

T.C

OSYAL SİGORTALAR KURUMU
KMEYDANI EĞİTİM HASTANESİ
I. İÇ HASTALIKLARI KLİNİĞİ
Şef: Dr. Metin ACAR

PLAZMA OKSİDE LDL DÜZEYİNİN DİABETİK MAKROVASKÜLER HASTALIK İLE İLİŞKİSİ

Dr. Müge KORKMAZ

(Uzmanlık Tezi)

İstanbul-2003

İÇİNDEKİLER

I.	Giriş.....	1
II.	Genel Bilgiler.....	3
	Diabet ve Makrovasküler Komplikasyonları	
	Diabet ve Ateroskleroz	
	Diabetik Aterogenez Mekanizmaları	
	<i>Monosit-endotel arasındaki ilişkiler</i>	
	<i>Sitokinler ve Büyüme Faktörlerinin Rolü</i>	
	Diabetin Aterogenezdeki Etkisi	
	<i>Hiperglisemi ve Protein Glikasyonu</i>	
	<i>Hiperinsülinemi ve Ateroskleroz</i>	
	<i>-Proinsülinin Rolü</i>	
	<i>Dislipidemi, Diabet ve Ateroskleroz</i>	
	<i>-Lipoprotein immün komplekslerinin oluşumu</i>	
	<i>-Oksitlenmiş Düşük Dansiteli Lipoprotein</i>	
	<i>Hipertansiyon ve Ateroskleroz</i>	
	Oksidatif Stres ve Diabetes Mellitus	
III.	Materyal ve Metod.....	30
IV.	Bulgular.....	31
V.	Sonuçlar.....	36
VI.	Özet.....	37
VII.	Tartışma.....	38
VIII.	Referanslar.....	45

ÖNSÖZ

Uzmanlık eğitimim boyunca bilimsel yaklaşımı, bilgi ve deneyimleriyle bizlere yol gösteren ve gerek kişiliği ve gerekse mesleki yönüyle her zaman örnek olan değerli Hocam, Klinik Şefimiz Sayın Dr. Metin ACAR'a sonsuz saygı, sevgi ve teşekkürlerimi sunarım.

Sürekli olarak bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım ve her konuda yardımlarını esirgemeyen Şef Yardımcımız Sayın Dr. Ali Çetin ÖLEK'e, Başasistanımız Sayın Dr. Ertan CEVİZCİ, Uzmanlarımız Sayın Dr. Melek ÖZER, Dr. Yücel ARMAN, Dr. Meral MERT ve Dr. Mustafa TEMİZEL'e teşekkür eder, saygılar sunarım.

Asistanlık sürem boyunca her zaman karşılıklı sevgi, saygı ve uyum içerisinde birlikte çalıştığımız Sayın Dr. Yavuz BAYIR, Dr. Osman DURMAZ, Dr. Mustafa TEKTAŞ, Dr. Mustafa ERGÜL, Dr. Serhat KARADAĞ, Dr. Ahmet YAVUZ, Dr. Deniz ARSLAN, Dr. Yasemin ŞAHİNKAYA, Dr. Gökçe AKAGÜNDÜZ VE I. İç hastalıkları Kliniği Hemşireleri Sayın Mahide KESKİN, Havva KESER, Gülay NEMLİ, Emine AVCI, Hicran YERDELEN, Birgül ÇONGAR SALMAN' a teşekkür eder ve saygılar sunarım.

Ayrıca bizlerin daha iyi yetişmesi için gerekli olan bilimsel çalışma olanaklarını sağlayan Başhekimimiz Sayın Dr. Taner YILDIRMAK'a teşekkürlerimi sunarım.

Son olarak destekleriyle beni bugünlere getiren değerli aileme çok teşekkür eder, saygılar sunarım.

Dr. Müge KORKMAZ

KISALTMALAR

IDDM	: İnsülin bağımlı, tip I diabetes mellitus
NIDDM	: İnsülin bağımsız, tip II diabetes mellitus
ox-LDL	: Okside olmuş LDL
PDGF	: Trombosit kökenli büyüme faktörü
IRI	: İmmunoreaktif insülin
NO	: Nitrik oksit
MCP-1	: Monosit kemoatraktan protein-1
TNF- α	: Tümör nekroz faktörü α
IF γ	: İnterferon γ
AGE	: İleri glikolizasyon son ürünleri
CSF	: Koloni stimulan faktör
PAI-1	: Plazminojen aktivatör inhibitör-1
IGF-1 ve IGF-2	: İnsülin benzeri büyüme faktörleri
VCAM-1	: Vascular Cell Adhesion Molecule-1
ICAM-1	: Intercellular Adhesion Molecule-1
MAPK	: Mitogen Activated Protein Kinase
BMI	: Vücut kitle indeksi
EDTA	: Etilendiamintetraasetikasit

GİRİŞ VE AMAÇ

Yaşamın uzaması ve refahın artması ile epidemi halinde yeni bir tür hastalık grubu ön plana çıkmıştır. Bulaşıcı olmayan bu kronik hastalıklar içerisinde hipertansiyon ve dislipidemi yanında diabetes mellitus, prevalansı ve ciddi aterosjenik etkisi ile merkezi bir konumdadır (1). Hem tip I (IDDM) hem de tip II (NIDDM) diabet ateroskleroza neden olur. Ateroskleroz tip II diyabetli hastalardaki mortalitenin majör sebebidir. Tip II diabetlilerin birinci sıradaki ölüm nedeni % 35 ile koroner arter hastalığıdır (2). İkinci sırada ise % 22 ile serebrovasküler hastalık bulunur. Sonuç olarak tip II diabetiklerin yarısından fazlasının ölüm nedeni aterosklerozdur. İngiltere Prospektif Diabet Çalışması (United Kingdom Prospective Diabetes Study: UKPDS) grubunda fatal aterosklerotik komplikasyonlar fatal mikrovasküler komplikasyonlardan 70 kat daha fazla bulunmuştur. Tip I diabetiklerdeki ölüm sebepleri arasında da aterosklerozun major bir yeri vardır (3). Tip I diabetiklerde birinci ölüm nedeni, diabete daha özgü olan nefropatidir. Tip I diabetiklerin % 31'i son dönem böbrek yetersizliği ile kaybedilir. İkinci sırada % 26 ile koroner arter hastalığı yer alır. Tip I diabetiklerde serebrovasküler hastalığa bağlı ölüm % 7 düzeyindedir. Toplam tip I diabetik ölümleri içerisinde % 33 ile yine ateroskleroz birinci sırayı işgal eder. Tip I ve tip II diabetiklerde prospektif epidemiyolojik çalışmalar aterosklerotik hastalık gelişme riski ile glisemi düzeyleri arasında paralellik olduğunu göstermiştir. Bozulmuş glukoz toleransı olan hastalarda da aterosklerotik komplikasyonların oranı yüksektir.

Tip II diabetes mellituslu hasta genellikle; hipertansiyon, obezite, hiperinsülinemi ve dislipidemi (hipertrigliseridemi, küçük yoğun LDL ve düşük HDL) gibi çeşitli risk faktörleri taşır (4, 5). Aşikar diabet ortaya çıkmadan önce bozulmuş glukoz toleransı döneminde de etkili olan bu risk faktörleri nedeniyle tip II diabet tanısı konulduğunda aterosklerotik hastalıklar klinik olarak mevcut olabilir. Fakat yalnızca bu risk faktörlerine dayanarak hastalardaki risk artışı izah edilemez. Tip II diabetiklerdeki bilinen aterosklerotik risk faktörleri elimine edilebilse bile bu hastalarda makrovasküler komplikasyon oranı diabetik olmayanlar düzeyine düşürülemez. Çünkü bu risk faktörleri makrovasküler hastalık gelişiminde % 50'den fazla etkili değildir. İşte bu geri kalan risk için spesifik bir patogenetik mekanizma gösterilememiştir ancak, çeşitli faktörler üzerinde tartışma ve araştırmalar sürmektedir.

Gerek tip I gerekse tip II diabet hiperglisemi ve hiperinsülinemi ile çeşitli aterogenetik mekanizmalar aracılığıyla ateroskleroz sürecine katkıda bulunmaktadır.

Diabet ve oksidatif stres lipoproteinlerin yapısında kalitatif ve kantitatif değişiklikler yaparak LDL oksidasyonuna neden olmakta ve son yıllarda yapılan çalışmalarla plazma okside LDL (ox-LDL) düzeyindeki artışın koroner hastalık gelişiminde, serum LDL artışından daha aterojenik olduğu bilinmektedir (6).

GENEL BİLGİLER

DIABET VE MAKROVASKÜLER KOMPLİKASYONLARI

Bir hastalığa bağlı komplikasyonlar mantık kuralları gereği, hastalığın kendisi mevcut değilken ortaya çıkmamalıdır ve bu komplikasyonlar hastalık başlamadan da gerçekleşmemelidirler. Diabetin klasik mikrovasküler komplikasyonları için bu iki koşul geçerlidir, fakat makrovasküler komplikasyonlar için bu koşulların hiçbiri geçerli değildir. Koroner arter hastalıklarının ve serebrovasküler hastalıkların diabetin olmadığı durumlarda da ortaya çıkabildiği oldukça açıktır. Dahası vasküler hastalıkların diabetten önce görüldüğü bir çok durum söz konusu olmakla birlikte, bunların göreceli sıklığı yeterince belgelenmemiştir. Bu durum, makrovasküler hastalıkların diabetin bir komplikasyonu olmaktan çok diabetle aynı çevresel ve genetik faktörlere bağlı gelişen bir durum olduğu ihtimalini ortaya çıkarmaktadır. Bu düşünce ilk kez Jarrett tarafından ortaya atılmıştır (7). Jarrett'in argümanı esas olarak koroner kalp hastalığının, genel popülasyonda tarama testleriyle saptanan diabet hastalarında da (ki bu grupta diabet hastalığı henüz yeni gelişme safhasındadır) diabet hastalığının yıllardır varlığının bilindiği kişilerdeki kadar yaygın olmasına ilişkin verilere dayanmaktadır. Gerçekten de koroner kalp hastalığı insidansı, diabet hastalığı olmayan ama glukoz tolerans testi bozuk olan ve dolayısıyla diabet geliştirme riski yüksek kişilerde de artmış olarak görülmektedir (7). Bu hastalar koroner kalp hastalığının diabetten önce ortaya çıktığı bir grubu temsil etmektedir.

Diabetin klasik risk faktörleri; obezite, glukoz toleransı bozukluğu ve aile hikayesidir. Kas, karaciğer dokusu ve adipöz dokuda insülin etkisine karşı direnç olmasının diabet patogenezinde çok önemli olduğu yaygın olarak bilinir. Tip II diabet için bazı klasik olmayan risk faktörleri de bulunmaktadır. Bunlar arasında dislipidemi ve hipertansiyon bulunur. Diabet risk faktörlerinin diabetten bağımsız olarak kardiyovasküler riskte artışta bulunduğu da bilinmektedir. Kardiyovasküler risk faktörü olarak bilinen gerek kolesterol, daha spesifik bir şekilde LDL kolesterol, gerekse sigara tip II diabet için risk faktörü olarak tanımlanmamıştır. Muhtemelen bu güçlü kardiyovasküler risk faktörleri, prediabetik bireylerde de genel popülasyonda olduğu gibi kardiyovasküler olayların gelişmesine katkıda bulunmaktadır.

DİABET VE ATEROSKLEROZ

Aterosklerotik damar hastalıkları diabetiklerde en önemli ölüm nedenidir. Tip I diabette ateroskleroz genellikle albüminüri, hipertansiyon ve dislipoproteinemi ile birlikte başlangıç yaşından bağımsız olarak kırklı yaşlarda gelişir (8). Tip II diabette ateroskleroz diabetten önce veya onun başlangıcı ile birlikte görülür. Hastalıkları yeni saptanmış tip II diabet hastalarında diabet çok iyi kontrol altına alınmış olsa bile bir grup metabolik risk faktörü bulunmaktadır.

Diabette ateroskleroz hızlanmasının bazı açıklamaları yapılabilmektedir. Tek başına hiperglisemi, hiperinsülinemi, insülin direnci, dislipidemi gibi metabolik değişiklikler ateroskleroz sürecinde değerlendirilmiştir. Halen gerek hayvan modellerinde eksprimantal, gerek moleküler düzeyde süregiden çalışmalar klinik gözlemlere bilimsel kanıt aramaya devam etmektedir.

Aterosklerozun özel lezyonu endoteldeki fibröz plaktır. Plakın dış kısmını oldukça sert bir tabaka olan fibröz ve musküler doku oluştururken içini kolesterolden çok zengin bir lipid tabakası doldurur. Bu kolesterol tamamen damar çeperinden ve kandan alınan LDL kolesterolün kapılmasıyla meydana gelir.

Uzun süren diabetik metabolik süreç ile endotel bozulur, kan akımı türbülans ile zedeleyici etkisini daha fazla göstermeye başlar. Zedelenen damar endoteline makrofajlar, monosit ve trombosit saldırısı olur (9). Bu plateletlerin yapışması damar iç duvarında trombüs oluşumu şeklinde sonuçlanır ve düz kas hücrelerinin hiperplazisine ve sonunda yağlı bir şeridin proliferatif bir lezyona dönüşmesine yol açar. Monositlerin endotelyuma yapışmasına hiperkolesteroleminin sadece endotel hücreleri değil monositler üzerindeki etkileri de yardımcı olur. Düz kas hücrelerinde trombosit kökenli büyüme faktörü (PDGF) reseptörleri bulunur ve bunlar uyarıya çoğalarak ve bağ dokusu oluşturarak yanıt verirler. Trombositlerden salgılanan PDGF aterosklerozu uyaran bir diğer faktördür. PDGF veya başka gelişim faktörleri sadece plateletlerden değil, endotel hücreler ve makrofajlardan da salgılanabilir. Endotel yıkımı, düz kas hücrelerinin ve fibroblastların gelişimlerinin kamçılanmasıyla sonuçlanan bir olaylar dizisini başlatarak kilit rolü oynar. Başlangıçta yer alan yıkım çeşitli yollardan gerçekleşebilir. Bu yollar arasında hemodinamik gerilimlerden doğan yıpranmalar, immun kompleksler, virüsler, homosistein ve artmış LDL kolesterol düzeyleri yer alır. Sürekli devam eden yıkıcı damar olayları sonucu prostaglandinler, prostasiklin ve fibrin büyüme faktörü etkisiyle dejenere olmuş, içi lipid, fibrin ve köpük

hücreleri ile dolu, dışı fibrin ve kalsiyum çökmesiyle sertleşmiş aterosklerotik lezyon oluşmuş olur. Ateroskleroz plağı damar çapını daraltır. Sürekli gelişen plak bir süre sonra yarattığı kitle etkisi ile damarı tıkar veya tabii gelişimi sonucu şişer, su toplar ve bir yerinden delinerek içindeki lipid materyalini kana döker. Perforasyon özellikle hipertansiyonda artmış basınç ve türbülant akımla kolaylaşır. Bu perforasyon sırasında arter çeperi de zarar görür ve klasik makroanjyopatik lezyonlar oluşur. Çalışmalarda diabetiklerde, özellikle tip II diabetik hastalarda aterosklerotik damar lezyonlarının daha sık olduğu bildirilmektedir. Bu lezyonlar koroner skleroz, periferik arter tıkanmaları, serebral inmeler, hipertansiyon, kalp yetmezliği gibi klinik tabloların ana nedenidir (10).

Glukoz tolerans bozukluğu gösterenlerde ve obezlerin çoğunda görülen, tip II diabetin de en önemli öğelerinden biri olan insülin direnci ateroskleroz gelişimine ve aterosklerotik vasküler hastalıkların ortaya çıkışına neden olur (Şekil 1). Bunun en belirgin nedeni hiperinsülinemidir. Hiperinsülinemi yani plazma immunoreaktif insülin (IRI) düzeyi yüksekliğinin hem obezite, glukoz intoleransı ve hiperlipidemi gibi öteki risk faktörlerine sıklıkla eşlik ettiği, hem de kendi başına bir risk faktörü olduğunu gösteren veriler gittikçe artmaktadır. Ailesel dislipidemik ve hipertansiyon bulunan hastalarda da hiperinsülinemi görülmektedir ve bunun dislipidemi ile hipertansiyon arasındaki fizyopatolojik bağı oluşturduğu ileri sürülebilir. Buna en iyi örnek olarak Reaven'ın metabolik sendromu verilebilir.

Dislipidemi ile artan kolesterol arter intimasında birikerek patojen bir rol oynar. Diğer taraftan HDL kolesterol azalması ve lipoproteinlerin glikozillenmesi damar lezyonlarını başlatıcı etki gösterir.

Diabetes mellituslu hastalarda bir çok trombojenik özellik bulunduğu gösterilmiştir. Bunların arasında trombosit aktivasyonundaki artış, hiperkoagülabilité, fibrinolitik azalma ve endotel özelliklerinde değişiklikler sayılabilir. Diabette trombositlerin yapışma ve kümelenme yetenekleri pro-agregan prostaglandin ve tromboksan A2 düzeylerinde yükselme sonucu artmıştır. Buna karşın arter endoteli bir antiagregan prostaglandin olan prostasiklini daha az salgılamaya başlar (11). Bu farklı anomaliler antiagregan ve pro-agregan faktörler arasındaki dengeyi agregasyon lehine bozarak trombositlerin subendoteliumda kümelenmelerine yol açarlar. Diabette doku plazminojen aktivatör salgılanması azalır ve fazla üretilen vonWillebrand faktörü trombositlerin toplanmasına yardım eder ve damar lezyonlarının başlamasına yardımcı olur (12, 13).

Diabet bağımsız olarak endotel hücre fonksiyonlarını etkiler. Endotel hücreleri proliferere olurlar, şekilleri değişir ve bazı maddelere karşı permeabilitesi artar. Proteoglikan

birikmesi sonucu intima kalınlaşır. Diabetik hastaların serumlarında düz kas hücre proliferasyonunu stimüle eden bazı büyüme faktörleri tesbit edilmiştir. Endotel fonksiyonunun bozulduğu gerek diabetik hastalarda gerekse deneysel modellerde gösterilmiştir. Özellikle endotel kaynaklı nitrik oksit (NO) sağlanması yetersizdir (14,15). Trombosit işlevlerindeki modülasyona ek olarak NO, lökosit adezyonunu ve etkinleşmesini, vasküler düz kas hücrelerinin mitogenezini ve proliferasyonunu inhibe eder ve trombositlerden mitojen salıverilmesini azaltır. Bu nedenlerden dolayı NO salınması veya etkisinin bozulması bu hastalıkların patogeneğinde yer alır.

Diabetin endotel bariyerinde oluşturduğu harabiyetle subintimal dokunun kan dolaşımı ile direkt temasa geçmesine yol açması da hızlanan aterosklerozdaki mekanizmalardan biri gibi görülmektedir. Hipergliseminin endotel hücrelerindeki protein sentezini bozduğu ve DNA'ya hasar verdiği gösterilmiştir.

Kardiyovasküler risk faktörleri arasında plazminojen aktivatör inhibitörü tip I (PAI-I) artması da giderek önem kazanmaktadır. Bu artma android tip obezite, hipertansiyon, dislipidemi, insülin direnci, glukoz tolerans azalması ve NIDDM ile birlikte bulunmaktadır (16).

