

T1177

T.C.  
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ  
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**DIABETES MELLİTUS VE KOAGÜLASYON İNHİBİTÖRLERİ :**  
**METABOLİK KONTROL VE RETİNOPATİ İLE İLİŞKİLER**

( İç Hastalıkları Uzmanlık Tezi )

T1177/1-1

**Dr. Hasan Altunbaş**

Tez danışmanı : Doç. Dr. Ümit Karayalçın

( Kaynakça gösterilerek tezinden yararlanılabilir )

ANTALYA - 1996

## TEŐEKKÜR

Tezimin hazırlanmasının her aŐamasında bilgi ve yardımlarını esirgemeyen değerli hocam Sayın Doç.Dr.Ümit Karayalçın'a; laboratuvar çalışmaları ve istatistiklerinin yapılmasında en büyük desteği gördüğüm değerli hocam Sayın Doç.Dr.Levent Ündar'a; laboratuvar çalışmalarında titiz çalıŐmalarıyla yardımlarını esirgemeyen Sayın Kim.Müh.Firuzan Öztürk'e; yazım aŐamasında her an yardım aldığım değerli arkadaşım Dr.Mehmet Meriç'e ve yetişmemde emeği geçen değerli hocalarım adına Anabilim Dalı Başkanımız Sayın Prof.Dr.GülŐen Yakupoğlu'na teŐekkürü borç bilirim.

Dr.Hasan Altunbaş

# İÇİNDEKİLER

GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
GENEL BİLGİLER.....	4
DİABETES MELLİTUS'UN KRONİK KOMPLİKASYONLARI.....	8
HİPERGLİSEMİ İLE KOMPLİKASYONLAR ARASINDAKİ İLİŞKİ.....	14
Retinopati ve Hiperglisemi.....	17
Nefropati ve Hiperglisemi.....	19
Nöropati ve Hiperglisemi.....	21
Makrovasküler Komplikasyonlar ve Hiperglisemi.....	23
HİPERGLİSEMİNİN NEDEN OLABİLECEĞİ DOKU HASARININ MEKANİZMALARI.....	27
DİABETTE KOAGÜLASYONUN AKTİVASYONU VE HİPERGLİSEMİ.....	30
Hemostaz Mekanizması.....	31
Koagülasyonun Fizyolojik Sınırlandırılması.....	36
Fibrinolizis.....	39
Fibrinolizis İnhibitörleri.....	41
DİABET VE KOAGÜLASYON İNHİBİTÖRLERİ.....	41
Diabet ve Antitrombin III.....	42
Diabet ve TAT Kompleks.....	47
Diabet ve Heparin Kofaktör II.....	49
Diabet ve Protein C, Protein S.....	50
Diabet ve $\alpha$ 2 Makroglobulin.....	56
MATERYAL VE METOD.....	58
SONUÇLAR.....	63
TARTIŞMA.....	69
ÖZET.....	81
KAYNAKLAR.....	83

## GİRİŞ VE AMAÇ

Diabetes Mellitus(DM)'lu hastalarda mortalite ve morbiditenin en önemli nedeni makrovasküler ve mikrovasküler komplikasyonlardır<sup>1</sup>. Non-İnsülin Dependent Diabetes Mellitus (NIDDM)'lu hastaların %75-80'inin ölüm nedenini myokard infarktüsü ve serebrovasküler stroke gibi akut vasküler olaylar oluşturmaktadır<sup>2,3,4</sup>. Vasküler hastalığın patogenezinde arteryel hipertansiyon, lipid anormallikleri, sigara içimi gibi major kardiovasküler risk faktörlerinin yanında, hemostaz sistemi bozuklukları da sorumlu tutulmaktadır<sup>5</sup>. Bununla uyumlu olarak, diabette çeşitli çalışmalar ile hiperkoagülabl bir durum olduğu gösterilmiştir. Trombosit agregasyonunda ve aktivasyonunda artma, koagülasyon faktörlerinin bazılarında artma, fibrinolitik sistemde bozukluklar, kan viskozitesinin artışı tek başına ya da beraberce bundan sorumlu tutulmuşlardır<sup>6</sup>. Hiperkoagülabl ortamın diabetik makro- ve mikrovasküler hastalıkların patogenezinde rolü olabileceği düşünülmesine ve bu konudaki çok sayıdaki araştırmaya rağmen kesin sonuç alınmış değildir. Ayrıca koagülasyon bozukluklarının diabetik vaskülopatinin nedeni mi yoksa sonucu mu olduğu da tartışmalıdır. Ancak henüz vasküler hasar olmadığı düşünülen İnsülin Dependent Diabetes Mellitus (IDDM)'lu çocuklarda diabetin erken dönemlerinde de hemostatik bozukluklar olması, bunların diabetik vaskülopatiye yol açtığı görüşünü desteklemektedir<sup>6,7</sup>.

Diabette, makrovasküler komplikasyonlar yanında, nefropati ve retinopati gibi kronik komplikasyonlara neden olan mikroanjiopatinin patogeneğinde trombosit, koagülasyon ve endotel bozukluklarının olabileceği düşünülmektedir<sup>2,8,9</sup>. Bu komplikasyonların oluşumunda kapiller mikrosirkülasyonun azalması ve kapiller mikrotrombüslerin sorumlu olduğu ileri sürülmektedir<sup>10</sup>. Diabetik retinopatinin erken dönemlerinde retinal kapillerlerde mikrotrombüsler saptanmıştır<sup>11</sup>. Diabetik nefropatinin başlaması ve progresyonunda sistemik ve intrarenal hemodinamik bozuklukların major faktörler olduğu düşünülmesine rağmen<sup>12</sup>, nefropatinin erken göstergesi sayılan mikroalbuminürisi ve makroalbuminürisi olanlarda, normoalbuminürisi olanlara göre, albuminürinin derecesi ile orantılı olarak koagülasyon bozukluklarının olduğu gösterilmiştir<sup>13,14</sup>. Son zamanlarda, büyük damarların vazo vazorumlarının hiperaktif trombositler tarafından mikroembolizasyonunun aterosklerozun gelişiminde ilk bulgu olduğundan da bahsedilmektedir<sup>15</sup>.

Bir çok çalışmada koagülasyon bozukluklarının hiperglisemi ile ilişkili olduğu gösterilmiş ve hipergliseminin hangi mekanizmalar ile hiperkoagülabl duruma neden olabileceği araştırılmıştır. Koagülasyon faktörlerinin, koagülasyon inhibitörlerinin ve trombositlerin membran proteinlerinin nonenzimatik glikozilasyonunun, bu proteinlerin

fonksiyonunu değiştirdiği görüşü en fazla taraftar sahibi olanıdır<sup>2,16</sup>. Ayrıca, diabetiklerde koaglasyonu aktive etme özelliğine sahip serbest radikallerin oluşturduğu oksidatif stresin glisemi düzeyi ile orantılı bir Şekilde artmış olduğunun gösterilmesi araştırmaları bu yöne de kaydirmiştır<sup>2,17,18,19,20,21,22</sup>.

Bu çalışmanın amacı: 1-Diabetteki hiperkoaglabl duruma neden olabilecek ve Őimdiye kadar yapılan çalışmalarda çelişkili sonuçlar bildirilen bazı doğal antikoagülanların ( Antitrombin III (ATIII), Protein C (PC), Protein S (PS), Heparin kofaktör II (HCII) ), diabetik olmayan kontrollerle karşılaştırılması, 2-Bu antikoagülanların, normoglisemi sağlanmasıyla antijen düzeyleri ve/veya fonksiyonlarındaki muhtemel değişmelerinin araştırılması, 3-Aynı parametrelerin retinopati ile ilişkilerinin araştırılmasıdır.

## GENEL BİLGİLER

Diabetes Mellitus toplumda en yaygın olarak rastlanan metabolizma hastalığıdır. Sıklığının %4-6 arasında olduğu tahmin edilmekle beraber ülke ve ırka göre farklı oranlar bildirilmektedir. Yaşla beraber görülme sıklığı artar. İnsülinin yokluğuna, eksikliğine ya da etkisizliğine bağlı olarak ortaya çıkan hiperglisemi bu hastalığın temel özelliğidir. Teşhisten sonra gliseminin ayarlı durumda tutulması diabetin ortadan kalktığını göstermez. Yani DM klinik gidiş ve komplikasyonları ile sadece glükoz yüksekliğinden ibaret değildir. Metabolik anormallikler yanında göz, böbrek, sinir sistemi ve kan damarlarını etkileyen kronik komplikasyonlar ve elektron mikroskopi ile gösterilebilen bazal membran lezyonları ile karakterizedir.

**Teşhis :** Diabet tanısında 1979 yılında "The National Diabetes Data Group of The National Institutes of Health"ın önerdiği kriterler kullanılmaktadır:

- 1-Açlık (overnight) kan glükozunun 140 mg/dLden büyük olması
- 2-Şüpheli durumlarda 75 g glükoz alımını takiben glisemi düzeyinin 2.saatte 200 mg/dL' den büyük olması ve en az bir glükoz düzeyinin 200 mg/dL' yi geçmesi<sup>23</sup>.

**Diabetes Mellitusun Laboratuvar Bulguları :** Diabetik bir hastanın değerlendirilmesinde kan ve plazma glükoz ölçümü, idrarda ve keton

tayini, bazı durumlarda insülin ve C peptid tayini yapılmalıdır. Diabetik hastalarda ateroskleroz riski arttığından kolesterol, HDL-kolesterol, trigliseridlerin tayini yararlı olabilir. İlk değerlendirme sırasında ve tedavinin etkinliğinin izleniminde glikozile hemoglobin (HbA1) yararlıdır.

**Glikozile Hemoglobin- Glikohemoglobin-** Glükoz ile hemoglobin moleküllerinin  $\beta$  zincirlerinin N terminal amino asidinin ketoamin reaksiyonu sonucu oluşur. En büyük bölümünü oluşturan HbA1c total hemoglobinin %4-6'sını oluşturur. Diğer glikohemoglobinler (HbA1a, HbA1b), %2-4 arasında bulunur. HbA1c yerine total HbA1 de kullanılabilir.

Hemoglobinin glikozilasyonu irreversibl olup, glikohemoglobinin yarı ömrü eritrositlerin yaşam süresine bağlıdır. Böylece glikohemoglobin 8-12 haftalık bir sürenin glisemi düzeyini yansıtır. %4-8 arası değerler diabetin iyi kontrol edildiğini gösterir<sup>24</sup>.

**Proteinüri-** Diabetin renal komplikasyonlarının ilk göstergesi proteinürüdür. Normal şahıslar genelde 150mg/günden az protein ekskrete ederler. Rutin dipstick metodu ile ancak 200 mg/L (300 mg/gün) üzeri proteinüriler saptanabilir<sup>25</sup>. Proteinüri saptanınca 24 saatlik idrarda kantitatif tayin ve kreatinin klirensi tesbit edilmelidir.

**Mikroalbuminüri-** Üriner albumin ekskresyonu (UAE) albustickler ile ancak 200 mg/L üzerinde saptanabilmesine karşın, radyoimmunoassay gibi



metodlarla çok düşük konsantrasyonlarda dahi tesbit edilebilmektedir. Normal şahıslar 15 mg/dak'dan az albumin ekskrete ederler. 20 mg/dak (30 mg/gün) üzeri anormal kabul edilir ve 20-200 mg/dak (30-300 mg/gün) arası mikroalbuminüri olarak adlandırılmaktadır.

IDDM'lulardaki mikroalbuminüri, proteinürinin artacağı ve nefropatinin progresyonunun erken bir göstergesi olarak kabul edilmektedir<sup>12,25,26,27,28,29,30,31</sup>. NIDDM'lularda ise mikroalbuminürinin nefropati açısından prediktif değeri biraz daha düşüktür. Bunun yanında nefropati dışında mortalite artışında da mikroalbuminürinin yüksek prediktif değere sahip olduğu düşünülmektedir. Böylece, sadece böbrek hastalığından ziyade, jeneralize vasküler, muhtemelen endotelial hastalığın bir göstergesi olarak da değerlendirilmektedir<sup>5,13,25,26,27,29,30,32,33,34,35,36</sup>. Bazı çalışmalarda ise, mikroalbuminürinin nefropati ve mortalite için prediktif özelliği gösterilememiştir<sup>37</sup>.

Diabette artan UAE'nun, erken dönemde metabolik bozukluğun bir sonucu olduğu, albuminüri düzeyinin HbA1c ile korele olduğu, öglisemi sağlanmasının UAE'nu azalttığı ve aşikar nefropatiye gidişi geciktirdiği genellikle kabul edilmektedir<sup>1,25,29,38</sup>.

Metabolik bozukluğun olmadığı durumlarda albumürinin hiperfiltrasyonun bir sonucu olduğu, erken dönemde por büyüklüklerinin arttığı, daha ileri dönemlerde glomerüloskerozun geliştiği ve albumürinin doğrudan bununla ilişkili olduğu görüşleri ortaya atılmıştır<sup>25</sup>.

IDDM'lularda glisemi kontrolü yanında, kan basıncının angiotensin konverting enzim (ACE) inhibitörleri ile kontrolü ve protein kısıtlamasının albumin ekskresyonunu azalttığı bilinmektedir<sup>12,25,26,27,29,30,38</sup>. NIDDM'lularda ayrıca hipokalorik zayıflatıcı diyetin de albumüriniyi azaltmada etkili olduğu bildirilmiştir<sup>25</sup>.

Albumürinin, diabetik retinopatisi olanlarda, olmayanlara göre daha fazla olduğu ve proliferatif retinopati için bir risk göstergesi olabileceği düşünülmektedir<sup>28,39</sup>. Bu konudaki bazı çelişkili yayınlara rağmen bu durum mikroalbuminüriklerde oftalmolojik takibin önemini ortaya koymaktadır<sup>39</sup>.

Hemostatik anormallikler ve aterojenik lipid profili ile mikroalbuminüri arasında korelasyon olduğu değişik çalışmalarda gösterilmiştir.

NIDDM'luları kapsayan bir çalışmada ise mikroalbuminürikler ile normoalbuminürikler lipid profili, koagülasyon ve fibrinolitik parametreler

açısından karşılaştırılmış ve fibrinojen, F VIII, fibrin monomer, TAT III, Antitrombin III, D-Dimer, t-PA (tissue plasminogen activator), PAI-1 (plasminogen activator inhibitor-1), Total Kolesterol, LDL-kolesterol, HDL-kolesterol, Trigliserid, Lipoprotein (a) açısından aralarında anlamlı fark olmadığı; ancak plasminojen ve  $\alpha$ 2 antiplasminin mikroalbuminüriklerde yüksek olduğu bunun da kardiovasküler mortalitede sorumlu olabilecek fibrinolizisteki inhibisyonun bir göstergesi olabileceği bildirilmiştir<sup>13</sup>.

### ***DIABETES MELLİTUSUN KRONİK KOMPLİKASYONLARI***

Diabetin seyri sırasında yanlış olarak komplikasyon olarak adlandırılan, aslında diabetin bir parçası olan değişik organlarda çeşitli patolojik değişiklikler görülmektedir. İnsülinin keşfinden sonra hastalar daha uzun yaşadıklarından uzun dönemde oluşan komplikasyonlar da artmıştır. Vasküler sistem, göz, böbrek ve sinirler ile deride oluşan bu patolojilere ek olarak enfeksiyonlara karşı direncin azalması, lipoprotein metabolizmasındaki anormalilere sık olarak rastlanır. Bu komplikasyonlar diabetiklerin bir kısmında hiç görülmezken bazılarında erken olarak oluşmaktadır. Ancak daha çok, kontrol altında olmayan diabetiklerde 15-20 yıl sonunda görülmektedir<sup>23</sup>. IDDM'lularda böbrek yetmezliği en fazla ölüm nedeni olduğu halde, NIDDM'lularda makrovasküler hastalıklar en fazla ölüm nedenidir. Körlük her iki tipde de görülmesine rağmen ciddi

proliferatif retinopati IDDM'da daha sıktır. Diabetik nöropati her iki tipde de görülürken, otonomik nöropati IDDM'lularda daha sıktır<sup>24</sup>.

### **A-Diabetin Vasküler Komplikasyonları :**

a- Mikrovasküler Hastalık : Küçük arterler, prekapiller arterioller, kapillerler ve venüllerde yerleşir. Kapiller bazal membranda kalınlaşma, endotel proliferasyonu ile PAS(+) madde birikimi vardır. Bunlar diabete özgü lezyonlardır ve hemen tüm organlarda görülür<sup>40</sup>. Ekstremitelerde damarlarını tutarak ayakta beslenme bozukluğuna ve ayrıca böbrek, retina ve sinirleri etkileyerek ileride anlatılacak önemli tablolara yol açarlar.

b- Makrovasküler Hastalık : Diabetteki büyük damar hastalığı aslında aterosklerozun akselere formudur. Myokard infarktüsü, stroke, periferik gangren, erkekte vasküler nedenli impotans gibi olaylardan sorumludur. Kardiovasküler patolojiler sık olmakla kalmayıp daha genç yaşta ve daha ciddi klinik tablolara seyrederek. Bu akselere aterosklerozun nedeni bilinmemektedir. Muhtemelen multifaktöriyeldir. Lipoproteinlerin nonenzimatik glikozilasyonu önemli olabilir<sup>23</sup>. Glikozillenmiş lipoproteinlerin turn overleri ve doku depolanma yerleri değişir. Hiperlipoproteinemi olmasa dahi bu aterosklerozu arttırabilir. Ayrıca kontrol dışı diabetiklerde HDL-kolesterol düzeyinin azaldığı bildirilmiştir<sup>41</sup>. Bunun dışında oksitlenmiş LDL ateroskleroz patogenezinde önemli olabilir. Bu LDL normal reseptörü dışında başka bir reseptöre bağlanmaktadır.

Makrovasküler hastalığın oluşumunda endotel hücrelerin anormalliği de sorumlu tutulmuştur. Artan tromboxane A2 sentezi veya azalan prostasiklin sentezi nedeniyle trombosit adhezyon ve agregasyonunda artma, koagülasyon parametrelerindeki değişiklikler, eritrosit anormallikleri gibi teoriler ortaya atılmıştır. Ayrıca vazo vazorumların mikrotrombüsler ile tıkanmasının ateroskleroza neden olduğu iddia edilmiştir<sup>23,24</sup>.

### **B-Diabetik Retinopati :**

Körlüğün en önde gelen nedenlerindendir. Diabetiklerin %85'inde retinopati gelişmektedir. Yeni teşhis edilen körlüklerin de %25'inden diabetik retinopati sorumludur. Ancak bazı diabetiklerde bu komplikasyon hiç bir zaman gelişmez<sup>42,43,44</sup>.

#### a-Nonproliferatif Retinopati ( Basit, Zemin, Background Retinopati )-

En erken bulgu kapiller permeabilite artışıdır. Gliseminin kontrolü ile geri döndürülebilir. Daha sonra retinal kapillerlerin oklüzyonu, sakküler ve fuziform anevrizmaların oluşumu, arteriovenöz shuntlar görülebilir. Vasküler lezyonlara damarların etrafını destekleyen ve çevreleyen perisitlerin kaybı ve endotel hücrelerin proliferasyonu eşlik eder. Sert ve yumuşak eksüdalar görülebilir. Sert eksüdalar zarar görmüş kapillerlerden protein ve lipidlerin sızmasıyla oluşur. Atılmış pamuk tarzı yumuşak eksüdalar retinal

mikroinfarktların neden olduğu nonperfüze alanlardır. Retinal hemorajiler de görülebilir.

Nonproliferatif retinopatide görülen bu değişikliklerin nedeni tam olarak bilinmemektedir. Destekleyici kapiller perisitlerin kaybı, endotelyal proliferasyon, eritrosit deformabilitesinin azalması ile hiperviskozite, trombüs oluşumuna neden olan koagülasyon aktivasyonu ve fibrinolizisde azalma tek başına ya da birlikte sorumlu tutulmuşlardır<sup>41,44</sup>. Nonproliferatif retinopatilerin %10-18'inde 10 yıl içinde proliferatif retinopatiye dönüş olmaktadır.

b-Proliferatif Retinopati-IDDM'lularda daha sık olan bu tip retinopatinin en önemli özelliği yeni damar (neovaskülarizasyon) ve skar oluşumudur. İleri dönemde traksiyon sonucu kanama ve retina dekolmanı görülebilir. Bu da görmenin ciddi bir biçimde kaybı ve körlüğe neden olabilir. Neovaskülarizasyon için stimulusun kapiller ya da arterioler tıkanıklık nedeniyle oluşan hipoksi olduğu, lokal olarak sentezlenen büyümeyi arttırıcı faktörlerin de katkıda bulunduğu düşünülmektedir<sup>23,41</sup>.

### **C- Diabetik Nefropati :**

Diabette renal tutulum önemli morbidite ve mortalite nedenlerinden birisidir. A.B.D.'de tüm son dönem böbrek hastalarının yaklaşık yarısı

diabetik nefropati nedeniyledir<sup>42</sup>. IDDM'luların yaklaşık %40-50 sinde bu komplikasyon görülürken, NIDDM'lularda bu oran daha azdır.

Diabetik nefropatide iki ayrı patolojik durum vardır : Diffuz ve nodüler. Daha sık olan diffuz tipde glomerüler bazal membranlarda diffuz olarak kalınlaşma ile birlikte yaygın mesengial volüm artışı vardır. Nodüler formda ise PAS (+) materyalin glomerüler yumağın periferinde birikimi ile Kimmelstiel-Wilson lezyonu olarak bilinen oluşumlar vardır. Diabetik glomerülosklerozun en spesifik lezyonları afferent arteriollerde hyalinizasyon ve Kimmelstiel-Wilson nodülleridir. Klinik olarak renal disfonksiyonla histolojik anormallikler arasında korelasyon yoktur.

Diabetik nefropati 10-15 yıl boyunca silik seyreder. Diabetin başlangıcında glomerüler filtrasyon hızı (GFR) normalin %40'ı kadar arttığı için glomerüler hipertrofi olur ve böbrekler büyüktür. Sonraki safha mikroalbuminüri safhasıdır (20-200 mg/dak, 30-300 mg/gün). Önceleri geçici iken sonra devamlı olur. Zamanla makroproteinüri gelişir. Nefrotik sendrom safhasından da geçilebilir. Bundan sonra renal fonksiyonda GFR'de aylık 1 ml/dak azalma olur. Bunu azotemi dönemi takip eder.

Diabetik nefropatinin spesifik bir tedavisi yoktur. Kan glükozunun sıkı kontrolü mikroalbuminüriyi düzeltir ve renal progresyonu yavaşlatır. Protein

kısıtlaması yararlıdır. Hipertansiyon varsa tedavi edilmelidir. Hipertansiyon olmasa bile ACE inhibitörlerinin mikroalbuminüriyi azalttığı bildirilmiştir. Azotemik döneme gelince tedavi diğer renal yetmezliği olanlar gibidir.

#### **D- Diabetik Nöropati :**

Diabette beyin dışında tüm sinir sistemi tutulabilir. Diabetik nöropati doğrudan ölüme neden olmamasına rağmen morbiditenin önemli nedenlerindedir.

Periferik nöropati en sık görülen şekildir (Sistemik Distal Polinöropati). Genellikle bilateraldir. Uyuşukluk, parastezi, hiperestezi, ağrı bulunabilir. Çorap eldiven tarzı duyu kaybı karakteristiktir. Ağrılar özellikle geceleri artar. En erken bulgu vibrasyon duyusunun kaybı ve germe refleksinin yokluğudur<sup>23</sup>.

