

T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI
ANABİLİM DALI

**GESTASYONEL DİYABET (GDM) ÖYKÜSÜ
OLAN BAYANLARDAKİ SUBKLİNİK
İNFLAMASYONUN VE ENDOTEL BAĞIMLI
HEMOSTATİK FAKTÖRLERİN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

Uzm. Dr. Tefvik Demir

ENDOKRİNOLOJİ VE METABOLİZMA
YAN DAL UZMANLIK TEZİ

İZMİR-2007

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Gestasyonel diyabetes mellitus (GDM) gebelik döneminde başlamış olan veya ilk olarak gebelik döneminde fark edilen glukoz intoleransıdır. GDM gebelik döneminde en sık görülen metabolik bozukluk olup, tüm gebeliklerin % 4'ünde mevcuttur (1). GDM tanılı hastaların çoğu postpartum dönemde normal glukoz toleransına döner, ancak hayatın ilerleyen dönemlerinde Diyabetes Mellitus (DM) gelişme riski yüksektir. GDM'ye bağlı komplikasyonlu gebeliği olanlarda doğum sonrası 3.–5. yıllar arasında Tip 2 DM oranı %30–50 bulunmuştur (2).

GDM öyküsü olan hastalar değerlendirildiğinde aterogenesizin erken göstergesi olan endotel fonksiyonlarında, obeziteden bağımsız olarak endotel bağımlı ve bağımsız vazodilatatör yanıtın bozulduğu saptanmıştır (3, 4). Öyküsünde GDM olan hastalardaki aterojenik ve dislipidemik durum, bozulmuş glukoz toleransı, protrombotik ve inflamatuvar süreç kardiovasküler hastalık (KVH) ve DM riskini artırmaktadır.

Doku faktörü yolu inhibitörü (TFPI) doku faktörü yolu ile ilişkili koagülasyon basamaklarında inhibisyona yol açan bir vasküler antikoagülandır (5). Çok farklı hastalık gruplarında, bu hastalıkların klinik bulgularının ortaya çıkmasında veya hastalık seyrinin belirlenmesinde rol alabileceği gösterilmiştir. Özellikle koroner arter hastalığı ve diyabeti olan hastalarda endotel disfonksiyonu ile olan ilişkisi gösterilerek subklinik aterosklerozun göstergesi olarak yorumlanmaktadır (6–8). Sakata ve ark.'nın yaptığı çalışmada TFPI düzeyinin endotel disfonksiyon göstergesi olan karotis intima media kalınlığı ile ilişkili olduğu ve erken aterosklerozun bir göstergesi olarak değerlendirilmiştir (8). Literatürde öyküsünde GDM olan bayanlarda TFPI düzeyi ve diğer hemostaz faktörlerini değerlendiren çalışma bulunmamaktadır.

Bu çalışmada, öyküsünde GDM olan ve olmayan bayanlarda plazma total TFPI, doku faktörü (TF), plasminojen aktivatör inhibitörü–1 (PAI–1), doku plasminojen aktivatörü (t-PA), von Willebrand (vWF), d-dimer, fibrinojen, CRP, WBC ölçümü ile hemostaz, fibrinoliz ve subklinik ateroskleroz için risk faktörlerini araştırmayı planladık.

1. GENEL BİLGİLER

Gestasyonel Diyabetes Mellitus

I. Tanım:

Gestasyonel diyabetes mellitus ilk olarak gebelikte başlayan ya da gebelikte fark edilen glukoz intoleransı tablosudur. Bu tanım tedavi için diyet veya insülin kullanılması, glukoz intoleransının gebelik sonrası devam edip etmemesi değiştirmemektedir (9).

II. Tarihçe:

Gebelik sırasında ortaya çıkan diyabetin fetus ve yenidoğan üzerinde ağır yan etkilerinin olduğu yüzyıldan fazla bir zamandır bilinmektedir. Gebelikte diyabetle ilgili ilk temel kaynak, 1882’ de Matthews Duncan ve Bennewitz tarafından yazılmış olan derlemedir. Bu derlemede hastalığın gebelikte beraber ve aynı zamanda ortaya çıktığı, gebelik devam ettikçe hastalığın devam ettiğini ve gebelik sona erdiğinde hastalığın da kısa bir süre sonra sona erdiğini ifade etmişlerdir. Bu klinik antite zaman içinde çok çeşitli isimlerle anılmıştır. 1950’lerde gestasyonel diyabet terimi fetusu etkileyen ve geçici olduğu düşünülen ve doğumdan sonra ortadan kalkan durum için uygun görülmüştür. 1960’larda O’Sullivan gebelik sürecindeki glukoz intoleransının derecesinin gebelikten sonra diyabet gelişme riski ile ilişkili olduğunu bulmuştur. Gebelik sırasında yapılan OGTT’ yi yorumlamak için kriterler geliştirmiştir, bunlar esas olarak istatistiksel ve gebelikteki glukoz intoleransını tanımlamak için kullanmıştır. Gestasyonel diyabet terimi ilk defa Jorgen Pedersen tarafından Kopenhag da 1967’ de kullanıldı ve Chicago’da 1980 yılında bu konu ile ilgili olarak toplanan konferansta GDM’nin “gebelik ile başlayan veya gebelik sırasında ilk defa ortaya çıkan, değişik derecelerdeki karbonhidrat intoleransı” diye tanımı yapıldı.

III. Prevalans:

Tüm gebeliklerin yaklaşık %7’si GDM ile komplike olur. Yılda 200.000’in üzerinde yeni olgu tanımlanmaktadır. Prevalans incelenen popülasyon ve kullanılan

testlere bağlı olarak değişmekle beraber %1–14 civarındadır (10). Dünyadaki dağılımı ırklar ve etnik gruplara göre farklılık göstermektedir.

IV. GDM' nin Tarama ve Tanı Kriterleri

Tüm gebeler klinik özelliklerine göre GDM riskleri açısından değerlendirilmeli ve 24–28 haftalar arasında 50 gr glukozla tarama testi ile değerlendirilmelidir. Tarama testinde eşik değer ≥ 140 mg/dl alınırsa GDM'li kadınların ortalama % 80'i saptanırken, eşik değer ≥ 130 mg/dl alınırsa GDM'li olarak tanı alacak kadınların oranı % 90' a ulaşır (9). Amerikan Obstetrik ve Jinekoloji topluluğu düşük riskli gebelere bu testin faydalı olmayacağı ve özellikle yüksek riskli gebelere uygulanmasını önermektedir (11). 25 yaş altında, diyabet prevalansının yüksek olduğu etnik gruplara dahil olmayan, VKI ≤ 25 olan, olumsuz doğum hikayesi olmayan, anormal glukoz tolerans öyküsü olmayan ve birinci derece akrabalarında diyabet öyküsü olmayan gebeler düşük risk grubu olarak kabul edilmektedir (11). Avrupa Perinatal Tedavi grubu (EAPM), düşük risk kriterlerini çok az sayıda hastanın karşıladığını, tüm gebelerin glukoz tolerans testi ile taranmasını önermektedirler. Nahum ve Huffaker glukoz yükleme testindeki prediktif değerin etnik kitlelere göre değiştini göstermişlerdir, beyaz kadınların % 27'si 50 gr tarama testinde pozitif ve % 17' si 100 gr yüklemde pozitif sonuç vermiş, aynı testler siyahlar için yapıldığında sırasıyla % 18 ve % 43 pozitif sonuç vermiştir (12). Bununla birlikte etnik kökenlere göre farklı tanı kriterlerinin uygulanması pratik değildir (13).

GDM' nin son tanı yöntemi oral glukoz tolerans testi (OGTT) değerlerine bağlıdır. OGTT' nin hamile kadınlardaki performans ve yorumunda bir anlaşmaya varılamamıştır, fakat iki veya daha fazla patolojik glukoz değeri GDM tanısı için gereklidir. 1979 yılında ulusal diyabet veri grubu 3 saatlik 100 gr OGTT'yi gestasyonel diyabet tanısını koymak için önermiştir (14, 15). Amerikan Diyabet Cemiyeti (ADA) 2006 yılı önerilerinde yüksek riski olan gebelerin ilk vizitte, diğer hamilelerin 24–26. gebelik haftalarında GDM yönünden taranmasını önermektedir. Tarama için aşığıdaki yöntemlerden birini önermektedir:

Tek basamaklı yaklaşım: Serum veya plazma glukozu tayini yapılmaksızın tanısal olarak 100 gr OGTT yapılmasıdır. Bu yaklaşım yüksek risk taşıyan toplumlarda maliyetin düşük tutulmasını sağlar.

İki basamaklı yaklaşım: Başlangıç taraması için serum veya plazma glukozu konstrasyonunun ölçülmesi hedeflenir. Bu amaçla günün saati ve son yemekten geçen süre göz önüne alınmaksızın 50 gr glukoz ile yükleme testinin yapılması, bakılan kan şekeri > 140 mg/dl üzerinde ise tanının konulması için 100 gr OGTT yapılması önerilmektedir. 100 gr OGTT' nin tanı kriteri: açlık kan şekerinin ≥ 95 mg/dl, 1. saat ≥ 180 mg/dl, 2. saat ≥ 155 mg/dl, 3. saat ≥ 140 mg/dl. İki veya daha fazla venöz plazma değerinin, burada verilen değerlere eşit veya yüksek olması halinde, test gestasyonel diyabet için pozitif kabul edilir. OGTT testi 3 gün kısıtlanmamış (150 g karbonhidrat/ gün) bir diyeti ve kısıtlanmamış fizik aktiviteyi takiben sabahleyin, 8–14 saatlik gece açlığını takiben yapılır. Bu test 75 gr glukoz ile de yapılabilir fakat validasyonu yapılmamıştır (9).

V. GDM için risk faktörleri

Geleneksel ve en sık rapor edilen GDM için risk faktörleri ailede diyabet öyküsü (özellikle 1. derece yakınlarında) , gebelik öncesinde obezite, gebelik sırasındaki yaşın 25'in üstünde olması, önceden makrozomik (4 kilogram ve üstü) çocuk doğurma öyküsü, bozulmuş glukoz toleransı öyküsü, Tip 2 DM oranı yüksek etnik gruba ait olmak (İspanyol, Zenci, Güneydoğu Asya, Amerika yerlileri), annenin kendisinin de doğumda makrozomik olması, önceden perinatal kayıp ya da malforme çocuk doğum öyküsü, polikistik over sendromu, gebelikte hipertansiyon (HT) olması, ikiz gebelik öyküsü olması gibi risk faktörlerini taşıyan olgularda daha sık görülmektedir (16). Risk faktörleri aşağıdaki tabloda özetlenmiştir.

Tablo 1: Risk Faktörleri

<u>Anneye ait faktörler:</u> İleri yaş Yüksek doğum sayısı Gebelikteki alınan kilo VKI $\geq 27 \text{ kg/m}^2$ Düşük doğum ağırlığı α - Talasemi taşıyıcılığı Polikistik over sendromu Yüksek yağlı beslenme	<u>Aile öyküsü</u> Ailede diyabet öyküsü Annenin annesinde GDM öyküsü <u>Doğum öyküsü</u> Konjenital malformasyon Makrozomi GDM öyküsü <u>Gebelik ile ilgili faktörler</u> Gebelikte yüksek tansiyon Çoğul gebelik Artmış demir deposu
--	--

VI. Fizyopatoloji:

Catalano ve ark. öglisemik-hiperinsülinemik klemp kullanarak normal glukoz toleransı olan ve şişman olmayan kadınlarda ilk prospektif çalışmayı yayınlamışlardır (17). Obez kadınlarda gebelik sırasında % 47 insülin sensitivitesinde azalma ve zayıf kadınlarda gebelik sırasında %56 insülin sensitivitesinde azalma gösterilmiştir (17, 18). Başka araştırmacılar da insülin sensitivitesinin ilerleyen gebelik döneminde anlamlı derecede (% 40–80) azaldığını rapor etmişlerdir (19, 20).

Birinci trimesterde maternal metabolizma; insülin duyarlılığında artış, bazı gebelerde açlık hissinde artma, maternal metabolik yakıt maddelerinin döngüsünde artma, açlık durumunda karbonhidrat yerine yağ kullanılmasının artışı yönünde değişim göstermektedir. Aksine ikinci ve üçüncü trimesterde ise fetüsün metabolik ihtiyaçlarının karşılanması amacı ile insülin rezistansında bir artış meydana gelir. Normal gebelikte ve GDM’deki insülin direncinin sebebi insülin reseptör defekti değildir. Glukoz daha çok fetüs için rezerve edilirken; yağlar ise anne için kullanılır. Serum keton ve serbest yağ asitleri artarken açlık kapiller kan glukoz konsantrasyonları 55- 65 mg/dl (3,5–4,2 mmol/l)’a kadar düşer.

Diyabet olmayan gebe kadınlarda insülin direnci özellikle yemeklerden sonra artmış insülin salgısı ile kompanze edilir. Böylece progresif insülin direncine rağmen diyet kısıtlaması yapılmaksızın kapiller glukoz düzeyi normal seviyelerinde tutulur.

Gebelikte ayrıca açlık plazma glukoz düzeyinde azalma, tokluk glukoz düzeylerinde artış, açlık ve tokluk insülin düzeylerinde artış meydana gelmektedir. Pankreasta β hücre hiperplazi ve hipertrofisi oluşmaktadır. Yağ dokusunda ise lipolizde artış olmaktadır. Gebelik metabolizmasında ki bu fizyolojik değişiklikler sonucunda insülin duyarlılığında azalma görülmektedir (21, 22).

GDM'li kadınlarda ise açlık insülin düzeyi diyabeti olmayan kadınlara eşit ya da daha yüksek olsa da normoglisemiyi sağlamak için yeterli değildir. Ek olarak post-prandial insülin yanıtı gecikmiştir. Pik plazma insülin düzeyi yemekten sonra genellikle 90. dakikada olmaktadır. Nadiren diyabetik olmayan kadınlardaki gibi 60. dakikada olur (22).

İnsülin rezistansını artıran hormonlar:

Birinci trimesterde;

- Östrojen

Östrojen ve progesteron gebeliğin erken döneminde yükselir ve bu hormonlar maternal glukoz metabolizmasının değişiminde rol alırlar. Östrojen verilmiş ratlarda glukoz tolerans testinden sonra glukoz konsantrasyonunda anlamlı bir düşme olmuştur (23). Glukoz düzeyindeki bu azalma insülin düzeyinin iki katına çıkması ile birliktelik gösterir. Kültür rat adipozit dokusunda östrojenin glukoz taşınmasında bir etkisi yoktur, fakat maksimum insülin bağlanmasını artırmaktadır (24) (Tablo 2).

- Progesteron

Progesteron insülinin glukozu yanıtını % 60–70 artırır, fakat glukoz toleransını bozmaz (25). Progesteron kültür rat adipozit dokusunda maksimum glukoz transportunu ve insülin bağlanmasını azaltmaktadır (23). Nelson ve ark ooforektomize ratlarda infüzyon ve öglisemik klemp kullanarak endojen glukoz dönüşümünü ve glukoz alımını ölçmüşlerdir (26). Progesteron verilmesi çevre dokularda insülin aracılı glukoz kullanımını değiştirmez, fakat insülinin endojen glukoz üretme yeteneğini azaltır.

Tablo 2. Gebeliğin 20. haftasından önce karbonhidrat metabolizmasındaki değişimler

Hormonal Değişiklik	Etki
Östrojen ve Progesteron artar	Doku glikojen deposu artar, karaciğer glukoz oluşumu azalır
Beta hücre hiperplazisi ve insülin salınımı artar	Periferik glukoz kullanımı artar. Açlık plazma glukozu azalır

İkinci trimesterde;

- İnsan plasental laktojeni (hPL)
- Plasental büyüme hormonu
- TNF- α
- Kortizol

İnsan Plasenta Laktojeni (hPL) :

Gebelikteki en güçlü insülin antagonisti hormon insan plasental laktojendir (hPL). Düzeyi gebeliğin onuncu haftasından itibaren yükselmeye başlar, 20. haftada en yüksek seviyesine ulaşır. Lipolizi uyarıp dolaşımdaki serbest yağ asitlerini (SYA) yükseltir; böylece periferik insülin direncinde artış olur. Ayrıca pankreas β hücrelerinde insülin üretimini uyarıp annede insülin salınımının 2–3 kat artmasına sebep olmaktadır (Tablo 3).