Büyük ve orta çaplı arterlerin intimasını tutarak lümeni daraltan makrovasküler hastalık olan ateroskleroz diabete özel bir komplikasyon değildir. Orta çaplı arterler olarak küçük arterler ve arterioller tutar. Ateroskleroz multifaktöriyel bir hastalıktır. Tip II diabette oldukça sık görülen arteriyel hipertansiyon, arter dallanmaları ve hızlı kan akımının yarattığı fiziksel travma aterojen gelişmeyi başlatan etmenlerdir. Hiperosmolarite veya hemoglobin glikozillenmesinin yarattığı hipoksi de arteriyel lezyonlara katkıda bulunur.

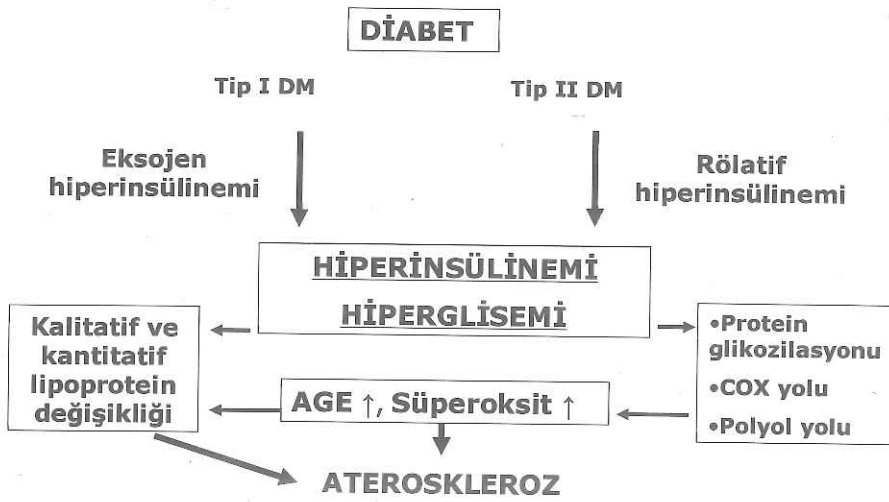
Diabetik makroanjyopati gelişiminde büyük ve orta çaplı arterlerin media tabakası etkilenir. Buradaki düz kas hücreleri çoğalır ve media tabakası kalınlaşır. Yapılan çalışmalar bu kalınlaşmada insülin direnci sonucu oluşan hiperinsülineminin yaptığı mitojen anabolik uyarı, renin anjiyotensin sisteminin uyarılması ile oluşan anjiyotensin II ve katekolaminlerin hiperplastik etkisi olabilir. Diabetik mikroanjyopati gelişiminde önemli etkisi olan trombosit kaynaklı büyüme faktörünün ve insülin benzeri büyüme faktörü II (IGF-II)'nin diabetik makroanjyopati gelişimindeki media hipertrofinin de etkenlerinden olduğu varsayılmaktadır. Ayrıca bu etkenler mediadaki elastin, proteoglikan ve kollajen artışından da sorumludurlar.

Diabette plazma proteinlerinin, yapısal proteinlerin ve diğer makromoleküllerin modifikasyonu artmıştır. Bu durum glukoz konsantrasyonundaki artışa bağlı olarak artan glikasyon ve oksidatif stres nedeniyledir. Glikasyondaki artış diabetin başlangıcından

itibaren vardır. Oksidatif stresin artışı ise hastalığın daha ileri dönemlerinde, vasküler hasar oluşuktan sonra görülebileceği gibi komplike olmayan diyabetin bir özelliği olarak da karşımıza çıkabilir. Glikasyon ve oksidasyonun birlikte etkileri sonucunda proteinlerde modifikasyon olması diyabetiklerde aterosklerozun hızlanmasına yol açar. Bu durumda diyabetiklerde oksidatif streste artış olmadan da değişimler meydana gelmesi hipergliseminin sonuçlarını belirler (17).

Diyabetiklerdeki ateroskleroz ve cinsiyet ilişkisi de ilginçtir. Aterosklerotik hastalık gelişme riski erkeklerde de artmış olmasına rağmen özellikle kadınlarda daha belirgindir. Kadınlarda menapoz öncesi var olan avantaj diyabetin ortaya çıkmasıyla kaybolur. Burada artan özellikle abdominal obezite ve hormonal değişiklikler etyolojide yer alsa da yeterli değildir.

Diyabetin süresi mikrovasküler komplikasyonlar için major bir belirleyici olmasına karşın makrovasküler komplikasyonlarla diyabetin süresi arasında bir paralellik gösterilememiştir. Yeni tesbit edilen diyabetiklerde bile makrovasküler hastalık riski yüksektir. Bu kişilerde diyabet tanısından çok önceki dönemlerden itibaren maruz kalınan multipl risk faktörlerinin katkısıyla aterosklerotik olayların başlamış olması vasküler hastalık için sürenin ne zaman başladığı sorusunu gündeme getirmiş ve bu durum 'ticking clock' (çalışan saat) fenomeni olarak adlandırılmıştır.



Şekil 1: Diyabet ve ateroskleroz

DIABETİK ATEROGENEZ MEKANİZMALARI VE LDL OKSİDASYONU

Diabetiklerde ateroskleroz daha önce başlar ve daha hızlı ilerleyerek dokularda belirgin lezyonlarını daha erken gösterir.

• Monosit-endotel arasındaki ilişkiler

Ateroskleroz gelişimi esnasında en erken oluşum çeşitli nedenlerden dolayı zedelenmiş endotel tabakalarına monositlerin adezyonudur. Endotel hücrelerinin çeşitli uyarımlarla aktive edilmesiyle ortaya çıkan bir grup lökosit adezyon molekülü olduğu gözlenmiştir. Monositlerin endotel hücrelerine yapışması, minimal yada orta derecede oksitlenmiş LDL kolesterolle karşılaşması sonucu uyarılabilir. Lipoproteinlerin oksidasyon ile modifikasyonu potansiyel mekanizmalardan biri olup ateroskleroza uyarabilir (18, 19).

Endotele yapışan monositler subendotelyal boşluğa girebilmek için endotel hücrelerinin arasına sokulur. Subendotelyal boşlukta intimal makrofajlara olgunlaşır. Monositlerin hemolitik uyarı sonucu endotel tabakasını sıkı bağlanmış noktalarından infiltre ettiği sanılmaktadır. Monosit kemotaktik protein-1 (MCP-1), makrofaj ve arteriyel düz kas hücrelerinde üretilen bir kemotaktik faktör olup özellikle monositleri çekmektedir. MCP-1 üretimi ayrıca minimal oksitlenmiş LDL kolesterol ile artmaktadır. Ox-LDL kolesterolün kendisi monositler için kemotaktiktir. Bu yüzden endotel hücreleri tarafından LDL kolesterolünün endotel hücresi tarafından oksitlenmesi monositlerin arterin intimasına toplanmasını başlatan bir faktördür.

Yağ ve kolesterolden zengin yemeklerin yenmesi, β VLDL olarak adlandırılan sıradışı elektroforetik mobilitesi olan kolesterolden zengin VLDL kolesterol partiküllerinin oluşması ile sonuçlanır. Artık bu partiküllerin LDL reseptörleri tarafından alındığı ve böylece kolesterol birikimi ve köpük hücre oluşumuna sebep oldukları bilinmektedir (20).

Makrofajların lipoproteinleri alış mekanizmaları in vitro olarak araştırılmıştır. Makrofaj yüzeyinde LDL reseptörleri olmasına rağmen modifiye olmamış LDL kolesterolün bu yolla alınması belirgin lipid birikimine neden olmaz. Makrofajlar ayrıca çeşitli modifiye lipoproteinleri bağlayan çöpçü reseptörleri de taşır. Lipoproteinler çökmeden önce ya glukoz ile glikozillenir ya da fosforlanır. Glikozillenme diabetik bireylerde çok sıklıkla olduğundan, diabetik kişilerde köpük hücre oluşumu ve ateroskleroz daha sık görülür.

Glikozillenmiş veya oksitlenmiş lipoproteinler değişikliğe uğradığından dolayı antikor üretimini uyarırlar. Bu olaylar muhtemelen arter duvarındaki makrofajlar civarında lipoprotein-immun kompleks oluşumuna sebep olur ki bunlar yine makrofajlar tarafından salınır. Doku kültürlerinde makrofajların trombositler gibi kuvvetli mitojen bir büyüme faktörü salgıladığı gözlenmiştir. Uygun biçimde aktive edilen makrofajlar PDGF (trombosit kökenli büyüme faktörü), interlökin-I'i ve belki de fibroblast büyütme faktörü salgılamaktadır. Ayrıca makrofajlardan salgılanan tümör nekroz faktörü α (TNF- α) endotel hücrelerini uyararak PDGF yapımına ve salgılanmasına neden olmaktadır. Büyüme faktörleri düz kas hücresi proliferasyonuna sebep olur, daha önce oluşmuş yağlı çizgileri kapatarak endotelde tamir işlemi yapar. Böylece yağlı çizgiler ilerlemeden kalır. Bazen de nedeni bilinmeyen sebeplerle hızla ilerler ve komplike olay olan aterosklerotik plak oluşumuna kadar ilerler (21). Endotelde proliferasyon başladıktan sonra adı geçen büyüme faktörlerinin endotel kas hücresinde de yapılmaya başladığı da bilinmektedir. Trombosit büyüme faktörü, daha sonra zedelenmiş endotele çöken ve yapışan trombositler tarafından da salınarak endotel proliferasyonunu hızlandırılır. Makrofajlar ayrıca lipoprotein çökeltileri veya lipoprotein immun komplekslerinin fagositozu yoluyla da büyük miktarda lipid alabilirler. Lipoproteinlerin arter duvarındaki matriks komponentlerine bağlandıktan sonra çöktükleri kabul edilebilir.

Glikasyon ya da oksidatif modifikasyonla değişikliğe uğramış lipoproteinler antikor üretimini uyarır. Bu, muhtemelen arter duvarındaki makrofajlar civarında lipoproteinlerin mediadan intimaya göçü ve daha sonra düz kas hücrelerinin proliferasyonu ile karakterizedir.

• *Sitokinler ve Büyüme Faktörlerinin Rolü*

Bazı sitokin ve büyüme faktörleri aterogenez işlevinden sorumlu tutulmuştur. T lenfositlerinin lezyon gelişiminin bütün safhalarında bulunduğu gözlenmesi bu moleküllere olan ilgiyi arttırmıştır. İnterferon γ (IF γ) gibi sitokinlerin bilinen kaynağı T lenfositleridir. Süreçle ilgili diğer sitokinler ise arter duvarındaki hücrelerden salgılanır. IL-1, IL-2, IL-6 gibi interlökinler, TNF, koloni uyarıcı faktörler, büyüme faktörleri (IGF-1, IGF-2), fibroblast büyüme faktörü, endotel büyüme faktörü, transforme edici büyüme faktörü gibi büyüme faktörleridir. Bu moleküllerin çok geniş bir dizi immun düzenleyici etkisi olup aterogenezde rolleri vardır. Bütün bu sitokinler ve büyüme faktörlerinin aterogeneze nasıl katıldıkları tam anlamı ile halen bilinmemektedir.

Aterogenez esnasında arteriyel hücrelerden bu sitokin ve büyüme faktörlerinin salgılanma fonksiyonlarını düzenleyici faktörler büyük ölçüde bilinmemekle beraber, bu moleküllerin bir kaçı sadece aktiflenmiş ya da hasar görmüş hücrelerden salınmaktadır. Ayrıca, bu moleküllerin bir kısmı oksidatif olarak modifiye olmuş LDL kolesterol ile aktiflenmektedir. Makrofaj çöpçü reseptör tarafından alınımı tetikleyemeyen yetersiz okside olmuş LDL kolesterol (minimal modifiye LDL), endotel hücrelerinde bir takım koloni uyarıcı faktör ekspresyonunu uyarır. Bu etki arter duvarındaki makrofajların toplanması, farklılaşması ve aktivasyonunda önemli olabilir. Daha fazla oksitlenmiş LDL kolesterol, makrofaj ve endotel hücrelerinden PDGF ve makrofajlardan TNF α ekspresyonunu inhibe eder. Çöpçü ve LDL reseptörleri makrofaj aktivasyonu ile suprese olup, ayrıca apo E ve lipoprotein lipaz gibi aterogenezle ilgili çeşitli makrofaj sekretuar ürünlerinin salınımını düzenler.

Komplike lezyonların bir diğer bileşimi destek doku birikimi olup, arter duvarındaki hücreler özellikle düz kas hücreleri tarafından yeniden sentezlenir. Bu doku fibroza neden olup, trombosit yapışmasına sebep olabilir. Ekstrasellüler matriks yapıları da lipoproteinleri oldukça spesifik bir şekilde bağlayabilir, böylece bunlar ekstrasellüler boşlukta yakalanır ve modifiye hale gelip antikor oluşumunu uyarabilirler. Bu lipoprotein immun kompleksler ve lipoprotein komplekslerin makrofajlar tarafından alınma sebep olur. Bu olayların devamı sarı çizgiden fibröz plağa ve ileri aterosklerotik lezyonlara ilerler.

• *Hiperglisemi ve Protein Glikasyonu*

Diabet iyi kontrol edildiği durumlarda bile hiperglisemi dönemleriyle karakterizedir. Dolayısıyla diabetiklerde diabetik olmayanlara göre, uzun ömürlü proteinlerin nonenzimatik glikasyonunun çok daha fazla olması beklenmelidir.

Hiperglisemi aterotromboza yol açabilecek çeşitli zararlı etkiler oluşturur. Serum glukozundaki artış LDL'nin glikasyonuna yol açarak onu aterojenik hale getirir. LDL'nin glikasyonu aynı zamanda oksidasyonunu da kolaylaştırır. Hiperglisemi; lipoproteinler, kollajen ve diğer damar duvarı proteinlerinin glikasyonu, reaktif oksijen metabolitlerinin oluşumunun hızlanması, ileri glikozile son ürünler (advanced glycosylation end products; AGE), LDL ve endotel hücreleri üzerindeki oksidatif stresin artması, hemoreolojik karakteristiklerdeki veya vasküler reaktivitedeki değişiklikler gibi mekanizmalarla hızlanmış ateroskleroza yol açabilir. Ancak mikrovasküler koplikasyonlarla ilişkisi aşık

olan hipergliseminin makrovasküler komplikasyonlardan da sorumlu tutulması hala tam kabul görmemiştir.

Lipoproteinlerin glikasyonu, onların LDL reseptörlerine bağlanmasını dolayısıyla katabolizma hızlarını artırır. Glikasyona uğramış HDL kolesterol plazmadan daha çabuk temizlenir ve saf HDL'ye göre arteriyel hücrelerden kolesterol çöküşünü teşvik yeteneği de azalmıştır. Glikasyona uğramış lipoproteinler aynı zamanda immunojenik olup, bunlara karşı otoantikolar tesbit edilmiştir. Uzun ömürlü proteinler muhtemelen daha fazla nonenzimatik glikasyona uğrarlar.

Kollajen ve diğer uzun ömürlü proteinlerin üzerindeki erken glikasyon ürünlerinden bazıları yavaş kimyasal değişikliklere uğrayarak, ileri glikasyon son ürünlerine dönüşürler. Bu proteinlerin erken glikasyon ürünlerine göre daha farklı biyolojik etkileri vardır. Son bulgulara göre bu proteinler monositlerin transendotelial göçünü ve sonrasında makrofajlar tarafından trombosit kökenli büyüme faktörü ekspresyonunu teşvik etmektedir. Bu modifiye proteinler aterogenezin erken safhalarında önemli rol oynayabileceğinden önemli bir potansiyel mekanizma sağlarlar. LDL'nin ileri glikasyonu sonucu, LDL kolesterol invitro olarak endotel hücrelerinde arter düz kas hücreleri, monosit-makrofaj ve redoks-aktif transisyon materyalinin bulunduğu hücresiz ortamlarda oksidatif olarak değişime uğrayabilir. Süperoksit arteriyel düz kas hücrelerinde önemli bir başlatıcı olarak rol oynarken, lipooksijenaz endotel hücreleri ve uyarılmamış monosit-makrofajlarda daha önemli gözükmektedir. Tavşan ve insanlarda aterosklerotik lezyonlarda oksidatif değişime uğramış lipoproteinlerin varlığına ilişkin bir hayli veri olmasına rağmen, lipoproteinlerin invivo oksidasyon mekanizmaları hakkında çok az şey bilinmektedir (22).

Lipoprotein oksidasyonunun sonucunda diabetiklerde damar lezyonu artışının pek çok sebebi olabilir. Birincisi protein glikasyon işleminin süperoksit gibi oksijen türlerinin ortaya çıkmasına sebep olduğu gösterilmiştir ki bunlar lipoproteinlerin oksidatif değişimini başlatabilir. Ayrıca LDL'nin glikasyonu kendi kendisinin oksidatif modifikasyonunu teşvik eder. Gerçekten bir çalışmada LDL'nin nonenzimatik glikasyonu esnasında oksidatif olarak modifiye olabileceği gösterilmiştir (23). Bu modifikasyon daha ziyade proteoglikan, glikozaminoglikan ve kollajen gibi ekstrasellüler matriks elemanlarına yapışan LDL'lerde meydana gelir. Diabetik monositler tarafından süperoksit üretiminin arttığı gösterilmiştir. Yine pek çok çalışmada gösterildiği gibi glikozile olmuş ve özelliği bozulmuş LDL kolesterol monositlerin endotele yapışmasını uyarabilir, koloni stimulan faktör ekspresyonunu uyararak monosit kemotaksisini uyarabilir ve endotel hücreleri gibi hücrelere sitotoksik etki gösterebilir. Dolayısıyla LDL'nin değişikliğe uğramış şekli

aterogenezin en erken dönemlerinde bile önemli rol oynayabilir. Monosit yapışması monosit kemoatraksiyonu ve endotel hücre hasarında başlatıcı olaydır. Oksitlenmiş LDL ayrıca muhtemelen endotelyal hücreler gibi hücrelerden, koloni stimulan faktör (CSF) salınımını uyararak, monositlerin makrofajlara dönüşmesini kolaylaştırır ve teşvik eder. Oksitlenmiş LDL kolesterol ayrıca çöpçü reseptör yollarıyla yağ dağıtır ve köpük hücre oluşumuna sebep olur. Aterogenezde rol oynayan büyüme faktör ve sitokinlerin genlerinin etkisi makrofaj ve endotel hücrelerinin oksidatif olarak değişikliğe uğramış lipoproteinlere mağruz kalmasıyla düzenlenebilir, ki bunlar ayrıca endotelden kaynaklanan gevşetici faktörleri inhibe ederek damarsal genişleme özelliğini etkileyebilirler (24). Bu yüzden okside olmuş lipoproteinler, teorik olarak pek çok mekanizmayla aterojeniktir. Deney hayvanlarında ve insanlarda in vivo olarak, immunositokimyasal yöntemlerle oksidatif olarak modifiye olmuş lipoproteinlerin aterosklerotik lezyonlarda gösterilip, arterin lezyon olmayan yerlerinde saptanamayışı bunların aterosklerozdaki rolünü kuvvetle kuvvetle düşündürmektedir.

Oksidatif bozulmanın bir diğer yolunda ise, her iki diabet içinde karakteristik olan LDL heterojenitesi, lipoprotein oksidasyonunu teşvik eder.

