

K VİTAMİNİNE BAĞIMLI YENİ KEŞFEDİLMİŞ PROTEİNLER

Fikriye URAS

35.1. Giriş

Yapısında “gamma-karboksi glutamik asit” (Gla) adı verilen modifiye bir amino aside sahip olan proteinlere, K vitaminine bağımlı proteinler ya da “Gla proteinleri” denir. Molekül önce propeptit olarak sentezlenir sonra “K vitamini karboksilaz” enzimi aracılığıyla amino terminal bölgesindeki bazı glutamik asitler modifiye edilerek Gla’ya dönüşür.

35.2. Gla proteinlerinin Önemi

Gla, kalsiyum iyonlarını bağlayarak proteinin üç boyutlu yapısının değişmesine sebep olur. Bu sayede koagülasyon proteinleri negatif yüklü membranlara, özellikle fosfatidil serine bağlanabilir. Aktive edilmiş trombositlerde, membran proteinlerinde değişiklik olur; reseptörlerin sayı ve konumu farklılaşır. Aktivasyon sırasında fosfatidil serin membranın dış yüzeyine çıkarak hazır konuma gelir. Böylece koagülasyon proteinleri kolayca bağlanabilir.

Koagülasyon sisteminin Gla-proteinleri olan protrombin, faktör VII, faktör IX, faktör X, protein C, protein S ve protein Z’nin yapı ve fonksiyonu uzun yıllardır bilinmektedir. Yeni keşfedilen K vitaminine bağımlı proteinlerin fonksiyonu ise koagülasyon sisteminin dışındadır (Tablo 1). Osteokalsin, “matriks Gla proteini” (MGP), periostin, “büyüme engellenmesine-spesifik 6” (Gas6) proteini ve diğer K vitaminine bağımlı proteinler, kalsiyum homeostazını destekler, damar duvarı kalsifikasyonunu önler, endotel bütünlüğünü sağlar, kemik mineralizasyonunu kolaylaştırır, doku rejenerasyonu ve hücre çoğalmasının kontrolü gibi çeşitli olaylarla ilişkilidir.

K vitamini eksikliğinde Gla proteinlerinin post-translasyonel karboksilasyonu bozulur. Bu defektif Gla proteinlerine PIVKA (Proteins Induced by

Vitamin K Absence) veya az karboksillenmiş protein (deskarboksi protein) adı verilir. Örneğin K vitamini eksikliğinde oluşan protrombine, PIVKA-II veya des- γ -karboksi-protrombin denir. Defektin şiddetine göre bu proteinler kalsiyum iyonlarını bağlamada yetersiz kalır. Yeni doğanların K vitamini eksikliğinde, varfarin gibi K vitamini antagonistleri kullanıldığında, hepatoma gibi karaciğer hastalıklarında plazma PIVKA seviyeleri artar.

Gebelik sırasında varfarin kullanan annelerin bebeklerinde, “Fetal Varfarin Sendromu” adı verilen teratojenik bir anomali meydana gelir. Bu bebeklerde, kemik deformiteleri ve büyüme bozuklukları görülür. Yetişkinlerde varfarinin kemik üzerindeki etkileri böylesine belirgin değildir ama uzun süre kullananlarda, kemik yoğunluğunda azalma olduğu bildirilmiştir.

K vitaminine bağımlı proteinler, çözülmüş kalsiyum iyonlarını bağlayabildikleri gibi suda çözünemeyen baryum sülfat ya da baryum sitrat tuzlarına da tutunabilir. Bu sayede santrifüj edilerek plazmadan kolayca izole edilebilirler.

35.3. K Vitamini

K vitamini, K vitaminine bağımlı proteinlerin post-translasyonel modifikasyonunda bir kofaktördür. Tesadüf sonucunda keşfedilmiştir. Danimarka’da Henrick Dam 1929 yılında tavukların diyetinde kolesterolün gerekli olup olmadığını incelerken, onları lipit çözücü maddelerle ekstrakte edilmiş yemle beslemişti. Yağsız diyetle beslenen tavuklar, kanama yüzünden ölmüştü. Diğer bir grubu, yeşil yapraklı bir bitki olan kaba yoncayla beslediği zaman kanama meydana gelmemişti. Dam, bu bulguları yorumlayarak besinlerde antihemorajik bir faktörün var olduğunu keşfetmiş oldu. Araştırma, Almanca

daha yüksek bulunmuştur. Bu çalışmada, plazmadaki GAS6'nın kardiyovasküler risk faktörü ön belirteçlerinden biri olabileceği bildirilmiştir.

