

T.C.
SAĞLIK BAKANLIĞI
ANKARA EĞİTİM VE ARAŞTIRMA HASTANESİ
ENDOKRİNOLOJİ VE METABOLİZMA HASTALIKLARI KLİNİĞİ

Şef: Doç. Dr. Yalçın ARAL

**KOMPLİKE TİP 2 DİYABETES MELLİTUSLU HASTALARDA
PARAOKSONAZ-1 ENZİM AKTİVİTESİ VE
PLAZMİNOJEN AKTİVATÖR İNHİBİTÖR-1
DÜZEYİ İLİŞKİSİ**

YAN DAL UZMANLIK TEZİ

Uz. Dr. Gönül KOÇ

ANKARA-2005

T.C.
SAĞLIK BAKANLIĞI
ANKARA EĞİTİM VE ARAŞTIRMA HAST ANESİ
ENDOKRİNOLOJİ VE METABOLİZMA HAST ALIKLARI
KLİNİĞİ

Şef: Doç. Dr. Yalçın ARAL

**KOMPLİKE TİP 2 DİYABETES MELLİTUSLU HASTALARDA
PARAOKSONAZ-1 ENZİM AKTİVİTESİ VE
PLAZMİNOJEN AKTİVATÖR İNHİBİTÖR-1
DÜZEYİ İLİŞKİSİ**

YAN DAL UZMANLIK TEZİ

Uz. Dr. Gönül KOÇ

**TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. Yalçın ARAL**

ANKARA-2005

ÖNSÖZ

Asistanlık sürem boyunca her zaman bilgi, tecrübe ve desteğini benden esirgemeyen değerli hocam ve tez danışmanım S.B. Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi Endokrinoloji ve Metabolizma Hastalıkları Klinik Şefi Doç. Dr. Yalçın ARAL; klinik çalışmalarımda yakın ilgi ve desteğini her zaman yanımda hissettiğimiz Şef Muavini Doç. Dr. Rüştü SERTER; ihtisas sürem boyunca her an yardım ve destekleriyle yanımda olan eşim Haldun Ufuk KOÇ'a, Başasistanlarım Doç.Dr.Berrin DEMİRBAŞ ve Uz. Dr. Cavit ÇULHA'ya, Dr. Durdu ALTUNER, ihtisas arkadaşlarım Uz. Dr. Neşe ERSÖZ GÜLÇELİK, Uz. Dr. Mesut ÖZKA YA , Uz. Dr. Erman ÇAKAL ile tüm klinik doktorlarına, klinik ve poliklinik hemşirelerine ve diğer yardımcı sağlık personeline teşekkürü borç bilirim.

İÇİNDEKİLER

GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
GENEL BİLGİLER.....	3
GEREÇ VE YÖNTEM.....	16
BULGULAR.....	20
TARTIŞMA.....	29
ÖZET.....	37
KAYNAKLAR.....	39

GİRİŞ-AMAÇ

Diyabetes mellitus makrovasküler ve mikrovasküler komplikasyonlarla seyreden kronik bir hastalıktır. Diyabetik hastalarda yaygın ve hızlanmış bir ateroskleroz söz konusudur. Makrovasküler ve mikrovasküler komplikasyonlar nedeniyle diyabetik hastalarda morbidite ve mortalite belirgin olarak artmaktadır. Diyabetes mellitus henüz tam tedavi edilebilir hastalık olmadığı için komplikasyonların önlenmesi ve geciktirilmesi oldukça önemlidir. Diyabetik komplikasyonların sıklığı ve şiddeti genetik faktörlere bağlı olarak kişiden kişiye değişebilmektedir. Son yıllarda komplikasyonların etyopatogenezini anlamak için moleküler ve genetik çalışmalara ağırlık verilmiştir. Endotel disfonksiyonu, sitokinler, Plazminojen aktivatör inhibitör-1 (PAI-1) gibi fibrinolizi engelleyen moleküller, oksidatif stres bu konuda sıkça suçlanan nedenlerdir.

Diyabetik hastalarda lipoproteinlerin nonenzimatik glikasyonu ve LDL oksidasyonu diyabetik komplikasyonları başlatan önemli faktörlerden biridir. Aterosklerotik lezyon, asetil LDL veya çöppü reseptörlerin de yer aldığı bir zincirde LDL oksidasyonu ile başlamaktadır.

Paraoksonaz-1 (PON1) enzimi, vücudumuzda HDL üzerinde yer alan ve LDL oksidasyonunu inhibe ederek başta oksidatif stres olmak üzere bir çok toksik ajandan koruyan endojen antioksidan bir enzimdir. Polimorfizm gösteren PON1 enzimi düzeyi genetik yapı ile belirlenmiştir. PON1 aktivitesi makrovasküler veya mikrovasküler komplikasyonlu diyabetik hastalarda daha belirgin olmak üzere diyabetik hastalarda azalmaktadır. Diyabetes mellitusta oksidatif stres artmaktadır. Kronik hiperglisemiye bağlı olarak lipidler ve çeşitli proteinler nonenzimatik glikasyon yoluyla glikozile olmakta; yapı ve fonksiyonlarında değişiklikler görülmektedir. PON1 aktivitesinde azalma nedeniyle okside LDL artmasına bağlı olarak diyabetik komplikasyonlarda artış gözlenmektedir.

Plazminogen aktivatör inhibitör-1 (PAI-1), fibrinolitik sistemde önemli rolü olan serin proteaz inhibitörüdür. Diyabetik vasküler komplikasyon gelişmesine katkıda bulunan önemli bir faktördür. Diyabetik hastalarda PAI-1 artışı sonucunda

fibrinoliz azalmakta koagölasyon artmaktadır. PAI-1'in diyabetik hastalarda yüksek olduğunu gösteren bir çok çalışma mevcuttur.

Şimdiye kadar her iki parametre için yapılmış bir çok çalışma olmasına rağmen ikisinin bir arada incelendiği ve aralarında ilişkiyi sorgulayan yayınlanmış çalışma henüz mevcut değildir. Bu çalışmada diyabetik komplikasyon gelişiminde önemli rol oynayan PON 1 aktivitesi ile PAI-1 arasında ilişkinin incelenmesi amaçlandı.

GENEL BİLGİLER

DİYABETES MELLİTUS VE KOMPLİKASYONLARI

Diyabetes mellitus (DM); insülin hormon sekresyonunun ve/veya insülin etkisinin mutlak ve göreceli azlığı sonucu karbonhidrat, protein ve yağ metabolizmasında bozukluklara yol açan kronik hiperglisemik bir grup metabolizma hastalığıdır (1,2). 1994 yılı Dünya Sağlık örgütü (WHO) verilerine göre aşikar diyabetik insan sayısı 110,4 milyondur. Bu hızla artmaya devam ederse 2010 yılında bu sayı 2 misli olacaktır. 2025 yılında 300 milyon insanın diyabetik olması öngörülmektedir.

Tüm diyabet tiplerinde ortaya çıkan kronik hiperglisemi, DM için spesifik olan mikrovasküler patolojileri; retina, renal glomerül ve periferik sinirlerde ortaya çıkarır. Sonuçta körlüğe kadar götüren göz komplikasyonları, son dönem böbrek yetmezliği ve ciddi nöropatiler gelişmektedir. DM aynı zamanda kalp, beyin ve alt ekstremiteleri besleyen arterlerde süratlenmiş bir makrovasküler hastalık nedenidir. Sonuçta diyabetik bireylerde daha yüksek miyokard infarktüsü, inme ve alt ekstremitate amputasyonları ile karşı karşıyadır. Hiperglisemi ve insülin rezistansı patogeneizde önemli rol oynar. Erken dönemde intrasellüler hiperglisemi kan akımında anormalliklere neden olur ve vasküler permeabilite artar. Diyabet kontrol ve komplikasyonları çalışması (DCCT), United Kingdom Prospective Diabetes Study (UKPDS) gibi büyük prospektif çalışmalarda glisemik kontrol ve mikrovasküler komplikasyonlar arasında hem tip 1 ve hem tip 2 diyabette yakın ilişkinin varlığı gösterilmiştir (3,4).

Çeşitli kaynaklardan elde edilen veriler diyabetes mellitusun aterosklerotik hastalık ve özellikle koroner kalp hastalığı açısından yatkınlık oluşturan önemli bir faktör olduğunu göstermektedir. Diyabetiklerde her iki cinsiyette ve bütün yaşlarda kardiyovasküler hastalık insidansı belirgin olarak daha yüksektir ve hızlanmış ateroskleroz mevcuttur. Erkeklerde iki kat, kadınlarda üç kat daha fazla görülmektedir (5). Koroner arter hastalığı, periferik damar hastalığı ve

serebrovasküler hastalık gibi aterosklerotik komplikasyonlar diyabet hastalarında en sık morbidite ve morliteme yol açan nedenlerdir. Diyabetes mellitus süresi ile diyabetik kardiyovasküler komplikasyon gelişimi genelde paralellik göstermektedir.

Günümüzde DM için tam bir iyileşmeden (kürden) bahsedilemez. Tip 2 DM gibi kronik bir hastalık için bugünün amaçları; hastalığa tutulmuş kişilerin iyilik hallerinin devam ettirilmesi ve kronik komplikasyonların önlenmesi, geciktirilmesi veya ilerlemesinin en az düzeye indirilmesidir. Diyabetik komplikasyonların sıklığı ve şiddeti genetik faktörlere bağlı olarak kişiden kişiye değişebilmektedir. Son yıllarda komplikasyonların etyopatogenezini anlamak için moleküler ve genetik çalışmalara ağırlık verilmiştir. Glukotoksisite, lipotoksisite, endotel disfonksiyonu, sitokinler, plazminojen aktivatör inhibitör-1 (PAI-1) gibi fibrinolizi engelleyen moleküller, oksidatif stres bu konuda sıkça suçlanan nedenlerdir.

Diyabetik hastalarda kronik hiperglisemiye bağlı olarak;

1. Polyol yolağı akti vitesinin artması,
2. İleri glikasyon son ürünlerinin (AGE) yapımının artması
3. Protein Kinaz C aktivasyonunun artması
4. Hexosamine yolağı aktivitesinin artması nedeniyle glikasyon ürünleri oluşmakta, serbest oksijen radikalleri ve PAI-1 gibi fibrinolizi engelleyen moleküller artmakta ve uzun dönemde diyabetik vasküler komplikasyonlar gelişmektedir (1).

Diyabetik hastalarda lipoproteinlerin nonenzimatik glikasyonu ve LDL oksidasyonu diyabetik komplikasyonları başlatan önemli faktörlerden biridir. Aterosklerotik lezyon, asetil LDL veya çöpçü reseptörlerin de yer aldığı bir zincirde LDL oksidasyonu ile başlamaktadır. HDL, LDL oksidasyonunu engelleyerek antiaterojenik özellik göstermektedir. Diyabetik hastalarda HDL düzeyleri düşük, LDL düzeyleri ise yüksek bulunmaktadır. HDL'nin katabolizması artarken LDL molekülündeki modifikasyon nedeniyle LDL'nin yıkımı azalmakta ve yarı ömrü uzamaktadır. Düşük HDL/LDL oranı ateroskleroza hızlandırmaktadır. Arter dışına

ters kolesterol transportunun bozulması ve HDL ile birlikte paraoksonaz enziminin antioksidan aktivitesinin azalması köpük hücre ve plak oluşumunu kolaylaştırır. LDL oksidasyonu ile başlayan bu süreçte sitokinlerin büyüme faktörlerinin salınımı, PAI-1'in artışı, endotel disfonksiyonuna bağlı olarak nitrik oksit düzeyinin azalması ile birlikte damarlarda inflamasyon, trombosit adezyonu artmakta, fibrinoliz azalmakta ve mikrotrombüsler oluşarak doku ve organlarda hipoksi meydana gelmektedir. Küçük ve büyük damarlarda yaygın olarak gelişen bu olaylar sonucunda ciddi komplikasyonlar oluşmakta, uzun dönemde mortalite ve morbiditede ciddi artışa neden olmaktadır (6).

PARAOKSONAZ

Paraoksonaz (PON), hidrolazların alt gurubu olan esterazların A-esteraz grubundan kalsiyum bağımlı ve polimorfik bir enzimdir. Organik fosforlu bir insektisit olan parationun aktif metaboliti olan paraoksonu hidroliz ederek detoksifiye ettiğinden dolayı paraoksonaz denmiştir. Bunun dışında diizopropil florofosfat, tabun ve sarin gibi sinir gazları, bazı karbamatlar ve aromatik karboksilik asit esterlerini de hidrolize ederek detoksifiye eder. Bağlanma afinitesi ve stabilitesi değişebilmektedir (7).

PON enzim ailesi insanlarda 7. kromozomda birbirine yakın olarak lokalize olan ve PON1, PON2, PON3 genleri olarak adlandırılan 3 gen tarafından kontrol edilmektedir (8). Her bir gen çift allel içermekte olup polimorfizm göstermektedir ve polimorfizmin tipine bağlı olarak enzim aktivitesi de değişebilmektedir. Memeli türlerinde bu üç genin her biri, aminoasit düzeyi %71-90, nükleotid düzeylerinde ise %81-90 benzerlik göstermektedir. PON1 geni kodon bölgesinde Q192R ve L55M olmak üzere 2 farklı polimorfizm göstermektedir. Q192R polimorfizminde 192 pozisyonunda glisin (Q), arginin (A) değişimi, L55M polimorfizminde ise 55 pozisyonunda lösin (L), metionine (M) değişimi mevcuttur. Ayrıca son zamanlarda promotor bölgesinde promotor fonksiyonu etkileyip PON konsantrasyonunu değitirebilen 5 farklı polimorfizmi saptandı (9). PON1 genindeki polimorfizm tipine göre koroner kalp hastalığı gibi lipid metabolizması bozukluğu ile seyreden kronik

hastalık sıklığı da değiştiğini bildiren yayınlar mevcuttur. PON2 geninde A/G148 ve C/S311 polimorfizmi tanımlanmış olup A/G148 aleninin tip 2 DM'li hastalarda hiperglisemiye artırdığı ve glukoz metabolizmasında rol oynadığı düşünülmektedir (10). PON genlerinin hemen yakınında piruvat dehidrogenaz kinazı kodlayan gen bulunmaktadır. PON genotipiyle diyabetik glisemik kontrolde bu komşuluğun etkisi söz konusu olabilir.