Vücuttaki tüm proteinler glukoz ile irreversibl olarak non-enzimatik yolla birleşirler. Glukoz fazlalığı oksidatif stresi artırır, lökosit-endotel etkileşimini kuvvetlendirir ve lipoproteinler, apoproteinler ve pıhtılaşma faktörleri dahil vücuttaki hemen her proteinin glikozillenmesine yol açar. Zamanla, karmaşık dehidrasyon ve oksidasyon reaksiyonlarından sonra AGE oluşur. AGE kolajenin ve özellikle damar duvarında bulunan ekstraselüler matriks proteinlerinin çapraz bağlanmasını indükleyerek LDL partiküllerinin birikimine yol açabilir. Daha da ötesi 'AGE-modifiye LDL', okside olmasına yol açacak kadar uzun bir yarı ömre sahiptir. AGE endotel hücre fonksiyonlarını da etkileyerek aterotrombozu artırır. Apolipoprotein A eksikliği bulunan diabetik farelerde yapılan yeni bir çalışmada AGE'lere karşı solubl ekstraselüler reseptör 'domain' verilmesinin diabetik ateroskleroza tamamen önlediği görülmüştür. Bu bulgular AGE ve onların reseptörlerinin diabetik fare modelinde hızlanmış ateroskleroz gelişiminde rolü olduğunu göstermektedir.

Diabette hiperglisemi AGE artışı dışında siklooksijenaz yolunu da stimüle eder ve süperoksit düzeyinde artışa neden olur. Bilindiği gibi süperoksitler de serbest radikal olarak ateroskleroza katkıda bulunurlar. Yine hiperglisemik ortamda hücrede glukozun normal metabolizma yolu olan glikoliz yeteri kadar efektif olamaz. Glukozun önemli bir

miktarı da polyol yolu ile yıkılır. Osmolaritesi yüksek olan sorbitol hücre içinde birikip hücre dejenerasyonuna neden olur.

Diabeti olmayan obez kişilerde insüline endotel cevabındaki bozulmanın tip II diabetiklerdeki kadar olabildiğini gösteren çalışmalar hipergliseminin endotel disfonksiyonunda yalnızca kısmi bir etkisinin olduğunu düşündürmektedir.

Diğer yandan monosakkaridlerin glukoz, fruktoz, oto-oksidasyon işlemi reaktif oksijen türlerini üretebilir; bu da lipoproteinlerin oksidatif modifikasyonuna sebep olur. Monosakkaridler oto-okside oldukları zaman üretilen başlıca reaktif oksijen türleri, hidrojen peroksit ve çok relatif olan hidroksil radikalleridir. Bu türler ayrıca arter duvarının mikro ortamında lipoproteinlerin oksidatif bozunmasına yol açabilir. Monosakkaridlerin oto-oksidasyonu esnasında oluşan keton ve aldehidler lipoproteinlerin arter duvarındaki hücrelerle ilişkilerini etkileyen ilave lipoprotein modifikasyonlarına sebep olabilir. Glukozdan ziyade mannoz, dihidroksiaseton hatta fruktoz gibi monosakkaridlerin oto-oksidasyonu esnasında oldukça fazla miktarda reaktif oksijen türleri üretilmesine rağmen, glukozun oto-oksidasyonu özellikle reaktif oksijen türlerinin üretimine ve lipoprotein modifikasyonuna sebep olur.

Hafif hiperglisemisi olanlarda bile yüksek risk bulunması nedeniyle hipergliseminin kendi başına esas risk olmadığını, hatta onun makrovasküler komplikasyonlara yol açan diğer risk faktörleri yanında masum bir izleyici olduğunu öne süren bazı görüşler de ortaya atılmıştır. Böyle bir durum metabolik sendrom X'li hastalarda sıklıkla görülür. Gerçekten de kan şekerinde yalnızca hafif bir yüksekliği olan bu kişilerde insülin direnci, hipertansiyon, total ve VLDL kolesterol, trigliserid ve küçük yoğun LDL yüksekliği, abdominal obezite ve plazminojen aktivatör inhibitör-1 (PAI-1) yüksekliği vardır. Bu durumda prediabetik dönemde (bozulmuş glukoz toleransı dönemi dahil) sayılan risk faktörlerinin birikimi kardiyovasküler hastalık gelişmesi açısından hiperglisemiden daha önemlidir. Ancak, bu yorum muhtemelen sadece ciddi insülin direnci olanlar için geçerlidir. Buna karşılık insülin yetersizliği bulunan, insüline hassas prediabetik hastalarda risk faktör profili normaldir. Ortak kök hipotezine göre tip II diabet (ve prediabetik dönemi) ile koroner arter hastalığı aynı ortamdan gelişen birbiriyle bağlantılı iki farklı tablodur. Ortak köken hipotezi, diabet ortaya çıktıktan sonra kardiyovasküler riskte daha fazla artış olacağı ihtimalini dışlamamaktadır. Multipl Risk Factor Intervention Trial (Çoklu Risk Faktörü Önleme Çalışması) çalışmasının mortalite yönünden 12 yıl süreyle takip edilen 5000'den fazla diabet hastası ve yaklaşık 350 000 diabeti olmayan erkekte elde edilen verilere göre kolesterolün tüm değerleri için diabetiklerde kardiyovasküler

mortalitenin dramatik bir şekilde yükseldiği görülmüştür. Myokard infarktüsü vakaları diabetiklerde nondiabetiklerden yüksek olarak bulunmuştur. Diabet ve kardiyovasküler hastalıklarda ortak olarak görülen risk faktörleri ateroskleroz için spesifik risk faktörleri olduğundan diabet hastaları arasında kardiyovasküler hastalıkların daha fazla görülmesinin nedeni bu grupta esas olarak aterosklerozun daha fazla olmasındandır (25).

Diabetik ve nondiabetik Japon kökenli Amerika'lılarda yapılan Honolulu Heart Study (Honolulu Kalp Çalışması)'de kardiyovasküler risk faktörlerine göre düzeltilmiş ve düzeltilmemiş koroner ateroskleroz ve myokard infarktüsü lezyonunun otopsi ile kantitatif değerlendirmesi yapılmıştır. Böylece nondiabetikler esas alınarak risk faktörleri ile koroner ateroskleroz ve myokard lezyonları arasındaki ilişki değerlendirildiğinde diabetiklerde beklenenden daha fazla koroner ateroskleroz veya myokard lezyonu olup olmadığını değerlendirmek mümkün olmuştur (26).

Diabetiklerde kardiyovasküler hastalıklar geliştikten sonra daha yüksek mortalite oranı da dahil olmak üzere prognoz daha kötü olmaktadır. Örneğin, myokard infarktüsünden sonra hem kısa dönem, hem de uzun dönem ölüm oranları diabetiklerde daha yüksektir (27). Benzer şekilde koroner bypass girişiminden sonra da mortalite oranı diabetiklerde nondiabetiklere göre daha fazladır (28).

Sonuç olarak gerek tip I gerekse tip II diabetiklerde, hatta diabetik olmayanlarda yapılan birçok prospektif çalışma hipergliseminin reddedilemeyecek bir kardiyovasküler risk faktörü olduğunu göstermiştir. Kan şekerinin kardiyovasküler risk üzerindeki etkisi diabetik değerler öncesinde başlar ve diabetik glukoz değerlerinde artan bir şekilde etkisini göstermeye devam eder.

Diabetin Kontrolü ve Komplikasyonları Çalışması (Diabetes Control and Complications Trial: DCCT) sonuçları tip I diabetiklerde sıkı metabolik kontrolün mikrovasküler komplikasyonların önlenmesinde önemli olduğunu açık bir şekilde göstermiştir (29). Makrovasküler komplikasyonlar da % 60 daha az görülmesine rağmen sayı azlığı nedeniyle istatistiksel anlamlı bir fark bulunmamıştır (30).

Tip II diabetik hastalarda hiperglisemi tedavisinin etkilerini araştıran ilk çalışma 1961'de başlayıp 1975'de sonuçlanan Üniversite Grup Diabet Programı (University Group Diabetes Program: UGDP)'dir. Maalesef UGDP sonuçları tip II diabette hipergliseminin nasıl tedavi edileceği sorununu çözememiş, aksine uzun sürecek bir tartışma başlatmıştır. Fenformin ve Tolbutamid ile tedavi edilen hastalarda mortalitenin yüksek çıkması nedeniyle çalışmanın bu kolları durdurulmuştur (31). İnsülin tedavisi grubu ve plasebo grubunda mortalite oranları benzer bulunmuştur (32). Takip eden iki çalışma farklı

sonuçlar vermiştir. 'Veterans Affairs Cooperative Study in Glycemia Control' çalışması standart tedavi veya yoğun tedavi gruplarına randomize edilen 153 diabetik erkek hastada yoğun tedavinin koroner olaylarda artışa yol açtığını göstermiştir (33). Buna karşılık 'Diabetes Insulin-Glucose in Acute Myocardial Infarction' (DIGAMI) çalışmasında akut myokard infarktüsü 620 diabetik hastadan yoğun insülin tedavisi alanlarda mortalite, plasebo alanlardan % 10,5 daha düşük bulunmuştur (34).

UKPDS çalışması 1977'de başlamış ve yeni tanı konulmuş tip II diabetli 3867 hastada değişik yoğun tedavi uygulamaları ile konvansiyonel tedavinin makrovasküler ve mikrovasküler komplikasyonlara etkisini araştırmıştır. Sonuçlar kan şekeri kontrolünün diabetik mikrovasküler komplikasyonların azaltılmasında etkili olduğunu, fakat makrovasküler komplikasyonlara etkisinin sınırlı kaldığını göstermiştir. Makrovasküler veya mikrovasküler komplikasyonlar için herhangi bir eşik değer tesbit edilememiştir (35).

• *Hiperinsülinemi ve Ateroskleroz*

Diabette, özellikle tip II diabette çevresel insülin direncini aşabilmek için relatif bir hiperinsülinemi mevcuttur. Tip I diabette ise verilen eksojen insülinin normal organizmada ilk salgılandığı ve etkisini gösterdiği portal sisteme değil de teknik nedenlerle sistemik dolaşıma verilebildiği ve portal sistemde yeterli etkiyi yapması için de subkutan suprafizyolojik düzeylerde verilmesi gerektiği için eksojen hiperinsülinemi mevcuttur. İlk defa ünlü diabetçi Dr. Pfeiffer insülin hormonu için hem damarları koruyucu, hem de fazlasının damarları bozucu etkisi olduğunu tanımlamıştır. İnsülinin aterojenik etkisi çeşitli deneyler ile gösterilmiştir. Boston Harvard Tıp Fakültesi kardiologlarından Cruz ve arkadaşları 1960' lı yıllarda sağlıklı bir köpeğin bir bacak arterini kanüle edip intraarteriyel minimal miktarda insülin vermişlerdir. Köpeklerde kalp debisinin sadece %1-2'si arka bacaklara ulaştığı için femoral artere lokal olarak uygulanan insülin kalbe döndüğünde birkaç kez seyreltilmiş olduğundan, diğer üç bacak arterinden alınan kan örneklerinde dağılım nedeni ile insülinemi normal düzeylerde iken, sadece intraarteriyel insülin verilen bacak arterinde suprafizyolojik insülinemi sağlanmıştır. Köpek birkaç ay sonra sakrifiye edilip otopsi yapıldığında kanülasyon yolu ile insülin verilen bacak arterinde ateroskleroza rastlanmış, normoinsülinemik tüm diğer arterlerde ise ateroskleroz lehine bir bulguya rastlanmamıştır (36). Sonraki yıllarda yapılan daha sofistike deneyler ile insülin damar düz kas hücrelerinin proliferasyonunu ve bağ dokusu sentezini, insülin benzeri büyüme faktörlerinin (IGF-1 ve IGF-2) stimülasyonu sonucunda arttırdığı, damarlarda lipid

plaklarının oluşumunu hızlandırdığı, gerilemesini engellediği gösterilmiştir (37). Ancak insülin konsantrasyonu ile obezite, hipertansiyon ve hiperglisemi arasındaki beraberlik dikkate alındığında insülin-ateroskleroz ilişkisini net görebilmek zorlaşmakta ve konu tartışmalı bir boyut kazanmaktadır.

1988 yılında Reaven insülin direncinin hem tip II diabet, hem de kardiyovasküler hastalıkların altında yatan temel metabolik bozukluk olduğunu ileri sürmüştür (38).

İnsulin endotel hücrelerinin NO üretimini uyararak endotel hasarı sonucu gelişen bir çok aterosklerotik süreci inihbe eder. İn vitro olarak NO damar düz kasının büyümesini inihbe eder, intimal hiperplaziyi engeller. Bu bulgular NO'nun damar düz kası proliferasyonu ve migrasyonuna bağlı olarak gelişen lezyonların oluşumunu engellediğini göstermektedir. NO'nun önemli bir etkisi de VCAM-1 (Vascular Cell Adhesion Molecule-1), E selektin, ICAM-1 (Intercellular Adhesion Molecule-1) gibi adezyon moleküllerinin ekspresyonunu azaltarak inflamatuvar reaksiyonu hafifletmektir. NO aynı zamanda TNF- α gibi proinflamatuvar sitokinlerin aktivitesini ve monosit kemoatraktan protein-1 (MCP-1) gibi kemokinlerin üretimini inihbe eder. Böylece NO monosit ve makrofajların damar duvarına yapışmasını azaltır, prostasiklinin trombosit agregasyonunu inihbe edici etkisini artırır ve böylece tromboz gelişimini engeller.

İnsulin bir taraftan NO üretimini arttırarak faydalı etki gösterirken diğer yandan damar düz kas hücreleri üzerinden aterogenezi hızlandırıcı etkileri de vardır. Burada PDGF ve diğer büyüme faktörlerinin damar düz kas hücrelerine etkilerini güçlendirmesi esas etki mekanizmasıdır. Damar düz kas hücrelerinin büyümesini ayarlayan sistemlerden birisi de MAPK (Mitogen Activated Protein Kinase) sistemidir. MAPK yolu damar düz kas hücresinde insulinin mitojenik sinyallerinin iletilmesinde önemlidir. İnsulin ve anjiyotensin II (A II); MAPK aktivitesi üzerine aditif etki gösterirler. İnsulin damar düz kas hücresinde büyümeye etkisi yanında PAI-1 üretimini de stimüle eder.

Quebec çalışması açlık insülin düzeyleri ile iskemik kalp hastalığı arasında ilişki olduğunu göstermiştir. MRFIT (Multiple Risk Factor Intervention Study) çalışmasında ise açlık hiperinsülinemisinin yalnızca apolipoprotein E3/2 fenotipindeki erkeklerde bir koroner arter hastalığı risk faktörü olduğu, daha sık rastlanan apolipoprotein E3/3fenotipinde böyle bir etkinin olmadığı görülmüştür. Yaşlılarda insülin düzeyi ile ateroskleroz arasında bir korelasyon bulunmamıştır. Bir başka çalışmada hiperinsulineminin etkisi yalnızca hipertrigliserideminin varlığında görülmüştür.

Cinsiyetin insülin düzeyi ile ateroskleroz arasındaki ilişkide etkisi belirgin değildir. Veriler östrojenin vasküler sistemde insülinin aterosklerotik etkilerini değiştirdiğini

göstermektedir. Jinoid obezitesi olan kadınlarda da insülin ile koroner arter hastalığı arasında bir korelasyon bulunamamıştır.

Sonuç olarak hiperinsülinemi ya sadece belirli risk faktörlerini taşıyan gruplarda veya belli etnik gruplarda bir ateroskleroz risk faktörüdür ya da insülin direncinin bir göstergesi olmaktan öte bir rolü yoktur denilebilir.

Ateroskleroz gelişimi hiperinsülinemiden çok insülin direnci ile ilişkilidir. İnsülin direncinin ateroskleroz etyolojisindeki rolü son zamanlarda, özellikle Reaven'in 1988 yılında "sendrom X"i tanımlamasından sonra giderek artan bir şekilde dikkatleri çekmektedir. Bu tablonun başlıca elemanları insülin direnci, hiperinsülinemi, yüksek trigliserid, düşük HDL kolesterol düzeyleri, bozulmuş glukoz toleransı, hipertansiyon ve abdominal obezitedir. Bu hastalarda diabet gelişme riski artmıştır ama diabet gelişmeden dahi koroner arter hastalığı ve diğer aterosklerotik hastalıkların riski yüksektir. IRAS (Insulin Resistance Atherosclerosis Study) çalışmasında insülin direnci ile karotis intima-media kalınlığı arasında korelasyon bulunması insülin direncinin aterosklerozda bağımsız etken olduğunun bir işareti olarak kabul edilmiştir. Ancak bu ilişki sadece beyazlarda bulunabilmiştir. Açlık yada oral glukoz alımını takiben iki saat sonraki insülin düzeylerinin intima-media duvar kalınlığı ile hiçbir ilişkisi bulunmamıştır.

İnsülin direnci muhtemelen insülinin NO üzerinden koruyucu ve damar düz kas hücreleri üzerinden aterojenik olan etkileri arasındaki dengeyi bozmaktadır.

Yine yapılan pek çok çalışma ile LDL boyutu ve hiperinsülinemi, insülin direnci arasındaki aterogenez lehine korelasyon ortaya konmuştur (39, 40, 41)

Sonuç olarak hiperinsülinemik, insüline dirençli bir durum damar düz kas hücrelerinin fonksiyonlarını arttırırken, NO üretimini kısmakta ve böylece aterosklerozun oluşumunu ve ilerlemesini kolaylaştırmaktadır.

-Proinsülinin Rolü

İnsülin direnci (ve/veya hiperinsülinemi) kardiyovasküler risk faktörleri arasındaki ilişkiyi açıklayan çalışmaların çoğu proinsülin ile çapraz reaksiyon veren insülin test yöntemlerinin kullanılması nedeniyle sınırlanmıştır. Proinsülin ve split 32,33 proinsülin NIDDM'lu hastaların dolaşımındaki temel immunoreaktif insülini oluşturmaktadır (42, 43). Diğer bir çok çalışmada da NIDDM'li hastalarda proinsülinin orantısız artışı gösterilmiştir (44, 45). Glukoz toleransı bozulmuş kişilerde hem proinsülin hem de insülin seviyeleri artmıştır (46). Bununla birlikte bozulmuş glukoz toleransı ile birlikte açlık

proinsülininin insüline oranı (pankreas fonksiyon bozukluğunun bir belirtisi olarak düşünülmektedir) çelişkilidir; yani yükselme ya da artış yoktur (43, 47). Diabetlilerde ve nondiabetiklerde proinsülin konsantrasyonları dislipidemi ve hipertansiyonla korelasyon gösterir (48).

Proinsülin, spesifik insülin ve açlık insülin/insülin oranının LDL boyutu ile ilişkisi 488 nondiabetik kişide araştırılmıştır. Serum insülin konsantrasyonları proinsülin çapraz reaksiyonunun % 0,2'den az olduğu çift antikor radyoimmunoassay ile ölçülerek LDL boyutu ile açlık spesifik insülini ($p<0,01$), açlık proinsülini ($p<0,01$) ve açlık proinsülin/insülin oranı ($p<0,01$) ile belirgin olarak ilişkili olduğu saptandı (49). Yaş, cinsiyet, vücut kitle indeksi, bel-kalça oranı, trigliserid, HDL ve açlık glukozu düzenlemelerinden sonra LDL boyutu ile açlık spesifik insülini ($p<0,05$), açlık proinsülini ($p<0,01$) ve açlık proinsülin/insülin oranı ($p<0,05$) arasındaki korelasyon devam etmiştir. Böylece LDL boyutundaki azalmanın hem selektif beta hücresi bozukluğu hem de insülin direnci ile ilişkili olduğu gözlenmiştir.

