

**T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**TİP 2 DİYABETES MELLİTUS TANILI
HASTALARDA HDL (YÜKSEK MOLEKÜL
AĞIRLIKLİ LİPOPROTEİN) AKTİVİTESİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

TIPTA UZMANLIK TEZİ

DR. SİNEM BURCU KOCAER

**TEZ DANIŞMANI
PROF. DR. FIRAT BAYRAKTAR**

İZMİR-2014

T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**TİP 2 DİYABETES MELLİTUS TANILI
HASTALARDA HDL (YÜKSEK MOLEKÜL
AĞIRLIKLİ LİPOPROTEİN) AKTİVİTESİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

TIPTA UZMANLIK TEZİ

DR. SİNEM BURCU KOCAER

TEZ DANIŞMANI
PROF. DR. FIRAT BAYRAKTAR

İZMİR-2014

Bu araştırma DEÜ Araştırma Fon Saymanlığı Tarafından 2013.KB.SAG.003 sayı ile desteklenmiştir.

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitim ve öğrenimim süresince her konuda bilgi ve deneyimlerini esirgemeyen ve tez hazırlama sürecinde çalışmanın planlanması, uygulanması ve sonuçlandırılmasında sonsuz destek veren tez danışman hocam Prof.Dr. Fırat Bayraktar'a;

Tezimin her aşamasında yardımlarını esirgemeyen, tüm özverisi ile tıbbi çalışmaların yapılışı ve yönetilişi bakımından ufkumu açan, mesleki bilgi ve tecrübesiyle bana her zaman yol gösteren Uzm. Dr. Mehmet Çalan'a,

İç Hastalıkları ihtisasım sırasında eğitimime ve kişisel gelişimime katkılarından dolayı tüm İç Hastalıkları Anabilim Dalı Üyeleri ve Anabilim Dalı Başkanı Prof.Dr. Fatoş Önen'e,

Tezime katkılarından dolayı Biyokimya Anabilim Dalı öğretim üyelerinden Doç.Dr. Ali Rıza Şişman'a

Başlangıçtan bu yana tez hastalarımın büyük bir bölümünün toplanmasında büyük fedakârlık gösteren ve de hiçbir zaman manevi desteklerini esirgemeyen yol arkadaşlarım Dr. Mehmet Ası Oktan ve Dr. Ali Şenkaya 'ya;

Üniversite hayatım ve asistanlığım süresince her zaman yanımda olan, varlıklarıyla hayatıma anlam katan dostlarım Dr. Saadet Koç Okudur ve Dr. Semiha Havay'a,

Desteğini hep hissettiğim, güler yüzü ve sonsuz yardımları için Gastroenteroloji Bilim Dalı sekreteri Mustafa Yarıcı'ya,

Değerli tüm asistan doktor arkadaşlarıma, hemşire, sekreter ve yardımcı sağlık personeline,

Son olarak hayatımın her aşamasında sonsuz destek ve sevgileriyle her zaman yanımda olan ve sabırları hiç tükenmeyen annem Ayşe Kocaer, babam Hasan Kocaer ve sevgili kardeşim Burak Kocaer' e ;

sonsuz teşekkür ediyorum.

Saygılarımla

Dr. Sinem Burcu Kocaer

DEÜTF İç Hastalıkları

İZMİR

İÇİNDEKİLER

Sayfa

İÇİNDEKİLER	I
ŞEKİL LİSTESİ	IV
TABLO LİSTESİ	V
KISALTMALAR	VI
ÖZET	IX
SUMMARY	XI
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. TİP 2 DİABETES MELLİTUS	4
2.1.1. Tanım ve Sınıflama	4
2.1.2. Epidemiyoloji	4
2.1.3.Tanı Kriterleri	5
2.1.4. Patofizyoloji	6
2.1.5. Komplikasyonlar	7
2.1.6. DM ve Endotel disfonksiyonu	8
2.1.7. Diyabet ve Koroner Arter Hastalığı İlişkisi	8

2.2. PLAZMA LİPOPROTEİNLERİ	9
2.2.1 HDL kolesterol	10
2.3. ATEROSKLEROZ	11
2.3.1. Ateroskleroz Gelişimi	11
2.3.2. Dislipidemi	12
2.3.3. Diyabetik Dislipidemi	13
2.3.4. Lipit Profili ve Koroner Arter Hastalığı İlişkisi	14
2.4. PARAOKSONAZ-1	15
2.4.1.Tarihçe	15
2.4.2. Enzim ve Yapısı	16
2.4.3. PON-1 ve Etkileri	19
2.4.4. PON-1 Polimorfizmi	20
2.4.5. PON-1 Düzeyini Etkileyen Faktörler	21
2.4.6. PON-1 Klinik Önemi	21
2.4.7.Tip 2 Diabetes Mellitus ve PON-1	22
2.4.8. Koroner Arter Hastalığı Gelişiminde PON-1	23
2.5. LESİTİN KOLESTEROL AÇIL TRANSFERAZ ENZİMİ	23
2.5.1. Enzim ve Yapısı	23
2.5.2. LCAT ve Kolesterol Geri Taşınımı	25
2.5.3. Koroner Arter Hastalığı ve LCAT	28
2.5.4. LCAT ve Ateroskleroz	28

2.5.5. LCAT ve Diyabet	29
2.6. HIGH SENSİTİF C-REAKTİF PROTEİN	30
3. ARAŞTIRMA YÖNTEMİ	33
3.1. Araştırma Grubu	33
3.2. Klinik Değerlendirme ve Örnek Toplanması	34
3.3. Laboratuvar Ölçümleri	34
3.4. İstatistiksel Analiz	36
4. BULGULAR	37
5. TARTIŞMA ve SONUÇ	45
6. KAYNAKLAR	47

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil-1: Lipoprotein metabolizması

Şekil-2: Paraoksonaz enziminin üç boyutlu yapısı

Şekil-3: Paraoksonaz enzim yapısı yapısı

Şekil-4 : HDL partikülü ve paraoksonaz enzimi

Şekil-5: LCAT enzim yapısı

Şekil-6: Kolesterol sentezinde endojen - eksojen yol ve kolesterol geri taşınımı

Şekil-7: Diyabetik ve kontrol grubunun PON aktivitelerini karşılaştırılması.

Şekil-8: Diyabetik ve kontrol grubunun LCAT aktivitelerinin karşılaştırılması

Şekil-9: Diyabetik hastalarda ve kontrol grubunda serum LCAT ve PON aktivitesinin boks grafisi ile gösterilmesi

TABLO LİSTESİ

Tablo-1: Diyabetes mellitus ve glukoz metabolizmasının diğer bozukluklarında tanı kriterleri

Tablo-2: Tip 2 DM'un Akut Komplikasyonları

Tablo-3: Tip 2 DM'un Kronik Komplikasyonları

Tablo-4: ADA tip 2 dm tanı kriterleri

Tablo-5: Diyabetik hastaların ve sağlıklı kontrol grubundaki bireylerin demografik ve laboratuvar özellikleri.

Tablo-6: Diyabetik hastalarda $HbA1c < 6.5$ ile $HbA1c \geq 6.5$ olan bireylerin karşılaştırılması

Tablo-7: Spearman korelasyon analizi

Tablo-8: Lineer regresyon analizi(LCAT)

Tablo-9: Lineer regresyon analizi (PON)

Tablo-10: Diyabetik hastalarda $HbA1c < 8$ ile $HbA1c \geq 8$ olan bireylerin karşılaştırılması

KISALTMALAR:

ABCA:	ATP Bağlayıcı Membran Transport Protein
ABD:	Amerika Birleşik Devletleri
ADA:	Amerikan Diyabet Cemiyeti
AGEs:	İleri Glikozillenmiş Son Ürün
AHA:	Amerikan Kalp Cemiyeti
AKŞ:	Açlık Kan Şekeri
ALT:	Alanin Amino Transferaz
APO:	Apolipoprotein
ATHERO:	Aterojenite İndeksi
BAG:	Bozulmuş Açlık Glukozu
BGT:	Bozulmuş Glukoz Toleransı
Ca:	Kalsiyum
CDC:	Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezi
CETP:	Kolesterol Ester Transferaz Proteini
CGRP:	Calcitonin Gene Related Peptid
DEÜTF:	Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakóltesi Hastanesi
DM:	Diabetes Mellitus
EASD:	Avrupa Diyabet Çalışma Birliği
GDM:	Gestasyonel Diyabetes Mellitus
GIP:	Gastrik İnhibitör Polipeptid
GLP:	Glukagon Like Peptide
HDL:	Yüksek Dansiteli (yoğunluklu) Lipoprotein (high density lipoprotein)
HPLC:	High-Performance Liquid Chromatography
Hs-CRP:	High Sensitif C-Reaktif Protein
IAPP:	Adacık Amiloid Polipeptid
ICAM:	Intercellular Adhesion Molecule

IDF:	Uluslararası Diyabet Federasyonu
IDL:	Orta Yoğunluklu (dansiteli) Lipoprotein
IL:	İnterlökin
KAH:	Koroner Arter Hastalığı
KREA:	Kreatinin
LCAT:	Lesitin Kolesterol Açıl Transferaz
LDL:	Düşük Dansiteli (yoğunluklu) Lipoprotein (low density lipoprotein)
LDL-R:	LDL Reseptörü
LysoPC:	Lizofosfatidilkoline
MCP:	Monositik Kemotaktik Protein
MI:	Miyokard İnfarktüsü
MODY:	Maturity Onset Diabetes of The Young
NCEP,ATP:	National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel (Ulusal Kolesterol Eğitim Programı Erişkin Tedavi Paneli)
ndHDL:	Diskoidal HDL
NEFA:	Esterleşmemiş Yağ Asitleri
OGTT:	Oral Glukoz Tolerans Testi
PAI:	Plazminojen Aktivatör İnhibitörü
PC:	Fosfatidil Kolin
PLTP:	Fosfolipid Transfer Protein
PON:	Paraoksonaz
PG:	Plazma Glukozu
RIA:	Radio İmmün Assay
SR-B1:	Scavenger Reseptör B1
TEKHARF:	Türk Erişkinlerinde Kalp Hastalığı ve Risk Faktörleri
TG:	Trigliserid
TK:	Total Kolesterol

TKD-KKHK: Türk Kardiyoloji Derneği Koroner Kalp Hastalığı Korunma Kılavuzu

TKŞ: Tokluk Kan Şekeri

TNF: Tümör Nekrozis Faktör

TRİG: Trigliserid

TURDEP: Türkiye Diyabet Epidemiyolojisi

UKPDS: The United Kingdom Prospective Diabetes Study

VCAM: Vascular Cell Adhesion Molecule

VKİ: Vücut Kitle İndeksi

VLDL: Çok Düşük Yoğunluklu (dansiteli) Lipoprotein

WHO: Dünya Sağlık Örgütü

ÖZET

TİP 2 DİYABETES MELLİTUS TANILI HASTALARDA HDL (YÜKSEK MOLEKÜL AĞIRLIKLILİPOPROTEİN) AKTİVİTESİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Dr. Sinem Burcu KOCAER

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı

**Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı 35340
İnciraltı/İzmir**

sinemburcu_1@hotmail.com

Amaç: HDL (yüksek molekül ağırlıklı lipoprotein) düşüklüğü ile ateroskleroz arasında bir ilişki mevcuttur. PON-1 (paraoksonaz-1) ve LCAT (lesitin kolesterol açıl transferaz) enzim aktiviteleri HDL kolesterol aktvitesini göstermektedir. Araştırmamızda tip 2 diyabetik hastalarda HbA1c düzeyi ile LCAT ve PON-1 arasındaki ilişkinin incelenmesi amaçlanmıştır.

Yöntem: Araştırmamız vaka kontrollü bir araştırma olarak planlandı. 01/11/12 - 30/06/13 tarihleri arasında DEÜTF Hastanesi Endokrinoloji Polikliniği'ne başvuran 39 tip 2 diabetes mellitus tanılı birey ve benzer yaş aralığındaki ve benzer demografik özelliklere sahip 41 nondiyabetik birey olarak iki farklı hasta grubu çalışmaya alındı. Araştırma grubundan en az sekiz saatlik açlık süresi sonrasında serumda açlık kan şekeri, hs-CRP, kreatinin, ALT, trigliserid, HDL, LDL, total kolesterol, HbA1c, PON, LCAT tetkikleri çalışıldı. Diyabetik 3 hasta serum örneğinin yetersiz olması nedeniyle çalışma dışı bırakıldı.

Bulgular: Çalışmaya 36 (%46,7) diyabetik, 41 (%53,3) nondiyabetik kontrol grubundan birey alındı. Diyabetik bireyler yaş ortalaması 53.47 ± 7.9 , 18 erkek (%50), 18 kadın (%50), kontrol grubu yaş ortalaması 51.24 ± 5.6 , 20 erkek (%48,7), 21 kadından (%51,3) oluşmaktaydı. LCAT aktivitesi nondiyabetik bireylerde daha yüksek saptandı ancak iki grup arasında LCAT aktivitesi açısından istatistiksel fark saptanmadı (DM: 70.65 ± 58.6 , sağlıklı kontrol grubu: 85.27 ± 78.59 , $p=0,35$). PON

aktivitesi ise aritmetik olarak diyabetik hastalarda daha yüksek saptandı ancak iki grup arasında istatistiksel fark saptanmadı (DM: 75.48 ± 49.16 , nondiyabetik kontrol grubu: 64.45 ± 39.49 , $p=0.28$). Yapılan korelasyon analizinde HbA1C ile hem PON hem de LCAT aktivitesi arasında bir ilişki saptanmadı. Yaş ile LCAT aktivitesi arasında anlamlı ters yönde bir ilişki vardı ($r=-0,24$, $p=0,03$).

Sonuç: Araştırmamızda diyabetik hastalar ile nondiyabetik kişilerin PON ve LCAT enzim aktivitesi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu. Ayrıca HbA1c düzeyi ile PON ve LCAT enzim aktivitesi arasında bir ilişki saptanmadı. Bu farklı sonuçların sebebi araştırma yapılan grupların diyabet süresinin farklı olması, araştırmalarda hastaların subklinik vasküler olaylarının tam olarak tanımlanmamış olması veya grupların etnik ve genetik farklılıklarından kaynaklanıyor olabilir. Bu konuda daha kapsamlı ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar Kelimeler: Tip 2 diabetes mellitus, HDL kolesterol, paraoksonaz, LCAT

SUMMARY

THE EVALUATION OF HDL (HIGH DENSITY LIPOPROTEIN) ACTIVITY IN PATIENTS WITH TYPE 2 DIABETES MELLITUS

Sinem Burcu KOCAER M.D.

Dokuz Eylul University School of Medicine , Department of Internal Medicine

**Dokuz Eylul University School of Medicine , Department of Internal Medicine,
35340 Inciraltı/Izmir, sinemburcu_1@hotmail.com**

OBJECTIVE: There is a relationship between HDL (high density lipoprotein) levels and atherosclerosis. The enzyme activities of PON-1 (paraoxonase-1) and LCAT (Lecithin-cholesterol acyltransferase) show the activity of HDL cholesterol. In this study our aim was to investigate the relationship between HbA1c level and LCAT and PON-1 in type 2 diabetic patients.

METHOD: Our study was designed as case-control research. Thirtynine individuals who admitted Dokuz Eylul University School of Medicine Endocrinology outpatient clinic between the dates of 01/11/12 - 30/06/13 with a diagnosis of type 2 diabetes mellitus and 41 nondiabetic individuals who had a similar age range and similar demographic characteristics were enrolled in two different groups of patients. After a fasting period of at least eight hours fasting blood glucose, hs-CRP, creatinine, ALT, triglyceride, HDL, LDL, total cholesterol, HbA1c, PON, LCAT tests were studied from the serum samples of research groups.

FINDINGS: 36 (46.7%) individuals as diabetic group and 41 (53.3%) individuals as nondiabetic control group were included in the study. The mean age of diabetics was 53.47 ± 07.09 , 18 of them were male (50%) and 18 women (50%); the mean age of the control group was 51.24 ± 06.05 , 20 of the individuals were male (48.7%), 21 of them were women (51.3%). LCAT activity was higher in nondiabetic individuals , but no statistically difference was found between the two groups for LCAT activity (DM: 70.65 ± 58.6 , nondiabetic control group: 85.27 ± 78.59 , $p = 0.35$). PON activity was higher in the diabetic patients as the arithmetic mean but there was no statistically difference between the two groups (DM: 75.48 ± 49.16 , nondiabetic control group: 64.45 ± 39.49 , $p = 0.28$). Correlation analysis showed no association between

HbA1C neither PON nor LCAT activity. There was an inverse correlation between the age and the LCAT activity ($r = -0.24$, $p = 0.03$).

RESULTS: Our findings suggested that there was no statistical difference between PON and LCAT enzyme activity in diabetic patients and nondiabetic subjects. Furthermore, there was no relationship between HbA1c levels and PON and LCAT enzyme activities. The reason of these different results might be derived from different duration of diabetes in the study group, subclinical vascular events in patients that have not been completely defined in studies or ethnic and genetic differences in the study groups. Therefore further comprehensive studies are needed in this regard.

Keywords: Type 2 diabetes mellitus, HDL cholesterol, paraoxonase, LCAT

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Diabetes mellitus, insülin eksikliği yada insulin etkisindeki defektler nedeniyle organizmanın karbonhidrat, yağ ve proteinlerden yeterince faydalanamadığı, hiperglisemi ile seyreden kronik bir metabolizma hastalığıdır [1]. Diyabet günümüzde tüm dünyada epidemi şeklini alan bir sağlık sorunu haline gelmiştir. Uluslararası Diyabet Federasyonu'nun (IDF) 2012 yılında güncellenmiş verilerine göre, tüm dünyada 371 milyonun üzerinde kişi diyabetlidir [2]. Ülkemizde 2010 yılı içerisinde gerçekleştirilen TURDEP-2 çalışmasında erişkin Türk toplumunda diyabet sıklığının %13.7'ye ulaştığı saptanmıştır [3].

Normal glukoz homeostazı insulin sekresyonu ve dokulardaki insulin duyarlılığı arasındaki dengeye dayanır. Tip 2 diabetes mellitusa sebep olan 3 temel metabolik bozukluk bulunmaktadır. Bu temel bozukluklar; 1-Karaciğerde hepatik lipaz üretiminin artışı, 2-İnsulin-hedef dokulardaki insulin direnci, 3-Adacık hücresi fonksiyon bozukluğu, beta hücre fonksiyonunda azalma ve glukagon sekresyonunda artış. Tip 2 diabetes mellituslu hasta grubunda altta yatan patoloji heterojen olmakla birlikte son durum olan hiperglisemi, bozulmuş insulin sekresyonu, insulin rezistansı ve artmış hepatik glukoz üretimi gibi metabolik bozuklukların kombinasyonuna ve her hastada spesifik olan genetik, patolojik ve çevresel faktörlere dayanmaktadır [4].

Diyabetli hastalarda kardiyovasküler hastalıklar en önemli mortalite ve morbidite nedenidir. Tip 2 diyabetli hastalarda özellikle koroner arter hastalığı riski diyabetik olmayan kişilere göre 2-4 kat yüksektir. Diyabetik hastaların % 60-75'i makrovasküler olaylar nedeni ile kaybedilir. Diabetes mellituslu hastalarda ateroskleroz daha erken yaşlarda ortaya çıkar, multisegmenter tutulumlu ve daha yaygındır. Tip 2 diyabette koroner arter hastalığı riskini azaltmak için glisemik kontrolün yanısıra, herbiri önemli bir risk faktörü olan hipertansiyon, obezite ve dislipidemi de kontrol altına alınmalıdır [5].

Ateroskleroz gelişiminden sorumlu faktörler arasında en önemlilerinden biri lipoprotein metabolizmasıyla ilgili bozukluklardır. Lipoproteinler arasında ateroskleroza karşı koruyucu olduğu bilinen tek lipoprotein yüksek dansiteli lipoprotein (high density lipoprotein, HDL) dir. Yapılan çeşitli araştırmalarda plazma

HDL-kolesterol (HDL-K) düzeyleri ile koroner arter hastalığı görülme sıklığı arasında negatif yönde bir korelasyon olduğu gösterilmiştir [6].

HDL kolesterolün kardiyoprotektif etkisi ters kolesterol taşınımındaki anahtar rolüyle ilişkili olup aynı zamanda anti-oksidan, anti-inflamatuar ve vazoprotektif etkileri de olduğu bilinmektedir. HDL kolesterolün bu kardiyovasküler koruyucu rolü içeriğindeki proteinlerle ilişkili olup PON-1 proteini bu önemli proteinlerden biridir. PON-1 molekülünün makrofajların pro-inflamatuar yanıtlarını baskıladığı, endotelial hücrelerde okside-LDL tarafından uyarılmış monositik kemotaktik protein (MCP-1) oluşumunu süprese ettiği, endotelial hücrelerde okside LDL oluşumunu inhibe ettiği gösterilmiştir.

Bunlara ek olarak endotelial hücrelerde sitokin bağımlı adezyon molekül ekspresyonunu süprese ettiği düşünülmektedir, bu sebeple PON-1 molekülünün HDL kolesterolün anti-inflamatuar ve anti-oksidan etkilerinden sorumlu olduğu düşünülmektedir. Tip 2 diyabette de olduğu gibi serum PON-1 aktivitesinin düşük HDL düzeyi ile seyreden klinik durumlarda ve düşük dereceli inflamasyonun gözlemlendiği hastalıklarda azaldığı düşünülmektedir [7]. Diyabetik hastalarda klinik olarak koroner arter hastalığı gelişmeden önce dolaşımda HDL'ye bağılı olarak bulunan paraoksonaz-1 aktivitesinde düşme olduğu düşünülmektedir. [7].

Ters kolesterol taşınımında yer alan basamaklarla ilgili bozuklukların koroner arter hastalığı gelişiminden sorumlu olabileceği ileri sürülmüştür. Ters kolesterol taşınımındaki merkezi rolü nedeniyle LCAT enzimi önemli bir proteindir ve bu protein aktivitesindeki değişiklikler de koroner arter hastalığı gelişiminden sorumlu tutulmaktadır [6]. LCAT, 416 aminoasit kalıntısı içeren tek bir polipeptid zincirinden oluşmuştur ve en önemli fizyolojik reaksiyonu kolesterol ve lesitin, kolesterol esteri ve lizolesitine dönüşümünü sağlamasıdır. HDL tarafından periferik dokulardan alınan serbest kolesterolün LCAT tarafından esterleştirilmesi, HDL yüzeyindeki serbest kolesterol içeriğinin düşük tutulmasına ve böylece hücrelerle HDL arasında serbest kolesterol konsantrasyon gradyanının sağlanmasına aracılık eder. LCAT aktivitesinin azalması halinde ise bu konsantrasyon gradyanının bozulması HDL'nin ateroskleroza karşı koruyucu etkisinde de azalmaya yol açar [6].

