T. C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

137980

PLAZMA HOMOSİSTEİN DÜZEYLERİ İLE TİP 2 DİYABET, KOMPLİKASYONLARI, KONTROLÜ VE SÜRESİ ARASINDAKİ İLİŞKİNİN ARAŞTIRILMASI

T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ

137980

Dr. Ramazan MEMİŞOĞULLARI

Tez Yöneticisi
Prof. Dr. Ebubekir BAKAN

Uzmanlık Tezi
Erzurum-2003

İÇİNDEKİLER

Onay Sayfası....iv
Teşekkür....v
Özet....vi
Abstract....vii
Kısaltmalar....viii

1. GİRİŞ....1

2. GENEL BİLGİLER....3

2.1. Homosistein....3

2.1.1. Homosistein Metabolizması....5

2.1.2. Hiperhomosisteinemi....8

2.1.3. Hiperhomosisteineminin Patofizyolojik Mekanizmaları....8

2.1.3.1. Reaktif Oksijen Türleri ve Lipid Peroksidasyonu....8

2.1.3.2. Endotel Fonksiyon Bozukluğu....9

2.1.3.3. Pıhtılaşma Faktörlerindeki Değişiklikler....10

2.1.3.4. Trombosit Adezyon Anormallikleri....11

2.1.4. Homosistein Düzeylerini Etkileyen Faktörler....11

2.1.4.1. Genetik....11

2.1.4.2. Fizyolojik....12

2.1.4.2.1. Cinsiyet, Östrojen, Gebelik....12

2.1.4.2.2. Yaşam Biçimi....13

2.1.4.3. Patolojik....13

2.1.4.3.1. Vitamin Eksikliği....13

2.1.4.3.2. Böbrek Yetmezliği....14

2.1.4.3.3. Transplantasyon....14

2.1.4.3.4. İlaç Alımı....14

2.1.4.4. Hiperhomosisteinemi ile İlişkili Hastalık Durumları.....15

2.1.4.4.1. Oklüziv Vasküler Hastalık.....15

2.1.4.4.2. Nöral Tüp Defektleri.....15

2.1.4.4.3. Diğer Nedenler.....15

2.2. Diyabetes Mellitus.....16

2.2.1. Sınıflama.....16

2.2.1.1. Tip 1 Diyabet.....16

2.2.1.2. Tip 2 Diyabet.....18

2.2.2. Diyabetin Komplikasyonları.....18

2.2.2.1. DM'ün Kronik Komplikasyonlarının Patogenezindeki Mekanizmalar.....19

2.2.2.2. Diyabetin Mikrovasküler Hastalığı.....25

2.2.2.2.1. Diyabetik Nefropati.....26

2.2.2.2.2. Diyabetik Retinopati.....26

2.2.2.2.3. Diyabetik Nöropati.....26

2.2.2.3. Diyabetin Makrovasküler Hastalığı.....27

3. GEREÇ VE YÖNTEM.....28

3.1. Kan Örneklerinin Alınması.....29

3.2. Kullanılan Alet ve Cihazlar.....29

3.3. Analiz.....30

3.3.1. Plazma Homosistein Analizi.....30

3.3.2. Plazma B_6 Vitamini Analizi.....30

3.3.3. Gün İçi ve Günlerarası Tekrarlanabilirlik Çalışmaları.....30

3.3.4. Kromatografik Koşullar.....31

3.3.5. Plazma MDA Düzeyi Ölçümü.....34

3.3.6. Diğer Biyokimyasal Analizler.....35

3.4. İstatistiki Analiz.....35

4. BULGULAR.....36

5. TARTIŞMA.....58

5.1. Materyal- Metodun Tartışması.....58

5.2. Sonuçların Tartışması.....59

6. SONUÇ 67

7. KAYNAKLAR.....68

ONAY SAYFASI

Bu tez Arş. Gör. Dr. Ramazan MEMİŞOĞULLARI'na 10.1.2001 tarihinde Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı Kurulu kararıyla verilmiştir. 2.1.2002 tarih ve 2 sayılı Biyokimya Anabilim Dalı Başkanlığı yazısı ile Etik kurul'a baş vurulmuş ve Etik kurul'un 11.1.2002 tarih ve 29 sayılı oturumunda onaylanmıştır. Ayrıca 25.3.2003 tarihinde de Temel Tıp Bölüm Kurulunda 6/2 No'lu karar ile onanmıştır.

TEŞEKKÜR

Mensubu olmaktan büyük onur duyduğum Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya ve Klinik Biyokimya Anabilim Dalı'nın saygıdeğer öğretim üyelerine, başta tez hocam Prof. Dr. Ebubekir Bakan olmak üzere, kendilerinden pek çok konuda istifade ettiğim saygıdeğer hocalarım Prof. Dr. Yaşar Nuri Şahin'e, Prof. Dr. Nuri Bakan'a, Prof. Dr. Leyla Yıldız'a, Prof. Dr. Fatih Akçay'a, Doç. Dr. Sevinç Kuşkay'a, Doç. Dr. Ahmet Kızıltunç'a, Doç. Dr. Hülya Akşoy'a, Doç. Dr. Zuhal Umudum'a, Yrd. Doç. Dr. Sait Keleş'e,

Kendisinden pek çok yardım gördüğüm değerli arkadaşım Arş. Gör. Seyithan Taysi' ye,

Asistanlığımın ilk gününden beri birlikte çalışmaktan onur duyduğum diğer asistan arkadaşlarıma,

Tez vakalarımın bulunmasında yardımları olan ve muayenelerini yapan İç hastalıkları-Endokrinoloji bölümünden sayın Yrd. Doç. Dr. İlyas Çapoğlu'na,

Tez ve diğer çalışmalar sırasında yardımlarını gördüğüm Uzm. Yusuf Doğru'ya,

Hormon Laboratuvarı ve Yakutiye Araştırma Hastanesi Biyokimya Laboratuvarındaki değerli teknisyen arkadaşlarıma,

Ayrıca bana tüm zamanların en büyük desteğini veren şu 5 insana: Anneme, babama, en sıkıntılı ve stresli anlarımda bana sabır ve anlayış gösteren eşim sevgili Aysu'ya, çocuklarım canım kızım Zeynep ve biricik oğlum Tarık'a,

Sonsuz teşekkürlerimle...

ÖZET

Kardiyovasküler bir risk faktörü olan Diyabetes Mellitus (DM) insülinin fonksiyonel veya mutlak eksikliği sonucu oluşan hiperglisemi ile karakterize ve pek çok metabolik bozukluklardan oluşan bir sendromdur. Bu sendromda hiperglisemiye ek olarak karbonhidrat, lipid ve protein metabolizmasındaki anormallikler de vardır. Homosistein (Hcy)'in yükselmiş düzeyleri de vasküler hastalıkla ilişkilidir. Hiperhomosisteinemi (HH) diğer klasik risk faktörlerinden bağımsız kardiyovasküler hastalıklar için bir risk faktörü olarak kabul edilir. Bu çalışmada Tip 2 diyabetlilerin plazma Hcy düzeyleri ve bazı biyokimyasal parametreleri ve onların Tip 2 diyabet, diyabet süresi ve kontrolü (HbA_{1C}) ile ilişkileri araştırıldı.

Bu çalışmada 61 Tip 2 DM'lü (30'u komplikasyonlu) ve 30 klinik olarak sağlıklı birey değerlendirildi. Komplikasyonlu grupta 9 nefropatili, 7 retinopatili, 7 nöropatili ve 7'de makrovasküler komplikasyonlu hasta vardı.

Komplikasyonsuz diyabetli grubun plazma Hcy düzeyleri kontrol grubundan yüksekti, fakat istatistiki olarak anlamlı değildi. Komplikasyonlu grubun Hcy düzeyleri ise hem komplikasyonsuz gruptan ($p<0.05$) hem de kontrol grubundan ($p<0.001$) istatistiki olarak anlamlı derecede yüksekti. Ayrıca komplikasyonlular içinde en yüksek Hcy düzeyleri nefropatili veya makrovasküler komplikasyonu olanlarda görüldü. Retinopati veya nöropatisi olanların Hcy düzeylerinde ise komplikasyonu olmayanlardan istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu. Lipid peroksidasyonunun bir belirteci olan malondialdehid (MDA) düzeyleri ise hem komplikasyonsuz hem de komplikasyonlu grupta kontrol grubundan istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksekti (sırasıyla; $p<0.05$, $p<0.001$). HbA_{1C} ile Hcy arasında hem hasta (her ikisi de; $p<0.001$) hem de kontrol grubunda ($p<0.01$) pozitif korelasyonlar saptandı. Diyabet süresiyle Hcy arasında sadece komplikasyonlu grupta istatistiksel olarak anlamlı ilişki olduğu, komplikasyonsuz grupta ise anlamlı derecede bir ilişki olmadığı görüldü.

Diyabet kontrolü ile Hcy arasında hasta grubunda daha anlamlı korelasyon olmasının ve de diyabet süresi ile Hcy arasında sadece komplikasyonlu grupta istatistiksel anlamlı korelasyon olmasının, diyabetin ilerlemesiyle ve komplikasyonların gelişmesiyle Hcy metabolizmasında görev alan doku, organ ve enzimlerin hasarlanmasından kaynaklanabileceği, ayrıca diyabet sürecinin başlaması ile birlikte bir HH sürecinin başladığı ve diyabet ilerledikçe de ilerlediği ve Tip 2 diyabetin komplikasyonlarına yol açabileceği sonucuna varıldı.

ABSTRACT

Diabetes Mellitus (DM), a cardiovascular risk factor, is a syndrome of metabolic disorders characterized by hyperglycemia that results from an absolute or a functional deficiency of insulin. In addition to hyperglycemia, this syndrome includes abnormalities of carbohydrate, lipid, and protein metabolisms. Also, elevated levels of homocysteine (Hcy) are associated with vascular disease, and hyperhomocysteinemia (HH) is thus considered to be a risk factor for cardiovascular disease, independent of other classic risk factors. In this study, plasma Hcy levels and some biochemical parameters of patients with Type 2 DM and their relations with Type 2 DM and its duration and control (HbA_{1C}) were investigated.

In this study, 61 patients with Type 2 DM (30 with complications) and 30 clinically healthy subjects were evaluated. In complication group, 9 patients were with nephropathy, 7 with neuropathy, 7 with retinopathy, and 7 with macrovascular complications.

Plasma Hcy levels of no-complication diabetic group were higher than those of control group, which was not of statistically significance. Hcy levels of complication group were statistical higher than those of no-complication ($p<0.05$) and control groups ($p<0.001$). The highest Hcy levels in complication group were those of nephropathy or of macrovascular complications. However, Hcy levels of retinopathy or neuropathy groups were not statistically different from no-complication group. MDA levels, marker of lipid peroxidation, were statistically higher than those of control group in both groups with and without complication (respectively; $p<0.05$, $p<0.001$). A positive correlation was found between HbA_{1C} and Hcy in both patient groups (both $p<0.001$) and control group ($p<0.01$). The duration of DM and Hcy ($p<0.001$) were statistically related to each other in complication group. However there was not statistical difference in no-complication group.

As conclusion, the control of DM and the levels of Hcy showed a good correlation in patient group, and the duration of DM and the levels of Hcy exhibited a statistically significant relation in only complication group, both of which suggest a possible disorder in Hcy metabolic pathways in associated tissue and organs as the DM and its complications progress and also suggest that the processes of DM and HH evolve and progress together, causing Type 2 diabetic complications.

KISALTMALAR

5MTHF: 5 Metil tetrahidrofolat
ADA: Amerikan Diyabet Cemiyeti
ADP: Adenozin difosfat
AGE: İleri Glikozillenme Ürünü
AMP: Adenozin monofosfat
ATP: Adenozin trifosfat
BHMT: Betain-Homosistein metil Transferaz
BHT: Bütillenmiş Hidroksitoluen
BMI: Vücut Kitle İndeksi
CBS: Sistatyon β Sentaz
DM: Diyabetes Mellitus
GSH: Redükte Glutatyon
HbA_{1C}: Glikozile Hemoglobin
Hcy: Homosistein
HH: Hiperhomosisteinemi
HLA: Human Lökosit Antijen
HPLC: Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi
MA: Mikroalbümin
MDA: Malondialdehid
MS: Metiyonin Sentaz
MTHFR: Metil tetrahidrofolat Redüktaz
NAD/NADH: Nikotinamid Adenin Dinükleotid (Okside/Redükte)
NADP/NADPH: Nikotinamid Adenin Dinükleotid Fosfat (Okside/Redükte)
NO: Nitrik Oksid
NOS: Nitrik Oksid Sentaz
PLP: Pridoksal Fosfat
RAGE: İleri glikozillenme ürünü reseptörü
ROS: Reaktif Oksijen Türleri
SAH: S-Adenozil Homosistein
SAM: S-Adenozil Metiyonin
SOD: Süperoksid Dismutaz
TBA: Tiyobarbitürikasit
TBARS: Tiyobarbitürikasit Reaktif Maddeler
TCA: Trikloroasetikasit
TG: Trigliserid
tHcy: Total Homosistein
WHO: Dünya Sağlık Örgütü

1. GİRİŞ

Homosistein (Hcy), metiyonin metabolizması sırasında üretilen, serbest tiyol grubu içeren ve diyette bulunmayan bir aminoasittir.[1-3] Metiyonin esansiyel bir aminoasittir ve vucuttaki Hcy'in kaynağıdır.[4] Açlık plazma Hcy'inin normal düzeyleri 5-15 μmol/L dir. Bu düzeyin üzeri hiperhomosisteinemi (HH) olarak kabul edilir.[3] HH prevalansı genel popülasyonda %5-%30 arasındadır. HH majör risk faktörlerinden bağımsız, kardiyovasküler hastalık için son zamanlarda tanımlanmış bir risk faktörüdür.[3,5,6] Dört binden fazla hastayı kapsayan bir araştırma Hcy'deki 5 μM'lık bir artışın ateroskleroz riskini erkeklerde %60, kadınlarda ise %80 artırdığını ve bu riskin kolesteroldeki 0.5 mmol/L'lik artışa eşit olduğunu göstermiştir.[7]

Kardiyovasküler hastalık dolaşım sistemindeki aterosklerotik değişimlerin bir sonucu olarak meydana gelir. Ateroskleroz orta veya ileri yaşlara kadar aşikar olmayan, çocuklukta başlayan ve yavaş ilerleyen bir hastalıktır.[3] Aterosklerozda plak oluşumu şu 4 aşamayı içerir: 1) Derin intimal hasar, 2) Trombosit, monosit ve lenfosit gibi kan hücreleriyle etkileşim ve erken tromboz, 3) Düz kas hücrelerinin proliferasyonu ve 4) Geç tromboz ve plak rüptürüne yol açan lipid birikimi. Hcy'in endotel hücre fonksiyonunu bozarak ve endotel hücrelerini hasarlandırarak bu oluşumda rol aldığı belirtilmektedir.[1] Amerikan Diyabet Derneği (*ADA*), diyabeti majör bir kardiyovasküler risk faktörü olarak tanımlamıştır. Buna ilave olarak kolesterol artışı, hipertansiyon, sigara, HDL-kolesterol düşüklüğü ve ilerlemiş yaşı da risk faktörü olarak belirtmiştir.[3,8]

Diyabetin bizzat kendisi kardiyovasküler hastalık için risk faktörü olmasının yanında, diyabetli hastalarda kardiyovasküler risk faktörleri yüksek oranda görülür.[5,6] Bunun yanısıra diyabetle birlikte HH'nin kardiyovasküler hastalık için daha güçlü bir risk faktörü olabileceği bilinmektedir.[9,10]

Diyabetes Mellitus (DM) yüksek plazma glukoz konsantrasyonlarıyla karakterize, metabolik hastalıkların farklı bir grubudur.[11] DM batı toplumunda %3-5 oranında görülür.[8] Dünyada 124 milyondan fazla insanın DM'lü olduğu tahmin edilmektedir.[11,12] Tip 2 diyabet (adult başlangıçlı veya insülin bağımlı olmayan diyabet = NIDDM) de tüm vakaların %80'ininden fazlasını oluşturur.[8,11] Tip 2 diyabet'in patofizyolojisinde ya insülin sekresyonunda ya da insülin etkisinde bir defekt (insülin rezistansı) vardır; bu ikisinin kombinasyonu da olabilir.[8,13,14]

Tip 2 diyabet'li hastalarda mikrovasküler komplikasyonlar daha yaygın olmasına rağmen, kardiyovasküler hastalık, özellikle koroner kalp hastalığı, Tip 2 diyabet'in önemli komplikasyonlarından biridir. Kardiyovasküler hastalık diyabetik[5,6] ve nondiyabetik bireylerde[3,5] önde gelen ölüm sebebidir. Kardiyovasküler mortalite oranı diyabetik hastalarda diyabetik olmayan bireylerden 2-4 kat daha fazladır.[5] DM hastalarının %65'den fazlasının ölüm nedeninin kardiyovasküler komplikasyonlar,[15] %50'den fazlasının da koroner kalp hastalığı[8] olduğu belirtilmektedir.

Tip 2 diyabet'in dünyadaki insidansının önümüzdeki 15 yıl içinde iki katına çıkacağı tahmin edilmektedir. Gelişmekte olan batı ülkelerinde geleneksel yaşam biçiminin batı stili bir yaşam biçimine hızla değişmesi, egzersiz yokluğu, obezitenin artması ve enerji alımının artması muhtemelen bu artışın önemli nedenleri olacağı bildirilmiştir.[8,12] Tip 2 diyabet'in gelişimi 10 yıl sürebilen yavaş bir süreçtir. Bu yüzden yeni tanı konulmuş Tip 2 diyabet'li hastalar bile yüksek komplikasyon riskine sahiptir.[8]

DM'ün kronik komplikasyonlarını açıklamak için birçok mekanizma ileri sürülmüş, fakat tam olarak açıklığa kavuşturulamamıştır. Birçok çalışma serbest radikal aktivitenin, serum protein bileşimindeki değişikliklerin, inflamasyonun ve endotelyal fonksiyon bozukluğunun rolü üzerinde yoğunlaşmıştır. En çok kabul gören mekanizma ise serbest radikallerin yol açtığı oksidatif hasardır.[12,16-18]

DM'de Hcy'in rolü tam olarak anlaşılamamıştır. Son yıllarda DM'lü hastalarda HH gözlendiğini ve oksidatif hasara yol açtığını[10,15,19-21] veya sadece komplikasyonlu diyabetiklerde HH gözlendiğini belirten çok sayıda çalışma[22-24] olmasına rağmen, Hcy düzeylerinin komplikasyonsuz diyabetlilerde kontrol grubundan farklı olmadığını[22,24-26] veya kontrol grubundan düşük olduğunu[6,9,27-29] ve HH'nin DM'lü hastalarda kardiyovasküler hastalığın artmış prevalansına katkıda bulunmadığını bildiren yayınlar da mevcuttur. Bununla birlikte *Buyyschaert ve ark.*[20] Tip 2 diyabet'li hastaların % 31'inin Hcy düzeylerinin 15 mmol/L'den fazla olduğunu rapor etmiştir. Ayrıca diyabet süresi ve diyabetin iyi kontrol edilip edilmemesinin Hcy düzeyleriyle ilişkisi tam olarak aydınlatılamamıştır.

Bu çalışmada yukarıdaki bilgiler ışığında plazma Hcy düzeyleri ile Tip 2 diyabet, komplikasyonları, süresi ve kontrolü arasındaki ilişkinin araştırılması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Homosistein

Hcy, metiyonin metabolizmasında ara metabolit olarak oluşan bir amino asittir. İlk defa *de Vigneaud* tarafından 1932 yılında tanımlanmıştır.[30,31] Son zamanlarda genel popülasyonda yapılan epidemiyolojik çalışmalar, yükselmiş dolaşım Hcy düzeyleri ile prematür koroner, serebral ve periferal ateroskleroz, venöz tromboembolizm ve nöral tüp defektleri arasındaki ilişkiyi göstermiştir.[1-4] Kardiyovasküler hastalıklıların yaklaşık % 50'sine hipertansiyon, yüksek kolesterol düzeyleri, sigara veya obezite gibi risk faktörleri eşlik eder. İlave bir risk faktörü olarak da Hcy bildirilmiştir. Hcy düzeylerindeki sadece 5 µmol/L'lik bir artışın koroner kalp hastalığı ve serebral vasküler olay riskini %60-80 oranında artırdığı belirtilmektedir.[7]

Hcy'in tiyol grubunun pK_a'sı 8.9'dur. Bu yüzden fizyolojik pH'da kolaylıkla disülfürlere yükseltgenir.[4] Dolaşımdaki Hcy şu şekillerde bulunabilir: 1) Redükte Hcy şeklinde bulunabilir, 2) Proteinlerle birleşebilir, 3) Kendi kendiyle birleşerek Hcy'in üriner formu olarak bilinen homosistini oluşturur, 4) Mix disülfürleri oluşturmak için sistein gibi diğer maddelerle birleşebilir (Tablo 1).

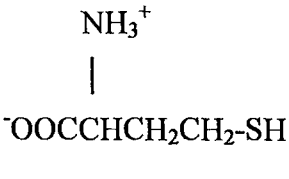
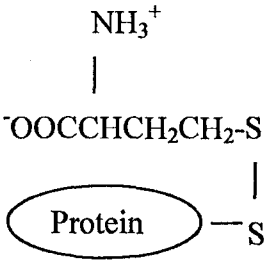
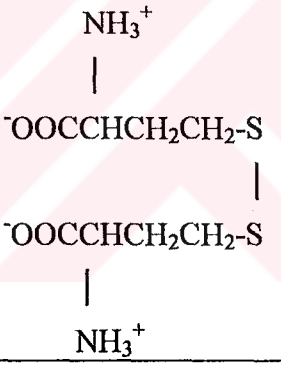
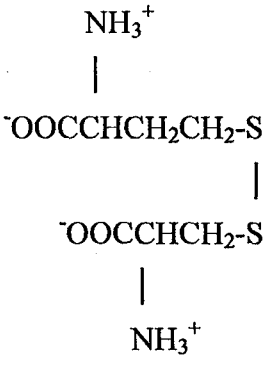
Bununla birlikte redükte Hcy, Hcy-Hcy disülfür (homosistin) ve sistein-Hcy mix disülfür dolaşımdaki serbest Hcy formları olarak bilinir. Bu serbest Hcy formlarından Homosistin ve sistein-Hcy mix disülfür yaygın olarak 'Okside Hcy Eşdeğerleri' olarak bilinirler. Hcy'in bu okside formları vücudun total Hcy havuzunun %10-20'sini oluşturur. Küçük bir oran da (%1) redükte kısım olarak bilinir.

Dolaşımdaki geriye kalan %80-90 Hcy, serbest bir sülfhidril kalıntısı olarak albümine bağlıdır. Bu formların toplamı (serbest ve proteine bağlı) total homosistein (tHcy) olarak bilinir.

Fizyolojik durumlarda proteine bağlı olmayan ve böbrek tarafından filtre edilen Hcy reabsorbe edilerek oksidatif olarak katabolize edilir. Bu şekilde hemen hemen bütün Hcy, ya metiyonine remetile edilir ya da karbondioksit ve sülfata katabolize edilir. Böylece Hcy'in bu formlarının hiçbiri idrarda ölçülebilecek kadar olmaz.

YÖK YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ

Tablo 1 Plazma Hcy Formları ve Miktarları[32]

İndirgenmiş (Redükte) **1.Homosistein**		%1
Yükseltgenmiş (Okside) **2.Proteine bağlı Homosistein**		%80-90
3.Homosistin		%5-10
4.Sistein- Homosistein mix disülfür		%5-10

2.1.1. Homosistein Metabolizması

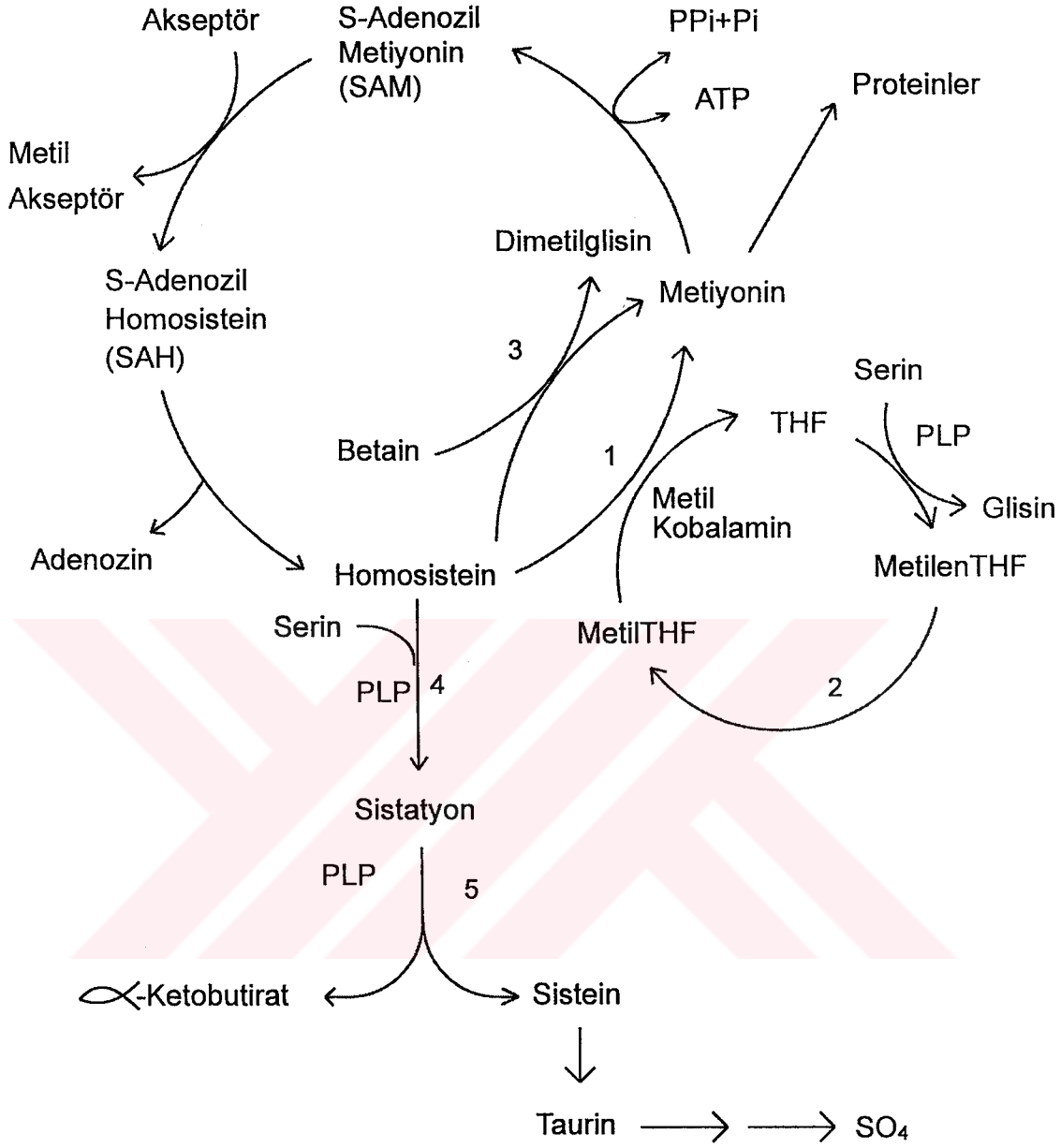
Hcy proteinlerin yapısına girmez. Ancak önemli ara ürünlere kaynaklık edişi yönüyle oldukça değerlidir. Şekil 1'de Hcy metabolizması şematik olarak gösterilmektedir. Remetilasyon ve transsülfürasyon Hcy metabolizmasının iki temel yoludur.

Diyetle alınan metiyonin sürekli olarak S-Adenozil metiyonin (SAM) üzerinden Hcy'e dönüştürülür. SAM ise metil grubu uzaklaştırılarak S-Adenozil homosistein (SAH)'e dönüştürülür. SAH daha sonra Adenozin ve Hcy'e hidroliz olur. Metiyonin esansiyel bir amino asit olmasına rağmen vücutta Hcy'in remetilasyonundan da elde edilir. Bu reaksiyon metiltetrahidrofolat homosistein metiltransferaz (metiyonin sentaz) tarafından katalize edilir ve metiltetrahidrofolat redüktaz (MTHFR) enzimi tarafından üretilen 5-Metiltetrahidrofolat (5MTHF)'a ihtiyaç duyar. B_{12} vitamininin bir formu olan metilkobalamin de kofaktör olarak görev yapar. Böylece Hcy metabolizmasından folat ve B_{12} metabolizmasına bağlantı oluşturulur.[1-4,33] İlave bir minör remetilasyon reaksiyonu da karaciğerde ve nadiren böbrekte betain-homosistein metiltransferaz tarafından katalize edilir. Betain-homosistein metiltransferazın aktivitesi için vitaminler kofaktör olarak kullanılmamaktadır.

Hcy'in büyük kısmı remetile edilmez ve piridoksal 5 fosfat (B_6 vitamini) bağlı ve Hcy metabolizmasında hız kısıtlayıcı noktada bulunan ve yaşla azalan bir enzim olan sistatyon β sentaz (CBS) vasıtasıyla serin ile sistatyona katabolize edilir.[34] Sistatyon da gamma-sistatyonaz ile sistein ve alfa-keto bütirata metabolize edilir. B_6 vitamini gamma-sistatyonazın da kofaktörüdür. Hcy'i sisteine dönüştüren bu yol transsülfürasyon yolu olarak bilinir.