Reaven ve arkadaşları 100 nondiabetik kişide sabit plazma glukoz tekniği ile LDL boyutu ve LDL alt grup modeli ve insülin direnci arasındaki ilişkiyi belirlemiştir. B alt grubundakilerle A alt grubundakiler veya ara gruptakiler karşılaştırıldığında sabit plazma glukoz konsantrasyonları; B alt grubunda belirgin olarak daha yüksek olarak saptandı ($p<0,05$). Hem glukoz tolerans testinden sonraki insülin bölgesi hem de sabit plazma glukoz testi ile LDL boyutu arasında belirgin bir korelasyon saptandı. Bu korelasyon yaş, vücut kitle indeksi ve cinsiyet düzenlemeleri yapıldıktan sonra da devam etti (50).

• *Dislipidemi, Diabet ve Ateroskleroz*

Koroner arter hastalığındaki artış diabetik olmayanlarla karşılaştırıldığında, tip II diabetli hastalarda trigliserid seviyeleri yüksek ve HDL kolesterol seviyeleri düşük bulunmuştur, fakat LDL kolesterol mutlak konsantrasyonları nispeten normaldir (51, 52).

LDL partikülleri büyük ölçüde heterojenite göstermektedir. İnsanların büyük bir çoğunluğu iki LDL alt grubundan (A veya B) birisine dahil edilebilir (53). Hem normolipidemik hem de hiperlipidemik kişilerde yapılan bir çok çalışmada LDL alt grup modelinde güçlü ailesel komponentlerin olduğu gösterilmiştir (54, 55). Elde edilen en son veriler küçük yoğun LDL'nin (LDL alt grup modeli B) koroner arter hastalığı için risk faktörü olabileceğini göstermiştir (56). LDL alt grup modeline bir çok çevresel etkilerin

bulunduğu bildirilmiştir. Küçük yoğun LDL; hipertrigliseridemi, düşük HDL kolesterol, hipertansiyon ve diabet ile birlikte görülür.

Diabetik dislipideminin bir komponenti olan küçük yoğun LDL modifikasyona daha müsait bir proteindir. Modifiye LDL endotel hasarının majör sebebidir. LDL partikülleri arter duvarına geçtikten sonra progresif bir oksidasyona maruz kalırlar ve bunları makrofajlar p reseptörleri ile ilerine alırlar. Ama bu işlem ile lipid peroksidlerinin oluşumu ve kolesterol esterlerinin birikimi artar ve köpük hücreleri oluşur. Modifiye LDL'nin ortadan kaldırılması ile endotel ve düz kas hücrelerine yapacağı etkiler minimale indirilmiş olur. Vitamin E gibi antioksidanlar modifiye LDL'nin serbest radikal oluşturmasını azaltır. Modifiye LDL makrofajlar için kemotaktiktir ve monosit kemotaktik protein ve makrofaj koloni stimulan faktör genlerinin ekspresyonunu da arttırır. Böylece inflamatuvar hücrelerin daha da fazlalaşmasına yol açar.

Trigliserid seviyeleri ve LDL boyutu arasındaki güçlü ilişkiden dolayı Feingold ve arkadaşları normoglisemik 29 NIDDM'li ve 87 nondiabetik hastada LDL alt grup modelini bulmuşlardır. Kontrol ve diabetik gruplardaki erkekler arasında yaş, trigliserid veya HDL kolesterol arasında belirgin farklılıklar saptanmamış olup, bununla birlikte diabetik erkeklerin vücut kitle indeksleri (BMI) diabetik olmayanlarınkinden belirgin olarak daha düşük iken, LDL alt grup modeli B belirgin olarak daha yüksek saptanmıştır ($p < 0,025$). Bu yazarlar normolipidemik erkeklerde de NIDDM'in LDL alt grup modeliyle ilişkisinin birbirinden bağımsız olduğunu belirttiler (57).

Sonuç olarak diabetiklerde LDL boyutunda aterojenik değişim yönünde bir farklılaşma olmaktadır. Diabetin LDL yapısındaki etkisi kadınlarda erkeklerden fazla ise de hem diabetiklerde hem de diabetik olmayanlarda LDL kompozisyonundaki azalmanın yanında trigliserid seviyesinde artış ve HDL kolesterolde azalma vardır. Bununla birlikte yüksek trigliserid düzeyleri ve düşük HDL kolesterol düzeyleri göz önüne alındığında bile diabetlilerde küçük yoğun LDL'de bir artış söz konusudur.

-Lipoprotein immun komplekslerinin oluşumu

Glikasyona uğramış ve okside LDL'lere karşı dolaşan antikorların tesbit edilmesi bu modifiye lipoprotein türlerinin immunojenik olabileceğini düşündürmektedir. Dolaşan lipoprotein immunkomplekslerinin varlığı hızlı ateroskleroz ile bağlantılıdır. Bu muhtemelen immun kompleksleri fagosite eden makrofajların köpük hücrelerine dönüşümü veya arter duvarındaki aterojenik immun mekanizmaların uyarılmasıyla

gerçekleşir. İmmun kompleksler, Fc reseptörlerine bağlandıktan sonra makrofajlarla fagosite edilebilir. Eğer bu kompleksler glikasyona uğramış ya da okside olmuş lipoproteinler içeriyorsa, büyük miktarlarda lipid ve yoğun lipoprotein partiküllerindeki artış ile kendini gösterirler. Küçük yoğun partiküllerin daha büyük partiküllere göre oksidatif modifikasyona daha meyilli oldukları gösterilmiş olduğundan, diabette bulunan lipoproteinler, diabetik olmayanlara göre oksidasyona daha meyillidirler (58).

-Oksitlenmiş Düşük Dansiteli Lipoprotein'in Önemi

Son çalışmalar oksitlenmiş LDL'nin normal LDL'ye göre daha aterojenik olduğunu göstermiştir (6). Oksitlenmiş LDL hayvan deneylerinde aterosklerotik lezyonlarda meydana gelmiştir. Oksitlenmiş LDL'ye karşı oluşan antikorlar boyun arteri aterosklerozunun ilerlemesiyle ilgilidir (59).

Lipid peroksidazların veya konjuge dienlerin diabette artıp artmadığını belirlemek için pek çok çalışma yapılmıştır. Sato ve arkadaşları damar hastalığı olan diabetiklerde peroksidaz seviyelerinin damar hasalığı olmayanlardan yüksek olduğunu göstermişlerdir (60). Başka bir çalışmada ise lipid peroksidaz seviyeleri damar hastalığı olmayan NIDDM'lilerde damar hastalığı bulunmayan nondiabetik kişilerden yüksek bulunmuştur (61).

Bir çok çalışmada LDL oksidasyonunun artışının, küçük yoğun LDL'si olan kişilerde görüldüğü belirtilmiştir. Bu küçük yoğun LDL'si olan kişilerde koroner arter hastalığı riskinin neden daha fazla olduğu kısmen açıklanabilir. De Graaf ve arkadaşları daha yoğun LDL fraksiyonlarının (LDL2 ve LDL3) oksidatif değişikliğe daha yatkın olduğunu ve bu nedenle daha az yoğun LDL alt fraksiyonu LDL1'e göre daha fazla köpük hücresi oluşumuna neden olabileceğini göstermişlerdir (62).

• *Hipertansiyon ve Ateroskleroz*

Hipertansiyon damar içi basınç oluşturması ile ve oluşturduğu türbülansla intimada lezyon oluşturma ve yüksek basınçla lipoproteinlerin subintima tabakasına sızmasına yol açmakla aterosklerotik plak oluşumunun tetiğini çeker. Diabetes mellitusun hipertansiyon oluşturuvcu risk faktörlerinden biri olduğu bilinmektedir. Arteriyel hipertansiyon diabetlilerin yaklaşık % 30'unda mevcuttur. Tip II diabet tek başına alındığında bu oran daha da yüksek olarak bulunur.

Prospektif, çapraz bir çok çalışma insülin direnci, hiperinsülinemi ve hipertansiyon arasındaki bağlantıyı ortaya çıkarmıştır. Manicardi ve arkadaşlarının hipertansif olan ve olmayan şişman bireylerde sistemik kan basıncı, oral glukoz toleransı ve plazma insülin seviyeleri arasındaki ilişkiyi araştırdıkları çalışmanın sonucunda, glukoz toleransı şişman normotansif bireylerde normal iken, şişman hipertansif bireylerde hafif bozulmuş olarak bulunmuşlardır (63).

Ferannini ve arkadaşları insülin klemp tekniğini kullanarak esansiyel hipertansiyonlu, kilosu normal, diabeti bulunmayan bireylerde insülin duyarlılığının niceliğini saptamışlardır. İnsülinin aracılık ettiği tüm vücut glukoz kullanımı esansiyel hipertansiyonlu bireylerde yaklaşık olarak % 30-40 azalmış olarak saptandı ve insülin direncinin ağırlığı kan basıncı yüksekliği ile yakından ilişkili olarak bulundu (64).

Diğer pek çok araştırma ile de esansiyel hipertansiyonun % 50-60 oranında insülin direnci ile beraber olduğu sonucuna varılmıştır. İnsülin etkinliğindeki bozukluktan birincil derecede sorumlu olan doku kas dokusudur ve bozulmuş glikojen sentezi de insülin direncinin temel hücre içi bozukluğudur. Yine benzer mekanizmalar ile insülin direnci hipertansiyon gelişimine yol açabilir.

OKSİDATİF STRES VE DİABETES MELLİTUS

Aterosklerozun nedenlerine yönelik araştırma hastalığın yavaş ilerlemesinden, lezyonların karmaşık yapısından ve lezyonların hücrel gelişmelerini izlemek için uygun tekniklerin yetersizliğinden dolayı aksamaktadır. Son yıllarda önemli yeni patojenik mekanizmalar bulunmuş ve eskiden ilgisiz olduğu düşünülenlerin de bu patolojide rol oynadığı anlaşılmıştır. Hiperkolesterolemi ile lipoproteinlerin oksidatif modifikasyonu ve vasküler zedelenmeyi birbirine bağlayan çeşitli hipotezler öne sürülmüştür (65, 66).

Olayı başlatan neden olduğu açık olarak bilinmese de aterosklerozun en erken manifestasyonlarından biri de arter intimasına lipoproteinlerin birikmesidir. LDL insanlarda aterosklerotik lezyonlardaki temel lipoprotein kaynağıdır.

Aterogenezin gerçekleştiği bölgelerde, sıklıkla non-laminar akımın bulunduğu yerler olmaktadır, ki bu da lokalize farklı şiddette stresin olduğu bölümlerdir. Dolayısıyla, lipoproteinlerin intimal birikiminin endotel hasarının bir sonucu olarak artmış LDL akımına bağlı olduğu düşünülmektedir. Böyle bir zedelenmeye ilişkin deneysel kanıtlar arasında bu bölgelerde endotelial mitozun daha sık olması gösterilebilir (67). Damar duvarını geçen lipoprotein akımına ilişkin çalışmalar intimadaki birikimin artmış

akımdan çok bu bölgede lipoproteinlerin bekleme süresindeki uzamaya bağlı olabileceğini işaret etmektedir (68). LDL reseptörleri (B/E reseptörü) esas olarak karaciğer hücrelerinde olmak üzere LDL'nin hücre alımını sağlar ve plazmadaki LDL'nin 2/3'nün klirensinden sorumludur. Ancak LDL reseptörleri intimal makrofajlar tarafından kolesterolden zengin LDL'nin hızlı alımından muhtemelen sorumlu değildirler. Çünkü intraselüler LDL içeriği ile bu hücrelerdeki reseptörlerin ekspresyonu azalmaktadır. Özellikle karakteristik olarak işlevsel LDL reseptörlerinin genetik olarak eksik olduğu, hiperkolesterolemi ile yoğun prematür aterosklerozun bulunduğu ailesel hiperkolesterolemili hastalarda, köpük hücre oluşumunu indükleyebilen bir mekanizmaya gereksinim bulunmaktadır. Kendi başına bir "temizlik" ya da "asetil-LDL" reseptörünün tarif edilmesi olası açıklamayı sağlamıştır (69). Bu reseptör makrofajlar ve sinüzoidal kuppfer hücrelerinde bulunmakta ve kimyasal olarak modifiye olmuş çeşitli lipoproteinleri tanımaktadır. Bu reseptör yoluyla makrofajlara modifiye LDL alımı, doğal LDL'nin (modifiye olmamış) LDL reseptörü tarafından alımından birçok kez daha fazladır ve invitro olarak köpük hücre oluşumunu indüklemektedir. Temizlik reseptörünün ekspresyonu hücre LDL konsantrasyonunun yüksek olması ile azalmaktadır ve bu reseptör, apoprotein B'deki aminoasit rezidülerindeki (yaygın olarak lizinler) serbest aminoasitlerin derivitazasyonu ile oluşmuş modifiye LDL'deki epitoplara tanımaktadır. Lizinlerin derivitazasyonu sadece lipoproteinlerin spesifik reseptörleri tarafından tanınması ve lipoprotein metabolizması için önemli etkileri olmakla kalmaz aynı zamanda genel olarak proteinlerin birçok özelliğini etkileyebilir (70). Makrofajlar üzerinde birçok kimyasal modifikasyonu tanıyabilecek reseptörlerin bulunması, modifiye lipoproteinlerin ortadan kaldırılmasının makrofajların önemli biyolojik işlevlerinden olabileceğini düşündürmektedir.

Modifiye lipoproteinlerin doğal olarak oluşumuna ilişkin araştırmalar, endotel hücreleriyle birlikte inkübe edilen LDL'nin yoğun yapısal değişikliğe uğradığının ve temizlik reseptörleri tarafından tanındığının keşfiyle önemli derecede ilerlemiştir (71). Düz kas hücreleri, makrofajlar ve lenfositler gibi diğer arter duvarı hücreleri de LDL'yi benzer bir şekilde modifiye edebilmektedirler. Daha sonraki çalışmalar LDL'nin hüresel düzeydeki modifikasyonunun poliansatüre yağ asitlerinin yoğun peroksidasyonu, apo B lizin rezidüleri ile lipid peroksidasyonu ürünleri arasındaki bileşiklerin formasyonu ve nihayetinde apoproteinlerin parçalanması ile ilişkili oksidatif süreç olduğunu göstermiştir. Aterosklerotik lezyonlar üzerinde yapılan çeşitli immüno kimyasal çalışmalar ile böyle bir oksidatif modifikasyonun in vivo olarak gerçekleştiği gösterilmiştir. Ek olarak

lezyonlardan elde edilen LDL'de in vitro olarak hazırlanmış okside LDL'deki tüm özelliklerin olduğu görülmüştür (72).

Oksidasyon kolesterolden zengin lipoprotein partiküllerinin alınması ile sonuçlanan tek mekanizma değildir. Şekerleri redükte ederek proteinlerin nonenzimatik glikozilasyonu, proteinlerdeki lizin rezidülerinin analog modifikasyonuna yol açar ve makrofajlarda ilerlemiş glikozilasyon son ürünler için reseptör oluşur.

LDL'nin Oksidatif Modifikasyonu

LDL'nin oksidasyonu sırasında iki temel olay gerçekleşir. Partikülün merkezinde ve yüzeyinde bulunan lipidler ve fosfolipidler peroksidasyona uğrarlar ve lipid peroksidasyonu sonucu oluşan ürünler apoprotein grubu ile reaksiyona girebilir. Hem lipid peroksidasyonu hem de apoprotein modifikasyonu, birçoğunun aterosklerotik potansiyeli bulunan çok sayıda ürünün oluşumuna yol açar. Ancak oluşan ürünlerin kimyasal yapısı ve miktarı sadece in vitro ox-LDL oluşumunu sağlayan deney koşullarına değil aynı zamanda, kullanılan ve homojen olmaktan uzak her bir LDL preparatının kompozisyonuna da bağlı olabilir. Ox-LDL'nin yan ürünlerinin biyolojik özelliklerinin değerlendirilmesi de o ölçüde zordur. İn vitro çalışmaların sonuçları aterosklerotik lezyonlarda lipoprotein oksidasyonunun derecesi ya da in vivo oluşan her bir ürünün prevalansı ve doğasına ilişkin az sayıda güvenilir veri bulunmaktadır.

LDL'nin oksidatif modifikasyonu yoğun bir şekilde incelenmiştir ve bu süreçteki kimyasal sürecin aşırı derecede karmaşık olduğu artık bilinmektedir. Oksidasyonun LDL partikülündeki doymamış yağ asitlerinden hidrojen atomunun sökülmesiyle başladığı genel olarak tahmin edilmektedir. İn vivo şartlarda oksidasyonu metal iyonları indükleyebilir. Hücresiz bir ortamda LDL'nin bakır iyonları ile inkübasyonu hücrelerce indüklenmiş ox-LDL'ye çok benzeyen bir tür ox-LDL oluşumuna yol açar. Gerek bakır gerekse de hücreler tarafından indüklenen LDL oksidasyonu etilendiamintetraasetikasit (EDTA) ve diğer metal şelatörler tarafından etkili bir şekilde inhibe edilir (73). Ancak ekstraselüler boşlukta lipid peroksidasyonunu başlatacak miktarda serbest metal iyonlarının bulunup bulunmadığı ya da serüloplazmin gibi metal iyonu komplekslerinin katalist olarak rol oynayıp oynamadığı kesin olarak belli değildir. Özellikle aktif hale geçmiş makrofajlar olmak üzere vasküler hücreler 15-lipooksijenaz aktivitesi ile elde ettiği sonra da lipid hidroperoksidleri ekstraselüler LDL'ye aktarabilir. Ek olarak makrofajlar süperoksidler ve diğer reaktif

oksijen tipleri sekrete ederek LDL oksidasyonunu indükleyebilirler. Oluşan lipid hidroperoksidleri daha reaktif peroksi radikallere dekompoze olur ve bunlar da lipid hidroksidlerin oluşumuna yol açabilirler. Bu süreç metallerin varlığında önemli ölçüde hızlanır. LDL partikülünün oksidasyona uğrama yatkınlığı başta antioksidan içeriği olmak üzere çeşitli faktörlere bağlıdır. Ancak antioksidan savunma özelliklerinin üstesinden geldikten sonra oksidatif süreç propagasyon fazına geçebilir. Bu faz, lipoperoksidlerin oluşumu ve çift bağların yeniden düzenlenmesi ile karakterizedir ki bu durum 234 nm'de absorbansın artışı ile izlenebilir. Propagasyon fazı LDL partikülünün içinde bulunan fosfolipaz A2 ile büyük ölçüde geliştirilir ve sonucunda lesitinin lizolesitine yoğun bir şekilde dönüşümü sağlanır. İn vitro hücresiz ortamda LDL fosfolipaz A2 ve lipooksijenaz ile inkübe edilerek ox-LDL elde edilebilir ve ortama fosfolipaz A2 inhibitörleri eklenmesi oksidatif modifikasyonu önler (74). Okside yağ asitlerinin dekompozisyonu yüksek derecede reaktif aldehidler ile malondialdehid ve 4-hidroksinonenal gibi ketonların oluşumuna yol açar. Oksidatif modifikasyon süreci sırasında bu reaktif aldehidler başta lizinler olmak üzere apoproteinlerin aminoasitlerinin serbest amino gruplarına kovalanarak bağlanırlar. Apoprotein B-100'ün yaklaşık 360 lizin rezidüsünün progresif modifikasyonu ilk olarak LDL'nin reseptörü tarafından tanınırlılığını azaltır ve sınır sayıda lizin modifiye olunca LDL temizlik reseptörleri tarafından tanınmaya başlar (75). LDL'den köken alan lipid peroksidasyon ürünleri sadece apo-B ile değil aynı zamanda kollajen ve diğer matriks proteinleri ile de etkileşime girebilir.

