

Tip 2 Diabetiklerde Faktör V Leiden Mutasyonu Sıklığı

The Frequency of Factor V Leiden Mutation in Type 2 Diabetic Patients

Meral Ekim^{1*}, Hasan Ekim²

¹Bozok Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Acil Yardım ve Afet Yönetimi Bölümü

²Bozok Üniversitesi Tıp Fakültesi Kalp ve Damar Cerrahisi Ana Bilim Dalı

ÖZET

Giriş: Multifaktöriyel ve poligenik bir hastalık olan diabetes mellitus, dünya çapında önemli bir sağlık sorunudur. Faktör V Leiden (FVL) mutasyonu taşıyan diyabetik hastalarda tromboembolik ve aterosklerotik hastalıkların gelişmesi için artmış bir risk olduğu bildirilmiştir. Bundan dolayı FVL mutasyonu taşıyan diyabetik hastaların tespit edilmesinin önemli olduğunu düşünüyoruz. Çalışmamızın amacı, diyabetli hastalarda FVL mutasyonu sıklığını araştırmaktır.

Gereç ve Yöntem: Bu çalışmaya diabetes mellituslu 67 hasta dahil edildi. Tüm hastalarda FVL mutasyonu araştırıldı. Çalışmamızda SNaPshot® multiplex system (Applied Biosystems Inc. Switzerland) kullanıldı. Heterozigot ve homozigot genotipik dağılımlar ve yüzdeleri tespit edildi.

Bulgular: Çalışmamızda yaşları 32 ile 88 arasında değişen (ortalama yaş 61.6 ± 11.1 yıl) 37 kadın ve 30 erkek hasta vardı. Genetik analizde hiçbir hastada homozigot FVL mutasyonu tespit edilmedi. Sekiz hastada (%11.9) heterozigot FVL mutasyonu tespit edildi. FVL mutasyonu saptanan sekiz hastanın beşinde (%62.5) hipertansiyon, dördünde (%50) asemptomatik periferik arter hastalığı ve birinde (%12.5) koroner arter hastalığı da mevcuttu.

Sonuç: Diyabetik hastalarda FVL mutasyonu sıklığı fazla olmamakla birlikte; diyabetiklerde cerrahi girişim, uzun süreli yatak istirahati veya travma gibi riskli durumlarda tromboprofilaksi uygulanması ihmal edilmemelidir.

Anahtar Kelimeler: Tip 2 Diabetes Mellitus, Mutasyon, FVL

ABSTRACT

Introduction: Diabetes mellitus, a multifactorial and polygenic disease, is a major health problem worldwide. An increased risk for the development of thromboembolic and atherosclerotic diseases has been reported in diabetic patients with Factor V Leiden (FVL) mutation. Therefore, we think that it is important to detect diabetic patients with genetic polymorphism. The aim of our study was to investigate the frequency of FVL mutation in patients with diabetes mellitus.

Material and Methods: This study included 67 patients with diabetes mellitus. FVL mutation was investigated in all patients. The SNaPshot® multiplex system (Applied Biosystems Inc. Switzerland) was used. The heterozygous and homozygous genotypic distributions and percentages were determined.

Results: There were 37 females and 30 males, ranging in age from 32 to 88 years with a mean age of 61.6 ± 11.1 years. There were no patients with homozygous FVL mutation. The heterozygous FVL mutation was detected in eight patients (11.9%). Of these eight patients with FVL mutation, five (62.5%) had hypertension, four (50%) had asymptomatic peripheral artery disease, and one (12.5%) had coronary artery disease.

Conclusion: Although the frequency of FVL mutation is not high in diabetic patients; thromboprophylaxis should be performed in diabetic patients in risky conditions such as surgery, long-term bed rest or trauma.

Key Words: Type 2 Diabetes Mellitus, Mutation, FVL

Giriş

Diabetes mellitus pankreasın beta hücrelerinden salgılanan insülin hormonunun azlığı veya etkisinin olmaması ya da hem algılanmasının hem de etkisinin birlikte bozulmasıyla oluşan ve glisemi seviyelerinin yüksekliğiyle seyreden karbonhidrat, yağ ve protein metabolizmasındaki değişikliklerle kendini gösteren kronik metabolik bir hastalıktır. Diyabet, dünya çapında yaşamı tehdit eden önemli bir sağlık sorunudur (1). Kardiyovasküler hastalık ve hipertansiyon diyabet hastalarında mortalitenin başlıca nedenidir (2).

