

163892

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

**NORMOTANSİF ve NORMOALBUMİNÜRİK  
TİP-2 DİYABETİK HASTALARDA METFORMİN  
VE ROZİGLİTAZON'UN SERUM  
TRANSFORME EDEN BÜYÜME FAKTÖRÜ  
BETA (TGF- $\beta$ ) VE PLAZMA ENDOTELİN-1  
DÜZEYLERİNE ETKİSİ**

**UZMANLIK TEZİ**

**Dr.A.Serkan Yener**

**Bu araştırma DEÜ Araştırma Fon Saymanlığı Tarafından 03.KB.SAĞ.072  
sayı ile desteklenmiştir**

## İÇERİK PLANI

<b>1. ÖZET</b> .....	<b>1</b>
1.1 TÜRKÇE	
1.2 İNGİLİZCE	
<b>2. Giriş ve amaç</b> .....	<b>3</b>
<b>3. Genel bilgiler</b> .....	<b>6</b>
1. Diyabetes mellitus .....	6
3.1.1 Tanım	
3.1.2 Tarihçe	
3.1.3 Epidemiyoloji	
3.1.4 Sınıflandırma	
2. Glukoz homeostazı.....	8
3. Tip 2 Diyabetes mellitus'un patogenezi.....	9
3.3.1 İnsülin direnci	
4. Tip 2 Diyabetes mellitus'un tanısı.....	14
5. Diyabetik nefropati .....	14
3.5.1 Tanım	
3.5.2 Tarihçe	
3.5.3 Epidemiyoloji	
3.5.4 Doğal gelişim süreci	
3.5.5 Patogenez	
3.5.6 Diyabetik nefropati ve mikroalbuminüri	
3.5.7 Diyabetik nefropatiden korunma ve diyabetik nefropati tedavisi	
6. Diyabetes mellitus ve endotel disfonksiyonu.....	29
7. Tip 2 diyabetes mellitus ile ilişkili glomerüler hasarın ve endotel disfonksiyonunun göstergesi olarak TGF- $\beta$ ve Endotelin-1 .....	31
3.7.1 Diyabetes mellitus ve TGF- $\beta$	
3.7.2 Diyabetes mellitus ve Endotelin-1	
3.7.3 Komplike olmayan tip 2 diyabette renal etkilenme ve endotelial aktivasyonunun kanıtları	
8. Tip 2 diyabet tedavisinde insülin duyarlılığını arttıran ilaçlar .....	41
3.8.1. Metformin	
3.8.2 Roziglitazon	

<b>4. Gereç ve yöntemler .....</b>	<b>55</b>
<b>5. Sonuçlar.....</b>	<b>59</b>
<b>6. Tartışma.....</b>	<b>68</b>
<b>7. Sonuç ve öneriler.....</b>	<b>73</b>
<b>8. Referanslar .....</b>	<b>74</b>



## **TABLO, ŞEKİL ve GRAFİK LİSTESİ**

### **TABLolar**

- Tablo 1.** Diyabetes mellitus'un sınıflandırılması
- Tablo 2.** Diyabetik nefropati doğal gelişim süreci
- Tablo 3.** Mikroalbuminüri sendromu
- Tablo 4.** ET-1'in diğer etkileri
- Tablo 5.** ET-1 üretimini etkileyen diğer faktörler
- Tablo 6.** Metforminin önemli farmakokinetik özellikleri
- Tablo 7.** Metformin kullanımı ile ilgili önemli noktalar
- Tablo 8.** Metforminin insülin rezistansı sendromu üzerine olan etkileri
- Tablo 9.** Metforminin endotelial disfonksiyon üzerine etkileri
- Tablo 10.** Tiazolidinedionların metabolik etkileri
- Tablo 11.** Glitazonların endotelial disfonksiyon üzerine etkileri
- Tablo 12.** Tüm hastaların bazal ve 3.ay verilerinin karşılaştırılması
- Tablo 13.** M ve R gruplarında 0 ve 3. ay sonuçları
- Tablo 14.** Serum TGF- $\beta$  değişimi ve glisemik kontrol ile olan ilişkisi
- Tablo 15.** Statin tedavisi alan hastalar ile almayan hastaların bazal ve 3.ay sonuçları
- Tablo 16.** Statin tedavisi alan hastalarda 0 ve 3.ay verileri

### **ŞEKİLLER**

- Şekil 1.** İnsülinin etki mekanizması
- Şekil 2.** İnsülin direnci gelişimi
- Şekil 3.** Diyabetik nefropati patogenezi
- Şekil 4.** Diyabetik nefropatide ROS ile ilişkili sinyal yolları
- Şekil 5.** AII ve Diyabetik nefropati patogenezi
- Şekil 6.** Diyabetik glomerulopti gelişimi ve hipertansiyon
- Şekil 7.** Ortak yolak
- Şekil 8.** Diyabetes mellitus, endotelial disfonksiyon, aterogenez
- Şekil 9.** Endotelial hücre ve ET-1 sekresyonu

## **GRAFİKLER**

**Grafik 1.** M ve R gruplarında ET-1 düzeyi değişimi

**Grafik 2.** M ve R gruplarında TGF- $\beta$  düzey, değişimi

**Grafik 3.** Tüm hastalarda ET-1 TGF- $\beta$  korelasyonu

**Grafik 4.** alışma sonunda A1c değeri ve ET-1 ile olan ilişkisi

**Grafik 5.** ET-1 değişimi ve 3.ay akş ve A1c arasındak ilişki

**Grafik 6.** Simvastatin kullanımına göre plazma ET-1 değişimi



## **KISALTMA LİSTESİ**

ET-1: Endotelin-1

TGF: Transforme eden büyüme faktörü

DM: Diabetes mellitus

GLUT: Glukoz transporteri

VLDL: Çok düşük yoğunlukta lipoprotein

HDL: Yüksek yoğunlukta lipoprotein

TG: Trigliserid

LDL: Düşük yoğunlukta lipoprotein

IRS: İnsülin reseptör substrat

PI-3-kinaz: Fosfatidil-inozitol 3 kinaz

NO: Nitrik oksid

NF<sub>κ</sub>B: Nükleer faktör kappa B

PKC: Protein kinaz C

IKKB: İnhibitör Kappa B Kinaz

ADA: Amerikan Diyabet Cemiyeti

SDBY: Son dönem böbrek yetmezliği

MAPK: Mitojen ile aktive olan protein kinaz

PDGF: Trombosit kökenli büyüme faktörü

IL: Interlökin

A-II: Anjiotansin-II

AGE: İleri glukozilasyon son ürünleri

AGER: İleri glukozilasyon son ürünleri-reseptörü

ROS: Reaktif oksijen türleri

PAI-1: Plazminojen aktivatör inhibitör-1

VEBF: Vasküler endotelial büyüme faktörü

NADPH: Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat

AR: Aldoz redüktaz

JAK/STAT: Janus kinaz sinyal ileticisi ve transkripsiyon aktivatörleri

GBM: Glomerüler bazal membran

HS: Heparan sülfat

HSPG: Heparan sülfat proteoglikanlar

ANP: Atriyal natriüretik peptid

RAAS: Renin Anjiotansin Aldosteron Sistemi  
ADE: Anjiyotansin dönüştürücü enzim  
AT1R: Anjiyotansin-1 reseptörü  
MAPK: Mitojen ile aktive olan protein kinaz  
ERK: Ekstrasellüler sinyal ile regüle olan kinaz  
JNK: c-Jun N-termininal kinazlar  
AP-1: Aktive protein-1  
vWF: Von Willebrand Faktör  
t-PA: Doku plazminojen aktivatörü  
TAFI: Trombin ile aktive olan fibrinoliz inhibitörü  
ET-A, ET-B: Endotelin reseptörü A ve B  
KİMK: Karotis intima media kalınlığı  
IV: Intravenöz  
RXR- $\alpha$ :Retinoid-X-reseptör-alfa  
ALT: Alanin aminotransferaz  
TZD: Tiazolidinedion  
PPAR: Peroksizom proliferatörleri ile aktive olan reseptör  
PG: Prostoglandin

## TEŞEKKÜR

İç hastalıkları uzmanlık tezimin tamamlanmasında emeğini esirgemeyen tez danışmanım Doç.Dr.Abdurrahman Çömlekçi'ye teşekkür ederim. Tezimin tamamlanmasındaki katkılarından ötürü başta bilimdalı başkanı Prof.Dr.Sena Yeşil olmak üzere endokrinoloji bilimdalı öğretim üyelerine teşekkür ederim.

İç hastalıkları uzmanlık eğitimimi almamda tecrübelerinden ve bilgilerinden yararlandığım başta anabilim dalı başkanı Prof.Dr.Hale Akpınar olmak üzere tüm hocalarıma ve uzmanlık eğitimim boyunca birlikte çalıştığım tüm asistan arkadaşlarım ve hastane personeline teşekkür ederim

Tezimin tamamlanmasındaki yardımlarından ötürü Klinik Biyokimya anabilim dalı öğretim üyesi Yrd.Doç.Dr.Pınar Akan ve Dr.Aygül Özkaya'ya ve Dr.Ali Saklamaz, Dr.Tevfik Demir ve Dr.Bartış Akıncı'ya teşekkür ederim.

Hayatımın her döneminde bana destek olan annem,babam ve eşim H.Banu Yener'e ve oğlum Tufan Doruk Yener'e çok teşekkür ederim.

Dr.A.Serkan Yener

İzmir, Haziran 2005



## 1. ÖZET

Tip 2 diyabetes mellitus son yıllarda epidemik bir sorun haline gelmiştir. Tip 2 diyabetes mellitus seyrinde mikrovasküler veya makrovasküler komplikasyonların klinik bulgularının henüz saptanmadığı erken dönemde de renal etkilenme ve endotel disfonksiyonunun kanıtları mevcuttur. Tip 2 diyabetes mellitus tedavisinde insülin duyarlılığını arttıran ilaçlar olan metformin ve roziglitazonun endotelial aktivasyonu azalttığı, tiazolidinedionlar'ın glomerülopatiyi önlediği ve mikroalbuminüriyi azalttığı bilinmektedir.

Bu çalışmanın amacı metformin ve roziglitazonun endotelial disfonksiyon ve glomerülopatinin önemli göstergeleri olan plazma ET-1 ve serum TGF- $\beta$  düzeylerine olan etkilerinin araştırılmasıdır. Literatürde benzer bir çalışma bulunmamaktadır.

Toplam 42 normotansif ve normoalbuminürik tip 2 diyabetik hasta roziglitazon veya metformin tedavisine randomize edildi ve tedavi öncesi ve tedavinin 3. ayındaki antropometrik ölçümleri, glisemi göstergeleri ve lipid parametreleri ve plazma ET-1 ile serum TGF- $\beta$  düzeyleri değerlendirildi.

Üç aylık tedavi ile roziglitazonun plazma ET-1 ve serum TGF- $\beta$  düzeylerinde bazal değerler ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı olmayan azalma sağladığı gösterildi. Hastaların bazal plazma ET-1 düzeyleri ile serum TGF- $\beta$  düzeyleri korele idi. Tüm hasta grubunda üçüncü ayın sonunda mikroalbuminüri gelişen hastaların bazal ortalama TGF- $\beta$  düzeyi üçüncü ay sonunda üriner albumin atılımı normal olan gruba göre anlamlı olarak yüksek bulundu.

Bu sonuçlar roziglitazon ve metforminin ET-1 ve TGF- $\beta$  düzeylerini belirgin biçimde etkilemediklerini göstermiştir. Tedavi süresinin uzatılmasıyla etkiler hakkında daha kesin yargılara varılabilir. Endotelin-1'in plazmada çok düşük konsantrasyonda var olması ve metabolizmasının çok dinamik olması değerlendirme konusunda zorluklar oluşturmaktadır. Üçüncü ay sonunda mikroalbuminüri gelişen hastaların bazal TGF- $\beta$  düzeylerinin diğer hastalardan anlamlı olarak yüksek saptanması TGF- $\beta$  aktivasyonunun başta Smad'lar olmak üzere intrasellüler proteinleri uyararak renal hasarlanmayı başlattığını gösterir. Bu durum TGF- $\beta$ -Smad sistemi uyarıldıktan sonra renal hasarlanmanın TGF- $\beta$  düzeylerinden bağımsız olarak sürdüğünü düşündürmektedir.

## **1. SUMMARY**

Type 2 diabetes has become an epidemic disease in recent years. It was shown that renal involvement and endothelial dysfunction complicate the course of diabetes even during the early stages without any microvascular or macrovascular complications. It is known that insulin sensitizers such as metformin and rosiglitazone diminish endothelial activation and thiazolidinediones prevent glomerulopathy and reduce microalbuminuria.

The aim of this study is to investigate the effects of metformin and rosiglitazone on plasma ET-1 and serum TGF- $\beta$  which are important markers of endothelial dysfunction and glomerulopathy.

Fourty-two normotansive and normoalbuminuric type 2 diabetic patients were randomized to metformin or roziglitazone therapy. The baseline and third month antropometric parameters, glysemic parameters and lipid values and plasma ET-1 ile serum TGF- $\beta$  were evaluated.

After three months therapy with rosiglitazone plasma ET-1 levels slightly decreased without statistically significance when compared with the baseline values. The baseline serum TGF- $\beta$  and plasma ET-1 of all patients were found to be correlated. The baseline TGF- $\beta$  of the patients who became microalbuminuric after 3 months were signifiantly higher than the patients who were normoalbuminuric at the end of the study.

These results show that metformin and roziglitazone did not effect plasma ET-1 and serum TGF- $\beta$  significantly. More accurate comments may be made with longer duration of therapy. The very low concentration of ET-1 and its dynamic metabolism cause diffuculties during evaluation. The observation that patients who developed microalbuminuria had higher baseline TGF- $\beta$  values suggests that the initiation of TGF- $\beta$  activation alters the intracelluler proteins (esp. Smads) and causes renal damage. Also it may be suggested that once TGF-beta smad system is activated the rate of the renal damage is independent of TGF- $\beta$  levels

## **2. GİRİŞ ve AMAC**

Diyabetes mellitus'un % 90-95'ini oluşturan tip 2 diyabetes mellitus son yıllarda epidemik bir sorun haline gelmiştir. Tip 2 diyabetes mellitus prevalansı ve insidansı özellikle gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde artmaktadır [1].

Diyabetes mellitus seyrinde uzun dönemde kronik hiperglisemi ve ilişkili metabolik değişiklikler çeşitli organlarda progresif hasarlanmaya neden olur. Başlıca etkilenme mikrovasküler yapıda (böbrekler, gözler, sinir sistemi tutulumu başta olmak üzere) ve kardiyovasküler sistemde olmaktadır.

Vasküler endotelin disfonksiyonu diyabetes mellitus, hipertansiyon ve kardiyovasküler hastalıkların patofizyolojisinde rol oynamaktadır. Vasküler endotel hücreler sağlıklı insanda kardiyovasküler homeostazın sağlanmasında önemli rol oynarlar. Damar duvarı ve lümen arasında fiziksel bir bariyer görevinin yanı sıra endotel, trombosit agregasyonu, fibrinolizis, koagülasyon ve damar tonusu regülasyonundan sorumlu bir çok mediyatör sekrete eder. Endotel disfonksiyon terimi bu mediyatörlerin üretimindeki dengesizliği ifade etmektedir [2].

Tip 2 diyabetes mellitus seyrinde ortaya çıkan başlıca metabolik sorunlar olan insülin direnci ve hiperglisemi oksidatif stres, protein kinaz C ve ileri glukozilasyon ürünlerinin aktivasyonu ile vasküler endoteli etkiler. Bu etkilenmenin önemli göstergelerinden biri Endotelin-1 (ET-1)'dir. Endotel hücrelerinde üretilen tek endotelin olan ET-1 sekretuar granüllerde depolanmaz ve hipoksi, inflamasyon, shear stres gibi uyarılar ile sentezlenir. Endotelin-1'in başta vazokonstriksiyon olmak üzere, düz kas hücre mitogenezinde aktivasyon, vasküler, mezengial ve kardiyak kas dokuda hipertrofi, lökosit adezyonu, monosit kemotaksisi, fibrozis stimülasyonu, renin-anjiyotensin sisteminin aktivasyonu ve sempatik sinir sistemi aktivasyonu gibi aterogenezi uyaran etkileri vardır [3]. Tip 2 diyabetik hastalarda plazma ET-1 düzeyleri ile ilgili tartışmalı sonuçlar olsa da son yıllarda ET-1'in ve reseptörlerinin hiperglisemi ve insülin direncine bağlı olarak artmış ekspresyonu çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir [4-7].

Diyabetes mellitus, Amerika Birleşik Devletleri (ABD)'de ve diğer gelişmiş ülkelerde son dönem böbrek yetmezliğinin (sdb) en sık nedenidir. Diyabetik nefropatinin tip 2 diyabetiklerdeki sıklığı ırksal farklılıklar gösterir. Nefropati sıklığı tip 2 diyabetik beyaz ırkda yaklaşık %5'lerde iken, Pima Yerlileri'nde %60'lara ulaşmaktadır. Tip 2 diyabetiklerde 25 yıllık hastalık döneminden sonra diyabetik nefropati prevalansı %25-40'dır. Tüm diyabet

vakalarının %90'lık kısmını oluşturan tip 2 DM prevalansı arttıkça, diyabetik nefropati insidansı da doğal olarak artmaktadır [8, 9].

Diyabetik nefropatinin gelişiminde genetik, metabolik, hemodinamik faktörler ve intrasellüler sinyal iletim molekülleri ve sitokinler rol oynamaktadır. Genetik, metabolik, hemodinamik faktörler ortak bir yolak üzerinden renal ekstrasellüler matriks sentezinin tetiğini çekerek diyabetik nefropati patogenezinde rol oynarlar. Bu ortak yolaktaki en önemli fibrotik ajan transforme eden büyüme faktörü (TGF- $\beta$ )'dir. Hipergliseminin TGF- $\beta$  ekspresyonunu arttırdığı ve TGF- $\beta$ 'nın da ekstrasellüler matriks birikimine ve renal hipertrofiye aracılık ettiği gerek hayvan çalışmaları ve hücre kültür ortamında gerekse de insan çalışmalarında bir çok kez gösterilmiştir. Endotelin-1 de diğer bir fibrotik sitokin olup diyabetik nefropatili hastalarda yapılan çalışmalarda proteinüri ile korele plazma ve idrar ET-1 düzeyleri saptanmıştır .

Tip 2 diyabetes mellitus seyrinde mikrovasküler veya makrovasküler komplikasyonların klinik bulgularının henüz saptanmadığı erken dönemde de renal etkilenme ve endotel disfonksiyonunun kanıtları mevcuttur. Glomerüler epitelin (podosit), erken dönemde hasarlandığını gösteren çalışmalar literatürde bulunmaktadır. Pagtalunan ve ark. tip 2 diyabetik Pima yerlilerinde yaptıkları çalışmaya 10 erken diyabetik, 17 mikroalbuminürik, 12 normoalbuminürik (mikroalbuminürik olan grupta benzer hastalık süresine sahip) ve 12 klinik nefropatisi olan hastayı dahil etmişlerdir. Bu çalışmada glomerüler bazal membran kalınlığı mikroalbuminürik ve normoalbuminürik grupta benzer ve erken diyabetiklere göre anlamlı artmış olarak saptanmıştır [10]. Casale Monferrato çalışması verilerine göre normoalbuminürik tip 2 diyabetiklerin her yıl %2.6'sının overt nefropatiye progresyon göstermesi mikroalbuminüri dönemi öncesinde de renal hasarlanmanın başladığını düşündürmektedir [11]. Normoalbuminürik tip 2 diyabetiklerde sıkı glisemik kontrol ve/veya ACE-inhibitörü kullanımı ile mikroalbuminüriye progresyonun yavaşladığının gösterilmesi de diyabetik nefropati progresyonunda mikroalbuminüri öncesi dönemin önemini yansıtmaktadır [12]. Diyabetik nefropati gelişiminde ve progresyonunda suçlanan TGF-beta ve ET-1'in normoalbuminürik Tip 2 diyabetiklerde yüksek saptanması mikroalbuminürik dönem öncesinde de bu hastalarda erken renal etkilenme olduğunu düşündürmektedir [13].

Bilinen mikrovasküler komplikasyonu olmayan tip 2 diyabetiklerde ve bozulmuş glukoz toleransı olan kişilerde endotelial aktivasyon ve disfonksiyon bir çok çalışmada gösterilmiştir. Kakizawa ve Bagg mikrovasküler komplikasyonu olmayan tip 2 diyabetiklerde plazma ET-1 düzeylerini yüksek saptamışlardır [14, 15]. Bu konuyla ilgili yakın zamanda yapılmış olan çalışmada Yu ve ark. [13] iyi glisemik kontrolü olan, normotansif, obezitesi ve

dislipidemisi ve koroner arter hastalığı olmayan 12 mikroalbuminürik tip 2 diyabetik, 12 normoalbuminürik tip 2 diyabetik hastada ve 12 sağlıklı kontrolde endotel disfonksiyon parametrelerini çalışmışlar ve normoalbuminürik grupta mikroalbuminürik hastalardaki kadar olmasa da sağlıklı kontrollere göre endotel disfonksiyon bulguları saptamışlardır .

