

# Streptozotosin ile diyabet oluşturulmuş sıçanlarda aminoguanidinin serum paraoksonaz aktivitesi üzerine etkisi

[The effects of aminoguanidine on serum paraoxanase activity in streptozotocin-induced diabetic rats]

İlker Parmaksız<sup>1</sup>,  
Palmet Gün Atak<sup>1</sup>,  
Dilek Gogas Yavuz<sup>2</sup>,  
Önder Şirikçi<sup>1</sup>

Marmara Üniversitesi, Tıp Fakültesi, <sup>1</sup>Biyokimya Anabilim Dalı, <sup>2</sup>Ç Hastalıkları Anabilim Dalı, Endokrinoloji ve Metabolizma Bilim Dalı, İstanbul

Yazışma Adresi  
[Correspondence Address]

Prof. Dr. Önder Şirikçi

Marmara Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı  
E-mail: ondersirikci@marmara.edu.tr

Kayıt Tarihi : 5 Eylül 2011; Kabul Tarihi : 26 Ekim 2011

[Registered: 5 September 2011; Accepted: 26 October 2011]

## ÖZET

**Amaç:** Diyabet oksidatif hasar yükünün ve lipid oksidasyonunun arttığı, LDL'nin oksidasyondan korunma mekanizmalarının zayıfladığı sistemik bir hastalıktır. HDL'nin koruyucu etkilerinin bir kısmının paraoksonaz aracılığı ile gerçekleştiği düşünülmektedir. Diyabette paraoksonaz aktivitesi azalmaktadır. Aminoguanidin, glikasyon ara ürünleri ile reaksiyona girerek ileri glikasyon ürünleri oluşumunu önlemektedir. Biz de aminoguanidin ile ileri glikasyon inhibisyonunun paraoksonaz aktivitesi üzerine etkilerini diyabet modelinde araştırmayı amaçladık.

**Yöntem:** 32 adet, 10 haftalık erkek Sprague-Dawley sıçan 4 gruba ayrıldı; iki gruba 65 mg/kg intraperitoneal streptozotosin verilerek diyabet oluşturuldu. Bir grup ilaçsız takip edildi (DM). Diğer gruba 1 g/L aminoguanidin içme suyuyla *ad libitum* verildi (DM+AG). Üçüncü grup sağlıklı kontrol (SK) olarak izlendi. Dördüncü gruba yalnızca AG verildi (SK+AG). Paraoksonaz (PON) aktivitesi Eckerson'un yöntemine göre ölçüldü.

**Bulgular:** Kan glukoz ve HbA<sub>1c</sub> düzeyleri DM ve DM+AG gruplarında SK grubuna göre anlamlı olarak yükseldi. Grupların kan kolesterol ve HDL düzeyleri arasında bir fark yoktu. DM+AG grubunun trigliserid düzeyleri SK ve SK+AG gruplarından anlamlı olarak yükseldi. DM, DM+AG ve SK+AG gruplarında PON düzeyleri SK grubundan anlamlı olarak düşüktü. PON ile HDL arasında doğru orantılı, PON ile glukoz ve HbA<sub>1c</sub> düzeyleri arasında ters orantılı bir korelasyon vardı.

**Tartışma:** Diyabet gruplarında kan glukoz ve HbA<sub>1c</sub> düzeylerinin SK grubuna göre anlamlı olarak artması diyabet modelimizin başarılı olduğunu gösterdi. PON düzeyleri diyabet gruplarında literatür ile uyumlu olarak düşüktü. Grupların HDL düzeyleri arasında fark olmamasına rağmen PON ile glukoz ve HbA<sub>1c</sub> düzeyleri arasındaki ters orantılı korelasyon PON aktivitesinin glikasyona bağlı olarak azalabileceğini, PON aktivitesinin SK+AG grubunda SK grubuna göre azalmış olması aminoguanidinin etkilerinin PON üzerinden olmayabileceğini düşündürdü.