LDL'nin yağ asidi kompozisyonu, özellikle poliansatüre yağ asidi içeriği oksidasyona duyarlılığın majör belirleyicisidir (76). İkinci majör faktörde özellikle vitamin E başta olmak üzere endojen antioksidanların konsantrasyonudur (77). Oksidasyonda LDL partikülünün büyüklüğünün de önemi belirtilmiştir. Küçük dens LDL büyük olanlardan daha duyarlıdır (78). Ekstrinsik faktörler arasında intima hücrelerinin pro-oksidan koşullara katkısı ve ekstraselüler sıvının vitamin C gibi hidrofilik antioksidanların konsantrasyonları gösterilebilir. Yüksek dansiteli lipoprotein (HDL), in vitro olarak LDL'nin oksidasyonunu inhibe edebilmektedir ve in vivo olarak benzer bir rol oynaması olasıdır (79) (Şekil 2).

Okside LDL'nin potansiyel aterosjenik mekanizmaları

LDL'nin oksidasyon, glikasyon ve AGE veya MDA (malondialdehid; lipid peroksidasyonu son ürünü) ile bağlanmasının aterogenez sürecinde çok önemli olduğu

dikkate alınmalıdır. Okside modifiye LDL'nin makrofaj yüzeyindeki çöpçü reseptörlerden farklı bir diğer reseptör tipine bağlandığı saptanmıştır. LDL yüklü makrofajların köpük hücrelerine dönüşerek vasküler endotel altında birikimi ateroskleroz sürecinin ilk basamağı olarak kabul edilmektedir. LDL'nin intra ve ekstraselüler ortamda oksidasyonu karmaşık bir süreçtir. Bu oksidatif süreç sonunda oluşan modifiye LDL partikülleri kemotaktik, sitotoksik ve immunojenik özellikler gösterir (80).

Çok sayıda veri LDL'nin oksidasyonu sırasında oluşan birçok ürünün aterogeneze ox-LDL'nin makrofajlar dışında hızla alınması dışındaki mekanizmalarla katkıda bulunduğunu düşündürmektedir. Okside lipid ve apoprotein fragmanları lezyon formasyonunu arttıran çok sayıda olayı tetikleyebilir. Ox-LDL veya onun yan ürünleri, monosit veya makrofajların intimada birikmesine katkıda bulunabilir, arter hücrelerindeki gen ekspresyonunu düzenleyebilir, vasküler hücreleri sitotoksik özellikleri ile etkileyebilir, immün reaksiyonları canlandırabilir, vasküler tonusun düzenlenmesini modüle edebilir ve prokoagülatör bir etki yaratabilir. Şekil 3'de intimadaki LDL'nin oksidasyonuna yol açabilecek hipotetik yollar ve ox-LDL ile onun yan ürünlerinin lezyon formasyonuna nasıl katkıda bulunabileceğine ilişkin mekanizmaların özeti görülmektedir. Aterosklerotik lezyonun en erken safhası olan yağlı çizgiler, intimada lipid ve monositlerden köken alan makrofajların birikmesi ile karakterizedir. Vasküler duvarda bulunan tüm majör hücreler LDL'yi okside edebilirlerse de intimada bulunan LDL'nin ilk olarak endotel hücreleri tarafından okside edildiği kabul edilir. Vasküler duvara girdikten sonra bu LDL partikülü hücre tarafından yönlendirilen modifikasyona daha yatkındır ve temizlik reseptörleri tarafından tanınmasını sağlayacak oksidasyon düzeyine daha hızlı ulaşacaktır.

Ox-LDL komşu hücrelerdeki gen ekspresyonunu da değiştirebilir. Bu olay temizlik reseptörlerinin tanınması için gerekli düzeydeki modifikasyona ihtiyaç göstermeyebilir. Minimum düzeyde modifiye olmuş LDL (oksidatif olarak modifiye olmuş ancak temizlik reseptörleri tarafından henüz tanınmayan LDL), in vitro endotel hücreleri, adhezyon moleküllerinin ekspresyonu, kemotaktik faktörleri (monosit kemoatraktan protein-1 (MCP-1) ve MCSF gibi koloni stimulan faktörleri) ekspresyon için indükler. Enflamatuar mediatör genlerin ve NF- κ B benzeri transkripsiyon faktörlerinin lipid peroksidasyon ürünleri tarafından aktivasyonu, orta derecede okside olmuş LDL'nin çok yönlü aterojenik etkilerinin ortak bir yolu olarak düşünülebilir (81). Lizofosfatidilkolin gibi ox-LDL ürünleri, makrofajların motilitesini inhibe ederken aynı zamanda dolaşımdaki monositler üzerinde de doğrudan kemotaktik etkiye sahiptirler. Ox-LDL bu mekanizmalar aracılığıyla

monositleri çekerek makrofajların intimal birikimine yol açar ve bunun yanısıra fenotipik değişimi takiben onları lezyona hapseder.

Ox-LDL'nin olası aterojenik etki mekanizmaları arasında okside lipid bileşenlerinin sitotoksik etkileri sayılabilir ki bu olay endotel işlevlerini etkileyebilmekte hatta endotelin hasarına yol açabilmektedir. Aterosklerotik lezyonların erken safhalarında endotel sağlam ise de daha sonraki safhalarda endotel hücre veya köpük hücreleri örten lezyonların üst bölümünün hasarı prokoagülan durumların gelişimine yol açabilir. Ox-LDL plateletleri aktive ederek veya endotelin antikoagülan işlevlerine müdahale ederek yada doku faktör salınımını doğrudan stimüle ederek koagülasyon sistemini doğrudan etkileyebilir. Yapılan çalışmalarla ox-LDL'nin endotelden köken alan relaksasyon faktörüne (EDRF) yanıt olarak vasküler relaksasyonu inhibe ettiği ve antioksidan tedavinin bu duruma koruma sağladığı bildirilmiştir (82). Aktive makrofajlar daha sonra potansiyel olarak aterojenik faktörlerin ekspresyonu ve sekresyonunu indükleyerek lezyon formasyonunu artırabilir. Makrofajlar LDL oksidasyonunu 15-lipooksijenaz aktivitesi ve ekspresyonunu arttırarak yada süperoksid veya diğer okside edici maddeleri salarak arttırmaktadırlar.

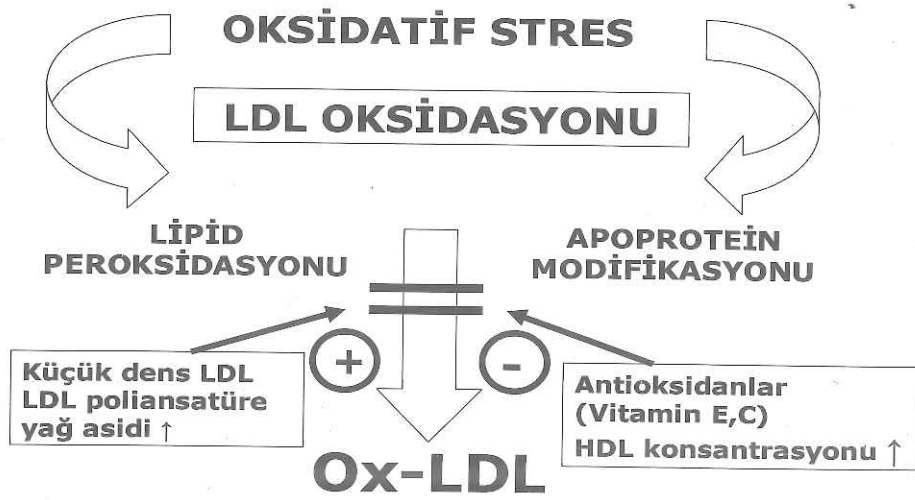
Aterogenezde ox-LDL ve immun sistem ilişkisi

İmmun mekanizmaların aterogenezde yer aldığı yapılan araştırmalarla gösterilmektedir. İnsanlarda aterosklerotik lezyonlar immunglobulin, kompleman ve yüksek oranda immun komponent hücre içermektedir. Bu hücreler yalnızca makrofajlar değil aynı zamanda CD4+ ve CD8+ T lenfositlerdir. Gözlemlerin çoğu immun sistemin aktive olduğunu göstermektedir. İntimal T lenfositler ve makrofajlarda IL-2 reseptörleri bulunmaktadır. Aktive T hücrelerinden salınan IF sonucunda majör histokompatibilite II. sınıf antijenleri endoteliyal hücre ve T lenfositlerinin yanındaki düz kas hücrelerinde bulunmaktadır. Ayrıca lezyonlarda terminal kompleman kompleksi (C5b-9) bulunması ile kompleman sisteminin aktivasyonu sağlanır.

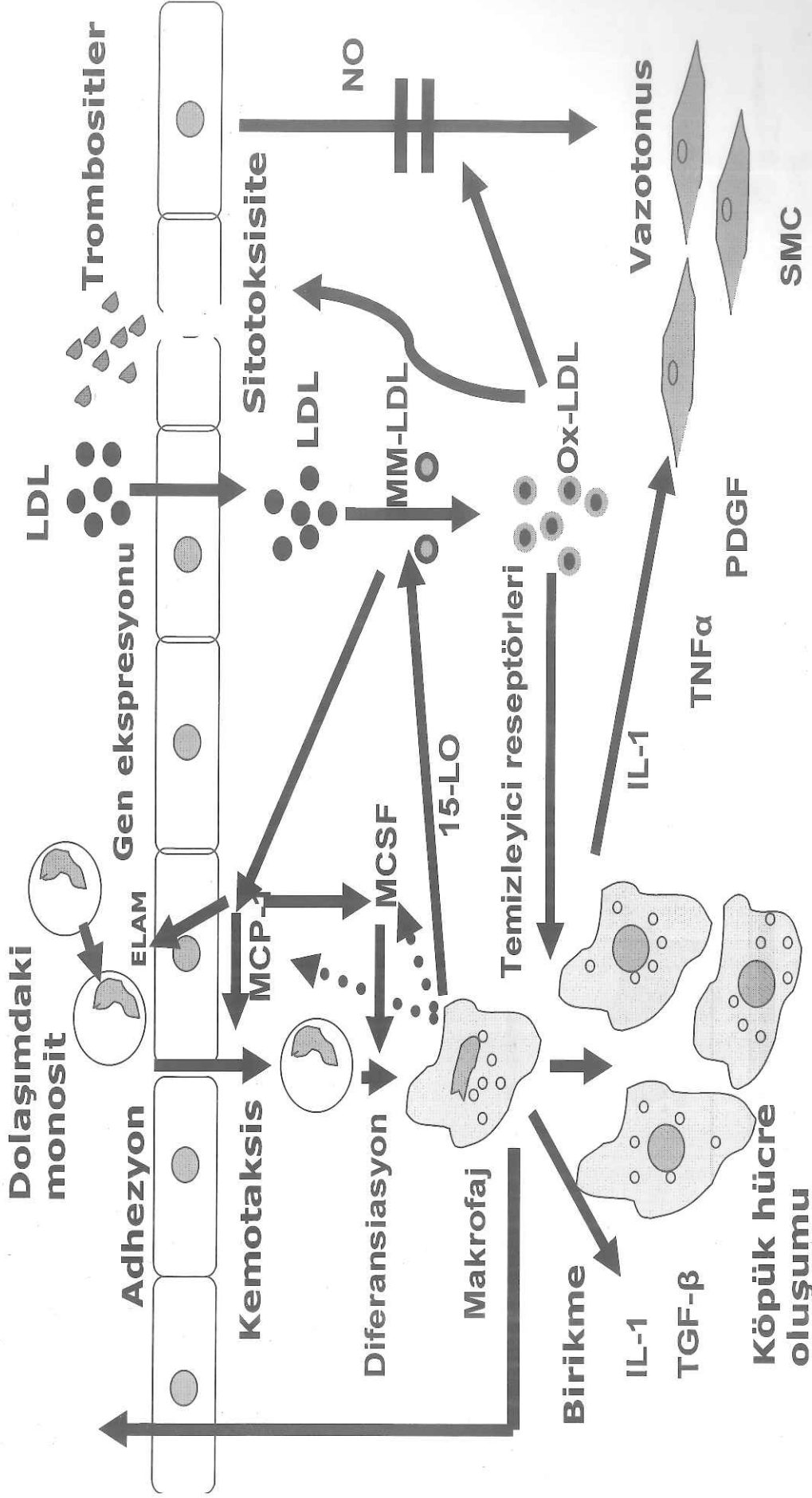
Ox-LDL yüksek oranda immunojenidir. Dolaşımda ox-LDL epitoplarını algılayan otoantikolar bulunmaktadır. İnsanlarda aterosklerozun şiddetlenmesi ile yüksek otoantikor titrelerinin doğru orantılı olması aterosklerozun şiddetinin göstergesi olabileceğini düşündürmektedir. Ayrıca aterosklerozun murin modellerinde otoantikor titreleri aortik aterosklerozun şiddeti ile orantılıdır. Bu durum lezyonlardaki okside lipoproteinlerin oluşumunun immunojen kökenli olabileceğini desteklemektedir. Ox-LDL epitoplarına karşı antikolar ox-LDL içeren immunkomplekslerin yanında aterosklerotik lezyonlarda da

bulunmaktadır. Ox-LDL T lenfositleri için kemotaktiktir ve ortamda monositler bulunduğu zaman T hücrelerini aktive edebilir (Şekil 4).

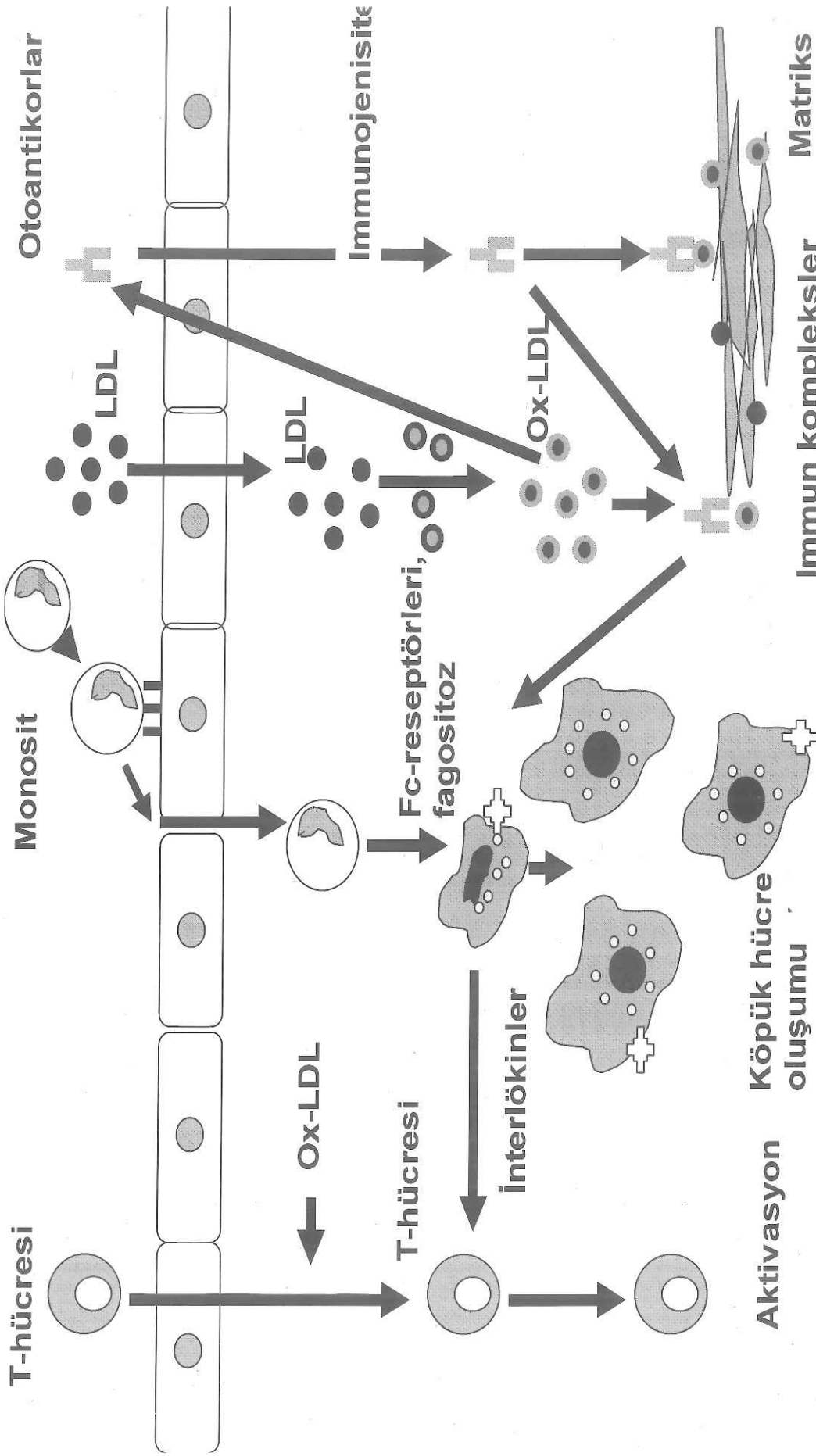
Başlangıçta ox-LDL ile immun yanıtın ortaya çıkması Fc reseptörleri ve fagositozla immun komplekslerin alınmasının artması ile aterogenez artacak ve böylece köpük hücre oluşumu artacaktır. Bununla birlikte LDL reseptörü olmayan tavşanların altı ay süresince homolog malondialdehid modifiye LDL ile hiperimmunizasyonu ox-LDL epitopuna karşı çok yüksek otoantikör titreleri ve aterosklerozun belirgin olarak azalması ile sonuçlandırıldığı yakın dönemde yapılan çalışmalar ile gösterilmiştir. Bu koruyucu etkiden sorumlu potansiyel mekanizmalar düşük oranda okside olan LDL'nin dolaşımdan alınmasını, intimada immun kompetan hücrelerin sayısındaki artışı yada aktivasyonundaki artışı içerir. Ox-LDL ve yan ürünlerinin çoğu proaterojenik özellikleri, toplayıcı reseptörler, Fc reseptörler yada fagositoz yolu ile intimadan hızla alınmaları artmış alım kolesterol esterlerin makrofajda birikmesini arttırması ve sonuç olarak köpük hücrelerin nekrozuna neden olmasına rağmen yararlı bir aprioridir (84). İmmun sistemin yararlı rolünü destekleyen bulgular aynı zamanda balonla kateterize edilen sıçan aortlarındaki geniş proliferatif lezyonlarla sonuçlanan monoklonal antikörlerle T lenfositlerinin atılmasının gözlenmesi ile elde edilmiştir (85). Sonuç olarak immun yetmezliği olan farelerin farklı türleri sitolitik T hücresi olmayan ve natural killer hücre aktivitesi bozulmuş özellikle sınıfı MHC olmayan C57BL/6 farelerde aterosklerozun artışı sağladığı bildirilmiştir.