İnsan plasenta büyüme hormonu (hPGH) :

İnsan plasental büyüme hormonu (hPGH) da insülin rezistansına yol açan bir hormondur. Yirminci gebelik haftasından itibaren maternal dolaşımda pitüiter büyüme hormonunun yerini neredeyse tamamen alır. Progesteron, hPL, TNF- α ile birlikte gebeliğin ikinci ve üçüncü trimesterinde insülin rezistansını artırır, fetüseye yeterli besin desteğinin sağlanmasına yol açarlar (22) (Tablo 3).

Tablo 3: Gebeliğin 20. haftasından sonra karbonhidrat metabolizmasındaki değişimler.

Hormonal Değişiklik	Etki
hPL ve hPGH artar	Diyabetojenik glukoz toleransı
PRL artar	İnsülin rezistansı artar
Bağlı ve serbest kortizol artar	Karaciğerde glikojen depoları azalır. Karaciğerde glukoz oluşumu artar

İnsülin Direnci ve Hücresel Mekanizmalar:

İnsülin direnci gebelik ve GDM 'de ortaya çıkan bir bulgudur, az miktarda çalışmada insülin rezistansından sorumlu olan mekanizmalar araştırılmıştır. Çoğu çalışmada normal ve GDM'li kişilerde insülinin reseptöre bağlanmasında anlamlı bir fark olmadığı bulunmuştur (27, 28). İnsülin reseptör fosforilasyonunda dokuya özgü azalma ve kas dokusunda temel protein olan İnsülin Reseptör Substrat-1 (IRS-1) ekspresyonunda azalma sonucunda; gebelikte obeziteden bağımsız olarak insülin ile uyarılmış glukoz transportu azalır.

GDM de ise insülin rezistansını artıran bu değişimlere ilave olarak kas dokusunda insülin reseptörünün insülin aracılıklı tirozin fosforilasyonunda normal gebelikte mevcut olmayan azalmanın sonucu olarak insülin reseptör aktivitesinde daha da azalma, IRS-1'de daha az fosforilasyon, glukoz taşıyıcı protein-4 (GLUT-4)'ün plazma membranına glukoz transportunda azalma meydana gelir (29, 30). Ayrıca GDM' de, yağ dokusunda PPAR (peroksisom prolife aktive reseptör) ekspresyonunda azalma mevcut olup; dolaşımdaki serbest yağ asidi seviyeleri de yüksektir. GDM' de adipositlerde GLUT-4 sayısında azalma olup; GLUT-4 translokasyonunda bozukluklar, insülinin bu proteinleri hücre yüzeyine taşımasında azalmaya yol açar (31). Bu bilgiler gebelikteki insülin direncinin dokulara özgü

olduğunu ve glukoz ile ilgili metabolik yolları değiştiren postreseptör olaylarla bağlantılı olduğunu gösterir.

VII. GDM'de Anneye Ait Riskler:

Erken Dönem Riskler:

- Sezaryen riski artmıştır (~%30),
- Polihidramnios ve erken doğum riski artmıştır,
- Preeklampsi riski artmıştır (~%20–30). Çünkü gebelikte indüklenen hipertansiyon insülin rezistansının klinik bir manifestasyonudur. Gebelikte insülin direnci fizyolojik olarak artmaktadır. Metabolik sendromda görülen hiperürisemi ve dislipidemi gibi metabolik bozukluklar preeklampside de görülmektedir (12,13).

Uzun Dönem Riskler:

GDM'li olguların doğum sonrası 5–10 yıl içinde Tip 2 DM gelişme riskleri yüksek olup aşağıdaki kriterlere sahip olan olgularda bu risk %50'ye yakındır:

- Açlık hiperglisemisinin olması;
- 24 haftadan öncesinde GDM tanısı alınmış olunması (önceden glukoz intoleransı olanlar)
- Obez olmak;
- Tip 2 DM prevalansı yüksek etnik gruba mensup olmak;
- Postpartum 6. haftada glukoz intoleransı gösterenler; Bu kritere sahip olan bireyler ise en yüksek riske sahiptir. Bu bireylerde 5 yıl içinde Tip 2 DM gelişme riski %80'dir. Bu gruba primer korunma uygulanmalıdır (14).

Gelecekteki gebeliklerde GDM tekrarlama riski:

MacNeil ve arkadaşları tekrarlama riskini %35,6 olarak bulmuşlardır (32). Major ve arkadaşları ise % 69 gibi çok daha yüksek oranda tekrarlama oranı bulmuşlardır (33). Parite sayısı, VKI \geq 30 kg/m², GDM tanısının \leq 24 haftadan önce konulması ve gebelikte insülin kullanımı bir sonraki gebelikte GDM'nin tekrarlama riskini artırmaktadır. Ayrıca gebelikte \geq 7 kg' dan fazla kilo almak ve iki gebelik arasının \leq 24 aydan kısa olması GDM'nin tekrarlama ile ilişkilidir (34).

Tip 2 DM gelişme riski:

GDM tanılı hastaların çoğu postpartum dönemde normal glukoz toleransına döner, ancak hayatın ilerleyen dönemlerinde DM gelişme riski yüksektir. Coustan ve ark. yaptığı çalışmada daha önceden GDM tanısı alanlarda diyabet ve bozulmuş glukoz toleransı (IGT) oranını; 0–2 yılda %6, 3–4 yılda %13, 5–6 yılda %15, 7–10 yılda %30 olarak saptamışlardır (35-37). Bir başka çalışmada GDM'ye bağlı komplikasyonlu gebeliği olanlarda doğum sonrası 3–5. yıllar arasında Tip 2 DM oranı %30–50 bulunmuştur (2). Greenberg ve ark 94 GDM'li hastada postpartum 6. haftada diyabet gelişimi için en önemli göstergelerin gebelikte insülin gereksinimi, kötü glisemik kontrol, doğum sonrası bozulmuş glukoz toleransının devam etmesi olduğunu saptamışlardır (38). Tüm bu faktörler insülin rezistansının önemini göstermektedir, bu gelecekteki DM ve diğer vasküler komplikasyonların işaretidir. Peter ve ark. GDM öyküsü olan bayanların tekrardan gebe kalmaları durumunda gelişen insülin rezistansının beta hücresi fonksiyonları üzerine etkisini araştırmışlar (2), 666 GDM öyküsü olan bayan incelenmiş ve bu bayanların 87' si tekrar gebe kalmıştır. Doğum sonrası izlemlerinde tekrar gebelik periyodu geçiren bayanlarla geçirmeyenler karşılaştırıldığında, bu bayanlarda 3,34 kat daha fazla diyabet gelişimi gözlenmiştir (2). Kilo alımı da diyabet gelişimi için bağımsız bir risk faktörüdür ve alınan her 4,5 kg diyabet riskini 1,05 kat artırmaktadır.

Clark ve arkadaşları GDM'nin insülin rezistans sendromu içinde değerlendirilmesi ve diyabeti önleme çalışmaları için bu grubun mükemmel bir model olduğunu belirtmişlerdir (39). Öyküsünde GDM olan hastalarda metabolik sendrom sıklığının arttığı ve bu hasta grubunun insülin rezistansı ile birlikte olan hastalıklar grubuna dahil edilmesi önerilmektedir (39).

GDM kardiovasküler riskin artması ve ateroskleroz ile kolerasyon gösteren lipid metabolizma bozuklukları ile birlikte görülür (40–42). GDM'li kadınların plazmalarında normal gebelere göre daha yüksek düzeyde trigliserid, serbest yağ asidi ve hidrosibütirat ve daha düşük düzeyde yüksek dansiteli lipoprotein (HDL) kolesterol saptanmıştır (20). Seifer ve ark. GDM tanısı alan anneleri doğumdan 5–6 yıl sonra incelediklerinde daha yüksek kolesterol, trigliserid, düşük dansiteli lipoprotein ve yüksek sistolik kan basıncının olduğunu saptamışlardır (40).

Öyküsünde GDM öyküsü olan hastalar değerlendirildiğinde aterogenezin erken göstergesi olan endotel fonksiyonlarının bozulduğu saptanmıştır. Anastasiou ve ark. GDM öyküsü olan bayanlarda obeziteden bağımsız endotel bağımlı ve bağımsız vazodilatatör yanıtın bozulduğunu göstermişlerdir (3, 4). Öyküsünde GDM olan hastalardaki aterojenik ve dislipidemik durum, bozulmuş glukoz toleransı, protrombotik ve inflamatuvar süreç, KVH ve DM riskini artırmaktadır. Öyküsünde GDM olan bayanlardaki endotel disfonksiyonu ve artmış DM riskinin fibrinolitik sistem ile ilişkisi net olarak ortaya konulamamıştır.

VIII. ENDOTEL YAPISI VE FONKSİYONLARI:

Kan damarlarının iç yüzeyi endotel ile döşenmiştir. Endotel kan ve doku arasında tek katlı sürekli bir yapı oluşturur. Böylece kan ve dokular arasında sinyallerin algılanması ve iletiminde, hematopoetik hücrelerin hareketlerinde ve kanın trombojenik olmayan bir yüzey içerisinde akımının sağlanmasında rol oynar. Ayrıca endotel, inflamatuvar yanıtın başlatılması ve sürdürülmesinde kritik bir rol oynar. Ateroskleroz, hipertansiyon, diabetik anjiyopati ve mikroanjiyopatik hemolitik anemiler gibi pek çok hastalığın patogenezinde endotel disfonksiyonu yatar. Endotelin kompleks ve fonksiyonel bir yapı olması, bir organ olarak tanımlanmasına neden olmuştur (43).

Bariyer fonksiyonu: Vasküler permeabilite damarın tipine ve lokalizasyonuna bağlıdır. İntra ve ekstravasküler kompartmanlar arasında sıvı dengesini sağlayabilmek için yarı-selektif bariyer gereklidir. Böylelikle antikorlar, hormonlar, sitokinler ve diğer moleküllerin, inflamasyon, immun yanıt ve yara iyileşmesi gibi bir takım olayların başlatılması ve devamı için interstisyel alana geçişleri endotel tarafından sağlanır.

Hemostaz ve trombozda endotelin yeri: Normalde endotel, koagülasyonun aktivasyonunu önleyerek, fibrinolizi sağlayarak ve trombosit agregasyonunu önleyerek dolaşımda nontrombojenik yüzey görevi görür. Fakat yaralanma anında ya da bir takım inflamatuvar durumlarda prokoagulan rol üstlenebilir (Şekil 1). Endotel hücrelerinin koagülasyonu inhibe etmesi dört mekanizma ile sağlanır:

1) Endotel hücrelerinin yüzeyindeki trombomodulin trombine bağlanır. Böylece trombinin koagulan özelliğini inhibe eder. Aynı zamanda protein C' ye olan afinitesini

arttırır. Protein C, aktivasyonu için endotel hücre yüzeyindeki protein C reseptörüne bağlanır (44).

2) Endotel hücreleri tarafından sentezlendiği düşünülen protein S, protein C için bir kofaktör görevi görür. Fakat aynı zamanda tek başına da antikoagulan özelliği mevcuttur. Aktive protein C varlığından bağımsız olarak, serbest protein S protrombinaz ve intrinsik tenaz komplekslerini inhibe edebilir ve faktör Va ve VIIIa ile direkt etkileşime girebilir (45).

3) Heparan sülfat proteoglikanları, endotel hücrelerinin luminal yüzeyine ve subendotele salınır. Heparan sülfatlar antitrombine bağlanabilir ve aktive edebilirler. Böylece trombin, faktör Xa, faktör IXa'nın dahil olduğu çeşitli prokoagulan serin proteazlarının inaktivasyonunu hızlandırır.

4) Doku faktörü yolu inhibitörü (TFPI) karaciğerde ve endotel hücrelerinde sentezlenir. Endotel hücrelerinin apikal granüllerinde bulunur. Doku faktörü-faktör VIIa-faktör Xa kompleksini inhibe eder (46). TFPI, anneksin V, proteaz neksinleri 1 ve 2, endotel bağımlı antikoagulasyonda rol oynayabilir (45).

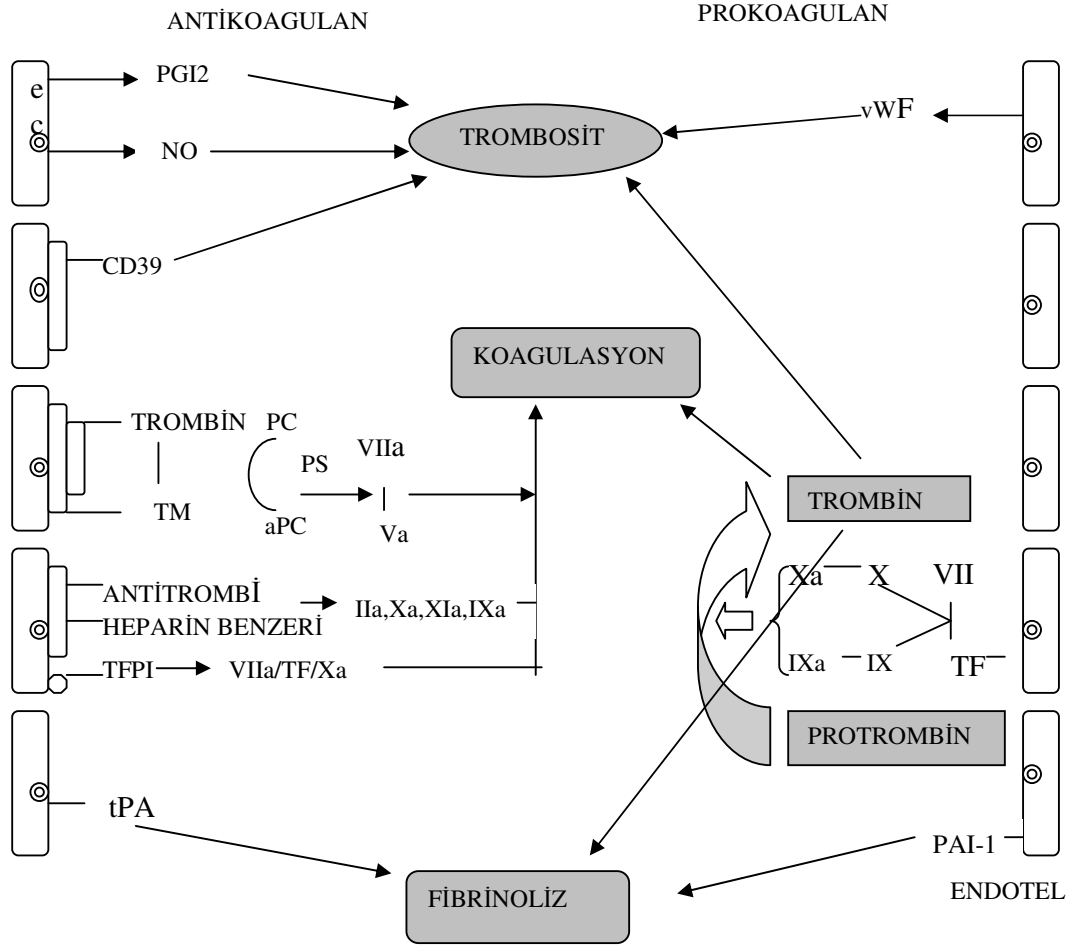
Endotel hücreleri, doku tipi plazminojen aktivatörünün (tPA) başlıca kaynağıdır (46). tPA'nın %40'ı yine endotel hücrelerinden sentezlenen ve tPA'nın inhibitörü olan PAI-1'e bağlanır. Egzersiz, asidoz, hipoksi, artmış venöz basınç gibi stres durumlarında tPA salınır ve plazminojeni aktive eder (46). Böylelikle efektif fibrinolitik aktivite sağlanmış olur.

Damar içinde dolaşan trombositlerin birikmesinin de fizyolojik olarak önlenmesi gerekir. Burada prostasiklin (PGI₂), nitrik oksit (NO) ve son yıllarda CD39 olarak adlandırılan adenosin difosfataz yüzey ekspresyonunun rolü büyüktür. Prostrasiklin vasküler endotel ve düz kas hücrelerince araşidonik asitten sentezlenir. Trombosit aktivasyonu, sekresyonu, birikimini ve monositlerin endotel hücreleri ile etkileşimini inhibe eder. Aynı zamanda vasküler düz kas hücrelerinin gevşemesini sağlar. Nitrik oksit çoğunlukla endotel hücrelerinden salgılanır. Düz kas hücrelerinin üzerine etki ederek vazodilatasyona neden olur. Fakat nitrik oksitin bir kısmı lümene girerek trombositlere difüze olur. Prostrasiklin ile birlikte trombosit birikimini önler (47). Salınan trombosit agonisti ADP, endotel membranında bulunan adenosin difosfataz ile inaktive edilebilir. Böylelikle trombositlerin dinlenme dönemine geçmesi sağlanabilir.

