

Hafif ve şiddetli preeklampitik gebelerdeki çözünebilir endotel protein C reseptor seviyesinin normotansif gebelerle üçüncü trimesterde karşılaştırılması

The comparison of the levels of soluble endothelial protein C receptor in mild and severe preeclamptic pregnant with normotensive group at third trimester

İbrahim KARACA

İzmir Aliğa Devlet Hastanesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniđi, İzmir

ÖZ

Amaç: Bu çalışmanın amacı, hafif ve şiddetli preeklampsi tanılı gebeler ile normotansif gebeler arasında sEPCR düzeylerini karşılaştırmaktır.

Yöntem: Çalışmamıza, Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniđine Şubat 2011 ile Eylül 2011 tarihleri arasında başvuran 18-40 yaş arası, 30 şiddetli preeklampsi, 30 hafif preeklampsi gebe dahil edildi. Kontrol grubu olarak ile 30 normotansif gebe seçildi. Alınan serumdaki sEPCR seviyesi ELISA ile ölçüldü.

Bulgular: sEPCR seviyesi en yüksek şiddetli preeklampitik gebelerde (238 ± 107 ng/ml), en düşük normotansif gebelerde (72 ± 72 ng/ml) tespit edildi. Hafif preeklampitik gebelerde sEPCR seviyesi (134 ± 85 ng/ml) şiddetli preeklampitik gebelerdekinden daha düşük saptandı ($p<0,001$). sEPCR seviyesi ile diastolik ve sistolik kan basıncı ile pozitif korelasyon saptandı ($r=0,263$ ve $r=0,252$ sırasıyla).

Sonuç: sEPCR seviyesi preeklampitik gebelerde yüksektir ve hastalığın şiddetine bağlı olarak artmaktadır.

Anahtar kelimeler: Preeklampsi, sEPCR, endotel

ABSTRACT

Objective: The aim of the study was to compare levels of soluble endothelial receptor (sEPCR) among women with severe preeclampsia, mild preeclampsia and normal pregnancy.

Methods: The study was conducted at Atatürk University Faculty of Medicine, Department of Obstetrics and Gynecology between February 2011 and September 2011. Pregnant women aged between 18-40 years who had severe or mild preeclampsia were recruited consecutively for the study. Each group consisted of 30 patients. A total of 30 patients who had normal pregnancy were included in the study as a control group. A blood sample was taken from all patients and sEPCR test was performed.

Results: Levels of sEPCR were highest in severe preeclamptic (238 ± 107 ng/ml) and lowest in normal pregnant patients (72 ± 72 ng/ml) ($p<0.01$). sEPCR level was lower in mild preeclampsia (134 ± 85 ng/ml) than severe preeclampsia ($p<0.01$ for each comparison). There was a positive correlation between sEPCR with diastolic and systolic hypertension ($r=0.263$ and $r=0.252$ respectively).

Conclusion: sEPCR is higher in preeclamptic pregnant and its level increases with the severity of the disease.

Key words: Preeclampsia, sEPCR, endothelial

Alındığı tarih: 23.09.2016

Kabul tarihi: 10.10.2016

Yazışma adresi: Uzm. Dr. İbrahim Karaca, Aliğa Devlet Hastanesi, 35000-İzmir
e-mail: dribrahimkaraca@hotmail.com

GİRİŞ

Preeklampsi; maternal-fetal morbidite ve mortalitenin en önemli sebeplerinden biridir. Damar endotelinin hasarı ve bunun sonucu oluşan vazospazmın preeklampsi patofizyolojisinde rol oynadığı düşünülmektedir. Preeklampsinin erken teşhisi için yeni tanı yöntemleri geliştirilmesi ve tedavi metodları bulunması gerekmektedir. Preeklampsi patofizyolojisinde endotel hasarı ve trombüs oluşumu nedeniyle, son zamanlarda serbest radikalleri ve pıhtılaşmayı arttıran faktörler ile preeklampsi ilişkisini araştıran çok sayıda çalışma yapılmıştır.

