

Koroner Arter Hastalığı Gelişen Tip II Diabetik Olgularda Lipid Peroksidasyonu ve Antioksidan Savunma Sistemleri[¶]

LIPID PEROXIDATION AND ANTIOXIDANT DEFENSE SYSTEMS IN TYPE II DIABETIC PATIENTS WITH CORONARY ARTERY DISEASE

Zehra SERDAR*, Emre SARANDÖL*, Melahat DİRİCAN**,
Dilek YEŞİLBURSA***, Akın SERDAR****, Asuman TOKULLUGİL*****

- * Yrd.Doç.Dr., Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya AD
** Doç.Dr., Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya AD
*** Yrd.Doç.Dr., Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Kardiyoloji AD
**** Doç.Dr., Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Kardiyoloji AD
***** Prof.Dr., Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya AD, BURSA

Özet

Diabetes mellitus'un en yaygın ve ciddi komplikasyonlarından biri olan koroner arter hastalığının (KAH) gelişiminde, lipid peroksidasyonu ile antioksidan savunma sistemleri arasındaki dengesizliğin rol oynadığı ileri sürülmektedir. Bu çalışmada KAH saptanan tip II diabetik 32 olgu ile herhangi bir komplikasyonun gelişmediği tip II diabetik 20 olguda ve 40 kişilik sağlıklı kontrol grubunda, apolipoprotein B içeren lipoproteinlerin in vitro oksidasyona duyarlılığının bir göstergesi olan lag-time (gecikme süresi), lipid peroksidasyonunun bir indikatörü olan serum malondialdehid (MDA) düzeyleri ve antioksidan etkili vitaminler (vitamin E, total karoten) ile serum albumin, total bilirubin ve ürik asit düzeyleri ölçüldü. Glisemik kontrol glikozillenmiş hemoglobin A1c (HbA1c) düzeylerinin ölçümü ile yapıldı. Ayrıca lipid profili ve apolipoprotein AI ile B düzeylerinin yanısıra, bir geçiş metali olan ve serbest radikal üretiminde rol oynayan serum demir düzeyleri de ölçüldü. KAH gelişen tip II diabetik olgularda komplikasyon gelişmeyen olgulara göre lag-time anlamlı derecede kısa, vitamin E, total karoten, HDL-kolesterol (HDL-K) ve HDL2-K düzeyleri anlamlı derecede düşük bulundu. MDA, glikoz ve HbA1c düzeylerinde ise anlamlı bir artış vardı. Komplikasyonun gelişmediği olgularda ise kontrol grubuna

Summary

Unbalance between lipid peroxidation and antioxidant defence systems has been suggested to play role in the development of coronary artery disease (CAD), the most common and serious complication of diabetes mellitus. In our study we determined lag-time which is the predictor of susceptibility of apolipoprotein B containing lipoproteins to in vitro oxidation, malondialdehyde (MDA) which is an indicator of lipid peroxidation and antioxidant vitamins (vitamin E, total carotenoids) and also albumin, total bilirubin, uric acid levels in the serum of 32 type II diabetes mellitus patients with CAD and 20 type II diabetes mellitus patients without complication and 40 healthy volunteers as the control group. Hemoglobin A1c (HbA1c) levels were determined so as to decide about glycemic control. Besides studying lipid profiles and apo AI and B levels, we determined levels of iron in the sera as it acts a transition metal and plays a role in production of free radicals. Type II diabetic subjects with CAD had significantly shorter lag-time and lower levels of vitamin E, total carotene, HDL-Cholesterol (HDL-C), HDL2-C and significantly higher levels of MDA, glucose and HbA1c than the diabetic subjects without complication. Total cholesterol, triglycerides, lipoprotein (a), LDL-C, MDA, glucose and HbA1c levels were significantly higher and vitamin E and total carotene levels were significantly lower and lag-time was significantly shorter in the diabetic group without complication than the control group. In the group with CAD we found a positive correlation between HbA1c and MDA levels and negative correlations between HbA1c and lag-time and vitamin E. There was a positive correlation between HbA1c and MDA in the diabetic group without complication. These data suggest that enhancement in lipid peroxidation and decrease in vitamin E and total carotene le-

Geliş Tarihi: 05.06.2000

Yazışma Adresi: Dr.Zehra SERDAR
Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi
Biyokimya AD
16059, Görükle, BURSA

[¶]1. Ulusal Klinik Biyokimya Kongresi'nde sunulmuştur (Nisan 2000, Kuşadası).

göre total kolesterol, trigliserid, lipoprotein (a), LDL-K, MDA, glikoz ve HbA1c düzeylerinin anlamlı derecede yüksek, E vitamini ve total karoten düzeylerinin anlamlı derecede düşük, "lag-time"ın ise kısa olduğu bulundu. Yapılan korelasyon çalışmasında KAH'nın geliştiği olgularda HbA1c ile MDA arasında pozitif korelasyon, HbA1c ile lag-time ve E vitamini arasında negatif korelasyon saptanırken, komplikasyonsuz olgularda sadece HbA1c ile MDA arasında pozitif korelasyon bulundu. Bu bulgular tip 2 diabetik hastalarda lipid peroksidasyonundaki artış ile E vitamini ve total karoten düzeylerindeki azalmanın hastalığın erken döneminde geliştiğini, ayrıca geç dönemde komplikasyon olarak KAH'nın gelişiminde de rol oynadığını ve glisemik kontroldeki bozulmanın da bu patolojiye katkıda bulunabileceğini düşündürdü.

Anahtar Kelimeler: Tip II Diabetes mellitus,
Koroner arter hastalığı,
Lipid peroksidasyonu, Antioksidanlar

T Klin Kardiyoloji 2001, 14:301-309

vels occur in early stages of type II diabetes mellitus and play role in development of CAD in later stages. Also impairment in glycemic control may play role in this phenomenon.