PON enzimi polimorfizm gösteren bir enzimdir. Dünyadaki birçok popülasyonda yapılan PON polimorfizmi çalışmalarından elde edilen sonuçlara göre düşük aktivite sıklığının Ganalılarda 0.24, Filipinlilerde 0.96 olmak üzere çok değişkenlik gösterdiği bilinmektedir (2). Türk popülasyonunda yapılan bir çalışmada düşük aktivite prevalansı 0.63 olarak saptandı (11). Bu da çeşitli popülasyonlarda organik fosforlu insektisitlere karşı hassasiyetin farklı derecelerde olduğunu göstermektedir.

Paraoksonaz-1 (PON1) enzimi 354 amino asit içeren, 43 kDA ağırlığında bir proteindir. PON serumda HDL üzerinde yer almakta ve karaciğer, böbrek, barsak gibi bir çok organda geniş bir dağılım göstermektedir (12). HDL'nin büyüklüğüne ve şekline bağlı olarak PON1 enziminin bu moleküle bağlanma oranı ve enzim aktivitesi değişebilmektedir (13).

Organofosfat türevleri, nöromusküler kavşakta bulunan psödokolinesteraz, asetilkolin esteraz gibi organik esterazları irreversibl olarak bağlar. PON1 enzimi ise organofosfatları reversibl bağlar, hidrolize ederek detoksifiye eder. PON1 enzimi, sinir sistemini dolaşıma giren organofosfatların nörotoksik etkilerinden koruyan bir enzimdir (12).

PON1 çevrede bulunan toksik kimyasal maddelere kronik maruziyet sırasında koruyucu rol oynamaktadır. Son yıllarda PON1 enziminin bu bileşiklerin detoksifikasyonundan başka çok önemli bir fizyolojik etkisinin olduğu gösterildi. Biyokimyasal çalışmalar PON1 enziminin HDL üzerinde lokalize olduğunu ve lipid peroksitlerini hidrolize ederek LDL'yi oksidatif stresten koruduğunu ve ateroskleroza azalttığını göstermektedir (14,15).

Ayrıca PON1 enziminin bakteriyel endotoksinlerin ve lipopolisakkaridlerin toksisitesini önleyerek endotoksik şoktan koruduğu saptandı. Lipoprotein polisakkaridler makrofajların üzerindeki spesifik bağlanma yeri CD14 ile etkileşim göstererek TNF alfa, interlökin 1 ve interlökin 6 gibi sitokinlerin salınmasına neden olur. Bu sitokinler karaciğer ve böbrek yetmezliği ile ölüme yol açabilen çeşitli septik şok semptomlarını oluştururlar. PON1 enzimi septik şoka yol açan bakteriyel lipopolisakkaridleri inaktive etmektedir (16).

PON1 enzimi hücrel oksidatif hasarla ilişkili çeşitli akut veya kronik toksite tiplerine karşı endojen koruyucu bir enzimdir (17). Ayrıca prulifloksasin gibi bazı ilaçların prodrug halinden aktif forma dönüşebilmesi için PON1 gerektiğine dair bilgiler mevcuttur (18).

PON1 aktivitesi doğumdan 15-25 aya kadar artar, yetişkin dönemde platoya erişir. PON1 aktivitesi 5' regüle edilebilir bölge polimorfizmi ve kişisel genetik yapı tarafından belirlenmektedir (19). Ancak bazı ilaçlar, kimyasal ajanlar, fizyolojik ve patolojik durumlar, diyet ve yaşam tarzı PON1 aktivitesini değiştirebilmektedirler. Gebelik, menapoz ve ileri yaşta PON1 aktivitesi belirgin azalmaktadır. Böbrek hastalıkları, diyabetes mellitus, karaciğer sirozu gibi hastalıklarda ve inflamatuvar sitokinlerin arttığı durumlarda PON1 aktivitesinin azaldığı saptanmıştır (20). Paraoksonaz aktivitesi kalsiyum bağımlıdır. Kalsiyum şelatörü EDTA PON1 aktivitesini azaltır. Baryum, bakır, çinko ve civalı bileşikler enzim aktivitesini inhibe ederler (21). Degrade yağlar ve aterosklerotik diyet, sigara PON1 aktivitesini azaltmaktadır (22). Hafif derecede alkol alımı, fenoller, C ve E vitamini PON1 aktivitesini artırmaktadırlar. Simvastatin, atorvastatin ve klofibrat grubu ilaçların PON1 aktivitesini artırdığına dair çalışmalar olmasına rağmen aksini gösteren çalışmalar da mevcuttur (23).

PON1 enziminin LDL oksidasyonunu önleyici etkisinin keşfinden sonra lipid metabolizması ve ateroskleroz üzerine olan etkileri daha detaylı olarak incelenmeye başlandı. Shih ve arkadaşlarının PON1 knockout fareler üzerinde yaptıkları deneyde; PON1 geni olmayan farelerden izole edilen HDL'nin LDL oksidasyonunu engellemediğini saptadılar. Ayrıca bu farelerde hem HDL hem de LDL daha fazla okside oluyordu. PON1 geni olmayan farelerde daha fazla lipoprotein oksidasyonu

olmakta ve ateroskleroz daha fazla görülmekteydi (24). Apolipoprotein E knockout, LDL reseptör knockout ve apoAII-overexpressing transgenic farelerde plazma PON1 düzeyleri belirgin olarak düşüktü ve bu farelerde hiperkolesterolemi ve ateroskleroz sık görülmekteydi. Daha sonra insan ve diğer türler üzerinde yapılan çalışmalarda düşük PON1 aktivitesi ile ateroskleroz arasında bağlantı olduğu gösterildi.

Tward ve arkadaşları, yüksek PON1 düzeyinin LDL oksidasyonuna karşı koruduğunu ve ateroskleroza azalttığını araştırmak üzere human PON1 transgenic fare modeli oluşturdular. PON1 etkisinin doz bağımlı olduğu görüldü. Bu farelerin PON1 aktivitesinin normal üç kat daha fazla olduğu ve LDL oksidasyonuna karşı daha etkin olduğu görüldü (25).

Van lenten ve arkadaşları, okside LDL içerisinde bulunan okside fosfolipidlerin PON1 ekspresyonunu azalttığı apoJ'yi artırdığını saptadılar(26). Ahmed ve arkadaşları PON1 enziminin monosit kemotaksisini ve endotele adezyonunu azalttığının gösterdiler (27). Diğer bir çalışmada PON1 enziminin fosfolipaz A2 benzeri ve peroksidaz benzeri aktiviteleri sayesinde okside fosfolipidleri, lipid peroksitlerini ve H₂O₂'yi yok ettiği gösterildi.

HDL düşüklüğü ile seyreden balık gözü hastalığı ve Tangier hastalığı gibi alfa lipoprotein defekti görülen hastalıklarda PON1 düzeyinin düşük olduğu saptandı (28). Ayrıca familial hiperkolesterolemi, tip 2 DM, kronik böbrek yetmezliği ve hiperlipidemi gibi hastalıklarda serum paraoksonaz düzeyi sağlıklı bireylere göre anlamlı olarak düşük bulunmuştur (29-31).

Arterlerin endotel tabakasında lipidlerin ve diğer kan elemanlarının plak şeklinde yapışması ile oluşan ve damar duvarını daraltan ateroskleroz, koroner kalp hastalığına neden olan en büyük etkidir. Aterosklerozun oluşumunu başlatan olay LDL'nin oksidasyonudur. Okside LDL makrofajları etkileyerek damar duvarında lipid birikimine neden olur. Paraoksonaz enzimi okside LDL'yi hidrolize ederek ateroskleroz ve koroner kalp hastalığı oluşumunu önlemektedir. Bugüne kadar yapılan bir çok çalışmada koroner kalp hastalığı ile paraoksonaz aktivitesi ve Q192R polimorfizmi arasında bir korelasyon saptanmıştır (15).

PARAOKSONAZ-1 VE DİYABETES MELLİTUS İLİŞKİSİ

PON1 enziminin LDL oksidasyonu inhibe etmesi, hayvan deneylerinde ve klinik çalışmalarda ateroskleroz ile bağlantısının bulunmasının ardından ateroskleroz ve mikrovasküler komplikasyonların sıkça görüldüğü diyabet hastalığı ile ilgili laboratuvar ve klinik çalışmalar yapılmaya başlandı.

Antioksidan enzim olan PON1 enzimi pankreas beta hücrelerinde de eksprese edilmektedir. Oksidatif stres pankreas beta hücre disfonksiyonunda anahtar rol oynamaktadır (32). Streptozosin ile diyabet oluşturulan sıçanlarda PON1 aktivitesinin progresif olarak azaldığı görüldü (33). Deakin ve arkadaşları PON1 enzim L55M polimorfizmi ile bozuk glukoz tolerans testi arasında ilişki olduğunu saptadılar (34). Başka bir çalışmada PON1 polimorfizmi ile beta hücre fonksiyonları arasında bir bağlantı olduğu bulundu (35).

Kopprasch ve arkadaşları, PON1 enzim aktivitesinin bozuk glukoz toleransı olan kişilerle yeni tespit diyabetikler arasında benzer olduğunu saptadılar. PON1 aktivitesinin diyabetin erken dönemlerinde değil geç döneminde daha çok düştüğünü tespit ettiler (36).

Yamada ve grubu ise diyabeti olmayan ancak insülin rezistansı bulunan kişilerde yaptığı çalışmada ise insülin rezistansı olanlarda PON1 aktivitesinin azaldığını saptadılar (37).

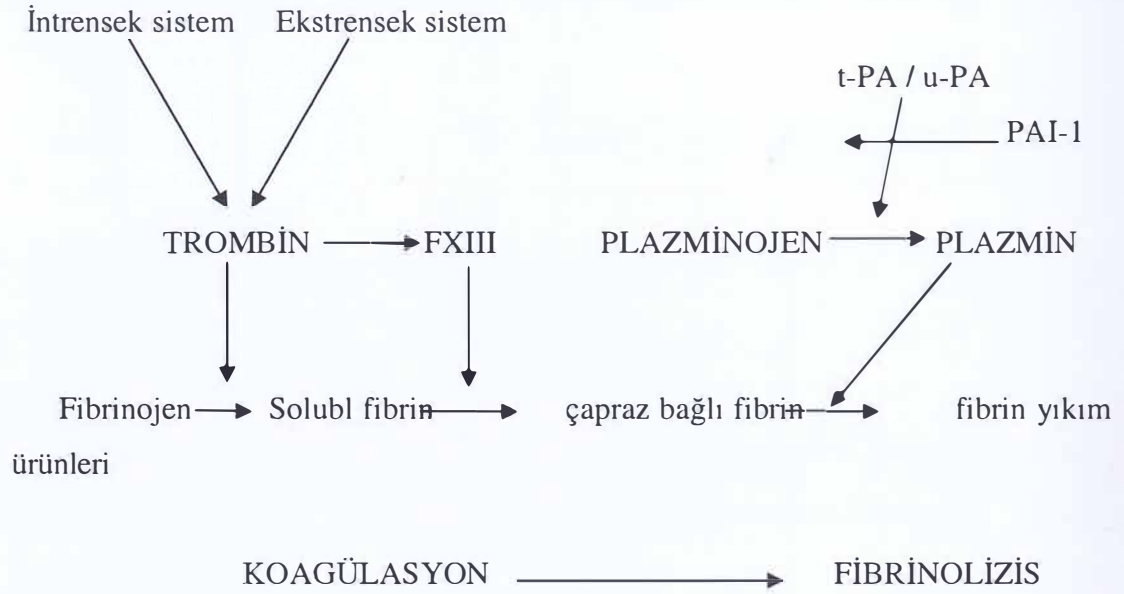
PON1 aktivitesi makrovasküler veya mikrovasküler komplikasyonlu diyabetik hastalarda daha belirgin olmak üzere diyabetik hastalarda azalmaktadır (29,30,38). Diyabetes mellitusta oksidatif stres artmaktadır (39). Kronik hiperglisemiye bağlı olarak lipidler ve çeşitli proteinler nonenzimatik glikasyon yoluyla glikozile olmakta; yapı ve fonksiyonlarında değişiklikler görülmektedir (40). PON1 aktivitesinde azalma nedeniyle okside LDL artmasına bağlı olarak diyabetik komplikasyonlarda artış gözlenmektedir.

Koroner arter hastalığı diyabetik hastalarda oldukça sık görülmektedir. Daha önceki çalışmalarda PON1 enzimi Q192R polimorfizmi açısından 192 R alleli içeren nondiyabetik hastalarda koroner arter hastalığının daha sık görüldüğü saptanmıştı.

Farklı iki ayrı çalışmada Tip 2 diyabetik hasta gruplarında da benzer bağlantı saptandı (41,42). Aubo ve arkadaşları ise myokard infarktüsü geçiren hastalar arasında diyabeti mevcut olan grup ile Q192R polimorfizmi arasında bağlantı saptarken diyabetik olmayan hasta grubunda bağlantı saptamadılar (43). Başka bir çalışmada ise PON1 enzim Q192R polimorfizmi ile karotis intima-media kalınlığı arasında benzer bağlantı bulundu ve bu polimorfizmin makrovasküler hastalık için önemli bir risk faktörü olduğu belirtildi (44).

PLAZMİNOJEN AKTİVATÖR İNHİBİTÖR- 1 (PAI-1)

Fibrinolitik sistem, oluşan pıhtının eritilmesinde, vasküler açıklığın sağlanmasında önemli rol oynar (Şekil 1). Bu sistem koagülasyon mekanizması sonucu oluşan fibrin fazlasının ortadan kaldırılması için gereklidir. Vasküler hastalıkların gelişiminde, fibrinolitik sistemin önemi damar duvarındaki fibrin birikimi üzerine olan düzenleyici etkisinden gelir. Teorik olarak fibrinolizisde azalma, damar duvarında fibrin depolanmasında artış ve takiben trombüs oluşumuna yol açabilir (45). Fibrinolizisin dolaşımında iki ana inhibitörü vardır; Plazminojen aktivatör inhibitör-1 (PAI-1) ve alfa-2 antiplazmin. PAI-1, hem doku (t-PA) hem de üriner (u-PA) plazminojen aktivatörünün hızlı bir inhibitörüken, alfa-2 antiplazmin spesifik plazmin inhibitörüdür.



Şekil 1. Koagülasyon – fibrinoliz yolu

PAI-1 serin proteaz inhibitörleri (serpin) ailesinin bir üyesi olup 379 aminoasitten oluşmuş tek zincirli bir glikoproteindir (46). Dolaşımdaki plazminojen aktivatör inhibitörüne verilen isim PAI-1'dir. PAI-2 ise intrasellüler plazminojen aktivatör inhibitörüdür ve esas olarak lökosit, plasenta ve gebelerde plazmada bulunur. PAI-3'de protein C inhibitörüdür ve idrarda bulunur.