Endothelial protein C receptor (EPCR) 46 kilodalton (kDa), tip I transmembran proteindir. Genellikle geniş damarlarının endotel yüzeyinde sentezlenmektedir ⁽¹⁾. MHC I/CD1 ailesi proteinleriyle benzerlik gösterir. Koagülasyonunda ve inflamasyonda önemli rol üstlenmektedir. Plazmada EPCR'nin soluble formu da tanımlanmıştır. EPCR'ün plazmada çözünür formu olan soluble endothelial protein C receptor (sEPCR), benzer şekilde PC/APC'yi aynı afinite ile bağlar. APC'nin sEPCR'ye bağlanması, FVa'nın inaktivasyonuna ve APC'nin fosfolipidlere bağlanmasına müdahale eder. Ayrıca, PC'nin sEPCR'ye bağlanması APC üretimini arttırmaz ⁽²⁾. sEPCR, APC'nin antiinflamatuvar, profibrinolitik ve antikoagulan etkilerini inhibe eder. sEPCR'nin yüksek seviyeleri tromboz için bir risk faktörüdür. EPCR geninde 4 farklı haplotip tanımlanmıştır. Bunlardan A3 Haplotipi ile sEPCR seviyeleri arasında güçlü bir ilişki bulunur. A3 Haplotipi artan plazma EPCR seviyeleriyle ilişkilendirilmiştir ⁽³⁾. Artan plazma seviyeleri, kısmen bu formun artan salınımıyla açıklanmıştır ⁽⁴⁾. Bu form membranda korunmaz fakat sekrete edilir. A3 Haplotipi taşıyan populasyonlardaki sEPCR'nin plazmadaki yüksek seviyeleri yalnızca membran bağlı EPCR'nin artan ektodomain salınımından değil, ayrıca alternatif mRNA işlenmesinden de meydana gelebilir. Artan sEPCR'nin biyolojik sonuçları artan prokoagulan aktiviteyle ilişkilendirilmektedir ⁽⁵⁾.

Preeklampsi olgularında sEPCR düzeyini inceleyen yeterli araştırma mevcut değildir. Bu çalışmanın amacı, hafif ve şiddetli preeklampitik gebeler ile normotansif gebeler arasında sEPCR düzeylerini kıyaslamaktır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Aziziye Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniğinde, Şubat 2011 ile Eylül 2011 tarihleri arasında bir olgu-kontrol çalışması yürütüldü. Çalışma için üniversitenin Etik Kurulundan izin alındı. Çalışmaya, 18-40 yaş arası gestasyonel haftası 30 ile 36 hafta arası olan 30'ar şiddetli ve hafif preeklampsi ile gebeler ve kontrol grubu olarak 30 normotansif gebeler alındı. Kronik hipertansiyon, gestasyonel diyabetes mellitus, tip 1 ve 2 diyabetes mellitus, bağ doku hastalığı, kronik böbrek hastalığı, 40 yaş üstünde olanlar ve çoğul gebelikler ve antikoagulan tedavi alan gebeler çalışmaya dahil edilmemiştir. Çalışmaya dahil edilen tüm gebelerden açlık venöz kan alınarak maternal sEPCR düzeyine bakılmıştır. Ayrıca hastaneye yatışta rutin olarak istenen tam kan sayımı, kan biyokimyası ve tam idrar tahliline ek olarak CRP, sedim, D-dimer, fibrinojen düzeyleride kaydedildi. Hafif ve ağır preeklampitik gebeler çalışma grubu, sağlıklı gebeler de kontrol grubu olarak sınıflandırılmıştır.

sEPCR Ölçümü

Gebelerden alınan ve -60°C soğutucuda korunan serum örnekleri örnek alımları tamamlandıktan sonra çıkartılarak oda ısısına getirildi. Human sEPCR ELISA Kit Catalog No: E0990 1h 96 Tests/Usnlife isim ve katalog numaralı kit kullanılarak Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Laboratuvarında serum örnekleri test prosedürüne uygun olarak çalışıldı. Referans aralığı 7,8 ng/ml-500 ng/ml kitlerin sensitivite çalışmalarında ölçebileceği en düşük düzeyin 2,0 ng/ml olduğu saptanmışken, spesifite çalışmalarında başka olası bir madde ile herhangi bir çapraz reaksiyon göstermiyordu.