Tip 2 diyabetes Mellitus tedavisinde insülin duyarlılığını arttıran ilaçlar olan metformin ve tiazolidinedionlar'ın endotel disfonksiyon üzerine olumlu etkileri gösterilmiştir. Metforminin endotel kökenli sitokinler olan Von Willebraund Faktör (vWf) ve doku plazmimojen aktivatörü (tpa) düzeyini azalttığı [16], plazma plazminojen aktivatör inhibitör-1 (PAI-1) düzeylerinde azalma sağladığı [17] ve 3 aylık metformin tedavisi ile asetilkolin-aracılı akımda iyileşme sağlandığı gösterilmiştir [18]. Metformin tedavisinin endotel disfonksiyonun önemli plazma göstergelerinden biri olan plazma ET-1 düzeylerine etkisi ise henüz diyabetik hasta grubunda değerlendirilmemiştir. Roziglitazon'un insanlarda glisemik kontrolden bağımsız olarak asetilkoline vazodilatatör yanıtı iyileştirdiği [19], roziglitazon tedavisi ile tip 2 diyabetli hastaların cilt perfüzyonunda glisemik kontrolden bağımsız, NO ile ilişkili, artış olduğu [20] çalışmalarla gösterilmiştir. Ancak roziglitazon'un endotel fonksiyonlar üzerine olumlu etkilerini gösterirken plazma ET-1 seviyesine olan etkisi bugüne dek araştırılmamıştır.

Literatürde metforminin diyabetik nefropati gelişimi ve progresyonu üzerien etkileri ile ilgili veri yoktur. Roziglitazonun mikroalbuminüriyi azalttığı [12] gösterilmiştir. Diyabetik nefropati progresyonunda rolü olan serum TGF- $\beta$  düzeylerine metformin ve roziglitazonun etkileri ile ilgili insan çalışması literatürde bulunmamaktadır.

Bu çalışmanın amacı,

1. Tip 2 diyabetik hastalarda mikrovasküler veya makrovasküler komplikasyonların klinik ve/veya laboratuvar bulgularının saptanmadığı dönemde endotel disfonksiyon ve renal etkilenmenin biyokimyasal göstergeleri olan serum TGF- $\beta$  ve plazma ET-1'in düzeylerinin saptanması,
2. 12 haftalık metformin veya roziglitazon tedavisi ile serum TGF- $\beta$  ve plazma ET-1 düzeylerindeki değişikliklerin saptanması olarak özetlenebilir.

### **3. GENEL BİLGİLER**

#### **3.1 DİYABETES MELLİTUS**

##### **3.1.1 TANIM**

Diyabetes mellitus (DM), insülin sekresyonundaki ve/veya insülin etkinliğindeki defektlere ikincil gelişen ve hiperglisemi ile seyreden metabolik hastalıklar grubudur [21].

##### **3.1.2 TARİHÇE**

Milattan sonra 600 yılında Charaka ve Sushruta adlı iki Hintli hekim tarafından diyabetin birden fazla formu olan bir hastalık olduğu tanımlaması yapılmıştır. Yapılan tanımlama günümüzdeki Tip 1 DM ile ilişkili görülmektedir. Sushruta diyabetik hasta idrarını “ballı idrar” olarak tanımlamış ilk hekimdir. Milattan sonra 1135-1204 yıllarında yaşayan Maimonides, diyabetin soğuk Avrupa’da nadir ancak sıcak Afrika’da sık olduğunu belirtmiştir. Onsekizinci ve 19. yüzyıllarda diyabetin daha ileri yaşta ve fazla kilolularda ortaya çıkan, günümüzdeki Tip 2 DM tanımına uygun formu tanımlanmıştır. Mathew Dobson, 1766’da diyabetik insan serumunun şekerli olduğunu belirtmiş aynı zamanda Fehling testi ile glukozüriyi göstermiştir. 1911’de idrarda Benedict yöntemi ile glukoz taraması kullanıma girmiştir. 1919’da kan şekeri testi Folin ve Wu tarafından geliştirilmiştir.

1870’de Fransa-Rusya savaşında gıda sıkıntısı sırasında, Fransız hekim Bouchardat diyabetli hastalardaki beslenme eksikliğinin yararlı etkileri olduğunu belirtmiştir. 1889 yılında Mering ve Minkowski “Pankreas harabiyetinden sonra Diyabetes Mellitus” çalışmasını tamamlayarak pankreatik diyabet teorisini ortaya atmışlardır. İki araştırmacı pankreası olmayan köpeğin hayatta kalıp kalamayacağına dair aralarındaki bir iddiadan yola çıkmışlardır. Pankreası olmayan köpek hayatta kalmış ancak poliürik biçimde hayatına bir süre devam etmiştir. Araştırmacıların köpeğin idrarında glukozu ve ketonu saptaması hipotezlerine destek olmuştur. 1921’de Banting ve Best insülin izole ederek Nobel Ödülü’nü kazanmışlardır.

Himsworth, 1936’da insülin duyarlı ve insülin duyarlı olmayan iki diyabet tipi tanımlamıştır. 1951’de Avustralya’lı bilimadamı Bornstein ilk insülin ölçüm yöntemini geliştirmiştir [22].

##### **3.1.3. EPİDEMİYOLOJİ**

Diyabetes mellitus, Asya-Hindistan ve Afrika-Karayip ırklarında daha sık görülen bir sağlık sorunudur [23]. Günümüzde dünya üzerinde 150 milyon diyabetik hastanın olduğu ve

2025 yılında bu sayının 300 milyona çıkacağı hesaplanmaktadır [24]. Amerika Birleşik Devletleri'nde 16 milyon DM'li hasta olduğu ve İngiltere'de bir yıl içinde gözlenen körlük, son dönem böbrek yetmezliği ve nontravmatik amputasyonların önde gelen nedeninin DM olduğu bilinmektedir [25].

Tip 2 DM, diyabetes mellitus'un en sık görülen tipi olup diyabetik hastaların %90-95'lik kısmını oluşturur [21]. Büyük bir çoğunluğunu tip 2 DM'nin oluşturduğu Diyabetes Mellitus'un *global prevalansının* 1995'de %2.1 iken 2010 yılında %55'lik artışla %3.2'ye çıkacağı hesaplanmaktadır [26]. Avustralya'da (AusDiab) çalışması verilerine göre 25 yaşından büyük kişilerde diyabet prevalansı %7.4 olarak saptanmıştır [26].

Türkiye'de bugüne kadar yapılmış ilk diyabet prevelansı çalışmasında Satman ve ark. diyabet sıklığını %7,2 olarak saptamışlardır [27].

Diyabetes mellitus'un ekonomik boyutu da her geçen gün büyümektedir. Gelişmiş ülkelerde sağlık harcamalarının %10'luk dilimi DM'ye ve komplikasyonlarına ayrılırken, Amerika Birleşik Devletleri'nde 1987 yılındaki harcamalar 20.4 milyar Amerikan Doları, 1994 yılındaki harcamalar 90 milyar Amerikan Doları olarak saptanmıştır [2, 28].

### 3.1.4 SINIFLANDIRMA

Diyabetes mellitus'un sınıflandırılmasına yönelik çalışmalar sırasında 1979 yılında Amerika Ulusal Sağlık Enstitüsü (NIH) Diyabetes Veri Grubu, DM'yi insüline bağımlı ve insüline bağımlı olmayan diyabetes mellitus olmak üzere iki gruba ayırmıştır. Bu sınıflandırma patogenez ve etyoloji hakkında yetersiz kalınca 1997 yılında Amerikan Diyabet Birliği (ADA) ve Dünya Sağlık Örgütü (WHO) insüline bağımlı diyabet ve insüline bağımlı olmayan diyabet kavramlarını sınıflandırmadan çıkarıp günümüzde de kabul gören şekilde DM'yi 4 temel gruba ayırmıştır (Tablo 1).

I	TİP 1 DM	Immün Aracılı veya İdiopatik
II	TİP 2 DM	
III	DİĞER TİPLER	SPESİFİK β hücresinde genetik defektler (MODY 1-6, mitokondriyal DNA) İnsülin etkisinde genetik defektler Ekzokrin pankreas hastalıkları Endokrinopatiler İlaç veya kimyasal madde aracılı İnfeksiyonlar Nadir immün aracılı diyabetes mellitus Diyabet ile ilişkili olabilen diğer genetik sendromlar
IV	GESTASYONEL DM	

**Tablo 1. Diyabetes Mellitus'un sınıflandırılması. ADA 2005 [1]**

### **3.2 GLUKOZ HOMEOSTAZI**

Glukoz homeostazı karaciğer tarafından glukoz üretimi, insülin-bağımlı dokular (kaslar ve adipoz doku gibi) ve insüline bağımlı olmayan dokular (beyin ve böbrek gibi) tarafından glukoz kullanımı arasındaki denge ile sağlanır [29]. Normal bireylerde beslenme ve açlık periyodlarına rağmen bu denge yürütülmektedir ve kan glukoz konsantrasyonu 70-120 mg/dl gibi görece dar bir aralıkta tutulmaktadır. Açlık döneminde hipoglisemilerin ve beslenme sonrası hiperglisemilerinin önlenmesi organizmanın yaşamsal fonksiyonlarının korunmasında önemli rol oynamaktadır. Glukoz kullanımının bu paterni pankreas adacık hücre kaynaklı insülin ve glukagon tarafından regüle edilir. Glukoz metabolizmasının regülasyonu bir çok faktörden etkilense de glukozun kullanımında üç mekanizma önemli rol oynar,

1. Organizmada hızlı ve aynı zamanda sürekli biçimde insülin sekresyonu,
2. İnsülinin hepatik glukoz çıkışını inhibe etmesi,
3. İnsülinin glukozun kullanımını arttırması (insülin duyarlılığı) ve glukozun insülin yokluğunda da hücreye girebilmesi (glukoz duyarlılığı).

İnsülin, anabolik etkili bir hormon olarak, glukoz, aminoasitler ve serbest yağasitlerinin hücre içinde kullanımından ve depolanmasından ve katabolizmanın



inhibisyonundan sorumludur. Glukoz homeostazi ile ilişkili olarak insülinin hedef dokuları karaciğer, adipoz doku ve kas dokusudur [30].

İnsülin hücre üzerindeki etkilerini insülin reseptörleri ve daha az oranda insülin benzeri büyüme faktörü-1 (IGF-1) reseptörleri aracılığıyla sağlar. Bu reseptörler protein tirozin kinaz reseptör ailesinin üyeleridir [31]

İnsülinin hücresel düzeydeki etkileri, etkilerin başlama zamanına göre üçe ayrılır;

1. Ani etkiler: Dolaşıma katılmasından saniyeler sonra ortaya çıkar. Glukoz transport sistemlerinin aktivasyonunu içerir.
2. Orta etkiler: Gen indüksiyonu ve protein ekspresyonları meydana gelir.
3. Uzun dönem etkiler: DNA sentezi, hücre proliferasyonu, hücre farklılaşması, gen ekspresyonlarından sorumludur.

İnsülinin fizyolojik rolünde en önemli nokta kas doku ve adipoz dokuya glukoz alımını sağlamasıdır. Klasik çalışmalar ve günümüzde yürütülmekte olan çalışmalar göstermiştir ki glukoz transportunda insülin stimülasyonu mekanizması enerji gerektiren bir basamaktır. Bu basamakta glukoz taşıyıcı proteinler içeren veziküller enerji bağımlı olarak plazma membranına doğru yer değiştirirler [32]. Bu etki geri dönüşümlüdür ve insülin etkisi azaldığında glukoz taşıyıcıları hücre içi havuza geri dönerler. Memelilerde yedi ayrı glukoz taşıyıcısı klonlanmıştır. Beş tanesi sodyumdan bağımsız glukoz transportundan sorumlu olup, diğerleri glukozun sindirim sisteminden emilimi ve böbrek tubullerinden geri emiliminden sorumlu olan sodyum-glukoz taşıyıcılarıdır (sodyum-glukoz kotransportu). Glukoz taşıyıcısı-1 (GLUT-1), eritroid hücre-beyin glukoz taşıyıcısı olarak da adlandırılır. Eritrositlerde ve kan beyin bariyerini oluşturan endotelial hücrelerde bol miktarda bulunur. Normal karaciğer dokusunda bulunmaz. Kas ve yağ dokuda az miktarda olduğu saptanmıştır . Glukoz taşıyıcısı-2 (GLUT-2), esas olarak hepatosit plazma membranlarında ve pankreatik B hücrelerde bulunur ve glukoz-aracılı insülin sekresyonunda rol oynar. İnsülin etkileri göz önüne alındığında GLUT-4 en önemli taşıyıcı proteindir. En belirgin olarak glukoz transportunun insüline duyarlı olduğu çizgili kaslar, kalp kası ve yağ dokuda eksprese edilir [33, 34].

### **3.3 TİP 2 DİYABETES MELLİTUS'UN PATOGENEZİ**

Tip 2 diyabet, tüm diyabet vakalarının %90-95'lik kısmını oluştursa da oldukça heterojen bir hastalıktır. Tip 2 diyabet tanısı almış hastaların bir kısmı MODY, latent erişkin başlangıçlı otoimmün diyabet (LADA) veya nadir görülen genetik bozukluklara sekonder diyabet olabilir.

Tip 2 diyabet patogenezi hakkında çelişkili görüşler olsa da fikir birliğine varılan noktalar,

- i. Hastalığın genetik ve çevresel (kazanılmış) komponentleri olduğu
- ii. Kalıtımının poligenik olduğu
- iii. İnsülin duyarlılığının ve insülin sekresyonunun yetersizliğinin patogeneizde rolü olduğu
- iv. Hastaların çoğunun obez olduğu ve özellikle viseral (santral) obezitenin insülin direncine neden olduğu şeklinde sıralanabilir [35].

### 3.3.1 İNSÜLİN DİRENCİ

İnsülin direnci egzojen veya endojen insülinin hücre içine glukoz alımı ve glukozun kullanımı için yetersiz kalması durumudur [36].

İnsülin direnci ilk olarak 1930'lu yıllarda tanımlanmış olup, 1956 yılında Vague santral obeziteyi diyabetes mellitus, ateroskleroz ve gut hastalığı gelişimine yatkınlık yaratan bir durum olarak tanımlamıştır [37].

Reaven, 1988'de insülin direnci ile ilişkili olan ve kardiyovasküler hastalıkların gelişimine katkıda bulunan bir grup metabolik bozukluk tanımlamıştır. Bu metabolik bozuklukları; hücre içine insülin aracılı glukoz alımına direnç, hiperinsülinemi, çok düşük dansiteli lipoprotein (VLDL) trigliseridinde artış, azalmış yüksek dansiteli lipoprotein (HDL) kolesterolü ve hipertansiyon olarak belirtmiş ve bu metabolik bozuklukların tamamını Sendrom X tanımı altında toplamıştır. Ayrıca bu metabolik bozukluklar ve bunlarla ilişkili hastalıkların etiolojisinde insülin direnci ve hiperinsülineminin rolü olabileceğini belirtmiştir [38]. Obezitenin de (özellikle viseral obesitenin) insülin direnci ve bu sendrom gelişimine katkıda bulunduğu gösterilmiştir [36]. Son dekad içinde bu sendroma insülin direnci sendromu (IRS) adı verilmiş ve (ICD-9)'a dismetabolik sendrom adıyla ve 277.7 koduyla dahil edilmiştir [39].

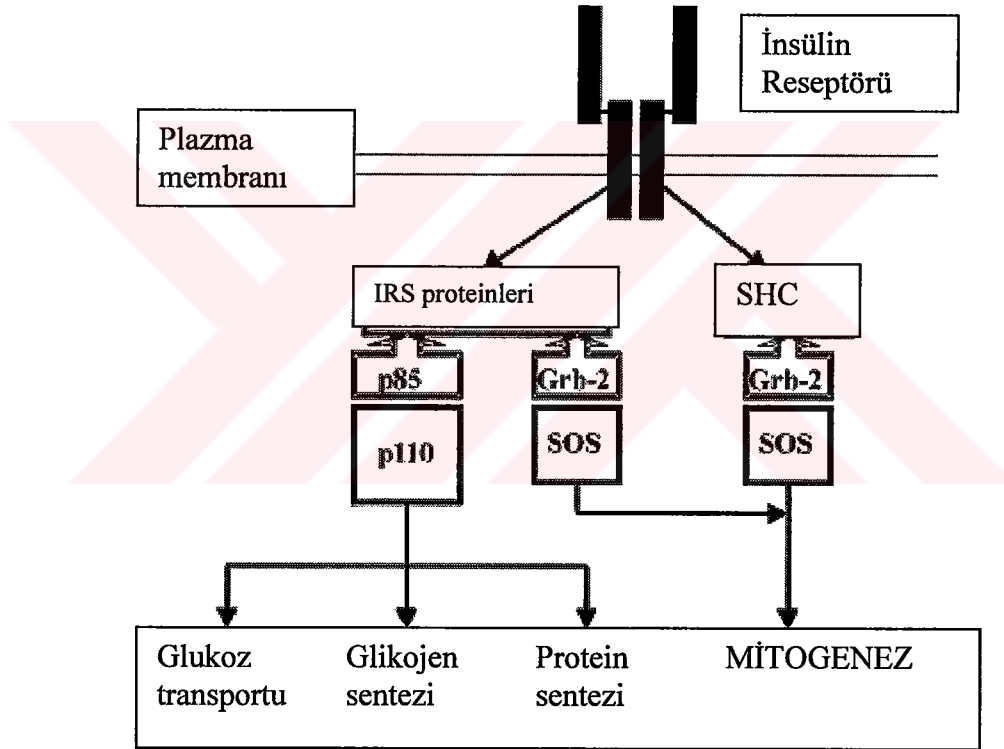
#### İnsülinin etki mekanizması

Dolaşımdaki insülin, insülin reseptörünün hücre dışındaki kısmına bağlanır. Bu bağlantı reseptörün hücre içindeki kısmına bağlı tirozin rezidülerinin fosforillenmesine neden olur. İnsülin reseptöründeki bu aktivasyondan sonra iki major hücre içi fosforilasyon-defosforilasyon kaskadı aktiflenir; (Şekil 1)

- i. İnsülin reseptör substratlarındaki (IRS) tirozin rezidüleri fosforillenir ve hücre içi fosfoinozitol-3-kinaz (PI-3-kinaz) IRS moleküllerine bağlanır. Bu

bağlanmadan sonra PI-3-kinazda fosforilasyon ve aktivasyon meydana gelir. Aktive olmuş PI-3-kinaz glukoz ve lipid metabolizmasında rol oynayan bir çok moleküldeki fosforilasyon-defosforilasyonu tetikleyerek glukoz ve lipid metabolizmasının regülasyonunu sağlar (GLUT-4'ün plazma membranına transportu gibi). Aynı zamanda endotelial nitrik oksit (NO) oluşumundan da sorumludur.

- ii. Diğer kaskad, bir uyarlayıcı protein olan Shc'nin insülin-reseptör etkileşiminden sonra fosforillenmesi ile başlar. Bu aktivasyon RAS-RAF-MAP kinaz yolaklarını aktifler ve insülinin büyüme, gen aktivasyonu ve mitojenik etkilerini stimüle eder.



Şekil 1 İnsülinin etki mekanizması

## İnsülin direnci gelişimi

İnsülin direnci kavramının en önemli özelliklerinden biri de insülinin hücre içine glukoz alımı ve glukozun kullanımı dışındaki diğer fonksiyonlarında (iyon transportu, protein sentezi, gen transkripsiyonu, hücre proliferasyonu gibi) negatif etkilenme olmamasıdır. Normal glukoz metabolizmasının sağlanması için yaratılan kompenzatuvar hiperinsülinemi nedeniyle iyon transportu, protein sentezi ve/veya büyüme işlemi gibi fonksiyonlar abartılı hale gelebilir [36]

Günümüzdeki veriler Tip 2 DM ve metabolik sendrom ile ilişkili insülin direncinin insülin reseptör substratları (IRS) ve PI-3-kinaz subünitlerinin tirozin fosforilasyonunun inhibisyonuna sekonder geliştiğini desteklemektedir. Bu inhibisyonun nedeni, serbest yağ asidi metabolizması kaynaklı ürünler, sitokinler ve inflamatuvar kaskad (nükleer faktör kappa B -NF $\kappa$ B- aracılı) tarafından aktive edilen serin fosforilazlar tarafından IRS ve PI-3-kinaz üzerindeki serin ve treonin rezidülerinin fosforillenmesidir. Serbest yağ asidi metabolizmasından açığa çıkan açıl koenzim A'nın aktiflediği protein kinaz C beta (PKC  $\beta$ ) ve inflamasyon mediatörlerinin tetiklediği İnhibitör Kappa B Kinaz (IKKB) serin rezidülerinin fosforilasyonundan sorumludur [36, 40] (Şekil 2)

İnsülin direnci gelişiminden sorumlu potansiyel mekanizmalar,

- i. İnsülin etkisi kaskadında genetik anormallikler
- ii. Fetal malnütrisyon
- iii. Viseral adipozite ve sedanter hayat
- iv. Kontr-regulatuvar hormonlarda artış
- v. Farmakolojik ajanlar

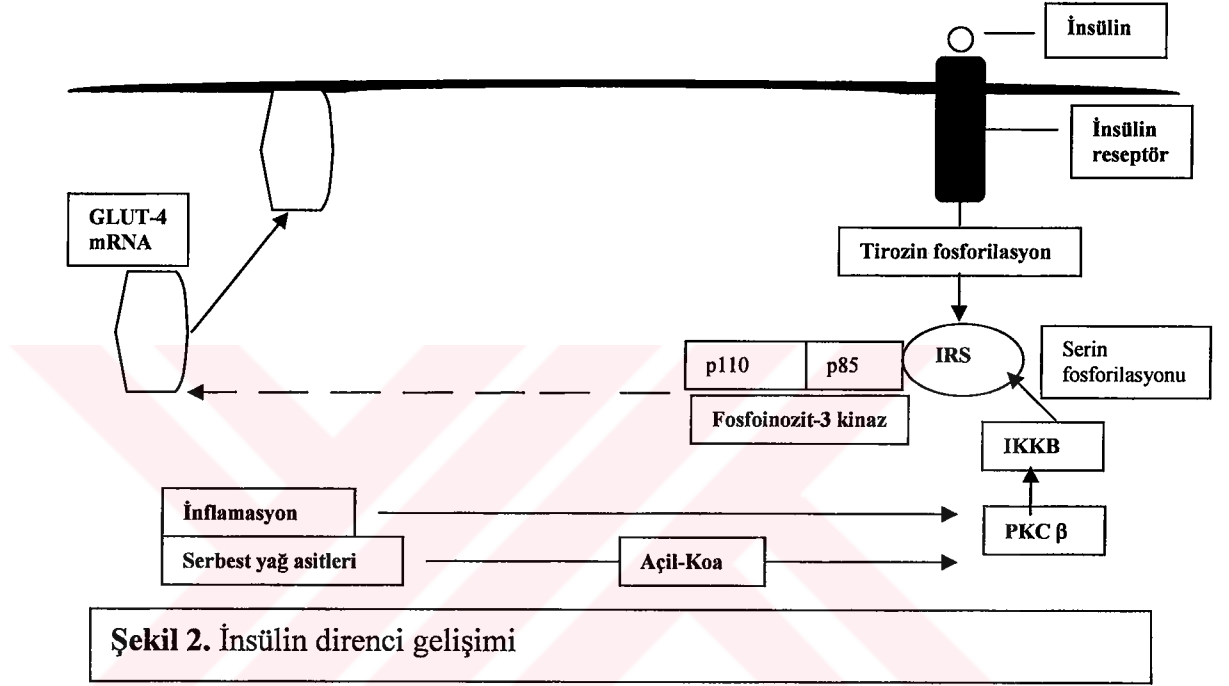
olarak sınıflandırılabilir.