Multifaktöriyel ve poligenik bir hastalık olan diyabetin, tip 1 diabetes mellitus (T1DM ve tip 2 diabetes

mellitus (T2DM) olmak üzere başlıca iki tipi vardır. Ayrıca, gestasyonel diyabet (gebelikte görülen) ve sekonder diyabet tipleri de vardır.

Diyabetin en sık rastlanan formu T2DM olup, global olarak vakaların % 90'ından fazlasını oluşturur ve insüline dirençten veya yetersiz insülin üretimden kaynaklanan glikoz intoleransı ile karakterizedir (3). T2DM erken dönemde semptom vermediğinden yıllarca fark edilmeyebilir (4). Güçlü bir ailesel genetik yatkınlık ile ilişkiliyse de T2DM'nin genetiği karmaşıktır ve henüz tam olarak aydınlatılmamıştır (5). Genel popülasyonda T2DM sayısal olarak daha yaygın olmakla birlikte, T1DM, çocuklarda ve ergende görülen ana diyabet tipidir. Bununla birlikte, bu yaş grubunda T2DM prevalansının artmasıyla, çocuklarda

da T2DM olguları bir ya da iki dekat sonra T1DM olgularını bile geçebilmesi muhtemeldir (6).

Hiperglisemi ve hipertansiyona ek olarak diyabetiklerde önemli modifiye edilebilen bir risk faktörü olan dislipidemi de ortaya çıkabilmektedir. Bu nedenle diyabet hastalarında kardiyovasküler hastalık oranının artması muhtemeldir. T2DM olan birçok hastada dislipideminin majör karakteristiği artmış trigliserid seviyesi, azalmış HDL kolesterol seviyesi ve LDL kolesterol seviyesinde ve kompozisyonunda olan değişikliklerdir (7). Diyabetiklerde hipertansiyon ve dislipidemi çoğunlukla birlikte olduğundan inme riski de artmaktadır. Ancak, bu faktörlerin etkileri düzeltilse bile, diyabet iskemik nörolojik olayların bağımsız bir belirteçidir. Bu durum diyabetle bağlantılı diğer faktörlerinde bu olayda etkili olduğunu düşündürmektedir.

Faktör V Leiden (FVL) mutasyonu taşıyan diyabetik hastalarda tromboembolik ve aterosklerotik hastalıkların gelişmesi için artmış bir risk olduğu bildirilmiştir (8). Ayrıca, Heterozigot FVL mutasyonu ve T1DM olan hastalarda kronik zayıf glisemik kontrol tromboz riskini artırır (8). Bundan dolayı genetik mutasyon taşıyan diyabetik hastaların tespit edilerek yakından izlenmesi gerektiğini düşünüyoruz. Tanımlayıcı tipte kesitsel bir çalışma olarak planlanan çalışmamızın amacı, diyabetli hastalarda genetik mutasyon sıklığını araştırmaktır.

Gereç ve Yöntem

Hastanemizde Ocak 2015 ile Mayıs 2017 tarihleri arasında T2DM tanısı konulan ve vasküler doppler tetkikleri yapılan 67 hasta çalışma kapsamına alındı. Çalışmamızın protokolü üniversitemiz bilimsel etik kurulunca onaylanmıştır (14.10.2016/74) ve Helsinki deklarasyonu ile uyumlu olarak yürütülmüştür. Ayrıca katılan hastalarımızdan da onam alınmıştır.

Tüm hastalarda rutin laboratuvar testleri yapıldı. Ayrıca, FVL mutasyonu da araştırıldı. Bir gece açlıktan sonra, periferik venöz kan numuneleri alındı. DNA izolasyonları 200 µl periferik kan numuneleri QIAamp DNA Blood Mini Kit (Qiagen Inc. Germany) kullanılarak yapıldı ve polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) yapılıncaya kadar -20°C'de muhafaza edildi. Mutasyon taranmasında SNaPshot® multiplex system (Applied Biosystems Inc. Switzerland) kullanıldı. Keza SNaPshot® reaksiyonlarının kapiller elektroforezi de ABI 3130 capillary electrophoresis instrument (Applied Biosystems Inc. Switzerland) kullanılarak uygulandı. Heterozigot ve homozigot genotipik dağılımlar ve yüzdeleri tespit edildi.