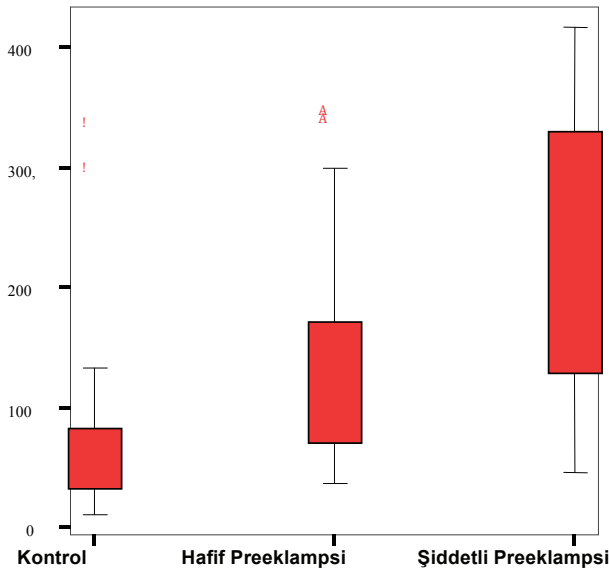
İstatistiksel Analiz

Çalışma sonunda verilerinin analizi, bilgisayarda Statistical Package for Social Science (SPSS, Chigago, IL) 11.5 for Windows paket programı kullanılarak yapıldı. Normal dağılımı test etmek için Kolmogorov-Smirnov testi, normal dağılım gösteren değişkenlerde gruplar arası karşılaştırmalar için Kruskal-Wallis testi kullanıldı. Soluble EPCR seviyesinin diğer parametrelerle korelasyonunu saptamak için Pearson korelasyon testi kullanıldı. Tüm analizlerde anlamlılık düzeyi $p<0,05$ olarak kabul edildi.

BULGULAR

Gebelerin gruplara göre demografik özellikleri klinik parametreleri aşağıdaki tabloda görülmektedir. CRP, ALT, Ürik asit, 24 saatlik idrarda protein düzeyi sonuçlarıyla, sistolik ve diastolik kan basıncı değerleri gruplar arasında farklı bulundu.

Her üç grupta da sEPCR düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı derecede farklıdır ($p=0,001$) (kontrol vs hafif preeklampsi $p=0,008$, kontrol vs şiddetli preeklampsi $p<0,001$, şiddetli vs hafif preeklampsi $p<0,001$). sEPCR düzeyi preeklampsili hastalarda kontrol grubundan yüksektir ve düzeyi hastalığın



Grafik 1. Çalışma gruplarındaki sEPCR konsantrasyonları, median ve %25-75 persantil değerlerine ait saplı kutu grafikleri gösterilmiştir ($p<0,001$).

şiddeti ile artmaktadır (Grafik 1). sEPCR seviyesinin normal populasyondaki değeri 75-178 ng/mL arasında değişmektedir ⁽⁶⁾.

Çalışılan klinik parametreler ile sEPCR seviyesi arasındaki korelasyon dağılımında sEPCR seviyesi ile sistolik ($r^2=0,252$ $p<0,0001$) ve diastolik arter basınçları ($r^2=0,263$ $p<0,0001$) arasında pozitif korelasyon bulundu. Sistolik ve diastolik kan basıncı arttıkça sEPCR seviyesi yükselmektedir. Çalışılan diğer parametrelerden crp, d dimer, fibrinojen seviyeleri ile sEPCR düzeyi arasında ilişki saptanmadı.

Olgular baş ağrısı, epigastrik ağrı, görme bozukluğu, nöbet geçirme gibi preeklampsi ile ilişkili olabilecek semptomlar açısından sorgulandı. Şiddetli preeklampsi grubundaki 30 gebeden 13'ünde görme semptomları vardı. Vizüel semptomları olan gebe-

Tablo 1. Üç grubun demografik özellikleri ve klinik sonuçları.