Diabetik nöropatide tesbit edilen morfolojik bulgu segmenter demyelinizasyondur. Bu lezyonun Schwann hücrelerindeki bozukluktan ileri geldiği sanılmaktadır<sup>40</sup>. Simetrik nöropatinin nöron ya da Schwann hücrelerindeki metabolik anormallikler, asimetric nöropatilerin vasküler oklüzyon ya da iskemi nedeniyle olduğu düşünülmektedir<sup>41</sup>. Diabette aynı zamanda sorbitol yolunun hiperaktif olduğu ve nöropatinin patogeneğinde bunun rolü olabileceği de düşünülmektedir<sup>40</sup>. Son yıllarda bu görüşe



dayanarak kullanılan aldoz redüktaz enzimi inhibitörleri ile iyi sonuçlar alınabileceğine dair yayınlar olmasına rağmen klinik veriler tartışmalıdır<sup>23</sup>.

### **HİPERGLİSEMİ İLE KOMPLİKASYONLAR ARASINDAKİ İLİŞKİ**

Diabetes Mellituslu hastalarda önemli morbidite ve mortalite nedeni olan makro ve mikrovasküler komplikasyonlar ile kan glükozunun devamlı yüksekliği arasındaki bağlantıyı tesbit etmek tedavinin amaçlarını ve genel prensiplerini belirlemek açısından önemlidir. Burada şu soru ortaya çıkmaktadır : Bu komplikasyonlar hiperglisemi nedeniyle mi gelişmektedir, yoksa hiperglisemiden bağımsız olarak genetik ya da başka faktörler mi sözkonusudur ? Bu diabette cevap bekleyen en önemli sorulardan birisidir.

HLA-DR4 doku grubuna sahip olanlarda retinopatinin sık görülmesi, komplikasyonlu diabetiklerin ailelerinde de sık komplikasyona rastlanması, yeni başlayan IDDM'li'larda diabete özgü komplikasyonların görülebilmesi, bazı kötü kontrollü diabetiklerde hiç komplikasyon gelişmez iken çok iyi kontrollü olanlarda komplikasyona rastlanması, genetik bir predispozisyon olabileceğini düşündürmektedir.

400 hastanın katıldığı "The Diabetic Retinopathy Study" de 40 yaşından sonra ve 20 yıllık diabet sonrasında kalıcı proteinüri gelişimi belirgin bir

biçimde azalmıştır. Yüksek kan glüközu olanlarda kan basıncı da yüksekse kalıcı proteinüri riski 4 misli artmaktaydı. Kan glüközu normal olanlarda hipertansiyon aynı etkiyi yapmamıştır. Buna dayanılarak hipertansiyona genetik yatkınlığı olan kişilerde hipergliseminin varlığında renal hastalığın gelişiminin arttığı düşünölebilir. Diabetin 20 yıldan fazla olduğu durumlarda nefropati riskinin azalması komplikasyonlardan koruyucu bir genetik zemin olduğunu işaret edebilir<sup>45</sup>.

Diabetik mikroanjiopatinin en sık rastlanan özelliklerinden birisi de kapiller bazal membran kalınlığında artma olmasıdır. Bazal membran kalınlaşmasının fonksiyonel önemi kesin bilinmemektedir. Bazal membran kalınlaşması IDDM, NIDDM ve sekonder diabetiklerde yani genetik olarak heterojen gruplarda da görölebilmektedir. Aynı genetik yapıya sahip olan tek yumurta ikizlerinde diabetin seyri ve bazal membran kalınlaşmasında farklılık saptanmıştır<sup>46</sup>. İskelet kası kapillerlerindeki bazal membran kalınlaşması metabolik kontrolün sağlanmasıyla normale dönebilmektedir. Tüm bu bulgular bazal membran kalınlaşmasının sadece genetik yapıyla açıklanamayacağını gösterir<sup>47</sup>. Ancak ailesinde bilinen diabeti olan ve glüköz tolerans testi normal olan erişkinlerde iskelet kası kapiller bazal membranlarında kalınlaşma olması bu düşünceyle çelişkili bir durum yaratmaktadır.

Ayrıca diabetin klasik komplikasyonları sekonder diabette de görülebilmektedir. Diabetik hastalara transplante edilen sağlam böbreklerde de nefropati gelişebilmektedir. IDDM'lu bir hastadan alınan ve glomerüloskleroz, mesangial matriks artışı ve kapiller bazal membran kalınlaşması olan bir böbrek, polikistik böbrek hastalığı olan hastaya transplante edildikten sonra tüm histolojik bulguların normale geldiği görülmüştür<sup>43,48</sup>. Krolewski'nin yaptığı çalışmalarda renal hastalık için en önemli riskin kan glüközünün kötü kontrolü olduğu ve bunun hipertansiyona genetik olarak yatkınlığın bulunmasıyla arttığı gösterilmiştir. Bu çalışmalar diabetik komplikasyonların gelişiminde glisemik kontrol ve hereditenin kombine rol oynayabileceğini düşündürmektedir.

Glisemi düzeyi ile renal ve retinal komplikasyonlar arasındaki ilişki uzun süreli glüköz kontrolünü gösteren glikozile hemogloblin ve erken renal hasarı gösteren mikroalbuminürinin bakılmadığı 1980 öncesinde güvenilir bir biçimde araştırılmıyordu<sup>43</sup>. Retrospektif çalışmalarda metabolik kontrol ile komplikasyonların varlığı ve ciddiyeti arasında korelasyon olduğundan bahsedilmekteydi<sup>49,50,51</sup>. Bu çalışmalarda kötü kontrollü diabetiklerde komplikasyonlar daha fazla olmakta ve diabetin süresi arttıkça ciddiyeti artmaktaydı. Bazı çalışmalarda ise komplikasyonlar ile kısa süreli kan glüközü kontrolünün korelasyonundan bahsedilmiştir<sup>42</sup>.

Daha sonraları yapılan çok sayıdaki hayvan ve insan modellerindeki çalışmalarda hipergliseminin komplikasyonların patogenezindeki rolünden bahsedilmesine rağmen<sup>52,53</sup> intensiv tedavi ile komplikasyonların nasıl seyrettiği hakkında yeterli bilgi yoktur. Bu konuda insanlarda yapılan en büyük araştırmalardan birisi olan " The Diabetes Control And Complications Trial-DCCT " bu önemli soruya cevap vermektedir. İleride de ayrıntısıyla bahsedilecek olan bu çalışmada, kan glükozunu normale yakın tutmanın IDDM'lerde, mikrovasküler komplikasyonları geciktirdiği gösterilmiştir<sup>1</sup>.

#### RETİNOPATİ VE HİPERGLİSEMİ :

Pirart tarafından 1947 ile 1973 arasında izlenen 4400 diabetik hastada retinopatinin ciddiyeti ve sıklığı, gliseminin kontrolü ve diabetin süresi ile ilişkili idi. 25 yılın sonunda kötü kontrollülerin %80'inde retinopati gelişirken, iyi kontrollülerin ancak %40'ında retinopatiye rastlanmıştır. Bunların da ancak çok azında ciddi retinopati görülmüştür. Oysa bu oran kötü kontrollülerde %15 civarında bulunmuştur<sup>50</sup>. Johnson'un 1922-1945 yılları arasında izlediği diabetiklerin retrospektif incelenmesinde sıkı diyet ve multipl insülin uygulanarak iyi kontrol sağlananlarda, kötü kontrollülere göre daha az ciddi retinopatiye rastlanmıştır<sup>49</sup>. The Steno Study Group'un yaptığı prospektif bir çalışmada CSII ile konvansiyonel metod karşılaştırılmış ve ilk grupta bir yıl sonunda retinopatide kötüleşme

görülmüştür. Oysa iki yıldan sonra, aynı grupta, retinopatide düzelme gözlenmişken konvansiyonel tedavi grubunda ilerlemeye devam etmiştir<sup>54,55</sup>. Glükoz kontrolünün sağlanmasıyla beraber başlangıçta görülen retinopatideki geçici ilerleme başka araştırmacılar tarafından da gözlenmiştir. 70 hastalık The Kroc Collaborative Multicenter Study ve 45 hastalık Oslo Study araştırmalarında CSII ile sağlanan sıkı glisemik kontrolle retinopati önceleri ilerlemiş, ancak iki yıllık takip sonunda konvansiyonel metoda göre daha az retinopatiye rastlanmıştır<sup>56,57,58</sup>.

The Dallas Diabetes Prospective Trial'da IDDM'lu 30 hasta CSII ile, 24 hasta konvansiyonel metodla tedavi edilmiş ve 30 aylık izlemin sonunda CSII grubunun retinopatide daha az ilerleme gösterdiği bulunmuştur<sup>59,60</sup>. The Job Study'de tek doz insülin tedavi grubu ile multipl insülin tedavi grubu karşılaştırılmış ve retinal mikroanevrizmalarda ilk grupta daha fazla artış saptanmıştır<sup>61</sup>. NIDDM'luları kapsayan bir çalışmada da retinopati için belirleyici faktörlerin HbA1c ile diabetin süresi olduğu bildirilmiştir<sup>42,62</sup>. 1988 yılında yapılan bir büyük çalışmada da IDDM ve NIDDM'lularda retinopatinin insidans ve progresyonu ile HbA1c arasında güçlü bir korelasyon olduğu bulunmuştur<sup>52</sup>.

Bunlardan daha farklı sonuçlar bildiren araştırmalar da vardır<sup>63</sup>. Aarhus Group'un 24 minimal nonproliferatif retinopatilide yaptığı prospektif bir

çalışmada 1 ve 3 yıl sonunda CSII ile konvansiyonel metod arasında fark bulunamamıştır<sup>64,65</sup>. The Oxford Aylesburg Study'de önceleri nonproliferatif retinopatisi olan 74 diabetikte, konvansiyonel ve multipl insülin metodu ile retinopatide önemli ölçüde ilerleme saptanmıştır<sup>66</sup>. IDDM'lu olup pankreas transplantasyonu ile normoglisemi sağlanan 22 hastada diabetik retinopatinin başarısız transplantasyon geçiren 12 hastaya göre fark göstermediği gözlenmiştir<sup>67</sup>.

#### NEFROPATİ VE HİPERGLİSEMİ :

Kan glükozu ile renal hastalığın gelişimi arasındaki ilişkiyi araştıran çok sayıda araştırma vardır. En eskilerinden birinde 1922-1935 yılları arasında 56 hastayı içeren ve multipl insülin enjeksiyonu ve sıkı diyetle diabeti kontrol edilen grup ile, 1935-1945 yılları arasında izlenen 104 hastayı içeren ve diyete daha az uyup uzun etkili insülin kullanılan grup karşılaştırılmış ve ilk grupta diabet süresi daha uzun olmasına rağmen daha az nefropati saptanmıştır. 1947 ile 1973 yılları arasında Pirart'ın takip ettiği 4400 hastada glisemi kontrolü bozuk olanlarda nefropati insidansının daha fazla olduğu saptanmıştır<sup>50</sup>. 230 IDDM'luyu kapsayan bir başka çalışmada kötü kontrollü olanların daha fazla albuminüri düzeyine sahip oldukları ve nefropatinin öncelikle glüköz kontrolü, daha az olarak da diabetin süresi ile ilişkili olduğu bildirilmiştir<sup>42</sup>.

The Steno Group tarafından CSII ile tedavi edilenlerde, konvansiyonel metoda göre, UAE hızında anlamlı azalma bildirilmiştir. Bu The Kroc Study'nin sonuçları ile uyumludur<sup>56</sup>. The Dallas Study üç yıllık takip boyunca mikroalbuminüriklerde konvansiyonel metod ile albuminüride progresif artış bildirilirken CSII grubunda değişiklik gözlenmemiştir<sup>69</sup>. The Stockholm Group çalışmasında normoalbuminürik olan konvansiyonel tedavi grubunda, 18 ay sonunda, mikroalbuminüriye progresyon gözlenmiştir. Oysa intensif tedavi grubunda değişme olmamıştır<sup>70</sup>. The Oslo Study'de 3 yıllık insülin pompa tedavisi ile albuminüride, konvansiyonel tedavi ile gözlenmeyen anlamlı azalma saptanmıştır<sup>71</sup>.

GFR hesaplanarak böbrek fonksiyonunun değerlendirildiği çalışmalar da mevcuttur. The Steno Grup çalışmasında CSII ile tedavi edilen diabetiklerde GFR 6 ayda normale indikten sonra 8 yıl boyunca stabil kalırken, konvansiyonel tedavi gören diabetiklerde progressif olarak azalmıştır<sup>72,73</sup>. Aarhus Group çalışmasında insülin pompası ile GFR normal seviyeye inerken konvansiyonel tedavi grubunda değişiklik olmamıştır<sup>64</sup>. The Oslo Group çalışmasında ise insülin pompası kullanılırken GFR'de anlamlı düşme saptanmışken, multipl injeksiyon ya da konvansiyonel tedavi uygulananlarda değişiklik gözlenmemiştir<sup>58</sup>. Burada pompa uygulananlarda kan glükoz kontrolü multipl injeksiyon uygulananlara göre daha iyi bulunmuştur. Aarhus ve Oslo çalışmalarında glikozile hemoglobin ile GFR

arasında korelasyon bulunmuştur. Bunun aksine The Stockholm Group'un yaptığı çalışmada sıkı kan glüköz kontrolü ile HbA1c'de anlamlı düşme olmasına rağmen 3 yıl sonunda GFR'de anlamlı azalma gözlenmiştir<sup>74</sup>. İki ayrı kontrollü klinik araştırmada, diabetin intensif tedavisinin aşikar proteinüriye gidişi azalttığı gösterilmiştir. Bununla beraber, intensif tedavinin nefropatinin ilerlemiş safhalarında progresyon üzerine etkisi olamayacağı düşünülmektedir<sup>63,75</sup>. ACE inhibitörleri ile hipertansiyonun tedavisi, hipertansiyonu olmayanlarda bile mikroalbuminüriyi azaltmakta, mikroalbuminüriden makroalbuminüriye geçişi ertelemekte, aşikar proteinürisi olanlarda protein ekskresyonunu azaltmakta, GFR'deki düşmeyi azaltmaktadır. Aynı şekilde diyetteki protein kısıtlaması da mikroalbuminüriyi ve proteinüriyi azaltır ve GFR'deki düşmeyi yavaşlatır<sup>76</sup>. Sonuçta glüköz kontrolünün iyi sağlanması ile albumürinin ve hiperfiltrasyonun azaltılabileceği düşünülmektedir.

#### NÖROPATİ VE HİPERGLİSEMİ :

Pirart'ın yaptığı çalışmada nöropatinin glisemik kontrolü kötü olanlarda daha sık ve ciddi olduğu gösterilmiştir<sup>50</sup>. The Dallas Study'de insülin pompa tedavisiyle 6 haftalık izlem sonunda motor sinir iletim hızında düzelme görülürken, konvansiyonel tedavi grubunda ise değişiklik görülmemiştir<sup>77</sup>. Young tarafından motor, sensoryel ve otonomik sinir



fonksiyonu ile glisemik kontrolün bağlantısından bahsedilmiştir<sup>78</sup>. Başka çalışmalarda da benzer sonuçlar alınmıştır<sup>79,80,81</sup>.

The Stockholm Group intensif tedavi ile 36 ay sonunda peroneal, tibial ve sural sinirlerde azalmış olan ileti hızlarında artma olduğu bildirilmiştir<sup>82</sup>.

The Oslo Study'de de insülin pompası kullanımı ile aynı sinirlerin ileti hızlarında artma olurken, konvansiyonel tedavi grubunda ileti hızında azalma bildirilmiştir. Multipl injeksiyon uygulananlarda ise değişiklik görülmemiştir<sup>83</sup>.

The Steno ve Aarhus Group'un çalışmalarında otonom sinir sistemi fonksiyonları araştırılmış, konvansiyonel tedavi görenlerde bozulma saptanırken, insülin pompası kullananlarda değişiklik görülmemiştir<sup>53,84</sup>.

Vibrasyon duyumu hakkındaki araştırmaların sonuçları ise tartışmalıdır. The Stockholm<sup>82</sup>, Steno<sup>55</sup> ve Oslo<sup>83</sup> çalışmalarında glükoz kontrolü ne olursa olsun vibrasyon duyumu değişmezken, Oxford ve Aarhus çalışmalarında intensif tedavi ile sağlanan glükoz kontrolü vibrasyon duyumu eşğinde düzelmeye yol açmıştır<sup>66,84</sup>.

12 IDDM'lyu içeren bir çalışmada konvansiyonel insülin tedavisi ile CSII karşılaştırılmış ve 8 ayın sonunda vibrasyon duyumu ile sinir ileti hızında

CSII grubunda düzelme saptanmıştır<sup>80</sup>. 74 IDDM'lyu kapsayan bir çalışmada MSII ile konvansiyonel tedavi karşılaştırılmış ve MSII grubunda 2 yıl sonunda vibrasyon duyumunda düzelme saptanırken diğer grupta ilerleme görülmüştür<sup>66</sup>.

#### MAKROVASKÜLER KOMPLİKASYONLAR VE HİPERGLİSEMİ :

Kardiovasküler hastalıklar IDDM, NIDDM ve diabeti olmayan kimselerde benzer özelliklere sahiptir. Ancak diabette, özellikle kadınlarda daha fazla ve daha genç yaşta görüldüğü düşünülmektedir. Asemptomatik koroner arter hastalığı ve myokard infarktüsü muhtemelen, diabetiklerde diabetik olmayanlara göre daha fazla değil iken<sup>85,86</sup>, atipik anginal semptomlar, konjestif kalp yetmezliğine yol açan koroner iskemi daha fazladır<sup>85,87</sup>. Diabetik hastalarda myokard infarktüsünden ölüm, diabetik olmayanlara göre daha fazladır. İntensif tedavi rejimleri diabette aterojenik lipid profilini düzeltebilir<sup>76</sup>. Kardiovasküler olaylarda önemli bir risk faktörü olarak görülen fibrinojenin, kötü kontrollü diabetiklerde yüksek olduğu gösterilmiştir<sup>3</sup>. Kardiovasküler hastalıkların, özellikle koroner arter hastalığının, nefropatisi olan diabetiklerde daha fazla olduğu bildirilmiştir<sup>76</sup>.

Kardiovasküler olaylar üzerine glisemik kontrolün etkisini araştıran az sayıda araştırma vardır. Diabette makrovasküler hastalıklar için risk oluşturan hipertansiyon, lipid anormallikleri ve obeziteye sık

rastlanmaktadır. Bu konuda yapılan araştırmalardan birisi de "The Framingham Heart Study"ye katılan kişilerin bir kısmı (1045 hasta) üzerinde 1986-1989 yılları üzerinde yapılmıştır. HbA1c değeri yüksek olan kadınlarda kardiovasküler hastalıkların (koroner arter hastalığı, stroke, geçici iskemik atak) daha sık olduğu bulunmuştur. HbA1c ayrıca hipertansiyon, total kolesterol/HDL-kolesterol oranı ile güçlü bir şekilde ilişkili bulunmuştur. Oldukça yaşlı insanları kapsayan bu çalışmada (median yaş 74(K), 73(E)) erkeklerde HbA1c ile kardiovasküler hastalıklar arasında bağlantı bulunamaması belki de erkeklerin hipergliseminin aterojenik etkisinden etkilenerek daha erken ölmüş olabileceği ile açıklanabilir<sup>88</sup>.

NIDDM'luları içeren diğer bir çalışmada ise intensif tedavi ile kardiovasküler morbidite ve mortalite üzerine glisemi kontrolünün etkisinin olmadığı bildirilmiştir<sup>89</sup>.

Diabet ve komplikasyonlarının glisemi düzeyi ile ilişkisini araştıran en büyük araştırmalardan birisi IDDM'lularda yapılan "The Diabetes Control And Complications Trial-DCCT"dır<sup>1</sup>. Bu çok merkezli randomize çalışmaya 1441 IDDM'lu (726'sı retinopatisiz, 715'i nonproliferatif retinopatili) hasta alınmış ve ortalama 6.5 yıl takip edilmişlerdir. Çalışmada intensif insülin tedavisi ile konvansiyonel tedavi vasküler, nörolojik, retinopatik ve

nefropatik komplikasyonlar açısından karşılaştırılmıştır. İntensif tedavi ile kan glüköz düzeyi, hipoglisemi riski 2-3 misli artmasına rağmen, normal ya da normale yakın tutulmuştur. Bu grupta, retinopati riskinde, konvansiyonel metodla tedavi gören ve glisemi kontrolü daha bozuk olanlara göre anlamlı düşme saptanmıştır. Bu grupta başlangıçta retinopatide görülen ilerleme, daha önceki benzer çalışmaların sonuçları ile uyumludur. Bu ilerleme hekimi intensif tedaviden vazgeçirmemelidir. Uzun dönemdeki sonuçlar konvansiyonel metoda göre daha iyi bulunmuştur<sup>48,59,60,61,64,65,70,82,90,91</sup>. Yine intensif tedavi grubundaki hastalarda, albuminüri düzeyinde, konvansiyonel tedavi grubuna göre anlamlı azalma saptanmıştır. Bunun renal yetmezliğin ilerlemesinde yavaşlamaya neden olabileceği düşünülebilir, ancak daha uzun süreli takiplere gerek vardır.

Nörolojik muayene, otonom sinir testleri ve sinir ileti hızları ile saptanan nöropatide, intensif tedavi grubunda, konvansiyonel tedavi grubuna göre anlamlı düzelme saptanmıştır.

Makrovasküler (kardiovasküler ve periferik vasküler) olayların sıklığında, intensif tedavi ile, konvansiyonel tedavi grubununa göre, anlamlı olmayan bir azalma görülmüştür. Ayrıca her iki grup arasında mortalite oranı

açısından anlamlı fark bulunamamıştır. Bu hayal kırıcı sonuçlara rağmen ileri araştırmalara gerek vardır.

Bu çalışma sadece IDDM'lerini kapsamasına rağmen NIDDM'lerinde da öglisemin veya normale yakın gliseminin komplikasyonları önlemede etkili olacağı düşünülmektedir. Ancak sadece IDDM'lerini kapsaması, ön planda makrovasküler morbidite ve mortaliteden ziyade mikrovasküler komplikasyonları araştırması nedeniyle, farklı etyoloji, epidemioloji ve kliniğe sahip NIDDM'ler için aynı sonuçların öne sürülemeyeceği de iddia edilmiştir<sup>53</sup>. Yakın zamanlarda başlanan ve halen devam etmekte olan 1400 NIDDM'liyi kapsayan bir başka büyük araştırmada hastalar, intensif tedavi alan ve konvansiyonel tedavi alan gruplar olarak ayrılmışlar ve makrovasküler hastalıklar (nonfatal myokard infarktüsü, konjestif kalp yetmezliği, stroke, amputasyon, kardiovasküler ölüm), mikrovasküler hastalıklar (retinopati, nöropati, nefropati) ve lipid anormallikleri açısından araştırmaları planlanmıştır. Bu çalışmanın sonuçlarının bu konudaki bir çok soruya cevap vereceği umulmaktadır.

## HİPERGLİSEMİNİN NEDEN OLABİLECEĞİ DOKU HASARININ

### MEKANİZMALARI

Hipergliseminin hangi yolla doku hasarına yol açtığı konusu tartışmalıdır. Bu mekanizmaların genetik faktörlerden nasıl etkilendiği, aynı hiperglisemiye maruz kalan tüm vücut dokularında aynı etkiye sahip olup olmadığı cevap bekleyen sorulardır.

Bir teoriye göre hiperglisemi hemodinamik değişikliklere neden olmaktadır. Diabetin erken döneminde mikrovasküler akım ve basınçlar artmakta, diabetin süresi ilerledikçe de perfüzyon kapasitesi azalmaktadır. Yüksek hidrostatik basıncın, en azından kısmen, böbrekte arteriol ve kapiller duvarında proteinlerin birikmesi ve plasma proteinlerinin sızmasının sorumlu olduğu düşünülmektedir<sup>92,93,94</sup>.