Aşırı metiyonin mevcudiyetinde transsülfürasyon, CBS'ın aktive edilmesi ve remetilasyonun inhibe edilmesi ile aktive olur. Böylece metiyoninden sülfür ve karbonun net akışı sisteine yönelir. Böyle olunca da sülfat ve karbondioksite oksidatif olarak katabolize edilmiş olur.[2] Metiyoninin eksik olduğu durumlarda ise remetilasyon yolu tercih edilir.[1,2]

Hcy, hücre içinde redükte formda bulunmaktadır. Yüksek intrasellüler Hcy konsantrasyonları, SAM'e bağlı transmetilasyon reaksiyonlarını inhibe eden SAH düzeyini artıracağı için, Hcy hücrede çok dar bir aralıkta ayarlanmaktadır.[35]

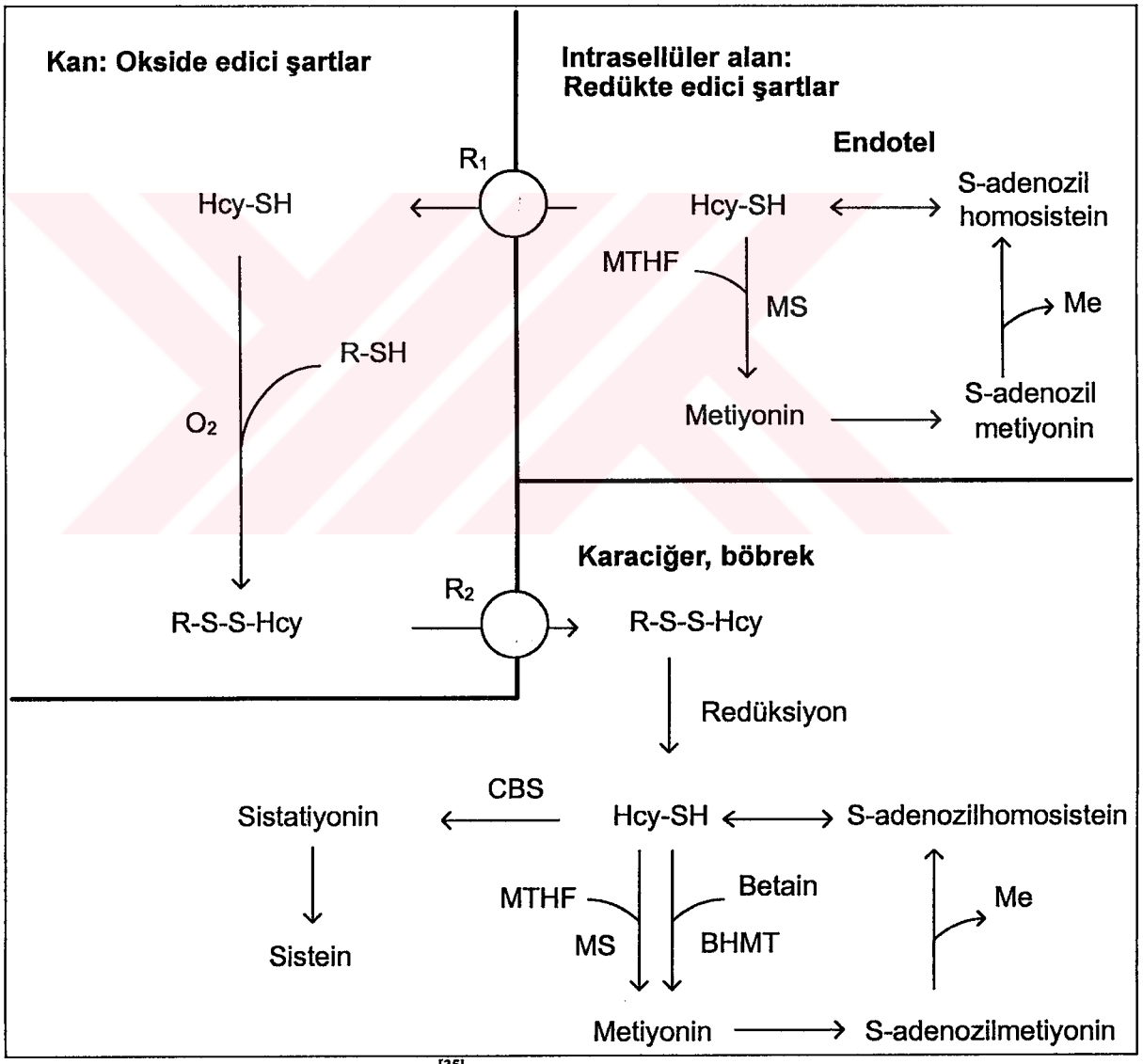


Şekil 1 Homosistein Metabolizması[1]

PLP: Pridoksal Fosfat (B_6 Vitamini), **THF**: Tetrahidrofolat, **Enzimler**; **1**: Metiltetrahidrofolat homosistein metiltransferaz (Metiyonin Sentaz), **2:** Metiltetrahidrofolat Redüktaz, **3**: Betain Homosistein Metiltransferaz, **4**: Sistatyon β Sentaz, **5**: Gamma Sistatyonaz

Aşırı Hcy konsantrasyonları proteinlere bağlanarak elimine edilmezse, redükte Hcy taşıyıcıları (R_1) olarak adlandırılan taşıyıcılar vasıtasıyla endotelden kana taşınır (Şekil 2). Yüksek oksijen mevcudiyetinde ise Hcy okside formlarına dönüşür.

Plazmada bulunan okside Hcy, redükte Hcy taşıyıcıları vasıtasıyla direkt olarak endotel ya da kan hücrelerine taşınamaz (Şekil 2). Böylece aşırı Hcy'in hücreden uzaklaştırılması kolaylaştırılmış olur ve hücre düşük Hcy seviyelerine sahip olmuş olur. Daha sonra, okside Hcy taşıyıcılarıyla (R_2) karaciğer ve böbreğe taşınır. Karaciğer ve böbrekte ise redükte forma geçerek ya remetilasyon veya transsülfürasyon yoluna girer.[35]



Şekil 2 Hcy'in Taşınması ve oksidasyonu[35]

R1: Redükte Hcy Taşıyıcısı, R2: Okside Hcy Taşıyıcısı, R-SH: Tiyol içeren bir bileşik, Hcy-SH: Homosistein MTHF: metiltetrahidrofolat Me: metil grubu CBS: Sistatyon beta sentaz BHMT: betain-homosistein metil transferaz, MS: metiyonin sentaz

2.1.2. Hiperhomosisteinemi

Açlık plazma tHcy konsantrasyonunun 15 μmol/L'den yüksek olmasına hiperhomosisteinemi (HH) denir.[3,36] HH dereceleri Tablo 2'de verilmiştir. Normal açlık plazma Hcy konsantrasyonu 5-15 μmol/L'dir. Sağlıklı bireylerdeki orta derecede HH'nin folik asitle tedavisi, plazma Hcy konsantrasyonlarını kabul edilebilir bir aralığa döndürecek ve kardiyovasküler hastalığın gelişimini yavaşlatacak gibi görünmektedir. Ancak, bu tedavi yükselmiş plazma Hcy'inin sebep olduğu vasküler hasarı iyileştirememektedir.

Tablo 2 Hiperhomosisteinemi dereceleri[3]

Hafif Derecede Hiperhomosisteinemi	15-30 μmol/L
Orta Derecede Hiperhomosisteinemi	30-100 μmol/L
Ağır Derecede Hiperhomosisteinemi	100-500 μmol/L

1969 yılında *McCully*, ilk olarak aterosklerotik damar hastalığı ile yüksek plazma Hcy düzeyi arasında bir ilişki olduğunu göstermiştir. *McCully*, homosistinürisi olan ve plazma Hcy konsantrasyonu yüksek iki çocukta yaptığı otopside geniş arteriyel tromboz ve ateroskleroz belirtileri olduğunu rapor etmiştir. Bu gözlemler ışığında *McCully*, artmış plazma Hcy'inin aterosklerotik vasküler hastalığın sebebi olabileceğini ileri sürmüştür.[1,32,36]

2.1.3. HİPERHOMOSİSTEİNEMİNİN PATOFİZYOLOJİK MEKANİZMALARI

Homosisteinin vasküler hastalıktaki biyokimyasal rolü açıkça anlaşılamamıştır. Yüksek Hcy düzeylerindeki mümkün reaksiyonlar olarak endotelyal toksisite, kan plateletlerinin artmış adhezyonu, pıhtılaşma faktörlerindeki değişiklikler ve reaktif oksijen türleri oluşumu ileri sürülmüştür.[1,2,9,32]

2.1.3.1. Reaktif Oksijen Türleri ve Lipid Peroksidasyonu

Hcy plazmaya geçerse okside olur. Sülfhidril grubunun oksidasyonu sırasında, süperoksid radikal anyonları ve hidrojen peroksid üretilir ve bu da endotel hasarına yol açar.[37] Bu radikaller endotel hücrelerinin yüzeyinde, plazmadaki lipoprotein partiküllerinin içindeki gibi lipid peroksidasyonunu başlatabilir.

Hcy, ayrıca vasküler hücrelerin biyokimyasal ve biyosentetik fonksiyonlarını etkileyerek vasküler matrikse de direkt olarak zarar verir. Hcy oksidasyonunun oldukca reaktif bir ürünü olan homosistein tiyolaktonun, intimal makrofajlar tarafından alınan agregatları oluşturmak üzere düşük dansiteli lipoproteinle ve olgunlaşmamış ateromatoz plak içinde köpük hücreleriyle birleştiği yapılan çalışmalarda belirtilmektedir.[37]

2.1.3.2. Endotel fonksiyon Bozukluğu

Hcy'in arterlerin yüzeyindeki endotel hücre hasarına yol açtığı ve endotel hücre fonksiyonlarını bozduğu düşünülmektedir. Endotel; vasküler ton ve permeabiliteyi, koagülasyon ve fibrinoliz arasındaki dengeyi, subendotelial matriksin içeriğini, lokositlerin extravazasyonunu ve vasküler düz kas hücrelerinin proliferasyonunu regüle eder.[39]

Orta derecede diyet-bağımlı HH'li bir hayvan modelinde, aortun dilatasyonu, arterlerin genişlemiş reaktif hiperemisi ve hipertansiyon ile karekterize olan, hiperpulsatil arterli 'Mega arter Sendromu' geliştiği gösterilmiştir. Onların arteriyel ağaçlarında, düz kas hücrelerinin hipertrofisi yanı sıra, majör elastik lamina dislokasyonları da gözlenmiştir. HH'a bağlı vasküler değişiklikler, elastik bileşenin hasarlanmasına yol açar. Böylece yükselmiş Hcy'in vasküler düz kas hücre proliferasyonunu kolaylaştırabileceği ve elastik bileşeni hasarlandırabileceği gösterilmiştir.[40]

Bellamy ve ark.[41] oral metiyonin yüklemesi öncesi ve sonrası sağlıklı insanlarda endotel fonksiyonunu değerlendirmişler ve 100 mg/kg metiyonin yüklenmesinden sonra plazma tHcy düzeyi 7,9 μmol/L olan bazal değerden 23,1 μmol/L (4 saat sonra) 'ye yükselmiştir. Bunun, benzer hiperemik kan akımına rağmen (67 ml/dak – 78 ml/dak) akım bağımlı *brachial* arter dilatasyonunu 0,12 mm'den 0,06 mm'ye azalttığını belirtmişlerdir.

Normalde akım arttıkça arterde dilatasyon olur. Ancak HH bu dilatasyon artışını engellemektedir. Bu değişmiş vazodilatasyon (kasılma değil) kan basıncını artırabilir ve endotel hücrelerinde fiziksel hasara yol açabilir.

De Jong ve ark.[39] hafif HH'li genç vasküler hastalarda yaptıkları çalışmada akım ilişkili *brachial* arter vazodilatasyonun metiyonin yüklemesi sonrası plazma Hcy düzeylerindeki artış ile ters ilişkili olduğunu vurgulamaktadırlar. Fakat bu vazodilatasyonun açlık Hcy düzeyleriyle ilişkili olmadığını da belirtmektedirler. Bu

durum, aşırı Hcy'i metebolize etme kabiliyetinde bir azalmayı veya yükselmiş metiyonin ile tetiklenen remetilasyon / transsülfürasyon ile ilgili problemleri gösterir.

Akım ilişkili *brachial* arter dilatasyonu, endotel bağımlı vazodilatasyonu yansıtır. Bu dilatasyon, nitrik oxid sentaz (NOS) inhibitörleri vasıtasıyla genişce bloke edilebilmiştir. Böylece bu dilatasyonun nitrik oxid (NO) aktivitesine bağlı olabileceği akla gelmektedir. Yukarıdaki gözlemlerden hareketle, endotel bağımlı vazodilatasyondaki bozukluk, NO'in etkisi ve/veya azalmış bir üretim yüzünden olabileceği bildirilmiştir[39]. Yapılan başka bir çalışmada HH'ik hayvan ve insanların yeterli miktarda NO üretemeyen endotele sahip oldukları belirtilmektedir. Hcy'in NOS'ı inhibe ederek ve böylece NO düzeyini azaltarak endotel bağımlı vazodilatasyonu engellediğinin tahmin edildiği de yine aynı çalışmada rapor edilmiştir.[42]

Normal endotel hücrelerinin NO üreterek Hcy'i detoksifiye ettikleri yapılan çalışmalarda gösterilmiştir. NO, oksijen varlığında S-nitrozo-homosistein oluşturmak üzere Hcy ile birleşir. Hcy'in sülfhidril gruplarının nitrazasyonu, sülfhidril-bağımlı hidrojen peroksit oluşumunu inhibe etmektedir. S-nitrozo-homosistein aynı zamanda güçlü bir trombosit inhibitörü ve vazodilatördür.[43]

Özetleyecek olursak Hcy endotel fonksiyonunu bozmaktadır. Bunu da muhtemelen NOS'ı inhibe ederek, dolayısıyla NO düzeyini azaltarak yapmaktadır. Böylece S-nitrozo-homosistein oluşumu azalacak, Hcy detoksifiye edilmeyecek ve toksik etkilerini gösterecektir.

2.1.3.3. Pıhtılaşma faktörlerindeki değişiklikler

HH'ik bireylerin kan damarları artmış platelet-mediated vazokonstriksiyonu sergiler ve endotelium bağımlı vazodilatasyon bozulmuştur.[42]

Yükselmiş Hcy düzeyleri, trombomodülinin aktivitesinin azalması vasıtasıyla protein C aktivasyonunu azaltmaktadır ve endotel tarafından heparan sülfatın ekspresyonunun baskılanmasına yol açmaktadır. Tüm bu etkiler trombin oluşumunu kolaylaştırmakta ve protrombotik bir çevre oluşturmaktadır.[44]

Ayrıca Hcy'in endotel hücrelerinde doku faktörünün aktivitesini artırdığı, doku plazminojen aktivatörünün reseptörüne (annexin II) bağlanmasını azalttığı ve endotel hücrelerinde koagülasyon faktör V'in aktivitesini artırdığı gösterilmiştir. Azalmış annexin II bağlanması, düz kas hücre proliferasyonunu başlatan trombinin üretimini kolaylaştırabilir.[45]

Harpel ve ark.[46] Hcy'in, lipoprotein (a)'nın fibrine affinitesini artırdığını bulmuşlardır. Lipoprotein (a) yapısal olarak plazminojene homologdur ve fibrin içeren moleküller ve hücrelerin bağlanma bölgeleri için plazminojenle yarışmak suretiyle fibrinolizle etkileşebilir. Bu gözlemler yükselmiş Hcy'in bir prokoagulatuvar durumu içermesi suretiyle aterojenik olabileceğini göstermiştir.

2.1.3.4. Trombosit adezyon anormallikleri

Harker ve ark.[47] Hcy bağımlı endotel hasarına subendotelyal matriksin maruz kaldığı ve bu durumun ileride trombosit aktivasyonuna yol açtığını belirtmektedirler. *Lentz ve ark.*[42] primatlarda yaptıkları diyet bağımlı HH'in in vivo olarak vazomotor regülasyonu bozulmasına ve in vitro olarak endotel antitrombotik fonksiyon bozulmasına yol açtığını yaptıkları çalışmalarda göstermişlerdir.

2.1.4. HOMOSİSTEİN DÜZEYLERİNİ ETKİLEYEN DURUMLAR

2.1.4.1. Genetik

Homosistinüri, otozomal resesif geçişli ve idrarda homosistin'in anormal mevcudiyeti ile karakterize, 50 000-100 000 doğumda bir görülen nadir biyokimyasal bozuklukların bir sınıfıdır.[3]

Homosistinüri; vasküler endotelyal hasarlanma, vasküler düz kas hücre proliferasyonu, progressif arteriyel stenosis ve hemostatik değişiklikleri içeren bir protrombotik durumla karakterizedir. 30 yaş civarında erken ölüm görülür. Bu değişiklikler in vitro olarak hücrelerin veya dokuların artmış Hcy'e maruz kalması ile de oluşturulabilir.

Hcy'in yükselmiş düzeyleri, bu hastalığın pıhtılaşma ile akciğer ve beyin damarlarının tıkanması şeklindeki tromboembolik fenomenlerine neden olduğu ve vasküler endotele toksik etkili olduğu gösterilmiştir. Sistein üretiminde bozukluk, konnektif doku, özellikle kollagen metabolizmasında bu esansiyel amino asitin eksikliği ile sonuçlanır. Böylece bu hastalarda Marfan sendromunda görüldüğü gibi bir çok oküler ve iskelet bozuklukları olur. Bu hastalarda ayrıca az veya orta dereceli zihinsel gerilik görülür.

Homosistinüri önemli iki enzim olan sistatyon β sentaz (CBS) veya metiyonin sentaz enzimlerinden birinin homozigot eksikliğinden kaynaklanır. Klasik homosistinüri sistatyon β sentazın homozigot eksikliği olarak bilinir ve bu bozukluğun en sık

sebebidir. Bu hastalarda plazma Hcy düzeyleri 50 μmol/L'nin üzerindedir. (Normalde üst sınır 15 μmol/L'dir) ve yüksek metiyonin konsantrasyonları ile beraberdir.[3,33] Bu etiyolojili HH'li hastaların bir kısmı B_6 vitamini destek tedavisine cevap verir. Böylece Hcy seviyeleri düşürülür ve prematür oklüziv hastalık riski azaltılır. Ancak bu hastalar folik asit tedavisine cevap vermez.

CBS'ın enzimatik aktivitesi B_6 vitamininin kofaktörlüğü ile olur. Enzim aktivitesinin tam yokluğunda, B_6 vitamini kullanımı herhangi bir rezidüal enzim aktivitesini artırmayacaktır. CBS enzimi eksikliği, Hcy'in plazma ve idrar düzeylerinin yükselmesiyle sonuçlanır. Hcy'in plazma düzeylerindeki artış, sıklıkla metiyonine dönüşümüne yol açar. Böylece yenidoğan döneminde plazma metiyonin seviyeleri bakılarak homosistinüri için tarama yapabiliriz.

CBS geninde 33'den fazla farklı mutasyon tanımlanmıştır. CBS heterozigot mutasyonları genel popülasyonun % 0.5-1.5 'inde görülür ve plazma Hcy'inin orta derecede yükselmesiyle birlikte olabilir. Sağlıklı yetişkinlerdeki oklüziv vasküler hastalığın gelişimi ile bu genotipler arasındaki ilişkinin anlamlılığı henüz açıklığa kavuşmamıştır.

Ayrıca, metiyonin sentaz kompleksinin ağır homozigot eksikliği de tanımlanmıştır. Bu nadir genotip, homosistinürinin bir tipine yol açar ki bu tip CBS eksikliğinden, dolaşımdaki artmış Hcy düzeylerinin yanında, metiyoninin düzeylerinin azalmış olması ile ayırt edilebilir.

2.1.4.2. Fizyolojik

2.1.4.2.1. Cinsiyet, Östrojen, Gebelik

Dolaşımdaki Hcy konsantrasyonları erkeklerde, premenepozal kadınlardan yaklaşık % 25 daha yüksektir. Bu farklılık menepozdan sonra azalır, ama ortadan kalkmaz. Hormon replasman tedavisi serum Hcy düzeylerini azaltabilir. Postmenapozal kadınlarda Hcy ve östradiol düzeyleri arasında güçlü bir negatif korelasyon vardır. Gebelikte plazma Hcy konsantrasyonu yaklaşık %30-50 azalır ve doğumdan 2-4 gün sonra normale döner. Gebelikte total homosisteinin progressif olarak azalması, bağlı fraksiyon için esas gerekli olan dolaşımdaki albüminin fizyolojik azalmasının bir fonksiyonu olduğu düşünülmektedir.[33]

2.1.4.2.2. Yaşam Biçimi

Diyet Hcy düzeylerinde önemli rol oynar. Hcy'in serum düzeyleri direkt olarak metiyonin ve vitamin alımıyla ilişkilidir. Genellikle hayvansal proteinlerden zengin diyet, bitkisel proteinlerden zengin diyetten daha fazla metiyonine sahiptir. İlaveten taze meyve ve sebzelerin yüksek miktarlarda alımı ve vitamin suplementasyonu azalmış Hcy düzeyleri ile ilişkilidir.[33]

Lipid durumunun Hcy düzeyleri ile zayıfça bir ilişkisi vardır. Hcy ile lipoproteinlerin reaksiyonlarının in vitro çalışmalarında, prospektif hiçbir çalışmada anlamlı klinik etkileşimleri tanımlanmamıştır. Ancak normolipidemik kişilerde Hcy'i etkileyen beslenme faktörleri, hiperlipidemik kişilerde de benzerdir.

Sigara, ileri yaş ve sedanter yaşam biçimi, artmış Hcy düzeyleri ile ilişkilidir. Özellikle ileri yaş, azalmış CBS aktivitesiyle ilişkilidir. Alkol alımının etkisi ise tam olarak açık değildir.[33]

Sağlıklı populasyonda plazma Hcy konsantrasyonları ile hipertansiyon arasında pozitif bir ilişki olduğu belirtilmiştir.[3]

2.1.4.3. Patolojik

2.1.4.3.1. Vitamin Eksikliği

Sağlıklı popülasyonda Hcy, vitamin suplementasyonu almayan bireylerde daha yüksektir. Özellikle yaşlılarda, Hcy düzeyleri serum B_{12} düzeyi ile negatif güçlü bir ilişki gösterir. Yaşlı popülasyonda klinik olarak sessiz B_{12} eksikliği yüksek bir sıklıktadır. Son yıllarda, Hcy'in folat veya B_{12} eksikliğinde, serum folat, RBC folat, serum B_{12} gibi vitamin konsantrasyonları veya polimorf nüveli lokositlerde hipersegmentasyon, MCV > 100fL, makrositoz gibi standart hematolojik göstergelerden daha sensitif bir gösterge olduğu gösterilmiştir. Vitamin B_{12} eksikliği folat eksikliğinden, yükselmiş bir plazma metil malonik asit mevcudiyeti vasıtasıyla ayrılabilir. Artmış Hcy (B_{12} ve folat eksikliği için) ve artmış metil malonik asitin (B_{12} eksikliği için) klinik olarak yararlı belirteçler olduğu konusunda çoğu araştırıcı aynı fikirdedir. Yükselmiş Hcy'in derecesi, vitamin eksikliğinin derecesine bağlıdır. Birçok çalışma, semptomatik ve sağlıklı popülasyonda vitamin destek tedavisine metabolik bir cevabı göstermiştir.[33]

2.1.4.3.2. Böbrek Yetmezliği

Hcy, serum kreatinini ve glomerular filtrasyon hızı ile kuvvetli ilişkilidir. Üremide Hcy-sülfhidril yükselmeyebilir. Fakat protein bağlı kısmı genelde yükselir. Renal yetmezlikli popülasyonda yapılan çalışmalar, hemodiyaliz hastalarında vasküler hastalığın gelişiminde Hcy'in bağımsız bir rol oynadığını göstermiştir. Bununla birlikte böbrek yetmezliğinde Hcy birikiminin mekanizması tam olarak açık değildir.[33]

Folat eksikliği bulguları olmayan üremili hastalarda folat destek tedavisi HH'nin derecesini azaltır, ama normale döndürmez. Daha zayıf bir etki, B_6 vitamini destek tedavisiyle rapor edilmiştir. Hcy düzeylerini normal düzeye düşürmek için yüksek doz vitamin destek tedavisinin yetersiz kalması, hemodiyalize giren hastaların plazmalarında son zamanlarda tanımlanmış folat konjugaz inhibitörleri ile ilişkili olabileceği rapor edilmiştir.

Renal hastalarda HH'nin başka bir olası sebebi de, böbreğin Hcy katabolizmasında fizyolojik bir role sahip olmasıdır. Normal renal fonksiyonlu kişilerde protein bağlı Hcy'in hemen hemen tümü vasküler alanda kalır ve filtre edilmiş Hcy proksimal tübül vasıtasıyla geri alınır. Hayvansal deneyler, bu filtre edilen Hcy'in katabolizması için sağlam böbreğin cevap verebilir düzeyde olduğunu göstermiştir. Hcy, spesifik klirens çalışmalarıyla tanımlanmış hafif ve orta derecede azalmış glomerular fonksiyonlu, fakat normal serum kreatininli kişilerde normal düzeyde olabilir. Bununla birlikte hiperhomosisteinemi, peritoneal diyaliz veya hemodiyaliz vasıtasıyla, renal yetmezlikten dolayı tam olarak düzeltilemez. Serum kreatininin azaltılmasına rağmen, Hcy düzeylerini düzeltmekteki başarısızlık, böbrek katabolizmasının da bozulduğunu yansıtabilir.[33]

2.1.4.3.3. Transplantasyon

Böbrek, akciğer, karaciğer ve kalp transplantasyonu yapılan kişilerde ortalama Hcy düzeyleri sürekli olarak yükselmiştir.[2,3] Azalmış renal fonksiyonun, azalmış folat düzeyleri gibi önemli bir rol oynadığı görülür. Ayrıca bu grupların Hcy düzeyleri, transplantasyon sonrası kullanılan ilaçlarla, özellikle siklosporin dozu ile ve kortikosteroidlerin kümülatif dozu ile ilişkilidir.

2.1.4.3.4. İlaç Alımı

Bazı ilaçlar Hcy metabolizmasını etkileyebilir. Özellikle sulfosalazinle kombine olarak metotreksat ve diğer folik asit antagonistleri, metiyonin sentaz inhibitörü olan anestetik bir gaz olan nitröz oksid, diüretikler, antiepileptik ilaçlar, lipid düşürücü ilaçlar,

L-dopa, kolestiramin ve niasin Hcy düzeylerini artırır. Penisilamin ve asetilsistein gibi aminotiyoller plazma Hcy konsantrasyonunu azaltır.[33]

2.1.4.4. Hiperhomosisteinemi İle İlişkili Hastalık Durumları

2.1.4.4.1. Oklüziv Vasküler Hastalık

Homosisitinüride fazla yükselmiş Hcy düzeyleri ile ilişkili aterosklerotik hastalık iyi tanınmıştır. Hafif veya orta dereceli hiperhomosisteineminin rolünden yıllardır şüphelenilmiştir. Bununla birlikte 1992 yılına kadar bir risk faktörü olarak hiperhomosisteinemiyi ima eden raporlar, retrospektif incelemelere veya küçük bölgesel vaka kontrol çalışmalarına dayandırılmakta idi. 1992'de *'Physicians Healt Study'* nın prospektif bir alt çalışması, koroner arter hastalığının gelişiminde yükselmiş Hcy düzeylerinin bağımsız bir risk faktörü olduğunu göstermiştir.[1]

Hiperhomosisteinemi ile ilişkili vasküler hastalığın çarpıcı yönü, özellikle pozitif aile hikayesi olanlarda erken başlangıçlı ve ağır hastalık ile ilişkili olmasıdır.

2.1.4.4.2. Nöral Tüp Defektleri

Nöral tüp defektleri, normal gelişim sırasında embriyonik nöral tüpün bozukluğundan kaynaklanan spina bifida, anensefali, ve diğer daha az yaygın konjenital malformasyonları içerir. İzole bir nöral tüp defektinin olması, diğer aile üyelerinde tekrarlama olasılığını artırır. Fakat tek gen bozukluğu riskini artırmaz. Genetik predispozisyon ve çevresel risk arasındaki ilişki, hala yoğun çalışma konusudur. Retrospektif çalışmalar, folat eksikliği ile birlikte artmış bir riski göstermiştir. Yüksek riskte ve seçilmemiş hamile bayan gruplarında yapılan çalışmalar, folat destek tedavisinin istatiksel olarak anlamlı koruyucu etkisini göstermiştir. Epidemiyolojik çalışmalarda koruyucu etkiyi sağlamak minimum dozda folat kullanmakla elde edilemeyebilir. Fakat 0,4 mg/gün dozun asemptomatik erişkinlerde yapılmış bir çok incelemede orta düzeyde hiperhomosisteinemiyi düzeltmek için gerekli doz olduğu kabul edilmiştir.

2.1.4.4.3. Diğer Nedenler

Ağır psoriasis, hipotroidi, pernisiyöz anemi, meme, over ve pankreas kanserleri, akut lenfobalastik lösemi, intestinal hastalıklar, kronik inflamatuar hastalıklar, Alzheimer hastalığı v.s. gibi hastalıklarda da Hcy düzeylerinin arttığı bildirilmiştir.[33,36]

2.2. DİYABETES MELLİTUS

Diyabetes Mellitus, mutlak veya fonksiyonel insülin yetersizliği sonucu ortaya çıkan, karbonhidrat metabolizması başta olmak üzere yağ ve protein metabolizmasında da bozuklukla seyreden bir endokrin ve metabolizma hastalığıdır.[14] Hastalığın ilerlemesiyle retinopati, renal yetmezlik, nöropati ve ateroskleroz gibi spesifik komplikasyonların gelişmesi riski artar.[12,16,48] Ayrıca kronik son dönem böbrek yetmezliği, 20-74 yaş arası ortaya çıkan körlük ve nontravmatik amputasyonların en sık nedeninin de diyabet olduğu vurgulanmaktadır.[49]

2.2.1. Sınıflama

Dünya Sağlık Örgütü (WHO) glukoz metabolizmasındaki bozukluğu üç ana gruba ayırarak sınıflandırmıştır: Diyabetes mellitus, bozulmuş glukoz toleransı ve gestasyonel diyabetes mellitus (Tablo 3). Ancak günümüzde daha çok kabul görmüş sınıflama etyolojiyi temel alan Amerikan Diyabet Cemiyeti (*ADA*)'nin 1995'de yaptığı sınıflamadır (Tablo 4). Bu yeni sınıflandırmada Romen rakamları I ve II yerine 1 ve 2 kullanılmakta ve hastalığın başlangıç yaşı sınıflandırma için bir kriter olarak kabul edilmemektedir. Eskiden sıklıkla kullanılan insüline bağımlı diyabet, insüline bağımlı olmayan diyabet, juvenil başlangıçlı diyabet ve erişkin başlangıçlı diyabet terimleri artık kullanılmamaktadır.[49]

2.2.1.1. Tip 1 Diyabet

Tüm diyabetlilerin %5-10'unu oluşturur.[48] Pankreastan insülin salgılanmasında bir eksiklik vardır. Pankreas β hücrelerinde otoimmun hasarın oluşumu için belli bir periyoda ihtiyaç olmasına rağmen, hastalığın semptomlarının ortaya çıkışı ani olmaktadır.[50] Diğer adacık hücreleri (α, δ) korunmuştur. Tip 1 diyabetin semptomlarının ortaya çıkması için β hücre fonksiyonunun %80-90 oranında azalması gerekmektedir.[49]

Hastalık ortaya çıktığı anda genellikle adacık antikorları mevcuttur. Tip 1 diyabet kalıtımla doğrudan geçmemektedir. HLA DR_3 ve DR_4 ile ilgili genetik faktörler adacık hücrelerine karşı sitotoksik aktiviteyle ilişkilidir. Çevresel faktörlerin, özellikle de bazı viral ajanların (Rubella, Kabakulak ve Koksaki B gibi) yatkın bireylerde etyolojik rol oynadığı belirlenmiştir.