	Preeklampsi			P
	Kontrol (n=30)	Hafif (n=30)	Şiddetli (n=30)	
Yaş	26,1±5,4	29,5±5,2	28,9±2,2	0,5
Gravida	2	3	3	0,8
Parite	1	1	2	0,7
Aborus	0	0	1	0,3
Gebelik hafta	34±2	33±2	33±2	0,5
Hemoglobin	12±2	12±2	13±2	0,2
WBC	10300±3100	11500±400	12300±3600	0,09
Sedim	8,5±7	14±13	16±21	0,3
CRP	9±8	16±15	21±20	0,02
Fibrinojen	500±174	456±127	406±184	0,09
AST	22±7	29±16	185±100	0,06
ALT	16±7	26±21	80±32	0,01
LDH	270±82	320±107	357±89	0,06
Ürik asit	4,6±1	5,8±1	7,1±1	0,005
Total protein	6±0,9	6±0,6	6±0,7	0,7
Albumin	4±0,5	3±0,5	3±0,4	0,2
BUN	9±4	8±4	11±5	0,1
Kreatin	0,9±0,5	0,8±0,6	0,9±0,7	0,1
24-h idrarda protein	151±93	676±411	2379±1030	0,001
Sistolik arter basıncı	110±11	142±6	168±20	0,001
Diastolik arter basıncı	65±11	91±5	104±11	0,001

sEPCR düzeyi gruplar arasında farklı bulundu ($p<0,001$).

Tablo 2. Üç grubun sEPCR düzeyi.

	Preeklampsi			P
	Kontrol (n=30)	Hafif (n=30)	Şiddetli (n=30)	
sEPCR (ng/ml)	72±72	134±85	238±107	0,001

rin olmayanlara göre sEPCR seviyeleri daha yüksek saptandı (307±63 ve 121±95 sırasıyla p<0,001).

TARTIŞMA

Preeklampsi patofizyolojisinde endotel hasarı ve trombüs oluşumu nedeniyle, son zamanlarda serbest radikalleri ve pıhtılaşmayı arttıran faktörler ile preeklampsi ilişkisini araştıran çok sayıda çalışma yapılmıştır. Preeklampsinin etiyojisine yönelik yapılan çalışmalarda, endotel hücre aktivasyon ya da fonksiyon bozukluğu oluşumunun preeklampsi patogenezinde önemli rolünün olduğu kabul edilmektedir. Fakat bu endotel değişikliğinin nedenlerinin ne olduğu halen tartışılmakta olan bir konudur (7).

sEPCR'nin iki formu bulunmaktadır. Büyük damarların endoteline tutunan EPCR doğal antikoagulan olan protein C'nin aktivasyonunu yaklaşık 20 kat artırır. Aktive olan protein C ise proteolitik olarak FVa ve FVIIIa'yı inaktive eder (8). Plazmada ölçülebilen ve çalışmamızda seviyesini araştırdığımız diğer form olan sEPCR ise APC'yi inaktive ederek prokoagulan etki gösterir.

Wegener's Granulomatosis hastalarında yapılan çalışmada ölçülen sEPCR seviyesinin hastalığın şiddetiyle ve endotel hasarını gösteren soluble trombo-modulin ve CRP ile pozitif korelasyon gösterdiği saptanmıştır (r=0,3, p<0,001). Aktif Wegener's Granulomatosis hastalarda, şiddetli sepsiste (9), sistemik lupus eritematozusta (10), göz bulguları olan Behçet hastalarında (11) sEPCR düzeyi yüksek bulunmuştur.

Pıhtılaşma faktörlerle preeklampsi arasındaki ilişkiyi araştıran birçok çalışma yapılmıştır. Dekker ve ark. (12) gebeliğin erken haftalarında başlayan şiddetli preeklampsi hastalarda metabolik veya hemostatik anormallikleri araştırmış, hastalarda APC rezistansı, protein S eksikliği, antikardiolipin antikorları varlığı, hiperhomosisteinemi ile ilişkisini bulmuş ve hastaların bu yönden taranması gerektiğini belirtmişlerdir. Saposnik ve ark.'nın (3) yaptığı çalışmada, derin venöz tromboz saptanan hastalarda sEPCR düzeyi yüksek saptanmıştır.

