

# Tip II Diabetes Mellituslu Hastalarda Plazma PAI-I Düzeyleri\*

## Plasma PAI-I Levels In Patients With Type II Diabetes Mellitus

Nezaket EREN, Fatma TURGAY, Erdinç SERİN, Sevgi SOYÖZ

Şişli Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanesi Biyokimya ve Klinik Biyokimya Laboratuvarı

### ÖZET

**AMAÇ:** Bu çalışmada NIDDM'li hastalarda plazma PAI-I seviyelerinin, diabetik regülasyonu gösteren HbA1c, komplikasyonların göstergelerinden biri olan mikroalbuminüri ve metabolik bozukluğun göstergesi olan kolesterol ve trigliserid ile ilişkisini araştırdık.

**MATERYAL VE METOD:** Çalışma grubumuzu 5-25 Haziran 1997 tarihleri arasında Şişli Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanesi diabet polikliniğine başvuran, daha önce NIDDM tanısı konmuş 48 hasta oluşturdu. PAI-I ölçümü ELISA yöntemi ile çalışıldı. HbA1c ölçümü immunoassay yöntemi ile Boehringer Mannheim HbA1c kiti kullanılarak Hitachi 717 otoanalizöründe yapıldı. Mikroalbumin ölçümü nefelometrik olarak çalışıldı.

**BULGULAR:** Diabetik hasta grubumuzu (n=48), mikroalbuminürisi normal sınırlarda olanlar (Grup I) (30 mg/gün) (n=28), mikroalbuminürisi normalden yüksek olanlar (Grup II) (30-140 mg/gün) (n=17) ve makroalbuminürisi olanlar (Grup III) (>140 mg/gün) (n=8) olmak üzere üçe ayırdık. Bu üç gruba ait değerleri kendi aralarında ve sağlıklı kontrol grubu (n=18) değerleri ile karşılaştırdık. Hasta ve kontrol gruplarında ölçülen ortalama PAI-I düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu (Sıra-sıyla  $16 \pm 16.4$  ng/ml;  $13.5 \pm 5.4$  ng/ml;  $p=0.137$ ). Diabetik hasta gruplarını (Grup I, Grup II, Grup III) karşılaştırdığımızda ise sonuçlar yine PAI-I için istatistiksel olarak anlamlı değildi ( $p>0.05$ ).

**SONUÇ:** Çalışmamızda PAI-I ile HbA1c arasında pozitif korelasyon, aPTT ile PAI-I arasında zayıf negatif bir korelasyon vardı. Hastalarımızda anlamlı derecede yüksek PAI-I seviyelerine rastlamamızı hasta grubumuzun regüle diabetiklerden oluşmasına bağladık.

**ANAHTAR KELİMELELER:** Plasminojen aktivatör inhibitörü I, diabetes mellitus.

### SUMMARY

**OBJECTIVE:** In this study we investigated the relation of PAI-I levels in plasma with HbA1c which indicates diabetic regulation, microalbuminuria which is one of the signs of the complications, cholesterol and triglyceride which indicates uncontrolled metabolic regulation in patients with NIDDM.

**STUDY DESIGN:** 48 patients with NIDDM who have been admitted to the diabetes clinic in Şişli Etfal Hospital between June 5-25, 1997 were included in this study. PAI-I levels were determined with ELISA. HbA1c levels were measured with immunoassay in Hitachi 717 autoanalyzer utilizing Boehringer Mannheim reactives. Nephelometric measurement was performed for microalbumin.

**RESULTS:** Diabetic patients were studied in three groups (n=48). Group I consisted of patients with normal microalbuminuria levels (<30 mg/day) (n=28). Group II patients with high microalbuminuria levels (30-140 mg/day) (n=17). Group III patients with macroalbuminuria (>140 mg/day) (n=8). The results of the three groups were compared among themselves and with the results of the control group (n=18). No statistically significant difference in PAI-I levels was found between study and control groups ( $16 \pm 16.4$  ng/ml,  $13.5 \pm 5.4$  ng/ml respectively) ( $p=0.137$ ). Similarly no statistical difference was observed among group I, group II and group III ( $p>0.05$ ).