PAI-1 geni 9 egzon ve 8 introndan oluşur ve 7. kromozomun uzun kolu üzerinde yer alır. Aktive olmuş formu instabildir ve plazma yarılanma ömrü 30 dakikadır. Plazma ya da ekstrasellüler matriksde PAI-1, matriks proteini vitronektine bağlanarak stabilize olur. Plazma PAI-1 düzeyi, tespit edilemeyecek miktardan 50 ngr/ml'te kadar değişebilir, yaşla artar ve diüurnal değişiklik gösterir. Plazma konsantrasyonları gün boyu geceye göre daha düşüktür. Myokard infarktüsü insidanslarının sabahın erken saatlerindeki yüksekliğinin, gece artmış olan PAI-1 konsantrasyonlarına bağlı azalmış fibrinolitik aktiviteden kaynaklanabileceği ileri sürülmüştür (47).

PAI-1'in plazmadaki orjini tam olarak belirlenmemiş olmakla beraber pek çok hücreden sekrete edildiği gösterilmiştir (48,49). PAI-1 sekrete eden hücreler; endotel hücresi, trombositler, monositler, makrofajlar, hepatositler, adipositler, vasküler düz kas hücresi ve fibroblastlardır. İn vivo, istirahat halindeki endotel hücreleri çok az ya da hiç PAI-1 eksprese etmezler, plazmadaki PAI-1'in majör kaynağı hepatositlerdir.

PAI-1 mRNA'sının birçok dokuda gösterilmiş olması, bu dokulardaki endotel ve düz kas hücreleri gibi ortak hücrelerin ortak üretim yerleri olabileceğini düşündürmektedir (50). PAI-1'in mRNA düzeylerinin ekspresyonunu artıran faktörler ise şunlardır;

Trombin, Angiotensin II, forbol esterleri, Fibroblast growth faktör, transforming growth faktör beta (TGF- β), Tümör nekrozis faktör alfa (TNF- α), interlökin-1 (IL-1), inflamatuvar lipopolisakkaridler, insülin ve insülin prekürsör molekülleri, glukoz, çok düşük dansiteli lipoproteinler, trigliserid, serbest yağ asitleridir (51-53).

Glukokortikoidler de fizyolojik konsantrasyonlarda in vitro olarak adipoz dokuda PAI-1 ekspresyonunu ve salınımını uyarırlar (54). Plazma kortizolünün ve PAI-1 düzeylerinin her ikisinin de benzer sirkadien ritimleri vardır. Her ikisi de sabahları pik yapar. Bu nedenle kortizolün PAI-1 ekspresyonunun diüurnal regülasyonunda rol oynaması olasıdır.

Renin anjiotensin sistem ve fibrinolizis arasındaki ilişki hem deneysel hemde klinik çalışmalar ile araştırılmıştır. Anjiotensin II'nin endotelial hücrelere bağlanarak kültüre edilmiş endotel hücreleri (55) ve vasküler düz kas hücrelerinde (56), PAI-1 üretimini stimüle ettiği gösterilmiştir. Sağlıklı gönüllülere anjiotensin II uygulanımı ile t-PA üretiminde değişiklik olmaksızın, doz bağımlı olarak PAI-1 artışı saptanmıştır (58). Zıt olarak, ACE inhibisyonu ile anjiotensin II üretimi inhibe edilirken, PAI-1 üretimide azalmıştır (59).

İN vitro araştırmalarda hem glikoz hem de insülinin, insan vasküler endotel ve düz kas hücrelerinden PAI-1 üretimi ve salınımını arttırdığı gösterilmiştir (60). Jain

ve arkadaşları yaptıkları çalışmada Tip 2 diyabetiklerde uygun ve yeterli hiperglisemi kontrolü ile PAI-1 aktivitesinin anlamlı azaldığını ortaya koymuşlardır (61). İnsülin tedavisi ile hem endojen insulin hem de insulin prekürsörlerinin (proinsülin, split proinsülin) supresyonu ile tip 2 diyabetiklerde PAI-1 üretiminin azaldığı belirtilmiştir (62,63).

Hipertrigliseridemideki artmış koroner arter hastalığı riski fibrinolitik sistemdeki değişikliklere bağlı olabilir. VLDL trigliserid konsantrasyonlarındaki artış ile PAI-1 düzeyleri arasında pozitif korelasyon saptanmıştır (64). Deneysel modellerde trigliseridlerin endotel hücreleri ve hepatositlerden PAI-1 sekresyonunu arttırdığı gösterilmiştir (65). İnsülin ve trigliseridlerin sinerjik bir etki ile hepatositlerde PAI-1 sentezini indükledikleri ileri sürülmüştür (51).

PAI-1 mRNA yapımını azaltan faktörler ise; Heparin binding growth faktör, endotelial hücre büyüme faktörü ve nitrik oksittir.

Plazmada PAI-1 pıhtı oluşumunu destekler ve böylece myokard enfarktüsü, inme ve diğer kardiovasküler olayların patogeneğinde anahtar bir rol oynar (45). Venöz tromboemboli, obezite, sepsis, koroner arter hastalığı ve akut myokard enfarktüsü gibi çeşitli trombotik durumlarında PAI-1 düzeyinin arttığı ve bu durumun fibrinolitik kapasiteyi azalttığı bildirilmiştir (45, 49). Doku düzeyinde ise PAI-1 hücre dışı matriksdeki birikimi destekler ve vasküler yeniden şekillenmeyi, kardiyak fibrozisi ve glomerulosklerozisi düzenler. Hemolitik üremik sendrom ve nefritik sendromda artmış PAI-1 düzeyleri raporlanmış, artmış plazma aktivitesinin normale dönmesinin böbrek fonksiyonlarında düzelmeye korele gittiği bildirilmiştir. Respiratuar distress sendromu, idiyopatik pulmoner fibrozis ve bronkopulmoner displazi gibi akut ve kronik akciğer hastalıklarında bronkopulmoner lavaj sıvılarında artmış PAI-1 düzeyleri gösterilmiştir (52).

PAI-1 düzeyinin arttığı durumlar şu şekilde özetlenebilir; Koroner arter hastalığı, hipertansiyon, dislipidemi, obezite, bozulmuş glukoz toleransı, Tip 2 diyabetes mellitus, sepsis, venöz tromboemboliler, akut myokard enfarktüsü, hemodiyaliz hastaları, akut ve kronik bazı akciğer ve böbrek hastalıkları.

DIYABETES MELLİTUS PAI-1 İLİŞKİSİ

Organizmada fibrinolitik sistemin temel fonksiyonu plazminojenin, plazminojen aktivatörleri ile aktif bir proteolitik enzim olan plazmine dönüştürülmesidir. Fibrinolitik sistemin inhibisyonu ise, plasminojen aktivatörleri düzeyinde PAI-1 ile meydana gelir. PAI-1 tPA ve uPA ile birebir kovalan bağ ile bağlanır ve fibrinolizi inhibe eder. Bu nedenle PAI-1 bir prokoagülandır ve bu sayede pıhtılaşmayı hızlandırıcı etkisi vardır.

PAI-1 düzeyi koroner arter hastalığı, hipertansiyon, dislipidemi, obezite, bozulmuş glukoz toleransı, tip 2 diyabetes mellitus, sepsis, venöz tromboemboli, akut myokard enfarktüsü gibi hastalıklarda artmaktadır. (45, 52).

Koroner arter bypass cerrahisi yapılan 10 non-diyabetik ve 11 diyabetik hastadan elde edilen mammarian arter örneklerinin incelenmesi sonunda; diyabetik bireylerin arter duvarında PAI-1 bağlı immunfloresan boyanmanın daha çok olduğu görülmüştür (66).

Diyabetik hastalarda görülen non-enzimatik glikolizasyon ile fibrin glikolizillenebilir ve fibrinolizise daha az duyarlı hale gelir. Glikozillenme son ürünü olan AGE'nin de endotel hücrelerindeki PGI2 sentezini azalttığı ve buna karşılık PAI-1 sentezini arttırdığı gösterilmiştir (67).

Tip 2 DM'li hastalarda hiperinsülinemi ve kronik hiperglisemi önemli klinik bulgulardır. Glukoz ve insülin düzeyi artışı, in vitro çalışmalarda insan vasküler düz kas ve endotelinde PAI-1 sentez ve sekresyonunu artırmıştır. PAI-1 geni promotor bölgesi çalışmalarında hipergliseminin traksiyon başlangıç bölgesini stimüle ettiği gösterilmiştir. Yine insülin ve özellikle prekürsörlerinin (proinsülin) aort endotel hücrelerinde PAI-1 mRNA ekspresyonu üzerinde belirgin etkisi olduğu bildirilmiştir (68).

İnsülin direnci Tip 2 DM patogenezinde son derece önemli bir rol oynar. Tüm Tip 2 diyabetik hastalar insülin kullansın veya kullanmasın belirli oranda insülin rezistansına sahiptirler. İnsülin rezistansında insülin etkisine aracılık eden iki majör yol arasında bir dengesizlik söz konusudur. PI3K yolu insülin etkisine aracılık ederek

hücrel glukoz uptakeini ve endotelyal nitrik oksit üretimini desteklerken, MAPK kinaz yolu hücre büyümesini, migrasyonunu ve plazminogen aktivatör inhibitör-1 ekspresyonuna aracılık eder. Bu iki yol arasındaki dengesizlik nedeniyle MAPK kinaz yolu daha aktif rol oynayarak PAI-1 ekspresyonu artmaktadır (69).

Tip 2 diyabetli hastalarda meydana gelen önemli bir laboravutar anormallik de hiperlipidemidir. Vasküler dokudaki PAI-1 geninin ekspresyonu glukoz, insülin ve proinsülininden başka VLDL ve ansature yağ asitleri ile de artmaktadır. Endotel hücreleri VLDL ve ansature yağ asitleri ile kültüre edildiğinde PAI-1 sekresyonunun arttığı gösterilmiştir (70) .

GEREÇ VE YÖNTEM

Hasta Seçimi

Sağlık Bakanlığı Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi yerel etik kurul onamı alındıktan sonra Endokrinoloji ve Metabolizma Hastalıkları Polikliniğinde Ocak 2004-Ekim 2004 tarihleri arasında takip edilen ve Dünya Sağlık Örgütü kriterlerine göre Tip 2 DM tanısı alan, yaş, cinsiyet ve vücut kitle indeksi açısından birbirine benzer 35(21 kadın/14 erkek) komplike ve 35 (18 kadın/17 erkek) nonkomplike diyabetik hasta ile kontrol grubu olarak 20 (12 kadın/8 erkek) sağlıklı birey alındı. Çalışmaya katılan hastalar bilgilendirildi ve onay formunu imzaladı.

Çalışma dışı bırakılma kriterleri;

- Tiroid fonksiyon bozukluğu, karaciğer hastalığı
- Alkol bağımlılığı
- İlaç kullanımı

Kolesterol düşürücüler (statin veya fibrat grubu ilaç kullananlar)

ACE inhibitörü yada anjiyotensin reseptör blokeri kullananlar

Antiagregan kullanımı (asetil salisilik asit vb)

Hormon replasman tedavisi

E ve C vitamini içeren preparatlar

Olguların anamnezleri alındı, detaylı fizik muayeneleri yapıldı. Tanita Body compositon analyzer (model TBF-300) ile ölçümleri yapılarak vücut kitle indeksi (VKİ), vücut yağ yüzdesi ve vücut yağ kitlesi saptandı. Bel ve kalça ölçümleri yapılarak bel/kalça oranı hesaplandı. Tüm hastalarda kan basıncı en az 5 dakikalık istirahat sonrası yatar pozisyonunda civalı sfigmomanometre kullanarak ölçüldü. Sistolik kan basıncı 130 mmHg, diastolik kan basıncı 85 mmHg'nın üzerinde olanlar

hipertansif olarak değerlendirildi. Diyabetik olgular makrovasküler ve mikrovasküler komplikasyonlar açısından değerlendirildi. Olguların her biri aynı göz uzmanı tarafından ayrıntılı göz dibi muayeneleri ve yine aynı nöroloji uzmanı tarafından nörolojik muayeneleri yapılarak diyabetik retinopati ve nöropati yönünden değerlendirildi. Olgular kardiyovasküler hastalık anamnezi açısından sorgulandı, elektrokardiyografileri çekildi. Geçirilmiş serebrovasküler olay, periferik arter hastalığı olan hastalar ile EKG'lerinde geçirilmiş myokard infarktüsü olan hastalar diyabetik makrovasküler komplike olarak değerlendirildi. Nefropati yönünden değerlendirmek için sabah spot idrarda mikroalbümin/kreatinin (mikroalb/kre) ölçümü yapıldı.

Laboratuvar Çalışmaları

Tüm hastalardan bir gecelik açlığı takiben sabah 08:00 ile 09:00 arasında açlık kan şekeri (AKŞ), üre, kreatinin, total kolesterol, HDL kolesterol, LDL kolesterol, trigliserid, HbA1c, PAI-1, PON1 aktivitesi ölçümü için kan alındı. Sabah ilk idrar örneği alınarak spot mikroalbümin/kreatinin ölçümü yapıldı. PON1 aktivitesi Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Toksikoloji bölümünde çalışıldı. Biyokimyasal parametreler, HbA1c ve PAI-1 düzeyi ve spot idrar mikroalb/kre Sağlık Bakanlığı Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi biyokimya ve mikrobiyoloji birimlerinde çalışıldı.

Biyokimyasal Analizler

Glukoz, Hitachi D 2400 otoanalizörde Roche Diagnostics firmasının kitleriyle glikoz oksidaz yöntemi kullanılarak çalışıldı. Normal değeri; 70-110 mg/dl.

Kreatinin, deproteinize edilmeden alkalen pikrat yöntemiyle tespit edilerek Hitachi D 2400 otoanalizörde Roche Diagnostics firmasının kitleriyle çalışıldı. Normal değerler; 0.6-1.1 mg/dl.

Üre, Hitachi D 2400 otoanalizörde Roche Diagnostics firmasının kitleri kullanılarak kinetik üreaz metodu kullanılarak çalışıldı. Normal değerleri; 15-50 mg/dl idi.

Serum total kolesterol düzeyi, Hitachi D 2400 otoanalizörde Roche Diagnostics firmasının kitleri kullanılarak kolesterol oksidaz yöntemiyle çalışıldı. Normal değerleri; 130-200 mg/dl olarak alındı.