Normal durumlar altında kan akımının sağlanması ve koagülasyonun inhibe edilmesi için sağlam endotele ihtiyaç vardır. Endotel, zarar görmesi durumunda ise prokoagulan özellik kazanır. Doku yaralanması ve vasküler patoloji altında yatan matriksin açığa çıkmasına, trombositlerin aktivasyonuna ve bu bölgelerde birikimine neden olur.

Vasküler yaralanma ya da endotel hücre hasarı olmaksızın inflamatuvar mediyatörler aracılığı ile de endotel nontrombojenik durumdan prokoagulan duruma geçebilir. Bunun nedeni antikoagulan faktörlerin azalmasıdır (48). Örneğin tümör nekrozis faktör (TNF) ve interleükin 1 (İL-1) trombomodulini azaltır ve in vitro endotel hücrelerindeki doku faktörünün ekspresyonunu indükler. Normal endotel hücreleri tarafından eksprese edilmeyen doku faktörü aterosklerotik plağı döşeyen endotel hücrelerinde gösterilmiştir ve koagülasyonun ekstrensek yolunu aktive eder (49). TNF, İL-1 ve endotoksin, endotel hücrelerinde PAİ-1 ekspresyonunu arttırabilir. Böylece fibrinoliz inhibe olur. Akut inflamasyonda von Willebrand faktör (vWF), trombosit aktive edici faktör (PAF) ve fibronektin salınımı artar. Trombüs oluşumu sağlanır.

Vasküler tonusun kontrolü: Primer olarak endotel kaynaklı vazodilatatörler ile [NO, PGI-2, endotel kaynaklı hiperpolarize edici faktör (EDHF)] vazokonstriktörler arasındaki (endotelin-1, süperoksit) dengeye bağlıdır. Endotel aynı zamanda anjiyotensin dönüştürücü enzim (ACE) eksprese eder. ACE, anjiyotensin I'in, güçlü bir vazokonstriktör olan anjiyotensin II'ye dönüşümünü sağlar. Tüm bu vazoaktif maddeler arasındaki dengelerin değişmesi endotel disfonksiyonuna yol açar (49).



Şekil 1: Koagulasyonda endotel fonksiyonları (NO: nitrik oksit, PAİ-1: plazminojen aktivatör inhibitörü –1, PGI 2: prostasiklin, PC: protein C, PS: protein S, TM: trombomodulin, TF: doku faktörü, tPA: doku plazminojen aktivatörü) (46).

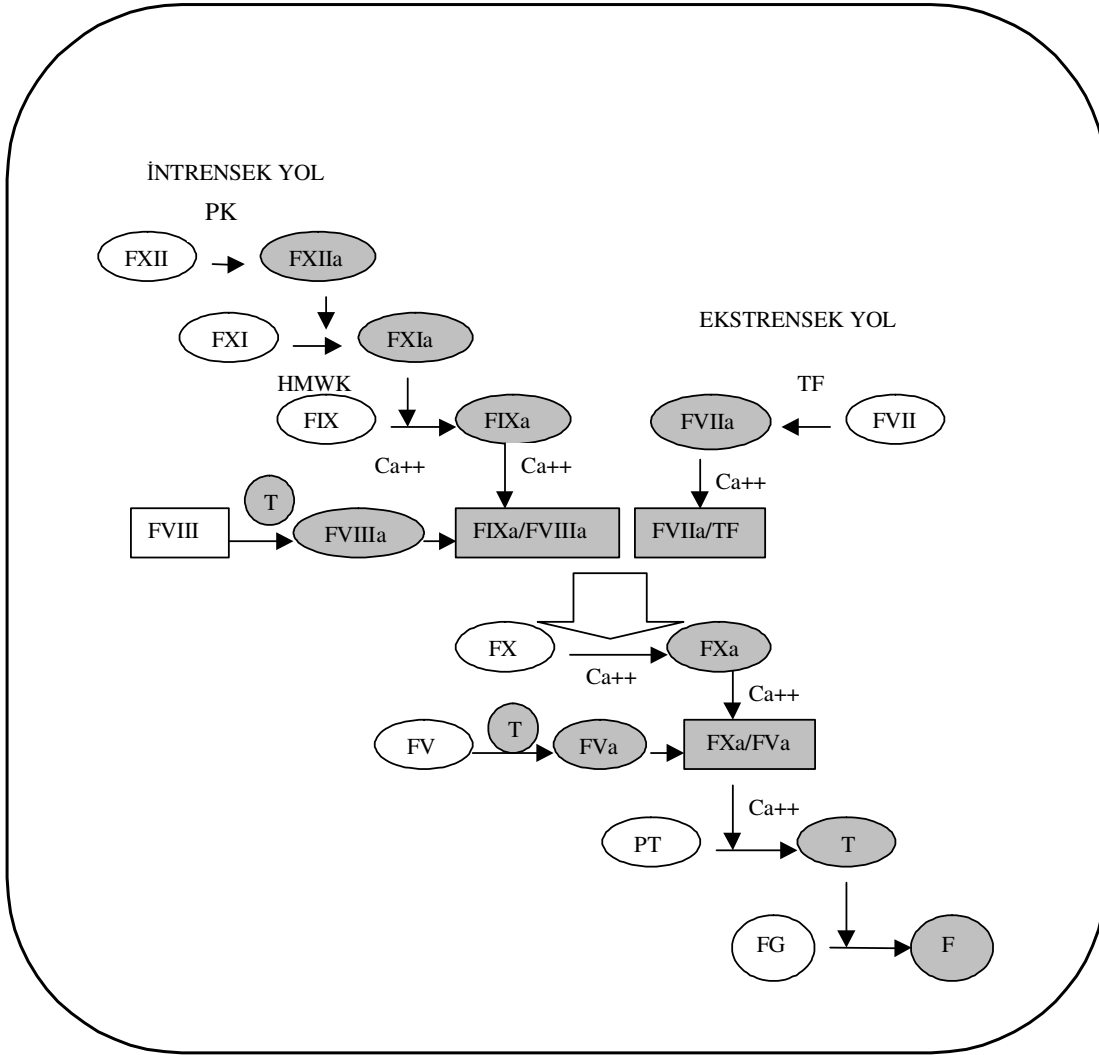
IX. KOAGULASYON SİSTEMİ:

Damar duvarında zedelenme olduğunda vazokonstrüksiyon, trombosit adezyonu, agregasyonu ve fibrin oluşumu ile pıhtılaşma olayı gerçekleşir. Damar zedelenmesine ilk yanıt olarak vazokonstrüksiyon gelişir. Endotel zedelenmesi trombosit yapışmasını kolaylaştırdığı gibi, subendotelial dokuda ortaya çıkan ve pıhtı oluşmasını başlatan doku faktörünün ortaya çıkmasını sağlar. Trombositlerin subendotelial alana adezyonunu sağlayan subendotelial dokudaki kollajendir. Trombositlerin subendoteldeki kollagen fibrillerine yapışması ya direkt olarak ya da

bir plazma proteini olan vWF ile trombosit yüzeyindeki glikoprotein Ib reseptörünün arasındaki etkileşim sonucu olur. Adezyon olayını diğer trombositlerin yapışarak agregasyonu takip eder. Bu olay, fibrinojenin trombosit yüzeyindeki glikoprotein IIb-IIIa ile kompleks oluşturmasını gerektirir. Öte yandan aktive olan trombositlerin granüllerinden salınan ADP, serotonin, tromboksan A2 ve zedelenme sırasında açığa çıkan doku faktörü ile başlayan ekstrinsek yol sonucu oluşan trombin diğer trombositlerin yapışmasını sağlar. Gittikçe büyüyen trombosit agregasyonu, öte yandan aktive olan koagülasyon kaskadı sonucu oluşan fibrin ile stabilize olur.

Trombin ve fibrin pıhtısı oluşumu ekstrinsek ve intrinsek yol olmak üzere iki farklı yol sonucunda olmaktadır. Kan koagülasyonunun intrinsek yolunda enzimler ve protein kofaktörleri rol oynamaktadır (şekil 2). Bu yol kallikrein tarafından faktör XII (FXII)'nin aktivasyonu ile başlar. Yüksek molekül ağırlıklı kininojen (HMWK) bu aktivasyonu indükler. FXII'nin enzim formu olan FXIIa, bir proenzim olan faktör XI'i (FXI) aktif enzim olan FXIa'ya dönüştürür. Kalsiyumun varlığında FXIa faktör IX'u (FIX) FIXa'ya dönüştürür. FIXa yine kalsiyum varlığında membran yüzeyinde bağlı olan kofaktör faktör VIIIa'ya bağlanarak tenaz kompleksini oluşturur. Bu tenaz kompleksi proenzim faktör X (FX)'u enzim formu FXa'ya dönüştürür. FXa yine kalsiyum varlığında membran yüzeylerinde bağlı olan kofaktör faktör Va'ya bağlanarak protrombinaz kompleksini oluşturur. Bu kompleks protrombini aktif enzim formu olan trombine dönüştürür. Trombin, fibrinojenin hızla polimerize olabilen fibrin monomerlerine dönüşümünü sağlar. Laboratuvar koşullarında kan koagülasyonunun bu intrinsek yolu, aktive parsiyel tromboplastin zamanı (APTT) ile değerlendirilir.

Ekstrinsek yol da protein kofaktörleri ve enzimleri içerir (şekil 2). Bu yol hücre yüzeylerindeki doku faktörü ile faktör VIIa (FVIIa) arasında kompleks oluşması ile başlar. Yaralanma sonrasında doku faktörü plazma ile karşılaşınca, plazmada bulunan FVIIa ile enzim kompleksi oluşturur. Bu kompleks FX'u FXa'ya dönüştürür. Sırayla FX da feedback mekanizması ile daha fazla FVII 'yi FVIIa'ya dönüştürür.



Şekil 2: Koagulasyon kaskadı (FG: fibrinojen, F: fibrin, PT: protrombin, T: trombin, TF: doku faktörü, PK: prekallikrein, HMWK: yüksek molekul ağırlıklı kininojen) (48)

Böylece ekstrinsek yol aktivasyon oranını hızlandırır. FVIIa/TF kompleksi tenaz kompleksi gibi FX'u FX'a ya dönüştürür. Bundan sonraki yol fibrin oluşumuna kadar intrinsek yol ile ortak yürür (48). Laboratuvar analizinde ekstrinsek yol protrombin zamanı (PT) ile değerlendirilir. Buraya kadar anlatılan tüm mekanizmalar in vitro modellere dayandırılmıştır. İn vivo mekanizmalar farklılıklar göstermektedir. İn vivo koagulasyon sistemi bu şekilde basit iki yol modelini izlemez. Fakat her iki kol da yeterli aktivitenin varlığına duyulan ihtiyaç, doku faktörü (TF) ve FVII üzerinden küçük miktarda trombin oluşumu ile koagulasyonun başlatılması modeli ile açıklanır. Bu

küçük miktardaki trombin sonradan FVIII, FVII, FIX'u aktive eder. İntrensek yol yeteri kadar fibrin pıhtısı oluşturmak için gerekli olan trombin oluşumunu sağlar. Normal koagulyasyonda intrensek yol doku faktörü yolu inhibitörü (tissue factor pathway inhibitor-TFPI) aktivitesi nedeniyle yeteri kadar trombin sağlayamaz. Trombin oluşumunun maksimum oranı fibrin oluşuktan sonra olur ve ek trombin, ek fibrin oluşumu, FXIII aktivasyonu ve TAFİ için gereklidir. FXIIIa bir transglutaminaz olup fibrin bağlarının. çarpaz kovalent olarak bağlanmasını sağlar. TAFİ, fibrinden lizinleri ayırır ve kompetitif olarak fibrinolitik enzimlerin fibrine bağlanmasını önler.

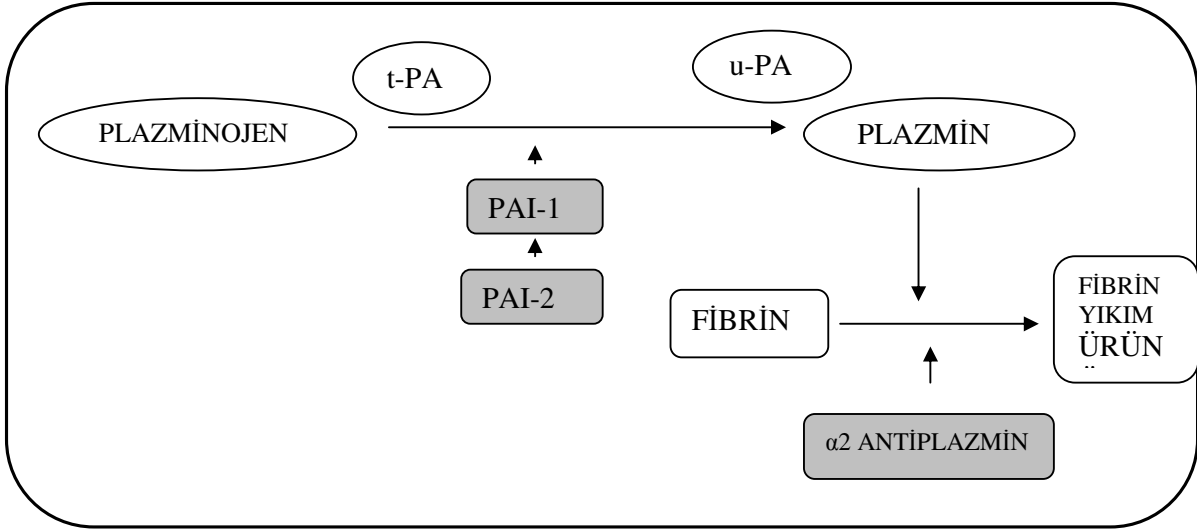
Koagulyasyon yolunun aktivitesi trombin oluşumunda regülatuar rol oynayan TFPI ile sınırlandırılmıştır. Yolun TFPI ile inhibisyonu FX aktivasyonuna ve TFPI-Xa kompleksine bağlıdır. Sonrasında FVIIa-TF kompleksi inhibe edilir. Bu model hemofili hastalarının sağlam ekstrensek yolu olmasına rağmen kanamalarına açıklık getirmiştir.

X. FİBRİNOLİTİK SİSTEM:

Fibrinolitik sistem koagulyasyon kaskadının önemli bir regülatörüdür. Aynı zamanda potent vasküler sistemin devamlılığını sağlar. Bu sistemde inaktif proenzim olan plazminojen aktif enzim olan plazmine dönüşür (şekil 3). İmmünolojik olarak kanda iki farklı fizyolojik plazminojen aktivatörleri tanımlanmıştır: Doku tipi plazminojen aktivatörü (t-PA) ve ürokinaz tipi plazminojen aktivatörü (uPA). Fibrinolitik sistemin inhibisyonu ya plazminojen aktivatörleri seviyesinde spesifik plazminojen aktivatör inhibitörleri (PAI-I, PAI-II) ya da plazmin düzeyinde α 2-antiplazmin ile gerçekleşir. PAI-1 serpin ailesinden bir proteindir ve etkisini t-PA inhibisyonu yolu ile gösterir. PAI-1 tPA ile birlikte fibrine bağlanır ve inhibitör etkisini gerçekleştirir. PAI-1 ve t-PA'nın kaynağı endotel ve vasküler düz kas hücreleri olması nedeniyle fibrinolizis lokal olarak kontrol edilmektedir. PAI-1 gen ekspresyonu endotoksin, TNF- α , büyüme faktörleri, insülin gibi değişik faktörlerce indüklenebilmektedir. PAI-1 gen ekspresyonu üzerinde renin anjiyotensin sisteminin önemli rolü olduğu bildirilmektedir

Dolaşımdaki fibrinin çözünmesinde primer olarak tPA bağımlı plazminojen aktivasyonu rol oynar. Ürokinaz tipi plazminojen aktivatörünün başlıca rolü ise dokunun yeniden yapılanması ve tamirinde, makrofaj fonksiyonlarında, embriyo implantasyonunda ve tümör invazyonunda perihüresel proteolizin indüklenmesidir.