Tip 2 diabetes mellituslu hastalarda kronik inflamasyon belirteci olan high sensitif C reaktif protein düzeylerinin arttığı bilinmektedir. Tip 2 diabetes mellituslu hastalarda yaş, cinsiyet, HbA1c, insulin rezistansı ve pro-oksidatif durum gibi düşük PON-1 düzeyi ile ilişkili olabilecek durumlarda bu faktörlere ek olarak destekleyici etken olarak high sensitif CRP düzeyleri anlam taşımaktadır [7].

Araştırmamızda ateroskleroza karşı koruyucu olduğu bilinen HDL kolesterolün bu etkisinden sorumlu olan PON-1 ve LCAT enzim aktivitesini tip 2 diyabetik hastalarda incelemeyi ve glukoz regülasyonu ile PON 1 ve LCAT aktivitesi arasındaki ilişkiyi araştırmayı planladık. Literatürde tip 2 diyabetteki artmış ateroskleroz riski ile ilgili olarak yapılmış araştırmalar genellikle diyabetin damar endoteli üzerine olan etkisi ve diyabette bozulmuş olan lipoprotein metabolizması üzerinedir. Tip 2 diyabetik hastalarda HDL kolesterolün fonksiyonel durumu hakkında yapılmış çok az sayıda araştırma bulunmaktadır. Bu araştırma ile tip 2 diyabetik hastalarda HDL kolesterolün fonksiyonel durumu hakkında bilgi elde ederek bilime katkı sağlanacaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. DİABETES MELLİTUS

2.1.1. Tanım ve Sınıflandırma

Diabetes mellitus, insülin salgısında, etkisinde veya her ikisindeki yetersizliklerden kaynaklanan ve klinikte hiperglisemi ile seyreden kronik bir metabolik bozukluktur [8]. Diyabette karbonhidrat, yağ ve protein metabolizması anormallikleri insülinin hedef organ ve dokulardaki eksik etkisi nedeniyle. İnsülin etkisindeki eksiklik, yetersiz insülin sekresyonu ve/veya insüline azalmış doku cevabı sonucunda gelişir. Aynı hastada insülin salgısındaki bozukluk veya insülin etkisindeki yetersizlik bir arada bulunabilir.

Diyabette yükselen plazma glukoz düzeyleri, glukozüri ve osmotik diürez yolu ile dehidratasyona neden olduğunda poliüri, polidipsi ve kilo kaybı meydana gelir. Hiperglisemi bulanık görme, yorgunluk durumuna neden olabilir, çeşitli bakteri ve mantar enfeksiyonlarına yatkınlık yaratabilir. Kronik hiperglisemi durumu, uzun vadede mikrovasküler ve makrovasküler komplikasyonları beraberinde getirir. Geç dönemde sık görülen mikrovasküler komplikasyonlardan bazıları retinopati, nefropati, periferik ve otonom nöropatidir. Aterosklerotik koroner arter hastalığı ve periferik arter hastalığı makrovasküler komplikasyonlar arasında sayılır. Diyabetik ayak ülserleri ve eklem sorunları önemli morbidite nedenleridir.

Diabetes mellitusun tip 1, tip 2 ve gestasyonel diyabet (GDM) olmak üzere üç ana formu dışında sekonder diyabetle sonuçlanan çok sayıda etyolojik nedeni içeren ve diyabetin spesifik nedenleri olarak sınıflanan dördüncü bir grup tanımlanmıştır. Tip 1 diyabette beta hücre hasarı nedeniyle insülin sekresyonunda mutlak eksiklik vardır. Prevelansı çok daha yüksek olan tip 2 diyabette ise neden insülin etkisine direnç gelişimi ve beta hücresinin yetersiz sekretuar cevabının kombinasyonudur. GDM ise gebelikte kazanılan ya da ilk kez farkına varılan glukoz intoleransıdır [9]. Diyabetin diğer spesifik tipleri ise sekonder diyabete yol açan nedenleri, genetik geçişli formları , diğer diyabet formlarını içine alan geniş bir grubu temsil eder.

2.1.2 Epidemiyolojisi:

Diyabet günümüzde tüm dünyada pandemi şeklini alan bir sağlık sorunu haline gelmiştir. Uluslararası Diyabet Federasyonu'nun (IDF) 2012 yılında güncellenmiş verilerine göre, tüm dünyada 371 milyonun üzerinde kişi diyabetlidir.

Yaşlı nüfusun gittikçe artması ve obezitenin yaygınlaşması sebebiyle tüm ülkelerde diyabet sıklığı her geçen gün artmaktadır ve 2030 yılında diyabetli insan sayısının 552 milyon düzeyinde olacağı tahmin edilmektedir. Eğitim ve bilinçlendirme çalışmalarına rağmen, diyabetlilerin yaklaşık yarısının tanı almadığı düşünülecek olur ise diyabetli insan sayısının bilinen sayının çok üzerinde olduğu düşünülmektedir.

2011 yılında IDF tarafından tüm dünyada diyabet prevalansı % 8.3 olarak açıklanmıştır. Avrupa kıtasında yaklaşık 53 milyon erişkinin diyabetli olduğu bilinirken, erişkin yaşta diyabet prevalansı % 6.7 olarak belirtilmiştir. Ülkemizde 2010 yılı içerisinde gerçekleştirilen TURDEP 2 çalışmasında Türk erişkin toplumunda diyabet sıklığının % 13.7 'ye ulaştığı saptanmıştır [3].

Dünya çapındaki diyabet hastalarının %90-95'ini tip 2 diyabetliler, %5-10'luk kısmını ise tip 1 diyabetli hastalar oluşturmaktadır. Ülkeler arasında farklı sonuçlar olmakla birlikte GDM sıklığı % 1.7-11.6 arasında saptanmıştır [10].

Şüphesiz, diyabet 21. yüzyılın en zorlu sağlık sorunlarından biridir. Diyabet ve diyabete bağlı komplikasyonlar nedeniyle tüm dünyada yaklaşık olarak 4.8 milyon insan 2012 yılı içerisinde hayatını kaybetmiştir. Yine 2012 yılı içerisinde tüm dünyada diyabetten korunmak için 471 milyar dolar harcanmıştır [2].

2.1.3. Tip 2 Diabetes mellitus tanı kriterleri:

Diyabet ve glukoz metabolizmasının diğer bozuklukları için 2003 ve 2010 yılı revizyonlarını da kapsayan yeni tanı kriterleri Tablo-1.'de görülmektedir [1].

*	Aşık DM	İzole BAG**	İzole BGT	BAG+BGT	DM Riski Yüksek
AKŞ≥8 saat açlıkta	≥126 mg/dl	100-125 mg/dl	<100 mg/dl	100-125 mg/dl	-
OGTT 2.Saat (75gr glukoz)	≥ 200mg/dl	<140mg/dl	140-199 mg/dl	140-199mg/dl	-
Rastgele PG	≥ 200mg/dl + Diyabet semptomları	-	-	-	-
HbA1c***	≥%6.5 (≥48 mmol/mol)	-	-	-	%5.7-6.4 (39-46 mmol/mol)

*Glisemi venöz plazmada oksidaz yöntemi ile 'mg/dl' olarak ölçülür. 'Aşık DM' tanısı için dört tanı kriterinden herhangi birisi yeterli iken 'İzole BAG', 'İzole BGT' ve 'BAG+BGT' için her iki kriterin bulunması şarttır. **2006 yılı WHO/IDF Raporunda normal AKŞ kesim noktasının 110 mg/dl ve BAG 110-125mg/dl olarak korunması benimsenmiştir. ***Standardize metodlarla ölçülmelidir.
DM: Diyabetes mellitus, AKŞ: Açlık Kan Şekeri, PG:Plazma Glukozu, OGTT: Oral Glukoz Tolerans testi, HbA1c: Glikozillenmiş Hemoglobin A1c, BAG: Bozulmuş Açlık Glukozu, BGT: Bozulmuş Glukoz Toleransı, WHO: Dünya Sağlık Örgütü, IDF: Uluslararası Diyabet Federasyonu)

Tablo-1: Diabetes mellitus ve glukoz metabolizmasının diğer bozukluklarında tanı kriterleri[1]

Çok ağır diyabet semptomlarının bulunduğu durumlar dışında, tanının daha sonraki bir gün, diğer bir yöntemle de doğrulanması gerekir [1].

Poliüri, polidipsi ve açıklanamayan kilo kaybı gibi klasik semptomların varlığında diabetes mellitus tanısı hemen akla gelmelidir. Bu gibi vakalarda rastgele plazmadan alınmış glukoz değerinin 200mg/dl veya üzerinde olması tanıyı kesinleştirir [11]. Tanının doğrulanması için test yapılmaz, doğrulayıcı testler gereksizdir ve tedaviyi geciktirebilir. Glukozüri diyabetin kuvvetli bir göstergesi olmasına karşın, diyabet tanısı koymak için asla idrar tetkik sonuçları kullanılmamalıdır, çünkü renal glukoz eşiğinin de düşmesi benzer sonuçlara yol açabilir [11].

Tanı kriterleri venöz plazmada glukoz oksidaz yöntemi ile yapılan ölçümleri baz almaktadır. Klinikte veya hastaların evde glisemi takibinde kullandıkları tam kan, kapiller kan ve serum glisemi değerleri biraz daha düşüktür ve tanı aracı olarak önerilmez [1].

Son yıllarda diyabet için risk grupları olan iki durum BAG ve BGT artan düzeylerde vurgulanmaya başlamıştır. Her iki durumda diyabet gelişimi ve sonrasında gelişen vasküler hastalıklar yönünden artmış riskle ilişkili olduğu için BAG ve BGT'li tüm hastalar diyet ve egzersizle tedavi edilmeli ve diyabete gidiş açısından yılda en az 1 kez değerlendirilmelidir [11].

2.1.4. Tip 2 Diabetes Mellitusun Patofizyolojisi

Tip 2 diyabet patogeneğinde beta hücre fonksiyon bozukluğu, insülin direnci ve hepatik glukoz üretimi artışı gibi üç ana metabolik bozukluk rol oynar. Primer defekt olarak insülin direnci ve/veya insülin eksikliği ön plandadır [12].

Tip 2 diyabette primer patolojinin beta hücre fonksiyon bozukluğu veya insülin direnci olmasında yaş, etnik farklılıklar, obezite ve diyabetin heterojenitesinin kısmen de olsa belirleyici olduğu ileri sürülmektedir [13]. Hem insülin direnci hem de bozulmuş insülin sekresyonu tip 2 diyabetin patogeneğinde genetik olarak kontrol edilen faktörler olup bunlardan hangisinin primer ağırlıkta rol oynadığı henüz açık değildir. Aile öyküsü hemen hepsinde olmasına karşın hastalık henüz tek bir genetik zemine oturtulamamıştır. Yine de tip 2 diyabetin çoğu formları genetik yüklülük ile ilişkilidir. Son yıllarda bunlara eklenen dördüncü bir görüş, primer defektin hiperinsülinemi olduğu ve insülin direncinin hiperinsülinemiye bağlı olarak oluştuğu hipotezidir. Hiperinsülineminin nonoksidatif glukoz kullanımını veya glikojen sentezini

bozarak tıpkı tip 2 diyabette olduğu gibi insülin direncine yol açabileceği ileri sürülmektedir [14]. Tip 2 diabetes mellitus patofizyolojisinde mekanizmalar:

Beta Hücre Fonksiyon Bozukluğu

- (a) İnsülin Salgısında Kantitatif Bozukluklar
- (b) İnsülin Salgısında Kalitatif Bozukluklar
 - Birinci Faz İnsülin Salgısında Bozulma
 - Pulsatil İnsülin Salgılanmasında Bozukluk
- (c) Proinsülin Salgılanmasında Anomaliler
- (d) Düşük Doğum Ağırlığı
- (e) Glukoz Toksisitesi
- (f) Amilin (Adacık Amiloid Polipeptid, IAPP) ile ilişkili
- (g) Calcitonin Gene Related Peptid (CGRP) ile ilişkili
- (h) İncretinler (GLP-1, GIP, Galanin) ile ilişkili
- (i) Lipotoksisite
- (j) İnsülin Salgılanması Bozukluğunda Genetik Nedenler
- (j) Hepatik Glukoz Üretiminde Artış

2.1.5. Tip 2 Diabetes Mellitusun Komplikasyonları

Tip 2 DM; hızla tanı konup tedavi edilmesi gereken aksi halde mortaliteye, akut komplikasyonlara ve birçok organ ve sistemi etkileyebilen kronik komplikasyonlara yol açabilen bir hastalıktır. Tip 2 DM'un akut ve kronik komplikasyonları Tablo 2 ve Tablo 3'de özetlenmiştir [15, 16].

Tablo-2. Tip 2 DM'un Akut Komplikasyonları

Hipoglisemi
Diyabetik ketoasidoz
Hiperglisemik hiperosmolar durum
Laktik asidoz

Tablo-3. Tip 2 DM'un Kronik Komplikasyonları

Mikrovasküler

- Göz Hastalığı (Retinopati -Maküler ödem)
- Nöropati (Duyusal ve motor (mono ve polinöropati) –Otonom)
- Nefropati

Makrovasküler

- Koroner arter hastalığı
- Periferik vasküler hastalık
- Serebrovasküler hastalık

Diger

- Gastrointestinal (gastroparezi, ishal)
- Genitoüriner (üropati/seksüel disfonksiyon)
- Dermatolojik
- Enfeksiyöz
- Katarakt
- Glokom

2.1.6. Diyabet ve Endotel Disfonksiyonu

Glikozilasyon, proteinlerde yapısal ve fonksiyonel değişikliklere yol açar [17]. Hemoglobinin glikozilasyonu sonucu oluşan HbA1c, takip açısından önemlidir. Ayrıca HbA1c değerinin yüksekliği ile trombosit agregasyon artışı, eritrosit deformasyonu ve kapiller bazal membran kalınlaşması arasında paralellik vardır. Damar dokusunun glikozillenmesi, endotel bazal membran kalınlaşmasının yanında mikroanjiopatik bulgulara neden olur. Bunun sonucu olarak damar duvarında vaza vazorumlar kalınlaşır, sertleşir ve beslenme kusuruna bağlı nekrotik değişimler oluşur [18]. Bu vasküler değişimler endotel disfonksiyonuna ve zamanla da iskemik kardiyak hastalık gelişimine katkıda bulunur [18].

2.1.7. Diabetes Mellitus ve Koroner Arter Hastalığı İlişkisi

Diabetes mellitus önemli bir kardiyovasküler risk faktörüdür. Kardiyovasküler mortalite diyabetik olmayanlara göre diyabetli erkeklerde 2-3 kat, diyabetli kadınlarda 3-5 kat artmıştır. Tüm diyabetik hasta ölümlerinin % 70-80'inden kardiyovasküler hastalıklar sorumludur ve bu ölümlerin dörtte üçü koroner arter hastalığına bağlıdır [19, 20]. Diyabetik kardiyomiyopati, hipertansiyon, otonom nöropati ve endotel disfonksiyonu gibi diyabete eşlik eden durumlar dolayısı ile diyabetik hastalarda geç dönem mortalite oranları da diyabetik olmayanlara oranla artmıştır. Miyokard infarktüsü (MI) gelişme riski diyabetik hastalarda her yaşta artmıştır. Bu nedenle 'National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III' (NCEP, ATP III) diyabeti kardiyovasküler risk faktörleri içerisinde koroner arter hastalığı eşdeğeri kabul etmiştir [21]. Diabetes mellitus, değiştirilemeyen faktörler arasında ateroskleroz açısından en güçlü risk faktörüdür. Diyabet ve bozulmuş glukoz toleransına genelde

metabolik sendrom komponenti olarak veya olmadan sıklıkla eşlik eden hiperlipidemi, hipertansiyon ve obezite gibi diğer kardiyovasküler risk faktörlerinin de diyabetteki hızlanmış ateroskleroz ve artmış kardiyovasküler risk artışına katkısı olduğu bilinmektedir [21].

Diyabetik hastalarda kardiyak iskemi düşündüren semptomları, periferik veya karotis arter hastalığı, istirahat elektrokardiyografisinde geçirilmiş enfarktüs bulgusu, proteinürisi ve diğer başka iki kardiyak risk faktörü olan hastalarda ve bir egzersiz programına başlamayı düşünenlerde, aterosklerotik damar hastalığı araştırılmalıdır [22].

Yüksek serum insulin düzeylerinin yansıttığı insülin direnci, diyabetik ve nondiyabetik bireylerde kardiyovasküler komplikasyon riskinde artış ile ilişkilidir. Lipid profilindeki iyileşmenin (daha düşük total, LDL kolesterol ve trigliserid düzeyleri) diyabetle ilişkili kardiyovasküler mortalite ve morbidite riskini azalttığı düşünülmektedir [22].

2.2. PLAZMA LİPOPROTEİNLERİ

Plazma lipidleri, başta kolesterol olmak üzere trigliseridler, fosfolipidler ve düşük miktarda Vitamin E, hidrofobik olduklarından kanda hidrofilik makromoleküller olan lipoproteinlerle taşınırlar. Lipoproteinler plazmada hem lipidleri çözünür durumda tutarlar hem de kendi lipid içeriklerini dokulara verirler. Lipoproteinler ultrasantrifüjde yoğunluklarına göre değişik sınıflara ayrılırlar. Daha ileri sınıflama partikül büyüklüğü, elektroforetik hareket, veya afinite kromatografisi sayesinde yapılır. Bu sınıfların her birinin özgün metabolik fonksiyonları vardır [23].

Bu sınıflar şilomikronlar, VLDL (Çok düşük yoğunluklu lipoprotein pre-beta bandı), LDL (düşük yoğunluklu lipoprotein-b bandı), ve HDL (yüksek yoğunluklu lipoprotein-a bandı) olarak ayrılırlar. Lipoproteinlerin sentez yeri ince bağırsaklar ve karaciğerdir. Lipoproteinlerin dış zarı ve merkez kısmı vardır. Lipoproteinlerin merkezindeki nötral lipidler, triaçilgliserol ve kolesterol esterlerini içerirken dış zarı anesterifiye kolesterol ve fosfolipidleri içerir. Lipoproteinlerin protein içeriği apolipoprotein olarak adlandırılır [24, 25].

Apolipoproteinler lipoproteinlerin yapısal bileşenidirler, hücre yüzey reseptörleri için tanıma bölgeleri oluşturular ayrıca lipoprotein metabolizmasında yer alan enzimlerin aktivatörü veya koenzimi olarak görev yaparlar. Bugüne kadar 15

apolipoprotein izole edilmiş ve tanımlanmıştır: Bunlar apolipoprotein (apo) A-1,A-II, A-IV, (a), C-I, C-II, C-III, C-IV, D, E, F, G, H, I ve J 'dir [26-28].

Endojen ve eksojen kolesterol sentezi ve taşınması sırasında da apolipoproteinler lipoproteinlerin kofaktörü olarak görev yaparlar. Eksojen yolda diyetle alınan lipidler bağırsak mukoza hücrelerde paketlenir ve büyük, trigliseridden zengin bu partiküller şilomikron adını alarak lenf dokusuna sentezlenir. Şilomikronların içeriği başlıca trigliserid olsa da aynı zamanda apolipoprotein B-48, A-1 ve A-IV ve eser miktarda diğer apolipoproteinleri de içerir. Şilomikronlar genel dolaşıma girdiklerinde endotelyal lipoprotein lipaz (kofaktörü apo C-II) tarafından hızla yıkılırlar ve yağ asitleri depo için yağ dokusuna ve oksidasyon için kas dokusuna girer. Bu olay sırasında merkezdeki kalıntılar Apolipoprotein E gibi başka apolipoproteinleri de kazanırlar ve yüzeydeki kalıntılarda HDL'ye aktarırlar. Merkezdeki kalıntılar da apo E için özgül hepatik reseptörler tarafından karaciğere alınırlar. Kolesterol ve trigliseridlerin endojen sentez yeri başlıca karaciğerdir. Burada lipidler çok düşük yoğunluklu lipoproteinler (VLDL) olarak paketlenip sentezlenir. VLDL parçacıkları da şilomikromikronlar gibi trigliserid içeriği açısından zengindir. Ancak VLDL'de ayrıca apoB-100, apolipoprotein C-I, C-II, C-III ve apo E de bulunur. VLDL dolaşımında yıkılır ve orta yoğunluklu lipoprotein (IDL) oluşur. IDL'nin önemli bir kısmı karaciğer tarafından alınır. Geri kalan kısımdan serbest yağ asitleri ayrılır ve düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) oluşur. VLDL'deki lipolizde hepatik lipaz (HL) ve lipoprotein lipaz (LPL) enzimleri rol oynarlar. LDL insanlarda kolesterol esterlerinden zengindir ve açlık serumundaki kolesterolün çoğunu içerir. Belirgin tek protein bileşeni apoB-100'dür. LDL membran ve steroid hormon sentezi için karaciğer ve çevre dokulara kolesterol aktarımı yapar. Hücre alım birçok hücrede bulunan LDL (veya apoB, E) reseptörü tarafından yapılır [29].

2.2.1. HDL (yüksek dansiteli lipoprotein)

En küçük lipoprotein partikülüdür. Lipid içeriği kadar protein içeriği de bulunur. Başlıca apolipoproteinleri apo A-I ve A-II'dir. Dolaşımda HDL partikülleriyle birlikte dolaşan lesitin kolesterol açıl transferaz (LCAT)'in etkinleşmesinde apo A-I çok önemlidir. Karaciğer ve bağırsakta üretilen HDL olgunlaşmamış bir şekilde dolaşıma verilir. Plazmada dolaşırken hücre membranlarından serbest kolesterolü alarak olgunlaşmaya başlar. Böylece reverse kolesterol transportuna da başlamış olur. HDL partikülüne alınan kolesterol LCAT enzimi katalizörlüğünde esterleştirilir, böylece

HDL'ye daha fazla serbest kolesterol girişi mümkün olur. Kolesterol esterleri lipoproteinin çekirdeğine girerek HDL3 denilen partikül meydana getirir ve bu partikül kolesterol ester içeriğini giderek arttırarak boyutu daha büyük olan HDL2'ye dönüşür. Dolaşımda apoE'nin taşınmasını sağlayan partikül ise HDL1 olarak adlandırılır. Karaciğerde hepatik lipaz HDL2'nin trigliseridlerini ve fosfolipidlerini hidrolize ederek HDL3 haline dönüştürür. HDL2'deki kolesterol esterleri VLDL'deki trigliseridlerle kolesterol ester transferaz proteini (CETP) aracılığı ile değiş tokuş edilir. Trigliseridden zengin içeriğe dönüşen HDL2 karaciğerde tekrar hidrolize olarak HDL3'e dönüşür ve döngüsü tamamlanır. Böylece kolesterolü çevresel hücrelerin membranlarından ve diğer lipoproteinlerin yüzeylerinden toplayıp karaciğere taşıma işlevini gerçekleştirmiş olur [30].