Serum trigliserid düzeyi, Hitachi D 2400 otoanalizörde Roche Diagnostics firmasının kitleri kullanılarak GPO-PAP metoduyla çalışıldı. Normal değerler; 35-150 mg/dl olarak alındı.

Serum HDL düzeyi, fosfotungustik asit ile serum çöktürüldükten sonra, Hitachi D 2400 otoanalizörde Roche Diagnostics firmasının kitleri kullanılarak, süpernatant kolesterol oksidaz yöntemiyle çalışıldı. Normal değerleri; 30-85 mg/dl olarak alındı.

Serum LDL düzeyi, Friedewald formülü ile hesaplandı:

$$\text{LDL (mg/dl)} = \text{Total kolesterol (mg/dl)} - \text{HDL (mg/dl)} - \text{trigliserid (mg/dl)}/5$$

HbA_{1c} düzeyi, high performance liquid chromatography (HPLC) yöntemi ile Agilent 1100 otoanalizörde (Chromsystems GmbH, Fraunhoferstrabe, Germany) çalışıldı. Normal değeri; %3.5-6 olarak alındı.

PAI-1 plazma düzeyleri, ELİSA yöntemi ile (Asserachrom Diagnostica Stago, France) çalışıldı. Düzeyi ng/ml olarak belirlendi.

PON1 aktivitesi, Eckerson ve arkadaşlarının tanımladığı yöntemle ölçüldü (71). Paraoxon (O,O-diethyl-O-p-nitrophenyl phosphat; Sigma Chemical Co., Poole, Dorset; U.K.) substratı kullanılarak 25 C° de oluşan p-nitrophenol düzeyi spektrofotometrik (Beckman Du-68) yöntem ile ölçüldü. Düzeyi µmol/ml/dk olarak belirlendi.

Spot idrarda mikroalbumin/kreatinin oranı (Mikroalb/kre), mikroalbumin sabah ilk idrarda nefelometrik yöntemle (Beckman Coulter USA)

alışıldı. Kreatinin Hitachi D 2400 otoanalizörde Roche Diagnostics firmasının kitleriyle çalışıldı. Spot mikroalbümin/kreatinin oranı <0.02 olanlar normal , 0.02-0.2 olanlar mikroalbüminüri ve >0.2 olanlar makroalbüminüri olarak değeriendirildi.

İstatistiksel Analiz

İstatistik işlemleri "SPSS 10.0 for Windows (Chicago, IL, USA)" istatistik paket programı ile yapıldı. İstatistiksel analizler için ki-kare, student's t ve oneway ANOVA testleri kullanıldı. Korelasyon analizi Pearson korelasyon analizi ile yorumlandı. Sonuçlar ortalama $\pm$ standart sapma olarak verildi. $p<0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

Çalışmaya tip 2 DM tanısı olan 35 komplike ve 35 nonkomplike hasta ile 20 sağlıklı birey alındı. Tablo 1' de komplike ve nonkomplike hasta ile kontrol gruplarının karakteristik özellikleri izlenmektedir. Her üç grubun yaş, cinsiyet dağılımı ve VKİ'leri istatistiksel olarak benzerdi. Komplike hastalarda diyabet süresi anlamlı olarak yüksek (124.4 ± 69.8 vs 29.2 ± 37.9 ay, $p<0.001$). Komplike grupta sigara içenlerin sayısı nonkomplike gruba benzerdi. Komplike hastaların %65.7'si hipertansif iken nonkomplike hastaların %28.6'sı hipertansif olup, HT komplike grupta anlamlı olarak daha sık görülmekteydi ($p<0.01$). Hipertansif hastalar antihipertansif tedavi aldığı için normotansif hastalara göre kan basıncı değerlerinde belirgin fark gözlenmedi.

Tablo 1. Grupların karakteristik özellikleri

	Komplike DM Grubu (n=35)	Nonkomplike DM Grubu (n=35)	Kontrol Grubu (n=20)	P
Cinsiyet (Kadın/Erkek)	21/14	18/17	12/8	İA*
Yaş (yıl)	53.05 ± 8.76	48.84 ± 10.50	49.00 ± 7.11	İA
Vücut Kitle İndeksi (kg/m ²)	27.25 ± 6.61	28.99 ± 4.75	27.46 ± 4.94	İA
DM Süresi (Ay)	124.4 ± 69.8	29.2 ± 37.9	-	< 0.001
Sigara kullanımı [n (%)]	17 (%48.6)	16 (%45.71)	10 (%50)	İA
Hipertansiyon [n (%)]	23 (%65.7)	10 (%28.6)	-	< 0.01

Değerler ortalama±standart sapma olarak verildi

*İA istatistiksel olarak anlamsız

Gruplara ait başlıca değişkenlerin dağılımı Tablo 2'de görülmektedir. Gruplar arasında VKİ, vücut yağ yüzdesi, vücut yağ kitlesi, BKO, sistolik ve diyastolik kan basıncı açısından istatistiksel olarak fark yoktu. Nonkomplike diyabetik olgular kontrol grubu ile karşılaştırıldığında AKŞ, PAI-1 anlamlı olarak yüksek, lipid parametreleri ve PON1 aktivitesi ise benzer saptandı. Komplike

diyabetik olgular kontrol grubu ile karşılaştırıldığında AKŞ, trigliserid, t. kolesterol, LDL kolesterol, PAI-1 düzeyi anlamlı yüksek, PON1 aktivitesi anlamlı düşük bulundu. Komplike diyabetik olgular nonkomplike diyabetik olgular ile karşılaştırıldığında ise diyabet süresi, AKŞ, HbA1c, üre, trigliserid, t. kolesterol, LDL kolesterol, PAI-1 düzeyi, mikroalb/kre oranı anlamlı yüksek, PON1 aktivitesi anlamlı düşük saptandı. HDL kolesterol düzeyi ise her üç grupta da benzerdi.

Tablo 2. Gruplar arasındaki başlıca değişkenler

	Komplike DM Grubu (n=35)	Nonkomplike DM Grubu (n=35)	Kontrol Grubu (n=20)
Sistolik Kan Basıncı (mm/Hg)	134.2 ± 30.9	126.0 ± 24.2	121.0 ± 8.1
Diastolik Kan Basıncı (mm/Hg)	82.5 ± 9.8	81.4 ± 7.3	78.0 ± 5.2
Vücut Kitle İndeksi (kg/m ²)	27.25 ± 6.61	28.99 ± 4.75	27.46 ± 4.94
Vücut Yağ Yüzdesi (%)	28.0 ± 12.9	32.2 ± 9.1	28.2 ± 7.7
Vücut Yağ Kütlesi (Kg)	20.7 ± 12.2	26.5 ± 13.5	22.9 ± 7.8
Bel/Kalça Oranı (BKO)	0.88 ± 0.15	0.91 ± 0.09	0.88 ± 0.10
AKŞ (mg/dl)	233.8 ± 98.7 ^{a1, b3}	188.9 ± 72.8 ^{b3}	87.9 ± 8.3
Üre (mg/dl)	44.4 ± 33.4 ^{a1}	27.5 ± 8.8	26.7 ± 5.7
Kreatinin (mg/dl)	1.03 ± 0.93	0.80 ± 0.17	0.82 ± 0.24
Trigliserid (mg/dl)	210.7 ± 98.7 ^{a2, b3}	157.7 ± 68.2	124.7 ± 51.5
T. Kolesterol (mg/dl)	234.8 ± 5.8 ^{a2, b3}	203.7 ± 42.7	184.7 ± 26.0
HDL Kolesterol (mg/dl)	48.3 ± 10.3	48.8 ± 8.1	46.3 ± 7.9
LDL Kolesterol (mg/dl)	143.8 ± 28.7 ^{a1, b2}	124.5 ± 33.6	113.9 ± 24.0
HbA1c (%)	10.97 ± 2.86 ^{a3}	8.34 ± 2.25	-
Mikroalb/Kre	0.500 ± 1.050 ^{a2}	0.008 ± 0.003	-
PAI-1 (ng/ml)	98.1 ± 26.1 ^{a3, b3}	74.3 ± 29.4 ^{b2}	50.9 ± 19.1
PON1 Aktivitesi (µmol/ml/dk)	69.8 ± 30.6 ^{a1, b1}	94.4 ± 51.4	98.7 ± 42.3

^a Nonkomplike DM grubu ile, ^b Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında,

¹ p<0.05, ² p<0.01, ³ p<0.001

Diyabetik hastaların 30'unda (%42.9) nöropati, 22'sinde (% 31.4) retinopati, 22'sinde (% 31.4) nefropati ve 19'unda (%22.9) makrovasküler komplikasyon mevcuttu. Hastalarda en sık nöropati görülmekteydi.

Nöropatili olan ve nöropatili olmayan diyabetik gruplara ait başlıca değişkenler Tablo 3'te görülmektedir. Her iki grupta yaş, VKİ, BKO, kan basınçları benzerdi. Diyabet süresi nöropatili hastalarda anlamlı olarak fazlaydı (130.0 ± 71.3 vs 36.9 ± 44.5 ay, p<0.001). Gerek nöropatili olan gerekse nöropatili olmayan olgularda kontrol grubuna göre AKŞ, HbA1c, trigliserid ve PAI-1 düzeyleri anlamlı yüksekti. Nöropatili grupta nöropatili olmayan gruba göre HbA1c, üre, Total

kolesterol anlamlı yüksek, PON1 aktivitesi anlamlı olarak düşük saptandı. Bu parametreler açısından nöropatisi olmayan grup ile kontrol grubu arasında anlamlı bir fark saptanmadı. LDL kolesterol düzeyleri açısından nöropati olmayan grup ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak fark saptanmazken nöropatili grupta kontrol grubuna göre anlamlı yüksek bulundu. HDL kolesterol ise her üç grupta da benzerdi. Sigara içenlerin %50'sinde nöropati gözleniyorken içmeyenlerin ise %38.1'inde nöropati mevcuttu ve istatistiki olarak fark yoktu. Nöropatili hastaların %57.6'sında, nöropatisi olmayan hastaların ise %42.4'ünde HT mevcut olup fark istatistiksel anlamlıydı ($p<0.01$).

Tablo 3. Nöropatisi olan ve nöropatisi olmayan Tip 2 DM'li hastaların başlıca değişkenleri

	Nöropati (+) (n=30)	Nöropati (-) (n=40)	Kontrol Grubu (n=20)
Yaş (Yıl)	52.53 ± 8.93	49.76 ± 10.41	49.00 ± 7.11
DM Süresi (Ay)	130.0 ± 71.3 ^{a3}	36.9 ± 44.5	-
Sistolik Kan Basıncı (mm/Hg)	131.0 ± 30.5	129.5 ± 26.2	121.0 ± 8.1
Diastolik Kan Basıncı (mm/Hg)	81.3 ± 8.9	82.5 ± 8.3	78.0 ± 5.2
Vücut Kitle İndeksi (kg/m ²)	27.48 ± 6.72	28.59 ± 5.00	27.46 ± 4.94
Vücut Yağ Yüzdesi (%)	28.36 ± 13.13	31.49 ± 9.73	28.22 ± 7.7
Vücut Yağ Kütlesi (Kg)	21.1 ± 12.5	25.5 ± 13.4	22.9 ± 7.8
Bel/Kalça Oranı (BKO)	0.87 ± 0.16	0.94 ± 0.09	0.88 ± 0.10
AKŞ (mg/dl)	233.5 ± 98.2 ^{b3}	194.8 ± 78.7 ^{b3}	87.9 ± 8.3
Üre (mg/dl)	46.1 ± 35.6 ^{a2, b2}	28.3 ± 9.3	26.7 ± 5.7
Kreatinin (mg/dl)	1.08 ± 1.01	0.79 ± 0.17 ^{b1}	0.82 ± 0.24
Trigliserid (mg/dl)	207.6 ± 63.0 ^{a1, b3}	166.7 ± 70.7 ^{b1}	124.7 ± 51.5
T. Kolesterol (mg/dl)	234.2 ± 36.7 ^{a1, b3}	208.3 ± 43.0	184.7 ± 26.0
HDL Kolesterol (mg/dl)	48.5 ± 11.0	48.6 ± 7.8	46.3 ± 7.9
LDL Kolesterol (mg/dl)	143.5 ± 28.5 ^{b2}	127.1 ± 33.9	113.9 ± 24.0
Mikroalb/Kre	0.5 ± 1.11 ^{a1}	0.06 ± 0.28	-
HbA1c (%)	11.19 ± 2.88 ^{a3}	8.51 ± 2.31	-
PAI-1 (ng/ml)	98.0 ± 26.8 ^{a2, b3}	77.3 ± 29.6 ^{b3}	50.9 ± 19.1
PON1 Aktivitesi (µmol/ml/dk)	65.0 ± 29.1 ^{a2, b1}	94.9 ± 48.6	98.7 ± 42.3

^a Nöropati (-) grup ile, ^b Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında,

¹ $p<0.05$, ² $p<0.01$, ³ $p<0.001$

Diyabetik olguların 22'sinde (%31.4) retinopati mevcuttu. Retinopatisi olan ve retinopatisi olmayan olgulara ait değişkenler Tablo 4'te görülmektedir. Gruplar arasında yaş, VKİ, BKO, kan basınçları benzerdi. Diyabet süresi belirgin olarak retinopatili grupta fazlaydı. AKŞ kontrol grubundan anlamlı yüksek iken, retinopati

(+) ve retinopati (-) gruplar arasında fark saptanmadı. HbA1c, mikroalb/kre ve üre, retinopatili grupta retinopatisi olmayan gruba göre daha yüksek iken, kreatinin değerleri arasında istatistiki olarak fark yoktu. Retinopati (+) olgularda lipid parametreleri retinopati(-) grupla benzerdi. HDL kolesterol düzeyleri her üç grupta benzerdi. PAI-1 düzeyleri ise retinopati (+) grupta daha yüksek olmak üzere diyabetik grupta anlamlı olarak yüksekti. PON1 aktivitesi ise her üç grupta da istatistiksel olarak benzer düzeylerdeydi. Retinopatili hastaların %50'si sigara içmekteydi. Sigara içimi ve hipertansiyon görülme sıklığı açısından gruplar arasında fark yoktu.

