip edilmekte olan tip 2 diyabetli hastalardan oluşturuldu. Hasta grubunun yaş ortalaması 58.66±7.42 yıl, ortalama diyabet süreleri 13.03±4.79 yıl idi.

PC ve fPS seviyelerini etkileyen olası durumlar dikkate alındı; oral antikoagülan, oral kontraseptif kullananlar, karaciğer yetmezliği, sirozu, nefropatisi, herhangi bir malign hastalığı olanlar, tromboemboli hikayesi, ketoasidoz, idrar yolu enfeksiyonu, kollajen doku hastalığı, romatizmal hastalığı olanlar çalışma kapsamı dışında bırakıldı.

Tüm olgulardan PC, fPS, açlık serum glukozu, HbA1c ve idrar mikroalbumin ve kreatinin düzeyi çalışıldı. Açlık serum glukozu için 8-10 saatlik açlık sonrası antikoagülsüz kuru tüplere, PC ve fPS düzeyleri için 1/10 oranında trisodyum sitratlı tüplere, HbA1c için EDTA'lı tüplere kan alındı. Bütün kan örnekleri 2000 g'de 15 dakika santrifüj edilerek hücre kısımlarından ayrıldı ve kanın alındığı gün, bekletilmeden çalışıldı. Ayrıca tüm olguların sabah ikinci idrarları alınarak mikroalbumin/kreatinin oranları hesaplandı.

PC aktivite bazlı kromojenik, fPS ise aktivite bazlı koagulometrik yöntemlerle IL firmasına ait IL-Test kitleriyle ACL Futura cihazında (Instrumentation Lab., Milena, Italy) ölçüldü (Kat no:20009100 ve 2002700, sırasıyla). Açlık serum glukozu, HbA1c, mikroalbumin ve kreatinin testleri Roche Diagnostics (Indianapolis, USA)'e ait modüler sistem otoanalizörde, yine aynı üreticiye ait ticari kitlerle çalışıldı.

İstatistiksel analizler için InStat 2 paket program kullanıldı. İkili gruplar nonparametrik Mann-Whitney U testi ile karşılaştırıldı. Korelasyon analizleri için Spearman korelasyon

testi kullanıldı. İstatistiksel anlamlılık için $p < 0.05$ düzeyi seçildi.

BULGULAR

Tip 2 diyabetiklerde PC ve kofaktörü fPS düzeyleri kontrol grubuna göre düşük bulundu (sırası ile $p>0.0001$, $p=0.028$), açlık serum glukozu, mikroalbumin/kreatinin, HbA1c düzeyleri ise diyabetik grupta kontrol grubuna göre anlamlı yüksek bulundu (p 'ler <0.0001), (Tablo 1).

Diyabetiklerin PC düzeyleri ile açlık serum glukozları ($r= -0.208$) ve PC aktiviteleri ile HbA1c'leri ($r= -0.246$), (p 'ler <0.01) arasında düşük düzeyde negatif korelasyon saptadık.

İyi kontrollu diyabetiklerin Protein C aktiviteleri (ort±SD) %109.35±17.62, serbest Protein S aktiviteleri %96.60±14.39; kötü kontrollu diyabetiklerin PC aktiviteleri 87.76±17.04, serbest Protein S aktiviteleri 91.98±11.84 olarak bulundu. İyi ve kötü kontrollu diyabetiklerin Protein C aktiviteleri arasındaki fark istatistiksel olarak ileri derecede anlamlı iken ($p=0.0019$), serbest Protein S anlamlı farklılık göstermedi ($p=0.29$).

Tablo 1. Kontrol ve diyabetik gruplara ait verilerin (ortalama±SD) karşılaştırılması.

	Kontrol (n=20)	Diyabetik (n=30)	P
Yaş (yıl)	55.05±5.28	58.66±7.42	Anlamsız
VKİ (kg/m ²)	28.6±4.35	30.84±4.90	Anlamsız
Glukoz (mg/dl)	91.5±11.45	163.4±44.63	<0.0001
HbA1c (%)	5.16±0.85	7.6±1.68	<0.0001
MAU (mg)/Kr (gr)	6.76±4.02	189.3±235.8	<0.0001
PC (%)	119.23±14.31	94.54±16.40	<0.0001
FPS (%)	101.26±12.82	91.82±13.72	0.028

