

**T.C.
KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

**EKSENATİDE VE İNSÜLİN GLARGİN'İN ENDOTEL DİSFONKSİYONU
VE KARDİYOVASKÜLER RİSK BELİRTEÇLERİ ÜZERİNE ETKİSİNİN
KARŞILAŞTIRILMASI**

Hazırlayan: Uz. Dr. Eren GÜRKAN

**ENDOKRİNOLOJİ VE METABOLİZMA HASTALIKLARI BİLİM DALI
YAN DAL UZMANLIK TEZİ**

KOCAELİ-2013

**T.C.
KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

**EKSENATİDE VE İNSÜLİN GLARGİN'İN ENDOTEL DİSFONKSİYONU
VE KARDİYOVASKÜLER RİSK BELİRTEÇLERİ ÜZERİNE ETKİSİNİN
KARŞILAŞTIRILMASI**

Hazırlayan: Uz. Dr. Eren GÜRKAN

**ENDOKRİNOLOJİ VE METABOLİZMA HASTALIKLARI BİLİM DALI
YAN DAL UZMANLIK TEZİ**

**Tez Danışmanı Öğretim Üyesi: Prof.Dr. İlhan TARKUN
İç Hastalıkları A.B.D Başkanı: Prof.Dr. Ahmet YILMAZ**

KOCAELİ-2013

Etik kurul onay tarih ve numarası: 02.05.2011 KAEK 4/6

ÖNSÖZ

Tez çalışmamın her aşamasında bana yol gösteren ve desteğini eksik etmeyen hocam Prof.Dr. İlhan TARKUN'a, yan dal asistanlığım süresince bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım bölüm hocalarım Prof.Dr. Berrin ÇETİN ARSLAN, ve Prof.Dr. Zeynep CANTÜRK'e emeklerinden dolayı teşekkür ederim.

Endokrin konseyi toplantıları vesilesiyle 4 yıl boyunca bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım Genel Cerrahi ABD öğretim üyeleri Prof.Dr. Zafer UTKAN, Prof.Dr. Zafer CANTÜRK, Prof.Dr. Anıl ÇUBUKÇU ve başta Doç.Dr. Hakan Demir olmak üzere Nükleer Tıp ABD öğretim üyelerine teşekkür ederim.

İç Hastalıkları ABD başkanı Prof.Dr. Ahmet YILMAZ'a, ihtisasım sırasında çalıştığım Tıp Fakültesi öğretim üyelerimize, uzman ve asistan arkadaşlarıma, servis ve polikliniklerde birlikte çalıştığım üniversitemiz hemşire ve sağlık personeline teşekkür ederim.

Çalışma ve başarı isteğini çocuk yaşında fark edip, bugünlere gelmemde desteklerini esirgemeyen anne, baba ve kardeşlerime teşekkür ederim.

Bu zorlu mücadeleyi benimle beraber her an yaşayan eşime ve yaşama sevincimin kaynakları biricik kızlarıma sevgilerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

	Sayfa No
Simgeler ve Kısaltmalar Dizini	i
Şekiller Dizini	ii
Tablo Dizini	iii
1. Amaç ve Kapsam	1
2. Genel Bilgiler	3
2.1. Diyabetes mellitus	3
2.1.1. Epidemiyolojisi	3
2.1.2. Sınıflandırılması	4
2.2. Tip 2 Diyabetes Mellitus	5
2.2.1. Patogenez	5
2.2.2. Genetik	5
2.2.3. İnsülin Direnci	5
2.2.4. Tip 2 DM’de Beta Hücresinin Disfonksiyonu	7
2.2.4.1. Normal beta hücresinin fonksiyonu	7
2.2.4.2. Glukoza beta hücre cevapsızlığı	8
2.2.4.3. Beta hücresi kütlesi ve yapısı	8
2.2.5. Tip 2 Diyabette Çevresel Faktörler	9
2.3. Obezite ve Tip 2 Diyabet İlişkisi	9
2.3.1. Ektopik yağ dokusu ve diyabet ilişkisi:	12
2.4. Endotel Fonksiyonu ve Disfonksiyonu	13
2.4.1. Normal vasküler homeostaziste endotelin rolü	13
2.4.2. Endotelyal aktivasyon ve ateroskleroz	14
2.4.3. Endotelyal zedelenme ve tamir	15
2.4.4. Endotelyal fonksiyonun klinik değerlendirilmesi	17
2.5. Endotel Disfonksiyonu ve Tip 2 Diyabet	18
2.5.1. İnsülin direnci	19
2.5.2. Hipertansiyon	21
2.5.3. Obezite	21
2.5.4. İnflamasyon	21

2.5.5. Dislipidemi	22
2.5.7. Hiperglisemi ve oksidatif stres	24
2.5.8. Hiperglisemi ve apopitoz	24
2.6. İnkretinlerin Biyolojisi	26
2.6.1. Tip 2 diyabetes mellitusta inkretin etkisi	28
2.6.2. İnkretinler ve kardiyovasküler sistem	29
2.7. Eksenatide	32
3. Gereç ve Yöntem	34
3.1. Çalışma grupları	34
3.2. Çalışma takip planı	35
3.3. Çalışma için kullanılan biyokimya kitleri	36
3.4. Çalışmada yararlanılan endotel fonksiyonlarını değerlendirme metodu	36
3.5. Vücut ağırlığı, total yağ kütlesi değerlendirmesi	37
4. Bulgular	38
4.1. Endotel fonksiyonları üzerine etki	40
4.2. Sitokinler üzerine etki	42
5. Tartışma	46
6. Sonuçlar ve Öneriler	54
7. Özet	55
8. Abstract	56
9. Kaynaklar	57

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

- ADA: American Diabetes Association
AGEs: Advanced Glycation End products
AKŞ: Açlık kan şekeri
BGT: Bozulmuş Glukoz Toleransı
cGMP: cyclic Guanidin MonoPhosphate
CMV: Cytomegalovirus
DM: Diyabetes mellitus
DAG/PKC yolağı: Diaçilgliserol/protein kinaz C yolağı
DPP4: Dipeptidil peptidaz-4
EASD: European Association for the Study of Diabetes
EDHF: Endotel kaynaklı hiperpolarizan faktör
ELİSA: Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay
eNOS: endotelial Nitrik Oksit Sentetaz
ET-1: Endotelin-1
FFA: Free Fatty Acid
GİP: Glukoz bağımlı insülinotropik polipeptit
GLP-1: Glukagon like peptide-1
GLP-1R: Glukagon like peptide-1 reseptör
G-protein: Guanin nükleotid bağlayıcı protein
HbA1c: Glikolizile Hemoglobin A1
HDL: High Density Lipoprotein
HPLC: High Performance Liquid Chromatography
hs-CRP: high sensitive- C Reactive Protein
HT: Hipertansiyon
ICAM-1: Intracellular Adhesion Molecule
IDF: International Diabetes Federation
IRS-1: İnsülin reseptör substrat-1
İL-1: İnterlökin-1
İL-6: İnterlökin-6

İL-8: İnterlökin-8
JNK: c-Jun NH 2-terminal Kinase
LDL: Low Density Lipoprotein
Lep R(db): Leptin receptor gene defective
Lep(ob): Leptin gene defective
MAP-kinaz: Mitogen Activated Protein kinaz
MCP-1: Monocyte Chemoattractant protein-1
MCR-4: Melanocortin-4 receptor
MEN-2: Multipl endokrin Neoplazi Tip 2
MODY: Maturity Onset Diabetes of the Young
MSS: Merkezi Sinir Sistemi
NADP: Nikotinamid Adenin Dinükleotid Fosfat
NADPH: Nikotinamid Adenin Dinükleotid Fosfat Hidrojen
NADP oksidaz: Nikotinamid Adenin Dinükleotid Fosfat Oksidaz
NF-KB: Nükleer Faktör- Kappa B
NİCE: National Institute for Health and Clinical Excellence
NO: Nitrik Oksit
NOS: Nitrik Oksit Sentetaz
NTG: Nitrogliserin
OGTT: Oral Glukoz Tolerans Testi
PAI-1: Plasminogen Activator İnhibitor-1
PC-1: Prohormon convertase-1
PI3K: Fosfoinositol 3 kinaz
PKOS: Polikistik Over Sendromu
PPAR γ : Peroxisome proliferator-activated receptor- γ
ROS: Reactive Oxygen Species
SLE: Sistemik Lupus Eritematozis
SVO: Serebrovasküler olay
TNF α : Tümör Nekroz Faktör alfa
TURDEP II: Türkiye Diyabet, Hipertansiyon, Obezite ve Endokrinolojik Hastalıklar
Prevalans Çalışması- II
UKPDS: United Kingdom Prospective Diabetes Study

VCAM-1: Vascular Cell Adhesion molecule-1

VKI: Vücut Kütle İndeksi

VLDL: Very Low Density Lipoprotein



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekiller Adı	Sayfa No
Şekil 1. Tip 2 diyabetin ilerleme patogenezinin modeli	7
Şekil 2. Beta hücrelerinde zamanla oluşan fonksiyon kaybı	8
Şekil 3. Adipositokinler aracılığıyla oluşan insülin direnci ve endotel disfonksiyonunun şematik gösterimi	11
Şekil 4. Endotelyal zedelenme ve tamir	16
Şekil 5. İnsülin direncinin oluş mekanizması ve yağ dokusunun endotel disfonksiyonu ve apoptozisteki rolü	19
Şekil 6. Hipergliseminin endotelyal disfonksiyon ve diyabet komplikasyonlarının oluşumdaki rolünün şematik gösterimi	24
Şekil 7. Sağlıklı bireylerde inkretin etkisinin grafiklerle gösterimi	26
Şekil 8. İnkretinlerin etki mekanizmaları	27
Şekil 9. Tip 2 diyabette inkretin etkisi	28
Şekil 10. GLP-1'in kardiyovasküler etkisini gösteren GLP-1 bağımlı ve GLP-1 bağımsız sinyal yollarının şematik gösterimi	30

TABLolar DİZİNİ

Tablo Adı	Sayfa No
Tablo 1. Diyabetes mellitusun etiyolojik sınıflandırması	4
Tablo 2. Endotel fonksiyonun klinik değerlendirme metotları	17
Tablo 3. Dolaşımdaki endotel fonksiyon belirteçleri	18
Tablo 4. Tip 2 diyabette vasküler endoteldeki değişikliklerin genel görünümü	22
Tablo 5. İnkretinlerin sistemler üzerine etkisine genel bakış	31
Tablo 6. Çalışma gruplarımızın yaş, cinsiyet ve diyabet yaşı dağılımı	38
Tablo 7. Grupların antropometrik ölçüm, glisemik düzey ve lipid profillerinin çalışma öncesi ve sonrası dağılımı	39
Tablo 8. Çalışma gruplarımızın endotel fonksiyonlarının tedavi öncesi, sonrası ölçümleri	40
Tablo 9. Adipositokinler ve diğer kardiyovasküler risk belirteçleri	42
Tablo 10. Değişkenlerin vücut ağırlığı, VKİ, bel çevresi, yağ kütlesiyle ilişkilerinin değerlendirilmesi	44

1. AMAÇ VE KAPSAM

Diyabetes mellitus mortalitesi ve morbiditesi yüksek metabolik bir hastalıktır. Sıklığı giderek artmaktadır. Çağımızda yaşam tarzlarındaki hızlı değişimler ve giderek artan ortalama ömür bu artışın görünen nedenlerindedir. Diyabet ve onun oluşturduğu komplikasyonlar genel sağlık sistemine büyük yük oluşturmaktadır. Hastalığın kişiye, yakın çevresine ve topluma yükünün azaltılması için erken dönemde tanınması ve uygun şekilde tedavi edilmesi gereklidir.

Gelişen toplumların diğer önemli bir sağlık sorunu hiç şüphesiz obezitedir. Yeme alışkanlıklarının değişmesi, egzersiz azlığı, yüksek yağ içerikli beslenme gibi faktörler bu hastalığa yol açan nedenlerden bazılarıdır. Diyabet ve obezitenin epidemisinde bahsedilmektedir. Aynı ayrı komorbideteleri olan bu iki hastalığın bir araya geldiği hasta grupları için, sorunlar daha başedilemez hale gelmektedir.

Adipoz doku sanıldığı aksine metabolik açıdan aşırı aktif bir yapıdır. Bu doku adipositokinler olarak da bilinen biyoaktif proteinler salgılar. Bu sitokinler aracılığıyla endokrin, parakrin ve otokrin etkiler oluşturmaktadır. Bu etkiler belirgin olarak viseral yağ dokusu tarafından oluşturulmaktadır. Viseral adipoz doku obezite ile ilişkili tip 2 diyabet patogenezinde çok önemli rol oynamaktadır. Adipoz dokudan TNF-alfa, adiponektin, İL-6, leptin, PAİ-1, MCP-1 gibi sitokinler salgılanmaktadır. Adiponektin dışındaki sitokinler inflamasyonla ilgilidir. Adiponektin antiinflamatuvar özellik gösterir. İnflamasyon oluşumunda rolleri nedeniyle bu sitokinlere yönelik tedavi de vasküler hastalık patogenezindeki rolleri nedeniyle çok günceldir.

Ateroskleroz ve ona bağlı kardiyovasküler hastalıkların patogenezinde obezite ve diyabetin rolü bilinmektedir. Aterosklerotik süreçte endotel merkezi konumda yer almaktadır. Endotel basit bir bariyer olmayıp vasküler hemostazda anahtar rolü olan bir yapıdır. Sentezlediği ve salgıladığı mediyatörler ile damar duvarı fenotipinde aktif rol oynamaktadır. Bu nedenle endotel fonksiyonlarının değişik test metotlarıyla ortaya konulması ihtiyacı doğmuştur. Ultrasonografik metotlarla endotel veya nitrogliserin aracılıklı dilatasyon hakkında detaylı fikir edinilebilmektedir. Ayrıca dolaşımdaki endotel disfonksiyon belirteçlerinin (endotelyal progenitor hücre düzeyleri, PAİ-1, endotelin-1 gibi) düzeylerinin tespiti

günümüz imkanlarıyla mümkündür. Aterosklerotik hastalığın erken tespiti, hastalığın ilerlemesini önlemeye dönük girişimlere olanak tanımaktadır.

Günümüzde diyabet tedavisi planlanırken yeterli glisemik kontrolün yanısıra kilo kontrolü, kardiyoprotektif etki gibi başka tedavi hedeflerimizde olmalıdır. Bu hedefler kardiyovasküler hastalıkla mücadele edebilmemiz için de gereklidir. Bu amaçla güncel tedavi yaklaşımlarına ihtiyaç vardır. İncretin bazlı tedaviler bu açıdan farklı bir seçenektir. Bireyselleştirilmiş diyabet tedavisine vurgu yapan diyabet kılavuzlarında GLP-1 bazlı tedaviler, yaşam tarzı değişiklikleri ve metformin tedavisi sonrası 2. basamak tedavi seçeneği olarak önerilmektedir.

Myokard ve endotel başta olmak üzere birçok dokuda, GLP-1'in reseptörlerinin varlığı gösterilmiştir. GLP-1'in kardiyoprotektif etkisi için iki yolak bulunduğu öne sürülmüştür. GLP-1 reseptörü aracılıklı yolakda; inotropik etki, glukoz alımını arttırıcı ve iskemiye karşı hazırlayıcı etki oluşmaktadır. İkinci yolak ise; NO aracılıklı reseptörden bağımsız vazodilatatör yolaktır.

GLP-1 agonistlerinin kardiyovasküler hastalık ve endotel disfonksiyonu üzerine olumlu etkileri olabileceği iddia edilmektedir. Ancak bu konularda, diyabet tedavisinde etkinliği ispatlanmış olan insülin karşılaştırılmalı çalışma çok az sayıdadır.

Çalışmamızda daha önce glisemik etkinlikleri benzer bulunmuş olan, insülin glargin ile GLP-1 agonisti eksenatide'in endotel fonksiyonları ve kardiyovasküler risk belirteçleri üzerine etkisini karşılaştırmayı amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1.DİYABETES MELLİTUS

Diyabetes Mellitus (DM); mutlak veya göreceli insülin yetersizliğinin neden olduğu, karbonhidrat, protein ve yağ metabolizması bozukluğu ile sonuçlanan metabolik bir hastalıktır. Toplumlarda değişen oranlarda görülür. Mikro ve makrovasküler komplikasyonlarla seyreder, mortalite ve morbiditesi yüksektir.

2.1.1. Epidemiyolojisi:

Uluslararası Diyabet Federasyonu (IDF) verilerine göre; 2011 yılı itibarıyla Dünya’da 366 milyon diyabetli yaşadığı, bunların büyük bölümünün 40–59 yaş aralığında olduğu, eğer önlem alınmazsa bu sayının 2030 yılında 552 milyona ulaşacağı tahmin edilmektedir (1).

Geçtiğimiz yüzyılın son çeyreğindeki artışlar ve IDF’in 2030 projeksiyonu düşünüldüğünde diyabet epidemisinden bahsetmek pek de yanlış olmayacaktır.

Türkiye’de TURDEP-II verilerine göre diyabet sıklığı %7,2’den, %13,7’ye yükselmiştir (2). Tüm dünyada tanı konulan diyabet olgularının %90-95’ini tip 2 diyabet, %5-10’unu tip 1 diyabet, %2-3’ünü de diğer diyabet formları oluşturmaktadır (3). Gelişmiş ülkelerde körlük, son dönem böbrek yetersizliği ve travma dışı amputasyonların en önemli nedeni diyabettir.

Diyabet sıklığı yaşlanma ile artmaktadır. Geçtiğimiz yüzyılda tıp alanındaki gelişmeler sayesinde ortalama ömür uzamıştır. Bu durum diyabet sıklığındaki artışın bir nedenidir.

2.1.1.Sınıflama:

DM sınıflaması tablo 1’de gösterilmiştir.

Diyabetes Mellitusun etiyolojik sınıflaması
1- Tip 1 (Beta hücre yıkımı, mutlak insülin yetmezliğine yol açar)
A. Otoimmün
B. İdiyopatik
2- Tip 2 (Göreceli insülin yetersizliği ile insülin direncinin birlikte seyreden formları olduğu gibi insülin direnci olsun olmasın, , belirgin sekresyon bozukluğu ile seyreden formları da vardır.)
3- Diğer spesifik formlar
a) Beta hücre işlevindeki genetik bozukluklar
Örnek: Erişkin form gibi başlayan gençlerde görülen diyabet (MODY) grubu.
b) İnsülin etkisindeki genetik bozukluklar
Örnek: Tip A insülin direnci, Rabson-Mendenhall send. gibi
c) Diyabetle seyredabilen sendromlar:
Örnek: Down sendromu, Prader –Willi sendromu
d) İmmün aracılı diyabet formları:
Örnek: İnsülin otoimmün sendrom (insüline karşı antikor), antiinsülin reseptör antikorları
e) Ekzokrin pankreas hastalıkları:
Örnek: Pankreatit, neoplazileri, pankreatektomi operasyonu sonrası vb.
f) Endokrinopatiler:
Örnek: Cushing sendromu, akromegali, feokromositoma
g) İlaç veya kimyasal kaynaklı
Örnek: Alfa interferon, nikotinik asit, glukokortikoidler
h) Enfeksiyonlar:
Örnek: Konjenital rubella, CMV enfeksiyonları gibi.
4- Gestasyonel diyabet

Tablo 1. Diyabetes mellitusun etiyolojik sınıflandırması (4)

2.2. TİP 2 DİYABETES MELLİTUS

2.2.1. Patogenez

Tip 2 diyabet hiperglisemi, insülin direnci ve görece bozulmuş insülin sekresyonuyla karakterizedir (5). Sedanter yaşam tarzı ve obezite nedeniyle geçen on yılda sıklığı alarm verici boyutlara ulaşmıştır (6).

2.2.2. Genetik

Tip 2 diyabetin patogenezinde genetik ağırlık çok belirgindir. Basit bir gözlemlerle bile tip 2 diyabetlilerin 1.derece yakınlarında tip 2 diyabet oranının genel topluma göre daha fazla olduğu görülmektedir. Bu durumu destekleyen diğer bulgular, aile içi kalıtım birikimi, çift yumurta ikizlerinden ziyade tek yumurta ikizlerinde yüksek tip 2 diyabet konkordans oranı (7) ve bazı etnik gruplarda (Pima yerlileri veya Meksika asıllı Amerikalılarda) yüksek tip 2 diyabet sıklığıdır (8). Farklı bölgelerde yaşayan, genetik açıdan benzer toplumlarda tip 2 diyabet sıklığının değişiklik gösterdiği saptanmıştır (9). Bu durum tip 2 diyabetin, diyet ve yaşam tarzı bağlantısına bir örnektir. Genetik yatkınlığı belirleyen ortak bir gen gösterilememiştir. Poligenik etki öngörülmektedir. Bunun anlamı hastalığın ortaya çıkması için aynı anda birçok genin anormal olması gerekliliğidir.

Genetik etki veya etkiler, hastalığın patogenezinde temel olan her iki öğeyi; İnsülin direnci ve beta hücre insülin salgı anormalliğini ayrı ayrı etkilemektedir. Bir diğer dolaylı etki de hastaların %80-85'inde bulunan obezitedir (10).

Tip 2 diyabette monogenik özellik gösteren tek durum, MODY tip diyabettir. Otozomal dominant geçişli olup, erken başlangıçlı bir tip 2 diyabet formudur. Patogenezinde esas olan beta hücre disfonksiyonudur. Tip 2 diyabette sık rastlanılan insülin direnci ve obeziteye bu grupta rastlanmaz (11).

2.2.3. İnsülin Direnci

İnsülin direnci; insülinin, endojen glukoz üretimi üzerindeki baskılayıcı, periferik glukoz alımı ve glikojen sentezi üzerine uyarıcı ve adipoz dokuda lipoliz üzerine baskılayıcı metabolik etkilerine karşı gelişen direnç anlamına gelmektedir.

İnsülin direncinin glukoz intoleransı ve tip 2 DM, hipertansiyon, dislipidemi, ateroskleroz ve çeşitli kanserlerle birlikteliğini gösteren önemli epidemiyolojik bulgular vardır (12). Tip 2 diyabet gelişiminde insülin direncinin önemli rol oynadığına inanılmaktadır. Gerçekten prospektif çalışmalar, insülin direncinin tip 2 diyabet gelişiminden 10–20 yıl önce bulunduğunu ve tip 2 diyabetin en önemli bulgusu olduğunu göstermektedir (13,14). Aşikâr diyabetes mellitusun ortaya çıkması için insülin sekresyonunda bozuklukların da ortaya çıkması gereklidir. Beta hücre fonksiyonunda bozukluk olmadığı koşullarda, insülin direncini uygun hiperinsülinemi kompanze edebilir (13). Bu nedenle insülin direnci olan birçok kişide hiçbir zaman diyabet gelişmeyebilir. Ama ateroskleroz riski, diyabetik olanlarla tek başına insülin direnci olanlarda aynıdır (15).

İnsülinin hedef dokuları; karaciğer, yağ ve iskelet kas dokusudur. İnsülin direncinin bazı dokularda başlaması diğerlerinden önce olabilir.

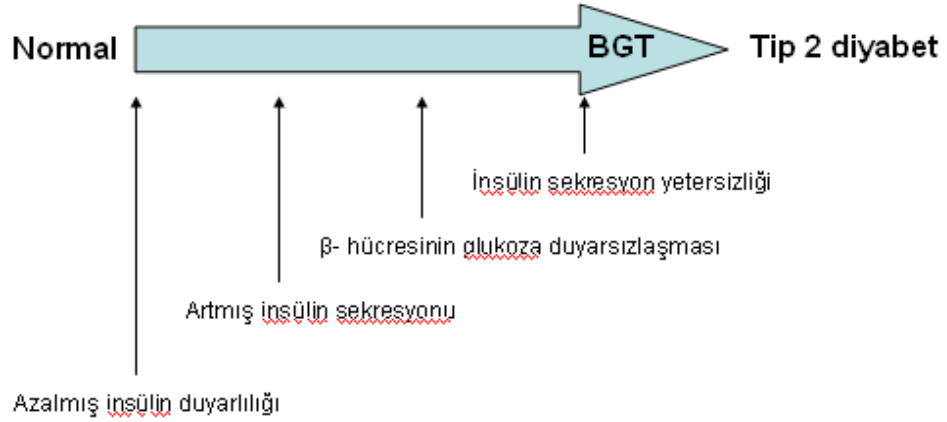
Tip 2 DM'nin en sık saptanan bulgusu genetik ya da metabolik faktörlere ikincil iskelet kasında insülin direnci gelişimidir (16). Glukoz alımı veya glukoz infüzyonunu takiben glukozun %80'nin iskelet kası tarafından kullanıldığı tespit edilmiştir. Bu bize glukoz homeostazisinde en önemli organın iskelet kası olduğunu göstermektedir (13). İnsülinin bu dokunun glukoz kullanımındaki uyarıcı etkisinin, tüm vücut glukoz homeostazisinde önemi büyüktür. Tip 2 diyabette insülin etkisi ile oluşan glukoz alımının ve fosforilasyonun iskelet kasında bozulmuş olduğu gösterilmiştir (17).