Tablo 3 Dünya Sağlık Örgütüne (*WHO*) göre DM'ün sınıflandırılması[49]

1. KLİNİK SINIFLAMA

A. Diyabetes Mellitus

a. İnsüline bağımlı DM (IDDM) Tip -1 DM

b. İnsüline bağımsız DM (NIDDM) Tip -2 DM

- ✓ Obez
- ✓ Nonobez

c. Beslenme yetersizliğine bağlı DM

d. Sekonder DM

- ✓ Pankreas Hastalıklan
- ✓ Kontrinsüliner sistem hastalıkları
- ✓ İlaç ve kimyasal maddelerle oluşan DM
- ✓ İnsülin ve IR defekti
- ✓ Bazı genetik sendromlar

B. Diğer nedenler

a. Glukoz tolerans bozukluğu

- ✓ Nonobez
- ✓ Obez
- ✓ Belirli sendromlara eşlik eden

b. Gestasyonel DM

2. İSTATİKSEL RİSK TAŞIYANLAR

A. Daha Önce Glukoz Tolerans Bozukluğu Olanlar

B. Glukoz Tolerans Bozukluğu Riski Taşıyanlar

Tablo 4 Amerikan Diyabet Cemiyeti (*ADA*)'ne göre DM'un sınıflandırılması [51,52]

1. Tip 1 DM
   - ✓ Otoimmun
   - ✓ İdiyopatik
2. Tip 2 DM
   - ✓ Obez
   - ✓ Non-obez
3. Diğer spesifik DM tipleri
4. Gestasyonel diyabetes mellitus

Hastalar non-obez ve genellikle 30 yaşın altındadır. Hastalık 10-14 yaşlarında pik yapar. Belirgin kilo kaybı görülür. İnsülin azlığı söz konusu olduğu için ketoz sıktır. Tedavi için mutlaka insülin gereklidir.

2.2.1.2. Tip 2 Diyabet

Tüm diyabet vakalarının %80-90'ını oluşturur. Tip 2 DM/ Tip1 DM oranı yaklaşık olarak 10/1 şeklindedir. Tip 2 DM genellikle erişkinlerde görülür. Hastalığın belirgin hale gelmesinde en önemli faktörlerden biri şişmanlıktır.[16,53] Şişman Tip 2 diyabetlilerde kilo kaybı tek başına hiperglisemiyi genellikle düzeltebilmektedir. İnsülinden bağımsız diyabetes mellitusun uzun süreli asemptomatik periodu dolayısı ile hastaların önemli bir bölümü geç teşhis edilir. Asemptomatik period sonrasında Tip 2 diyabet, klasik diyabet semptomatolojisi (polidipsi, poliüri, polifaji, pruritus, kilo kaybı) ile başlar. Ancak, uzun asemptomatik period süresince gelişen retinopati, nefropati, nöropati, aterosklerotik kalp hastalığı gibi komplikasyonlar hastalığın başlangıcı ile beraber gözlenebilir. Hastalık insülin rezistansı, rölatif insülin eksikliği ile ortaya çıkmaktadır. İnsülin direncini kompanse etmek için pankreas yeterli insülin salgılayamaz. Serum insülin konsantrasyonları azalmış, normal, hatta artmış olabilir. Çoğu hastada ideal regülasyonu sağlamak için insülin gerekli olmasına rağmen, bu hastalarda hayatı sürdürmek veya ketozi önlemek için insülin tedavisine gerek yoktur.[49]

Tip 2 DM'lu hastaların çoğunda aile hikayesi mevcuttur. Tip 2 DM'lu hastaların çocuklarının 1/3'ünde, kardeşlerinin %38'inde DM veya glukoz intöleransı bulunur. Tip 2 DM'lu hastaların %80'i obezdir. Şişmanlık insülin duyarlılığını azaltır. Bu yüzden vücut ağırlığı arttıkça diyabet gelişim riski de artar. Santral obezitesi olanlarda Tip 2 diyabet daha sıktır. Santral obezite de toplanan visseral yağ, periferal yağdan daha etkilidir ve yağ asitleri serbestleşir. Serbest yağ asitleri kaslarda glukoz alımını inhibe ederek ve karaciğerde glukoneogenezi uyararak insülin rezistansına yol açarlar.

Tip 2 diyabet ve fiziksel aktivite arasında ters bir ilişki bulunmaktadır. Günlük enerji harcamasının 500 kkal artması ile Tip 2 diyabet riski %6 azalmaktadır. Bu etki kişinin kilosu ve genetik yatkınlıktan bağımsızdır. Çünkü fiziksel aktivite kas ve yağ dokusunda insüline duyarlılığı artırmaktadır.[49]

2.2.2. DİYABETİN KOMPLİKASYONLARI

Diyabetin komplikasyonları akut ve kronik komplikasyonlar olarak ikiye ayrılmaktadır. Akut komplikasyonlar diyabetik ketoasidoz, nonketotik hiperosmolar koma, laktik asidoz koması ve hiperglisemi komasıdır. Kronik komplikasyonlar ise

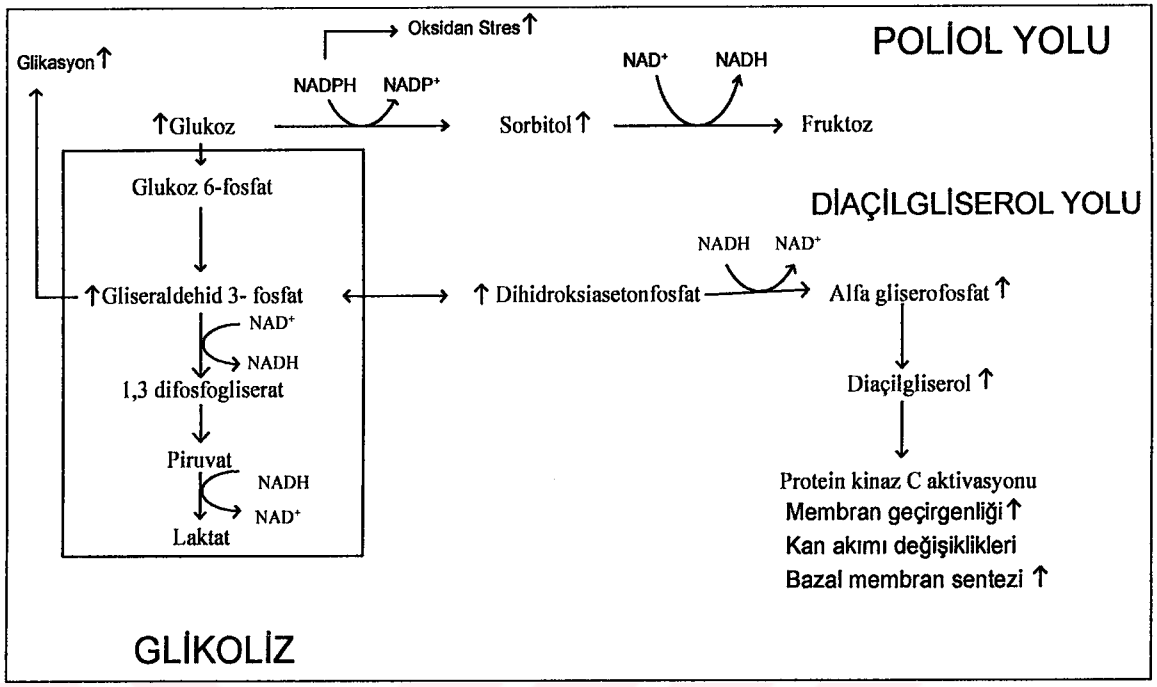
makrovasküler ve mikrovasküler komplikasyonlar olarak incelenir. Diyabetik nefropati, diyabetik retinopati ve diyabetik nöropati mikrovasküler hastalık sonucu oluşurken, büyük damarların aterosklerozunun hızlanması sonucu makrovasküler hastalık meydana gelir. Makrovasküler hastalık diyabette mortalitenin en önemli sebebidir.

2.2.2.1. DM'ün kronik komplikasyonlarının patogenezindeki mekanizmalar

Diyabetin kronik komplikasyonlarının patogenezinde etkili olan faktörler arasında intrasellüler sinyal transdüksiyonunda değişiklik, aldoz redüktaz aktivitesinde artış, Na^+-K^+ ATP'az aktivitesinde azalma, TxA_2 ve endotelin gibi vazokonstriktörlerde artış, PGI_2 ve NO gibi vazodilatatörlerde azalma, reaktif oksijen türleri ve serbest radikallerin oluşumunda artma ve proteinlerin glikasyonundaki artış gibi pek çok faktör vardır.[13,49]

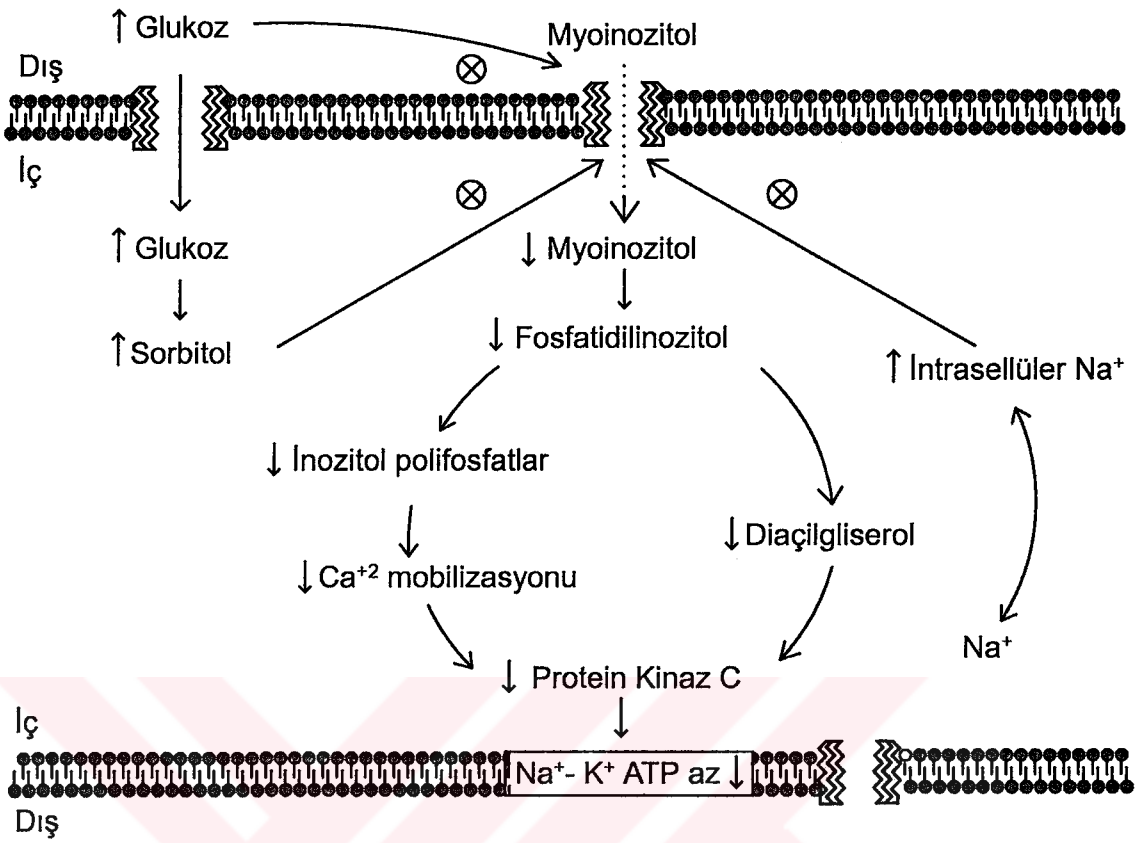
Diyabetin kronik komplikasyonlarının ortaya çıkmasında uzun süreli hiperglisemi ve insülin direncinin rolü ile ilişkili çok sayıda mekanizma ileri sürülmüştür. Bunlar; ileri glikasyon son ürünleri (*AGE*) hipotezi, aldoz redüktaz (poliol yolu) hipotezi, oksidatif stres hipotezi, psödohipoksi hipotezi, gerçek hipoksi hipotezi, değişmiş lipoprotein metabolizması ile ilişkili hipotez, artmış protein kinaz C hipotezi gibi hipotezlerdir. Bu hipotezlerin her biri temel ortak bir mekanizmanın farklı yansımaları olabileceği gibi, çeşitli dokuların farklı mekanizmalara duyarlılık göstermelerinden kaynaklanabilmektedir. Bir çoğu birbiri ile yakın ilişkili olan bu mekanizmalar bazen örtüşmektedir. *AGE* oluşumunun yol açtığı oksidatif stres, glikooksidasyonla *AGE* oluşumunu hızlandırmaktadır. Oksidatif stresi artıran ve *AGE* oluşumunu hızlandıran poliol yolu aktivasyonu damar duvarında doku protein kinaz C aktivasyonuna neden olmakta ve retina, lens, glomerul ile sinir dokusunda miyoinozitol düzeyinde ve protein kinaz C aktivitesinde azalmaya yol açmaktadır[49] (Şekil 3).

Anormal poliol yolu hipotezine göre glukoz girişi için insüline ihtiyaç duymayan ve aldoz redüktaz enzimi içeren lens, periferik sinirler, böbrek glomerulleri gibi dokularda hiperglisemi sonucu hücre içi glukoz ve dolayısıyla sorbitol konsantrasyonu artar. Aşırı su tutucu özellikte olan sorbitolün bu dokularda birikmesi hücre ödemi ve hasarına neden olur.[54] Hiperglisemide poliol yolunun aktivasyonuyla NADH/NAD^+ oranı artmakta ve bu da enzimatik olmayan glikasyonu ve diaçilgliserol sentezini artırmaktadır. Diaçilgliserolün artışı da protein kinaz C aktivasyonuna yol açarak diyabetteki damar patolojilerine neden olmaktadır (Şekil 3).



Şekil 3 Poliol ve diaçilgliserol yollarının birbirleriyle ilişkisi[49]

Myoinositol yapısal olarak glukoza benzemekte ve bu yapısal benzerlik nedeni ile çeşitli hücrelerde glukoz miyoinositol taşıyıcılarıyla yarışmaya girerek hücrelere miyoinositol girişini engellemektedir. Bu yüzden hiperglisemi durumlarında hücre içi miyoinositol düzeyi azalır. Hücre içi miyoinositol düzeyinin azalması fosfotidilinositol miktarının azalmasına, o da protein kinaz C aktivitesi azalmasına ve sonuçta Na^+-K^+ ATP'az aktivitesinin azalmasına neden olur (Şekil 4). Bu mekanizma daha çok diyabetteki sinir ileti fonksiyonunun bozulmasını açıklamada ileri sürülmektedir. Azalmış Na^+-K^+ ATP'az aktivitesinin yol açtığı intrasellüler Na^+ birikimi, özellikle çabuk iletim hızının azalmasına ve lokal ödeme yol açmaktadır.[49,54]



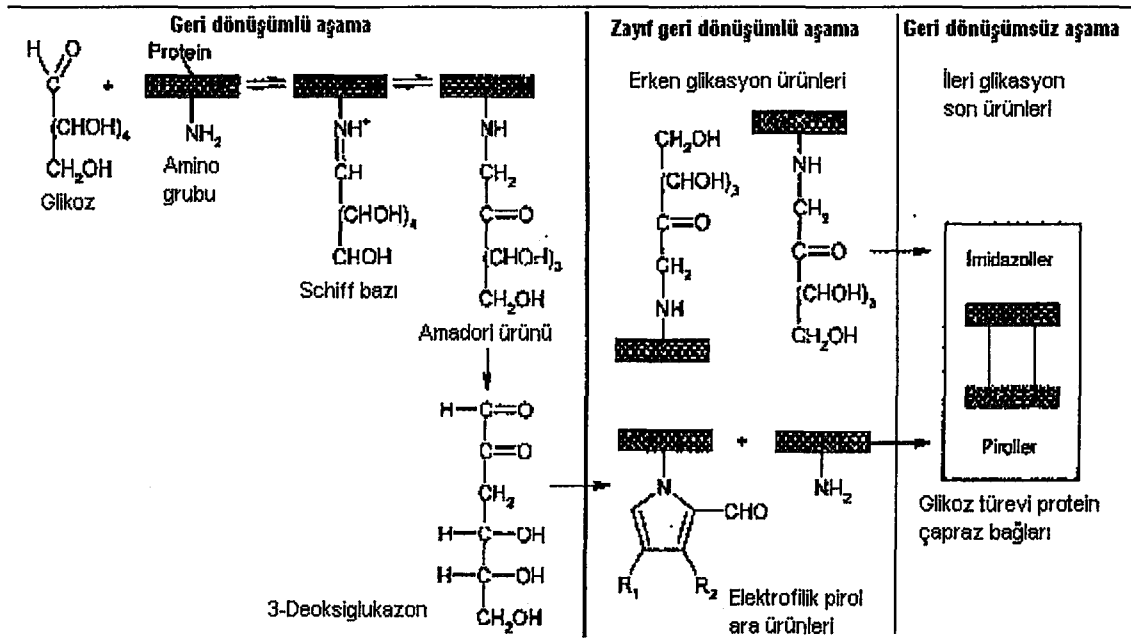
Şekil 4 Hiperglisemide intrasellüler miyoinositol azalması[49]

Oksidatif stres hipotezinde reaktif oksijen türleri (ROS) ve serbest radikallerin oluşum hızı ile antioksidan savunma kapasitesi arasındaki dengesizlik diyabetin kronik komplikasyonlarına neden olmaktadır. Bir başka deyişle hiperglisemi oksidatif strese yol açmaktadır. Lipid hidroperoksidler, konjuge dienler, tiyobarbitürik asit reaktif maddeler (TBARS) ve isoprostanlar gibi oksidatif stres göstergelerinin düzeylerinin arttığı diyabetli hastalarda E ve C vitaminleri, glutatyon, SOD, katalaz, glutatyon peroksidaz gibi antioksidan parametrelerin miktarının azalması diyabetin kronik komplikasyonlarının patogenezinde oksidatif stresin önemli bir rolü olabileceğini göstermektedir.[12,49]

Diyabetteki vasküler komplikasyonlarda görülen endotel fonksiyon bozukluklarından endoteldeki nitrik oksid üretiminin azalması sorumlu tutulmaktadır. Bu azalmaya da ileti aksaması, substrat L-arginin yetmezliği veya nitrik oksid sentazın kofaktörlerindeki azalma neden olabilir. Ancak diyabetteki azalmış endotel bağımlı vazodilatasyona NO üretiminin azalması mı, yoksa oksidatif stresin mi neden olduğu tartışmalıdır.

Diyabetin kronik komplikasyonlarının mekanizması ile ilgili bir diğer hipotez de *AGE* hipotezidir. Oligosakkarit zincirlerin enzimatik olarak proteinlere glukozidik bağ ile bağlandığı glukozilasyon glikoprotein sentezi sırasında oluşan posttranslasyonel modifikasyondur. Bazal membran proteinleri, α_2 makroglobulin, bazı hücre membran reseptörleri, HLA antijenleri, immunglobulinler ve bazı hormonlar bu şekilde sentezlenen önemli glikoproteinlerdir.[49,54]

Hiperglisemi durumlarında glukozun hücre içine alınmasının insülinden bağımsız olduğu eritrosit, beyin, böbrek, lens ve periferik sinirler gibi dokularda intrasellüler konsantrasyonu artan glukoz, proteinlere non-enzimatik bir tepkime sonucu bağlanmaktadır. Proteinlerin terminal aminoasidindeki α-amino grubuna veya lizinin ε-amino grubuna glukozun bağlanması ile labil Schiff bazı oluşur. Yaşam süresi kısa olan proteinlerle daha dayanıklı ve geri dönüşümlü Amadori ürünleri oluşmaktadır. Bu şekilde oluşan erken glikasyon ürünleri tedavi sonucu glukozun normale dönmesiyle azalmaktadır. Yarı ömrü uzun olan proteinlerde ise geri dönüşümsüz olarak imidazol veya pirol yapısındaki ileri glikasyon son ürünleri (*AGE*) oluşmaktadır (Şekil 5). Hipergliseminin şiddetine ve süresine, proteinlerin yarı ömrüne, dokuların glukoza olan geçirgenliğine ve proteinlerdeki serbest amino gruplarının sayısına bağlı olan protein glikasyonu yarı ömrü kısa (albumin, hemoglobin) ve uzun (kollagen, elastin, myelin, tubulin) olan tüm proteinlerde gerçekleşmektedir. Dayanıklı doku proteinlerine bağlanmayan bu glikasyon ürünlerinin en tipik örneği hemoglobine bağlı glukoz (HbA_{1C}) ve fruktozamindir.[49, 54-56]



Şekil 5 Kronik hiperglisemide *AGE* oluşumu[49]

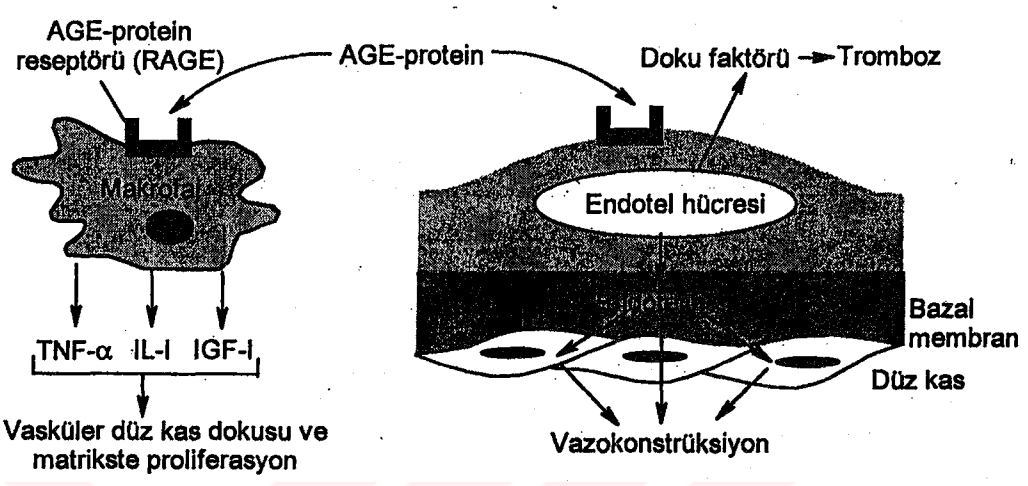
Proteinlerin yapı, işlev ve metabolizmasını etkileyen protein glikasyonunu serbest radikallerin oluşumu ve glikooksidasyon izlemektedir. Glukoz kaynaklı amadori ürünlerinden glikooksidasyonla uzun ömürlü proteinlerdeki amino gruplarını geri dönüşümsüz olarak çapraz bağlayabilen *AGE* bileşikleri oluşmaktadır. Böylece non-enzimatik glikasyonun artışı sonucu ortaya çıkan *AGE* bileşikleri diyabetin kronik komplikasyonlarının ortaya çıkmasında önemli rol oynamaktadır.

Proteinlerin büyüklüğünü, şeklini, elektriksel yüklerini, viskozitesini, çözünürlüğünü değiştiren glikasyon, ısı ve enzimlere dayanıklılığı ve membran reseptörüne bağlanmayı etkilemektedir.

AGE bileşikleri monosit, makrofaj ve damar duvarı endotel hücrelerinde bulunan reseptörleri (*RAGE*) aracılığı ile hücresel etkilerini göstermektedir (Şekil 6). *RAGE*'ye bağlanan *AGE* bileşikleri vasküler tonüs artışı ve vazokonstriksiyona, makrofajlardan sitokin salınımına, hücre proliferasyonuna, matriks sentezi artışına ve bazal membran kalınlaşmasına, adezyon moleküllerinin translasyonuna, koagülasyona eğilimin artmasına, lipoprotein, nükleik asit, histon ve enzimlerin yapı ve işlevlerinde bozukluğa bağlı aterojenik ve mutajenik etkilere yol açmaktadır.[49]

AGE-hücre etkileşimi adezyon moleküllerinin ekspresyonunda artışa yol açmaktadır. *AGE* bileşikleri lipoproteinlerin apoproteinlerini (A1, A2, B, C ve E) değiştirmektedirler. Reseptörlere bağlanan *AGE*-LDL kompleksinin yıkımı azalmakta ve

AGE-HDL kolesterol transportu yavaşlamaktadır. Nükleik asitlerde kırılma, delesyon, insersiyon artışına bağlı mutasyon sıklığı ve gen ekspresyonu değişimi görülmektedir. Ayrıca SOD ve katalaz gibi antioksidan enzimler glikasyonla inaktive olmaktadır.



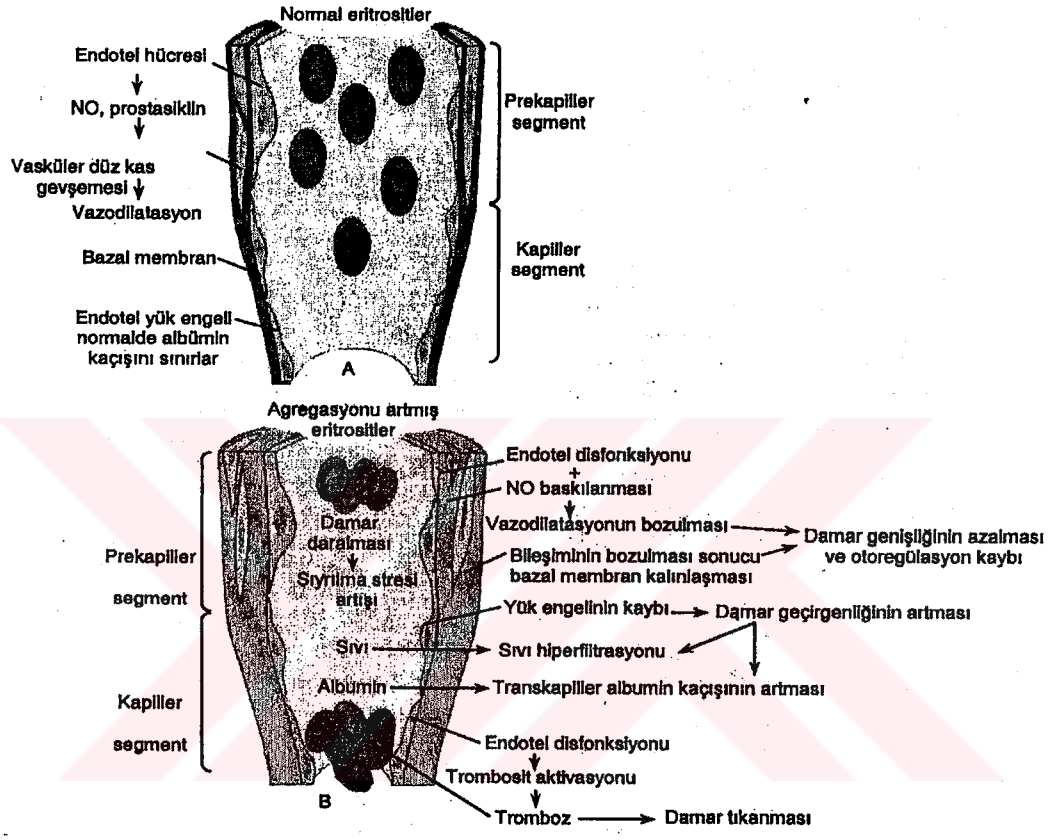
Şekil 6 ***AGE*** **bileşiklerinin** ***RAGE*** **aracılığıyla hücresel etkileri**[49]

Diyabette koagülasyona eğilimi artıran *AGE* bileşikleri koagulan/antikoagulan dengesini koagulanlar lehine bozmaktadır.[49]

T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON

2.2.2.1. Diyabetin Mikrovasküler Hastalığı

Şekil 7 de diyabetik mikrovasküler hastalığın patogenezinde yer alan olası mekanizmalar görülmektedir.



Şekil 7 Diyabetin mikrovasküler komplikasyonların muhtemel mekanizmaları[49]

Diyabetin mikrovasküler komplikasyonları hastalığın seyri sırasında görülen en ciddi sorunlardandır. Mikrovasküler tutulum yaygın olmasına rağmen sadece retina, böbrek glomerülleri ve büyük damarlar önemli patolojik bozukluk gösterir. Mikrovasküler komplikasyonlar hastalığın süresi ve hipergliseminin derecesiyle yakından ilişkilidir. Halbuki makrovasküler komplikasyonlarla hiperglisemi arasında ilişki olmadığı bildirilmiştir.[57] Yapılan bir çalışmada da HbA_{1C} düzeyindeki %1'lik bir azalma mikrovasküler komplikasyon riskindeki %37, diyabetten ölüm riskinde %21 ve myokard infarktüsü riskinde ise %14 azalmayla ilişkili olduğu belirtilmektedir

2.2.2.1.1. Diyabetik Nefropati

Diyabetik nefropati pek çok ülkede son dönem böbrek yetmezliğinin önemli bir nedenidir. Amerika Birleşik Devletleri'nde diyabetik nefropatinin son dönem böbrek yetmezliği nedenleri arasındaki payı %40 civarındadır. Diyabetik nefropatide genetik faktörlerin etkisi de önemlidir. Diyabetik nefropati gelişimi ırklar arasında farklılık gösterir. Siyahlarda son dönem böbrek yetmezliğine ulaşma hızı beyazlara göre 2.6-3.9 kat daha fazladır.

Diyabetik nefropatinin patogenezi tam olarak aydınlatılabilmiş değildir. Muhtemelen genetik, hemodinamik ve metabolik faktörlerle birlikte büyüme (*growth*) faktörleriyle ilgili değişiklikler yer alır.

Steno hipotezi olarak bilinen hipoteze göre glomerüler bazal membranda, negatif yük kaybı nedeniyle makromoleküller tutulamamakta ve dolayısıyla bunların glomerüler filtrasyonu artmaktadır. Glomerüler bazal membrana negatif yük veren yapı heparan-sülfat proteoglikandır.[53]

Diyabetik nefropatinin patogenezinde rol oynayan önemli faktörlerden biride ileri glukozillenme ürünleridir. Uzun ömürlü yapısal proteinlerden tip 4 kollajen glomerüler bazal membranın yapısal unsurlarından biridir. İleri glukozillenme ürünleri ekstrasellüler matrikste zamanla kalitatif ve kantitatif değişikliklere neden olurlar. Tip 4 kollajenin ileri glukozillenme ürün formasyonu, molekülün normal ağ işlevinin bozulmasıyla sonuçlanır.

2.2.2.1.2. Diyabetik Retinopati

Diyabet erişkinlerde körlüğe yol açan bir sebep olmasına rağmen, hasta bireylerde körlük riski düşüktür ve muhtemelen %10'dan azdır. Diyabetik retinopati esas olarak uzun süreli hiperglisemi sonrası gelişen bir retinal mikrovasküler hastalık olup uzun dönem organ bozukluklarından birisidir.[59,60] Basit ve proliferatif retinopati olmak üzere iki tipi vardır. Diyabetik retinopatinin tanısı gözdibi muayenesi ile yapılır. Bununla birlikte mikrostrüktürel veya yapısal değişiklikler makroskopik fundus anormallikleri tespit edilmeden önce meydana gelir.