Key Words: Type II Diabetes mellitus,
Coronary artery disease,
Lipid peroxidation, Antioxidants

T Klin J Cardiol 2001, 14:301-309

Tip II diabetik hastalar özellikle koroner arter hastalığı (KAH) gibi vasküler komplikasyonların gelişimi açısından yüksek risk altındadırlar. Bu risk artışından sorumlu olan başlıca faktörler plazma lipoprotein düzeylerinde meydana gelen karakteristik değişimler (VLDL düzeylerinde artış, HDL düzeylerinde azalma) ve lipoprotein partiküllerindeki yapısal farklılaşmadır (1). Diabetik hastalarda zaman içinde doku hasarı ve komplikasyonların gelişimine yol açan faktörlerin mekanizması tam olarak anlaşılmasına karşın, modifiye lipoproteinlerin bu olaydan sorumlu olabilecekleri ileri sürülmüştür. Özellikle apolipoprotein (apo) B içeren lipoproteinlerin oksidasyonu bu modifikasyondan sorumlu tutulmuştur. Modifiye lipoproteinlerin "scavenger" reseptörler aracılığı ile makrofajlar tarafından alınımının ateromatöz plak oluşturan kolesterolden zengin köpük hücrelerinin gelişimine yol açtığı bilinmektedir (2,3). Yapılan çalışmalarda, diabetik olgularda hiperglisemi sonucu lipoprotein partiküllerinde meydana gelen glikozillenmenin bu partikülleri oksidasyona daha duyarlı hale getirdiği gösterilmiştir. (1,4,5). Bu nedenle glikozillenmiş hemoglobın (HbA1c) düzeyleri ile belirlenen glisemik kontrol ile plazma lipid peroksid düzeyleri arasındaki ilişkinin diabetik hastalarda vasküler komplikasyonların gelişiminde çok önemli olabileceği bildirilmektedir (6).

Bazı araştırmacılar yaptıkları çalışmalarda, diabetik hastalarda antioksidan savunma sistem-

lerinin bozulduğunu ve bu durumun lipoproteinlerin oksidasyonunda artışa yol açtığını ileri sürmüşlerdir (6,7). Antioksidan savunmada önemli rol oynayan E vitamini ve karotenoidlerin özellikle ateroskleroz, diabet ve kanser gibi kronik hastalıkların gelişimine karşı koruyucu rol oynadığına dair artan kanıtlar vardır (8-10).

Bu çalışmanın amacı; herhangi bir komplikasyonun gelişmediği tip II diabetik hastalar ile KAH'nın geliştiği tip II diabetik hastalarda, glisemik kontrol ile apo B içeren lipoproteinlerin oksidasyona duyarlılığı ve vücudun antioksidan savunma sistemlerinde meydana gelen değişiklikleri incelemek ve bu değişikliklerin diabetik olgularda KAH gelişimine olan katkısını araştırmaktır.

Gereç ve Yöntem

Olgular: Çalışmaya 38-65 yaşları arasında 52 tip II diabetes mellituslu hasta ile 33-58 yaşları arasında 40 sağlıklı kişi (grup 1) alındı. Diabet grubuna alınan hastalara önceden yapılan incelemeler sonucu tip II diabetes mellitus tanısı konulmuştu. Diabetik olgular komplikasyon gelişimine göre kendi aralarında iki gruba ayrıldılar; yapılan klinik ve laboratuvar incelemeleri sonucu herhangi bir komplikasyonun gelişmediği belirlenen 38-62 yaşları arasındaki 20 diabetik olgu (12 kadın, 8 erkek) 2. grubu oluştururken, koroner anjiyografi yapılarak KAH'nın geliştiği belirlenen 47-65 yaşları arasındaki 32 diabetik olgu da (10 kadın,

22 erkek) 3. grubu oluşturdu. Bu gruptaki hastalarda KAH dışında başka bir diabetik komplikasyon saptanmadı. Hastaların bir kısmı oral antidiyabetik, bir kısmı da sadece diyet ile tedavi edilmekteydi. Hastalara uygulanan diyet, diyet polikliniği tarafından düzenlenmişti. Olguların tümünün boy ve kilo ölçümleri yapılarak vücut kitle indeksleri (VKİ) hesaplandı ve obezitenin derecesi VKİ ile belirlendi. Diabetik olguların glisemik kontrolleri ise HbA1c düzeyleri ölçülerek değerlendirildi. Çalışmaya alınan diabetik olgularda dislipidemi ve hipertansiyon görülme sıklığı yüzde (%) olarak verildi (Tablo I). Serum total kolesterol (TK) ve trigliserid (TG) düzeyleri > 200 mg/dL olan diabetik olgular dislipidemik olarak kabul edildiler. Sistolik / diastolik kan basıncı >140/90 mmHg olan diabetik olgular da hipertansif olarak kabul edildiler. Çalışmaya alınan olguların hiçbiri lipid düşürücü ilaç veya antioksidan preparat kullanmıyordu.

Kan örneklerinin alınması: 12-14 saatlik açlık sonrası alınan venöz kan örneklerinin 4 mL'si EDTA içeren tüplere (son konsantrasyon 4.08 mM) aktarılarak santrifüj edildi ve ayrılan plazma + 4°C'de saklanarak 24 saat içinde apolipoprotein (apo) B içeren lipoproteinlerin oksidasyona duyarlılığı tayin edildi. Venöz kan örneklerinin kalan kısmının santrifüj edilmesiyle ayrılan serumda ise TK, TG, HDL-K, lipoprotein (a) [Lp (a)], HbA1c, albumin, bilirubin, ürik asit ve demir düzeyleri aynı gün ölçüldü. E vitamini, total karoten, malondialdehid (MDA), apo AI ve apo B tayini için uygun miktarlarda ayrılan serum örnekleri ise - 20°C'de saklanarak 2 ay içerisinde çalışıldı. E vitamini ve total karoten ölçümü yapılacak olan kan örnekleri alüminyum folyo ile sarılarak ışıktan korundu.