İstatistiksel analiz için bulguların ortalama ve standart sapması hesaplandı. Değerler yüzde olarak ifade edildi.

Bulgular

Hastaların 30'u erkek, 37'si kadındı ve yaşları 32 ile 88 arasında değişmekteydi (ortalama yaş 61.6 ± 11.1 yıl). Hastaların 44'ü (% 65.6) hipertansif idi. Tüm hastalarda femoral ve popliteal arteriyel nabızlar alınmıyordu. Ancak, 12 (%17.9) hastada dorsalis pedis ve tibialis posterior arterlerinin nabızı alınmıyordu. Arteriyel Doppler tetkikinde bu 12 hastada asemptomatik periferik arter hastalığı tespit edildi. Ayrıca, venöz Doppler tetkikinde bir hasta da asemptomatik infrapopliteal derin ven trombozu (DVT) tespit edildi.

Hiçbir hastada homozigot FVL mutasyonu tespit edilmedi. Sekiz hastada (%11.9) heterozigot FVL mutasyonu tespit edildi (Tablo 1). FVL mutasyonu saptanan sekiz hastanın beşinde (%62.5) hipertansiyon, dördünde (%50) asemptomatik periferik arter hastalığı ve birinde (%12.5) koroner arter hastalığı da mevcuttu.

Tartışma

Genellikle iki faktör diyabet oluşumunda etkilidir. Birincisi insülin eksikliğidir. İkincisi ise insülin sinyal yolağında blokajdır (9). Amerikan Diyabet Derneği (ADA) HbA1c değeri %5.7'den küçükse kişinin diyabet olmadığını, %5.7 ile %6.5 arasındaysa prediyabet olabileceğini, %6.5'dan fazlaysa diyabet olduğunu bildirmektedir. HbA1c kriterlerine dayanarak; şeker yüklemeye veya başka testlere gereksinim olmadan prediyabetik dönemde hastalık teşhis edilebilir. HbA1c ölçümüyle hastaların 3 aylık glisemik düzeyi de değerlendirilmiş olur (10).

Diyabetiklerde yükselmiş lipit peroksidasyonu sebebiyle hücre zarı akıcılığında değişiklikler meydana gelmekte bu da glikozun intrasellüler transportunda azalmaya neden olmaktadır. Diyabetiklerde kalsiyum metabolizması da bozulduğundan ateroskleroz, hipertansiyon gibi kardiyovasküler rahatsızlıklar sıklıkla oluşmakta, bu da dolaylı olarak katarakt, nefropati ve nöropati gibi bozukluklara yol açabilmektedir (11).

Diyabetli olguların çoğunda (% 64,7) arteriyel kan basıncı da yüksektir. Bundan dolayı hipertansif diyabetiklerde glisemi seviyesi kadar hipertansiyonda kontrol altına alınmalıdır. Çünkü diyabet ile hipertansiyonun birlikte olması inme ve kardiyovasküler ölüm riskini 2-3 kat artırabilir (2). Çalışmamızda da diyabetik hastalarda yüksek oranda (%65.6) hipertansiyon tespit edilmiştir. İnme ve diğer

Tablo 1. Heterozigot FVL mutasyonu tespit edilen hastaların yaşları, cinsiyetleri ve eşlik eden hastalıkları

Yaş	Cinsiyet	Hastalık tanıları
54	Erkek	DM, DVT
76	Kadın	DM, HT
74	Erkek	DM, HT, KAH
53	Kadın	DM, PAH
70	Erkek	DM, HT, PAH
54	Kadın	DM, HT, PAH
54	Kadın	DM, HT
56	Erkek	DM, PAH

DM: diabetes mellitus, HT: hipertansiyon, KAH: koroner arter hastalığı, DVT:derin ven trombozu, PAH: periferik arter hastalığı

cididi komplikasyonları önlemek için bu hastalar yakından izlenmelidir.