2.2.2.1.3. Diyabetik Nöropati

Nöropati diyabetin en sık görülen komplikasyonlarından biri olup ayakları, bacakları, kolları, elleri, gözleri, kalbi, mideyi ve sindirim sistemini etkilemektedir. Nöropati diyabetli hastaların yarısından fazlasında vardır ve hastalığın süresi uzadıkça gelişme olasılığı artar. Nöropatinin kesin sebebi bilinmemekle birlikte, damar

değişikliklerine bağlı olarak vücudumuzdaki organlara yeterli düzeyde oksijen gitmemesi, nöropatiyi artıran bir etken olarak gösterilmektedir. Genel olarak glukozillenmiş hemoglobin (HbA_{1C}) değerinin yüksek seyretmesi ve sinirlerde şekerin (sorbitol) birikmesinin nöropati gelişmesinde etken olabileceği düşünülmektedir. Diyabetik nöropati periferik, motor veya otonom nöropati şeklinde olabilir.

2.2.2.2. Diyabetin Makrovasküler Hastalığı

Diyabetik hastalarda periferal ateroskleroz diyabet olmayanlardakine benzer şekilde bulunur. Ancak daha erken yaşta başlar, daha hızlı ilerler ve daha yaygındır. Diyabetik hastalarda bacak ve ayak amputasyonları 5 kez daha sıktır.[60] Hiperglisemi diyabetli kişilerde mikrovasküler komplikasyonların majör sebebi olduğu kabul edilmesine rağmen, makrovasküler hastalık metabolik bozukluklardan bağımsızdı.[19,57] Diyabetin makrovasküler hastalığında pek çok faktör rol oynar. Lipid metabolizması bozuklukları, hemostatik faktörler, damar endoteli ve düz kaslarda gelişen anomaliler gibi faktörler sorumludur.[54]

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmaya 30'u diyabetik komplikasyonlu, 31'i de komplikasyonsuz olmak üzere Tip 2 diyabetli 61 hasta, ve bu hastalarla yaş ve cinsiyet uyumlu 30 sağlıklı birey olmak üzere toplam 91 kişi dahil edildi. Böylece tüm olgular diyabetik komplikasyonlu, diyabetik komplikasyonsuz ve sağlıklı kontrol grubu olmak üzere 3 gruba ayrıldı.

Komplikasyonlu grubun 14'ü kadın ve 16'sı erkekti. Yaş ortalaması 58.1±9.7 ve ortalama diyabet süresi 16.1±4.8 yıldı. Bu grupta sadece 3 kişi sigara kullanıyordu. Bu grubun %33'ünde hipertansiyon teşhis edildi. Bu gruptaki 2 birey sadece insülin kullanıyor ve kalan 28 birey ise sülfanilüre grubu bir oral antidiyabetik alıyordu. Sülfanilüre alanlar içinde de 13 hasta ilave olarak insülin, 2 hasta da biguanid grubu bir ilaç kullanıyordu. Komplikasyonlu diyabetikler içinde 9'u nefropatili, 7'si retinopatili, 7'si nöropatili ve 7'si de makrovasküler komplikasyonlu idi.

ADA diyabetik hastalarda mikroalbuminurinin görüntülenmesi için 3 metod önermektedir.[51,52] Bunlar;

1. Spot idrarda albumin/kreatinin oranının ölçülmesi
2. 24 saatlik idrar toplayarak kreatinin klirensinin ölçülmesi
3. Gecelik veya 4 saatlik idrar toplayarak albumin tayini

Bu çalışmada idrar mikroalbümin/kreatinin oranı >300mg/gr kreatinin olan kişiler nefropatili olarak değerlendirildi[51,52]. Diğer komplikasyonlar ise uzmanlar tarafından değerlendirilerek tanıları konuldu.

Komplikasyonsuz grubun 16'sı kadın ve 15'i erkekti. Yaş ortalaması 51.3±10.8 ve ortalama diyabet süresi 8.1±5.3 dı. Bu grubunda %32'sinde hipertansiyon teşhis edildi. İki kişi sigara içiyordu. Bu grupta da 1 kişi sadece insülin kullanıyor, kalan 30 kişi ise sülfanilüre grubu bir oral antidiyabetik alıyordu. Sülfanilüre alanlar içinde 3 hasta ilave olarak insülin kullanıyordu. Bu grupta biguanid grubu ilaç kullanan yoktu.

Kontrol grubunda 15 kadın ve 15 erkek vardı. Yaş ortalaması ise 53.3±8.4 idi.

Hasta ve kontrol gruplarında hiç kimse alkol kullanmıyordu. B vitaminleri, folik asit, östrojen preparatı ve homosistein düzeyini etkileyebilecek başka ilaç kullanan kişiler, gebe olanlar, Tip 2 diyabet haricinde başka kronik hastalığı olanlar ve vitamin eksikliği teşhis edilenler çalışma dışı bırakıldı.

Bu çalışma için Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu'nun 11.01.2002 tarih ve 29 No'lu toplantısı ile onay alındı.

3.1. Kan Örneklerinin Alınması

Hastalar önce çalışma hakkında bilgilendirilip onayları alınarak ertesi sabah için aç gelmeleri (saat 20.00 den sonra hiçbir şey yememeleri) söylendi. Ertesi sabah saat 8.00 de 6 ml kan alındı. Kan *K_3EDTA*'lı iki tüpe 2'şer ml ve antikoagulansız *vacutainer* tüpe 2 ml olmak üzere 3 ayrı tüpe paylaştırıldı. *K_3EDTA*'lı tüplerden birisinden HbA_{1C} çalışıldı. Diğer *K_3EDTA*'lı tüp ve *vacutainer* tüp ise yarım saat içerisinde 2500 x *g'* de 5 dakika santrifüj edildi. Hemolizli numuneler çalışma dışı bırakıldı. Hemolizsiz numunelerin plazma ve serumları ayrılarak *eppendorf* tüplere aktarıldı. Bütün kan numuneleri ise etiketli olarak analizler yapılıncaya kadar -80 °C' de saklandı. *ADA*'nın mikroalbuminuri tespitinde önerdiği 3 metoddan en pratiği olan spot idrarda albumin/kreatinin oranlarına bakmak için sabah ilk idrar numunelerinden mikroalbumin ve kreatinin bakılarak albumin/kreatinin oranları hesaplandı.

3.2. Kullanılan Alet ve Cihazlar

Bu çalışmada aşağıda belirtilen alet ve cihazlar kullanılmıştır.

PH metre	*İnolab*
Su banyosu	*Kotterman*
Derin dondurucu	*Sanyo*
Mikropipet	*Fischer*
Santrifüj	*Harrier 15/80 MSE-SANYO*
Mikrosantrifüj	*MSE Micro Centaur-SANYO*
Hassas terazi	Metler Ha 51 Galenlcomp
Karıştırıcı	*Vortex-Genie Model K-SS-GE, Sci, Ind, Inc*
***HPLC* cihazı**	*Hewlett Packard 1100*
Homosistein tayin kiti	*Chromsystems*
Vitamin B_6 kiti	*Chromsystems*

3.3. Analiz

3.3.1. Plazma Homosistein Analizi

Plazma homosistein düzeyi *HPLC* yöntemiyle tayin edildi. Bunun için, 1.5 ml'lik plastik *eppendorf* tüplerine 100 µl plazma, 25 µl internal standart ve 25 µl indirgeyici reaktiften koyuldu. Hafif bir şekilde karıştırılarak 5 dakika oda sıcaklığında inkübe edildi. Daha sonra 100 µl çöktürücü reaktif ilave edildi ve 30 saniye karıştırıldı. 9000 x *g' de* 7 dakika santrifüj edildi. Her bir numunenin süpernatantından 50 µl başka bir *eppendorf* tüpe alınarak üzerine derivatizasyon reaktifinden 100 µl ilave edildi. 10 dakika 55 °C' de bekletildi. Su banyosundan çıkarılarak numune kaplarına aktarıldı. *HPLC* cihazı otomatik olarak 20 µl süpernatant alacak şekilde programlandı. Her bir numunenin analizi 6 dakikada tamamlandı. Sonuçlar µmol/L olarak verildi. Şekil 8'de hasta grubuna ait Hcy kromatogram örneği görülmektedir.

3.3.2. Plazma B_6 Vitamini Analizi

1.5 ml plastik *eppendorf* tüplerine 100 µl plazma, 100 µl presipitant ve 25 µl derivatizasyon reaktifi kondu. 30 saniye karıştırıldıktan sonra 20 dakika oda sıcaklığında inkübe edildi. Daha sonra 25 µl stabilizasyon reaktifinden ilave edildi, karıştırıldı. 9000 x *g' de* 10 dakika santrifüj edilerek süpernatant kısmı viallere aktarıldı. *HPLC* cihazı otomatik olarak 50 µl süpernatant alacak şeklinde programlandı. Bir nümünenin analizi 12 dakikada tamamlandı. Sonuçlar µg/L olarak verildi. Şekil 9'da hasta grubuna ait B_6 vitamini kromatogram örneği görülmektedir.

3.3.3. Gün içi (Intraassay) ve Günler arası (Interassay) Tekrarlanabilirlik Çalışmaları

Homosistein ve B_6 vitamini için gün içi tekrarlanabilirlik çalışmaları ile ilgili olarak ard arda 10 kez çalışıldı (Tablo 5).

Günler arası tekrarlanabilirlik için ise farklı gün veya aynı günde farklı oturumlarda olmak üzere her bir parametre 10 kez çalışıldı.

$$\%CV = \frac{\text{SD (Standart Sapma)}}{\overline{X}\text{ (Ortalama)}} \times 100$$ formülünden %CV hesaplandı (Tablo 5).

Tablo 5 Plazma homosistein ve piridoksal fosfat seviyelerinin değişim katsayıları (%CV)

	Gün içi (intra-assay)			Günler arası (interassay)		
	Mean	**SD**	**%CV**	**Mean**	**SD**	**%CV**
Homosistein	17.1	0.3	1.8	17.2	0.5	2.9
Piridoksal fosfat	13.7	0.3	2.2	13.9	0.6	4.3

3.3.4. Kromatografik Koşullar

***HPLC* cihazı**: *Hewlett Packard 1100*

Homosistein ve B_6 vitamini tayini için *Chromsystems* kiti kullanıldı.

Homosistein için;

Basınç: 100 ± 10 bar

Kolon sıcaklık: 25 °C

Pompa akış hızı: 1.7 ml/dakika

Kolon: *Chromsystems* (Order No: 45001)

Saptama: Floresans dedektörle 385 nm eksitasyon ve 515 nm emisyon dalga boylarında yapıldı.

B_6 vitamini için;

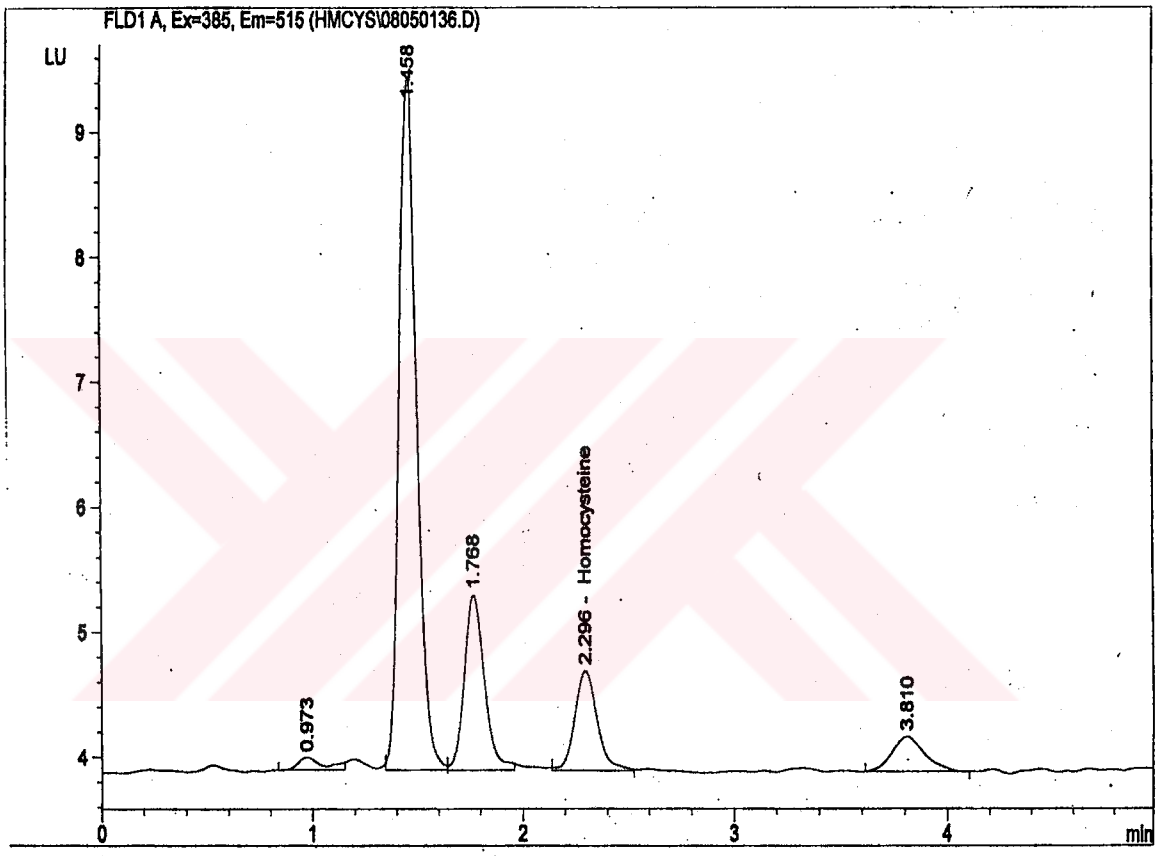
Basınç: 78 ± 10 bar

Kolon sıcaklık: 25 °C

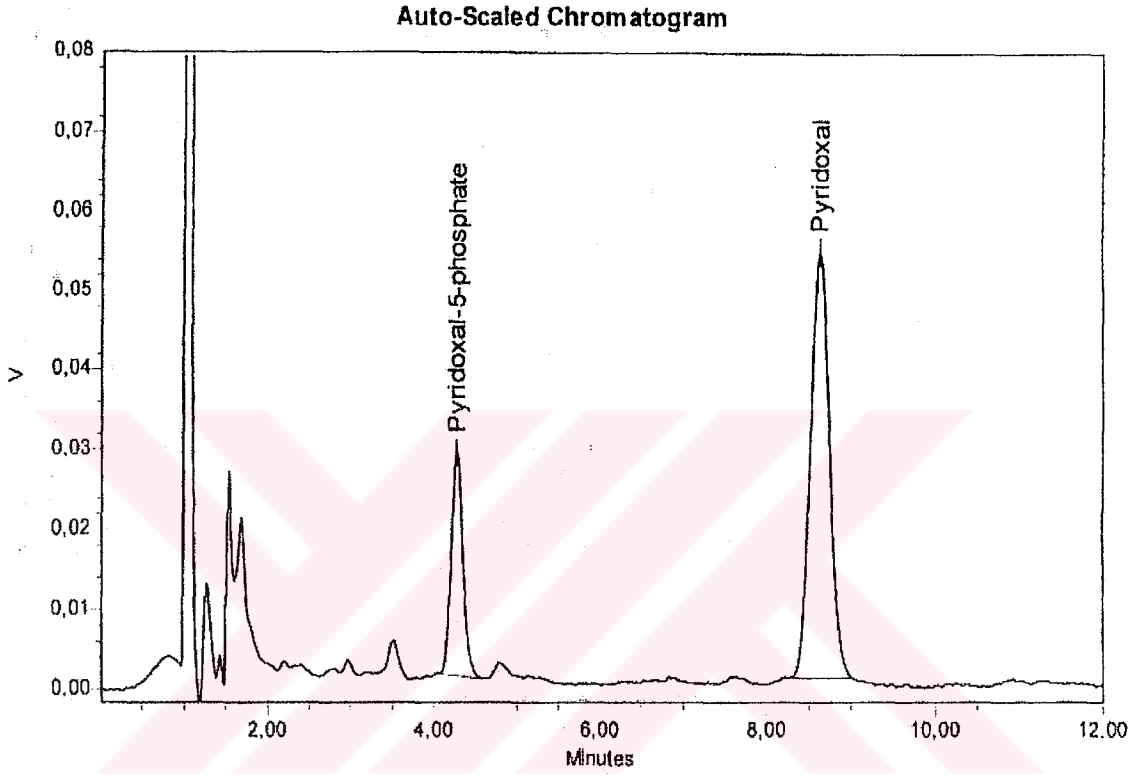
Pompa akış hızı: 1.3 ml/dakika

Kolon: *Chromsystems* (Order No: 16001)

Saptama: Floresans dedektörle 370 nm eksitasyon ve 470 nm emisyon dalga boylarında yapıldı.



Şekil 8 Hcy kromatogram örneği



Şekil 9 B_6 Vitamini (Pridoksal 5-fosfat ve Pridoksal) kromatogram örneği

3.3.5. Plazma MDA düzeyi ölçümü

Lipid peroksidasyon belirteçleri arasında en sık kullanılan malondialdehid (MDA)'dır. Bu çalışmada tiyobarbütirik asid (TBA) metodu kullanıldı.[61] Bu metoda göre yağ asidi peroksidasyonunun bir son ürünü olan MDA, TBA ile reaksiyona girerek 532 nm'de maksimum absorbans veren renkli bir bileşik oluşturur.

3.3.5.1. Kullanılan Çözeltiler

Fosfat Tamponu: 8.1 gr NaCl, 2.302 gr Na_2HPO_4 ve 0.194 gr NaH_2PO_4 tartılıp bir miktar distile suda çözülür ve son hacim 1 litreye tamamlanır, pH 7.4'e ayarlanır.

BHT çözeltisi (%0.88): 88 mg BHT tartılıp 10 ml saf etanol içinde çözülür.

TCA çözeltisi (%30): 30 gr TCA tartılıp bir miktar distile suda çözülüp, son hacmi 100 ml'ye tamamlanır.

EDTA çözeltisi (0.1 M): 37.224 gr EDTA-Na_2H_2O tartılıp bir miktar distile suda çözülüp, son hacmi litreye tamamlanır.

TBA çözeltisi (%1'lik): 1 gr TBA tartılıp, 100 ml 0.05 N NaOH içinde çözülür.

NaOH çözeltisi (0.05N) 2 gr NaOH tartılıp bir miktar distile suda çözülür ve son hacim litreye tamamlanır.

3.3.5.2. Deneyin Yapılışı

0.2 ml numune üzerine 0.8 ml (pH 7.4) fosfat tamponu, 0.025 ml BHT ve 0.5 ml %30'luk TCA eklenir. Tüpler vorteksle karıştırılır ve 2 saat buzda bekletilir. Daha sonra 2000 devir/dakika'da 15 dk santrifüj edilir. Süpernatandan 1 ml alınarak başka bir tüpe konur. Üzerine 0.075 ml 0.1 M'lık EDTA ve 0.25 ml %1'lik TBA eklenir. Tüpler karıştırılır ve kaynar su banyosunda 15 dakika bekletilir. Oda ısısına soğutulduktan sonra spektrofotometrede 532 nm'de absorbansları okunur.

MDA-TBA kompleksinin 532 nm'deki ekstinksiyon katsayısından ($1.56x10^5$ cm^{-1} M^{-1}) yararlanılarak MDA düzeyleri nmol/ml cinsinden hesaplanır.

Bir antioksidan olan BHT, ölçüm sırasında hatalı yüksek TBA reaktivitesiyle sonuçlanabilecek MDA oluşumunu önlemek için kullanılır.

3.3.6. Diğer Biyokimyasal Analizler

Serum glukoz, trigliserid (TG), kolesterol, HDL-kolesterol (HDL-K), LDL-kolesterol (LDL-K), BUN ve kreatinin düzeyleri ile idrar kreatinin düzeyleri spesifik *Boehringer* kalibratörleri kullanılan *Hitachi 717* otoanalizörde *Boehringer* ticari kitleri kullanılarak ölçüldü.

İdrar mikroalbumin düzeyleri *Beckman* spesifik kalibratör ve kit kullanılarak nefelometrik yöntemle (*Beckman Array 360 Protein System, USA*); İnsülin, C-peptid, folik asit ve B_{12} vitamini *Immulate DPC Immunoassay (Los Angeles, USA)* cihazı ile *Immulate DPC* kitleri kullanılarak; HbA_{1C} düzeyleri ise *Hi-Auto* A_{1C} *HA 8121 (Kyoto Dai-ichi Kagaku, Japan) HPLC* cihazı ile kromotografik olarak ölçüldü.

3.4 İstatistiki Analiz

Çalışmamız sonucunda elde edilen sonuçlar istatistiki olarak değerlendirildi. Sonuçların ortalama değerleri (X) ve standart sapmaları (SD) bulundu. İstatistiksel değerlendirilmeleri, bilgisayarda *SPSS* paket programında, anlamlılık sınırı 0.05 alınarak yapıldı. Karşılaştırmalarda one-way ANOVA ve *post-hoc LSD* testi kullanıldı. Korelasyon analizi için *Pearson* korelasyon testi uygulandı.

4. BULGULAR

Bu çalışmanın sonuçları Tablo 6'da gösterilmiştir. Tabloda ve Şekil 10'da görüldüğü gibi komplikasyonlu grubun Hcy düzeyleri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı derecede ($p<0.001$) yüksekti. Komplikasyonsuz grupta da kontrol grubundan yüksek olmasına rağmen istatistiksel olarak sınırda idi ($p=0.057$).

Hem komplikasyonlu hem de komplikasyonsuz her iki grupta da plazma MDA (Şekil 11) ($p<0.001$, $p<0.05$); serum insülin ($p<0.001$, $p<0.05$); C-peptid ($p<0.005$, $p<0.05$); glukoz (Şekil 13) ($p<0.001$, her iki grupta); TG (Şekil 14) ($p<0.001$, her iki grupta); kolesterol (Şekil 15) ($p<0.005$, her iki grupta) ve LDL-K düzeyleri (Şekil 16) ($p<0.001$, her iki grupta); vucut kitle indeksi (*BMI*) ($p<0.05$, $p<0.001$); HbA_{1C} oranları (Şekil 12) ($p<0.001$, her iki grupta); kontrol grubuyla kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksekti.

Hem komplikasyonlu hem de komplikasyonsuz grupta serum HDL-K (Şekil 17) ($p<0.001$, her iki grupta) ve albumin düzeyleri ($p<0.001$, $p<0.01$) kontrol grubuyla kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı derecede düşüktü.

Kontrol grubuyla kıyaslandığında komplikasyonlu grupta plazma vitamin B_6 (Şekil 18) ($p<0.001$) ve folik asit (Şekil 19) ($p<0.05$) seviyeleri istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük, serum BUN ($p<0.001$) ve kreatinin ($p<0.001$) düzeyleri ise yüksekti. Komplikasyonsuz grupta ise bu parametreler kontrol grubundan farksızdı. Ayrıca her 3 grubun B_{12} vitamin değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu (Şekil 20).

Ayrıca komplikasyonlu ve komplikasyonsuz gruplar birbirleriyle karşılaştırıldığında komplikasyonlu grubun plazma Hcy ve MDA ($p<0.05$, her ikisi de), serum insülin ($p<0.05$), BUN ($p<0.001$) ve kreatinin ($p<0.001$) seviyeleri ve HbA_{1C} oranları ($p<0.05$) istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek iken, vitamin B_6 ($p<0.05$), HDL-K ($p<0.05$) ve albumin ($p<0.05$) seviyeleri düşüktü.

İdrar MA/kreatinin oranı (Şekil 21) komplikasyonlu grupta, hem kontrol grubundan hem de komplikasyonsuz gruptan istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksekti ($p<0.001$, her iki grup için de). Komplikasyonsuz grubun ortalama MA/kreatinin oranı ise kontrol grubuyla karşılaştırıldığında yüksekti, ancak istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p=0.09$).

Tablo 6. Biyokimyasal Sonuçlar

	Tip 2 Diyabetli Grup		Kontrol grubu
	Komplikasyonlu	**Komplikasyonsuz**	
n	30	31	30
BMI (kg/m^2)	0.27±0.04^{a}	0.29±0.04^{b}	0.24±0.04
Diyabet süresi (yıl)	16.1 ±4.8	8.1 ±5.3	
Yaş (yıl)	58.1± 9.7	51.3± 10.8	53.3± 8.4
Hcy (µmol/L)	14.5± 6.9^{b,x}	11.4 ±2.9	8.9± 1.8
Vitamin B_6 (µgr/L)	13.8 ±9.6^{b,x}	19.9± 11	23.4 ±12.1
Vitamin B_{12} (pg/ml)	467.6± 215.7	438.6 ±237.4	512.3± 256.1
Folik Asit (ng/ml)	12 ±5.3^{a}	14.2 ±5.8	16.3± 8.9
MDA (nmol/ml)	9.3± 3.6^{b,x}	7.4 ±2.9^{a}	5.5± 2.3
İnsülin (µIU/ml)	28.8± 19.7^{b,y}	16.6 ±15.6^{a}	8.2 ±3.3
C Peptid (ng/ml)	3.5±2.5^{c}	4.2±2.6^{b}	1.6±0.9
HbA_{1C} (%)	11.2±2.4^{b,x}	9.9±2.2^{b}	5.4±1.5
Glukoz (mg/dl)	229±68.8^{b}	210±84.5^{b}	99.4±14.1
Trigliserid(mg/dl)	174.5±107^{b}	192.8±89.3^{b}	97.6±32.5
Kolesterol(mg/dl)	217.9±67.7^{c}	222±49.2^{c}	177.7±27.9
HDL-Kolesterol (mg/dl)	23.5±5.2^{b,x}	27.9±5.8^{b}	40±12.3
LDL-Kolesterol (mg/dl)	159.1±53.9^{b}	155.5±35.7^{b}	117.8±26.2
BUN (mg/dl)	38.6±23.2^{b,z}	16.4±6.6	18.4±7.6
Kreatinin (mg/dl)	2.8±2.1^{b,z}	1.0±0.2	0.96±0.3
Albumin (mg/dl)	3604±772^{b,x}	4061±863^{d}	4595±596
İdrar MA/Kreatinin	219.9 ±101.3^{b,z}	55.2 ±43.5	27.2 ±12.6

a: p<0.05 b: p<0.001 c: p<0.005 d: p<0.01 kontrol grubuyla karşılaştırıldığında.
x: p<0.05 y: p<0.005 z: p<0.001 komplikasyonsuz diyabetik grupla karşılaştırıldığında.

Tablo 7 Komplikasyonlu grubun kendi arasında değerlendirilmesi

	Nefropati	**Retinopati**	**Nöropati**	**Makrovasküler komplikasyonlu**
n	9	7	7	7
Hcy (µmol/L)	18.76±8.6^{a,b}	10.15±4.7	11.30±1.6	16.60±6.3^{c,d}
MDA (nmol/ml)	10.79±4.2^{d}	8.16±2.9	7.22±3.4	10.88±2.4^{d}
HbA_{1C} (%)	11.5±4.2	10.9±2.9	11.1±2.1	11.4±2.1

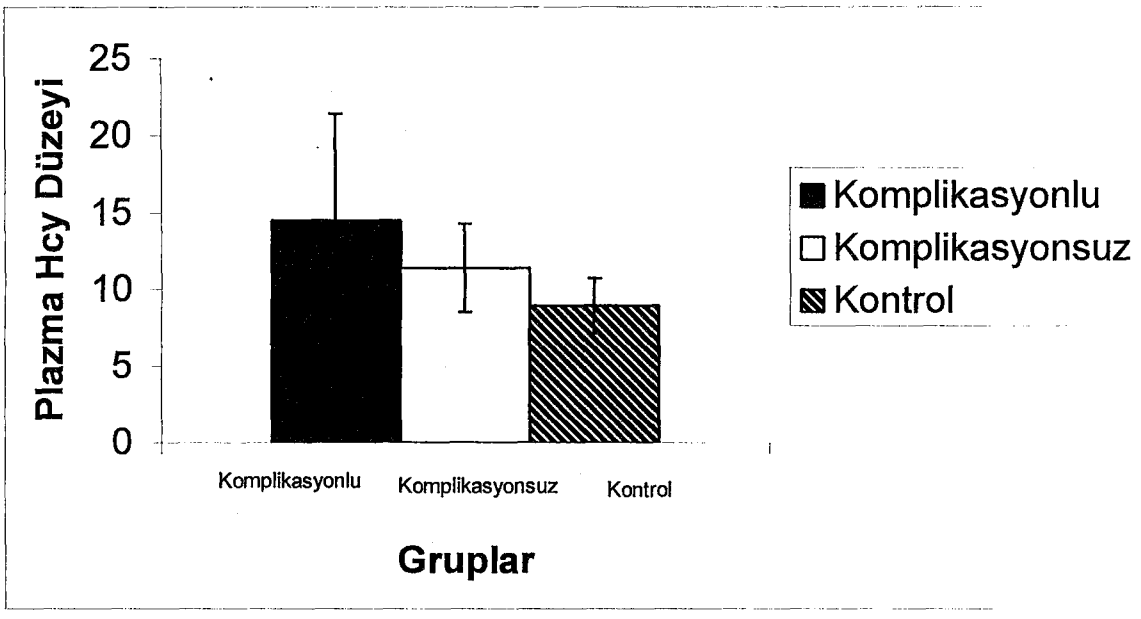
a: p<0.001 retinopatililerle karşılaştırıldığında
b: p<0.005 nöropatililerle karşılaştırıldığında
c: p<0.05 retinopatililerle karşılaştırıldığında
d: p<0.05 nöropatililerle karşılaştırıldığında

Komplikasyonlu grup kendi içinde komplikasyonlara göre değerlendirildiğinde (Tablo 7), en yüksek Hcy düzeyleri nefropati grubundaydı. Nefropatili grubun Hcy düzeyleri retinopatililerle ($p<0.001$) ve nöropatililerle ($p<0.005$) karılaştırıldığında istatistiksel olarak yüksekti (Şekil 22). Ancak makrovasküler komplikasyonlularla karşılaştırıldığında ise istatistiksel olarak farksızdı. Makrovasküler komplikasyonlular retinopati veya nöropatililerle karşılaştırıldığında bu grubun Hcy düzeyleri de istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksekti ($p<0.05$, her ikisi de) (Şekil 22).