**CONCLUSION:** In this study we observed a positive correlation between PAI-I and HbA1c; and a weak negative correlation between aPTT and PAI-I. We attribute the significantly high PAI-I levels in our patients to the fact that our study group consists of diabetic patients with good metabolic control.

**KEYWORDS:** Plasminogen activator inhibitor I, diabetes mellitus.

### Yazışma Adresi:

Dr. Erdinç SERİN  
Şişli Etfal Hastanesi  
Biyokimya Laboratuvarı  
Tel: 231 22 09 / 1300  
e-mail: eserin@superonline.com

### GİRİŞ

Intravasküler trombusun çözülmesi plasminojen aktivatörleri tarafından plazminin oluşma kapasitesine bağlıdır. Bu aktivatörlerin başlıcası t-PA'dır (tissue plasminogen activator). Endojen fibrinolizisin şiddeti dolaşımdaki plasminojen aktivatörleri ile t-PA ve PAI-I arasındaki dengeye bağlıdır.

\* XV. Ulusal Biyokimya Kongresinde Poster Bildirisi olarak sunulmuştur.

Plazminojenin proteaz plazmine dönüşmesi, plazminojenin 2 spesifik aktivatörünün etkisiyle olur. Bunlar t-PA ve urokinaz tipi plazminojen aktivatörüdür (u-PA). t-PA fibrinoliziste majör plazminojen aktivatörüdür. Ekstrasellüler PA aktivitesi spesifik PA inhibitörleri tarafından regüle edilmektedir. İki spesifik plazminojen aktivatör inhibitörü vardır: PAI-I ve PAI-II. Her ikisinde t-PA ve u-PA'yı bağlayabilir ve inaktive edebilir. Bunlardan PAI-I normal plazmada, plateletlerde, endotel hücrelerinde ve diğer hücre kültürlerinde bulunmuştur (1, 2).

Plateletler PAI-I'in majer. deposudur, ancak plateletler normal olarak plazma PAI-I'inin kaynağı değildir. Plazma ve platelet PAI-I'leri birbirinden bağımsızdır. İn vitro olarak yapılan çeşitli çalışmalar plateletlerin antifibrinolitik etkisinde PAI-I'in önemli olduğunu göstermiştir. Bu çalışmalarda birinci olarak; PAI-I eksikliği olan plateletlerin t-PA tarafından oluşturulan pıhtı lizisini normal plateletlerden daha az inhibe ettiği, ikinci olarak ta plazmin oluşumu PAI-I'e rezistan plazmin aktivatörleri ile (PAI-I'e rezistan veya mutant streptokinaz) başlatıldığı zaman normal PAI-I içerikli plateletlerin fibrinoliz inhibisyonu yapmadıkları gösterilmiştir.

Plateletlerin  $\alpha$ -granülleri yaklaşık olarak dolaşımdaki PAI-I'in %90'ını içermesine rağmen total PAI-I aktivitesinin %50'sinden sorumludur. Platelet PAI-I'inde inaktif form baskındır. Spesifik aktivitesi plazma PAI-I'inden önemli ölçüde düşüktür. Aktivite plateletlerden serbestleştikten sonra oluşmaktadır. PAI-I pıhtıdaki fibrin ağına yüksek konsantrasyonda bağlanır ve burada spontan inaktivasyona karşı korunur. Bu, pıhtının t-PA ile lizisine karşı direncindeki ana mekanizmadır. Fibrinolitik aktivitedeki sirkadyen varyasyonlar, PAI-I seviyelerinin değişimine bağlanmıştır. PAI-I plazma seviyeleri sabah saatlerinde en yüksek, öğleden sonra en düşük seviyelere inmektedir. Sabah saatlerindeki düşük fibrinolitik potansiyeli iskemik atakların ve Myokard infarktı başlangıcının erken saatlerde olmasında önemli bir faktör olabilir (3).