**Anahtar Kelimeler:** Diabetes mellitus, streptozotosin, aminoguanidin, paraoksonaz

## ABSTRACT

**Aim:** Diabetes is a systemic disease with increased oxidative damage, lipid oxidation and decreased prevention of LDL oxidation. Some of the preventive effects of HDL is thought to be mediated by paraoxanase. Paraoxonase activity is reduced in diabetes. Aminoguanidine, inhibits the formation of advanced glycation endproducts by reacting with intermediate products of glycation. We aimed to investigate the effects of the inhibition of advanced glycation by aminoguanidine on paraoxanase activity in a diabetes model.

**Methods:** 32 10-week male Sprague-Dawley rats were divided into four groups; In two groups diabetes was induced with 65mg/kg of intraperitoneal streptozotocin. One of them was followed without further intervention (DM). The other group was given 1 g/L of aminoguanidine *ad libitum* in drinking water (DM+AG). The third group was followed as healthy controls (HC). Only AG was given to the fourth group (HC+AG). Paraoxonase (PON) activity was determined according to Eckerson's method.

**Results:** Blood glucose and HbA<sub>1c</sub> levels were significantly elevated in DM and DM+AG groups compared to the healthy controls. There was no difference in cholesterol and HDL levels among groups. The triglyceride level of DM+AG group was significantly elevated compared to HC and HC+AG groups. The PON levels were significantly decreased in DM, DM+AG and HC+AG groups compared to healthy controls. PON levels were correlated with HDL levels and inversely correlated with glucose and HbA<sub>1c</sub> levels.

**Conclusion:** The elevation of glucose and HbA<sub>1c</sub> levels in diabetic groups compared to healthy controls showed that the induction of diabetes model was successful. The decrease in PON levels in diabetic groups is consistent with literature. The inverse correlation between PON and glucose and HbA<sub>1c</sub>, despite the lack of a difference among HDL levels suggested that the decrease in PON activity could be due to the glycation of the enzyme. The decrease in PON activity in HC+AG group compared to the HC group implied that the effects of aminoguanidine may not be mediated via PON.

**Key Words:** Diabetes mellitus, streptozotocin, aminoguanidine, paraoxanase

## Giriş

Yapısal proteinlerin ileri glikasyonu diyabetik komplikasyon gelişiminde ana mekanizmalardan birisidir. Proteinlerin turnover hızı, hiperglisemi düzeyi ve maruz kalınan oksidan stresin büyüklüğü, ekzojen alım ve böbrek yetmezliği ileri glikasyon son ürünlerinin (AGE) oluşumunu ve düzeyini etkiler [1,2].

İleri glikasyon haftalar süren bir süreç olduğu için uzun ömürlü proteinleri etkiler. Bazal membranda tip 4 kollajen gibi ekstrasellüler matriks proteinleri AGE oluşumunda öncelikli hedeflerdir [3]. Proteinlerin glikasyonu, miktarı hiperglisemi derecesine bağlı olan non-enzimatik bir süreçtir ve hem hücre içinde hem de hücre dışında oluşabilir [4]. AGE'lerin etki mekanizmaları; matriks proteinleri ile birleşerek ekstrasellüler matriksin yapı ve fonksiyonlarını bozmak, çeşitli hücrelerde AGE reseptörleri yoluyla sitokin, büyüme faktörleri, serbest radikal aktivitelerini etkilemek ve doğrudan enzimler ve intrasellüler anahtar proteinlerin fonksiyonlarını değiştirmek olarak özetlenebilir.

Paraoksonaz (PON), HDL üzerinde bulunan antioksidan işlevi olan enzimlerdendir. *In vitro* çalışmalarda PON1'in LDL'deki lipid oksidasyonunu inhibe ettiği gösterilmiştir [5]. İnsan PON1 geni ile oluşturulmuş transgenik sıçanlardaki ateroskleroz modelinde, kontrol grubuna göre daha az aterosklerotik lezyon ve daha az oksidatif stres geliştiği gösterilmiştir [6].

PON serum düzeylerini etkileyen genetik ve çevresel faktörler, sonuçta HDL'nin LDL'yi oksidasyondan koruma kapasitesini etkiler. Tip1 Diabetes mellitus (DM) hastalarında HDL kompozisyonunda ve HDL alt gruplarının dağılımında değişiklikler gözlenmiştir [7]. HDL'deki bu değişiklikler ise, LDL'nin oksidasyondan korunma fonksiyonlarında azalmaya yol açar [8,9]. Bunun yanı sıra, serum PON aktivitesinin DM'li hastalarda azaldığı da gösterilmiştir [10]. PON aktivitesindeki azalmayla diyabetin mikro ve makrovasküler komplikasyonları arasında nedensel bir ilişki olabileceği ve bu azalmadan PON'un glikasyona bağlı olarak HDL üzerindeki yerini veya işlevini kaybetmesinin sorumlu olabileceği düşünülmektedir [11-14].