Diyet hipertansiyon için modifiye edilebilen önemli bir risk faktörü olarak kabul edilir. Özellikle intravasküler ve ekstrasvasküler sıvı hacminin regülasyonunda ve kan basıncı seviyelerini de kapsayan birçok fizyolojik fonksiyonlarda sodyum merkezi bir rol oynar (7). Bu nedenle tuz alımının kısıtlanması, hayvansal yağların az alınması, fazla kiloların verilmesi, fizik egzersizlerin artırılması ve alkolün terk edilmesi hipertansiyon tedavisinde önemlidir (7).

İnsanlarda ve hayvanlarda yapılan çalışmalar diyetle alınan kalsiyumun kan basıncına hafif bile olsa olumlu etkisinin olduğunu göstermiştir. Dolayısıyla sebze ve meyve tüketimi kadar olmasa da süt ürünleri tüketiminin de hipertansiyon üzerine olumlu etkisi vardır (7).

1993 yılında Dahlback'ın başkanlığını yaptığı İsveç araştırma ekibi koagülasyon sistemini etkileyen alışılmadık bir fenomeni fark ettiler (12). Venöz tromboembolizm (VTE) olan hastaların plazmalarına dışarıdan aktive protein C (APC) ilave ettiklerinde normalde APC'nin faktör V'i (FV) inaktive ederek koagülasyon olayını yavaşlatması sonucu pıhtılaşma zamanında uzama olması gerekirken bazı hastalarda koagülasyon olayında bu yavaşlamanın olmadığını fark ettiler. Bu fenomene APC direnci dediler. Bir yıl sonrada Hollandalı araştırmacı Bertina'nın yürüttüğü bir araştırmada bu fenomene FV geninde APC direncine neden olan misens bir nokta mutasyonunun neden olduğu keşfedildi (13). Kalıtsal aktive protein C direncine neden olan bu mutasyonun adına keşfin yapıldığı Hollanda şehrinin ismine atfen Faktör V Leiden (FVL) ismi verildi. Bu mutasyon Faktör V geninde nükleotid 1691 pozisyonundaki tek nokta mutasyonu sonucu adenin yerine guanin geçmesiyle (506 amino asit pozisyonundaki arjinin'in glutamin ile yer değiştirmesi) oluşur. Faktör V tek zincirli bir prokofaktör olup, kanın koagülasyonun

regülasyonunda diğer plazma faktörleriyle uyumlu davranır (14). Ülkemizde yapılan çalışmalarda FVL mutasyonunun homojen dağılım gösterdiği ve ender olmadığı anlaşılmıştır (15).

FVL mutasyonunun sadece venöz trombozla değil aynı zamanda T2DM ile de ilişkili olduğu ileri sürülmüştür (16). Krekore ve arkadaşları (17) İtalyan toplumunda FVL mutasyonu ile T2DM arasında bir ilişki olduğunu göstermiştir. Ancak, Wakim-Ghorayeb ve arkadaşlarıysa (5) FVL ve protrombin gen (PT G20210A) mutasyonlarıyla T2DM arasında bir ilişki olmadığını bildirmiştir. Yine Ortadoğu'da yapılan bir çalışmada diyabeti olan ve olmayan koroner arter hastalarında FVL ve PT G20210A mutasyonlarının sıklığının kontrol grubuna göre anlamlı bir fark göstermediği bildirilmiştir (18). Daha önceki bir çalışmamızda ülkemizde sağlıklı popülasyonda FVL mutasyonu sıklığını %19 olarak tespit etmiştik (15). Çalışmamızda da diyabetiklerde FVL mutasyonu sıklığı %11.9 olarak bulunmuş olup, FVL mutasyonu ile T2DM arasında bir ilişki olmadığı görüşünü desteklemektedir.

Glikolize hemoglobin değeri %7'den fazlaysa hem T1DM hem T2DM vasküler olaylarla ilişkili olabileceği bildirilmiştir (19). Diyabetiklerin yaklaşık %17'sinde periferik damar hastalığına rastlanmakta olup, tedavi edilmezse ülserasyon, kangren ve amputasyon gibi olumsuz sonuçlara neden olmaktadır. Diyabetiklerde genellikle distal arteriyel tutulum vardır (20). Benzer olarak bizim 12 (%17.9) hastamızda arteriyel Doppler incelenmesinde asemptomatik distal periferik arter hastalığı tespit edildi. Bundan dolayı diyabetli olgularda vasküler komplikasyonların erken tanısında vasküler Doppler tetkikinin önemi büyüktür.