Tablo 4. Retinopatisi olan ve retinopatisi olmayan Tip 2 DM'li hastaların başlıca değişkenleri

	Retinopati (+) (n=22)	Retinopati (-) (n=48)	Kontrol Grubu (n=20)
Yaş (Yıl)	53.72 ± 8.57	49.67 ± 10.19	49.00 ± 7.11
DM Süresi (Ay)	143.4 ± 67.1 ^{a3}	46.3 ± 53.9	-
Sistolik Kan Basıncı (mm/Hg)	130.9 ± 33.5	129.7 ± 25.3	121.0 ± 8.1
Diastolik Kan Basıncı (mm/Hg)	82.2 ± 9.2	81.8 ± 8.4	78.0 ± 5.2
Vücut Kitle İndeksi (kg/m ²)	27.45 ± 6.86	28.88 ± 5.11	27.46 ± 4.94
Vücut Yağ Yüzdesi (%)	26.8 ± 13.7	31.6 ± 9.8	28.2 ± 7.7
Vücut Yağ Kitlesi (Kg)	19.5 ± 12.5	25.5 ± 13.1	22.9 ± 7.8
Bel/Kalça Oranı (BKO)	0.91 ± 0.07	0.89 ± 0.14	0.88 ± 0.10
AKŞ (mg/dl)	228.1 ± 98.9 ^{b3}	203.7 ± 84.1 ^{b3}	87.9 ± 8.3
Üre (mg/dl)	50.7 ± 29.1 ^{a3, b3}	39.8 ± 10.5	26.7 ± 5.7
Kreatinin (mg/dl)	1.14 ± 0.16	0.81 ± 0.19	0.82 ± 0.24
Trigliserid (mg/dl)	201.3 ± 59.6 ^{b3}	176.4 ± 73.6 ^{b1}	124.7 ± 51.5
T. Kolesterol (mg/dl)	231.0 ± 39.0 ^{b3}	213.9 ± 42.9 ^{b1}	184.7 ± 26.0
HDL Kolesterol (mg/dl)	48.8 ± 11.6	48.6 ± 8.0	46.3 ± 7.9
LDL Kolesterol (mg/dl)	140.1 ± 29.3 ^{b1}	131.4 ± 33.8	113.9 ± 24.0
HbA1c (%)	11.69 ± 2.74 ^{a3}	8.72 ± 2.45	-
Mikroalb/Kre	0.68 ± 1.28 ^{a1}	0.06 ± 0.20	-
PAI-1 (ng/ml)	100.0 ± 29.5 ^{a1, b3}	79.9 ± 28.5 ^{b3}	50.9 ± 19.1
PON1 Aktivitesi (µmol/ml/dk)	71.1 ± 34.5	87.1 ± 46.8	98.7 ± 42.3

^a Retinopati (-) grup ile, ^b Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında,

¹ p<0.05, ² p<0.01, ³ p<0.001

Diyabetik olguların 22'sinde (%31.4) nefropati görülmekteydi. Nefropati (+) ve nefropati (-) olgular ve kontrol grubuna ait değişkenler Tablo 5'te verilmektedir. Yaş, VKİ, BKO ve sistolik kan basıncı gruplar arasında istatistiksel olarak benzerdi. Diyastolik kan basıncı nefropatili grupta kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksekti. Ancak nefropatisiz grupla benzerdi. Nefropatili hastalarda diyabet süresi nefropatisiz gruba göre anlamlı yüksekti (p<0.001). HbA1c ve AKŞ nefropatili ve

nefropatisiz grupta kontrol grubuna göre anlamlı yüksekti. Üre ve kreatinin beklenildiği gibi nefropatili grupta daha yüksekti. HDL kolesterol düzeyleri her üç grupta da benzerken trigliserid, t.kolesterol ve LDL kolesterol nefropatili ve nefropatisiz hastalarda kontrol gruba göre anlamlı olarak yüksek saptandı. Ancak LDL kolesterol bakımından nefropatili ve nefropatisiz grup arasında istatistiksel fark saptanmadı. Nefropatili hastalarda PON1 aktivitesi daha düşük olmasına rağmen diğer gruplara göre istatistiksel olarak fark yoktu. PAI-1 düzeyi diyabetik gruplarda anlamlı olarak yüksek bulundu. Ancak nefropatisi olmayan grup ile nefropatili grup arasında istatistiksel fark saptanmadı. Nefropatili hastaların %72.7'sinde HT mevcuttu. Hipertansiyonu olan hastaların %48.5'inde nefropati görülürken hipertansiyonu olmayan hastaların %16.2'sinde nefropati saptandı ($p<0.01$). Nefropatili hastaların %50'si sigara içmekteydi. Sigara içen diyabetiklerin %39.3'ünde nefropati gözlenirken, sigara içmeyenlerin %26.2'sinde nefropati mevcuttu ve istatistiksel olarak fark bulunmadı.

Tablo 5. Nefropatisi olan ve olmayan Tip 2 DM'li hastaların başlıca değişkenleri

	Nefropati (+) (n=22)	Nefropati (-) (n=48)	Kontrol Grubu (n=20)
Yaş (Yıl)	53.40 ± 8.65	49.82 ± 10.22	49.00 ± 7.11
DM Süresi (Ay)	128.5 ± 78.2 ^{a3}	53.1 ± 58.2	-
Sistolik Kan Basıncı (mm/Hg)	133.6 ± 35.7	128.5 ± 23.7	121.0 ± 8.1
Diastolik Kan Basıncı (mm/Hg)	84.0 ± 9.5 ^{b1}	81.0 ± 8.0	78.0 ± 5.2
Vücut kitle indeksi (kg/m ²)	26.35 ± 6.99	28.93 ± 5.01	27.46 ± 4.94
Vücut Yağ Yüzdesi(%)	25.8 ± 13.8	32.0 ± 9.5	28.2 ± 7.7
Vücut Yağ Kütlesi(Kg)	19.3 ± 13.0	25.6 ± 12.9	22.9 ± 7.8
Bel/Kalça Oranı	0.86 ± 0.18	0.91 ± 0.08	0.88 ± 0.10
AKŞ (mg/dl)	215.8 ± 81.5 ^{a3, b3}	209.3 ± 93.0 ^{b3}	87.9 ± 8.3
Üre (mg/dl)	51.2 ± 40.1 ^{a3, b3}	28.9 ± 9.5	26.7 ± 5.7
Kreatinin (mg/dl)	1.20 ± 1.15 ^{a1}	0.78 ± 0.16	0.82 ± 0.24
Trigliserid (mg/dl)	215.4 ± 59.1 ^{a1, b3}	169.9 ± 70.6 ^{b1}	124.7 ± 51.5
T. kolesterol (mg/dl)	240.0 ± 40.7 ^{a2, b3}	209.7 ± 39.7 ^{a1}	184.7 ± 26.0
HDL Kolesterol (mg/dl)	47.5 ± 10.0	49.0 ± 8.9	46.3 ± 7.9
LDL Kolesterol (mg/dl)	148.5 ± 32.5 ^{a1}	127.5 ± 30.6 ^{b3}	113.9 ± 24.0
Mikroalb/Kre	0.790 ± 1.250 ^{a2}	0.009 ± 0.003	-
HbA1c (%)	10.89 ± 2.98 ^{a1}	9.09 ± 2.67	-
PAI-1 (ng/ml)	95.7 ± 26.5 ^{b3}	81.9 ± 30.9 ^{b3}	50.9 ± 19.1
PON1 Aktivitesi (μmol/ml/dk)	71.5 ± 35.2	86.9 ± 46.7	98.7 ± 42.3

^a Nefropati (-) grup ile, ^b Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında,

¹ $p<0.05$, ² $p<0.01$, ³ $p<0.001$

Makrovasküler komplikasyon 19 (%22.9) hastada mevcuttu. Makrovasküler komplikasyonu olan ve makrovasküler komplikasyonu olmayan diyabetik gruplara

ait başlıca değişkenler Tablo 6’da görülmektedir. Her üç grupta yaş, VKİ, BKO, kan basınçları benzerdi. Diyabet süresi ve HbA1c makrovasküler komplikasyonu olan hastalarda makrovasküler komplikasyonu olmayan hastalara göre anlamlı yüksekti ($p<0.001$). AKŞ kontrol grubuna göre her iki grupta da anlamlı yüksek iken makrovasküler komplikasyonu olan ve olmayan grupta istatistiksel olarak benzerdi. Kan üre düzeyi makrovasküler komplikasyonu olan grupta diğer gruplardan anlamlı yüksek iken makrovasküler komplikasyonu olmayan grupla kontrol grubu arasında fark saptanmadı. Trigliserid ve t.kolesterol düzeyi her iki diyabetik grupta belirgin yüksekti. LDL kolesterol düzeyi ise makrovasküler komplikasyonu olan grupta kontrol grubuna göre anlamlı yüksek iken makrovasküler komplikasyonu olmayan grupla istatistiksel olarak benzerdi. HDL kolesterol düzeyi ise her üç grupta da benzerdi. Makrovasküler komplikasyonlu hastalarda kontrol grubuna göre PON1 aktivitesi belirgin düşük saptandı. Makrovasküler komplikasyonu olmayan hastalarla kontrol grubu arasında ise PON1 aktivitesi açısından istatistiksel olarak fark yoktu. PAI-1 düzeyi makrovasküler komplikasyonlu hastalarda en yüksek olmak üzere diyabetik hastalarda kontrol grubuna göre anlamlı yüksekti. Makrovasküler komplikasyonu olan hastaların %52.6’sı sigara içmekteydi. Sigara içimi açısından gruplar arasında istatistiksel olarak fark bulunmadı. Makrovasküler komplikasyonu olan diyabetik hastaların %78.9’unda HT mevcuttu. Hipertansif diyabetiklerin %45.5’inde, normotansif diyabetiklerin ise %10.8’inde makrovasküler komplikasyon görüldü. Hipertansif hastalarda istatistiksel anlamlı olarak daha sık makrovasküler komplikasyon görülmekteydi ($p<0.001$).

Tablo 6. Makrovasküler komplikasyonu olan ve olmayan tip 2 DM'li hastalara ait değişkenler

	Makrovasküler Komplikasyon (+) (n=19)	Makrovasküler Komplikasyon (-) (n=51)	Kontrol Grubu (n=20)
Yaş (Yıl)	53.10 ± 7.71	50.14 ± 10.47	49.00 ± 7.11
DM Süresi (Ay)	125.4 ± 77.5 ^{a3}	58.7 ± 63.8	-
Sistolik Kan Basıncı (mm/Hg)	130.5 ± 35.0	130.0 ± 25.2	121.0 ± 8.1
Diastolik Kan Basıncı (mm/Hg)	82.6 ± 8.0	81.7 ± 8.8	78.0 ± 5.2
Vücut kitle indeksi (kg/m ²)	27.40 ± 5.64	28.39 ± 5.87	27.46 ± 4.94
Vücut Yağ Yüzdesi(%)	28.3 ± 12.0	30.8 ± 10.6	28.2 ± 7.7
Vücut Yağ Kütlesi(Kg)	20.9 ± 11.8	24.7 ± 13.6	22.9 ± 7.8
Bel/Kalça Oranı	0.91 ± 0.08	0.85 ± 0.19	0.88 ± 0.10
Glukoz (mg/dl)	215.8 ± 83.4 ^{a3, b3}	209.7 ± 91.8 ^{b3}	87.9 ± 8.3
Üre (mg/dl)	46.4 ± 27.0 ^{a1, b2}	32.0 ± 24.3	26.7 ± 5.7
Kreatinin (mg/dl)	1.12 ± 0.97	0.84 ± 0.52	0.82 ± 0.24
Trigliserid (mg/dl)	215.7 ± 68.3 ^{a1, b3}	172.5 ± 67.7 ^{b1}	124.7 ± 51.5
T. kolesterol (mg/dl)	233.8 ± 41.6 ^{b3}	213.8 ± 41.5 ^{b1}	184.7 ± 26.0
HDL Kolesterol (mg/dl)	46.3 ± 9.4	9.4 ± 9.1	46.3 ± 7.9
LDL Kolesterol (mg/dl)	143.8 ± 28.7 ^{b2}	130.2 ± 31.6	113.9 ± 24.0
Mikroalb/Kre	0.51 ± 0.87	0.15 ± 0.73	-
HbA1c	11.40 ± 3.16 ^{a3}	9.00 ± 2.50	-
PAI-1 (ng/ml)	102.7 ± 26.9 ^{a2, b3}	80.0 ± 29.1 ^{b1}	50.9 ± 19.1
PON1 Aktivitesi (μmol/ml/dk)	64.4 ± 3.8 ^{b1}	88.7 ± 45.4	98.7 ± 42.3

^a Makrovasküler Komplikasyon (-) grup ile, ^b Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında,

¹ p< 0.05, ² p< 0.01, ³ p< 0.001

Diyabetik hastalar kan şekeri regülasyonuna göre HbA1c >% 8 ve HbA1c ≤ %8 olarak gruplandırıldığında; PAI-1 ve trigliserid kötü regüle olan grupta istatistiksel anlamlı yüksek iken (p<0.05), PON1 düzeyi anlamlı düşük bulundu (p<0.05) (Tablo 7).

Tablo 7. Tip 2 DM'li olguların HbA1c düzeylerine göre verileri

	HbA1c ≤ % 8 (n=26)	HbA1c > % 8 (n=44)	p
Diyabet süresi (ay)	43.9 ± 53.6	96.3 ± 77.28	< 0.001
Trigliserid (mg/dl)	162.4 ± 75.0	197.1 ± 64.4	< 0.05
T. kolesterol (mg/dl)	209.1 ± 44.2	225.2 ± 40.2	İA*
HDL Kolesterol (mg/dl)	49.0 ± 7.4	48.3 ± 10.2	İA
LDL Kolesterol (mg/dl)	129.1 ± 33.2	137.1 ± 32.1	İA
PAI-1 (ng/ml)	76.7 ± 29.6	91.8 ± 29.3	< 0.05
PON1 Aktivitesi (μmol/ml/dk)	99.9 ± 49.4	71.5 ± 36.7	< 0.05

Değerler ortalama±standart sapma olarak verildi

*İA istatistiksel olarak anlamsız

Sigara içen diyabetik hastaların HDL kolesterol ve PON1 düzeyi sigara içmeyen diyabetik hasta grubuna göre anlamlı düşük bulundu (sırasıyla $p<0.01$, $p<0.05$) (Tablo 8).