2.3. ATEROSKLEROZ

Ateroskleroz aortadan epikardial koroner arterlere kadar değişen büyüklükte sistemik arterleri etkileyen intimal bir hastalıktır. Normal insan intiması endotel hücrelerle örtülüdür. Düz kas hücreleri, izole makrofajlar, nadir mast hücreleri, ekstrasellüler matriks elemanları içerirler [31]. Aterojenik uyarıdan bağımsız olarak özellikle arterlerin çatallanma noktasında doğumdan itibaren, arterlerde tıkayıcı olmayan intimal kalınlaşmalar vardır. Aterosklerozun erken lezyonları, sağlam, aktif ve disfonksiyone endotelde bu intimal kalınlaşmaların mevcut olduğu bölgelerde gelişir [31]. Endotel hasarı, endotel tarafından vasküler adezyon moleküllerinin ekspresyonuna yol açar. Endotel hasarı devam ettikçe trombositler de endotele yapışır. Monosit adezyonu, düz kas hücre g   , makrofaj ve düz kas hücrelerinde lipid birikimi devam ederek intimada köpük hücre birikimini artırır ve makroskopik olarak yağlı çizgilenmelerin görülmesine yol açar [32].

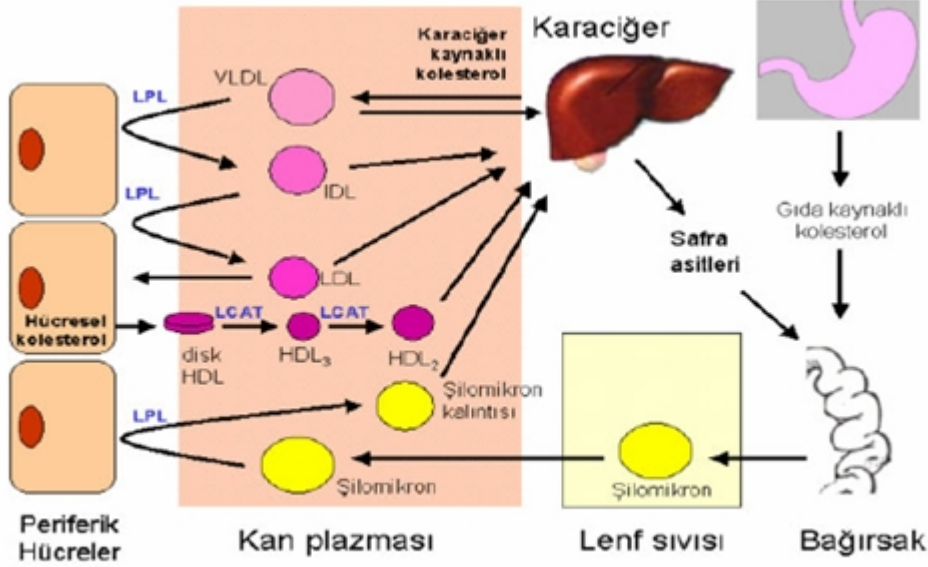
2.3.1. Ateroskleroz Gelişimi

Ateroskleroz tanım olarak, arter intimasında plazmadan kaynaklanan aterojenik lipoproteinlerin birikmesine karşı karmaşık bir inflamatuvar fibroproliferatif cevaptır [33, 34]. Bu cevapta okside olmuş lipoproteinlerin damar intimasında birikmesi, immün hücrelerin bu alana toplanarak ve sitokinler salgılayarak bu inflamatuvar sürecin ilerlemesini sağlaması yanında, düz kas hücre proliferasyonu da önemlidir. Bu durum damar duvarının kalınlaşması, esnekliğinin kaybolması ile karakterize arteriyel hastalık gurubu olan arteriyosklerozun bir parçasıdır.

Ateroskleroz, arteriosklerozun en sık rastlanan ve en önemli formudur ve bu iki terim zaman zaman aynı anlamda kullanılmaktadır. Aterosklerozun hastalık süreci esas olarak arter duvarının intima tabakasına sınırlıdır. Bu tabaka lipidler ve inflamatuvar hücreler tarafından infiltre olur ve değişik derecelerde fibrozis gelişir [35]. Bu gözlem aterosklerozun en azından kısmen damar tamiri ile ilgili yanıtlara bağlı olduğunu düşündürür. Ateroskleroz ile travmaya vasküler yanıt arasındaki benzerliklerin ışığında Ross ve Glomset 1976'da ateroskleroz patojenezi için "hasara yanıt" hipotezini ortaya koymuşlardır [35]. Okside olmuş lipoproteinlerin birikmesi arteri hasara uğratmakta ve düz kas hücresine bağımlı tamir sürecini başlatmaktadır. Bu durum iyileşme reaksiyonlarında görülen skar dokusuna benzer intimal plakların oluşmasına sebep olur. Normalde sürekli travma nasıl ki skar dokusunda hipertrofiye neden olursa, çeşitli risk faktörlerinin indüklediği inflamasyon da bunun gibi etki yaparak aterom plaklarının büyümeyle devam etmesini sağlar [35].

2.3.2. Dislipidemi

Dolaşımdaki lipoprotein fraksiyonları 5 grupta incelenir. Bunlar, yüksek dansiteli lipoprotein (HDL), düşük dansiteli lipoprotein (LDL), orta dansiteli lipoprotein (IDL), çok düşük dansiteli lipoprotein (VLDL) ve şilomikronlardır. LDL, en çok kolesterol, VLDL ve şilomikronlar da çoğunlukla trigliserid taşırlar. Çapı en düşük olan HDL ve LDL'dir. Çapı en büyük olan ise şilomikronlardır [36]. Yapılarında fonksiyonel açıdan önemli olan apoproteinler vardır. Barsak ve karaciğerde sentezlenirler. Serum total kolesterol yüksekliği ile HDL kolesterol düşüklüğü koroner arter hastalığı için bağımsız majör risk faktörleridir [37]. Endotel disfonksiyonunun başlamasında ve devamında lipoproteinlerin rolü vardır. Serum lipoproteinlerinden şilomikronlar molekül yapılarındaki büyüklük nedeni ile LDL gibi damar duvarından geçemezler, aterogeneze katkıda bulunmazlar. Şilomikron artıkları ve VLDL artıkları ise kısmen etkilidir. En önemli aterogenetik lipoprotein ise LDL'dir. Bunda küçük çaplı olmasından dolayı bu molekülün intimaya girebilmesi, birikmesi ve modifikasyonu etkilidir. LDL karaciğerden diğer dokulara kolesterolü taşır. LDL yüksekliği damar duvarında kolesterolden zengin aterom plağı oluşumu ve gelişiminde başlıca etkenlerdendir [38]. Şekil-1.de lipoprotein metabolizması görülmektedir [39].



Şekil-1: Lipoprotein metabolizması[39]

(YALÇIN, A., ÇETİN, M., Plazma Lipoproteinleri ve Klinik Önemi, J. Fac. Vet. Med., 20: 123-129, (2001))

2.3.3. Diyabetik Dislipidemi

Tip 2 Diabetes mellitusta, serbest yağ asitlerinin insülin direnci nedeni ile periferik dokularca alınamaması ve artmış yağ dokusundan fazla miktarda serbest yağ asidinin karaciğere dönüşü diyabetik dislipideminin temelini oluşturur. Sonuçta postprandiyal hiperlipideminin düzelmesinden sorumlu enzim olan lipoprotein lipaz aktivitesinin azalmasının nedeni ile diyabetik dislipideminin özelliği olan hipertrigliseridemi, yüksek yoğunluklu lipoprotein kolesterol (HDL-K) düşüklüğü ve oksidasyona daha yatkın olan düşük yoğunluklu lipoprotein kolesterol (LDL-K) artışı ortaya çıkar. Tip 2 diyabetteki bu lipoprotein anormallikleri kan şekeri düzeylerinin kontrol altına alınması ile düzelebilir. Ancak kan şekeri kontrolünün sağlanması ile trigliserid düzeylerinde ciddi bir düşüş görülürken LDL kolesteroldeki düşüş daha az olmaktadır. Yine kan şekeri kontrolü ile LDL kolesterol içeriğinde de değişiklikler olmaktadır [19].

Tip 2 Diabetes mellituslu hastalarda yaygın olarak görülen lipoprotein bozuklukları birçok farklı yollara bağlı olarak ortaya çıkmaktadır. Bu anormal lipoprotein profili yüksek VLDL kolesterol düzeyi ve bununla ilişkin yüksek trigliserid düzeyi, yüksek LDL kolesterol ve düşük HDL kolesterol düzeylerini içermektedir. Diyabetli hastalardaki dislipidemi sebepleri hala tam olarak aydınlatılamamıştır. İnsülin rezistansı olan ve tip 2 diabetes mellituslu hastalarda karaciğerde matür VLDL

retiminde artış söz konusudur. Bu durum lipoprotein lipaz aktivitesinde azalmanın sonucu olarak, trigliseridden zengin moleküllerin kliresindeki yavaşlamayla birliktedir. Diyabetik hastalarda yüksek trigliserid düzeyleri lipoprotein lipazın VLDL molekülünden trigliseridi ayırdıktan sonra IDL ve artık moleküllerin reseptör uptake aktivitesindeki azalmasıyla sıkı ilişkili olarak oluşmaktadır [4].

2.3.4. Lipit Profili ve Koroner Arter Hastalığı İlişkisi

Yüksek serum kolesterol düzeyi, koroner arter hastalığı için bağımsız bir risk faktörüdür ve yüksek kolesterol düzeyleri ile koroner arter hastalığı riski arasında güçlü bir ilişki vardır. Kronik hiperkolesterolemi endotel hücre membranında kolesterol moleküllerinin sayısını artırarak endotel hasarına neden olabilir. Endotelial plazma membranında kolesterol/fosfolipid oranı yükseldiğı zaman membran viskozitesi artar. Daha viskz ve daha rijit olan endotelial yüzey, akım değışikliklerinin neden olduğı strese karşı koyamaz. Bu da endotel hücrelerinin birbirinden ayrılmasına, retraksiyonlarına neden olur [40].

Total kolesterol kanda  lipoprotein ile taşınır. Bu da prognostik önemleri farklı olan üç kolesterol fraksiyonu ortaya çıkartır; çok düşük yoğunluklu lipoprotein kolesterol (VLDL) ,düşük yoğunluklu lipoprotein kolesterol (LDL) ve yüksek yoğunluklu kolesterol (HDL). Serum LDL kolesterol düzeyi kardiyovasküler hastalık sıklığıyla pozitif ilişki içindeyken serum HDL kolesterol düzeyi ters yönde bağılantılıdır. Riski öngörmede en iyi değıerlendirme total kolesterol/HDL kolesterol oranıdır. Total kolesterol LDL kolesterol ,VLDL kolesterol ve HDL kolesterolün toplamından oluşur. Paydada ise koruyucu HDL kolesterol bulunur. Total kolesterol/HDL oranının 3'den düşük olması idealdir. Bu oranın 3-5 arasında olması orta düzeyde kardiyovasküler risk anlamına gelmektedir. Bu oranın 5'den büyük değıerlerde olması ise yüksek kardiyovasküler risk anlamına gelir. Randomize çalışmalardan elde edilen kanıtlar koroner arter hastalığı olan hastalarda ve KAH açısından yüksek riskli olgulardaki dislipidemi tedavisinin yararlı olduğunu göstermiştir [11].

Türk Kalp alışması ve "TEKHARF" (Türk Erişkinlerinde Kalp Hastalığı ve Risk Faktörleri) alışması Türk toplumunun dünyada en düşük HDL düzeyine sahip toplumlardan biri olduğunu saptamış, ortalama HDL düzeyinin Batı Avrupa lkeleri ve Amerika' da yaşayanlardan 10-15 mg/dl daha düşük olduğı belirtilmiştir. Türk toplumunda erkeklerin %74'nde, kadınların %53'nde HDL düzeyi <40 mg/dl olarak

belirlenmiştir, kadınlarda ortalama HDL düzeyi 42 mg/dl, erkeklerde ise 37 mg/dl olarak saptanmıştır.

HDL-K düzeyi Avrupa ülkelerine benzer iken ergenlik sonrası dönemde azalmış fiziksel aktivite, obezite ve sigara içimi gibi faktörlere bağlı olarak ortalama 10-15 mg/dl düşer. TEKHARF çalışmasının 10 yıllık takibinde Türk toplumunda TK/HDL oranının KAH (koroner arter hastalığı) riskini belirleyen en iyi belirleyici olduğu saptanmıştır. Türk kadınlarında TK/HDL oranının >5.5 oluşu, <4 oluşuna göre koroner riski 1.73 kat arttırmaktadır. Bu nedenle etkileyici koruyucu stratejiler tasarlanmalı, lipid bozukluklarının tedavisi ve koroner arter hastalığı riskini azaltmaya yönelik uygulamalar yapılmalıdır [41]. Bir bireyin koroner arter hastalığı riskini ve tedaviye olan ihtiyacını belirlemede ilk yapılması gereken serum kolesterol düzeylerinin değerlendirilmesi ve sınıflandırılmasıdır. Ulusal Kolesterol Eğitim Programı Erişkin Tedavi Paneli (NCEP ATP) III ve Türk Kardiyoloji Derneği Koroner Kalp Hastalığı Korunma Kılavuzu (TKD-KKHK) kardiyovasküler risk durumuna bakılmaksızın her 5 yılda bir 20 yaş ve üzerindeki tüm hastalar için açlık lipid profiline (TK, HDL-K, LDL-K ve TG) bakılmasını önermektedir [42, 43].

2.4. PARAOKSONAZ-1

2.4.1. Tarihçe:

Paraoksonaz, ilk olarak 1953 yılında Aldridge W.N. tarafından p-nitrofenil asetat, propiyonat ve butirat'ı hidroliz eden A-esteraz olarak tanımlanmıştır [44]. 1965 yılında, Ooms A.J. ve Boter HL tarafından, paratyon ve paraokson hidrolizindeki stereospesifikliği ile tanımlanmıştır [45]. 1973 'te bir grup Alman araştırmacı, ilk olarak insan serum paraoksonazını genetik olarak saptamıştır [46, 47]. Paraokson, metil paraokson ve klormetil paraoksona yüksek derecede seçicilik gösterdiği için, paraoksonaz olarak adlandırılmıştır. 1985 yılına kadar paraoksonazın nörotoksik olan organofosfatlar üzerine etkisi incelenmiş, saflaştırılması yapılmış ve detoksifikasyondaki rolü araştırılmıştır [48]. 1985 yılında Mackness ve arkadaşları, HDL-kolesterol ayrımı esnasında lipoprotein fraksiyonunda arilesteraz aktivitesine rastlamışlardır [46].

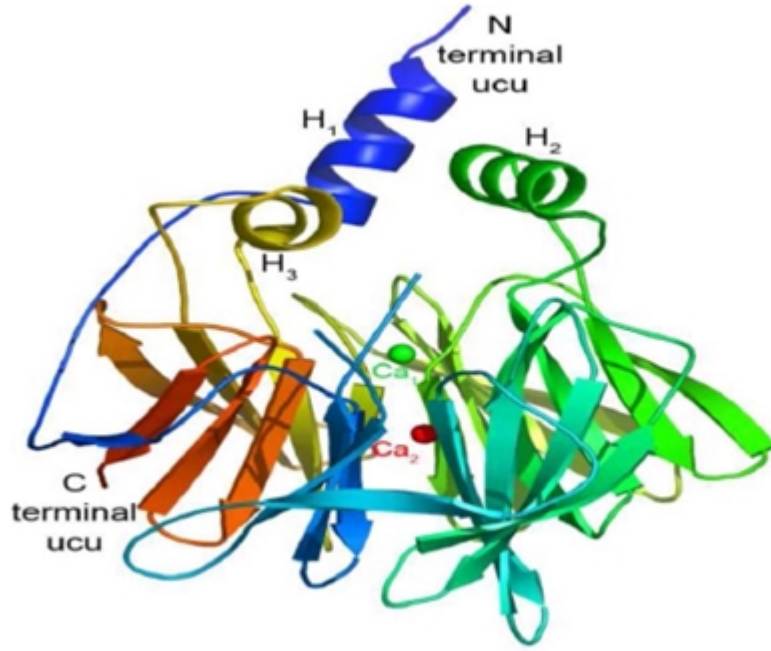
2.4.2. Paraoksonaz enzimi ve yapısı:

HDL bağımlı antioksidan bir enzim olan paraoksonaz (PON), LDL ve HDL'yi lipid peroksidasyonundan korumakta ve HDL'nin başlıca anti-aterosklerotik bileşeni olarak düşünülmektedir. Yapılan çeşitli çalışmalarda diyabet, ailesel hiperkolesterolemi ve böbrek rahatsızlıkları gibi ateroskleroz gelişimine yatkın bireylerde PON aktivitesinin düşük olduğu bulunmuştur [49]. PON enzim aktivitesinin yetişkinlerde yaştan artışıyla ilişkili olarak azaldığına dikkat çekilmiştir [50]. Paraoksonaz enzim aktivitesi, yeni doğanlarda ve prematüre bebeklerde yetişkindeki yaklaşık yarısı kadardır. Doğumdan yaklaşık bir yıl sonra erişkindeki düzeyine ulaşır [51]. Kardiyovasküler hastalıklara önyak olan diyet ve yaşam tarzı faktörlerinin PON-1 aktivitesini ve/veya konsantrasyonunu etkilediği gözlemlenmiştir [52, 53].

Memelilerde PON gen ailesinin PON-1, PON-2 ve PON-3 olmak üzere 3 üyesi olduğu belirlenmiştir. Bu üç paraoksonaz enzim genlerinin memeli türleri arasında yüksek benzerlik içeren bir aminoasit dizisine sahip olduğu bulunmuştur [54, 55]. PON-1 ve PON-3 karaciğerden sentezlenirken, PON-2 beyin, karaciğer, böbrek ve testisler gibi birçok organdan sentezlenmektedir [55]. PON-2 enzimi insanda hemen hemen tüm dokularda bulunmasına rağmen, serumda bu enzime rastlanamamıştır [56]. *In vitro* çalışmalarda PON-2'nin aynen PON-1'in gösterdiği LDL'nin lipid peroksidasyonunu önleme ve kısmen okside olmuş LDL'yi indirgeme gibi antioksidan özellikleri olduğu belirlenmiştir [56]. PON-3 plazmada HDL'ye bağımlı olarak bulunur ve ilk olarak karaciğerde tespit edilmiştir [57]. PON-3 enzimi LDL'yi oksidasyondan korumada PON-1'den daha etkilidir [58].

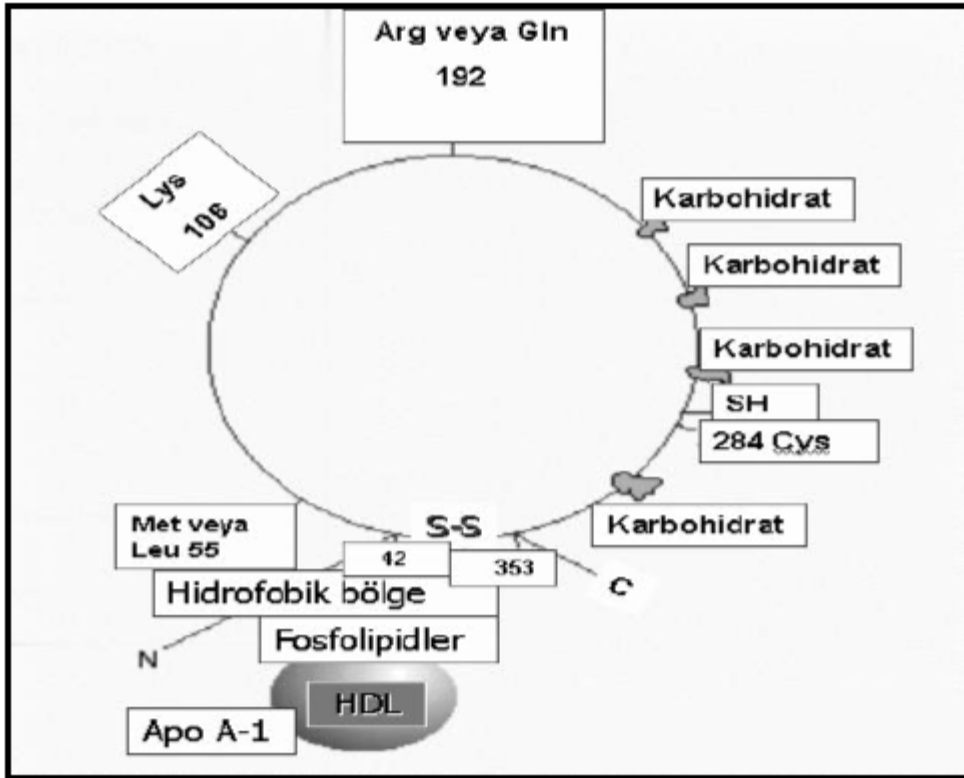
Paraoksonaz enzimi (PON-1, arildialkilfosfataz E.C.3.1.8.1) paraoksonaz, arilesteraz ve diazokson gibi üç aktiviteye sahip HDL ile ilişkili bir enzimdir [59]. Bu enzim karaciğerden sentezlenen Ca^{2+} bağımlı bir serum esteraz olan 354 amino asitli bir proteindir (43 kDa) [59, 60]. Enzim, paraoksonu p-nitrofenol ve dietilfosfata hidroliz edebilme özelliğinden dolayı bu ismi almıştır [61]. Paraoksonaz enzimi, paraoksondaki O-P ester bağının hidrolizinden sorumlu olan esterazdır [62]. Güçlü bir asetilkolin esteraz inhibitörü olan paraokson, bir böcek öldürücü olan paratyonun sitokrom P-450 enzim sisteminde mitokondriyal oksidasyonu ile oluşmaktadır. Enzimin üç boyutlu yapısında β -kırmalı tabakaların merkezinde birbirlerine 7,4 Å uzaklıkta 2 tane Ca^{2+} iyonu bulunmaktadır. Farklı afiniteye sahip olan bu kalsiyum iyonlarından birisi (Ca_1) üstte, diğeri (Ca_2) ise merkezde bulunmaktadır. Ca_1 yapısal

özellikli olup yapıdan uzaklaştırılması dönüşümsüz denatürasyona neden olmaktadır [63]. Katalitik etkinlikte rol oynayan diğer (Ca^{2+}) kalsiyum iyonu ise 2,2-2,5 Å uzaklığında bulunan 5 adet amino asit rezidüsü (Asn224, Asn270, Asn168, Asp269, Glu53) bir su molekülü ve fosfat iyonunun oksijeniyle etkileşim halindedir. PON-1 enzimi, pervane şeklinde yerleşmiş ve her biri 4 sıradan oluşan 6 adet β -kırmalı tabakadan meydana gelmiştir. Enzim, amino terminaline yakın 6D tabakasında bulunan Cys42 kalıntısı ile 6C tabakasında bulunan Cys353 kalıntısı arasında disülfid bağıyla bağlanarak üç boyutlu yapısını kazanmaktadır [64]. PON üzerinde 4 tane potansiyel N glikozillenme bölgesi vardır. İki tanesi (Asn227 ve Asn270) β -tabakaların merkezinde, diğer ikisi yüzeye bakan bölgede (Asn253 ve Asn324) yer almaktadır. PON-1 memeli hücrelerinde sentezlendikten sonra bu noktalardan glikozillenir [65]. Şekil-2. de paraoksonaz enziminin üç boyutlu yapısı ve Şekil-3. de paraoksonaz enzim yapısı yapıları görülmektedir [65, 66].