Anti-glikasyon ilaçları içerisinde ilk denenmeye başlanan, bir nükleofilik hidrazin bileşiği olan aminoguandindir (AG). AG, dikarbonil bileşikler gibi glukozdan türeyen ara ürünlerle reaksiyona girerek AGE oluşumunu önler [15]. AG kullanımının böbrekte mezengial genişlemeyi ve albuminüriyi azalttığı, serum LDL, trigliserid seviyelerini azalttığı, retinal mikrodamarlarda AGE birikimini azalttığı [16] ve diyabette cilt yapısında oluşan değişiklikleri engellediği gözlenmiştir [17]. AG bunların dışında RAGE yoluyla olan vasküler NADPH oksidaz aktivasyonunu baskılayarak ve eşleşmemiş eNOS'u inhibe ederek süperoksit yapımını ve NO ile süperoksitin oluşturduğu peroksinitrit miktarını da azaltır. Bu olumlu gelişmelere rağmen yan etkilerin görülmesi dolayısıyla AG tedavisi ile ilgili çalışmalar kesintiye uğramıştır [18].

Bu çalışmada streptozotosin ile oluşturulan diyabet modelinde AGE oluşumu inhibitörü olan AG tedavisinin serum PON, HDL, trigliserid, kolesterol, düzeylerine etkisini incelemeyi, AG'nin koruyucu etkilerinin bu modelde PON üzerinden gerçekleşip gerçekleşmediğini araştırmayı amaçladık.

## Gereç ve Yöntem

Çalışmaya 32 adet, 10 haftalık erkek Sprague-Dawley sıçan alındı. Sıçanlar dört gruba ayrılarak, % 20 protein içeren standart sıçan yemi ile beslendi. Tüm grupların içme suyu şişeleri günlük olarak değiştirildi. İki gruba 65 mg/kg pH 4.5 sodyum sitrat tamponu içinde çözülmüş streptozotosin (STZ; Sigma, St. Louis MO, USA) tek doz, intraperitoneal olarak enjekte edilerek diyabet oluşturuldu [19]. Bir hafta sonra kuyruk veninden alınan kan örneğinde kan glukoz düzeyi 200 mg/dL veya üzerinde olanlar diyabetik olarak kabul edilip çalışmaya dahil edildi [20]. On diyabetik sıçan, tedavi olmayan diyabet grubu olarak ilaçsız takip edildi (DM grubu). Diyabet oluşturulmuş sıçanların 8 tanesine 1 g/L AG (ICN Biomedicals Ohio, USA) içme suyuyla *ad libitum* olarak verildi (DM+AG grubu) [21]. Sağlıklı 5 sıçana ise yalnızca 1 g/L AG içme suyu ile *ad libitum* olarak verildi (SK+AG). Dokuz sağlıklı sıçan ise sağlıklı kontrol olarak ilaçsız takip edildi (SK). Çalışma Marmara Üniversitesi, Tıp Fakültesi Hayvan Laboratuvarı'nda gerçekleştirildi ve Marmara Üniversitesi hayvan etik kurulu tarafından onaylandı (07.05.2007-25.2006.mar).

Diyabet oluşmasından 12 hafta sonra sıçanlar eter anestezi altında kanatılıp feda edilerek kan örnekleri alındı. Kan örnekleri 4 dk 4000 x g'de santrifüj edilerek elde edilen serumlar çalışılana dek -20°C'de saklandı.

Kan glukoz, kreatinin, kolesterol, trigliserid, HDL düzeyleri spektrofotometrik olarak ölçüldü (Roche Diagnostic, Modüler P800, Almanya) [22]. HbA<sub>1c</sub> düzeyleri ise ClinRep iyon değiştirici kolon ve analiz kiti (RECIPE, Almanya) kullanılarak (Spectra, Thermo Electron Corporation, ABD) yüksek performanslı sıvı kromatografisi ve UV 1000 Dedektörü ile 415 nm'de yapıldı. [23]. Sıçan örneklerinin HbA<sub>1c</sub> ölçümleri, insan örnekleri ve HbA<sub>1c</sub> referans standardı ile aynı retansiyon zamanı ve integrasyon parametrelerine sahipti.