Tablo 8. Tip 2 DM’li olgularda sigara içen ve içmeyen grupların verileri

	Sigara (+) (n=28)	Sigara (-) (n=42)	p
Diyabet süresi (ay)	67.7 ± 62.4	82.9 ± 80.3	IA*
Trigliserid (mg/dl)	194.5 ± 71.3	177.3 ± 69.2	IA
T. kolesterol (mg/dl)	210.9 ± 39.4	224.8 ± 43.5	IA
HDL Kolesterol (mg/dl)	44.5 ± 8.34	51.3 ± 8.9	< 0.01
LDL Kolesterol (mg/dl)	127.0 ± 33.7	138.9 ± 31.3	IA
PAI-1 (ng/ml)	86.1 ± 28.0	86.3 ± 31.7	IA
PON1 Aktivitesi (μ mol/ml/dk)	69.3 ± 29.1	90.6 ± 49.7	< 0.05

Değerler ortalama±standart sapma olarak verildi

*İA istatistiksel olarak anlamsız

Hipertansif diyabetik grupta PAI-1, trigliserid, t. Kolesterol ve LDL kolesterol düzeyleri hipertansiyonu olmayan diyabetik hasta grubuna göre anlamlı yüksek saptandı (sırasıyla $p<0.001$, $p<0.05$, $p<0.001$, $p<0.01$) (Tablo 9).

Tablo 9. Tip 2 DM’li hipertansiyon (+) ve (-) olguların verileri

	Hipertansiyon (+)	Hipertansiyon (-)	p
Diyabet süresi (ay)	104.0 ± 80.4	52.5 ± 57.7	< 0.01
Trigliserid (mg/dl)	206.1 ± 72.8	164.7 ± 62.3	< 0.05
T. kolesterol (mg/dl)	236.8 ± 39.9	203.6 ± 38.2	< 0.001
HDL Kolesterol (mg/dl)	46.5 ± 8.6	50.8 ± 9.4	IA*
LDL Kolesterol (mg/dl)	144.7 ± 30.8	124.7 ± 31.4	< 0.01
PAI-1 (ng/ml)	98.3 ± 28.7	75.4 ± 27.4	< 0.001
PON1 Aktivitesi (μ mol/ml/dk)	83.5 ± 45.8	80.9 ± 42.4	IA

Değerler ortalama±standart sapma olarak verildi

*İA istatistiksel olarak anlamsız

Diyabetik hastaların korelasyon analizinde diyabet süresi ile HbA1c ($r=0.37$, $P<0.001$), AKŞ ($r=0.45$, $p<0.001$), üre ($r=0.29$, $p<0.05$), trigliserid ($r=0.36$, $p<0.01$) ve t.kolesterol ($r=0.32$, $p<0.01$) arasında pozitif korelasyon vardı.

HbA1c ile trigliserid ($r=0.27$, $p<0.05$) arasında pozitif korelasyon vardı.

PAI-1 ile diyabet süresi ($r=0.31$, $p<0.01$), trigliserid ($r=0.27$, $p<0.05$), t.kolesterol ($r=0.30$, $p<0.05$), HbA1c ($r=0.37$, $p<0.001$) arasında pozitif korelasyon ve PON1 aktivitesi ($r=-0.23$, $p<0.05$) ile negatif korelasyon mevcuttu.

PON1 aktivitesi ile HDL kolesterol ($r=0.25$, $p<0.05$) ile pozitif korelasyon vardı. HbA1c ($r=-0.31$, $p<0.01$) ile PAI-1 ($r=-0.23$, $p<0.05$) arasında negatif korelasyon mevcuttu.

TARTIŞMA

Diyabetes mellitus makrovasküler ve mikrovasküler komplikasyonlarla seyreden kronik bir hastalıktır. Diyabetik hastalarda yaygın ve hızlanmış bir ateroskleroz söz konusudur. Makrovasküler ve mikrovasküler komplikasyonlar nedeniyle diyabetik hastalarda morbidite ve mortalite belirgin olarak artmaktadır. Diyabetes mellitus henüz tam tedavi edilebilir hastalık olmadığı için komplikasyonların önlenmesi ve geciktirilmesi oldukça önemlidir. Diyabetik komplikasyonların sıklığı ve şiddeti genetik faktörlere bağlı olarak kişiden kişiye değişebilmektedir. Son yıllarda komplikasyonların etyopatogenezini anlamak için moleküler ve genetik çalışmalara ağırlık verilmiştir. Endotel disfonksiyonu, sitokinler, PAI-1 gibi fibrinolizi engelleyen molekül, oksidatif stres bu konuda sıkça suçlanan nedenlerdir. PON1 enziminin LDL oksidasyonunu inhibe etmesi, hayvan deneylerinde ve klinik çalışmalarda ateroskleroz ile bağlantısının bulunmasının ardından ateroskleroz ve mikrovasküler komplikasyonların sıkça görüldüğü diyabet hastalığı ile PON1 enzim sistemini inceleyen laboratuvar ve klinik çalışmalar yapılmaya başlandı. Bilindiği gibi diyabetik hastalarda oksidatif stres belirgin olarak artmaktadır. Streptozosin ile diyabet oluşturulan sıçanlarda PON1 aktivitesinin progresif olarak azaldığı görüldü. Abbott ve arkadaşları, komplike tip 1 ve tip 2 DM hastalarında PON1 aktivitesini nonkomplike DM grubuna göre belirgin düşük saptadılar (72). Mackness ve arkadaşlarının familiyal hiperkolesterolemili ve insülin bağımlı diyabetes mellitus (IDDM) hastalarda yaptığı çalışmada serum PON1 aktivitesi her iki grupta kontrol grubuna göre anlamlı düşük bulundu (29). Diyabetik hastalarda kronik hiperglisemiye bağlı olarak nonenzimatik glikozilasyon, glukozun otooksidasyonu ve artan sorbitol-polyol yolağı nedeniyle serbest oksijen radikalleri artmaktadır (1). Özellikle kan şekeri regülasyonu kötü olan diyabetik hastalarda serbest oksijen radikallerinin artması nedeniyle serum PON1 düzeyi belirgin olarak azalmaktadır (39). Çalışmamızda komplike tip 2 DM'li hastalarda PON1 aktivitesi gerek nonkomplike ve gerekse kontrol grubuna göre belirgin düşük saptandı (Tablo 2). Nonkomplike grup ile kontrol grubu arasında fark yoktu. PON1 düzeyi ile HbA1c arasında negatif korelasyon mevcuttu. Kan şekeri

regülasyonu kötü olan grupta regülasyonu iyi olan gruba göre PON1 düzeyi anlamlı düşük bulundu (Tablo 7).

PON1 enzimi HDL'nin LDL peroksidasyonunu önleyen en önemli bileşenidir. PON enzimi ve HDL üzerinde yer alan Platelet-activating factor acetylhydrolase (PAFAH) enzimi ile beraber LDL peroksidasyonunu inhibe ederler. HDL üzerinde bulunan apoA-1 ve lecithin-cholesterol acyltransferaz (LCAT) enzimi de inhibisyonda bu enzimlere yardımcı olurlar (73). PON1 proteini hidrofobik N terminali ile HDL kolesterol üzerindeki apolipoprotein A1 ve clusterin (apoJ)'yi içeren kısmına bağlanır (74). Diyabetik hastalarda PON1 aktivitesinin azalmasının nedeni kesin bilinmemekle birlikte bazı hipotezler öne sürülmüştür. Diyabetik hastalarda PON1 proteinin HDL kolesterol ve apolipoprotein A1 ile bağlantısının zayıflaması veya kaybı, hiperglisemi nedeniyle PON1 proteininin glikozillenmesi veya endojen bir inhibitör tarafından inhibe edilerek enzim aktivitesinin azalabileceği belirtilmektedir. Diyabetik hastalarda HDL düzeyi değişmese bile HDL molekülünün kompozisyonunda değişiklikler olmaktadır (40,75). Bu değişiklikler nedeniyle PON1 enziminin HDL'ye bağlanması, aktivitesi ve katabolizması değişebilmektedir. Çalışmamızda komplike ve nonkomplike diyabetik hastalarda ve kontrol grubunda HDL düzeyleri benzerdi (Tablo 2). Ancak korelasyon analizinde PON1 ile HDL arasında zayıf bir korelasyon mevcuttu.

Diyabetik hastalarda trigliseridlerin artışı ile karakterize dislipidemi sıkça görülmektedir (2). Hipertrigliseridemi varlığında daha küçük ve daha yoğun LDL molekülü oluşmakta ve daha fazla oksidatif hasar oluşmaktadır (76). Brites ve arkadaşlarının primer hipertrigliseridemisi bulunan hastalarda yaptığı bir çalışmada düşük HDL ve hipertrigliseridemi varlığında PON1 aktivitesinin belirgin olarak azaldığını saptadılar (77). Trigliserid ve apo C-III ten zengin HDL molekülü oluşması nedeniyle HDL molekülünün kompozisyonu değişmektedir. HDL kompozisyonundaki değişikliğe bağlı olarak hücrelerden kolesterol akışı ve PON1 aktivitesi azalmaktadır (78). Çalışmamızda diyabetik hastalarda özellikle komplikasyonlu grupta diyabetik dislipidemi sık görülmekteydi. Çalışma gruplarımızda HDL düzeyleri benzer olmasına rağmen komplikasyonlu diyabetik grupta trigliserid düzeyleri belirgin olarak yüksekti (Tablo 2). Komplike diyabetik

hastalarımızda PON1 aktivitesini azaltan sebeplerden birinin hipertrigliseridemi olduğu düşünülebilir.

PON1 aktivitesi kişisel genetik yapıdaki 5' regülatuvar bölge polimorfizmi tarafından belirlenmektedir (9). Ancak bazı ilaçlar, kimyasal ajanlar, fizyolojik ve patolojik durumlar, diyet ve yaşam tarzı PON1 aktivitesini değiştirebilmektedirler. Ferre ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada sigaranın PON1 aktivitesini değiştiren en önemli dış etmenlerden biri olduğu saptandı (22). Eisuke ve arkadaşlarının sigara ekstreşiyle yaptıkları deneyde sigaranın PON1 aktivitesini azalttığı görüldü (79). Sigaranın içindeki toksik maddelerin oksidatif stresi arttırdığı bilinmektedir. Artan oksidatif ürünler nedeniyle PON1 tüketimi artmakta ve PON1 düzeyi düşmektedir. Tip 2 diyabetik hastalarda ve koroner arter hastalığı olan kişilerde yapılan iki ayrı çalışmada sigara içiminin PON1 konsantrasyonunu ve aktivitesini azalttığı görüldü (80,81). James ve arkadaşlarının koroner arter hastalarında yaptıkları çalışmada sigarayı bırakan kişilerin PON1 aktivitesi hiç içmemiş olanlara göre anlamlı düşük saptanmıştır. Uzun süreli sigara içimi sonrası sigara kesilse bile vücutta biriken sigara katranının oksijen radikallerini üretebileceği bilinmektedir (82). Sigara içen diyabetik hastalarda sigaranın PON1 enzimi üzerine olumsuz etkileri koroner kalp hastalığı sıklığındaki belirgin artışın önemli nedenlerindendir(80). Çalışmamızda sigara içen diyabetik grupta PON1 düzeyi sigara içmeyen diyabetik gruba göre daha düşük saptandı (Tablo 8).

Tip 2 DM'li hastalarda HT sık olarak görülmektedir. Sözman ile Nakazono ve arkadaşlarının yaptığı iki ayrı çalışmada kötü regüle esansiyel hipertansiyonda katekolaminlerin otooksidasyonu ve antioksidan enzim azalması nedeniyle serbest oksijen radikallerinin arttığı saptandı (83,84). Çalışmamızda Komplike tip 2 DM'li hastalarda hipertansiyon daha sık görülmekteydi ve daha uzun süredir mevcuttu. PON1 düzeyi bakımından hipertansiyonu olan grupla hipertansiyonu olmayan grup arasında fark yoktu (Tablo 9). Antihipertansif ilaç kullanımına bağlı olarak hipertansif hastaların kan basınçlarının regüle seyretmesi nedeniyle PON1 düzeyleri arasında fark olmadığını düşünmekteyiz.

Komplikasyonlu tip 2 diyabetik hastalarda PON1 düzeyinin azaldığı görülmüştür. Mackness ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada nöropati görülen diyabetik

hastalarda PON1 aktivitesinin nöropati görülmeyen hastalara göre düşük buldular (72). Diyabetik retinopatili hastalarda yaptıkları diğer bir çalışmada ise retinopatili görülen grupta PON1 aktivitesinin azaldığını saptadılar (P38). Koroner arter hastalığı olan diyabetik hastalar ile PON1 aktivitesi ve PON1 enzim Gln192 Arg ve Leu55Met polimorfizmi yönünden ilişki olduğu saptanırken benzer ilişki nefropatili diyabetik hastalarda da bulundu (42,43). Çalışmamızda komplikasyon olarak en sık nöropati görülmekteydi. Makrovasküler komplikasyonu olan grup ve nöropatili grupta PON1 aktivitesi diğer bu komplikasyonların görülmediği gruplardan anlamlı olarak düşük iken PAI-1 düzeyi anlamlı yüksek bulundu (Tablo 2-3). Nefropatili ve retinopatili gruplarda ise nefropati ve retinopatili görülmeyen gruplara göre PON1 düzeyi bakımından fark bulunmadı (Tablo 4-5). Ancak nefropatili ve retinopatili diyabetik hastalarımızda PAI-1 düzeyinin anlamlı olarak arttığı tespit edildi. PON1 enzim düşüklüğü ve PAI-1 artışının nöropati ve makrovasküler hastalık oluşumu ile beraber olduğunu saptadık. Nefropati ve retinopatili gelişiminde ise PAI-1 artışı PON1 enzimi düşüklüğü ile beraber değildi.

PAI-1, fibrinolitik aktivitede önemli rol oynar. Tip 2 diyabetik hastalarda PAI-1 düzeylerinin arttığı ve fibrinolizin azaldığı saptandı (85). PAI-1 ekspresyon ve üretiminde glukozun da önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir. Nordt ve arkadaşları hiperglisemik hastaların aortik endotel hücrelerinde PAI-1 sentezinin arttığını tespit ettiler (86). Yapılan hiperglisemik normoinsülinemik bir çalışmada ise sıçanlarda akut hipergliseminin plazma fibrinolitik aktivitesini azalttığı ve PAI-1 düzeylerini artırdığı gösterilmiştir (87). Bagg ve arkadaşları sıkı glisemik regülasyon sağlanan diyabetik grupta, olağan glisemik kontrole kıyasla PAI- antijeninde daha fazla azalma tespit ettiler (88). Aso ve arkadaşları tip 2 diyabetik hastalarda kısa süreli metabolik değişiklikler sonunda PAI-1 düzeyindeki azalmanın fibrinoliz inhibisyonunun tersine çevrilmesiyle paralel olduğunu gösterdiler (89). Kan şekeri regülasyonunun kötü olmasına bağlı olarak glukotoksisitenin belirginleşmesi ve glukotoksisite nedeniyle endotel disfonksiyonunun ağırlaşması buna bağlı olarak PAI-1 ekspresyonunun arttığı düşünülebilir. Nitekim çalışmamızda PAI-1 düzeyi ile HbA1c pozitif korelasyon göstermekteydi. Kan şekeri regülasyonu kötü olan komplike grupta PAI-1 düzeyi , kan şekeri regülasyonu iyi olan nonkomplike gruptan belirgin olarak yüksek saptandı (Tablo 2, 7).