Genetik anomaliler insülin etkinliğinin ciddi biçimde etkilendiği nadir sendromlarda gösterilmiştir. Ancak Tip 2 DM'li kişilerin overt diyabet gelişmemiş birinci derece akrabalarında insülin resistansı özelliklerinin saptanması, insülin direncinin kalıtsal yönleri olduğunu göstermektedir [41].

Barker ve ark.'nın erişkin erkeklerde iskemik kalp hastalığına bağlı ölümün doğumunda ve yaşamının ilk 1 yılında en düşük vücut ağırlığına sahip olanlarda en fazla görüldüğünü bildirmesinden [42] sonra yapılan çalışmalarda düşük doğum ağırlığı olanlarda glukoz intoleransının, kan basıncı yüksekliğinin ve diğer metabolik sendrom komponentlerinin daha sık saptandığı bildirilmiştir. Sorumlu olan mekanizmalar ile ilgili spekülasyonlardan ilki insülin etkisi kaskadında fetal malnütrisyonla ikincil yetersiz maturasyondur. Diğer hipotez ise fetal malnütrisyonla ilgili olarak metabolizmanın santral

sinir sistemi tarafından regülasyonunda değişiklikler meydana gelmesi ile modifiye metabolik yollar oluşması şeklinde açıklanmıştır. Bu şekilde nütrisyonel elemanların etkili kullanımı olamamakta ve artmış kalori alımı ve azalmış fiziksel aktivite de eklenince insülin rezistansı ortaya çıkmaktadır [36]

İnsülin rezistansı büyük çoğunlukla obez ve sedanter hayat süren kişilerde ortaya çıkar. Bir çok çalışmadan elde edilen veriler, insülin duyarlılığı ve visceral adipoz doku kitlesi arasında negatif ilişki olduğunu göstermektedir [43].



Birçok insan çalışmasında, insülin etkisinin predominant olarak visceral adipoz doku tarafından belirlendiği ve subkutan yağ dokusunun etkisinin az olduğu gösterilmiştir. Aynı zamanda vücut ağırlığında azalma ile sağlanan insülin duyarlılığındaki artışın total veya subkutan yağ doku ile değil, visceral yağ doku ile korele olduğu saptanmıştır [44]

Adipoz doku, GLUT-4 ve lipid sentezinde görevli diaçilgliserol açiltransferaz-1 gibi bir çok, sekrete edilmeyen adipozit proteinleri ile tüm vücut enerji dengesi ve insülin etkisi üzerinde önemli rol oynar. Diaçilgliserol açiltransferaz-1 enzimini eksprese etmeyen hayvan modellerinde obeziteye karşı direnç geliştiği saptanmıştır [39]. Leptin adipozit kökenli bir sitokin olup leptin üretimi olmayan *ob/ob* ve leptin reseptör ekspresyonu olmayan *db/db* ratların hiperfajik olduğu gösterilmiştir. İnsanlarda da ciddi hiperfaji ile leptin eksikliği ilişkisi gösterilmiştir [45, 46]. Streptozotosin ile diyabetik hale getirilmiş ratlarda, leptin düzeylerinin düştüğü ve insülin ile normale getirildiği gösterilmiştir [39].

Adiponektin adipozitler tarafından üretilir ve düzeyi total adipozit kütlesi ile ters orantılıdır. Dolayısıyla obezlerde düşük düzeydedir.

Adiponektin miktarı, vücut ağırlığında azalma ile artar. İnsülin duyarlılığını arttırıcı etkisi, anti-inflamatuar etkisi ve HDL kolesterolü arttırıcı etkileri gösterilmiştir [47-49]. In-vitro şartlarda, adipozitlerde, insülin ile adiponektin üretiminin arttığı gösterilmiştir, invivo olarak ise insülinin adiponektin düzeylerini düşürdüğü saptanmıştır [39].

Obez, insülin direnci mevcut kişilerde yapılan çalışmalarda sedanter hayat şartlarını değiştiren, vücut ağırlıklarında ve viseral adipozitede azalma saptanan hastalarda insülin duyarlılığında artış ve insülin direnci sendromunun komponentlerinde düzelme - trigliseridlerde azalma, HDL-kolesterolde artma, prokoagulan durumda düzelme ve inflamatuvar durumda gerileme- saptanmıştır [40].

### **3.4 TİP 2 DİYABETES MELLİTUS' UN TANISI**

Amerikan Diyabet Birliği (ADA), 2005 yılında yayınladığı “Diyabetes mellitus’un tanısı ve sınıflandırılması” isimli raporunda [1], tip 2 DM tanı kriterlerini şu şekilde tanımlamıştır;

- i. Diyabet semptomları bulunması (poliüri, polidipsi, açıklanamayan kilo kaybı) ve günün herhangi bir zamanı bakılan kan şekerinin  $\geq 200$  mg/dl (11.1 mmol/l) olması
- ii. Açlık kan şekerinin  $\geq 126$  mg/dl (7.0mmol/l) olması (açlık, en az sekiz saat boyunca kalori alımı olmaması şeklinde tanımlanmaktadır)
- iii. Oral glukoz tolerans testinin (75 gr glukoz ile) 2.saatinde kan şekerinin  $\geq 200$  mg/dl (11.1 mmol/l) olması.

Kriterlerden bir tanesi saptandığında, ayrı bir gün, üç testten herhangi bir tanesi ile doğrulanmalıdır.

### **3.5 DİYABETİK NEFROPATİ**

#### **3.5.1 TANIM**

Klinik diyabetik nefropati, böbrek hastalığının diğer nedenleri veya kalp yetmezliği olmayan hastalarda persistan proteinüri (steril idrarda günde 300 mg ve daha fazla protein atılımı) ve retinopatinin saptanması olarak tanımlanır.

### 3.5.2 TARİHÇE

Diyabetik hastalardaki proteinüri ilk olarak 18. yüzyıl sonunda tanımlanmış olup, 1836 yılında Bright albuminüri ile seyreden böbrek hastalığının diyabete spesifik olabileceğini belirtmiştir. Kimmelsteil ve Wilson, 1930'lu yıllarda, proteinüri ve hipertansiyon ile ilişkili noduler glomeruloskleroza tanımlamışlardır. 1950'li yıllarda, nefropatinin diyabetin nadir bir komplikasyonu olmadığı anlaşılmıştır [50]. İlk olarak üriner albumin atılımı hakkındaki çalışmaları 1960'lı yıllarda diyabet uzmanı Harry Keen yapmıştır. 1976 yılında Kussman diyabetik nefropatinin insanda geri dönüşümsüz olduğunu belirtmiştir.

### 3.5.3 EPİDEMİYOLOJİ

Diyabetes mellitus, Amerika Birleşik Devletleri (ABD)'de ve diğer gelişmiş ülkelerde son dönem böbrek yetmezliğinin (SDBY) en sık nedenidir. Son verilere göre ABD'de yeni ortaya çıkan SDBY vakalarının %44'ünden sorumludur. Diyabetik nefropati siyahlarda, yerli Amerikalı'larda ve Hispanik popülasyonda beyazlardan daha sık görülmektedir. Tip 1 Diyabetiklerde nefropati sıklığı yaklaşık %30-40 iken tip 2 diyabetiklerde renal komplikasyonların sıklığı ırksal farklılıklar gösterir. Nefropati sıklığı tip 2 diyabetik beyaz ırkda yaklaşık %5'lerde iken, Pima yerlilerinde %60'lara ulaşmaktadır [8]. Yirmi yıllık hastalık periyodundan sonra tip 1 diyabetiklerin %30'unda diyabetik nefropati gelişmektedir. Tip 2 diyabetiklerde 25 yıllık hastalık döneminden sonra diyabetik nefropati prevalansı %25-40'dır [8]. Tüm diyabet vakalarının %90'lık kısmını oluşturan Tip 2 DM prevalansı arttıkça, diyabetik nefropati insidansı da artmaktadır [9].

### 3.5.4 DOĞAL GELİŞİM SÜRECİ

Diyabetik nefropati gelişimi, Mogensen tarafından klinik fazlara ayrılmış olup bu sınıflandırma tip 1 ve tip 2 diyabet için kullanılabilir [51] (Tablo 2)

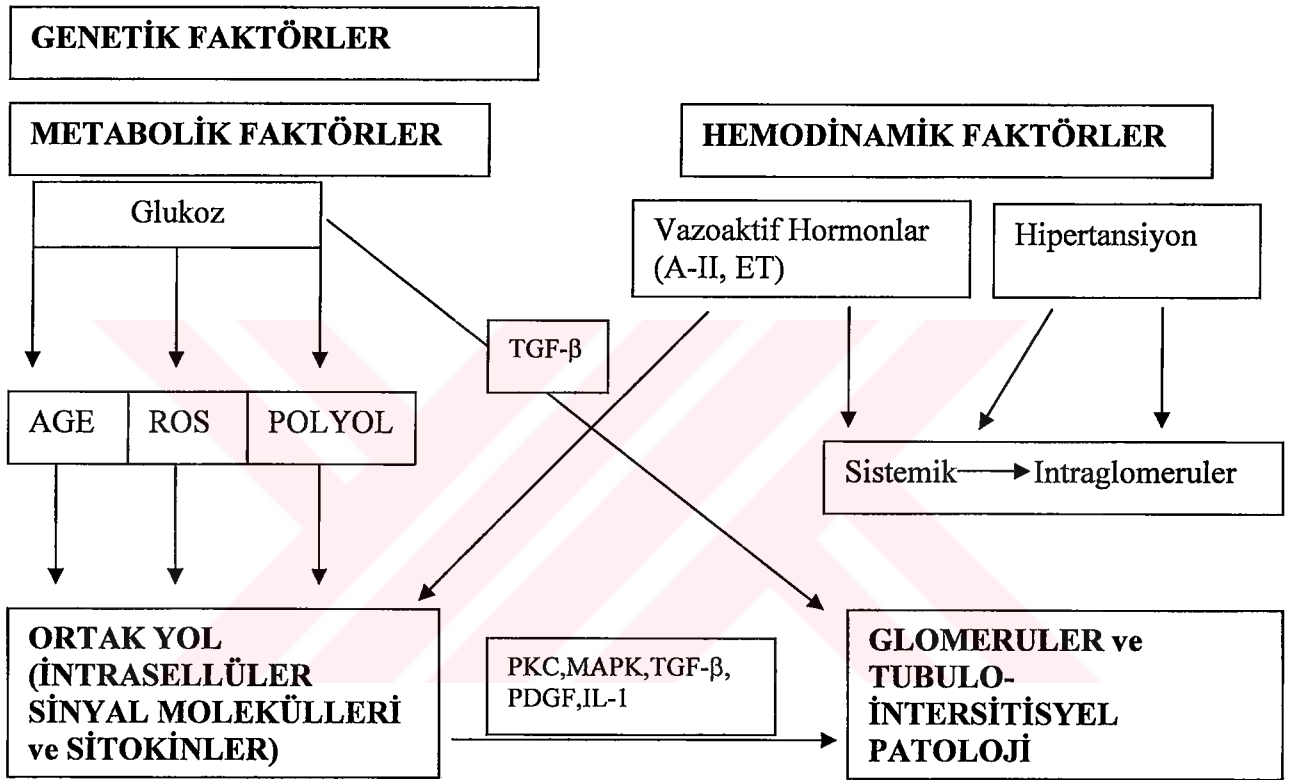
Hastalık progresyonu	Üriner albumin atılımı	Glomeruler filtrasyon oranı	Kan basıncı
Normoalbuminüri	< 30mg/gün	Normal veya artmış	Artmakta
Mikroalbuminüri	30-300 mg/gün	Normal veya artmış	Artış hızı fazla
Belirgin proteinüri	> 300 mg/gün	Azalmakta	Yüksek
Böbrek yetmezliği	> 300 mg/gün	Düşük	Yüksek

**Tablo 2** Diyabetik nefropati doğal gelişim süreci

### 3.5.5 PATOGENEZ

Ritz ve Orth tarafından, diyabetik nefropati gelişimi için risk faktörleri, ileri yaş, beyaz ırk dışı ırklar, erkek cinsiyet, kötü glisemik kontrol, kan basıncı yüksekliği, hiperlipidemi ve genetik faktörler olarak özetlenmiştir [52].

Tip 1 diyabet ve tip 2 diyabet gelişiminden sorumlu mekanizmalar farklı da olsa, bu gruplarda mikrovasküler komplikasyonların gelişiminin patofizyolojisi benzerdir. Diyabetik nefropati gelişiminden sorumlu faktörler dört gruba ayrılır (Şekil 3); Genetik, Metabolik, Hemodinamik Faktörler ve Intraseleler sinyal iletim molekülleri ve sitokinler [8, 9].



**Şekil 3.** Diyabetik Nefropati Patogenezi. Anjiyotansin-II (A-II), Endotelin (ET), ileri glukozilasyon ürünleri (AGE), Reaktif oksijen türleri (ROS), Transforme eden büyüme faktörü-beta (TGF- $\beta$ ), Trombosit kökenli büyüme faktörü (PDGF), İnterlökin-1 (IL-1)

Diyabetik nefropati gelişiminde diyabet süresi ve metabolik kontrolün rolü olmakla birlikte, etnik kökenin de önemli olduğu gösterilmiştir. Diyabetik nefropati prevalansı Pima, Navajo, Winnebago ve Omaha yerlilerinde en yüksek , Avrupa kökenli beyazlarda ise en düşük olarak saptanmıştır. Afrika'dan ABD'ye göç eden siyahlarda beyazlara göre diyabetik nefropatinin dört kat daha fazla olduğu gösterilmiştir [53-55]. Tip 1 veya tip 2 diyabetik hastaların bulunduğu bazı ailelerde diyabetik nefropatinin çok sık görülmesi son dönem böbrek yetmezliğine ilerleyişte de genetik yatkınlığın sorumlu olabileceğini düşündürmüştür. Persistan proteinürisi olan ve diyabetik aile üyesi olan hastalarda diyabetik nefropati gelişimi



için toplam risk artışı, aile öyküsü olmayanlara göre belirgin yüksektir ( sırasıyla %75, %25) [9].

Tip 1 ve tip 2 diyabetiklerde nefropati gelişimi için genetik predizpozisyon bir çok çalışmada gösterilmiştir. Tip 2 diyabeti ve diyabetik nefropatisi olan hastaların akrabalarında SDBY gelişim oranı, nefropatisi olmayan tip 2 diyabetiklerin akrabalarında SDBY gelişim oranından 5 kat fazla bulunmuştur (%37, %7) [56]. Diyabetik nefropati gelişimi ile bağlantısı en sık çalışılan gen polimorfizmleri anjiyotansin dönüştürücü enzim eklenme/silinme (ACE I/D) polimorfizmi ve anjiyotansinojen polimorfizmi (M235T)'dir [8]. Diyabetik nefropatisi olan ikiz Pima yerlilerinde yapılmış genom çalışmalarında nefropati ile ilişkili dört bölge tanımlanmıştır. Yedinci ve 20. kromozom üzerindeki bölgeler sadece nefropati ile ilişkili iken 3. ve 9.kromozom üzerindeki bölgeler nefropati ve retinopati ile ilişkili bulunmuştur [57]. Vardarlı ve arkadaşlarının, tip 2 diyabet ve diyabetik nefropati rekürensleri olan 18 Türk ailesini ve toplam 368 kişiyi inceledikleri çalışmalarında, diyabetik nefropatinin 18.kromozom üzerindeki bir lokus (18q22.3-23) ile belirgin olarak bağlantılı olduğu saptanmıştır [58]. Bu kromozomal alanın diyabetik nefropati ile bağlantısı diyabetik nefropatili 101 Pima yerlisi ikizinde yapılan çalışmalarda doğrulanmıştır. Genin bütünüyle tanımlanması için çalışmalar halen sürmektedir.

### **Metabolik faktörler**

Diyabetes mellitus seyrinde ortaya çıkan hiperglisemik durum ile diyabetin mikrovasküler komplikasyonlarının gelişimi arasındaki ilişki kesin olarak gösterilmiştir. Tip 1 diyabetiklerde yapılan DCCT ve Tip 2 diyabetiklerde yapılan UKPDS çalışmaları diyabetin retinal ve renal komplikasyonları ile hiperglisemi arasındaki linner ve ters ilişkiyi göstermiştir. İngiltere Prospektif Diyabet Çalışması'nda A1C düzeyindeki %1'lik azalma ile mikro ve makroalbuminüri insidansında % 37 azalma olduğu saptanmıştır [59].

Hiperglisemi diyabetin mikrovasküler komplikasyonlarının gelişiminde gerekli ancak tek başına renal hasara neden olabilecek kadar yeterli bir risk faktörü değildir. Diyabetik nefropati patogenezinde diğer faktörlerle birlikte rol oynar.

### ***İleri glukozile olmuş son ürünler:***

Proteinler, lipidler ve nükleik asitler üzerindeki serbest amino grupları ile glukoz arasındaki enzimatik olmayan reaksiyonlar ile ortaya çıkan *Amadori Ürünleri*, aylar-yıllar içinde yüksek oranda çapraz bağlar içeren ileri glukozile olmuş son ürünlere (AGE) dönüşür [60, 61]. Diyabetik nefropatide AGE birikimi özellikle mezengiumda ve nodüler lezyonlarda belirgindir ve diyabetik nefropatinin şiddeti ile birikim miktarı arasında korelasyon bulunmaktadır [62].

İleri glukozile olmuş son ürünlerin diyabetik nefropati patogenezindeki etkileri temel olarak iki grupta incelenmektedir;

#### A- Resptörden Bağımsız Yolaklar:

- İleri glukozile olmuş son ürünler damar duvarında ve altındaki bazal membranda bulunan kollogen ile çapraz bağlar oluşturarak yapısal bütünlüğü doğrudan etkilerler [63, 64].
- Damar yapısında nitrik oksidin etkilerini azaltarak vasküler relaksasyonu azaltırlar [65].
- Monosit kemotaksisi ve adezyon moleküllerinin ekspresyonunu artırarak prostosiklin oluşumunu azaltarak ve plazminojen aktivatör inhibitör-1 (PAI-1) indüksiyonuna neden olarak endotelial disfonksiyona katkıda bulunurlar [66].
- Hücre içi yollarından NF $\kappa$ B ve protein kinaz C aktivasyonu ile renal ekstraselüler matriks metabolizmasında bozukluklara neden olurlar [67, 68]
- Mezengial ekstrasellüler matriks proteinleri ile ilişkili büyüme faktörlerinin ekspresyonunu arttırlar [69].
- Invitro şartlarda, vasküler endotelial büyüme faktörü (VEBF) düzeyinde artışa neden olurlar [70],
- Invivo, glomeruler tip 4 kollogen, laminin B1 ve TGF- $\beta$  upregulasyonu ile glomeruler hipertrofiye neden olurlar [71].