Şekil 2: Oksidatif stres ve LDL oksidasyonu



Ox-LDL potansiyel aterojenik mekanizmaları



Aterosklerotik lezyonlarda Ox-LDL ile immün sistem arasındaki etkileşimler

MATERYAL VE METOD

Bu çalışmada diabetik makrovasküler hastalıkla plazma ox-LDL düzeyi arasındaki ilişki araştırılmıştır.

Çalışma grupları;

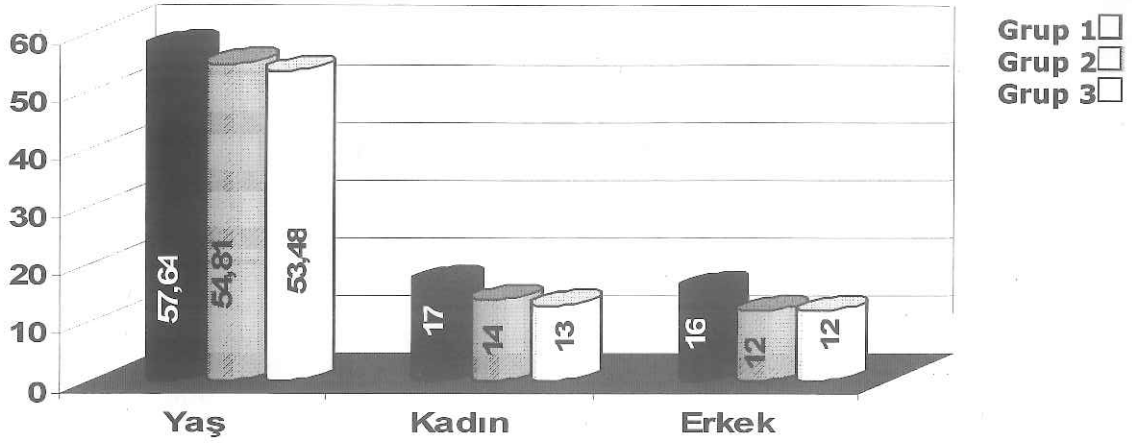
1. Grup: Akut koroner hastalık gelişimi öyküsü bulunan 33 tip II diabetik hasta
2. Grup: Mikro-/makrovasküler komplikasyonu (retinopati, nefropati veya nöropati) olmayan 26 tip II diabetik hasta
3. Grup: 25 sağlıklı gönüllü olarak belirlenmiştir.

35-65 yaş arası hastalarda 1. grup için akut koroner hastalık öyküsü olması, 2.grup için mikro-/makrovasküler komplikasyon olmaması çalışmaya alınma kriteri olarak belirlenmiştir. Kontrol grubu için sigara ve alkol kullanım öyküsü, kronik hastalık ve malignite öyküsü, 35 yaş altı ve 65 yaş üzeri hastalar ve 1. grup için akut koroner hastalık öyküsünün 8 haftadan erken olması dışlanma kriteri olarak alınmıştır.

EDTA'lı açlık kan örneklerinden elde edilen plazmada, 'Mercodia Oxidized LDL ELISA' kiti kullanılarak solid faz immunoassay direkt sandviç tekniği ile ox-LDL düzeyi çalışılmıştır.

Hasta gruplarında (grup 1 ve 2) hipertansiyon, hiperlipidemi ve sigara kullanımı öyküsü, antidiabetik tedavi şekli ve HbA_{1c} seviyesi ile plazma ox-LDL düzeyi arasındaki ilişki, tüm gruplarda total kolesterol, HDL, LDL ve trigliserid değerleri ile ox-LDL düzeyi arasındaki ilişki araştırılmıştır. Sonuçlar; nitel verilerde ' χ^2 testi', grup karşılaştırmalarında tek yönlü varyans analizi (ANOVA), alt grup karşılaştırmalarında 'Tukey çoklu karşılaştırma testi' ve iki grup kıyaslamalarında 'bağımsız t testi' ile değerlendirilmiştir.

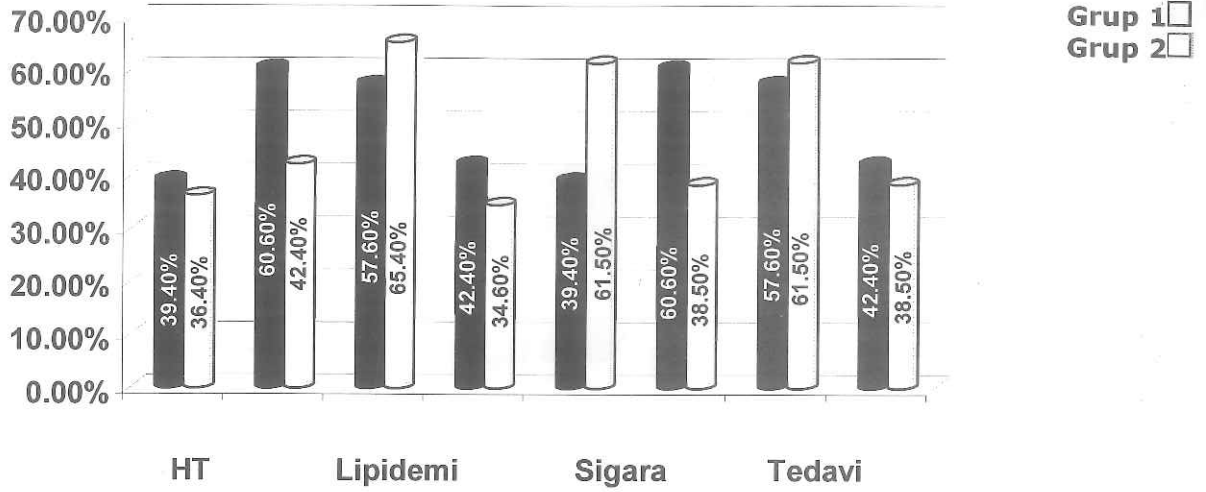
BULGULAR



Şekil 1: Gruplar arasında yaş ve cinsiyet dağılımı

	Grup 1	Grup 2	Grup 3	
Kadın	17 (%51,5)	14 (%42,4)	13 (%52)	$\chi^2=1,07$
Erkek	16 (%48,5)	12 (%36,4)	12 (%48)	$>0,05$
Yaş	57,64±6,81	54,81±6,08	53,48±6,21	$>0,05$

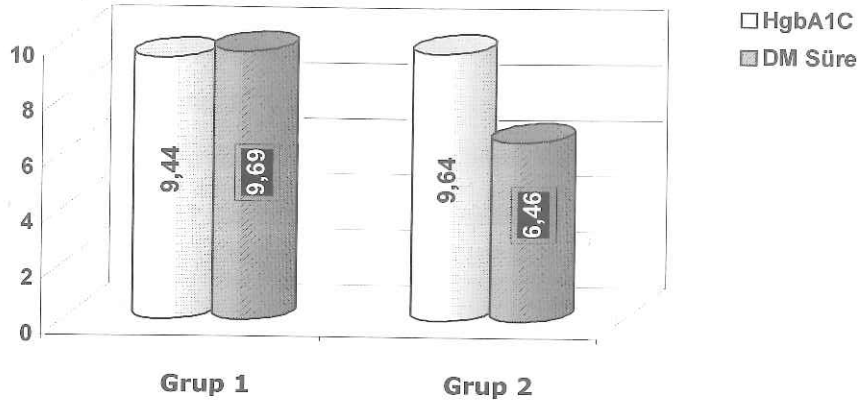
Tablo 1: Gruplar arasında yaş ve cinsiyet dağılımı analiz sonuçları



Şekil 2: Gruplar arasında hipertansiyon, hiperlipidemi, sigara ve diabet tedavi rejimi demografik dağılımı

		Grup 1	Grup 2	
Hipertansiyon	Yok	13 (%39,4)	12 (%36,4)	$\chi^2=0,06$
	Var	20 (%60,6)	14 (%42,4)	$>0,05$
Lipid	Yok	19 (%57,6)	17 (%65,4)	$\chi^2=0,01$
	Var	14 (%42,4)	9 (%34,6)	$>0,05$
Sigara	Yok	13 (%39,4)	16 (%61,5)	$\chi^2=0,11$
	Var	20 (%60,6)	10 (%38,5)	$>0,05$
Tedavi	OAD	19 (%57,6)	16 (%61,5)	$\chi^2=2,03$
	İnsülin	14 (%42,4)	10 (%38,5)	$>0,05$

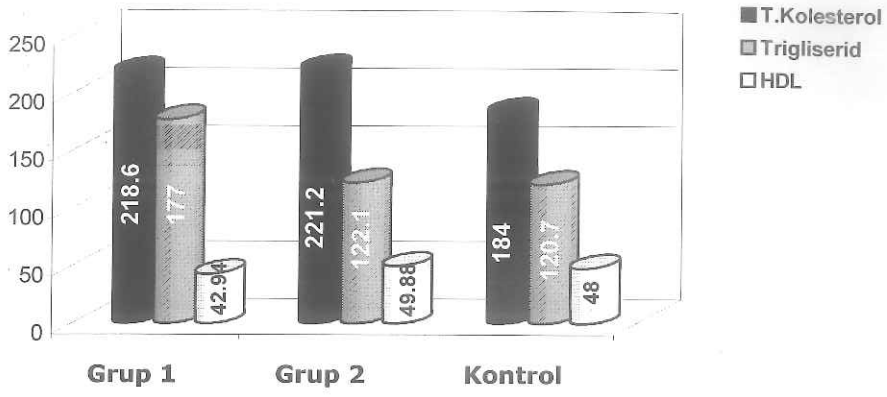
Tablo 2: Gruplar arasında hipertansiyon, hiperlipidemi, sigara ve diabet tedavi rejimidemografik dağılımı analiz sonuçları



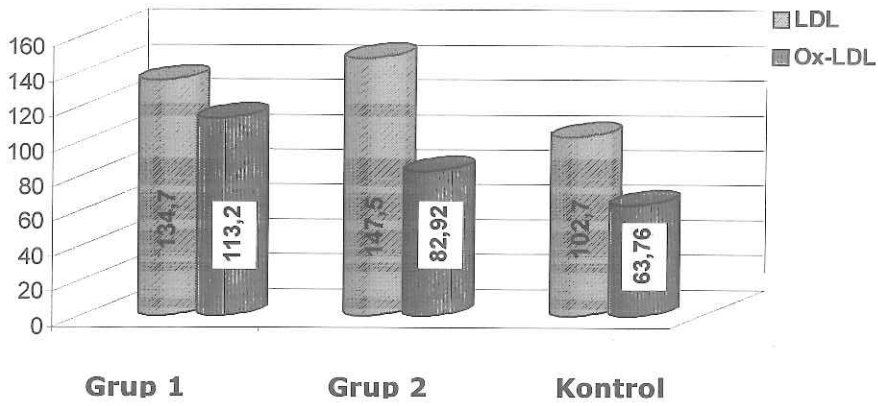
Şekil 3: Diabetik gruplar arasındaki ortalama diabet süresi ve HbA1c değerleri

	Grup 1	Grup 2	t	p
HbA1C	9,44±2,18	9,64±2,96	0,28	>0,05
DM Süre	9,69±7,42	6,46±5,59	1,84	>0,05

Tablo 3: Diabetik gruplar arasındaki ortalama diabet süresi ve HbA1c değerleri analizi



Şekil 4: Gruplar arasında lipid profili dağılımı



Şekil 5: Gruplar arasında plazma LDL ve Ox-LDL düzeyleri

	Grup 1	Grup 2	Kontrol	F	p
T.Kolesterol	218,6±47,88	221,2±32,28	184±14,15	8,79	<0,001
Trigliserid	177±100,8	122,1±61,55	120,7±37,83	5,53	<0,01
HDL	42,94±9,51	49,88±10,14	48±13,31	2,82	>0,05
LDL	134,7±40,09	147,5±26,99	102,7±21,66	14,97	<0,0001
Ox-LDL	113,2±46,32	82,92±59,12	63,76±	8,78	<0,001

Tablo 4: Gruplar arasında lipid profili ve plazma LDL ve Ox-LDL düzeyleri analizi

	T. Kolesterol	Trigliserid	LDL	Ox-LDL
Grup 1/Grup 2	>0,05	<0,05	>0,05	<0,05*
Grup 1/Kontrol	<0,001*	<0,001*	<0,001	<0,001*
Grup 2/Kontrol	<0,001*	<0,001*	<0,001*	>0,05

Tablo 5: Gruplar arası lipid profili ve Ox-LDL düzeyi değerleri analizi

SONUÇLAR

Akut koroner hastalık gelişimi öyküsü bulunan (Grup 1) diabetik hasta grubunda mikro ve makrovasküler komplikasyon gelişimi bulunmayan (Grup 2) diabetik gruba göre ox-LDL düzeyi anlamlı olarak yüksek bulunmuştur ($p<0,05$).

Grup 1'de ox-LDL düzeyi sağlıklı gönüllülerden oluşturulan kontrol grubuna göre yüksek olup fark ileri derecede anlamlı bulunmuştur ($p<0,001$).

Grup 1'deki total kolesterol, trigliserid ve LDL düzeyleri kontrol grubuna göre yüksek olup istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,001$).

Grup 2'de total kolesterol, trigliserid ve LDL düzeyleri kontrol grubundakinden yüksek olup fark anlamlı ($p<0,001$) iken, iki grup arasında ox-LDL düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ($p<0,05$).

Diabetik gruplar arasında tedavi tipi, HbA_{1c} düzeyi, sigara kullanımı, hiperlipidemi öyküsü ve hipertansiyon dağılımı bakımından anlamlı fark bulunmamıştır.

ÖZET

Güçlü kanıtlar oksidatif süreçlerin aterogenezi arttırdığını göstermektedir. NEG ve AGE oluşumu her ne kadar in vivo olarak gösterilememişse de diyabetlilerde ateroskleroz sıklığındaki artışın bir açıklaması olabilir. NEG ve oksidasyon ile apoproteinlerin ve proteinlerin modifikasyonu benzer süreçler ve benzer ara ürünler ile ortaya çıkar. Lipoprotein oksidasyonu ve AGE ürünleri aterogenezi benzer mekanizmalarla arttırabilir ve her iki süreçte de benzer artışlar olabilir. Bu anolojiler hem diyabetik hem de öglisemik hastalarda aterojenik oluşum için yeni gelişmeler gösterebilir.

TARTIŞMA

Geçmiş birkaç yılda lipoproteinlerin in vivo oksidatif modifikasyonuna ilişkin önemli miktarda kanıt bildirilmiştir. İlk kanıtlar aralarında insanların da bulunduğu çeşitli türlerde aterosklerotik lezyonlardaki ox-LDL'ye özgü çeşitli epitoplara immünohistokimyasal tekniklerle gösterilmesiyle sağlanmıştır (86,87,88). İmmünohistokimyasal çalışmalar aterosklerotik lezyonlarda erken yağ çizgilerinden gelişmiş fibröz plaklara kadar değişik oksidasyona spesifik epitoplara oluştuğunu göstermiştir. Bazı lezyonlarda oksidasyon spesifik epitoplara varlığı ile doğal modifiye olmamış LDL belirgin bir ters korelasyon gözlenmiştir (87). Makrofajlarda oksidasyon spesifik epitoplara prevalansı, ileri sürülen ox-LDL'nin temizlik reseptörleri tarafından hızlı alımı ve ox-LDL'nin hücre içi metabolizmasının azalması ile uyumludur. İmmün boyama kısmen aterosklerotik lezyonlardan hassas bir şekilde alınmış LDL'ye özgü oksidasyon spesifik epitoplara gösterilmesiyle ox-LDL'nin buradan köken aldığını yansıtmaktadır. Lezyonsuz arterden alınan yada plazmadaki LDL'nin aksine lezyona ait LDL in vitro olarak okside olan LDL'nin fiziksel, kimyasal ve immünojenik özelliklerine sahiptir ve makrofajlardaki temizlik reseptörleri tarafından tanınmaktadır (72).

Oksidasyon hipotezi antioksidanların hayvan modellerinde aterogenezi azaltabildiğinin gözlenmesiyle önemli ölçüde güçlenmiştir. Esterbauer ve arkadaşları E vitaminin LDL oksidasyonunu inhibe ettiğini göstermişlerdir (89). Tip II diabette artmış oksidatif stres ve LDL oksidasyonunu vurgulamaya yönelik yakın zamanda Upritchard ve Hsu'nun yaptığı çalışmalar literatürde örnek olarak gösterilebilir.

Upritchard ve arkadaşlarının tip II diabetik LDL oksidasyonu ve oksidasyon ürünlerinin inflamatuvar aktivitesine domates suyu, vitamin E ve vitamin C etkisini araştırdıkları plasebo kontrollü çalışmalarında antioksidan özellikleri bilinen bu ajanların LDL oksidasyonunu azalttığını göstermişlerdir (90).

Hsu ve arkadaşlarının tip II diabet varlığında artmış oksidatif stres ile ox-LDL artışının ilişkisini ortaya koymak amacıyla örnek alımının önce ve sonrasında 1200 IU/gün alfa tokoferol kullandırılan 45 tip II diabetik hasta ve 25 sağlıklı kontrol ile yapmış oldukları bir çalışmada ELISA yöntemi ile ox-LDL düzeyi ve ox-LDL/LDL oranını değerlendirmişlerdir. Kontrol grubuna göre makrovasküler hastalık gelişimi bulunan diabetik hasta grubunda ox-LDL antikorlarında önemli derecede artış saptanmışken makrovasküler hastalığı bulunmayan diabetik grupta bu ilişki gözlenmemiştir. Alfa

tokoferol kullanımı ile her iki diabetik grupta ox-LDL antikorlarında önemli derecede düşüş sağlandığı görülmüştür ($p<0.01$) (91).

Yine Devaraj ve arkadaşlarının makrovasküler komplikasyonu olan ve olmayan tip II diabetik hastalarda LDL'nin postsekretuar modifikasyonu (glikasyon ve oksidasyon), monosit fonksiyonu ve dolaşan adezyon moleküllerini ve alfa tokoferol alımının etkisini araştırdıkları çalışmalarında LDL'nin postsekretuar modifikasyonu, monosit proaterojenik aktivitesinde ve dolaşan solubl hücre adezyon molekül seviyesinde makrovasküler komplikasyonu bulunan diabetik grupta komplikasyonsuz diabetik grup ve kontrol grubuna göre artış olduğu ve 3 ay boyunca günde 1200 IU alfa tokoferol kullanımının her üç grupta da benzer etkilere yol açtığı gösterilmiştir. Alfa tokoferol uygulamasının her üç grupta da LDL oksidasyonunda önemli derecede düşüş sağladığı ve yine her üç grupta serbest oksijen radikallerinin oluşumunda, IL-1 β , TNF- α ve monosit endotel adezyonunda azalma sağladığı gösterilmiştir (92).

Daha önceleri dolaşımda önemli miktarda ox-LDL olamayacağı düşünülürdü. Plazmanın mükemmel antioksidan koruyucu özelliği göz önünde bulundurulduğunda, LDL'nin oksidasyonunun esas olarak, prooksidan faktörlerin hücrelerin yanındaki mikrodomanlerde yoğun olarak bulunduğu vasküler duvarda gerçekleştiği kabul edilmiştir.