Doku proteinlerinin glikozilasyonu doku hasarına neden olabilir. Vücutta çeşitli dokularda proteinlerin glikozilasyonu bilinmektedir: Lens, albumin, kollojen, lipoproteinler, sinir proteinleri ve hemoglobin<sup>95,96,97,98,99,100</sup>. Glikozile proteinlerin fiziksel ve kimyasal yapısında değişiklikler ve sonuçta fonksiyonların değişimi görülebilmektedir<sup>101</sup>. Kollajenin nonenzimatik glikozilasyonu da anormal çapraz bağlanmaya neden olarak kapiller bazal membran yapısında değişikliğe neden olabilir<sup>43</sup>.

Glikozillenmiş LDL-kolesterol normal LDL reseptörü tarafından tanınmaz ve yarılanma ömrü artar. Glikozillenmiş HDL-kolesterol ise dolaşımdan daha çabuk kaybolur. Belki de diabetteki hızlanmış aterosklerozun oluşumundan bunlar sorumludur<sup>23</sup>.

Hipergliseminin oluşturduğu doku hasarı için öne sürülen mekanizmalarından biri de glükozun intrasellüler polioll yoluyla metabolizmasındaki aktivasyondur. Bu yolda glükoz "Aldoz Redüktaz" enzimi aracılığı ile sorbitole indirgenmektedir.

Sorbitol bir doku toksini olarak fonksiyon görmekte ve retinopati, nöropati, nefropati ve kataraktın patogenezinde suçlanmaktadır. Sorbitol birikimi diabetik hayvanların böbrek, sinir ve kataraktı olan lenslerinde gösterilmiştir<sup>102,103,104</sup>. İnsanlarda da diabetiklerde sorbitol birikimi gösterilmiştir<sup>105</sup>.

Sinir dokusunda hiperglisemi ile alakalı bir diğer metabolik bozukluk da myoinositol üzerindedir. Diabetiklerde hücre içerisinde myoinositol miktarının azaldığı, bu durumda Na-K-ATPaz aktivitesinin de azaldığı gösterilmiştir. Bu bozukluk insülin ya da myoinositol ilavesiyle düzeltilebilmektedir. Myoinositolün hiperglisemik ortamda glükoz ile

kompetitif inhibisyona girdiği ve hücre tarafından alınmasının engellendiği düşünölmektedir. Ayrıca poliol yolu ile myoinositol arasında bir ilişki de olabilir. Artan poliol yolu aktivitesi sinir myoinositol içeriğinin azalmasına katkıda bulunabilir. Ancak diabetik nöropatili hastalarda hayvanların aksine sural sinir biopsilerinde myoinositol eksikliği bulunamamıştır<sup>41</sup>.

Diğer bir teoriye göre diabetik komplikasyonların gelişiminde oksidatif stresin rolü vardır. Oksidatif stres biyolojik bir sistemde reaktif oksijen veya oksijen radikallerinin miktarlarına bağlı yaptıkları etkinin ölçümü olarak ifade edilebilir. Oksidatif stresin artması prekürsörlerden reaktif oksijen radikallerinin ve/veya bu radikalleri temizleyici ya da inhibitör sistemin etkinliğinin azalmasından kaynaklanabilir. Metabolik stres, doku hasarı ve hücre ölümü oksidatif stresi arttırmaktadır. Diabette de oksidatif stresin arttığı bilinmektedir. Serbest radikallerin artışı glükozun otooksidasyonundan ve glikozillenmiş proteinlerin açığa çıkardığı serbest radikallerden olduğu düşünölmektedir. Bu radikallerin oluşumu metabolik kontrol ile doğrudan bağlantılı görünmektedir. Oksidatif stres çeşitli nükleik asidlerin, lipidlerin, plasma ve ekstrasellüler matriks proteinlerinin yapısında değişikliğe yol açmakta ve doku hasarına, kollajenin kimyasal ve fiziksel yapısının değişmesine, koagölasyon proteinlerinin aktivasyonuna vb. yol açmaktadır. Bu görüş doğru ise diabetin tedavisinde proteinlerin



glikozilasyonunu önleme yanında antioksidan tedavi gibi yöntemler de gündeme gelebilecektir<sup>2,106</sup>.

### **DIABETTE KOAGÜLASYONUN AKTİVASYONU VE HİPERGLİSEMİ**

Diabette hiperkoagülabl bir durum olduğu, tromboza eğilimin arttığı bilinmektedir. Major kardiovasküler olaylar diabetin en önemli morbidite ve mortalite nedenlerindedir. NIDDM'luların %80 kadarı akut kardiovasküler olaylardan ölmektedir<sup>2</sup>. Makrovasküler komplikasyonlar yanında mikrovasküler komplikasyonlarda da hipergliseminin neden olduğu düşünülen tromboza eğilimli (trombofilik) ortamda kapiller ve arteriollerin mikrotrombüslerle tıkanması, kapiller düzeyde doku iskemisinin sorumlu olabileceği söylenmiştir<sup>107</sup>. Diabette görülen koagülasyon bozuklukları koagülasyonun tüm safhalarını içermektedir : Fibrin oluşumu ve inhibisyonu, fibrinolizis ve inhibisyonu, trombosit ve endotel fonksiyonu. Net sonuç trombüs oluşumu lehinedir. Mevcut hiperkoagülabl durumu gösteren en iyi markerler, fibrinojenden fibrin oluşumu sırasında açığa çıkan fibrinopeptid A<sup>108</sup> ve trombinin dolaşıma serbestleştirildiğini gösteren protrombin fragment 1+2'dir<sup>109</sup>. Bunlar diabetiklerde yüksek bulunmuştur ve düzeyleri hiperglisemi ile koreledir.

Hiperglisemi, nonenzimatik glikozilasyon ve oksidatif stres yoluyla çeşitli dokularda hasara ve fonksiyon değişikliğine neden olurken, koagülasyon ve fibrinolizis ile ilgili parametreleri de aynı şekilde etkileyerek yapı ve fonksiyonlarını bozabilir. Diabette koagülasyonun aktivasyonuna neden olan parametrelerdeki değişikliklerden önce koagülasyon ve fibrinolizisin fizyolojisinden bahsetmek uygun olacaktır.

### HEMOSTAZ MEKANİZMASI :

Vücudun her hangi bir yerinde vasküler bir hasar meydana geldiği zaman üç mekanizma ile kanın damardan dışarı çıkışı önlenir ve pıhtı oluşur :

- 1-Vazokonstriksiyon
- 2-Trombosit adhezyon ve agregasyonu ( primer hemostaz )
- 3-Fibrin oluşumu ve stabilizasyonu ( sekonder hemostaz )<sup>110</sup>

Her 3 mekanizma da birbiriyle yakın ilişkilidir ve aynı zamanda başlar. Örneğin aktive trombositler koagülasyonu stimüle eder. Trombin gibi koagülasyon ürünleri de trombosit agregasyonunu stimüle eder<sup>111</sup>. Pıhtı oluşurken fibrinolizis de başlar, olayı lokalize eder.

Pıhtılaşmaya yol açan olaylar damara bir travmayla başlar. Refleks olarak oluşan vasokonstriksiyon sonrası endotelin harap olduğu bölgede trombositler subendotelyal dokuya yapışırlar (Adhezyon). von Willebrand faktörü (vWF) trombositlerin yüzeyindeki bir reseptör ile (Glikoprotein Ib)

bağlanarak trombosit ile kollajen arasındaki bağı güçlendirir ve trombositin stabilize olmasını sağlar. vWF büyük molekülü adhezif bir glikoproteindir<sup>112</sup>. Endotel hücreleri ve megakaryositler içinde sentez edilir. Trombositlerde spesifik  $\alpha$  granüller içinde ve endotel hücrelerinde Weibel-Palade cisimciklerinde depolanırlar. Stres, egzersiz, adrenalin ve desmopressin (DDAVP) dolaşan vWF düzeyini artırır.

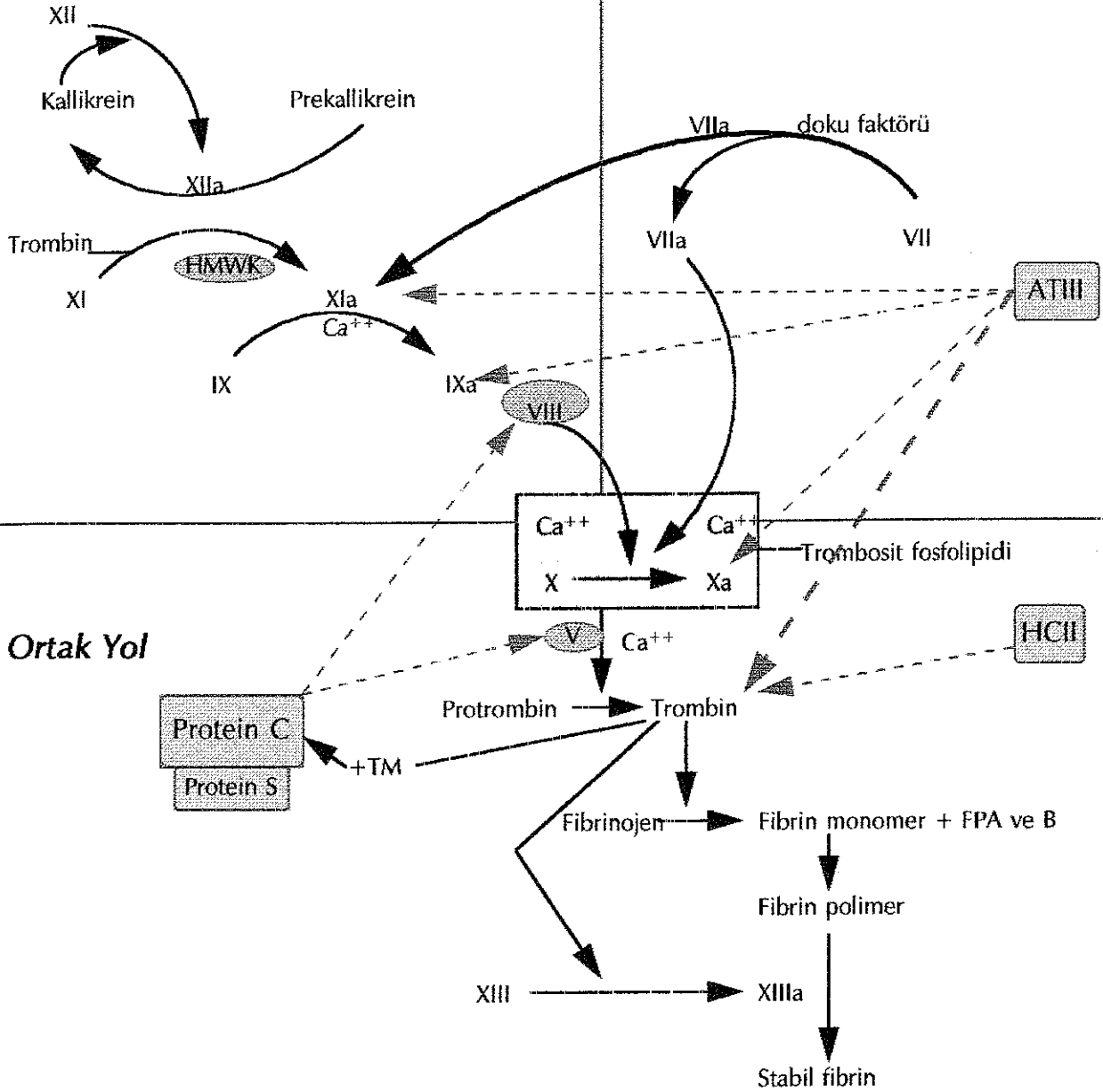
Adhere olmuş trombositler içlerinde bulunan granül içeriklerini salgırlar ve yeni mediatör yapımına başlarlar. Adhere olmuş trombositler daha sferik hale gelirler ve psödopotlar oluştururlar. Bunlar aracılığı ile komşu trombositler ile etkileşime girerler. Trombositlerden sekrete edilen maddeler ADP, serotonin, fibrinojen, lizozomal enzimler,  $\beta$ -tromboglobulin ( $\beta$ -TG), platelet faktör 4 (heparin nötralize edici faktör, heparinase), fibronektin, vWF, PDGF, trombospondin, FVa, tromboxan A<sub>2</sub>'dir<sup>111,112</sup>. Kollajen ve trombin, trombositlerdeki prostoglandin sentezini de aktive ederler. Oluşan tromboxan A<sub>2</sub> trombosit agregasyonunu aktive ettiği gibi, güçlü vasokonstriktör etkiye de sahiptir. Endotel tarafından sentezlenen prostasiklin (PGI<sub>2</sub>) trombosit agregasyonunun güçlü bir inhibitörüdür ve trombositlerin endotel üzerinde birikmesini önler<sup>112</sup>. Salgılanan ADP ve tromboxan A<sub>2</sub> zedelenme yerinde diğer trombositlerin de birikerek agregasyonunu sağlar. Böylece pıhtı oluşumu için gerekli olan yeterli miktar trombosit kitlesi oluşur<sup>113</sup>.

Primer hemostatik tıkaç bu şekilde oluştuktan sonra koagülasyon faktörleri aktive olarak sekonder hemostaz ile pıhtı oluşur. Kan koagülasyonu, dolaşımdaki prekürsör proteinlerin proteoliz yoluyla ardısıra aktive olmasıyla, sonuçta solubl plasma fibrinojenini insolubl olan fibrine çeviren trombini oluşturan, biyolojik bir amplifikasyon sistemidir (**Şekil**). Fibrin, primer trombosit agregatlarını zedelenme yerine hapseder ve sağlam bir hemostatik tıkaç oluşur. Koagülasyon faktörleri, fibrin hariç ya enzim prekürsörleri, ya da kofaktörlerdir. F XIII hariç tüm enzimler serin proteazdır. Serin proteazlar koagülasyon faktörlerinin aktif merkezindeki serin amino asidinin peptid bağlarını hidrolize ederek iş görürler.

Koagülasyonun intrinsek (kontakt) fazında; kollojen ve diğer negatif yüklü subendotelyal konnektif doku F XII'nin aktivasyonuna neden olur. F XII HMWK'ne bağlandıktan sonra yavaşça F XIIa'ya dönüşür. F XIIa prekallikreini kallikreine ve F XI'i F XIa'ya çevirir. Kallikrein de F XII'nin F XIIa'ya dönüşümünü artırır. İntrensek yolun bu kısmının in vivo koagülasyonda değil, in vitro koagülasyonda önemi olduğu ifade edilmiştir. F XII, HMWK ve prekallikrein eksikliğinde hemostaz normaldir ve kanama görülmez<sup>111,112</sup>.

## İntrensek Aktivasyon

## Ekstrensek Aktivasyon



● Kofaktörler

--▶ İnhibisyon

Ca<sup>++</sup>- Kalsiyum    HMWK- Yüksek Moleküler Ağırlıklı Kininojen

HCII- Heparin kofaktör II    FPA ve B- Fibrinopeptid A ve B

AT III- Antitrombin III

TM- Trombomodulin

Şekil: Kan koagülasyonu ve koagülasyon inhibitörleri (Hoffbrand AV, Pettit JE<sup>112</sup> den değiştirilerek)

Daha sonra F Xla tarafından F IX'dan F IXa oluşturulur. F IXa Ca ve kofaktör olan F VIII ile beraber trombosit fosfolipidi (Platelet faktör 3 -PF3) tarafından sağlanan trombosit membran yüzeyinde F X'u aktive eder ve F Xa oluşur. Koagülasyonun ekstrensek fazında; perivasküler doku hücrelerinin yüzeyinde bulunan doku faktörü F VII'ye bağlanır ve F VII F X'u aktive eder. Son zamanlarda F VII'nin in vivo olarak etkisini daha çok doğrudan F X'u aktive etmekten ziyade, F IX'u aktive ederek gerçekleştirdiği ifade edilmiştir.

Ortak yolda; F Xa, F V, Ca fosfolipid yüzeyde protrombini trombine çevirir. Trombin fibrinojenin arginin-lizin bağlarını hidrolize eder ve fibrinopeptid A ve B'yi serbestleştirerek fibrin monomerlerini oluşturur. Fibrin monomerleri birbiriyle gevşek hidrojen bağlarıyla bağlanır ve insolubl fibrin polimerleri oluşur. Ca ve trombin tarafından aktive edilen F XIII bu polimerleri çapraz kovalent bağlarla sağlamlaştırır.

Trombin fibrinojeni fibrine çevirmekten başka F V, F VIII, F XIII'ü de aktive eder. Trombosit agregasyonunu stimüle eder. Aynı zamanda Protein C'yi de aktive ederek koagülasyonu sınırlar.

F II, F VII, F IX ve F X K vitaminine bağımlı faktörlerdir. K vitamini bu faktörlerin herbirinin üzerindeki terminal glutamik asid rezidülerinin

postribozomal karboksilasyonundan sorumludur. Karboksilasyon fosfolipid ile kompleks oluşturmak için gerekli olan Ca'un bağlanmasını kolaylaştırır. K vitamini yokluğunda karboksilasyon olmaz ve Ca bağlanamaz. Dolayısıyla bu faktörler de trombosit fosfolipidine bağlanamaz.

### KOAGÜLASYONUN FİZYOLOJİK SINIRLANDIRILMASI :

**AKTİVE FAKTÖRLERİN PLASMA İNHİBİTÖRLERİ-** Kanda dolaşan bazı inhibitörler tarafından trombin ve diğer serin proteaz faktörler direkt olarak inaktive edilerek etkileri sınırlandırılmaktadır. Bir  $\alpha_2$  glikoprotein olan Antitrombin III (ATIII) bunların en güçlüsüdür. Tek polipeptid zincirlidir. Molekül ağırlığı 58000'dir. Karaciğer tarafından sentezlenir. İlk kez 1939 yılında Brinkhous ve arkadaşları tarafından heparinin antikoagülan etkisi için gerekli bir plazma proteini olduğu gösterildikten sonra, insan plazmasından ilk olarak 1968 yılında izole edilmiştir<sup>114,115</sup>. Plazma konsantrasyonu ortalama 15 mg/dl civarındadır. Biyolojik yarı ömrü 42 saattir. Aktive koagülasyon faktörlerinin çoğunu kovalent 1:1 molar kompleksler oluşturarak nötralize eder<sup>116</sup>. Trombinle oluşturduğu bimoleküler kompleks (TAT Kompleks) karaciğer hücreleri tarafından hızla dolaşımdan uzaklaştırılır. ATIII trombine ilaveten F Xa, F IXa, kallikrein ve diğer bazı serin proteaz enzimleri de inaktive eder. Yani geniş spektrumlu bir antiproteazdır. Kofaktör olarak rol oynayan heparinin çok az miktarı bile ATIII'ün etkisini aktive eder<sup>116</sup>. ATIII'ün herediter ve nefrotik sendrom

gibi edinsel eksikliklerinin tromboz oluşumu için risk faktörleri olduğu kabul edilmektedir<sup>117,118,119,120,121</sup>. Tromboza herediter olarak yatkınlığı bulunan hastaların yaklaşık %3.5'inde ATIII eksikliği olduğu düşünülmektedir<sup>122</sup>. Heparin kofaktör II (HCII) de trombinin etkisini inhibe eden, bir çok açıdan ATIII'e benzeyen bir antiproteazdır. İlk kez Brigshaw ve Shanberge tarafından 1974'de ATIII'den farklı olarak tanımlanmıştır<sup>123,124,125,126</sup>. 1982'de iki ayrı grup tarafından yeniden keşfedilmiş ve ATIII'den immünolojik olarak farklı olduğu gösterilmiştir. Küçük tek zincirli polipeptiddir. Molekül ağırlığı 65000 civarındadır. Karaciğer tarafından sentezlenir<sup>127</sup>. Plasmada yaklaşık 9 mg/dl konsantrasyonda bulunur. Heparin ve dermatan sülfat tarafından aktive edilir<sup>124</sup>. ATIII'ün tersine F Xa'nın zayıf bir inhibitörüdür. Yalnızca trombini kovalent 1:1 molar kompleks oluşturarak etkili bir şekilde inhibe eder<sup>123,125</sup>. Sirozlularda ve dissemine intravasküler koagülasyonda düşük olduğu görülmüştür. HCII'nin herediter eksikliği, tartışmalı olmakla beraber tromboz gelişimi için risk faktörü olarak kabul edilmektedir. 1985'de HCII eksikliği ve tromboz öyküsü olan bir aile bildirilmiştir<sup>128,129,130</sup>.  $\alpha_2$  makroglobulin,  $\alpha_2$  antiplasmin,  $\alpha_1$  antitripsin ve C1 inhibitör de dolaşan serin proteazlar üzerine inhibitör etki gösterirler<sup>112</sup>.

Trombin, trombomodulin olarak bilinen bir endotelial hücre yüzey reseptörüne bağlanır. Oluşan kompleks K vitaminine bağımlı bir serin



proteaz olan Protein C'yi (PC) aktive eder. Protein C aktive F V ve F VIII'i inhibe etme ve sonuçta trombin oluşumunu azaltma özelliğine sahiptir<sup>131</sup>. Normalde plasmada 2-6 mg/L konsantrasyonda bulunur. Protein C iki zincirli bir glikoproteindir. Molekül ağırlığı 62000'dir<sup>132</sup>. Plazma yarı ömrü 6 saattir. Protein C'nin optimal aktivasyonu için Ca, fosfolipid, trombin, Protein S (PS) ve trombomodulin gereklidir. Protein C Faktör Xa'nın trombosit reseptörünü harap etmek suretiyle protrombin oluşturucu aktivitesini de inhibe ederek antitrombotik etki gösterir<sup>133</sup>. Ayrıca t-PA salınımını artırarak ve t-PA inhibitörünü (PAI-1) nötralize ederek fibrinolizisi aktive eder<sup>132,134,135,136,137,138,139</sup>. Köpeklere iv olarak verilince güçlü fibrinolitik aktiviteye yol açtığı görülmüştür<sup>140</sup>. Herediter eksikliklerinin tekrarlayıcı venöz trombozlar ile beraber seyrettiğinin gösterilmesi, Protein C'nin koagülasyonun regülasyonunda önemini ortaya koymuştur<sup>132,141</sup>. Protein C'nin etkisi için gerekli olan Protein S, Protein C gibi, K vitaminine bağımlı olarak karaciğerde sentezlenir<sup>132,142,143</sup>. Plasmada aktif olan serbest ve inaktif olan C4b-binding Proteine (C4bBP) bağlı şekilde bulunur. Serbest kısım %40 oranındadır. Kompleman inhibitörü olan C4bBP bir akut faz proteindir<sup>144,145</sup>. İnflamasyon durumunda kanda yükselir ve serbest kısımdan bağlı kısma şift olur. Böylece serbest fraksiyon azalır. Bu inflamasyon ve tromboembolik olaylar arasındaki ilişkiyi açıklayabilir. Protein S'in karaciğer hücreleri dışında trombositlerde de bulunduğu ve endotel hücre kültürlerinde sentezlendiği gösterilmiştir<sup>146,147</sup>.

Protein S Protein C'ye trombosit yüzeyinde bağlanır<sup>132,134,142</sup>. Protein S'in fizyolojik rolü bazı familial trombotik hastalıklarda ve venöz tromboemboli riskinin arttığı edinsel gebelik, lupus ve oral kontraseptif kullanımı gibi durumlarda eksikliğinin gösterilmesi ile ortaya konmuştur<sup>132,134,141,143,148,149,150,151</sup>.