Artmış insülin konsantrasyonu plazma PAI-I seviyesini artırır. Tip II diabetik hastalarda; insülin rezistansı, proinsülini insüline çeviren pankreatik  $\beta$  hücrelerinin zarar görmesi ile beraberdir. Bunun sonucu olarak insülin prekürsörleri olan proinsülin ve split proinsülin plazma konsantrasyonu artar. Yapılan in vitro çalışmalar, bu prekürsörlerin PAI-I seviyesini, insülininden bağımsız bir mekanizma ile artırdığını göstermiştir. Buna göre artmış İRI (immunoreactive

insülin) hiperinsülinemi ve hiper-pro insülinemi yansıtır. Hiperinsülinemi ve hiper-pro insülinemi de PAI-I sentezini artırarak plazma PAI-I seviyesini artırır ve endojen fibrinolitik aktiviteyi azaltır (4).

Bütün bunlar dikkate alındığında diabetik hastalarda koagülasyon-fibrinoliz dengesi bozulacak ve yüksek PAI-I seviyeleri de azalmış fibrinolizise, artmış tromboz ve aterogenezise sebep olacaktır.

## MATERYAL VE METOD

Çalışma grubumuzu 5-25 Haziran 1997 tarihleri arasında Şişli Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanesi diabet polikliniğine başvuran, daha önce NIDDM tanısı konmuş 48 hasta oluşturdu ve hastaların yaş ortalamaları  $60.3 \pm 9.7$  idi. Hastaların 26'sı kadın 22'si erkekti. Kontrol grubu 10'u kadın, 8'i erkek toplam 18 kişi idi ve yaş ortalaması  $60 \pm 9$  idi. Kanlar 8-10 saatlik açlıktan sonra sabah 8.30-9.30 arasında alındı.

PAI-I ölçümü sitratlı plazmada yapıldı. Sitratlı plazma eldesi için kan, 1/10 oranında 0.109 M trisodyum sitrat içeren tüplere alındı. PAI-I ölçümü; ELISA yöntemiyle yapıldı (Assenachom PAI-I Cat no 00577, Diagnostica Stago). Kit insan PAI-I antijeni-ne karşı sıçandan elde edilen antikörlerin F(ab)2 fragmanları ile kaplı plaklar içeriyordu. HbA1c ölçümü; Heterogeneous immunoassay yöntemi ile; Boehringer Mannheim HbA1c kiti kullanılarak Hitachi 717 otoanalizöründe yapıldı. Mikroalbumin ölçümü; Nefelometrik olarak çalışıldı (Orion Diagnostica, Finland). Biz bu sebeple, NIDDM'li hastalarda plazma PAI-I seviyelerinin diabetin regülasyonunu gösteren HbA1c, komplikasyonlarının göstergelerinden biri olan mikroalbumin ve metabolik bozukluğun göstergesi olan kolesterol, trigliserid ile ilişkisini gözlemek istedik.

## BULGULAR

NIDDM'li ve sağlıklı kontrol grubunda plazma PAI-I, tam kan HbA1c, idrar mikroalbumin, serum kolesterol, trigliserid, HDL, LDL, VLDL, plazma fibrinogen, PTZ, aPTT değerleri ölçüldü. İstatistiksel analizler için T-testi ve Pearson Bravais korelasyon katsayısı kullanıldı.

Ayrıca hasta grubumuzu, idrar protein atılımlarına göre 3 gruba ayırdık. Grup 1'de mikroalbumin düzeyi  $<30$  mg/gün olan 23 hasta, Grup 2'de mikroalbumin düzeyi 30-140 mg/gün olan 17 hasta, Grup 3'de

**Tablo 1:** Hasta ve kontrol gruplarında incelenen parametrelerin ortalamalarının karşılaştırılması

Cat	PAI-I ort±SD (min-max)	PZ ort±SD (min-max)	PA ort±SD (min-max)	aPTT ort±SD (min-max)	Fibrinogen ort±SD (min-max)	Mikroalbüminüri ort±SD (min-max)
<b>Hasta n=48</b>	16±16.4 4-100	46±13 11.4-29.1	92±12.45 27.8-100	265.6±3.8 20-37	298.5±62.7 132-455	108.7±231 6-1300
<b>Kontrol n=18</b>	13.5±5.4 5.5-23	17±125 11.3-13.5	92.39±9.9 59.1-100	27.78±2.6 22-33	291.5±48.1 200-269	12.5±7 5-31
<b>P</b>	0.137	0.273	0.553	0.066	0.403	0.011