Yağ dokusundaki insülin direnci, insülin tarafından yağ dokusunda lipolizin baskılanamaması ile karakterizedir. Sonuçta dolaşımda serbest yağ asitleri artar. İnsülinin serbest yağ asitlerinin oluşumu üzerine baskılayıcı etkisi obezler, insülin direnci olanlar ve tip 2 diyabetlilerde bozulmuştur (18).

İnsülin karaciğerde, glikojenolizi ve glukoneogenezi baskılamaktadır. İnsülin direnci olgularında bu etkisi engellenmektedir.

İnsülin direnci varlığında, insülin hedef dokularda etkisini gösteremez ve kanda hiperglisemi oluşur. Hiperglisemiyi kompanze etmek için daha fazla insülin sekresyonu gerçekleşir. Fakat beta hücresi fonksiyon kaybetmeye başlayınca, insülin sekresyon eksikliği ve sonuçta diyabet gelişir (19). Buradan da anlaşılacağı gibi

insülin direnci ile başlayan prelinik ve BGT dönemi, insülin sekresyonunun azalmasıyla diyabet ile sonuçlanır.



Şekil 1. Tip 2 diyabetin ilerleme patogenezinin modeli. BGT: Bozulmuş glukoz toleransı.

2.2.4. Tip 2 D.M’de Beta Hücrelerinin Disfonksiyonu

2.2.4.1. Normal beta hücrelerinin fonksiyonu

Pankreatik beta hücreleri insülin sekrete ederek hücrel enerji kaynaklarının depolanması ve metabolizmasını kontrol etmektedirler. Bu önemli fonksiyon, gliseminin beta hücre fonksiyonunu düzenlediği bir geri kazanım döngüsü ile başarılmaktadır. Yani insülin salgılanması; proinsülin biyosentezi, proinsülinin insüline dönüşümü ve beta hücresi çoğalma hızı ve buna cevaben salgılanan insülin, hepatik ve renal glukoz üretimini baskılayarak ve öncelikle iskelet kası olmak üzere hedef organlarda glukoz alımını arttırarak glisemiye azaltır.

Önemli olan sadece insülin salınım miktarı değildir. Serum glukozunda ani ve hızlı bir artış, 5–7 dk. süren büyük bir insülin patlamasına neden olur (erken faz insülin salınımı). Ardından hiperglisemi devam ettiği zaman boyunca süren devamlı bir insülin sekresyonu (geç faz insülin salınımı) olmaktadır. Fazlar birbirinden kesin çizgilerle ayrılmamasına rağmen, erken faz yemek sonrası ilk 30 dakikayı, geç fazda postprandiyal 1–2 saati kapsamaktadır (20).

İnsülin sekresyonu, hepatik glukoz üretiminin tam regülasyonu için gerekli olduğu düşünülen 11–14 dakika aralık gösteren pulsasyonlarla gerçekleşir (21). Aynı

zamanda gün boyunca büyük patlamalar halindeki insülin salınımı (ultradian osilasyonlar) özellikle yemeklerle birlikte çok defalar olur (22).

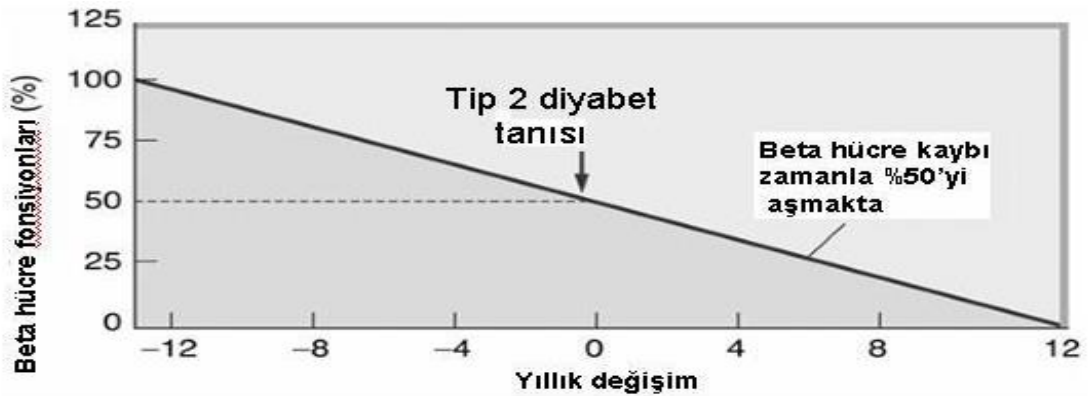
Böylece beta hücresi, öğüne toplam insülin cevabını ve zamanlamasını normoglisemiye koruyacak şekilde kontrol eder.

2.2.4.2. Glukoza beta hücre cevapsızlığı

Tip 2 DM'nin karakteristik özelliği yemeğe karşı verilen ilk faz insülin cevabının kaybıdır. Bu durum tip 2 DM'de açlık hiperglisemisinden önce görülen, bozulmuş glukoz toleransı ve aşikar diyabet için karakteristik olan postprandiyal hipergliseminin esas nedenidir. Tip 2 DM ikinci faz insülin salınımı da az derecede bozulmuştur (23).

2.2.4.3. Beta hücresi kütlesi ve yapısı

Tip 2 DM'de beta hücre kütlesi konusunda görece az şey bilinmektedir. İnsanlarda pankreastan biyopsi örnekleri alınması mümkün olmayınca yapılacak araştırmalarda kısıtlı kalmaktadır. Klöppel ve arkadaşları bu konuda yaptıkları büyük bir çalışmada; hem obez hem de obez olmayan tip 2 diyabetli hastalarda tanı esnasında, beta hücre kütlesinin %50 azaldığını tespit etmişlerdir (24).



Şekil 2. Beta hücrelerinde zamanla oluşan fonksiyon kaybı. Tanı anında tip 2 diyabette beta hücre kütlesi %50 azalmıştır. UKPDS çalışması sonuçları. Diabetes, 1995;44:1249–1258

2.2.5. Tip 2 Diyabette Çevresel Faktörler

Yeme alışkanlığı, diyetin türü ve miktarı, ilaçlar, egzersiz azlığı, yaşlanma, gebelik gibi bazı çevresel etkenler, diyabet gelişimi üzerinde etkili olabilir.

Geçen yüzyılda, beslenmenin düzelmesi, daha iyi hijyen ve birçok bulaşıcı hastalığın kontrol altına alınması, yaşam süresini ve kalitesini artırmıştır. Fakat tip 2 diyabet ve obezite prevalansını artırmıştır.

Hemen tüm toplumlarda modernleşmenin yararlarına, yüksek yağ içeren diyetler ve azalan fiziksel aktivite eşlik etmiştir. Amerikan Yerlileri ve Pasifik adaları toplumlarında, tip 2 diyabetin patlama göstermesi, tip 2 diyabete yüksek genetik duyarlılığı olan toplumlar da olsalar, dikkatimizi çevresel etkenlere yöneltmektedir. Bu topluluklarda üretim ilişkisi, önce avcı-toplayıcı daha sonra toprağa dayalı bir ilişkiydi. Sonraları bu yapı; sedanter, gelişmiş ülkelerden ithal edilen doymuş yağdan zengin, yüksek enerjili, işlenmiş yiyeceklerden oluşan bir diyeti içeren modern tarzda yaşantıyla yer değiştirdi (25).

Neel'in verimli gen hipotezi; önceki bin yılda açlık dönemlerinde tüm mevcut enerjiyi etkin şekilde depolayarak hayatta kalmayı sağlayan genlerin, sürekli yüksek enerjili gıda alımı durumunda obeziteye yol açan genler olarak yeniden ortaya çıktıklarını ileri sürer (26).

Çağımızda çocuklar bile diyabet ve obezite epidemisine yakalanmaktadır. Japonya'da çocukluk çağında tip 2 diyabet tip 1'den çok daha sıktır. Ve çocukluk çağı diyabetlerinin %80'ini oluşturmaktadır (27). Bu yaş grubunda tip 2 diyabet prevalansındaki artış nedenleri arasında; oyun için veya okul eğitimi gereği bilgisayar kullanımı, televizyon başında geçirilen sürenin artışı, buna karşılık spor aktivitesi süresinin kısılması, doymuş yağ oranı yüksek, yüksek enerjili besinlere kolay ulaşım gibi faktörler sayılabilir.

2.3. OBEZİTE VE TİP 2 DİYABET İLİŞKİSİ

Obeziteyi artmış vücut yağ kütlesi olarak tarif edebiliriz. Obezitenin tanımı, farklı depolarda biriken adipoz dokunun farklı sonuçlara neden olduğunun anlaşılması temelinde yeniden ele alınabilir. Nitekim obezitenin; diyabet, insülin direnci, hipertansiyon ve hiperlipidemi dahil çok önemli komplikasyonlarının pek çoğu intraabdominal yağ (viseral adipoz doku) ile ilişkilidir. İnsanda beyaz yağ

dokusu temelde, subkutan doku ve intraabdominal bölgede lokalizedir. Subkutan yağ dokusu kütle olarak intraabdominal yağ dokudan 3–4 kat fazladır. İntraabdominal yağ doku, omental, mezenterik ve perirenal bölgede yer alır. Omental ve mezenterik yağ doku, viseral yağ dokusu olarak da bilinir (28).

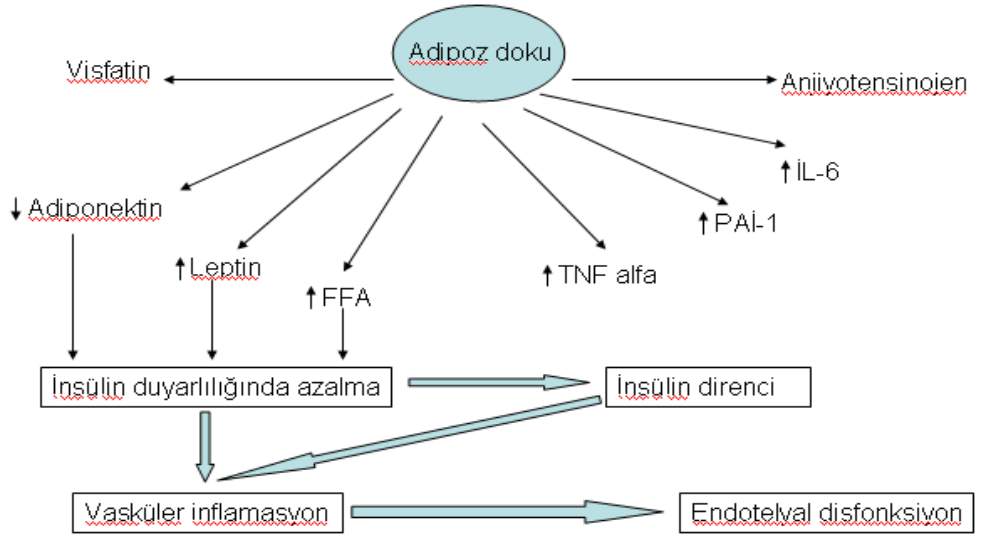
Viseral yağ doku metabolik olarak aşırı aktiftir. Adipokinler olarak bilinen biyoaktif proteinler salgılar. Bu sitokinler aracılığıyla; otokrin, parakrin, endokrin etki oluşturur. Böylelikle; MSS, glukoz ve lipid metabolizması, enerji dengesi, angiogenez, immün sistem, renin-anjiyotensin komponentlerinin yapımı ve üreme ile ilişkili pek çok sistemi etkiler. Viseral yağ dokusunun lipoliz oranı subkutan yağ dokudan fazladır ve katekolaminlerle kolaylıkla uyarılır. Viseral adipozitte yüksek lipolitik aktivite, beta adreno reseptör uyarıcı etkinin, antilipolitik etkinliği olan alfa adrenerjik etkiden daha fazla olması nedeniyledir (29).

Viseral yağ doku, subkutan yağ dokudan fazla ise insülin direnci gelişir. Bunda bu dokudan serbestleşen yağ asitleri ve karaciğere yağ asidi akım hızında artış olması sorumlu tutulmaktadır. Viseral yağın diyet ya da cerrahi ile azaltılması insülin direncinde düzelme, trigliseridlerde düşme ve HDL’de artışa yol açar (28,29).

Viseral adipoz doku arttıkça adipoz dokuya makrofaj infiltrasyonu olur. Adipoz doku arttıkça sadece makrofaj artmakla kalmaz, adipozitler makrofajların görevini de alır. Adipozit prekürsör hücreler fagositik kapasiteye sahiptir ve uygun uyarıyla makrofaj gibi davranır. Böylece kemokin ve sitokinlerin salınımı ile düşük dereceli bir inflamasyon ortaya çıkar. Adipozit ve makrofaj aktive edildiklerinde TNF α ve İL-6 eksprese ederler (30).

Adipozit çapı 10 kat, volümü 1000 kat artabilir. Obezitede adipoz doku genişler. Adipozit çapı; insülin direnci, tip 2 diyabet ve metabolik sendrom için bağımsız bir belirteçtir (28,30).

Adipoz doku, obezite ile ilişkili insülin direnci ve tip 2 DM patogenezinde çok önemli rol oynar. Fakat mekanizma net olarak anlaşılabilmiş değildir. Bunun için 3 teori öne sürülmüştür.



Şekil 3. Adipositokinler aracılığıyla oluşan insülin direnci ve endotel disfonksiyonunun şematik gösterimi.

1- Adipoz dokudan salınan adipositokinler: Adipoz dokudan TNF α , İL-6, PAI-1, leptin, adiponektin, rezistin, retinol bağlayıcı protein-4 gibi pek çok nörohumoral ve preinflamatuvar mediyatörler salgılanır. Bunların lokal ve sistemik etkileri vardır. TNF α ve İL-6, insülin sinyal yolağında tirozin/serin fosforilasyonunun inhibisyonu artırarak ve yolda birçok protein ekspresyonunu down regüle ederek insülin direncine neden olur. İnsanlarda obezitede dolaşımda artmış leptin düzeyi gösterilmiştir. Artmış leptin düzeyi, leptin direnci ve obezite ile birliktelik göstermektedir. Leptin normalde yağ asidi oksidasyonunu uyarır. Leptin direnci varlığında, yağ asidi oksidasyonu olmaz. Retinol bağlayıcı protein insülin duyarlılığını azaltır. Rezistin insülin duyarlılığı ve glukoz toleransını bozar. Adiponektin, sadece yağ dokudan salınır. Salınımı ile insülin direnci, obezite ve tip 2 DM azalır. Adiponektin ile proinflamatuvar sitokinlerin salınımı ters ilişkilidir. Obezitede adiponektin düzeyi azalır.

2- Adipoz dokudan aşırı salınan serbest yağ asitlerinin kas ve karaciğer gibi insülin duyarlı dokuları etkilemesi: Abdominal obezitede, dolaşıma geçen aşırı serbest yağ asitleri insülin direncinin temelini oluşturur. Serbest yağ asitlerinin, viseral yağdan portal vene geçişine bağlı olarak, hipertrigliseridemi ve insülin direnci gelişir.

3- Subkutan yağ doku kaybı: Aşırı viseral yağ dokusu artışı, subkutan yağ dokusunun yetersizliğini yansıtır. Yokluğu insülin direnci nedenidir. Lipodistrofi olarak bilinen yeterli subkutan yağ dokusunun bulunmaması insülin direnci ve diyabet nedenidir. Bu kişilerde adipoz dokuda makrofajlar artar (28–31).

2.3.1. Ektopik yağ dokusu ve diyabet ilişkisi:

Birçok dokuda küçük intrasellüler lipid rezervi vardır. Bu rezerv acil enerji kaynağı olarak görev görür. Progresif obezitede; karaciğer, pankreas, iskelet kası, kalp ve böbrek gibi yağ dokusu olmayan organlarda lipid birikir. Buna ektopik yağ depolanması veya steatoz adı verilir. Ektopik yağ, kas ve karaciğerde insülin direncine neden olarak diyabet gelişimine neden olabilir (32,33). Ektopik dokularda yağ birikimi; artmış serbest yağ asidi sentezi, dokuda de novo sentez ya da azalmış yağ asidi kullanımı ve oksidasyonu nedeniyle de oluşabilir (29,33).

2.4. ENDOTEL FONKSİYONU VE DİSFONKSİYONU

Ateroskleroz çocukluk çağında başlar, prelinik dönemde sessiz seyrederek. Orta yaşlardan itibaren klinik olarak ortaya çıkar. Hastalığın başlaması, ilerlemesi, daha sonraki aktivasyonu ve ona bağlı morbid olay riskindeki artışın, vasküler biyolojide meydana gelen belirgin dinamik değişikliklere bağlı olduğu son otuz yıl içinde netleşmiştir (34).

Endotelyal fonksiyonlardaki değişiklikler, aterosklerotik morfolojik değişikliklerden önce oluşmaktadır. Bu değişikliklerin, aterosklerotik lezyon gelişimine ve sonraki klinik komplikasyonlara katkısı olabilmektedir (35).

2.4.1. Normal vasküler homeostaziste endotelin rolü

Sağlam endotel tek katlı basit bir yapı olmasına rağmen; fiziksel ve kimyasal sinyallere cevap olarak vasküler tonus, sellüler adhezyon, tromborezistans, düz kas hücre proliferasyonu ve damar duvarı inflamasyonunu düzenleyen birçok faktörün üretildiği bir yapıdır. Vasküler hareketliliğin, doku oksijen desteği ve metabolik talebinin karşılanmasında doğrudan rolü vardır (36).

NO, endotel kaynaklı nitrik oksit sentetaz (eNOS) aktivasyonu ile *tetrahidrobiopterin gibi kofaktörlerin varlığında* L-argininden sentezlenir (37,38).

Bu gaz vasküler düz kas hücrelerine yayılır ve guinilat siklazı aktive ederek, siklik guanidin monofosfat (cGMP) aracılıklı vazodilatasyona yol açar. Shear stres, eNOS'un anahtar roldeki aktivatörüdür. Kalp debisindeki değişikliklere organ perfüzyonlarının adapte olmasını sağlar (39).

Endotel kaynaklı hiperpolarizan faktör (EDHF), vazodilatasyona yol açan endotel kaynaklı diğer bir faktördür. Vasküler düz kas hücrelerinin NO'dan bağımsız hiperpolarizasyonu ile potasyum iletkenliğini arttırarak ve oluşan depolarizasyon sonrası vasküler düz kas hücrelerine yayılımını arttırarak, vazodilatatör tonusun devamını sağlar (40). EDHF, NO aracılıklı vasküler tonus kaybını mikrosirkülasyon düzeyinde karşılayabilmektedir. Bu durum NO biyoyararlanımı azaldığında önemli olmaktadır (41).

Prostasiklin, NO'dan bağımsız hareket eden endotel kaynaklı vazodilatatördür. Endoteldeki diğer düzenleyici rolleri yanında, insanda vazodilatatör tonusun sağlanmasında sınırlı rolü mevcuttur (42).

Endotel sadece vazodilatatör maddelerin salınımını sağlayarak değil aynı zamanda konstrüktör tonusu etkileyen; endotelin ve vazokonstrüktör prostanooidlerin (Tromboksan A2, Prostaglandin H2) üretimi ve endotelyal yüzeyde anjiyotensin I'in anjiyotensin II'ye dönüşümünü sağlayarak vasküler hareketliliği sağlamaktadır (43, 44).

Normal vasküler fizyolojide; vasküler duvarın sakin bir konumda kalmasında NO'nun anahtar bir rolü vardır. Bunu inflamasyonu, sellüler proliferasyonu ve trombozisi baskılayarak ile yapmaktadır (45).

2.4.2. Endotelyal aktivasyon ve ateroskleroz

Birçok kardiyovasküler risk faktörü endoteldeki moleküler mekanizmayı aktive ederek kemokinlerin, sitokinlerin ve adhezyon moleküllerinin sunumuna neden olur. Bunlar lökosit ve trombositlerle etkileşime geçerek işlev gören moleküllerdir (46).

Serbest oksijen radikalleri (Reactive oxygen species (ROS)) süperoksit mutaz varlığında, hidrojen peroksit üretimine neden olur. Hidrojen peroksit, NO'ya benzer şekilde hücre boyunca dağılır ve proteinlerin sistein gruplarına etki ederek, onların fonksiyonlarını değiştirir (47).

Bu arada, transkripsiyon faktörlerinin fosforilasyonu, transkripsiyon genlerinin ve nükleer kromatinin yeniden şekillenmesinin teşvik edilmesi gibi birçok kimyasal reaksiyon oluşur. Normalde endotelin istirahat halinde kalmasını sağlayan eNOS bu durumda, endotelyal aktivasyonda rolü olan serbest oksijen radikallerinin üretilmesine neden olur. Buna eNOS ayrılması denilir. eNOS kofaktörlerinden olan tetrahidrobiopterin yokluğunda süperoksit formasyonuna veya substratı olan L-arginin eksikliğinde, hidrojen peroksit üretimine neden olur. Tüm bu olaylar eNOS'u, endotelin sakin ve aktive olmuş fenotipindeki düzenleyici rolü nedeniyle, endotelyal homeostaziste merkezi konuma getirir (46).

Eğer endotelyal aktivasyon ve redoks sinyalizasyonu normal konak savunmasının bir parçası ise, onun aterogenez ve klinik olaylara etkisi hesaba katılmalıdır. Normal konak savunmasıyla, zararlı hücrel aktivasyon arasındaki fark; doğası, yaygınlığı, süresi ve proinflamatuvar uyarı ile kombinasyonun sonucu olabilir. Örneğin hafif geçirilen çocukluk çağı enfeksiyonlarının endotel bağımlı

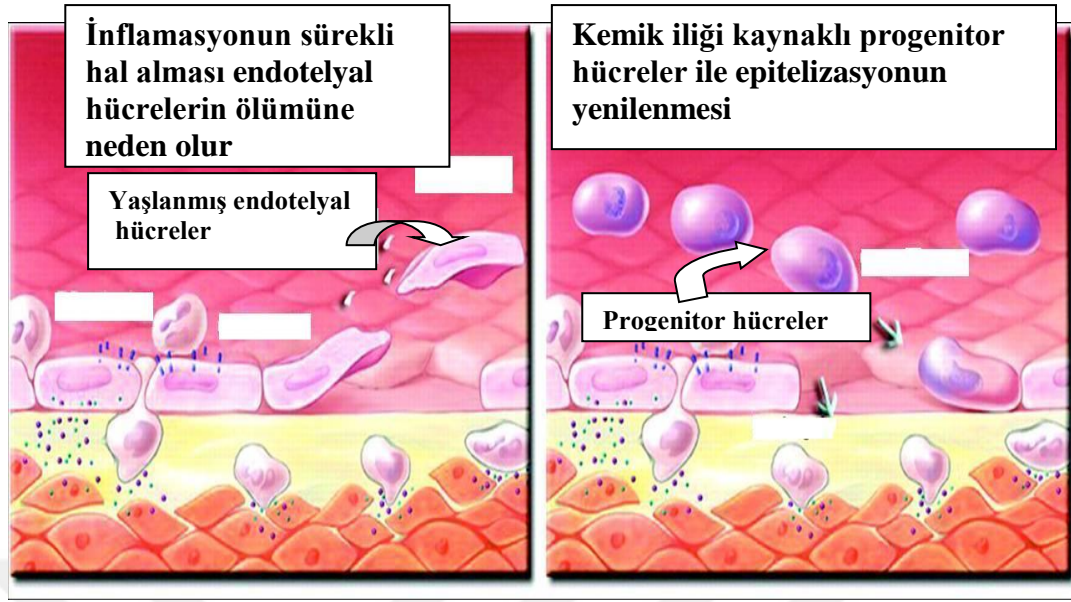
dilatasyonda geçici fakat ciddi azalma yaptığı gösterilmiştir (48). Bu değişiklik adaptif olabilir ve aterojenik olmayabilir. Fakat diğer çevresel faktörlerin varlığında etkili olabilir. Ancak; hiperkolesterolemi, hipertansiyon, diyabet ve diğer inflamatuvar durumlar gibi başka faktörlerin varlığında etkili olabilir. Örneğin periodontit NO ve serbest oksijen radikallerinin üretimini kronik olarak bozabilir (49,50). Bütün bu endotelyal aktivasyonu tahrik eden mekanizmalar çoğunlukla genetik faktörlerle kontrol edilmektedir. Kronik serbest oksijen radikallerinin (ROS) üretimi, hücrel enzimatik ve nonenzimatik antioksidanların kapasitesini aşınca, sürekli endotelyal aktivasyon ve dolayısıyla damar hastalığına katkı sunmaktadır. Oksidatif fosforilasyon sırasında ROS'un üretimi ve mitokondriyal süperoksit dismutaz kapasitesi mitokondride ayarlanmış durumdadır. Bu denge, obezite ile ilişkili hastalıklarda ve tip 2 diyabette artmış substrat sunumu dolayısıyla bozulmuştur (51).