Tip 2 diyabetiklerde PAI-1 düzeyinin ilişkili olduğu parametrelerden biri de plazma trigliserid konsantrasyonlarıdır (90). Jarvi ve arkadaşları tip 2 diyabetik hastalarda tedavi sonrası trigliserid düzeylerinin düşmesiyle beraber PAI-1 düzeylerinde eş zamanlı bir azalma tespit ettiler (91). Yine Aso ve arkadaşları tedavi ile trigliserid düzeylerinde azalmaya PAI-1 düzeylerindeki azalmanın eşlik ettiğini bildirmişlerdir. Bu bulgular PAI-1 düzeyi üzerinde trigliseridin de rol oynayabileceğini desteklemektedir (89). Biz de çalışmamızda diyabetiklerde trigliserid düzeyini kontrol grubuna göre anlamlı yüksek tespit ettik (Tablo 2). Yine beraberinde PAI-1 düzeyi ile trigliserid düzeyi arasında anlamlı pozitif korelasyon saptadık.

Çalışmamızda komplikasyon gelişen tip 2 diyabetik hastaların diyabet süreleri uzun olup kan şekeri regülasyonu daha kötü idi. Diyabetik dislipideminin eşlik ettiği bu grupta PON1 enzim aktivitesi gerek kontrol grubuna ve gerekse nonkomplike gruba göre belirgin düşük saptandı. Plazma PAI-1 düzeyi ise komplikasyonlu grupta belirgin yüksek bulundu. PON1 enzim aktivitesi ile PAI-1 arasında negatif korelasyon mevcuttu. Gerek PON1 enzim aktivitesi ve gerekse PAI-1 düzeyi HbA1c ile korelasyon göstermekteydi. Kötü regülasyon sonucunda PON1 aktivitesinin azalmasına bağlı olarak glikozilasyon ürünleri ve serbest radikallerinin artabileceği, antioksidan etkinin azalmasına bağlı olarak LDL oksidasyonunun arttığı düşünülebilir. LDL oksidasyonu gerek makrovasküler ve gerekse mikrovasküler komplikasyonu başlatan önemli etkenlerden biridir (6). Okside LDL nin artması ateroskleroz gelişimini ve endotel disfonksiyonunu tetiklemektedir. PON enzim aktivitesi azalması sonucunda LDL oksidasyonunun artmasının PAI-1 sentezi artışında rol oynadığı düşünülebilir. Bu hipotezi doğrulamak için PON1 aktivitesi okside LDL ve PAI-1 ilişkisinin daha yakından inceleneceği laboratuvar çalışmalarına gerek vardır.

Sonuç olarak; PON1 enzim aktivitesi düşük ve PAI-1 düzeyi yüksek bireylerin saptanması komplikasyon gelişme riski yüksek kişileri belirlemek bakımından önemli olduğunu düşünmekteyiz. Bu kişilerde sıkı kan şekeri regülasyonu , dislipideminin iyi tedavisi, kan basıncının regülasyonu ve sigaranın bırakılması sonucu PON1 düzeyinin artırılarak PAI-1 düzeyinin azaltılmasının

gelişecek komplikasyonları önlemek ve morbidite ve mortalitenin azaltılması bakımından önemli olduğu kanısındayız.

ÖZET

Tip 2 Diyabetes Mellitus (DM) günümüzde en önemli sağlık problemlerinden biridir. Diyabetik komplikasyonlar geliştikten sonra gerek morbidite ve gerekse mortalitede belirgin artış söz konusudur. Paraoksonaz-1 (PON1) enzimi, vücudumuzda HDL üzerinde yer alan ve LDL oksidasyonunu inhibe ederek başta oksidatif stres olmak üzere bir çok toksik ajandan koruyan endojen antioksidan bir enzimdir. Polimorfizm gösteren PON1 enzimi düzeyi genetik yapımızla belirlenmiştir. Plazminogen aktivatör inhibitör-1 (PAI-1), fibrinolitik sistemde önemli rolü olan serin proteaz inhibitörüdür. PON1 aktivitesinin diyabetik hastalarda azaldığını ve PAI-1'in diyabetik hastalarda yüksek olduğunu gösteren çeşitli çalışmalar mevcuttur. Bu değişiklikler komplikasyonlu diyabetik hastalarda daha belirgindir. Şimdiye kadar her iki parametre için yapılmış bir çok çalışma olmasına rağmen ikisinin bir arada incelendiği ve aralarında ilişkiyi sorgulayan yayınlanmış çalışma henüz mevcut değildir. Bu çalışmada diyabetik komplikasyon gelişiminde önemli rol oynayan PON1 aktivitesi ile PAI-1 arasında ilişkinin incelenmesi amaçlandı. Çalışmaya 35 komplike tip 2 DM'li, 35 nonkomplike tip 2 DM'li hasta ile kontrol grubu olarak 20 sağlıklı birey alındı. Her üç grubun yaş, cinsiyet dağılımı, vücut kitle indeksi benzerdi. PON1 aktivitesi komplikasyonlu diyabetik hasta grubunda nonkomplike diyabetik hastalara ve kontrol grubuna göre belirgin düşük saptandı (69.8 ± 30.6 , 94.4 ± 51.4 ve 98.7 ± 42.3 $\mu\text{mol/ml/dk}$, $P < 0.05$). PAI-1 düzeyleri ise komplike grupta daha belirgin olmak üzere diyabetik grupta kontrol grubuna göre anlamlı yüksek saptandı (98.1 ± 26.1 , 74.3 ± 29.4 ve 50.9 ± 19.1 ng/ml , $P < 0.05$). Korelasyon analizinde PON1 aktivitesi ile HDL kolesterol ($r = 0.25$, $p < 0.05$) arasında pozitif korelasyon, HbA1c ($r = -0.31$, $p < 0.01$) arasında negatif korelasyon saptandı. PAI-1 ile diyabet süresi ($r = 0.31$, $p < 0.01$), trigliserid ($r = 0.27$, $p < 0.05$), t.kolesterol ($r = 0.30$, $p < 0.05$) ve HbA1c ($r = 0.37$, $p < 0.001$) arasında pozitif korelasyon bulundu. PON1 aktivitesi ile PAI-1 arasında negatif korelasyon bulundu ($r = -0.23$, $p < 0.05$). Kötü kan şekeri regülasyonunun bu iki parametreyi etkileyen ortak neden olduğu gözlemlendi.

Kronik hiperglisemi ile paralel olarak PON1 aktivitesinin azaldığı görüldü. PON1 aktivitesinin azalması sonucunda gerek makrovasküler ve gerekse mikrovasküler komplikasyon patogenezinde rol oynayan LDL oksidasyonunun artabileceğini ve bunun da PAI-1 sentezinin artışında rol alabileceğini düşünmekteyiz. Bu hipotezi doğrulamak için PON1 aktivitesi, okside LDL ve PAI-1 ilişkisinin daha yakından inceleneceği laboratuvar çalışmalarına ve daha fazla vaka içeren klinik çalışmalara gerek vardır.

Sonuç olarak; PON1 aktivitesi düşük ve PAI-1 düzeyi yüksek bireylerin saptanmasının komplikasyon gelişme riski yüksek kişileri belirlemek bakımından önemli olduğunu düşünmekteyiz. Bu kişilerde sıkı kan şekeri regülasyonu , dislipideminin ciddi tedavisi, kan basıncının sıkı regülasyonu ve sigaranın bırakılması sonucu PON1 düzeyinin artırılarak PAI-1 düzeyinin azaltılmasının gelecekte komplikasyonları önlemek ve morbidite ve mortalitenin azaltılması bakımından önemli olduğu kanısındayız.

KAYNAKLAR

1. Brownlee M, Lloyd PA, Friedman E, Aaron IV, Nesto RW, Boulton AM. Complications of Diabetes Mellitus. In Larsen PR, Kronenberg HM, Melmed S, Polonsky SK (eds), Williams Text Book of Endocrinology, 10 th edition, Saunders, 2003; 1509-1584.
2. Gedik O. Diyabetes mellitus'un komplikasyonları. Erdoğan G (ed), Koloğlu Endokrinoloji Temel ve Klinik, 2.basım, MN Medikal & Nobel, 2005; 367-383.
3. Stratton IM, Adler AI, Neil HA, et al. Association of glycemia with macrovascular and microvascular complications of type 2 diabetes (UKPDS 35): prospective observational study. BMJ 2000;321:405-412.
4. Rohlfing CL, Wiedmeyer HM, Little RR, et al. Defining the relationship between plasma glucose and HbA1c in the Diabetes Control and Complication Trial. Diabetes Care 2002; 25(supple1):S140-S147.
5. Kannel WB, McGee DL. Diabetes and cardiovascular disease. The Framingham Study. JAMA 1999; 241:2035-2038.
6. Kaplan M, Aviram M. Oxidized low density lipoprotein: Atherogenic and proinflammatory Characteristics during macrophage foam cell formation. An inhibitory role for nutritional antioxidants and serum paraoxonase. Clin Chem Lab Med 1999; 37(8): 777-787.
7. Augustinsson KB. The evolution of esterases. In Thoai N, Roche J (Eds). Homologous enzymes and biochemical evolution. Gordon and Breach, New York, 1968, pp.299-311.

8. Saha N, Roy AC, Teo SH, Tay JSH, Ratnam SS. Influence of serum paraoxonase polymorphism on serum lipids and lipoproteins. *Clin Genet*. 1991;40:277-282.
9. Brophy VH, Jampsa RL, Clendenning JB, McKinsty LA, Jarvik GP, Furlong CE. Effect of 5' regulatory-region polymorphisms on paraoxonase gene (PON1) expression. *Am J Hum Genet* 2001; 68:1428-1436.
10. Hegele RA. Paraoxonase genes and disease. *Ann Med* 1999; 31:217-224.
11. Karakaya A, Süzen S, Şardaş Ş, Karakaya AE, Vural N. Analysis of serum paraoxonase/arylesterase polymorphism in a Turkish population. *Pharmacogenetics* 1991 ;1 :58-61.
12. La Du BN, Novais J. Human serum organophosphatase: biochemical characteristics and polymorphic inheritance. In: Reiner E, Aldridge WN, Hoskin FCG, eds. *Enzymes Hydrolysing Organophosphorus Compounds*. Chichester, UK: Ellis-Horwood; 1989:41-52.
13. Mackness MI, Arrol S, Abbot CA, Durrington PN. Protection of LDL against oxidative modification by HDL associated paraoxonase . *Atherosclerosis* 1993;104:129-135.
14. Durrington PN, Mackness B, Mackness MI. Paraoxonase and atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2001; 473-480.
15. Mackness MI, Arrol S, Abbot CA, Durrington PN. Is paraoxonase related to atherosclerosis. *Chem Biol Int* 1993;87:161-171.
16. Johnson KJ, Ward PA, Gorainick S, Osborn MJ. Isolation from human serum of an inactivator of bacterial lipopolysaccharide. *Am J Pathol* 1997; 88:559-574.
17. La du BN, Aviram M, Billecke S, Navab M, Primo-Parma S, Sorenson RC. On the physiological role(s) of the paraoxonases. *Chemico Biological Interactions* 1999; 119-120:379-388.

18. Tougou K, Nakamura A, Watanabe S, Okuyama Y, Morino A. Paraoxonase has a major role in the prulifloxacin (NM441), a prodrug of a new antibacterial agent. *Drug Metab Dispo* 1998; 26:355-356.
19. Cole TB, Jampsa RL, Walter BJ, Arndt TL, Richter RJ, Shih DM, et al. Expression of human paraoxonase (PON1) during development. *Pharmacogenetics* 2003; 13:357-364.
20. Fere N, Camps J, Cabre M. Hepatic paraoxonase activity alterations and free radical production in rats with experimental cirrhosis. *Metabolism* 2001; 50:997-1000.
21. Gonzalvo MC, Gil F, Hernandez AF, et al. Inhibition of paraoxonase activity in human liver microsomes by exposure to EDTA, metals and mercurials. *Chem Biol Interact* 1997; 105:169-179.
22. Ferre N, Camps J, Ballart JF, Arija V, Murphy MM, Ceruelo S, et al. Regulation of serum paraoxonase activity by genetic, nutritional, and lifestyle factors in the general population. *Clin Chem* 2003; 49:1491-1497.
23. Gouedard C, Koum Besson N, Barouki R, Morel Y. Opposite regulation of human paraoxonase 1 gene by fenofibrate and statins. *Mol Pharmacol* 2003; 63:945-956.
24. Shih DM, Gu L, Xia YR, Navab M, Li WF, Hama S et al. Mice lacking serum paraoxonase are susceptible to organophosphate toxicity and atherosclerosis. *Nature* 1998; 394:284-287.
25. Tward A, Xia YR, Wang XP, Shi YS, Park C, Castellani LW et al. Decreased atherosclerotic lesion formation in human serum paraoxonase transgenic mice. *Circulation* 2002; 106:484-490.
26. Van Lenten BJ, Wagner AC, Navab M, Fogelman AM. Oxidized phospholipids induce changes in hepatic paraoxonase and ApoJ but not monocyte chemoattractant protein-1 via interleukin-6. *J Biol Chem* 2001; 276:1923-1929.