**Tablo 2:** Grup 1'deki hastaların grup 2 ve 3'teki hastalarla karşılaştırılması

	PAI-I ng/ml ort±SD	Glikoz mg/dl ort±SD	HbA1c (%) ort±SD	Trigliserid mg/dl ort±SD
<b>Grup 1 n=23</b>	15.1±7.5	175±71.5	6.56±1.9	206.4±156.6
<b>Grup 2 n=17</b>	20.8±25.5	177.8±80.9	7.38±2.4	169.8±103.4
<b>P2</b>	P2>0.05	P2>0.05	P2>0.05	P2>0.05
<b>Grup 3 n=8</b>	8.2±3.5	190.8±92.7	7.4±2.9	144.6±95
<b>P3</b>	P3>0.05	P3>0.05	P3>0.05	P3>0.05

**Tablo 3:** Kontrol grubu ile idrar protein seviyelerine göre gruplandırılmış hastaların plazma PAI-I, serum glikoz, trigliserid ve tam kan HbA1c düzeylerinin karşılaştırılması

	PAI-I ng/ml ort±SD	Glikoz mg/dl ort±SD	HbA1c (%) ort±SD	Trigliserid mg/dl ort±SD
<b>Kontrol n=18</b>	13.5±5.4	95.7±11.6	4.57±0.3	116±56.3
<b>Grup 1 n=23</b>	15.1±7.5	175±71.5	6.56±1.9	206.4±156.6
<b>P1</b>	P1>0.05	P1=0.000	P1=0.000	P1=0.03
<b>Grup 2 n=17</b>	20.8±25.5	177.8±80.9	7.38±2.4	169.8±103.4
<b>P2</b>	P2>0.05	P2=0.000	P2=0.000	P2=0.04
<b>Grup 3 n=8</b>	8.2±3.5	190.8±92.7	7.4±2.9	144.6±95
<b>P3</b>	P3>0.05	P3=0.000	P3=0.000	P3>0.05

**Tablo 4:** Hasta ve kontrol gruplarında incelenen ortalamaların karşılaştırılması

	Yaş	Cins.	Glikoz	HbA1c	Mikalb	Kolest.	Triglis.	HDL	VLDL	LDL	PZ	PA	aPTT	Fibrin.
<b>Hasta n=48</b>	0.223	-0.355	0.274	0.412	0.969	0.363	0.067	0.082	0.061	0.405	-0.149	0.130	-0.290	-0.150
<b>Kontr. n=18</b>	0.249	-0.313	0.028	0.255	0.260	0.161	0.310	-0.315	0.314	0.212	-0.364	0.314	0.097	-0.341

açık proteinürisi olan 8 hasta vardı. Bu 3 grubun karşılaştırılması Tablo 2'de verilmiştir (Kit normallerimiz 4-43 ng/ml idi).

1- Kontrol ve hasta grubumuz yaş ortalaması arasında anlamlı bir fark yoktu ( $p=0.52$ ) (Tablo 1).

2- Kontrol ve hasta grubumuzun PAI-I değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu ( $p=0.137$ ) (Tablo 1).

Yine iki grup arasında, aşağıda verilen parametreler açısından anlamlı bir fark yoktu; serum kolesterol ( $p=0.462$ ), HDL-kolesterol ( $p=0.181$ ), LDL-kolesterol ( $p=0.229$ ), plazma PTZ ( $p=0.273$ ), protrombin aktivitesi ( $p=0.553$ ), plazma aPTT ( $p=0.066$ ), plazma fibrinojen ( $p=0.403$ ) (Tablo 1).