TARTIŞMA

Çalışmamızda tip 2 diyabette ortalama PC ve fPS aktivitelerini diyabetik grupta kontrol olgularına göre azalmış bulduk. Literatürdeki çalışmaların çoğunluğu tip 1 diyabetiklerle yapılmış idi. Ceriello ve ark. (6) 30, tip 1 diyabetik üzerinde yaptıkları çalışmada PC

aktivitesini kontrol grubu ile karşılaştırdıklarında anlamlı düşük seviyeler saptadılar. Vukovich ve ark. (4), 54, tip 1 diyabetik üzerinde yaptıkları çalışmada PC seviyelerini anlamlı olarak azalmış buldular. En düşük seviyelere kötü kontrollü diyabetiklerde rastladılar. Tip 2 diyabetiklerle yapılmış daha az çalışma mevcuttu ve sonuçlar çelişkiliydi. Akarsu ve ark. (7) Türkiye’de yaptıkları çalışmada, 62, tip 2 diyabetlide PC ve fPS aktivite düzeylerinde azalma olabileceği ortaya koydular. Viganò ve ark. (8), 42’si tip 1, 53’ü tip 2 diyabeti olan 95 hasta üzerinde yaptıkları çalışmada, her iki grupta da immunolojik olarak çalışılan PC düzeylerinde artış saptadılar. Schernthaner ve ark. (5) yaptıkları çalışmada 15, tip 1 diyabet’li hastada immunolojik yöntemle çalışılan PC düzeylerinde artış saptadılar. Bu çalışmalarda aktivite ölçülmeyip sadece antijenik ölçüm yapılmıştır. PC antijenik olarak artsa da aktivitesinin azalabileceği belirtilmektedir. Yine, PC’nin fonksiyonunun bozulduğu, diyabetin de içinde bulunduğu tip 2 PC yetersizliği durumlarında tek başına immunolojik ölçümlerin yeterli bilgiyi vermediği belirtilmektedir (9).

Çalışmamızda diyabetiklerin PC aktiviteleri ile açlık serum glukozu ve HbA1c düzeyleri arasında düşük düzeyde negatif korelasyon saptadık. Diyabette antikoagülan düzeylerinin değişikliğe uğramasında kronik hipergliseminin altta yatan esas patoloji olduğu kabul edilmekle birlikte, glisemik kontrolün hemostatik bozukluklarla ilgisi konusunda değişik yorumlar mevcuttur. Vukovich ve ark. (4) yaptıkları çalışmada, PC düzeyi ile kan glukoz seviyesi arasında anlamlı negatif korelasyon saptamışlar ancak aynı ilişkiyi HbA1c ile PC arasında gösterememişlerdir. Akarsu ve ark. (7) ise normoalbuminürlü tip 2 diyabetli hastalarda PC aktivitesi ile HbA1c arasında anlamlı negatif korelasyon saptamışlardır. Çalışmamızda kötü kontrollü diyabetiklerin fPS düzeylerinde hafif bir azalma vardı ancak istatistiksel anlamlı değildi, ancak PC düzeylerinde ileri derecede anlamlı azalma saptadık. Kronik hiperglisemiye bağlı olarak

protein yapısında olan PC ve fPS’nin glikozillenmesi sonucu, aktivitelerini azaltabileceği ortaya çıkmaktadır.

Çalışmamızda tip 2 diyabetiklerde serum Protein C ve serbest Protein S aktivitelerinin sağlıklı olgulara göre anlamlı düşüş gösterdikleri ve diyabetin patogenezinde etkili olabilecekleri sonucuna vardık.

KAYNAKLAR

1. Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. American Diabetes Association: clinical practice recommendations 2002. Diabetes Care 2002; (Suppl 1): 1-147.
2. Hatemi H. Diabet Komplikasyonları İstatistikleri Folia 2000; 1: 29-35.
3. Carr ME. Diabetes mellitus: a hypercoagulable State. J Diabetes Complications 2001; 15: 44-54.
4. Vukovich TC, Schernthaner G. Decreased Protein C levels in patients with insulin-dependent type 1 diabetes mellitus. Diabetes 1986; 35: 617-619.
5. Schernthaner G, Vukovich T, Knöble P, Hay U, Müller MM. The effect of near normoglycaemic control on plasma levels of coagulation factor VII and the anticoagulant proteins C and S in insulin dependent diabetic patients. Br J Haematol 1989; 73(3): 356-359.
6. Ceriello A, Quatraro A, Dello Russo PD, Marchi E, Barbanti M, Milani MR et al. Protein C Deficiency In Insulin-Dependent Diabetes: A Hyperglycemia-Related Phenomenon. Thromb Haemost 1990; 64 (1): 104-107.
7. Akarsu E, Kaya H, Çapoğlu İ, Akçay G. Tip 2 Diabetes Mellitus’ta Protein-C, Protein-S ve AT-III Aktiviteleri. Endokrinolojide Yönelişler 2001; 10(2): 69-71.
8. Viganò S, Mannucci PM, D’Angello A, Gelfi C, Gensini GF, Rostagno C. Protein C antigen is not an acute phase reactant and is often high in ischemic heart disease and diabetes. Thromb Haemostasis 1984; 52: 263-266.
9. Rosendaal FR. Venous thrombosis: a multicausal disease. Lancet 1999; 353(9): 1167-1173.

Yazışma adresi:

Dr. İnci Küçükercan
Koşuyolu, Validebağ St. 5. Blok, Daire: 4
Kadıköy, İstanbul, 34660
Tel: 0.216 441 39 00/ 1160
GSM: 533 7474202
E-posta: kucukercan@superonline.com
Tele/Faks: 0.216 459 86 45