Yöntemler: Serumda TK, TG, glikoz, albumin, bilirubin, ürik asit ve demir düzeyleri uygun ticari kitler kullanılarak Technicon-Dax 72 otoanalizöründe (ABD) çalışıldı. HDL-K ölçümünde apo B içeren lipoproteinlerin dekstran sülfat-magnezyum klorür çözeltisi ile çöktürüldükten sonra supernatanın kolesterol içeriği TK ölçümü için kullanılan kit ile saptandı (11). HDL2-K ve HDL3-K değerleri ise Demacker ve arkadaşları tarafından tanımlanan çift presipitasyon metodu ile belirlendi (12). LDL-K düzeyleri Friedewald formülüne göre hesaplandı (13). Apo AI ve apo B düzeyleri immünotürbidimetrik prensibe göre nefelometrede (Sanofi Pasteur, Kallestad QM 300, Fransa)

çalışıldı. Lp (a) düzeyleri ise ELİSA yöntemi ile ölçüldü (14). HbA1c düzeyleri kromatografik bir yöntemle belirlendi. Serum E vitamini düzeyi; tokoferollerin ferri iyonlarını ferro iyonlarına indirgemesi ve ferro iyonlarının bipiridin ile kırmızı bir kompleks oluşturması prensibine göre ölçüldü (15). Total karoten düzeyi ölçümü ise Neeld ve Pearson tarafından tanımlanan ve karotenlerin petrol eter ile ekstrakte edilmeleri prensibine göre ölçüldü (16). Serum MDA düzeyi, tiyobarbitürik asitle (TBA) MDA'nın asit ortamda ve yüksek ısı etkisi ile pembe renkli bir kompleks oluşturması prensibine dayanan bir yöntemle ölçüldü (17). Apo B içeren lipoproteinlerin oksidasyona duyarlılığının tayini için Zhang ve arkadaşları tarafından tarif edilen yöntem kullanıldı (18). Bu yöntemin prensibi; çöktürme yöntemiyle ayrılan apo B içeren lipoproteinlerin bakır sülfat ile 37 oC'de 3 saatlik inkübasyonu sırasında 30 dakika aralıklarla oluşan lipid peroksidlerinin tiyobarbitürik asit deneyi ile ölçümüne dayanır. Zamana karşı apo B içeren lipoproteinlerde oluşan MDA miktarlarının grafiğini çizmek için eğride, "x" eksenine paralel bir teğet ve hızlı oksidasyon fazına karşılık gelen ve eğimin en fazla olduğu bölgede dikey bir teğet çizildi. Her iki teğetin kesiştiği noktadan aşağıya dik bir doğruyla inildiğinde gecikme süresi (lag-time) saptanmış oldu.

İstatistiksel analiz: Normal dağılım gösteren parametreler için ortalama ± standart sapma değerleri kullanıldı. Lp (a) düzeylerinin dağılımı simetrik olmadığı için ortalama değer yanında ortanca değer de verildi. Gruplar arasında Lp (a) düzeyi non-parametrik Kruskal-Wallis testi ile karşılaştırıldı. Diğer değişkenlerin karşılaştırılmasında ise varyans analizi kullanıldı. HbA1c düzeyleri ile diğer değişkenler arasındaki ilişkiyi değerlendirmek için Pearson'un linear regresyon analizi yapıldı. p<0.05 değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Bulgular

Çalışmaya alınan olgu grupları ile ilgili özellikler Tablo 1'de verildi. TK, TG, LDL-K ve Lp (a) düzeyleri her iki diabetik grupta da kontrol grubuna göre anlamlı bir artış gösterirken, KAH gelişen diabetik hastalar ile komplikasyon gelişmeyen diabetik hastalar arasındaki fark anlamlı değildi. HDL-K ve HDL2-K düzeyleri ise KAH'nın geliştiği diabetik grupta diğer iki gruba göre an-

Tablo 1. Olgu gruplarının özellikleri

Parametre	Grup 1	Grup 2	Grup 3
Olgu sayısı	40	20	32
Yaş ^a	49.6 ± 10.9	55.3 ± 7.7	58.5 ± 8.4
Kadın/Erkek	20/20	12/8	10/22
VKİ (kg/m ²)	24.4 ± 1.6	26.8 ± 1.8	27.5 ± 2.4
Diabetin süresi (yıl) ^b	-	9.3 ± 4.5	14.6 ± 6.2
Hipertansiyon (%)	-	46	53
Dislipidemi (%)	-	41	48

Grup 1: Kontrol grubu

Grup 2: Komplikasyon gelişmeyen tip II diabetik hastalar

Grup 3: Koroner arter hastalığı gelişen tip II diabetik hastalar

^a: Grup 1 ile Grup 3 arasında anlamlı fark (p<0.001)

^b: Grup 2 ile Grup 3 arasında anlamlı fark (p<0.001)

VKİ: Vücut kitle indeksi

Tablo 2. Tip II diabetik olgularda ve kontrol grubunda lipid profili, MDA, lag-time, glikoz ve HbA1c düzeyleri (Ort. ± SD)

Parametre	Grup 1	Grup 2	Grup 3	p1	p2	p3
Total K. (mg/dL)	174 ± 26	216 ± 38	225 ± 43	< 0.01	< 0.001	AD
Trigliserid (mg/dL)	128 ± 41	175 ± 41	204 ± 78	< 0.05	< 0.001	AD
HDL-K (mg/dL)	40 ± 6.8	39.6 ± 5.5	34.4 ± 6.3	AD	< 0.001	< 0.05
HDL ₂ -K (mg/dL)	14.4 ± 3.5	14.6 ± 3.0	11.2 ± 3.3	AD	< 0.001	< 0.01
HDL ₃ -K (mg/dL)	25.6 ± 4.6	25 ± 3.9	23.2 ± 4.6	AD	< 0.05	AD
LDL-K (mg/dL)	108 ± 36	141 ± 39	150 ± 42	< 0.001	< 0.001	AD
Lp (a) (mg/dL)*	19.1 / 12.2	38.8 / 28.6	45 / 37.4	< 0.01	< 0.01	AD
Apo AI (mg/dL)	148 ± 25	137 ± 19	136 ± 25	AD	AD	AD
Apo B (mg/dL)	120 ± 34	124 ± 33	133 ± 32	AD	AD	AD
MDA (nmol/mL)	5.58 ± 1.86	6.7 ± 2.09	8.42 ± 2.21	< 0.01	< 0.001	< 0.01
Lag-time (dakika)	65.4 ± 9.3	56.4 ± 10.7	48.7 ± 12.1	< 0.05	< 0.001	< 0.05
Glikoz (mg/dL)	89.7 ± 8.6	188 ± 35	225 ± 48	< 0.001	< 0.001	< 0.05
HbA1c (%)	5.12 ± 0.7	8.46 ± 1.23	9.61 ± 1.60	< 0.001	< 0.001	< 0.01

p1:Grup 1 ile Grup 2; p2:Grup 1 ile Grup 3; p3: Grup 2 ile Grup 3'ün karşılaştırılması ile elde edilen p değerleri.