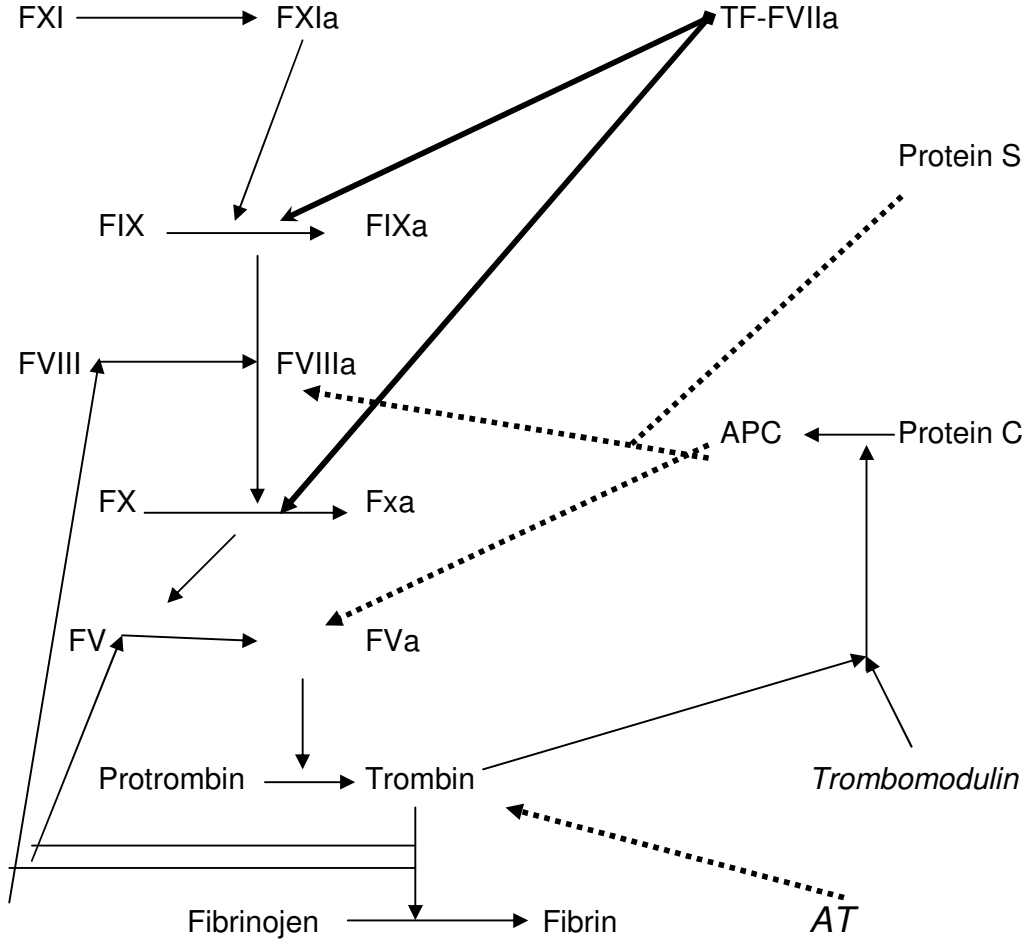
Fibrinolitik sistemin kontrol ve regülasyonu moleküller arasındaki etkileşim, plazminojen aktivatör ve inhibitörlerinin sentez ve salınımındaki kontrol ile sağlanır. Fibrinolitik sistem ile ilgili bozukluklar trombotik komplikasyonlar ya da kanamaya eğilimle sonuçlanır (48).



Şekil 3: Fibrinolitik sistem.

XI. ANTİKOAGULASYON:

Normal koşullarda koagülasyon faktörleri ile bunların doğal inhibitörleri bir denge içinde işlevlerini sürdürmeye çalışmaktadırlar (Şekil 4). 1983 öncesine kadar, koagülasyon sisteminin kontrolünde iki mekanizma bilinmekteydi. Bunlardan ilki antitrombin tarafından serin proteazlarının (Faktör XIa, IXa, Xa ve trombin) inhibisyonu iken, ikincisi aktive protein C/protein S kompleksi tarafından iki önemli kofaktörün (Faktör Va ve VIIIa) inhibisyonudur (50). İn vitro koşullarda antitrombinin Faktör VIIa/TF kompleksini inhibe ettiği gösterilmiş olmakla birlikte, bu durum in- vivo koşullarda kanıtlanamamıştır (51). Yukarıda tanımlanan iki mekanizmadan hiç biri doku faktörü ile başlayan koagülasyonu kontrol edememektedir. 1983 yılında Rapaport laboratuvarlarında üçüncü bir inhibitör mekanizma olarak Faktör VIIa/TF kompleksini etkileyen bir maddenin varlığı ortaya konmuştur. Bu inhibitör Faktör VIIa/TF kompleksini ve Faktör Xa basamağını etkilemektedir (52).



Şekil 4: Koagülasyon sistemi ve inhibitörleri arasındaki ilişki

Bu inhibitör bir trivalan Kunitz tip inhibitör olup, önceleri ekstrinsik yol inhibitörü (extrinsic pathway inhibitor-EPI) ya da lipoprotein ile ilişkili koagülasyon inhibitörü (lipoprotein associated coagulation inhibitor-LACI) olarak da adlandırılan, doku faktörü yolu inhibitörüdür (tissue factor pathway inhibitor-TFPI) (53). Amino asit sekansları klonlanmış olup 276 amino asitten oluştuğu ve diğer özellikleri belirlenmiştir (54). TFPI'nün etki mekanizması öncelikle Faktör Xa ile bağlanma ardından Faktör VIIa/TF kompleksinin inhibisyonu şeklinde olmaktadır (55). Yapısında var olan üç farklı Kunitz alanı değişik etki basamaklarında rol almaktadır. Kunitz-1 faktör VIIa üzerinde etkili olurken Kunitz-2 alanı Faktör Xa ile bağlanmaktadır (56). Geri kalan üçüncü alanın tam olarak ne işe yaradığı bilinmemekle birlikte, optimal Faktör Xa inhibisyonu için gerekli olduğu düşünülmektedir.

Normal fizyolojik koşullarda TFPI vasküler endotelden sentez edilmektedir (57). Normal insan dokularında immünhistokimyasal analizlerde TFPI mikrovasküler alan ve megakaryositlerde gösterilmiştir (58). TFPI geni araştırılmasına dayalı incelemelerde farklı dokularda çok değişken sonuçlar elde edilmiştir (59). Akciğer ve kalp en yüksek değerde TFPI mRNA'sı saptanan dokulardır. Endotele bağlı TFPI'nün lümen içi antitrombotik durumun sürdürülmesine katkıda bulunduğu düşünölmektedir. Monositler, makrofajlar, akciğerdeki fibroblastlar, damar düz kas hücreleri, laringeal epitel hücreleri, astrositler, mezotelial ve mezengial hücrelerin de TFPI sentezleyebildikleri belirlenmiştir (57–61). Yapılan araştırmalarda hepatosit, eritrosit, nötrofil ve lenfositlerin fizyolojik koşullarda TFPI sentezlemedikleri gösterilmiştir (62). TFPI ekspresyonu değişik hücre tiplerinde pek çok farklı inflamatuvar uyarın ile etkilenebilmektedir. Endotoksin, TNF- α ve interlökin-1 (IL-1) insanlarda endotel TFPI ekspresyonuna etki etmezken, in vivo koşullarda fare endotel TFPI ekspresyonunu azaltmaktadırlar (63). Yapılan çalışmalarda shear stresin endotel TFPI ekspresyonunu iki kat arttırdığı gösterilmiştir (64). Ayrıca, trombin vasküler endotel hücrelerinden TFPI salınımını arttırarak plazma düzeylerinin ve endotel yüzeyi TFPI miktarının artışına neden olmaktadır (65). Endotel hücre költürlerinde TNF- α varlığı monositlerden TFPI gen ve antijen ekspresyonunu artırmaktadır (66). Monositler ve monositer hücre serilerinde yapılan çalışmalarda endotoksinin az miktarda TFPI ekspresyon artışı oluşturduğu gösterilmiştir (67).

Ekstravasküler alanda TF sentezleyen hücreler aynı zamanda TFPI düzeylerinde artışa da neden olmaktadır. In vitro, damar düz kas hücrelerinin TFPI mRNA ve antijen eksprese ettikleri gösterilmiştir (68).

In vivo TFPI üç ayrı yerde toplanmıştır. Yaklaşık %80–85 kadarı endotel hücre yüzeyinde glukozaminoglikanlar ve proteoglikanlara bağlı olarak; yaklaşık %10 kadarı ya genellikle lipoproteinlerle ilişkide ya da az oranda serbest formda plazmada; %3 kadarı da trombositlerde bulunmaktadır (69). TFPI plazmada büyük oranda lipoproteinlere bağlı bulunmakta olup, bu bağlı kısım antikoagölan sistemde daha az rol oynamaktadır. TFPI sirkülasyondan başlıca karaciğer ve böbrekler aracılığı ile temizlenir (5). TFPI mRNA 4 kb ve 1,4 kb parçalar halinde endotel hücrelerinde bulunur (57, 70). İnsan TFPI geninin yapısal özellikleri iki ayrı çalışma grubu tarafından belirlenmiş ve 2. kromozomun 2q31-2q32.1 alanlarında

haritalanmıştır (71). TFPI geni yaklaşık 70 kb büyüklükte olup 9 ekson 8 intron içerir (71).

TFPI düzey ölçümleri, kullanıma bağlı azalma veya endotelial hasarlanma ya da inflamasyonun belirleyicisi olarak kullanılır. TFPI düzeyi inme (72), derin ven trombozu (DVT) (73), sepsis (74, 75), maligniteler (76), böbrek yetmezliği (77-79), tiroid disfonksiyonunda (80), DM (6, 81) ve aterosklerotik kalp hastalıklarında (7, 82, 83) çalışılmıştır. Özellikle koroner arter hastalığı ve diyabetik hastalarda endotel disfonksiyonu ile ilişkisi gösterilmiş ve subklinik aterosklerozun göstergesi olarak yorumlanmaktadır (6-8). Sakata ve ark.'nın yaptığı çalışmada TFPI düzeyinin endotel disfonksiyon göstergesi olan karotis intima media kalınlığı ile ilişkisi olduğu ve erken aterosklerozun bir göstergesi olarak değerlendirilmiştir (8).

XII. SUBKLİNİK ATEROSKLEROZ VE HEMOSTATİK FAKTÖRLER

Subklinik ateroskleroz, sağlıklı popülasyonda aterosklerotik hastalığa bağlı semptomu olmayan kişilerde incelemeler sonucu aterosklerozun varlığının gösterilmesidir. 1980 yılından itibaren kardiyovasküler hastalıklarda trombüsün önemi anlaşılmaya başlamıştır (84). Aterosklerotik plağın yırtılmasına organizmanın ilk yanıtı arteriyel trombüs oluşumudur. Bu klasik bilgi araştırmacıları kardiyovasküler hastalık riski yüksek bireylerde tromboz oluşumuna yatkınlığı araştırmaya yöneltmiştir. Epidemiyolojik çalışmalarda hemostatik faktörlerin kalp hastalığı gelişme riski ile ilişkisi saptanmıştır. Araştırılmış olan hemostatik faktörler tümüyle değerlendirildiğinde yüksek plazma fibrinojen düzeyleri, yüksek PAI-1, artmış faktör VII ve faktör VIII aktiviteleri kardiyovasküler olay görülme riskini predikte etmektedir (85, 86).

The Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) çalışmasında plazma fibrinojen, faktör VIII ve von Willebrand faktör düzeyleri ile kardiyovasküler hastalık varlığı arasında ve fibrinojen düzeyleri ile karotis intima kalınlığı arasında ilişki bulunmuştur (87). Prospective Epidemiological Study of Myocardial Infarction (PRIME) Fransa ve Kuzey İrlanda'da 50-59 yaşları arasındaki erkeklerde yapılmış olan prospektif kohort bir çalışmadır (88). Bu çok merkezli çalışmaya 10500'ün üzerinde birey katılmıştır. Katılımcıların kabul anında plazma fibrinojen, faktör VII ve PAI-1 aktiviteleri ölçülmüş ve bu düzeyler kardiyovasküler risk faktörleri, izlemde

oluşan aterosklerotik hastalıklar yönünden değerlendirilmiştir. Fibrinojen düzeyleri yaş, sigara, bel-kalça oranı, LDL kolesterol düzeyleri ile artarken eğitim düzeyi, fiziksel aktivite, alkol alımı ve HDL kolesterol düzeyleri ile ters orantılı olarak düşük, faktör VII aktivitesi vücut kitle indeksi (VKI), bel-kalça oranı, trigliserid, HDL ve LDL kolesterol düzeyleri ile ilişkili olarak yüksek bulunmuştur. PAI-1 aktivitesi ise VKI, bel-kalça oranı, alkol alımı, sigara ve serum trigliserid düzeyleri ile ilişkili olarak yüksek ve fizik aktivite ile ilişkili olarak düşük bulunmuştur. PAI-1 düzeyleri diyabetik bireylerde diyabetik olmayanlara göre daha yüksek ölçülmüştür. Bireylerin izleminde 280 miyokard infaktüsü, 230 anjina pektoris, 19 periferik damar hastalığı ve 67 inme vakası gözlenmiştir. Bazal PAI-1 ve fibrinojen düzeyleri miyokard infaktüsü, anjina pektoris ve periferik damar hastalığı olgularında yüksek saptanırken, inme olgularında bir fark saptanamamıştır. Hipofibrinolizis, ikincil gelişen olaylar için bir risk faktörü olmanın yanında hem erkek hem de kadın cinsiyette ilk iskemik epizot için risk faktörüdür. Thögersen ve arkadaşları yüksek plazma PAI-1 ve tPA düzeylerinin miyokard infaktüsü (Mİ) riskinde 3,35 kat rölatif artış ile ilişkili olduğunu göstermişlerdir (89). Ayrıca yapılmış olan bir diğer çalışmada yüksek PAI-1 aktivitesi Mİ öyküsü olan genç erkeklerde koroner hastalığının progresyonu ile ilişkili bulunmuştur (90).

Aterosklerozun gelişimi ve progresyonu ile ilişkili olan inflamasyonun hemostatik faktörler ile ilişkisi araştırılmıştır. İnflamasyonun sensitif göstergesi olan hs-CRP ile hemostatik faktörler arasında güçlü kolerasyon saptanmıştır. Bu konu ile ilgili çalışmalar tablo 4 'de özetlenmiştir. Fibrinojen inflamasyonla direkt ilişkili iken diğer hemostatik faktörler metabolik tablonun durumuna paralel olarak indirekt ilişkilidir. Hemostatik faktörler birçok metabolik parametre ile ilişkili olmasına rağmen özellikle PAI-1 insülin resistans sendromu ile (91), vWF ise endotel disfonksiyonu veya endotel aktivitesi ile ilişkilidir (92).

Tablo 4: Hemostatik faktörler ile inflamasyonun (hs-CRP) ilişkisi

Hemostatik Faktör	Kolerasyon katsayısı	Referans
Fibrinojen	>40	Sakinken et al. (93)
D-Dimer	20< r <40	Sakinken et al. (93)
vWf	≈ 20	Haverkate et al (94)
t-PA	≈ 20	Haverkate et al (94)
PAI-1	≈ 20	Haverkate et al (94)
F VIII	≈ 20	Sakinken et al. (93)

Diyabetik hastalarda hemostatik parametreler metabolik kontrolle ve eşlik eden obezite, hipertansiyon ve hiperlipidemi gibi komorbid hastalıklarla ilişkilidir. Diyabetik hastalardaki endotel disfonksiyonu ve insülin rezistansı ile hemostatik parametreler arasında güçlü kolerasyon saptanmıştır (95). Yine benzer ilişki diyabetin makrovasküler ve mikrovasküler komplikasyonları ile de gösterilmiştir. Yaygın anjiopatinin ve endotel disfonksiyonunun göstergesi olan üriner albumin atılımı ile hemostatik faktörler arasında pozitif kolerasyon saptanmıştır (81, 95, 96). Edinburg çalışmasında periferik arter hastalığı olan ve olmayan diyabetik veya bozulmuş glukoz toleransı olan hastalar karşılaştırılmıştır (97). Periferik arter hastalığı olan diyabetik hastaların fibrinojen, vWF, t-PA, fibrin, D-Dimer ve plazma viskozitesi periferik arter hastalığı olmayan diyabetik hastalara göre anlamlı yüksek saptanmıştır. Bu çalışma, diyabetik veya bozulmuş glukoz toleransı olan hastalardaki artmış periferik arter hastalık prevalansının hemostatik faktörler ile ilişkisini göstermiştir (97). Festa ve ark. PAI-1 aktivitesinin yaş, cins, etnik köken, sigara, obezite, fiziksel aktivite, ailede DM öyküsü gibi DM için risk faktörleri ile birlikte değerlendirildiğinde tüm bu parametrelerden bağımsız olarak PAI-1 aktivitesi DM gelişimi için bağımsız risk faktörü olduğunu göstermişlerdir (83).