Oksidatif stresin diğer önemli kaynakları, nikotinamid adenin dinükleotid fosfat oksidaz (NADP oksidaz) ve ksantin oksidazın, koroner arter hastalığı olanların arterlerinde aktivitelerinin arttığı gösterilmiştir (52).

Endotelyal ROS sinyalizasyonu; inflamatuvar sitokinler, büyüme faktörleri ve lökositlerle, endotelin etkileşimi ile de başlayabilir. Kaynaklarından bağımsız olarak ROS ve NO arasındaki etkileşim; endotelyal aktivasyon ve inflamasyonla sonuçlanan tehlikeli bir döngüye neden olur (53).

2.4.3. Endotelyal zedelenme ve tamir

Uzamış ve/veya tekrarlayan kardiyovasküler risk faktörlerine maruziyet, endotelyal hücrelerin de içinde olduğu, endojen antiinflamatuvar sistemlerin koruyucu etkilerini tüketebilir. Sonuçta, endotel sadece disfonksiyonel olmakla kalmaz endotelyal hücreler bütünlüklerini kaybedebilir, yaşlanma sürecine girebilir ve dolaşıma katılabilir (54).



Şekil 4. Endotelyal zedelenme ve tamir. John E.Deanfield ve ark. Endothelial function and dysfunction (55). Circulation.2007;115:1285–1295’den uyarlanmıştır.

Endotelyal bütünlük; sadece hasarın derecesine bağlı değil, endojen tamir kapasitesine de bağlıdır. Bu tamirin oluşumunda 2 mekanizma tanımlanmıştır. Komşu olgun endotelyal hücreler lokal olarak çoğalabilir, hasarlı veya kaybolan hücrelerin yerini alabilirler. Son dönemde modellenen çalışmaya göre; sağlıklı koşullarda vasküler bütünlüğün sağlanmasında lokal endotelyal hücreler yeterli olabilmektedirler. Fakat risk faktörlerinin varlığında, lokal çoğalma tek tamir mekanizması olarak endotelyal bütünlüğün devamında yeterli olamamaktadır (56).

Endotelyal progenitor hücrelerin, endotelyal tamir ve bütünlüğün korunmasında alternatif bir mekanizma olduğu netleşmiştir. Bu hücreler kemik iliğinden dolaşıma verilir, periferik kanda dolaşırlar ve endotelyal olgun hücrelere farklılaşırlar. Bu hücrelerin hareketliliği, NO’ya bağımlıdır. Bu nedenle kardiyovasküler risk faktörleri ile bu etki bozulabilmektedir (57,58).

Endotelyal fonksiyonların ve NO biyoyararlanımının iyileştirilmesinde rolü olan faktörler örneğin: statin grubu ilaçlar ve egzersizin endotelyal progenitor hücre mobilizasyonu üzerine pozitif etkileri olduğu gösterilmiştir (59,60).

Dolaşan endotelyal progenitor hücreler inflamatuvar sitokinlerin etkisiyle, makrofaj ve dendritik hücreler gibi myeloid hücrelere farklılaşabilmektedirler.

Böylelikle dolaşan endotelial progenitör hücrelerin biyolojisi vasküler hastalık patogenezinde; endotelial tamir kapasitesi ve zedelenmeye etki ederek asıl rolü oynuyor gibi gözükmetedir (61).

Artmış dolaşan endotelial progenitör hücre varlığında, risk faktörlerinin yüksek düzeyine rağmen endotelial fonksiyonlar korunmuştur (62).

2.4.4. Endotelial fonksiyonun klinik değerlendirilmesi

Endotelial vasküler biyolojinin anlaşılması, normal ve aktive olmuş endotel fonksiyonlarının değerlendirilmesi amaçlı birçok klinik testin gelişimini de sağlamıştır. Uygun metotların avantaj ve dezantajları tabloda özetlenmiştir.

İdeal test; sonuçlarına güvenilir, non-invaziv, tekrarlanabilir, ucuz, laboratuvarlar arasında standardizasyon sağlanmış olmak gibi özellikler içermelidir. Sonuçlar, aterosklerotik hastalığın doğal sürecini dinamik olarak yansıtmalı, subklinik hastalığı tanımlayabilmeli, daha sonraki dönemler için risk derecelendirmesine yardımcı olmalıdır. Tek bir test bu ihtiyaçları karşılayamaz. Endotelial biyolojinin değişik yönlerini ortaya koymak için çeşitli testlerden oluşan bir panele ihtiyaç vardır.

Teknik	Non-invaziv	Tekrar yapılabilirlik	Vasküler biyolojiyi yansıtma	Ölçüm tekniği
Kardiyak kateterizasyon	-	-	+	Koroner kan akımı ve çap değişikliği ile sonuç verir
Venöz oklüzyon pletismografi	-	+/-	+	Ön kol kan akımı değişikliği prensibine dayanır
Akım aracılıklı dilatasyon (FMD)	+	+	+	Brakiyal arter çap değişikliği ile ölçüm gerçekleştirilir.
Pulse wave analiz (PWA)	+	-	+	Augmentasyon indeksi değişikliği ile ölçüm yapılır
Pulse contour analiz (PCA)	+	+	+	Reflektif indekste değişiklikle değerlendirme yapılır
Pulse amplitüd tonometri (PAT)	+	+	+	Pulse amplitüd ile değerlendirme yapılır

Tablo 2. Endotel fonksiyonun klinik değerlendirme metotları (55). +: Literatür desteği var, -: Yeterli kanıt yok.

En yaygın kullanılan yöntem endotel bağımlı vazodilatasyonun ultrasonografi ile ölçümü esasına dayanmaktadır. Bu test esas olarak, fizyolojik stimulanlarla endotelial NO ve diğer vazodilatasyon yapan farmakolojik ajanlarla vasküler cevap ile endotelden bağımsız vazodilatasyon yapan farmakolojik ajanlarla vasküler cevabın karşılaştırılması esasına dayanır. NO'un biyoyararlanımı onun sadece vasküler tonus üzerine etkinliğini yansıtmaz ayrıca bu molekülün tromboregülasyon, hücresel adhezyon ve proliferasyon gibi diğer önemli işlevlerini de yansıtır. (53,61).

Asimetrik dimetilarginin
Endotelin-1
Adhezyon molekülleri (E-selektin, P-selektin, VCAM-1 ve ICAM-1)
Von Willebrand faktörü
Doku plazminojen aktivatörü (tPA)
Plazminojen aktivatör inhibitörü-1 (PAI-1)
Matür endotelial hücreler
Endotelial progenitör hücreler

Tablo 3. Dolaşımdaki endotelial fonksiyon belirteçleri

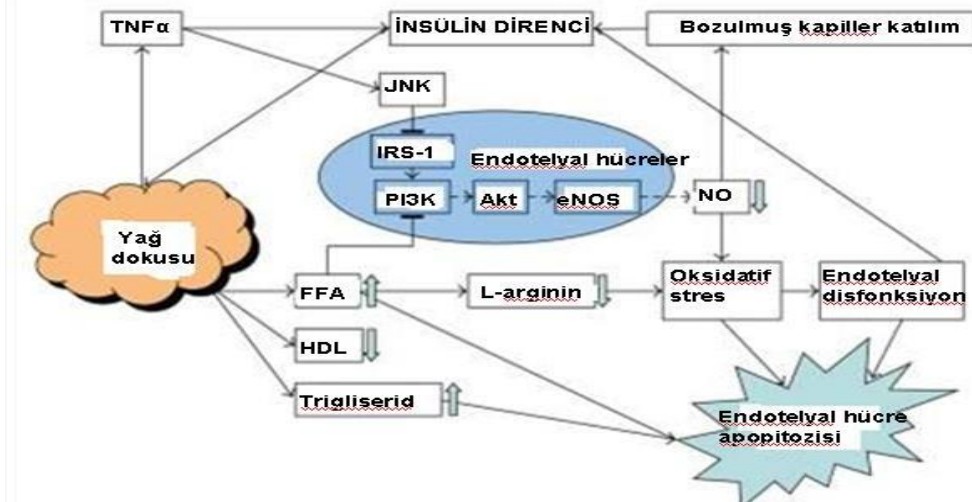
2.5. ENDOTEL DİSFONKSİYONU VE TİP 2 DİYABET

Endotelial disfonksiyon, obezite ile ilişkili tip 2 diyabette vasküler hastalık patogeneğinde en önemli faktördür (63,64). Endotelial disfonksiyonun diyabetik retinopati, nefropati ve ateroskleroz ile yakın ilişkisini gösteren birçok kanıt mevcuttur (63,65). Büyük ölçekli klinik çalışmalar tip 2 diyabette hipergliseminin, mikrovasküler komplikasyonlarda rol oynayan en önemli etken olduğu göstermiştir. Endotel disfonksiyonu ve endotelial hücre apoptozunda da hipergliseminin etkisi gösterilmiştir (64,66). Ancak hiperglisemi ile ilişkili doku hasarı ve klinik komplikasyonlar arasındaki mekanizma tam net değildir. Obezite ile ilişkili insülin direncinden tip 2 diyabete progresyon ile endotelial disfonksiyondan ateroskleroza ilerleme arasında paralellik mevcuttur. Ancak bu ilişkiyi açıklamak çok zordur. Çünkü insülin direnci, endotelial disfonksiyon oluşturan diğer risk faktörleri ile kümelenme göstermektedir.

Endotelial disfonksiyon; yaşlanma, obezite, hiperlipidemi, hipertansiyon, düşük dereceli inflamasyon, insülin direnci ve hiperglisemi ile oluşabilmektedir (67). Bu faktörlerin hepsi metabolik sendromla birlikte ve genellikle tip 2 diyabet öncesi oluşan durumlardır. Endotelial disfonksiyon ile tüm bu faktörler arasındaki ilişki detaylı araştırmalara rağmen anlaşılabilmiş değildir. Endotelial disfonksiyon sonuç mu yoksa neden mi sorusuna kolayca yanıt verilememektedir.

2.5.1. İnsülin direnci

İnsülin direnci yağ dokudan artmış serbest yağ asidi serbestleşmesi ile ilişkilidir. Sonuçta; plazmada VLDL, trigliserid, serbest yağ asidi seviyesi artarken, HDL kolesterol düzeyi düşer. Yüksek serbest yağ asidi (FFA) ve trigliserid düzeyi endotel disfonksiyonu ile ilişkilidir. Yüksek FFA düzeyinde; azalmış L-arginin ve/veya NO kullanımı ve oksidatif stres nedeniyle, endotelial disfonksiyon oluşabilmektedir (68). Artmış doymuş ve çoklu doymamış serbest yağ asidi düzeyleri (oleik asit dışında) endotelial hücrelerde hücre döngüsü duraksaması ve apoptozu doğrudan teşvik etmektedir (69).



Şekil 5. İnsülin direncinin oluş mekanizması ve yağ dokusunun endotel disfonksiyonu ve apoptozisteki rolü. FFA: Serbest yağ asitleri, IRS-1: İnsülin reseptör substrat-1, PI3K: Fosfoinositol 3 kinaz, JNK: c-Jun NH 2-terminal kinase. Inge A. ve ark. Endothelial dysfunction, inflammation and apoptosis in diabetes mellitus. Mediators Inflamm. 2010'dan uyarlanmıştır.

İnsülin vazoaaktif bir hormondur. NO üretimini uyararak, kaslarda kan akımı artışına ve vazodilatasyona neden olur. Bu kan akımı artışı farklı damarlarda değişik düzeylerde gelişmektedir. Yani insülin direkt olarak kan akımına etki ederek kas dokusu hücreleri tarafından daha çok glukoz alınımını sağlamaktadır. Bu duruma; 'kapiller katılım' denilmektedir.

Tip 2 diyabet, hipertansiyon ve obezitede özellikle NO etkisinin azalması nedeniyle insülinin vazodilatatör etkisi bozulmuştur. Normal koşullarda insülin etkisiyle fosfoinositol-3 kinaz (PI-3 kinaz) yolağının aktivasyonu ile NO sentezi uyarılır. Endotelial disfonksiyon ve bozulmuş 'kapiller katılım' insülin direncine neden olabilir. Çünkü glukoz kullanımı azalmış, mikrovasküler endotel insüline uygun yanıt verememektedir. Bu durum 'endotelial insülin direnci' olarak adlandırılmaktadır. Metabolik ve endotelial insülin direncinin nedeni ve tam ilişkisi net olarak anlaşılabilmiş değildir. TNF- alfa ve esterifiye olmamış serbest yağ asitleri endotelial ve metabolik insülin direncine neden olabilir.

Düşük düzeyli inflamasyon ile hiperinsülinizm arasında iki yönlü bir ilişki söz konusudur. Hiperinsülinemi vasküler inflamasyona neden olabilir veya tersi vasküler inflamasyon insülin direncine neden olup hiperinsülinizme yol açabilir. Normal fizyolojik konsantrasyonlarda insülinin antiinflamatuvar etkisi vardır, hiperinsülinizm durumunda ise oksidatif stresi ve inflamasyonu artırmaktadır (64,70–71).

İnsülin direncinin aslında çok önemli bir etkisi de insülinin aktive ettiği PI-3 kinaz ve Akt-bağımlı sinyalizasyon yollarının bozulmuş olmasıdır. Öte yandan hiperinsülinemi ve artmış proinsülin etkisiyle MAP kinaz yolağı aşırı aktive olmakta, her iki yolak arasında dengesizlik oluşmaktadır. Bu durumun azalmış NO üretimine ve artmış endotelin-1 (ET-1) sekresyonuna (yani endotel disfonksiyonuna) neden olmaktadır. MAP-kinaz yolağının aktivasyonu ile, hiperinsülinemi ET-1 salgılanmasına neden olur, katyon pompasını aktive eder, adhezyon molekülleri olan VCAM-1 ve E-selektin ekspresyonunu artırır (72). ET-1 vazokonstriktör etkilidir. İnsülin reseptör substrat (İRS-1)'in serin ile fosforilasyonunu artırarak, vasküler düz kas hücrelerinde PI-3 kinaz aktivitesinin azalmasına neden olur (73).

2.5.2. Hipertansiyon

Hipertansiyon endotel aktivasyonunu ve büyük ihtimalle endotel disfonksiyonunu tetikler. Diyabetteki mikroanjyopatinin ve aterotrombozisin ana bileşenidir. Hipertansiyon insülin direnci ile ilişkilidir ve bu ilişki insülin direnci durumunda görülen azalmış kapiller yoğunluk ve bozulmuş ‘kapiller katılım’ ile kısmen açıklanmaktadır. Başka bir açıklama da NO kullanımının azalmış ve ET-1 kullanımının artmış olmasının, hem insülin direncinde hem de hipertansiyonda görülüyor olmasıdır. Diyabet ile hipertansiyon arasındaki tam ilişki bilinmemektedir (74).

2.5.3. Obezite

Yağ dokusu salgıladığı hormon, sitokin ve enzimlerle insülin duyarlılığını bozma eğiliminde yüksek aktivite gösteren endokrin bir organdır. Salgıladığı; TNF alfa, İL-6, adiponektin, rezistin, leptin, anjiyotensin, östradiol, PAİ-1 vb. gibi sitokin ve hormonlar aracılığıyla önemli endotelial fonksiyonları değiştirir (70).

2.5.4. İnflamasyon

Bugünlerde aterosklerozis inflamatuvar bir hastalık gibi kabul edilmektedir. Aterosklerozis ve onun bir sonucu olan kardiyovasküler hastalıklar, diğer inflamatuvar hastalıklardan sık görülmektedir. İnflamasyon bağımsız kardiyovasküler risk faktörüdür ve endotelial disfonksiyonla ilişkilidir.

Diyabette artmış kronik inflamasyon varlığı esas olarak; artmış CRP, fibrinojen, İL-1 ve İL-6 ve TNF alfa üzerine oturtulmuştur (75, 76).

İnflamatuvar sitokinler;

- Vasküler permeabiliteyi arttırarak,
- Vasküler düzenleyici cevapları değiştirerek,
- Endotele lökosit adhezyonunu arttırarak,
- Prokoagulan aktiviteyi arttırarak,
- Antikoagulan yolağı baskılayarak ve fibrinolizi bozarak trombüs oluşumunu kolaylaştırarak etki ederler (77).

Nükleer faktör kappa B (NF-KB) transkripsiyon faktörlerinden oluşan bir ailedir. Vasküler hücrelerin inflamatuvar cevabını düzenler. Monosit, nötrofil ve

makrofajın artmış adhezyonu nedeniyle hücrenel zarara neden olan birçok sitokinin transkripsiyonunu sağlar. Ayrıca nükleer faktör kapp B'nin hücre proliferasyonu ve hayatta kalımı kontrol eden genler üzerinde düzenleyici etkisi vardır. Hiperglisemi durumunda, ileri glikasyon son ürünleri (AGEs), angiotensin II, oksidize olmuş lipidler ve insülin etkisiyle NFkB, TNF alfa ve İL-1 ile aktive olur. NFkB aktive olunca sitoplazmadan çekirdeğe geçerek gen transkripsiyonunu aktive eder. NFkB ile düzenlenen genler; VCAM-1, E-selektin, İCAM-1, İL-6, İL-8, doku faktörü, PAİ-1, NOS'tur (78,79).

- NO aktivitesinde azalma
- Endotelin-1 düzeyinde artış
- Prostatiklin salınımında azalma
- Adhezyon moleküllerinin ekspresyonunda artma
- Platelet ve monosit adhezyonunda artış
- Prokoagülan aktivitede artış
- İleri glikasyon son ürünleri (AGE's)'nde artış
- Bozulmuş fibrinolitik aktivite
- Glikozile fibrinin degradasyonunda bozulma

Tablo 4. Tip 2 diyabette vasküler endoteldeki değişikliklerin genel görünümü. Sowers JR. Arch intern Med. 1998;158:617-621'den uyarlanmıştır.

2.5.5. Dislipidemi

Küçük yoğun LDL artışı ve HDL düşüklüğü, insülin direnci, obezite ve diyabetle ilişkilidir. Postprandiyal triaçilgliserolden zengin lipoproteinler (örneğin; şilomikronlar ve LDL partikülleri) oksidatif stresi arttırırlar ve sonuçta endotelial disfonksiyona ve apopitozise neden olurlar (80).

2.5.6. Hiperglisemi ve endotelial disfonksiyon

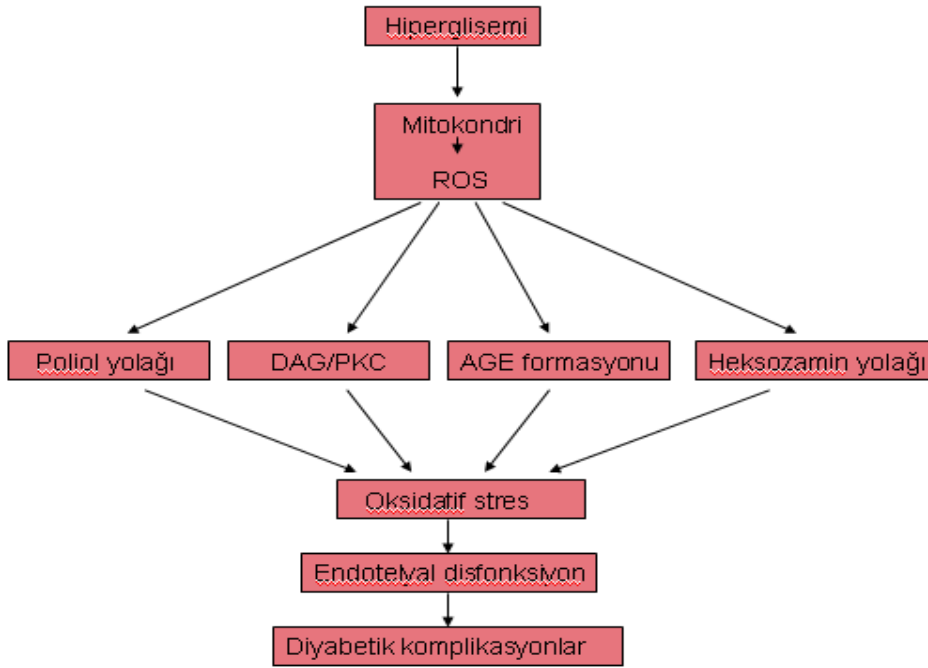
Hipergliseminin vasküler komplikasyonlara nasıl neden olduğu üzerine değişik mekanizmalar keşfedilmiştir. Hipergliseminin aktive ettiği birçok yolak vardır. Aktive olan yolakların serbest oksijen radikallerinin (ROS) aşırı üretimine neden oldukları bilinmektedir.

1- Poliol/sorbitol/aldoz redüktaz yolağı: Birçok hücre fazla glukozu aldoz redüktaz aracılığıyla sorbitole indirger. Sorbitol fruktoza metabolize olur (Poliol yolağı). Bu olay, aynı zamanda NADPH'm NADP+'ya oksidize olmasını ve

NAD⁺'ın NADH'ya indirgenmesini arttırır. Böylelikle NO biyoyararlanımını azalır. Bu durum redoks dengesizliğine ve doku hipoksisine neden olur. O nedenle hiperglisemik pseudohipoksi olarak adlandırılır. Ayrıca metilglioksal formasyonu ve ileri glikasyon son ürünlerinin artmasına yol açar. Bütün bu süreçler oksidatif stresin artmasına neden olur (81).

2- DAG/PKC yolağı: Hiperglisemi, diaçilgliserol-(DAG)-protein kinaz C (PKC) yolağını aktive eder. Bu yolak aktive olunca vasküler fonksiyonlar üzerine birçok olumsuz etki ortaya çıkar. Hiperglisemi DAG düzeylerini arttırır. DAG ise PKC yolağını aktive eder (82). Bunlar; vasküler permeabilite ve kan akımı düzensizliği, bazal membran kalınlaşması, artmış PAİ-1 ekspresyonu, süperoksit üreten enzim aktivasyonu, endotelial NOS bağlanmasının engellenmesi ve tüm bunlar aracılığıyla artmış oksidatif strese yol açar (70).

3- Enzimatik olmayan glikasyon son ürünlerinin artışı (AGE): Bunlar, diyabet ve kronik böbrek hastalığında plazma ve dokularda biriken kompleks ve heterojen bileşiklerdir. Yeni bulgular bu bileşiklerin her iki durumda kronik komplikasyonların patogeneğinde rolleri olduğu yönündedir (83). AGE'ler dolaşıma katıldıklarında ileri derecede aktiftirler fakat değişik enzimlerle metabolize edilerek detoksifiye edilirler. Fakat böbrekler aracılığıyla atılmazlarsa, dolaşıma yeniden katılan AGE'ler plazma ve dokuda yeni AGE'lerle reaktive bileşikler oluştururlar (84).



Şekil 6. Hipergliseminin endotelial disfonksiyon ve diyabet komplikasyonlarının oluşumdaki rolünün şematik gösterimi.