### FİBRİNOLİZİS :

Fibrinolizis de koagülasyon gibi vasküler zedelenmeye normal hemostatik bir cevaptır. Plasminojen kan ve doku sıvılarında bulunan karaciğerde sentezlenen,  $\beta$  globulin tarzında bir proenzimdir. Tek zincirli olan plasminojen plasmada ortalama 0.2 mg/dL konsantrasyonunda bulunur. Çoğunluğu ekstrasellülerdir. Yarılanma ömrü 2.2 gün civarındadır. Plasminojen pıhtı oluştuğu zaman fibrin kitlesi içerisine adsorbe edilir ve fibrinojen ve fibrinle kompleks yapar. Damar duvarı ya da dokulardan kaynaklanan aktivatörler aracılığı ile serin proteaz olan plazmine çevrilir. Plasminojen aktivatörlerinden F XII, F XI, HMWK ve kallikrein intrinsek aktivasyon yolunu oluştururlar ve muhtemelen minör öneme sahiptirler (plasminojen aktivasyonunun sıvı fazı).

Fibrinolitik sistemin majör aktivasyonu endotel hücrelerinden t-PA salgılanmasıyla olmaktadır. t-PA bir serin proteazdır ve fibrine bağlanır. Trombüse adsorbe olmuş plasminojenin plazmine dönüşümünü artırır. Bu

nedenle t-PA'nın etkisi fibrin pıhtısının olduğu yere lokalizedir. Rekombinant DNA teknolojisiyle sentezlenmiş ve terapödik amaçlarla kullanılmaktadır. t-PA en fazla küçük venlerde ve renal damar yatağında ve daha az büyük damarlarda bulunur. Normalde plasmada eser miktardadır (5-10 mg/L). Tüm aktivatörler gibi endotelden kaynaklanır ve geçici bir süre plasmada bulunur, karaciğer tarafından hızla uzaklaştırılır. Plasminojen aktivatörleri idrar, süt, gözyaşı, tükürük, safra ve sperma içerisinde bulunmaktadırlar. Makrofajlardan da salgılanabilirler. Lökosit, eritrosit, trombosit, fibroblast, sertoli hücresi, granüloza hücreleri ve bazı neoplastik dokularda olduğu gösterilmiştir.

Plasmin trombinden daha geniş bir aktivite aralığına sahiptir. Fibrinojen, fibrin, F V, F VIII ve başka proteinleri "digeste" etme yeteneğine sahiptir. Fibrin ve fibrinojendeki peptid bağlarının ayrılması çeşitli yıkım ürünlerinin oluşmasına neden olur. En fazla oluşan ürün Fragment X'dir. Erken olarak salınır. Daha sonra Fragment Y salınır. Fragment D ve E en küçük olanlardır. Bu fragmentler monosit-makrofaj sistemi ile dokulardan uzaklaştırılırlar. Çapraz bağlı fibrinin en küçük yıkım ürünü Fragment DD (D-Dimer)'dir<sup>112</sup>.

### FİBRİNOLİZİS İNHİBİTÖRLERİ :

- $\alpha$ 2 antiplasmin- Plasminin başlıca fizyolojik inaktivatörüdür. Plasma ve trombositlerde bulunur. Plasmada ortalama 60 mg/mL düzeyinde bulunur. Karaciğerde sentezlenir. Fibrine bağlı plasmini serbest plasminden daha az inaktive eder.

- $\alpha$ 2 antiplasminden başka  $\alpha$ 2 makroglobulin,  $\alpha$ 1 antitripsin de plasmini inaktive eder. Ancak bunlar  $\alpha$ 2 antiplasmin tamamen satüre olmadan plasmine bağlanmazlar.

-Plasminojen Aktivatör İnhibitörleri (PAI-1 ve PAI-2)- PAI-1 endotel ve trombositleri de içeren bir çok dokudan izole edilmiştir. Plasmada eser miktarda bulunur. Tek zincirli bir glikoproteindir. t-PA ve ürokinazı inaktive eder. PAI-2 makrofajlar ve plasentadan elde edilmiştir. Normalde plasmada ölçülemez<sup>112</sup>.

### **DIABET VE KOAGÜLASYON İNHİBİTÖRLERİ**

Diabetteki hiperkoagülabl ortamın nedenlerinden birisi de, koagülasyonun doğal inhibitörlerinin kantitatif eksiklik veya fonksiyonel değişim nedeniyle, trombinin etkisine karşı dengeleme görevlerini yapamaması olabilir.

## DIABET VE ATIII-

Diabette önemli kardiovasküler risk faktörlerinden biri kabul edilen fibrinojenin miktar ve turn overinin arttığı ve yarılanma süresinin kısaldığı bilinmektedir<sup>2,107,152,153,154,155</sup>. Bu durum ATIII'ün kofaktörü olan heparinin verilmesiyle düzeltilebilmektedir<sup>156</sup>. Bu da bozukluğun trombin ya da inhibitörlerinin etkisiyle alakalı olabileceğini düşündürmektedir<sup>157</sup>. Diabetiklerde, trombinin en önemli inhibitörü olan ve plazmanın koagülasyon inhibe edici aktivitesinin %90'ından fazlasından sorumlu olan ATIII'ün<sup>158</sup> konsantrasyon ve aktivitesi hakkında farklı sonuçlar yayınlanmıştır. ATIII'ün diabette konsantrasyonunun değişmediği, hatta hafifçe arttığı, buna karşılık biyolojik aktivitesinin azaldığı değişik çalışmalarla bildirilmiştir<sup>152,159,160,161</sup>. Bu ilk kez Jones ve Peterson'un öne sürdüğü gibi ATIII'ün yapısal olarak değişip fonksiyon görmediğini, ancak antijenik tayininin mümkün olduğunu göstermektedir<sup>162</sup>. Bu yapısal değişikliğe nonenzimatik glikozilasyonun neden olabileceği ileri sürülmüştür<sup>152,156,163</sup>. Bu konuda Villanueva ve arkadaşlarının yaptığı in vitro bir çalışmada ATIII'ün biyolojik aktivitesi fizyolojik şartlarda, glükozun yüksek olduğu diabetik şartlarda ve çok yüksek glükoz ortamında incelenmiş ve glükoz konsantrasyonu arttıkça glikozilasyonun arttığı ve ATIII'ün biyolojik etkinliğinin azaldığı görülmüştür. Yedi gün sonunda çok yüksek glükoz ortamındaki glikozillenmiş ATIII'ün normal ATIII'e göre 3 kez daha zayıf etkiye sahip olduğu görülmüştür<sup>152</sup>. Bu Sakurai ve arkadaşlarının

benzer çalışmaları ile uyumludur<sup>159</sup>. Sağlıklı kişilerde yapılan çalışmalarda da hiperglisemi oluşturduktan sonra ATIII konsantrasyonunun değişmediği, ancak biyolojik aktivitesinin azaldığı gösterilmiştir<sup>164,165</sup>. Ceriello ve arkadaşları da in vitro olarak glüközün ATIII aktivitesi üzerine etkisini araştırmışlar ve glüköz ilave edilmiş plazmanın aktivitesinin zamanla azaldığını ve glikolize ATIII'ün oranının arttığını görmüşlerdir<sup>163</sup>.

Glüköz, muhtemelen ATIII'ün doğal kofaktörü olan heparinin bağlanacağı lizin rezidüsüne heparin ile yarışarak bağlanmakta ve molekülün etkisini azaltmaktadır. Bu görüş heparinin yüksek miktarda verilmesiyle ATIII'ün etkinliğinin arttığını gösteren çalışmalarla ve heparinin sağlıklılarda ATIII aktivitesini değiştirmezken, diabetiklerde hiperglisemi nedeniyle oluşan ATIII aktivitesindeki azalmayı düzelttiğini gösteren çalışmalarla desteklenmektedir. Ayrıca, sağlıklılarda ATIII konsantrasyon ve aktivitesi arasında güçlü bir ilişki varken, diabetiklerde bu ilişkinin bir çok çalışmada bulunmaması; ATIII aktivitesi ile glikozile proteinlerin miktarı arasında negatif korelasyon bulunması bununla uyumludur<sup>107,156,159,165,166</sup>.

ATIII aktivitesindeki azalmanın derecesinin doğrudan HbA1c ve açlık kan glüközü ile korele olduğu başka çalışmalarda da ileri sürülmüştür<sup>2,156,167,168</sup>.

Ceriello ve arkadaşları tarafından yapılan 25 IDDM'lyu içeren bir çalışmada ATIII'ün konsantrasyonunun, normal şahıslara göre değişmediği, ancak aktivitesinin azaldığı tesbit edilmiştir. ATIII'ün aktivitesinin de glikozillenmiş plasma proteinleri ile negatif korelasyon gösterdiği bulunmuştur<sup>159,163</sup>. Ho ve arkadaşları 50 NIDDM'lu üzerinde yaptıkları araştırmada, ATIII aktivitesinin diabetiklerde, sağlıklı kontrollere göre düşük olduğunu görmüşlerdir<sup>169</sup>.

Vasküler fibrin birikiminin olması için plasmanın ATIII aktivitesinde çok fazla düşmeye gerek olmadığı, koagülasyon sistemi, ATIII ve fibrinolitik sistem arasındaki dengenin koagülasyon lehine değişmesinin yeterli olduğu düşünülmektedir. Yüksek glukoz ortamında plasminin de nonenzimatik glikozilasyona uğramış fibrin üzerine etkinliğinin azalması da buna yardım edebilir. ATIII aktivitesinde hafif azalma nedeniyle, fibrin oluşumu yönünde değişen denge, kompensatuar fibrinolitik cevabın yeterli olmaması halinde uzun sürede retina gibi dokularda kapiller seviyede birikerek iskemiye yol açabilmekte, bu da diabetin mikrovasküler hastalıklarının patogenezinde suçlanmaktadır<sup>107</sup>.

ATIII hakkında bu çalışmalar ile uyuşmayan sonuçlar da bildirilmiştir. Bu konudaki ilk çalışmaların çoğunda, diabetiklerde ATIII aktivitesinin arttığı ya da değişmediği bildirilmiştir<sup>161</sup>. Mikrovasküler komplikasyonlu 44,

kompliksionsuz 36 ve periferik arter hastalığı olan 27 diabetik arasında ATIII konsantrasyon ve biyolojik aktivite açısından normale ve aralarında fark olmadığı ve HbA1c ile korelasyon göstermediği bildirilmiştir. Bu ve benzer sonuçlar HbA1c ile ATIII aktivitesi arasında korelasyon olduğunu ve diabetiklerde düşük biyolojik aktiviteye sahip olduğunu gösteren sonuçlarla çelişmektedir<sup>170,171</sup>.

Knöbl ve arkadaşları 61 NIDDM'lu ve glisemi regülasyonu bozuk hastada ATIII aktivitesinin kontrollere göre daha yüksek olduğunu ve 6 aylık insülin tedavisi ile metabolik kontrol sağlanmasına rağmen düzelmediğini bildirmişlerdir<sup>172</sup>.

1979 yılında yapılan bir diğer çalışmada 154 IDDM ve NIDDM'lu hastada kontrollere göre ATIII'ün aktivitesinin arttığı ve aynı grupta diabetik retinopatisi olanlarda, olmayanlara göre daha yüksek olduğu bulunmuştur<sup>7</sup>. Yeni tanı alan ve anjiopati bulgusu olmayan 38 IDDM'lu çocukta ATIII'ün aktivitesinin normallere göre daha yüksek olduğu görülmüştür<sup>7</sup>. Borsev ve arkadaşları da retinopatisi olan diabetiklerde olmayanlara ve kontrollere göre daha yüksek ATIII aktivitesi olduğunu görmüşlerdir<sup>173</sup>.



Garcia Frade ve arkadaşları 43 diabetik hastada (28 IDDM, 15 NIDDM) ATIII aktivitesinin diabet tipleri arasında, vasküler hastalığı olan ve olmayanlar arasında ve kontrollerle fark göstermediğini görmüşlerdir<sup>174</sup>.

MSII ve CSII ile kan glüközu kontrol altına alınan IDDM'lularda ATIII'ün biyolojik aktivitesinin MSII uygulananlarda daha yüksek olduğu ve günlük insülin gereksinimi ve serum fruktozamin düzeyi ile korelasyon göstermediği bildirilmiştir<sup>175</sup>.

ATIII hakkında yapılan araştırmalardan alınan bu değişik sonuçların nedeni diabetin tiplerinin farklı olması, diabetin süresi, metabolik kontrol derecesi ve ATIII ölçümünde kullanılan metodların farklılıklarına bağlı olabilir<sup>176</sup>.

Ayrıca ATIII'ün yaş, ırk, cinsiyet ve kardiovasküler risk faktörleri ile ilişkisinin araştırıldığı 15800 kişiyi kapsayan prospektif bir çalışmada (The ARIC Study), ATIII'ün erkeklerde ve siyah ırkta daha yüksek olduğu; yaşla kadınlarda artar iken erkeklerde azaldığı; sigara içimi ile pozitif yönde korelasyon gösterdiği; kadın diabetiklerde yüksek iken erkek diabetiklerde sağlıklılara göre fark bulunmadığı; eğitim seviyesi ve erkeklerde BMI, kadınlarda alkol alımı ile negatif korelasyon gösterdiği görülmüştür<sup>176</sup>.

ATIII aktivitesi ile lipid düzeyleri arasındaki ilişkiyi araştıran çalışmaların sonuçları da birbirinden farklıdır<sup>176,177,178,179</sup>...

Ayrıca diabette hem koagölasyonu yeterli inhibe edememesi nedeniyle düşük, hem de koagölasyon faktörlerinde artma ve/veya fibrinolitik cevapta azalmaya karşı kompensasyon nedeniyle yüksek ATIII aktivitesinin hiperkoagölabl ortamı gösterebileceği ileri sürölmüştür<sup>180</sup>.

#### DIABET VE TAT KOMPLEKS -

Diabette trombinin hiperaktif olduğunun göstergelerinden birisi de fibrinojenden fibrin oluşurken açığa çıkan fibrinopeptid A (FPA) düzeyinin yüksek bulunmasıdır<sup>2,108,166</sup>. Normalde trombinin hızla ATIII ile nötrale edilip (Trombin-Antitrombin III Kompleks, TAT Kompleks) koagölasyon aktivasyonunun dengelenmesi gerekir. Az sayıda araştırmada TAT kompleks düzeyinin diabetiklerde normal kişilere göre daha yüksek olduğu bildirilmesine rağmen<sup>181</sup>, çoğu çalışmada, FPA yüksek iken, düşük olduğu bulunmuştur. Bu da diabetiklerde trombinin defektif bir biçimde inhibe edildiğini göstermektedir<sup>166</sup>.

30 IDDM'lu hastada yapılan bir çalışmada sağlıklı kontrollere göre TAT kompleks düzeyi düşük iken, ATIII konsantrasyonu normal kalmış ve

biyolojik aktivitesi azaldığı bulunmuştur. TAT kompleks seviyelerindeki bu düşme heparin verilmesi ile düzeltilebilmektedir<sup>166</sup>.

Mikroalbuminürisi olan NIDDM'lu şahıslarda normoalbuminüriklere göre trombin üretiminin arttığı, ancak trombin nötralizasyonunu bir göstergesi olan TAT kompleks seviyesinin değişmediği görülmüştür. Bu da kardiovasküler morbidite ve mortalite için önemli bir risk grubunu oluşturan mikroalbuminüriklere trombin inhibisyonunun yeterli olmadığını göstermektedir<sup>32,182</sup>.

Yine 96 NIDDM'lu arasında mikro- ve normoalbuminürisi olanlar karşılaştırılmış ve TAT kompleks seviyesinin değişmediği görülmüştür<sup>13</sup>.

Bazı çalışmalarda diabetiklerde TAT kompleks düzeyindeki düşme gösterilememiş, hatta yükseklik saptanmıştır<sup>181,183,184,185</sup>. Ayrıca, ATIII konsantrasyonunun (300 mg/L) TAT kompleksininkine göre (1-4.2 mg/L) çok yüksek olduğu; ATIII'ün yarılanma ömrü 3 gün kadarken TAT kompleksin 2-10 dakika arasında olduğu ve ortalama 60 günlük süreyi yansıtan HbA1c ile karşılaştırılmalarının doğru olmadığı, böylece TAT Kompleks oluşumunda ATIII'ün sınırlayıcı faktör olamayacağı da ileri sürülmektedir<sup>183,186</sup>.

## DIABET VE HEPARİN KOFAKTÖR II -

Diabetik hastalarda ATIII gibi trombini inhibe eden Heparin kofaktör II (HCII) hakkında az sayıda araştırma mevcuttur. Bunların çoğunda diabetiklerde HCII'nin plasma konsantrasyonu değişmeden biyolojik aktivitesinde azalma olduğu ve bunun hipergliseminin derecesi ile korele olduğu gösterilmiştir<sup>157,187,188</sup>.

Ceriello ve arkadaşları tarafından yapılan bir araştırmada HCII'nin in vitro olarak biyolojik aktivitesi fizyolojik şartlarda, diabet gibi hiperglisemik ortamda ve çok yüksek glükoz ortamında araştırılmış ve fizyolojik şartlarda bile bu proteinin glikozilasyona uğradığı, hipergliseminin derecesi arttıkça bu miktarın arttığı ve biyolojik aktivitesinin azaldığı gösterilmiştir<sup>157</sup>. Ayrıca, IDDM'li'larda HCII'nin antijenik konsantrasyonu değişmeden biyolojik aktivitesinde azalma olduğu bir başka çalışmada gösterilmiştir. Tüm bunlar HCII'nin yapısal değişikliğe uğrayıp fonksiyonunun azaldığı şeklinde yorumlanmaktadır. Normal şahıslarda var olan HCII aktivitesi ile HCII konsantrasyonu arasındaki korelasyonun diabetiklerde gösterilememesi bunu desteklemektedir. Bu duruma HCII'nin nonenzimatik glikozilasyonunun neden olduğu düşünülmektedir<sup>187</sup>.

HCII aktivitesi ile açlık kan glükoz düzeyi arasında bazı çalışmalarda bulunan negatif korelasyon, bu hastalarda HCII aktivitesinin azalmasında

hipergliseminin rolünü düşündürmektedir<sup>187</sup>. HCII'nin açlık kan glükoz düzeyi ve glikozillenmiş proteinler ile negatif korelasyon göstermesi, ancak HbA1c ile aynı korelasyonun olmaması bir çelişki değildir. HCII'nin yarı ömrünün kısa olması (2.5 gün)<sup>189</sup>, HbA1c gibi uzun süreli metabolik kontrolü gösteren bir parametre ile ilişki göstermemesini açıklayabilir<sup>187</sup>. Ancak yakınlarda yapılan bir çalışmada IDDM'ularda HCII aktivitesinin yüksek glikozillenmiş hemoglobine sahip olanlarda kontrollere ve düşük glikozillenmiş hemoglobini olanlara göre daha az olduğu; HCII konsantrasyonunda ise aralarında fark olmadığı görülmüştür<sup>188</sup>.

Diabette, azalmış HCII aktivitesinin, HCII'nin konjenital eksikliğinde görüldüğü gibi, diabetin hiperkoagülabl ortamının oluşmasına katkıda bulunabileceği ifade edilmiştir<sup>129,190,191</sup>.

Ancak bazı çalışmalarda HCII konsantrasyonunun diabetiklerde arttığını bildiren sonuçlar da vardır. Yaşla arttığı bildirilen HCII'nin farklı yaş gruplarında karşılaştırılması bu sonuçların güvenilirliğini azaltmaktadır<sup>192,193</sup>.

#### DIABET VE PROTEİN C, PROTEİN S -

Diğer bir koagülasyon inhibitörü olan Protein C hakkında diabette yapılan çeşitli araştırmalarda, Protein C'nin antijenik konsantrasyonunun ve biyolojik aktivitesinin azaldığı<sup>2,7,194,195,196</sup>, değişmediği<sup>183</sup>, arttığı<sup>161,172,197</sup>

yönünde sonuçlar bildirilmesine rağmen, daha çok hem antijen, hem de aktivitesinin azaldığı ve bu azalmanın hipergliseminin derecesi ile korele olduğu görüşü hakimdir<sup>2,7,161,194,198</sup>.

Vukovich ve Schernthaler'in 68 IDDM'lu üzerinde yaptığı bir çalışmada Protein C'nin sağlıklı kontrollere göre anlamlı ölçüde düşük olduğu ve metabolik kontrolü en kötü olan IDDM'lularda Protein C'nin en düşük olduğu gösterilmiştir. Protein C'nin kan glükozu seviyesi ile ters orantılı olduğu, ancak HbA1c ile korele olmadığı görülmüştür. Bu da HbA1c'nin uzun dönemdeki metabolik kontrolü yansıtmaması, oysa ki Protein C'nin yarı ömrünün yaklaşık 6 saat olması nedeniyle aralarında direkt korelasyon olamayabileceği şeklinde açıklanmaktadır. Protein C seviyesindeki düşüklüğün trombin tarafından aktive edilen Protein C'nin kandan çabuk uzaklaştırılması nedeniyle olduğu ileri sürülmektedir. Aynı çalışmada retinopatisi olan diabetikler ile sağlıklı kontroller arasında Protein C açısından fark olmadığı da görülmüştür<sup>194</sup>.

Ceriello ve arkadaşları da 30 IDDM'lu hastada yaptıkları diğer bir çalışmada Protein C konsantrasyonu ve aktivitesinin sağlıklı kontrollere göre daha düşük olduğunu bulmuşlardır. Kan glükozu ile Protein C konsantrasyonu ve aktivitesi arasında negatif korelasyon olduğunu, HbA1 ile olmadığını görmüşlerdir. Yine, ATIII'den farklı olarak, diabetiklerde,

sağlıklılarda olduğu gibi Protein C antijen düzeyi ile aktivitesi arasında güçlü pozitif korelasyon olduğunu bildirmişlerdir. Hastaların bir kısmına insülin infüzyonu uygulanarak öglisemi sağlandıktan sonra alınan kan örneklerinde Protein C konsantrasyon ve aktivitesinin normale geldiği görülmüştür. Heparin verilmesiyle hipergliseminin neden olduğu Protein C azalmasının düzeltilebildiği görülmüştür. Bu da heparinin ATIII üzerinden trombin inhibisyonu sağlayarak Protein C'nin aktivasyonunu ve dolayısıyla klirensini azaltmasıyla açıklanmaktadır<sup>198</sup>.

Schernthaler ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada, vasküler hastalığı olmayan ve glisemi regülasyonu bozuk olan 15 IDDM'luda başlangıçta sağlıklılara göre düşük olan Protein C seviyesi, kan glukoz düzeyi 8 haftalık insülin tedavisi ile normoglisemik seviyelere indikten sonra anlamlı düzelme göstermemiştir<sup>195</sup>. Aynı çalışmada başlangıçta sağlıklılara göre yüksek total Protein S ve normal serbest Protein S seviyesi yine aynı süre sonunda değişmemiş, hatta azalmıştır. Protein C ve S'in metabolik kontrolle korelasyonunun olmadığı gösterilmiştir<sup>195</sup>. Bu diğer çalışmalardaki Protein C ve S'in glukoz regülasyonu ile korele olduğunu bildiren sonuçlarla çelişmektedir.

Protein C'nin iskemik kalp hastaları ve diabetiklerde yüksek bulunduğu bazı çalışmalarda, doku hasarına nonspesifik bir cevap olarak yükselen akut

faz reaktanı olabileceği de düşünülmüştür. Ancak Vigano ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, aktif romatoid artriti olan ve postoperatif dönemdeki hastalarda fibrinojen, orosomuroid gibi akut faz reaktanları ile korelasyonunun olmaması bu fikri çürütmektedir. Yine karaciğerde sentezlenen ve K vitaminine bağımlı faktörlerden olan protrombin ile diabetik hastalarda korelasyon göstermemesi sentez yoluyla arttığı düşüncesinden uzaklaştırmaktadır<sup>197</sup>.