K: Kolesterol HDL: Yüksek dansiteli lipoprotein LDL: Düşük dansiteli lipoprotein

Lp (a): Lipoprotein (a) Apo: Apolipoprotein MDA: Malondialdehid AD: Anlamlı Değil

* Ortalama değer / ortanca değer

lamlı bir azalma gösterdi. Apo AI ve apo B düzeylerinde ise gruplar arasında anlamlı bir farklılık bulunmadı. MDA, HbA1c ve glikoz değerleri her iki diabetik grupta da kontrol grubuna göre anlamlı bir artış gösterdi ve bu artışın özellikle KAH'nın geliştiği diabetik grupta daha fazla olduğu görüldü. Apo B içeren lipoproteinlerin bakırla indüklenen oksidasyona dirençlerini gösteren gecikme süresi (lag-time), KAH'nın geliştiği diabetik grupta diğer

iki gruba göre anlamlı bir azalma gösterdi (Tablo 2). Antioksidan etkili E vitamini ve total karoten değerlerini incelediğimizde ise, diabetik olgularda kontrol grubuna göre anlamlı bir azalmanın olduğu ve bu azalmanın özellikle KAH'nın geliştiği diabetik olgularda daha belirgin olduğu saptandı. Ürik asit, albumin, bilirubin ve demir düzeyleri ise gruplar arasında anlamlı bir fark göstermedi (Tablo 3). Yapılan korelasyon çalışmasında ise, KAH gelişen

Tablo 3. Tip II diabetik olgularda ve kontrol grubunda antioksidan parametreler ve serum demir düzeyleri*

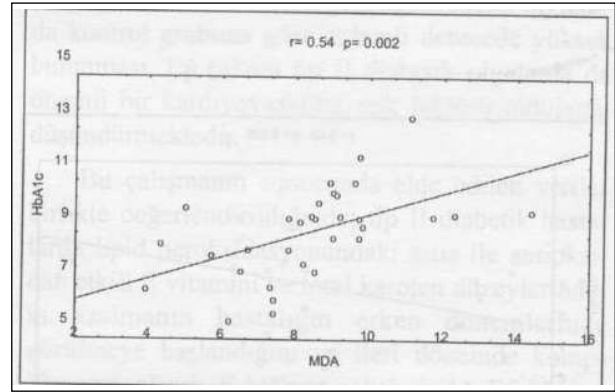
Parametre	Grup 1	Grup 2	Grup 3	p1	p2	p3
E vitamini (mg/dL)	1.72 ± 0.51	1.49 ± 0.27	1.24 ± 0.44	< 0.05	< 0.001	< 0.01
Total Karoten (µg/dL)	193 ± 67	162 ± 33	134 ± 36	< 0.05	< 0.001	< 0.01
Ürik asit (mg/dL)	4.44 ± 1.5	4.01 ± 1.32	4.32 ± 1.49	AD	AD	AD
Albumin (g/dL)	4.13 ± 0.45	4.11 ± 0.40	4.09 ± 0.51	AD	AD	AD
Total Bilirubin (mg/dL)	0.72 ± 0.37	0.66 ± 0.23	0.63 ± 0.27	AD	AD	AD
Demir (µg/dL)	68.2 ± 31.0	84.4 ± 37.4	81 ± 21.8	AD	AD	AD

*Grup ve p değerleri açıklamaları için Tablo 1 ve 2'ye bakınız.

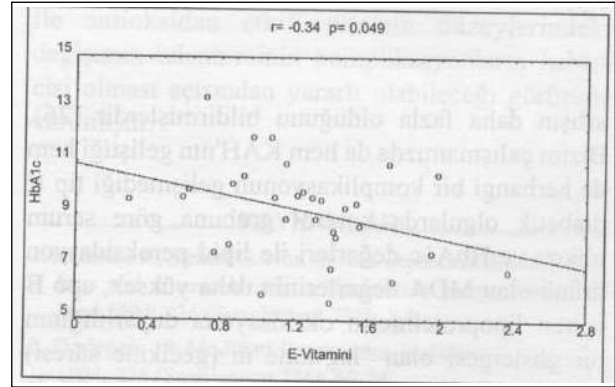
diabetik grupta HbA1c ile MDA arasında pozitif korelasyon ($r=0.54$, $p=0.002$) (Şekil 1), HbA1c ile E vitamini ($r=-0.34$, $p=0.049$) (Şekil 2) ve lag-time ($r=-0.60$, $p=0.0001$) (Şekil 3) arasında ise negatif korelasyon saptandı. Komplikasyonun gelişmediği diabetik grupta ise sadece HbA1c ile MDA arasında pozitif korelasyon ($r=0.48$, $p=0.026$) bulundu (Şekil 4).