#### B- Reseptör Bağımlı Yolaklar:

İleri glukozilasyon ürünleri için birçok hücre üzerinde çeşitli reseptörler tanımlanmıştır. İçlerinde diyabetik nefropati patogenezinde rolü en belirgin olan AGE-reseptörü (AGER)'dür. Dokulardan ve dolaşımdan AGE'yi uzaklaştırmakla görevli diğer reseptörlerin aksine AGER bir sinyal transdüksiyon reseptörü olarak hücrenel yanıtları güçlendirir. İleri glukozile olmuş son ürünlerin AGER ile birleşmeleri komplikasyonların gelişimini güçlendirir [9]. Bu birleşme ile,

- Reaktif oksijen türlerinin oluşumu [72],
- TGF- $\beta$ , trombosit kökenli büyüme faktörü ve İnterlökin-1 gibi sitokinlerin ekspresyonunda artma [9],
- TGF- $\beta$  aracılı mekanizma ile tubuloepitelial hücrelerin mezenkimal fenotipe farklılaşması [73] meydana gelir.
- Ayrıca AGER, AGE'nin NF $\kappa$ B aktivasyonunu güçlendirir [67, 68].

### ***Reaktif oksijen türleri:***

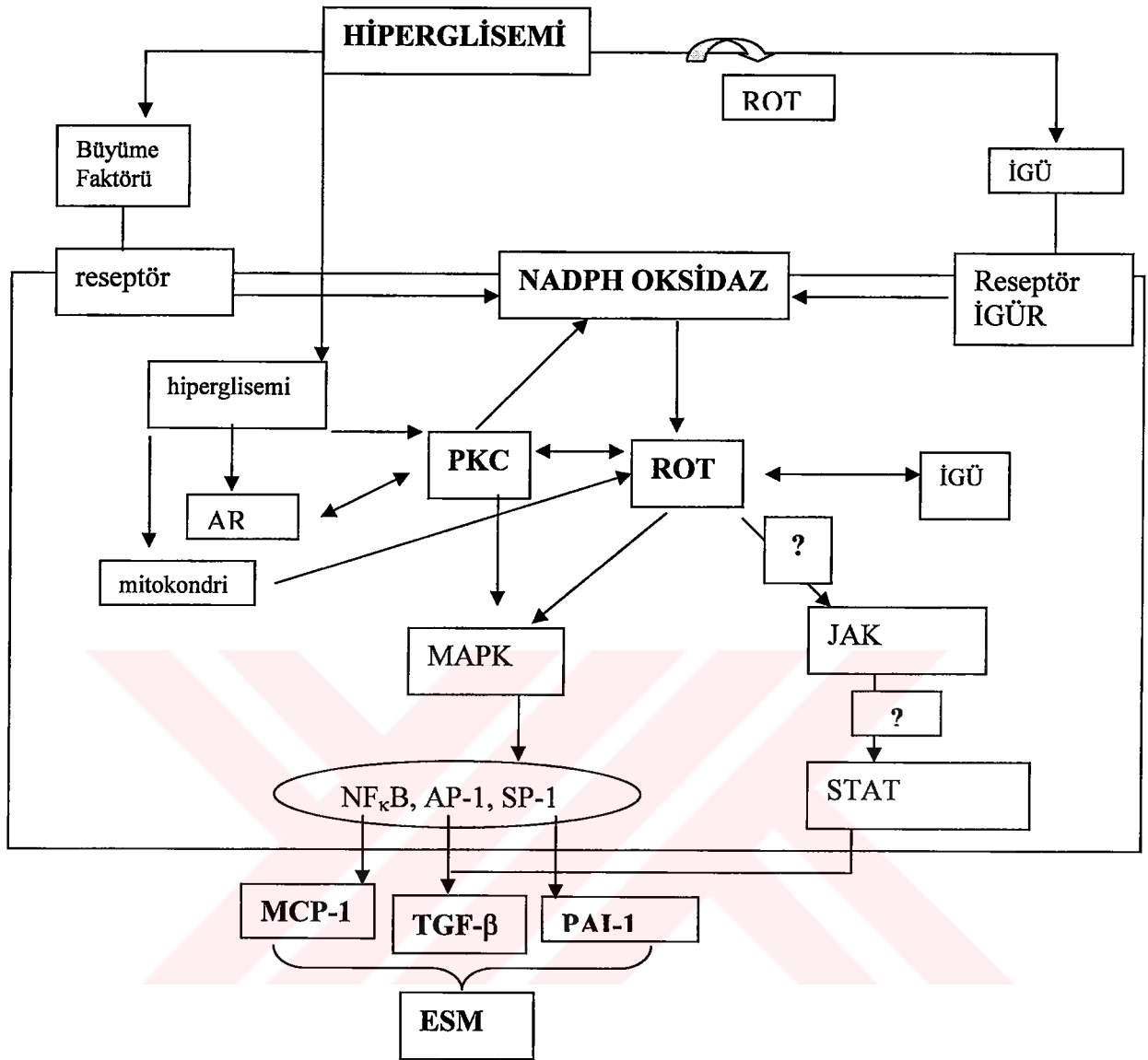
Reaktif oksijen türlerinin oluşumundaki major kaynaklar mitokondrial elektron transfer zinciri (oksidatif fosforilasyon) ve nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADPH) oksidazlardır [74].

Glukozun glikolizis ile kullanımı sonucu açığa çıkan indirgen bileşenlerin mitokondride oksidatif fosforilasyon ile metabolize edilmeleri sonucu serbest radikaller açığa çıkar. Diyabetes Mellitus seyriindeki uygunsuz metabolizma sonucu oluşan hiperglisemi, hiperlipidemi, artmış serbest yağ asitleri reaktif oksijen türlerini (ROS) artırır [9].

Renal *mezengial* hücrelerde yüksek glukoz konsantrasyonuna bağlı ROS oluşumunun protein kinaz C (PKC) aracılı olduğu saptanmıştır. Protein Kinaz C NADPH oksidaz aktivasyonunda rol oynayarak ROS miktarını artırır. NADPH oksidaz reseptör aracılı ROT oluşumunda en önemli mekanizmayı oluşturur. Hiperglisemi ile ortaya çıkan İGÜ'nün ve yüksek glukoz konsantrasyonunun tetiklediği büyüme faktörlerinin renal hücre üzerindeki reseptörleri ile etkileşimi sonucu hücre içinde NADPH oksidaz aracılı ROT üretimi gerçekleşir. Hiperglisemi ayrıca aldoz redüktaz (AR) enzimi aracılı polyol yolağı ile de ROS üretimini artırır [74].

Hücre içinde oluşan ROS bir çok intrasellüler yolak aracılığıyla diyabetik nefropati patogeneğinde rol oynar (Şekil 4). Hayvan çalışmalarında ve hücre kültürü çalışmalarında [73-78];

- ROS'un renal hücrelerde, yüksek glukoz konsantrasyonu varlığında, protein kinaz C, mitojen ile aktive olan protein kinaz (P-38 MAPK) gibi sinyal ileti proteinlerinin,
- Nükleer faktör kappa-B (NF $\kappa$ B), aktive protein-1 (AP-1) gibi transkripsiyon aktivatörlerinin indüklenmesinde önemli bir mediatör olduğu,
- İndüklenen sinyal ileti proteinleri ve transkripsiyon faktörlerinin de başta TGF- $\beta$  aracılı olmak üzere tubuloepitelyal hücrelerin mezenkimal fenotipe farklılaşmasına ve ekstrasellüler matriksin (ESM) genişlemesine neden olduğu gösterilmiştir.
- Reaktif oksijen türlerinin, janus kinaz sinyal ileticisi ve transkripsiyon aktivatörlerini (JAK/STAT) fibroblastlarda ve karsinoma hücrelerinde regüle ettiği gösterilmiştir ancak mezengial hücrelerde veya diyabetik böbrekte ROS-JAK/STAT ilişkisi henüz bilinmemektedir.



Şekil 4. Diabetik nefropatide ROS ile ilişkili sinyal yolları.

#### **Polyol yolağı:**

Polyol yolağı, glukozu sorbitole indirgerken NADPH'ı kofaktör olarak kullanan aldoz redüktaz ve sorbitolü NAD<sup>+</sup>'nin kofaktörlüğünde fruktoza dönüştüren sorbitol dehidrogenazdan oluşur. Normal fizyolojik koşullarda glukozun küçük bir kısmı bu şekilde metabolize edilir. Diyabetik hastalarda bu yolakla metabolize olan glukoz %3-30 artar [9]. Sorbitolün hücresel birikimi ve myoinozitol eksikliği diyabetin renal komplikasyonlarında rol oynar [79].

Polyol yolağı oksidatif stres artışına neden olarak ve sorbitole bağlı ozmotik etkiyle vasküler hasar meydana getirerek diyabetik komplikasyonların gelişimine katkıda bulunur. Hiperglisemik durumlarda polyol yolağına glukoz girişi ile aldoz redüktaz enzim sistemi

tetiklenir ve NADPH kullanımını artırır. NADPH azalması ile glutatyon redüktaz ile glutatyon oluşumu azalır. Azalmış glutatyon depoları ile antioksidan etkinlik yeterli olarak sağlanamaz. Sorbitolden oluşan fruktoz ve fruktozun metabolitleri glukozillendiğinde AGE aracılı ROS artışına neden olur [9]. NADPH'nin eksilmesi ile ve oksidatif reaksiyonlar ile aktiflenen pentoz fosfat yolu da NADH/NAD<sup>+</sup> oranını oksidatif strese neden olacak şekilde değiştirir [80].

Streptozotosin ile diyabetik hale getirilmiş ratlarda saptanan artmış aldoz redüktaz gen ekspresyonu ve rat mezengial hücrelerinde hiperglisemiye yanıt olarak artan aldoz redüktaz mRNA'sı hiperglisemi ile aldoz redüktaz arasındaki ilişkiyi ortaya koymaktadır [81].

Tip 1 diyabetiklerde insanda diyabetik nefropatiye genetik yatkınlığa neden olabilecek aldoz redüktaz geni varyasyonu (ALR2) tanımlanmıştır [82]. Tip 1 diyabetlilerde yapılmış bir çalışmada nefropatisi olanlarda olmayanlara kıyasla aldoz redüktaz mRNA ekspresyonunda artış saptanmıştır [83].

#### ***Glukozaminoglikanlar ve diyabetik nefropati:***

Glomerüler bazal membran (GBM) yapısında bulunan en önemli bileşenler, tip 4 kollogen, laminin ve heparan sülfat proteoglikanlardır (HSPG). Günümüze kadar belirlenmiş en önemli bazal membran HSPG'leri perlekan, agrin ve kollogen XVIII'dir. Perlecan ve kollogen XVIII mezengial matrikste, agrin ise GBM'de daha fazladır [84].

Proteoglikanlar glukozaminoglikan (GAG) yan zincirlerinin bağlandığı çekirdek protein içerirler. Heparan sülfat proteoglikanlar için bu yan zincir heparan sülfattır (HS). Heparan sülfat GBM'nin elektriksel yükü ile oluşan permeabilitesini oluşturan negatif yüklere sahiptir. Elektriksel geçirgenlik dışında partikül büyüklüğü ile ilişkili permeabilitede de rol oynar. Heparan sülfat kollogen ve laminin gibi GBM'nin diğer komponentlerine de bağlanabilir [85-88].

Heparan sülfatın GBM'da glomerüler filtrasyon dışında ilave bir çok fonksiyonu vardır. Trombosit kökenli büyüme faktörü, temel fibroblast büyüme faktör-2 ve reseptörü, antitrombin-3, hepatosit büyüme faktörü, interferon- $\gamma$ , lipoprotein lipaz ve trombosit faktörü-4 gibi bir çok protein için saklama deposu görevi görür [89, 90]. Glomerüler bazal membranın endotelial yüzeyinde koagülasyonu önleyen antikoagülasyon özelliği bulunmaktadır [91]. Ayrıca mezengial hücre proliferasyonunu da inhibe eder [92]. İn-vitro sağlanan diyabet koşullarında glomerüler hücreler tarafından GAG sentezinde değişiklikler oluşturulduğu, anjiyotansin II'nin HS sentezini azalttığı gösterilmiştir. Deneysel koşullarda heparin –daha genel olarak GAG- diyabetik nefropatiden korunmada ve diyabetik nefropati tedavisinde etkili olmuştur [8]. Glukozaminoglikanların etkinliğinin sadece HSPG metabolizmasındaki

anormalliklerin düzeltilmesi ile sınırlı olmadığı aynı zamanda proteazlar ve TGF-beta kaskadı üzerinden de etkili olduğu gösterilmiştir [93]. Heparan sülfatın azalmış ekspresyonunun diyabetik nefropatiye sınırlı olmadığı ve nefropatisi olmayan diyabetik hastalarda da albuminin transkapiller kaçış oranının arttığı gösterilmiştir [94].

### **Hemodinamik faktörler**

#### ***Diyabetik Nefropati ve Hiperfiltrasyon:***

Erken dönem diyabetik nefropatinin çok sık karşılaşılan patolojik özelliklerinden biri olup glomerüler hipertrofi, mesengial genişleme ve glomerüler bazal membran kalınlaşması sonucu ortaya çıkar. Erken hemodinamik değişiklikler düşük afferent ve efferent arteriolar rezistans, artmış plazma akımı, orta derecede artmış glomerüler kapiller basınçtan meydana gelir ve bu değişiklikler glomerüler filtrasyon oranını artırır. Hiperfiltrasyon dönemi böbrek fonksiyonlarındaki ileri bozulmanın öncülüdür.

Diyabetin erken döneminde saptanan hiperfiltrasyonun patogenezinde kötü glisemik kontrolün rolü önemlidir. Hiperglisemi ile tetiklenen mekanizmalar;

- Hiperglisemik duruma bağlı gelişen plazma volum genişlemesine sekonder atriyal natriüretik faktör (ANP) sekresyonu ve Renin Anjiyotansin Aldosteron (RAAS) sistemi inhibisyonu ile afferent ve efferent arteriollerde direnç azalması ve plazma akımı ve glomeruler filtrasyon oranında artış
- Myoinozitol azalmasına bağlı efferent ve afferent arteriolar dirençte azalma ve plazma akımı ve glomeruler filtrasyon oranında artmış
- Proksimal sodyum geri emiliminde azalmaya bağlı hiperfiltrasyon.
- Proteinüride artışa bağlı TGF- $\beta$  aracılı plazma akımında ve glomerüler kapiller basınçta artış

olarak özetlenebilir [9].

#### ***Renin Anjiyotansin Sistemi:***

Diyabetik renal hasar ve renin anjiyotansin sistemi (RAS) arasındaki ilişki son yirmi yıldır ciddi araştırmalara konu olmaktadır. Renin anjiyotansin sisteminin, kan basıncı regülasyonunun ve plazma volum homeostazının sağlanmasındaki önemli etkileri dışında gerek sistemik gerekse de doku düzeyindeki etkileri ile diyabetik nefropati patogenezinde önemli rolü bulunmaktadır.

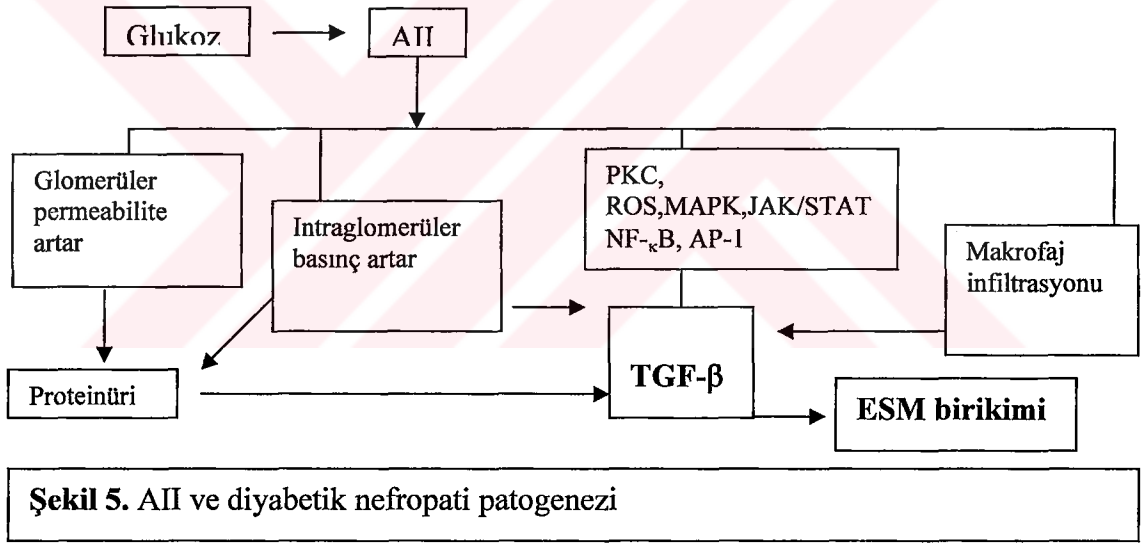
Anjiyotansin II (AII), anjiyotansinojenden, renin ve anjiyotansin dönüştürücü enzim (ADE) aracılığıyla iki basamakta oluşur. İnsanda tanımlanmış iki tip AII reseptörü bulunmaktadır [95].

İnsan mezengiyal hücre kültüründe glukozun konsantrasyon-bağımlı biçimde AII üretimini arttırdığı [96] ve glukozun proksimal tubuler hücrelerde de anjiyotansinojen mRNA'sını arttırdığı [97] saptanmıştır.

Glomeruloskleroz ve tubulointerstisyel fibroz gelişimine neden olan ESM birikimini tetikleyen TGF- $\beta$  ve VEBF'nin RAS ile etkileştiği bilinmektedir. In vitro şartlarda AII'nin proksimal tubuler hücrelerde, mezengiyal hücrelerde ve interstisyel fibroblastlarda TGF- $\beta$  ekspresyonunu arttırdığı gösterilmiştir [98-100]. İnsan çalışmalarında RAS'ın blokajı ile serum ve üriner TGF- $\beta$  düzeylerinde azalma gözlenmesi de bu ilişkiyi doğrulamaktadır [101, 102].

Anjiyotansin II'nin bir çok zararlı etkisi Anjiyotansin-1 reseptörü (AT1R) üzerinden ortaya çıkar. AT1R, PKC, ROS, JAK/STAT, NF- $\kappa$ B, MAPK ve AP-1 aktivasyonu ile diyabetik nefropati patogeneziinde rol oynar.

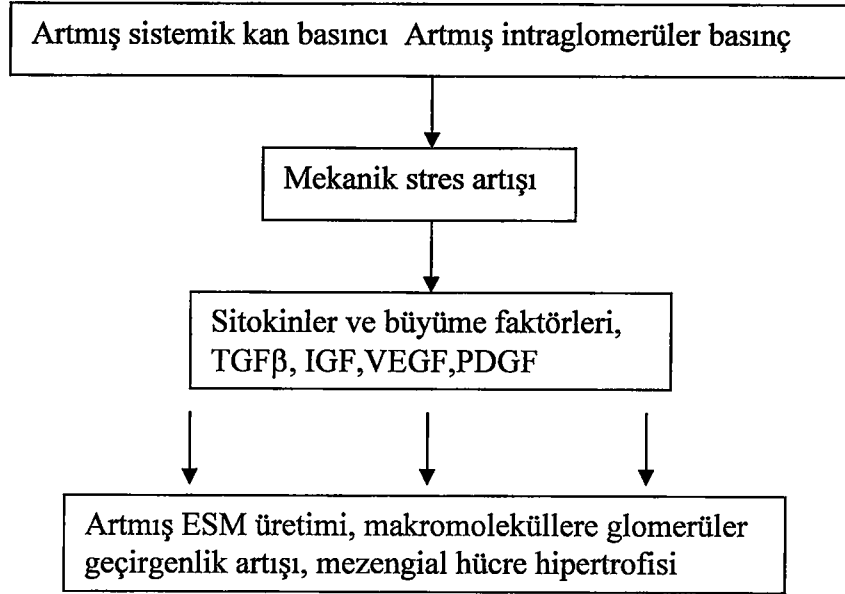
Hiperглиsemi, RAS aktivasyonu ve AII- TGF- $\beta$  ilişkisi Şekil 6'de özetlenmiştir.