T2DM kardiyovasküler hastalık için bir risk faktörüdür. T2DM, hipertansiyon, hiperlipidemi ve obezite gibi risk faktörleri koroner kalp hastalığı riskini de artırır (21). Özellikle bu risk faktörlerinin de eşlik ettiği olgularda inme ve miyokart enfarktüsü

riskinin azaltılması için hipergliseminin yanında başta hipertansiyon olmak üzere modifiye edilebilen diğer risk faktörlerinin de kontrol altına alınması önemlidir.

Koagülasyon inhibitörlerinin enzimatik olmayan glikozilasyonu gibi çeşitli faktörlere bağlı olarak diyabetin patogenezi hiperkoagülabilité ile de ilişkilidir (22). Hiperkoagülan proteinlerin aşırı üretilmesine ve antikoagülan proteinlerin gereğinden daha az üretilmesine yol açtığından diyabet hiperkoagülabilitéye eğilim oluşturur (23). Yükselmiş fibrinojen konsantrasyonları, von Willebrand faktör ve diğer endotelden türetilmiş mediyatörler kan viskozitesini artırır ve trombosit aktivasyonuna ve adezyonuna ön ayak olur. Ayrıca, yüksek konsantrasyonlarda plazminojen aktivatör inhibitör-1 nedeniyle de fibrinoliz bozulur (24). Tüm bunlardan dolayı diyabet trombotik olaylar için iyi bilinen bir risk faktörü gibi görünmektedir. Nitekim bizim FVL mutasyonu olmayan bir olgumuzda asemptomatik DVT tespit edilmiştir. Bununla birlikte, diyabetle venöz tromboz arasındaki ilişki hala tartışma konusudur.

Diyabetik hastalarda hipertansiyon sıklığı fazla olduğundan, diyabetik hastalarda hipertansiyonun kontrol altına alınması glisemi seviyelerinin kontrolü kadar önemlidir. Diyabetiklerde FVL mutasyonu sıklığı fazla olmamakla birlikte; cerrahi girişim, uzun süreli yatak istirahati veya travma gibi riskli durumlarda mutlaka tromboprofilaksi uygulanmalıdır. Çalışmamızın kontrol grubu da içeren geniş kapsamlı randomize çalışmalarla desteklenmesi uygundur.