Tartışma

Diabet, KAH'nın gelişiminde rol oynayan en önemli risk faktörlerinden birisidir ve KAH'na bağlı ölüm oranları diabetik hastalarda diabetik olmayanlara göre 2-3 kat daha fazla görülmektedir (1,3,19). Diabetik olgularda hiperglisemiye bağlı olarak lipid ve proteinlerin oksidasyona artmış duyarlılığının KAH'nın gelişiminden sorumlu olduğu ileri sürülmektedir (1,2). Yüksek glikoz düzeyleri ya demir ve bakır gibi geçiş metalleri aracılığı ile direkt olarak, ya da glikozillenmiş protein oluşumu ile indirekt olarak serbest radikal oluşumuna yol açabilir (20-22). Üretimi artan serbest radikaller ise lipidlerin yanısıra kollajen, elastin, laminin ve kristalin gibi proteinlere de hasar vererek, bu proteinlerden zengin dokularda (lens, damar duvarı, bazal membranlar gibi) yapısal değişikliklere ve katarakt, mikroanjiopati, ateroskleroz ve nefropati gibi diabetik komplikasyonların gelişimine yol açabilir (21,23). Yapılan çalışmalarda, yüksek glikoz konsantrasyonlarında lipidlerin daha kolay oksitlendikleri ve kan glikoz düzeyleri kontrol altında olan diabetiklerde dolaşımdaki lipid peroksidlerinin de daha düşük düzeylerde oldukları saptanmıştır (2,7,24). Hunt ve arkadaşları ise in vitro glikoz ile inkübe edilen LDL'de glikozilasyon ve peroksidasyonun birlikte geliştiğini ve bu olayın

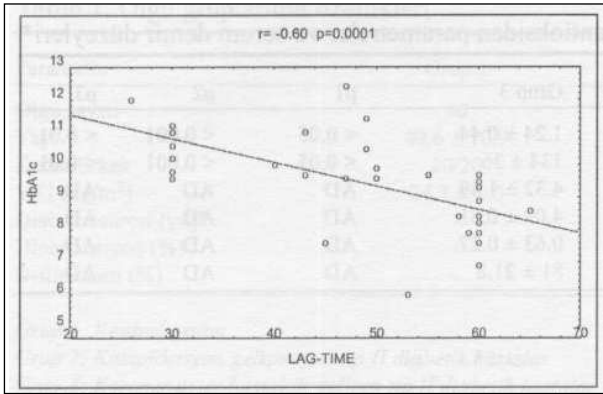


Şekil 1. KAH gelişen diabetik grupta HbA1c ile MDA arasındaki ilişki.

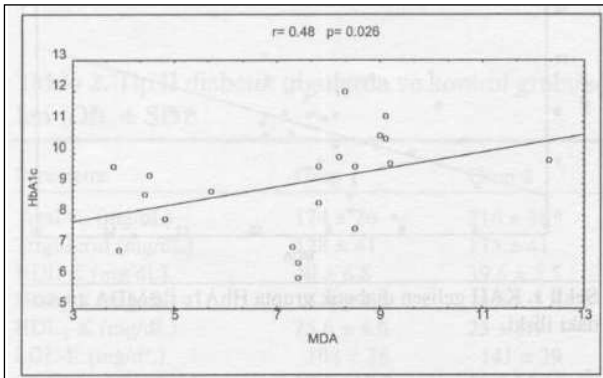


Şekil 2. KAH gelişen diabetik grupta HbA1c ile E vitamini arasındaki ilişki.

LDL oksidasyonunu arttırdığını ileri sürmüşlerdir (25). Griesmacher ve arkadaşları da tip II diabetik hastalarda lipid peroksid düzeylerinin kontrollere göre anlamlı bir artış gösterdiğini ve kötü metabolik kontrol altındaki olgularda ($HbA1c > \%6.5$) bu



Şekil 3. KAH gelişen diabetik grupta HbA1c ile lag-time arasındaki ilişki.



Şekil 4. Komplikasyon gelişmeyen diabetik olgularda HbA1c ile MDA arasındaki ilişki.

artışın daha fazla olduğunu bildirmişlerdir (26). Bizim çalışmamızda da hem KAH'nın geliştiği hem de herhangi bir komplikasyonun gelişmediği tip II diabetik olgularda kontrol grubuna göre serum glikoz ve HbA1c değerleri ile lipid peroksidasyon ürünü olan MDA değerlerinin daha yüksek, apo B içeren lipoproteinlerin oksidasyona duyarlılığının bir göstergesi olan "lag-time"ın (gecikme süresi) daha kısa bulunması ve her iki diabetik grupta da HbA1c ile MDA arasında pozitif korelasyon saptanması gliseminin lipoproteinlerin oksidasyonunu arttırdığını göstermektedir. Lawrence ve arkadaşları da bizim sonuçlarımıza benzer şekilde tip II diabetik olgularda HbA1c düzeylerindeki artışın lipid peroksid düzeylerindeki artışla korele olduğunu bulmuşlardır (6). Chien ve arkadaşları ise insülin direncinin tip II diabetik hastalarda ateroskleroz gelişiminden sorumlu olduğunu ileri

sürmüşlerdir (27). Yaptığımız çalışmada, KAH'nın geliştiği tip II diabetik olgularda komplikasyonun gelişmediği olgulara göre MDA düzeylerinin daha yüksek ($p < 0.01$), "lag-time"ın daha kısa bulunması ($p < 0.05$) lipid peroksidasyonundaki artışın hastalığın geç döneminde komplikasyonların gelişiminde de rol oynadığının bir göstergesidir. Başka araştırmacılar da bizim sonuçlarımıza benzer şekilde özellikle vasküler komplikasyonların geliştiği tip II diabetik hastalarda lipid peroksidasyonundaki artışın daha fazla olduğunu bildirmişlerdir (28,29).