Barakat ve arkadaşları şişmanlıktan bağımsız olarak diabetin LDL boyutları üzerindeki etkisini ilk olarak göstermişlerdir. Glukoz toleransı normal olan 10 zayıf ve 14 şişman, glukoz toleransı bozulmuş 8 şişman ve 14 NIDDM'li hastayı çalışmalarına dahil etmişlerdir. Glukoz toleransı bozuk olan ve NIDDM'li hastalardaki trigliserid seviyeleri glukoz toleransı normal olanlardan daha yüksek bulunmuştur. Glukoz toleransı bozuk olan ve NIDDM'li hastalardaki LDL'nin molekül ağırlığı ve çapı, glukoz toleransı normal olanlardan belirgin olarak düşük olduğunu görmüşlerdir. LDL'nin molekül ağırlığı plazma trigliserid ($p<0,01$) ve plazma insülini ile ($p<0,01$) ilişkili iken HDL kolesterol ile bir ilişki saptanmamıştır. Plazma trigliserid seviyelerinin düzenlenmesinden sonra bile LDL molekül ağırlığının hala plazma insülin konsantrasyonları ile belirgin olarak ilişkili olduğu gösterilmiştir ($p< 0,05$). Bu analizler glukoz toleransı bozuk olan ve NIDDM'lu kadınları da kapsamaktadır. Sonuç olarak Barakat ve arkadaşları LDL boyutundaki değişikliklerin glukoz toleransı ve insülin direncindeki değişikliklerle ilişkili olduğunu ve LDL boyutlarındaki değişikliklerin kilo kaybından sonra glukoz, insülin ve trigliserid seviyelerindeki düzelme ile birlikte olduğunu ortaya koymuşlardır (39).

Kaiser, kadınların ikizleri çalışması NIDDM'li insanlardaki LDL'nin normal insanlardan daha küçük, daha yoğun olduğunu ve glukoz toleransı bozuk olanlarda ise ara değerlerde olduğunu göstermiştir.

Haffner ve arkadaşları diabet ve kardiyovasküler hastalıklarla ilgili "San Antonio Kalp Çalışması"nda 95 diabetli ve 371 nondiabetik hasta üzerinde NIDDM'in LDL boyutu ve alt grup modeli B üzerindeki etkilerini araştırmışlardır. LDL boyutu diabetiklerde nondiabetiklere göre belirgin olarak daha düşük bulunmuştur ($p=0,007$). Aynı çalışmada LDL boyutunun glukoz ve insülin seviyesiyle ters, HDL seviyeleriyle pozitif ilişkili olduğunu göstermişlerdir ($p<0,001$) (41).

Elde edilen veriler NIDDM'li hastalarda LDL'nin daha aterojenik özellikler taşıdığını düşündürmektedir. Diabetlilerde küçük, daha yoğun LDL, trigliserid seviyesindeki artış ve HDL kolesterol seviyesindeki düşüş ile kısmen ilişkilidir. San Antonio Kalp Çalışmasında, LDL boyutunun glukoz konsantrasyonları ile korelasyonunun kadınlarda erkeklerden daha fazla olduğu gösterilmiştir. Bu da diabetik kadınlardaki koroner kalp hastalığı riskinin diabetik erkeklerden daha yüksek olmasını kısmen açıklamaktadır.

Küçük, daha yoğun LDL, hiperinsülinemi ve insülin direnci ile de ilişkilidir. Bununla birlikte insülin konsantrasyonlarının LDL'ye etkisi dislipideminin LDL'ye etkisinden çok daha zayıftır. Spesifik insülin ve proinsülin antikorları kullanarak insülin direnci veya anormal insülin sekresyonu olan kişilerde LDL boyutu değiştirilebilir.

Selby ve arkadaşları küçük, daha yoğun LDL'si olan 594 nondiabetik kadında açlık insülin konsantrasyonlarının basamak basamak arttığını gösterdiler. Ayrıca açlık insülin konsantrasyonları, yaş, vücut kitle indeksi, sistolik kan basıncı, trigliserid ve HDL kolesterolden bağımsız olarak, LDL alt grup B ile belirgin olarak ilişkili idi. Sonuç olarak insülin rezistans sendromu ile ilişkili metabolik bozuklukların sayısına bağlı olarak LDL alt grup modeli B yüzdesindeki artış, hiçbir metabolik bozukluğu olmayan kadınlarda % 5,7 iken dört grup bozukluğu da olan kadınlarda % 100'e yükseldi (40). Bu sonuçlar San Antonio Kalp Çalışmasındaki nondiabetiklerde Haffner ve arkadaşları tarafından teyid edildi (41).

Finlandiya'da yapılan bir çalışmada küçük yoğun LDL partiküllerinin çoğunlukta olmasının NIDDM'in ortaya çıkışını hızlandırıp hızlandırmadığı araştırılmıştır. Daha önceki çalışmalarda NIDMM'in başlangıcından önce trigliserid seviyelerinin arttığı ve HDL kolesterol seviyelerinin azaldığı gösterilmiştir (93). 3,5 yıllık takip sonucunda trigliseridlerin NIDDM gelişiminde iki mislinden daha fazla etkili olduğu ve bu etkinin

bozulmuş glukoz toleransı ve vücut kitle indeksinden bağımsız olduğu gösterilmiştir. Sonuç olarak küçük yoğun LDL partiküllerinin fazla olmasının ve yüksek trigliserid seviyelerinin yaşlı kişilerin diabetin ortaya çıkışından önce görülen ve prediabetik dönemde aterojeniteye öncülük eden genel bir lipoprotein bozukluğunun göstergesi olduğunu söylemektedirler (94).

Li ve Metha'nın yakında yayınlanan bir makalesinde ateroskleroz patogenezinde endotelial disfonksiyonu üzerine etkili olduğu bilinen, hiperkolesterolemi, hipertansiyon, sigara kullanımı ve diabet gibi pek çok faktör yanında ox-LDL etkisini de vurgulamışlardır. Ox-LDL apoptozis inhibisyonu, platelet agregasyonu ve endotelial nitrik oksit sentaz inhibisyonu yoluyla aterosklerotik süreçte yer alır. 3-hidroksi-3-metilglutaril co enzim A (HMG-CoA) redüktaz inhibitörleri (statinler) gibi bir çok farmakolojik ajanın primer terapötik etkilerini endotelial stabilizasyon mekanizmasıyla yaptıkları gösterilmiştir. Bu makale ile ox-LDL'ye bağlı endotelial disfonksiyonu statinlerin koruyucu rollerine dikkat çekilmiştir (95).

Pek çok in vitro çalışma ile HDL'de bulunan serum paraoksonase 1 (PON1)'in LDL oksidasyonu ve ateroskleroza önlediği gösterilmiştir. Vasküler komplikasyonlar bozulmuş glukoz toleransı (IGT) gibi prediabetik durumlarda artış gösterdiği için diabet tanısı almış hastalarda mikro ve makroanjyopati gelişimi ile PON1 aktivitesi azalması arasındaki ilişki iyi bir şekilde dökümanite edilmiştir. Kopprasch ve arkadaşlarının 125 IGT, 75 yeni tip II diabet tanısı almış hasta ve 403 normal glukoz toleransı bulunan grupta serum PON1 aktivitesi ve sirküle eden ox-LDL düzeyinin ölçülmesi esasına dayanan çalışmalarında, PON1 aktivitesinde IGT ve diabetik hasta grubunda normoglisemik gruba göre anlamlı fark saptamamışlardır. IGT ve diabetik hastalardan oluşan her iki grupta da dolaşımda önemli derecede artmış ox-LDL olduğu saptanmıştır. Kopprasch ve arkadaşları sonuç olarak diabetes mellitus varlığında PON1 aktivitesinde azalma olduğunu ve PON1'in erken diabetik dönemde dolaşımdaki LDL oksidasyonuna etkisi olmadığını vurgulamışlardır (96).

Virella ve arkadaşlarının insan ve tavşan LDL antikorları ile oluşturulan immun komplekslerin, insan ox-LDL ve insan ox-LDL antikorları ile oluşturulan immun komplekslerle benzer aterojenik ve proinflamatuvar özelliklere sahip olduğunu göstermişler ve bu çalışma ile dolaşımda ve/veya dokuda modifiye LDL-immun kompleks varlığının ateroskleroz gelişiminde önemli patojenik rolü olduğu görüşünü güçlü bir şekilde desteklemişlerdir (97).

Atchley ve arkadaşlarının ox-LDL ve ox-LDL immün komplekslerinin diabetik nefropati gelişimi üzerine olan etkisini araştırmışlardır ve ox-LDL immün komplekslerinin makro ve mikroalbuminüri bulunan tip I diabetik hastalarda normoalbuminürik gruba göre yüksek olarak saptamışlardır (98). Bugün için mikroalbuminürinin koroner arter hastalığı ve glomeruloskleroz varlığında ve ateroskleroz için yaygın patojenik rol üstlendiği bilinmektedir.

Yine Ujihara ve arkadaşlarının plazma ox-LDL düzeyi ile diabetik nefropati gelişimi arasındaki ilişkiyi araştırdıkları yeni bir çalışmada 70 tip II diabetik hasta incelenmiştir. ELISA yöntemi ile değerlendirilen plazma ox-LDL seviyesi, normoalbuminürik, mikroalbuminürik hastalar ve kontrol grubunda benzer düzeylerde saptanmışken makroalbuminürik hasta grubunda diğer gruplara göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur ($P<0.05$). Hemogloblin A1c (HbA1c) düzeyi ise normoalbuminürik, mikroalbuminürik ve makroalbuminürik gruplarda benzer düzeylerde saptanmış olup plazma ox-LDL düzeyi ile HbA1c seviyesi arasında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır. Sonuç olarak plazma ox-LDL düzeyindeki artışın makroalbuminürik diabetik hastalarda diabetik nefropati sürecinde önemli bir rolü olabileceği kanaatine varılmıştır (99).

Chai ve arkadaşlarının vasküler endotel hücrelerde oluşan apoptozise glukoz, insülin ve ox-LDL etkisini araştırmak üzere yaptıkları çalışmalarında sığır aortik endotel hücre kültürleri kullanmışlardır. Yüksek konsantrasyonlarda kullanılan glukoz, insülin ve ox-LDL endotel hücrelerde zaman bağımlı ve sinerjik etkili apoptozis olduğu izlenmiştir. İnsülinin düşük konsantrasyonlarında ise apoptozda azalma görülmüştür fakat benzer etkiler ox-LDL ile izlenmemiştir. Sonuç olarak yüksek miktarda glukoz, insülin ve ox-LDL endotel hücre kültüründe apoptozisi indükleyebildiği ve düşük dozlarda insülin apoptozu indükleyebildiği görüşü hakim olmuştur. Hiperglisemi, hiperinsülinemi ve hiperlipidemi endotel hücre apoptozisini sinerjik veya direkt olarak etkileyebilmekte ve belkide bu durumlardan biri dahi endotel bütünlükte azalma, vasküler endotel disfonksiyonu ve plazma membran geçirgenliğinde artışa yol açarak diabetik makrovasküler komplikasyonların gelişiminde yer alabileceği sonucuna varmışlardır (100).

Kopprasch ve arkadaşlarının 376 normal glukoz toleransı, 113 IGT ve 54 yeni tanı almış tip II diabetik hastada ox-LDL seviyesinin ölçülmesiyle gerçekleştirmiş oldukları çalışmalarında ox-LDL ile serum LDL kolesterol ve trigliserid seviyesi arasında güçlü bir korelasyon saptamışlar ve bozulmuş glukoz toleransı varlığında LDL oksidasyonu artışının dislipidemi ile ilişkisini ortaya koymaya çalışmışlardır. Sonuç olarak prediabetik

durumdaki dislipideminin ox-LDL artışı ile artmış aterojenik potansiyelinden söz etmişlerdir (101).

Türk ve arkadaşları da mikro ve makrovasküler hastalık öyküsü bulunan tip II diabetik hastalar üzerinde LDL oksidasyonunu araştırmışlardır. 69 koroner arter hastalığı bulunan diabetik hasta (CAD+DM), 78 koroner arter hastalığı bulunan nondiabetik, 47 sağlıklı kontrol grubu ve 27 nefropati gelişimi bulunan diabetik ve 36 komplikasyonsuz diabetik hastayı incelemişlerdir. ELISA yöntemi ile ox-LDL antikorları, AGE ve PEG çöktürülmesi sonrası apo B içeren LDL-IC ölçümü yapılmıştır. Sonuç olarak tüm çalışma gruplarında ox-LDL aktivitesi açısından anlamlı bir fark gösterilememiş olup ox-LDL'nin apo B içeren antijenik kısmı, ox-LDL-ICs, kontrol grubuna göre CAD+DM grubunda anlamlı olarak yüksek bulunmuştur ($p < 0.001$). LDL-ICs düzeyi ise CAD+DM ve nondiabetik koroner arter hastalığı bulunan grupta farklı bulunmamıştır, fakat mikroanjiyopatisi olan ve/veya olmayan diabetik hastalarda sağlıklı gönüllülere göre anlamlı olarak yüksek saptanmıştır ($p < 0.002$). Yine dolaşan LDL-ICs düzeyi nefropati/retinopatisi olan diabetik hasta grubunda mikrovasküler komplikasyonu olmayan diabetik hasta grubuna göre anlamlı farklı olarak saptanmamıştır. Sonuç olarak diabetiklerde dolaşan LDL-ICs seviyesinde artış olduğu gözlenmiştir ve LDL-ICs artışının ateroskleroz gelişimindeki etkisi belki de ox-LDL antikorlarındaki artışın ateroskleroza olan katkısından daha önemli olabilir (102).

Ehara ve arkadaşlarının ox-LDL'nin koroner arter hastalığında instabil plak oluşumundaki görevini araştırmaya yönelik bir diğer çalışmalarında plazma ox-LDL düzeyi, 70 AMI, 70 unstable angina pectoris (UAP), 70 stable angina pectoris (SAP) bulunan toplam 210 hastada ve 55 sağlıklı gönüllüde ölçülmüştür. Plazma ox-LDL düzeyi AMI bulunan hastalarda UAP ($P < .0001$), SAP ($P < .0001$) hasta ve kontrol grubuna ($P < .0001$) göre anlamlı olarak yüksek olarak bulunmuştur. Diabetik UAP grubunda nondiabetik UAP grubuna göre plazma ox-LDL düzeyi anlamlı olarak yüksek saptanmıştır ($P < .005$). Otopsi ile AMI nedeniyle öldüğü gösterilen hastalarda immunohistokimyasal olarak plazma ox-LDL düzeyi ölçülmüş ve koroner lezyonlardaki köpük hücrelerinde CD 36 ve ox-LDL reseptör pozitifliğini göstermişlerdir (103). Sonuç olarak koroner aterosklerotik lezyonlarda instabil plak gelişiminde ox-LDL'nin önemini vurgulamaya ve diabet ile ilişkisini ortaya koymaya çalışmışlardır.

Yine Ehara ve arkadaşlarının; 45 akut myokard infarktüsü (AMI) tanılı, 45 unstable angina pectoris (UAP) ve 45 stable angina pectoris (SAP) olmak üzere toplam 135 hasta ve 46 kontrol üzerinde yapmış olduğu çalışmada sandwich ELISA metodu ile ox-LDL

düzeyleri ölçülmüştür. Ek olarak 10 SAP ve 23 UAP'li hastadaki lezyonlara aterektomi uygulayarak immunohistokimyasal olarak ox-LDL çalışmışlardır. AMI grubunda ox-LDL düzeyini; UAP ($p<0,0005$), SAP ($p<0,0001$) ve kontrol ($p<0,0001$) grubuna göre önemli derecede yüksek olarak saptamışlardır. Yine aynı hasta gruplarında serum HDL, LDL ve total kolesterol düzeylerinde farklılık saptamamışlardır. Aterektomi lezyonlarında yapılan inceleme ile ox-LDL yüklü makrofajların UAP'li hasta grubunda SAP'li hasta grubuna göre daha fazla olduğunu göstermişlerdir ($p<0,001$). Sonuç olarak ox-LDL düzeyinin ciddi akut koroner sendrom ile pozitif korelasyon gösterdiğini ve ciddi lezyonların önemli derecede yüksek oranda ox-LDL yüklü makrofajlar içerdiğini ve ox-LDL artışının koroner aterosklerotik lezyonlardaki plak instabilitesi ile ilişkili olduğunu ortaya koymuşlardır (104).

Dotevall ve arkadaşlarının 35-65 yaş arası 18 diabetik, 46 nondiabetik AMI nedeniyle hospitalize edilmiş kadın hasta, 35 AMI öyküsü bulunmayan diabetik kadın ve 70 sağlıklı kadın kontrol ile yapmış oldukları çalışmada, solid faz ELISA tekniği ile ox-LDL'ye karşı IgM ve IgG antikor titresini değerlendirmişlerdir. AMI öyküsü bulunmayan diabetik kadınlarda sağlıklı kontrol grubuna göre, diabetik ve nondiabetik AMI'lı kadınlar ile benzer sonuçlar elde etmişlerdir. Sağlıklı kadın grubunda diabetik ve/veya AMI kadın gruplarına göre diğer risk faktörlerinden bağımsız olarak yüksek IgG ($p<0,05$) ve düşük IgM ($p<0,05$) antikorları saptamışlardır. Sonuç olarak modifiye olmuş LDL'ye karşı farklılaşmış immun cevabın, diabetik kadınlarda agresiv aterosklerotik süreç ve belirgin inflamasyon bulguları olduğu kanısına varmışlardır (105).

Son yirmi yıllık süreçte oksidatif stres ve LDL oksidasyonunun önemi gerek eksperimental, gerekse klinik ve immunohistokimyasal olarak yapılan pekçok çalışma ile vurgulanmıştır. Koroner arter hastalığı gelişiminde major risk faktörleri bu süreçte her zaman için ilk sıralardaki yerlerini korumuşlardır. Metabolizma üzerinde getirdiği ağır metabolik yük ve oksidatif süreç ile diabet daha bilinmeyen pekçok mekanizma ile araştırmacıların ilgisini çekmeye ve merkezi konumunu korumaya devam edeceğe benzemektedir.

REFERANSLAR

1. Amos AF, McCarty DJ, Zimmet P. *The rising global burden of diabetes and its complications: estimates and projections to the year 2010. Diabet Med* 1997; 14 (Suppl. 5):S1-S85.
2. Grundy SM, Benjamin EJ, Burke GL et al. *Diabetes and cardiovascular disease: a statement for health professionals from the American Heart Association. Circulation* 1999; 100: 1134-46.
3. Krolewski AS, Kosinski EJ, Warram JH et al. *Magnitude and determinants of coronary artery disease in juvenile-onset, insulin dependent diabetes mellitus. Am J Cardiol* 1987; 59:750-5.
4. Hammoud T, Tanguay JF, Bourassa MG. *Management of coronary artery disease: therapeutic options in patients with diabetes. J Am Coll Cardiol* 2000; 36: 355-65.
5. Kilhovd BK, Julsrud Berg T et al. *Serum levels of advanced glycation end products are increased in patients with type 2 diabetes and coronary heart disease. Diabetes Care* 1999; 22: 1543-8.
6. Witztum J, Steinberg D. *Role of oxidized low density lipoprotein in atherogenesis. J Clin Invest* 1991; 88: 1785-1792.
7. Jarrett RJ, Shipley MJ: *Type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus and cardiovascular disease-potative association via common antecedents; further evidence from the Whitehall Study. Diabetologia* 1988; 31: 737-740.
8. Krolewski S, Kosinski EJ, Warram JH, et al. *Magnitude and determinants of coronary heart artery disease in juvenile onset, insulin dependent diabetes mellitus. Am J Cardiol* 1987; 59: 750-755.
9. Daae LN, et al. *Cardiovascular risk factors; interactive effects of lipids, coagulation and fibrinolysis. Scand J Clin Lab Invest* 1993; 215: 19-27.
10. Santiago VJ. *Overview of the complications of diabetes. Clin Chemistry* 1986; vol 32. 10 (B): 48-52.
11. Umeda F, Inoguchi T, Nawata H. *Reduced stimulation activity on prostacyclin production by cultured endothelial cells in serum from aged and diabetic patient. Atherosclerosis* 1989; 75: 61-66.
12. Ishii H, Umeda F, Nawata H. *Platelet function in diabetes. Diabetes Metab Rev* 1992; 8: 53-66.
13. Ostermann H, Van de Loo J. *Factors of the haemostatic system in diabetic patients: a survey of controlled studies. Haemostasis* 1986; 16: 386-416.
14. Momboli JV, Vanhoutte PM. *Endothelial dysfunction: from physiology to therapy. J Mol Cell Cardiol* 1999; 31: 61-74.
15. Steinberg HO, Chacker H, Leaming R et al. *Obesity/insulin resistance is associated with endothelialdysfunction. Implications for the syndrome of insulin resistance. J Clin Invest* 1996; 97: 2601-10.
16. Small M, Kluft C, MacCuish AC, Lowe GDO. *Tissue plasminogen activator inhibition in diabetes mellitus. Diabetes Care* 1989; 12: 655-658.
17. Guigliano D, Ceriello A, Paolisso G. *Oxidative stress and diabetic vascular complications. Diabetes Care* 1996; 19: 257-67.
18. Gingberg M, Grundny SM. *Very low density lipoprotein metabolism in nonketotik diabetes mellitus. Diabetologia* 1992; 23: 421-425.