2.5.7. Hiperglisemi ve oksidatif stres

Artmış süperoksit anyon radikalleri üretimi, yukarıda anlatmaya çalıştığımız yolların aktive olmasında anahtar rol oynar. Aortik endotelial hücrelerde hiperglisemi, mitokondrial süperoksit üretimini artırır, eNOS aktivitesini ve ekspresyonunu engeller (85). Artmış süperoksit anyon radikalleri (ROS) üretimi, oksidatif strese neden olur. Endotelial disfonksiyonda anahtar olay, oksidatif stres (86). ROS düşük konsantrasyonlarda, sinyal molekülü olarak görev görebilir. Sinyalizasyonda aracılık ederek, temel hücresel aktivitelerin (hücre büyümesi ve hücre adaptasyon cevabında) düzenlenmesinde yer alabilir. Fakat yüksek konsantrasyonlarda, oksidatif strese, hücresel zedelenmeye ve apoptozise neden olur (87). ROS birçok sinyal yolağına (örneğin: G-proteinler, protein kinazlar, iyon kanalları ve transkripsiyon faktörleri) etki edebilir. Membran lipidlerinin peroksidasyonu, NFkB'in aktivasyonu, NO kullanımını azaltabilir (88). Geçici hiperglisemi, normoglisemi durumunda bile aterojetik etki oluşturabilir. Bu bulgu HbA1c ile açıklanamayan diyabetik komplikasyon riski arasındaki değişkenliği anlamamıza yardımcı olmaktadır (89). Oksidatif stres, fibroblastlarda erken yaşlanmayı başlatabilir. Hücresel yaşlanma normal diploid diferansiye hücrelerin

bölünme yeteneğinin kaybını tanımlayan bir fenomendir. Bu fenomen ayrıca replikatif yaşlanma veya Hayflick fenomen olarak da adlandırılır. DNA hasarı eğer onarılamazsa hücreler ya yaşlanma sürecine ya da apoptoza giderler. Oksidatif stresin diyabetik hastalarda bu olayı arttırdığına ait güçlü kanıtlar vardır. Hücresel yaşlanma, vasküler inflamasyon ve damarlarda trombus oluşumunu arttırarak, kardiyovasküler olay gelişimini başlatabilir. Diyabetik hastalarda hücresel yaşlanma sağlıklı bireylere göre hızlanmıştır (90).

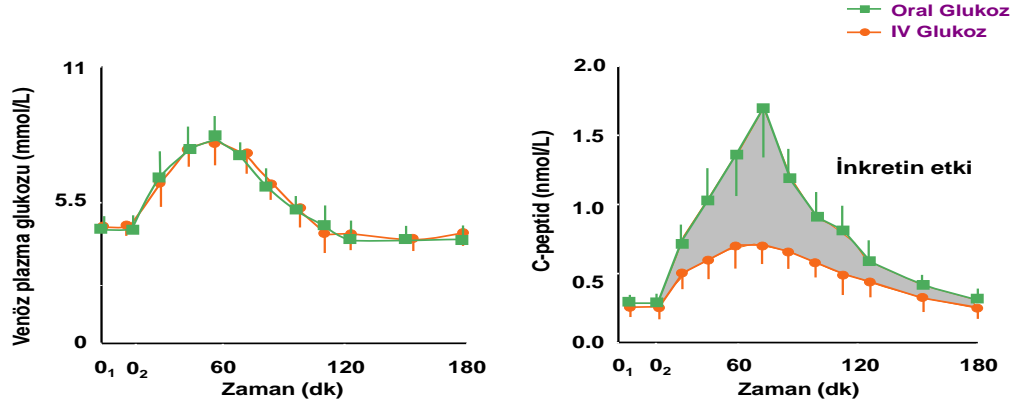
2.5.8. Hiperglisemi ve apoptoz

İn vitro çalışmalar, hipergliseminin endotelial hücrelerin apoptozunu arttırdığı yönündedir (91,92). Bu çalışmalar insan ve hayvan böbrek, retina, myokard, endotelial hücrelerinde ve insan umbilikal ven endotelial hücrelerinde yapılmıştır. Böylece hiperglisemi etkisiyle apoptozun nasıl başladığı iyice anlaşılmıştır. Bu mekanizmalar; intrasellüler kalsiyum artışı, oksidatif stres, mitokondriyal disfonksiyon, intrasellüler yağ asidi metabolizmasındaki değişiklikler, MAP kinaz yolağı aktivasyonu, fosforilasyon aktivasyonu, bozulmuş protein kinaz Akt bağımlı sinyalizasyon yollarıdır (93,94).

Sonuç olarak; diyabetik mikro ve makroanjyopati ile endotelial disfonksiyon arasındaki ilişki karmaşıktır. Bu ilişki, yeni araştırmalar için bir özne durumundadır. Özellikle tip 2 diyabette hiperglisemi, hiperinsülinemi, insülin direnci, dislipidemi, hipertansiyon ve obezite gibi birçok faktör gözönünde tutulmalıdır. Bunların herbiri bir diğerini etkilemekte veya etkisini yoğunlaştırmaktadır. Endotelial disfonksiyonun altında yatan mekanizmanın tam olarak ortaya konması, önemli tedavi stratejilerinin geliştirilmesine dolayısıyla diyabete bağlı mortalite ve morbiditeyi düşürmeye yarayacaktır. Antioksidanların makro ve mikrovasküler komplikasyonların önlenmesi amaçlı tedavide kullanımı birbiriyle çelişen sonuçlar ortaya koymuştur. Endotelial hücrelerde oksidatif stresi azaltmaya dönük tedavi yaklaşımları bu büyük problemin cevabını bulmaya yardımcı olacaktır.

2.6. İNKRETİNLERİN BİYOLOJİSİ

İnkretin etkisi oral glukozun aynı miktarda intravenöz glukozla karşılaştırıldığında daha fazla insülin yanıtı oluşturmasıdır (95,96).

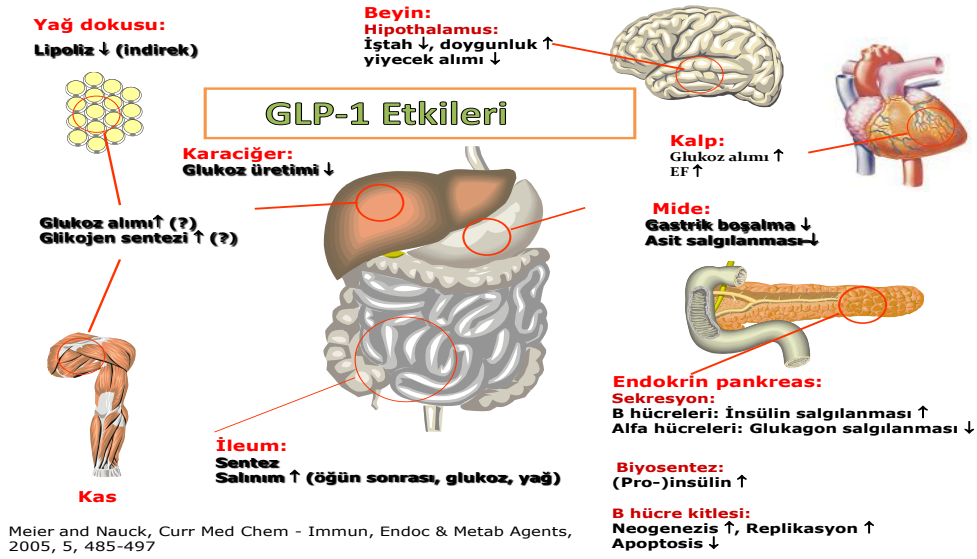


Nauck MA, et al. *J Clin Endocrinol Metab.* 1986;63:492-498..

Şekil 7. Sağlıklı bireylerde inkretin etkisinin grafik gösterimi.

Başlıca inkretin yapıda hormonlar glukagon like peptide-1 (GLP-1) ve glukoz bağımlı insülinotropik polipeptit (GİP)'tir. Her ikisi de gıda alımını müteakiben barsaktan salgılanır. Hem GİP hem de GLP-1'in insülin salgılatıcı ve periferik insülin duyarlılığını artırıcı özellikleri vardır.

Ayrıca GLP-1; glukagon salgısını inhibe edici, gastrik boşalmayı geciktirici etkiyle yemek sonrası kan glukozunu ayarlar. Oral glukoz uygulanmasını takiben salgılanan insülinin %70'i inkretinlere cevaben olmaktadır (97). İnkretin hormonlarını salgılayan hücreler tüm ince barsağa dağılmış olmalarına rağmen, GİP asıl olarak duodenumdaki K-hücrelerinden, GLP-1 ileumdaki L-hücrelerinden salgılanmaktadır (100). İnkretinlerin barsaktan salgılanmasının altında yatan mekanizma net değildir. G-protein coupled reseptörleri aracılığıyla GLP-1 salgısı tanımlanmıştır. Yine de başka önemli yolların olması muhtemeldir. Lipidler ve karbonhidratlar inkretin salgılanmasına neden olan güçlü uyaranlardır. Fakat GLP-1'in metabolitlerinin de klinik etkinliği vardır (98,99). İnkretinlerin etki mekanizması şekil 8'de gösterilmiştir.



Şekil 8. GLP-1'in etki mekanizması.

Gıda alımını müteakiben dakikalar içinde inkretinler salgılanır ve başlangıçtaki düzeyine gelmesi yaklaşık 3 saati bulur. DPP4; GİP ve GLP-1'i metabolize eden enzimdir. GİP' in yarı ömrü: 2 dakika, GLP-1'in yarı ömrü: 7 dk.'dır. GLP-1 metaboliti GLP-1(9-36) biyolojik olarak aktif olabilmektedir. Her iki hormonun metabolitleri dolaşımdan böbrek aracılığıyla atılır (97,101).

GLP-1 ve GİP; pankreastaki G-protein coupled reseptörlerine bağlanarak insülin salgılanmasını sağlar. GLP-1'in G-protein coupled reseptöre bağlanması özellikle protein kinaz-A (PKA) yolağını etkileyerek olmaktadır. GİP'te bu durum benzerdir. GİP'in ayrıca PKA'dan bağımsız yolağı da mevcuttur (102).

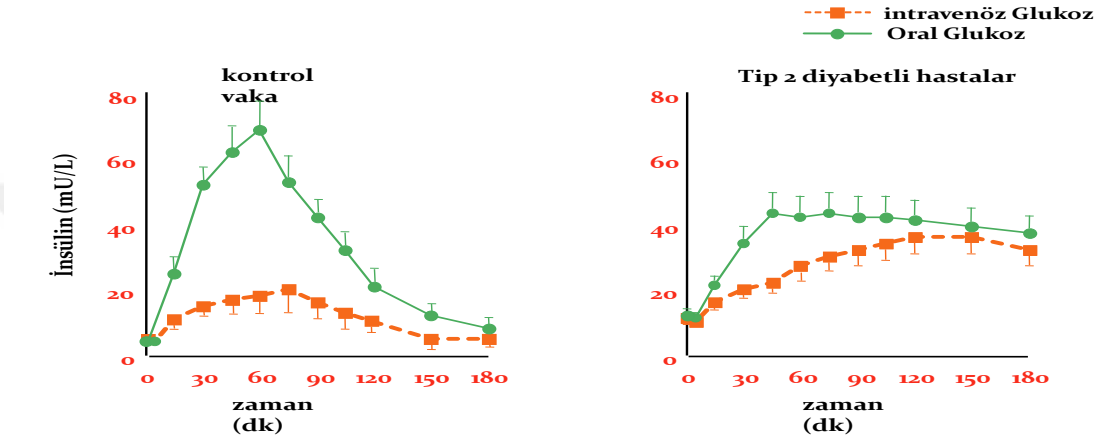
İnvitro ve prelinik çalışmalarda, GLP-1 ve GİP'in pankreatik beta hücre proliferasyonunu arttırdıkları ve beta hücre apoptozunu azalttıkları tespit edilmiştir (105,106). GİP'in aksine, GLP-1 glukagon ve somatostatin salınımını inhibe etmektedir. Somatostatin inhibisyonu pankreatik delta hücreleri üzerine direkt etki ile oluşmaktadır (107,108).

GLP-1 gastrik boşalmayı yavaşlatır ve gıda ile uyarılan gastrik asit sekresyonu baskılar (103).

Pankreasın beta hücreleri dışında diğer pankreas adacıklarında, kalp, MSS, böbrek, akciğer, hipofiz, deri, vagusun soliter nodal ganglionunda, GIS'te GLP-1 reseptör ekspresyonu görülmüştür (104).

2.6.1. Tip 2 diyabetes mellitusta inkretin etkisi

Tip 2 diyabette inkretin etkisi bozulmuştur ve 2005 yılında kullanıma giren inkretin bazlı tedaviler bu amaçla geliştirilmiştir. Tip 2 diyabetli hastalarda GİP etkisine direnç olması nedeniyle, GLP-1 agonistleri (uzun ve kısa etkili) ve enzim inhibitör (DPP 4 inh.) tedavileri geliştirilmiştir (109). Tip 2 diyabet azalmış inkretin yanıtıyla karakterizedir (110). Bu durum GLP-1'in salgılanma kusuru ve GİP direnci kaynaklıdır (111,112).



*Nauck MA, et al. *Diabetologia*. 1986;29:46-52.

Şekil 9. Tip 2 diyabette inkretin etkisi.

Tip 2 diyabette; GİP konsantrasyonu düzeyi korunmuş veya artmıştır. Fakat GİP'in inkretin etkisi suprafizyolojik dozlarda dahi yoktur. GİP'e bu yanıtızlığın patofizyolojik nedeni belirsiz olmasına rağmen, postreseptör defekt veya glukozu karşı körelmiş beta hücre cevabı öne sürülmektedir. Tip 2 diyabette GLP-1 sekresyonu bozulmuştur (109,113-116). Karışık öğün sonrası sağlıklı bireylere göre tip 2 diyabetiklerde, GLP-1 sekresyonu %53 azalmıştır (117). Ancak daha sonra yapılan çalışmalarda GLP-1 konsantrasyonu düşük bulunmamıştır. Bu iki gözlem arasındaki farkı açıklayabilecek birçok faktör vardır. Örneğin; tip 2 diyabetin süresi ve şiddeti arttıkça GLP-1 sekresyon defekti daha belirginleşmektedir. Ayrıca yüksek VKİ sahip olanlarda daha fazla GLP-1 sekresyon defekti tespit edilmiştir (111,118).

Tip 2 diyabette GLP-1'in etkinliği kısmen korunmuştur. Ancak fizyolojik konsantrasyonlarının çok az insülinotropik etkinliği vardır. Bu nedenle suprafizyolojik dozlara ihtiyaç vardır (112,119-121).

GLP-1 agonistleri 2005 yılından beri diyabet tedavisinde kullanılmakta ve gün geçtikçe kullanımları yaygınlaşmaktadır. Bulantı, kusma ve diyare gibi gastrointestinal şikayetler görülse de 4-8 haftada düzelir. Hipoglisemi oldukça nadir ve genelde hafif olarak görülmektedir (112).

2.6.2. İnkretinler ve kardiyovasküler sistem

GLP-1 ve onun kardiyovasküler sistem üzerine etkisi ilgi çekici bir konu olmuştur. Şu ana kadar GLP-1 veya DPP4 inhibitörleri ile ilgili olumsuz bir kardiyovasküler sonuç bildirilmemiştir. Hayvan deneyleri ve kısa süreli insan çalışmaları, kardiyovasküler profil üzerine olumlu etkilerini göstermektedir.

GLP-1'in hayvan deneylerinde kan basıncı üzerine birbiri ile zıt iki sonuç bildirilmiştir. GLP-1 infüzyonu ile Dahl'in tuza duyarlı sıçanlarında anti hipertansif etkinlik görülürken (122), Yamamoto ve arkadaşları sıçanlarda otonom sinir sistemi aktivasyonu ile bağlantı kurulan hipertansif ve taşikardik etki tespit etmişlerdir (123). Klinik gözlemler ise sistolik kan basıncını düşürdüğü şeklindedir. Okerson ve arkadaşları; Eksenatid ile plasebo ve insülin karşılaştırmalı 6 çalışmanın meta analizini sunmuşlardır. Bu çalışmaların ikincil sonlanım noktası kan basıncı değişikliğidir. Eksenatide diyastolik kan basıncında değişiklik yapmazken sistolik kan basıncında insülin ve plasebo ile karşılaştırıldığında sırasıyla 2,8 mmHg ve 3,7 mmHg kan basıncı düşüşü sağlamıştır. Başka çalışmalarda, GLP-1'in vazodilatatör ve natriüretik etkinliği gösterilmiştir (124,125).

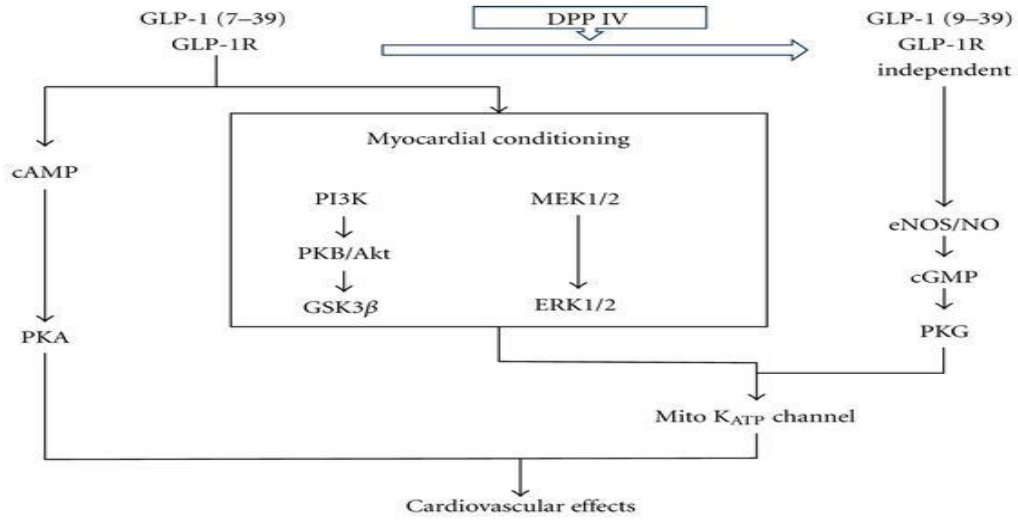
GLP-1 ile myokardiyal metabolizma ve sol ventrikül fonksiyonlarında iyileşme gözlenmiştir. Nikoloidis ve arkadaşları, akut myokard infarktüsü sonrası başarılı primer anjiyoplasti yapılan hastalarda 72 saatlik GLP-1 infüzyonu ile sol ventrikül fonksiyonlarında belirgin düzelme tespit etmişlerdir (126).

GLP-1R insan kalp kası hücrelerinde de eksprese edilmektedir. GLP-1R susturulmuş fare modelinde bozulmuş sol ventrikül kontraktilesi, düşük istirahat kalp hızı, artmış sol ventrikül kalınlığı ve diyastolik disfonksiyon görülmüştür (127,128). Hayvan modellerinde GLP-1 infüzyonu kardiyak fonksiyonları ve iskemik reperfüzyonu düzeltmiştir (126,129).

GLP-1'in kardiyovasküler koruyucu etkisi için iki yolak mekanizması öne sürülmüştür:

1-GLP-1 reseptörü aracılıklı yolak; inotropik etki, glukoz alımını arttırıcı ve iskemiye karşı hazırlayıcı etki

2-NO aracılıklı reseptörden bağımsız vazodilatatör yolak



Şekil 10. GLP-1'in kardiyovasküler etkisini gösteren GLP-1 bağımlı ve GLP-1 bağımsız sinyal yolaklarının şematik gösterimi (141).

(PI3K: Fosfodilinositol 3 kinaz; PKA; Protein kinaz A, PKB; protein kinaz B, GSK3β; Glukojen sentetaz kinaz 3 beta, MEK1/2; MAP kinaz kaskadının bileşeni, ERK; Hücre dışı sinyalle düzenlenen kinaz, PKG; protein kinaz G)

İnsanlarda, GLP-1 agonistlerinin ateroskleroz ve inflamasyon belirteçlerinin serum düzeyini düşürdüğü ve endotel fonksiyonlarını düzelttiği gösterilmiştir. Endotel fonksiyonlarındaki olumlu etki gliburid kullanımı ile ortadan kalkmıştır (130-131).

Benzer şekilde GLP-1 postprandiyal lipid profilini akut olarak düzeltmiş, kronik tedavide diğer bir GLP-1 agonisti olan liraglutide'in 26 hafta kullanımı sonrası; plasebo ile karşılaştırıldığında LDL, trigliserid, serbest yağ asitleri kan düzeyini düşürmüştür (132-135).

Etki	GLP-1	GİP
------	-------	-----

Pancreatic β hücreleri	Glukoz bağımlı insülin salınımını ve β -hücre proliferasyonunu artırır, apoptozu azaltır	Glukoz bağımlı insülin salınımını ve β -hücre proliferasyonunu artırır, apoptozu azaltır
Pankreas α ve δ hücreleri	Glukoz bağımlı glukagon salınımını azaltıyor, somatostatini artırıyor.	Etkisi bilinmiyor
Mide boşalması	Yavaşlatıyor	Artırıyor
İştah ve ağırlık üzerine	İştahı azaltıyor ve kilo kaybını destekliyor	Etkisi bilinmiyor
Sinir sistemi üzerine koruyucu etki	Prelinik çalışmalarda gösterilmiş	Prelinik çalışmalarda gösterilmiş
Kardiyak etki	Kan basıncı, lipidler, inflamatuvar sitokinler gibi risk faktörlerinde iyileşme ve kardiyoprotektif etki	Etkisi bilinmiyor
Kemik yapı	Kemik formasyonunu artırıyor, rezorpsiyonu azaltıyor	Kemik formasyonunu artırıyor, rezorpsiyonu azaltıyor
Yağ dokusu	Direkt etkisi yok	Lipogenezi artırıyor

Tablo 5. İnkretinlerin sistemler üzerine etkisine genel bakış (136).

2.7. EKSENATİDE

Eksenatide 39 aminoasit içeren peptit yapıda sentetik eksentin-4 içermektedir. Gila monster zehirinden izole edilmiştir (137,138). Eksenatide doğal GLP-1 ile %53 homoloji göstermektedir. Buna rağmen pankreastaki GLP-1 reseptörlerine etkin bir şekilde bağlanmakta ve insülinotropik etki oluşturmaktadır (138). Eksenatide cilt altı uygulanmasını müteakiben zirve plazma konsantrasyonuna 2,1 saatte ulaşmakta ve yarı ömrü yaklaşık 2 saattir. İncretin hormonların yıkan dipeptidil peptidaz-4 (DPP-4) enzimine dirençli olan eksenatide, cilt altı uygulanmasını müteakip, plazmada 10 saati aşan bir süre ölçülebilir düzeylerde kalabilmektedir. Günde 2 kez uygulanarak günlük glisemik kontrol güvence altına alınmış olmaktadır. Vücuttan atılımı proteoliz sonrası asıl olarak glomerüler filtrasyon yoluyla olmaktadır. Farmakokinetiği yaş ve ırk farklılığından etkilenmemektedir (139).

Glisemik kontrol üzerine etkinliği büyük çaplı randomize kontrollü çalışmalarla ortaya konmuştur. Bu çalışmalar sırasında metformin ve/veya sülfanilüre'ye eklenmiş veya insülinle karşılaştırılmıştır (143-144, 148-149). Bunck ve arkadaşlarının eksenatide ile insülin glargini karşılaştırdıkları 52 haftalık çalışmada her iki ilacın klinik etkinlikleri benzer bulunmuştur (147).

Tip 2 diyabet multifaktöryel bir hastalıktır. Çoğunlukla komplikasyonlarla özellikle kalp damar hastalığı ile kendini belli eder. Bu komplikasyonlar hastalığın mortalite ve morbiditesine etki eder. Kardiyovasküler hastalığa katkı sunan kilo alımı, hipertansiyon ve hiperlipidemi gibi risk faktörleri genellikle tip 2 diyabete eşlik etmektedir. Bu nedenle diyabet tedavisi planlanırken yeterli glisemik kontrol yanında kilo alımına neden olmadan kardiyovasküler profil üzerine olumlu etki de göz önünde bulundurulmalıdır.