PON1 aktivite ölçümleri Eckerson'un yöntemi ile yapıldı Eckerson'un yöntemine göre, paraokson'un 4-nitrofenol'e dönüşüm hızı 405 nm'de kinetik olarak izlenerek (Tecan Infinite M200) ölçüldü [24].

## İstatistik

İstatistiksel analizler için Windows uyumlu GraphPad InStat Version 3.05 programı kullanıldı. Bütün bulgular, ortalama ± standart sapma olarak ifade edildi. Çalışma grupların verilerinin istatistiksel karşılaştırılmasında non-parametrik bir test olan Mann Whitney U testi kullanıldı. Korelasyonlar için ise yine non-parametrik bir test olan Spearman testi kullanıldı. Gruplar arası farklar % 95 güven aralığında, p<0.05 düzeyinde anlamlı olarak değerlendirildi.

## Bulgular

Grupların glukoz, HbA<sub>1c</sub>, kreatinin, kolesterol, trigliserid, HDL ve PON düzeyleri Tablo 1'de özetlenmiştir.

DM grubu ve DM+AG grubu kan glukoz düzeyleri SK grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı olarak artmıştı (sırası ile  $p<0.0001$  ve  $p<0.005$ ). DM ile DM+AG gruplarının glukoz düzeyleri kıyaslandığında ise anlamlı bir fark yoktu.

DM ve DM+AG gruplarının HbA<sub>1c</sub> düzeyleri SK grubuna göre anlamlı olarak artmıştı (sırasıyla  $p<0.0001$  ve  $p<0.0005$ ). DM+AG ile DM grubu kıyaslandığında ise HbA<sub>1c</sub> düzeyleri DM+AG grubunda anlamlı olarak düşüktü ( $p<0.05$ ). DM+AG ile SK+AG grupları kıyaslandığında HbA<sub>1c</sub> düzeyleri DM+AG grubunda anlamlı olarak yüksekti ( $p<0.0001$ ). SK ile SK+AG grupları arasında ise anlamlı fark yoktu.

DM grubu kreatinin düzeyleri SK grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı olarak artmıştı ( $p<0.05$ ). SK ile SK+AG, DM ile DM+AG, SK+AG ile DM+AG grupları kan kreatinin düzeyleri kıyaslandığında ise anlamlı bir fark yoktu.

Tüm grupların kan kolesterol ve HDL düzeyleri kıyaslandığında anlamlı bir fark yoktu.

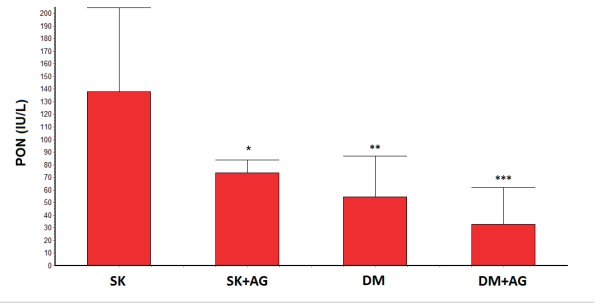
DM+AG grubu kan trigliserid düzeyleri ise SK ve SK+AG grubuna göre anlamlı bir yüksekliğe sahipti ( $p<0.05$ ). SK ile SK+AG, SK ile DM, DM ile DM+AG grupları kan trigliserid düzeyleri kıyaslandığında ise anlamlı bir fark yoktu.

DM, DM+AG ve SK+AG gruplarında PON düzeyleri SK grubuna göre anlamlı olarak düşüktü (sırası ile,  $p<0.0005$ ,  $p<0.0001$  ve  $p<0.01$ ). DM ile DM+AG grupları arasında ise anlamlı fark yoktu (Şekil 1).