Normal koşullar altında serbest radikallerin zararlı etkilerine karşı organizmada geliştirilmiş antioksidan savunma sistemleri bulunmaktadır. Ancak diabet gibi serbest radikal üretiminin arttığı durumlarda bu savunma mekanizmaları yetersiz kalmaktadır (23). Karotenoidler ve E vitamininin oksijen radikal temizleyicisi olarak insanlarda önemli rol oynadığı bilinmektedir (30). Yaptığımız çalışmada komplikasyon gelişmeyen diabetik grupta kontrol grubuna göre E vitamini ve total karoten değerlerinde bulunan anlamlı azalma, antioksidan etkili vitaminlerin henüz KAH'nın gelişmediği diabetin başlangıç döneminde azalmaya başlamış olabileceğini göstermektedir. Bu bulgular, diabet gelişiminde antioksidan etkili vitaminlerin rolünü araştıran diğer çalışmaların sonuçları ile benzerdir (9,31-33). Ayrıca, KAH gelişen diabetik grupta komplikasyon gelişmeyen diabetik gruba göre E vitamini ve total karoten değerlerinin daha düşük, HbA1c'nin daha yüksek bulunması da bu olgularda zaman içinde glisemik kontrolde bozulma ile artan oksidatif stresin bu antioksidanların tüketiminden sorumlu olduğunu göstermektedir. Bazı araştırmacılar pankreatik adacık hücrelerinin daha düşük antioksidan enzim aktivitesine sahip olduğunu ve bu nedenle serbest radikal hasarına daha duyarlı olduklarını ileri sürmüşlerdir (34,35). Yapılan çeşitli araştırmalarda yüksek doz E vitamini alımının insanlarda KAH riskinde azalma ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (36-38). Ayrıca, günlük E vitamini alımının diabetik hastalarda metabolik kontrolü düzeltmede faydalı olabileceği ve HbA1c düzeylerinde anlamlı bir azalmaya yol açabileceği de ileri sürülmüştür (10). Diabette kronik doku hasarına karşı E vitamininin koruyucu rolünün, protein glikozilasyonu üzerindeki inhibisyon yapıcı etkisi ile trombosit agregasyonunu önleyici etkisinden ileri gelebileceği de bildirilmiştir (39,40).

Shoff ve arkadaşları da E vitamininin glikozilasyonun başlangıç basamağında etkisini gösterdiğini ileri sürmüşlerdir (41). Bazı araştırmacılar ise diabetik olgularda E vitamini düzeylerini kontrol grubundan farklı bulmadıklarını bildirmişlerdir (26,30,42). Diabetik olgularda karotenoid düzeylerini inceleyen çalışmalardan birinde ise oksidatif stresin karotenoidlerin barsak lümeninden emilimini etkileyerek düşük serum düzeylerine yol açabileceği ileri sürülmüştür (9). Coudray ve arkadaşları da diabetik hastalarda saptadıkları total karotenoid düzeylerindeki azalmanın peroksidatif risk artışı ile ilişkili olduğunu ileri sürmüşlerdir (43). Vücudumuzdaki total antioksidan havuzun diğer önemli elemanları arasında yer alan ürik asit (44), albumin (21) ve bilirubin (45) düzeyleri ile serbest radikal reaksiyonlarını hızlandırıcı bir katalizör olarak rol oynayan serum demir (46) düzeyleri gruplar arasında anlamlı bir farklılık göstermemiştir. Kalak ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada da tip II diabetik olgularda serum demir ve ürik asit düzeyleri kontrol grubundan farklı bulunmamıştır (47).

Diabetik hastalarda serum lipoprotein düzeylerini inceleyen çalışmalarda da, HDL-K düzeylerindeki azalmanın ateroskleroz riskini arttırdığı ve HDL-K'ün KAH'na karşı koruyucu etkisinin başlıca HDL2-K'den ileri geldiği bildirilmiştir (2,48). Yaptığımız çalışmada da KAH gelişen diabetik olgularda komplikasyon gelişmeyen olgulara göre HDL-K ve HDL2-K düzeylerinde bulunan anlamlı düşüklük bu sonuçlarla uyumludur. İn vitro glikoz ile inkübe edilen HDL'nin katabolizmasının arttığı gösterilmiştir (2). Ayrıca Duell ve arkadaşları da glikozillenmiş HDL'nin fibroblastlara bağlanma affinitesinin bozulduğunu ve böylece periferik hücrelerden kolesterolü uzaklaştırma yeteneğinin azaldığını göstermişlerdir (49,50). Tüm bu çalışmaların sonuçları tip II diabetik hastalarda HDL'nin KAH gelişimi üzerine etkisini açıklayıcı niteliktedir. Yaptığımız çalışmada diabetik olgularda görülen hipertrigliseridemi VLDL'nin artmış sentezi ve/veya azalmış yıkımından ileri gelebilir. LDL düzeylerindeki artışın nedeni ise LDL yıkımındaki azalma olabilir. Hipertrigliserideminin olduğu diabetik olgularda LDL partiküllerinin daha küçük ve yoğun olduğu ve aterosjenik özellik kazandığı bildirilmiştir (4). Hepatik VLDL'nin aşırı üretimini yanı sıra LPL'in azalmış aktivitesi de serum TG düzeylerinde artışa neden

olabilir (10). Steiner (3) diabetik olgularda en sık görülen dislipideminin hipertrigliseridemi olduğunu bildirirken, Paterson ve arkadaşları (51) özellikle hiperkolesteroleminin tip II diabetik olgularda görülen en önemli lipid bozukluğu olduğunu ileri sürmüşlerdir. Hiperlipidemik olan diabetik hastaların LDL'lerinin ise oksidasyona daha duyarlı oldukları saptanmıştır (52). Bu çalışmada KAH gelişen diabetik olgularda komplikasyon gelişmeyen diabetik olgulara göre TK, TG ve LDL-K düzeyleri daha yüksek bulunmasına karşın, bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Lp (a)'nın özellikle KAH'nın geliştiği diabetik olgularda kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulunması, Lp (a)'nın tip II diabetik olgularda da önemli bir kardiyovasküler risk faktörü olduğunu düşündürmektedir.

Bu çalışmanın sonucunda elde edilen veriler birlikte değerlendirildiğinde; tip II diabetik hastalarda lipid peroksidasyonundaki artış ile antioksidan etkili E vitamini ve total karoten düzeylerindeki azalmanın hastalığın erken dönemlerinde görülmeye başladığını ve ileri dönemde komplikasyon olarak KAH'nın gelişiminde de rol oynayabileceğini, ayrıca glisemik kontroldeki bozulmanın da bu patolojiye katkıda bulunabileceğini düşünebiliriz. Böylece tip II diabetik olgularda, serum MDA düzeyleri ve lipoprotein oksidasyonu ile antioksidan etkili vitamin düzeylerindeki değişimin izlenmesinin komplikasyonların habercisi olması açısından yararlı olabileceği görüşüne varılmıştır.