GAS6/AXL yolağı, diyabetle ilgili kardiyovasküler ve böbrek fonksiyon komplikasyonlarında önemli bir mekanizmadır. Tip II diyabeti olan albumürili hastalarda plazma GAS6 seviyesi kontrol grubuna göre daha yüksek bulunmuştur. Bu bulgu diyabetik nefropati ile GAS6 arasında bir ilişki olabileceğini düşündürmektedir. Glukozun, AXL sinyal yolağını etkilediği ve bu durumun diyabetik hastalarda damar komplikasyonu gelişimiyle ilgili olabileceği bildirilmiştir. Ekman ve arkadaşlarının 2010 yılında akut ekstremitte iskemisinde (critical limb ischemia) yaptığı bir çalışmada, plazma GAS6

ve çözünebilir AXL seviyesi kontrol grubuna oranla belirgin bir şekilde daha yüksek bulunmuştur. Sünbül ve arkadaşları, psöriazisli olgularda plazma GAS6 seviyeleriyle geleneksel kardiyometabolik risk faktörleri arasındaki ilişkiyi incelediklerinde, sigara içenlerde plazma GAS6 seviyesinin daha düşük olduğunu saptamıştır. Verimli ve Uras, trombotik hastalıklara zemin hazırladığı bilinen akromegali, GAS6 genine ait c.834+7G>A polimorfizmi görülme sıklığını ve plazma GAS6 seviyesini incelemiştir. Polimorfizm açısından kontrol ve hasta grupları arasında bir fark gözlenmezken, serum GAS6 seviyesi akromegali grubunda daha düşük bulunmuştur.

35.17. Kaynaklar

- Bingöl-Özakupınar Ö. İnsan trombositleri ile Gas6 (growth arrest-specific 6) proteini arasındaki ilişki. Marmara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi. 2010.
- Cagman Z, Bingol Ozakupınar O, Cirakli Z, Gedikbasi A, Ay P, Colantonio D, et al. Reference intervals for growth arrest-specific 6 protein in adults. *Scand J Clin Lab Invest* 2017;77:109-14.
- Ekman C, Gottsäter A, Lindblad B, Dahlbäck B. Plasma concentrations of Gas6 and soluble Axl correlate with disease and predict mortality in patients with critical limb ischemia. *Clin Biochem* 2010;43:873-6.
- Eksi Alp E, Altinkaya N, Cagman Z, Uras F. Plasma growth arrest-specific 6 levels in term and preterm newborns. *J Matern Fetal Neonatal Med* 2017:1-8.
- Emekli NB, Ulutin ON. Some properties of autoprothrombin II-A anticoagulant. *Bibl Haematol* 1977;44:15-20.
- Emekli NB, Ulutin ON. The protective effect of autoprothrombin II -anticoagulant on experimental DIC in animals. *Haematologica* 1980;65:644-51.
- Erek-Toprak A, Bingol-Ozakupınar O, Karaca Z, Cikrikcioglu MA, Hursitoglu M, Uras AR, et al. Association of plasma growth arrest-specific protein 6 (Gas6) concentrations with albuminuria in patients with type 2 diabetes. *Ren Fail* 2014;36:737-42.
- Eroglu M, Ozakupınar OB, Turkgeldi L, Sahin S, Herkiloglu D, Durukan B, Uras F. Plasma levels of growth arrest specific protein 6 are increased in idiopathic recurrent pregnancy loss. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2014;18:1554-8.
- Esmon CT, Esmon NL. Protein C activation. *Semin Thromb Hemost* 1984;10:122-30.
- Furie B, Furie BC. Molecular basis of vitamin K-dependent gamma-carboxylation. *Blood* 1990;75:1753-62.
- Güney Dilvin Berrak. GAS6 (Growth arrest specific 6)/TAM reseptör yolağının kronik lenfositik lösemiyle ilişkisi. Marmara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi. 2015.
- Koldas M, Uras F. Avidin-biotin ELISA for measurement of prothrombin in human plasma. *Thromb Res* 2001;102:221-7.
- Nelstuen GL, Zytkovicz TH, Howard JB. The mode of action of vitamin K. Identification of gamma-carboxyglutamic acid as a component of prothrombin. *J Biol Chem* 1974;249:6347-50.
- Neşe E. Mezenkimal kök hücre farklılaşmasında Gas6 (growth arrest specific gene 6)nın rolü. Marmara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, 2015.
- Otamış T, Uras F, Uras AR, Yardımcı T. Separation/purification of vitamin K dependent plasma proteins in prothrombin complex by HPLC. *Clin Chem* 2001;47:569, Part 2 Suppl. S, A173-A174.
- Ozakupınar OB, Sahin S, Verimli N, Simsek GG, Maurer AM, Eroglu M, Tetik S, Uras F. Association between the growth arrest-specific 6 (Gas6) gene polymorphism c.834 + 7G>A and preeclampsia. *J Matern Fetal Neonatal Med* 2016;29:1149-53.