Kaynaklar

1. Angelina T, Thiruvarutselvi G, Isabel W, Aruna RM, Devi R and Jeyaraj N. MTHFR (ALA 222 VAL) polymorphism and AMI in patients with type II diabetes mellitus. *Ind J Clin Biochem* 2009; 24(2): 137-141.
2. Aydın Y, Kudaş Ö, Soysal T, Önder E, Kutlucan A, Gür M, et al. Diabetes mellitus hastalarında hipertansiyon tedavisi ve kontrolü. *Türkiye Klinikler, J Endocrin* 2014; 9(2): 39-44.
3. Sacs DB, Arnold M, Bacris G, Brunds DE, Horvath AR, Kirkman MS, et al. Guidelines and recommendations for laboratory analysis in the diagnosis and management of diabetes mellitus. *Diabetes Care* 2011; 34: 61-99.
4. Orçun A, Küçükercan İ, Madenci ÖÇ, Kolcu N, Tekçe B. Diabetes mellitusta tanı kriterlerinin karşılaştırılması. *Türk Klinik Biyokimya Derg* 2003; 2: 69-74.
5. Wakim-Ghorayeb SF, Keleshian SH, Timson G, Finan RR, Najm P, Irani-Hakime N, et al. Factor V G169A (Leiden) and prothrombin G20210A single nucleotid polymorphisms in type 2 diabetes mellitus. *Am J Hematol* 2005; 80: 84-86.
6. Zimmet, Paul, Walder, Ken, and Collier, Greg R(Jan 2006) Diabetes: Genetics. In: eLS. John Wiley & Sons Ltd, Chichester. <http://www.els.net> [doi: 10.1038/npg.els.0005561].
7. Celik F, Celik M, Akpolat V. Nutritional risk factors for the development of hypertension in diabetic patients. *J Diabetes Complications* 2009; 23(5): 304-309.
8. Demirer AN, Alikasifoglu M, Tuncbilek E, Karakus S and Erbas T. Factor V Leiden mutation and type 1 diabetes mellitus. *Blood Coagul Fibrinolysis* 2008; 19(1): 70-74.
9. Yan Y, Liang H, Yang S, Wang J, Xie L, and Li S. Methylenetetrahydrofolate reductase A1298C polymorphism and diabetes risk: evidence from a meta-analysis. *Ren Fail* 2014; 36(7): 1013-1017.
10. Keskin Ö, Balcı B. Diabetes mellitus ve kardiyovasküler komplikasyonlar. *Kafkas J Med Sci* 2011; 1(2): 81-85.
11. Tümer G, Çolak R. Tip 2 diabetes mellitusta tıbbi beslenme tedavisi. *J Exp Clin Med* 2012; 29: 12-15.
12. Dahlback B, Carlsson M, and Svensson PJ. Familial thrombophilia due to a previously unrecognized mechanism characterized by poor anticoagulant response to activated protein C: prediction of a cofactor to activated protein C. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90: 1004-1008.
13. Bertina RM, Koeleman BPC, Koster T. Mutations in blood coagulation factor V associated with resistance to activated protein C. *Nature* 1994; 369: 64-67.
14. Ajem A, Slama A, Slama FBH and Mehjoub T. Prevalence of factor V Leiden mutation in patients with thrombosis in Tunisia. *Eastern Med health J* 2009; 15: 1483-1488.
15. Ekim M, Ekim H. Derin ven trombozu olmayan bireylerde Factor V Leiden, Protrombin G20210A ve Metilentetrahidrofolat Redüktaz (MTHFR) Gen Mutasyonlarının İnsidansı. 2015, Bozok Üniversitesi Proje Kodu: 2015TF/A156.
16. Odawara M, Yamashita K. Factor V Leiden mutation and Japanese NIDDM. *Diabetologia* 1997; 40: 1363-1368.
17. Krekora K, De Lucia D, Capani F, Donqati MB, Lacoviello L. Association of coagulation factor VArg506Gln mutation with non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Lancet* 1996; 348(9042): 1666-1667.
18. Rahimi Z, Nomani H, Mozafari H, Vaisi-Raygani A, Madani H, Malek-Khosravi S, et al. Blood Coagul Fibrinolysis 2009; 20: 252-256.
19. Lodigiani C, Ferrazzi P, Di Micco P, Librè L, Genovese S, Quaglia I, et al. Is there a relationship between factor V Leiden and type 2 diabetes? *J Transl Med* 2009; 7: 52.

20. Marso SP (Türkçe çevirisi: Erdoğan MF).Diabetes mellitus ve kardiyovasküler hastalıklar el kitabı. Ortadoğu Reklam Tanıtım ve Yayıncılık AŞ. Türkiye KLinikleri, Ankara, 2003.
21. Yılmaz H, Ağachan B, Ergen A, Karaalib ZE and Isbir T. Methylene tetrahydrofolate reductase C677T mutation and left ventricular hypertrophy in Turkish patients with type II diabetes mellitus. J Biochem Mol Biol 2004; 37(2): 234-238.
22. Khan IA, Shaik NA, Kamineni V, Jahan P, Hasan Q and Rao P. Evaluation of gestational diabetes mellitus risk in South Indian women based on MTHFR (C677T) and FV (G1691A) mutations. Front Pediatr 2015; 3: 34.
23. Tschoepe D, Roesen P. Heart disease in diabetes mellitus: a challenge for early diagnosis and intervention. Exp Clin Endocrinol Diabetes 1998; 106: 16-24.
24. Petrauskiene V, Falk M, Waernbaum I, Norberg M, Eriksson JW. The risk of venous thromboembolism is markedly elevated in patients with diabetes. Diabetologia 2005; 48: 1017-1021.