Sekil-2. Paraoksonaz enziminin üç boyutlu yapısı [65]

(Harel, M., Aharoni A., Gaidukov L., Brumshtein B., Khersonsky O., Meged R., Dvir H., Ravelli R.B., McCarthy A., Toker L., Silman I., Susman J.L., Tawfik D.S., 2004. Structure and evolution of the serum paraoxonase family of detoxifying and antiatherosclerotic enzymes. Nat. Struct. Mol. Biol., 11, 412-419.)

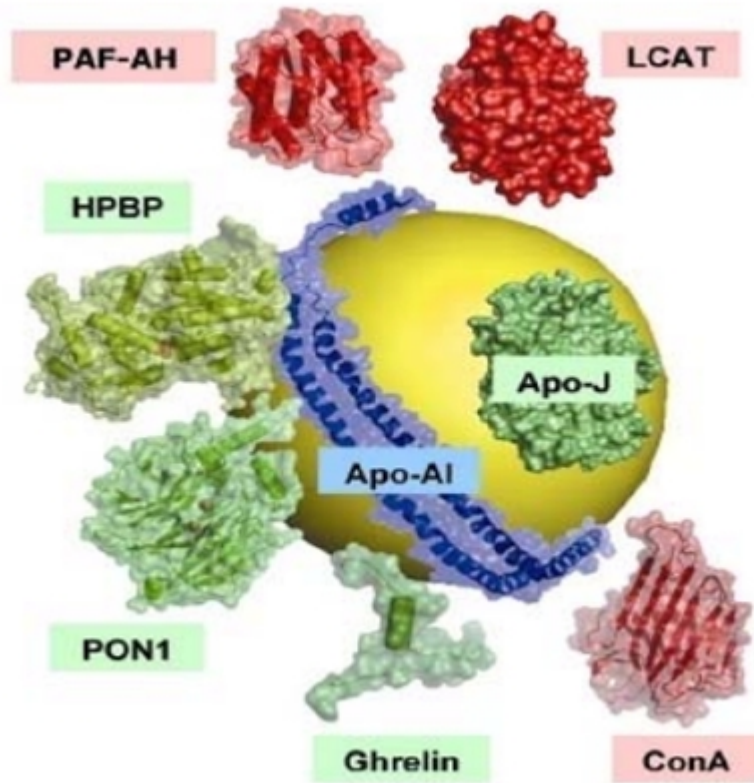


Şekil-3. Paraoksonaz enzim yapısı yapısı [66]

(Aviram M. Does paraoxonase play a role in susceptibility to cardiovascular disease? Mol Med Tod 1999; 5: 381_6.)

Paraoksonaz enzimine (PON-1) ilk olarak insan serumunun elektroforezi sonrası yüksek yoğunluklu lipoproteinlerde oluşan immuno çökeleklerde rastlanılmıştır [49]. Paraoksonaz hakkında yapılan ilk çalışmalar, enzimin organofosfatları, yaygın olarak kullanılan böcek ilaçlarını hidroliz etme özelliği üzerine yapılan çalışmalardır. Paraoksonaz enzimi detoksifiye ve anti-aterojenik etkileri ile bilinmektedir. PON-1 birçok organofosfat bileşiklerini, sinir ajanlarını (soman, sarin gibi) ve çevreyi tehdit edici özelliklerdeki böcek ilaçlarını (klorpirifoz, okson ve diazokson gibi) hidroliz etme özelliğine sahiptir. PON'un aynı zamanda aromatik karboksilik asit esterlerini ve laktonları da hidroliz edebildiği görülmüştür. Enzim, fenil asetat gibi diğer sentetik esterleri de yüksek bir katalitik verimle hidroliz edebilmektedir. İnsan serum PON-1 enzimi; HDL'nin yapısında olmakla birlikte öncelikli olarak LDL'yi oksidasyondan koruma gibi fizyolojik role sahip bir enzimdir [67]. Yapılan immunoafinite kromatografi çalışmaları insan serum paraoksonazın gerçekte apolipoprotein A-1 ve klusterin (Apolipoprotein J) içeren HDL tipleri ile ilişkili olduğunu ve PON'un toplam HDL'nin çok küçük bir bölümünü oluşturduğunu

göstermiştir [68]. Apo A-1, PON-1'in HDL ile birleşmesi için gerekli olmamasına rağmen PON-1-HDL kompleksinin stabilizasyonunu sağlar [69, 70]. Şekil-4 de HDL partikülü ve paraoksonaz enzimi görülmektedir[71].



Şekil-4: HDL partikülü ve paraoksonaz enzimi [71]

(Renault, F., Chabriere, E., Andrieu, J.P., Dublet, B., Masson, P., Rochu, D. 2006. Tandem purification of two HDL-associated partner proteins in human plasma, paraoxonase (PON-1) and phosphate binding protein (HPBP) using hydroxyapatite chromatography. Journal of Chromatography B, 836, 15–21)

2.4.3. Paraoksonaz-1 etkileri:

PON1, hidrolize ettiği organofosfat substratlarına geri dönüşümlü olarak bağlanır. PON1, dolaşıma giren organofosfatların nörotoksitesinden sinir sistemini koruyucu bir ajandır [72]. *In vitro* çalışmalar, PON1 ve PON3'ün LDL'nin lipid oksidasyonunu inhibe ettiğini, böylece ateroskleroza başlatan ve ilerleten okside lipid

seviyelerini azalttığını göstermiştir [73]. PON için bildirilen fizyolojik roller arasında; platelet-aktif edici faktör hidrolizi [74], lipid oksidasyonu, aterosklerotik vasküler hastalık için risk faktörü olarak bilinen homosistein tiyolakton hidroliz ve inaktivasyonu yer almaktadır [75]. PON1, makrofaj kolesterol biyosentezini inhibe eder ve makrofajlara kolesterol akışını stimüle eder [76, 77]. PON1 aynı zamanda kolesterol esterlerinin peroksitlerini metabolize eder [78]. PON'ların antiaterosklerotik aktivitesi HDL partikülleri üzerindeki lokalizasyonları ile yakından ilişkili olup; kolesterol (aterosklerotik lezyonlarda köpük hücrelerinden) akışına aracılık eder ve LDL'nin lipid oksidasyonunda sınırlama rolüne sahiptir. PON1, HDL'nin glikasyon ve homosisteinilasyon yatkınlığında modülatör etkiye sahiptir [79]. PON1'in LDL oksidasyonunun engellemesinde, Lesitin Kolesterol Açıltransferaz (LCAT) ve Apo A1 üzerinden etkili olduğu deneysel olarak kanıtlanmıştır [67].

2.4.4. Pon-1 polimorfizmi:

PON1 geninin kodlama bölgesi iki polimorfik bölge içerir; pozisyon 55'de lösin (L) ve metiyonin (M) (55 L>M) transizyonu ve pozisyon 192'de glutamin (Q) ve arginin (R) (192 Q>R) transizyonu. Kodlama bölgesindeki bu polimorfizme ilaveten, özellikle pozisyon 107/108'de olduğu gibi promotor bölgede önemli değişiklikler olduğu da rapor edilmiştir [80]. PON1 promotor bölgesindeki polimorfizm bağlantısı yüzünden, 55 L>M polimorfizmi enzim konsantrasyonunu etkiler. 55 L>M polimorfizmi, PON1'in HDL ile bağlanmasında rol oynayan N-terminal bölgesinde lokalizedir [80]. 192 Q>R polimorfizmi, enzimin hidrolitik aktivitesinde substrat farklılığından sorumludur. 192 Q/R polimorfizminde, Q aleline sahip kişilerde, R alelini taşıyanlara göre daha düşük PON1 enzim aktivitesi gözlenirken, 55 L/M polimorfizminde ise; MM homozigot bireylerde, LL homozigotlara kıyasla paraoksona karşı daha düşük PON1 aktivitesi bulunmaktadır [80].

PON1 gen polimorfizmleri, enzimin koruyucu fonksiyonunu engelleyerek koroner arter hastalığı riskini artırır [80]. PON1-192RR ve PON1-55LL genotipleri tip 2 diyabetli olgularda daha sık izlenmiş olup; DM, hiperkolestrolemi, böbrek yetmezliği gibi, koroner kalp hastalığı ile ilişkisi olduğu bilinen hastalıklarda, düşük serum PON1 aktivitesinin genotipten bağımsız olduğu çeşitli çalışmalarda rapor edilmiştir [80].

2.4.5. Pon-1 düzeyini etkileyen faktörler:

Paraoksonazın bireylerarası varyasyonu yüksek ise de, lipid metabolizması ile ilgili etkenler, sigara kullanımı, yaş ve diyet de bu farklılıkta etkindir [80]. Özellikle bazı ilaçlar (statinler, hipolipemik ve antidiyabetik ajanlar), diyet (antioksidanlar, polifenoller) ve yaşam tarzı, PON1 aktivitesini etkileyen faktörler arasında gösterilmektedir [80].

PON1 beslenme şeklinden etkilenir. Birçok çalışmada antioksidan alımı ve aterojen şartlar arasındaki ilişki araştırılmıştır [81, 82]. Proaterojenik diyetin PON1 aktivitesini azalttığı, antioksidan vitamin (vitamin E ve C) alımının ise LDL' yi oksidasyondan koruduğu gösterilmiştir [83]. Van der ve ark. ılımlı alkol alımının enzim aktivitesini arttırdığını bunun da HDL düzeyindeki artıştan kaynaklandığını açıklamışlardır [84]. Ayrıca sigara içimi PON1 aktivitesini ve konsantrasyonunu azaltır. Yapılan çalışmalarda, PON1 enzim aktivitesinin yaş artışıyla azaldığı görülmüştür [51]. Akut faz reaksiyonu sırasında PON1 aktivitesinin azaldığı düşünülmektedir [85].

Serum PON1 düzeyi kişisel özelliklere bağlı olarak çok değişkenlik gösterir. Serum aktivitesinde en önemli belirleyici faktör yaştır. Yeni doğanda en yüksek düzeyde olan enzim aktivitesi yaşla beraber giderek azalır [86]. Cinsiyet açısından bakıldığında ise kadınlarda erkeklere göre hafif düzeyde yüksek bulunmuştur [86]. Yağlı ve yüksek kalorili diyet alışkanlıkları PON1 düzeyini aşikâr şekilde değiştirmektedir. Yapılan çalışmalar doymuş ve trans yağlardan zengin diyet verilen sağlıklı kişilerde PON1 aktivitesinin % 6 oranında azaldığını göstermiştir. Zeytinyağı kullanımı ise tam tersine etki ederek PON1 aktivitesini artırmakta ve bu etki özellikle kadınlarda daha belirgin olmaktadır. Ayrıca sigara kullanımı enzim düzeyini düşürürken, bazı ilaçların (statinler, aspirin, fenofibratlar, dexametazon gibi) PON1 düzeyinde ve aktivitesinde artışa neden olduğu bilinmektedir [86].

2.4.6. Klinik önemi:

Son yıllarda yapılan çalışmalarla, aterosklerozun patogenezinde oksidatif stresin önemli rol oynadığı gösterilmiştir. Serumda bulunan LDL, oksidasyona maruz kalarak aterojenik şekli olan okside LDL formuna dönüşmekte ve okside ürünlerin makrofajlarda birikimiyle köpük hücreleri oluşmakta; böylelikle endotelyumda yağ çizgileri meydana gelmektedir. Son olarak da aterom plağı gelişmektedir [87]. Bu sürecin, başlangıç aşamasında serum PON aktivitesinin koruyucu rol oynadığı ileri

sürülmüştür. Bu nedenle, LDL'nin oksidatif modifikasyonunun önlenmesi ateroskleroza karşı savunmada öncelikle gereklidir [87]. PON1, sadece lipoproteinlerle ilişkili peroksidlerin (kolesteril linoleat hidroperoksidler) değil, aynı zamanda H₂O₂ üzerine de etkilidir. H₂O₂ ateroskleroz oluşumu sırasında arteriyel duvar hücreleri tarafından üretilen başlıca reaktif oksijen metabolitidir ve oksidatif stres sırasında daha potent radikallere dönüştürülerek LDL oksidasyonuna neden olur. HDL ile ilişkili PON1'in H₂O₂'yi hidroliz edebilme özelliği ateroskleroz sırasında oluşan oksidanların elimine edilmesinde önemli rol oynayabilir. Ayrıca diabetes mellituslu ve kronik renal yetmezlikli hastalarda PON1 aktivitelerinin düştüğü bildirilmiştir [87].

2.4.7. Tip 2 DM ve PON-1 :

Tip 2 DM gelişme sürecinde öncelikle ortaya çıkan, dokuların insülin etkisine karşı direnç geliştirmesidir; hiperglisemi ise daha sonra belirir. Dokuların insülin duyarlılıkları birbirinden farklı olduğundan, insülin direnci başladığında öncelikle kasta glukoz yıkımı azalır ve bu postprandial hiperglisemiye yol açar. Bu durumu daha belirgin bir insülin etkisizliği izler ve karaciğerden glukoz çıkışı artar. Persistan hipergliseminin serbest radikal üretimine ve proteinlerin glikolizasyonuna neden olduğu gösterilmiştir. Serbest radikal üretimindeki artış ve proteinlerin glikolizasyonu, endotel bütünlüğüne zarar vermekte, ayrıca LDL oksidasyonunu ve köpük hücre oluşumunu arttırmaktadır [88].

Diyabetiklerde PON1'in azalma mekanizması tam bilinmemektedir. Fakat artmış glukoz konsantrasyonu ile ilişkili olabileceği düşünülebilir. Glikasyon hem PON'u inaktive eder hem de HDL üzerindeki lipid peroksidasyonun arttırır. Glike HDL oksidasyona da dirençsiz hale gelir [89].

Diyabetiklerde PON1 aktivitesindeki düşüş PON1 enzimidaki glikozilasyon nedeniyle enzim aktivitesindeki azalmadan kaynaklanıyor olabilir. Tip 1 diyabetik hastalarda endotel disfonksiyonu ve uzun dönemde makrovasküler komplikasyonların patogenezinde PON1 aktivitesindeki azalmanın da rol oynadığı ileri sürülmektedir [90].

2.4.8. Koroner Arter Hastalığı Gelişiminde PON-1

PON-1 enziminin hem serumda hem de makrofajlarda direkt etkisi ile oksidatif stresi azalttığı ve bu nedenle PON-1 enzimi eksik olan insanlarda ateroskleroz gelişiminde artış gözlemlendiği rapor edilmiştir. Serum PON-1 enzim düzeyi ve aktivitesi koroner arter hastalarında diğer nedenlerden bağımsız şekilde düşük bulunmuştur. PON-1 enzim aktivitesinin koroner arter hastalığı açısından bir risk belirteci olabileceği düşünülmektedir. Ayrıca koroner arter hastalarında PON-1, HDL kolesterol ve apo A-I düzeylerinde düşüklük tespit edilmiştir [86].

Tip 2 diyabetik Türk hastalarda yapılan bir araştırmada anjiyografi ile koroner arter hastalığı tespit edilen hastalar darlığın derecesine göre sınıflandırılarak PON-1 aktivitesi ile ilişkisi incelenmiştir [91]. Bu çalışma sonucunda koroner darlığı az olan ve diyabet süresi daha kısa olan hastalarda PON-1 aktivitesi en yüksek bulunurken, darlığın derecesi ve diyabet süresi arttıkça PON-1 enzim aktivitesinde düşme olduğu görülmüştür. Bu da diyabetik hastalarda PON-1 enziminin lipid peroksidasyonundan koruyucu etkisinin azalması sonucu KAH riskinin bu hastalarda artmış olabileceğini düşündürmektedir. Yapılmış olan pek çok çalışmada hem tip 1 diabetes mellitus, hem tip 2 diabetes mellitus hastalarında kontrol grubu ile karşılaştırıldığında serum PON-1 düzeyinde azalma olduğu tespit edilmiştir. Makrovasküler komplikasyonları olan diyabetik hastalarda PON-1 aktivitesinin mikrovasküler komplikasyonu olanlara göre daha düşük olduğu gözlenmiştir. Ayrıca PON-1 aktivitesi ile HbA1c değeri ve vasküler komplikasyonlar arasında negatif bir korelasyon olduğu düşünülmektedir [92] [93] [94].

2.5. LESİTİN KOLESTEROL AÇIL TRANSFERAZ ENZİMİ

2.5.1. Enzim ve Yapısı:

60 kDa ağırlığında bir glikoprotein olan LCAT, 416 aminoasit kalıntısı içeren tek bir polipeptid zincirinden oluşmuştur ve en önemli fizyolojik reaksiyonu kolesterol ve lesitin, kolesterol esteri ve lizolesitine dönüşümünü sağlamasıdır [95].

Büyük bir bölümü karaciğer tarafından sentezlenen bu enzim plazmadaki kolesteril ester miktarını kontrol eder, trigliseritten zengin lipoproteinlerin katabolizmasında rol oynar, ayrıca kolesterol geri taşınımında HDL ve LDL'ler üzerinde aktiftir [96-98].

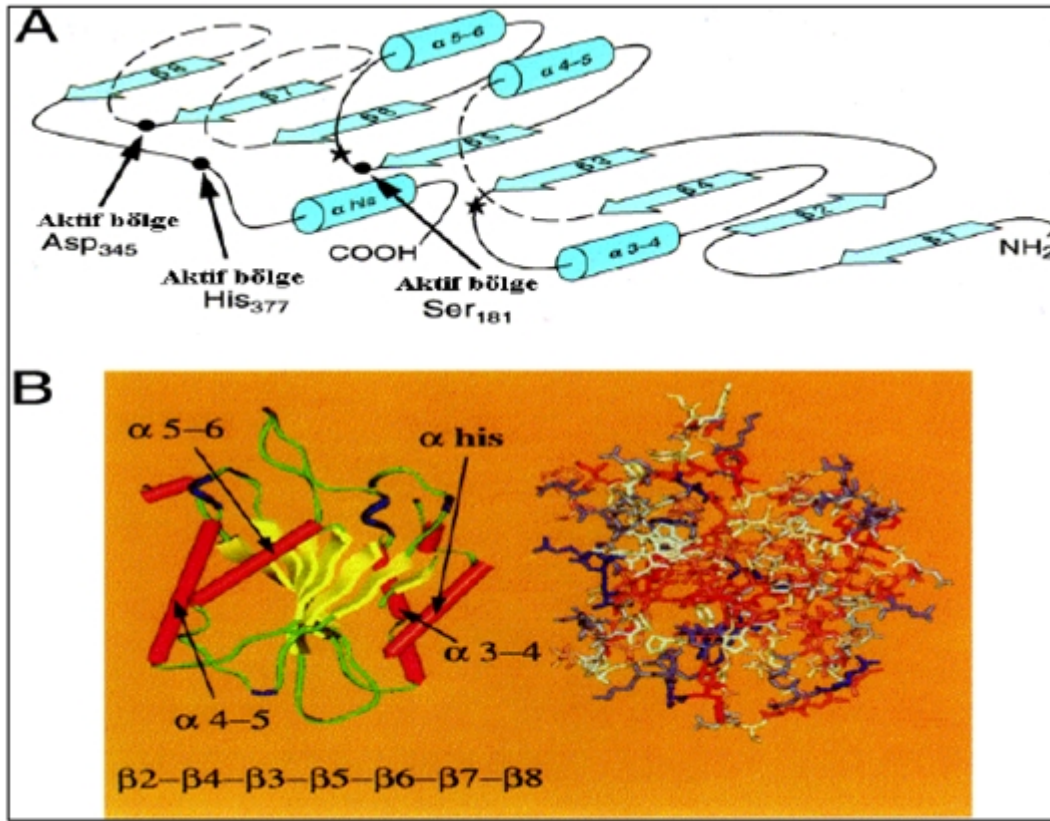
LCAT'ın tercih ettiği substrat, LCAT'ın aktivatörü olan apolipoprotein A-1 (apo A-I)'i barındıran HDL'dir. Kolesterol esterlerinin HDL'de oluşumu ve birikimi, sadece kolesterolü HDL'nin yüzeyinden temizlemekle ve kolesterolün hücre membranlarından HDL'nin içine geçişini sağlamakla kalmaz, ayrıca HDL'de bazı yapısal değişikliklere de neden olur. Diskoidal HDL, kolesterol esterleri biriktikçe şişerek yuvarlak bir yapıya dönüşür. Bunu takip eden transferler CETP tarafından katalizlenir ve fazla kolesterol esterleri HDL'den LDL'ye ve VLDL'ye aktarılır. LCAT bir plazma enzimi olarak ilk defa Glomset tarafından 1962'de tanımlanmıştır [99].

Daha sonraki çalışmalarda LCAT'nin 49 kDA'lık polipeptid ağırlıklı bir glikoprotein olduğu görülmüştür. Ağırlığı 60 kDA'ya kadar artabilen ve yapısında %20 karbonhidrat içeren bir enzimdir. İkincil yapısı a-heliks ve b-pileli tabakalardan oluşmuştur. İkincil ve üçüncül yapı ve fonksiyon olarak a/b hidrolaz katlanmaları olan lipaz ailesi ile benzerlik göstermektedir [100, 101].