Şekil 5. AII ve diyabetik nefropati patogenezi

### Hipertansiyon:

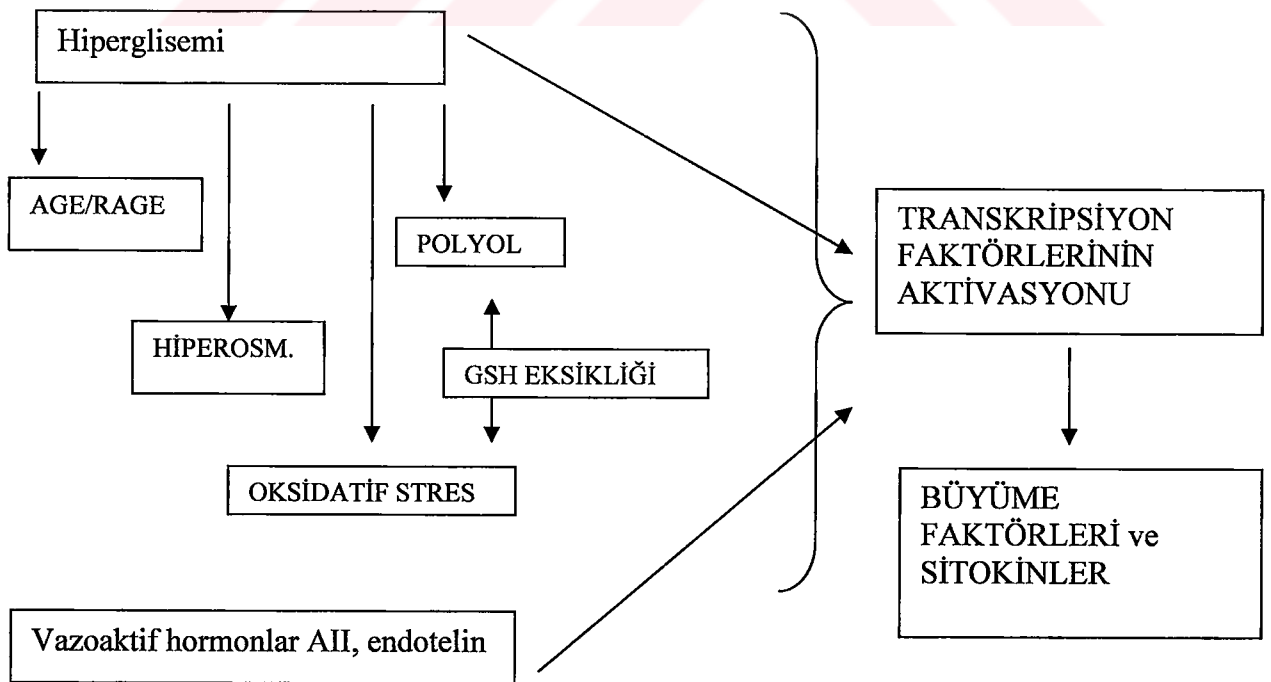
Hipertansiyon ve diyabetin metabolik sendromun komponentleri olarak birliktelikleri oldukça sık olup bu birlikteliğin diyabetik nefropati gelişimi ve progresyonunda önemli rolü vardır. Bir çok çalışmada kan basıncı kontrolünün diyabetik hastalarda renal komplikasyonların gelişmesini önlediği gösterilmiştir. JNC VII raporuna göre diyabetik hastalardaki kan basıncı hedefi 130/80 mm-Hg altında olmalıdır. Hipertansiyon ve diyabetik nefropati progresyon ilişkisi Şekil 6'de özetlenmiştir [103].



**Şekil 6.** Diabetik glomerülopati gelişimi ve hipertansiyon

### Ortak yol

Diabetik nefropati gelişiminden sorumlu gerek metabolik gerekse de hemodinamik faktörler ESM proteinlerinin glomerüler mezengiumda birikimine neden olurken belirli bir basamkadan sonra ortak patolojik yolağı kullanırlar. Bu ortak patolojik yol protein kinaz C (PKC), mitojen ile aktive olan protein kinaz (MAPK), ve nükleer faktör kappa B (NF $\kappa$ B) gibi hücre içi sinyal ileti moleküllerinden, TGF-beta ve PDGF gibi büyüme faktörlerinden ve IL-1 gibi sitokinlerden oluşur (Şekil 7).



**Şekil 7** Ortak yolak



### ***PKC sistemi:***

Protein Kinaz C (PKC), geniş substrat spesifisitesi olan, en az oniki izo-enzimden oluşan ve organizmada geniş dağılım alanı olan serin/treonin kinaz ailesidir. Diaçilgliserol PKC'nin ana regülatuar aktivatörüdür. Renal glomerülünün veya endotel hücrelerinin yüksek glukozu maruz kalması ile PKC aktivasyonu gerçekleştiği bilinmektedir PKC'nin birçok izo-formu içinde diyabetle ilişkisi en çok gösterilen PKC-β'dir [104].

PKC aktivasyonu, vasküler permeabilite, kontraktilite, hücre proliferasyonu, ESM protein sentezi, hormonlar ve büyüme faktörleri için sinyal transdüksiyon kaskadı regülasyonu ile ilişkilidir [105]. Diyabetik farelerde PKC-β'nin spesifik inhibisyonu ile mezengial genişleme ve glomerüler disfonksiyonun önlendiği gösterilmiştir [106].

### ***MAPK sistemi:***

Ekstrasellüler stimulus ile aktive olan serin/treonin spesifik kinazlardır. Üç ana gruptan oluşur; Ekstrasellüler sinyal ile regüle olan kinaz (ERK), c-Jun N-terminal kinazlar (JNK) ve p-38 kinazlar (p38 MAPK). Hücre büyümesi, farklılaşması ve ESM sentezi gibi diyabetik nefropati patogenezinin sorumlusu hücre içi sinyal iletiminden sorumludurlar. Yüksek miktarda glukozu maruziyet ile mezengial hücrelerde ERK ve p38 MAPK aktivasyonu olduğu [105] ve Tip 2 diyabet modeli oluşturulmuş farede, renal korteks ERK aktivitesinin nondiyabetik farelere göre belirgin yüksek olduğu [107] gösterilmiştir. Aktive protein-1'i (AP-1) aktive ederek TGF-beta ekspresyonuna neden olur MAPK sistemi PKC ve ROT aktivasyonu ile indüklenmektedir.

### ***NF-κB:***

İnflamatuar transkripsiyon faktörüdür. Bir çok sinyal tarafından (PKC, MAPK, Tümör nekroz faktör-alfa, ROS) tarafından indüklenir ve mezengial hücre aktivasyonu başta olmak üzere diyabetik nefropati ile ilişkili değişikliklerde rol oynar [108].

### ***JAK/STAT:***

Anjiyotansin II, IL-6, ve tirozin kinazları kullanan büyüme faktörleri tarafından aktive olur [109].

### ***SMAD'lar:***

Smad'lar, TGF-β süperaillesinden sinyal iletilicileri ve transkripsiyon faktörleridir. Yedi ayrı tipi bulunmaktadır. MAPK ve JAK/STAT gibi diğer intrasellüler yollarla da etkileşim içindedir [110]. Ratlarla yapılan çalışmalarla Smad2, Smad3 ve Smad4'ün TGF-β aracılı ESM ekspresyonundan sorumlu olduğu gösterilmiştir [111].

### **AP-1:**

Aktive protein-1, MAPK ve ROS tarafından indüklenen transkripsiyon faktörüdür [112].

### **Endotel disfonksiyonu**

Vasküler endotel, hemostazın, trombosit fonksiyonlarının, vasküler düz kas ve renal mezengium proliferasyonunun, mikrovasküler permeabilitenin ve damar tonusunun regülasyonunda rol oynar [104]. Endotel disfonksiyonunun diyabetik mikrovasküler komplikasyonların gelişiminde rol oynadığı çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir. Tip 2 diyabetiklerde mikroalbuminüri ile plazma Von Willebrand Faktör (vWF), trombomodülin, doku plazminojen aktivatör (t-PA) ve serum tip 4 kollogen arasında ilişki olduğu gösterilmiştir [104]. Endotel disfonksiyonunun normoalbuminürik tip 2 diyabetiklerde de bozuk olduğu bulunmuştur [113].

### **3.5.6 DİYABETİK NEFROPATİ ve MİKROALBUMİNÜRİ**

Diyabetik hastaların bir bölümünde üriner albumin atılımı (ÜAA), renal hasarlanmaya bağlı olarak, klinik persistan proteinüri ortaya çıkmadan yüksek olarak saptanır. Mikroalbuminüri, üriner albumin atılımının 20-200 µg/dak (30-300 mg/gün) olması durumudur. Erken diyabetik nefropati, minimum 1 ay maksimum 6 ay içinde incelenen 3 idrar örneğinin 2 tanesinde mikroalbuminüri saptanmasıdır. Belirgin diyabetik nefropati üriner albumin atılımının 200µg/dak (300 mg/gün) aşması olarak tanımlanır [114].

Mikroalbuminüri oluşumunda suçlanan faktörler ;

- Konvansiyonel risk faktörleri (hiperglisemi, yüksek kan basıncı)
- Kronik inflamasyon
- Endotel disfonksiyonu
- Ateroskleroz

şeklinde gruplandırılmaktadır [115].

Tip 1 diyabetiklerde yapılan çalışmalarda mikroalbuminürinin klinik diyabetik nefropati gelişimi için belirleyici olduğu ve normoalbuminürik hastalara göre belirgin böbrek hastalığına progresyon riskinde 20 kat artışa neden olduğu gösterilmiştir. Tip 2 diyabetiklerde mikroalbuminüri sadece renal hasarın değil aynı zamanda kardiyovasküler mortalitenin de önemli bir göstergesidir (Tablo 3).

Mikroalbuminüri sendromu bileşenleri,

- Artmış kan basıncı
- Aterojenik lipid profili
- Artmış plazma fibrinojen, PAI-1 ve TAFI
- Azalmış insülin duyarlılığı
- Artmış total vücut sodyumu
- Kan basıncında sodyum duyarlılığı
- Albuminin artmış trasnkapiller kaçıışı
- Azalmış bazal endotel bağımlı vazorelaksasyon
- Artmış sol ventriküler volum
- Diabetik retinopati
- Artmış diabetik nöropati prevalansı
- Artmış periferik vasküler hastalık prevalansı
- “Sessiz” iskemik kalp hastalığı

**Tablo 3.** Mikroalbuminüri Sendromu

Gerstein ve ark. HOPE çalışmasında dört yıl boyunca takip edilen Tip 2 diyabetik hastalarda albuminüri ile orantılı kardiyovasküler hastalık riski saptamışlardır. Bu çalışmada hastalardaki ÜAA mikroalbuminüri sınırına ulaşmamış da olsa, kardiyovasküler risk ile orantılı olarak bulunmuştur [116]. Spoelstra-de Man ve ark'nın çalışmasında mikroalbuminüriye progresyon hızı ile kardiyovasküler hastalığın seyir şiddeti ilişkili bulunmuş ve mikroalbuminürik döneme hızlı biçimde geçenlerde kardiyovasküler olayın daha ağır seyrettiği saptanmıştır [115]. UKPDS verilerinde, Tip 2 diyabetiklerde mikroalbuminüriye progresyon yıllık %2 olarak saptanmıştır [117]. Tip 2 diyabet öyküsü on yıl olanlarda mikroalbuminüriye progresyon oranı %25'tir. İtalya'da 1013 Tip 2 diyabetik hastanın 7 yıllık izleminin yapıldığı “Casale Monferatto” Çalışması'nda normoalbuminürik hastaların %2.6'sında ve mikroalbuminürik hastaların %5.4'ünde heryıl belirgin nefropatiye progresyon saptanmıştır [11]. Mikroalbuminürisi olan hastalarda belirgin nefropatiye progresyon riski normoalbuminürik hastalarla karşılaştırıldıklarında %42 artmış olarak saptanmıştır. Bu artışın hipertansiyondan, sistolik kan basıncından ve diyabet süresinden bağımsız olduğu gösterilmiştir. Belirgin nefropatiye progresyondaki diğer bağımsız değişkenler de A<sub>1c</sub>, HDL-kolesterol, apolipoprotein B ve fibrinojen olarak bulunmuştur.

### **3.5.7 DİYABETİK NEFROPATİDEN KORUNMA ve DİYABETİK NEFROPATİ TEDAVİSİ**

Diyabetik hastalardaki renal hasarın gelişiminden ve progresyonundan sorumlu faktörler [118],

- Kötü glisemik kontrol

- Sistemik hipertansiyon
- Mikroalbuminüri veya proteinüri
- Erken dönemde gelişen renal hipertrofi-hiperfiltrasyon
- Uzun diyabet süresi
- Genetik faktörler
- Lipid anormallikleri
- Sigara

olarak sınıflandırılabilir.

### **Glisemik kontrol**

Normoalbuminürik tip 2 diyabetiklerdeki mikroalbuminüri insidansına glisemik kontrolün etkinliğini (*primer koruma*) inceleyen çalışmalardan en önemli 2 tanesi UKPDS ve KUMAMOTO çalışmalarıdır. UKPDS’de 3402 hastanın 11 yıllık izlemi sonucunda standart tedavi ile  $A_{1c}$  düzeyleri ortalama % 7.9 olan grupta mikroalbuminüri gelişimi yıllık % 2.6 iken, yoğun tedavi ile  $A_{1c}$  düzeyleri ortalama % 7.0 olan grupta bu oran % 1.8 olarak saptanmıştır. Sıkı glisemik kontrolün sağladığı relatif risk azalmasının % 30, net risk azalmasının ise yıllık % 0.8 olduğu gösterilmiştir [119]. KUMAMOTO çalışmasında ise 55 hasta 8 yıl süre ile izlenmiş ve sıkı glisemik kontrol sağlanan grupta ( $A_{1c}$  ortalama %7.2) yıllık mikroalbuminüri insidansı %1.4 iken ortalama  $A_{1c}$  düzeyi % 9.4 olan grupta bu oran % 5.4 olarak saptanmıştır. Bu çalışmadaki relatif risk azalması %74 ve net risk azalması ise yıllık % 4 olarak ortaya çıkmıştır [120].

Mikroalbuminürik tip 1 diyabetik hastalarda sağlanan sıkı glisemik kontrolün klinik proteinüri insidansında azalmaya (*sekonder koruma*) neden olduğunu gösteren önemli çalışmalardan biri EDIC çalışmasıdır. Yoğun insülin tedavisi ile  $A_{1c}$ ’nin %8.2’den %7.9’a düşürülmesi ile klinik proteinüriye progresyon için relatif risk azalması %80, net risk azalması ise yılda % 6.6 olarak sağlanmıştır [121]. Tip 2 diyabetik hastalarda yapılan “Casale Monferatto” Çalışması’nda mikroalbuminürik dönemden belirgin nefropatiye progresyonda  $A_{1c}$ ’nin bağımsız belirleyici olduğu gösterilmiştir [11].

### **Kan basıncı kontrolü**

Diyabetik hastalardaki etkin antihipertansif tedavi diyabetik nefropati gelişim ve progresyonunda ve kardiyovasküler risklerin önlenmesinde rol oynar. Diyabetik hastalarda kan basıncının 130/80 mm-Hg altında tutulması hedeflenmektedir. Belirgin nefropatisi olan ve 1 gr/gün’den fazla üriner protein atılımı olan hastalarda hedef kan basıncı değeri 125/75 mm-Hg’dır. Kan basıncı kontrolü etkileri dışında RAAS blokajı aracılığı ile ACE-I ve AII

reseptör antagonistleri renal ve kardiyovasküler koruma sağlar. Tip 1 diyabetiklerde ACE-I ilk seçilecek ilaçlar iken, tip 2 diyabetiklerde mikroalbuminürinin progresyonunu önlenmesinde her iki grup da tercih edilebilir. Tip 2 diyabetiklerde AII reseptör antagonistleri overt nefropatili hastalarda daha iyi renal koruma sağlamaktadır [122].

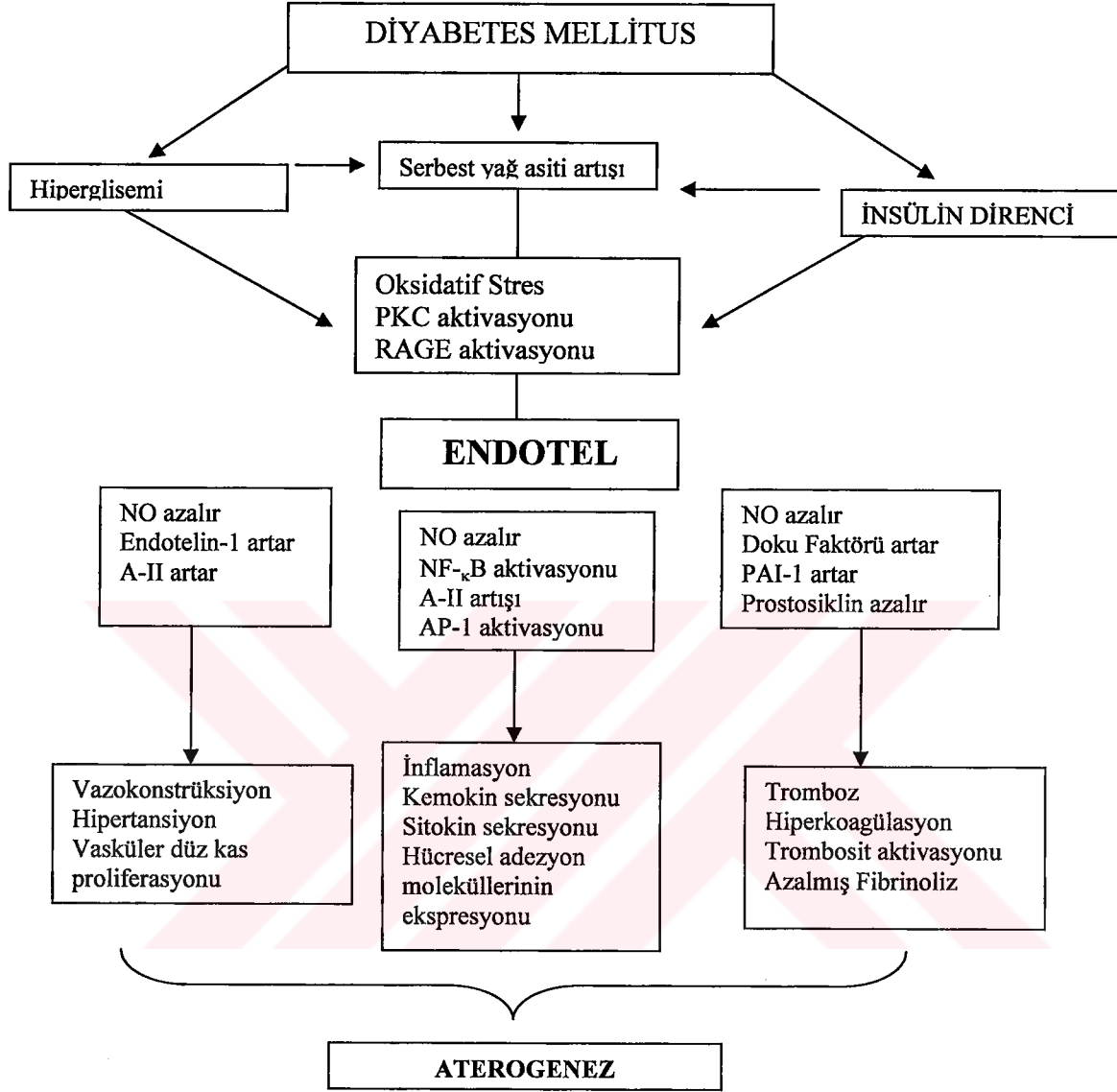
### **Hiperlipideminin önlenmesi**

Hiperkolesterolemi mikroalbuminürik ve proteinürik tip 1 ve tip 2 diyabetiklerde nefropati progresyonuna neden olabilir [123-125]. Hipolipidemik ajanlar bu hasta grubunda kardiyovasküler sisteme olumlu etkileri ile de yarar sağlarlar. Diyabetik nefropatinin progresyonunun önlenmesinde hipolipidemik ajanların rutin kullanımı için daha geniş ölçekli çalışmalar gerekmektedir.

### **3.6 DİYABETES MELLİTUS ve ENDOTEL DİSFONKSİYONU**

Vasküler endotel disfonksiyonu diyabetes mellitus, hipertansiyon ve kardiyovasküler hastalıkların patofizyolojisinde rol oynamaktadır. Diyabetik hastalarda gelişen endotel disfonksiyonun nedenleri ve endotel disfonksiyonunun ateroskleroz patofizyolojisindeki rolü Şekil 8'de özetlenmiştir [126].

Vasküler endotelyal hücreler sağlıklı insanda kardiyovasküler homeostazın sağlanmasında önemli rol oynarlar. Damar duvarı ve lümen arasında fiziksel bir bariyer görevinin yanı sıra endotel, trombosit agregasyonu, fibrinolizis, koagülasyon ve damar tonusu regülasyonundan sorumlu bir çok mediyatör sekrete eder. Endotelyal disfonksiyon terimi bu mediyatörlerin üretimindeki dengesizliği ifade etmektedir.



**Şekil 8** Tip 2 Diyabetes Mellitus, endotelial disfonksiyon ve aterogenez

### **3.7 TIP 2 DM İLE İLİŞKİLİ GLOMERÜLER HASARIN ve ENDOTEL DİSFONKSİYONUNUN GÖSTERGESİ OLARAK TGF- $\beta$ ve ENDOTELİN-1**

#### **3.7.1 DİYABETES MELLİTUS ve TGF- $\beta$**

Diyabetik hastalarda ortaya çıkan yapısal renal değişiklikler, glomerüller ve tubuloepitelyal hipertrofi, glomerüller ve tubuler bazal membran kalınlaşması ve mezengium ve interstisyumda progresif ESM proteinlerinin birikimini içerir. Son on yıl içindeki çalışmalar sonucunda TGF- $\beta$ 'nın renal hücreleri uyararak hipertrofi ve fazla miktarda ekstrasellüler matriks protein üretimini tetikleyen faktörler içinde önemlilerinden biri olduğu ortaya çıkmıştır [127].

#### **TGF- $\beta$**

Transforme eden büyüme faktörü-beta, ilk olarak normal rat hücrelerinin büyümesini indükleyen bir faktör olarak tanımlanmıştır. Memeliler üç homolog TGF- $\beta$  izoformu ekspres ederler (TGF- $\beta$  1, 2 ve 3). In vitro biyolojik aktiviteleri benzer olmakla beraber in vivo farklı biyolojik yanıtlara neden olurlar. TGF- $\beta$  1, fibrozisdeki rolü en belirgin olan izoformdur [128]. Transforme eden büyüme faktörü-beta 1, en belirgin olarak trombositlerin alfa granüllerinde, monosit ve makrofajlarda bulunur [129].