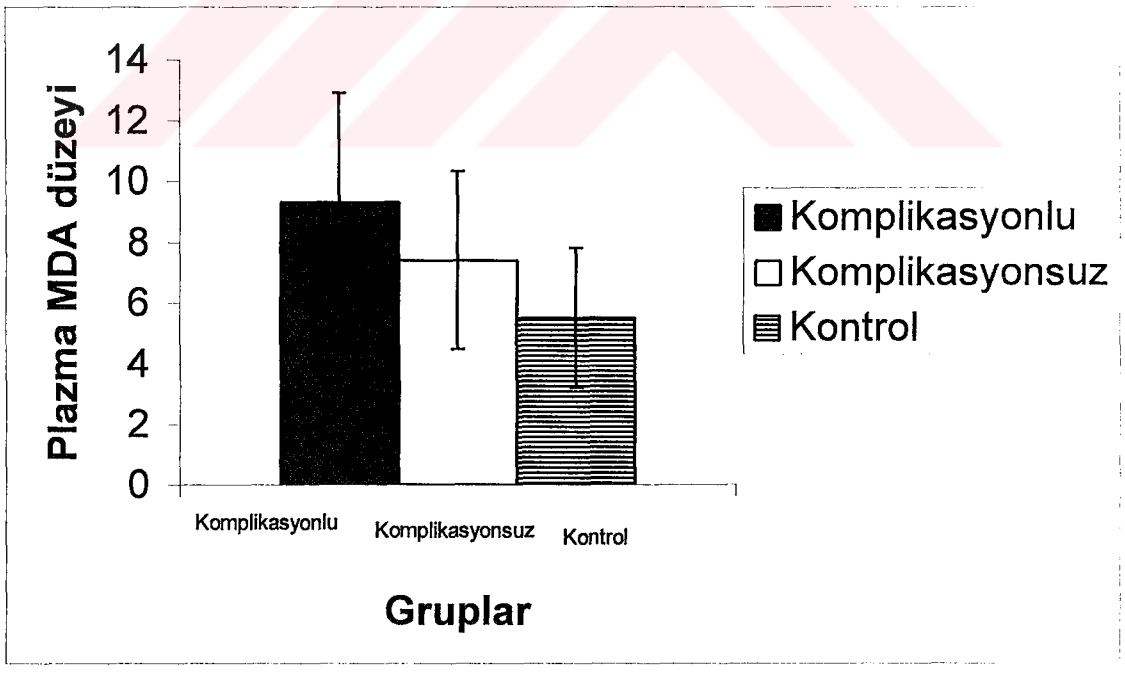
Kontrol grubunda Hcy erkeklerde kadınlara göre istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksek ($p<0.05$), folik asit ise daha düşüktü ($p<0.05$). Komplikasyonsuz grupta ise Hcy erkek cinsiyette daha yüksek olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p=0.072$). Komplikasyonlu grupta da bu parametreler arasında istatistiksel bir fark tespit edilemedi.

Ayrıca hipertansiyonun olup olmamaması bu parametrelerin hiç birini etkilemedi.

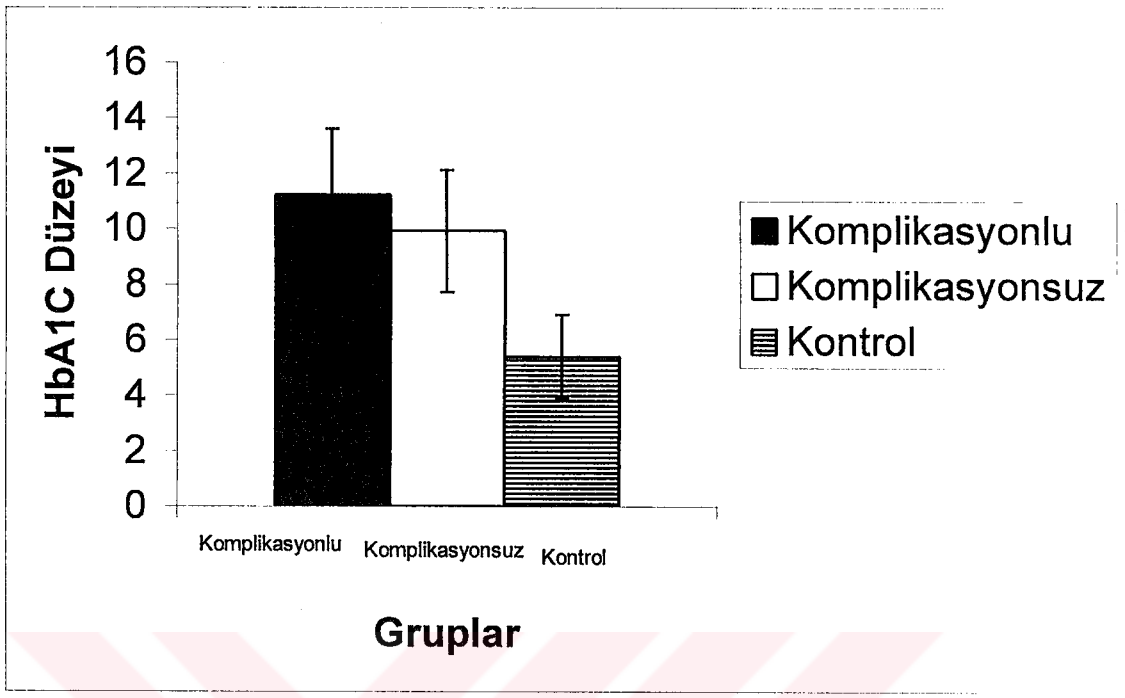
Nefropatili grup ve makrovasküler komplikasyonlu grup, retinopatili gruba ve nöropatili gruba göre anlamlı derecede yüksek MDA düzeylerine sahipti (Şekil 23, Tablo 7). HbA_{1C} düzeyleri ise komplikasyonlu grupların hiç birinde kendi aralarında anlamlı olacak şekilde yüksek veya düşük değillerdi, değerleri birbirlerine yakındı (Şekil 24).



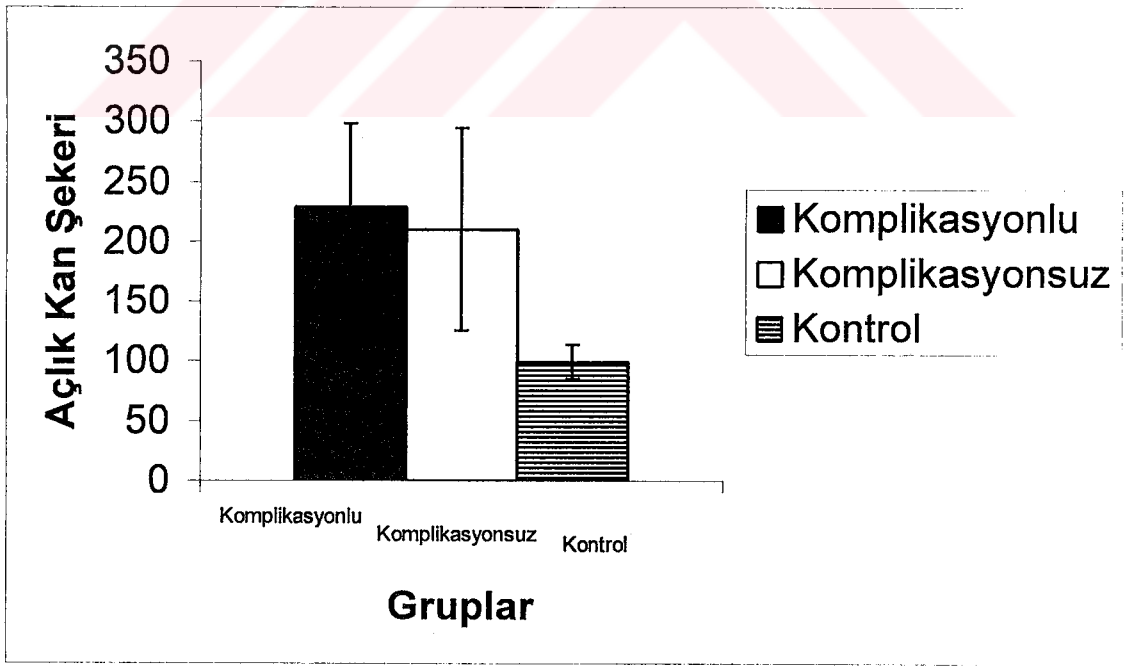
Şekil 10 Hasta ve kontrol gruplarının plazma Hcy düzeyleri (µmol/L)



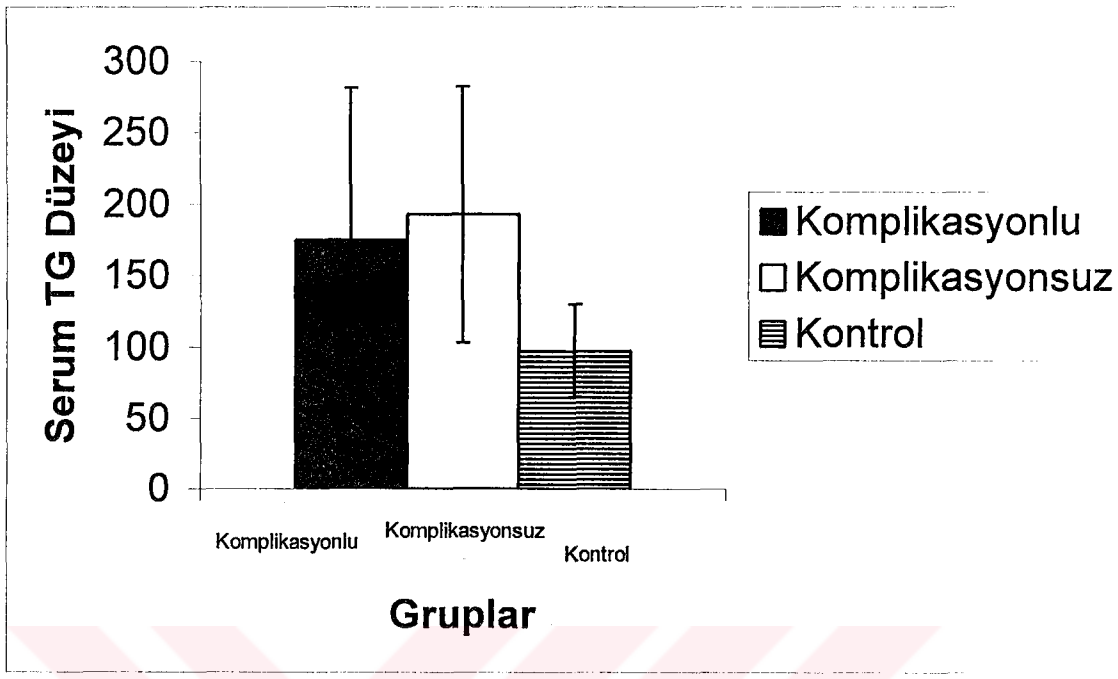
Şekil 11 Hasta ve kontrol gruplarının plazma MDA düzeyleri (nmol/ml)



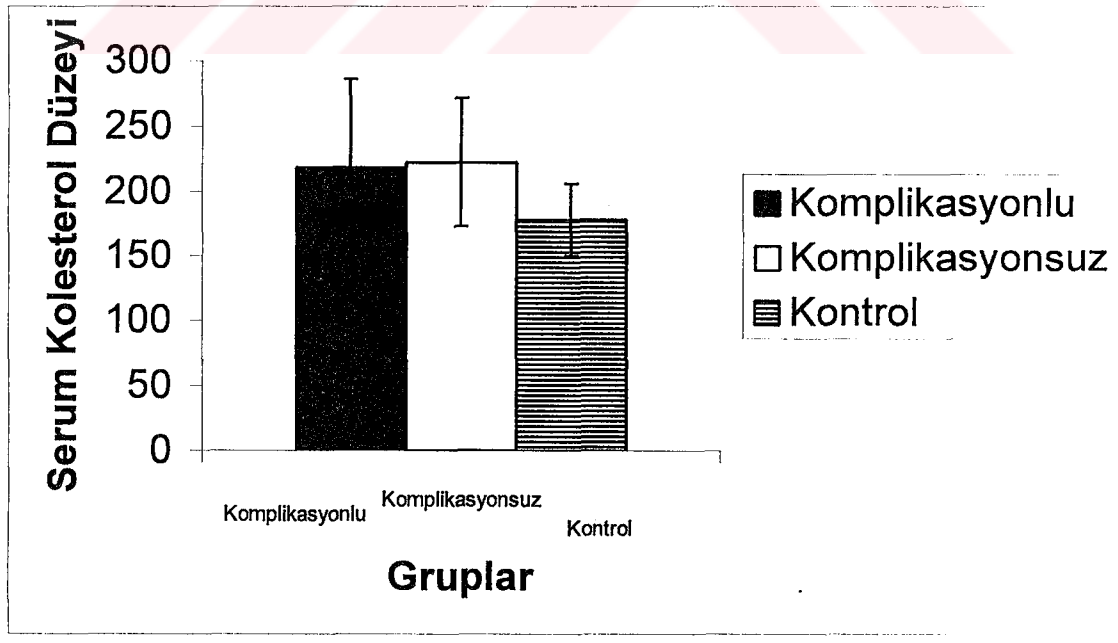
Şekil 12 Hasta ve kontrol gruplarının HbA_{1C} düzeyleri (%)



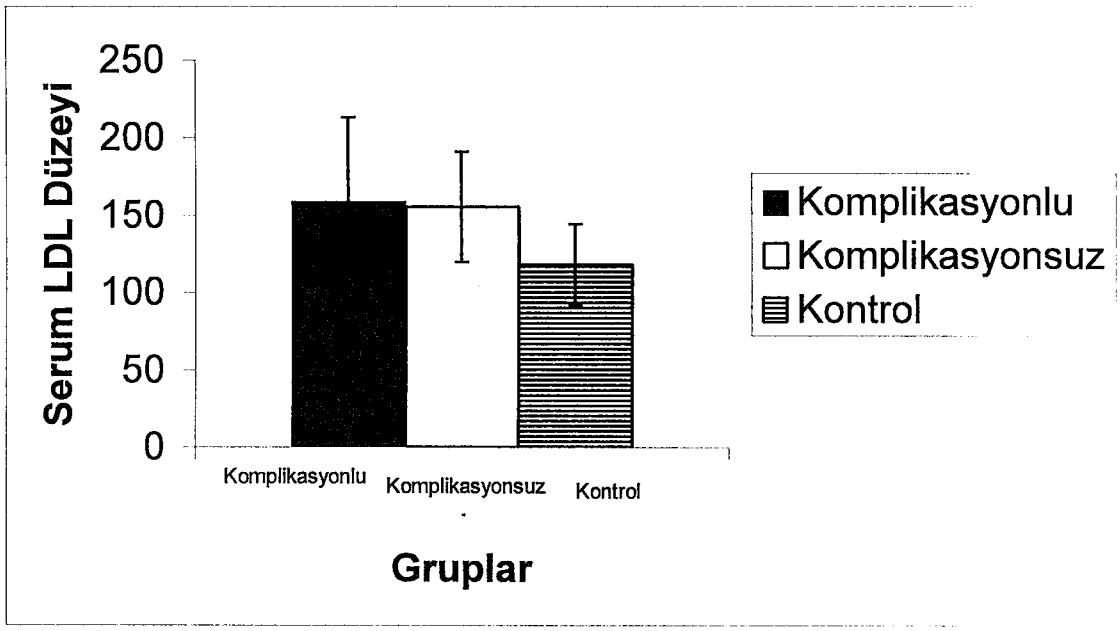
Şekil 13 Hasta ve kontrol gruplarının Açlık kan şekeri düzeyleri (mg/dl)



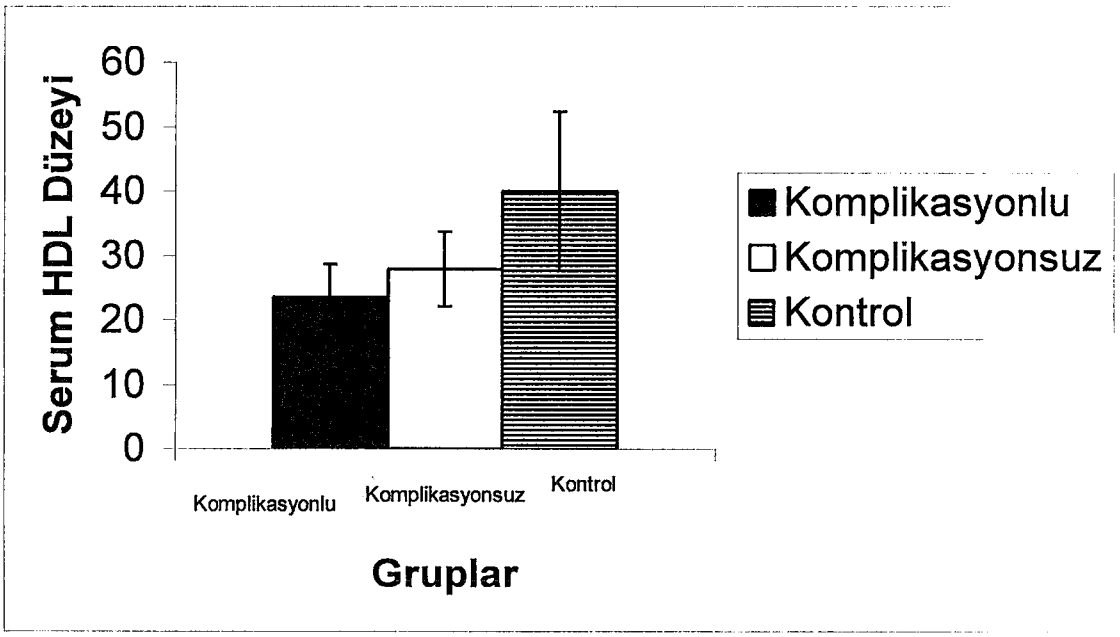
Şekil 14 Hasta ve kontrol gruplarının serum TG düzeyleri (mg/dl)



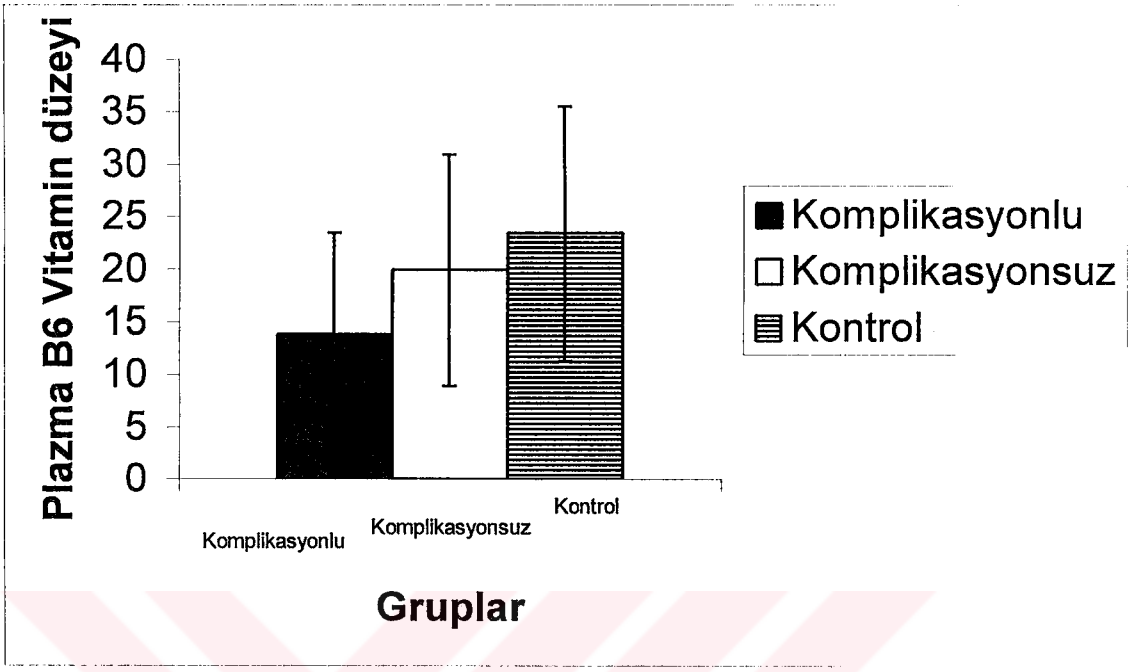
Şekil 15 Hasta ve kontrol gruplarının Serum Total Kolesterol düzeyleri (mg/dl)



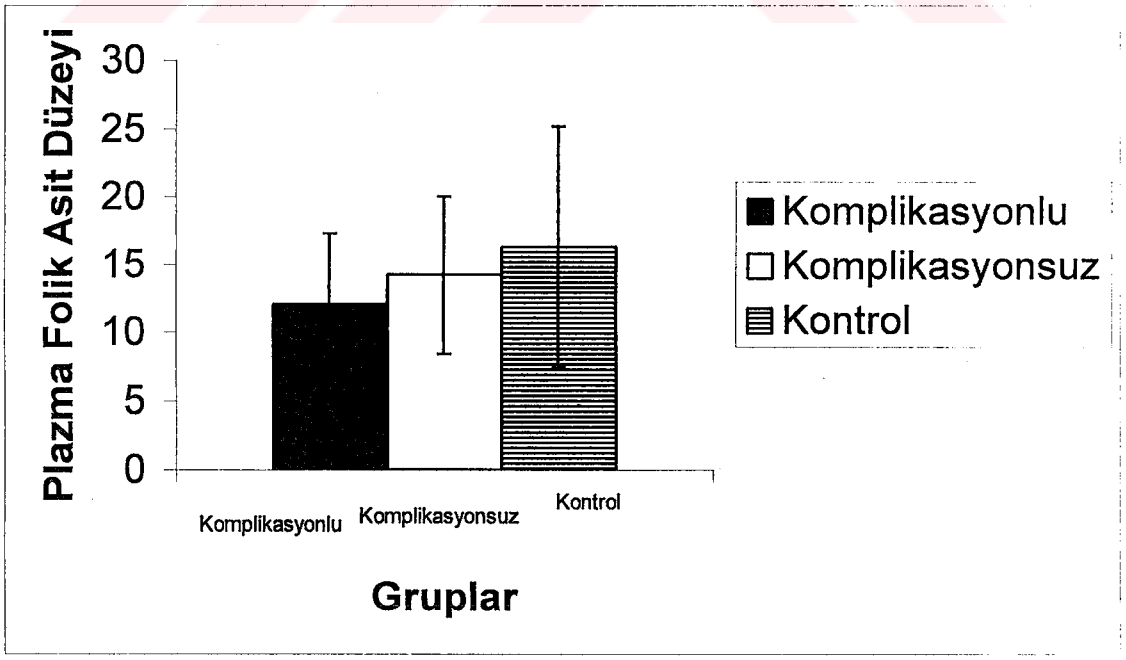
Şekil 16 Hasta ve kontrol gruplarının Serum LDL-K Düzeyleri (mg/dl)



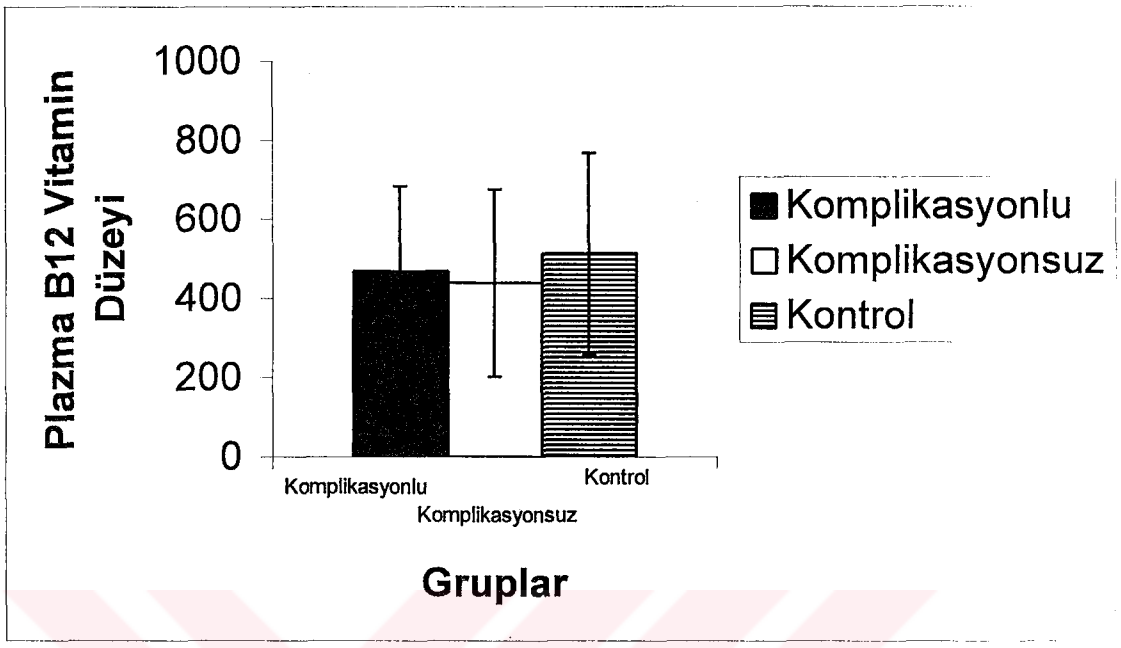
Şekil 17 Hasta ve kontrol gruplarının Serum HDL-K Düzeyleri (mg/dl)



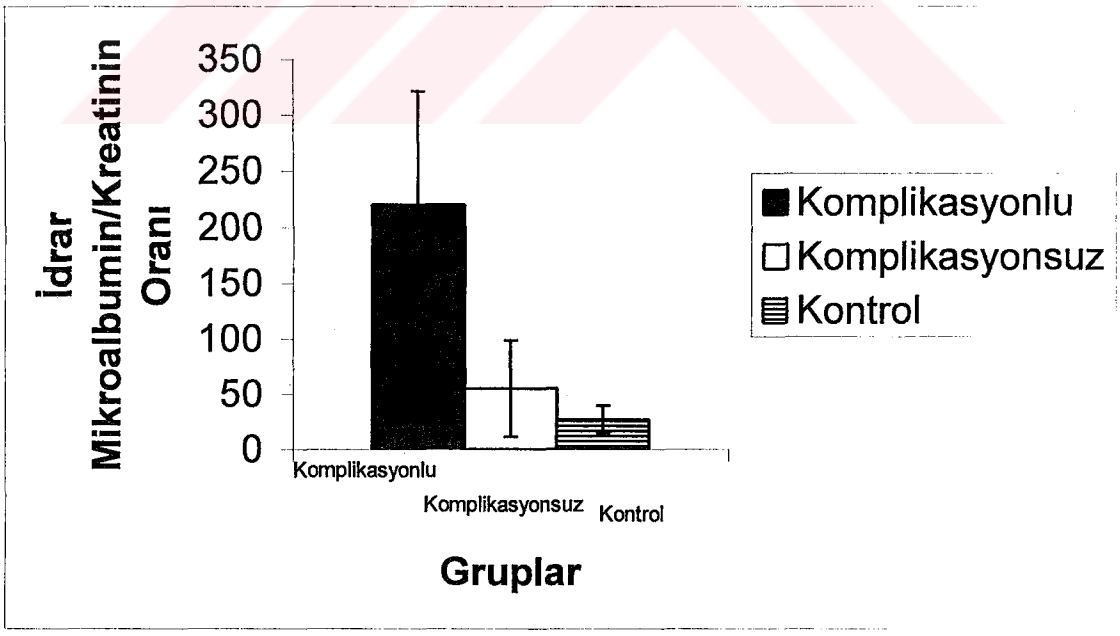
Şekil 18 Hasta ve kontrol gruplarının plazma B_6 Vitamini düzeyleri (µgr/L)



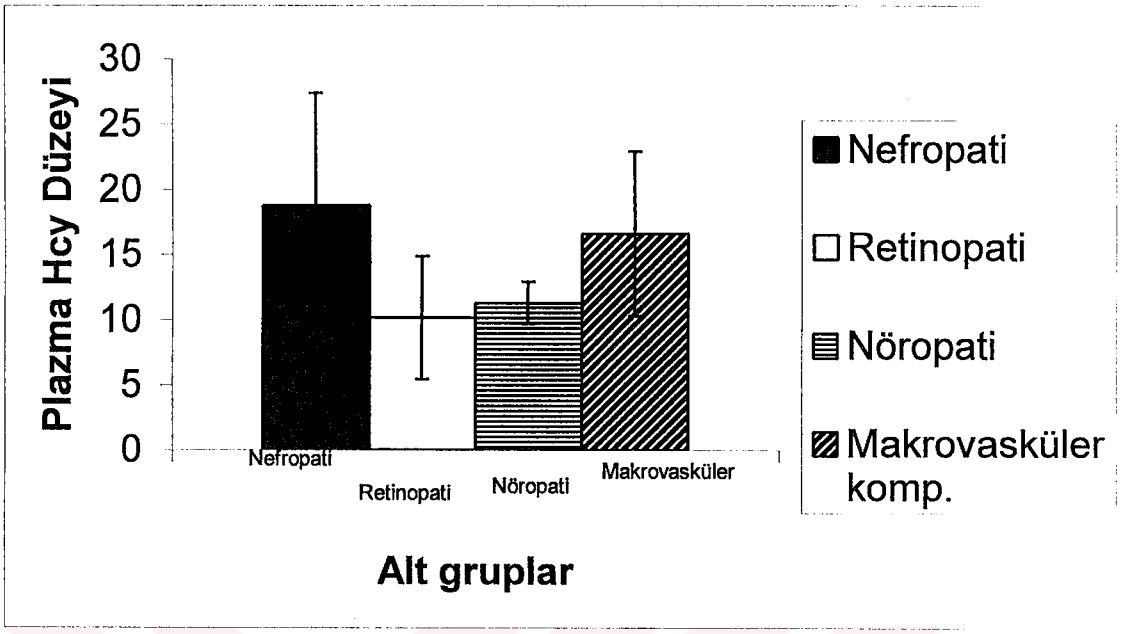
Şekil 19 Hasta ve kontrol gruplarının plazma folik asit düzeyleri (ng/ml)



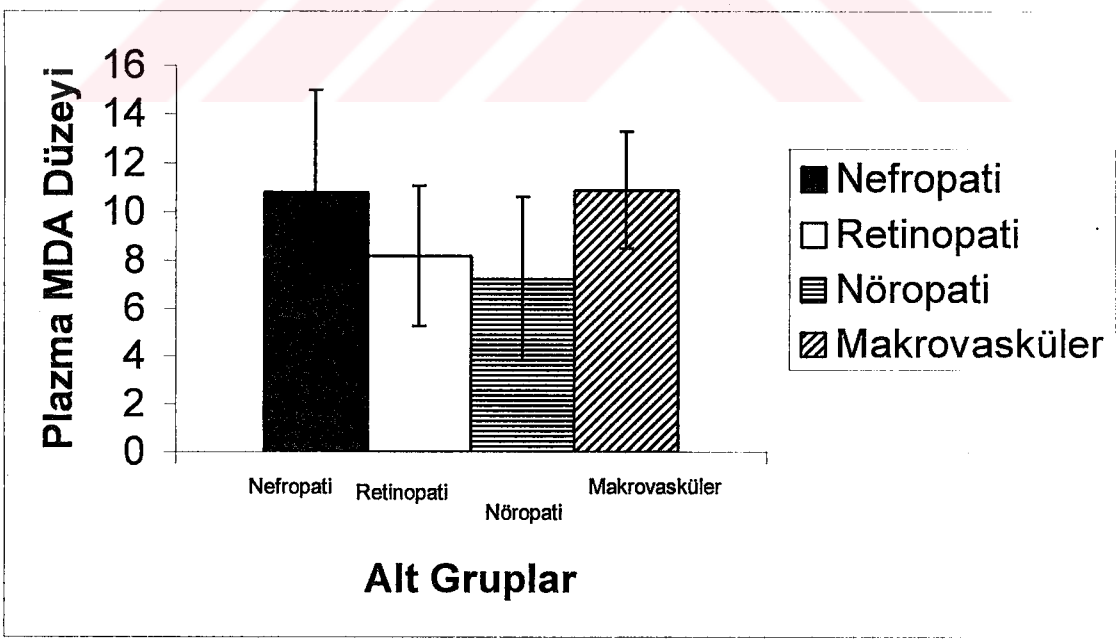
Şekil 20 Hasta ve kontrol gruplarının plazma B_{12} Vitamini düzeyleri (pg/ml)



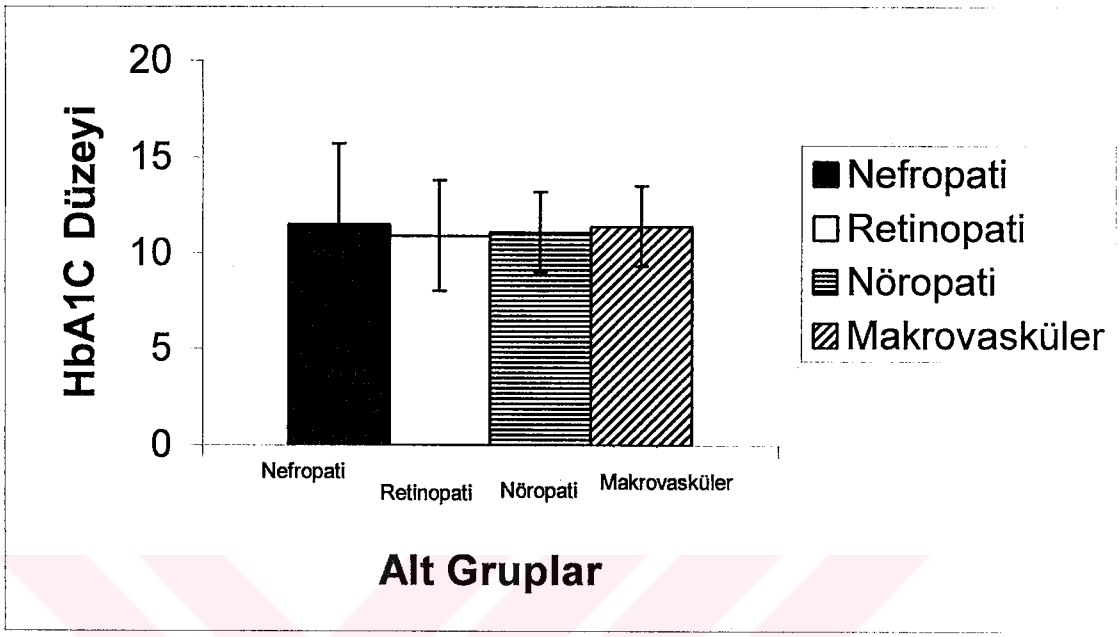
Şekil 21 Hasta ve kontrol gruplarının İdrar MA/Kreatinin Oranları



Şekil 22 Komplikasyonlara göre Plazma Hcy Düzeyleri (µmol/L)



Şekil 23 Komplikasyonlara göre Plazma MDA Düzeyleri (nmol/ml)



Şekil 24 Komplikasyonlara göre Plazma HbA_{1C} Düzeyleri (%)

KORELASYON ANALİZİ

a. Kontrol grubunda

Tablo 8'de görüldüğü gibi Hcy ile MDA düzeyleri ($p<0.001$) (Şekil 25), *BMI* ($p<0.05$) (Şekil 26), yaş ($p<0.005$), HbA_{1C} düzeyleri ($p<0.001$) (Şekil 27) ve kreatinin düzeyleri ($p<0.005$) (Şekil 28) arasında pozitif bir korelasyon; Hcy ile B_6 vitamini ($p<0.001$) (Şekil 30), B_{12} vitamini ($p<0.001$) (Şekil 31) ve folik asit ($p<0.05$) (Şekil 32) arasında da negatif korelasyon vardı.