KAYNAKLAR

1. Hamsten A, Steiner G. Non-insulin-dependent diabetes mellitus and atherosclerosis: a lipoprotein perspective. *J Int Med* 1994; 236 (Supplement 736): 1-3.
2. Deslypere JP. Modified lipoproteins in diabetes. *J Int Med* 1994; 236 (Supplement 736): 69-74.
3. Stewart MW, Laker MF, Alberti KGMM. The contribution of lipids to coronary heart disease in diabetes mellitus. *J Int Med* 1994; 236 (Supplement 736): 41-6.
4. Manzato E, Crepaldi G. Dyslipoproteinemia in manifest diabetes. *J Int Med* 1994; 236 (Supplement 736): 27-31.
5. Passarelli M, Catanozi S, Nakandakare ER, Rocha JC, Morton RE, Shimabukuro AFM, Quintao ECR. Plasma lipoproteins from patients with poorly controlled diabetes mellitus and "in vitro" glycation of lipoproteins enhance the transfer rate of cholesteryl ester from HDL to apo-B-containing lipoproteins. *Diabetologia* 1997; 40: 1085-93.

6. Lawrence JR, Campbell GR, Barrington H, Malcolm EA, Brennan G, Wiles DH, Paterson JR. Clinical and biochemical determinants of plasma lipid peroxide levels in type 2 diabetes. *Ann Clin Biochem* 1998; 35: 387-92.
7. Tsai EC, Hirsch IB, Brunzell JD, Chait A. Reduced plasma peroxy radical trapping capacity and increased susceptibility of LDL to oxidation in poorly controlled IDDM. *Diabetes* 1994; 43: 1010-4.
8. Davi G, Ciabattoni G, Consoli A, Mezzetti A, Falco A, Santarone S, et al. In vivo formation of 8-iso-prostaglandin F2a and platelet activation in diabetes mellitus. *Circulation* 1999; 99: 224-9.
9. Ford ES, Will JC, Bowman BA, Narayan KMV. Diabetes mellitus and serum carotenoids: Findings from the third national health and nutrition examination survey. *Am J Epidemiol* 1999; 149: 168-76.
10. Paolisso G, D'Amore A, Galzerano D, Balbi V, Giugliano D, Varricchio M, D'Onofrio F. Daily vitamin E supplements improve metabolic control but not insulin secretion in elderly type II diabetic patients. *Diabetes Care* 1993; 16: 1443-7.
11. Demacker PNM, Vos-Janssen HE, Hijmans AGM, et al. Measurement of high-density lipoprotein cholesterol in serum: Comparison of six isolation methods with enzymatic cholesterol analysis. *Clin Chem* 1980; 26(13): 1780-6.
12. Demacker PNM, Hak-Lemmers HLM, Hijmans AGM, Baadenhuysen H. Evaluation of the dual-precipitation method for determination of cholesterol in high-density lipoprotein subfractions HDL2 and HDL3 in serum. *Clin Chem* 1986; 32(5): 819-25.
13. Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of preparative ultracentrifuge. *Clin Chem* 1972; 18(6): 499-502.
14. Giacherio D, Matz K. Evaluation of an enzyme immunoassay kit for the determination of lipoprotein (a). *Clin Chem* 1990; 36: 955a.
15. Varley H. Vitamins. In: Varley H, Gowenlock AH, Bell M, eds. *Practical Clinical Biochemistry. Hormones, Vitamins, Drugs and Poisons*. London: William Heinemann Medical Books Ltd, 1976: 222-3.
16. McCormick DB, Greene HL. Vitamins. In: Burtis CA, Ashwood ER, eds. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry*. Philadelphia: Saunders, 1994: 1280-3.
17. Naito C, Kawamura M, Yamamoto Y. Lipid peroxides as the initiating factor of atherosclerosis. *Ann NY Acad Sci* 1993; 676: 27-45.
18. Zhang A, Vertommen J, Van Gaal L, De Leeuw I. A rapid and simple method for measuring the susceptibility of low-density lipoprotein and very-low density lipoprotein to copper-catalyzed oxidation. *Clin Chim Acta* 1993; 227: 159-73.
19. Steiner G. Hyperinsulinemia and hypertriglyceridaemia. *J Int Med* 1994; 236 (Supplement 736): 23-6.
20. Dandona P, Thusu K, Cook S, Snyder B, Makowski J, Armstrong D, Nicotera T. Oxidative damage to DNA in diabetes mellitus. *Lancet* 1996; 347: 444-5.
21. Baynes JW. Role of oxidative stress in development of complications in diabetes. *Diabetes* 1991; 40: 405-12.
22. Hunt JV, Bottoms MA, Mitchinson MJ. Oxidative alterations in the experimental glycation model of diabetes mellitus are due to protein-adduct oxidation. *Biochem J* 1993; 291: 529-35.
23. Kalak S, Akkuş İ, Çağlayan O, Can ÜG, Zeren EM. Diabetes mellitus ve serbest radikaller. *T Klin Tıp Bilimleri* 1996; 16: 206-11.
24. Armstrong AM, Chestnutt JE, Gormly MJ, Young IS. The effect of dietary treatment on lipid peroxidation and antioxidant status in newly diagnosed non-insulin-dependent diabetes. *Free Radic Biol Med* 1996; 21: 719-26.
25. Hunt JV, Smith CCT, Wolff SP. Autooxidative glycosylation and possible involvement of peroxides and free radicals in LDL modification by glucose. *Diabetes* 1990; 39: 1420-4.
26. Griesmacher A, Kindhauser M, Andert SE, Schreiner W, Toma C, Knoebl P, et al. Enhanced serum levels of thiobarbituric-acid-reactive substances in diabetes mellitus. *Am J Med* 1995; 98: 469-75.
27. Chien KL, Lee YT, Sung FC, Hsu HC, Su TC, Lin RS. Hyperinsulinemia and related atherosclerotic risk factors in the population at cardiovascular risk: A community-based study. *Clin Chem* 1999; 45(6): 838-46.
28. Mooradian AD. Increased serum conjugated dienes in elderly diabetic patients. *J Am Geriatric Soc* 1991; 39: 571-4.
29. Blanchard P, Anton B, Larousse C, Auget D, Mainard F, Charbonnel B, Krempf M. Plasma vitamin E, non-high-density lipoprotein cholesterol, and apolipoprotein B in diabetic patients. *Clin Chem* 1992; 38 (11): 2339-40.
30. Martinoli L, Felice MD, Seghieri G, Ciuti M, De Giorgia LA, Fazzini A, et al. Plasma retinol and α -tocopherol concentrations in insulin-dependent diabetes mellitus: Their relationship to microvascular complications. *Int J Vit Nutr Res* 1993; 63: 87-92.
31. Zadeh JN, Rahimi A, Sarmadi JT, Tritschler H, Rosen P, Halliwell B, Betteridge DJ. Relationships between plasma measures of oxidative stress and metabolic control in NIDDM. *Diabetologia* 1997; 40: 647-53.
32. Salonen JT, Nyyssönen K, Tuomainen TP, Maenpää PH, Korpela H, Kaplan GA, et al. Increased risk of non-insulin dependent diabetes mellitus at low plasma vitamin E concentrations: a four year follow up study in men. *BMJ* 1995; 311: 1124-7.
33. Singh RB, Ghosh S, Niaz MA, et al. Dietary intake, plasma level of antioxidant vitamins, and oxidative stress in relation to coronary artery disease in elderly subjects. *Am J Cardiol* 1995; 76: 1233-8.
34. Halliwell B, Gutteridge JMC. *Free radicals in biology and medicine*. Oxford: Clarendon Press, 1989.
35. Loven DP, Oberley LW. Free radicals, insulin action, and diabetes. In: Oberley LW, ed. *Superoxide dismutase*. Florida: CRC Press. 1985: Vol III.
36. Stephens NG, Parsons A, Schofield PM, Kelly F, Cheeseman K, Mitchinson MJ, Brown MJ. Randomised controlled trial of vitamin E in patients with coronary disease: Cambridge heart antioxidant study (CHAOS) *Lancet* 1996; 347: 781-6.