Transforme eden büyüme faktörü-beta, 112 aminoasitten oluşan bir protein olup birbirinin aynı iki polipeptid zincirinden oluşmuştur. Hücre içinde her bir monomer bir prepropeptide dönüşür. Postraslasyonel modifikasyona uğrayan prepropeptidden pro-TGF- $\beta$  meydana gelir. Hücre dışına sekrete edilen inaktif pro-TGF- $\beta$ 'nın N-terminal uçları proteolitik olarak uzaklaştırılır ve matür TGF- $\beta$  oluşur. Matür TGF- $\beta$ , matriks ve hücre yüzeyleri gibi etkinliğini göstereceği hedef dokulara kadar stabil kalmasını sağlayan latent proteinlerle kompleks oluşturmuş biçimde bulunur. Latent proteinlerden ayrılan TGF- $\beta$ , hücre yüzeyindeki tip1 ve tip2 serin/treonin kinaz reseptörleri ile etkileşir. Aktive olan kinaz, sinyal ileti molekülleri olan Smad2, Smad3 ve Smad4'ü fosforiller ve hücre çekirdeği içine sinyal iletimi sağlar [130].

#### **TGF- $\beta$ ve Tip 2 diyabetes mellitus**

Hipergliseminin TGF- $\beta$  ekspresyonunu arttırdığı gerek hayvan çalışmaları ve hücre kültür ortamında gerekse de insan çalışmalarında bir çok kez gösterilmiştir. Streptozotosin ile diyabetik hale getirilmiş ratlarda hipergliseminin 24.saatinde renal TGF- $\beta$  ekspresyonunun arttığı saptanmıştır [131]. Tip 2 DM benzeri diyabetik olan db/db farelerde 16 haftalık diyabet böbreklerde devamlı ve yüksek düzeyde TGF- $\beta$  ekspresyonuna neden olmuştur [132]. Bir çok

hücre kültür çalışmalarında da çeşitli renal hücrelerde (mezengial hücreler, podositler, proksimal tubuler hücreler) ortamda yüksek miktarda glukoz bulunması veya İGÜ varlığında TGF- $\beta$  ekspresyonunun arttığı gösterilmiştir [69, 133-135]. Pfeiffer ve ark. 44 tip 2 diyabetik hasta ve 28 sağlıklı kontrolü dahil ettikleri çalışmalarında TGF- $\beta$  1 düzeyinin diyabetiklerde sağlıklı kontrollere göre anlamlı yüksek ve A<sub>1c</sub> düzeyi ile de korele olduğunu göstermişlerdir [136]. Sharma ve ark. [137] elektif kardiyak kateterizasyon uygulanan 14 tip 2 diyabetik, 11 non-diyabetik hastada yaptıkları çalışmada, renal ven ve üriner TGF- $\beta$  1 düzeyinin tip 2 diyabetiklerde anlamlı yüksek olduğunu saptamışlardır. Bu bulgular ile tip 2 diyabetiklerde artmış net renal TGF- $\beta$  1 üretimi ile ilişkili olabileceğini belirtmişlerdir.

### **TGF- $\beta$ ve tip 2 diyabetes mellitus'ta renal etkilenme**

Hücre kültürü çalışmalarında yüksek glukoz konsantrasyonlarında böbrek proksimal tubuler hücrelerde, mezengial hücrelerde, epitelial ve endotelial hücrelerde ve fibroblastlardaki ESM birikimi ve hipertrofiye TGF- $\beta$ 'nın aracılık ettiği gösterilmiştir. Ayrıca hücre kültür ortamında glukoz konsantrasyonu yüksek değil iken ortama eklenen TGF- $\beta$  mezengial hücre ve intersitisyel fibroblastlarda kollogen matriks proteinlerinin artışına neden olmuştur [138].

Renal TGF- $\beta$  aktivitesininin, hiperglisemi, AGE dışında, de-novo diaçilgliserol sentezi ve buna bağlı PKC aktivasyonu, artmış hücre içi glukozamin üretimi ve AII, endotelinler gibi vazoaktif ajanlar tarafından da stimüle edildiği invitro ve invivo çalışmalar ile gösterilmiştir [138-141]. Intraglomerüler hipertansiyon ve sıvıların oluşturduğu shear stress artışının da endotelial hücrelerde TGF- $\beta$  üretimini arttırdığı gösterilmiştir [142].

Tip 2 diyabetes mellitus seyirinde böbreklerde gelişen hipertrofi ve prosklerotik değişikliklerle ilişkisi gösterilmiş major mediatör olan TGF- $\beta$ , tip 1 kollogen, tip 4 kollogen, fibronektin ve laminin gibi ESM proteinlerinin sentezini stimüle eder. Matriks proteazlarını inhibe ederek ve plazminojen aktivatör inhibitör-1-gibi proteaz inhibitörlerini aktive ederek matriks degradasyonunu azaltır. Bunlara ek olarak integrinler gibi hücre adezyon reseptörlerinin upregülasyonu ile hücre-matriks ilişkisini uyararak fibrozisi tetikler [127]. Ayrıca TGF- $\beta$ , hücre siklusunun normal regülasyonunu etkileyerek DNA replikasyonu olmadan protein sentezi olmasına ve dolayısıyla renal hücrelerde hipertrofiye neden olur [138].

Çeşitli derecelerde nefropatisi olan tip 2 diyabetik hastalarda yapılan çalışmalarda renal TGF- $\beta$  sisteminin diyabetik renal hastalık gelişiminde rol oynadığı gösterilmiştir. Yerleşmiş diyabetik nefropatide glomerülde ve tubulointerstisyumda her 3 TGF- $\beta$  izoformununun da artmış olduğu gösterilmiştir [143]. Hellminh ve ark. 12 normoglisemik ve 58



tip 2 diyabetik (23 tanesinde nefropati var) hastayı dahil ettikleri çalışmalarında dolaşımdaki aktif TGF- $\beta$ 1 düzeyinin nefropatisi olanlarda diğer iki gruba göre anlamlı yüksek olduğunu göstermişlerdir [144]. Önceden de belirtildiği gibi Sharma ve ark. 11 non-diyabetik, 14 tip 2 diyabetik elektif kardiyak kateterizasyon uygulanan hastada yaptıkları çalışmada tip 2 diyabetiklerde böbreklerde net olarak artmış TGF- $\beta$ 1 üretimi olduğunu saptamışlardır. Ayrıca TGF- $\beta$ 1 üretimi ile işlemin hemen öncesindeki kan şekeri düzeyi ve diyabet süresi arasında ilişki saptanmamıştır. Tip 2 diyabetiklerde nefropati gelişiminin ve progresyonunun önlenmesinde önemli etkileri olan ACE-inhibitörlerinin ve ATII antagonistlerinin TGF- $\beta$ 1 düzeyinde azalma sağladığı çeşitli çalışmalarda gösterilmiş [145, 146] ve bu bulgular TGF- $\beta$ 'nın diyabetik nefropati patogenezindeki önemli rolünü desteklemiştir. Tip 2 diyabetik hastalarda intrarenal TGF- $\beta$  artışını gösteren bir diğer çalışmada, overt nefropatisi ve mikroalbuminüri olan Tip 2 diyabetik hastalarda üriner TGF- $\beta$  sağlıklı kontrollere ve normoalbuminürik hastalara göre anlamlı yüksek bulunmuştur [147]. Bu çalışmada proteinüri olan grupla normoalbuminürik grubun  $A_{1c}$  düzeyleri arasında fark saptanmamıştır.

Glisemik kontrol ile TGF- $\beta$  aktivasyonu arasındaki ilişki tartışmalıdır. İnsan tip 1 diyabetini taklit eden streptozotosin ile diyabetik hale getirilmiş rat modelinde kan şekeri düşürmeye yetecek miktarda insulin tedavisi ile artmış TGF- $\beta$  ekspresyonunun baskılandığı gösterilmiştir [131]. Pfeiffer ve ark. 44 tip 2 diyabetik hasta ve 28 sağlıklı kontrolü dahil ettikleri çalışmalarında TGF- $\beta$ 1 düzeyinin diyabetiklerde sağlıklı kontrollere göre anlamlı yüksek ve  $A_{1c}$  düzeyi ile de korele olduğunu göstermişlerdir. P.De Muro ve ark. yakın zamandaki çalışmalarında yeni tanı almış tip 1 diyabetiklerde üriner TGF- $\beta$  ile belirgin biçimde korele olan parametrenin  $A_{1c}$  düzeyi olduğunu göstermişlerdir [148]. Glisemik kontrol ile TGF- $\beta$  düzeyleri arasında korelasyon olmadığını gösteren çalışmalar da mevcuttur [137, 149].

Diyabetik nefropatinin progresyonunu yavaşlatmak için anti-TGF- $\beta$  antikoru ile yapılan hayvan çalışmalarında ümit verici sonuçlar alınmıştır. Tip 2 DM'ye benzer diyabet modeli gelişen *db/db* farelerde 8 haftalık anti-TGF- $\beta$  antikoru tedavisi ile mezengial matriks genişlemesinin azaldığı ve böbrek fonksiyonlarının korunduğu saptanmıştır [78]. ACE inhibitör tedavisine eklenen anti-TGF- $\beta$  uygulaması ile ratlarda diyabetik nefropati progresyonunun önlendiği gösterilmiştir [150].

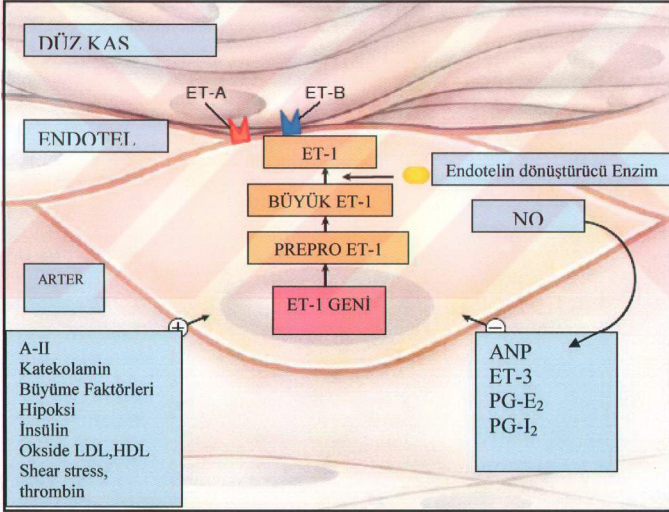
### 3.7.2 DİYABETES MELLİTUS ve ENDOTELİN-1

#### Endotelinler

İlk olarak 1985 yılında endotel hücreleri kökenli koroner vazokonstriksiyona neden olan peptidler olarak tanımlanmışlardır. Yirmibir aminoasitlik peptidler olan endotelin (ET) ailesinin 3 üyesi ET-1, ET-2 ve ET-3 bir çok dokuda üretilir ve vazomotor tonusunun, hücre proliferasyonunun ve hormon üretiminin modülatörleri olarak etki ederler [151].

Endotelin-1, vasküler düz kas hücrelerinde üretilir. Endotel hücrelerinde üretilen tek endotelindir. Sekretuar granüllerde depolanmaz ve hipoksi, inflamasyon, shear stres gibi uyaranlar ile sentezlenir. Santral sinir sistemindeki nöronlar ve astrositler, endometriyal hücreler, hepatositler, böbrek mezengial hücreleri, Sertoli hücreleri ve meme epitel hücreleri tarafından da üretilir.

Her endotelin büyük prekürsör-protein mRNA'sını kodlayan ayrı bir genin ürünüdür. İnsan endotelin-1 geni 6. kromozomda yerleşmiştir.



**Şekil 9.** Endotelial hücre ve ET-1 sekresyonu. ET-A, ET-B (endotelin reseptörleri), ANP (atriyal natriüretik peptid), NO (nitrik oksit)

Sentez için endotel hücrelerine uygun stimulus geldikten sonra oluşan preproendotelin-1 prohormon olan büyük ET-1'e dönüşür. Büyük ET-1, ET-1'in yüzde biri etkinliğe sahiptir ve plazmaya sekrete edilir. Endotelin dönüştürücü enzim, büyük ET-1'i ET-1'e dönüştürür [3].

Tüm endotelinler iki tip reseptöre bağlanarak etki ederler. Endotelin reseptörü A ve B (ET-A, ET-B), guanin-nükleotid bağlayan (G) proteinlerle ilişkili reseptör süper ailesindedir. Endotelin A reseptörleri belirgin olarak vasküler düz kas hücreleri ve kardiyak miyositlerde eksprese edilir. Bu reseptörler, ET-1'in vazokonstriktör etkisini yürütürler. Vazokonstriksiyon, fosfolipaz C, inozitol 1,4,5-trifosfat ve diaçilgliserol yolağının aktivasyonu ile gerçekleşir. Endotelin B reseptörleri predominant olarak endotelial hücreler üzerinde ve daha az olarak vasküler düz kas hücrelerinde eksprese edilir [152]. Endotelin B reseptörleri vasküler düz kas üzerinde vazokonstriksiyona neden olurken, endotel hücresinde nitrik oksit üzerinden vazodilatasyona neden olur [153-155]. Endotelin-1'in diğer etkileri Tablo 4'de özetlenmiştir [130, 156] [157].

Sempatik sinir sistemi aktivasyonu, Renin-anjiyotensin sisteminin aktivasyonu
Düz kas hücre mitogenezinde aktivasyon
Vasküler, mezengial ve kardiyak kas dokuda hipertrofi
Lökosit adezyonu, Monosit kemotaksisi, Fibrozis stimülasyonu
Kalp kasında pozitif inotropi

**Tablo 4** ET-1'in diğer etkileri.

Endotelin-1 üretimini etkileyen faktörler Tablo 5'de özetlenmiştir [158]

ET-1'i ARTTIRAN FAKTÖRLER	ET-1'i AZALTAN FAKTÖRLER
Hiperglisemi	Atriyal natriüretik peptid
İnsülin	Brain natriüretik peptid
ROT	Heparin
TGF-BETA	AT-II antagonisti
A-II	ACE-İnhibitörü
Okside LDL	cGMP
Tromboksan A <sub>2</sub>	cAMP
Vazopressin	
Trombin, TNF, IL-1	
Trombosit kökenli büyüme faktörü	
Siklosporin A, FK-506	

**Tablo 5.** ET-1 üretimini etkileyen faktörler

## Endotelin-1 ve Tip 2 Diyabetes Mellitus

Endotelinlerin 1980'li yılların ortalarındaki keşfinden sonra, mikro ve makroanjyopati ile seyreden sistemik hastalıklardaki ET metabolizması araştırılmaya başlanmıştır. Takahashi ve ark. 100 diyabetik hasta ve 19 sağlıklı kontrolü dahil ettikleri çalışmalarında plazma immunreaktif –ET konsantrasyonunun diyabetiklerde sağlıklı kontrollere göre anlamlı yüksek olduğunu saptamışlardır [159]. Diyabetiklerde ET düzeylerinde artışı indükleyen en önemli metabolik değişiklikler hiperglisemi ve –mevcut ise- hiperinsülinemidir. Sığır retinal kapiller endotel hücrelerinin kullanıldığı hücre kültür çalışmalarında yüksek glukoz konsantrasyonunun protein kinaz C yolağı üzerinden ET-1 ekspresyonunu arttırdığı bulunmuştur [160]. Benzer hücre kültür çalışmalarında, ileri glukozilasyon ürünlerinin tetiklediği NF- $\kappa$ B'nin ET-1 transkripsiyonunu arttırdığı saptanmıştır [161]. Caballero ve ark. 1.derece akrabalarında Tip 2 diyabet olan sağlıklı kişiler ve bozulmuş glukoz toleransı olan ve HOMA indeksine göre relatif hiperinsülinemik saptanan kişilerde plazma ET-1 düzeylerinin aile öyküsü olmayan sağlıklı kontrollere göre anlamlı yüksek olduğunu göstermişlerdir [4]. Wollesen ve ark. 40 tip 2 diyabetik hastadaki hiperinsülinemi düzeyinin ve metabolik sendrom ile ilişkili olan fibrinojen ve ürik düzeylerinin plazma ET-1 düzeyi ile ilişkili olduğunu göstermişlerdir [5]. Piatti ve ark. 50 tip 2 diyabetik ve insülin rezistans sendromunun metabolik karakteristiklerini taşıyan hasta, 50 tip 2 diyabetik ve İRS kriterleri olmayan hasta ve 100 sağlıklı kontrolden oluşan populasyonda ET-1 düzeyinin İRS kriterleri olan grupta diğer iki gruba göre anlamlı yüksek olduğunu göstermişlerdir [6]. İnsülin rezistansı ve hiperinsülinemiye bağlı ET-1 artışlarını gösteren çalışmalar dışında, ET-1'in de insülinin vasküler düz kas üzerindeki fonksiyonlarını etkileyerek glukoz kullanımını ve NO üretimini azalttığını düşündüren çalışmalar da vardır [7].

Dolaşımdaki endotelinlerin çok önemli bir kısmını oluşturan ET-1'in plazma konsantrasyonlarındaki artışlar endotelial hücreler tarafından aşırı üretimine ve fazla miktarın dolaşıma geçişine bağlıdır. Diyabetik hastalarda plazma ET-1 düzeylerindeki artışın mekanizmasını açıklayan yeni bir çalışmada glukoz konsantrasyonu yüksek kültür ortamında hibrid endotel hücreleri ve insan umbilikal ven endotel hücrelerinde Endotelin dönüştürücü enzim-1'in ekspresyonunun arttığı saptanmıştır [162].

Tip 2 diyabet ve ET-1 metabolizması araştırılırken diyabetle ilgili birçok parametrenin de ET-1 ile olan ilişkisi hakkında veriler elde edilmiştir. Tip 2 diyabetiklerde ET-1 ve A<sub>1c</sub> düzeyi ilişkisi hakkında çelişkili sonuçlar mevcuttur. Bu iki parametre arasında korelasyon olduğunu gösteren çalışmaların yanısıra [163, 164], herhangi bir ilişki saptamayan çalışmalar

da bulunmaktadır [15]. Obezitenin ve dislipideminin ET-1 düzeyi ile korele olduğu gösterilmiştir [14, 165].

### **Tip 2 diyabetes mellitus, kardiyovasküler etkilenme ve Endotelin-1**

Tip 2 diyabetik hastalarda anormal endotelial fonksiyon ve anormal endotelial aktivasyon olduğu bilinmektedir. Endotel kökenli vazodilatörlere yetersiz vasküler yanıt olarak tanımlanan endotel disfonksiyonu aterogenezi hızlandırmaktadır [14]. Endotelial disfonksiyonun mekanizmaları Şekil 11'de özetlenmiştir.

Tip 2 diyabetik hastalarda kardiyovasküler sistem hastalıklarına yatkınlık ve endotelinler arasındaki ilişki bir çok çalışmada incelenmiştir.

İnsan kardiyak ventrikül hücrelerinin 48 saat hiperglisemik ortamda tutulması ardından oluşturulan iskemi-reperfüzyon sonrası hasar normoglisemik ortamdaki hücrelerde gözlenen hasardan daha abartılı olarak saptanmıştır. Endotelin-1 düzeyleri hiperglisemik ortamda tutulan ventrikül hücrelerinde daha yüksek olarak bulunmuştur. Endotelin-A reseptör antagonistlerinin kullanılması ile de hücrelerin iskemi-reperfüzyon hasarından korunduğu saptanmıştır [166]. Chen ve ark. streptozotosin ile diyabetik hale getirilen ratlarda 6.ayda ortaya çıkan miyokardiyal hücre ölümü ve miyokarddaki fokal skar gelişiminin ET-1'in, ET-A ve ET-B'nin artmış ekspresyonuna bağlı olduğunu göstermişlerdir. Endotelin reseptör antagonistlerinin kullanılmasıyla miyokardiyal ESM protein artışı, miyokardiyal skar oluşumu ve artmış apoptoz önlenmiştir [167].

Diyabetik hayvan modellerinde ET-1'in, vasküler düz kas hücresi üzerindeki ET-A reseptörü aracılığıyla aortada potent ve devamlı kontraksiyona neden olduğu gözlenmiştir [157]. Wu ve ark. hiperinsülinemik, insülin rezistan obez Zucker ratlarda ET-1'in plazma düzeylerinin normal ratlara göre farklılık göstermediğini ancak torasik aorta ve mezenterik arterlerde ET-A ve ET-B reseptörlerinin normal ratlara göre belirgin arttığını göstermişlerdir [168].

Mather ve ark. [169] 8 normal kilolu, 12 obez ve 8 tip 2 diyabetik hastada endotelin ve endotelial disfonksiyon ilişkisini saptamak için yaptıkları çalışmada şu sonuçlara varmışlardır.

- ET-1 düzeyi istatistiksel olarak anlamlı olmasa da (p:0.15) tip2 diyabetiklerde en yüksek normal kilolularda en düşük olarak bulunmuştur
- ET-A reseptör antagonizması ile obezlerde ve tip2 diyabetiklerde bacak vasküler direnci belirgin azalmıştır. Bu yanıtın prediksyonunda bağımsız değişken BMI olarak saptanmıştır

- Klasik olarak Metakoline vasküler yanıt ile değerlendirilen endotel-bağımlı vazodilatasyon obezlerde ve tip 2 diyabetiklerde azalmıştır. ET-A reseptör blokajı ile bu defekt gerilemiştir.
- ET-A blokajı ile tip 2 diyabetiklerde ve obezlerde – diyabetiklerdeki defekt tam olarak düzelmese de- Nitrik oksit akımı artmıştır.