Prediabetik dönem için çok iyi bir model olan GDM öyküsü olan bayanlardaki fibrinolitik sistemi değerlendiren tek çalışmada Farhan ve ark tarafından yapılmıştır (98). Bu çalışmada 74 GDM öyküsü olan bayan doğumdan 3 ay sonra

değerlendirilmiş, endotel fonksiyonlarının ve infilasyonun göstergesi olarak PAI-1, t-PA, vWF ve fibrinojen düzeyleri 20 sağlıklı kontrol ile karşılaştırılmış ve her iki grup arasında fibrinojen ve vWF seviyeleri benzer bulunmuştur. Öyküsünde GDM olan ve insülin rezistansı olan bayanlarda PAI-1 ve t-PA seviyeleri yüksek saptanırken, PAI-1'in insülin, C-peptit, ve CRP ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (98). Winzer ve ark GDM öyküsü olan bayanlarda endotel disfonksiyonu ve sublinik ateroskleroz ile ilişkisi bilinen PAI-1 konsantrasyonunun yüksek olduğunu ve endotel fonksiyonları koruyucu etkisi olan adiponektinin PAI-1 aktivitesi ile negatif kolere olduğu göstermişlerdir (99).

Diyabetik hastalarda erken endotel disfonksiyonun göstergesi olarak kabul edilen TFPI aktivitesi çalışılmış ve TFPI aktivitesi ile glikolize hemoglobin düzeyleri arasında kolerasyon saptanmıştır (6). Yaygın anjiopatinin ve endotel disfonksiyonunun göstergesi olan üriner albumin atılımı ile TFPI aktivitesi arasında pozitif kolerasyon saptanmıştır (81). TFPI aktivitesi, büyük çoğunluğu endotelden üretildiği ve endotele yapıştığı için endotel fonksiyonlarını yansıtmaktadır (100). TFPI aktivitesi DM ve bozulmuş glukoz toleransı olan hastalarda değerlendirilmesine rağmen literatürde öyküsünde GDM olan bayanlarda TFPI aktivitesi ve diğer hemostatik parametlerin bir arada değerlendirildiği bir klinik çalışma bulunamamıştır.

Öyküsünde GDM olan bayanlardaki dislipidemik durum, bozulmuş glukoz toleransı, protrombotik ve inflamatuvar süreç, KVH ve DM riskini artırmaktadır. Biz bu çalışmada öyküsünde gestasyonel diyabet olan bayanlardaki endotel disfonksiyonun göstergesi olan TFPI aktivitesi ve diğer hemostatik faktörleri sağlıklı bireylerle karşılaştırmayı planladık.

5. MATERYAL VE METOD

Hastalar ve kontrol grubu:

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi hastanesinde takip ve tedavi edilmiş, öyküsünde GDM olan 80 bayan çalışmaya alındı. Hastanemize kontrol amaçlı başvuran ve hastane personelinden 45 sağlıklı kontrol de çalışmaya dahil edildi.

Koroner arter hastalığı veya bilinen herhangi bir aterosklerotik hastalığı bulunan, diabetik, morbid obezite, ailesel hiperlipidemi tanısı olan, herhangi bir pıhtılaşma bozukluğu bulunan, ciddi sistemik hastalığı bulunan, lipid düşürücü ilaç, hormon replasman tedavisi ya da pıhtılaşma sistemini etkileyebilecek bir ilaç kullanımı olan hastalar ve gebelik tespit edilen kadınlar çalışmaya dahil edilmedi.

Çalışma için Dokuz Eylül Üniversitesi yerel etik kurulundan izin alındı. Tüm hastalara ve kontrol grubuna çalışma hakkında ayrıntılı bilgi verildi ve yazılı aydınlatılmış onam formu alındı.

Ölçümler:

Klinik ve Fizik Bakı:

Çalışmaya katılma kriterlerini taşıyan hastaların ayrıntılı medikal öyküleri alındı ve sistemik fizik bakıları yapıldı. Hastalardan ailesinde DM olan bireyler kaydedildi. Vücut kitle indeksi (VKI) hesaplamasında, $VA (kg)/Boy (m^2)$ formülü kullanıldı. Standart mezura kullanılarak kosta yayı alt kenarı ve iliyak krest arası orta noktadan bel çevresi, trokanter major hizasından kalça çevreleri ölçüldü. Hasta ve kontrollerin sigara kullanımı not edildi. Çalışma gününden itibaren 1 yıl içinde günde en az 1 adet sigara kullananlar "sigara içenler" olarak tanımlandı. Sigara miktarı paket/yıl olarak hesaplandı.

Biyoelektrik impedans analizi: Biyoelektrik impedans analizi ile vücut kompozisyonu tayini için Tanita TBF-300M "Body Composition Analyzer" cihazı kullanıldı. Kişi ile ilgili veriler (yaş, cinsiyet, boy) cihaza yüklendi. Gönüllünün çıplak ayakla cihazın üzerine çıkması istendi. Bu işlem sırasında vücudun bu akıma rezistans veya

impedansı aracılığı ve cihazın sahip olduğu bilgisayar yazılımı yardımı ile vücut yağ oranı, yağsız vücut kütlesi, total vücut suyu ölçümleri hesaplandı.

Laboratuvar:

Her hasta ve kontrol standart OGTT ile diyabet varlığı bakımından değerlendirildi. Hastalarda diyabet varlığı 2006 American Diyabet Cemiyetinin yayınladığı (American Diabetes Association) “Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus” kriterlerine göre değerlendirildi (9). Test sonucu DM ile uyumlu olanlar çalışma dışı bırakıldı.

Glukoz ölçümü ve lipid parametreleri (kolesterol, trigliserid, HDL, LDL) düzeyleri Hitachi P800 oto analizatörü (Tokyo, Japan) ile ölçüldü. Hastaların HOMA yöntemi ile β -hücre fonksiyonlarını ve insulin rezistansını değerlendirmek için insulin konsantrasyonları ölçüldü. İnsulin ölçümü Immulite 1000 (ABD) cihazında yapıldı. Solid faz iki yönlü kemilüminesans imminometrik yöntemi ile çalışıldı.

İnsülin rezistansı ve insülin sensitivitesi:

HOMA İnsülin Rezistansı (HOMA-IR): İnsülin rezistansı kantitatif olarak HOMA (Homeostasis Model Assesment) formülüne göre hesaplandı.

$HOMA - IR = \text{glukoz (mmol / litre)} \times \text{insülin (IU / litre)} / 22,5$

QUICKI İnsülin Sensitivitesi: İnsülin sensitivitesi kantitatif olarak QUICKI (Quantitative Insulin Sensitivity Check Index) indeksine göre hesaplanmıştır.

$QUICKI = 1 / [\log(I0) + \log(G0)]$

(I0): açlık insülin $\mu\text{U/mL}$, (G0): açlık glukoz mg /dl.

Hastalardan 8 saatlik açlık sonrası t-PA, PAI -1, total TFPI, vWF, doku faktörü (TF), fibrinojen, D-Dimer ve yüksek sensitif C-reaktif protein (CRP) ölçümü için kan alındı. Örnekler + 4 °C’de 2500 bpm devirde 15 dakika santrifüj edildi. Plazma ve serumlar ayrıldı. Ayrılan plazmalar çalışılana kadar -80 °C’de saklandı. Sigara kullanan hastaların tetkik öncesi son 24 saatte sigara kullanımına izin verilmedi.

Çalışma gününde -80 °C'de saklanan plazmalardan ve serumlar çözülerek eş zamanlı olarak t-PA, PAI -1, total TFPI, vWF, TF ve CRP düzeyleri ELISA yöntemi ile çalışıldı.

Total TFPI ölçümü IMUBID® total TFPI (American diagnostica inc.) tek adım (one step) ELISA kiti kullanılarak gerçekleştirildi. Yüzeyi anti-TFPI monoklonal antikor ile kaplanmış 96 yuvalı plastik kaplar kullanıldı. Dondurulmuş olan plazmalar, testten en az 15 dakika önce 37°C'de çözüldü. Standart solüsyonundan seri dilüsyonlarda kalibrasyon tüpleri hazırlandı. Hasta plazmaları 1/20 oranında dilüsyon tamponu kullanılarak dilüe edildi. Kuyucuklara öncelikle fare antiserbest TFPI monoklonal antikor-peroksidaz konjugatı konup, üzerine dilüe edilmiş çalışma örnekleri eklendi. 2 saat süren inkübasyonun ardından ikili yıkama ile kuyucuklar yıkanıp, renk reaksiyonu için OPD/üre peroksit substratı eklendi. 8 dakika inkübe edildikten sonra stop reaksiyonu için 3 M sülfirik asit ilave edildi. 30 dakika beklemenin ardından 490 nm dalga boyunda ELISA cihazında (BioRad Novapath microplate reader, Japan) okutularak optik dansite değerleri elde edildi. Elde edilen değerler log-log grafik sisteminde elde edilen eğriden karşılık gelen ng/ml değerler belirlendi. Kontrol reaktifi ile elde edilen sonuçlar ile test güvenliği sağlandı.

Plazma PAI-1 düzeyleri IMUBID® PAI-1 (American diagnostica inc.) sandviç ELISA metodu kullanılarak belirlendi. Bu amaçla spesifik fare anti insan PAI-1 antikorları ile kaplı plastik 96 yuvalı kaplar kullanıldı. Plazma örnekleri 1/5 dilüe edilerek kullanıldı. Kuyucuklara çalışma örnekleri yerleştirildikten sonra 1 saat inkübe edildi. Yıkamayı takiben, spesifik monoklonal fare anti-insan PAI-1 antikor-peroksidaz substratı eklendi. 1 saat daha inkübasyon sonrası yıkama prosedürü tekrarlandı. Renk oluşumu için OPD/H²O² substratı eklenen kuyucuklar 3 dakika oda ısısında inkübe edildi. Stop reaksiyonu için 3 M sülfirik asit eklendi. 10 dakikalık beklemenin ardından 490 nm dalga boyunda okutularak değerler elde edildi.

Plazma tPA düzeyleri IMUBID® tPA (American diagnostica inc.) sandviç ELISA metodu kullanılarak belirlendi. Bu amaçla monoklonal fare anti-insan tPA antikor ile kaplı plastik 96 yuvalı kaplar kullanıldı. Plazma örnekleri 5/1 oranında dilüe edilerek kullanıldı. Plazma PAI-1 tespitinde kullanılan metodlar ile işleme tabi tutulan örnekler 490 nm dalga boyunda okutularak plazma tPA düzeyleri belirlendi.

Plazma düzeyleri IMUBID® TF (American diagnostica inc.) ELISA metodu kullanılarak belirlendi.

Fibrinojen ve d-dimer koagulometrik yöntem ile değerlendirildi. CRP immunotürbidimetrik yöntem ile Integra 400 cihazında çalışıldı.

İstatistiksel Analiz:

Veriler ortalama \pm standart sapma olarak tanımlanmıştır. Grupların verileri arasındaki karşılaştırma varyans analizi (One way ANOVA) ile yapılmıştır. Varyans analizinde anlamlı fark saptandığında çoğul iki grup karşılaştırmaları post-hoc Bonferroni testi ile yapılmıştır. İki grup arasındaki karşılaştırma Student t testi ile yapılmıştır.

İki değişken arasındaki ilişkinin düzeyinin belirlenmesi için Pearson korelasyon analizi uygulanmıştır. Birden çok değişkenler analizler lojistik regresyon metodu ile hesaplanmıştır. Anlamlılık açısından p değerinin iki yönlü testte 0,05 altında olması beklendi. İstatistiksel veriler SPSS 11,0 windows programı kullanılarak değerlendirilmiştir.

6. BULGULAR:

Çalışmamıza tanı ve tedavisi Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Endokrinoloji ve Metabolizma Hastalıkları Bilim Dalı'nda yapılmış, gestasyonel diyabet öyküsü olan 80 bayan alındı. Kontrol grubu olarak öyküsünde GDM olmayan, benzer yaş ve benzer süre önce doğum yapmış 45 sağlıklı bayan alındı. Olgu ve kontrollerin demografik verileri tablo 1'de gösterilmiştir. Olgu grubundaki gestasyonel diyabet öyküsü olan bayanların ortalama tanı süresi 3,2 yıl olarak saptandı. Olgu grubunun kontrollere göre VKI, bel, kalça ve bel-kalça oranı daha yüksek olduğu ve vücut kompozisyonunda daha yüksek oranda yağ olduğu saptandı ($p < 0.001$)(Tablo 5).

Tablo 5: Olgu ve kontrollerin demografik verileri

	Kontrol (n=45)	Olgu (n=80)	p
Yaş (yıl)	34,0 ± 4,76	35,6 ± 6,52	0,153
Index gebelikten sonra geçen süre (yıl)	4,44 ± 4,07	3,2 ± 4,63	0,135
VKI (kg/m²)	23,546 ± 3,67	28,314 ± 6,51	<0.001
Bel (cm)	73,78 ± 8,6	89,81 ± 13,5	<0.001
Kalça (cm)	93,04 ± 8,24	103,95 ± 12,23	<0.001
Bel/kalça oranı	0,79 ± 0,05	0,86 ± 0,06	<0.001
Hipertansiyon %	----	12 (%15)	<0.001
Sigara miktarı (paket/yıl)	1,56 ± 2,89	0,9 ± 2,24	0,161
Yağ %	28,06 ± 6,93	34,66 ± 8,54	<0.001
Yağ kütlesi (kg)	17,76 ± 6,79	26,33 ± 12,01	<0.001

Olgu grubunda % 68,8, kontrol grubunda ise %26,7 oranında ailede DM vardı (p<0.001) (Tablo 6).

Tablo 6: Ailede DM öyküsü

	Ailede DM Varlığı		
	Var	Yok	Toplam
Olgu	55 (68.8%)	25 (31.2%)	80 (100%)
Kontrol	12 (26.7%)	33 (73.3%)	45 (100%)

(Pearson ki-kare; p<0.001)

GDM öyküsü olan bayanların ve kontrollerin insülin rezistansı ve sensitivitesi daha önce tanımlanan yöntemler ile hesaplandı ve GDM öyküsü olan bayanların yüksek insülin rezistansı (p <0.001) ve düşük insülin sensitivitesi (p <0.001) saptandı (Tablo 7).

Tablo 7: Çalışma grubunun insülin rezistansı ve insülin sensitivitesi göstergeleri

	Kontrol (n=45)	Olgu (n=80)	p
İnsülin (uIU/ml)	7,32 ± 4,05	13,71 ± 11,95	<0.001
C-peptid (ng/ml)	1,68 ± 0,67	2,5 ± 1,56	<0.001
HOMA-IR	1,44 ± 0,88	3,09 ± 2,61	<0.001
QUICKI	0,37 ± 0,04	0,33 ± 0,03	<0.001
İnsulin glukoz oranı	0,09 ± 0,04	0,15 ± 0,14	0,001

Olguların ve kontrol gruplarının laboratuvar bulguları Tablo 8’de özetlenmiştir. Olguların AKŞ ve TKŞ ölçüleri kontrollere göre istatistiksel anlamlı yüksek saptandı (p <0.001). Olguların ve kontrollerin lipid profilleri karşılaştırıldığında total kolesterol (p=0.011), trigliserid (p=0.01) ve LDL kolesterol (p =0.035) düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardı. İnflamasyonun göstergesi olan WBC (p<0.001) ve CRP (p=0,016) seviyesinin olgu grubunda kontrollere göre anlamlı olarak yüksekti.

Fibrinolitik sistemin değerlendirilmesinde olgu grubunda fibrinojen (p =0,039), PAI-1 (p <0,001), TF (p =0,044), total TFPI (p =0,01) kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklı olduğu saptandı.