Knöbl ve arkadaşlarının 64 IDDM ve 94 NIDDM'lu hastayı kapsayan bir çalışmalarında, Protein C ve S sağlıklılara göre ve makroalbuminüriklerde mikro- ve normoalbuminüriklere göre daha yüksek bulunmuştur<sup>5</sup>. Yine Knöbl ve arkadaşları sülfonilüre tedavisi ile glisemi regülasyonu sağlanamayan 61 NIDDM'lu hastada antijenik Protein C ve total Protein S düzeyleri ve ATIII aktivitesinin sağlıklı kontrollere göre daha yüksek olduğunu; serbest Protein S düzeylerinin farklı olmadığını bildirmişlerdir. 6 aylık insülin tedavisi ile glisemik kontrolü sağlamalarına rağmen Protein C, S ve ATIII'deki bu yüksekliğin devam ettiğini görmüşlerdir. Ayrıca mikro- ve makrovasküler hastalığı olan ve olmayan diabetikler arasında aynı parametrelerin fark göstermediğini görmüşlerdir<sup>172</sup>. Bu durumun aktive olmuş koagülasyona karşı bir kompensasyon olabileceği gibi, Protein C'nin endotelyal reseptörü olan trombomodulinin mikroanjiopati sonucu



azaldığı ve daha az Protein C'yi aktive ederek klirensini azalttığı da ileri sürülmektedir<sup>5,6,197</sup>..

Bunu destekleyen ve yakın zamanlarda El Khawand ve arkadaşları tarafından yapılan, 50 IDDM'lu diabetik hastayı kapsayan bir çalışmada Protein C ve S'in antijenik düzeyinin diabetiklerde sağlıklılara göre anlamlı ölçüde yüksek olduğu ve iyi kontrollü diabetikler ile kötü kontrollü diabetikler arasında anlamlı fark olmadığı gösterilmiştir. Protein C düzeyi iyi kontrollülerde sağlıklılara göre fark göstermezken, Protein S düzeyi hem iyi hem kötü kontrollülerde sağlıklılardan yüksek bulunmuştur<sup>6</sup>. Ho ve arkadaşları da 50 NIDDM'lu hastada Protein C antijen düzeyinin sağlıklı kontrollere göre yüksek olduğunu bildirmişlerdir<sup>169</sup>. Saito ve arkadaşları da 55 NIDDM'lu hastada Protein C ve serbest Protein S seviyelerinin kontrollere göre farklı olmadığını ve diabetin süresi, metabolik kontrol derecesi, uygulanan tedavinin tipi ve komplikasyonlar ile ilişki göstermediğini görmüşlerdir. Aynı parametreler ile serum kolesterol seviyesi arasında pozitif bir korelasyon olduğunu göstermişlerdir. Bu Knöbl ve arkadaşlarının vaskülopatisi olan şahıslardaki aynı konudaki sonuçları ile uyumludur<sup>199</sup>..

Yine Carmassi ve arkadaşları 40 IDDM'luda Protein C aktivitesinin sağlıklı kontrollere göre ve iyi ve kötü kontrollü diabetikler arasında fark göstermediğini bildirmişlerdir<sup>183</sup>.

Diabetiklerde Protein C'nin kofaktörü olan Protein S'in aktif formu olan serbest Protein S'in azaldığı da bildirilmiştir. Ceriello ve arkadaşları tarafından IDDM'lularda yapılan bir araştırmada, diabetiklerde total Protein S sağlıklılara göre fark göstermezken, serbest Protein S ve Protein S aktivitesinde azalma saptanmıştır. C4bBP düzeyinin HbA1c ile pozitif korelasyon gösterdiği ve kötü kontrollü diabetiklerde arttığı görülmüştür. Serbest Protein S'deki azalmanın artan C4bBP'e bir şift nedeniyle olabileceği söylenmektedir<sup>200</sup>. C4bBP'in çok düşük olduğu yenidoğanlarda total Protein S normal iken, serbest Protein S konsantrasyon ve aktivitesinin yüksek olduğunun gösterilmesi bu mekanizmanın geçerli olabileceğini ortaya koymaktadır<sup>201</sup>.

Ancak, Schwarz ve arkadaşlarının yaptığı 68 IDDM'lu hastayı içeren bir çalışmada, total Protein S diabetiklerde kontrole göre daha düşük bulunmuştur. Total Protein S ve HbA1c arasında pozitif bir korelasyon saptanmıştır. Azalmış olan Protein S'in aktive Protein C'nin etkisini azaltarak hiperkoagülabl bir duruma neden olabileceğinden bahsedilmiştir.

Bu çalışmada retinopatisi olan diabetikler ile sağlıklı kontroller arasında Protein S aktivitesi açısından anlamlı fark bulunamamıştır<sup>202</sup>.

Knöbl ve arkadaşları diabetik olmayan makrovasküler hastalığa sahip 38 hastada, Protein C antijen ve aktivitesi açısından sağlıklı kontrollere göre fark yokken serbest Protein S'i vaskülopatili hastalarda yüksek bulunmuştur. Bu durumu açıklamak için öne sürülen görüşlerden birisi trombositlerde depolanmış bulunan Protein S'in trombosit hiperaktivitesi nedeniyle salgılanmasının artmasıdır. Aynı çalışmada Protein C antijen düzeyi ile kolesterol ve trigliserid; Protein C aktivitesi ile kolesterol; serbest Protein S düzeyi ile trigliserid arasında pozitif korelasyon olduğunu görmüşlerdir<sup>203</sup>.

#### DIABET VE $\alpha$ 2 MAKROGLOBULİN -

Antitrombin etkiye sahip olan  $\alpha$ 2 makroglobulin ( $\alpha$ 2M) düzeyinde diabetiklerde yükseklik saptanmıştır<sup>164,204</sup>. Nonenzimatik glikozilasyonun  $\alpha$ 2M üzerine etkisi olmadığı düşünülmektedir. Beraberinde ATIII'ün aktivitesinde azalma nedeniyle buna karşı kompensatuar bir cevap olarak yükselbileceği ileri sürülmüştür<sup>160,161,164</sup>. Otuz NIDDM'lu hasta ATIII ve  $\alpha$ 2M konsantrasyon ve aktivitesi açısından sağlıklılarda, açlık durumunda (bazal) ve glukoz yüklemesi sonrası karşılaştırılmış ve bazal ATIII aktivitesinin, konsantrasyon değişmemesine rağmen az olduğu, ancak  $\alpha$ 2M'nin hem konsantrasyon hem de aktivitesinin yüksek olduğu

bulunmuştur. Glüköz yüklemesi sonrasında ATIII konsantrasyonu değişmezken, aktivitesinde azalma;  $\alpha$ 2M konsantrasyon ve aktivitesinde ise artma görülmüştür. Aynı çalışmada bazal şartlarda HbA1 ile  $\alpha$ 2M konsantrasyon ve aktivitesi arasında pozitif, ATIII aktivitesi arasında negatif korelasyon saptanmıştır<sup>160</sup>. Ancak bazı çalışmaların sonuçları bunlarla uyumlu değildir<sup>7</sup>.

## MATERYAL VE METOD

**Çalışma Grubu** : Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı Endokrinoloji Bilim Dalı'na servis ve poliklinikte izlenen "National Diabetes Data Group-NDDG" kriterlerine göre seçilen ve glisemi regülasyonu bozuk (HbA1c >%8) 28 diabetik hasta (2 IDDM, 26 NIDDM; 13 erkek, 15 kadın; yaş aralığı 29-68, ortanca 56.5 yıl) çalışmaya alındı. Kontrol grubu olarak ailesinde DM olmayan yaş, cins ve vücut kitle indeksi ( body mass index-BMI ) uyumlu 23 sağlıklı kişi seçildi ( 13 erkek, 10 kadın; yaş aralığı 27-65, ortanca 50 yıl ) (Tablo 1).

Seçilen hastaların otoimmün veya malign hastalığı, majör kardiovasküler, hepatik, renal bozukluğu yoktu. Hiçbiri hemostatik parametreleri doğrudan etkileyebilecek ilaç kullanmıyordu.

Hastaların biri yalnız diyet uygularken, yirmisi diyet ve oral antidiabetik (Sülfonilüre ve/veya Metformin ve/veya Akarboz), yedisi diyet ve insülin kullanıyordu.

Diabet teşhisinden bugüne kadar geçen zaman olarak alınan **diabet süreleri** 0-26 yıl arasında idi (Ortanca 5.5 yıl).

Bir göz hekimi tarafından yapılan fundoskopik muayene ile 12 hastada **background diabetik retinopati** saptandı. Diğer 16 hastada ise retinopati yoktu.

Hasta ve sağlıklı deneklerin tümüne çalışma hakkında bilgi verildi ve katılmaları için izin alındı.

**Çalışma Tasarımı** : Glisemi regülasyonunun bozuk olduğu başlangıç döneminde ilk kan örnekleri alınan hastalara regülasyonu sağlamak için üç ay süreyle diyet ve oral antidiabetik ve/veya insülin ile uygun tedavi uygulandı. Üçüncü ay sonunda ikinci kan örnekleri alındı.

Hastalar 3 aylık tedavi sonrasında HbA1c sonuçlarına göre "*iyi metabolik kontrol sağlananlar*" ( $HbA1c < \%8$ ,  $n=17$ ) ve "*iyi metabolik kontrol sağlanamayanlar*" ( $HbA1c > \%8$ ,  $n=6$ ) olarak ayrıldı. Hastaların 5'i üçüncü ay kontrollerine gelmedi.

**Kan Örneklerinin Alınması** : Kan örnekleri hastalar 12 saat aç, dinlenmiş ve insülin veya oral antidiabetik almadan, sabah saat 0800 ile 1000 arasında alındı. Kan alma işlemi antekübital venden ve 19 gauge iğne ile, trombosit ve koagülasyon sisteminin aktivasyonuna yol açmamak için tek seferde ve turnike kullanmadan uygulandı. Alınan kanın ilk 5 mL'si HbA1c ve CRP

ölçümü için ayrıldıktan sonra, geri kalanı 1/10 volüm %3.8 sitrat içeren tüplere kondu. Sitratlı tüpler hemen buzlu kaplara konup +4°C'da 15 dakika süreyle 2500 devirde santrifüje edildi. Elde edilen trombositten fakir plazma alikotlara ayrılıp çalışmanın yapılacağı zamana kadar -80°C'da derin dondurucuda saklandı.

### **Laboratuar Çalışmaları :**

**HbA1c** "ion-exchange microcolumn" metodu ile ölçüldü (Eagle Diagnostics, USA).

**CRP** immünotürbidimetrik metodla ölçüldü (Tina-quant a CRP, Boehringer Mannheim Automated Analysis for BM/Hitachi Systems (911)).

**Protein C antijen düzeyi** ELISA ile ölçüldü (Asserachrom Protein C, Diagnostica Stago, Asnieres, France).

**Protein C aktivitesi** kolorimetrik metodla ölçüldü (Stachrom Protein C, Diagnostica Stago, Asnieres, France).

**Total Protein S antijen düzeyi** "microlatex particle-mediated immunoassay" ile ölçüldü (LIATEST Protein S, Diagnostica Stago, Asnieres, France ).

**Protein S aktivitesi** "clotting assay" ile ölçüldü (Staclot Protein S, Diagnostica Stago, Asnieres, France).

**C4bBP düzeyi** "microlatex photometric immunoassay" ile ölçüldü (LIATEST C4b-BP, Diagnostica Stago, Asnieres, France).

**Antitrombin III antijen düzeyi** *nefelometrik* olarak ölçüldü (Antithrombin III (AT3), Beckman Immunochemistry Systems, USA).

**Antitrombin III aktivitesi** *kolorimetrik* metodla ölçüldü (ATIII Chrom, Bio Merieux, Marcy-l'Etoile, France).

**Heparin kofaktör II antijen düzeyi** *ELISA* ile ölçüldü (Asserachrom Heparin Cofactor II, Diagnostica Stago, Asnieres, France).

**Heparin kofaktör II aktivitesi** *kolorimetrik* metodla ölçüldü (Starachrom HCII, Diagnostica Stago, Asnieres, France).

Tüm ölçümler üretici firmanın önerilerine titizlikle uyularak gerçekleştirildi. Çalışmalar ikili olarak yapıldı ve iki değer in ortalaması alındı. Kalibrasyon ve kontrol için kitin içinden çıkan kalibratör ve kontroller veya en az 20 sağlıklı denekten hazırlanmış plazma havuzcuğu (% 100 değer) kullanıldı. Aynı deneğin iki ölçümü aynı esnada ve hasta ile kontrollerin plazmaları paralel olarak çalışıldı.

### **İstatistik Değerlendirme :**

Gruplar arası karşılaştırma "Mann-Whitney U" testi ile; metabolik kontrol öncesi (bazal) ve sonrası (3.ay sonu) değerlerin karşılaştırması "Wilcoxon Signed-Rank" testi ile yapıldı. Parametreler arasındaki korelasyon "Spearman Korelasyon Katsayısı" ile hesaplandı. Metin içindeki değerler ortanca(min-max); tablolardaki değerler ortalama(SD) ve ortanca(min-max)



olarak verildi.  $P$  değeri 0.05'den küçük ise istatistik olarak anlamlı kabul edildi.

**SONUÇLAR**

1. Hastaların metabolik kontrolün kötü olduğu dönemdeki (bazal) değerleri ile sağlıklı kontroller arasında Antitrombin III, Heparin kofaktör II, Protein C, Protein S, C4bBP antijen düzeyleri; Antitrombin III, Heparin kofaktör II, Protein C, Protein S aktiviteleri açısından anlamlı fark yoktu (Tablo 2).
2. İyi metabolik kontrol sağlanan hastaların Protein S ve C4bBP antijen düzeyleri 3. ay sonunda bazale göre anlamlı olarak düşük idi (sırasıyla  $p=0.0049$  ve  $p=0.029$ ). Diğer parametreler açısından aralarında fark yoktu (Tablo 3).
3. Background Retinopatisi olan hastaların Protein C ve Protein S antijen düzeyleri retinopatisi olmayanlara göre daha düşük idi (sırasıyla  $p=0.0087$  ve  $p=0.04$ ). Diğer parametreler açısından aralarında anlamlı fark saptanmadı (Tablo 4).
4. Retinopatisi olan hastalar ile kontroller arasında koagülasyon inhibitörleri açısından anlamlı fark saptanmadı.
5. İyi metabolik kontrol sağlananlar ile gerek sağlanamayanlar gerekse sağlıklı kontroller arasında koagülasyon inhibitörleri açısından anlamlı fark saptanmadı (Tablo 5 ve 6).

6. Hastalar ve kontrollerde Protein S antijen düzeyi ile C4bBP arasında güçlü pozitif korelasyon vardı (sırasıyla  $r=0.66$ ,  $p<0.001$ ;  $r=0.73$ ,  $p<0.001$ )(Tablo 7).
7. İyi metabolik kontrol sağlanan hastalarda Protein S antijen düzeyi ile C4bBP arasında bazal durumda güçlü bir korelasyon var iken ( $r=0.78$ ,  $p<0.001$ ), 3 ay sonunda istatistik olarak anlamlı korelasyon yoktu ( $r=0.45$ ,  $p>0.05$ ) (Tablo 7).
8. CRP ile C4bBP arasında gerek hastalar gerekse kontrollerde anlamlı korelasyon korelasyon yoktu (Tablo 7).
9. Hastalarda yaş ile Protein C antijen düzeyi ve Protein S aktivitesi arasında negatif korelasyon vardı (sırasıyla  $r=-0.45$ ,  $p=0.017$ ;  $r=-0.39$ ,  $p=0.037$ ).
10. Sağlıklılarda yaş arttıkça Heparin kofaktör II antijen düzeyi azalmaktaydı ( $r=-0.43$ ,  $p=0.038$ ).
11. Diabet süresi arttıkça Protein C ve Protein S antijen düzeyleri azalmaktaydı (sırasıyla  $r=-0.55$ ,  $p=0.002$ ;  $r=-0.49$ ,  $p=0.008$ ).
12. Hastalar ve sağlıklı kontrollerin HbA1c düzeyleri ile koagülasyon parametrelerinin hiçbiri arasında korelasyon yoktu.

**Tablo 1 :** Hasta ve kontrollerin genel özellikleri (Değerler ortalama±SD olarak verilmiştir).

	DIABETİK HASTALAR	KONTROLLER	p
Sayı	28	23	
Cinsiyet ( E/K )	13/15	13/10	
Yaş ( yıl )	52 ± 10	47 ± 12	> 0.05
BMI*( kg/m <sup>2</sup> )	25.9 ± 4.4	26.2 ± 3.3	> 0.05
Diabet süresi ( yıl )	7.5 ± 6.6	-	
IDDM/NIDDM	2/26	-	
Retinopati** (var/yok )	12/16	-	
HbA1c ( % )	12.1 ± 2.6	5.4 ± 0.6	< 0.0001

\*BMI = Vücut Kitle İndeksi \*\* Background Retinopati

**Tablo 2:** Hastaların metabolik kontrolün kötü olduğu bazal değerleri ile sağlıklı kontrollerin koagülasyon parametrelerinin karşılaştırılması (Ag : antijen düzeyi, \* %)

	HASTALAR		KONTROLLER		p
	ORTALAMA ( SD )	ORTANCA ( min-max )	ORTALAMA ( SD )	ORTANCA ( min-max )	
ATIII Ag ( mg/dL )	28.5 ( 2.8 )	28.9 ( 21.8-32.8 )	28.9 ( 2.0 )	28.9 ( 26-33.1 )	> 0.05
ATIII ( aktivite * )	95 ( 17 )	96 ( 35-125 )	99 ( 15 )	99 ( 79-132 )	> 0.05
PC Ag*	100 ( 19 )	102 ( 57-137 )	97 ( 12 )	94 ( 81-133 )	> 0.05
PC ( aktivite * )	93 ( 19 )	96 ( 46-126 )	103 ( 18 )	101 ( 75-140 )	> 0.05
PS Ag ( total * )	106 ( 11 )	103 ( 91-145 )	103 ( 13 )	102 ( 89-153 )	> 0.05
PS ( aktivite* )	109 ( 21 )	110 ( 60-155 )	112 ( 20 )	113 ( 74-150 )	> 0.05
C4bBP*	104 ( 12 )	103 ( 83-140 )	99 ( 12 )	102 ( 51-118 )	> 0.05
HClI Ag ( ng/mL )	35.17 ( 3.50 )	34.28 ( 26.68-41.76 )	34.96 ( 2.87 )	35.48 ( 28.72-39.84 )	> 0.05
HClI ( aktivite* )	113 ( 20 )	116 ( 67-145 )	112 ( 25 )	101 ( 50-149 )	> 0.05

**Tablo 3:** İyi metabolik kontrol sağlanan hastaların bazal ve 3.ay sonu koagülasyon parametrelerinin karşılaştırılması (Ag:antijen düzeyi , \*%)

	BAZAL		3.AY SONU		p
	ORTALAMA ( SD )	ORTANCA ( min-max )	ORTALAMA ( SD )	ORTANCA ( min-max )	
ATIII Ag ( mg/dL )	27.9 ( 2.7 )	26.8 ( 24.4-32.1 )	28.4 ( 3.9 )	28.4 ( 23.3-39.7 )	> 0.05
ATIII ( aktivite* )	97 ( 12 )	96 ( 77-125 )	105 ( 18 )	102 ( 83-140 )	> 0.05
PC Ag*	103 ( 19 )	106 ( 69-137 )	99 ( 15 )	98 ( 77-132 )	> 0.05
PC ( aktivite* )	97 ( 17 )	92 ( 75-126 )	97 ( 14 )	100 ( 73-118 )	> 0.05
PS Ag ( total* )	107 ( 13 )	103 ( 91-145 )	100 ( 8 )	99 ( 93-130 )	= 0.0049
PS ( aktivite* )	103 ( 20 )	107 ( 60-134 )	105 ( 15 )	111 ( 67-128 )	> 0.05
C4bBP*	106 ( 13 )	104 ( 83-140 )	97 ( 16 )	99 ( 52-134 )	= 0.029
HCII Ag ( ng/mL )	33.32 ( 2.43 )	33.36 ( 26.68-37.12 )	33.20 ( 2.80 )	32.76 ( 26.56-38.12 )	> 0.05
HCII ( aktivite* )	110 ( 19 )	116 ( 67-140 )	112 ( 18 )	111 ( 58-146 )	> 0.05

**Tablo 4:** Retinopatisi ( background ) olan ve olmayan hastaların koagülasyon parametrelerinin karşılaştırılması (Ag : antijen düzeyi , \*%)

	OLANLAR		OLMAYANLAR		p
	ORTALAMA ( SD )	ORTANCA ( min-max )	ORTALAMA ( SD )	ORTANCA ( min-max )	
ATIII Ag ( mg/dL )	29.2 ( 2.7 )	29.6 ( 24.4-32.2 )	27.8 ( 2.8 )	28.6 ( 21.8-32.8 )	>0.05
ATIII ( aktivite* )	99 ( 10 )	99 ( 80-116 )	92 ( 20 )	93 ( 35-125 )	>0.05
PC Ag*	89 ( 18 )	85 ( 57-117 )	108 ( 16 )	114 ( 76-137 )	=0.0087
PC ( aktivite* )	94 ( 15 )	94 ( 67-125 )	93 ( 22 )	98 ( 46-126 )	>0.05
PS Ag ( total* )	102 ( 6 )	102 ( 91-120 )	109 ( 12 )	105 ( 97-145 )	=0.04
PS ( aktivite* )	109 ( 16 )	110 ( 82-134 )	110 ( 24 )	109 ( 60-155 )	>0.05
C4bBP*	100 ( 7 )	99 ( 90-117 )	107 ( 14 )	106 ( 83-140 )	>0.05
HCII Ag ( ng/mL )	34.87 ( 3.93 )	35.68 ( 26.68-39.40 )	35.40 ( 3.25 )	33.90 ( 30.88-41.76 )	> 0.05
HCII ( aktivite* )	114 ( 22 )	118 ( 67-145 )	112 ( 19 )	112 ( 88-144 )	>0.05

**Tablo 5 :** 3. ay sonunda iyi metabolik kontrol sağlanan ve sağlanamayan hastaların koagülasyon parametrelerinin karşılaştırılması  
(Ag : antijen düzeyi, \* %)

	İYİ METABOLİK KONTROLLÜ HASTALAR		KÖTÜ METABOLİK KONTROLLÜ HASTALAR		P
	ORTALAMA (SD)	ORTANCA ( min-max )	ORTALAMA ( SD )	ORTANCA ( min-max )	
ATIII Ag ( mg/dL )	28.4 ( 3.9 )	28.4 ( 23.3-39.7 )	28.8 ( 3.9 )	28.6 ( 22.2-33.8 )	>0.05
ATIII ( aktivite* )	105 ( 18 )	102 ( 83-140 )	102 ( 13 )	101 ( 87-122 )	>0.05
PC Ag*	99 ( 15 )	98 ( 77-132 )	95 ( 15 )	100 ( 72-110 )	>0.05
PC ( aktivite* )	97 ( 14 )	100 ( 73-118 )	86 ( 23 )	96 ( 44-108 )	>0.05
PS Ag ( total* )	100 ( 8 )	99 ( 93-130 )	103 ( 7 )	101 ( 96-114 )	>0.05
PS ( aktivite* )	105 ( 15 )	111 ( 67-128 )	126 ( 26 )	121 ( 100-159 )	>0.05
C4bBP*	97 ( 16 )	99 ( 52-134 )	101 ( 8 )	101 ( 90-115 )	>0.05
HCII Ag ( ng/mL )	33.20 ( 28.40 )	32.76 ( 25.56-38.12 )	34.26 ( 2.55 )	34.88 ( 30.56-37.72 )	>0.05
HCII Ag ( aktivite* )	112 ( 18 )	111 ( 58-146 )	116 ( 13 )	116 ( 95-131 )	>0.05