Ayrıca MDA düzeyleri ile *BMI* ($p<0.05$), HbA_{1C} düzeyleri ($p<0.005$), TG ($p<0.01$) (Şekil 33), kolesterol ($p<0.005$) (Şekil 34), LDL-K ($p<0.01$) ve kreatinin düzeyleri ($p<0.001$) arasında pozitif korelasyon; *BMI* ile yaş ($p<0.01$) ve HbA_{1C} düzeyleri ($p<0.05$) arasında, yaş ile HbA_{1C} ($p<0.005$) ve albumin düzeyleri ($p<0.01$) arasında, B_{12} vitamini ile B_6 vitamini ($p<0.01$) ve folik asit ($p<0.001$) arasında, insülin ile C-peptid arasında ($p<0.05$), HbA_{1C} ile TG ($p<0.05$) ve kreatinin ($p<0.05$) arasında, TG ile kolesterol ($p<0.001$) ve LDL-K ($p<0.001$) arasında pozitif korelasyon mevcuttu.

B_6 vitamini ile MDA ($p<0.05$) ve HbA_{1C} ($p<0.05$) düzeyleri arasında negatif korelasyon mevcuttu.

LDL-K ile total kolesterol arasında ($p<0.001$) pozitif, HDL-K arasında ise ($p<0.01$) negatif bir korelasyon vardı.

Mikroalbumin/kreatinin oranıyla *BMI* ($p<0.005$), Hcy ($p<0.001$) (Şekil 29), MDA ($p<0.05$), HbA_{1C} ($p<0.01$) ve serum kreatinini ($p<0.001$) arasında pozitif korelasyon varken, B_6 ($p<0.005$), B_{12} ($p<0.005$) vitaminleri ve folat ($p<0.005$) ile de negatif korelasyon vardı.

Tablo 8 Kontrol grubundaki korelasyonlar

	BMI	Yaş	Hcy	B_6 vit.	B_{12} vit.	F. asit	MDA	İns.	C-pep	HbA_{1C}	Glukoz	TG	Kol	HDL-K	LDL-K	BUN	Krea	Alb.	MA/Kre
BMI																			
Yaş	r:0.46 p<0.01																		
Hcy	r:0.43 p<0.005	r:0.52 p<0.005																	
B_6 vit.			r:-0.56 p<0.001																
B_{12} vit.			r:-0.58 p<0.001	r:0.47 p<0.01															
Folik asit			r:-0.40 p<0.05		r:0.79 p<0.001														
MDA	r:0.40 p<0.05		r:0.62 p<0.001	r:-0.38 p<0.05															
İns.																			
C-peptid								r:0.38 p<0.05											
HbA_{1C}	r:0.43 p<0.05	r:0.53 p<0.005	r:0.57 p<0.001	r:-0.44 p<0.05			r:0.53 p<0.005												
Glukoz																			
TG							r:0.46 p<0.01			r:0.40 p<0.05									
Kol.							r:0.55 p<0.005					r:0.78 p<0.001							
HDL-K																			
LDL-K							r:0.49 p<0.01					r:0.62 p<0.001	r:0.88 p<0.001	r:-0.46 p<0.01					
BUN																			
Krea.			r:0.53 p<0.005				r:0.66 p<0.001			r:0.37 p<0.05									
Alb.		r:0.48 p<0.01																	
MA/Kre	r:0.49 p<0.005		r:0.77 p<0.001	r:-0.52 p<0.005	r:-0.51 p<0.005	r:-0.41 p<0.05	r:0.42 p<0.05			r:0.47 p<0.01							r:0.56 p<0.001		

b. Komplikasyonsuz grupta

Tablo 9'da komplikasyonsuz gruptaki korelasyonlar görülmektedir. Hcy düzeyleri ile MDA ($p<0.001$) (Bkz. Şekil 25), *BMI* ($p<0.05$) (Bkz. Şekil 26), yaş ($p<0.005$), HbA_{1C} ($p<0.001$) ve kreatinin ($p<0.005$) (Bkz. Şekil 28) arasında pozitif korelasyon varken, B_6 vitamini ($p<0.001$) (Bkz. Şekil 30), B_{12} vitamini ($p<0.05$) (Bkz. Şekil 31), folik asit ($p<0.05$) (Bkz. Şekil 32) ve HDL-K arasında negatif korelasyon vardı.

Yaş ile BUN arasında ($p<0.05$) pozitif korelasyon varken, B_6 vitamini ($p<0.01$) ve folik asit ($p<0.05$) arasında negatif korelasyon vardı.

B_6 vitamini ile folik asit arasında ($p<0.05$) pozitif bir korelasyon mevcut iken, kreatinin arasında negatif ($p<0.005$) bir korelasyon vardı.

BMI ile B_{12} ($p<0.005$) ve folik asit ($p<0.05$) arasında negatif korelasyon varken, albümin arasında pozitif ($p<0.05$) bir korelasyon vardı.

Ayrıca HbA_{1C} ile diyabet süresi ($p<0.05$), yaş ($p<0.05$), MDA ($p<0.001$) ve kreatinin arasında ($p<0.05$), C-peptid ile TG ve kolesterol arasında ($p<0.05$, her ikisi de), MDA ile kreatinin arasında ($p<0.005$), glukoz ile albümin arasında ($p<0.05$), LDL-K ile TG ve kolesterol arasında ($p<0.001$, her ikisi de), TG ile kolesterol arasında ($p<0.001$) ve HDL-K ile albumin arasında ($p<0.05$) pozitif bir korelasyon vardı.

BUN ile kreatinin arasında ($p<0.05$) pozitif, albümin arasında ise ($p<0.01$) negatif korelasyon vardı.

Mikroalbumin/kreatinin oranıyla Hcy ($p<0.05$) (Bkz. Şekil 29), MDA ($p<0.05$), insulin ($p<0.005$), BUN($p<0.001$) ve kreatinin ($p<0.05$) arasında pozitif korelasyon varken, B_6 vitamini ($p<0.01$) ile de negatif korelasyonu vardı.

c. Komplikasyonlu grupta

Tablo 10'da komplikasyonlu gruptaki korelasyonlar görülmektedir. Hcy ile MDA ($p<0.001$) (Bkz. Şekil 25), *BMI* ($p<0.05$) (Bkz. Şekil 26), HbA_{1C} ($p<0.01$) (Bkz. Şekil 27), diyabet süresi ($p<0.001$), yaş ($p<0.05$), BUN ($p<0.05$) ve kreatinin ($p<0.001$) (Bkz. Şekil 28) arasında pozitif korelasyon varken, B_6 vitamini ($p<0.001$) (Bkz. Şekil 30), B_{12} vitamini ($p<0.001$) (Bkz. Şekil 31) ve folik asit (Bkz. Şekil 32) arasında negatif korelasyon mevcuttu.

Yaş ile diyabet süresi arasında ($p<0.005$), B_6 ile B_{12} vitaminleri arasında ($p<0.05$), B_{12} ile folik asit arasında ($p<0.05$), MDA ile yaş, kreatinin ve diyabet süresi arasında ($p<0.05$, her üçü de), c-peptid ile diyabet süresi ve folik asit arasında ($p<0.05$, her ikisi de), yaş ile HbA_{1C} arasında ($p<0.05$), *BMI* ile HDL-K ($p<0.05$) ve kreatinin ($p<0.01$) arasında, kolesterol ile TG ve LDL-K arasında ($p<0.001$, her ikisi de), LDL-K ile TG arasında ($p<0.05$), kreatinin ile BUN arasında ($p<0.001$) pozitif korelasyon mevcutken, *BMI* ile B_{12} vitamini ve yaş arasında ($p<0.05$, her ikisi de), MDA ile B_6 ($p<0.005$) ve B_{12} ($p<0.05$) vitaminleri arasında, HbA_{1C} ile B_{12} vitamini arasında ($p<0.005$), albumin ile diyabet süresi ve yaş arasında ($p<0.05$, her ikisi de), glukoz ile MDA arasında ($p<0.05$) negatif korelasyon mevcuttu.

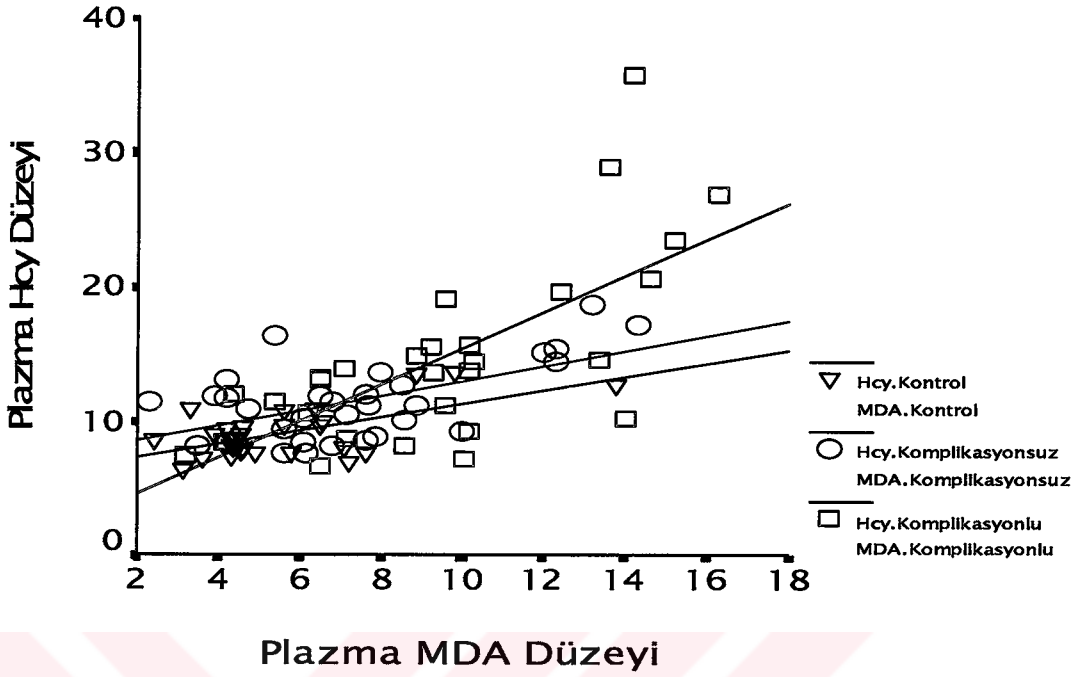
Mikroalbumin/kreatinin oranıyla Hcy ($p<0.01$) (Bkz. Şekil 29), BUN ($p<0.005$) ve kreatinin($p<0.005$) arasında pozitif korelasyon varken, B_6 ($p<0.05$) ve B_{12} ($p<0.001$) vitaminleriyle de negatif korelasyon gösteriyordu.

Tablo 9 Komplikasyonsuz gruptaki korelasyonlar

	BMI	D. süresi	Yaş	Hcy	B_6 vit.	B_{12} vit.	F. asit	MDA	İns.	C-pep	HbA_{1C}	Glukoz	TG	Kol	HDL-K	LDL-K	BUN	Krea	Alb.	MA/Kre
BMI																				
D. S.																				
Yaş																				
Hcy	r:0.45 p<0.05		r:0.48 p<0.005																	
B_6 vit.			r:-0.48 p<0.01	r:-0.55 p<0.001																
B_{12} vit.	r:-0.52 p<0.005			r:-0.38 p<0.05																
Folik asit	r:-0.45 p<0.05		r:-0.39 p<0.05	r:-0.42 p<0.05	r:-0.40 p<0.05															
MDA				r:0.58 p<0.001																
İns.																				
C-peptid																				
HbA_{1C}		r:0.36 p<0.05	r:0.38 p<0.05	r:0.65 p<0.001	r:-0.40 p<0.001			r:0.58 p<0.001												
Glukoz																				
TG										r:0.43 p<0.05										
Kol.										r:0.39 p<0.05			r:0.78 p<0.001							
HDL-K				r:-0.39 p<0.05																
LDL-K													r:0.62 p<0.001	r:0.96 p<0.001						
BUN			r:0.37 p<0.05																	
Krea.				r:0.54 p<0.005	r:-0.52 p<0.005			r:0.53 p<0.005			r:0.45 p<0.05						r:0.44 p<0.05			
Alb.	r:0.36 p<0.05											r:-0.41 p<0.05			r:0.39 p<0.05		r:-0.46 p<0.01			
MA/Kre				r:0.42 p<0.05	r:-0.47 p<0.01			r:0.44 p<0.05	r:0.51 p<0.005								r:0.59 p<0.001	r:0.43 p<0.05		

Tablo 10 Komplikasyonlu gruptaki korelasyonlar

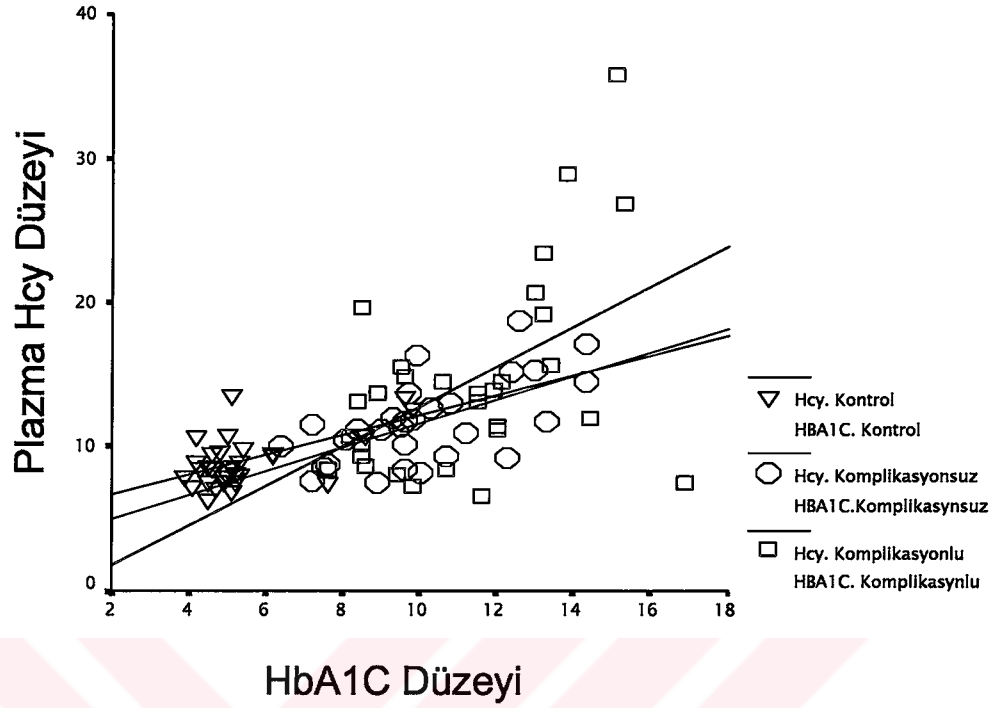
	BMI	D. S.	Yaş	Hcy	B_6 vit.	B_{12} vit.	F. A.	MDA	İns.	C-pep	HbA_{1C}	Glukoz	TG	Kol	HDL-K	LDL-K	BUN	Krea	Alb.	MA/Kre
BMI																				
D. S.																				
Yaş		r:0.51 p<0.005																		
Hcy	r:0.39 p<0.05	r:0.56 p<0.001	r:0.44 p<0.05																	
B_6 vit.				r:-0.60 p<0.001																
B_{12} vit.	r:-0.41 p<0.05		r:-0.37 p<0.05	r:-0.62 p<0.001	r:0.41 p<0.05															
F.A.				r:-0.42 p<0.05		r:0.41 p<0.05														
MDA		r:0.45 p<0.05	r:0.44 p<0.05	r:0.70 p<0.001	r:-0.53 p<0.005	r:-0.44 p<0.05														
İns.																				
C-pep.		r:0.36 p<0.05					r:0.36 p<0.05													
HbA_{1C}			r:0.45 p<0.05	r:0.49 p<0.01		r:-0.50 p<0.005														
Glukoz					r:0.39 p<0.05			r:-0.44 p<0.05												
TG						r:0.64 p<0.001					r:-0.38 p<0.05									
Kol.													r:0.68 p<0.001							
HDL-K	r:0.37 p<0.05						r:-0.38 p<0.05													
LDL-K													r:0.45 p<0.05	r:0.95 p<0.001						
BUN				r:0.40 p<0.05	r:-0.39 p<0.05								r:-0.41 p<0.05							
Krea.	r:0.47 p<0.01			r:0.55 p<0.001	r:-0.37 p<0.05	r:-0.48 p<0.01		r:0.36 p<0.05					r:0.46 p<0.01				r:0.85 p<0.001			
Alb.		r:-0.38 p<0.05	r:-0.41 p<0.05								r:-0.45 p<0.05	r:-0.36 p<0.05								
MA/Kre				r:0.49 p<0.01	r:-0.40 p<0.05	r:-0.56 p<0.001											r:0.57 p<0.001	r:0.55 p<0.005		



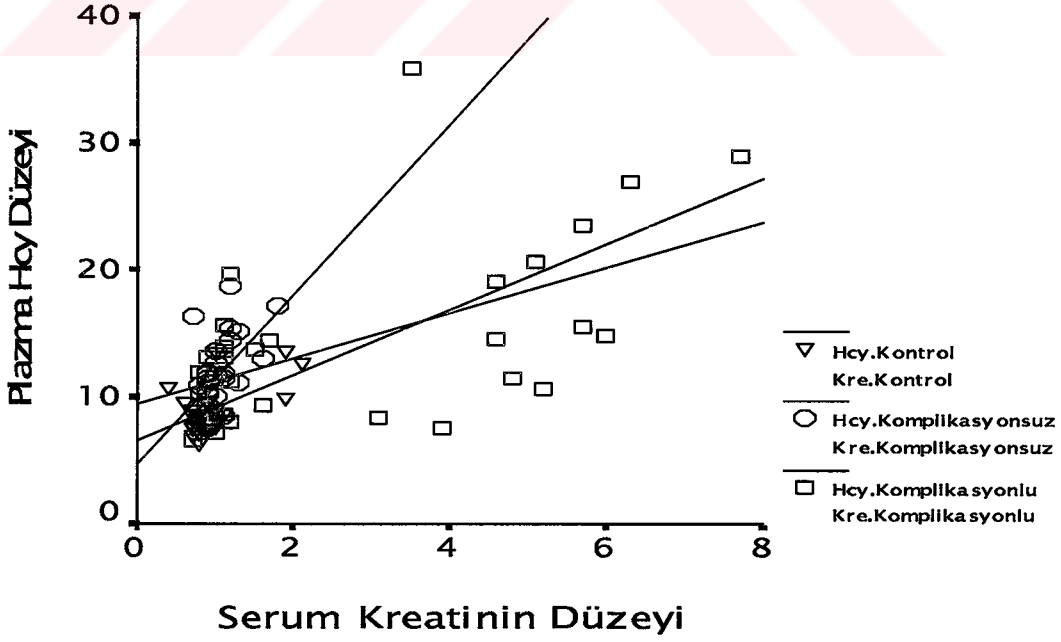
Şekil 25 Hasta ve Kontrol Gruplarında Plazma Hcy ile Plazma MDA Düzeyleri Arasındaki Korelasyonlar (∇: r=0.62, p<0.001 O: r= 0.58, p<0.001 □: r=0.70, p<0.001)



Şekil 26 Hasta ve Kontrol Gruplarında *BMI* ile Plazma Hcy Düzeyleri Arasındaki Korelasyonlar (∇: r=0.43, p<0.005 O: r= 0.45, p<0.05 □: r=0.39, p<0.05)

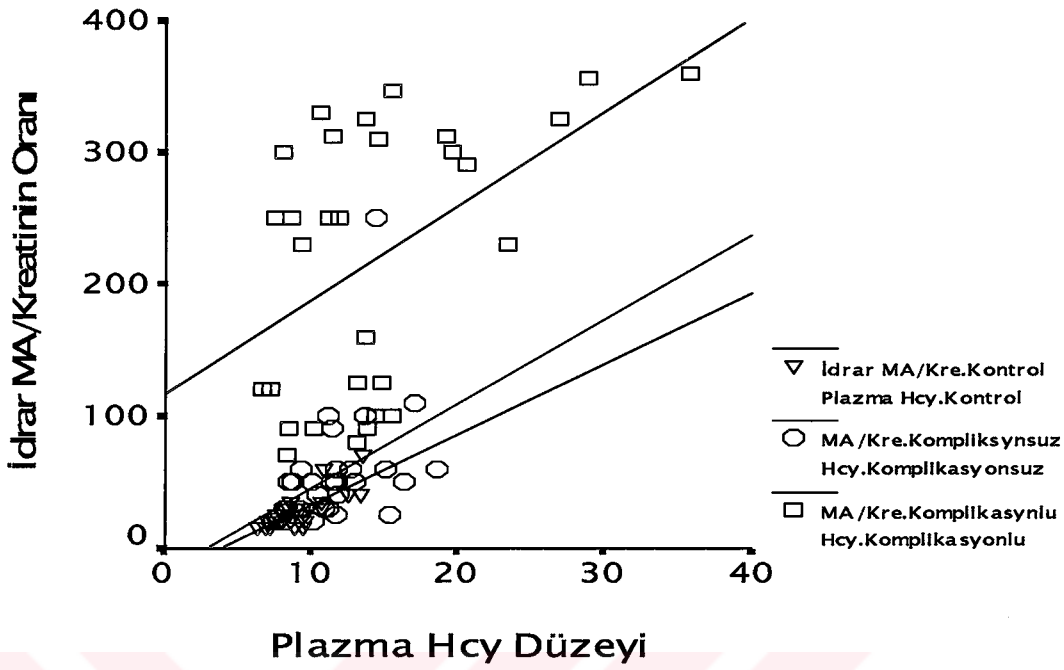


Şekil 27 Hasta ve Kontrol Gruplarında Plazma Hcy ile HbA_{1C} Düzeyleri Arasındaki Korelasyonlar (∇: r=0.57, p<0.001 O: r= 0.65, p<0.001 □: r=0.49, p<0.01)

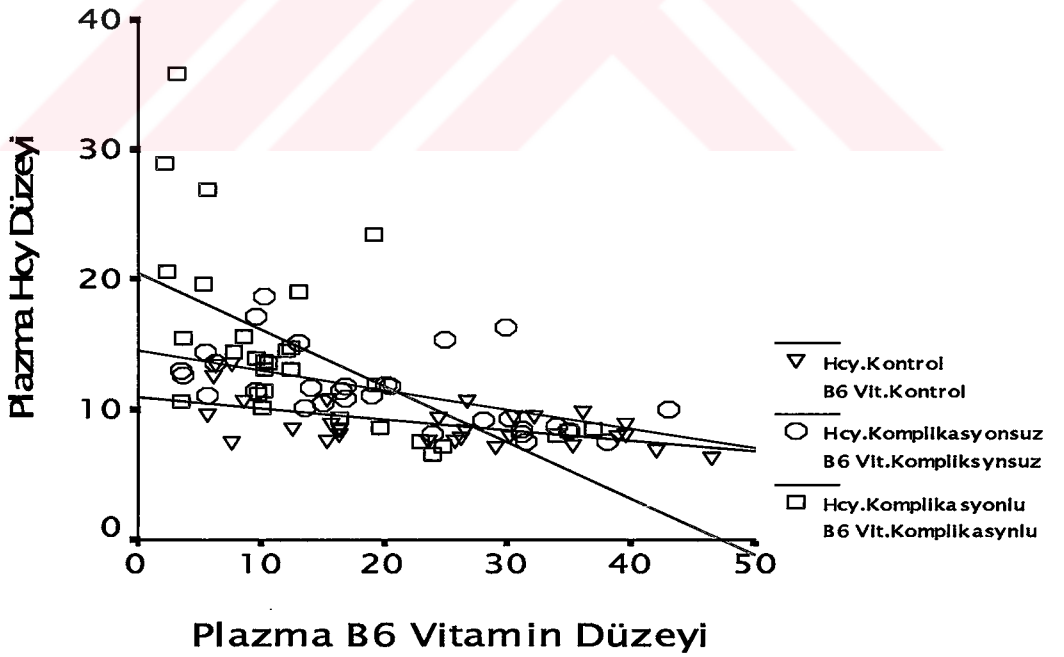


Şekil 28 Hasta ve Kontrol Gruplarında Plazma Hcy Düzeyleri ile Serum Kreatinin Düzeyleri Arasındaki Korelasyonlar (∇: r=0.53, p<0.005 O: r= 0.54, p<0.005 □: r=0.55, p<0.001)

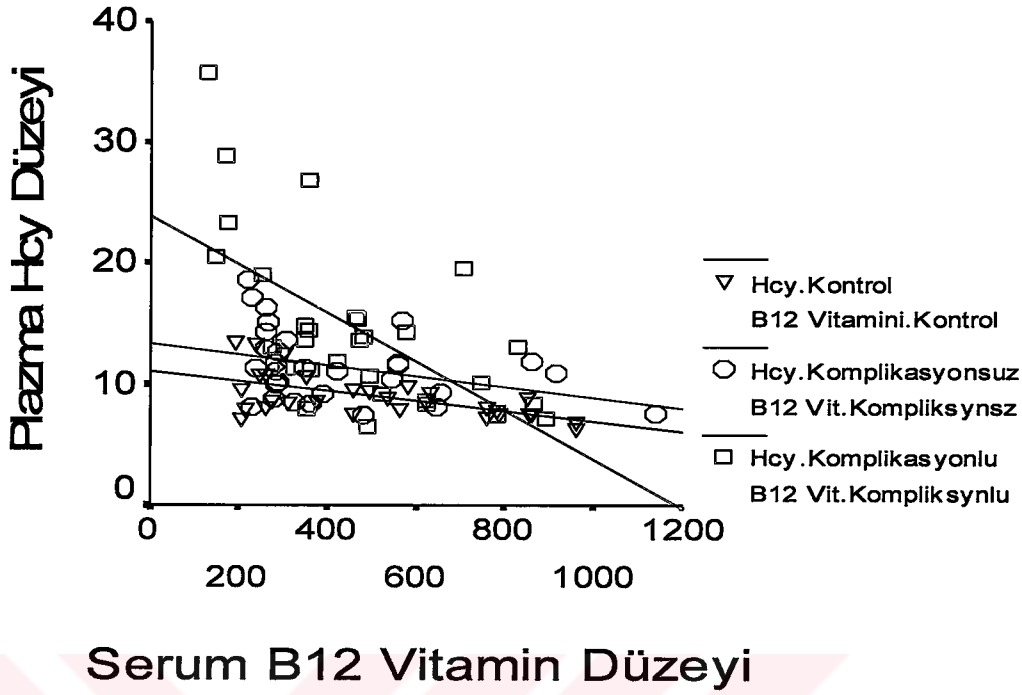
T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ



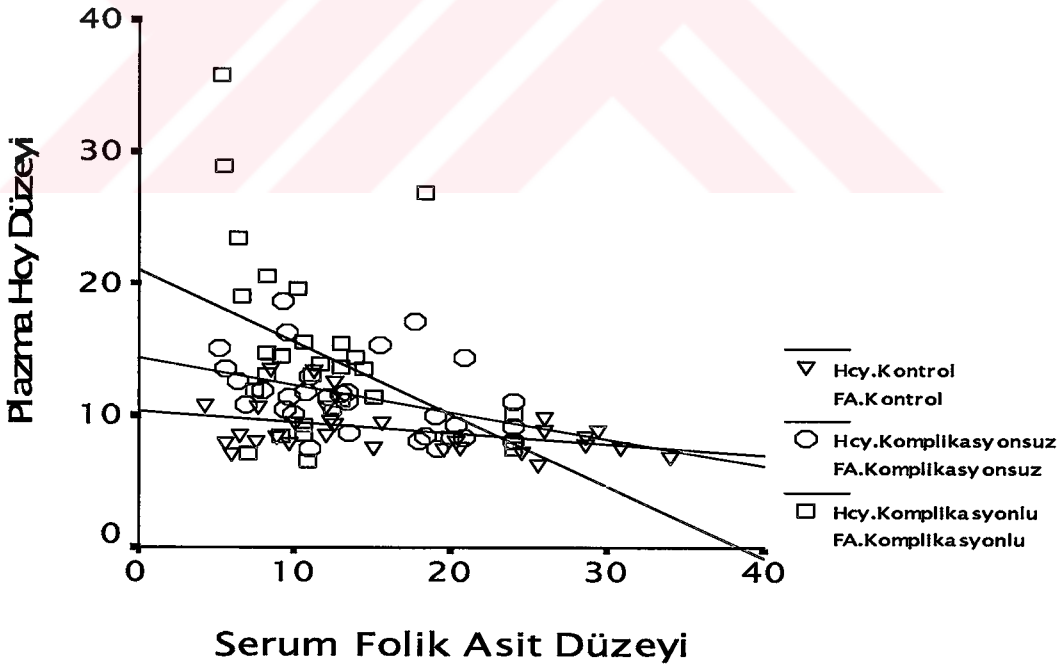
Şekil 29 Hasta ve Kontrol Gruplarında İdrar MA/Kreatinin Oranları ile Plazma Hcy Düzeyleri Arasındaki Korelasyonlar (∇: r=0.77, p<0.001 O: r= 0.42, p<0.05 □: r=0.49, p<0.01)



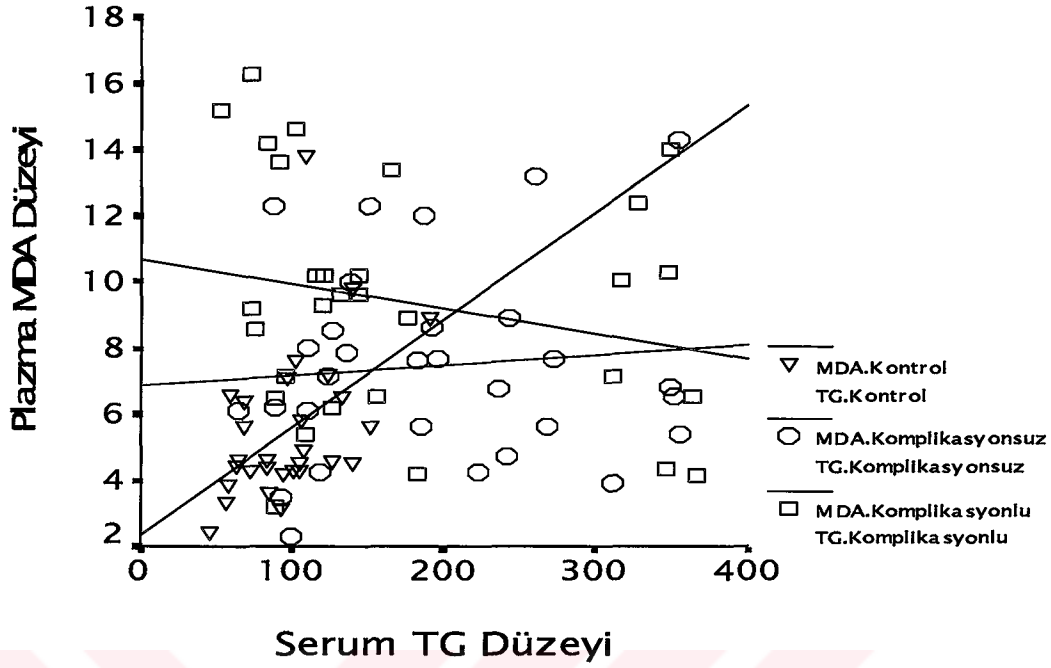
Şekil 30 Hasta ve Kontrol Gruplarında Plazma Hcy Düzeyleri ile Plazma B_6 Vitamin Düzeyleri Arasındaki Korelasyonlar (∇: r=-0.56, p<0.001 O: r=- 0.55, p<0.001 □: r=-0.60, p<0.001)



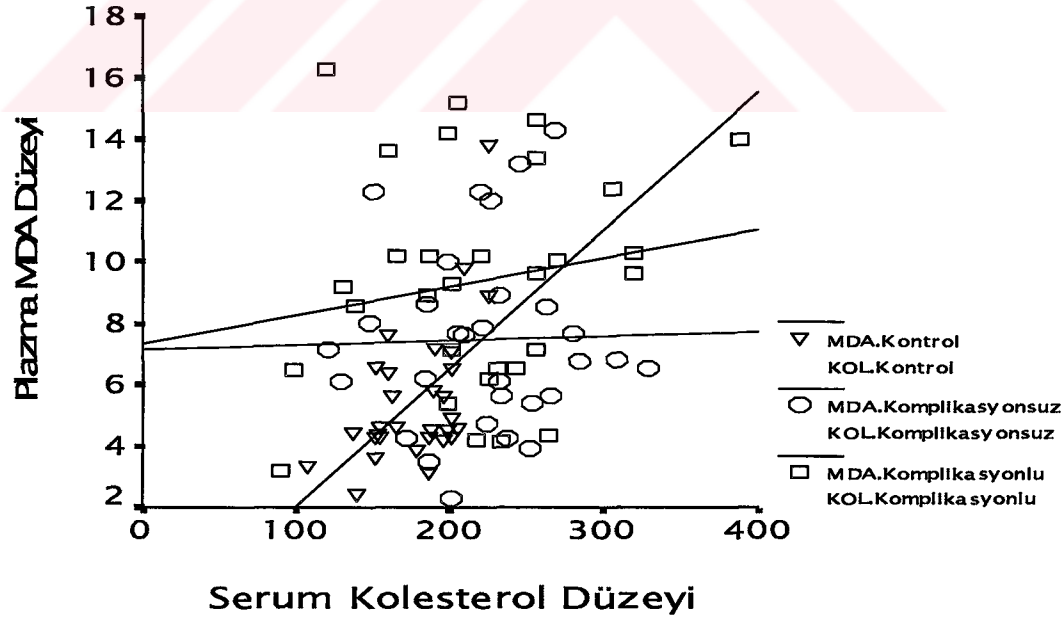
Şekil 31 Hasta ve Kontrol Gruplarında Plazma Hcy Düzeyleri ile Serum B_{12} Vitamin Düzeyleri Arasındaki Korelasyonlar (∇: r=-0.58, p<0.001 O: r= -0.38, p<0.05 □: r=-0.62, p<0.001)



Şekil 32 Hasta ve Kontrol Gruplarında Plazma Hcy Düzeyleri ile Serum Folik Asit Düzeyleri Arasındaki Korelasyonlar (∇: r=-0.40, p<0.05 O: r=- 0.42, p<0.05 □: r=-0.42, p<0.05)



Şekil 33 Hasta ve Kontrol Gruplarında Plazma MDA Düzeyleri ile Serum TG Düzeyleri Arasındaki Korelasyonlar (▽: r=0.46, p<0.01 O: r= 0.11, p=0.53 □: r=-0.22, p=0.24)



Şekil 34 Hasta ve Kontrol Gruplarında Plazma MDA ve Sreum Total Kolesterol Düzeyleri Arasındaki Korelasyonlar (▽: r=0.55, p<0.005 O: r= 0.02, p=0.88 □: r=0.17, p=0.36)

5. TARTIŞMA

Hiperhomosisteinemi önemli kardiyovasküler risk faktörleri arasında sayılmaktadır. HH'nin endotel hücre fonksiyonunu bozarak ve bu hücrelere hasar vererek bu patofizyolojik mekanizmada yer aldığı daha önce belirtilmişti.[1] Diğer taraftan, diyabetin bizzat kardiyovasküler bir risk faktör olduğu düşünülürse HH ile diyabet arasında ve diğer ilgili parametreler arasında muhtemel bir ilişkiyi araştırmanın çok anlamlı olacağı düşünülebilir. Ayrıca, diyabeti komplikasyonlu ve komplikasyonsuz diye ayırarak belirtilen bu ilişkiye bu açıdan bakmanın da önemli olacağı düşünülebilir.

Çalışmanın tartışma kısmında gereç ve yöntemlerin tartışılması ve elde edilen bulguların tartışılması şeklinde iki alt başlık yer alacaktır.

5.1. Gereç ve Yöntemlerin Tartışılması

Tam kanda tHcy'in oda sıcaklığında beklemeyle arttığı ve bu artışın 1 saatte %10 kadar olduğu bildirilmiştir.[4,62,70] Bunun sebebi kan hücrelerinin Hcy üretimi ve salınmasına devam etmesidir. Fakat soğukta saklanır veya 1 saatten kısa bir sürede santrifüj edilip plazma ya da serum başka bir tüpe ayrılırsa bu artış daha az olacaktır. Ancak plazma veya serum ayrıldıktan sonra da saklama koşullarına dikkat edilmelidir. 0-2 °C'de birkaç hafta, -20 °C'de ise bir yıldan fazla saklanabilir. Belli bir zaman önceki gıda alımının da Hcy düzeyini etkileyebileceği, bu yüzden numunelerin aç karna alınması gerekli olduğu da bildirilmiştir.[4,62,70] Bu yüzden bu çalışmada numuneler aç karna alındı. Alındıktan 30 dakika içerisinde santrifüj edilip serum veya plazması ayrıldıktan sonra *eppendorf* tüplere konularak –80 °C'de analiz yapılıncaya kadar, yaklaşık 4 ay muhafaza edildi.

Bu çalışmada hasta grubunda çoğu kişi sülfanilüre grubu bir antidiyabetik kullanmaktaydı. Sadece komplikasyonlu grupta 2 kişi biguanid grubu bir ilaç (Metformin) kullanıyordu. Literatürde metformin'in Hcy düzeyini artırdığı[63,64] veya etkilemediği[5,20] yönünde yayınlar vardır. Bu çalışmadaki Metformin kullanan 2 hastanın da plazma Hcy düzeyleri grubun ortalamasının altındaydı. Sülfanilürelerin plazma Hcy düzeylerini etkilemediği pek çok çalışmada vurgulanmıştır.[63-65] Bizim bulgularımız da bu çalışmalarla uyum içindedir.

Yapılan çalışmalarda sigara içimi ile Hcy arasında ilişki olduğu bildirilmektedir.[66,67] Bu çalışmada sigara içen sayısı istatistik uygulanabilecek düzeyde olmadığı için bir değerlendirme yapılamadı. Komplikasyonlu grupta sigara içen 3 hasta vardı. Bunların 2 tanesinin Hcy düzeyleri grubun ortalamasının altında idi. Diğeri ise

19.64 µmol/L olmasına rağmen, aynı zamanda da ileri derece nefropatisi olduğu için gruptan çıkarılmadı ve nefropatili, komplikasyonlu grupta bırakıldı. Komplikasyonsuz grupta ve kontrol grubunda ise ikişer kişi sigara kullanıyorlardı ve hiç birinin Hcy düzeyi kendi grubunun ortalamasından yüksek olmadığı için onlar da gruba dahil edildi.

Hipertansiyonla plazma homosisteini arasında ilişki olduğunu bazı araştırıcılar belirtmektedir.[66,68,69] Ancak hipertansiyonla plazma Hcy'i arasında ilişki bulamayan araştırıcılar da vardır.[34,54] Bu çalışmada da hipertansiyonla plazma Hcy'i arasında bir ilişki saptanamadı.

Hcy ölçümünde kullanılan ve spesifitesi ile sensitivitesi birbirinden farklı pek çok metod şimdiye kadar kullanılmıştır.

Hcy ölçümü 1962 yılında homosistinürili ilk hasta tanısı konulduğu zaman laboratuvar testleri arasına girmiş oldu.[70] 1970'li yılların ortalarında 2. jenerasyon amino asit analizörleri ile sağlıklı bireylerde serum veya plazma asit solubl fraksiyonda serbest Hcy ölçüldü. 1980'li yılların ortalarında tHcy ölçülmeye başlandı.[4,70] Hcy ölçümü şimdiye kadar postkolon türevlendirme için ninhidrin kullanarak sıradan amino asit analizörleri ile, kapiller elektroforez ile, gaz veya likit kromatografi ile, *immunassay* yöntemi ile, *HPLC* ile ve daha başka yöntemlerle yapılmaktadır. Bizim kullandığımız sülfhidril gruplarının spesifik ajanlarla prekolon derivatizasyon yapılarak *HPLC* ile floresan dedektörde saptama metodu yüksek sensitivite ve spesifiteye sahip güvenilir bir metoddur.[70-72] Bu metodla diğer metodlara kıyasla daha kısa sürede daha çok analiz yapılabilmektedir. 24 saatte kalite kontrol örnekleri okutularak ve uygun kalibratörler kullanılarak 60'dan fazla numune rahatlıkla çalışılabilir.[4] *Sigit ve ark.*[73] gaz kromatografi-kütle spektrometrisi (*GC-MS*) nin *HPLC*'den daha pahalı maliyeti olduğunu ve ilave derivatizasyon reaksiyonlarından dolayı daha fazla zaman aldığını vurgulamıştır.

5.2. Sonuçların Tartışılması

Tip 2 diyabet tüm dünyada sık görülen ve komplikasyonlara yol açan bir metabolizma bozukluğudur. Türkiye'de diyabet prevalansını belirlemek için 3687 birey üzerinde yapılan bir çalışmaya göre Türkiye'de diyabet prevalansı %3.4 dür.[74] Başka bir çalışmada ise Türkiye'de 20 yaşın üzerindeki erişkinlerde diyabet prevalansı %7.4 dür.[75] *Erem ve ark.*nın[76] yaptığı bir araştırmaya göre ise bu oran %6'dır. Yani dünyanın çeşitli ülkelerinde belirtilen oranlardan daha yüksek bir diyabet prevalansına sahibiz. Dolayısıyla %80-90'ı Tip 2 olan diyabetin, oluşumu veya komplikasyonlara yol açma mekanizmasının ortaya çıkarılmasına yönelik bu tür çalışmaların önemi daha da

artmaktadır. Diyabetin kronik komplikasyonlarının patogenezi hakkında pek çok mekanizma ileri sürülmüş, ancak hiç biri komplikasyonların mekanizmasını tam olarak açıklamakta yeterli olamamıştır. Diyabetle Hcy arasında veya komplikasyonlarıyla Hcy arasında bir ilişki var mı? Bu konuda pek çok araştırma yapılmış ve birbiriyle çelişen sonuçlar elde edilmiştir. Gerçekten de DM ve HH arasındaki ilişkiye olan ilgi giderek artmaktadır. Hem diyabet ve hem de HH, her iki durum da anormal hemostazis, fibrinoliz ve endotelyal fonksiyonlarla ve artmış oksidatif stresle seyreder.[65] Diyabette Hcy'in yükseldiğini belirten çok sayıda çalışma vardır.[10,15,19,20,22,23,77,78] Bu çalışmalar bizim sonuçlarımızla uyumludur. Bizim çalışmamızda Tip 2 diyabetlilerin sağlıklı kontrollerden istatistiki olarak daha yüksek Hcy düzeylerine sahip oldukları bulundu. Tip 2 diyabetli kişiler komplikasyonlu ve komplikasyonsuz diye ayırdığında, komplikasyonlu grubun Hcy düzeylerinin kontrol grubundan istatistiki olarak çok daha anlamlı yüksek olduğu görüldü. Komplikasyonu olmayan grubun Hcy düzeyleri kontrol grubuyla karşılaştırıldığında daha yüksek olduğu, ancak istatistiki olarak anlamlılık sınırlarının içinde olmadığı görüldü. Yapılan çalışmalarda Tip 2 diyabetli kişilerin %31'inin plazma Hcy düzeyinin 15 μmol/L'den daha yüksek olduğu ve orta derecede HH Tip 2 diyabetli hastalarda, normal veya bozulmuş glukoz toleransı olan kişilerdekinden daha güçlü kardiyovasküler bir risk faktörü olduğu belirtilmektedir.[20,78] Ayrıca yapılan bir araştırmada HH'si olan diyabetli hastaların HH'si olan diyabetsiz kişilerden 1.6 kat daha fazla kardiyovasküler risk altında oldukları belirtilmektedir.[5]

Ancak diyabette Hcy'in daha düşük olduğunu belirten raporlar da vardır.[6,9,27,29] Diyabette homosisteini düşük bulanlar bu düşüklüğün sebebini diyabetik nefropatinin gelişiminde erken ortaya çıkan hiperfiltrasyona bağlamışlardır.[77] Bununla birlikte diyabetik nefropatinin geç dönemlerinde azalmış glomerüler filtrasyon hızı, artan mikroalbüminüriye eşlik eder. Glomerülar filtrasyon hızında bir azalma da plazma homosistein konsantrasyonunda artışa sebep olur. Bu bilgiler diyabetik nefropatinin erken safhasındaki diyabetlilerdeki Hcy düşüklüğünü açıklayabilir, ancak ileri safha nefropatisi olan veya renal bozukluğu hiç olmayan hastalardaki Hcy düzeylerini açıklayamaz.

Jacobs ve ark.[6] diyabetli ratlarda Hcy düzeylerinin sağlıklı kontrollerden düşük olduğunu söylemektedirler. Ancak bu bir hayvan deneyidir. Bu araştırıcılar ratlarda streptozotosin indüklü bir diyabet oluşturmuştur. Dolayısıyla bu Tip 1 diyabet, yani insülin eksikliği olan diyabettir. Bizim hasta grubumuzda ise insülin yetmezliği olan birey yok, hatta bir kısmında hiperinsülinemi vardı. Literatürde hiperinsülinemi ile Hcy arasındaki ilişkiyi net olarak açıklayabilecek yeterli sayıda çalışma yoktur. Bu konuda

daha ileri çalışmalara ihtiyaç vardır. Ancak Jacobs ve ark.nın çalışmasında Hcy'i düşük olan bu ratlara insülin verilince Hcy düzeylerinin kontrol grubuna yaklaştığı, yani insülinin Hcy düzeylerini artırdığı belirtilmektedir. Bu sonuç ise mevcut çalışmanın sonuçlarını desteklemektedir. Bizim çalışmamızda da hem komplikasyonlu hem de komplikasyonsuz grupta insülin düzeyleri kontrol grubundan anlamlı derecede yüksekti.

Tip 2 diyabet yavaş gelişen bir hastalık olduğu için yeni teşhis edilen vakalarda bile komplikasyonlar sıktır. Tip 2 diyabetli hastalar diyabeti olmayan sağlıklı kişilerden daha yüksek mortalite, morbidite ve vasküler hastalık riskine sahiptirler. Bu artmış riski sigara, hipertansiyon, artmış kolesterol gibi genel popülasyon için risk faktörleriyle açıklamak güçtür. Son zamanlarda diyabetin komplikasyonlarının patogenezini açıklamada oksidatif strese olan ilgi giderek artmaktadır. Diyabetteki oksidatif stresin orjini hakkında ileri sürülen; protein glukozilasyonu, polyol yolunda *NADPH*'ın tüketilmesi, glukoz otooksidasyonu ve protein kinaz C'nin aktivasyonu ile ilişkili serbest radikal reaksiyonu gibi mekanizmalar mevcuttur.[13] Bu çalışmada da görüldüğü üzere Hcy'in de bu oksidatif strese katkısı var gibi gözükmektedir. Sağlıklı hücreler oksidatif stres durumuna kolayca adapte olabilirler, ancak hiperglisemik şartlarda enzimatik proteinlerin progressif gikozilasyonu onların aktivitelerinde azalmaya yol açmaktadır.[79]

Lipid peroksidasyonunun son ürünleri en yaygın olarak *TBARS* ölçümü ile tespit edilir. Lipid peroksidasyonunun bir indeksi olarak Tip 2 diyabette *TBARS*'ı ölçen ve arttığını tespit eden pek çok araştırıcı vardır.[12,16-18,65,79] *Fonseca ve ark.*[65] komplikasyonlu olsun ya da olmasın MDA düzeyleri arasında anlamlı bir fark olmadığını rapor etmiştir. Membran fosfolipidleri, özellikle de esterleşmiş poliansature yağ asitleri peroksidasyonla MDA'ya dönüşür. Bu çalışmada da MDA kontrol grubuyla karşılaştırıldığında diyabetlilerde anlamlı derecede yüksekti. Ayrıca komplikasyonlu diyabetikler de komplikasyonsuzlardan anlamlı derecede yüksek MDA düzeylerine sahipti.

Bu çalışmada beklendiği gibi HbA_{1C}, glukoz, TG, kolesterol ve LDL-K Tip 2 diyabetlilerde kontrol grubundan daha yüksek bulundu. Hatta komplikasyonlu grubun HbA_{1C} düzeyleri komplikasyonsuzlardan anlamlı olarak yüksekti. Bu verilerle çelişen bulguları rapor eden araştırıcılar da vardır. *Hoogeveen ve ark.*[80] HbA_{1C} ile tHcy arasında ilişki olmadığını, bazı araştırıcılar[79,81] komplikasyonlu ve komplikasyonsuz diyabetikler arasında HbA_{1C} düzeylerinde anlamlı bir fark olmadığını, bazı araştırıcılar da[54] lipid parametrelerinde diyabetli ve kontrol grubu arasında istatiksel fark olmadığını

belirtmektedir. Ancak TG, kolesterol ve LDL-K gibi lipid parametrelerinin Tip 2 diyabette arttığı, HDL-K'un azaldığı bilinmektedir.[16,81]

Komplikasyonlu grubun insülin düzeyleri hem komplikasyonsuz gruptan hem de kontrol grubundan anlamlı derecede yüksekti. Komplikasyonsuz grubun insülin düzeyleri de kontrol grubundan anlamlı derecede yüksekti. Bu da muhtemelen komplikasyonlu grubun %50'sinin (15 kişi), komplikasyonsuz grubun ise %13'ünün (4 kişi) insülin kullanması ve insülin rezistansındandı. C-peptit düzeylerine baktığımızda ise hem komplikasyonlu hem de komplikasyonsuz grubun değerleri kontrol grubundan anlamlı derecede yüksekti, ancak komplikasyonlu grubun C-peptit düzeyleri ile komplikasyonsuz grubun düzeyleri arasında istatistiksel fark yoktu. Çünkü diyabetli grubun ölçülen insülin değerine, eksojen olarak verilen insülinin etkisi de vardı. Eğer bu insülin düzeyine sadece endojen insülin salgısı neden olsaydı, C-peptit düzeyleri de aynı oranda artmış olması gerekirdi.

Bu çalışmada Hcy ile pek çok parametre arasında pozitif veya negatif korelasyon bulundu. Plazma Hcy düzeyleri ile MDA, *BMI*, HbA_{1C}, serum kreatinini, idrar MA/kreatinin oranı arasında pozitif korelasyonlar tespit edilirken, B_6 ve B_{12} vitamini, folik asit arasında da negatif korelasyonlar belirlendi.

Yapılan bir çalışmada plazma Hcy düzeyleri ile lipid peroksidasyonu arasında pozitif ilişki olduğu belirtilmektedir.[82] Bizim çalışmamızda da bu çalışma ile uyumlu olarak plazma Hcy'i ile MDA arasında pozitif ilişki vardı. Ancak *Fonseca ve ark.*[65] plazma Hcy düzeyleri ile MDA arasında bir ilişki bulamadığını rapor etmiştir.

Das ve ark.[28] Hindistan'daki diyabetikler üzerine yaptığı araştırmada plazma Hcy'i ile vucut ağırlığı ve kan glukozu arasında bir ilişki olmadığını, *Abdella ve ark.* [21] ise negatif bir ilişki olduğunu ve bunun düşük kilolularda vitamin eksikliği olmasından kaynaklanabileceğini rapor etmişlerdir. *Passaro ve ark.*[78] ise Hcy ile açlık glukoz düzeyleri, diyabet süresi ve HbA_{1C} arasında önemli ilişki olduğunu belirtmektedir. Bu çalışmada ise *BMI* ile Hcy arasında her üç grupta da pozitif korelasyon bulundu. Ancak bu çalışmada da *Das ve ark.* gibi Hcy ile açlık glukozu arasında bir ilişki bulanamadı. Hcy ve HbA_{1C} arasında da pozitif ilişki saptandı.

B_6 ve B_{12} vitaminleri ile folik asitin Hcy metabolizmasında koenzim olarak yer aldıklarından bahsedilmişti. Bir araştırma yaklaşık 6 hafta boyunca günlük 0,5mg-5mg folik asit tedavisinin serum tHcy düzeyini %15-%40 azaltacağını göstermiştir.[80] Bu araştırma ile birlikte pek çok araştırmada folik asitle plazma Hcy arasında negatif korelasyon olduğu ve folik asit tedavisiyle plazma Hcy düzeylerinin azaltılabileceği

belirtilmektedir.[7,32,83-86] Başka bir araştırmada günlük 0.5 mg B_{12} vitamini vermenin plazma Hcy düzeyini ortalama %7 azalttığını, günlük 16.5 mg B_6 vitamini vermenin de plazma Hcy düzeyini anlamlı derecede etkilemediği bildirilmiştir. Ayrıca yüksek plazma Hcy konsantrasyonlarıyla düşük folat, B_{12} ve B_6 vitamin düzeylerinin ilişkili olduğu yine aynı çalışmada belirtilmektedir.[84] *Boushey ve ark.*[7] da Hcy düzeylerine folatın etkisi ve aterosklerotik vasküler hastalık ile HH'yi ilişkilendiren 27 çalışmanın bir meta-analizini yapmışlardır. Onlar folat destek tedavisi uygulanarak plazma Hcy düzeylerinin azaltılabileceği ve böylece kardiyovasküler hastalıklar için koruyucu bir etki elde edilebileceği sonucuna vardılar. *Boushey ve ark.*[7] tarafından yapılan meta-analizde bu etkilerin sadece koroner arter hastalığının gelişimi için sınırlandırılmadığı ayrıca homosisteindeki artışın serebrovasküler hastalık, periferal vasküler hastalık ve venöz tromboembolizmin gelişimi için de bağımsız bir rol oynadığı sonucuna varılmıştır. Bu veriler mevcut çalışma ile uyum içindedir. Bu çalışmada plazma Hcy düzeyleri ile her 3 grupta da folik asit, B_{12} ve B_6 vitamini arasında negatif bir korelasyon bulundu.

İnsülin rezistans sendrom glukoz intöleransı, hiperinsülinemi, dislipidemi, abdominal obezite ve hipertansiyondan oluşmaktadır.[87] İnsülin rezistansı Tip 2 diyabetin tabii seyrinde erken bir anormalliktir ve kardiyovasküler hastalık için bir risk faktörüdür.

Literatürde normal sağlıklı, obez ve diyabetli bireylerin plazma insülin ve Hcy'i arasındaki ilişkisi üzerine zaten sınırlı sayıda olan raporlar da birbirleriyle çelişmektedir. Bazı araştırıcılar hiperinsülinemi ile yükselmiş Hcy düzeyleri arasında pozitif bir ilişki olduğunu,[87] bazıları akut hiperinsülineminin sağlıklı erkeklerde plazma Hcy düzeylerini azalttığını belirtirken,[88] bazı araştırıcılar da Tip 2 diyabetli hastalarda hiperinsülineminin plazma Hcy düzeylerini etkilemediğini[20,89] belirtmektedir. Bu çalışmada insülin düzeyleriyle plazma Hcy düzeyleri arasında ne hasta gruplarında, ne de kontrol grubunda herhangi bir korelasyon bulunamadı. Sağlıklı kişilerde akut hiperinsülineminin plazma Hcy düzeyini azalttığı belirtilmekte, ancak bizim çalışmamızda kontrol grubundakilerde akut hiperglisemi yoktu. Dolayısıyla normal insülin düzeylerine sahip kişilerde insülin ve Hcy arasında bir ilişki olmadığı görüldü. Hasta grubunda ise *Fonseca ve ark.*[89] ile uyumlu olarak, bu çalışmada da bir ilişki bulanamadı. Hastaların bir kısmının eksojen insülin aldığı hesaba katılırsa C-peptid düzeylerine bakmanın daha anlamlı olacağı düşünülebilir. Ancak C-peptid düzeyleriyle de bir korelasyon saptanmadı. Tip 2 diyabetli kişiler insülin etkisine rezistan oldukları için, insülinin Hcy üzerine herhangi bir etkisi, bu dirençten dolayı hastalarda görülmeyecektir.

Yapılan çalışmalarda lipid parametreleri ile Hcy arasında pozitif bir korelasyon olduğu vurgulanmaktadır.[66,90,91] Bu çalışmada lipid parametreleriyle MDA arasında bir ilişki bulunmasına rağmen, Hcy ile bir ilişki tespit edilemedi. Lipid durumunun MDA'yı etkilediği pek çok yayında belirtilmiştir.[16,92] Bu çalışmada kontrol grubundaki TG, kolesterol ve LDL-K ile MDA'nın korelasyonu da bunu göstermektedir. Yapılan bir çalışmada hiperlipidemik diyabetlilerde normolipidemik diyabetiklerden daha yüksek MDA düzeylerine sahip oldukları belirtilirken, hiperlipidemik diyabetik grubun hiperlipidemik nondiyabetik gruptan daha yüksek MDA düzeylerine sahip oldukları da belirtilmiştir.[92] Bizim çalışmamızda hasta gruplarında MDA-lipid parametreleri arasındaki korelasyonun bozulması, diyabetik hastalarda MDA düzeylerini etkileyen başka faktörlerin de olduğunu düşündürmektedir. Yani diyabette MDA yüksekliğini açıklamak için hiperlipidemiden daha başka mekanizmalara ihtiyaç vardır. *Fonseca ve ark.*[65] da diyabetteki MDA yüksekliğinin hiperlipidemiden bağımsız olduğunu rapor etmiştir. Bizim çalışmamızda hem komplikasyonlu grupta hem de komplikasyonsuz grupta MDA düzeyleri anlamlı olarak yüksekti. Komplikasyonların gelişmesinden önce bile Tip 2 diyabette lipid peroksidasyonunun artış sebebi tam olarak açık değildir.

Pek çok araştırıcı diyabette HbA_{1C} ile MDA arasında pozitif bir ilişki bulurken,[81,93,94] bir kısmı da bulamadıklarını ifade etmektedirler.[65,95,96] Bu çalışmada ise her üç grupta da pozitif ilişki bulunmuştur.