Tablo 8: Çalışma gurubunun laboratuvar verileri

	Kontrol (n=45)	Olgu (n=80)	p
AKŞ (mg/dl)	78,87 ± 9,09	89,25 ± 11,535	<0.001
2. saat TKŞ (mg/dl)	83,36 ± 15,315	115,96 ± 30,601	<0.001
Total Kolesterol (mg/dl)	172,31 ± 30,423	188,75 ± 40,116	0,011
Trigliserid (mg/dl)	83,78 ± 32,480	128,24 ± 113,74	0,01
HDL (mg/dl)	64,91 ± 17,024	58,78 ± 17,16	0,057
LDL (mg/dl)	93,24 ± 27,172	105,11 ± 31,169	0,035
WBC (uL)	6,29 ± 1,33	8,06 ± 2,59	<0.001
CRP (mg/l)	2,14 ± 5,38	5,32 ± 9,21	0,016
Fibrinojen (g/l)	3,65 ± 1,05	4,07 ± 1,07	0,039
D-Dimer (ug/l)	211,23 ± 86,63	218,38 ± 103,76	0,698
vWF	96,54 ± 33,72	100,41 ± 36,26	0,561
PAI-1	30,27 ± 14,63	43,10 ± 19,47	<0.001
TF	94,16 ± 53,32	123,67 ± 88,42	0,044
Total TFPI	39,94 ± 10,76	48,94 ± 26,77	0,01
t-PA	6,10 ± 5,72	5,8 ± 4,47	0,747

Bu iki grup arasındaki farklılıklar VKI'ya göre düzeltildiğinde HOMA-IR, WBC, PAI-1 ve total TFPI'nin anlamlı olarak farklılığını koruduğunu saptadık. GDM öyküsü olan bayanlarda yüksek saptanan endotel bağımlı hemostatik faktörlerin ve HOMA-IR'ın 'ya göre düzeltilmiş olasılık katsayıları (Odd Ratio, OR) tablo 9'da verilmiştir.

Tablo 9: İki grup arasında saptanan farklılıkların VKI'ne göre düzeltilmiş olasılık katsayıları

	Beta Katsayısı	S.E.	Olasılık katsayısı (OR)	95 % CI	p
HOMA-IR	0.75	0.26	2.11	1.27-3.52	0.004
WBC	0.52	0.17	1.68	1.21-2.31	0.002
PAI-1	0.03	0.02	1.03	1.00-1.06	0.045
TOTAL TFPI	0.05	0.02	1.05	1.00-1.10	0.028

Öyküsünde GDM olan bayanlar OGTT testine göre değerlendirildiğinde 23 bayanda bozulmuş glukoz toleransı (BGT) saptandı (Grup 2). 57 bayanda ise normal glukoz toleransı vardı (Grup 1). Her iki grubun kontroller ile karşılaştırılması tablo 10 ve 11' de verilmiştir. Normal glukoz toleransı olanların (Grup 1) kontrollerle karşılaştırıldığında VKI, yağ yüzdesi, yağ kütlesi, insülin, HOMA-IR ve QUICKI parametreleri farklı saptandı (p=0,001). Bozulmuş glukoz toleransı olanların (Grup 2) kontrollerle karşılaştırıldığında ise yaş (p=0,035), yağ yüzdesi, yağ kütlesi, insülin, HOMA-IR ve QUICKI parametreleri farklı saptandı (p=0,001). Demografik verilerde grup 1 ve 2 arasında anlamlı farklılık saptanmadı.

Tablo 10: GDM öyküsü olan bayanların bozulmuş glukoz toleransı olan ve olmayanların demografik verileri ve kontrollerle karşılaştırılması.

	KONTROL	OLGU	
		Normal GT (Grup 1)	Bozulmuş GT (Grup 2)
n	45	57	23
Yaş (yıl)	34.0±4.8	34.7±6.9	37.8±4.9 **
VKI (kg/m²)	23.5±3.7	27.7±6.6*	30.0±6.2 +
Yağ %	28.1±6.9	34.1±8.6*	35.9±8.5 +
Yağ kütlesi (kg)	17.8±6.9	25.5±12.1*	28.3±11.9 +
Sigara miktarı (paket/yıl)	1.6±2.9	0.9±2.4	0.7±1.8
İnsülin (uIU/ml)	7.3±4.1	13.2±12.9*	15.06±9.3 **
HOMA-IR	1.5±0.9	2.8±2.7*	3.7±2.5 +
QUICKI	0.40±0.04	0.34±0.03*	0.32±0.03 +

* Grup 1 ile kontrol p = 0,001

** Grup 2 ile kontrol p= 0,035; + Grup 2 ile kontrol p = 0,001, ++ Grup 2 ile kontrol p = 0,003.

Grup 1 ve grup 2 ve kontrollerin laboratuvar verileri tablo 11'de verilmiştir. Grup 1 ile kontroller değerlendirildiğinde WBC (p =0,001) ve PAI-1 (p=0,006) istatistiksel farklı bulundu. Grup 2 ile kontroller değerlendirildiğinde WBC (p < 0,05), total kolesterol (p <0,05), trigliserid (p <0,001), HDL-kolesterol (p <0,05), PAI-1 (p =0,001) istatistiksel farklı bulundu. Grup 1 ve grup 2 karşılaştırıldığında sadece trigliserid (p<0,001) düzeyi farklı bulundu. Bu iki grup arasında vWF, PAI-1, TF, total TFPI farklı olmasına rağmen bu farklılık istatistiksel olarak anlamlı değildi (p>0,05).

Tablo 11: GDM öyküsü olan bayanların bozulmuş glukoz toleransı olan ve olmayanların laboratuvar verileri ve kontrollerle karşılaştırılması.

	KONTROL	OLGU	
		Normal GT (Grup 1)	Bozulmuş GT (Grup 2)
WBC (u/l)	6.3±1.3	8.2±2.6 **	7.8±2.6*
CRP (mg/l)	2.1±5.4	5.8±10.4	4.1±5.2
Total Kolesterol (mg/dl)	172.3±30.4	182.8±36.2	203.5±46.1*
Trigliserid (mg/dl)	83.8±32.5	102.5±62.5 ⁺	191.9±175.0 [‡]
HDL-kolesterol (mg/dl)	64.9±17.0	60.5±16.4	54.4±18.5
LDL-kolesterol (mg/dl)	93.2±27.2	103.8±33.1	108.5±26.2
Fibrinojen (g/l)	3.7±1.1	4.1±1.1	4.1±1.1
D-Dimer (ug/l)	211.2±86.3	228.9±108.4	192.5±88.5
vWF	96.5±33.8	100.0±35.2	101.5±38.9
PAI-1	30.3±14.7	41.5±18.7 ^β	47.1±21.1 [§]
TF	94.2±53.3	119.8±67.8	133.2±126.9
Total TFPI	39.9±10.8	47.0±22.0	53.7±36.1
t-PA	6.1±5.7	6.1±4.9	5.0±3.2

⁺ Grup 1 ile Grup 2 p < 0,001;

* Grup 2 ile kontrol p < 0,05; [‡] Grup 2 ile kontrol p < 0,001; [§] Grup 2 ile kontrol p = 0,001.

** Grup 1 ile kontrol p = 0,001; ^β Grup 1 ile kontrol p = 0,006.

Kardiyovasküler risk faktörlerinin hemostatik faktörler üzerine olan etkilerini kaldırmak amacıyla olgu ve kontrol grubundaki obezitesi, hipertansiyonu, hiperlipidemisi ve bozulmuş glukoz toleransı olan bayanlar dışlanarak her iki grubun demografik ve laboratuvar verileri karşılaştırıldı (Tablo 12). Kardiyovasküler risk faktörü olmayan GDM öyküsü olan bayanlarda bel, kalça ve bel kalça oranı kontrol grubuna göre istatistiksel anlamlı farklılık saptandı. Ayrıca kardiyovasküler risk faktörü olmayan GDM öyküsü olan bayanlarda QUICKI, AKŞ, TKŞ, WBC, CRP, fibrinojen ve PAI-1 kontrol grubuna göre istatistiksel anlamlı farklılık saptandı.

Tablo 12: Kardiyovasküler risk faktörü olmayan GDM öyküsü olan bayanlarla kardiyovasküler risk faktörü olmayan kontrollerin karşılaştırılması

	Kontrol (n=40)	Olgu (n=33)	p
Yaş	33,7 ± 4,4	33,1 ± 4,9	0,545
VKI	22,7 ± 2,6	23,6 ± 2,9	0,194
Bel	72,5 ± 8,0	79,8 ± 8,5	<0.001
Kalça	92,1 ± 7,7	96,1 ± 8,8	0,044
Bel/kalça oranı	0,78 ± 0,05	0,83 ± 0,006	0,001
Yağ %	26,9 ± 6,3	28,9 ± 5,8	0,175
Yağ kütlesi	16,5 ± 5,6	18,2 ± 6,0	0,205
İnsulin	7,0 ± 4,0	9,4± 7,7	0,106
C-Peptid	1,6 ± 0,6	1,8 ± 1,2	0,385
HOMA-IR	1,4 ± 0,8	2,0 ± 1,9	0,061
QUICKI	0,38 ± 0,04	0,35 ± 0,03	0,017
WBC	6,1 ± 1,2	7,8 ± 2,7	<0.001
CRP	1,2 ± 1,3	4,5 ± 7,2	0,006
AKŞ	78,1 ± 9,1	82,7 ± 8,0	0,025
TKŞ	82,6 ± 14,8	97,0 ± 21,6	<0.001
Total Kolesterol	169,2 ± 27,9	177,1 ± 29,8	0,247
Trigliserid	79,9 ± 29,5	83,0 ± 30,0	0,664
HDL	66,1 ± 17,0	65,5 ± 17,4	0,880
LDL	90,0 ± 23,7	95,0 ± 28,1	0,416
Fibrinojen	3,4 ± 0,7	3,9 ± 1,1	0,021
D-Dimer	213,05± 89,7	234,9 ± 123,7	0,399
vWF	96,6 ± 35,6	104,5 ± 36,8	0,361
PAI-1	28,5 ± 13,8	38,6 ± 20,2	0,015
TF	93,9 ± 54,5	123,6 ± 75,6	0,057
Total TFPI	39,9 ± 10,8	43,0 ± 13,5	0,268
t-PA	6,3 ± 5,8	6,6 ± 5,4	0,868

Kardiyovasküler risk faktörleri taşımayan GDM öyküsü olan bayanlardaki inflamasyonun göstergesi olan CRP yüksekliği ile ilişkili değişkenlerin kolerasyonunu göstermek için pearson korelasyon analizi yapıldı. CRP ile VKI (p:0,003, r: 0,348), bel (p:0,001, r: 0,406), kalça (p:0,003, r: 0,341), yağ kütlesi (p:0,047, r: 0,222), fibrinojen (p<0,001, r: 0,624) ve PAI-1 (p:0,004, r: 0,337) arasında anlamlı korelasyon saptandı. Daha sonra CRP için lineer regresyon analizi yapıldı ve CRP değişkenini etkileyen en önemli faktörlerin fibrinojen ve PAI-1 olduğu saptandı (Tablo 13).

Tablo 13: CRP yüksekliğini için lineer regresyon analizi

Faktörler	r	p
VKI	0,286	0,117
Bel	0,065	0,683
Kalça	0,160	0,367
Yağ kütlesi	-0,328	0,082
Fibrinojen	0,519	<0,001
PAI-1	0,190	0,044

7. TARTIŞMA

Biz bu çalışmamızda öyküsünde GDM olan bayanlarda subklinik inflamasyonu ve endotel disfonksiyonu ile ilişkisi gösterilmiş olan endotel bağımlı hemostatik faktörleri değerlendirdik. Gebeliğinde GDM öyküsü olan bayanların yüksek oranda DM gelişme riski birçok çalışma ile gösterilmiştir (35-37). Bu bayanlar tip 2 diyabetin gelişimindeki patofizyolojik mekanizmaları değerlendirmek için iyi birer örnektirler. Öyküsünde GDM olan bayanlardaki hiperlipidemi, obezite, bozulmuş glukoz toleransı, protrombotik ve inflamatuvar süreç DM riskini artırmaktadır. Biz de çalışmamızda GDM öyküsü olan bayanlarda inflamasyonun göstergesi olan CRP, WBC ve endotel bağımlı hemostatik faktörlerden fibrinojen, PAI-1, TFPI, TF sağlıklı bayanlara göre yüksek olduğunu saptadık.

Çalışmamızda öyküsünde GDM olan bayanlarda metabolik sendromun komponentlerini oluşturan obezite, hiperlipidemi, hipertansiyon, bozulmuş glukoz toleransı ve insülin rezistansı saptadık. Daha önceki çalışmalar ile benzer olarak nondiyabetik GDM öyküsü olan bayanlarda postpartum 3,2 yıl sonra yaş ve postpartum süresi benzer kontrollerle karşılaştırıldığında açlık ve tokluk glukozu, insülin, total kolesterol, trigliserid, LDL yüksekliği saptadık. Ayrıca çalışmamızda öyküsünde GDM olan bayanlarda insülin rezistansı ve düşük insülin sensitivitesi saptadık. Benzer bulgular birçok çalışma ile gösterilmiştir (39, 40, 101). Meyers-Seifer ve ark'ları öyküsünde GDM olan bayanlarda total kolesterol, trigliserid, LDL yüksekliği saptamışlar ve bu metabolik değişikliklerin insülin rezistansı ile ilişkili olduğunu göstermişlerdir (40). Carr ve arkadaşları öyküsünde GDM olan 332 bayan ve GDM öyküsü olmayan 663 bayanı kardiyovasküler hastalıklar yönünden karşılaştırmış ve GDM öyküsü olan bayanlarda kardiyovasküler olay prevalansının arttığını saptamışlardır (102). Bu risk artışının GDM öyküsü olan bayanlardaki obezite, hiperlipidemi, insülin rezistansı ve hipertansiyon ile ilişkili olduğunu göstermişlerdir (102). Çalışmamızda literatür ile uyumlu olarak GDM öyküsü olan bayanlarda metabolik sendromun komponentleri mevcuttu ve tüm bu risk faktörleri öyküsünde GDM olan bayanlardaki artmış tip 2 diyabet ve KVH riski ile ilişkilidir.

DM, obezite, metabolik sendrom gibi insülin rezistansı ile birlikte seyreden hastalıklarda endotel bağımlı hemostatik faktörlerde değişiklikler gösterilmiştir.

Çalışmamızda endotel bağımlı hemostatik faktörlerden PAI-1, TFPI, TF GDM öyküsü olan bayanlarda kontrollere göre yüksek saptadık. Bu faktörler endotel disfonksiyonun göstergesidir ve endotel hasarının tip 2 diyabet gelişiminden çok önce başladığını göstermektedir (8, 95, 103). Obezitenin hemostatik faktörler üzerine olan etkileri bilinmektedir, bu nedenle GDM öyküsü olan bayanlardaki risk faktörlerini VKI'ne göre düzenlediğimizde HOMA-IR, WBC, PAI-1 ve total TFPI'nın VKI'den bağımsız risk faktörleri olduğunu saptadık. Bu bulgularımız daha önceki çalışmalar ile uyumludur. Framingham Offspring Çalışmasında PAI-1 seviyeleri diyabet gelişiminde obezite, HOMA-IR, bozulmuş GT ve trigliserid seviyelerinden bağımsız risk faktörü olarak bulunmuştur (104). Yine benzer şekilde Natali ve ark. obeziteden ve glisemik kontrolden bağımsız olarak insülin rezistansı, endotel disfonksiyonu, bozulmuş fibrinoliz ve düşük dereceli infilamasyonun Tip 2 DM gelişiminde önemli risk faktörü olduğunu bulmuşlardır (105). GDM öyküsü olan bayanlarda fibrinolitik sistemdeki değişiklikler ve diyabet gelişimindeki rolü sadece Farhan ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada değerlendirilmiştir (98). Bu çalışmada gebelikten 3 ay sonra öyküsünde GDM ve insülin rezistansı olan bayanlarda PAI-1 yüksekliği saptamışlardır. Bizim çalışmamızda ise öyküsünde GDM olan hastalar gebelikten ortalama 3,2 yıl sonra değerlendirilmiştir ve Farhan ve ark yaptığı çalışmayla benzer olarak PAI-1 aktivitesi ile birlikte fibrinojen, TFPI, TF kontrollere göre yüksek bulunmuştur. Bu bulgular bize GDM tanısı alan bayanlarda endotel disfonksiyonun göstergesi olan endotel bağımlı hemostatik faktörlerin diyabet gelişmeden yıllar önce, indeks gebelikten itibaren yükseldiğini göstermektedir.