**Tablo 6 :** İyİ metabolik kontrol sağlanan hastaların ( 3.ay sonu ) ve kontrollerin koagölasyon parametrelerinin karşılaştıırılması (Ag : antijen düzeyi, \* %)

	İYİ METABOLİK KONTROL SAĞLANANLAR		SAĞLIKLİ KONTROLLER		P
	ORTALAMA (SD)	ORTANCA ( min-max )	ORTALAMA ( SD )	ORTANCA ( min-max )	
ATIII Ag ( mg/dL )	28.4 ( 3.9 )	28.4 ( 23.3-39.7 )	28.9 ( 2.0 )	28.9 ( 26.0-33.1 )	>0.05
ATIII ( aktivite* )	105 ( 18 )	102 ( 83-140 )	99 ( 15 )	99 ( 79-132 )	>0.05
PC Ag*	99 ( 15 )	98 ( 77-132 )	97 ( 12 )	94 ( 81-133 )	>0.05
PC ( aktivite* )	97 ( 14 )	100 ( 73-118 )	103 ( 18 )	101 ( 75-140 )	>0.05
PS Ag ( total* )	100 ( 8 )	99 ( 93-130 )	103 ( 13 )	102 ( 89-153 )	>0.05
PS ( aktivite* )	105 ( 15 )	111 ( 67-128 )	112 ( 20 )	113 ( 74-150 )	>0.05
C4bBP*	97 ( 16 )	99 ( 52-134 )	99 ( 12 )	102 ( 51-118 )	>0.05
HCII Ag ( ng/mL )	33.20 ( 2.80 )	32.76 ( 26.56-38.12 )	34.96 ( 2.87 )	35.48 ( 28.72-39.84 )	>0.05
HCII Ag ( aktivite* )	112 ( 18 )	111 ( 58-146 )	112 ( 25 )	101 ( 50-149 )	>0.05

**Tablo 7:** Hastalar(bazal), kontroller ve iyİ metabolik kontrol sağlanan hastaların (0 ve 3.ay sonu) CRP ve Protein S antijen düzeyleri ile C4bBP arasındaki korelasyonları (Ag: antijen düzeyi)

	HASTALAR		KONTROLLER		İYİ METABOLİK KONTROL SAĞLANANLAR			
	r	p	r	p	0.AY		3.AY SONU	
					r	p	r	p
PSAg-C4bBP	0.66	<0.001	0.73	<0.001	0.78	<0.001	0.45	0.07
CRP-C4bBP	-0.11	>0.05	0.14	>0.05	0.09	>0.05	0.28	>0.05

## TARTIŞMA

Diabetes Mellitus'lu hastalarda retinopati, nefropati, nöropati gibi mikrovasküler ve myokard infarktüsü, stroke ve periferik arter hastalığı gibi makrovasküler komplikasyonlar sık olarak görülmektedir. Glisemi regülasyonu ile sağlanan metabolik kontrolün bu komplikasyonları geciktirdiği düşünülmektedir (DCCT)<sup>1</sup>. Bu vaskülopatinin patogenezinde hemostaz sistemi bozuklukları kısmen sorumlu olabilir. Bu konuda yapılan çok sayıda araştırmada koagülasyon sisteminin aktive olduğuna dair bulgular mevcuttur. Bu aktivasyonda, koagülasyon faktörlerinin antijen düzeyi veya aktivitelerinde artma yanında<sup>155,161,205,206,207</sup>, bunların doğal inhibitörlerinin miktar ve/veya fonksiyonlarının azalması da rol oynayabilir<sup>159,165,175,189,208</sup>. Ancak bu konuda yapılan çalışmaların sonuçları çelişkilidir. Koagülasyon inhibitörlerinin diabetiklerde sağlıklılara göre azaldığı, değişmediği ve arttığı yönünde yayınlar vardır. Bizim çalışmamızda da genel olarak koagülasyonun doğal inhibisyon yolunun sağlıklılardan farklı olmadığı görülmüştür.

Diabetiklerde, plazmanın en önemli doğal antikoagülanı olan ATIII'ün antijen düzeyinin değişmediği, ancak nonenzimatik glikozilasyon yoluyla biyolojik aktivitesinin azaldığı son zamanlardaki hakim görüştür (Ceriello<sup>2,156,159,160,164</sup>, Villanueva<sup>152</sup>, Ho<sup>169</sup>, Blavy<sup>168</sup>, Evans<sup>161</sup> ve arkadaşları). ATIII'ün kofaktörü olan heparinin in vivo ve in vitro



verilmesinin ve öglisemi sağlanmasının biyolojik aktiviteyi arttırdığı ileri sürülmüştür<sup>107</sup>. Oysa yine diabetiklerde ATIII aktivitesinin değişmediği (Gandolfo, Brooks, Patrassi, Kubisz, Dornan<sup>161</sup> ve Garcia Frade<sup>174</sup> ve arkadaşları); ATIII aktivitesinin arttığı (Fuller, Mosperi, Grignani, Elder, Tsianos ve Stathakis<sup>161</sup> ve Borse<sup>173</sup>, Koert<sup>7</sup>, Knöbl<sup>172</sup> ve arkadaşları) yönünde de yayınlar vardır.

Bizim çalışmamızda da ATIII'ün hem antijen düzeyi hem de aktivitesi diabetiklerde sağlıklılara göre farklı bulunmamıştır. İyi glisemik kontrol sağlanan hasta grubunda hem antijen hem aktivite açısından bazal ve 3. ay arasında fark saptanmamıştır. Ayrıca aynı grup ile glisemik kontrol sağlanamayanlar ve sağlıklı kontroller arasında da fark bulunmamıştır. Bu da ATIII molekülünün nonenzimatik glikozilasyon yoluyla aktivitesinin azaldığı görüşü ile çelişmekte ve glisemik kontrolün ATIII antijen düzeyi ve aktivitesi üzerine etkisi olmadığını düşündürmektedir.

Retinopati gibi mikrovasküler komplikasyonların patogenezinde rol oynadığı ileri sürülen mikrotrombüs oluşumu ve kapiller seviyede iskemiye koagülasyon inhibisyonundaki yetersizliğin katkıda bulunabileceği düşünülebilir. Ancak çalışmamızda en önemli koagülasyon inhibitörü olan ATIII'ün hem antijen düzeyi hem de aktivitesi retinopatisi olanlarda olmayanlardan ve sağlıklı kontrollerden farklı değildi. Bu da retinopati

oluşumunda koagülasyon inhibisyonunun yetersizliğinin primer öneme sahip olmadığını düşündürmektedir. Bu, Borse<sup>173</sup>, Fuller<sup>180</sup> ve arkadaşlarının retinopatisi olanlarda daha yüksek ATIII aktivitesi olduğu şeklindeki sonuçlarından da farklıdır.

ATIII antijen düzeyi ve aktiviteleri ile ilgili farklı sonuçlar bildirilmesinin nedeni olarak çalışmalar arasında deneklerin yaş, cins, ırk, vücut kitle indeksi, menapoza girip girmediği, diabetin tipi, kullanılan ilaçlar (insülin / oral hipoglisemik ajanlar), alkol alımı, sosyoekonomik durum, sigara içimi, lipid düzeyleri, ATIII antijen ve aktivite tayininde kullanılan yöntemler açısından homojen olmamalar sorumlu tutulabilir. Bu konuda yapılan geniş kapsamlı araştırmalarda sayılan parametreler ile ATIII arasında pozitif ya da negatif korelasyonlar olduğu bildirilmiştir<sup>176</sup>. Ayrıca ATIII'ün bireysel değişkenliğinin çok fazla olduğu, tek ölçüme göre değerlendirmenin doğru olmayacağı da öne sürülmüştür<sup>209,210</sup>. Çalışmamızda hasta ve sağlıklılarda ATIII antijen düzeyi ve aktivitesi ile yaş, vücut kitle indeksi ve diabetiklerde diabet süresi arasında korelasyon saptanmadı.

Bulduğumuz sonucun koagülasyonun aktive olduğunun göstergeleri olan fibrinojen yıkımının ve bu sırada açığa çıkan fibrinopeptid A miktarının artmadığının; trombinin ATIII ile oluşturduğu TAT kompleks düzeyinin düşmediğinin gösterilmesi ile desteklenmesi ve ayrıca ATIII'ün yarılanma

ömrünün kısa olması nedeniyle (3 gün), uzun süreli değil kısa süreli glisemik kontrol göstergeleri ile değerlendirmeler yapılması daha uygun olabilirdi<sup>208</sup>. Çalışmamızda hasta ve sağlıklılarda HbA1c ile ATIII antijen düzeyi ve aktivitesi arasında korelasyon saptanmadı.

Diabetik hastalarda diğer bir doğal antikoagulan olan HCII hakkında yapılan az sayıdaki araştırmada ATIII gibi nonenzimatik glikozilasyona uğradığı<sup>157</sup> ve diabetiklerde sağlıklılara göre antijen düzeyi değişmeden biyolojik aktivitesinin azaldığı<sup>157,187,188</sup> görüşü hakimdir. In vitro şartlarda glukoz konsantrasyonu arttıkça nonenzimatik glikozilasyonun arttığı ve HCII'nin biyolojik aktivitesinin azaldığı ileri sürülmüştür<sup>157</sup>. Ayrıca sağlıklı şahıslarda HCII antijen düzeyi ve aktivitesi arasında güçlü pozitif korelasyon var iken, diabetiklerde bu ilişkinin olmaması bu görüşleri desteklemektedir<sup>187</sup>.

Bizim çalışmamızda ise, HCII antijen düzeyi ve aktivitesi açısından diabetikler ve sağlıklı kontroller arasında anlamlı fark bulunamamıştır. Yine 3. ay sonunda glisemik kontrol sağlanan hastalarda bazale ve glisemik kontrol sağlanamayanlara göre aynı parametreler açısından anlamlı fark yoktu. Hatta iyi metabolik kontrol sağlanan grupta HCII antijen düzeyi kontrollere göre anlamlı olarak daha düşük olma eğiliminde idi. Ancak

aralarında istatistik olarak fark yoktu ( $p=0.05$ ). Tüm bu sonuçlar yukarıdaki görüş ile çelişmektedir.

Diabette HCII eksikliğinin, herediter HCII eksikliklerinde olduğu gibi, pretrombotik bir ortam yaratarak mikro- ve makrovasküler komplikasyonların gelişimine katkı sağlayabileceği düşünülebilir<sup>187</sup>.

Çalışmamızda retinopatisi olanlarda olmayanlara ve kontrollere göre HCII antijen düzeyi ve aktivitesi açısından anlamlı fark saptanmamıştır.

HbA1c düzeyi yüksek olan diabetik hastalarda, kontrollere göre HCII aktivitesinin, antijen düzeyi değişmeden, anlamlı olarak düştüğü bildirilmiştir<sup>188</sup>. Çalışmamızda hasta ve kontrollerde HbA1c ile HCII antijen düzeyi ve aktivitesi arasında korelasyon saptanmamıştır. HCII'nin yarılanma ömrünün 2.5 gün gibi kısa olması, oysa HbA1c'nin yaklaşık 60 günlük bir glisemik düzeyi yansıması bu durumu açıklayabilir. Bu nedenle kısa süreli metabolik kontrolü gösteren parametreler ile karşılaştırmalar yapılması daha uygun olabilirdi<sup>187</sup>.

Hastalarda yaş ile HCII antijen düzeyi arasında korelasyon yok iken, sağlıklılarda negatif korelasyon vardı ( $r=-0.43$ ,  $p=0.038$ ). Bu daha önceden yaşla arttığı bildirilen HCII antijen düzeyi sonuçları ile uyumlu değildir<sup>192,193</sup>.

Diabetiklerde diğerk bir koagölasyon inhibitörü olan PC ve kofaktörü olan PS hakkında yapılan çalışmalarda ise çelişkili sonuçlar bildirilmiştir. Sağlıklılara göre PC antijen düzeyi ve/veya aktivitesinin azaldığı (Vukovich<sup>194</sup>, Ceriello<sup>198</sup>, Schernthaler<sup>195</sup>, Koert<sup>7</sup> ve arkadaşları); değişmediğı (Saito<sup>199</sup>, Carmassi<sup>183</sup> ve arkadaşları); arttığı (Vigano<sup>197</sup>, Knöbl<sup>172</sup>, El Khawand<sup>6</sup>, Ho<sup>169</sup> ve arkadaşları) şeklinde sonuçlar yayınlanmıştır.

PC'nin açlık glisemi düzeyi ile negatif korelasyon gösterdiği<sup>194,198</sup>; göstermediğı<sup>183,195</sup>; HbA1c ile korele olmadığı<sup>6,183,194,195,198,199</sup> gibi farklı sonuçlar bildirilmiştir. Ayrıca PC'nin retinopati veya nefropati gibi mikrovasküler komplikasyona sahip olanlarda olmayanlara göre farklı olmadığı<sup>172,194,199,202</sup> ve arttığı<sup>5</sup> gibi sonuçlar vardır. Bunlar koagölasyon inhibisyonundaki yetersizliğin mikrovasküler hastalığın patogenezinde rol oynayabileceğı şeklindeki görüş ile çelişmektedir.

PC'nin kofaktörü olan PS hakkında bildirilen sonuçlar daha da karmaşıktır. Bilindiğı gibi PS'in %40'ı aktif olan serbest, %60'ı bir akut faz reaktanı olan C4bBP'e bağlı durumda bulunmaktadır. Bu konuda daha önceden yapılan çalışmaların bazılarında total, bazılarında serbest PS, bazılarında da PS aktivitesi ölçölmüştür.

Diabetiklerde sağlıklı kontrollere göre total PS düzeyinin arttığı (Schernthaner<sup>195</sup>, Knöbl<sup>5,172</sup>, El Khawand<sup>6</sup> ve arkadaşları); değişmediği (Ceriello<sup>200</sup> ve arkadaşları); azaldığı (Schwarz<sup>202</sup> ve arkadaşları) gibi farklı sonuçlar vardır. Serbest PS düzeyi de sağlıklı kontroller ile aynı (Schernthaner<sup>195</sup>, Saito<sup>199</sup>, Knöbl<sup>172</sup> ve arkadaşları); azalmış (Ceriello<sup>200</sup> ve arkadaşları) saptanmıştır. Yine Ceriello ve arkadaşları diabetiklerde PS aktivitesinin azaldığını ve bu durumun HbA1c ile pozitif korelasyon gösteren C4bBP'deki artıştan dolayı aktif olan serbest fraksiyonun azalması nedeniyle olabileceğini ileri sürmüşlerdir<sup>200</sup>.

Çoğu çalışmada total PS ve serbest PS düzeyinin metabolik kontrolün sağlanması ile değişme göstermediği bildirilmiştir<sup>6,172,195,199</sup>. Mikro- veya makrovasküler hastalığı olan diabetiklerde total PS ve/veya serbest PS'in olmayanlara göre farklı olmadığı<sup>172,202</sup> veya arttığı<sup>5</sup> gibi sonuçlar vardır.

Bu kadar farklı sonuçlar elde edilmesinin nedeni olarak, farklı diabet tiplerinde ve yaş gruplarında çalışılması; serum kolesterol ve trigliserid düzeyinden etkilendiği öne sürülen PC ve PS'in<sup>199,203</sup> farklı kolesterol ve trigliserid düzeyine sahip hastalarda çalışılması, sirkadyen ritmi olduğu bildirilen PC ve PS için (Undar ve arkadaşları)<sup>211</sup> farklı zamanlarda kan örneğinin alınması gibi faktörler sorumlu olabilir.

Bizim çalışmamızda da PC, total PS, C4bBP antijen düzeyleri ve PC, PS aktiviteleri diabetikler ile sağlıklılar arasında; iyi metabolik kontrol sağlananlar ile sağlanamayanlar ve sağlıklılar arasında farklı değildi.

Üç aylık uygun antihiperглиsemik tedavi sonunda iyi metabolik kontrol sağlanan hastaların bazal total PS ve C4bBP antijen düzeyleri bu süre sonuna göre anlamlı olarak daha yüksekti (sırasıyla  $p=0.0049$  ve  $p=0.029$ ). Ancak PC antijen düzeyi ve PC ve PS aktiviteleri açısından aralarında anlamlı fark yoktu. Bazal total PS ve C4bBP'deki bu yükseklik, hiperглиsemi nedeniyle C4bBP düzeylerindeki artışı kompanse etmek ve serbest PS düzeyini ve PS aktivitesini korumak için olabilir. Bu durum koagülasyon inhibisyonundaki yetersizliği önleyecektir. Bunun tersi de PS antijen düzeyindeki artışı kompanse etmek ve serbest PS düzeyi ve PS aktivitesini korumak için C4bBP'deki artıştır. Bu da koagülasyonun aşırı inhibisyonunu önleyecektir. Çalışmamızda hasta ve sağlıklılarda total PS ve C4bBP düzeyi arasında güçlü pozitif korelasyon vardı (sırasıyla  $r=0.66$ ,  $p<0.001$  ve  $r=0.73$ ,  $p<0.001$ ). Bu durum total PS antijen düzeyi ve C4bBP arasındaki ilişkiyi ortaya koymaktadır. Bununla tutarlı bir bulgu da iyi metabolik kontrol sağlanan hastalarda bazal durumda total PS düzeyi ile C4bBP arasında var olan güçlü korelasyonun ( $r=0.78$ ,  $p<0.001$ ), glicemik kontrol sağlandıktan sonra kaybolmasıdır ( $r=0.45$ ,  $p>0.05$ ). Ceriello ve arkadaşları

HbA1c ile C4bBP arasında pozitif korelasyondan bahsetmişler ve diabetiklerde artan C4bBP'in serbest PS düzeyi ve PS aktivitesini azalttığını bildirmişlerdir. Bizim çalışmamızda ise HbA1c ile C4bBP arasında korelasyon hasta ve sağlıklılarda saptanmadı. Burada da kısa süreli glisemik kontrol göstergeleri ile karşılaştırma yapılması uygun olabilirdi. Diabetik hastalarda akut faz reaksiyonu yaratacak durumlara sık olarak rastlanabilir. Kompleman inhibitörü olan C4bBP de bir akut faz reaktanıdır. Çalışmamızda CRP ile C4bBP arasında korelasyon olmaması C4bBP düzeyini değiştirecek akut faz reaksiyonunun olmadığını göstermektedir.

Hastalarda diabet süresi arttıkça PC ve PS antijen düzeyleri azalmaktaydı (sırasıyla  $r=-0.55$ ,  $p=0.002$  ve  $r=-0.49$ ,  $p=0.008$ ). Yine hastalarda yaş arttıkça PC antijen düzeyi ve PS aktiviteleri azalmaktaydı (sırasıyla  $r=-0.45$ ,  $p=0.017$ ;  $r=-0.39$ ,  $p=0.037$ ). Bu durum diabet süresi ve yaş arttıkça mikro- ve makrovasküler komplikasyonların daha fazla ortaya çıkmasını açıklamaya yardımcı olabilir. Daha önceki bazı çalışmalarda ise yaşla PC antijen düzeyi ve aktivitesinin arttığından bahsedilmiştir. Çalışmamızda, sağlıklı kontrollerde aynı korelasyonlar tesbit edilmemiştir.

Ne hastalarda ne de sağlıklılarda HbA1c düzeyi ile PC, PS, C4bBP antijen düzeyi ve PC, PS aktiviteleri arasında korelasyon vardı. Bu durum bu parametreler üzerine uzun süreli glisemik kontrolün etkisinin olmadığını



işaret etmekle beraber, yarı ömürleri HbA1c'ye göre çok kısa olduğu için kısa süreli glisemik kontrol göstergeleri ile değerlendirmeler yapılması uygun olabilir.

Çalışmamızda PC ve PS'in antijenik düzeyleri retinopatisi olan hastalarda olmayanlara göre daha daha düşük idi (sırasıyla  $p=0.0087$  ve  $p=0.04$ ). Ancak PC ve PS aktiviteleri açısından aralarında anlamlı fark yoktu. PC ve PS antijen düzeyinde saptanan bu düşüklüğün koagülasyon inhibisyonunda yetersizliğe neden olarak retinopati patogenezinde sorumlu olduğu öne sürülen mikrotrombüs oluşumuna zemin hazırlayabileceği düşünülebilir. PC ve PS aktivitelerinde aynı düşüklüğün saptanmaması bu düşünce ile çelişmemektedir. Koagülasyon sisteminin her an sabit aktivasyonda olduğunu söylemek güçtür. Olağan koşullarda yeterli aktivite gösterirlerken koagülasyon kaskadının daha fazla aktive olduğu durumlarda antijenik düzeylerinin izin verdiği kadar fonksiyon gösterebilirler. Bu da yeterli inhibisyon oluşmamasına yol açabilir. Bundan başka retinopatisi olanlarda artan mikrovasküler hasar nedeniyle PC ve PS'in tüketildiği ve antijen düzeyinin azaldığı da düşünülebilir. Ayrıca antijen düzeyi ölçümü fonksiyonel aktivite ölçümüne göre daha hassastır. Bu da aradaki uyumsuzluğun sebeplerinden olabilir.

Tüm bu sonuçlar diabette koagülasyon inhibisyonunda belirgin bir yetersizliğinin olmadığını düşündürmektedir. Ayrıca koagülasyon yolunda rol alan birçok proteinin nonenzimatik glikozilasyon gibi yollarla fonksiyonlarının azaldığı görüşü çalışmamızda desteklenmemiştir. Bu konuda aynı yönde sonuç bildiren çok sayıda yayın da mevcuttur. Üç aylık glisemik kontrolün PS ve onun bağlayıcı globulini olan C4bBP hariç koagülasyon inhibitörleri üzerine etkisi olmadığı görülmektedir. Uzun süreli glisemik kontrol göstergeleri ile koagülasyon inhibitörleri arasında korelasyon saptanmamıştır. Retinopatisi olan hastalarda PC ve PS antijen düzeyindeki düşüklüğün koagülasyon inhibisyonuna kısmen katkıda bulunabileceği düşünülebilir.

Trombüs oluşumuna koagülasyon inhibisyonunda yetersizlik kadar koagülasyon faktörlerinin antijen düzeyi veya aktivitelerinde artma, koagülasyona karşı dengeleme görevi yapan fibrinolitik sistemin yeterli çalışmaması da neden olabilir. Bu nedenle koagülasyon olayına dinamik bir süreç olarak bakılmalıdır. Yalnızca koagülasyon inhibitörlerine bakmaktansa, TAT Kompleks gibi inaktivasyon ürünleri ve doğrudan fibrin oluşumunun göstergeleri olan fibrinopeptid A ve B düzeylerinin tayini ile beraber değerlendirilmesi daha uygun olacaktır. Ayrıca hemostaz regülasyonunun aktif elemanlarından olan endotel ve trombosit fonksiyonlarının da araştırılması gereklidir. Bu da ileride yapılabilecek daha geniş kapsamlı

çalışmalarla mümkündür. Diabetik hastalarda koagülasyon sistemi hakkında daha detaylı bilgi sahibi olunması tromboz riskini en aza indirmek için profilaksi ve tedavi girişimlerini de beraberinde getirecektir.