Grupların serum PON, HDL, glukoz, HbA<sub>1c</sub>, trigliserid ve total kolesterol düzeylerinin korelasyonları incelendi. Grupların PON ile glukoz ve HbA<sub>1c</sub> düzeylerini karşılaştırdığımızda aralarında orta dereceli ters bir korelasyon vardı (Sırasıyla Spearman  $r=-0,5011$ ,  $p<0,005$  ve Spearman  $r=-0,4902$ ,  $p<0,005$ ) (Şekil 2A, B). PON ile HDL arasında ise zayıf bir korelasyon mevcuttu Spearman  $r=0,4668$ ,  $p<0,001$ ) (Şekil 2C). PON ile total kolesterol ve trigliserid arasında ise korelasyon yoktu (Sırasıyla Spearman  $r=0,202$ ,  $p>0,05$  ve Spearman  $r=-0,240$ ,  $p>0,05$ )

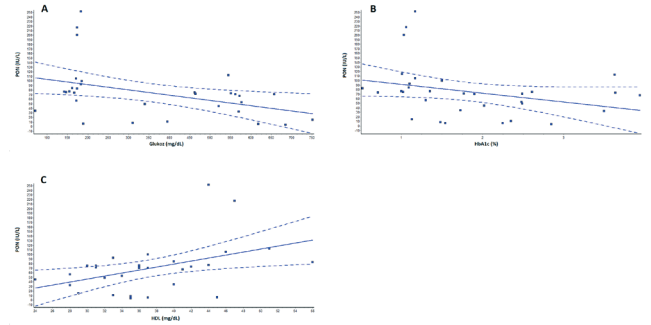
## Tartışma

Diyabette en sık gözlenen lipid patterni, trigliserid düzeylerinde artma ve HDL düzeylerinde azalmadır. Tip 1 diyabette ise plazma lipid ve lipoprotein düzeyleri normal olabilir ancak lipoproteinlerin artmış glikasyonu ve oksidasyonu fonksiyonlarında bozukluklara yol açar [25]. Diyabetle beraber LDL'nin artmış glikasyonu LDL'nin LDL reseptörü tarafından tanınmasını önler. HDL ise LDL'nin aksine glikasyona uğrayınca yapım-yıkım hızı artar ve ters kolesterol taşınmasındaki işlevini yeteri kadar gerçekleştirmez. Bununla beraber HDL'nin antioksidan fonksiyonlarında da azalma olur ve bu azalmada HDL'nin antioksidan etkilerinden sorumlu tutulan PON aktivitesinin diyabette azalmasının da sorumlu olduğu düşünülmektedir.



Şekil 1. Grupların PON düzeylerinin kıyaslanması

- \* SK ile karşılaştırıldığında  $p<0.01$
- \*\* SK ile karşılaştırıldığında  $p<0.0005$
- \*\*\* SK ile karşılaştırıldığında  $p<0.0001$



Şekil 2. PON ile glukoz (A), PON ile HbA<sub>1c</sub> (B) ve PON ile HDL'nin (C) korelasyon grafikleri

Çalışmamızda diyabet modelimizin değerlendirilmesi için kan glukoz, ve HbA<sub>1c</sub> düzeylerini kullandık. Kan glukoz düzeyleri beklendiği gibi diyabet olan gruplarda anlamlı olarak artmıştı. Bu da bize diyabet modelimizin başarılı olduğunu gösterdi. AG alan ve almayan diyabet gruplarının kan glukoz düzeyleri arasında istatistiksel bir fark olmasa da, AG alan diyabet grubunun HbA<sub>1c</sub> düzeyleri, DM grubundan anlamlı olarak daha düşüktü. AG'nin AGE tedavisindeki etki mekanizması glukozdan türeyen dikarbonil bileşikleri ile reaksiyona girerek 3-amino-1,2,4-triazin oluşturması ve AGE oluşumunu önlemesidir. HbA<sub>1c</sub> gibi erken dönem oluşan Amadori ürünlerine direkt bir etkisi olmasa da, bu düşüş; Thornalley'in de [15] bildirdiği gibi hücre içi AG konsantrasyonunun hemoglobin glikasyonunu yarışmalı olarak inhibe etmesi sonucu oluşmuş olabilir. Diyabetik grupta AG tedavisi ile görülen HbA<sub>1c</sub> düzeylerindeki anlamlı azalmanın sağlıklı kontrollere kıyasla AG alan sağlıklı kontrol grubunda gözlenmemesi, bu grupta AGE oluşumunun zaten artmamış olması veya HbA<sub>1c</sub> düzeylerinin bu farkı oluşturacak kadar yüksek olması ile açıklanabilir.