TFPI aktivitesinin endotel fonksiyonlarıyla olan ilişkisi daha önce bozulmuş glukoz toleransı olanlarda ve diyabetiklerde çalışılmasına rağmen ilk kez çalışmamızda GDM öyküsü olan bayanlarda çalışılmıştır. Çalışmamızda TFPI aktivitesinin öyküsünde GDM olan bayanlarda yüksek olduğu saptandı. TFPI aktivitesi, büyük çoğunluğu endotelden üretildiği ve endotele yapıştığı için endotel fonksiyonları yansıtmaktadır (86). Diyabetik hastalarda glikolize hemoglobin düzeyleri ve endotel disfonksiyonunun göstergesi olan üriner albumin atılımı ile TFPI aktivitesi arasında pozitif kolerasyon saptanmıştır (64, 65). Çalışmamızda TFPI aktivitesi öyküsünde GDM olan bayanlardaki endotel bağımlı hemostatik faktörler içinde PAI-1 ile birlikte en önemli risk faktörü olarak öne çıkmaktadır. Çalışmamıza benzer şekilde

Sakinen ve ark subklinik kardiyovasküler hastalıklarda endotel hasarının en iyi göstergesi TFPI'nin olduğunu saptamışlardır (103), biz de çalışmamızda prediyabetik dönem için en iyi gösterge olan öyküsünde GDM olan bayanlarda plazma TFPI ve PAI-1'in en önemli risk faktörü olduğunu saptadık.

Bozulmuş glukoz toleransı olan ve olmayan GDM öyküsü olan bayanların endotel bağımlı hemostatik faktörleri değerlendirildiğinde vWF, t-PA, PAI-1, TF ve total TFPI düzeyleri gruplar arasında farklı olmasına rağmen istatistiksel anlamlılık saptanmadı. Farhan ve ark PAI-1 düzeylerini benzer şekilde farklı olmadığını bulmuşlardır. Bu bulgularımızın birkaç nedeni olabilir. Endotel bağımlı hemostatik faktörler subklinik inflamasyon, obezite, hiperlipidemi ve insulin rezistansı ile ilişkilidir. Çalışmamızda bu iki grup arasında, HOMA-IR, total kolesterol, LDL- kolesterol, HDL- kolesterol, WBC ve CRP'de farklılık saptanmadığı için bu iki grup arasında endotel bağımlı hemostatik faktörler anlamlı farklı saptanmadı. Diğer bir neden ise bozulmuş glukoz toleransı olan bayanların sayısının yetersiz olmasıdır. Olgu sayısının artması ile birlikte bu faktörlerdeki anlamlı olmayan yükseklik anlamlı hale gelebilir. Diğer bir neden ise hemostatik parametrelerdeki değişikliğin glukoz metabolizmasından bağımsız oluşuna bağlı olabilir.

Çalışmamızın alt grubu olarak değerlendirdiğimiz hiçbir kardiyovasküler risk faktörü (obezite, hipertansiyon, hiperlipidemi ve bozulmuş glukoz toleransı) olmayan öyküsünde GDM olan bayanları yine benzer şekilde kardiyovasküler risk faktörü taşımayan kontroller ile karşılaştırdığımızda GDM öyküsü olan bayanların bel ve kalça çevrelerinin anlamlı şekilde yüksek olduğunu saptadık. Ayrıca bu iki grup arasında normal sınırlarda olmasına rağmen açlık ve tokluk kan şekeri ve insülin sensitivitesinin göstergesi olan QUICKI farklı saptandı. Bu bulgumuz öyküsünde GDM olan bayanların glukoz metabolizmalarının normal olmasına rağmen insülin rezistanslarının olduğunu gösteren çalışmalara benzerdir (106-108). Ayrıca subklinik inflamasyonun göstergeleri olan CRP ve WBC ve endotel bağımlı hemostatik faktörlerden PAI-1 ve fibrinojen kontrollere göre yüksek saptandı. Bu bulgular bize kardiyovasküler risk faktörlerinden bağımsız olarak öyküde sadece GDM olan bayanlarda klinik olarak sağlıklı olmalarına rağmen insülin sensitivitesinin azaldığını, subklinik inflamasyonun devam ettiğini ve hemostatik faktörlerdeki değişikliğin diyabet gelişiminden çok önce başladığını göstermektedir.

İnflamasyonun aterogenezdeki rolü artık iyi bilinmektedir. Sistemik inflamasyonun göstergesi olan CRP'nin diyabet riski, miyokard infaktüsü, inme ve periferik arter hastalığı ile ilişkisi gösterilmiştir (109, 110). Öyküsünde GDM olan bayanlarda CRP yüksekliği, bel-kalça oranı, insülin, HOMA-IR ve fibrinojen düzeyi ile ilişkili gösterilmiştir (111-113). Çalışmamızda da GDM öyküsü olan bayanlarda kontrollere göre CRP ve subklinik inflamasyonun diğer bir göstergesi olan WBC yüksekliği saptadık. CRP ve kardiyovasküler risk faktörleri arasındaki ilişki iyi bilinmektedir (109, 114). Biz bu nedenle kardiyovasküler risk faktörleri olmayan sadece GDM öyküsü bulunan bayanlarda CRP düzeyi ve bunu etkileyen faktörleri değerlendirdik. Benedetto ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmanın bulgularına benzer şekilde CRP, bel, kalça çevresi, yağ kütlesi, yağ yüzdesi, fibrinojen ve PAI-I ile ilişkili saptandı (111). Bu faktörlerden fibrinojen ve PAI-1 CRP yüksekliği için bağımsız risk faktörü olarak bulundu. Bu bulgu prediyabetik dönemde olan sağlıklı bayanlardaki endotel disfonksiyonu ile fibrinolitik disfonksiyon ve subklinik inflamasyon arasındaki güçlü ilişkiyi göstermektedir. Daha önceki çalışmalarda fibrinolitik disfonksiyon ve subklinik inflamasyon arasındaki ilişki gösterilmesine rağmen bu ilişki ilk kez GDM öyküsü olan bayanlarda gösterilmiştir.

Subklinik inflamasyonun diğer bir göstergesi olan WBC ile insulin rezistansı ve diyabet arasındaki ilişki bilinmektedir. Kronik düşük dereceli immun sistem aktivasyonunun tip 2 diyabet patogenezinde önemli bir yeri vardır (115). Vozarova ve arkadaşları normal glukoz toleranslı Pima Hintli'lerinde yüksek WBC' in tip 2 diyabet gelişimini predikte ettiğini ve WBC yüksekliği ile insulin sensitivitesi arasında kolerasyon olduğunu göstermişlerdir (115). Altta yatan patofizyolojik mekanizma tam bilinmemekle birlikte muhtemelen adipoz dokudan salınan ve insulin rezistansı ile ilişkisi bilinen IL-6'nın WBC sayısını artırması ve aktive etmesine bağlıdır (116). Biz de çalışmamızda öyküsünde GDM'si olan bayanlarda WBC yüksekliği saptadık. Ayrıca hiçbir kardiyovasküler risk faktörü taşımayan ve sadece GDM öyküsü olan bayanlarda da WBC yüksekliği saptadık. Prediyabetik dönemde olan bu bayanlarda glukoz metabolizmasından, obeziteden, hiperlipidemiden ve hipertansiyondan bağımsız subklinik inflamasyonun devam ettiğini göstermektedir. Bu bulgumuz kronik immun sistemin aktivasyonunun tip 2 diyabet patogenezinde rolü olduğu hipotezini desteklemektedir.

GDM öyküsü olan ve diyabet gelişimi için yüksek risk altında bulunan bu sağlıklı bayanlardaki ilk saptanabilen bozukluk inflamasyon göstergeleri ve hemostatik faktörlerdeki değişikliklerdir. Hemostatik faktörlerin ve inflamasyon göstergelerinin GDM öyküsü olan bayanlardaki endotel disfonksiyonunun göstergesi ve diyabet gelişimi için risk değerlendirilmesinde kullanılabilmesi için daha geniş prospektif çalışmalar gerekmektedir.

8. KAYNAKLAR

1. Magee MS, Walden CE, Benedetti TJ, Knopp RH. Influence of diagnostic criteria on the incidence of gestational diabetes and perinatal morbidity. *Jama* 1993;269(5):609-15.
2. Peters RK, Kjos SL, Xiang A, Buchanan TA. Long-term diabetogenic effect of single pregnancy in women with previous gestational diabetes mellitus. *Lancet* 1996;347(8996):227-30.
3. Anastasiou E, Lekakis JP, Alevizaki M, et al. Impaired endothelium-dependent vasodilatation in women with previous gestational diabetes. *Diabetes Care* 1998;21(12):2111-5.
4. Hannemann MM, Liddell WG, Shore AC, Clark PM, Tooke JE. Vascular function in women with previous gestational diabetes mellitus. *J Vasc Res* 2002;39(4):311-9.
5. Bajaj MS, Birktoft JJ, Steer SA, Bajaj SP. Structure and biology of tissue factor pathway inhibitor. *Thromb Haemost* 2001;86:959-72.
6. Leurs PB, van Oerle R, Hamulyak K, Wolffenbuttel BH. Tissue factor pathway inhibitor activity in patients with IDDM. *Diabetes* 1995;44(1):80-4.
7. Herman MP, Sukhova GK, Kisiel W, et al. Tissue factor pathway inhibitor-2 is a novel inhibitor of matrix metalloproteinases with implications for atherosclerosis. *J Clin Invest* 2001;107(9):1117-26.
8. Sakata T, Mannami T, Baba S, et al. Potential of free-form TFPI and PAI-1 to be useful markers of early atherosclerosis in a Japanese general population (the Suita Study): association with the intimal-medial thickness of carotid arteries. *Atherosclerosis* 2004;176(2):355-60.
9. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care* 2006;29 Suppl 1:S43-8.
10. Gestational diabetes mellitus. *Diabetes Care* 2004;27 Suppl 1:S88-90.
11. ACOG Practice Bulletin. Clinical management guidelines for obstetrician-gynecologists. Number 30, September 2001 (replaces Technical Bulletin Number 200, December 1994). Gestational diabetes. *Obstet Gynecol* 2001;98(3):525-38.

12. Nahum GG, Huffaker BJ. Racial differences in oral glucose screening test results: establishing race-specific criteria for abnormality in pregnancy. *Obstet Gynecol* 1993;81(4):517-22.
13. Hanna FW, Peters JR. Screening for gestational diabetes; past, present and future. *Diabet Med* 2002;19(5):351-8.
14. Classification and diagnosis of diabetes mellitus and other categories of glucose intolerance. National Diabetes Data Group. *Diabetes* 1979;28(12):1039-57.
15. O'Sullivan JB, Mahan CM. Criteria for the Oral Glucose Tolerance Test in Pregnancy. *Diabetes* 1964;13:278-85.
16. Ben-Haroush A, Yogev Y, Hod M. Epidemiology of gestational diabetes mellitus and its association with Type 2 diabetes. *Diabet Med* 2004;21(2):103-13.
17. Catalano PM, Tyzbir ED, Roman NM, Amini SB, Sims EA. Longitudinal changes in insulin release and insulin resistance in nonobese pregnant women. *Am J Obstet Gynecol* 1991;165(6 Pt 1):1667-72.
18. Catalano PM, Huston L, Amini SB, Kalhan SC. Longitudinal changes in glucose metabolism during pregnancy in obese women with normal glucose tolerance and gestational diabetes mellitus. *Am J Obstet Gynecol* 1999;180(4):903-16.
19. Sivan E, Chen X, Homko CJ, Reece EA, Boden G. Longitudinal study of carbohydrate metabolism in healthy obese pregnant women. *Diabetes Care* 1997;20(9):1470-5.
20. Buchanan TA, Metzger BE, Freinkel N, Bergman RN. Insulin sensitivity and B-cell responsiveness to glucose during late pregnancy in lean and moderately obese women with normal glucose tolerance or mild gestational diabetes. *Am J Obstet Gynecol* 1990;162(4):1008-14.
21. Buchanan TA, Xiang AH. Gestational diabetes mellitus. *J Clin Invest* 2005;115(3):485-91.
22. Yamashita H, Shao J, Friedman JE. Physiologic and molecular alterations in carbohydrate metabolism during pregnancy and gestational diabetes mellitus. *Clin Obstet Gynecol* 2000;43(1):87-98.

23. Costrini NV, Kalkhoff RK. Relative effects of pregnancy, estradiol, and progesterone on plasma insulin and pancreatic islet insulin secretion. *J Clin Invest* 1971;50(5):992-9.
24. Ryan EA, Enns L. Role of gestational hormones in the induction of insulin resistance. *J Clin Endocrinol Metab* 1988;67(2):341-7.
25. Kalkhoff RK, Jacobson M, Lemper D. Progesterone, pregnancy and the augmented plasma insulin response. *J Clin Endocrinol Metab* 1970;31(1):24-8.
26. Nelson T, Shulman G, Grainger D, Diamond MP. Progesterone administration induced impairment of insulin suppression of hepatic glucose production. *Fertil Steril* 1994;62(3):491-6.
27. Andersen O, Kuhl C. Adipocyte insulin receptor binding and lipogenesis at term in normal pregnancy. *Eur J Clin Invest* 1988;18(6):575-81.
28. Hjollund E, Pedersen O, Espersen T, Klebe JG. Impaired insulin receptor binding and postbinding defects of adipocytes from normal and diabetic pregnant women. *Diabetes* 1986;35(5):598-603.
29. Handwerger S, Freemark M. The roles of placental growth hormone and placental lactogen in the regulation of human fetal growth and development. *J Pediatr Endocrinol Metab* 2000;13(4):343-56.
30. Friedman JE, Ishizuka T, Shao J, Huston L, Highman T, Catalano P. Impaired glucose transport and insulin receptor tyrosine phosphorylation in skeletal muscle from obese women with gestational diabetes. *Diabetes* 1999;48(9):1807-14.
31. Garvey WT, Maianu L, Zhu JH, Hancock JA, Golichowski AM. Multiple defects in the adipocyte glucose transport system cause cellular insulin resistance in gestational diabetes. Heterogeneity in the number and a novel abnormality in subcellular localization of GLUT4 glucose transporters. *Diabetes* 1993;42(12):1773-85.
32. MacNeill S, Dodds L, Hamilton DC, Armson BA, VandenHof M. Rates and risk factors for recurrence of gestational diabetes. *Diabetes Care* 2001;24(4):659-62.
33. Major CA, deVeciana M, Weeks J, Morgan MA. Recurrence of gestational diabetes: who is at risk? *Am J Obstet Gynecol* 1998;179(4):1038-42.
34. Spong CY, Guillermo L, Kuboshige J, Cabalum T. Recurrence of gestational diabetes mellitus: identification of risk factors. *Am J Perinatol* 1998;15(1):29-33.

35. Mestman JH, Anderson GV, Guadalupe V. Follow-up study of 360 subjects with abnormal carbohydrate metabolism during pregnancy. *Obstet Gynecol* 1972;39(3):421-5.
36. Coustan DR, Carpenter MW, O'Sullivan PS, Carr SR. Gestational diabetes: predictors of subsequent disordered glucose metabolism. *Am J Obstet Gynecol* 1993;168(4):1139-44; discussion 44-5.
37. Coustan DR. Maternal insulin to lower the risk of fetal macrosomia in diabetic pregnancy. *Clin Obstet Gynecol* 1991;34(2):288-95.
38. Greenberg LR, Moore TR, Murphy H. Gestational diabetes mellitus: antenatal variables as predictors of postpartum glucose intolerance. *Obstet Gynecol* 1995;86(1):97-101.
39. Clark CM, Jr., Qiu C, Amerman B, et al. Gestational diabetes: should it be added to the syndrome of insulin resistance? *Diabetes Care* 1997;20(5):867-71.
40. Meyers-Seifer CH, Vohr BR. Lipid levels in former gestational diabetic mothers. *Diabetes Care* 1996;19(12):1351-6.
41. Dornhorst A, Bailey PC, Anyaoku V, Elkeles RS, Johnston DG, Beard RW. Abnormalities of glucose tolerance following gestational diabetes. *Q J Med* 1990;77(284):1219-28.
42. DeFronzo RA, Ferrannini E, Koivisto V. New concepts in the pathogenesis and treatment of noninsulin-dependent diabetes mellitus. *Am J Med* 1983;74(1A):52-81.
43. Fishman AP. Endothelium: a distributed organ of diverse capabilities. *Ann N Y Acad Sci* 1982;401:1-8.
44. Esmon CT. Thrombomodulin as a model of molecular mechanisms that modulate protease specificity and function at the vessel surface. *Faseb J* 1995;9(10):946-55.
45. Bombeli T, Mueller M, Haeberli A. Anticoagulant properties of the vascular endothelium. *Thromb Haemost* 1997;77(3):408-23.
46. Wu KK, Thiagarajan P. Role of endothelium in thrombosis and hemostasis. *Annu Rev Med* 1996;47:315-31.
47. Radomski MW, Palmer RM, Moncada S. The anti-aggregating properties of vascular endothelium: interactions between prostacyclin and nitric oxide. *Br J Pharmacol* 1987;92(3):639-46.