19. Gonen B, Baenziger I, Schonfeld G. Nonenzymatic glycolisation of very low density lipoprotein alerts it's biologic activity. *Diabetes* 1982; 31: 283-291.
20. Khoo JC, Miller E, Mc Loughlin P, et al. Enhanced macrophage uptake of low desity lipoprotein after self agregation. *Arteriosclerosis* 1988; 8: 348-358.
21. Bronw Ms, Goldstein JL. Lipoprotein metabolism in the macrophage: implications for cholesterol deposition in atherosclerosis. *Annu Rev Biochem* 1983; 52: 223-261.
22. Majesky MW, Schwartz SM. Smooth muscle cell diversity in wound repair. *Toxicol Pathol* 1990; 18: 554-559.
23. Rothblat GH, Phillips MC. Cholesterol efflux from arterial wall cells. *Curr Opin Lipids* 1991; 2: 288-294.
24. Palinski W, Rosenfeld ME, et al. Low density lipoprotein undergoes oxidative modification in vivo. *Proc Natl Sci USA* 1989; 86: 1372-1376.
25. Stamler J, Vacaro O, Neaton JD, et al. Diabetes, other risk factors and 12 year cardiovascular mortality for men screened in the Multipl Risk Factor Intervention Trial. *Diabetes Care* 1993; 16: 434-444.
26. Burchfiel CM, Reed DM, Marcus EB, et al. Association of diabetes mellitus with coronary atherosclerosis and myocardial lesions: An autopsy study from the Honolulu Heart Program. *Am J Epidemiol* 1993; 137: 1328-1340.
27. Herlitz J, Malmberg K, Karlson BW, et al. Mortality and morbidity during a five-year follow-up of diabetics with myocardial infarction. *Acta Med Scand* 1988; 224: 31-38.
28. Lawrie GM, Morris GC, Glaeser DH. Influence of diabetes mellitus of coronary bypass surgery. *JAMA* 1986; 256: 2967-2971.
29. The Diabetes Control and Complications Trial Research Group. The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin -dependent diabetes mellitus. *N Engl J Med* 1993; 329: 977-986.
30. The Diabetes Control and Complications Trial Research Group. Effect of intensive diabetes management on macrovascular events and risk factors in the Diabetes Control and Complications Trial. *Am J Cardiol* 1995; 75: 894-903.
31. University Group Diabetes Program. A study of the effects of hypoglycemic agents on vascular complications in patients with adult onset diabetes. *Diabetes* 1976; 25: 1129-53.
32. University Group Diabetes Program. Effects of hypoglycemic agents on vascular complications in patients with adult onset diabetes, VIII: evaluation of insulin therapy: final report. *Diabetes* 1982; 31 (suppl 5): 1-78.
33. Abraria C, Colwell J, Nutall F, et al. Cardiovascular events and correlates in the Veterans Affairs Diabetes Feasibility Trial. *Arch Intern Med* 1997; 157: 181-88.
34. Malmberg K, Ryden L, Efendic S, et al. Randomized trial of insulin-glucose infusion followed by subcutaneous insulin treatment in diabetic patients with acute myocardial infarction (DIGAMI Study): effects on mortality at 1 year. *J Am Coll Cardiol* 1995; 26: 57-65.

35. UK Prospective Study (UKPDS) Therapies of Maturity-Onset Diabetes: Effect of diet, sulfonylurea, insulin or biguanide therapy on fasting plasma glucose and body weight over one year. *Diabetologia* 1983; 24: 404-411.
36. Cruz AB, Amatuzio DS, Grande F, et al. Effect of intraarterial insulin on tissue cholesterol and fatty acids in alloxan-diabetic dogs. *Circ Res* 1961; 9: 39-43.
37. Stout RW: Insulin and atheroma. *Diabetes Care* 1990; 13: 631-634.
38. Reaven GM. Banting Lecture 1988: Role of insulin resistance in human disease. *Diabetes* 1988; 37: 1595-1607.
39. Barakat HA, Carpenter JW, McLendon VD, et al. Influence of obesity impaired glucose tolerance and NIDDM on LDL structure and composition. Possible link between hyperinsulinemia and atherosclerosis. *Diabetes* 1990; 39: 1527-1533.
40. Selby JV, Austin MA, Newman B, et al. LDL subclass phenotypes and the insulin resistance syndrome in women. *Circulation* 1993; 88: 381-387.
41. Haffner SM, et al. LDL size and the insulin resistance syndrome. *Circulation* 1993; 88 (suppl 1):1364.
42. Temple RC, Luzio SD, et al. Insulin deficiency in non insulin dependent diabetes mellitus. *Lancet* 1989; 1: 293-295.
43. Davies M, Rayman G, Gray IP, et al. Insulin deficiency and increased plasma concentrations of intact and 32/33 split proinsulin in subjects with impaired glucose tolerance. *Diabet Med* 1993; 10: 313-320.
44. Temple RC, Clark P, Schneider A, et al. Radioimmunoassay may overestimate insulin in non insulin dependent diabetes. *Clin Endocrinol* 1990; 32: 689-693.
45. Reaven GM, Chen YDI, Hollenbeck Cb, et al. Plasma insulin, C-peptide and proinsulin concentrations in obese and non-obese individuals with varying degrees of glucose tolerance. *J Clin Endocrinol Metab* 1993; 76: 44-48.
46. Yoshoka N, Kuzuya T, Matsuda A, et al. Serum proinsulin levels at fasting and after oral glucose load in patients with type II diabetes mellitus. *Diabetologia* 1988; 31: 355-360.
47. Saad MT, Kahn SE, Nelson RG, et al. Disproportionately elevated proinsulin in Pima Indians with non-insulin dependent diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab* 1990; 70: 1247-1253.
48. Haffner SM, Mykksnen L, Stern MP, et al. Relationship of proinsulin and insulin to cardiovascular risk factors in non-diabetic subjects. *Diabetes* 1993; 42: 1297-1302.
49. Bowsher RR, Wolny JD, Frank BH. A rapid and sensitive radioimmunoassay for the measurement of proinsulin in human serum. *Diabetes* 1992; 41: 1084-1090.
50. Reaven GM, Chen YDI, Jeppesen J, et al. Insulin resistance and hyperinsulinemia in individuals with small dense low density lipoprotein particles. *J Clin Invest* 1993; 92: 141-146.
51. Fallo JM, Pan JH, Simpson RN, et al. Lipoprotein analyses in varying degrees of glucose intolerance. *Am J Med* 1987; 83: 641-647.

52. Laakso M, Barret-Connor E. Asymptomatic hyperglycemia is associated with lipid and lipoprotein changes favoring atherosclerosis. *Arteriosclerosis* 1993; 9: 665-672.
53. Krauss RM, Burke DJ. Identification of multiple subclasses of plasma low density lipoproteins in normal humans. *J Lipid Res* 1982; 23: 97-104.
54. Austin MA, Brunzell JD, Fitch WL, et al. Inheritance of low density lipoprotein subclass patterns in familial combined hyperlipidemia. *Arteriosclerosis* 1990; 10: 520-530.
55. Austin MA, Breslow H, Hennekens CH, et al. Low density lipoprotein subclass patterns and risk factor of myocardial infarction. *JAMA* 1998; 260: 1917-1921.
56. Crouse JR, Parkes JS, Schey HM, et al. Studies of low density lipoprotein molecular weight in human beings with coronary artery disease. *J Lipid Res* 1986; 26: 566-574.
57. Feingold KR, Grunfeld C, Pang M, et al. LDL subclass phenotypes and triglyceride metabolism in NIDDM. *Arterioscler Thromb* 1992; 12: 1496-1502.
58. Hamilton TA, Ma G, Chisolm GM. Oxidized low density lipoprotein suppresses the expression of tumor necrosis factor mRNA in stimulated murine peritoneal macrophages. *J Immunol* 1990; 144: 2343-50.
59. Salonen JT, Yamamoto R, et al. Autoantibodies against oxidized low density lipoprotein and progression of carotid atherosclerosis. *Lancet* 1992; 339: 883-887.
60. Sato Y, Hona N, Sakamoto N, et al. Lipid peroxide level in plasma of diabetic patients. *Biochem Med* 1979; 21: 104-107.
61. Haffner SM, Agil A, et al. Plasma oxidizability in subjects with normal glucose tolerance, impaired glucose tolerance and non-insulin dependent diabetes mellitus. *Diabetes Care* 1995; 18 (5): 646-53.
62. De Graaf J, Hak Lemmers IM, Hectors MPC, et al. Enhanced susceptibility to in vitro oxidation of the dense low density lipoprotein subfraction in healthy subjects. *Arterioscler Thoromb* 1991; 11: 298-306.
63. Mancardi V, Carnellini L, Bellodi G, et al. Evidence for an association of high blood pressure and hyperinsulinemia in obese men. *J Clin Endocrinol Metab* 1986; 62: 1302-1304.
64. Ferrannini E, Buzzigoli G, Bonadonna R, et al. Insulin resistance in essential hypertension. *N Engl J Med* 1987; 317: 350-357.
65. Pyörälä K, Laakso M, Uusitupa M. Diabetes and arteriosclerosis: An epidemiologic view. *Diabetes Metab Rev* 1987; 3: 463-524.
66. Steinberg D, Parthasarathy S, Carew TE, et al. Beyond cholesterol modifications of low density lipoprotein that increase its atherogenicity. *N Engl J Med* 1989; 320: 915-924.
67. Lin SJ, Jan KM, et al. Transendothelial transport of low density lipoprotein in association with cell mitosis in rat aorta. *Arteriosclerosis* 1989; 9: 230-236.
68. Schwenke DC, Carew TH. Initiation of atherosclerotic lesions cholesterol-fed rabbits. Focal increases in arterial LDL concentration precede development of fatty streak lesions. *Arteriosclerosis* 1989; 9: 895-907.

69. Goldstein JL, Ho YK, Basu SK, et al. Binding site on macrophages that mediates uptake and degradation of acetylated low density lipoprotein producing massive cholesterol deposition. *Proc Natl Acad Sci USA* 1979; 76: 333-337.
70. Mahley RW, Inncrarity TL, Weisgraber KH, et al. Altered metabolism (in vivo and invitro) of plasma protein after selective chemical modification of lysine residues of the apoproteins. *J Clin Invest* 1979; 64: 743-750.
71. Henriksen T, Mahoney EM, Steinberg D. Enhanced macrophage degradation of low density lipoprotein previously incubated with cultured endothelial cells: Recognition by the receptor for acetylated low density lipoproteins. *Proc Natl Acad Sci USA* 1981; 78: 6499-6503.
72. Yla-Herttuala S, Palinski W, Rosenfeld ME, et al. Evidence for the presence of oxidatively modified low density lipoprotein in atherosclerotic lesions of rabbit and man. *J Clin Invest* 1989; 84:1086-1095.
73. Steinberg D, Parthasarathy S, Carew TE, et al. Beyond cholesterol. Modifications of low density lipoprotein that increase its atherogenicity. *N Engl J Med* 1989; 320: 915-924.
74. Sparrow CP, Parthasarathy S, Steinberg D. Enzymatic modification of low density lipoprotein by purified lipoxygenase plus phospholipase A2 mimics cell-mediated oxidative modification. *J Lipid Res* 1988; 29: 745-753.
75. Steinbrecher UP, Witztum JL, Parthasarathy S, et al. Decrease in reactive amino groups during oxidation or endothelial cell modification of LDL. Correlation with changes in receptor-mediated catabolism. *Arteriosclerosis* 1987; 7: 135-143.
76. Parthasarathy S, Khoo JC, Miller E, et al. Low density lipoprotein rich in oleic acid is protected against oxidative modification: Implications for dietary prevention of atherosclerosis. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990; 87: 3894-3898.
77. Esterbauer H, Puhl H, Dieber-Rotheneder M, et al. Effect of antioxidants on oxidative modification of LDL. *Ann Med* 1991; 23: 573-581.
78. de Graaf J, Hak-Lemmers HL, Hectors MP, et al. Enhanced susceptibility to in vitro oxidation of the dense low density lipoprotein subfraction in healthy subjects. *Arterioscler Thromb* 1991; 11: 298-306.
79. Parthasarathy S, Barnett J, Fong LG. High density lipoprotein inhibits the oxidative modification of low density lipoprotein. *Biochim Biophys Acta* 1990; 1044: 275-283.
80. Steinerova A, Racek J, Stozicky F, et al. Antibodies against oxidized-LDL; theory and clinical use. *Physiol Res* 2001; 50 (2): 131-41.
81. Berlier JA, Territo MC, Sevanian A, et al. Minimally modified low density lipoprotein stimulates monocyte endothelial interactions. *J Clin Invest* 1990; 85: 1260-1266.
82. Kugiyama K, Kerns SA, Morisett JD, et al. Impairment of endothellum dependent arterial relaxation by lysolecithin in modified low density lipoproteins. *Nature* 1990; 344: 160-162.

83. Palinski W, Miller E, Witztum JL. Immunization of LDL receptor deficient rabbits with homologous malondialdehyde-modified LDL reduces atherogenesis. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995.
84. Witztum JL. The oxidation hypothesis of atherosclerosis. *Lancet* 1994; 344:793-795.
85. Hanson UK, Holm J, Holm S, et al. T lymphocytes inhibit the vascular response to injury. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991; 88: 10530-10534.
86. Palioski W, Rosenfeld ME, et al. Low density lipoprotein undergoes oxidative modification in vivo. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989; 86: 1372-1376.
87. Palioski W, Rosenfeld ME, et al. Distribution of oxidation specific lipid-protein adducts and apolipoprotein B in Palioski W, Rosenfeld ME, et al atherosclerotic lesions of varying severity from WHHL rabbits. *Atherosclerosis* 1990; 10: 336-349.
88. Boyd HC, Gown AM, Wolfbauer G, et al. Direct evidence for a protein recognized by a monoclonal antibody against oxidatively modified LDL in atherosclerotic lesions from a WHHL rabbit. *Am J Pathol* 1989; 135: 825-826.
89. Esterbauer H, Dieber M, et al. Role of vitamin E in preventing the oxidation of low density lipoprotein. *Am J Clin Sci* 1991; 53: 344-423.
90. Upritchard JE, Sutherland WH, Mann JI. Effect of supplementation with tomato juice, vitamin E, and vitamin C on LDL oxidation and products of inflammatory activity in type 2 diabetes. *Diabetes Care*. 2000 Jun; 23(6): 733-8.
91. Hsu RM, Devaraj S, Jialal I. Autoantibodies to oxidized low-density lipoprotein in patients with type 2 diabetes mellitus. *Clin Chim Acta*. 2002 Mar; 317(1-2): 145-50.
92. Devaraj S, Jialal I. Low-density lipoprotein postsecretory modification, monocyte function, and circulating adhesion molecules in type 2 diabetic patients with and without macrovascular complications: the effect of alpha-tocopherol supplementation. *Circulation*. 2000 Jul 11; 102(2): 191-6.
93. Haffner SM, Valdez RA, Hazuda HP, et al. Prospective analysis of the Insulin Resistance Syndrome (Syndrome X). *Diabetes* 1992; 41: 715-722.
94. Austin MA, Mykkanen L, Kuusio J, et al. Small dense low density lipoprotein (LDL) and elevated triglyceride (TG) prospectively predict NIDDM in the elderly. *Circulation* 1994; 90: 1460.
95. Li D, Mehta JL. 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase inhibitors protect against oxidized low-density lipoprotein-induced endothelial dysfunction. *Endothelium* 2003;10(1):17-21.
96. Kopprasch S, Pietzsch J, Kuhlisch E, Graessler J. Lack of association between serum paraoxonase 1 activities and increased oxidized low-density lipoprotein levels in impaired glucose tolerance and newly diagnosed diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab* 2003 Apr;88(4):1711-6.
97. Virella G, Atchley D, Koskinen S, Zheng D, Lopes-Virella MF; DCCT/EDIC Research Group. Proatherogenic and proinflammatory properties of immune complexes prepared with purified human oxLDL antibodies and human oxLDL. *Clin Immunol*. 2002 Oct;105(1):81-92.
98. Atchley DH, Lopes-Virella MF, Zheng D, et al. Oxidized LDL-anti-oxidized LDL immune complexes and diabetic nephropathy. *Diabetologia*. 2002 Nov;45(11):1562-71. Epub 2002 Oct 12.

99. Ujihara N, Sakka Y, Takeda M, et al. Association between plasma oxidized low-density lipoprotein and diabetic nephropathy. *Diabetes Res Clin Pract.* 2002 Nov;58(2):109-14.
100. Chai W, Chen J, Wang H, et al. The effects of glucose, insulin and oxidized low density lipoprotein on apoptosis in vascular endothelial cells. *Chin Med J (Engl).* 2000 Oct;113(10):903-6.
101. Kopprasch S, Pietzsch J, Kuhlisch E, et al. In vivo evidence for increased oxidation of circulating LDL in impaired glucose tolerance. *Diabetes.* 2002 Oct;51(10):3102-6.
102. Turk Z, Sesto M, Skodlar J, et al. Soluble LDL-immune complexes in type 2 diabetes and vascular disease. *Horm Metab Res.* 2002 Apr;34(4):196-201.
103. Ehara S, Ueda M, Naruko T, et al. Pathophysiological role of oxidized low-density lipoprotein in plaque instability in coronary artery diseases. *J Diabetes Complications.* 2002 Jan-Feb; 16 (1): 60-4.
104. Ehara S, Ueda M, Naruko T, et al. Elevated levels of oxidized low density lipoprotein show a positive relationship with the severity of acute coronary syndromes. *Circulation* 2001 Apr 17; 103 (15): 1955-60.
105. Dotevall A, Hulthe J, Rosengren A, et al. Autoantibodies against oxidized low-density lipoprotein and C-reactive protein are associated with diabetes and myocardial infarction in women. *Clin Sci (Lond)* 2001 Nov; 101 (5): 523-31.