Yapılan çalışmalarda plazma Hcy konsantrasyonlarının erkek cinsiyette istatistiksel anlamlı olarak daha yüksek olduğu, bu farkın kreatin-kreatinin sentezi ile bağlantılı olarak erkeklerde daha fazla Hcy oluşmasından olabileceği, plazma Hcy düzeyleri ile HbA_{1C} ve kreatinin arasında pozitif korelasyon olduğu belirtilmektedir.[10,21,66,86] Guanidinoasetattan kreatin sentezi esnasında kreatin'in her bir molekülü için bir molekül Hcy üretilir.[21] Dolayısıyla kreatinin ve Hcy'in pozitif korele olması beklenir. Bu veriler mevcut çalışmayı onaylamaktadır. Bu çalışmada da Hcy erkek cinsiyette daha yüksek bulundu ve her üç grupta da Hcy ile kreatinin arasında pozitif korelasyon bulundu. Yüksek östrojen durumunun kas kitlesi ve beslenme durumundan bağımsız olarak serum Hcy düzeylerindeki bir azalmayla ilişkili olduğunu iddia eden raporlar da vardır.[97]

Östrojenin direkt olarak NOS aktivitesini artırdığı ve NO'in kullanılabilirliğini artırdığı genel olarak kabul edilmektedir. Hcy'in NOS aktivitesini azalttığından genel bilgiler bölümünde bahsedilmişti. Bununla birlikte peroksinitrit, süperoksid ve NO'in yüksek konsantrasyonlarda olduğu durumlarda üretilebilen ve çok sitotoksik olan bir

moleküldür. Östrojen ayrıca doz bağımlı olarak kalp kası ve plazma glutatyon *(GSH)* düzeylerini artırır. *GSH*'ın varlığı, S-nitrozoglutatyonda NO molekülünü stabilize ederek peroksinitrit oluşumunu engeller. S-nitrozoglutatyon, NO'in bir redoks formudur. Ayrıca S-nitrozoglutatyon heksoz monofosfat şantını (HMŞ) uyarır ve *GSH* sentezinin up regulasyonu ile *GSH* oluşumunu da artırır. Böylece *GSH/GSSG* sistemi kuvvetlendirilmiş olur. Ayrıca östrojen HMŞ'nın hız kısıtlayıcı enzimi olan glukoz 6 fosfat dehidrogenazın aktivitesini artırarak *NADPH*'ın kapasitesini artırır. *NADPH*, NOS'ın kofaktörüdür. Östrojen tiyol amino asit metabolizmasını, özellikle de metiyonin metabolizmasını modüle eder. Transsülfürasyon yolunu etkileyerek Hcy düzeylerini azaltır.[98]

Plazma açlık Hcy konsantrasyonlarının her iki cinsiyet arasında anlamlı farkının olmadığını rapor eden araştırıcılar da vardır. Buna rağmen bu araştırıcılar kadınların erkeklerden daha hızlı bir remetilasyon oranına sahip olduğunu da belirtmektedirler.[99]

Plazma tHcy konsantrasyonu renal klirens, sisteine transsülfürasyon ve aktive transmetilasyon ile intrasellüler Hcy metabolizması tarafından belirlenir.[86] Böbrek dokusu Hcy metabolizmasında ve atılımında majör rol oynamaktadır. Hcy 135 D molekül ağırlığına sahiptir ve normal glomerülün filtrasyon aralığı içinde yer alır. Serbest plazma Hcy konsantrasyonu 3 μmol/L, normal glomerular filtrasyon hızı da 125 ml/dk kabul edilirse normalde günlük filtre edilen miktar 0.5 mmol'dur. Serbest Hcy glomerüllerden ultrafiltre edilir ve hemen hemen tamamı (%99) proximal tubuluslardan reabsorbe edilir. Ancak transmetilasyon ve transsülfürasyon vasıtası ile böbrek dokusunda parçalanır. İdrarda normalde günde 6 μmol atılır.[100] *Bostom ve ark.*[101] ratlarda plazma Hcy klirensinin major fraksiyonunun tubuler reabsorbsiyonu takiben renal dokuda parçalanması olduğunu göstermiştir. Ayrıca böbrek dokusu kreatinin atılmasında da temel rol oynar. Bu yüzden kreatinin ve Hcy düzeyleri birbiriyle ilişkilidir.[86,102] Kronik renal yetmezlikli hastalarda tHcy düzeylerinin genel populasyondan 2-4 kat daha yüksek olduğu belirtilmektedir.[102]

Mikroalbuminürinin erken dönem diyabetik böbrek fonksiyonunun iyi bir göstergesi olduğu belirtilmektedir. Hcy metabolizmasında böbrek fonksiyonunun önemli rolü olmasına rağmen mikroalbuminuri ile Hcy arasındaki ilişki açık değildir. Mikroalbuminuri ile plazma Hcy'i arasında ilişki olduğunu bildiren pek çok araştırma olmasına rağmen[24,25,103], aksini iddia eden araştırıcılar da vardır.[15,86] Mevcut çalışmada ise her 3 grupta da mikroalbuminuri ile plazma Hcy'i arasında korelasyon vardı.

Ayrıca nöropati ve retinopati olup olmamasının plazma Hcy'ini etkilemediği vurgulanmıştır.[20,21] Başka araştırmalarda ise etkilediği belirtilmiştir.[104,105] Bizim çalışmamızda da nöropati ve retinopatisi olan Tip 2 diyabetlilerin plazma Hcy düzeylerinin istatistik olarak komplikasyonu olmayan gruptan farklı olmadığını görüldü.

6. SONUÇ

Elde edilen bulgular ve mevcut literatür ışığında şu sonuçlara varılabilir:

1. Tüm dünyada ve bizim toplumumuzda gerçekten büyük sorun oluşturan Tip 2 diyabetin Hcy ile ilişkisini araştırmaya yönelik olan bu çalışmada komplikasyonsuz diyabetlilerde Hcy düzeyleri ile lipid peroksidasyonunun göstergesi olan MDA düzeyleri kontrol grubuna göre yüksek olmasına rağmen, Hcy artışı istatistiksel olarak anlamlı olmadığı için Hcy'in DM'ün gelişiminde bir katkısı olabileceği kanaatine varılamadı.

2. Ancak komplikasyonlu grupla kontrol grubu arasındaki Hcy ve MDA'nın istatistiksel olarak farklı çıkmasından dolayı Tip 2 diyabetin komplikasyonlarına yol açabileceği sonucuna varıldı.

3. Diyabet kontrolü (HbA_{1C}) ile plazma Hcy'i arasında, hasta grubunda çok daha kuvvetli olmak üzere, hem hasta hem de kontrol gruplarında pozitif korelasyon tespit edildi.

4. Sadece komplikasyonlu grupta diyabet süresi ile plazma Hcy'i arasında pozitif korelasyon olduğu görüldü. Bu da artan diyabet süresi ve komplikasyonların gelişimi ile Hcy metabolizmasında görev alan doku, organ ve enzimlerin hasara uğramış olmasından kaynaklanabilir.

5. Ayrıca kronik komplikasyonlar içinde en yüksek Hcy düzeyleri nefropatili veya makrovasküler komplikasyonu olanlarda görüldü.

6. Retinopati ve nöropatisi olanların Hcy düzeyleri komplikasyonsuz diyabetiklerle karşılaştırıldığında aralarındaki farkın istatiksel olarak anlamsız olduğu sonucu elde edildi. Ancak, diyabet sürecinin başlaması ile birlikte bir HH sürecinin de başladığı ve diyabet ilerledikçe ilerlediği rahatlıkla söylenebilir.

7. KAYNAKLAR

1. Stamm EB, Reynolds RD. Plasma total homocyst(e)ine may not be the most appropriate index for cardiovascular disease risk. J Nutr 1999; 129:1927-1930
2. Miner SES, Evrovsky J, Cole DEC. Clinical chemistry and molecular biology of homocysteine metabolism: an update. Clin Biochem 1997; 30:189-201
3. Prasad K. Homocysteine, a risk factor for cardiovascular disease. Int J Angiol 1999; 8:76-86
4. Rasmussen K, Moller J. Total homocysteine measurement in clinical practice. Ann Clin Biochem 2000; 37:627-648
5. Hoogeveen EK, Kostense PJ, Beks PJ, Mackaay AJ, Jakobs C, Bouter LM, Heine RJ, Stehouwer CD. Hyperhomocysteinemia is associated with an increased risk of cardiovascular disease, especially in non-insulin-dependent diabetes mellitus: a population-based study. Arterioscl Throm Vas 1998; 18:133-8
6. Jacobs RL, Hause JD, Brosnan ME, Brosnan JT. Effects of streptozotocin-induced diabetes and of insulin treatment on homocysteine metabolism in the rat. Diabetes 1998; 47:1967-1970
7. Boushey CY, Beresford SAA, Omenn GS, Motulsky AG. A quantitative assessment of plasma homocysteine as a risk factor for vascular disease. JAMA 1995; 274:1049-1057
8. Laakso M. Cardiovascular disease in type 2 diabetes: challenge for treatment and prevention. J Intern Med 2001; 249:225-235
9. Gürsu MF, Baydaş G, Cikim G, Canatan H. Insulin increases homocysteine levels in a dose-dependent manner in diabetic rats. Arch Med Res 2002; 33:305-307
10. Ozmen B, Ozmen D, Turgan N, Habif S, Mutaf I, Bayindir O. Association between homocysteinemia and renal function in patients with type 2 diabetes mellitus. Ann Clin Lab Sci 2002; 32:279-86
11. Bush CP, Hegele RA. Genetic determinants of type 2 diabetes mellitus. Clin Genet 2001; 60:243-254
12. Memişoğulları R, Taysi S, Bakan E, Capoglu I. Antioxidant status and lipid peroxidation in type 2 diabetes mellitus. Cell Biochem Funct 2003; 21:291-296

13. Östenson CG. The pathophysiology of type 2 diabetes mellitus: an overview. Acta Physiol Scand 2001; 171:241-247

14. Bakan E. Diabetli Hasta Nötrofillerinde Fagositik İndeks ile Plazma Membran Proteinlerinin Glikozillenmesi Arasındaki İlişki. Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı, Doktora Tezi, Erzurum, 1985

15. Smulders YM, Rakic M, Slaats EH, Treskes M, Sijbrands EJG, Stehouwer CDA, Silberbruch J. Fasting and post-metionine homocysteine levels in NIDDM. Diabetes Care 1999; 22:125-132

16. Memişoğulları R, Bakan E. Levels of ceruloplasmin, transferrin, and lipid peroxidation in serum of patients with type 2 diabetes mellitus. J Diabetes Complicat 2003; baskıda

17. Habif S, Turgan N, Mutaf I, Aytaçlar F, Hamulu F, Bayındır O, Yılmaz C. Plasma catalase, glutathione peroxidase and selenium levels in adult diabetic patients. Tr J Med Sci 1997; 27:139–141

18. Şekeroğlu MR, Şahin H, Dülger H, Algün E. The effect of dietary treatment on erythrocyte lipid peroxidation, superoxide dismutase, glutathione peroxidase, and serum lipid peroxidation in patients with type 2 diabetes mellitus. Clin Biochem 2000; 33:669-674

19. Hofmann MA, Kohl B, Zumbach MS, Borcea V, Bierhaus A, Henkels M, Amiral J, Fiehn W, Ziegler R, Wahl P, Nawroth PP. Hyperhomocyst(e)inemia and endothelial dysfunction in IDDM. Diabetes Care 1997; 20:1880-1886

20. Buysschaert M, Dramais AS, Wallemacq PE, Hermans MP. Hyperhomocysteinemia in type 2 diabetes: relationship to macroangiopathy, nephropathy, and insulin resistance. Diabetes Care 2000; 23(12):1816-22

21. Abdella NA, Mojiminiyi OA, Akanji AO, Moussa MA. Associations of plasma homocysteine concentration in subjects with type 2 diabetes mellitus. Acta Diabetol 2002; 39:183-190

22. Araki A, Sako Y, Ito H. Plasma homocysteine concentrations in Japanese patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus. Atherosclerosis 1993; 103:149-57

23. Munshi MN, Stone A, Fink L, Fonseca V. Hyperhomocysteinemia following a methionine load in patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus and macrovascular disease. Metabolism 1996; 45:133-5

24. Agardh CD, Agardh E, Anderson A, Hultberg B. Lack of association between plasma homocysteine levels and microangiopathy in type 1 diabetes mellitus. Scand J Clin Lab Inv 1994; 54:637-641

25. Chico A, Perez A, Cordoba A, Arcelus R, Carreras G, de Levia A, Gonzalez-Sastre E, B lanco-Vaca F. Plasma h omocysteine i s r elated t o a lbumin e xcretion r ate i n patients with diabetes mellitus: a new link between diabetic nephropathy and cardiovascular disease?. Diabetologia 1998; 41:684-693

26. Pavia C, Ferrer I, Valls C, Artuch R, Colome C, Vilaseca MA. Total homocysteine in patients with type 1 diabetes. Diabetes Care 2000; 23: 84-87

27. Cotellessa M, Minniti G, Cerone R, Prigione F, Calevo MG, Lorini R. Low total plasma homocysteine concentrations in patients with type 1 diabetes. Diabetes Care 2001; 24:969-970

28. Das S, Reynolds T, Patnaik A, Rais N, Fink LM, Fonseca VA. Plasma homocysteine concentrations in type 2 diabetic patients in India: relationship to body weight. J Diabetes Complicat 1999; 13:200-203

29. Robillon JF, Canivet B, Candito M, Sadoul JL, Jullien D, Morand P, Chambon P, Freychet P. Type 1 diabetes mellitus and homocyst(e)ine. Diabetes Metab 1994; 20:494-496

30. Ueland PM, Refsum H. Plasma homosysteine, a risk factor for vascular disease; plasma levels in health, disease, and drug therapy. J Lab Clin Med 1989; 114:473-501

31. Finkelstain JD. Homocysteine: A history in progress. Nutr Rev 2000; 58:193-204

32. Temel İ, Özerol E. Homosistein metabolizma bozuklukları ve vasküler hastalıklarla ilişkisi. İnönü Üniversitesi Tıp fakültesi Dergisi 2002; 9:149-157

33. Schneede J, Refsum H, Ueland PM. Biological and environmental determinants of plasma homocysteine. Semin Thromb Hemost. 2000; 26:263-79

34. Okada E, Tohda G, Oida K, Kosaka S, Tada H, Takahashi S, Asazuma K, Miyamori I, Eguchi K. Hyperhomocysteinemia is a risk factor for coronary arteriosclerosis in japanese Patients with type 2 diabetes. Diabetes Care 1999; 22:484-490

35. Blom HJ. Consequences of homocysteine export and oxidation in the vascular system. Semin Thromb Hemost 2000; 26:227-232

36. Welch GN, Loscalzo J. Homocysteine and atherothrombosis. New Eng J Med 1998; 338:1042-1050

37. Loscalzo J. The oxidant stress of hyperhomocyst(e)inemia. J Clin Invest 1996; 98:5-7

38. Franklin HE, Welch GN, Loscalzo J. Homocysteine and atherothrombosis. New Engl J Med 1998; 338:1042-1050

39. De Jong SC, van den Berg M, Rauwerda JA, Stehouwer CDA. Hyperhomocysteinemia and atherothrombotic disease. Semin Thromb Hemost 1998; 24:381-385

40. Rolland PH, Friggi A, Barlatier A, Piquet P, Latrille V, Faye MM, Guillou J, Charpiot P, Bodard H, Ghiringhelli O, Calaf R, Luccioni R, Garcon D. Hyperhomocysteinemia induced vascular damage in the minipig. Captopril-hydrochlorothiazide combination prevents elastic alterations. Circulation 1995; 91:1161-1174

41. Bellamy MB, McDowell IFW, Ramsey MW, Brownlee M, Bones C, Newcombe RG, Lewis MJ. Hyperhomocysteinemia after an oral methionine load acutely impairs endothelial function in healthy adults. Circulation 1998; 98:1848-1852

42. Lentz SR, Sobey CG, Piegors DJ, Bhopatkar MY, Faraci FM, Malinow MR, Heistad DD. Vascular dysfunction in monkeys with diet-induced hyperhomocyst(e)inemia. J Clin Invest 1996; 98:24-29

43. Stamler JS, Osborne JA, Jaraki O, Rabbani LE, Mullins M, Singel D, Loscalzo J. Advers vascular effects of homocysteine are modulated by endothelium-derived relaxing factor and related oxides of nitrogen. J Clin Invest 1993; 91:308-318

44. Rodgers GM, Cohn MT. Homocysteine, an atherogenic stimulus, reduces protein C activation by arterial and venous endothelial cells. Blood 1990; 75:895-901

45. Fortin LJ, Genest J Jr. Measurement of homocyst(e)ine in the prediction of arteriosclerosis. Clin Biochem 1995; 28:155-162

46. Harpel PC, Chang VT, Borth W. Homocysteine and other sulfhydryl compounds enhance the binding of lipoprotein (a) to fibrin: a potential biochemical link between thrombosis, atherogenesis and sulfhydryl compound metabolism. Proc Natl Acad Sci USA 1992; 89:10193-10197

47. Harker LA, Slichter SJ, Scott CR, Ross R. Homocystinemia. Vascular injury and arterial thrombosis. N Engl J Med 1974; 291:537-543

48. Sacks DB. Diabetes Mellitus. In: Burtis CA, Ashwood ER, (Ed). Tietz Texbook of clinical chemistry. Philadelphia: WB Saunders Co, 1999: 766-776.

49. Alper G. Diyabet. In: Onat T, Emerk K, Sözmen EY, (eds). İnsan Biyokimyası. Ankara, Palme Yayıncılık, 2002: 248-257

50. Huysal K. Tip II Diabetlilerde eritrosit glutatyon redüktaz, glutatyon peroksidaz, süperoksit dismutaz, katalaz aktiviteleri, hemoglobin glikozilasyonu ve lipid peroksidasyununun incelenmesi. Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı, Uzmanlık Tezi, Erzurum, 1999

51. American Diabetes Association (ADA) Web site: http:/www.diabetes.org (12.6.2003)

52. Based on American Diabetes Association: clinical practice recommendations 1999. Diabetes Care 1999; 22 (suppl 1):1-114

53. Gürlek A. Diyabetik nefropati. In: İliçin G, Biberoğlu K, Süleymanlar G, Ünal S, Akalın S, (eds). Temel İç Hastalıkları. Ankara, Güneş Kitabevi, 1997, 19-21

54. Delen Y. Tip 2 diyabetes mellitus'a bağlı olarak gelişen mikrovasküler ve makrovasküler komplikasyonlara hiperhomosisteineminin katkısı ve homosistein metabolizmasını etkileyen faktörler. Ege Üniversitesi Tıp fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı, Uzmanlık Tezi, İzmir, 1999

55. Umudum FZ, Yücel O, Şahin YN, Bakan E. Erythrocyte membrane glycation and Na+-K+ levels in NIDDM. J Diabetes Complicat 2002; 16:359-362

56. Bakan E, Bakan N. Glycosylation of nail in diabetics: possible marker of long-term hyperglycemia. Clin Chim Acta 1985; 147:1-5

57. UK Prospective Diabetes Study Group. Intensive blood-glucose control with sulphonylureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patients with type 2 diabetes (UKPDS33). Lancet 1998; 352:837-53

58. Stratton IM, Adler AI, Neil HA, Matthews DR, Manley SE, Cull CA, Hadden D, Turner RC, Holman RR. Association of glycaemia with macrovascular and microvascular complications of type 2 diabetes (UKPDS 35): prospective observational study. BMJ 2000; 321(7258):405-12

59. Hori S. Guidelines for the management of diabetic retinopathy for the internist. Journal of the Japan Medical Association 2000; 123/3:365-369

60. Wilson JD, Foster DW, Kronenberg HM, Larsen PR. Williams Textbook of Endocrinology. Philadelphia 9th edition 1998 by Saunders Company

61. Jain SK, McVie R Duett J, Herbst JJ. Erythrocyte membrane lipid peroxidation and glycocylated hemoglobin in diabetes. Diabetes 1989; 38:1539-43.

62. Ueland PM, Mansoor MA, Guttormsen AB, Muller F, Aukrust P, Refsum H, Svardal AM. Reduced, oxidized and protein-bound forms of homocysteine and other aminothiols in plasma comprise the redox thiol status--a possible element of the extracellular antioxidant defense system. J Nutr 1996; 126(4 Suppl):1281S-4S

63. Carlsen S, Folling I, Grill V, Bjerve KS, Schneede J, Refsum U. Metformin increases total serum homocysteine levels in nondiabetic male patients with coronary heart disease. Scand J Clin Invest 1997; 57:521-528

64. Aarsand AK, Carlsen SM. Folate administration reduces circulating homocysteine levels in NIDDM patients on long-term metformin treatment. J Intern Med 1998; 244:169-74

65. Fonseca VA, Stone A, Munshi M, Baliga BS, Aljada A, Thusu K, Fink L, Dandona P. Oxidative stress in diabetic macrovascular disease: does homocysteine play a role? South Med J 1997; 90:903-6

66. Nygard O, Vollset SE, Refsum H, Stensvold I, Tverdal A, Nordrehaug JE, Ueland M, Kvale G. Total plasma homocysteine and cardiovascular risk profile. The Hordaland Homocysteine Study. JAMA 1995; 274:1526-33

67. Brattstrom L, Lindgren A, Israelsson B, Andersson A, Hultberg B. Homocysteine and cysteine: determinants of plasma levels in middle-aged and elderly subjects. J Intern Med 1994; 236:633-41

68. Araki A, Sako Y, Fukushima Y, Matsumoto M, Asada T, Kita T. Plasma sulfhydryl-containing amino acids in patients with cerebral infarction and in hypertensive subjects. Atherosclerosis 1989; 79:139-46

69. Malinow MR, Levenson J, Giral P, Nieto FJ, Razavian M, Segond P, Simon A. Role of blood pressure, uric acid, and hemorheological parameters on plasma homocyst(e)ine concentration. Atherosclerosis 1995; 114:175-83

70. Ueland PM, Refsum H, Stabler SP. Total homocysteine in plasma or serum: Methods and clinical applications. Clin Chem 1993; 39:1764-1779

71. Çakır E. Yüksek basınçlı sıvı kromatografi ile plazma homosistein ölçümü ve klinik uygulamaları. GATA Biyokimya Anabilim Dalı, Uzmanlık Tezi, Ankara, 1997

72. Chadefaux B, Coude M, Hamet M, Aupetit J, Kamoun P. Rapid determination of total homocysteine in plasma. Clin Chem 1998; 35:2002

73. Sigit JI, Hages M, Brensing KA, Frotscher U, Pietrzik K, von Bergmann K, Lutjohann D. Total plasma homocysteine and related amino acids in end-stage renal disease (ESRD) patients measured by gas chromatography-mass spectrometry--comparison with the Abbott IMx homocysteine assay and the HPLC method. Clin Chem Lab Med 2001; 39:681-90

74. Onat A. Türk Erişkinlerinde Kalp Sağlığının Dünü ve Bugünü (Tek Harf Çalışması), Karekter Color Basımevi, 1996: 103-111

75. Satman İ, Yılmaz MT, Uygur S, Dinççağ N, Karşıdağ K, Baştar İ, Sargın M, Şengül AM, Salman F, Salman S, Tütüncü Y. Yüksek Riskli Bireylerde ADA ve WHO Kriterlerinin Karşılaştırılması. XXXV. Ulusal Diyabet Kongresi ve IV. Uluslar arası Obezite Sempozyumu Bildiri Kitabı, 10-15 Mayıs 1999, İstanbul, s:14

76. Erem C, Yildiz R, Kavgaci H, Karahan C, Deger O, Can G, Telatar M. Prevalence of diabetes, obesity and hypertension in a Turkish population (Trabzon city). Diabetes Res Clin Pract 2001; 54:203-8

77. Abdella N, Mojiminiyi OA, Akanji AO. Homocysteine and endogenous markers of renal function in type 2 diabetic patients without coronary heart disease. Diabetes Res Clin Pract 2000; 50:177-185

78. Passaro A, D'Elia K, Pareschi PL, Calzoni F, Carantoni M, Fellin R, Solini A. Factors influencing plasma homocysteine levels in type 2 diabetes. Diabetes Care 2000; 23:420-421

79. Kedziora-Kornatowska KZ, Luciak M, Blaszczyk J, Pawlak W. Lipid peroxidation and activities of antioxidant enzymes in erythrocytes of patients with non-insulin dependent diabetes with or without diabetic nephropathy. Nephrol Dial Transplant 1998; 13:2829-32

80. Hoogeveen EK, Kostense PJ, Jakobs C, Dekker JM, Nijpels G, Heine RJ, Bouter LM, Stehouwer CDA. Hyperhomocysteinemia increases risk of death, especially in type 2 diabetes. Circulation 2000; 101:1506-1511

81. Kesavulu MM, Rao BK, Giri R, Vijaya J, Subramanyam G, Apparao C. Lipid peroxidation and antioxidant enzyme status in Type 2 diabetics with coronary heart disease. Diabetes Res Clin Pract 2001; 53:33-9

82. Voutilainen S, Morrow JD, Roberts LJ 2nd, Alfthan G, Alhò H, Nyyssonen K, Salonen JT. Enhanced in vivo lipid peroxidation at elevated plasma total homocysteine levels. Arterioscl Throm Vas 1999; 19:1263-6

83. Andreotti F, Burzotta F, Manzoli A, Robinson K. Homocysteine and risk of cardiovascular disease. J Thromb Thrombolys 2000; 9:13-21

84. Clarke R. Lowering blood homocysteine with folic acid based supplements: meta-analysis of randomised trials. Homocysteine lowering trialists' colloboration. BMJ 1998; 316:894-898

85. Malinow MR, Axthelm MK, Meredith MJ, MacDonald NA, Upson BM. Synthesis and transsulfuration of homocysteine in blood. J Lab Clin Med 1994; 123:421-429

86. Wollesen F, Brattström L, Refsum H, Ueland PM, Berglund L, Berne C. Plasma total homocysteine and cysteine in relation to glomerular filtration rate in diabetes mellitus. Kidney Int 1999; 55:1028-1035

87. Giltay EJ, Hoogeveen EK, Elbers JM, Gooren LJ, Asscheman H, Stehouwer CD. Insulin resistance is associated with elevated plasma total homocysteine levels in healthy, non-obese subjects. Atherosclerosis 1998; 139:197-8

88. Nagai Y, Takamura T, Nohara E, Yamashita H, Kobayashi K. Acute hyperinsulinemia reduces plasma concentrations of homocysteine in healthy men. Diabetes Care 1999; 22:1004

89. Fonseca VA, Mudaliar S, Schmidt B, Fink LM, Kern PA, Henry RR. Plasma homocysteine concentrations are regulated by acute hyperinsulinemia in nondiabetic but not type 2 diabetic subjects. Metabolism 1998; 47:686-9

90. Arnesen E, Refsum H, Bonaa KH, Ueland PM, Forde OH, Nordrehaug JE. Serum total homocysteine and coronary heart disease. Int J Epidemiol 1995; 24:704-9

91. Pancharuniti N, Lewis CA, Sauberlich HE, Perkins LL, Go RC, Alvarez JO, Macaluso M, Acton RT, Copeland RB, Cousins AL, et al. Plasma homocyst(e)ine,

folate, and vitamin B-12 concentrations and risk for early-onset coronary artery disease. Am J Clin Nutr 1994; 59:940-8

92. Nacitarhan S, Özben T, Tuncer N. Serum and urine malondialdehyde levels in NIDDM patients with and without hyperlipidemia. Free Radical Bio Med 1995; 19:893-896

93. Altomare E, Vendemiale G, Chicco D, Procacci V, Cirelli F. Increased lipid peroxidation in type 2 poorly controlled diabetic patients. Diabetes Metab 1992; 18:264-71

94. Velazquez E, Winocour P H, Kesteven P, Alberti K G, Laker M F. Relation of lipid peroxides to macrovascular disease in type 2 diabetes. Diabet Med 1991; 8:752-8

95. Akkuş I, Kalak S, Vural H, Çağlayan O, Menekşe E, Can G, Durmuş B. Leukocyte lipid peroxidation, superoxide dismutase, glutathione peroxidase and serum and leukocyte vitamin c levels of patients with type II diabetes mellitus. Clin Chim Acta 1996; 244:221-227

96. Griesmacher A, Kindhauser M, Andert SE, Schreiner W, Toma C, Knoebl P, Pietschmann P, Prager R, Schnack C, Schernthaner G, et al. Enhanced serum levels of thiobarbituric-acid-reactive substances in diabetes mellitus. Am J Med 1995; 98:469-75

97. Morris M, Jacques P, Selhub J, Rosenberg I. Total hcy and estrogen status indicators in the third National Health and Nutritional Examination Survey. Am J Epidemiol 2000; 152:140-148

98. Dimitrova KR, DeGroot K, Myers AK, Kim YD. Estrogen and homocysteine. Cardiovasc Res 2002; 53:577-588

99. Fukagawa NK, Martin JM, Wurthmann A, Prue AH, Ebenstein D, O'Rourke B. Sex-related differences in methionine metabolism and plasma homocysteine concentrations. Am J Clin Nutr 2000; 72:22-9

100. Friedman AN, Bostom AG, Selhub J, Levey AS, Rosenberg IH. The kidney and homocysteine metabolism. J Am Soc Nephrol 2001; 12:2181-2189

101. Bostom A, Brosnan JT, Hall B, Nedeau MR, Sehub J. Net uptake of plasma homocysteine by the rat kidney in vivo. Atherosclerosis 1995; 116:59-62

102. Audelin MC, Genest J. Homocysteine and cardiovascular disease in diabetes mellitus. Atherosclerosis 2001; 159:497-511

103. Hoogeveen EK, Kostense PJ, Jager A et al. Serum homocysteine levels and protein intake are related to risk of microalbuminuria: the Horn study. Kidney Int 1998; 54:203-209

104. Hoogeveen EK, Kostense PJ, Eysink PE, Polak BC, Beks PJ, Jakobs C, Dekker JM, Nijpels G, Heine RJ, Bouter LM, Stehouwer CD. Hyperhomocysteinemia is associated with the presence of retinopathy in type 2 diabetes mellitus: the Hoorn study. Arch Intern Med 2000; 160:2984-90

105. Ambrosch A, Dierkes J, Lobmann R, Kuhne W, Konig W, Luley C, Lehnert H. Relation between homocysteinaemia and diabetic neuropathy in patients with Type 2 diabetes mellitus. Diabet Med 2001; 18:185-92

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI

BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

PLAZMA HOMOSİSTEİN DÜZEYLERİ İLE TİP 2 DİYABET, KOMPLİKASYONLARI, KONTROLÜ VE SÜRESİ ARASINDAKİ İLİŞKİNİN ARAŞTIRILMASI

Dr. Ramazan MEMİŞOĞULLARI

Uzmanlık Eğitimine Başlama Tarihi	: 24.08.1999
Uzmanlık Eğitimini Bitirme Tarihi	: 06.11.2003
Uzmanlık Sınav Tarihi	: 06.11.2003
Tez Danışmanı	: Prof. Dr. Ebubekir BAKAN
Jüri Üyesi	: Prof. Dr. Yaşar Nuri ŞAHİN
Jüri Üyesi	: Prof. Dr. Fatih AKÇAY
Jüri Üyesi	: Prof. Dr. Erhan VAROĞLU
Jüri Üyesi	: Yrd. Doç. Dr. Ali ŞAHİN
Anabilim Dalı Başkanı	: Prof. Dr. Ebubekir BAKAN

Kasım 2003
ERZURUM

T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