Çalışmamızda ne streptozotosin diyabet modeli oluşumu ne de AG kullanımı kan kolesterol düzeylerinde bir değişikliğe neden olmadı. AG alan diyabet grubunun

kan trigliserid düzeyleri ise, AG alan ve almayan sağlıklı gruplara göre anlamlı olarak artmıştı. Ancak, AG almayan diyabetik grubun trigliserid düzeyleri sağlıklılarla kıyaslandığında, kan trigliserid düzeylerinde artış gözlenirse de, bu istatistiksel olarak anlamlı düzeyde değildi. Bu yükselme eğiliminin istatistiksel anlamlılık göstermemesi, trigliserid düzeylerindeki nispeten yüksek standart sapmadan da kaynaklanıyor olabilir. AG ile yapılan çalışmalarda 1 gr/gün AG kullanımının serum trigliserid, total kolesterol, LDL kolesterol düzeylerinde % 10-28'lik bir azalmaya sebep olduğu bildirilmiştir [15]. Biz ise çalışmamızda AG kullanımı ile serum kolesterol, trigliserid düzeylerinde bir azalma tespit edemedik. Tip 1 diyabeti olan kişilerde yapılan bazı çalışmalarda özellikle HDL düzeyleri değişmeden ya da artarak da HDL'nin işlevlerinde değişiklik olabileceğini gösterilmiştir [26]. Tip 1 diyabetiklerde yapılan başka birtakım çalışmalarda da HDL alt gruplarının dağılımının değiştiği ve anormal HDL kompozisyonu olduğu gözlenmiştir [27]. Biz çalışmamızda ise grupların HDL düzeylerini karşılaştırdığımızda anlamlı bir fark bulamadık, ancak bu durum bize HDL'nin kompozisyonunda ve işlevlerinde herhangi bir değişiklik olup olmadığı konusunda bilgi vermedi.

Yapılan çalışmalarda HDL ilişkili PON1 aktivitesinin hem Tip 1 DM [28,29], hem Tip 2 DM [30,31] ve hem de streptozotosin ile oluşturulmuş diyabet modelinde [32] azaldığı gösterilmiştir. Biz de çalışmamızda literatür ile uyumlu olarak diyabetik grupta PON1 aktivitesini sağlıklı kontrollere göre anlamlı olarak azalmış bulduk. AG alan sağlıklı grubun PON1 aktivitesinde SK grubuna göre gözlenen anlamlı azalma, AG alan diyabetik grup ile almayan gruplar arasında gözlenmedi. AG kullanan ve kullanmayan diyabet grupları arasında PON1 aktivitesi açısından anlamlı bir düşüş olmaması, diyabetik gruptaki sıçanların PON1 aktivitelerinin çoğunu sağlıklılara göre zaten kaybetmiş olması ile açıklanabilir. AG alan sağlıklı grubun PON1 aktivitesinin sağlıklı gruba göre anlamlı olarak azalması, bize AG'nin bilinen etki mekanizmalarının dışında başka bir yol ile PON1 düzeyini azaltıyor olabileceğini düşündürmektedir.

Çalışmaya katılan deneklerde PON aktivitesi ile HDL düzeyleri arasında bir korelasyon bulunmasına rağmen, grupların HDL düzeyleri arasında bir fark yoktu. Bu nedenle deneklerin PON ile glukoz ve HbA<sub>1c</sub> düzeyleri aralarında orta dereceli ters bir korelasyon olması, diyabette PON aktivitesinde gözlenen azalmanın enzimin glikasyonuna bağlı olarak gelişmiş olabileceğini düşündürmektedir.

AG ile yapılan çalışmalarda görülen yan etkilerden birisi serum kreatinin düzeylerinde artışa sebep olmasıdır. Bizim çalışmamızda DM grubu kreatinin düzeyleri SK grubuna göre anlamlı olarak artmıştı ancak AG kullanımıyla serum kreatinin düzeylerinde bir değişiklik tespit edemedik.