Proteinin aktif bölgesi diğeri serin-tipi esterazlarla karşılaştırılarak tanımlanmıştır ve Gly-X-Ser*-X-Gly dizisi içerir (Ser* serin aktif bölgesini göstermektedir). LCAT enziminin hem fosfolipaz A2 aktivitesi hem de açıltransferaz aktivitesi bulunur [102] [97, 103, 104].

LCAT enziminin lineer yapısında 4 glikan zinciri bulunur. Bu zincirlerin kesin görevi bilinmese de enzimin plazma içindeki çözünürlüğünü arttırmada ve hücre zarına nonspesifik bağlanmaları önlediği düşünülmektedir. Ayrıca karbonhidrat zincirleri LCAT'ın kültüre hücrelerden verimli sentezi için gereklidir, bu zincirlerin tekli olarak bloke edilmesi enzimi katlanmalarını ve sekresyonunu etkilemez, sadece enzimatik aktiviteyi ve HDL ile etkileşimi etkiler [105].

LCAT'ın en önemli fizyolojik reaksiyonu kolesterol ve fosfatidilkolin (PC)/lesitini kolesterol ve lizofosfatidilkoline (lysoPC) çevirmesidir. Lipoproteinlerin yüzeyinde lesitin sn-2 yağ asidini kolesterolün serbest 3b-OH grubuna transačilasyonunu katalizler. Böylece lizolesitin ve kolesterol esterleri oluşur [99]. Şekil-5. de LCAT enzim yapısı görülmektedir[106] .



Şekil-5. LCAT enzim yapısı [106]

LCAT proteinin ikincil ve üçüncül yapısı. (A) alfa/beta hidrolaz katlanmalarının topolojisi. İnsan LCAT'si beta 1 ipliği içermez. Katalitik bölge rezidüleri noktalarla ve diğer aktif bölge rezidüleri yıldızlarla belirtilmiştir. (B) LCAT merkez bölümünün (core structure) 3 boyutlu modeli. Şekilde katalitik triad yukarıdaki ilmiklerde (loop) ve merkezde gösterilmiştir [106].

(Peelman F., Vinaimont N., Verhee A., Vanloo B.,Verschelde JL, Labeur S, Seguret-Mace T, Duverger N, Hutchinson G, Vandekerckhove J, Tavernier J, Rosseneu M. A proposed architecture for lecithin cholesterol acyl transferase (LCAT): identification of the catalytic triad and molecular modeling. Protein Sci. 1998;7:587-599.)

2.5.2. LCAT ve Kolesterol Geri Taşınımı

Kolesterol geri taşınımı kolesterolün periferik dokulardan karaciğere ve bağırsaklara taşınarak kandan uzaklaştırılmasıdır. Böylece kolesterolün arter duvarlarında ve dokularda birikimi önlenerek ateroskleroza karşı korunmak amaçtır. Karaciğere ve bağırsaklara geri dönen kolesterol, yeni salgılanan plazma lipoproteinlerine geri kazanılacak, bir kısmı da ya serbest kolesterol olarak ya da

degrade olup safra asitlerine dönüşerek safraya atılacaktır. Safradaki serbest kolesterol bağırsaklarda işlenerek plazmada şilomikronlar olarak tekrar karşımıza çıkar. Lipolizden sonra şilomikron kalıntıları da karaciğer tarafından sindirilir [107]. Kolesterolün karaciğere geri taşınımı ilk Glomset'in [108] tanımladığı gibi kolesterolün hücre içi serbest kolesterol iken hücre dışına çözünmez esterifiye kolesterol olarak çıkmasını kapsayan aktif taşınımını içerir. Kolesterol geri taşınımı dinamik bir olay olsa da bu olaya katılan proteinlerden bazıları enerji bağımsızdır ve konsantrasyon gradyanına göre çalışırlar. Bunlar, PLTP (fosfolipid transfer protein) ve CETP (kolesteril ester transfer protein)'dir. Kolesterol geri taşınımı başlıca dört bölüm halinde incelenir. Akım, esterifikasyon, transfer ve eliminasyon.

Kolesterol akımı damar duvarındaki makrofajların hücrelerden dışarı kolesterol salınımını sağlayan kolesterol geri taşınımının ilk adımıdır. Burada ATP bağlayıcı membran transport proteini (ABCA1) kolesterolün hücre dışına çıkmasında majör rol oynar. Diğer ilgili moleküller scavenger reseptör B1 (SR-B1), pasif difüzyon, caveolin ve Cyp27A1'dir. Geri taşınımında en önemli moleküller HDL ve ilgili apolipoproteini olan apoA-1'dir

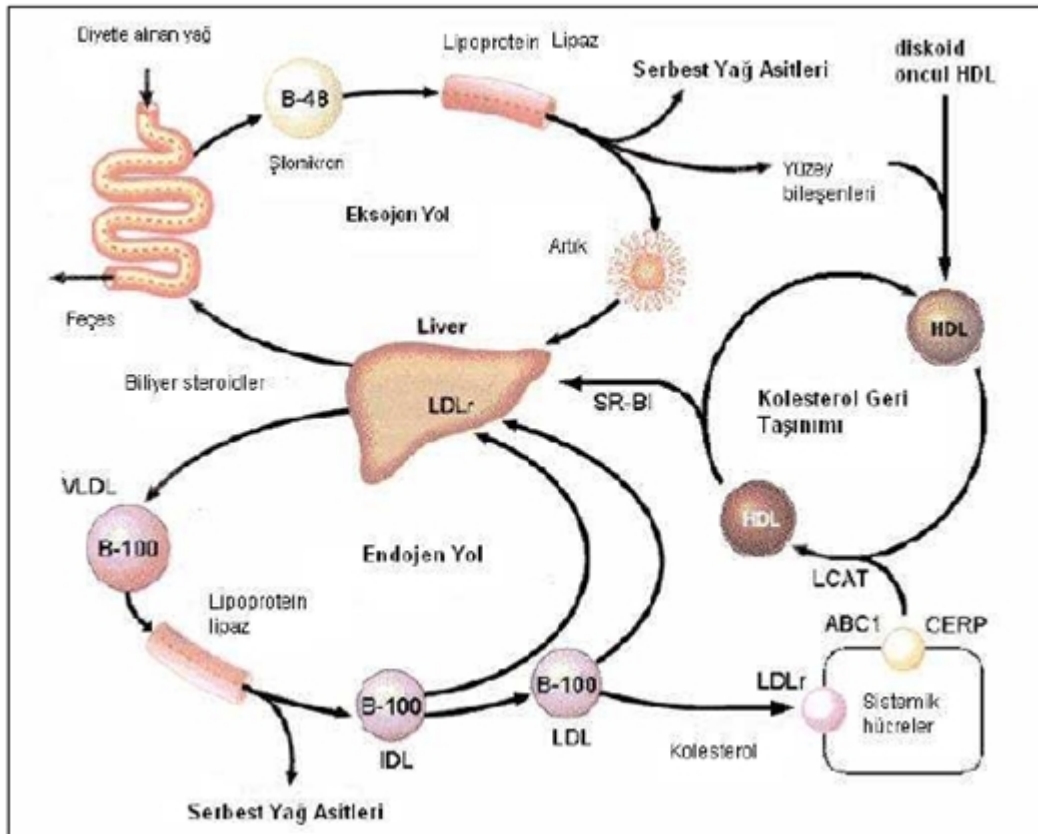
. Karaciğerden sentezlenen apo A-1, serum fosfolipidleriyle etkileşerek diskoidal HDL'yi (ndHDL) oluşturur, ndHDL makrofajlar ve fibroblastlardan hücre dışına kolesterol akımını uyarır. Dışarı çıkan kolesterol ndHDL tarafından alınarak LCAT enzimi tarafından esterleşir, suda çözünmez hale gelir ve HDL hacmi büyüyerek sırasıyla HDL 3 ve HDL 2 isimlerini alır. PLTP iki HDL 3 'ü birleştirmek suretiyle HDL hacmini büyütür ve HDL 3 'ün HDL 2 'ye dönüşümünde rol alır. Burada bir denge söz konusudur, eğer HDL fazla trigliserid ile yüklenmişse hepatik Lipaz (HL) fosfolipidden zengin HDL 2 'yi HDL 3 'e dönüştürür. HDL 2 SR-B1 yardımıyla karaciğere alınır. Diğer bir yol da CETP sayesinde HDL 2 'deki kolesterolün LDL'ye transfer edilmesi ve LDL reseptörü (LDL-R) tarafından karaciğere alınmasıdır [109].

LDL'nin kolesterol ters transportuna katılması LCAT eksikliğinde neden koroner arter hastalığını bir dereceye kadar koruduğunu kanıtlar. Karaciğere alınan kolesterol safra tuzlarına çevrilir ve mide bağırsak sistemi tarafından elimine edilir [109].

HDL'de kullanılacak kolesterol periferik dokulardan veya diğer lipoproteinlerden köken alsa da LCAT substrat olarak HDL'yi tercih eder. LCAT plazmada primer olarak HDL ile ilişkili gözüktüğü de enzimin LDL'de de aktif olduğu

gözlenmiştir. Esterifiye kolesterolün %73'ü HDL'de, %25'i LDL'de ve %1'inden azı da VLDL'de bulunmaktadır [110].

Hem HDL partikül büyüklüğü [105, 111] hem de elektriksel yükü [112] LCAT aktivitesini etkilemektedir. LCAT ile HDL3 ilişkisi araştırılmış, LCAT'ın en çok HDL3 üzerinde aktif olduğu gözlenmiştir. Değişik HDL partiküllerinde kolesterol içeriğini değiştirmek partikül net negatif yükü etkilemiş ve apo A-1'deki yük değişikliği LCAT'daki kolesterol esterifikasyon hızını etkilediği görülmüştür. Bu da apo A-1'deki yükün (charge) LCAT aktivasyonunda önemli rol oynadığını ve bu değişimlerin HDL partikülleri üzerindeki kolesterol miktarındaki değişimden kaynaklandığını görmek açısından önemlidir [112]. Şekil-6. da kolesterol sentezinde endojen - eksojen yol ve kolesterol geri taşınımı görülmektedir [29].



Şekil-6: Kolesterol sentezinde endojen - eksojen yol ve kolesterol geri taşınımı [29]

(Smith LC, Pownall HJ, Gotto AM Jr. The plasma lipoproteins: structure and metabolism. Annu Rev Biochem. 1978;47:751-7.)

2.5.3. Koroner Arter Hastalığı ve LCAT

Koroner arter hastalarında LCAT aktivitesi ve HDL düzeylerindeki azalmayla birlikte apo-A1 düzeylerinin de azaldığını bilinmektedir. Ters kolesterol taşınımındaki rolü nedeniyle koroner arter hastalığına karşı koruyucu etkisi olan HDL kolesterolün bu etkisi en iyi HDL-2 kolesterol düzeyi ile anlaşılmaktadır. Koroner arter hastalarında HDL2 kolesterol düzeylerinin azaldığı saptanmış ve düşük HDL düzeylerinin koroner arter hastalığının iyi bir göstergesi olduğu bildirilmiştir. HDL kolesterolün ters kolesterol taşınımındaki rolünün yanısıra antioksidan etkiye de sahip olduğu ve LDL'yi oksidasyondan koruduğu bildirilmiştir [95].

LCAT enziminin üzerinde yoğunlaşılmasının sebebi uzun zamandır devam eden Framingham Kalp Çalışması'nda [113, 114] KAH'ın 44%'ünün erkeklerde HDL-K 40 mg/dl, 43%, kadınlarda HDL-K 50 mg/dl iken gözlenmesi ile varılan sonuç KAH'nın belirgin bir yüzdesinin normal LDL-K ve HDL-K kolesterol seviyeleri olan kişilerde oluşmasıdır. Bu da kolesterol çalışmalarında HDL'de bulunan enzimlerin ve aktivitelerinin araştırılmasının kolesterol metabolizmasında HDL-K'nın ne derece etkili olduğunu göstermesi ve kolesterol metabolizmasında HDL-K seviyelerinden daha güçlü belirteçlerin olabileceği açısından önemlidir [114].

Ters kolesterol taşınımında yer alan bu basamaklarla ilgili bozuklukların koroner arter hastalığı gelişiminden sorumlu olabileceği ileri sürülmüştür. Ters kolesterol taşınımındaki merkezi rolü nedeniyle LCAT enzimi de önemli bir proteindir ve bu protein aktivitesindeki değişiklikler de koroner arter hastalığı gelişiminden sorumlu tutulmaktadır [95].

2.5.4. LCAT ve Ateroskleroz

LCAT, kolesterol geri taşınımında rol oynadığı ve çevre dokulardan HDL'ye kolesterol akımını konsantrasyon gradyenti yaratarak sağladığı için [115] aterosklerozdan korunmada rol oynadığı düşünülmektedir. LCAT sadece HDL'nin yapısını değiştirmekle kalmayıp kolesterol geri taşınımında rol alan diğer proteinlerle ilişkisini de etkilediği için önemlidir. LCAT'nin diğer koruyucu özelliği LDL üzerinde okside fosfotidilkolini hidrolize ederek okside fosfotidilkolinin dolaşımdaki LDL partikülleri üzerinde birikmesini önleyerek makrofaj scavenger reseptörleri tarafından alınmasını önlemesidir. LCAT eksikliğinde LDL katabolizması da yavaşlayacağı için plazma ApoB seviyesinin ve dolayısıyla LDL'nin artışının prematür kardiyovasküler

hastalığa sebep olduğu düşünülmektedir [116, 117]. Bu kişilerdeki ateroskleroza yatkınlık LDL'nin katabolizmasının yavaşlaması ve bu yüzden kanda seviyesinin artmasından meydana gelmektedir. LCAT'nin kısmi eksikliğinde kolesterol ters transportu ApoB içeren LDL ile sağlanır. LCAT'ın tamamen eksikliğinde eğer hem a hem b aktivitesi engellenmişse HDL'nin matürasyonu bozulsada LCAT'deki mutasyonların genç yaşta gelişen (prematür) ateroskleroza neden olması beklenmez. Bunun sebebi LCAT ve HDL ile paralel olarak LDL seviyelerindeki düşüklüktür [118]. Ancak LCAT fonksiyonunda düşüklük fenotipe yansımayan polimorfizmlerde yani LDL düşüklüğünün eşlik etmediği durumlarda daha belirgin olarak karşımıza çıkar ve bu fonksiyon kaybı ateroskleroza tetikleyen belirleyici unsurlardandır [119]. Burada LCAT'nin plazma konsantrasyonundan başka aktivitesinin ve hangi tip HDL'nin etkilendiği belirleyici unsur olmaktadır. Son çalışmalarda özellikle hasta ailelerinde prematür koroner arter hastalığına rastlanmıştır. Ayrıca anjiyografi ile belgelenmiş koroner arter hastalarında [120] ve miyokard enfarktüsünden sonra sağ kalan hastalarda LCAT aktivitesinin düşüklüğü (kontrollere kıyasla %24-50) çok belirgindir [121].

2.5.5. LCAT ve Tip 2 DM

HDL kolesterolün glisemi bağımlı glikozilasyonun LCAT aktivitesini azalttığı düşünülmektedir. Glikolize HDL düzeyi ile HbA1c arasında ilişki olduğu gösterilmiştir. Bununla ilişkili olarak da tip 2 diabetes mellitusda HbA1c düzeyi LCAT aktivitesini belirleme konusunda kolaylık sağlayacağı düşünülmektedir [122].

Glikozile HDL direk olarak ateroskleroza artışa yol açmaktadır [122]. Antoksidan enzimlerden katalaz ve cu/zn superoksit dismutaz ekspresyonunda downregülasyona neden olur ve endotel hücrelerinde reaktif oksijen ve reaktif nitrojen türlerinin üretimini değiştirir. Glikozile HDL mitokondrial disfonksiyonu ve endotel hücre apoptozisini indükler ve tip 2 diabetes mellitusda ateroskleroz gelişimini hızlandırır [123].

HbA1c sadece glisemik kontrol konusunda bilgi sağlamanın dışında düşük HDL düzeyi ile ilişkilidir ve bu nedenle lipid profili değerlendirilmesi konusunda önemli bir biyomarkerdir. Yüksek HbA1c düzeyi HDL glikolizasyonunu artırmakta ve bu da ateroskleroza katkıda bulunan LCAT aktivitesinde düşmeye yol açtığı düşünülmektedir [123]

2.6. HIGH SENSİTİF C-REAKTİF PROTEİN

C-reaktif protein (CRP) karaciğerde üretilen pentamerik bir akut faz proteinidir. Hepatositler tarafından CRP sentezi, transkripsiyon evresinde IL-6 (interlökin-6) tarafından uyarılır ve bu uyarıya IL-1b artırıcı etki yapar. C-reaktif proteinin nöronlar, aterosklerotik plaklar, monositler ve lenfositler tarafından gerçekleştirilen ekstrahepatik sentezinden de bahsedilmektedir. Bu bölgelerde sentezin nasıl kontrol edildiği iyi bilinmese de, plazma CRP düzeyine bu sentez yerlerinin de etkisi olmaktadır [124].

C-reaktif protein inflamasyonun spesifik olmayan bir biyokimyasal belirteçidir. Düzeyi akut inflamatuvar durumlarda veya doku hasarında geçici olarak 1000 kata kadar artmakta, kronik inflamatuvar olaylarda ise sürekli yüksek değerler izlenmektedir. Birçok çalışmada, CRP ve diğer inflamasyon belirteçlerinde yükselme ile seyreden kronik inflamatuvar ve otoimmün olaylarda kardiyovasküler riskin de arttığı görülmüştür. Fonksiyonel olarak CRP, vasküler hastalığın ilerlemesini de etkilemektedir. C-reaktif proteinin inflamatuvar reaksiyonda birçok olayı aktive ettiği in vitro çalışmalar ile gösterilmiştir. İnsan endotel hücrelerinde ise CRP, VCAM-1(vascular cell adhesion molecule) , ICAM-1(intercellular adhesion molecule) ve E-selektin gibi hücre adhezyon moleküllerinin ve MCP-1'in ekspresyonunu sağlar. Ayrıca C-reaktif protein okside LDL kolesterole, parsiyel olarak yıkıma uğramış LDL kolesterole bağlanarak kompleman aktivasyonunu gerçekleştirir ve LDL kolesterolün makrofajlar tarafından alımını kolaylaştırır[124]. Diğer inflamatuvar belirteçler ile karşılaştırıldığında, CRP'nin kardiyovasküler hastalık riskini saptamadaki yeri daha belirgindir. C-reaktif protein düzeyleri biyokimyasal yöntemlerle taze veya donmuş plazmada kolay ve ucuz olarak ölçülebilmektedir. Sağlıklı bireylerde normal sınırlar içinde kabul edilebilen CRP değerlerinin bile aterosklerotik vasküler hastalığın bağımsız bir belirleyicisi olabileceğinin gösterilmesi üzerine, subklinik inflamasyonu belirlemek için CRP tayininde yüksek duyarlıklı yöntemler (high sensitivity CRP-hsCRP) uygulanmaya başlamıştır. Başlıcaları immünradyometrik, immünnefelometrik ve immünturbidimetrik yöntemler olan yüksek duyarlıklı bu yöntemlerin sonuçları karşılaştırılabilir düzeydedir. Günümüzde vasküler risk ve prognoz belirlemeye yönelik çalışmalarda hsCRP ölçümlerine başvurulmaktadır [124].

Günümüzde, aterosklerozun damarsal bir inflamasyon olduğu görüşü, yaygın olarak kabul görmektedir. CRP'nin kardiyometabolik hastalıkların patogenezinde önemli rol oynadığını gösteren kanıtlar artmaktadır. Aterosklerotik damarlarda

bulunması, normal damarlarda bulunmaması, CRP'nin yalnızca basit bir inflamasyon belirtici değil; aynı zamanda plak oluşumu, plak olgunlaşması ve yırtılmasını da içeren aterosklerozun tüm basamaklarında aktif bir rol üstlendiğini göstermektedir. Yapılan birçok prospektif çalışmada; dolaşımdaki hs-CRP'nin sağlıklı kişilerde gelecekte koroner kalp hastalığı, hipertansiyon, ani kardiyak ölüm ve serebrovasküler hastalıkların önemli bir habercisi olduğu gösterilmiştir [125].

2003 yılında Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezi (CDC) ile Amerikan Kalp Cemiyeti (AHA) tarafından, hs-CRP ölçümünün inflamasyonun sensitif bir göstergesi olduğu ve kardiyovasküler risk değerlendirmesinde diğer kanıtlanmış risk faktörlerine ilave edilebileceği açıklanmıştır [126].

Metabolik sendrom, ateroskleroz, diyabet ve insulin direnci gelişiminde, düşük dereceli inflamasyonun rolüne yönelik birkaç hipotez öne sürülmüştür [126, 127]:

1. IL-6, insulinin sinyal iletimini etkileyerek insulin reseptörüne bağlanmasını engellemektedir.
2. IL-6, Kortikosteroid bağlayıcı globulin düzeyini azaltır. Böylece dolaşımdaki serbest kortizol seviyesi artar, insulin direnci ve metabolik sendromun diğer komponentleri oluşur.
3. IL-6, Lipoprotein lipaz aktivitesini inhibe ederek esterleşmemiş yağ asitlerinin (NEFA) konsantrasyonunu artırır. Bunun sonucu olarak dislipidemi ve insulin direnci meydana gelir.
4. Adipoz dokudan IL-6 uyarısı ile TNF-alfa ve IL-1 gibi proinflamatuvar sitokinler salgılanır. TNF-alfa insulin aracılı glukoz kullanımını azaltır ve endotelial disfonksiyona yol açar.
5. Proinflamatuvar sitokinler muhtemelen CRP' in yaptığı gibi, direkt olarak ateroskleroza başlatırlar. Bununla birlikte nükleer faktör .B' yi indükleyerek adezyon molekülleri ve PAI-1 (plazminojen aktivatör inhibitörü-1)' in salınması ile trombozu başlatırlar.
6. CRP, aterosklerotik plak zemininde kompleman aktivasyonu ile mevcut inflamasyonu artırmaktadır.