Çalışmamızda, sEPCR seviyeleri her üç grupta da anlamlı derecede farklı saptanmıştır. Şiddetli preeklampsi grubunda sEPCR seviyesi hafif preeklampsi ve normotansif gruba göre anlamlı derecede yüksek, hafif preeklampsi grubundaki sEPCR seviyesi de normotansif gebe grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulundu (p<0,001). Ayrıca preeklampsi şiddeti ile sEPCR düzeyi artmaktadır.

SONUÇ

APC'yi inaktive ederek prokoagulan etki gösteren sEPCR gelecekte preeklampsi gelişiminden sorumlu önemli bir marker olarak kabul edilebilir.

KAYNAKLAR

1. Medina P, Navarro S. Influence of the 4600A/G and 4678G/C polymorphisms in the endothelial protein C receptor (EPCR) gene on the risk of venous thromboembolism in carriers of factor V Leiden. *Thromb Haemost* 2005;94:389-94. <https://doi.org/10.1160/th05-02-0089>
2. Esmo, C. Inflammation and the activated protein C anticoagulant pathway. *Semin Thromb Hemost* 2006;32:49-60. <https://doi.org/10.1055/s-2006-939554>
3. Saposnik B, Reny L. A haplotype of the EPCR gene is associated with increased plasma levels of sEPCR and is a candidate risk factor for thrombosis. *Blood* 2004;103:1311-8. <https://doi.org/10.1182/blood-2003-07-2520>
4. Qu, D. Y. Wang. The Ser219-->Gly dimorphism of the endothelial protein C receptor contributes to the higher soluble protein levels observed in individuals with the A3 haplotype. *J Thromb Haemost* 2006;4:229-35. <https://doi.org/10.1111/j.1538-7836.2005.01676.x>
5. Esmo, C. T. Structure and functions of the endothelial cell protein C receptor. *Crit Care Med* 2004;32:298-301. <https://doi.org/10.1097/01.CCM.0000126128.64614.81>
6. Stearns-Kurosawa DJ, Burgin C, Parker D, Comp P, Kurosawa S. Bimodal distribution of soluble endothelial protein C receptor levels in healthy populations [letter]. *Blood* 2003;4:855-856. <https://doi.org/10.1046/j.1538-7836.2003.t014-00115.x>
7. Roberts JM. Endothelial dysfunction in preeclampsia. *Semin Reprod Endocrinol* 1998;16:5-8. <https://doi.org/10.1055/s-2007-1016248>
8. Balazs B, Attila J, Charles T, Richard C. Endothelial protein C receptor (CD201) explicitly identifies hematopoietic stem cells in murine bone marrow. *Blood* 2006;107:2317-2321. <https://doi.org/10.1182/blood-2005-06-2249>
9. Guittion C, Gérard N, Sébille V, Bretonnière C, Zambon O, Villers D, Charreau B. Early rise in circulating endothelial protein C receptor correlates with poor outcome in severe sepsis. *Intensive Care Med* 2011;37:950-6. <https://doi.org/10.1007/s00134-011-2171-y>
10. Sesin CA, Yin X, Esmo CT, Buyon JP, Clancy RM. Shedding of endothelial protein C receptor contributes to

vasculopathy and renal injury in lupus: in vivo and in vitro evidence. *Kidney Int* 2005;68:110-20.
<https://doi.org/10.1111/j.1523-1755.2005.00385.x>

11. Yalçındađ FN, Batiođlu F, Ozdemir O, Cansizođlu E, Eđin Y, Akar N. Soluble endothelial protein C receptor levels in Behçet patients with and without ocular involvement. *Graefes*

Arch Clin Exp Ophthalmol 2008;246:1603-8.

<https://doi.org/10.1007/s00417-008-0873-9>

12. Dekker GA, Dozlitzs PM. Underlying disorders associated with severe early-onset preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 1995;173:1042-8.

[https://doi.org/10.1016/0002-9378\(95\)91324-6](https://doi.org/10.1016/0002-9378(95)91324-6)