ADA/EASD 2012 ortak konsensus raporunda; GLP-1 agonistleri sağlıklı beslenme, kilo kontrolü ve egzersiz sonrası metformin tedavisi ile hedef HbA1c'ye ulaşamayan hastalara başlanacak 2. basamak ilaçlar içerisinde gösterilmektedir. Bu grupta yer alan ilaçlar içinde kilo kaybı yaratan tek ilaç grubudur. Etkinliği yüksek, hipoglisemi yapıcı etkisi azdır. Kreatinin klirensi <30 ml/dk'dan düşük yani evre 4 ve 5 kronik böbrek hastalığında kontrendikedir. Kalp yetmezliği ve koroner arter hastalığı kullanılabilir. Hafif seyirli karaciğer hastalıklarında kullanılabilir (140).

Tip 2 diyabet tedavisinde, GLP-1 agonisti ilaçların kullanımı, bu ilaçların kardiyovasküler risk faktörleri üzerine olumlu etkileri nedeniyle popülerite kazanmaktadır (141). Bu ilaçların glisemik kontrol yanında, kilo kaybı sağlaması, hipertansiyon, dislipidemi ve endotel disfonksiyon üzerine muhtemel olumlu etkileri nedeniyle diyabetik hastalarda kardiyovasküler mortaliteyi azaltabileceği umudunu doğurmuştur. Bu nedenle halen bu tür ilaçlarla kardiyovasküler sonlanım noktalı çok sayıda klinik çalışma sürdürülmektedir.

Bu çalışma GLP-1 agonisti eksentide ile antiinflamatuvar ve vazodilatör etkileri daha önce gösterilmiş olan insülin glarginin, endotel fonksiyonları ve kardiyovasküler risk belirteçleri üzerine etkinliğini karşılaştırmak üzere planlanmıştır.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma 26 haftalık, randomize, açık etiketli, iki kollu, paralel gruplardan oluşan tedavi ve etkinlik değerlendirme amaçlı olarak planlandı. Tez protokolü Kocaeli Üniversitesi Etik Komitesi tarafından onaylandı. Çalışmanın yöntemi, amacı, olası risklerini içeren bilgilendirme formu hazırlanarak, hasta onamları alındı. Hasta alım süreci ortalama 18 ay olarak gerçekleşti. Gönüllülerin çalışmaya uygun olup olmadığını incelemek için bir tarama viziti ve 3 takip viziti yapıldı.

3.1. Çalışma grupları

Çalışma öncesi en az 2 ay metformin 2gr/gün düzenli kullanan hastalar çalışmaya dahil edildi. Daha önceden insülin tedavisi veya inkretin bazlı tedavi kullanan hastalar, her iki gruba da dahil edilmedi. Hipertansiyon, koroner arter hastalığı, hiperlipidemi vb. nedenlerle kullandıkları ilaçlarda veya dozlarında değişiklik yapılmadı.

Çalışmaya dahil etme kriterleri:

40–70 yaş grubunda olan, HbA1c düzeyleri= % 7–9,5 aralığında seyreden, en az 2 ay süreyle düzenli metformin 2x1 gr/gün kullanmış, VKİ= 25–45 kg/m² olan tip 2 DM.'lu hastalar çalışmamıza dahil edildi.

Çalışmaya dahil edilmeme kriterleri:

Son 6 ay içerisinde koroner anjiyoplasti, akut koroner sendrom ve serebrovasküler olay (SVO) geçirmiş olanlar, karaciğer ve böbrek fonksiyonları bozulmuş olanlar, sistolik kan basıncı:180 mmHg ve üzeri, diastolik kan basıncı:100 mmHg üzeri veya kontrolsüz HT olanlar, aktif sigara içicisi olanlar çalışma dışında bırakılmıştır.

Eksenatide koluna 12 kadın, 5 erkek hasta alınmıştır. İnsülin glargin tedavi koluna 10 kadın, 7 erkek hasta alınmıştır.

Tedavi grupları:

- Günde 2 kez eksinatide + metformin
- Günde 1 kez insülin glargin + metformin olacak şekilde planlandı ve uygulandı.

Çalışmanın grupları 2gr/gün metformin almaya devam etti. Çalışmanın bir grubu eksinatide 5 mcg dozunda 2x1 s.c. yemekten en az 30 dk. önce 4 hafta süreyle

uygulandı. Bu doz daha sonra 2x10 mcg s.c. dozuna çıkılarak toplam 6 ay eksenatide'e devam edildi.

Çalışmanın diğer kolundaki hastalarımıza; insülin glarjin 0,2 ü/kg başlandı. Bu doz gece yatmadan önce uygulandı. Telefon vizitleri ile üç günlük AKŞ ortalaması ≥ 100 mg/dl olanlara, 2 ünite doz artırımını yapıldı. Bu arttırma işlemine AKŞ = 80–99 mg/dl aralığında oluncaya kadar devam edildi. AKŞ: 60 mg/dl ve altında olunca eski doza dönülerek, bir haftadan önce yeni doz ayarlaması yapılmadı.

Son 6 ay içerisinde koroner anjiyoplasti, akut koroner sendrom ve serebrovasküler olay (SVO) geçirmiş olanlar, karaciğer ve böbrek fonksiyonları bozulmuş olanlar, sistolik kan basıncı:180 mmHg ve üzeri, diastolik kan basıncı:100 mmHg üzeri veya kontrolsüz HT olanlar, aktif sigara içicisi olanlar çalışma dışında bırakılmıştır.

Byetta (eksenatide) koluna 10 kadın, 5 erkek hasta alınmıştır. Lantus (insülin glarjin) koluna 10 kadın, 7 erkek hasta alınmıştır.

Tedavi grupları:

- Günde 2 kez eksenatide + metformin
- Günde 1 kez insülin glarjin + metformin olacak şekilde planlandı ve

uygulandı.

Çalışmanın grupları 2gr/gün metformin almaya devam etti. Çalışmanın bir grubu eksenatide 5 mcg dozunda 2x1 s.c. yemekten en az 30 dk. önce 4 hafta süreyle uygulandı. Bu doz daha sonra 2x10 mcg s.c. dozuna çıkılarak toplam 6 ay eksenatide'e devam edildi.

Çalışmanın diğer kolundaki hastalarımıza; insülin glarjin 0,2 ü/kg başlandı. Bu doz gece yatmadan önce uygulandı. Telefon vizitleri ile üç günlük AKŞ ortalaması; ≥ 100 mg/dl olanlara, 2 ünite doz artırımını yapıldı. Bu arttırma işlemine AKŞ = 80–99 aralığında oluncaya kadar devam edildi. AKŞ: 60 mg/dl ve altında olunca eski doza dönülerek, bir haftadan önce yeni doz ayarlaması yapılmadı.

3.2.Çalışma takip planı

Takip planımız 0. , 4. ,12. , 24. haftalarda vizitler şeklinde planlandı ve uygulandı. Çalışmaya katılan bireylerden 12 saatlik açlık sonrası sabah venöz kan örnekleri alındı. Her vizitte hastaların VKİ ölçümleri, kan basıncı kontrolleri, rutin

biyokimyasal ve ilaç yan etkileri değerlendirildi. Katılımcılardan hiçbirinde ilaçlara bağlı ciddi bir yan etki oluşmadı. Çalışma gruplarına alınan iki hastadan biri majör depresyon nedeniyle ilaç uyumsuzluğu diğeri vizitlere gelemediği için çalışma dışı bırakıldı.

3.3. Çalışma için kullanılan biyokimya kitleri

Serum glukozu heksokinaz metodu ile Abbott Architect c16000 cihazında ölçüldü. LDL kolesterol, trigliserid, HDL-kolesterol, total kolesterol parametreleri çalışıldı. Bu parametrelerden total kolesterol enzimatik metotla, trigliserid gliserol fosfat oksidaz metoduyla ile Abbott Architect c16000 ölçüldü. LDL için Friedewald's formülü ile hesaplama yapıldı. Ayrıca Amilaz CNPG3 substrat metodu, hsCRP ise immunoturbidometrik yöntemle yine aynı cihazda bakıldı.

Plazma insülin düzeyleri Beckman Coulter DxI 800 cihazı ile C-peptit düzeyleri ise Siemens immulate 2000 XPI cihazı ile kemilüminesan teknikle ölçüldü. HbA1c Shimadzu marka cihazla HPLC tekniği kullanılarak ölçüldü.

Kardiyovasküler risk belirteçleri ölçümü için kullanılan serum örnekleri; çalışma başlangıç ve bitişinde santrifüj sonrası epandorflara ayrılarak analiz yapılacak tarihe kadar -80 C'de saklandı.

Leptin DRG marka elisa kiti ile Dynex-DSX marka mikroelisa cihazında çalışıldı. Fibrinojen STAR marka cihazla koagulometrik yöntemle çalışıldı.

İnterlökin 6 (İL-6) DIASource IL-6 EASIA kit, endotelin 1; USCN Life science EDN1 Elisa kit, adiponektin; AssayPro marka kit, MCP-1; Platinum Elisa Human MCP-1 kit, PAI-1; Platinum ELISA Human PAI-1 kit, TNF- α ; Immundiagnostik assay marka kit ile Dynex-DSX marka cihazda mikroelisa yöntemiyle çalışıldı.

3.4. Çalışmada yararlanılan endotel fonksiyonlarını değerlendirme metodu

Ultrasonografi kullanılarak, arteriyel endotel ve düz kas fonksiyonları değerlendirildi. Bu amaçla brakiyal arterin endotel kaynaklı (akım aracılıklı dilatasyon) ve endotelden bağımsız uyarana (dilaltı nitrogliserin) yanıtı değerlendirildi. Ultrasonografik ölçümler Coretti tarafından tarif edilen metotla

gerçekleştirildi. Ölçümler bir gecelik açlığı müteakiben sessiz, hava sıcaklığının 22–24 C olduğu bir ortamda, konusunda uzman çalışma kollarına karşı kör bir kardiyolog tarafından yapıldı. Brakiyal arter çapı 7,5-Mhz transdüser yardımıyla B-mode ultrason görüntüleri kullanılarak ölçüldü. Ultrasonografik ölçümler yüksek çözünürlüklü GE Vivid 7 Dimension (GE, Davis Medical Electronics, USA) marka cihaz kullanılarak elde edildi. Sağ brakiyal arter, longitudinal kesitlerle dirseğin 2–8 cm üzerinden tarandı. Sağ transdüser'in yeri kararlaştırıldıktan sonra, cilt işaretlenerek kolun aynı pozisyonda kalması sağlandı. Bütün ölçümler, sonra analiz edilmek üzere videorecorder'a kayıt edildi. Arteriyel çap istirahat halinde, reaktif hiperemi anında ve dilaltı nitrogliserin uygulaması sonrası ölçüldü. Reaktif hiperemi, pnömatik kaf üst kolda suprasistolik basınçta tutulacak şekilde şişirilip, 4,5 dakika sonra kafın havası indirilerek sağlandı. Brakiyal arter çapı kafın havasının indirilmesi sonrası ölçülüp kaydedildi. 10–15 dakika dinlenmeyi müteakiben ikinci kontrol tarama çapı kaydedildi. Sonrasında dilaltı nitrogliserin verildi ve 3,5–4 dakika sonra son kez çap ölçülerek kaydedildi.

Diyastol sonu arteriyel çap, bir media-adventisya aralığından diğerine alınan kesitte; bazal değer, reaktif hiperemi ve nitrogliserin uygulaması sonrası toplam 3 kez ölçüldü. Maksimum damar çapı hiperemi ve nitrogliserin sonrası üç ardışık maksimum çap ölçümünün ortalaması alınarak tanımlandı. Bazal ölçümlerle reaktif hiperemi veya nitrogliserin sonrası oluşan vazodilatasyon sırasındaki çap artışı yüzde olarak değerlendirildi.

3.5. Vücut ağırlığı, total yağ kütlesi değerlendirmesi

Vücut ağırlığı ve total vücut yağ kütlesi Tanita marka cihazla biyoimpedans analiz tekniği ile ölçüldü. Bel çevresi crista iliaca ile kot kavsinin alt sınırı arasındaki alanın orta noktasından yapıldı. Ölçümler sabah aç karnına takip vizitleri sırasında yapıldı.

İstatistiksel değerlendirme

Verilerin değerlendirilmesinde tanımlayıcı istatistiksel metotların (ortalama, standart sapma, median, interquartil range) yanı sıra normal dağılım gösteren değişkenlerin ikili grupların karşılaştırmasında bağımsız t-testi, tedavi öncesi ve sonrası karşılaştırmalarında eşlendirilmiş t-testi, normal dağılım göstermeyen değişkenlerin ikili grupların karşılaştırmasında Mann-Whitney U testi, tedavi öncesi ve sonrası karşılaştırmalarında Wilcoxon testi, nitel verilerin karşılaştırmalarında ki-kare testi, değişkenlerin birbirleri ile ilişkilerini değerlendirmede Spearman korelasyon testi kullanılmıştır. Laboratuvar sonuçları normal dağılım göstermediğinden logaritmik transformasyon uygulanmıştır. Sonuçlar; anlamlılık $p < 0,05$ düzeyinde, %95'lik güven aralığında değerlendirilmiştir. Çalışma grupları Eksenatide (grup E) ve insülin glargine (grup İ) olarak adlandırılmıştır.

4. BULGULAR

Eksenatid ve insülin glargin tedavi gruplarının demografik verileri tablo 6' da gösterilmiştir. Gruplar arasında yaş, cinsiyet ve diyabet yaşı ortalamaları arasında istatistiksel fark saptanmamıştır.

	Eksenatide Grubu	İnsülin Glargine Grubu	p
Yaş	52,18±7,26	53,12±6,99	0,703
Cinsiyet	Erkek	5 (%29,4)	7 (%41,2)
	Kadın	12 (%70)	10 (%58,8)
DM yaşı	6,88±3,26	7,59±4,26	0,591

Tablo 6. Çalışma gruplarımızın yaş, cinsiyet ve diyabet yaşı dağılımı.

Her iki grubun tedavi öncesi ve sonrası antropometrik ve biyokimyasal özellikleri Tablo 7'de sunulmuştur. Çalışma başlangıcında gruplar arasında vücut ağırlığı, VKİ, total vücut yağ kütlesi, HbA1c, AKŞ, trigliserid, HDL, LDL düzeyleri karşılaştırmasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmemiştir.

		Eksenatide grubu	İnsülin glargine grubu	p*
Vücut ağırlığı (kg)	Tedavi Öncesi	94,34±11,77	90,51±14,32	0,401
	Tedavi Sonrası	88,79±12,94	89,66±14,43	0,855
	p‡	0,0001	0,293	
VKİ (kg/m2)	Tedavi Öncesi	35,89±3,7	33,21±4,45	0,065
	Tedavi Sonrası	33,98±4,15	33,02±4,57	0,382
	P	0,0001	0,57	
Total vücut yağ kütlesi (kg)	Tedavi Öncesi	36,37±6,91	32,46±7,28	0,137
	Tedavi Sonrası	32,29±7,19	33,3±9,02	0,735
	P	0,009	0,509	
Bel çevresi (cm)	Tedavi Öncesi	112,47±10,35	107,41±11,41	0,265
	Tedavi Sonrası	107,79±8,21	106,06±10,87	0,603
	P	0,006	0,024	
HbA1c (%)	Tedavi Öncesi	7,95±0,81	8,11±0,76	0,558
	Tedavi Sonrası	6,73±0,75	6,68±0,83	0,833
	P	0,0001	0,0001	
AKŞ (mg/dl)	Tedavi Öncesi	159,53±39,51	173,65±42,06	0,321
	Tedavi Sonrası	140,82±27,92	120,76±19,03	0,02
	P	0,154	0,0001	
Trigliserid (mg/dl)	Tedavi Öncesi	173,29±89,38	226±87,32	0,092
	Tedavi Sonrası	146,53±98,96	158,35±62,2	0,679
	P	0,217	0,001	
LDL (mg/dl)	Tedavi Öncesi	115,82±25,75	110,18±34,96	0,595
	Tedavi Sonrası	102,88±31,43	103,53±32,08	0,953
	P	0,150	0,367	
HDL (mg/dl)	Tedavi Öncesi	44,82±12,06	39,29±8,84	0,137
	Tedavi Sonrası	40,65±8,82	40,12±7,22	0,849
	P	0,079	0,558	

Tablo 7. Grupların antropometrik ölçüm, glisemik düzey ve lipid profillerinin çalışma öncesi ve sonrası dağılımı. (*Bağımsız t testi, ‡eşlendirilmiş t-testi)

Grup E’de tedavi sonrası vücut ağırlığı ortalamaları, tedavi öncesinden istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulunmuştur (p=0,0001). Grup İ’de anlamlı değişim gözlenmemiştir (p=0,293).

Grup E’nin tedavi sonrası VKİ ortalamaları tedavi öncesinden istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulunmuştur (p=0,0001). Grup İ’de anlamlı değişim gözlenmemiştir (p=0,57). Grupların tedavi öncesi total vücut yağ kütlesi ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmemiştir (p=0,137, p=0,735). Grup E’nin tedavi sonrası total vücut yağ kütlesi ortalamaları, tedavi öncesinden istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulunmuştur (p=0,009). Grup İ’de anlamlı

değişim gözlenmemiştir (p=0,509). Grup E'nin tedavi sonrası bel çevresi ortalamaları tedavi öncesinden istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulunmuştur (p=0,006). Grup İ'nin tedavi sonrası bel çevresi ortalamaları, tedavi öncesinden istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulunmuştur (p=0,024).

Çalışma başlangıcında gruplar arasında HbA1c, AKŞ, trigliserid, HDL, LDL düzeyleri arasında istatistik olarak fark yoktu. Her iki grupta da tedavi öncesi ve sonrası HbA1c düzeylerinde istatistik açıdan anlamlı düşme gözlenmiştir (p=0,0001, p=0,0001) fakat gruplar arasında fark yoktu (p=0,83). Grup E'nin tedavi sonrası AKŞ ortalamaları, grup İ'nin tedavi sonrası AKŞ ortalamalarından istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (p=0,02). Grup E'nin tedavi öncesi ve sonrası trigliserid ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı değişim gözlenmemiştir (p=0,217). Grup İ'de tedavi sonrası trigliserid ortalamaları tedavi öncesinden istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulunmuştur (p=0,001). Gruplar arasında tedavi öncesi ve sonrası arasında HDL ve LDL değerleri istatistik olarak anlamlı fark yoktu.

4.1. Endotel fonksiyonları üzerine etki:

		Eksenatide Grubu	İnsülin Glargine Grubu	p*
FMD (cm)	Tedavi Öncesi	4,06±0,33	4,12±0,48	0,690
	Tedavi Sonrası	4,44±0,26	4,41±0,5	0,781
	p‡	0,0001	0,0001	
NTG (cm)	Tedavi Öncesi	4,2±0,3	4,23±0,48	0,831
	Tedavi Sonrası	4,48±0,25	4,53±0,51	0,735
	P	0,0001	0,0001	
FMD %		8,62±4,68	6,38±5,66	0,218
NTG %		6,23±3,94	6,45±4,63	0,887

Tablo 8. Çalışma gruplarının endotel fonksiyonlarının tedavi öncesi ve sonrası ölçümleri. (*Bağımsız t-testi, ‡Eşlendirilmiş t testi)

Grupların tedavi öncesi FMD ve NTG sonrası endotel dilatasiyon ölçümü ortalamalarında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmemiştir (p=0,690, p=0,831).

Her iki grubun tedavi sonrası FMD ve NTG sonrası endotel dilatasiyon ortalamaları tedavi öncesinden istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek

gözenmiştir ($p=0,0001$, $p=0,0001$). Fakat gruplar arasında fark istatistik olarak anlamlı değildi.



		Eksenatide grubu	İnsülin glargine grubu	p*	
hs-CRP	Tedavi	Ort±SS	0,87±0,89	0,49±0,42	0,221
	Öncesi	Median (IQR)	0,6 (0,26-1,02)	0,33 (0,19-0,8)	
	Tedavi	Ort±SS	0,52±0,47	0,44±0,47	0,524
	Sonrası	Median (IQR)	0,33 (0,16-1,02)	0,25 (0,13-0,63)	
		p‡	0,017	0,469	
Fibrinojen	Tedavi	Ort±SS	4,19±0,85	3,58±0,81	0,085
	Öncesi	Median (IQR)	4,16 (3,6-4,53)	3,73 (2,79-4,26)	
	Tedavi	Ort±SS	4,35±0,81	3,98±0,75	0,206
	Sonrası	Median (IQR)	4,27 (3,79-4,78)	3,85 (3,22-4,57)	
		p	0,164	0,035	
Leptin	Tedavi	Ort±SS	21,11±11,86	15,07±7,66	0,171
	Öncesi	Median (IQR)	18,85 (13,59-30)	15,4 (6,76-22,45)	
	Tedavi	Ort±SS	20,49±10,07	22,39±17,61	0,971
	Sonrası	Median (IQR)	20,84 (11,49-25,06)	19,4 (6,76-31,75)	
		p	0,756	0,035	
IL-6	Tedavi	Ort±SS	17,49±12,42	15,77±8,17	0,904
	Öncesi	Median (IQR)	13,67 (12,48-17,53)	13,8 (12,82-14,97)	
	Tedavi	Ort±SS	18,5±17,52	13,91±2,53	0,293
	Sonrası	Median (IQR)	14,83 (12,68-15,8)	13,01 (11,81-16,43)	
		p	0,925	0,758	
PAİ-1	Tedavi	Ort±SS	2932,27±923,27	2890,69±1070,98	0,293
	Öncesi	Median (IQR)	3197,4 (2636,05-3487,8)	2617,8 (2187,8-3300,4)	
	Tedavi	Ort±SS	2731,36±773,53	2960,68±741,7	0,278
	Sonrası	Median (IQR)	2526,2 (2235,85-3482,5)	2881,8 (2416,1-3744,75)	
		p	0,193	0,492	
Endotelin-1	Tedavi	Ort±SS	16,09±4,96	11,19±5,76	0,016
	Öncesi	Median (IQR)	15,93 (11,57-19,78)	11,09 (9-14,37)	
	Tedavi	Ort±SS	12,35±5,65	20,06±9,79	0,016
	Sonrası	Median (IQR)	12,07 (10,76-14,15)	17,96 (11,83-24,43)	
		p	0,026	0,008	
MCP-1	Tedavi	Ort±SS	407,36±178,48	358,78±121,29	0,418
	Öncesi	Median (IQR)	388,98 (287,25-527,37)	337,01 (288,14-451)	
	Tedavi	Ort±SS	383,68±162,15	429,32±128,19	0,278
	Sonrası	Median (IQR)	393,17 (261,15-431,97)	408,88 (329,63-542,06)	
		p	0,332	0,049	
Adiponektin	Tedavi	Ort±SS	111,15±6,46	111,85±7,42	0,582
	Öncesi	Median (IQR)	111,03 (107,16-116,91)	113,29 (109,68-117,38)	
	Tedavi	Ort±SS	112,83±5,22	111,79±6,62	0,667
	Sonrası	Median (IQR)	112,33 (110,85-116,3)	112,68 (108,54-116,25)	
		p	0,368	0,943	
TNF-Alfa	Tedavi	Ort±SS	2,77±1,04	4,72±6,62	0,570
	Öncesi	Median (IQR)	2,76 (1,88-3,66)	2,66 (2,08-3,43)	
	Tedavi	Ort±SS	3,75±2,1	3,67±1,82	0,809
	Sonrası	Median (IQR)	3,4 (2,75-4,24)	3,14 (2,46-4,82)	
		p	0,102	0,301	

Tablo 9: Eksenatid ve İnsülin glargin gruplarında, endotel fonksiyon üzerine etkili biyokimyasal belirteçler ve adipositokinlerdeki tedavi öncesi ve sonrası değişimleri (*Mann Whitney U testi, ‡Wilcoxon testi)

4.2. Sitokinler üzerine etki

Grupların tedavi öncesi hs-CRP, İL-6, TNF-alfa, adiponektin, leptin, PAİ-1 ortalamaları düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmemiştir. Grup E’de tedavi sonrası hs-CRP ortalama düzeyleri tedavi öncesinden istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulunmuştur ($p=0,017$). Fakat Grup İ’de anlamlı değişim gözlenmemiştir ($p=0,469$).

Grupların tedavi sonrası IL-6, TNF-alfa, adiponektin ortalama düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmemiştir. Grup E’de tedavi sonunda leptin ortalama düzeylerinde anlamlı değişiklik olmazken ($p=0,756$), grup İ’de istatistiksel olarak anlamlı leptin yüksekliği tespit edilmiştir ($p=0,035$).