27. Ahmed Z, Babaei S, Maguire GF, Draganov D, Kuksis A, La Du BN, et al. Paraoxonase 1 reduces monocyte chemotaxis and adhesion to endothelial cells due to oxidation of palmitoyl linoleoyl glycerophosphorylcholin. *Cardiovasc Res* 2003; 57:225-231.
28. Mackness MI. A-esterase-enzymes looking for rol? *Biochem Pharmacol* 1989; 38:385-390.
29. Mackness IM, Harty D, Bhatnagar D, Winocour PH, Arrol S, Ishola M, Durrington PN. Serum paraoxonase activity in familial hypercholesterolaemia and insulin dependent diabetes mellitus. *Atherosclerosis* 1991; 86:193-199.
30. Ikeda Y, Suehiro T, Inoue M, Nakauchi Y, Morita T, Arai K, et al. Serum paraoxonase activity and its relationship to diabetic complications in patients with noninsulin dependent diabetes mellitus. *Metabolism* 1998; 47:598-02.
31. Paragh G, Seres Z, Balogh Z, Varga Z, Karpanti I, Matyus J, et al. The serum paraoxonase activity in patients with chronic renal failure and hyperlipidemia. *Nephron* 1998; 80:166-170.
32. Sakuraba H, Mizukami H, Yagihashi N, et al. Reduced beta cell mass and expression of oxidative stress related DNA damage in the islet of Japanese type II diabetic patients. *Diabetologia* 2002; 45:85-96.
33. Patel BN, Mackness MI, Harty DW, Arrol S, Boot Handford RP, Durrington PN. Serum esterase activities and hyperlipidaemia in the streptozocin-diabetic rat. *Biochim Biophys Acta* 1990; 1035:113-16.
34. Deakin S, Leviev I, Nicaud V, et al. Paraoxonase-1 L55M polymorphism is associated with an abnormal oral glucose tolerance test and differentiates high risk coronary disease families. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87:1268-1273.

35. Chiu KC, Chuang LM, Chu A, Lu J, Hu J and Fernando S. Association of paraoxonase 1 polymorphism with beta cell function. *Pancreas* 2004; 8:e96-103.
36. Kopprasch S, Pietzsch J, Kuhlisch E, Graessler J. Lack of association between serum paraoxonase-I activities and increased oxidized low density lipoprotein levels in impaired glucose tolerance test and newly diagnosed diabetes mellitus. *J Clin Endoc* 2003; 88(4): 1711-1716.
37. Yamada A, Shoji T, Tahara H, Emoto M, Nishizawa Y. Effect of insulin resistance on serum paraoxonase activity in a nondiabetic population. *Metabolism* 2001; 50:805-811.
38. Mackness B, Durrington PN, Abaushia B, Boulton MJ, Mackness MI. Low paraoxonase activity in type II diabetes mellitus complicated by retinopathy. *Clinical science* 2000; 98:355, 363.
39. Sato Y, Hotta N, Sakamoto N, Matsuoka S, Ohishi N, Yagi K. Lipid peroxide levels in plasma of diabetic patients. *Biochem Med.* 1979;21: 104-107.
40. Hedrick CC, Thorpe SR, Fu MX, Harper CM, Yoo J, Kim SM, et al. Glycation impairs high density lipoprotein function. *Diabetologia* 2000; 43:312-320.
41. Odawara M, Tachi Y, Yamashita K. Paraoxonase polymorphism (Gln192-Arg) is associated with coronary heart disease in Japanese noninsulin dependent diabetes mellitus. *J Clin Endoc* 1997; 82:2257-2260.
42. Hyiaman DO, Hou L, Mengbai F, Zhiyin FM, Zhiming Z, Kano K. Coronary artery disease risk in Chinese type 2 diabetics: is there a role for paraoxonase 1 gene (Q192R) polymorphism?. *Eur J End* 2001; 144:639-644.

43. Aubo C, Senti M, Marrugat J, Thomas M, Vila J, Sala J, et al. Risk of myocardial infarction associated with Gln/ Arg 192 polymorphism in the human paraoxonase gene and diabetes mellitus. *European Heart Journal* 2000; 21:33-38.
44. Yaomin Hu, Hoaming T, Rui L. Gln-Arg192 polymorphism of paraoxonase I associated with carotid intima-media thickness in patients of type 2 diabetes mellitus of Chinese. *Diabetes Res Clin Prac* 2003; 61:21-27.
45. Epstein FH, Kohler HP, Grant PJ. Plasminogen-activator inhibitor type-1 and coronary artery disease. *N Eng J Med* 2000; 342: 1792-801.
46. Kruithof EKO. Plasminogen activator inhibitors-a review. *Enzyme* 1988; 40:113-21.
47. Andreotti F, Davies GJ, Hackett DR, et al. Major circadian fluctuations in fibrinolytic factors and possible relevance to time of onset of myocardial infarction, sudden cardiac death and stroke. *Am J Cardiol* 1988; 65: 635-7.
48. Pannekoek H, Veerman H, Lambers H, et al. Endothelial plasminogen activator inhibitor (PAI): A new member of the serpin gene family. *ENBO J* 1986; 5: 2539-2544.
49. Konkle BA, Ginsburg D. The addition of endothelial cell growth factor and heparin to human umbilical vein endothelial cell cultures decreases plasminogen activator inhibitor-1 expression. *J Clin Invest* 1988; 82: 579-585.
50. Plesner T, Behrendt N, Ploug M, et al. Structure, function and expression on Blood and Bone Marrow Cells of the urokinase type plasminogen activator receptor, u PAR. *Stem Cells* 1997; 15: 398-408.
51. Tsikouris JP, Suarez JA, Meyerrose GE. Plasminogen activator inhibitor-1: physiologic role, regulation, and the influence of common pharmacologic agents. *J Clin Pharmacol* 2002; 42: 1187-99.

52. Binder BR, Christ G, Gruber F, Grubic N, Hufnagl P, et al. Plasminogen activator inhibitor-1: physiological and pathophysiological roles. *News Physiol Sci* 2002; 17: 56-61.
53. Allison BA, Nilsson L, Karpe F, et al. Effect of native, triglyceride-enriched, and oxidatively modified LDL on plasminogen activator inhibitor-1 expression in human endothelial cells. *Arterioscler Tromb Vasc Biol* 1999; 19: 1354-1360.
54. Halleux CM, Declerck AJ, Tran SL, et al. Hormonal control of plasminogen activator inhibitor-1 gene expression and production in human adipose tissue: stimulation by glucocorticoids and inhibition by catecholamines. *J Clin Endocrinol Metab* 1999; 84: 4097-4105.
55. Rakugi H, Wang DS, Dzau VJ, Pratt RE. Potential importance of tissue angiotensin-converting enzyme inhibition in preventing neointimal formation. *Circulation* 1994; 90: 449-55.
56. Vaughan DE, Lazos SA, Tong K. Angiotensin II regulates the expression of plasminogen activator inhibitor-1 in cultured endothelial cells: a potential link between the renin-angiotensin system and thrombosis. *J Clin Invest* 1995; 95: 995-1001.
57. Ridker PM, Gaboury CL, Conlin PR, et al. Stimulation of plasminogen activator inhibitor in vivo by infusion of angiotensin II: evidence of a potential interaction between the rennin-angiotensin system and fibrinolytic function. *Circulation* 1993; 87: 1969-73.
58. Brown NJ, Agirbasli M, Vaughan DE. Comparative effect of angiotensin-converting enzyme inhibition and angiotensin II type I receptor antagonism on plasma fibrinolytic balance in humans. *Hypertension* 1999; 34: 285-90.
59. Pandolfi A, Iacoviello L, Capani F, Vitacolonna E, Donati MB, Consoli A. Glucose and insulin independently reduce the fibrinolytic potential of human vascular smooth muscle cells in culture. *Diabetologia* 1996; 39: 1425-31.

60. Jain SK, Nagi DK, Slavin BM, Lumb PJ, Yudkin JS. Insulin therapy in type 2 diabetic subjects suppresses plasminogen activator inhibitor (PAI-1) activity and proinsulin-like molecules independently of glycaemic control. *Diabet Med* 1993; 10: 27-32.
61. Panahloo A, Mohamed-Ali V, Andres C, Denver AE, Yudkin JS. Effect of insulin versus sulfonylurea therapy on cardiovascular risk factors and fibrinolysis in type II diabetes. *Metabolism* 1998; 47: 637-43.
62. Asplund-Carlson A, Hamsten H, Wiman B, et al. Relationship between plasma plasminogen activator inhibitor-I activity and VLDL triglyceride concentration, insulin levels, and insulin sensitivity: studies in randomly selected normo-and hyper-triglyceridemic men. *Diabetologia* 1993; 36: 817-25.
63. Mussoni L, Manucci L, Sirtori M, et al. Hypertriglyceridemia and regulation of fibrinolytic activity. *Arterioscler Thromb* 1992; 12: 19-27.
64. Hamsten A, de Faire U, Walldius G, et al. Plasminogen activator inhibitor in plasma: risk factor for recurrent myocardial infarction. *Lancet* 1987; 2: 3-9.
65. Lebovitz HE. *Clinician's Manual on Insulin Resistance*, Science Press, 2002; 5.
66. Hamsten A, de Faire U, Walldius G, et al. Plasminogen activator inhibitor in plasma: risk factor for recurrent myocardial infarction. *Lancet* 1987; 2: 3-9.
67. Thogersen AM, Jansson JH, Boman K, et al. High plasminogen activator inhibitor and tissue plasminogen activator levels precede a first acute myocardial infarction in both men and women: evidence for the fibrinolytic as an independent primary risk factor. *Circulation* 1998; 98: 2241-7.
68. Meade TW, Ruddock V, Stirling Y, Chakrabarti R, Miller GJ. Fibrinolytic activity, clotting factors, and long-term incidence of ischaemic heart disease in the Northwick Park Heart Study. *Lancet* 1993; 342: 1076-9.

69. Schneiderman J, Sawdey MS, Keeton MR, et al. Increased type-1 plasminogen activator inhibitor gene expression in atherosclerotic human arteries. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992; 89: 6998-7002.
70. Mussoni L, Manucci L, Sirtori M, et al. Hypertriglyceridemia and regulation of fibrinolytic activity. *Arterioscler Thromb* 1992; 12: 19-27.
71. Eckerson HW, Romson J, Wyte C, Ladu BN. The human serum paraoxonase polymorphism: Identification of phenotypes by their response to salts. *Am J Hum Genet* 1983;35:214-227
72. Abbott Ca, Mackness MI, Kumar S, Boulton AJ, Durrington PN,. Serum paraoxonase activity, concentration and phenotype distribution in diabetes mellitus and its relationship to serum lipids and lipoproteins. *Atheroscler thromb Vasc Biol* 1995; 5:1812-1818.
73. Mackness MI, Arrol S, Abbott C, Durrington PN. HDL, its enzymes and its potential to influence lipid peroxidation. *Atherosclerosis* 1995; 115:243-253.
74. Sorenson RC, Bisgaier CL, Aviram M, Hsu C, Billecke S, La du BN. Human serum paraoxonase/arylesterase's retained hydrophobic N-terminal leader sequence associates with HDLs by binding Phospholipids: apolipoprotein A-1 stabilizes activity. *Atheroscler thromb Vasc Biol* 199; 19:2214-225.
75. Ferretti G, Bacchetti T, Marchionni C, Caldarelli L, Curatola G. Effect of high density lipoproteins on their physicochemical properties and paraoxonase activity. *Acta Diabetol* 2001; 38:163-169.
76. Austin MA, King MC, Vranizan KM, Krauss RM,. Atherogenic lipoprotein phenotype. A proposed genetic marker for coronary heart disease risk. *Circulation* 1990; 82:495-506.

77. Brites FD, Bonavita CD, De Geitre C, Clöes M, Delfly B, Yael MJ et al. Alterations in main step of reverse cholesterol transport in male patients with primary hypertriglyceridemia and low HDL-cholesterol levels. *Atherosclerosis* 1999; 152:179-190.
78. Brites FD, Verona J, Schreier LE, Fruchart JC, Castro GR, Wikinski RL. Paraoxonase I and platelet-activating factor acetylhydrolase activities in patients with low HDL-cholesterol levels with or without primary hypertriglyceridemia. *Arc of Med Resc* 2004; 35:235-240.
79. Eisuke N, Yasuhiro W. Cigarette smoke extract inhibits plasma paraoxonase activity by modification of enzyme's free thiols. *Biochemical and biophysical research communications* 1997; 236:289-293.
80. James WR, Leviev I, Righetti A. Smoking is associated with reduced serum paraoxonase activity and concentration in patients with coronary artery disease. *Circulation* 2000; 101:2252-2257.
81. Boemi M, Sirolla C, Testa R, Cenerelli S, Fumelli P, Jamse WR. Smoking is associated with reduced serum levels of the antioxidant enzyme, paraoxonase, in Type 2 diabetic patients. *Diabet Med* 2004; 21:423-427.
82. Pryor W A, Stone K, Zang L Y, Bermudez E. Fractionation of aqueous cigarette tar extracts: fractions that contain the tar radical cause DNA damage. *Chem Res Toxicol* 1998; 11:441-448.
83. Sözmen B, Kazaz C, Taşiran D, Tüzün S, Sözmen EY. Effect of N-dicyclopropylmethyl-amino-2-oxazoline on antioxidant status and nitric oxide in hypertensive patients. *Curr Med Res Opin* 1998; 14:89-97.
84. Nakazono K, Watanabe N, Matsuno K, Sasaki J, Sato T, Inoue M. Does superoxide underlie in the pathogenesis of hypertension? *Proc Natl Acad Sci USA* 1991; 88:1045-1048.

85. Wiman B, Hamsten A. The fibrinolytic enzyme system and its role in etiology of thromboembolic disease. *Semin Thromb Haemost* 1990; 26: 207-216.
86. Nordt TK, Klassen KJ, Schneider DJ, et al. Augmentation of synthesis of plasminogen activator inhibitor type-1 in arterial endothelial cells by glucose and its implications for local fibrinolysis. *Arterioscler Thromb* 1993; 13: 1822-1828.
87. Pandolfi A, Cetrullo D, Polishuck R, et al. Plasminogen activator inhibitor type 1 is increased in the arterial wall of type 2 diabetic subjects. *Arterioscler Tromb Vasc Biol* 2001; 21(8): 1378-82.
88. Bagg W, Ferri C, Desideri G, et al. The influences of obesity and glycemic control on endothelial activation in patients following dietary modification. *Diabetic Med* 1993; 10: 802-806.
89. Aso Y, Okumura K-I, Yashida N, et al. Enhancement of fibrinolysis in poorly controlled, hospitalized type 2 diabetic patients by short-term metabolic control: Association with a decrease in plasminogen activator inhibitor-1. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 2004; 112: 175-180.
90. Watanabe A, Kurabayashi M, Arai M, et al. Combined effect of retinoic acid and basic FGF on PAI-1 gene expression vascular smooth muscle cells. *Res* 2001; 51: 151-159.
91. Jarvi AE, Karlstrom BE, Granfeldt YE, et al. Improved glycemic control and lipid profile and normalized fibrinolytic activity on a low-glycemic index diet in type 2 diabetic patients. *Diabetes Care* 1999; 22: 10-18.