Hs-CRP ölçümleri, kardiyovasküler hastalık göstergesi olarak konvansiyonel CRP ölçümlerine göre daha güvenilir sonuçlar vermektedir [128, 129]. Amerikan Kalp Cemiyetinin önerdiği hs-CRP değerlendirmesi şu şekildedir: [126];

<u>hs-CRP düzeyi</u>	<u>Kardiyovasküler risk</u>
-----------------------------	------------------------------------

< 1 mg/ L	Düşük risk
1-3 mg/ L	Orta risk
> 3 mg/ L	Yüksek risk

Diyabet ve aterosklerozun patogeneğinde inflamasyon önemli bir rol oynamaktadır. Serum CRP yüksekliği ile insülin direnci arasında birliktelik bulunmaktadır. Yapılan prospektif ve kesitsel çalışmalarda CRP'nin artmış diabet gelişme riski ve kardiyovasküler hastalık riski ile birlikteliği gösterilmiştir [130-133].

2011 de Zorica Rasic-Milutinovic ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada serum PON-1 düzeyi ile high sensitif CRP düzeylerinin negatif yönde korelasyonun olduğu gösterilmiştir. Ancak düşük PON-1 aktivitesinde bağımsız bir belirteç olduğu kanıtlanamamıştır [134].

CRP sentez ve salınımında esas organın karaciğer olmasının yanısıra bu proteinin vasküler duvarda da üretildiği gösterilmiştir. Anty ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada interlökin-6 stimülasyonu altında yağ dokudan CRP gibi akut faz proteinlerinin sirkülasyondaki düzeyinin arttığı gösterilmiştir. Third National Health and Nutrition Examination Survey verilerinde CRP düzeyleri ile vücut kitle indeksi arasında ve kardiyovasküler hastalık arasında güçlü ve pozitif bir ilişki olduğu gösterilmiştir [134] .

Geniş, randomize, prospektif birçok çalışmanın sonuçları, bazal hsCRP değerlerinin tip 2 Diabetes mellitus hastalarında gelecekteki kardiyovasküler riski belirlemede yeri olabileceğini düşündürmektedir [124].

3. ARAŞTIRMA GRUBU VE YÖNTEM

Araştırmamız vaka kontrollü bir araştırma olarak tasarlandı. Dokuz Eylül Üniversitesi Girişimsel Olmayan Araştırmalar Etik Kurul komitesinin 27/09/12 tarihli 2012/31-09 numaralı kararı ile (protokol no: 739-GOA) çalışmamız için etik kurul onayı alındı. Araştırmamız 01/11/12 - 31/06/13 tarihleri arasında yapıldı.

3.1. Araştırma Grubu

Araştırma grubu, tip 2 diabetes mellitus tanılı 39 birey ve benzer yaş aralığındaki ve benzer demografik özelliklere sahip 41 nondiyabetik birey olmak üzere iki farklı hasta grubundan oluşturuldu. Araştırmaya dahil edilen kişiler, DEÜTF Hastanesi Endokrinoloji Polikliniğinde tip 2 diabetes mellitus tanılı rutin olarak takip edilen ve rutin kontrol ve muayene için gelen ve araştırma protokolüne uygun benzer yaş aralığındaki bireylerden oluşturuldu. Araştırmaya katılmaya gönüllü olan bireyler tip 2 diabetes mellitus tanısı olan ve nondiyabetik grup olmak üzere iki gruba ayrıldı. Araştırmaya katılmayı kabul eden olgulardan yazılı onam alındı ve araştırma sırasında Helsinki bildirgesine uyuldu.

Hastaların çalışmaya alınma kriterleri:

Hasta grubu

- * Tip 2 diabetes mellitus tanısı alan hastalar
- * 18 yaşından büyük hastalar
- * 65 yaş altı bireyler

Kontrol grubu

- * Araştırmaya katılmayı kabul eden sağlıklı bireyler
- * 18 yaşından büyük hastalar
- * 65 yaş altı bireyler

Hastaların ve kontrol grubunun çalışmaya alınmama kriterleri:

- * Renal veya karaciğer hastalığı olanlar
- * Gebelik
- * Asetilsalisilik asit ,antioksidan, antihiperlipidemik tedavi alanlar

- * Ötroid olmayan bireyler
- * 18 yaş altı , 65 yaş üstü bireyler
- * Bilinen kardiyovasküler hastalığı olan bireyler
- * Sigara kullanmakta olan veya sigara kullanım öyküsü olanlar

3.2. Klinik Değerlendirme ve Örnek Toplanması

Araştırma grubunun demografik verileri ve medikal öyküleri kayıt edildi. Araştırmaya ADA (ADA: American Diabetes Association 2012) kriterlerine [9] göre (tablo-4 de gösterilmiştir) tip 2 diabetes mellitus tanısı almış olan diyabetik bireyler ve benzer yaş ve demografik verilere sahip nondiyabetik bireyler dahil edildi.

Araştırma grubundan en az sekiz saatlik açlık süresi sonrasında rutin kontroller için alınan kan numunesinden araştırmada belirlenen diğer parametreler (Açlık kan şekeri, hs-CRP, kreatinin, ALT, trigliserid, HDL, LDL, total kolesterol, HbA1c, PON, LCAT) için örnek ayrıldı. Olgulardan alınan kan örneklerinden soğuk santrifüj yöntemi (4000 dv/dk, 15 dk) ile serum örnekleri ayrıldı. Elde edilen serum örnekleri -80 derecede muhafaza edildi. Ayrılan serum örneklerinin yetersiz olması nedeniyle DM grubundan üç olgu çalışma dışına alındı.

Aterojenite indeksi : Log (TG/HDL) formülü ile hesaplandı [135].

3.3. Laboratuvar Ölçümleri

Araştırmamızda yer alan açlık kan glukozu, kreatinin, ALT, trigliserid, total kolesterol, HDL Abbott Diagnostics orijinal kitleri ile Abbott Architect C16000 otoanalizöründe (Illinois, USA) spektrofotometrik yöntemle ölçüldü. Hs-CRP orijinal ticari kitleriyle Beckman Coulter (Beckman Coulter Olympus AV, 5800, Japan) otoanalizöründe çalışıldı. HbA1c ise Adams HA-8160 Arkray otoanalizöründe (Longfield, England) high-performance liquid chromatography (HPLC) yöntemi ile ölçüldü.

PON yöntemi, E.Reiner' den [136] modifiye edilerek alınmış olup ; Abbott Architect C16000 (Abbott Lab.;IL,USA) otoanalizöründe aplike edilmiştir. PON ölçümlerinde deney içi tekrarlanabilirlik CV:%0.3 olarak hesaplanmıştır.

Bu çalışmada serum human LCAT düzeylerini belirlemek için çift antikorlu sandviç ELISA (enzim bağlı immunsorbent ölçüm) yöntemini kullanan 'Human Lecithin Cholesterol Acyltransferase (LCAT) ELISA Kiti (SunRed Bio., English Instruction) kullanıldı. Plaktaki her bir kuyucuk yüzeyi LCAT monoklonal antikorlu ile kaplı olup üzerine LCAT içeren örnek eklendi ve antikora bağlanması sağlandı. Eş zamanlı biotin işaretli LCAT antikorlu ve biotin ile etkileşecek streptavidin-HRP (horse radish peroxidase) da eklenerek immün kompleks oluşturuldu. Daha sonra enzim ile reaksiyona girip renkli ürün oluşturacak kromojen solüsyonları eklendi. Oluşan renkli ürünün absorbansları 450 nm'de okutularak serumdaki LCAT konsantrasyonları belirlendi. Kitin sensitivitesi 1.15 ng/mL , ölçüm aralığı 2-300 ng/mL olarak üretici firma tarafından bildirilmiştir.

Araştırmamızda yer alan tüm parametreler ISO15189 akreditasyon sertifikasına sahip Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Merkez Laboratuvarında çalışıldı. Araştırmamız Dokuz Eylül Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Fonu tarafından desteklendi (Proje No: 2013.KB.SAG.003).

1-Açlık kan şekeri ≥ 126 mg/dl yada

2-OGTT 2.saat plazma glukozu ≥ 200 mg/dl yada

3-Rastgele plazma glikozu ≥ 200 mg/dl + diyabet semptomları yada

4-HbA1c ≥ 6.5 (≥ 48 mmol/mol)

Kriterlerden birinin pozitifliği durumunda tanı konulur. Aşırı hiperglisemi olan durumların yokluğunda 1-2 ve 4 numaralı kriterlerin tekrarlanarak konfirme edilmeleri önerilmektedir.

ADA: American Diabetes Association

Tablo-4. : ADA tip 2 dm tanı kriterleri [9]

3.4. İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analizler PASW Statistics 18 programında yapıldı. Tanımlayıcı istatistikler yüzde dağılımları, ortalama ve standart sapma değerleri verilerek sunuldu. Diyabeti olan hastalar ile diyabeti olmayan bireylerin demografik ve laboratuvar verileri independent t testi kullanılarak karşılaştırıldı. Diyabetik hasta grubunda HbA_{1c} düzeylerine göre hastalar < % 8 ve ≥ % 8 olarak iki gruba ayrıldı. Her iki grup serum PON ve LCAT aktivitesi açısından Mann-Whitney U testi ile karşılaştırıldı. Değişkenler arasındaki ilişki pearson's korelasyon analizi kullanılarak yapıldı. Serum PON ve LCAT aktivitelerini etkileme olasılığı olan değişkenler lineer regresyon analizi kullanılarak değerlendirildi.

Sonuçların değerlendirilmesi: %95 Güven aralığında % 5 hata payı dikkate alınarak $p < 0.05$ değeri anlamlılık değeri olarak kabul edildi.

4. BULGULAR

Çalışmaya 36 (%46,7) diyabetik, 41 (%53,3) nondiyabetik kontrol grubundan birey alındı. Diyabetik bireyler yaş ortalaması 53.47 ± 7.9 , 18 erkek (%50), 18 kadın (%50), kontrol grubu yaş ortalaması 51.24 ± 5.6 , 20 erkek (%48,7), 21 kadından (%51,3) oluşmaktaydı. Tablo-5’de çalışmaya alınan bireylerin demografik verileri ve laboratuvar özellikleri görülmektedir.

	Diyabet grubu (n=36)	Kontrol grubu (n=41)	p
Yaş (yıl)	$53,47 \pm 7,9$	$51,24 \pm 5,6$	0,45
Cinsiyet			0,64
Kadın (n=39, %50.64)	18 (%46.15)	21 (%53.85)	
Erkek (n=38, %49,36)	18 (%47.36)	20 (%52.64)	
AKŞ (mg/dl)	$173,54 \pm 92,62$	$87,41 \pm 10,55$	<0,001*
HbA1C (%)	$8,16 \pm 2,57$	$5,38 \pm 0,34$	<0,001*
LCAT (ng/ml)	$70,65 \pm 58,6$	$85,27 \pm 78,59$	0,35
PON (U/L)	$75,48 \pm 49,16$	$64,45 \pm 39,49$	0,28
Hs-CRP (mg/l)	$3,49 \pm 3,63$	$2,58 \pm 3,18$	0,25
Total kolesterol (mg/dl)	$205,47 \pm 34,45$	$218,93 \pm 37,04$	0,15
HDL (mg/dl)	$41,22 \pm 9,63$	$55,51 \pm 18,43$	<0,001*
LDL (mg/dl)	$131,94 \pm 29,91$	$146,68 \pm 36,62$	0,08
Trigliserid (mg/dl)	$179,31 \pm 116,60$	$111,61 \pm 62,27$	0,003*
Kreatinin (mg/dl)	$0,75 \pm 0,12$	$0,70 \pm 0,10$	0,059
ALT (U/L)	$27,56 \pm 13,93$	$19,41 \pm 8,40$	0,003*
Aterojenite indeksi	$0,57 \pm 0,30$	$0,27 \pm 0,25$	<0,001*

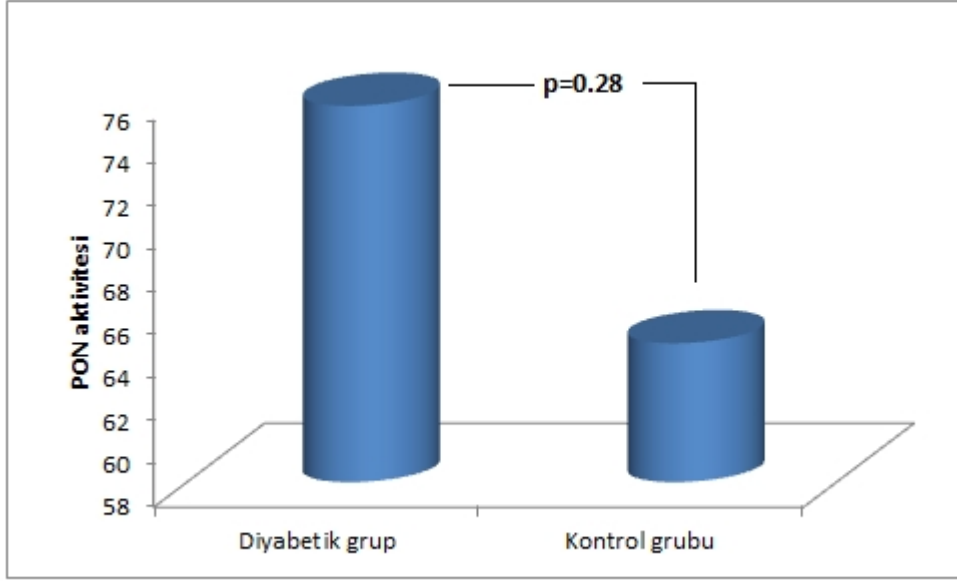
*p<0.05, Ortalama $\pm$ standart sapma

(AKŞ:açlık kan şekeri, LCAT: lesitin kolesterol açıl transferaz, PON:paraoksonaz, Hs-CRP:high sensitif C reaktif protein, HDL:yüksek yoğunluklu lipoprotein, LDL: düşük molekül ağırlıklı lipoprotein, ALT: alanin aminotransferaz)

Tablo-5. Diyabetik hastaların ve sağlıklı kontrol grubundaki bireylerin demografik ve laboratuvar özellikleri.

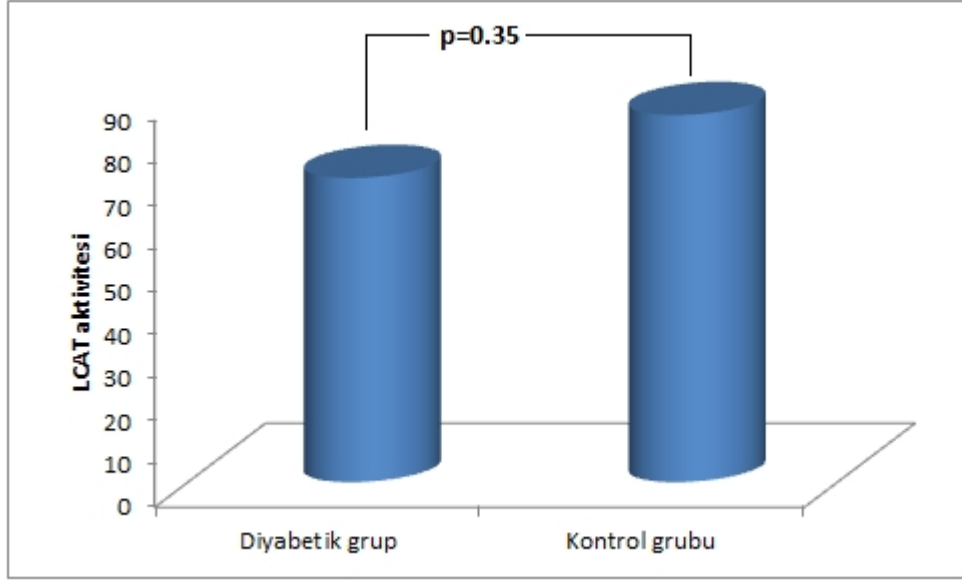
Her iki gruptaki bireylerin yaş ve cinsiyet dağılımı açısından aralarında anlamlı bir fark saptanmadı ($p>0,05$). Açlık kan şekeri, HbA1C, aterojenite indeksi beklendiği gibi diyabetik hastalarda anlamlı olarak yüksek saptandı ($p<0.001$). LCAT aktivitesi nondiyabetik bireylerde aritmetik olarak daha yüksek saptandı ancak iki grup arasında LCAT aktivitesi açısından istatistiksel fark saptanmadı (DM: 70.65 ± 58.6 , nondiyabetik kontrol grubu: 85.27 ± 78.59 , $p=0,35$). PON aktivitesi ise aritmetik olarak diyabetik hastalarda daha yüksek saptandı ancak iki grup arasında istatistiksel fark saptanmadı (DM: 75.48 ± 49.16 , nondiyabetik kontrol grubu: 64.45 ± 39.49 ,

p=0.28). Diyabetik hastalarda serum HDL-K düzeyi anlamlı bir şekilde düşük saptandı (p<0.001). Serum ALT ve trigliserid düzeyi ise diyabetik hastalarda anlamlı olarak yüksek saptandı (p<0.05). Her iki grup arasında serum total kolesterol, LDL kolesterol, hs-CRP, kreatinin açısından anlamlı bir fark saptanmadı (p>0.05).



Şekil-7.Diyabetik ve kontrol grubunun PON aktivitelerini karşılaştırılması.

Şekil-7.de diyabetik ve kontrol gruplarında PON aktivitelerinin karşılaştırılması gösterilmiştir. Diyabetik hastalarda PON aktivitesi aritmetik olarak (75,48 ±49,16) kontrol grubuna (64,45 ± 39,49) göre daha yüksek saptanmış olmakla birlikte aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamaktadır (p=0.28).



Şekil-8. Diyabetik ve kontrol grubunun LCAT aktivitelerinin karşılaştırılması.

Şekil-8. de diyabetik ve kontrol gruplarında LCAT aktivitelerinin karşılaştırılması gösterilmiştir. Diyabetik hastalarda LCAT aktivitesi ($70,65 \pm 58,6$) kontrol grubuna ($85,27 \pm 78,59$) göre aritmetik olarak daha düşük saptanmış olmakla birlikte aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamaktadır ($p=0.35$).

Değişkenler	HbA1C<6,5 (n=12)	HbA1C≥6,5 (n=24)	p
LCAT	54,48 (24-286)	53,03 (23-148)	0,753
PON	91,75 (25-190)	62,20 (8-152)	0,398
Hs-CRP	2,00 (0,4-12,1)	2,50 (0,4-15,5)	0,436
Total kolesterol	212,00 (165-269)	196,00 (117-257)	0,137
LDL-K	142,50 (105-196)	126,00 (60-189)	0,208
HDL-K	40,00 (32-70)	37,50 (27-58)	0,608
Trigliserid	154,50 (97-350)	126,50 (60-189)	0,361
AKŞ	94,00 (67-247)	193,50 (91-400)	<0,001*
Yaş	55 (35-64)	55,5 (30-64)	0,311

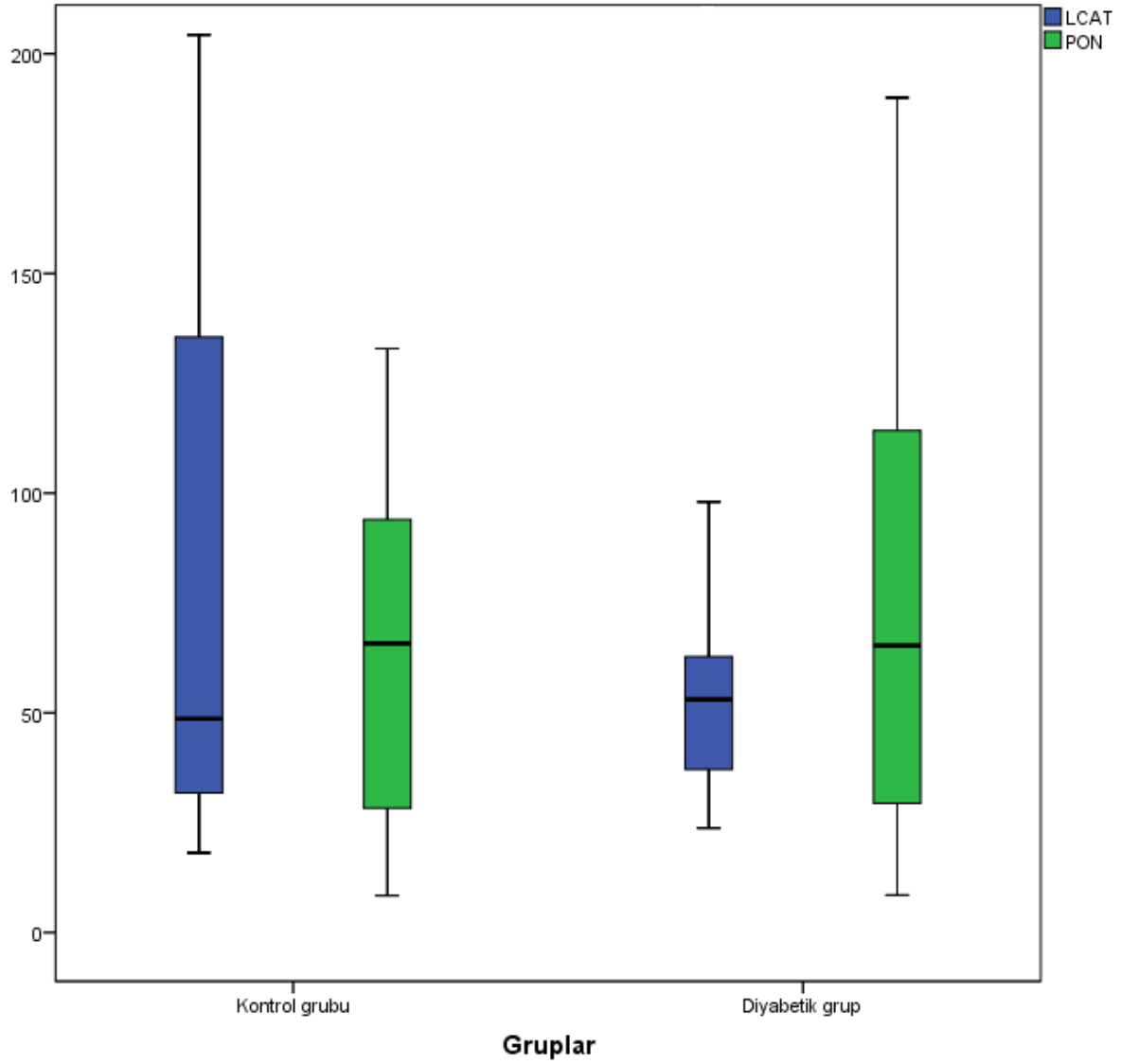
Sonuçlar ortanca (minimum-maksimum) olarak verilmiştir.