37. Stampfer MJ, Hennekens CH, Manson JE, Colditz G, Rosener B, Willett WC. Vitamin E consumption and the risk of coronary disease in women. *New Engl J Med* 1993; 328: 1444-9.
38. Rimm EB, Stampfer MJ, Ascherio A, Giovannucci E, Colditz G, Willett WC. Vitamin E consumption and the risk of coronary heart disease in men. *New Engl J Med* 1993; 328: 1450-6.
39. Ceriello A, Giugliano D, Quatraro A, Donzella C, Dipalo G, Lefebvre PJ. Vitamin E reduction of protein glycosylation in diabetes. New prospect for the prevention of diabetic complications? *Diabetes Care* 1991; 14: 68-72.
40. Gisinger C, Jamie J, Speiser P, Mikhailidis D, Dandona P, Scherthaner G. Effect of vitamin E supplementation on platelet thromboxane A2 production in type I diabetic patients. Double-blind crossover trial. *Diabetes* 1988; 37: 1260-4.
41. Shoff SM, Perlman JAM, Cruickshanks KJ, Klein R, Klein BEK. Glycosylated hemoglobin concentrations and vitamin E, Vitamin C, and b-carotene intake in diabetic and nondiabetic older adults. *Am J Clin Nutr* 1993; 58: 412-6.
42. Gürbilek M, Aksoy NH, Akkuş İ, Kalak S, Çağlayan O, Aköz M, Zeren EM. Diyabetiklerde eritrosit içi superoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz ile plazma E vitamininin araştırılması. *S.Ü. Tıp Fak Derg* 1994; 10(3): 311-6.
43. Coudray C, Roussel AM, Mainard F, Arnaud J, Favier A. Lipid peroxidation level and antioxidant micronutrient status in a pre-aging population; correlation with chronic disease prevalence in a French epidemiological study. *J Am Coll Nutr* 1997; 16(6): 584-91.
44. Santini SA, Marra G, Giardina B, Cotroneo P, Mordente A, Martorana GE, et al. Defective plasma antioxidant defenses and enhanced susceptibility to lipid peroxidation in un-complicated IDDM. *Diabetes* 1997; 46: 1853-8.
45. Breimer LH, Wannamethee G, Ebrahim S, Shaper AG. Serum bilirubin and risk of ischemic heart disease in middle-aged British men. *Clin chem* 1995; 41(10): 1504-8.
46. Delibaş N, Özçankaya R. Serbest radikaller. *SDÜ Tıp Fak Derg* 1995; 2(3): 11-7.
47. Kalak S, Akkuş İ, Çağlayan O, Ay M, Zeren E. Tip II diabetes mellitus'lu hastalarda demir, bakır ve bazı antioksidan maddelerin düzeylerinin araştırılması. *S.Ü. Tıp Fak Derg* 1996; 4: 361-5.
48. Buring JE, O'Connor GT, Goldhaber SZ, Rosner B, Herbert PN, Blum CB. Decreased HDL2 and HDL3 cholesterol, apo A-I and apo A-II and increased risk of myocardial infarction. *Circulation* 1992; 85: 22-9.
49. Duell PB, Oram JF, Bierman EL. Nonenzymatic glycosylation of HDL resulting in inhibition of high-affinity binding to cultured human fibroblasts. *Diabetes* 1990; 39: 1257-63.
50. Duell PB, Oram JF, Bierman EL. Nonenzymatic glycosylation of HDL and impaired HDL-receptor-mediated cholesterol efflux. *Diabetes* 1991; 40: 377-84.
51. Paterson JR, Pettigrew AR, Dominiczak MH, Small M. Screening for hyperlipidemia in diabetes mellitus. Relationship to glycaemic control. *Ann Clin Biochem* 1991; 28: 354-8.
52. Guerci B, Antebi H, Meyer L, Durlach V, Ziegler O, Nicolas JP, et al. *Clin Chem* 1999; 45(9): 1439-48.