Sonuç olarak streptozotosin ile oluşturduğumuz diyabet modelimizde PON düzeylerinin azaldığı tespit edildi.

Ancak, AG verilen diyabet grubunda da PON aktivitesinin düşük olması, AG'nin PON üzerindeki etkilerinin ileri glikasyon inhibisyonu dışı yollarla olabileceğini düşündürmektedir. AG'nin etki mekanizmasının HDL metabolizması ve PON üzerindeki olası etkilerinin daha iyi anlaşılması için ek çalışmalara ihtiyaç vardır.

## Bilgi ve Teşekkür

Bu çalışma, Marmara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu SAĞ 028/131102 ve SAĞ 029/131102 numaralı projeleri tarafından desteklenmiştir.

## Çıkar Çatışması

Yazarların çıkar çatışması bulunmamaktadır.

## Kaynaklar

- [1] Goldin A, Beckman JA, Schmidt AM, Creager MA. (2006) Advanced Glycation End Products: Sparking the Development of Diabetic Vascular Injury. *Circulation*. 114:597-605.
- [2] Hartog JWL, Voors AA, Bakker SJL, Smit AJ, Van Veldhuisen DJ. (2007) Advanced glycation end-products (AGEs) and heart failure: Pathophysiology and clinical implications. *Eur J Heart Fail*. 9:1146-1155.
- [3] Goh SY, Cooper ME. (2008) The Role of Advanced Glycation End Products in Progression and Complications of Diabetes. *J Clin Endocrinol Metab*, 93(4):1143-1152.
- [4] Bierhaus A, Hofmann MA, Ziegler R, Nawroth P. (1998) AGEs and their interaction with AGE-receptors in vascular disease and diabetes mellitus. I. The AGE concept. *Cardiovasc Res*. 37:586-600.
- [5] Harel M, Brumshtein B, Meged R, Dvir H, Ravelli RBG, Mccarthy A. (2007) 3-D structure of serum paraoxonase 1 sheds light on its activity, stability, solubility and crystallizability. *Arh Hig Rada Toksikol*. 58: 347-53.
- [6] Tward A, Xia YR, Wang XP, Shi YS, Park C, et al. (2002) Decreased atherosclerotic lesion formation in human serum paraoxonase transgenic mice. *Circulation*. 106:484-490.
- [7] Valabhji J, McColl A-J, Schachter M, Dhanjil S, Richmond W, et al. (2001) High density lipoprotein composition and paraoxonase activity in type 1 diabetes. *Clin Sci*. 101:659-670.
- [8] Gowri MS, Van der Westhuyzen DR, Bridges SR, Anderson JW. (1999) Decreased protection by HDL from poorly controlled type 2 diabetic subjects against LDL oxidation may be due to the abnormal composition of HDL. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 19:2226-2233.
- [9] Fievet C, Theret N, Shojaee N, Duchateau P, Castro G, et al. (1992) Apolipoprotein A-I-containing particles and reverse cholesterol transport in IDDM. *Diabetes*. 41:[10] Abbott CA, Mackness MI, Kumar S, Boulton AJ, Durrington PN. (1995) Serum paraoxonase activity, concentration, and phenotype distribution in diabetes mellitus and its relationship to serum lipids and lipoproteins. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 15:1812-1818.
- [11] Nguyen SD, Sok DE. (2003) Oxidative inactivation of paraoxonase, an antioxidant protein and its effect on antioxidant action. *Free Radic Res*. 37:1319-1330.
- [12] Karabina SA, Lehner AN, Frank E, Parthasarathy S, Santanam N. (2005) Oxidative inactivation of paraoxonase—implications in diabetes mellitus and atherosclerosis. *Biochim Biophys Acta*. 1725:213-221.
- [13] Camps J, Marsillach J, Joven J. (2009) The paraoxona-