Kontrol ve hasta grubu arasında aşağıdaki parametreler açısından ise anlamlı farklar vardı; serum glukoz ( $p=0.00$ ), tam kan HbA1c ( $p=0.00$ ), serum trigliserid ( $p=0.035$ ), VLDL ( $p=0.038$ ) (Tablo 1).

#### KAYNAKLAR

- 1 Kaoistra T, Sprengers ED and Van Hinsbergh: Rapid inactivator of the plasminogen-activator inhibitor up on secretion from cultured endothelial cells. *Biochemical Journal* 239: 497-50., 1986.
- 2 Macgregor IR, Booth NA: An enzyme linked immunosorbent assay used to study the cellular secretion of endothelial plasminogen activator inhibitor. *Thrombosis and Haemostasis* 59: 68-72, 1988.
- 3 Booth NA, Simpson AJ, Carroll A et al: Plasminogen activator inhibitor in plasma and platelets. *British Journal of Haematology* 70: 327-333, 1988.
- 4 Schneider DJ, Nordt TK, Sobel BE: Attenuated fibrinolysis and accelerated atherogenesis in type II diabetic patients. *Diabetes* 42: 1-7, 1993.
- 5 Mansfield MW, Heywood DM, Grent PJ: Sex differences in coagulation and fibrinolysis in white subjects with noninsulin dependent diabetes mellitus. *Arterioscler. Thromb Vasc Biol* 16: 160-164, 1996.
- 6 Park YS, Kim SY, Koh CS: The effect of obesity on fibrinolytic activity and plasma Lipoprotein (a) levels in patients with type II diabetes mellitus in Korea. *Diabetes Res. Clin. Pract.* 24: 25-31, 1994.
- 7 Grant PJ: The effects of high and medium dose metformin therapy on cardiovascular risk factors in patients care 19: 64-66, 1996.
- 8 Gough SC, Rice PJ, Macarmaek L et al: The relations between plasminogen activator inhibitor and insulin resistance in newly diagnosed type 2 diabetes mellitus. *Diabet Med* 10: 638-642, 1993.
- 9 Danders SH, Lustermaes FN, Van Werich JW: The effect of microalbuminuria on glycemic control, serum lipids and haemostasis parameters in noninsulin dependent diabetes mellitus. *Ann. Clin. Biochem.* 30: 439-444, 1993.
- 10 Vukovich T, Proidl S, Knobl P, Tufelsbave H: The effect of insulin treatment on the balance between tissue plasminogen activator and plasminogen activator inhibitor 1 in type 2 diabetic patients. *Thromb Haemist* 68: 253-256, 1996.
- 11 Carlston A, Haemsten A, Wiman W, Carlson LA: Relationship between plasma plasminogen activator inhibitor I activity and VLDL triglyceride concentration, insulin levels and insulin sensitivity: Studies in randomly selected normo and hypertryglyceridemic men. *Diabetology* 36: 817-825, 1993.

3- Mikroalüminüri açısından her iki grup arasında da anlamlı bir fark vardı ( $p=0.011$ ) (Tablo 1).

Protein atılımına göre ayırdığımız 1., 2. ve 3. gruptaki hastalar kontrollerle karşılaştırıldığında; PAI-I bakımından her 3 gruptaki PAI-I değerleri ile kontroller arasında anlamlı bir fark yoktu (Tablo 3).

HbA1c, glikoz, trigliserid değerleri tüm gruplarda, kontrollere göre istatistiksel açıdan anlamlı derecede farklıydı (Tablo 3).

Hasta grubunda PAI-I ve HbA1c açısından orta güçte bir korelasyon ( $r=0.4121$ ), PAI-I ile kolesterol ve glukoz arasında zayıf bir korelasyon (sırasıyla  $r=\pm 0.3630$ ,  $r=0.2744$ ). aPTT ve PAI-I arasında zayıf negatif bir korelasyon vardı ( $r=-0.2904$ ). Ayrıca PAI-I cinsiyet açısından erkeklerde negatif bir korelasyon gösterdi (Tablo 4).