*p<0.05

(LCAT:lesitin kolesterol açıl transferaz, PON:paraoksonaz, LDL-K: düşük molekül ağırlıklı lipoprotein, HDL-K:yüksek yoğunluklu lipoprotein , AKŞ:açlık kan şekeri)

Tablo-6. Diyabetik hastalarda HbA1c <6,5 ile HbA1c≥6.5 olan bireylerin karşılaştırılması

Tablo-6.de diyabetik hastalarda HbA1c <6,5 ile HbA1c ≥6,5 olan bireylerin karşılaştırılması görülmektedir. Diyabetik hastalar HbA1C düzeyine göre < % 6,5 ve ≥ % 6,5 olarak 2 gruba ayrılması sonrası Mann-Witney U testi kullanılarak gruplar karşılaştırıldı. Her iki grup arasında PON, LCAT aktivitesi arasında anlamlı bir fark saptanmadı (p>0.05).



Şekil-9. Diyabetik hastalarda ve kontrol grubunda serum LCAT ve PON aktivitesinin boks grafisi ile gösterilmesi.

Şekil-9. da diyabetik hastalarda ve kontrol grubunda serum LCAT ve PON aktivitesi boks grafisi ile gösterilmiştir. Diyabetik hastalarda LCAT aktivitesi $70,65 \pm 58,6$, kontrol grubunda $85,27 \pm 78,59$ olarak gelmiş olup diyabetik bireylerde LCAT aktivitesi kontrol grubuna göre daha düşük saptanmış ancak istatistiksel olarak aralarında anlamlı fark saptanmamıştır ($p=0.35$). Diyabetik hastalarda PON aktivitesi $75,48 \pm 49,16$, kontrol grubunda $64,45 \pm 39,49$ olarak gelmiş olup diyabetik bireylerde PON aktivitesi kontrol grubuna göre daha yüksek saptanmıştır ancak aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamaktadır ($p=0.28$).

		yaş	cinsiyet	HbA1c	LCAT	PON	hsCRP
yaş	r			0.38	-0.24		
	p			0.001	0.03		
cinsiyet	r				-0.21		
	p				0.04		
HbA1c	r	0.38					
	p	0.001					
LCAT	r	-0.24	-0.21			-0.24	
	p	0.03	0.04			0.03	
PON	r				-0.24		0.29
	p				0.03		0.009
HsCRP	r					0.29	
	p					0.009	
T.kol	r						
	p						
HDL	r		-0.34	-0.29			
	p		0.002	0.010			
TRİG	r		0.29	0.35		0.28	
	p		0.008	0.001		0.014	
LDL	r						
	p						
AKŞ	r	0.34	0.26	0.87			
	p	0.002	0.018	<0.001			
KREA	r	0.31	0.52	0.23			
	p	0.005	<0.001	0.043			
ALT	r		0.33	0.28			
	p		0.003	0.013			
athero	r		0.40	0.38		0.24	
	p		<0.001	<0.001		0.037	

(AKŞ:açlık kan şekeri, LCAT: lesitin kolesterol açıl tansferaz, PON:paraoksonaz, Hs-CRP:high sensitif C reaktif protein, HDL:yüksek yoğunluklu lipoprotein, LDL: düşük molekül ağırlıklı lipoprotein, ALT: alanin aminotransferaz KREA:kreatinin, TRİG:trigliserid, athero:aterojenite indeks)

Tablo-7. Spearman korelasyon analizi

Tablo-7.de spearman korelasyon analizi görülmektedir. Yapılan korelasyon analizinde HbA1C ile hem PON hem de LCAT aktivitesi arasında bir ilişki saptanmadı. Yaş ile LCAT aktivitesi arasında anlamlı ters yönde bir ilişki vardı ($r=-0,24$, $p=0,03$). Erkek cinsiyet ile LCAT aktivitesi arasında bir ilişki saptandı. Erkek cinsiyette LCAT aktivitesi anlamlı olarak daha düşük bulundu ($r=-0.21$, $p=0.04$). LCAT ile PON aktivitesi arasında anlamlı ve negatif yönde bir ilişki saptandı ($r=-0.24$, $p=0.03$). PON ile hs-CRP ($r=0.29$, $p=0.009$), trigliserid ($r=0.28$, $p=0.014$) ve aterojenik indeks ($r=0.24$, $p=0.037$) arasında anlamlı bir ilişki saptandı. HbA1C ile yaş ($r=0.38$, $p=0.001$), kreatinin ($r=0.23$, $p=0.043$), ALT ($r=0.28$, $p=0.013$) ve aterojenik indeks ($r=0.38$, $p=<0.001$) arasında anlamlı bir ilişki vardı.

	β	% 95 GA		p
yaş	-0,24	-3,68	-0,14	0,034*
HDL-K	-0,55	-0,4	1,6	0,239
HbA1C	-0,49	-10,44	4,29	0,408
hs-CRP	-0,51	-4,43	5,05	0,897
PON	-0,24	-0,75	-0,03	0,033*

*p<0.05, GA: Güven aralığı.

(PON:paraoksonaz, Hs-CRP:high sensitif C reaktif protein, HDL:yüksek yoğunluklu lipoprotein)

Tablo-8. Lineer regresyon analizi(LCAT)

Tablo-8.de LCAT parametresi için lineer regresyon analizi görülmektedir. LCAT enzim aktivitesini etkileyebilecek yaş, HDL-K, HbA1C, hs-CRP ve PON ile bir lineer regresyon modeli oluşturuldu. Modele göre yaşın (β :-0.24, p=0.034) ve PON aktivitesinin (β :-0.24, p=0.033) lineer olarak LCAT aktivitesini etkilediği saptandı. Yaş ve serum PON aktivitesi arttıkça LCAT aktivitesi azalmaktaydı.

	β	% 95 GA		p
yaş	-0.34	-0.56	2.09	0.257
HDL-K	-0.05	-0.78	0.52	0.686
HbA1C	-0.03	-5.79	4.39	0.785
hs-CRP	-0.31	-1.60	4.61	0.337
LCAT	-0.24	-0.28	-0.13	0.033*

*p<0.05, GA:Güven aralığı.

(LCAT: lesitin kolesterol açıl tarnsferaz, Hs-CRP:high sensitif C reaktif protein, HDL:yüksek yoğunluklu lipoprotein)

Tablo-9. Lineer regresyon analizi (PON)

Tablo-9.da PON aktivite parametresi için lineer regresyon analizi görülmektedir. PON enzim aktivitesini etkileyebilecek yaş, HDL , HbA1C, hs-CRP ve LCAT ile bir lineer regresyon modeli oluşturuldu. Modele göre LCAT enzim aktivitesinin lineer olarak PON enzim aktivitesini etkilediği saptandı (β :-0.24, p=0.033). PON enzim aktivitesinin yaş, hs-CRP, HDL ve HbA1c bağımsız değişkenlerinden etkilenmediği görüldü.

	HbA1C< % 8 (n=22)	HbA1C≥8 (n=14)	p
PON	65.30 (18.60-190)	72.70 (8.50-152.10)	0,911
LCAT	53.45 (24.48-286.68)	54.46 (23.78-148.97)	0,911

Tablo-10.Diyabetik hastalarda HbA1c<8 ile HbA1c≥8 olan bireylerin karşılaştırılması

Tablo-10 da diyabetik hastalarda HbA1c<8 ile HbA1c≥8 olan bireylerin karşılaştırılması görülmektedir. Diyabetik hasta grubunda hastalar HbA1c düzeylerine göre <% 8 ve ≥ % 8 olarak 2 gruba ayrıldı. İki grup arasında serum PON ve LCAT aktiviteleri bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı.

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Tip 2 diabetes mellitus kardiyovasküler olayların arttığı bir hastalıktır. Diyabetik hastalardaki artmış kardiyovasküler olaylar ile HDL fonksiyonları arasındaki ilişki net değildir. PON ve LCAT enzim aktivitesi HDL'nin fonksiyonlarını yansıtmaktadır ve ateroskleroz ile ters yönde ilişki göstermektedirler [137, 138]. Diyabetik hastalarda artmış kardiyovasküler olaylar sıktır [139]. Araştırmamızda PON ve LCAT enzim aktivitesi diyabetik hastalarda ve sağlıklı kontrol grubundaki kişilerde benzer saptandı. Ayrıca HbA1c düzeyi ile PON ve LCAT enzim aktiviteleri arasında bir ilişki saptanmadı.

HDL kolesterolün kardiyovasküler olaylara karşı koruyucu etkisi vardır. HDL kolesterol bu etkisini LDL kolesterolün oksidasyonunu engelleyerek gerçekleştirmektedir. HDL kolesterolün anti-oksidatif ve anti-aterojenik kapasitesini LCAT ve PON enzim aktiviteleri belirlemektedir [137, 138]. Diyabetik hastalarda kardiyovasküler olay sıklığı artmıştır. Kronik hiperglisemi diyabetik hastalardaki komplikasyonların en önemli sebebidir. Kronik hiperglisemi hücrelerde epigenetik değişikliklere neden olmaktadır. Artmış intrasellüler glukoz ileri glikozillenmiş son ürün oluşumuna neden olmaktadır (AGEs). Kronik hiperglisemi birçok proteinin glikozillenmesine neden olur [139]. Glikozillenme nedeniyle PON ve LCAT enzim aktivitelerinde değişiklik olabilir. Patra ve arkadaşları yeni bir çalışmada PON-1 enzim aktivitesini diyabetik hastalarda sağlıklı bireylere göre anlamlı olarak düşük bulmuştur. Ayrıca PON-1 enzim aktivitesi ve HDL kolesterol düzeyi ile aterosjenik indeks arasında negatif yönde bir ilişki saptanmıştır. Multipl regresyon analizinde ise PON-1 enzim aktivitesinin aterosjenik indeksi göstermede HDL kolesterolden daha iyi olduğu saptanmıştır [140]. Glukoz tolerans bozukluğu durumları ile PON-1 ilişkisi ise Kopprasch ve arkadaşları tarafından araştırılmıştır. Bu çalışmada yeni tanı almış diyabetik hastalarda, prediyabetik ve glukoz metabolizması normal kişilerde PON enzim aktivitesini incelemişler ve sonuçta üç grubun da PON enzim aktivitesi benzer olarak saptanmıştır. Aynı çalışmada kan şekeri düzeyi ile PON enzim aktivitesi arasında bir ilişki olmadığı belirtilmiştir [141]. LCAT enzim aktivitesinin diyabette azaldığını veya arttığını gösteren araştırmalar vardır [142, 143]. Nakhjavani ve arkadaşlarının diyabetik hastalarda LCAT enzim aktivitesi ile ilgili yaptıkları bir araştırmada LCAT enzim aktivitesini sağlıklı kontrol grubuna göre diyabetik hastalarda anlamlı olarak düşük saptamışlardır[144]. Yapılan bir diğer çalışmada da

LCAT enzim aktivitesi ile HbA1c arasında negatif bir ilişki saptanmıştır [122]. Kappelle ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada ise diyabetik hastalarda LCAT enzim aktivitesini kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek, PON aktivitesini ise anlamlı olarak düşük bulmuşlardır. Aynı çalışmada LCAT enzim aktivitesi ile HbA1c ve PON aktivitesi arasında bir ilişki saptanmamıştır [142]. Bizim çalışmamızda ise diyabetik hastalar ile nondiyabetik bireyler arasında hem serum PON aktivitesi ve hem de LCAT aktivitesi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı. Ayrıca HbA1c ile PON ve LCAT enzim aktiviteleri arasında bir ilişki yoktu. Diyabetik hasta grubunda hastalar HbA1c düzeyine göre iki gruba ayrılarak ($< \% 6.5$ ve $\geq \% 6.5$) yapılan ek analizde de benzer şekilde kan şekeri kontrol altında olan hastalarla olmayan hastaların PON ve LCAT enzim aktiviteleri arasında anlamlı bir fark saptanmadı. Çalışmamızda kötü kontrollü diyabetik bireylerde de ($HbA1c \geq 8$) bu yönden bir farklılık gözlenmemiştir. Bu durum bize öncelikle diyabetin ve kan şekeri yüksekliğinin birçok sistem üzerine olan olumsuz etkilerinin PON ve LCAT enzim aktivitesinden bağımsız olduğunu düşündürmüştür.

Araştırmamızda diyabetik hasta grubunda beklendiği gibi HDL kolesterol kontrol grubuna göre anlamlı olarak daha düşük saptandı. Ancak HDL fonksiyonlarının göstergesi olan LCAT ve PON aktivitesi her iki grupta benzer saptanmış ve HDL kolesterol düzeyi ile LCAT ve PON enzim aktiviteleri ile arasında bir ilişki bulunmamıştır. Yapılan bir çalışmada da benzer şekilde LCAT enzim düzeyi ve aktivitesi ile HDL kolesterol düzeyi arasında bir ilişki saptanmamıştır [144]. Bu yönden bakıldığında HDL'nin protektif kardiyovasküler etkisini PON-1 / LCAT sistemi dışından bir yolla gerçekleştirebileceği kuşkusuna ortaya çıkmıştır. PON-1 alt grupları (paraoksonaz, arilesteraz ve diazokson) bu yönde farklı etkiler sergiliyor olabilir mi sorusu sorulabilir. Çalışmamız bu değerlendirmeyi kapsamamakta olduğu için yorum yapılamamıştır. Araştırmamızda ayrıca LCAT enzim aktivitesi yaşla birlikte azalmaktaydı ancak PON enzim aktivitesinin yaş ile bir ilişkisi yoktu. LCAT enzim aktivitesindeki azalma yaşla artan kardiyovasküler olaylarla ilişkili bir diğer etken olabilir. Ayrıca çalışmamızda erkek cinsiyet ile LCAT aktivitesi arasında negatif yönde bir ilişki saptandı.

Araştırmamızda diyabetik grupta ateroskleroz indeksi beklendiği gibi kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek saptandı. Beklenenin aksine PON aktivitesi ile ateroskleroz indeksi arasında anlamlı ve pozitif bir ilişki vardı. Bu durum izah

edilememiştir. PON-1 etkisine karşı bir direnç gelişip gelişmediği ve PON-1 düzeyi yüksekliğine bu direncin yol açıp açmadığı bilinmemektedir.

Diyabetik hastalarda yapılan değişik araştırmalarda PON ve LCAT enzim aktivitelerinin arttığına, azaldığına veya değişmediğine yönelik farklı sonuçlar elde edilmiştir. Araştırmaların bazılarında ise HbA1c düzeyi ile bu enzim aktiviteleri ile ilişki saptanmıştır. Bu farklı sonuçların sebebi araştırma yapılan grupların demografik özelliklerinin farklılığından, araştırmalarda hastaların subklinik vasküler olaylarının tam olarak tanımlanmamış olması veya grupların etnik ve genetik farklılıklarından kaynaklanıyor olabilir.

Sonuç olarak araştırmamızda diyabetik hastalar ile nondiyabetik kişilerin PON ve LCAT enzim aktivitesi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu. Ayrıca HbA1c düzeyi ile PON ve LCAT enzim aktivitesi arasında bir ilişki saptanmamıştır.

6. KAYNAKLAR

1. Diyabetes Mellitus ve Komplikasyonlarının Tanı,Tedavi ve İzlem Kılavuzu. Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği, 2011: p. 15-19.
2. <http://www.idf.org/diabetesatlas/5e/the-global-burden>.
3. Satman,İ.,[cited;Availablefrom:
www.itf.istanbul.edu.tr/021turdep.2.sonuclarinin.aciklamasi.pdf. 2011
4. J.Larry Jameson, L.J.D.G., ENDOCRINOLOGY ADULT AND PEDIATRIC. SAUNDERS ELSEVIER, 2010. VOLUME 1
5. Booth, G.L., et al., Relation between age and cardiovascular disease in men and women with diabetes compared with non-diabetic people: a population-based retrospective cohort study. The Lancet, 2006. 368(9529): p. 29-36.
6. Zehra SERDAR, M.D., Dilek YEŞİLBURSA, Akön SERDAR, Emre SARANDÖL, Investigation of lecithine: Cholesterol acyltransferase and cholesterol ester transfer protein activities in coronary artery disease. . Cerrahpaşa J Med,, 2002: p. p. 171-178.
7. Rasic-Milutinovic, Z., et al., Lower serum paraoxonase-1 activity is related to linoleic and docosahexanoic fatty acids in type 2 diabetic patients. . Arch Med Res, 2012. 43(1): p. 75-82., 2012.
8. Harris M, Z.P., Classification of diabetes mellitus and other categories of glucose intolerance. . International Textbook of Diabetes Mellitus., 1997. Second Edition. (In Alberti K, Zimmet P, DeFronzo R, editors. Chichester: John Wiley and Sons Ltd;): p. p9-23.
9. American Diabetes Association. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. Diabetes Care, 2012. 35 (Suppl. 1): p. S64–S71 (2012).
10. Schneider S, B.C., Wetzel M, Maul H, Loerbroks A., The prevalence of gestational diabetes in advanced economies. . J Perinat Med. , 2012: p. Sep;40(5):511-20.
11. Goldman, A., Ünal, Cecil Medicine 23.baskı. 2011. cilt 2: p. 1748-1757.
12. M., Y., Her Yönüyle Diabetes Mellitus. . 2. Baskı.stanbul, Nobel T.p Kitabevi, 2001: p. 51-61, 63-7, 69-81, 215-17, 237-43.
13. Groop LC, W.E., Ferrannini E. , Insulin resistance and insulin deficiency in pathogenesis of type 2 diabetes: errors of metabolism or of methods. Diabetologia, 1993: p. 36:1326-31.
14. De Fronzo RA, B.R., Ferrannini E. , Pathogenesis of NIDDM. In: Alberti KGMM, Zimmet P, De Fronzo RA, Keen H (eds), International Textbook of Diabetes Mellitus., 1997. Second edition. John Wiley & Sons Ltd. : p. 81:635-89.
15. Gardner DG, S.D., Greenspan's Basic & Clinical Endocrinology. Eighth edition, McGraw-Hill Companies, 2004. Eighth edition, McGraw-Hill Companies: p. pp. 661-747.
16. J.Harry Jameson., Harrison's endocrinolgy. Dragonfly Media Group, Pennsylvania, 2006: p. 283-331.
17. Brownlee M., Glycosilation products as toxic mediators of diabetic

- complications. *Annu Rev Med* 1991; 42: 159-66.
18. Makita Z, e.a., Advanced glycosilation end products in patients with diabetic nephropathy. *N Engl J Med* 1991; 325-836.
 19. Johnstone MT, N.R., Diabetes mellitus and heart disease. Lippincott Williams and Wilkins, 2005: p. p. 975- 98.
 20. ONGEN Z, E.C., ATEROSKLEROZ PATOGENEZİ. KLİNİK KARDİYOLOJİ, 2004: p. S1-20.
 21. Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults . *JAMA*, 2001: p. 285(19):2486-2497.
 22. Jameson, J.H., Harrison Endokrinoloji. 2009 Nobel Kitapevleri, 2006(kısım 3): p. 283-333.
 23. Mahley RW, a.I.T., Lipoprotein receptors and cholesterol homeostasis. *Biochim. Biophys.Acta.* 1983;737:197-222.
 24. Quing Ye S, K.P., Influence of Genetic Polymorphisms on Dietary Fat and Cholesterol. *Am J Clin Nutr* 2000;72(suppl):1275S-1284.
 25. Rigotti et al., Role of SR-BI in Lipid Metabolism. *Endocrine Rev.* 2003;24(3):357-387.
 26. Patch W, G.A.J., Apolipoproteins: pathophysiology and clinical implication. *Methods Enzymol* 1996;263:3-32.
 27. Alaupovic P., Significance of apolipoproteins for structure, function and classification of plasma lipoproteins. *Methods Enzymol* 1996:263;32-60.
 28. Alaupovic P., The concept of apolipoprotein-defined lipoprotein families and its clinical significance. . *Curr Atheroscler Rep.*, 2003: p. 5(6):459-467.
 29. Smith LC, P.H., Gotto AM Jr. , The plasma lipoproteins: structure and metabolism. *Annu Rev Biochem.* 1978;47:751-7.
 30. National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). Third report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults. Adult Treatment Panel III final report. . *Circulation*, 2002: p. 106:3143-421.
 31. Fuster V, A.R., O'Rourke R. , Aterogenez ve Belirleyicileri. *The Heart* 10. Baskı., 2002: p. 1065-1075.
 32. Kumar V, C.R., Robbins SL. , Organ sisteminin hastalıkları, Arteriyosklerozis. *Temel Patoloji* 7.Edisyon, 2003: p. 328-338.
 33. Tammien M, M.i.G., et al, Ultrastructure of early lipid accumulation in apo E deficient mice. . *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1999: p. 19: 847-853.
 34. Williams KJ, T.I., The response to retention hypothesis of atherogenesis reinforced. *Curr Opin Lipidol*, 1998: p. 9: 471-474.
 35. Ross, R., Atherosclerosis an inflammatory disease. *New England Journal of Medicine*, , 1999: p. 340:115-126.
 36. Kalyoncu U, G.A., Lipoproteinlerin yapısı, ölçümleri ve fonksiyonları. *Türk kardioloji seminerleri*, 2003: p. 3(5): 506-511.
 37. Grundy SM, P.R., et al., Assesment of cardiovascular risk by use of multiple