Endotelin-1'in hipertansiyon etyolojisindeki rolü net değilse de ateroskleroz gelişimindeki önemi gösterilmiştir. Aterosklerotik insan arterlerinde up-regüle olmuş ET-1 ekspresyonu saptanmıştır [170]. Hipertansiyonu ve nefropatisi olmayan tip 2 diyabetiklerin dahil edildiği bir çalışmada hastalar; karotis intima media kalınlığı (KİMK)'e göre aterosklerozu olmayanlar (D<sub>1</sub>), KİMK'e göre erken aterosklerozu olanlar (D<sub>2</sub>) ve makroanjyopatisi olanlar (D<sub>3</sub>) olarak ayrılmıştır [171]. Plazma endotelin düzeyleri D<sub>2</sub> ve D<sub>3</sub> gruplarında sağlıklı kontrollere ve D<sub>1</sub> grubuna göre anlamlı yüksek olarak saptanmıştır. Marano ve ark. ET reseptör blokajı ile tavşan karotis kollaterallerindeki neo-intima gelişimini önlemiştir [172]. Apolipoprotein E-eksik farelerde ET-A reseptör blokajı ile ateroskleroz plak oluşumu plazma kolesterolü ve kan basıncından bağımsız olarak azaltılmıştır [173].

### **Tip 2 diyabetes mellitus'ta renal etkilenme ve Endotelin-1**

Potent bir vazokonstriktör olan ET-1'in *invivo* profibrotik etkinliği kanıtlanmış ve diyabetik nefropati patogenezindeki rolü gösterilmiştir.

Endotelin-1 böbreklerde esas olarak tubuler transepitelyal hücrelerde ve mezengial hücrelerde üretilir [174]. Tubuler epitele aşırı protein yükü ulaştığı durumlarda yani diyabetik olsun olmasın proteinürik nefropatilerde ET-1'in sentezi ve salınımı artar [175]. Endotelin-1 hücre proliferasyonunu ve ESM protein sentezini uyarır [174]. Renal tubuler hücrelerde üretilen ET-1 interstisyuma sekrete edilir ve renal interstisyel fibrozise neden olarak diyabetik nefropatinin gelişimine katkıda bulunur [176].

Endotelin-1'i böbrekler dahil olmak üzere çeşitli organlarında fazla eksprese eden transgenik farelerde kan basıncı normal seyrederken glomerüloskleroz ve interstisyel fibroz gelişmiştir [177]. Glogowski ve ark. yüksek glukoz konsantrasyonu oluşturulan mezengial hücre ortamında bazal MAPK ve ET-1 aracılı MAPK aktivitesinin belirgin arttığını göstermişlerdir [178]. Alloxan ile diyabetik hale getirilmiş tavşanlarda yapılan bir çalışmada diyabetin 6. ayında tavşanların böbreklerinde korteks ve medullada ET-A ve ET-B reseptör bağlanma alanlarının arttığı saptanmıştır [179]. Hargrove ve ark. streptozotosin ile diyabetik hale getirilen farelerin böbreklerinde ET-1 gen ekspresyonunun glukoz ile arttığını ve yüksek glukoz konsantrasyonlarının rat mezengial hücre kültüründe ET-1 ekspresyonunu indüklediğini göstermişlerdir [180]. Tip 2 diyabetin hayvan modelinin geliştiği OLETF

ratlarda yapılan bir çalışmada üriner ET-1 atılımı kontrol ratlara göre anlamlı yüksek olarak bulunmuştur. Ratlara uygulanan ET-A reseptör antagonisti ile albuminürinin, üriner heparan sülfat ve tip IV kollogen atılımının azaldığı saptanmıştır [174]. Yang ve ark. diyabetik Wistar ratlarda kan ve idrar ET-1 düzeylerini yüksek olarak saptamışlardır [181]. Streptozotosin ile diyabetik hale getirilmiş ratlarda serum ET-1 düzeyinin non-diyabetik ratlara göre yüksek olduğu (8.69±3.15 pg/ml ve 5.02±3.01 pg/ml) ve enalapril ile 4 haftalık tedaviden sonra serum ET-1 düzeylerinde anlamlı azalma olduğu gösterilmiştir [182].

Diyabetik nefropati ve ET-1 ilişkisi hakkında birçok insan çalışması yapılmıştır. Shin ve ark. 50 normoalbuminürik, 13 albuminürik, 10 böbrek yetmezliği olan tip 2 diyabetik hasta ve 14 sağlıklı kontrolde plazma ET-1 düzeylerinin (ET-1 benzeri immunreaktivite çalışılmış) böbrek yetmezliği grubunda anlamlı olarak yüksek ve serum kreatinin değerleri ile korele olduğunu göstermişlerdir. Bu çalışmada istatistiksel olarak anlamlı bulunmasa da normoalbuminürik hastaların üriner ET-1 benzeri immunreaktivite düzeyin sağlıklı kontrollerden yüksek olarak saptanmıştır (32.2±2.2pmol/gün ve 27.0 ±1.1 pmol/gün) [183]. Shin ve ark. diğer bir çalışmada 42 yeni tanı tip 2 diyabetik hasta ve 38 sağlıklı kontrolde plazma ET-1 düzeyleri arasında anlamlı fark olmadığını ancak diyabetiklerdeki üriner ET-1 miktarının kontrollere göre anlamlı yüksek olduğunu göstermişlerdir. Hastaların üriner ET-1 düzeyi glisemik kontrolün sağlanması ile azalmıştır [184]. Shin ve ark. bu iki çalışmada mikrovasküler komplikasyonu olmayan tip2 diyabetiklerdeki plazma ET-1 düzeyinin sağlıklı kontrollere göre yüksek ancak istatistiksel anlamlı olmadığını göstermişlerdir. De Mattia ve ark. tip 2 diyabetik ve normotansif 9'u mikroalbuminürik ve 18'i normoalbuminürik hasta ve 12 sağlıklı kontrolü dahil ettikleri çalışmalarında normoalbuminürik hastalardaki plazma ET-1 düzeyinin sağlıklı kontrollerden anlamlı olarak yüksek olduğunu saptamışlar ve sonuçları normoalbuminürik hastalarda erken endotelial aktivasyon ve subklinik renal hasarın bulguları olarak yorumlamışlardır [185]. Sonraki yıllarda De Mattia ve ark.'ın çalışması ile benzer sonuçlar diğer araştırmacılar tarafından da bulunmuştur. Sanchez ve ark. 44 normoalbuminürik, normotansif tip 2 diyabetik hastadaki ET-1 düzeyini sağlıklı kontrollerden anlamlı olarak yüksek bulmuşlardır (11.32±6.76 pg/ml ve 7.72±0.50 pg/ml) [186]. Seligman ve ark. normotansif, normoalbuminürik tip 2 diyabetiklerin dislipidemik altgrubunda plazma ET-1 düzeylerinin sağlıklı kontrollere göre anlamlı yüksek olduğunu göstermişlerdir [165]. Bruno ve ark. normotansif, mikroalbuminürik tip 2 diyabetiklerde plazma ET-1 düzeyinin sağlıklı kontrollere göre anlamlı yüksek olduğunu ve albumin atılım oranı ile plazma ET-1 düzeyinin korele olduğunu saptamışlar ve mikroalbuminüri gelişiminde ET-1'in potansiyel rolünü ortaya koymuşlardır [187]. Tip 2 diyabetik hastalardaki mikroanjyopati ve ET-1 ilişkisini

yansıtan bir çalışmada plazma ET-1 düzeyinin mikrovasküler komplikasyonu olmayan hastalarda sağlıklı kontrollere göre yüksek olduğu ve nefropati, nöropati veya retinopatiden en aza bir tanesi olan hastalardaki ET-1 düzeyinin ise komplikasyon olmayan gruba göre anlamlı yüksek olduğu saptanmıştır. Bu çalışmada artmış plazma ET-1 düzeyi ile ilişkili bulunan diğer parametreler hipertansiyon, hastalık süresinin 10 yıldan uzun olması, 1.derece akrabalarda tip 2 diyabet olmasıdır [188].

### **3.7.3 KOMPLİKE OLMAYAN TİP 2 DİYABETTE RENAL ETKİLENME ve ENDOTELYAL AKTİVASYONUN KANITLARI**

Diyabetes mellitus seyrinde oldukça erken dönemde glomerülde morfolojik değişiklikler saptanmaktadır. Glomerüller epitelin (podosit), erken dönemde hasarlandığını gösteren çalışmalar mevcuttur. Pagtalunan ve ark. tip 2 diyabetik Pima yerlilerinde yaptıkları çalışmaya 10 erken diyabetik, 17 mikroalbuminürik, 12 normoalbuminürik (mikroalbuminürik olan grupla benzer hastalık süresine sahip) ve 12 klinik nefropatisi olan hastayı dahil etmişlerdir. Bu çalışmada glomerüller bazal membran kalınlığı mikroalbuminürik ve normoalbuminürik grupta benzer ve erken diyabetiklere göre anlamlı artmış olarak saptanmıştır [10]. Casale Monferrato çalışması verilerine göre normoalbuminürik tip 2 diyabetiklerin her yıl %2.6'sının overt nefropatiye progresyon göstermesi [11] mikroalbuminüri dönemi öncesinde de renal hasarlanmanın başladığını düşündürmektedir. Normoalbuminürik tip 2 diyabetiklerde sıkı glisemik kontrol ve/veya ACE-inhibitörü kullanımı ile mikroalbuminüriye progresyonun yavaşladığının gösterilmesi de [119, 120] diyabetik nefropati progresyonunda mikroalbuminüri öncesi dönemin önemini yansıtmaktadır. Diyabetik nefropati gelişiminde ve progresyonunda suçlanan TGF- $\beta$  ve ET-1'in normoalbuminürik tip 2 diyabetiklerde yüksek saptanması [14, 189] mikroalbuminürik dönem öncesinde de bu hastalarda erken renal etkilene olduğunu düşündürmektedir.

Bilinen mikrovasküler komplikasyonu olmayan tip 2 diyabetiklerde ve bozulmuş glukoz toleransı olan kişilerde endotelial aktivasyon ve disfonksiyon ve yüksek plazma ET-1 düzeyleri bir çok çalışmada gösterilmiştir [14, 15, 94]. Bu konuyla ilgili yakın zamanda yapılmış olan çalışmada Yu ve ark. iyi glisemik kontrolü olan, normotansif, obezite ve dislipidemisi olmayan ve koroner arter hastalığı olmayan 12 mikroalbuminürik tip 2 diyabetik 12 normoalbuminürik tip 2 diyabetik hastada ve 12 sağlıklı kontrolde endotel disfonksiyon parametrelerini çalışmışlar ve normoalbuminürik grupta mikroalbuminürik hastalardaki kadar olmasa da sağlıklı kontrollere göre endotelial disfonksiyon bulguları saptamışlardır.

Bu çalışmada,

- Plazma PAI-1 ve vWF NA grupta sağlıklı kontrollerden yüksek,



- Brakial arter vasküler fonksiyon göstergesi olarak kullanılan akım ilişkili dilatasyon yaş, BMI ve bel kalça oranı düzeldikten sonra NA grubunda sağlıklı kontrollere göre anlamlı düşük olarak saptanmıştır.

### **3.8 TİP 2 DİYABET TEDAVİSİNDE İNSÜLİN DUYARLILIĞINI ARTTIRAN İLAÇLAR**

#### **3.8.1 METFORMİN**

##### **Genel Bilgiler**

Avrupa’da 1960’lı yılların başından itibaren kullanılmasına rağmen Amerika Birleşik Devletleri’nde 1995 yılında kullanım onayı almıştır. İnsülin direncini azaltır ve ayrıca glisemik kontrolden bağımsız olarak vasküler hastalık gelişiminden sorumlu faktörler üzerine olumlu etkiler sağlar.

Metformin, biguanidler ailesinin üyesidir. Biguanidler, *Galega officinalis* (Fransız Leylağı) bitkisinde bulunan guanidinin deriveleridir. Fenformin ve buformin diğer biguanidler olup laktik asidoz etkileri nedeni ile kullanılmamaktadırlar.

##### **Farmakokinetik**

Metformin’in önemli farmakokinetik özellikleri Tablo 6’da özetlenmiştir [190].

<b>PARAMETRE</b>	<b>ÖZELLİK</b>
BİYOYARARLANIM	%50-60 ince barsaklardan emilir Standart formülasyonun MPK zamanı: 0.9-2.6 saat
PLAZMA ELEMINASYON YARI ÖMRÜ	Yaklaşık 6 saat. Plazma proteinlerine bağlanma oranı göz ardı edilecek kadar az.
METABOLİZMA	Ölçülebilecek kadar metabolize olmaz
ELEMINASYON	%90 idrar ile atılır
DOKU DAĞILIMI	Tükürük bezlerinde ve intestinal duvarda en yüksek olmak üzere böbreklerde ve karaciğerde de yüksek konsantrasyona ulaşır. Diğer dokularun çoğunda plazma konsantrasyonuna yakın dağılım gösterir

**Tablo 6** Metformin’in önemli farmakokinetik özellikleri. MPK (Maksimal plazma konsantrasyonu)

## Klinik Kullanım

Metformin kullanımını ile ilgili önemli klinik noktalar Tablo 7’de özetlenmiştir.

<b>ENDİKASYONLAR</b>	Tip 2 DM’de diyet ve egzersize rağmen glisemik kontrolü iyi olmayanlarda monoterapide veya OAD veya insülin ile kombine tedavide kullanılır.
<b>KULLANIM</b>	Standart 500, 850, 1000 mg standart tabletler Öğünlerle birlikte kullanılır Maksimal doz 2550 mg/Gün
<b>KONTRAENDİKASYONLAR</b>	Renal, hepatik hastalık Kardiyak, respiratuar yetersizlik Hipoksi, ciddi enfeksiyon, alkol kötüye kullanımı, laktik asidoz öyküsü, gebelik IV radyopak kullanımı varsa geçici olarak ilaç kesilmeli
<b>YAN ETKİLER</b>	GIS yakınmaları, ağızda metalik tad, B12 vitamini ve folik asit emiliminde azalma
<b>NADİR REAKSİYONLAR</b>	Kombinasyon tedavilerinde veya alkol kötüye kullanımı varsa hipoglisemi Kontraendikasyonu olanlarda kullanımında laktik asidoz
<b>DİKKAT EDİLECEK NOKTALAR</b>	Periyodik Hemoglobin, kreatinin takibi Simetidin tedavisi ile olası etkileşim

**Tablo 7.** Metformin kullanımını ile ilgili önemli noktalar.

### **Anti-hiperglisemik etkinlik**

Metformin tek başına kullanıldığında belirgin hipoglisemiye neden olmadığı için hipoglisemik değil antihiperglisemik ilaç olarak kabul edilmektedir.

Metformin insülin sekresyonuna neden olmaz ancak etki gösterebilmesi için insülin varlığı gerekmektedir. En önemli etkisi hepatik glukoz çıkışını baskılamasıdır. Metformin glukoneogenezi 0.6 mg/kg/dakika hızıyla azaltır ki bu hepatik glukoz çıkışında %75 azalma sağlar [191]. İzole edilmiş hepatositlerde insülinin glukoneogenez inhibisyon etkisini uyardığı ve glukagonun glukoneogenez stimülasyonu etkisini inhibe ettiği gösterilmiştir. Ayrıca hepatositlerde lipolizi artırır [192]. İskelet kasında insülin aracılı glukoz alımı ve kullanımı metformin ile artar. Bu etkileri non-oksidatif glukoz kullanımını ve glukojen sentezini artırarak sağlar. Metformin insülin-duyarlı hücre membran glukoz transporterleri GLUT-1 ve GLUT-4'ün aktivitesini artırarak glukojen sentezinin artışı sağlar. Metformin ek olarak glukozun oksidasyonunu artırır, yağ dokuda glukoz depolanmasını artırır. Yağ asidi oksidasyonunu insülinin bağımsız olarak baskılar ve hipertrigliseridemiye önler. Bu şekilde glukoneogenezin enerji kaynaklarını azaltarak glukoz-yağ asidi (Randle) siklusunu aktifler. Metformin intestinal glukoz emilimini de azaltır [193].

### **Glisemik olmayan etkiler**

Antihiperglisemik etkilerine ek olarak metformin'in insülin direnci sendromu komponentleri üzerine de etkileri vardır (Tablo 8).

<b><u>İRS komponenti</u></b>	<b><u>Metformin'in etkisi</u></b>	<b><u>Referans Numarası</u></b>
Dislipidemi	Trigliserid düzeyinde %50 azalma Total kolesterolde %10 azalma HDL-kolesterolde %17 artış LDL-kolesterolde %25 azalma Serbest yağ asiti miktarında azalma	[194]
Prokoagulan durum	PAI-1, vWF ve Fibrinojen de azalma	[17, 195] [16]
İnsülin direnci	İnsülin rezistansını azaltır (hepatik glukoz üretimi baskılanır, kas dokuya glukoz alımı artar)	[191]
Hiperinsülinemi	Açlık plazma insülininde azalma	[191]
Abdominal obezite	Kilo alımında ve vücut ağırlığında azalma	[196]
Bozulmuş Glukoz Toleransı Tip 2 DM	Tip 2 DM'ye progresyonda azama Glisemik kontrolde iyileşme	[191]
Hipertansiyon	Etkinliği gösterilmemiş	[191]

**Tablo 8** Metformin'in İRS üzerine etkileri

### **Metformin ve endotel disfonksiyonu**

İnsülin direnci sendromunun komponentlerinden biri olan endotel disfonksiyonuna metformin tedavisinin etkileri ile ilgili yapılmış bazı çalışmalar Tablo 9'da özetlenmiştir.

<b>OTÖR, YIL</b>	<b>SONUÇLAR</b>	<b>REF. NO.</b>
Charles, MA 1998	Metformin tedavisi ile endotel kökenli vWF ve tPA da azalma	[16]
Cefalu, WT 2002	Metformin tedavisi ile plazma PAI-1'de azalma	[17]
Katakam,P 2000	İR mevcut ratlarda metabolik bozuklukları düzeltme etkisinden bağımsız Ach-aracılı relaksasyonda düzelme	[197]
Mather, KJ 2000	Tip 2 Diyabetik insanlarda 3 aylık metformin tedavisi ile insülin direncinde gerileme ve Ach-aracılı akımda iyileşme Endotelyal yanı ile glisemik kontrol arasında ilişki yok	[18]
Caballero,E 2004	Bozulmuş glukoz toleransı (BGT) olan insanlarda Metformin tedavisi ile vücut ağırlığı, açlık plazma glukozu, sICAM, sVCAM ve vWF düzeyinde sağlıklı kontrollere ve tedavi almayan BGT'lilere göre azalma. TNF-alfa ve CRP gibi inflamatuvar parametrelere etki yok	[198]
Abbasi,F 2004	Metformin tedavisi ile sVCAM düzeyinde azalma	[199]

**Tablo 9** Metformin'in Endotelyal disfonksiyon üzerine etkileri

### **Metformin, diyabetik nefropati, TGF-beta ve ET-1**

Literatürde metformin tedavisi ve diyabetik nefropati hakkında az sayıda çalışma bulunmaktadır. Licona ve ark glibenklamid tedavisi alan tip 2 Diyabetiklerde tedaviyi metformin ile değiştirdikten sonra üriner albumin atılımının azaldığını gözlemişlerdir [200].

Literatürde tip 2 DM'de metformin tedavisinin serum TGF-beta ve plazma ET-1 düzeylerine etkisi ile ilgili çalışma bulunmamaktadır.

### **Metformin, endotel disfonksiyonu ve ET-1**

Literatürde metformin'in endotel disfonksiyonunun bir göstergesi olan ET-1'e etkisi ile diyabetik hasta grubunda yapılmış çalışma bulunmamaktadır. Literatürdeki tek çalışma insülin rezistant polikistik over sendrom'lu kadınlarda yapılmış olup bu çalışmada bazal

plazma ET-1 düzeyleri yüksek olarak saptanmış ve 6 aylık metformin tedavisi ile ET-1 düzeylerinde azalma saptanmıştır [201].

### **3.8.2 ROZİGLİTAZON**

#### **Genel Bilgiler**

Roziglitazon, tiazolidinedionlar (TZD) sınıfından, insülin etkinliğini arttıran potent bir ilaçtır. Tiazolidinedionlar, 1980'li yılların başlarında Japonya'da antioksidan olarak geliştirilmiş ajanlardır [202]. Ciglitazon, hayvan çalışmalarında insülin direncine etkinliği gösterilen ilk TZD'dir. Troglitazon, 1997'de TZD grubunun prototipi olarak kullanım onayı almış ancak idiyosinkrazik hepatotoksisite oluşturması nedeniyle 2000 yılında kullanımdan kaldırılmıştır [203]. Günümüzde TZD grubunun 1999'da onay almış iki üyesi-roziglitazon ve pioglitazon kullanılmaktadır.

Tiazolidinedionlar, peroksizom proliferatörleri ile aktive olan reseptör-gama (PPAR- $\gamma$ )'nın agonistleridir. Peroksizom proliferatörleri ile aktive olan reseptörler steroid hormonlar, tiroid hormon, D vitamini ve retinoik asit reseptörlerinin de dahil olduğu nükleer reseptör süper-ailesine bağlı nükleer transkripsiyon faktörleridir [204].