Grup E’nin tedavi öncesi endotelin-1 ortalama değerleri, grup İ’nin endotelin-1 ortalama değerlerinden istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksekti ($p=0,016$). Grup E’nin tedavi sonrası endotelin-1 ortalama değerleri tedavi öncesinden istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulunmuştur ($p=0,026$). Fakat grub İ’de endotelin-1 ortalama değerleri tedavi öncesinden istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p=0,008$). Grup E’nin tedavi sonrası endotelin-1 ortalama değerleri, grup-İ’nin endotelin-1 değerlerinden istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulunmuştur ($p=0,016$).

Grup E’nin tedavi öncesi ve sonrası MCP-1 ortalama düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı değişim gözlenmemiştir ($p=0,332$). Grup İ’nin tedavi sonrası MCP-1 ortalama değerleri tedavi öncesinden istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p=0,049$). Fakat grupların tedavi öncesi ve sonrası MCP-1 ortalama değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmemiştir ($p=0,418$, $p=0,278$).

Grup E’nin tedavi öncesi ve sonrası fibrinojen ortalama değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı değişim gözlenmemiştir ($p=0,164$). Fakat grup İ’nin tedavi sonrası fibrinojen ortalama değerleri tedavi öncesinden istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p=0,035$). Grupların tedavi öncesi ve sonrası fibrinojen değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmemiştir ($p=0,085$, $p=0,206$).

Her iki grupta tedavi öncesi ve sonrası PAİ-1 ortalama değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı değişim gözlenmemiştir ($p=0,193$, $p=0,492$).

Endotel fonksiyonu ile ilişkili parametrelerin çeşitli değişkenlere bağımlılığı

Tablo 10'da analiz edilmiştir.

		VKİ	Bel çevresi	Yağ kütlesi	Ağırlık
FMD	r	0,129	0,124	-0,125	0,119
	p	0,466	0,485	0,501	0,502
NTG	r	0,296	0,272	0,165	0,376
	p	0,09	0,120	0,376	0,028
hs-CRP	r	0,075	-0,063	0,077	0,018
	p	0,673	0,724	0,679	0,918
Fibrinojen	r	-0,056	0,013	-0,117	-0,294
	p	0,769	0,945	0,562	0,115
Leptin	r	0,546	0,125	0,472	0,507
	p	0,001	0,489	0,008	0,003
IL-6	r	0,352	-0,143	0,052	0,211
	p	0,041	0,421	0,781	0,232
PAİ-1	r	0,326	0,287	0,309	0,490
	p	0,06	0,099	0,09	0,003
Endotelin-1	r	0,301	0,317	0,08	0,362
	p	0,095	0,078	0,679	0,042
MCP-1	r	0,222	0,277	0,304	0,207
	p	0,207	0,113	0,096	0,241
Adiponektin	r	-0,227	0,111	0,031	-0,096
	p	0,196	0,533	0,870	0,591
TNF-alfa	r	0,122	-0,276	0,037	-0,115
	p	0,499	0,120	0,845	0,523

Tablo 10. Endotel fonksiyonu ile ilişkili parametrelerin çeşitli değişkenlere bağımlılığı (Spearman's korelasyon testi)

Bel çevresi tedavi öncesi-sonrası değişim % değeri ile FMD, NTG, hsCRP, fibrinojen, leptin, IL-6, PAİ-1, endotelin-1, MCP-1, adiponektin, TNF-Alfa değişkenleri tedavi öncesi-sonrası değişim % değeri arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki gözlenmemiştir ($p>0,05$). Total vücut yağ kütlesi tedavi öncesi-sonrası değişim % değeri ile FMD, NTG, hs-CRP, fibrinojen, IL-6, PAİ-1, endotelin-1, MCP-1, adiponektin, TNF-alfa değişkenleri tedavi öncesi-sonrası değişim % değeri arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki gözlenmemiştir ($p>0,05$).

Total vücut yağ kütlesi tedavi öncesi-sonrası değişim % değeri ile leptin tedavi öncesi-sonrası değişim % değeri arasında pozitif yönde istatistiksel olarak anlamlı ilişki gözlenmiştir ($r=0,472$).

Vücut ağırlığı tedavi öncesi-sonrası değişim % değeri ile FMD, hs-CRP, fibrinojen, İL-6, MCP-1, adiponektin, TNF-alfa değişkenleri tedavi öncesi-sonrası değişim % değeri arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki gözlenmemiştir ($p>0,05$).

Vücut ağırlığı tedavi öncesi-sonrası değişim % değeri ile NTG tedavi öncesi-sonrası değişim % değeri arasında pozitif yönde istatistiksel olarak anlamlı ilişki gözlenmiştir ($r=0,376$). Vücut ağırlığı tedavi öncesi-sonrası değişim % değeri ile leptin, PAİ-1, endotelin-1 tedavi öncesi-sonrası değişim % değeri arasında pozitif yönde istatistiksel olarak anlamlı ilişki gözlenmiştir (sırasıyla; $r=0,507$, $r=0,490$, $r=0,362$).



5. TARTIŞMA

Tip 2 diyabetik hastalarda kardiyovasküler olaylar çok sık görülmektedir. Bu hastaların yaklaşık % 80'i kardiyovasküler nedenlerden kaybedilmektedir. Son yıllarda antidiyabetik ilaçların kardiyovasküler risk faktörleri üzerine olan etkileri önem kazanmaktadır. Bu durumda yeni bir tedavi seçeneği sunan inkretin bazlı ilaçlar (GLP-1 agonistleri ve DPP4 inh.) çeşitli özellikleriyle ön plana çıkmaktadır. Glisemik regülasyon üzerine olan olumlu etkilerinin yanı sıra kardiyovasküler risk faktörleri ve biyomarkerlar üzerine de olumlu etkileri vardır. Diyabetik hastalarda kardiyovasküler olayları azaltabilecekleri öne sürülmektedir. Daha da ötesi, GLP-1 agonistlerinin endotel üzerine doğrudan etkileriyle, endotel disfonksiyonunu düzeltebileceği ve ateroskleroz gelişimini engelleyebileceği iddia edilmektedir. Ancak insanlarda GLP-1 agonistlerinin endotel üzerine etkisini inceleyen klinik çalışma çok az sayıdadır. Antiinflamatuvar özelliği ve vazodilatasyon yapıcı etkileri bilinen insülin (175) ile GLP-1 analoglarını bu açıdan karşılaştıran bir çalışma ise literatürde henüz yoktur. Bu çalışma, 40-70 yaş arası tip 2 diyabetik hastalarda yeni bir tedavi seçeneği olan GLP-1 agonisti eksanatide ile insülin glarginin endotel fonksiyonları ve dolaşımdaki kardiyovasküler risk belirteçleri üzerine etkilerini karşılaştırmak amacıyla planlanmıştır.

26 haftalık çalışmamız sonucunda eksanatide grubunda ortalama 5,55 kg ve insülin glargin kolunda 0,85 kg kilo kaybı olmuştur. İki grup arasındaki fark 4,7 kg civarındadır. 30 haftalık plasebo kollu eksanatide karşılaştırmalı çalışmalarda 2,1-2,8 kg kaybı gözlenmiştir (142,143). İnsülin glarginle karşılaştırmalı çalışmalarda 26 haftada eksanatide grubunda kilo farkı 4,1 kg olarak saptanmıştır (144). Çalışmamızda beklenin aksine insülin glargin grubunda da bir miktar kilo kaybı gözlenmesi hastalarımızın takipleri süresince, diyet ve yaşam tarzı değişikliklerine tam uyumu ile açıklanabilir.

Eksanatide grubunda vücut yağ kütlelerinde 4 kg azalma olurken glargin grubunda yağ kütlelerinde 0,8 kg artış olmuştur. İki grup arasında yaklaşık 4,88 kg yağ kütleleri farklılığı ve %15,82'lik değişim olmuştur. 1 yıllık insülin glargin karşılaştırmalı bir çalışmada eksanatide grubunda, 2,9 kg lık yağ kütleleri kaybı ve %13'lük azalma yönünde değişim gözlenmiştir (145). 26 haftalık liraglutide (GLP-1

agonisti) çalışmasında yağ kütlesindeki azalmanın, asıl olarak visceral yağ kütlesinde olduğu gösterilmiştir (146).

Her iki grupta bel çevresinde azalma olmuştur. Eksenatide grubunda bu azalma çok daha belirgindir.

Tedavi sonunda HbA1c düzeyleri her iki grupta birbirine yakın düzeyde sonuçlanmıştır. (%6,73 ve %6,68). Başlangıç değerlerine göre %1,22 ve %1,43 azalma olmuş, istatistik olarak anlamlılık ifade etmektedir. AKŞ değerleri insülin glargin kolunda daha belirgin ve anlamlı düşme göstermiştir. Bilindiği üzere iki tedavi seçeneği bu sonucu farklı etki mekanizmaları ile sağlamaktadır. Eksenatide asıl olarak postprandiyal glukozu, insülin glargin ise açlık plazma glukozuna yönelik etki oluşturmaktadır. 26 hafta izlemli insülin glargin ile karşılaştırmalı çalışmada, çalışmamıza benzer şekilde HbA1c düzeyinde %1,1 azalma görülmüştür (144). Bir yıllık insülin glargin ile karşılaştırmalı çalışmada HbA1c düşüşü sırasıyla eksenatide kolu için % 0,8 ve glargin kolu % 0,7'dir. 30 haftalık plasebo ile karşılaştırmalı çalışmalarda eksenatide % 0,78–0,9 düzeyinde ek düşüş sağlamıştır (142,143).

Tip 2 diyabette β hücre fonksiyonlarındaki bozukluk nedeniyle glukozu erken faz insülin cevabı yokluğu ve giderek azalan geç faz cevap söz konusudur. β -hücre fonksiyonlarındaki ilerleyici kayıp, zamanla oluşan glisemik kontrol bozukluğunda asıl faktördür. Eksenatide'e akut ve kronik maruziyet β -hücre fonksiyonlarını iyileştirmektedir (143–144,147–149).

Hastalarımızın diyabet yaşı ortalaması eksenatide kolunda 6,88 yıl, insülin glargin kolunda 7,59 yıldır. Hastaların diyabet sürelerinin görece kısa olması, özellikle eksenatide kolunda tedavi başarısına katkıda bulunan önemli bir faktördür. Her iki tedavi grubunda serum trigliserid düzeylerinde düşmeler gözlenmiştir. Bu düşme insülin glargin grubunda istatistiksel anlamlılığa ulaşmıştır. Birçok çalışmada GLP-1 agonistleri ile serbest yağ asitleri ve trigliserid düzeylerinde düşme olduğu gözlenmiştir (150). Yine LDL-kolesterol düzeyinde, eksenatid grubunda istatistiksel anlamlılığa ulaşmayan ancak oldukça belirgin bir düşme gözlenmiştir.

Dolaşımdaki hs-CRP düzeyleri obez bireylerde artmıştır. hs-CRP'nin yağ kütlesi ve visceral obezite ile doğrudan korelasyonu mevcuttur (151). Cerrahi yöntemle veya diyetle kilo kaybı orta yaşlı sağlıklı bireylerde, postmenapozal obez kadınlarda, obez erkeklerde hs-CRP düzeyini düşürmektedir. Eksenatid' in hs-CRP

üzerindeki olumlu etkisi ilk kez 2007 yılında gündeme gelmiştir (152). Hayvan deneylerinde eksenatide'in viseral yağ dokusuna ve dolaşımdaki hs-CRP düzeylerine etkisi gösterilmiştir (153). Üç ay takipli, insülin glarjin ile karşılaştırmalı bir çalışmada eksenatide grubunda hs-CRP azalmaktadır (154). Liraglutide ile sürdürülen LEAD programındaki 6 çalışmanın metaanalizinde; hs-CRP düzeylerinin liraglutide ile %23 oranında azaldığı gözlenmiştir (155). Eksenatide ile yapılan bir yıl süreli benzer bir çalışmada ise yine eksenatide kolunda hs-CRP % 61 oranında azalmakta, kilo kaybı için düzeltme sonrası da aynı etki sürmektedir (145). Kilo kaybı ile hs-CRP düzeylerinde düşüş birçok çalışmada gösterilmiştir (156–157). Çalışmamızda eksenatide kolunda kilo kaybı ile birlikte hs-CRP'de istatistiksel açıdan anlamlı düşüş gözlenmiştir.

Çalışmamızda, leptin düzeyinde insülin glargin kolunda başlangıca göre anlamlı artış olmaktadır ancak eksenatide ile karşılaştırmada anlamlı bir fark görünmemektedir. Leptin seviyesi yağ kütlesi ve VKİ ile doğru orantılıdır. Yani obezlerde leptin seviyesi yüksektir. Çoğu obez hasta, obez olmayanlara göre çok yüksek leptin seviyelerine sahiptir. Bu bize obezitede leptin eksikliğinden çok direncini göstermektedir (158,188). Total ve viseral yağ dokusu fazlalığı ile yüksek leptin düzeyleri ilişkili bulunmuştur. Diyet ve aerobik egzersiz programı ile yaklaşık 6 +/- 0,8 kg kilo kaybı ile leptin düzeylerinde % 28 azalma tespit edilmiştir (159). Leptin seviyesinin yağ kütlesinden bağımsız olarak insülin seviyesi ile ilişkisi olduğu da gösterilmiştir. İnsülin leptin üretimi ve salgılanmasını arttırmaktadır (158-159,188). Çalışmamızda insülin glargin kolunda leptin anlamlı düzeyde artmış olması bu literatürü destekleyici niteliktedir.

İL-6 düzeylerinde çalışma boyunca her iki kolda da anlamlı bir değişiklik gözlenmemiştir. Ayrıca gruplar arasında da fark gözlenmedi. GLP-1 agonistleri ile yapılan bazı çalışmalarda İL-6 düzeylerinde düşüş saptansa da, insülin ile karşılaştırmalı çalışmalarda anlamlı bir fark gözlenmemiştir (145,160).

TNF-alfa düzeyleri obezlerde artmıştır. Obezler kilo verdiklerinde TNF-alfa düzeylerinde düşme olmaktadır (189–190). TNF-alfa düzeylerinde çalışma boyunca her iki kolda anlamlı değişiklik olmadı. Ayrıca gruplar arasında da fark gözlenmedi. TNF alfa düzeylerinde, eksenatide ile yapılan benzer çalışmalarla korelasyon gözlendi (145).

Leptin gibi adiponektin de farklılaşmış adipositlerde üretilip dolaşıma verilmektedir. Kilo verilmesi ile dolaşımda düzeyleri artar (191–192). Hayvan deneylerinde eksenatide'in adiponektini olumlu etkilediği bildirilmiştir (161). Bizim çalışma gruplarımıza benzer gruplarla yapılan 1 yıl izlemlili çalışmada, eksenatide adiponektin üzerine yağ kütlesi azalmasından bağımsız olumlu etki göstermiştir (145). Adiponektin düzeylerinde her iki çalışma grubunda çalışmamız boyunca anlamlı değişiklik olmamıştır. Gruplar arasında da fark gözlenmemiştir. Bu sonuçların, çalışma süremizin görece kısa olması ile ilgili olabileceğini düşünüyüyoruz. hs-CRP ile adiponektin düzeyleri arasında negatif bir ilişki saptanmıştır. Yani hs-CRP düşerken adiponektin düzeyleri artmaktadır. Grup E'de hs-CRP düzeylerinin düşmüş olması zamanla adiponektin düzeylerinde de düşme olabileceği tezimizi güçlendirmektedir.

Çalışmamızda eksenatide grubunda endotelin-1 anlamlı şekilde azalırken insülin glargin grubunda artmaktadır. Aradaki fark istatistiksel anlamlılık ifade etmektedir. İnsülin direnci varlığında ve tip 2 diyabette insülin, MAPK yolağını aktive etmektedir. Böylece hücrenel büyüme ve çoğalma aktive edilirken, ET-1 üretimi de uyarılır (162). Erken dönem klinik gözlemler ve hayvan deneyi çalışmalarında insülin direnci varlığında ve tip 2 diyabette endotelin-1 artışı gösterilmiştir (163). Vazokonstrüktör tonus tip 2 diyabetlilerde ET -A reseptörü aracılığıyla artmıştır (164). ET-1 uygulanması ile insülin direnci varlığında endotel bağımlı dilatasyon azalmaktadır (165). İnsülin direnci varlığında sadece endotel fonksiyonları değil ayrıca düz kas hücrelerinde gevşeme kabiliyeti de bozulmuştur (166).

Eksenatide'in endotelin-1 düzeyini azalttığına dair veri yoktur. İnsülin glarginle yapılan 1 yıllık karşılaştırmalı çalışmada insülin kolunda %7, eksenatid kolunda ise %1 azalma görülmüştür (145). İnsülin direnci varlığında, obesite ve tip 2 diyabette endotelin-1 düzeyi artmaktadır. Kilo kaybı, endotel fonksiyonlarında iyileşme ve HbA1c düzeyindeki belirgin düşme ile endotelin-1 düzeyinde düşme beklenilmelidir. Çalışmamızın sonucu bu anlamda literatürle uyumludur.

MCP-1 daha çok viseral adipoz dokudan salınan inflamatuvar bir sitokindir. Diyabetiklerde ve obezlerde düzeyi artmıştır (167–168). MCP-1 mRNA düzeyleri adipozite ile korele bulunmuş ve morbid obezlerde kilo verme ile düzeyleri

azalmıştır. Anlamli kilo kaybı olan ekfenatide kolunda düzeyleri değişmezken, insülin glarjin kolunda plazma düzeyleri artmıştır (169). Chaudhuri ve arkadaşları, tip 2 diyabetli 24 hastada yaptıkları 12 haftalık plasebo kontrollü ekfenatide çalışmasında; ekfenatide grubunda MCP-1, metalloproteinaz-9, serum amyloid A ve IL-6 konsantrasyonlarının düştüğünü gözlemlemişlerdir (160). Ancak bu hastaların önemli bir kısmında mevcut insülin tedavisine ekfenatide eklenmiştir. Ekfenatide'in inflamatuvar sitokinler üzerine etkisinin plasebo ile karşılaştırıldığı 4 aylık izlemi içeren çalışmada hs-CRP ile birlikte MCP-1'inde belirgin azaldığı tespit edilmiştir. Bu durumun VKİ, HbA1c ve vücut ağırlığı ile korele olduğu gözlenmiştir (170). Çalışmamızda MCP-1 düzeyleri ekfenatid kolunda tedavi öncesine göre azalmış ancak istatistiksel anlamlılığa ulaşmamıştır. İnsülin glarjin kolunda ise MCP-1 düzeylerinde istatistiksel anlamlılık sınırında bir artış görülmektedir.

Fibrinojen inflamasyon varlığında artan akut faz reaktandır. Diyabette artmış kronik inflamasyon varlığından bahsedilmektedir. İnflamasyonun artışını sağlayan sitokinlerden bir tanesi de fibrinojendir. Ayrıca diyabette prokoagülan aktivite artışı olurken fibrinolitik aktivitede bozulma olmaktadır(193-194). Çalışma gruplarımızdan insülin glarjin kolunda fibrinojendeki belirgin artış gözlenmiş, ekfenatid kolunda ise anlamlı bir değişiklik olmamıştır.

PAİ-1 düzeyleri insülin direnci varlığında ve obezitede artmaktadır. Obezlerde kilo kaybı sonrası düzeyleri azalmaktadır. Kaynağı asıl olarak visceral yağ dokusudur (171-172). GLP-1 agonistleri ile tedavide genellikle plazma düzeyi azalmıştır (173-174). Bizim çalışmamızda ekfenatide grubunda PAİ-1 düzeylerinde azalma olsa da istatistiki açıdan anlamlı olmamıştır. Benzer şekilde 1 yıllık ekfenatide çalışmasında da PAİ-1 düzeyleri anlamlı değişmemiştir (145).

Normal koşullarda insülin PI-3K yolağını ve NO salınımını uyararak vasodilatatör ve vasküler endotel üzerine koruyucu bir etki göstermektedir. Fakat insülin direnci oluştuğunda ve fizyolojik olmayan bir insülin salınımı ve proinsülin düzeyleri artmaya başladığında bu sinyal yolağı PI3K' dan MAPK yolağına döner. Bu durumda insülinin vazokonstriktör ve mitojenik özellikleri ön plana çıkmaya başlar (175).

Sıçan ve insan vasküler düz kas ve endotel hücreleri üzerinde GLP-1 reseptörleri gösterilmiştir (176,177). Bu nedenle GLP-1 agonistlerinin endotel

fonksiyon üzerinde doğrudan etkisi olabileceği düşünülmektedir. Liraglutide insan vasküler endotel hücreleri üzerinde e-NOS fosforilazasyonu ve eNOS aktivite artışı yaparak NO üretimini artırmıştır (178). İnsan koroner arterlerinden elde edilen endotel hücrelerinde GLP-1 endotelyal nitrik oksit sentaz aktivasyonu oluşturmuş ve glukolipoapoptozisi engellemiştir(179). Sağlıklı kişilerde GLP-1 infüzyonu asetil kolin aracılıklı ön kol akımını artırmaktadır (180). *İn vivo çalışmalarda liraglutide ile tedavi edilen hastalarda, endotel fonksiyonlarında belirgin iyileşme görülmüştür. Ayrıca aortik endotelde intersellüler adhezyon molekülü-1 (İCAM-1) ekspresyonunu azaltırken, eNOS'u arttırdığı tespit edilmiştir (181). Nystrom ve arkadaşları tip 2 diyabet ve koroner arter hastalığı olan 12 hastada GLP-1 infüzyonunun brakiyal arterlerde akım aracılı vazodilatasyonu arttırdığını gözlemlemişlerdir. Sağlıklı kontrol grubunda ise bir değişiklik olmamıştır (177). İrace ve arkadaşları diyabetik hastalarda eksanatid tedavisini, bir sulfanilüre olan glimepid ile karşılaştırmıştır. Çalışmada eksanatide kullanan hastalarda brakiyal arterde akım bağımlı dilatasyon belirgin olarak artmıştır (182). Yüksek karbonhidratlı veya yağlı diyet sonrası endotel disfonksiyonu gelişebilmektedir. Bozulmuş glukoz toleransı veya yeni tespit diyabeti olan hasta grubunda yüksek yağ içerikli bir diyet öncesinde tek doz eksanatide ile endotel fonksiyonlarında düzelme olmuştur (183).*

Eksanatide diyabetik hastalarda; glukolipotoksisite nedeniyle bozulmuş olan anjiyogenez, inflamasyon ve trombogeneze katkı sunan gen ekspresyonlarını düzenleyerek, endotelyal hücre fonksiyonlarını iyileştirir. Böylece eksanatide ve diğer inkretin bazlı tedaviler, glisemik kontrol yanında kardiyovasküler ek yarar sağlamış oluyor (184). Ekzojen verilen GLP-1 ve GLP-1 agonistleri ile glukoz düşürücü etkiden bağımsız olarak vasküler hücreler üzerine (örneğin; endotelyal hücreler, monosit/makrofaj, vasküler düz kas hücreleri) direkt yararlı etki olduğu gözlenmiştir. Bu veri bize, GLP-1'in ateroskleroz progresyonu üzerine potansiyel koruyucu etkisi olduğunu vurgulamaktadır (185).

GLP-1 agonistlerinin sistolik ve diyastolik kan basıncını azalttığı birçok çalışma ile gösterilmiştir. Bu etkinin tam mekanizması tam anlaşılamamış olsa da GLP-1'in natriüretik ve diüretik etkisi, area postremadaki medüller katekolamin nöronları üzerine santral etkisi, periferik damarlar üzerine doğrudan etkisiyle bu durum açıklanmaya çalışılmaktadır (124-125). Bazı çalışmalarda GLP-1'in periferik

vazodilatör etkisi endotel ve NO ile ilgili bulunmuştur. Diğer bir grup araştırmacı ise GLP-1'in K- ATP kanalı ve cAMP etkileyerek endotelden bağımsız dilatasyon oluşturduğunu ileri sürmektedir (186).