- ses: role in human diseases and methodological difficulties in measurement. *Critical Reviews in Clinical Laboratory Science*. 46(2): 83–106.
- [14] Ikeda Y, Suehiro T, Inoue M, Nakauchi Y, Morita T, et al. (1998) Serum paraoxonase activity and its relationship to diabetic complications in patients with noninsulin-dependent diabetes mellitus. *Metabolism*. 47:598–602.
- [15] Thornalley PJ. (2003) Use of aminoguanidine (Pimagedine) to prevent the formation of advanced glycation endproducts. *Arch Biochem Biophys*. 419:31–40.
- [16] Nessar A. (2005) Advanced glycation endproducts—role in pathology of diabetic complications. *Diabetes Res Clin Pract*. 67: 3–21.
- [17] Yavuz D, Bozkurt S, Aydın H, Ersöz Ö, Demirkesen C, et al. (2005) Effects of aminoguanidine on dermal collagen structure and TGF-Beta expression in streptozotocin induced diabetic rats. *Marmara Med J*. 18(2):76-80.
- [18] Schalkwijk CG. (2007) Therapeutic Interventions in the Glyc(oxid)ation Pathway. *Immunol Endocr Metab Agents Med Chem*. 7:57–68.
- [19] Perreault M, Dombrowski L, Marette A. (2000) Mechanism of impaired nitric oxide synthase activity in skeletal muscle of streptozotocin-induced diabetic rats. *Diabetologia*. 43:27–437.
- [20] Fröde TS, Medeiros YS. (2008) Animal models to test drugs with potential antidiabetic activity. *J Ethnopharmacol*. 115:173–183.
- [21] Yavuz DG, Ersöz HÖ, Tuncel M, Sargon MF, Küçükkaya B, et al. (2001) Effects of Aminoguanidine on Glomerular Basement Membrane Thickness and Anionic Charge in a Diabetic Rat Model. *Int J Exp Diabetes Res*. 2:225–232.
- [22] Nieuwdorp M, Mooij HL, Kron J, Atasever B, Spaan JAE, et al. (2006) Endothelial Glycocalyx Damage Coincides With Microalbuminuria in Type 1 Diabetes. *Diabetes*. 55:1127–1132.
- [23] RECIPE. Clinical Diagnostics with HPLC and LC-MS/MS. [http://www.recipe.de/en/products\\_hplc\\_diagn\\_11100.html](http://www.recipe.de/en/products_hplc_diagn_11100.html) (Son erişim 20/08/2011)
- [24] Eckerson HW, Wyte C, La Du BN. (1983) The Human Serum Paraoxonase/Arylesterase Polymorphism. *Am J Hum Genet*. 35:1126–1138.
- [25] Canadian Diabetes Association. (2006) Dyslipidemia in Adults With Diabetes. *Canadian Journal Of Diabetes*. 30(3):230–420
- [26] Dullaart RP. (1995) Plasma lipoprotein abnormalities in type 1 (insulin-dependent) diabetes mellitus. *Neth J Med*. 46:44–54.
- [27] Valabhji J, McColl A-J, Schachter M, Dhanjil S, Richmond W, et al. (2001) High density lipoprotein composition and paraoxonase activity in type 1 diabetes. *Clin Sci*. 101:659–670.
- [28] Mackness MI, Harty D, Bhatnagar D, Winocour PH, Arrol S, et al. (1991) Serum paraoxonase activity in familial hypercholesterolaemia and insulin-dependent diabetes mellitus. *Atherosclerosis*. 86:193–199.
- [29] Boemi M, Leviev I, Sirolla C, Pieri C, Marra M, et al. (2001) Serum paraoxonase is reduced in type 1 diabetic patients compared to nondiabetic, first degree relatives; influence on the ability of HDL to protect LDL from oxidation. *Atherosclerosis*. 155:229–35.
- [30] Ikeda Y, Suehiro T, Inoue M, Nakauchi Y, Morita T, et al. (1998) Serum paraoxonase activity and its relationship to diabetic complications in patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Metabolism*. 47:598–602
- [31] Inoue M, Suehiro T, Nakamura T, Ikeda Y, Kumon Y, et al. (2000) Serum arylesterase/diazoxonase activity and genetic polymorphisms in patients with type 2 diabetes. *Metabolism*. 49:1400–5.
- [32] Patel BN, Mackness MI, Harty DW, Arrol S, Boot-Handford RP, et al. (1990) Serum esterase activities and hyperlipidaemia in the streptozotocin-diabetic rat. *Biochim Biophys Acta*. 1035:113–116.