## ÖZET

Diabetik hastalarda mikrovasküler komplikasyonların gelişimine koagülasyon bozukluklarının katkısı hala tartışmalıdır. Bu çalışmada, diabetik hastalarda koagülasyon inhibitörlerinin sağlıklı kontrollere göre farkı; iyi metabolik kontrolün koagülasyon inhibitörleri üzerine etkileri ve diabetik retinopati ile bu inhibitörler arasındaki ilişki araştırıldı. Antitrombin III (ATIII), Protein C (PC), Protein S (PS) ve Heparin kofaktör II (HCII)'nin plasma antijen düzeyleri ve aktiviteleri ile C4b-binding protein (C4bBP) düzeyleri, glisemi kontrolü kötü olan (HbA1c aralık %8.4-19, ortanca 11.8) 28 diabetik hastada (15 kadın, 13 erkek; yaş aralığı 29-68, ortanca 56.5 yıl); diabet süresi 0-26, ortanca 5.5 yıl), 3 aylık uygun antihiperглиsemik tedavi öncesi ve sonrasında ölçüldü. Cinsiyet, yaş ve vücut kitle indeksi uyumlu 23 sağlıklı kişi kontrol grubu olarak seçildi (10 kadın, 13 erkek; yaş aralığı 27-65, ortanca 50 yıl). Diabetikler ve sağlıklılar arasında koagülasyon inhibitörleri açısından anlamlı fark saptanamadı. PC ve PS antijen düzeyleri, retinopatisi olmayan hastalarda (n=16) background diabetik retinopatisi olan hastalara göre (n=12) daha yüksekti (sırasıyla %  $109 \pm 17$  vs  $89 \pm 19$  ve  $109 \pm 13$  vs  $102 \pm 07$ ). Diğer parametreler açısından iki grup arasında anlamlı fark saptanamadı. Üç aylık tedavi sonunda iyi metabolik kontrol sağlanan (HbA1c <%8) 17 hastada, PS ve C4bBP düzeyleri bazal

değerden daha düşüktü (sırasıyla %  $101\pm 8$  vs  $98\pm 17$  ve  $107\pm 14$  vs  $106\pm 14$ ). Metabolik kontrolün diğer parametreler üzerine etkisi yoktu.

Bu bulgular kısa süreli metabolik kontrolün PS ve onun bağlayıcı globulini olan C4bBP hariç koagülasyon inhibitörleri üzerine belirgin etkisi olmadığını göstermiştir. Retinopati ve diğer mikrovasküler komplikasyonlar bu proteinlerin kısmi bozuklukları ile ilişkili olabilir. Bu değişikliklerin klinik önemleri ileri çalışmalarla araştırılmalıdır.

**KAYNAKLAR**

1. The Diabetes Control and Complications Trial (DCCT) Research Group. The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in Insulin-Dependent Diabetes Mellitus. *N Engl J Med* 1993; 329(14): 977-985
2. Ceriello A. Coagulation activation in diabetes mellitus: the role of hyperglycaemia and therapeutic prospects. *Diabetologia* 1993; 36: 1119-1125
3. Colwell J. Vascular thrombosis in type II diabetes mellitus. *Diabetes* 1993; 42: 8-11
4. Panzram G. Mortality and survival in type II (non-insulin-dependent) diabetes mellitus. *Diabetologia* 1987; 30: 123-131
5. Knöbl P, Schernthaner G, Schnack C, Pietschmann P, Griesmacher, Prager R, Müller M. Thrombogenic factors are related to urinary albumin excretion rate in type 1 (insulin-dependent) and type 2 (non-insulin-dependent) diabetic patients. *Diabetologia* 1993; 36: 1045-1050
6. El Khawand C, Jamart J, Donckier J, Chatelain B, Lavenne E, Moriau M, Buyschaert M. Hemostasis variables in type 1 diabetic patients without demonstrable vascular complications. *Diabetes Care* 1993; 16(8): 1137-1145
7. Koert M, Nowak-Göttl U, Kreuz W, Grüttner HP, Kornhuber B, Breddin K. 15 parameters of coagulation and fibrinolysis in children with type 1 diabetes mellitus (Onset Period). *Klin Padiatr* 1991; 203: 429-432
8. Kreisberg J, Ayo S. The glomerular mesangium in diabetes mellitus. *Kidney International* 1993; 43: 109-113
9. Ostermann H, Tschöepe D, Greber W, van de Loo J. Enhancement of spontaneous fibrinolytic activity in diabetic retinopathy. *Thrombosis and Haemostasis* 1992; 68(4): 400-403
10. Tschöepe D, Roesen P, Schwippert B, Gries F. Platelets in diabetes: The role in the hemostatic regulation in atherosclerosis. *Seminars In Thrombosis And Hemostasis* 1993; 19(2): 122-128
11. Engerman RL. Pathogenesis of diabetic retinopathy. *Diabetes* 1989; 38: 1203-1206

12. Krolewski A, Kaysen G, Meyer T, Schambelan M, Noth R. Diabetic nephropathy: Hemodynamic basis and implications for diseases management (Davis Conference). *Annals of Internal Medicine* 1989; 110: 795-813
13. Donders SHJ, Lustermaans FAT, van Wersch JWJ. The effect of microalbuminuria on glycaemic control, serum lipids and haemostasis parameters in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Ann Clin Biochem* 1993; 30: 439-444
14. Jones SL. Plasma lipid and coagulation factor concentrations in insulin dependent diabetes mellitus with microalbuminuria. *BMJ* 1989; 298: 487-490
15. Martin JF. Arterial wall hypoxia following thrombosis of the vaso vasorum is an initial lesion in atherosclerosis. *Eur J Clin Invest* 1991; 21: 355-359
16. Brownlee M, Vlassara H, Cerami A. Nonenzymatic glycosylation reduces the susceptibility of fibrin to degradation by plasmin. *Diabetes* 1983; 32: 600-604
17. Baynes JW. Role of oxidative stress in development of complications in diabetes. *Diabetes* 1991; 40: 405-412
18. Ceriello A, Quatraro A, Giugliano D. New insights on non-enzymatic glycosylation may lead to therapeutic approaches for the prevention of diabetic complications. *Diabetic Med* 1992; 9: 297-299
19. Ceriello A, Giugliano D, Quatraro A, Dello Russo P, Lefebvre PJ. Metabolic control may influence the increased superoxide anion generation in diabetic serum. *Diabetic Med* 1991; 8: 540-542
20. Barrowcliffe TW, Gutteridge JM, Gray E. Oxygen radicals, lipid peroxidation and the coagulation system. *Agent Actions* 1987; 22: 347-348
21. Collier A, Rumley AG, Paterson JR, Leach JP, Lowe GDO, Small M. Free radical activity and hemostatic factor in NIDDM patients with and without microalbuminuria. *Diabetes* 1992; 41: 909-913
22. Gray E, Barrowcliffe TW. Inhibition of antithrombin III by lipid peroxides. *Thromb Research* 1985; 37: 241-250

23. Foster DW. Diabetes Mellitus. In : Harrison's Principles of Internal Medicine. 12th edition. Wilson JD, Braunwald E, Isselbacher KJ, Petersdorf RG, Martin JB, Fauci AS, Root RK (eds). McGraw-Hill, Inc. Health Professions Division International Edition vol 2 1991; 1739-1759
24. Karam JH, Salber PR, Forsham PH. Pancreatic Hormones-Diabetes Mellitus. In : Basic and Clinical Endocrinology. Third edition. Greenspan FS (ed). Appleton-Lange Norwalk, Connecticut/Los Altos, California 1991; 592-650
25. Bennett P. 'Microalbuminuria' and diabetes: A critique-assessment of urinary albumin excretion and its role in screening for diabetic nephropathy. American Journal of Kidney Diseases 1989; 13(1): 29-34
26. Stchouwer C, Donker A. Clinical usefulness of measurement of urinary albumin excretion in diabetes mellitus. Netherlands Journal of Medicine 1993; 42: 175-186
27. Haffner SM, Gonzales C, Valdez RA, Mykkanen L, Hazuda HP, Mitchell BD, Monterrosa A, Stern MP. Is microalbuminuria part of the prediabetic state? The Mexico City Diabetes Study. Diabetologia 1993; 36: 1002-1006
28. Miccoli R, Giampietro O, Penno G, Odello G, Anichini R, Bertolotto A, Cruschelli L, Bertoli S, Navalesi R. 'Microalbuminuria' in type 1 (insulin-dependent) diabetic patients with and without retinopathy. Acta Diabetol Lat 1989; 26: 163-170
29. Mogensen C, Damsgaard E, Froland A, Nielsen S, Schmitz. Microalbuminuria in non- insulin-dependent diabetes. Clinical Nephrology 1992; 38 (Suppl1): 28-38
30. Messent J, Elliott T, Hill R, Jarrett J, Keen H, Viberti G. Prognostic significance of microalbuminuria in insulin-dependent diabetes mellitus: A twenty-three year follow-up study. Kidney International 1992; 41: 836-839
31. Mogensen CE. Microalbuminuria predicts clinical proteinuria and early mortality in maturity-onset diabetes. N Engl J Med 1984; 310: 356-360.
32. Stehouwer CDA, Nauta JJP, Zeldenrust GC, Hackeng WHL, Donker AJM, Den Ottolander GJH. Urinary albumin excretion, cardiovascular disease, and endothelial dysfunction in non-insulin-dependent diabetes mellitus. Lancet 1992; 340(8815): 319-323



33. Neil A, Hawkins M, Potok M, Thorogood M, Cohen D, Mann J. A prospective population-based study of microalbuminuria as a predictor of mortality in NIDDM. *Diabetes Care* 1993; 16(7): 996-1003
34. Winocour PH. Microalbuminuria- Worth screening for in early morning urine samples in diabetic, hypertensive, and elderly patients. *BMJ* 1992; 304: 1196-1197
35. Borch-Johnsen K, Kreiner S. Proteinuria: value as predictor of cardiovascular mortality in insulin dependent diabetes mellitus. *BMJ* 1987; 294: 1651-1654
36. Reverter J, Senti M, Rubies-Prat J, Lucas A, Salinas I, Pizarro E, Pedro-Botet J, Romero R, Sanmarti A. Relationship between lipoprotein profile and urinary albumin excretion in type II diabetic patients with stable metabolic control. *Diabetes Care* 1994; 17(3): 189-194
37. Forsblom CM, Groop PH, Ekstrand A, Groop LC. Predictive value of microalbuminuria in patients with insulin-dependent diabetes of long duration. *BMJ* 1992; 305: 1051-1053
38. Gilbert R, Tsalamandris C, Bach L, Panagiotopoulos S, O'Brien R, Allen T, Goodall I, Young V, Seeman E, Murray R, Cooper M, Jerums G. Long-term glycemic control and the rate of progression of early diabetic kidney disease. *Kidney International* 1993; 44: 855-859
39. Cruickshanks KJ, Ritter LL, Klein R, Moss SE. The association of microalbuminuria with diabetic retinopathy (The Wisconsin Epidemiologic Study of Diabetic Retinopathy). *Ophthalmology* 1993; 100: 862-867
40. Alp H. Şekerli Diabet(Diabetes Mellitus). *Endokrin Hastalıklar*. Alp H, Molvalılar S. Bayda Basım Yayın Dağıtım AŞ, 1987; 207-296
41. Olefsky JM. Diabetes Mellitus. In : Cecil Textbook of Medicine 19th edition. Wyngaarden JB, Smith LH, Bennett JC (eds). W.B. Saunders Company, Harcourt Brace Jovanovich, Inc. International Edition vol 2 1992; 1291-1310
42. Chase P, Jackson W, Hoops S, Cockerham R, Archer P, O'Brien D. Glucose control and the renal and retinal complications of insulin-dependent diabetes. *JAMA* 1989; 261(8): 1155-1160

43. Leslie N, Sperling M. Relation of metabolic control to complications in diabetes mellitus. *The Journal of Pediatrics* 1986; 108(4): 491-497
44. Krolewski A, Warram J, Rand L, Kahn R. Epidemiologic approach to the etiology of type 1 diabetes mellitus and its complications. *N Engl J Med* 1987; 317(22): 1390-1398
45. Derby L, Warram JH, Laffel MB, Krolewski AS. Elevated blood pressure predicts the development of persistent proteinuria in the presence of poor glycemic control in patient with type 1 diabetes. *Diabete Metab* 1989; 15: 320-326
46. Steffes MW, Sutherland DER, Goetz FC. Studies of kidney and muscle biopsy specimens from identical twins discordant for type 1 diabetes mellitus. *N Engl J Med* 1985; 312: 1282
47. Camerini-Davalos TA, Velasco C, Glasser M. Drug-induced reversal of early diabetic microangiopathy. *N Engl J Med* 1983; 309: 1551
48. Strowig S, Raskin P. Glycemic control and diabetic complications. *Diabetes Care* 1992; 15(9): 1126-1140
49. Johnson S. Retinopathy and nephropathy in diabetes mellitus: Comparison of the effects of two forms of treatment. *Diabetes* 1960; 9: 1-8
50. Pirart J. Diabetes and its degenerative complications- a prospective study of 4400 patients observed between 1947 and 1973. *Diabetes Care* 1978; 1: 168-188
51. Keiding NR, Root HF, Marble A. Importance of control of diabetes in prevention of vascular complications. *JAMA* 1952; 150: 964
52. Klein R, Klein B, Moss S, Davis M, DeMets D. Glycosylated hemoglobin predicts the incidence and progression and progression of diabetic retinopathy. *JAMA* 1988; 260: 2864-2871
53. Abaira C, Emanuella N, Colwell J, Henderson W, Comstock J, Levin S, Nuttall F, Sawin C. Glycemic control and complications in type II diabetes. *Diabetes Care* 1992; 15(11): 1560-1571
54. Lauritzen T, Frost-Larsen K, Larsen HW, Deckert T. Steno Study Group : Effect of 1 year of near-normal blood glucose levels on retinopathy in insulin-dependent diabetics. *Lancet* 1983; 1: 200-204

55. Lauritzen T, Frost-Larsen K, Larsen HW, Deckert T. The Steno Study Group : Two-year experience with continuous subcutaneous insulin infusion in relation to retinopathy and neuropathy. *Diabetes* 1985; 34(Suppl 3): 74-79
56. The Krog Collaborative Study Group. Blood glucose control and the evolution of diabetic retinopathy and albuminuria. *N Engl J Med* 1984; 311: 365-372
57. Dahl-Jorgensen K, Brinchmann-Hanssen O, Hanssen KF, Sandvik L, Aagenaes O, Aker Diabetes Group. Rapid tightening of blood glucose control leads to transient deterioration of retinopathy in insulin dependent diabetes mellitus : The Oslo Study. *BMJ* 1985; 290: 811-815
58. Dahl-Jorgensen K, Brinchmann-Hanssen O, Hanssen KF, ganes T, Kierulf P, Smeland E, Sandvik L, Aagenaes O. Effect of near normoglycemia for two years on progression of early diabetic retinopathy, nephropathy, and neuropathy : The Oslo Study. *BMJ* 1986; 293: 1195-1199
59. Friberg TR, Rosenstock J, Sanborn G, Vaghefi A, Raskin P. The effect of long-term near normal glycemic control on mild diabetic retinopathy. *Ophthalmology* 1985; 92: 1051-1058
60. Rosenstock J, Friberg T, Raskin P. Effect of glycemic control on microvascular complications in patients with type 1 diabetes mellitus. *Am J Med* 1986; 81: 1012-1017
61. Job D, Eschwege E, Guyot-Argenton C, Aubry JP, Tchobroutsky G. Effect of multiple daily insulin injections on the course of diabetic retinopathy. *Diabetes* 1976; 25: 463-469
62. Nathan D, Singer D, Godine J, Harrington CH, Perlmutter L. Retinopathy in older type II diabetics- Association with glucose control. *Diabetes* 1986; 35: 797-801
63. Tamborlane WV, Puklin JE, Bergman M. Long term improvement of metabolic control with the insulin pump does not reverse diabetic retinopathy. *Diabetes Care* 1982; 5(Suppl 1): 58-64
64. Beck-Nielsen H, Richelsen B, Mogensen CE, Olsen T, Ehlers Nielsen CB, Charles P. Effect of insulin pump treatment for one year on renal function and renal morphology in patients with IDDM. *Diabetes Care* 1985; 8:585-589

65. Olsen T, Richelsen B, Ehlers N, Beck-Nielsen H. Diabetic retinopathy after 3 years treatment with continuous subcutaneous insulin infusion(CSII). *Acta Ophthalmol* 1987; 68: 185-189
66. Holman RR, Mayon-White V, Orde-Peckar C, Steemson J, Smith B, McPherson K, Rizza C, Knight AH, Dornan TL, Howard-Williams J, Jenkins L, Rolfe R, Barbour D, Poon P, Mann JJ, Bron AJ. Prevention of deterioration of renal and sensory-nerve function by more intensive management of insulin-dependent diabetic patients. *Lancet* 1983; 204-208
67. Ramsay R, Goetz F, Sutherland D, Mauer M, Robison L, Cantrill H, Knobloch W, Najarian J. Progression of diabetic retinopathy after pancreas transplantation for insulin-dependent diabetes mellitus. *N Engl J Med* 1988; 318: 208-214
68. Deckert T, Lauritzen T, Parving HH, Christiansen JS, The Steno Study Group. Effect of two years of strict metabolic control on kidney function in long-term insulin-dependent diabetics. *Diabetic Nephrop* 1983; 2: 6-10
69. Rosenstock J, Raskin P. The effect of glycemic control on urinary albumin excretion rate (AER) in type 1 diabetes mellitus(abstract). *Diabetes* 1987; 36(Suppl 1): 107A
70. Reichard P, Britz A, Cars I, Nilsson BY, Sobocinsky-Olsson B, Rosenqvist U. The Stockholm Diabetes Intervention Study(SDIS): 18 months' results. *Acta Med Scand* 1988; 224: 115-122
71. Dahl-Jorgensen K, Hanssen KF, Kierlulf P, Bjoro T, Sandvik L, Aagenaes O. Reduction of urinary albumin excretion after 4 years of continuous subcutaneous insulin infusion in insulin-dependent diabetes mellitus: The Oslo Study. *Acta Endocrinol* 1988; 117: 19-25
72. Feldt-Rasmussen B, Mathiesen E, Deckert T. Effect of two years of strict metabolic control on progression of incipient nephropathy in insulin-dependent diabetes. *Lancet* 1986; 2: 1300-1304
73. Feldt-Rasmussen B, Mathiesen E, Jensen T, Lauritzen T, Deckert T. Effect of improved metabolic control on loss of kidney function in type 1(insulin-dependent) diabetic patients: an update of the Steno studies. *Diabetologia* 1991; 34: 164-170
74. Reichard P, Rosenqvist U. Nephropathy is delayed by intensified insulin treatment in patients with insulin dependent diabetes mellitus and retinopathy. *J Intern Med* 1989; 226: 81-87

75. Viberti GC, Bilous RW, MacKintosh D, Bending JJ, Keen H. Long term correction of hyperglycaemia and progression of renal failure in insulin dependent diabetes. *BMJ* 1983; 286: 598-602
76. Nathan D. Long-term complications of diabetes mellitus. *N Engl J Med* 1993; 328(23): 1676-1685
77. Pietri A, Ehle AL, Raskin P. Changes in nerve conduction velocity after six weeks of glucoregulation with portable insulin infusion pumps. *Diabetes* 1980; 29: 668-671
78. Young RJ, Macintyre CCA, Martyn CN, Prescott RJ, Ewing DJ, Smith AF, Viberti G, Clarke BF. Progression of subclinical polyneuropathy in young patients with type 1 (insulin-dependent) diabetes: associations with glycemic control and microangiopathy (microvascular complications). *Diabetologia* 1986; 29: 156-161
79. Chiasson JL, Ducros F, Poliquin-Hamet M, Lopez D, Lecalvier L, Hamet P. Continuous subcutaneous insulin infusion (Mill-Hill Infuser) versus multiple injections (Medi-jector) in the treatment of insulin-dependent diabetes mellitus and the effect of metabolic control on microangiopathy. *Diabetes Care* 1984; 7: 331-337
80. Service FJ, Rizza RA, O'Brien PC, Dyck P. Near normoglycemia improved nerve conduction and vibration sensation in diabetic neuropathy. *Diabetologia* 1985; 28: 722-727
81. Troni W, Carta Q, Cantello R, Caselle MT, Rainero I. Peripheral nerve function and metabolic control in diabetes mellitus. *Ann Neurol* 1984; 16: 178-183
82. Reichard P, Britz A, Carlsson P, Cars I, Lindblad L, Nilsson BY, Rosenqvist U. Metabolic control and complications over 3 years in patients with insulin-dependent diabetes (IDDM): The Stockholm Diabetes Intervention Study (SDIS). *J Intern Med* 1990; 280: 511-517
83. Dahl-Jorgensen K. Near-normoglycaemia and late diabetic complications: The Oslo Study. *Acta Endocrinol* 1987; 284(Suppl): 1-38
84. Jakobsen J, Christiansen JS, Kristoffersen I, Christiansen CK, Hermansen K, Schmitz A, Mogensen CE. Autonomic and somatosensory nerve function after 2 years of continuous subcutaneous insulin infusion in type 1 diabetes. *Diabetes* 1988; 37: 452-455

85. Singer DE, Moulton AW, Nathan DM. Diabetic myocardial infarction: interaction of diabetes with other preinfarction risk factors. *Diabetes* 1989; 38: 350-357
86. Morgolis JR, Kannel WS, Feinleib M, Dawber TR, McNamara PM. Clinical features of unrecognized myocardial infarction- silent and symptomatic: eighteen year follow-up: The Framingham Study. *Am J Cardiol* 1973; 32:1-7
87. Rytter L, Troelsen S, Beck-Nielsen H. Prevalence and mortality of acute myocardial infarction in patients with diabetes. *Diabetes Care* 1985; 8:230-234
88. Singer D, Nathan D, Anderson K, Wilson P, Evans J. Association of HbA1c with prevalent cardiovascular disease in the original cohort of the Framingham Heart Study. *Diabetes* 1992; 41: 202-208
89. The University Group Diabetes Program. A study of the effects of hypoglycemic agents on vascular complications in patients with adult-onset diabetes. II. Mortality results. *Diabetes* 1970; 19(Suppl 2): 787-830
90. Mauer SM, Steffes MW, Sutherland DER, Najarian JS, Michael AF, Brown DM: Studies of the rate of regression of the glomerular lesions in diabetic rats treated with pancreatic islet transplantation. *Diabetes* 1975; 24:280-285
91. Mauer SM, Miller K, Goetz FC, Barbosa J, Simmons RL, Najarian JS, Michael AF, Brown DM. Immunopathology of renal extracellular membranes in kidneys transplanted into patients with diabetes mellitus. *Diabetes* 1976; 25: 709-712
92. Tooke JE. Microvascular haemodynamics in diabetes mellitus. *Clin Sci* 1986; 70:119-125
93. Parving HH, Viberti GC, Keen H, Christiansen JS, Lassen NA. Haemodynamic factors in the genesis of diabetic microangiopathy. *Metabolism* 1983; 32: 943-950
94. Zatz R, Brenner RM. Pathogenesis of diabetic microangiopathy : the haemodynamic view. *Am J Med* 1986; 443-453
95. Stevens VJ, Rouzer CA, Monnier VM, Cerami A. Diabetic cataract formation : potential role of glycosylation of lens crystallins. *Proc Natl Acad Sci USA* 1978; 2918-2922