Normalde insülin etkisiyle fosfoinositol-3 kinaz yolağı aktive olarak NO sentezi uyarılır (Şekil 5). Tip 2 DM, obezite, hipertansiyonda NO salınımı bozulmaktadır. Hiperglisemi durumunda, artan süperoksit anyon radikalleri (ROS) nedeniyle oksidatif stres artar. Böylelikle eNOS ekspresyonu ve aktivitesi engellenir. Endotel disfonksiyonu ortaya çıkar (187). Bizim çalışma grublarımız obez tip 2 diyabetli ve ağırlıklı olarak hipertansifti. Kilo kaybı, bel çevresinde incelme, total yağ kütlelerinde azalma, glisemik regülasyon, kan basıncının stabil seyri vb. NO salınımını düzeltmektedir. Mevcut tedaviye insülin glargin eklendiği 3,5 yıllık izlemli bir çalışmada, endotele bağımlı ve bağımsız vasküler cevapta düzelme görülmüştür. Bu düzelme glisemik regülasyonla artan serbest insülin konsantrasyonu ile ilişkilendirilmiştir (195).

Çalışmamızın her iki kolunda da hem akım aracılıklı vazodilatasyon hem de nitrogliserin sonrası vazodilatasyon anlamlı ölçüde artmıştır. Gruplar arasında anlamlı fark oluşmamıştır. 26 haftalık çalışma süresinde glisemik kontrol göstergelerimizde (AKŞ ve HbA1c) anlamlı düzelme olması, vücut ağırlığında eksenatide kolunda daha belirgin olmak üzere azalma gözlenmesi, lipid düzeylerinin olumlu seyrini sürdürmesi şüphesiz bunda rol oynamış gözükmektedir.

Bu çalışmada daha önce antiinflamatuvar ve vazodilatör etkisi gösterilmiş bilinen en güçlü ve güvenilir antidiyabetik ajan olan insülin ile yeni ve umut vaat eden bir antidiyabet gruba dahil olan eksenatide'in adipositokinler, biyokimyasal kardiyovasküler risk belirteçleri ve endotel fonksiyonlar üzerine etkileri karşılaştırılmıştır. Eksenatide'in glisemik regülasyon üzerinde insülin glargin kadar etkili olduğu ve ek kilo kaybı sağladığı gözlenmiştir. Yirmialtı haftalık izlem sonunda endotel fonksiyonlarda eksenatid kolunda insüline benzer bir iyileşme sağlanmıştır. Eksenatid kolunda, hs-CRP, MCP-1, fibrinojen ve endotelin-1 gibi belirteçlerde insülin koluna göre olumlu değişikliklerin saptanması, daha uzun süreli takip içeren çalışmalarda endotel fonksiyonlarda insülin ile sağlanan iyileşmenin ötesine geçebileceği umudu doğurmaktadır.

Ancak GLP-1'in vasküler biyoloji üzerine bu etkisini açıklayacak daha fazla deneysel çalışmaya ihtiyaç vardır. Tip 2 diyabetli hastalarda, GLP-1'in kardiyovasküler olayları azaltabileceğine dair büyük, çok merkezli, randomize, kardiyovasküler sonlanım noktalı klinik çalışmaların sonuçlarını beklemeye ihtiyaç vardır.



6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Sonuç olarak eksenatide tip 2 diyabetli obez hasta grubunda endotel fonksiyonlarını iyileştirirken kardiyovasküler risk belirteçlerini olumlu yönde etkilemektedir. Bu etki endotelin-1, PAİ-1, leptin, MCP-1, fibrinojen, hsCRP'de belirgindir. Kilo kaybı ile sitokinler arasında pozitif ilişki görülmüş olması anlamlıdır. Eksenatide'in uzun dönem kullanımı ile giderek artan kilo kaybı bu sitokinlerdeki düzelmelerin daha belirginleşmesine ve diğer sitokinlerde de iyileşmelerin olabileceğini düşündürmektedir. Obez diyabetik hastalarda eksenatide kullanımı endotel ve düz kas fonksiyonlarında düzelmeye yol açıyor gözükmektedir. Nitrat aracılıklı vazodilatasyonun kilo kaybı ile ilişkisi olması, eksenatide'in kilo kaybından bağımsız endotel fonksiyonlarında iyileşmeye yol açtığını göstermektedir.

GLP-1'in çeşitli organ ve sistemlere etkisini gösteren çalışmalar her geçen gün artmaktadır. Bu çalışmamızın süresi görece kısadır. Uzun dönemli benzer çalışmalar planlanmaktadır. GLP-1'in kardiyovasküler olayları azaltabileceğine dair büyük, çok merkezli, randomize, kardiyovasküler sonlanım noktalı klinik çalışmaların sonuçlarını beklemeye ihtiyaç vardır.

Tip 2 diyabette kardiyovasküler hastalık ve ona bağlı olumsuz sonuçlar tedavi planlanırken mutlaka göz önünde bulundurulmalıdır. Unutmayalım ki kardiyovasküler hastalık gelişimine neden olan hipertansiyon, hiperlipidemi, obezite gibi faktörler genelde diyabete eşlik etmektedir. Diyabet tedavileri planlanırken bu faktörler üzerine etkiyi de göz önünde bulundurmalıyız.

7. ÖZET

Amaç: GLP-1 agonisti eksenatide'in endotel fonksiyonları ve kardiyovasküler risk belirteçleri üzerine etkinliğinin gösterilmesi.

Gereç ve Yöntem: Bu çalışma en az iki ay süreyle metformin tedavisi kullanmış olan tip 2 DM'lu hastalarla yürütülmüştür. VKİ: 25-45 kg/m² aralığında insülin ve inkretin bazlı tedavi kullanmamış 34 hasta (22 kadın, 12 erkek) eksenatide ve insülin glargin tedavisi için 2 gruba randomize edildi. 26 hafta süreyle tedavi edilerek izleme alındı. Endotel fonksiyonları ultrasonografik olarak, kardiyovasküler risk belirteçleri serumda ELİSA yöntemiyle ölçüldü.

Bulgular: Eksenatide grubunda vücut ağırlığı, total yağ kütlesi ve bel çevresinde azalma gözlemlendi (sırasıyla %5,98, 10,78 ve 3,89). Her iki grubun tedavi sonrası endotel kaynaklı (FMD) ve endotelden bağımsız (dilaltı nitrogliserin) vasküler yanıtları tedavi öncesinden anlamlı yüksekti (p=0,0001, p=0,0001). Eksenatide grubunda hs-CRP, endotelin-1 düzeyleri düşmekteydi. (sırasıyla %27.5 ve 18.75). İnsülin glargin grubunda fibrinojen, MCP-1, leptin ve endotelin-1 artmaktaydı (sırasıyla %13.48, 30.27, 47.56, 80). Vücut ağırlığındaki değişim ile endotelden bağımsız dilatasyon, leptin, PAİ-1, endotelin-1 değişim değeri arasında pozitif yönde ilişki gözlemlenmiştir (sırasıyla; r=0,376, r=0,507, r=0,490, r=0,362). İnsülin glargin kolunda AKŞ ve trigliserid düzeylerinde anlamlı düşme gözlemlendi (p=0,0001, p=0,001).

Sonuçlar: 26 haftalık eksenatide kullanımı ile vücut ağırlığında azalma ve bazı kardiyovasküler risk belirteçlerinde iyileşme görülmektedir. Eksenatide ile endotel fonksiyonlarında iyileşme görülmüştür. İnsülin glargin kullanımı ile endotel fonksiyonları iyileşmekte fakat kardiyovasküler risk belirteçlerinde olumlu seyir görülmemektedir.

Anahtar kelimeler: Eksenatide, insülin glargin, endotel disfonksiyonu, sitokinler, GLP-1 agonistleri, endotelin-1, PAİ-1, leptin

8. ABSTRACT

Objective: To study the effect of exenatide on endothelial function and circulating cardiovascular risk biomarkers.

Material and Method: Metformin treated patients with type 2 diabetes (N=34) were randomized to exenatide or insulin glargine and treated for 26 weeks. These patient never used insulin and incretin based therapy. BMI: 25–45 kg/m² and ages ranged between 40–70. Endothelial function were evaluated by ultrasound and serum cardiovascular risk biomarkers level were measured by ELISA method.

Results: Treatment with exenatide for 26 weeks was significantly reduced body weight, total body fat mass and waist circumference by 5,98, 10,78 ve 3,89% respectively. There was a significant difference in endothelium-dependent (flow-mediated dilatation), endothelium independent (sublingual nitrogliserin) vascular responses between pretreatment and after treatment in both groups (p=0,0001, p=0,0001 respectively). Exenatide decreased hs-CRP and endothelin-1 (27,5 ve 18,75% respectively). Insulin glargine increased fibrinogen, MCP-1, leptin, endothelin-1 (13,48, 30,27, 47,56, 80% respectively). There was positive relation between a decrease in body weight and nitrate-induced dilation, leptin, PAI-1, endothelin-1 (r= 0,376, r=0,507, r=0,490, r=0,362 respectively). Insulin glargine decreased fasting plasma glucose and triglyserid statistically (p=0,0001, p=0,001 respectively).

Conclusion: Treatment with exenatide for 26 weeks reduced body weigth and improved some of cardiovascular risk biomarker. Exenatide improved endothelial functions. Insulin glargine improved endothelial function but there was not positive effect on cardiovascular biomarkers.

Key words: Exenatide, insulin glargine, endothelial dysfunction, cytokines, GLP-1 agonists, endothelin-1, PAI-1, leptin

9. KAYNAKLAR

1. International Diabetes Federation. Diabetes Atlas. 5th edition, Brussels: IDF Publ; 2011.
2. Satman I, Omer B, Tutuncu Y et al. Twelve-year trends in the prevalence and risk factors of diabetes and prediabetes in Turkish adults. *Eur J Epidemiol.* 2013 Feb;28(2):169–80
3. Donovan DS. Epidemiology of diabetes and its burden in the World and in the USA. *Principles of Diabetes Mellitus.* Boston, Dordrecht, London: Kluwer Academic Publisher 2002. p.107–121
4. Bennett PH, Knowler WC. Diabetes mellitus ve glikoz homeostazının tanımı, teşhis ve sınıflandırması. *Joslin's Diabetes Mellitus (Türkçe baskı).* 14th edition.2008;331-339
5. Harris MI. Impaired glucose tolerance in the U.S. population. *Diabetes Care* 1989; 12: 464
6. Sullivan PW, Morrato EH, Ghushchyan V et al. Obesity, inactivity, and the prevalence of diabetes and diabetes-related cardiovascular comorbidities in the U.S., 2000-2002. *Diabetes Care* 2005; 28:1599.
7. Medici F, Hawa M, Ianari A et al. Concordance rate for type 2 diabetes mellitus in monozygotic twins: *Diabetologia* 1999;42.146–150
8. Flegal KM, Ezzati TM, Harris MI et al. Prevalence of diabetes in Mexican Americans, Cubans, Puerto Ricans from the Hispanic Health and Nutrition Examination Survey, 1982–84. *Diabetes Care* 1991;14:628–638
9. Mokdad AH, Ford ES, Bowman BA et al. Diabetes trend in U.S.:1990-1998. *Diabetes Care* 2000;23:201-215
10. Gloyn AL, McCarthy MI. The genetics of type 2 diabetes. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2001; 15.293–308
11. Sempoux C, Guiot Y, Dubois D et al. Human type 2 diabetes: morphologic evidence for abnormal beta cell function. *Diabetes* 2000; 50: S172–7.

12. DeFronzo RA. Insulin resistance: a multifaceted syndrome responsible for NIDDM, obesity, hypertension, dyslipidemia and atherosclerosis. *Neth J Med* 1997;50:191–197.
13. Warram JH, Martin BC, Krolewski AS et al. Slow glucose removal rate and hyperinsulinemia precede the development of type 2 diabetes in the offspring of diabetic patients. *Ann Intern Med* 1990;113:909–915
14. Lillioja S, Mott DM, Howard BV et al. Impaired glucose tolerance as a disorder of insulin action. Longitudinal and cross sectional studies in Pima Indians. *NEJM* 1988;318:1217–1225.
15. Despres JP, Lamarche B, Mauriege P et al. Hyperinsulinemia as a independent risk factor for ischemic heart disease. *NEJM* 1996;334:952–957.
16. Ferrannini E, Galvan AQ, Gastaldelli et al. Insulin: new roles for an ancient hormone. *Eur J Clin Invest* 1999; 29:842–852
17. Cline GW, Petersen KF, Krssak M, et al. Impaired glucose transport as a cause of decreased insulin stimulated muscle glycogen synthesis in type 2 diabetes. *NEJM* 1999;341:240–246
18. Groop LC, Saloranta C, Shank M et al. The role of free fatty acid metabolism in the pathogenesis of insulin resistance in obesity and non-insulin dependent diabetes mellitus. *JCEM* 1991;(72):96–107
19. Yki-Jaervinen H. Insulin resistance in type 2 diabetes. In: Pickup JC, Williams G, eds. *Textbook of diabetes*. Oxford: Blackwell Science; 2003. Ch.22.p.22.1–22.19
20. Calles-escandon j, Robbins DC. Loss of early phase of insulin release in humans impairs glucose tolerance and blunts thermic effect of glucose. *Diabetes* 1987; 36:1167–1172
21. Butler P. Pulsatile insulin secretion. *Novartis found symp* 2000;227:190–205
22. Sturis J, Scheen AJ, leproult R et al. 24 hour glucose profiles during continuous or oscillatory insulin infusion. Demonstration of the functional significance of ultradian insulin oscillations. *J Clin Invest* 1995;95: 1464–1471
23. Perley MJ, Kipnis DM. Plasma insulin responses to oral and intravenous glucose: Studies in normal and diabetic subjects. *J Clin Invest* 1967; 46:1954–1962
24. Klöppel G, LÖhr M, Habick K et al. Islet pathology and the pathogenesis of type 1 and type 2 diabetes mellitus revisited. *Surv Synth Pathol Res* 1985;4:10–125

25. Zimmet P. Globalization, coca-colonization and the disease epidemic: Treating the disease the doomsday scenario averted? *J Intern Med* 2000;247:301–310
26. Neel J. Diabetes mellitus. Athrifty genotype rendered detrimental by ‘progress’? *Am J Hum Genet* 1962;14:353–362
- 27-American Diabet Association. Type 2 diabetes mellitus in children and adolescents (Consensus statement). *Diabetes care* 2000;23:381–389
28. James WP. What are the health risks? The medical consequences of obesity and its health risks. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 1998;106[Suppl 2]:1–6
29. Despres J-P, Lemieux I et al. Abdominal obese and metabolik syndrome. Contribution to global cardiometabolic risk. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2008;28:1039–1049
30. Frayn KN. Adipose tissue and the insülin resistance syndrome. *Proceeding of the Nutrition Society* 2001;60:375–380
31. Hill JM, Metcalfe D, Mcteman PG. Obesity and diabetes: Lipids, nowhere to run to. *Clin Science* 2009;116:113–123
32. Despres J-P, Lemieux I. Abdominal obesity and metabolic syndrome. *Nature* 2006;444:881–887
33. Holland MI, Knott TA et al. Lipid mediators of insulin resistance. *Nutritions rewievs* 2007;6:39–46
34. Ross R. Atherosclerosis: an inflammatory disease. *N Engl J Med* 1999; 340:1928–1929.
35. Ross R. The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990s. *Nature*. 1993; 362: 801–809.
36. Schechter AN, Gladwin MT. Hemoglobin and the paracrine and endocrine functions of nitric oxide. *N Engl J Med* 2003; 348: 1483–1485.
37. Furchgott RF, Zawadzki JV. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature*. 1980; 288: 373–376.
38. Forstermann U, Munzel T. Endothelial nitric oxide synthase in vascular disease: from marvel to menace. *Circulation* 2006;113: 1708–1714.
- 39-Corson MA, James NL, Latta SE et al. Phosphorylation of endothelial nitric oxide synthase in response to fluid shear stress. *Circ Res* 1996;79: 984–991.

40. Busse R, Edwards G, Feletou M et al. bringing the concepts together. *Trends Pharmacol Sci* 2002;3: 374–380.
41. Halcox JP, Narayanan S, Cramer-Joyce L et al. Characterization of endothelium-derived hyperpolarizing factor in the human forearm microcirculation. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2001; 280: H2470–H2477
42. Moncada S, Higgs EA, Vane JR. Human arterial and venous tissues generate prostacyclin (prostaglandin x), a potent inhibitor of platelet aggregation. *Lancet*. 1977;1:18–20.
43. Saye JA, Singer HA, Peach MJ. Role of endothelium in conversion of angiotensin I to angiotensin II in rabbit aorta. *Hypertension*. 1984; 6: 216–221.
44. Kinlay S, Behrendt D, Wainstein M et al. Role of endothelin-1 in the active constriction of human atherosclerotic coronary arteries. *Circulation*. 2001;104:1114–1118.
45. Stamler JS, Lamas S, Fang FC. Nitrosylation. The prototypic redox-based signaling mechanism. *Cell*. 2001;106: 675–683.
46. Hansson GK. Inflammation, atherosclerosis, and coronary artery disease. *N Engl J Med*. 2005; 352: 1685–1695.
47. Rhee SG. Cell signaling: H₂O₂, a necessary evil for cell signaling. *Science*. 2006; 312: 1882–1883.
48. Charakida M, Donald A, Terese M, Leary S et al and ALSPAC Study Team. Endothelial dysfunction in childhood infection. *Circulation*. 2005;111: 1160–1165.
49. Celermajer DS, Sorensen KE, Deanfield JE et al. Endothelium-dependent dilation in the systemic arteries of asymptomatic subjects relates to coronary risk factors and their interaction. *J Am Coll Cardiol*. 1994;24: 1468–1474.
50. D’Aiuto F, Parkar M, Nibali L et al. Periodontal infections cause changes in traditional and novel cardiovascular risk factors: results from a randomized controlled clinical trial. *Am Heart J*. 2006; 151: 977–984.
51. Li Y, Huang TT, Carlson EJ. Dilated cardiomyopathy and neonatal lethality in mutant mice lacking manganese superoxide dismutase. *Nat Genet*. 1995;11: 376–381.
52. Griendling KK, Sorescu D, Ushio-Fukai M. NAD(P)H oxidase: role in cardiovascular biology and disease. *Circ Res*. 2000; 86: 494–501.

53. John E. Deanfield, Endothelial Function and Dysfunction Testing and Clinical Relevance. *Circulation* 2007; 115: 1285–1295
54. Woywodt A, Bahlmann FH, De Groot K et al. Circulating endothelial cells: life, death, detachment and repair of the endothelial cell layer. *Nephrol Dial Transplant*. 2002;17: 1728–1730.
55. Mallat Z, Benamer H, Hugel B, Benessiano J et al. Elevated levels of shed membrane microparticles with procoagulant potential in the peripheral circulating blood of patients with acute coronary syndromes. *Circulation*. 2000; 101: 841–843.
56. Op den Buijs J, Musters M, Verrips T et al. Mathematical modeling of vascular endothelial layer maintenance: the role of endothelial cell division, progenitor cell homing and telomere shortening. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2004; 287: H2651–H2658.
57. Asahara T, Murohara T, Sullivan A et al. Isolation of putative progenitor endothelial cells for angiogenesis. *Science*. 1997; 275: 964–967
58. Aicher A, Heeschen C, Mildner-Rihm C. Essential role of endothelial nitric oxide synthase for mobilization of stem and progenitor cells. *Nat Med*. 2003; 9: 1370–1376.
59. Vasa M, Fichtlscherer S, Adler K. Increase in circulating endothelial progenitor cells by statin therapy in patients with stable coronary artery disease. *Circulation*. 2001; 103: 2885–2890.
60. Laufs U, Werner N, Link A, Endres M et al. Physical training increases endothelial progenitor cells, inhibits neointima formation, and enhances angiogenesis. *Circulation*. 2004; 20: 109:220–226.
61. Loomans CJ, Wan H, de Crom R. Angiogenic murine endothelial progenitor cells are derived from a myeloid bone marrow fraction and can be identified by endothelial NO synthase expression. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2006; 26: 1760–1767.
62. Hill JM, Zalos G, Halcox JP et al. Circulating endothelial progenitor cells, vascular function, and cardiovascular risk. *N Engl J Med*. 2003;348: 593–600.
63. Stehouwer CDA, Lambert J, Donker AJM et al. Endothelial dysfunction and pathogenesis of diabetic angiopathy. *Cardiovascular Research*. 1997;34(1):55–68.

64. Schalkwijk CG, Stehouwer CDA. Vascular complications in diabetes mellitus: the role of endothelial dysfunction. *Clinical Science*. 2005;109(2):143–159.
65. Flyvbjerg A. Putative pathophysiological role of growth factors and cytokines in experimental diabetic kidney disease. *Diabetologia*. 2000;43(10):1205–1223.
66. Holman RR, Cull CA, Fox C et al. United Kingdom prospective diabetes study (UKPDS) 13: relative efficacy of randomly allocated diet, sulphonylurea, insulin, or metformin in patients with newly diagnosed non-insulin dependent diabetes followed for three years. *British Medical Journal*. 1995;310(6972):83–88.
67. Calles-Escandon J, Cipolla M. Diabetes and endothelial dysfunction: a clinical perspective. *Endocrine Reviews*. 2001;22(1):36–52.
68. Taskinen M-R. Type 2 diabetes as a lipid disorder. *Current Molecular Medicine*. 2005;5(3):297–308.
69. Artwohl M, Graier WF, Roden M, et al. Diabetic LDL triggers apoptosis in vascular endothelial cells. *Diabetes*. 2003;52(5):1240–1247.
70. Jansson P-A. Endothelial dysfunction in insulin resistance and type 2 diabetes. *Journal of Internal Medicine*. 2007;262(2):173–183.
71. Madonna R, Massaro M, De Caterina R. Insulin potentiates cytokine-induced VCAM–1 expression in human endothelial cells. *Biochimica et Biophysica Acta*. 2008;1782(9):511–516.
72. Kim J-A, Montagnani M, Kwang KK et al. Reciprocal relationships between insulin resistance and endothelial dysfunction: molecular and pathophysiological mechanisms. *Circulation*. 2006;113(15):1888–1904.
73. Jiang ZY, Zhou Q-L, Chatterjee A et al. Endothelin–1 modulates insulin signaling through phosphatidylinositol 3- kinase pathway in vascular smooth muscle cells. *Diabetes*. 1999;48(5):1120–1130.
74. Serne EH, Gans ROB, ter Maaten JC et al. Capillary recruitment is impaired in essential hypertension and relates to insulin’s metabolic and vascular actions. *Cardiovascular Research*. 2001;49(1):161–168.
75. Grau AJ, Bugge F, Becher H et al. The association of leukocyte count, fibrinogen and C-reactive protein with vascular risk factors and ischemic vascular diseases. *Thrombosis Research*. 1996;82(3):245–255.

76. Shurtz-Swirski R, Sela S, Herskovits AT et al. Involvement of peripheral polymorphonuclear leukocytes in oxidative stress and inflammation in type 2 diabetic patients. *Diabetes Care*. 2001;24(1):104–110.
77. Aoki M, Nata T, Morishita R et al. Endothelial apoptosis induced by oxidative stress through activation of NF- κ B: antiapoptotic effect of antioxidant agents on endothelial cells. *Hypertension*. 2001;38(1):48–55.
78. Venugopal SK, Devaraj S, Yuhanna I et al. Demonstration that C-reactive protein decreases eNOS expression and bioactivity in human aortic endothelial cells. *Circulation*. 2002;106(12):1439–1441.
79. Pasceri V, Willerson JT, Yeh ETH. Direct proinflammatory effect of C-reactive protein on human endothelial cells. *Circulation*. 2000;102(18):2165–2168.
80. Evans M, Khan N, Rees A. Diabetic dyslipidaemia and coronary heart disease: new perspectives. *Current Opinion in Lipidology*. 1999;10(5):387–391.
81. Gabbay KH. Hyperglycemia, polyol metabolism, and complications of diabetes mellitus. *Annual Review of Medicine*. 1975;26:521–536.
82. Way KJ, Katai N, King GL. Protein kinase C and the development of diabetic vascular complications. *Diabetic Medicine*. 2001;18(12):945–959.
83. Vlassara H, Striker LJ, Teichberg S et al. Advanced glycation end products induce glomerular sclerosis and albuminuria in normal rats. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1994;91(24):11704–11708.
84. Stern DM, Yan SD, Yan SF et al. Receptor for advanced glycation end products (RAGE) and the complications of diabetes. *Ageing Research Reviews*. 2002;1(1):1–15.
85. Srinivasan S, Hatley ME, Bolick DT, et al. Hyperglycaemia-induced superoxide production decreases eNOS expression via AP-1 activation in aortic endothelial cells *Diabetologia*. 2004;47(10):1727–1734.
86. Guzik TJ, Mussa S, Gastaldi D et al. Mechanisms of increased vascular superoxide production in human diabetes mellitus: role of NAD(P)H oxidase and endothelial nitric oxide synthase. *Circulation*. 2002;105(14):1656–1662.
87. Hadi HAR, Al Suwaidi JA. Endothelial dysfunction in diabetes mellitus. *Vascular Health and Risk Management*. 2007;3(6):853–876.