- risk factor assesment equations. *Circulation* 1999; p. 100: 1481-1492.
38. Wood D, B.G., et al., Prevention of coronary heart disease in clinical practise. *Eur Heart J* 1998; p. 19: 1434-1503.
 39. YALÇIN, A., ÇET.N, M., Plazma Lipoproteinleri ve Klinik Önemi, *J. Fac. Vet. Med.*, 20: 123-129, (2001).
 40. İliçin, B., Süleymanlar, Ünal, İç Hastalıkları. Güneş Kitabevi 2003. 2.baskı: p. s444-474.
 41. Sansoy, V., Türkiye’de obezite ve metabolik sendrom epidemiyolojisi. p. 123-137.
 42. Richard S, P.S., Cholesterol treatment guidelines update *Am Fam Physician*, 2002; p. 65: 871-880.
 43. Türk Kardiyoloji Derneği. Koroner Kalp Hastalığı için Risk Faktörleri. Koroner Kalp Hastalığından Korunma ve Tedaviye İlişkin Ulusal Kılavuz. 2002.
 44. W.N Aldridge , Serum esterases: An enzyme hydrolyzing diethyl p-nitro phenyl phosphate (E600) and its identity with the A-esterase of mammalian sera. *Biochem J* 1953: 117-24.
 45. Ooms A J, B.H.L., Sterospecificity of hydrolytic enzymes in their reaction with optically active organophosphorus compounds. The reaction of cholinesterases and paraoxonase with S-alkyl p-nitrophenyl methyl phosphonothiolates *Biochem Pharmacol* 1965; 12: 1839-45.
 46. Mackness MI, H.S., Peard T, Warner S, Walker CH. , The separation of sheep and human serum “A”-esterase activity into the lipoprotein fraction by ultracentrifugation. *Comp Biochem Physiol B*. 1985; 82: 675-7. 1985.
 47. Geldmacher-von Mallinckrodt M., P.M., Flugel M., Burgis H, Dietzel B, Metzner H., Nirschl H., Renner O. , Genetically determined polymorphism of human serum paraoxonase. *Humangenetik*. 1973; 17: 331-5.
 48. Brophy V H., J.R., Clendenning J B., McKinstry L A, Jarvik G P, Furlong CE., Effects of 5’ regulatory-region polymorphisms on paraoxonase gene (PON1) expression. *Am J Hum Genet*. 2001; 68: 1428-36.
 49. Mackness, M., Mackness B., Paraoxonase 1 and atherosclerosis: is the gene or the protein more important? *Free Radic Biol Med.*, 37, 1317-1323. 2004.
 50. Seres, I., Paragh, G., Deschene, E., Fulop, T. Jr., Khalil, A., Study of factors influencing the decreased HDL associated PON-1 activity with aging. *Exp. Gerontol*, 39, 59-66. 2004.
 51. Mackness, B., Durrington P.N., Mackness M.I, Human serum Paraoxonase. *Gen Pharmacol*, 31, 329-336. 1998.
 52. Kudchodkar, B.J., Lacko, A.G., Dory, L., et al., Dietary fat modulates serum paraoxonase-1 activity in rats. *J Nutr*, 130, 2427 – 33. 2000.
 53. Klemola, P., Freese, R., Jauhiainen, M., et al., Dietary determinants of serum paraoxonase activity in healthy humans. *Atherosclerosis*, 160, 425–32. 2002.
 54. Primo-Parmo, S.L., Sorenson, R.C., Teiber, J., et al., The human serum paraoxonase/arylesterase gene (PON-1) is one member of a multigene family. *Genomics*, 33, 498-507. 1996.
 55. La Du, B., Aviram, N., Billecke, S., Navab, M., Primo-Parmo, S., Sorenson,

- R.C., Standiford, T.J, On the physiological role(s) of the para.oxonases. *Chem. Biol. Interact*, 119–120, 379–388. 1999.
56. Ng, C.J., Wadleigh, D.J., Gangopadhyay, A., et al, PON2 is ubiquitously expressed protein with antioxidant properties and is capable of preventing cellmediated oxidative modification of low density lipoprotein. *J Biol. Chem*, 276-48, 44444–44449. 2001.
 57. Reddy, S.T., Wadleigh, D.J., Grijalva, V., et al, Human paraoxonase-3 is an HDL associated enzyme with biological activity similar to paraoxonase-1 protein but is not regulated by oxidized lipids. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol*, 21, 542- 547. 2001.
 58. Draganov, D., Stetson, P.L., Watson, C.E., et al., Rabbit serum paraoxonase-3 is a high density lipoprotein-associated lactonase and protects low density lipoprotein against oxidation. *Journal of Biological Chemistry*, 275, 33435–33442. 2000.
 59. Canales, A., Sanchez-Muniz, F.J, Paraoxonase something more than an enzyme. *Med Clin (Barc)*, 121, 537–48. 2003.
 60. Blatter, M.C., James R.W., Messmer S., Barja F., and Pometta D., 1993. , Identification of a distinct human high-density lipoprotein subspecies defined by a lipoproteinassociated protein, K-85: identity of K-85 with paraoxonase. *Eur. J.Biochem*.211, 871–879.
 61. Aldridge, W.N., 1953., *Biochem J.*, 53,117-124.
 62. Sinan, S., Koçkar, F., Arslan, O., 2006, Novel purification strategy for human PON-1 and inhibition of the activity by cephalosporin and aminoglikozide derived antibiotics. *Biochimie*, 88, 565-574.
 63. Kuo, C.-L., La Du, B.N., 1998, Calcium binding by human and rabbit serum paraoxonases. Structural stability and enzymatic activity. *Drug. Metab. Dispos.* 26, 653–660.
 64. Jawad, Z., Paoli, M., 2002. , Noval Sequences Propel Familiar Folds. *Structure*, 10, 447-454.
 65. Harel, M., Aharoni A., Gaidukov L., Brumshtein B., Khersonsky O., Meged R., Dvir H., Ravelli R.B., McCarthy A., Toker L., Silman I., Susman J.L., Tawfik D.S., 2004. , Structure and evolution of the serum paraoxonase family of detoxifying and antiatherosclerotic enymes. *Nat. Struct. Mol. Biol.*, 11, 412-419.
 66. M., A., Does paraoxonase play a role in susceptibility to cardiovascular disease? *Mol Med Tod* 1999; 5: 381_6.
 67. Durrington, P.N., Mackness, B., Mackness, M.J., 2001. , Paraoxonase and atherosclerosis, *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 21, 473–480.
 68. Mackness, M.I., Mackness B., Durrington P.N., Connely P.W., Hegele R.A., 1996., Paraoxonase: biochemistry, genetics and relationship to plasma lipoproteins. *Cur Opin Lipit.*, 7, 69-76.
 69. Sorenson, R.C., Bisgaier, C.L., Aviram, M., et al. 1999. , Human serum paraoxonase/arylesterase's retained hydrophobic N-terminal leader sequence associates with HDLs by binding phospholipids: apolipoprotein A-I stabilizes

- activity. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 19, 2214-25.
70. Oda, M.N., Bielicki, J.K., Berger, T., et al. 2001. , Cystein substitutions in apolipoprotein A-I primary structure modulate paraoxonase activity. *Biochemistry*, 40, 1710-8.
 71. Renault, F., Chabriere, E., Andrieu, J.P., Dublet, B., Masson, P., Rochu, D. 2006. , Tandem purification of two HDL-associated partner proteins in human plasma, paraoxonase (PON-1) and phosphate binding protein (HPBP) using hydroxyapatite chromatography. *Journal of Chromatography B*, 836, 15–21.
 72. BN., L.D., Human serum paraoxonase/arylesterase. In: Kalow W. *Genetic Factors Influencing the Metabolism of Foreign Compounds: International Encyclopedia of Pharmacology and Therapeutics*. Pergamon Press, New York 1992; p.51-91.
 73. Harel M, B.B., Meged R, Dvir H, Ravelli RBG, McCarthy A, et al., 3-D structure of serum paraoxonase 1 sheds light on its activity, stability, solubility and crystallizability. *Arch Hig Rada Toksikol* 2007;58(3):347-53.
 74. Rodrigo L, M.B., Durrington PN, Hernandez A, Mackness ML., Hydrolysis of platelet-activating factor by human serum paraoxonase. *Biochem J* 2001;354(1):1-7.
 75. H., J., Calcium-dependent human serum homocysteine thiolactone hydrolase. A protective mechanism against protein Nhomocysteinylation. *J Biol Chem* 2000;275(6):3957-62.
 76. Rosenblat M, V.J., Shih D, Aviram M. , Paraoxonase 1 (PON1) enhances HDL-mediated macrophage cholesterol efflux via the ABCA1 transporter in association with increased HDL binding to the cells: a possible role for lysophosphatidylcholine. *Atherosclerosis* 2005;179(1):69-77.
 77. Rozenberg O, S.D., Aviram M. , Human serum paraoxonase 1 decreases macrophage cholesterol biosynthesis: possible role for its phospholipase-A2-like activity and lysophosphatidylcholine formation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003;23(3):461-7.
 78. Aviram M, R.M., Bisgaier CL, Newton RS, Primo-Parmo SL, La Du BN. , Paraoxonase inhibits high-density lipoprotein and preserves its functions. *J Clin Invest*. 1998;101(8):1581-90.
 79. Ferretti G, B.T., Moroni C, Savino S, Liuzzi A, Balzola F, et al. , Paraoxonase activity in high-density lipoproteins: a comparison between healthy and obese females. *J Clin Endocrinol Metabol* 2005;90(3):1728-33.
 80. Sema UYSAL, S.A., Rukiye HASGÜL, Ferah ARMUTCU, M. Ramazan YİĞİTOĞLU, Çok Yönlü Bir Enzim: Paraoksonaz. *Yeni Tıp Dergisi*, 2011. Fatih Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı, ANKARA: p. 28(3):136-141.
 81. Hennekens C, B.J., Manson J, Stampfer M, Rosner B, Cook N. , Lack of effect of long- term supplementation with beta carotene on the incidence of malignant neoplasm and cardiovascular disease. *N Engl J Med*. 1996;334:1145–1159.
 82. Catapano A, M.F., Tragni E., Low density lipoprotein oxidation, antioxidants,

- and atherosclerosis. *Curr Opin Cardiol.* 2000;15:355–363.
83. Jialal I, V.G., Grundy S. , Physiological levels of ascorbate inhibit the oxidative modification of LDL. *Atherosclerosis.* 1990;82:185–191.
 84. Van der Gaag MS, V.T.A., Scheek LM, James RW, Urgert R, Schaafsma G, et al., Daily moderate alcohol consumption increases serum paraoxonase activity: a diet-controlled randomized intervention study in middle-aged men. *Atherosclerosis* 1999; 1471: 405-10.
 85. Navab M, H.S., Van Lenten BJ, et al. , Mildly oxidized LDL induces an increased apolipoprotein J/paraoxonase ratio. *J Clin Invest* 1997; 99:2005-20.
 86. TARÇIN, Ö., Paraoksonaz-1 Enzimi ve Koroner Kalp Hastalıkları ile İlişkisi Paraoxonase-1 and Coronary Heart Diseases. *Marmara Medical Journal* 2011: p. 24 (1):59-63.
 87. Gülden Başkol, K.K., Paraoksonaz: Biyokimyasal Özellikleri,Fonksiyonları ve Klinik Önemi. *Erciyes Tıp Dergisi (Erciyes Medical Journal)* 26 (2) 75-80, 2004.
 88. DeFronzo RA., Pathogenesis of type2 diabetes: metabolic and molecular implications for identifying diabetes genes. . *Diabetes.*, 1997: p. 177-269.
 89. Deakin S., J.R.W., Genetic and Enviromental factors modulating serum concentrations and activities of the antioxidant enzyme paraoxonase-I *Clinical Science* (2004) 107, 435-447.
 90. Bulmuş ve ark. Metabolik Sendromlu Hastalarda Paraoksonaz 1 ve Arilesteraz Aktivite Düzeyleri. *Fırat Tıp Dergisi*, 2008: p. 13(2): 110-115.
 91. Tartan Z, O.G., Kaşıkçıoğlu H, Uyarel H, Ünal S, Özer N, Özay B, Çiloğlu F, Çam N. , The role of paraoxonase (PON) enzyme in the extent and severity of the coronary artery disease in type-2 diabetic patients. *Heart Vessels*, 2007: p. 22(3):158-164. .
 92. Ferretti G, B.T., Busni D, Rabini RA, Curatola G., Protective effect of paraoxonase activity in high-density lipoproteins against erythrocyte membranes peroxidation: a comparison between healthy subjects and type 1 diabetic patients. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, June 1, 2004. vol. 89: p. no. 6 2957-2962
 93. Karabina SA, L.A., Frank E, Parthasarathy S, Santanam N., Oxidative inactivation of paraoxonase--implications in diabetes mellitus and atherosclerosis. *Biochim Biophys Acta.* , 2005: p. 15;1725(2):213-21.
 94. Flekac M, S.J., Zídková K, Lacinová Z, Hilgertová J, Paraoxonase 1 gene polymorphisms and enzyme activities in diabetes mellitus. *Physiol Res.* , 2008: p. 57(5):717-26.
 95. Zehra SERDAR, M.D., Dilek YEŞİLBURSA, Akön SERDAR, Emre SARANDÖL, Investigation of lecithine: Cholesterol acyltransferase and cholesterol ester transfer protein activities in coronary artery disease. *Cerrahpaşa J Med*, 2002: p. p 171-178.
 96. Fielding CJ, F.P., Molecular physiology of reverse cholesterol transport. *J. Lipid. Res.* 1995;36:211-228.

97. Francone O.L., G.A., Fielding C.J. , Distribution and function of lecithin:cholesterol acyltransferase and cholesteryl ester transfer protein in plasma lipoproteins. *J. Biol. Chem.*1989;264:7066-7072.
98. Peelman F., V.J., Rosseneu M. , Structure and function of lecithin cholesterol acyltransferase: new insights from structural predictions and animal models. *Curr. Opin. Lipidol.* 2000;11:155-160.
99. Glomset J.A., The mechanism of the plasma cholesterol esterification reaction: plasma fatty acid transferase. *Biochim. Biophys. Acta.* 1962;65:128-135.
100. Jonas A., Lecithin cholesterol acyltransferase. *Biochim Biophys Acta* 2000;1529:245-256.
101. Peelman F., V.N., Verhee A., Vanloo B.,Verschelde JL, Labeur S, Seguret-Mace T, Duverger N, Hutchinson G, Vandekerckhove J, Tavernier J, Rosseneu M. , A proposed architecture for lecithin cholesterol acyl transferase (LCAT): identification of the catalytic triad and molecular modeling. *Protein Sci.* 1998;7:587-599. .
102. National Cholesterol Education Program. Second report of the expert panel on detection, evaluation and treatment of high blood cholesterol in adults (adult treatment panel II). *Circulation* 1994;89:1329-1445.
103. Yang C.Y., M.D., Pao Q., Lee F.S., Knapp R.D.,Gotto A.M.,Jr., Pownall H.J. , Lecithin: cholesterol acyltransferase. Functional regions and a structural model of the enzyme. *J. Biol. Chem.* 1987;262:3086-3091.
104. Francone O.L., F.C.J., Structure-function relationships in human lecithin: cholesterol acyl transferase. Site directed mutagenesis in serine residues 181 and 216. *Biochemistry.* 1991;30:10074-10077.
105. Barter P.J., H.G.J., Gorjatschko I. , Lipoprotein substrates for plasma cholesterol esterification. Influence of particle size and composition of the high density lipoprotein subfraction 3. *Atherosclerosis.* 1985;58:97-107.
106. Peelman F., V.N., Verhee A., Vanloo B.,Verschelde JL, Labeur S, Seguret-Mace T, Duverger N, Hutchinson G, Vandekerckhove J, Tavernier J, Rosseneu M. , A proposed architecture for lecithin cholesterol acyltransferase (LCAT): identification of the catalytic triad and molecular modeling. *Protein Sci.* 1998;7:587-599.
107. Fielding CJ, F.P.M.p.o.r.c.t., *J. Lipid. Res.*, 1995: p. 36:211-228.
108. Glomset JA., The plasma lecithin cholesterol-acyl transferase reaction. *J. Lipid. Res.* , 1968: p. 9:155-167.
109. Ohashi R, M.H., Wang X, YAO Q, Chen C. Reverse cholesterol transport and cholesterol efflux in atherosclerosis. , *Q J Med* 2005: p. 98:845-856.
110. Rajaram O.V.and Barter P.J. , Reactivity of human lipoproteins with purified lecithin: cholesterol acyl transferase during incubations in vitro. *Biochim. Biophys. Acta.* 1985;835:41-49.
111. Sparks D.L., A.G.M., Segrest J.P., Phillips M.C., Effect of the cholesterol content of reconstituted LpA-I on lecithin cholesterol acyl transferase activity. *J. Biol. Chem.*1995; 270: 5151-5157. .
112. Sparks DL, Pritchard PH, The neutral lipid composition and size of

- recombinant high density lipoproteins regulates lecithin cholesterol acyltransferase activity. *Biochem. Cell. Biol.* 1989;67:358-364.
113. Asztalos BF, C.L., Demissie S, Horvath KV, Cox CE, Batista MC, Schaefer EJ. , High density lipoprotein subpopulation profile and coronary artery disease prevalence in male participants of the Framingham Offspring Study. *Arterioscler. Thromb Vasc Biol.* 2004;24:2181-2187.
 114. Asztalos BF, B.M., Horvath KV, Cox CE, Dallal GE, Morse JS et al., Change in alpha1 HDL concentration predicts progression in coronary artery stenosis. *Arterioscler. Thromb. Vasc Biol.* 2003;23:847-852.
 115. Glomset JA. , The plasma lecithin cholesterol-acyl transferase reaction. *J. Lipid. Res.* 1968;9:155-167.
 116. Kuivenhoven JA, v.V.t.V.E., Wiebusch H, Marcovina SM, Funke M, Assmann G et al. , A unique genetic and biochemical presentation of fish-eye disease. *J Clin Invest* 1995;96:2783-2791.,.
 117. Wiebusch H, C.P., Owen JS, Collins D, Sharp PS, Funke H, Assmann G., Deficiency of lecithin: cholesterol acyltransferase due to compound heterozygosity of two novel mutations in the LCAT gene. *Hum Mol Genet* 1995;4:143-145.
 118. Nishiwaki M, I.K., Bader G, et.al. , Human Lecithin:Cholesterol Acyltransferase Deficiency, In Vivo Kinetics of Low-Density Lipoprotein and Lipoprotein-X. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2006;26:1370-1375.
 119. Hovingh GK, H.B., Holleboom AG, Petersen W, Rol P, Stalenhoef A., Zwinderman AH, et al. Compromised LCAT function is associated with increased atherosclerosis. *Circulation* 2005;112:879-884.
 120. Solajic Bozicevic N., S.-R.A., Sesto M. , Lecithin cholesterol acyltransferase activity in patients with coronary artery disease examined by coronary angiography. *Clin. Invest.* 1994;72:951-956.
 121. Solajic Bozicevic N., S.A., Sesto M. , Lecithin cholesterol acyltransferase activity in patients with acute myocardial infarction and coronary heart disease. *Artery* 1991;18:326-340.
 122. Nakhjavani, M., et al., HbA1c negatively correlates with LCAT activity in type 2 diabetes. *Diabetes Res Clin Pract*, 2008. 81(1): p. 38-41.
 123. Matsunaga, T., et al., Glycated high-density lipoprotein regulates reactive oxygen species and reactive nitrogen species in endothelial cells. *Metabolism*, 2003. 52(1): p. 42-9.
 124. Yıldırım, A., High sensitivity C-reactive protein (hsCRP) as a new risk factor. *Türk Kardiyol Dern Arş - Arch Turk Soc Cardiol*, 2005: p. 33:360-371
 125. Tuncel, A.R.Ş.T.K.P.A.P., C-Reactive Protein: Clinical Significance, Improvements in Methodology, Pre-Analytical and Analytical Variations. *Türk Klinik Biyokimya Derg*, 2007: p. 5(1): 33-41.
 126. Pearson T, M.A., Alexander WR, et al. , Markers of inflammation and cardiovascular disease *Circulation* 2003: p. 107: 499- 511.
 127. Grundy SM , Inflammation, hypertension, and the metabolic syndrome. *JAMA*, 2003: p. 290(22): 3000-2.

128. Rutter MK, M.J., Sullivan LM, et al., C-reactive protein, the metabolic syndrome, and prediction of cardiovascular events in the Framingham Offspring Study. *Circulation*, 2004: p. 110: 380-5.
129. Anand SS, R.F., Yi Q, et al., C-reactive protein as a screening test for cardiovascular risk in a multi ethnic population. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2004: p. 24 : 1509–15.
130. Doi Y, Kiyohara Y, Kubo M, Ninomiya T, Wakugawa Y, Yonemoto K, Iwase M, Iida M., Elevated C-reactive protein is a predictor of the development of diabetes in a general Japanese population: the Hisayama Study. . *Diabetes Care*, 2005: p. 28(10): p. 2497-500. .
131. Willerson JT, Ridker PM., Inflammation as a cardiovascular risk factor. *Circulation*, 2004: p. 109(21 Suppl 1): p. II2-10.
132. Ross, R., Atherosclerosis--an inflammatory disease. *N Engl J Med*, 1999. 340(2): p. 115-26.
133. Liu, Z.M. and S.C. Ho, The association of serum C-reactive protein, uric acid and magnesium with insulin resistance in Chinese postmenopausal women with prediabetes or early untreated diabetes. *Maturitas*, 2011. 70(2): p. 176-81.
134. Rasic-Milutinovic, Z., et al., Lower serum paraoxonase-1 activity is related to linoleic and docosahexanoic fatty acids in type 2 diabetic patients. *Arch Med Res*, 2012. 43(1): p. 75-82.
135. Patra, S.K., K. Singh, and R. Singh, Paraoxonase 1: A better atherosclerotic risk predictor than HDL in type 2 diabetes mellitus. *Diabetes Metab Syndr*, 2013. 7(2): p. 108-11.
136. Reiner, E.R., Z., "Method for measuring human plasma paraoxonase activity", Course on analytical procedures for assesment of exposure to organophosphorus pesticides. *Manual of Analytical Methods Cremona (Italy)*, 1985: p. pp. 62-70.
137. Mackness, M., P. Durrington, and B. Mackness, Paraoxonase 1 activity, concentration and genotype in cardiovascular disease. *Curr Opin Lipidol*, 2004. 15(4): p. 399-404.
138. Borggreve, S.E., R. De Vries, and R.P. Dullaart, Alterations in high-density lipoprotein metabolism and reverse cholesterol transport in insulin resistance and type 2 diabetes mellitus: role of lipolytic enzymes, lecithin:cholesterol acyltransferase and lipid transfer proteins. *Eur J Clin Invest*, 2003. 33(12): p. 1051-69.
139. American Diabetes, A., Standards of medical care in diabetes--2013. *Diabetes Care*, 2013. 36 Suppl 1: p. S11-66.
140. Patra, S.K., K. Singh, and R. Singh, Paraoxonase 1: A better atherosclerotic risk predictor than HDL in type 2 diabetes mellitus. *Diabetes Metab Syndr*, 2013. 7(2): p. 108-11.
141. Kopprasch, S., et al., 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. 88(4): p. 1711-6.

142. Kappelle, P.J., et al., Increased LCAT activity and hyperglycaemia decrease the antioxidative functionality of HDL. *Eur J Clin Invest*, 2012. 42(5): p. 487-95.
143. Dullaart, R.P., et al., Plasma cholesteryl ester transfer, but not cholesterol esterification, is related to lipoprotein-associated phospholipase A2: possible contribution to an atherogenic lipoprotein profile. *J Clin Endocrinol Metab*, 2011. 96(4): p. 1077-84.
144. Nakhjavani, M., et al., Diabetes induces gender gap on LCAT levels and activity. *Life Sci*, 2013. 92(1): p. 51-4.