- Ozsavci D, Yardimci T, Demirel GY, Demiralp E, Uras F, Onder E. Flow cytometric assay of platelet glycoprotein receptor numbers in hypercholesterolemia. *Platelets* 2002;13:223-9.
- Ozsavci D, Yardimci T, Demirel GY, Uras F, Hekim N, Ulutin ON. Apo A-I binding to platelets detected by flow cytometry. *Thromb Res* 2001;103:117-22.
- Pekgöz E, Uras F, Uras AR, Akın G, Yardımcı T, Ulutin ON. Production of antibodies against bovine factor X and protein S by immunization of rabbits. *Turk J Med Sci* 1993;19:383-90.
- Price PA, Urist MR, Otawara Y. Matrix Gla protein, a new gamma-carboxyglutamic acid-containing protein which is associated with the organic matrix of bone. *Biochem Biophys Res Commun* 1983;117:765-71.
- Price PA. Role of vitamin-K-dependent proteins in bone metabolism. *Annu Rev Nutr* 1988;8:565-83.
- Seegers WH, Novoa E, Henry RL, Hassouna HI. Relationship of "new" vitamin K-dependent Protein C and "old" autoprothrombin II-a. *Thromb Res* 1976;8:543-52.
- Seegers WH, Smith HP, Warner ED, Brinkhouse KM. The purification of prothrombin. *J Biol Chem* 1938;123:751-4.
- Seegers WH, Ulutin ON. Autoprothrombin II (Autoprothrombin II Anticoagulant). *Thromb Diath Haemorrh* 1961;5:456-62.
- Sener A, Ozsavci D, Oba R, Demirel GY, Uras F, Yardimci KT. Do platelet apoptosis, activation, aggregation, lipid peroxidation and platelet-leukocyte aggregate formation occur imultaneously in hyperlipidemia? *Clin Biochem* 2005;38:1081-7.
- Sipahi T, Duru F, Yarah N, Akar N. Compound heterozygosity for factor V Leiden and prothrombin G20210A mutations in a child with Budd-Chiari syndrome. *Eur J Pediatr* 2001;160:198.
- Stenflo J, Fernlund P, Egan W, Roepstorff P. Vitamin K dependent modifications of glutamic acid residues in prothrombin. *Proc Natl Acad Sci USA* 1974;71:2730-3.
- Stenflo J. A new vitamin K-dependent protein. Purification from bovine plasma and preliminary characterization. *J Biol Chem* 1976;251:355-63.
- Sunbul M, Cagman Z, Gerin F, Ozgen Z, Durmus E, Seckin D, et al. Growth arrest-specific 6 and cardiometabolic risk factors in patients with psoriasis. *Cardiovasc Ther* 2015;33:56-61.
- Suttie JW. Vitamin K-dependent carboxylase. *Annu Rev Biochem* 1985;54:459-77.
- Tie JK, Stafford DW. Structural and functional insights into enzymes of the vitamin K cycle. *J Thromb Haemost* 2016;14:236-47.
- Ulutin ON, Johnson JF, Seegers WH. Autoprothrombin II of human origin. *Am J Physiol* 1961;201:660-2.
- Ulutin ON, Seegers WH. Plazmadan elde edilen yeni bir inhibitör. *İstanbul Üniv Tıp Fak Mec* 1962;28:244.
- Uras AR, Uras F, Yardımcı T, Ulutin ON. Purification of factor IX, factor X, protein S and protein C from bovine plasma and evaluation with HPLC. *Turk J Med Sci* 1994;22:89-95.
- Uras AR, Uras F, Yardımcı T, Ulutin ON. Purification of prothrombin from bovine plasma and its evaluation with HPLC. *J Phar Univ Marmara* 1991;7:95-105.
- Uras F, Küçük B, Bingöl Özakpınar Ö, Demir AM. Growth Arrest-Specific 6 (Gas6) and TAM Receptors in Mouse Platelets. *Turk J Haematol* 2015;32:58-63.
- Uras F, Uras AR, Özkazanç D, Yardımcı T, Ulutin ON. Purification of human prothrombin and preparation of antibody. *Turk J Med Sci* 1994;21:239-43.
- Uras F, Uras AR, Yardimci T, Sardana MK. Determination of the N-terminal amino acid sequence of the purified prothrombin from a patient with liver cirrhosis. *Thromb Res* 2000;99:277-83.
- Uras F, Uras AR, Yeni Gla-Proteinleri: Gas6 ve Matrix Gla-Proteini. *Tromboz Hemostaz ve Anjioloji* (Editör O.N. Ulutin), Sayfa 39-51, 2006.
- Verimli Nihan. Akromegali ile "growth arrest-specific 6" ilişkisi. *Marmara Üniversitesi/Sağlık Bilimleri Enstitüsü/Biyokimya Anabilim Dalı. Yüksek Lisans Tezi*; 2015.
- Yıldız F, Acunaş B, Cidol Ş, Uras F, Say A. Oral ve intramüsküler K vitamini uygulama etkinliğinin plazma K vitamini eksikliğine bağlı-protein ölçümleri ile belirlenmesi. *Haseki Tıp Bülteni* 1996;34:41-5.
- Yıldız Z, Deda G, Akar N. Prothrombin G20210A and A19911G mutations in Turkish pediatric stroke patients. *Turk J Haematol* 2006;23:197-9.