88. Madamanchi NR, Vendrov A, Runge MS. Oxidative stress and vascular disease. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. 2005;25(1):29–38.
89. El-Osta A, Brasacchio D, Yao D et al. Transient high glucose causes persistent epigenetic changes and altered gene expression during subsequent normoglycemia. *Journal of Experimental Medicine*. 2008;205(10):2409–2417.
90. Yokoi T, Fukuo K, Yasuda O et al. Apoptosis signal-regulating kinase 1 mediates cellular senescence induced by high glucose in endothelial cells. *Diabetes*. 2006;55(6):1660–1665.
91. Du XL, Sui GZ, Stockklauser-Farber K et al. Induction of apoptosis by high proinsulin and glucose in cultured human umbilical vein endothelial cells is mediated by reactive oxygen species. *Diabetologia*. 1998;41(3):249–256.
92. Lorenzi M, Cagliero E, Toledo S. Glucose toxicity for human endothelial cells in culture: delayed replication, disturbed cell cycle, and accelerated death. *Diabetes*. 1985;34(7):621–627
93. Yang Z, Mo X, Gong Q, et al. Critical effect of VEGF in the process of endothelial cell apoptosis induced by high glucose. *Apoptosis*. 2008;13(11):1331–1343.
94. Favaro E, Miceli I, Bussolati B et al. Hyperglycemia induces apoptosis of human pancreatic islet endothelial cells: effects of pravastatin on the Akt survival pathway. *American Journal of Pathology*. 2008;173(2):442–450.
95. Elrick H, Stimmler L, Hlad CJ Jr et al. 1964. Plasma insulin response to oral and intravenous glucose administration. *J Clin. Endocrinol.Metab* 1964;(24): 1076–1082.
96. McIntyre N, Holdsworth CD, Turner DS. New interpretation of oral glucose tolerance. *Lancet* 1964 Jul 4;2(7349):20-1.
97. Baggio L.L, D.J Drucker. Biology of incretins: GLP-1 and GIP. *Gastroenterology* 2007; (132): 2131–2157.
98. Deacon CF, Nauck MA, Toft-Nielsen M et al. Both subcutaneously and intravenously administered glucagon-like peptide I are rapidly degraded from the NH₂-terminus in type II diabetic patients and in healthy subjects. *Diabetes* 1995;(44):1126–1131.

99. Nauck M, Stöckmann F, Ebert R et al. Reduced incretin effect in type 2 (non-insulin dependent) diabetes. *Diabetologia* 1986;(29): 46–52.
100. Mortensen K, Christensen LL, Holst JJ et al. GLP-1 and GIP are colocalized in a subset of endocrine cells in the small intestine. *Regul Pept.* 2003;(114): 189–196.
101. Orskov C, A. Wettergren, J.J. Holst. Secretion of the incretin hormones glucagon-like peptide-1 and gastric inhibitory polypeptide correlates with insulin secretion in normal man throughout the day. *Scand. J. Gastroenterol.* 1996;(31): 665–670.
102. Drucker DJ, Philippe J, Mojsov S et al. Glucagon-like peptide I stimulates insulin gene expression and increases cyclic AMP levels in a rat islet cell line. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A* 1987 ;(84): 3434–3438.
103. Willms B, Werner J, Holst JJ et al. Gastric emptying, glucose responses, and insulin secretion after a liquid test meal: effects of exogenous glucagon-like peptide-1 (GLP-1)-(7–36) amide in type 2 (noninsulin-dependent) diabetic patients. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1996;81: 327–332.
104. le Roux CW, Welbourn R, Werling M et al. Gut hormones as mediators of appetite and weight loss after Roux-en-Y gastric bypass. *Ann. Surg* 2007;(246): 780–785.
- 105-Gier B, Butler PC, Lai CK, Kirakossian D et al. Glucagon like peptide-1 receptor expression in the human thyroid gland. *J Clin Endocrinol Metab.* 2012 Jan;97(1):121-31
106. Hui H, Nourparvar A, Zhao X et al. Glucagon-like peptide-1 inhibits apoptosis of insulin-secreting cells via a cyclic 5'-adenosine monophosphate-dependent protein kinase A- and a phosphatidylinositol 3-kinase-dependent path way. *Endocrinology* 2003;(144): 1444–1455.
107. Fehmann, H.C. & J.F. Habener. Functional receptors for the insulinotropic hormone glucagon-like peptide-I (7–37) on a somatostatin secreting cell line. *FEBS Lett.* 1991;(279): 335–340
108. Göke R, Larsen PJ, Mikkelsen JD. Distribution of GLP-1 binding sites in the rat brain: evidence that exendin-4 is a ligand of brain GLP-1 binding sites. *Eur. J. Neurosci.*1995;(7): 2294–2300.

109. Nauck M.A. et al. Preserved incretin activity of glucagon-like peptide 1 [7–36 amide] but not of synthetic human gastric inhibitory polypeptide in patients with type-2 diabetes mellitus. *J. Clin. Invest.* 1993;(91): 301–307.
110. Holst J.J, J. Gromada.. Role of incretin hormones in the regulation of insulin secretion in diabetic and nondiabetic humans. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 2004;(287): E199–E206.
111. Meier J.J, M.A. Nauck.. Is secretion of glucagon-like peptide–1 reduced in type 2 diabetes mellitus? *Nat. Clin Pract. Endocrinol Metab.* 2008;(4): 606–607.
112. Nauck, M.A. Incretin-based therapies for type 2 diabetes mellitus: properties, functions, and clinical implications. *Am. J. Med.* 2011;(124): S3–S18.
113. Jones IR, Owens DR, Luzio S et al. The glucose dependent insulinotropic polypeptide response to oral glucose and mixed meals is increased in patients with type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus. *Diabetologia* 1989;(32): 668–677.
114. Ross SA, Brown JC, Dupré J. Hypersecretion of gastric inhibitory polypeptide following oral glucose in diabetes mellitus. *Diabetes* 1977;(26): 525–529.
115. Meier JJ, Hücking K, Holst JJ et al. Reduced insulinotropic effect of gastric inhibitory polypeptide in first-degree relatives of patients with type 2 diabetes. *Diabetes* 2001;(50): 2497–2504.
116. Vilsbøll T, Krarup T, Madsbad S et al. Defective amplification of the late phase insulin response to glucose by GIP in obese Type II diabetic patients. *Diabetologia* 2002;(45): 1111–1119.
117. Toft-Nielsen MB, Damholt MB, Madsbad S et al. Determinants of the impaired secretion of glucagon-like peptide–1 in type 2 diabetic patients. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2001;(86): 3717–3723.
118. Vollmer K, Holst JJ, Baller B et al. Predictors of incretin concentrations in subjects with normal, impaired, and diabetic glucose tolerance. *Diabetes* 2008;(57): 678–687.
119. Vollmer K, Holst JJ, Baller B et al. Differential effects of acute and extended infusions of glucagon-like peptide–1 on first- and second-phase insulin secretion in diabetic and nondiabetic humans. *Diabetes Care* 2003;(26): 791–798.

120. Zander, M. Effect of 6-week course of glucagon-like peptide 1 on glycaemic control, insulin sensitivity, and beta-cell function in type 2 diabetes: a parallel-group study. *Lancet* 2002;(359): 824–830.
121. Rachman, J. Near-normalisation of diurnal glucose concentrations by continuous administration of glucagon-like peptide–1 (GLP–1) in subjects with NIDDM. *Diabetologia* 1997;(40): 205–211.
122. Yu, M. Antihypertensive effect of glucagon-like peptide 1 in Dahl salt-sensitive rats. *J. Hypertens.* 2003;(21): 1125–1135.
123. Yamamoto H, Lee CE, Marcus JN et al. Glucagon-like peptide–1 receptor stimulation increases blood pressure and heart rate and activates autonomic regulatory neurons. *J. Clin. Invest.*2002;(110): 43–52.
124. Okerson T, Yan P, Stonehouse A, Okerson, T . Effects of exenatide on systolic blood pressure in subjects with type 2 diabetes. *Am. J. Hypertens.* 2010;(23): 334–339.
125. Gutzwiller JP, Tschopp S, Bock A et al. Glucagon-like peptide 1 induces natriuresis in healthy subjects and in insulin-resistant obese men. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*2004;(89): 3055–3061.
126. Nikolaidis LA, Mankad S, Sokos GG, Nikolaidis, L.A . Effects of glucagon-like peptide–1 in patients with acute myocardial infarction and left ventricular dysfunction after successful reperfusion. *Circulation* 2004;(109): 962–965.
127. Wei, Y, S. Mojsov. Tissue-specific expression of the human receptor for glucagon-like peptide-I: brain, heart and pancreatic forms have the same deduced amino acid sequences. *FEBS Lett.* 1995;(358): 219–224.
128. Gros R, You X, Baggio LL et al. Cardiac function in mice lacking the glucagon-like peptide–1 receptor. *Endocrinology* 2003;(144): 2242–2252.
129. Ban K, Noyan-Ashraf MH, Hofer J et al. Cardioprotective and vasodilatory actions of glucagon-like peptide 1 receptor are mediated through both glucagon-like peptide 1 receptor-dependent and -independent pathways. *Circulation* 2008;(117): 2340–2350.
130. Basu A, Charkoudian N, Schrage WA et al. Beneficial effects of GLP–1 on endothelial function in humans: dampening by glyburide but not by glimepiride. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*2007;(293): E1289–E1295.

131. Derosa G, Maffioli P, Salvadeo SA, Derosa G et al. Exenatide versus glibenclamide in patients with diabetes. *Diabetes Technol. Ther.* 2010;(12): 233–240.
132. Meier JJ, Gethmann A, Götze O et al. Glucagon-like peptide 1 abolishes the postprandial rise in triglyceride concentrations and lowers levels of non-esterified fatty acids in humans. *Diabetologia* 2006;(49): 452–458.
133. Zinman B, Gerich J, Buse JB et al. Efficacy and safety of the human glucagon-like peptide–1 analog liraglutide in combination with metformin and thiazolidinedione in patients with type 2 diabetes (LEAD–4 Met+TZD). *Diabetes Care* 2009;(32): 1224–1230.
134. Sokos GG, Nikolaidis LA, Mankad S et al. Glucagon-like peptide–1 infusion improves left ventricular ejection fraction and functional status in patients with chronic heart failure. *J. Card. Fail.* 2006;(12): 694–699.
135. Meier JJ, Gallwitz B, Salmen S et al. Normalization of glucose concentrations and deceleration of gastric emptying after solid meals during intravenous glucagon-like peptide–1 in patients with type 2 diabetes. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2003;(88): 2719–2725.
136. Phillips LK, Prins JB. Update on incretin hormones. *Ann N Y Acad Sci.* 2011 Dec;1243:E55–74.
137. Eng J, Kleinman WA, Singh L et al. Isolation and characterization of exendin–4, an exendin–3 analogue, from *Heloderma suspectum* venom. Further evidence for an exendin receptor on dispersed acini from guinea pig pancreas. *J Biol Chem* 1992; 267: 7402–7405
138. Thorens B, Porret A, Bühler L et al. Cloning and functional expression of the human islet GLP–1 receptor. Demonstration that exendin–4 is an agonist and exendin-(9–39) an antagonist of the receptor. *Diabetes* 1993; 42: 1678–1682.
139. Simonsen L, Holst JJ, Deacon CF. Exendin–4, but not glucagon-like peptide–1, is cleared exclusively by glomerular filtration in anaesthetised pigs. *Diabetologia* 2006; 49: 706–712
140. Inzucchi SE, Giaccari A, Giorda CB et al. Management of Hyperglycemia in Type 2 Diabetes. Position Statement of the American Diabetes Association (ADA) and the European Association for the Study of Diabetes (EASD). *Diabetes Care* 2012;35:1364–1379

141. Ban K, Hui S, Drucker DJ, Husain M. Cardiovascular consequences of drugs used for the treatment of diabetes: potential promise of incretin-based therapies. *Journal of the American Society of Hypertension*. 2009;3(4):245–259.
142. Buse JB, Klonoff DC, Nielsen LL et al. Metabolic effects of two years of exenatide treatment on diabetes, obesity, and hepatic biomarkers in patients with type 2 diabetes: an interim analysis of data from the open-label, uncontrolled extension of three double-blind, placebo-controlled trials. *Clin Ther* 2007; 29: 139–153.
143. DeFronzo RA, Ratner RE, Han J et al. Effects of exenatide (exendin-4) on glycemic control and weight over 30 weeks in metformin-treated patients with type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2005; 28: 1092–1100.
144. Heine RJ, Van Gaal LF, Johns D et al. Exenatide versus insulin glargine in patients with suboptimally controlled type 2 diabetes: A randomized trial. *Ann Intern Med* 2005; 143: 559–569.
145. Bunck MC, Diamant M, Eliasson B et al. Exenatide affects circulating cardiovascular risk biomarkers independently of changes in body composition. *Diabetes Care*. 2010;33(8):1734–1737
146. Jendle J, Nauck MA, Matthews DR et al. LEAD-2 and LEAD-3 Study Groups. Weight loss with liraglutide, a once-daily human glucagon-like peptide-1 analogue for type 2 diabetes treatment as monotherapy or added to metformin, is primarily as a result of a reduction in fat tissue. *Diabetes Obes Metab* 2009;11:1163–1172
147. Bunck MC, Diamant M, Cornér A, Eliasson B, Bunck MC et al. One-year treatment with exenatide improves beta-cell function, compared with insulin glargine, in metformin-treated type 2 diabetic patients: a randomized, controlled trial. *Diabetes Care* 2009;32:762–768
148. Buse JB, Henry RR, Han J et al. the Exenatide-113 Clinical Study Group. Effects of exenatide (exendin-4) on glycemic control over 30 weeks in sulfonylurea-treated patients with type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2004; 27: 2628– 2635
149. Kendall DM, Riddle MC, Rosenstock J et al. Effects of exenatide (exendin-4) on glycemic control over 30 weeks in patients with type 2 diabetes treated with metformin and a sulfonylurea. *Diabetes Care* 2005; 28: 1083– 109

150. Herzlinger S, Horton ES . Extraglycemic effects of glp-1 based therapeutics: addressing metabolic and cardiovascular risks asociated with type 2 diabetes. *Diabetes Res Clin Pract.* 2013 Jan 14. 27(12)
151. Ridker PM, Buring JE, Cook NR et al. C-reactive protein, the metabolic syndrome, and risk of incident cardiovascular events: an 8-year follow-up of 14,719 initially healthy American women. *Circulation* 2003;107: 391–397
152. Viswanathan P et al. Exenatide therapy in obese patients with type 2diabetes mellitus treated with insulin. *Endocr Pract* 2007;13:444–450
153. Szayna M, Doyle ME, Betkey JA et al. Exendin-4 decelerates food intake, weight gain, and fat deposition in Zucker rats. *Endocrinology* 2000;141:1936–1941.
154. Horton ES, Cohen A, Gibson H et al. Effects of exenatide vs insulin glargine on cardiovascular risk factors in subjects with type 2 diabetes. *Diabetologia* 2009;52:S298–S299.
155. J. Plutzky, A. J. Garber, A. Falahati et al., “The once daily human GLP-1-analogue, liraglutide significantly reduces markers of cardiovascular risk in type 2 diabetes: a metaanal-ysis of six clinical trials,”*European Heart Journal*, vol. 30, pp. 917–919, 2009
156. Heilbronn LK, Noakes M, and Clifton PM. Energy restriction and weight loss on very-low-fat diets reduce C-reactive protein concentrationsin obese, healthy women. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.*2001; 21:968–970
157. Tchernof A, Nolan A, Sites CK. Weight loss reduces C-reactive protein levels in obese postmenopausal women. *Circulation* 105: 564–569, 200
158. Considine RV, Sinha MK, Heiman ML et al. Serum immunoreactive-leptin concentrations in normal-weight and obese humans. *N Engl J Med.* 1996 Feb 1;334(5):292–5.
159. Ryan AS, Elahi D. The effects of acute hyperglycemia and hyperinsulinemia on plasma leptin levels: its relationships with body fat, visceral adiposity, and age in women. *J Clin Endocrinol Metab.* 1996 Dec;81(12):4433–8.
160. Chaudhuri A, Ghanim H, Vora M et al. Exenatide Exerts a Potent Antiinflammatory Effect. *J Clin Endocrin Metab* 2012;97(1): 198–207

161. Li L, Yang G, Li Q, Tan X et al. Exenatide prevents fat-induced insulin resistance and raises adiponectin expression and plasma levels. *Diabetes Obes Metab* 2008;10: 921-930
162. Potenza MA, Marasciulo FL, Chieppa DM et al. Insulin resistance in spontaneously hypertensive rats is associated with endothelial dysfunction characterized by imbalance between NO and ET-1 production. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2005 Aug;289(2):H813-22
163. Ferri C, Carlomagno A, Coassin S et al. Circulating endothelin-1 levels increase during euglycemic hyperinsulinemic clamp in lean NIDDM men. *Diabetes Care*.1995;18:226-233
164. Cardillo C, Campia U, Bryant MB et al. Increased activity of endogenous endothelin in patients with type II diabetes mellitus *Circulation* 2002;106:1783-1787
165. Shemyakin A, Salehzadeh F, Esteves Duque-Guimaraes DA. Endothelin-1 reduces glucose uptake in human skeletal muscle in vivo and in vitro. *Diabetes*.2011;60:2061-2067
166. Shemyakin A, Böhm F, Wagner HA. Enhanced endothelium-dependent vasodilatation by dual endothelin receptor blockade in individuals with insulin resistance *J Cardiovasc Pharmacol*.2006; 47:385-390
167. Sartipy P, Loskutoff DJ. Monocyte chemoattractant protein 1 in obesity and insulin resistance. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003;100:7265-7270
168. Nomura S, Shouzu A, Omoto S. Significance of chemokines and activated platelets in patients with diabetes. *Clin Exp Immunol* 121:437-443
169. Christiansen T, Richelsen B, Bruun JM. Monocyte chemoattractant protein-1 is produced in isolated adipocytes, associated with adiposity and reduced after weight loss in morbid obese subjects. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2005;29:146-150
170. Wu JD, Xu XH, Zhu J, Ding B et al. Effect of exenatide on inflammatory and oxidative stress markers in patients with type 2 diabetes mellitus. *Diabetes Technol Ther*.2011 Feb;13(2):143-8.
- 171-Juhan-Vague I and Alessi MC. PAI-1, obesity, insulin resistance and risk of cardiovascular events. *Thromb Haemost* 78: 656-660, 1997.
172. Forst T, Michelson G, Ratter F, et al. Addition of liraglutide in patients with Type 2 diabetes well controlled on metformin monotherapy improves several

- markers of vascular function. *Diabetic Medicine*. 2012 Sep;29(9):1115-8
173. Courrèges JP, Vilsbøll T, Zdravkovic M et al. Beneficial effects of once-daily liraglutide, a human glucagon-like peptide-1 analogue, on cardiovascular risk biomarkers in patients with type 2 diabetes. *Diabetic Medicine*. 2008;25(9):1129–1131.
174. Bergenstal RM, Wysham C, Macconell L et al. Efficacy and safety of exenatide once weekly versus sitagliptin or pioglitazone as an adjunct to metformin for treatment of type 2 diabetes (DURATION-2): a randomised trial. *The Lancet*. 2010;376(9739):431–439
175. T.Forst C.Hohberg and A.Pfutzner. Cardiovascular effects of disturbed insulin activity in metabolic syndrome and in type 2 diabetic patients. *Hormone and Metabolic Research*.2009;41:123-131
176. Ban K, Noyan-Ashraf MH, Hofer J. cardioprotective and vasodilatory actions of glucagon-like peptide 1 receptor are mediated through both glucagon-like peptide 1 receptor dependent and independent pathways. *Circulation* 2008;117:2340–50
177. Nyström T, Gutniak MK, Zhang Q et al. Effects of glucagon-like peptide-1 on endothelial function in type 2 diabetes patients with stable coronary artery disease. *American Journal of Physiology*. 2004;287(6):E1209–E1215.
178. Y. Hattori, T. Jojima, A. Tomizawa et al. A glucagon-like peptide-1 (GLP-1) analogue, liraglutide, upregulates nitric oxide production and exerts antiinflammatory action in endothelial cells. *Diabetologia* 2010;53:2256–2263
179. H. Liu, Y. Hu, R. W. Simpson et al. Glucagon-like peptide-1 attenuates tumour necrosis factor- α -mediated induction of plasminogen activator inhibitor-1 expression. *Journal of Endocrinology*.2008;196:57–65
180. Basu A, Charkoudian N, Schrage W et al. Beneficial effects of GLP-1 on endothelial function in humans: dampening by glyburide but not by glimepiride. *American Journal of Physiology*. 2007;293(5):E1289–E1295.
181. Gaspari T, Liu H, Welungoda I. GLP-1 receptor agonist liraglutide inhibits endothelial cell dysfunction and vascular adhesion molecule expression in an ApoE-/- mouse model. *Diab Vasc Dis Res* 2011 Apr;8(2):117–24.

182. Irace C, De Luca S et al. Exenatide improves endothelial function assessed by flow mediated dilation technique in subjects with type 2 diabetes: Results from an observational research. *Diabetes and Vascular Disease Research* 2012;10(1):72–77
183. Koska J, Schwartz EA, Mullin MP. Improvement of postprandial endothelial function after a single dose of exenatide in individuals with impaired glucose tolerance and recent-onset type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2010; 33 (5):1028–1030
184. Erdogdu Ö, Eriksson L, Nyström T et al.. Exendin–4 restores glucolipototoxicity-induced gene expression in human coronary artery endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 2012 Mar 23;419(4):790–5.
185. Mita T, Watada H. Protective effects of incretin on atherosclerosis. *Nihon Rinsho.* 2011 May;69(5):831-5.
186. Green BD, Hand KV, Dougan JE et al. GLP–1 and related peptides cause concentration-dependent relaxation of rat aorta through a pathway involving KATP and cAMP. *Arch Biochem Biophys.* 2008 Oct 15;478(2):136–42.
187. Inge A. M. van den Oever, Raterman HG, Nurmohamed MT. Endothelial dysfunction, inflammation and apoptosis in diabetes mellitus. *Mediators Inflamm.* 2010;2010:792393
188. Emral R. Adiponektin ve diğer sitokinler. *Turkiye Klinikleri J Med Sci* 2006, 26:409-420
189. Hotamisligil GS, Arner P, Caro JF et al. Increased adipose tissue expression of tumor necrosis factor-alpha in human obesity and insulin resistance. *J Clin Invest* 1995;95:2409-15.
190. Kern PA, Saghizadeh M, Ong JM, Bosch RJ, Deem R, Simsolo RB. The expression of tumor necrosis factor in human adipose tissue. Regulation by obesity, weight loss, and relationship to lipoprotein lipase. *J Clin Invest* 1995;95:2111-9.
191. Arita Y et al. Paradoxical decrease of an adipose-specific protein, adiponectin, in obesity. *Biochem Biophys Res Commun.* 1999 Apr 2;257(1):79–83,
192. Lihn AS et al. Lower expression of adiponectin mRNA in visceral adipose tissue in lean and obese subjects. *Mol Cell Endocrinol.* 2004 Apr 30;219(1–2):9–15.
193. Kannel WB, Wolf PA, Castelli WP et al. Fibrinogen and cardiovascular disease. The Framingham Study. *JAMA* 1987;258:1183-1186

194. Stec JJ, Tofler GH et al. Association of fibrinogen With cardiovascular risk factors and cardiovascular disease in the Framingham Offspring Population. *Circulation* 2000;102:1634-1638

195. Vehkavaara S, Yki-Järvinen H. 3,5 years of insulin therapy with insulin glargine improves in vivo endothelial function in type 2 diabetes. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2004 Feb;24(2):325–30.