48. Hoffman R, Benz E, Sanford S. Hematology Basic Principles and Practice. Third edition ed: Churchill Livingstone; 2000.
49. Thiruvikraman SV, Guha A, Roboz J, Taubman MB, Nemerson Y, Fallon JT. In situ localization of tissue factor in human atherosclerotic plaques by binding of digoxigenin-labeled factors VIIa and X. *Lab Invest* 1996;75(4):451-61.
50. Rapaport SI. Inhibition of factor VIIa/tissue factor-induced blood coagulation: with particular emphasis upon a factor Xa-dependent inhibitory mechanism. *Blood* 1989;73(2):359-65.
51. Lawson JH, Butenas S, Ribarik N, Mann KG. Complex-dependent inhibition of factor VIIa by antithrombin III and heparin. *J Biol Chem* 1993;268(2):767-70.
52. Sanders NL, Bajaj SP, Zivelin A, Rapaport SI. Inhibition of tissue factor/factor VIIa activity in plasma requires factor X and an additional plasma component. *Blood* 1985;66(1):204-12.
53. Rapaport SI. The extrinsic pathway inhibitor: a regulator of tissue factor-dependent blood coagulation. *Thromb Haemost* 1991;66(1):6-15.
54. Wun TC, Kretzmer KK, Girard TJ, Miletich JP, Broze GJ, Jr. Cloning and characterization of a cDNA coding for the lipoprotein-associated coagulation inhibitor shows that it consists of three tandem Kunitz-type inhibitory domains. *J Biol Chem* 1988;263(13):6001-4.
55. Baugh RJ, Broze GJ, Jr., Krishnaswamy S. Regulation of extrinsic pathway factor Xa formation by tissue factor pathway inhibitor. *J Biol Chem* 1998;273(8):4378-86.
56. Girard TJ, Warren LA, Novotny WF, et al. Functional significance of the Kunitz-type inhibitory domains of lipoprotein-associated coagulation inhibitor. *Nature* 1989;338(6215):518-20.
57. Bajaj MS, Kuppuswamy MN, Saito H, Spitzer SG, Bajaj SP. Cultured normal human hepatocytes do not synthesize lipoprotein-associated coagulation inhibitor: evidence that endothelium is the principal site of its synthesis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1990;87(22):8869-73.
58. Werling RW, Zacharski LR, Kisiel W, Bajaj SP, Memoli VA, Rousseau SM. Distribution of tissue factor pathway inhibitor in normal and malignant human tissues. *Thromb Haemost* 1993;69(4):366-9.

59. Bajaj MS, Kuppuswamy MN, Manepalli AN, Bajaj SP. Transcriptional expression of tissue factor pathway inhibitor, thrombomodulin and von Willebrand factor in normal human tissues. *Thromb Haemost* 1999;82(3):1047-52.
60. Bajaj MS, Pendurthi U, Koenig K, Pueblitz S, Idell S. Tissue factor pathway inhibitor expression by human pleural mesothelial and mesothelioma cells. *Eur Respir J* 2000;15(6):1069-78.
61. Yamabe H, Osawa H, Inuma H, et al. Tissue factor pathway inhibitor production by human mesangial cells in culture. *Thromb Haemost* 1996;76(2):215-9.
62. Osterud B, Bajaj MS, Bajaj SP. Sites of tissue factor pathway inhibitor (TFPI) and tissue factor expression under physiologic and pathologic conditions. On behalf of the Subcommittee on Tissue factor Pathway Inhibitor (TFPI) of the Scientific and Standardization Committee of the ISTH. *Thromb Haemost* 1995;73(5):873-5.
63. Ameri A, Kuppuswamy MN, Basu S, Bajaj SP. Expression of tissue factor pathway inhibitor by cultured endothelial cells in response to inflammatory mediators. *Blood* 1992;79(12):3219-26.
64. Grabowski EF, Reininger AJ, Petteruti PG, Tsukurov O, Orkin RW. Shear stress decreases endothelial cell tissue factor activity by augmenting secretion of tissue factor pathway inhibitor. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2001;21(1):157-62.
65. Lupu C, Lupu F, Dennehy U, Kakkar VV, Scully MF. Thrombin induces the redistribution and acute release of tissue factor pathway inhibitor from specific granules within human endothelial cells in culture. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1995;15(11):2055-62.
66. Kopp CW, Robson SC, Siegel JB, et al. Regulation of monocyte tissue factor activity by allogeneic and xenogeneic endothelial cells. *Thromb Haemost* 1998;79(3):529-38.
67. McGee MP, Foster S, Wang X. Simultaneous expression of tissue factor and tissue factor pathway inhibitor by human monocytes. A potential mechanism for localized control of blood coagulation. *J Exp Med* 1994;179(6):1847-54.
68. Pendurthi UR, Rao LV, Williams JT, Idell S. Regulation of tissue factor pathway inhibitor expression in smooth muscle cells. *Blood* 1999;94(2):579-86.
69. Broze GJ, Jr., Lange GW, Duffin KL, MacPhail L. Heterogeneity of plasma tissue factor pathway inhibitor. *Blood Coagul Fibrinolysis* 1994;5(4):551-9.

70. Girard TJ, Warren LA, Novotny WF, Bejcek BE, Miletich JP, Broze GJ, Jr. Identification of the 1.4 kb and 4.0 kb messages for the lipoprotein associated coagulation inhibitor and expression of the encoded protein. *Thromb Res* 1989;55(1):37-50.
71. van der Logt CP, Reitsma PH, Bertina RM. Intron-exon organization of the human gene coding for the lipoprotein-associated coagulation inhibitor: the factor Xa dependent inhibitor of the extrinsic pathway of coagulation. *Biochemistry* 1991;30(6):1571-7.
72. Kobayashi Y, Yoshimura N, Nakamura K, Yamagishi H, Oka T. Expression of tissue factor in hepatic ischemic-reperfusion injury of the rat. *Transplantation* 1998;66(6):708-16.
73. Van Dreden P, Grosley M, Cost H. Total and free levels of tissue factor pathway inhibitor: a risk factor in patients with factor V Leiden? *Blood Coagul Fibrinolysis* 1999;10(2):115-6.
74. Shimura M, Wada H, Nakasaki T, et al. Increased truncated form of plasma tissue factor pathway inhibitor levels in patients with disseminated intravascular coagulation. *Am J Hematol* 1999;60(2):94-8.
75. Iversen N, Strekerud FG, Abildgaard U. Tissue factor pathway inhibitor (TFPI) in disseminated intravascular coagulation: low levels of the activated factor X-TFPI complex. *Blood Coagul Fibrinolysis* 2000;11(7):591-8.
76. Iversen N, Lindahl AK, Abildgaard U. Elevated TFPI in malignant disease: relation to cancer type and hypercoagulation. *Br J Haematol* 1998;102(4):889-95.
77. Inoue A, Wada H, Takagi M, et al. Hemostatic abnormalities in patients with thrombotic complications on maintenance hemodialysis. *Clin Appl Thromb Hemost* 2000;6(2):100-3.
78. Yokoyama H, Myrup B, Rossing P, Ostergaard PB. Increased tissue factor pathway inhibitor activity in IDDM patients with nephropathy. *Diabetes Care* 1996;19(5):441-5.
79. Ariens RA, Moia M, Rivolta E, Ponticelli C, Mannucci PM. High levels of tissue factor pathway inhibitor in patients with nephrotic proteinuria. *Thromb Haemost* 1999;82(3):1020-3.

80. Ozcan MA, Comlekci A, Demirkan F, et al. Plasma levels of free tissue factor pathway inhibitor in patients with various thyroid disorders. *Thromb Res* 2003;110(4):243-7.
81. Kario K, Matsuo T, Kobayashi H, Matsuo M, Sakata T, Miyata T. Activation of tissue factor-induced coagulation and endothelial cell dysfunction in non-insulin-dependent diabetic patients with microalbuminuria. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1995;15(8):1114-20.
82. Ott I. Tissue factor in acute coronary syndromes. *Semin Vasc Med* 2003;3(2):185-92.
83. Golino P, Ravera A, Ragni M, Cirillo P, Piro O, Chiariello M. Involvement of tissue factor pathway inhibitor in the coronary circulation of patients with acute coronary syndromes. *Circulation* 2003;108(23):2864-9.
84. Haverkate F. Levels of haemostatic factors, arteriosclerosis and cardiovascular disease. *Vascul Pharmacol* 2002;39(3):109-12.
85. Meade TW, Mellows S, Brozovic M, et al. Haemostatic function and ischaemic heart disease: principal results of the Northwick Park Heart Study. *Lancet* 1986;2(8506):533-7.
86. Meade TW, Ruddock V, Stirling Y, Chakrabarti R, Miller GJ. Fibrinolytic activity, clotting factors, and long-term incidence of ischaemic heart disease in the Northwick Park Heart Study. *Lancet* 1993;342(8879):1076-9.
87. Folsom AR, Wu KK, Rosamond WD, Sharrett AR, Chambless LE. Prospective study of hemostatic factors and incidence of coronary heart disease: the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study. *Circulation* 1997;96(4):1102-8.
88. Scarabin PY, Aillaud MF, Amouyel P, et al. Associations of fibrinogen, factor VII and PAI-1 with baseline findings among 10,500 male participants in a prospective study of myocardial infarction--the PRIME Study. *Prospective Epidemiological Study of Myocardial Infarction. Thromb Haemost* 1998;80(5):749-56.
89. Thogersen AM, Jansson JH, Boman K, et al. High plasminogen activator inhibitor and tissue plasminogen activator levels in plasma precede a first acute myocardial infarction in both men and women: evidence for the fibrinolytic system as an independent primary risk factor. *Circulation* 1998;98(21):2241-7.

90. Bavenholm P, de Faire U, Landou C, et al. Progression of coronary artery disease in young male post-infarction patients is linked to disturbances of carbohydrate and lipoprotein metabolism and to impaired fibrinolytic function. *Eur Heart J* 1998;19(3):402-10.
91. de Jong SC, Stehouwer CD, van den Berg M, Vischer UM, Rauwerda JA, Emeis JJ. Endothelial marker proteins in hyperhomocysteinemia. *Thromb Haemost* 1997;78(5):1332-7.
92. Bounameaux H, Kruithof EK. On the association of elevated tPA/PAI-1 complex and von Willebrand factor with recurrent myocardial infarction. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000;20(8):1857-9.
93. Sakkinen PA, Wahl P, Cushman M, Lewis MR, Tracy RP. Clustering of procoagulation, inflammation, and fibrinolysis variables with metabolic factors in insulin resistance syndrome. *Am J Epidemiol* 2000;152(10):897-907.
94. Haverkate F, Thompson SG, Duckert F. Haemostasis factors in angina pectoris; relation to gender, age and acute-phase reaction. Results of the ECAT Angina Pectoris Study Group. *Thromb Haemost* 1995;73(4):561-7.
95. Leurs PB, Stolk RP, Hamulyak K, Van Oerle R, Grobbee DE, Wolffenbuttel BH. Tissue factor pathway inhibitor and other endothelium-dependent hemostatic factors in elderly individuals with normal or impaired glucose tolerance and type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2002;25(8):1340-5.
96. Collier A, Rumley A, Rumley AG, et al. Free radical activity and hemostatic factors in NIDDM patients with and without microalbuminuria. *Diabetes* 1992;41(8):909-13.
97. Lee AJ, MacGregor AS, Hau CM, et al. The role of haematological factors in diabetic peripheral arterial disease: the Edinburgh artery study. *Br J Haematol* 1999;105(3):648-54.
98. Farhan S, Winzer C, Tura A, et al. Fibrinolytic dysfunction in insulin-resistant women with previous gestational diabetes. *Eur J Clin Invest* 2006;36(5):345-52.
99. Winzer C, Wagner O, Festa A, et al. Plasma adiponectin, insulin sensitivity, and subclinical inflammation in women with prior gestational diabetes mellitus. *Diabetes Care* 2004;27(7):1721-7.

100. Lindahl AK, Sandset PM, Abildgaard U. The present status of tissue factor pathway inhibitor. *Blood Coagul Fibrinolysis* 1992;3(4):439-49.
101. Pallardo F, Herranz L, Garcia-Ingelmo T, et al. Early postpartum metabolic assessment in women with prior gestational diabetes. *Diabetes Care* 1999;22(7):1053-8.
102. Carr DB, Utzschneider KM, Hull RL, et al. Gestational diabetes mellitus increases the risk of cardiovascular disease in women with a family history of type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2006;29(9):2078-83.
103. Sakkinen PA, Cushman M, Psaty BM, et al. Correlates of antithrombin, protein C, protein S, and TFPI in a healthy elderly cohort. *Thromb Haemost* 1998;80(1):134-9.
104. Meigs JB, O'Donnell C J, Tofler GH, et al. Hemostatic markers of endothelial dysfunction and risk of incident type 2 diabetes: the Framingham Offspring Study. *Diabetes* 2006;55(2):530-7.
105. Natali A, Toschi E, Baldeweg S, et al. Clustering of insulin resistance with vascular dysfunction and low-grade inflammation in type 2 diabetes. *Diabetes* 2006;55(4):1133-40.
106. Catalano PM, Bernstein IM, Wolfe RR, Srikanta S, Tyzbir E, Sims EA. Subclinical abnormalities of glucose metabolism in subjects with previous gestational diabetes. *Am J Obstet Gynecol* 1986;155(6):1255-62.
107. Ward WK, Johnston CL, Beard JC, Benedetti TJ, Halter JB, Porte D, Jr. Insulin resistance and impaired insulin secretion in subjects with histories of gestational diabetes mellitus. *Diabetes* 1985;34(9):861-9.
108. Efendic S, Hanson U, Persson B, Wajngot A, Luft R. Glucose tolerance, insulin release, and insulin sensitivity in normal-weight women with previous gestational diabetes mellitus. *Diabetes* 1987;36(4):413-9.
109. Haffner SM. Insulin resistance, inflammation, and the prediabetic state. *Am J Cardiol* 2003;92(4A):18J-26J.
110. Blake GJ, Ridker PM. C-reactive protein: a surrogate risk marker or mediator of atherothrombosis? *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2003;285(5):R1250-2.

111. Di Benedetto A, Russo GT, Corrado F, et al. Inflammatory markers in women with a recent history of gestational diabetes mellitus. *J Endocrinol Invest* 2005;28(1):34-8.
112. Di Cianni G, Lencioni C, Volpe L, et al. C-reactive protein and metabolic syndrome in women with previous gestational diabetes. *Diabetes Metab Res Rev* 2006.
113. Pannacciulli N, Cantatore FP, Minenna A, Bellacicco M, Giorgino R, De Pergola G. C-reactive protein is independently associated with total body fat, central fat, and insulin resistance in adult women. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2001;25(10):1416-20.
114. Ridker PM. High-sensitivity C-reactive protein: potential adjunct for global risk assessment in the primary prevention of cardiovascular disease. *Circulation* 2001;103(13):1813-8.
115. Vozarova B, Weyer C, Lindsay RS, Pratley RE, Bogardus C, Tataranni PA. High white blood cell count is associated with a worsening of insulin sensitivity and predicts the development of type 2 diabetes. *Diabetes* 2002;51(2):455-61.
116. Fernandez-Real JM, Vayreda M, Richart C, et al. Circulating interleukin 6 levels, blood pressure, and insulin sensitivity in apparently healthy men and women. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86(3):1154-9.