96. Dolhofer R, Wieland OH. Increased glycosylation of serum albumin in diabetes mellitus. *Diabetes* 1980; 29: 417-422
97. Robins SP, Bailey AJ. Age-related changes in collagen, the identification of reducible lysine-carbohydrate condensation products. *Biochem Biophys Res Commun* 1972; 48: 76-84
98. Schleicher E, Deuffel T, Wieland OH. Non-enzymatic glycosylation of human serum lipoproteins. *FEBS Lett* 1981; 129: 1-4
99. Vlassara H, Brownlee M, Cerami A. Non-enzymatic glycosylation of peripheral nerve protein in diabetes mellitus. *Proc Natl Acad Sci USA* 1981; 78: 5190-5192
100. Bunn HF, Gabbay KH, Gallop PM. The glycosylation of hemoglobin : relevance to diabetes mellitus. *Science* 1978; 200: 21-27
101. Witztum JL, Mahoney EM, Branks MJ, Fisher M, Elam R, Steinberg D. Nonenzymatic glycosylation of low-density lipoprotein alters its biological activity. *Diabetes* 1982; 31: 283-291
102. Kinoshita JH, Merola LO, Satoh K, Dikmae E. Osmotic changes caused by the accumulation of dulcitol in the lens of rats fed with galactose. *Nature (Lond)* 1962; 194: 1085-1087
103. Gabbay KH, Merola LO, Field RA. Sorbitol pathway : presence in nerve and cord with substrate accumulations in diabetes. *Science* 1966; 151: 209-210
104. Beyer-Mears A, Ku L, Cohen MP. Glomerular polyol accumulation in diabetes and its prevention by oral sorbinil. *Diabetes* 1984; 33: 604-607
105. Malone JL, Knox G, Harvey C. Sorbitol accumulation is altered in type 1 (insulin dependent) diabetes mellitus. *Diabetologia* 1984; 27: 509-513
106. Baynes JW. Role of oxidative stress in development of complications in diabetes. *Diabetes* 1991; 40: 405-412
107. Brownlee M, Vlassara H, Cerami A. Inhibition of heparin-catalyzed human antithrombin III activity by nonenzymatic glycosylation- possible role in fibrin deposition in diabetes. *Diabetes* 1984; 33: 532-535

108. Jones R. Fibrinopeptide-A in diabetes mellitus- Relation to levels of blood glucose, fibrinogen disappearance, and hemodynamic changes. *Diabetes* 1985; 34: 836-843
109. Ceriello A, Giacomello R, Colatutto A, Taboga C, Gonano F. Increased protrombin fragment 1+2 in type 1 diabetic patients. *Haemostasis* 1992; 22: 50-51
110. Shuman M. Hemorrhagic Disorders: Abnormalities of platelet and vascular function. In: Cecil Textbook of Medicine 19th edition Wyngaarden JB, Smith LH, Bennett JC (eds). W.B. Saunders Company Harcourt Brace Jovanovich, Inc. International Edition vol 1 1992; 987-999
111. Handin RI. Bleeding and Thrombosis. In: Harrison's Principles of Internal Medicine 12th edition Wilson JD, Braunwald E, Isselbacher KJ, Petersdorf RG, Martin JB, Fauci AS, Root RK (eds). McGraw-Hill, Inc. Health Professions Division International Edition vol 1 1991; 348-353
112. Hoffbrand AV, Pettit JE. Platelets, Blood Coagulation and Haemostasis. In: Essential Haematology Third Edition Oxford Blackwell Scientific Publications 1993; 299-317
113. Logan LJ. Hemostasis: Hemorrhagic and Thrombotic Disorders. In: Manuel of Clinical Hematology. Mazza JJ(ed). Second edition. Little, Brown and Company 1995; 349-379
114. Abildgaard U. Highly purified antithrombin III with heparin cofactor activity. *Scan J Clin Lab Invest* 1968; 21: 89-91
115. Brinkhous KM, Smith HP, Warner ED, Seegers WH. The inhibition of blood clotting. An unidentified substance which acts in conjunction with heparin to prevent conversion of prothrombin to thrombin. *Am J Physiol* 1939; 125: 683-687
116. Rosenberg RD. Heparin-Antithrombin system. In : Hemostasis and Thrombosis. Colman RW, Hirsh J, Marder VJ, Salzman EW (eds.). J. B. Leppincott Company, Philadelphia-Toronto 1982; 962-985
117. Lane DA, Olds R, Thein S-L. Antithrombin and its deficiency states. *Blood Coag Fibrinol* 1992; 3: 315-341
118. Egeberg O. Inherited antithrombin III deficiency and thromboembolism. *Thromb Diath Haemorrh* 1965; 13: 516-530



119. Abilgaard U. Antithrombin and related inhibitors of blood coagulation. *Recent Adv Blood Coag* 1981; 3: 151-173
120. Thaler E, Lechner K. Antithrombin III deficiency and thromboembolism. *Clinics in Haematology* 1981; 10: 369-390
121. Schafer AI. The hypercoagulable states. *Annals of Internal Medicine* 1985; 102: 814-828
122. Vikydal R, Korninger C, Kyrle PA, Niessner H, Pabinger I, Thaler E, Lechner K. The prevalence of hereditary antithrombin III deficiency in patient with a history of venous thromboembolism. *Thromb Haemostasis* 1985; 54: 744-745
123. Briginshaw GF, Shanberge JN. Identification of two distinct heparin cofactors in human plasma. I. Separation and partial purification. *Arch Biochem Biophys* 1974; 161: 683-690
124. Briginshaw GF, Shanberge JN. Identification of two distinct heparin cofactors in human plasma. II. Inhibition of thrombin and activated factor X. *Thromb Research* 1974; 4: 463-477
125. Tollefsen DM, Blank MK. Detection of a new heparin-dependent inhibitor of thrombin in human plasma. *J Clin Invest* 1981; 68: 589-596
126. Wunderwald P, Schenk WJ, Port H. Anti-thrombin-BM from human plasma- an antithrombin binding moderately to heparin. *Thromb Research* 1982; 25: 177-191
127. Parker KA, Tollefsen DA. The protease specificity of Heparin-Cofactor II. *J Biol Chem* 1985; 260: 3501-3505
128. Tran TH, Marbet G, Duckert F. Association of hereditary heparin co-factor II deficiency with thrombosis. *Lancet* August 24, 1985; 413-414
129. Bertina RM, van der Linden K, Engesser L, Muller HP, Brommer JP. Hereditary heparin cofactor II deficiency and the risk of development of thrombosis. *Haemostasis and Thrombosis* 1987; 57(2): 196-200
130. Sie P, Dupony D, Pichon J, Boneu B. Constitutional Heparin Co-factor II deficiency associated with recurrent thrombosis. *Lancet* 1985; 414-416

131. Marlar RA, Kleiss AJ, Griffin JM. Human protein C: inactivation of factor V and VIII in plasma by activated molecule. *Ann NY Acad Sci* 1981; 370: 303-310
132. Clouse L, Comp P. The regulation of hemostasis : The protein C system. *N Engl J Med* 1986; 314: 1298-1303
133. Comp P, Esmon C. Activated protein C inhibits platelet prothrombin converting activity. *Blood* 1979; 54: 1272-1281
134. Comp P, Doray D, Patton D, Esmon C. An abnormal plasma distribution of Protein S occurs in functional Protein S deficiency. *Blood* 1986; 67(2): 504-508
135. Schwartz HP, Fischer M, Hopmeier P, Batard MA, Griffin JD. Plasma Protein S deficiency in familial thrombotic disease. *Blood* 1984; 64: 1297
136. Comp P, Esmon CT. Recurrent venous thromboembolism in patients with a partial deficiency of protein S. *N Engl J Med* 1984; 311: 1525
137. Bauer KA, Kass BL, Beeler DL, Rosenberg RTD. Detection of protein S activation in humans. *J Clin Invest* 1984; 74: 2033
138. Comp P, Nixon RR, Esmon CT. Determination of functional levels of protein S, an antithrombotic protein, using thrombin-thrombomodulin complex. *Blood* 1984;63: 15
139. Dahlback B, Stenflo J. High molecular weight complex in human plasma between vitamin K-dependent protein S and complement component C4-binding protein. *Proc Natl Acad Sci USA* 1981; 78: 2512
140. Comp P, Esmon CT. Generation of fibrinolytic activity by infusion of activated protein C into dogs. *J Clin Invest* 1981; 68: 1221-1228
141. Schwarz HP, Fischer M, Hopmeier P, Batard MA, Griffin J. Plasma protein S deficiency in familial thrombotic disease. *Blood* 1984; 64(6): 1297-1300
142. Comp P. Heparin-protein C interaction. *Nouv Rev Fr Hematol* 1984; 26: 239-242
143. Walker FJ. Protein S and the regulation of activated protein C. *Seminars in Thrombosis and Hemostasis* 1984; 10(2): 131-138

144. Dahlback B. Purification of human C4b-binding protein and formation of its complex with vitamin K-dependent protein S. *Biochem J* 1983; 209: 847-856
145. Comp P, Nixon RR, Cooper MR, Esmon CT. Familial protein S deficiency is associated with recurrent thrombosis. *J Clin Invest* 1984; 74: 2082-2088
146. Schwarz HP, Heeb MJ, Wencel-Drake J, Griffin JH. Identification and quantitation of protein S in human platelets. *Blood* 1985; 66: 1452-1455
147. Fair DS, Marlar RA, Levin EG. Human endothelial cells synthesize protein S. *Blood* 1985; 67: 1168-1171
148. Gouault-Heilmann M, Leroy-Matheron C, Levent M. Inherited protein S deficiency : clinical manifestations and laboratory findings in 63 patients. *Thrombosis Research* 1994; 76(3): 269-279
149. Comp P, Thurnau GR, Welsh J, Esmon CT. Functional and immunologic protein S levels are decreased during pregnancy. *Blood* 1986; 68: 881
150. Comp PC, Vigano S, D'Angelo A, Thurnau GR, Kaufman C, Esmon CT. Acquired protein S deficiency occurs in pregnancy nephrotic syndrome and acute systemic lupus erythematosus (abstr). *Blood* 1985; 66: 1279
151. Huisveld IA, Hospers JEH, Meijers JCM, Starckenburg AE, Erich WBM, Bouma BN. Oral contraceptives reduces total protein S, but not free protein S. *Thromb Research* 1987; 45: 109
152. Villanueva G, Allen N. Demonstration of altered antithrombin III activity due to nonenzymatic glycosylation at glucose concentration expected to be encountered in severely diabetic patients. *Diabetes* 1988; 37: 1103-1107
153. Ceriello A, Taboga C, Giacomello R, Falletti E, De Stasio G, Motz E, Lizzio S, Gonano F, Bartoli E. Fibrinogen plasma levels as a marker of thrombin activation in diabetes. *Diabetes* 1994; 43: 430-432
154. Jones R, Peterson C. Reduced fibrinogen survival in diabetes mellitus- a reversible phenomenon. *J Clin Invest* 1979; 63: 485-493
155. Ganda OM, Arkin CF. Hyperfibrinogenemia- an important risk factor for vascular complications in diabetes. *Diabetes Care* 1992; 15(10): 1245-1250

- 156.Ceriello A, Giugliano D, Quatraro A, Stante A, Consoli G, Dello Russo P, D'Onofrio F. Heparin preserves antithrombin III biological activity from hyperglycemia-induced alterations in insulin-dependent diabetics. *Haemostasis* 1986; 16: 458-464
- 157.Ceriello A, Marchi E, Barbanti M, Milani MR, Giugliano D, Quatraro A, Lefebvre P. Non-enzymatic glycation reduces heparin cofactor II anti-thrombin activity. *Diabetologia* 1990; 33: 205-207
- 158.Bick RL. Clinical relevance of antithrombin III. *Semin Thromb Haemostasis* 1982; 8: 276-287
- 159.Ceriello A, Dello Russo P, Zuccotti C. Decreased antithrombin III activity in diabetes may be due to non-enzymatic glycosylation- a preliminary report. *Thromb Haemostasis* 1983; 50: 633-634
- 160.Ceriello A, Giugliano D, Quatraro A, Stante A, Dello Russo P, Torella R. Increased alpha-2-macroglobulin in diabetes : a hyperglycemia related phenomenon associated with reduced antithrombin III activity. *Acta Diabetol Lat* 1989; 26: 147-154
- 161.Ostermann H, van de Loo J. Factors of the hemostatic system in diabetic patients. *Haemostasis* 1986; 16: 386-416
- 162.Jones RL, Peterson CM. The fluid phase of coagulation and the accelerated atherosclerosis of diabetes mellitus. *Diabetes* 1981; 30 (suppl 2): 33-38
- 163.Ceriello A, Curcio F, Dello Russo P, Giugliano D. Non-enzymatic glycosylation reduces antithrombin III activity. *Thromb Haemostasis* 1984; 52(3): 363
- 164.Ceriello A, Quatraro A, Dello Russo P, Marchi E, Barbanti M, Giugliano D. Hyperglycemia-conditioned increase in alpha-2-macroglobulin in healthy normal subjects: a phenomenon correlated with deficient antithrombin III activity. *Acta Haemat* 1989; 82: 61-63
- 165.Ceriello A, Giugliano D, Quatraro A, Consoli G, Stante A, Dello Russo P, D'Onofrio F. Induced hyperglycemia alters antithrombin III activity but not its plasma concentration in healthy normal subjects. *Diabetes* 1987; 36: 320-323

166. Ceriello A, Giugliano D, Quatraro A, Marchi E, Barbanti M, Lefebvre P. Evidence for a hyperglycemia-dependent decrease of antithrombin III-thrombin complex formation in humans. *Diabetologia* 1990; 33: 163-167
167. Sowers JR, Tuck ML, Sowers DK. Plasma antithrombin III and thrombin generation time : correlation with hemoglobin A1 and fasting serum glucose in young diabetic women. *Diabetes Care* 1980; 3: 655-658
168. Blavy G, N'Guessan R. Antithrombin III activity and diabetes mellitus in the Ivory Coast population. *Nouv Rev Fr Hematol* 1992; 34: 315-316
169. Ho CH, Jap TS. Do smoking and diabetes change the hemostatic parameters?--A study in the Chinese people. *Thrombosis Research* 1994; 76(6): 569-576
170. Christe M, Fritschi J, Lammle B, Tran TH, Marbet GA, Berger W, Duckert F. Fifteen coagulation and fibrinolysis parameters in diabetes mellitus and in patients with vasculopathy. *Thromb Haemostasis* 1984; 52(2): 134-148
171. Grignani G, Gamba G, Geroldi D, Pacchiarini L, Solerte B, Ferrari E, Ascari E. Enhanced antithrombotic mechanisms in patients with maturity onset diabetes mellitus without thromboembolic complications. *Thromb Haemostasis* 1981; 46: 648-651
172. Knöbl P, Scherthaner G, Schnack C, Pietschmann P, Proidl S, Prager R, Vukovich. Haemostatic abnormalities persist despite glycaemic improvement by insulin therapy in lean type 2 diabetic patients. *Thromb Haemostasis* 1994; 71(6): 692-698
173. Borseley DQ, Prowse CV, Gray RS, Dawes J, James K, Elton RA, Clarke BF. Platelet and coagulation factors in proliferative diabetic retinopathy. *J Clin Pathol* 1984; 37: 659-664
174. Garcia Frade LJ, de la Calle H, Alava I, Navarro JL, Creighton LJ, Gaffney PJ. Diabetes mellitus as a hypercoagulable state: its relationship with fibrin fragments and vascular damage. *Thromb Research* 1987; 47: 533-540
175. Husted SE, Nielsen HK, Bak JF, Beck-Nielsen H. Antithrombin III, von Willebrand factor antigen and platelet function in young diabetic patients treated with multiple insulin injections versus insulin pump treatment. *Eur J Clin Invest* 1989; 19: 90-94

176. Conlan MG, Folsom AR, Finch A, Davis CE, Marcucci G, Sorlie P, Wu KK. Antithrombin III: associations with age, race, sex, and cardiovascular disease risk factors. *Thromb Haemostasis* 1994; 72(4): 551-556
177. Baker IA, Eastham R, Elwood PC, Etherington M, O'Brien JR, Sweetnam PM. Haemostatic factors associated with ischaemic heart disease in men aged 45 to 64 years. The Speedwell Study. *B Heart J* 1982; 47: 490-494
178. Bonithon-Kopp C, Scarabin PY, Bara L, Castanier M, Jacqueson A, Roger M. Relationship between sex hormones and haemostatic factors in healthy middle-aged man. *Atherosclerosis* 1988; 71: 71-76
179. Winter JH, Bennett B, McTaggart F, Douglas AS. Lipoprotein fractions and antithrombin III consumption during clotting. *Thromb Haemostasis* 1982; 47: 236-238
180. Fuller JH, Keen H, Jarrett RJ, Omer T, Meade TW, Chakrabarti R, North WRS, Stirling Y. Haemostatic variables associated with diabetes and its complications. *BMJ* 1979; 2: 964-966
181. Takahashi H, Tsuda A, Wataru T, Wada K, Niwano H, Shibata A. Activation of blood coagulation and fibrinolysis in diabetes mellitus: evaluation by plasma levels of thrombin-antithrombin III complex and plasmin-alpha-2-plasmin inhibitor complex. *Thromb Research* 1989; 55: 727-735
182. Gruden G, Cavallo-Perin P, Romagnoli R, Olivetti C, Frezet D, Pagano G. Prothrombin Fragment 1+2 and antithrombin III-Thrombin complex in microalbuminuric type 2 diabetic patients. *Diabetic Medicine* 1994; 11: 485-488
183. Carmassi F, Morale M, Puccetti R, De Negri F, Monzani F, Navalesi R, Mariani G. Coagulation and fibrinolytic system impairment in insulin dependent diabetes mellitus. *Thrombosis Research* 1992; 67: 643-654
184. Rosc D, Katschy M, Rewakovicz M, Listopadzki D. Thrombin/antithrombin III complex in patients with peripheral occlusive arterial disease. *Fortschr Kieferorthop* 1990; 117(3): 405-411
185. Donders SH, Lustermaans FA, van Wersch JW. Glycometabolic control, lipids, and coagulation parameters in patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Int J Clin Lab Res* 1993; 23(3): 155-159

186. van Wersch JWJ, Westerhuis JJM, Venekamp WJRR. HbA1c and serum fructosamine in diabetic patients: relationship to age, clotting and fibrinolysis parameters and urinary microalbumin excretion. *Clinica Chimica Acta* 1991; 201: 99-104
187. Ceriello A, Quatraro A, Dello Russo P, Marchi E, Milani MR, Giugliano D. Evidence for a reduced heparin cofactor II biological activity in diabetes. *Haemostasis* 1990; 20: 357-361
188. Duboscq C, Quintana I, Barros J, Kordich L. Heparin cofactor II in diabetic patients. *Blood Coagul Fibrinolysis* 1994; 5(2): 201-204
189. Ceriello A, Giugliano D, Dello Russo P, Tirelli A, Passariello N, Sgambato S. Metabolic control may alter antithrombin III activity but not its plasma concentration in diabetes: a possible role for nonenzymatic glycosylation. *Diabetes Care* 1986; 9: 32-35
190. Sie P, Pichon J, Dupouy D, Boneu B. Constitutional heparin co-factor II deficiency associated with recurrent thrombosis. *Lancet* 1985; August 24: 414-416
191. Tran TH, Marbet AG, Duckert F. Association of hereditary heparin co-factor II deficiency with thrombosis. *Lancet* 1985; August 24: 413-414
192. Gram J, Jespersen J. Increased concentrations of heparin co-factor II in diabetic patients and possible effects on thrombin inhibition assay of antithrombin III. *Clin Chem* 1989; 35: 52-55
193. Bertina RM, van der Linden IK, Engesser L, Müller HP, Brommer EJP. Hereditary heparin cofactor II deficiency and the risk of development of thrombosis. *Thromb Haemostasis* 1987; 57: 196-200
194. Vukovich T, Schernthaner G. Decreased protein C levels in patient with insulin dependent type 1 diabetes mellitus. *Diabetes* 1986; 35: 617-619
195. Schernthaner G, Vukovich T, Knöbl P, Hay U, Müller M. The effect of near-normoglycaemic control on plasma levels of coagulation factor VII and the anticoagulant proteins C and S in insulin-dependent diabetes patients. *B J Haematol* 1989; 73: 356-359
196. Kwaan HC. Changes in blood coagulation, platelet function, and plasminogen-plasmin system in diabetes. *Diabetes* 1992; 41(Suppl 2): 32-35

197. Vigano S, Manucci P. " Protein C is not an acute phase reactant and is often high in ischaemic heart disease and diabetes". *Thromb Haemostasis* 1984; 52: 263-266
198. Ceriello A, Quatraro A, Dello Russo P, Marchi E, Barbanti M, Milani NMR, Giugliano D. Protein C deficiency in insulin-dependent diabetes: a hyperglycemia-related phenomenon. *Thromb Haemostasis* 1990; 64(1): 104-107
199. Saito M, Kumabashiri I, Jokaji H, Asakura H, Uotani C, Otsuka M, Hamada M, Tatsumuro M, Morigana K, Matsuda T. The levels of protein C and protein S in plasma in patients with type II diabetes mellitus. *Thromb Research* 1988; 52: 479-486
200. Ceriello A, Giugliano D, Quatraro A, Marchi E, Barbanti M, Lefebvre P. Possible role for increased C4b-binding-protein level in acquired protein S deficiency in type 1 diabetes. *Diabetes* 1990; 39: 447-449
201. Schwarz HP, Muntean W, Watzke H, Richter B, Griffin JH. Low total protein S antigen but high protein S activity due to decreased C4b-binding protein in neonates. *Blood* 1988; 71(3): 562-565
202. Schwarz HP, Scherthaner G, Griffin JH. Decreased plasma levels of protein S in well-controlled type 1 diabetes mellitus. *Thromb Haemostasis* 1987; 57(2): 240
203. Knöbl PN, Fischer P, Kaliman JF, Vukovich TC. Plasma levels of protein C and protein S in patients with vasculopathy. *Thromb Research* 1987; 45: 857-863
204. Brownlee M. Alpha-2-Macroglobulin and reduced basement membrane degradation in diabetes. *Lancet* I 1976; 779-780
205. Coller BS, Frank RN, Milton RC, Gralnick HR. Plasma cofactor of platelet function : correlation with diabetic retinopathy and hemoglobinA1a-c. *Ann Intern Med* 1978; 88: 311-316
206. Ceriello A, Giugliano D, Quatraro A, Dello Russo P, Torella R. Blood glucose may condition factor VII levels in diabetic and normal subjects. *Diabetologia* 1988; 31: 889-891



207. Ceriello A, Quatraro A, Marchi E, Barbanti M, Dello Russo P, Lefebvre PJ. The role of hyperglycaemia-induced alterations of antithrombin III and factor X activation in the thrombin hyperactivity of diabetes mellitus. *Diabetic Med* 1990; 7: 343-348
208. Ceriello A, Giugliano D, Quatraro A. Daily rapid blood glucose variations may condition antithrombin III biologic activity but not its plasma concentration in insulin-dependent diabetes. *Diabet Metab* 1987; 13: 16-19
209. Chambless LE, McMahon R, Wu K, Folsom A, Finch A, Shen YL. Short-term intraindividual variability in hemostasis factors: The ARIC Study. *Ann Epidemiol* 1992; 2: 723-733
210. Thompson SG, Martin JC, Meade TW. Sources of variability in coagulation factor assays. *Thromb Haemostasis* 1987; 58: 1073-1077
211. Ündar L, Karadoğan İ, Akça S, Ertuğrul C, Altunbaş H, Öztürk F. Circadian variation in natural coagulation inhibitors protein C, protein S and antithrombin-III in healthy men. XIIIth Meeting of The International Society of Haematology, 3-8 September, 1995, Istanbul, Turkey. *Turkish Journal of Haematology* 1995; 14(Supp 1): 985