Peroksizom proliferatörleri ile aktive olan reseptörler ( $-\alpha$ ,  $-\delta$  veya  $-\beta$ ,  $-\chi$ ), ligand bağlandıktan sonra özel yapısal değişiklikler gösterirler. Bu değişiklikler bir veya birden fazla koaktivatör proteinin devreye girmesine izin verir. Ligandlar koaktivatörler ile etkileşime girme yetenekleri açısından farklılıklar gösterirler. Koaktivatörler ligand bağımlı mekanizma ile nükleer reseptörler ile etkileşirler ve gen transkripsiyonunu etkilerler. Bu durum gözlenen biyolojik yanıtlardaki çeşitliliği açıklayabilir.

Peroksizom proliferatörleri ile aktive olan reseptörler gen transkripsiyonunu iki mekanizma ile regüle ederler. Transaktivasyon DNA bağımlıdır ve DNA bağlanması için PPAR- $\chi$  ve retinoid-X-reseptör-alfa (RXR- $\alpha$ ) dimerizasyonu gerekmektedir. Oluşan heterodimer spesifik peroksizom proliferatör yanıt elemanlarına bağlanır ve gen transkripsiyonunu aktive eder. Transrepressyon, PPAR'ların anti-inflamatuar özelliklerini açıklayabilen bir mekanizmadır. DNA-bağımlı olmadan NF- $\kappa$ B gibi diğer transkripsiyon faktör yolları ile negatif etkileşimi içerir [203].

#### **Peroksizom Proliferatörleri ile Aktive Olan Reseptör-alfa**

Belirgin olarak karaciğer, kalp ve kaslarda ve vasküler duvarda eksprese edilir [205]. Fibratlar ve gemfibrozil tam veya parsiyal PPAR- $\alpha$  agonistleridir. Genel olarak PPAR- $\alpha$  aktivasyonu ile serbest yağ asidi oksidasyonu artar; lipoprotein konsantrasyonu ile ilişkili gen

ekspresyonları kontrol altına alınır (Apolipoprotein C-III azalır, Apolipoprotein A-I, II artar). Ek olarak anti-inflamatuvar etkileri de vardır [203].

### **Peroksizom Proliferatörleri ile Aktive Olan Reseptör-delta (veya beta)**

Belirgin olarak cilt, beyin ve yağ dokuda olmak üzere birçok dokuda eksprese olur [203]. PPAR- $\delta$  geni ablasyona uğratılmış farelerde yara iyileşmesi ve myelinizasyonda azalma saptanmıştır [206].

### **Peroksizom Proliferatörleri ile Aktive Olan Reseptör-gama**

İnsanlarda, beyaz adipoz doku, kalın barsak, dalak, lenfoid doku ve kemik iliğinde yüksek konsantrasyonda eksprese edilir. Böbrek medüller toplayıcı kanal ve papiller ürotelyum, kalp, ince barsak, over, testis, karaciğer, mesane (transisyonel epitel), epitelyal keratinositler, pankreas ve beyinde belirgin miktarda eksprese edilirler. İskelet kasında ekspresyonu düşük seviyededir. PPAR- $\chi$  geni en az üç mRNA'yı ( $\chi_1$ ,  $\chi_2$  ve  $\chi_3$ ) kodlar. PPAR- $\gamma_1$  ve  $\gamma_3$  mRNA'ları birbirinin aynı iken PPAR- $\gamma_2$  mRNA'sı ilave bir N-terminal bölge içerir. Tüm izoformlar TZD'ler tarafından aktive edilebilir [207].

### **Rozigitazon'un Farmakokinetik Özellikleri**

Rozigitazon PPAR- $\gamma$  afinitesi en fazla, troglitazon ise PPAR- $\gamma$ 'ya afinitesi en az ancak en potent TZD'dir.

Rozigitazon'un eliminasyon yarı ömrü dozdan bağımsız olarak 3-4 saattir. Oral alımında hızla ve tamamen emilir. Net biyoyararlanımı %99'dur. Alımından 1 saat sonra pik plazma konsantrasyonlarına ulaşır. In vitro veriler sitokrom P<sub>450</sub> izoenzim 2C8 ve 2C9 tarafından metabolize edildiğini göstermektedir. Oral uygulama sonrasında dozun %64'ü idrar ve feçes ile uzaklaştırılmaktadır.

Rozigitazon'un yan etkileri;

- Kombine tedavide hipoglisemi
- Ödem
- Plazma volum artışına bağlı hemoglobin ve hemotokritte düşme
- Subkutan yağ doku artışı ve sıvı birikimine bağlı vücut ağırlığında artış
- Klinik veriler rozigitazon'un hepatik fonksiyon bozukluğu ile ilişkisini gösteremese de Troglitazon'a benzer yapıda olduğu için tedavi süresi boyunca periyodik karaciğer fonksiyon testi yapılması önerilmektedir. Bazal alanin aminotransferaz (ALT) değerleri 2.5 kat ve üzerinde olan hastalarda rozigitazon tedavisi başlanmamalıdır. Sağlıklı insanlarda günde 20mg'lık doza kadar iyi tolere edildiği gösterilmiştir.

## Tiazolidinedionların metabolik etkileri

Tiazolidinedionların metabolik etkileri Tablo 10’da özetlenmiştir [208].

<p><b>Glisemik Etkiler</b></p> <ul style="list-style-type: none"><li>• Hücre içine insülin aracılı glukoz alımının ve kullanımının artışı</li><li>• İnsülin direnci olan tip 2 diyabetik hastalarda hipergliseminin azalması</li></ul> <p><b>Non-Glisemik Etkiler</b></p> <ul style="list-style-type: none"><li>• <b>Lipidler</b><ol style="list-style-type: none"><li>1. Küçük yoğun LDL partiküllerinin büyük, daha az yoğun LDL partiküllerine dönüşümü</li><li>2. Plazma HDL-kolesterolde artış</li><li>3. Plazma trigliseridlerinde azalma</li><li>4. Adipogenezde artma</li><li>5. Plazma serbest yağ asitlerinde azalma</li></ol></li><li>• <b>Pankreatik beta hücreler</b><ol style="list-style-type: none"><li>1. Pankreatik beta hücrelerin insülin sekresyon fonksiyonunun kayıp hızının yavaşlatılması</li></ol></li><li>• <b>Aterogenez</b><ol style="list-style-type: none"><li>1. Endotelial disfonksiyonda düzelme</li><li>2. Periferik vasküler rezistansda azalma</li><li>3. Prokoagulan durumda azalma (plazma PAI-1 ve fibrinojende azalma)</li><li>4. Non-enfektif inflamasyonda azalma</li><li>5. Koroner stent implantasyonundan sonra neo-intimal proliferasyonda azalma</li><li>6. Mikroalbuminürde azalma</li></ol></li></ul>
---

**Tablo 10** Tiazolidinedionların metabolik etkileri

## Tiazolidinedionlar’ın Glisemi Üzerine Etkileri

Tiazolidinedionların, insülin reseptör substrat-1 (IRS-1), IRS-2, fosfatidil inozitol 3-kinazın p85 subünitesi, Cbl-ilişkili protein ve GLUT-4 ekspresyonunu arttırdığı ve insan iskelet kası hücre kültüründe hücre içine insülin aracılı glukoz alımını aktive ettiği gösterilmiştir [209] [203]. Tip 2 diyabetiklerde TZD’lerin hepatik glukoz üretimi üzerine etkileri orta düzeydedir.

PPAR- $\gamma$  ekspresyonu, insülin-bağımlı glukoz klirensinin küçük bir kısmından sorumlu olan yağ dokuda karaciğer ve kaslara göre belirgin fazladır. PPAR- $\gamma$  agonistleri kas ve karaciğerde insülin duyarlılığını arttırmaktadır [210]. Yağ dokudaki PPAR- $\gamma$ ’nın kritik rolü adipoz dokusu olmayan farelerin TZD’lerin anti-diyabetik etkilerine dirençli olması ile gösterilmiştir [211].



PPAR- $\gamma$ 'nın predominant olarak eksprese edildiği adipoz dokuda TZD'lerin adipogenezi uyardığı ve lipolizin insulin ile supresyonunu arttırdığı saptanmıştır. Bu da serbest yağ asidi miktarını azaltarak insulin duyarlılığını arttırmaktadır [212]. Miyazaki ve ark. Roziglitazon'un insanlardaki benzer etkisini göstermişlerdir. Bu çalışmada 12 haftalık Roziglitazon tedavisi ile serbest yağ asidi dönüşümünün azaldığı ve buna bağlı olarak hepatic ve periferel (kas) insulin duyarlılığının arttığı gösterilmiştir [213]. TZD'lerin kaslardaki ve karaciğerdeki insülin duyarlılığını artırıcı etkisini dolaşımdaki lipidleri-serbset yağ asitlerini-adipoz dokuya çekerek gösterdiğini açıklayan bu mekanizmaya "lipid çalma hipotezi" adı verilmektedir [214]. Adipozitlerde PPAR- $\gamma$  aktivasyonu ile lipoprotein lipaz (LPL) ve serbest yağ asidi transport proteini (FATP) ekspresyonu artar ve adipozit içine serbest yağ asiti akışı sağlanır [215].

Adipozit kökenli olup insülin direnci gelişiminde rol oynayan TNF- $\alpha$ 'nın adipozitlerdeki ekspresyonunun pioglitazon ile azaldığı, insülin duyarlılığında rolü olan adiponektin ekspresyonunun TZD tedavisi ile arttığı gösterilmiştir [216]. Ayrıca TZD tedavisi ile insülin direnci patogenezinde rol oynayan rezisitinin ve IL-6' nın ekspresyonunun azaldığı da saptanmıştır [215].

Tiazolidinedionlar'ın glisemi üzerine klinik etkilerini gösteren büyük ölçekli birçok çalışma bulunmaktadır;

1. EVIDENT Çalışması: Roziglitazon ve roglitazon'un monpterapide veya diğer oral antidiyabetiklerle kombine kullanılmalarının glisemik kontrole etkileri değerlendirildiğinde, roziglitazon (590 hasta) ve pioglitazon (525 hasta) alan tüm hastalarda anlamlı A<sub>1c</sub> azalması saptanmıştır. İki glitazonun etkinliği karşılaştırıldığında sulfonilüre ve pioglitazon kombinasyonunun roziglitazonlu kombinasyona göre A<sub>1c</sub>'yi % 0.4 daha fazla düşürdüğü saptanmıştır [217].
2. Raskin ve ark. 303 tip 2 Diyabetik hastada plasebo kontrollü yaptıkları çalışmada Roziglitazon tedavisi ile açlık glukoz, postprandiyal glukoz, C-peptid, insülin ve serbest yağ asidi miktarının plasebo grubuna göre anlamlı ölçüde azaldığını göstermişlerdir [218].
3. Durbin R.J. roziglitazon ve pioglitazon tedavisi ile insülin direnci ve bozulmuş glukoz toleransı olanlarda tip 2 DM'ye progresyonun geciktirilebileceğini veya önlenilebileceğini göstermiştir [219].

### **Tiazolidinedionların Dislipidemi Üzerine Etkileri**

Glitazonlar, primer olarak HDL-kolesterolü arttırarak ve trigliserid düzeylerini düşürerek dislipidemi üzerine etki ederler. Bu etkilerin PPAR- $\alpha$  ve PPAR- $\gamma$ 'nın kombine aktivasyonu ile gerçekleştiği düşünülmektedir [220]. Roziglitazon'un trigliserid düzeyine etkisi troglitazon ve pioglitazon'a göre orta derecededir [221]. Roziglitazon ve Pioglitazon'un ateroprotektif etkisi daha güçlü olan HDL2 alt fraksiyonunu da arttırdığı saptanmıştır [222].

Yapılan çalışmalarda glitazonların kullanımı ile LDL-kolesterol düzeyinde küçük ama sürekli artış saptanmıştır. Ancak bu artışın büyük, daha az yoğun, oksidatif modifikasyonun daha az saptandığı ve dolayısıyla daha az aterosjenik potansiyeli olan LDL partiküllerinin artışından kaynaklandığı saptanmıştır [220]. Troglitazon ve roziglitazon'un Lp(a) düzeylerini düşürdüğü saptanmıştır [223, 224].

### **Tiazolidinedionların Vasküler Disfonksiyon Üzerine Etkileri**

Tip 2 diyabetiklerde ateroskleroz gelişim patogenezinde en önemli rolü endotel disfonksiyonu oynamaktadır. Glitazonların endotel disfonksiyonda iyileşmeye neden olarak ateroskleroz gelişimini ve progresyonunu önledikleri birçok defa gösterilmiştir.

Glitazonların aterogenezi inhibe ederken olumlu olarak etkiledikleri endotel fonksiyonları ve bu fonksiyonların göstergeleri Tablo 11'de özetlenmiştir.

<b>FONKSİYON</b>	<b>GÖSTERGE</b>
<b>Vazoregülasyon</b>	Nitrik oksit, PGI <sub>2</sub> , AII, Tromboksan Endotel kökenli hiperpolarizan faktör Asimetrik dimetil arjinin Endotelin-1
<b>Koagülasyon</b>	PGI <sub>2</sub> , Tromboksan, vWF, Fibrinojen Trombomodulin, Doku Faktörü
<b>Fibrinoliz</b>	Doku plazminojen aktivatörü PAI-1
<b>İnflamasyon</b>	CRP, E-selektin, Fibrinojen, ICAM-1, IL-6
<b>Anjiyogenez</b>	Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü Trombosit kökenli büyüme faktörü TGF- $\beta$

**Tablo 11** Glitazonların etkilediği endotelial disfonksiyon göstergeleri

### ***İn-vitro etkiler ve hayvan çalışmaları:***

- İnsan umbilikal ven endotel hücre kültüründe troglitazon ve pioglitazon'un bazal ve uyarılmış PAI-1 sekresyonunu ve mRNA ekspresyonunu inhibe ettiği [225],
- Subkutan insan abdominal adipozitlerinde PAI-1 üretiminin roziglitazon ile inhibe edildiği [226],
- LDL-reseptör olmayan farelerde AII ile hızlandırılmış aterosklerozun troziglitazon ile gerilediği [227],
- Vasküler düz kas hücrelerinde proliferasyon ve migrasyonun Rozigitazon ve troglitazon ile inhibe edildiği [228],
- Cigitazon'un kültür ortamında endotel hücrelerinden nitrik oksit salınımını stimüle ettiği [229],
- Rozigitazon'un hiperkolesterolemik tavşanlarda oksidatif stresi azalttığı [230],
- Rozigitazon'un kemik iliği kökenli anjiyogenik progenitör hücrelerin endotelial seriye farklılaşmasında artış ve anjiyoplasti sonrası restenozda azalma sağladığı [231],
- İnsan safen ven endotel hücre kültürüne roziglitazon eklenmesi ile ortamdaki CRP'nin proaterojenik etkilerinin azaldığı gösterilmiştir [232].

### ***İnsan çalışmaları:***

- Rozigitazon tedavisi ile tip 2 diyabetik hastalarda inflamasyonun serum göstergesi CRP düzeylerinde azalma saptanmıştır [233].
- Rozigitazon glisemik kontrolü sağlama etkisinden bağımsız olarak tip 2 diyabetli hastalarda asetilkoline vasodilatör yanıtı iyileştirmiştir [19].
- Rozigitazon tedavisi ile tip 2 diyabetli hastaların cilt perfüzyonunda glisemik kontrolden bağımsız, NO ile ilişkili, artış saptanmıştır [20].
- Rozigitazon'un ROS oluşumunu inhibe ettiği gösterilmiştir [234].
- Troglitazon'un tip 2 diyabetiklerde plazma PAI-1 düzeyini azalttığı gösterilmiştir [235].
- Diyabetik olmayan ve anjiyografi ile gösterilmiş koroner arter hastalığı olan 92 hastaya Rozigitazon tedavisi verilmiş ve 48 haftanın sonunda plasebo grubuna göre karotis intima media kalınlığının progresyonunda belirgin azalma saptanmıştır [236].

### ***Tiazolidinedionlar ve Endotelin-1:***

İlk olarak 1999 yılında Satoh ve ark. sığır vasküler endotel hücre kültüründeki spontan ve insülin-aracılı ET-1 sekresyonunun troglitazon ile suprese olduğunu göstermişlerdir [237]. 2001 yılında Fukunaga ve ark. sığır karotis arteri endotel hücrelerinde troglitazon ve pioglitazon'un doz bağımlı olarak ET-1 sekresyonunu inhibe ettiğini saptamıştır [238]. Sakai ve ark. abdominal aorta ligasyonu ile kardiyak hipertrofi geliştirilen ratlarda ligasyon öncesi 7 günlük troglitazon veya pioglitazon tedavisinin ET-1 ekspresyonunu azaltarak kardiyak hipertrofiyi azalttığını göstermişlerdir. Glitazonların, aktive protein-1 (AP-1) aktivasyonu ile negatif etkileşim yaratarak ve NF-κB inhibisyonu ile ET-1'in potent stimülatörlerinden biri olan TNF-α ekspresyonunu azaltarak ET-1 ekspresyonunu azalttığı düşünülmektedir [239]. 2003 yılında Iglarz ve ark. vasküler ET-1'i fazla eksprese eden DOCA-salt ratlarda 3 haftalık roziglitazon tedavisi ile rezistan arterlerde hipertrofik yeniden yapılanmanın, endotelial disfonksiyonun ve vasküler superoksid anyon üretimini azaldığını ve bu etkinin ET-1 ekspresyonunda azalma ile ilişkili olduğunu göstermişlerdir [240]. Verma ve ark. insan safen ven endotel hücre kültüründe yaptıkları çalışmada kültür ortamına insan rekombinant CRP eklenmesi ile endotelial hücrelerde ET-1 ekspresyonunda artış olduğunu göstermişler ve roziglitazon'un bu aterojenik etkiyi zayıflattığını saptamışlardır [232].

Literatürde, endotel disfonksiyonun göstergelerinden biri olan ve aterogenez patogenezinde rol oynayan ET-1 düzeylerine TZD'lerin etkisi ile ilgili sadece 1 adet insan çalışması bulunmakta olup bu çalışmada da üriner ET-1 düzeyleri ve pioglitazon ilişkisi değerlendirilmiştir. Literatürde glitazonların plazma ET-1 düzeylerine etkisini ortaya koyan insan çalışması bulunmamaktadır.

### **Tiazolidinedionların Diyabetik Nefropati Gelişimi ve Progresyonu Üzerine Etkileri**

Peroksizom proliferatörleri ile aktive olan reseptörlerin her 3 tipinin de renal ekspresyonu hayvan çalışmalarında gösterilmiştir. PPAR-γ selektif olarak medüller toplayıcı kanal, pelvik ürotelyumda eksprese edilir. Ayrıca PPAR-γ'nın glomeruler ve mezengial ekspresyonu da hayvan çalışmaları ile gösterilmiştir. Glitazonlar'ın diyabetik nefropati gelişimi ve progresyonu üzerine etkileri ile ilgili önemli çalışmalar aşağıda özetlenmiştir.

#### ***İnvitro etkiler ve hayvan çalışmaları:***

- İnsan pre-diyabetik insülin rezistans sendromunun hayvan modeli olan Zucker-fatty ratlarda roziglitazon tedavisi ile albuminürinin ortaya çıkışı geciktirilmiş ve proteinürisi

olanlarda da progresyon önlenmiştir. Roziglitazon tedavisi verilen ratlarda morfolojik bulgular da normal ratlara benzer bulunmuştur [241].

- Asano ve ark. troglitazon'un tubuloepitelyal ve mezengial hücrelerin myofibroblast benzeri fenotip kazanmasını inhibe ettiğini göstermiştir. Böylece diyabetik nefropati gelişiminde ve progresyonunda önemli rol oynayan ESM artışı zayıflatılmıştır [242].
- Troglitazon'un insülin duyarlılaştırıcı etkilerinden bağımsız olarak glomerüler DAG-PKC-ERK yolağını inhibe ettiği ve TGF- $\beta$ 1'in ekspresyonunu azalttığı gösterilmiştir [243].
- Non-diyabetik ratlarda nefrektomi sonrası oluşan glomerulosklerozun progresyonu troglitazon ile yavaşlatılmış ve bu etkinin glomerüler hücre proliferasyonu, hipertrofi regülasyonu ve PAI-1 ve TGF- $\beta$ 1'in ekspresyonunun inhibisyonu ile sağlandığı gösterilmiştir [244].
- McCarthy ve ark. insan Tip 2 DM'nin hayvan modellerinden biri olan ZDF/Gmi ratlarda Troglitazon tedavisi ile mezengial genişlemenin ve albuminürinin azaldığını göstermişlerdir. Bu çalışmanın önemli diğer bir sonucu da anti-diyabetik tedavi almayan ratlarda mezengial hipertrofinin kısa sürede ortaya çıktığının (bir ay içinde) saptanmasıdır [245].
- Guo ve ark. 2004 yılındaki çalışmalarında pioglitazon'un, TGF- $\beta$ 1'in AP-1 aktivasyonu aracılığı ile fibronektin ekspresyonunu artırma etkisini inhibe ettiğini göstermişlerdir [246].

### ***İnsan Çalışmaları:***

Glitazonlar'ın diyabetik nefropati gelişimi ve progresyonuna etkileri ile ilgili insan çalışmalarında en sık değerlendirilen parametre mikroalbuminüridir. Troglitazon'un, roziglitazon'un ve pioglitazon'un tip 2 diyabetik hastalarda mikroalbuminüriyi azalttığı çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir [12, 247-249]. Troglitazon'un tip 2 diyabetiklerde mikroalbuminüri ile birlikte serum tip 4 kollogen düzeyini de azalttığı saptanmıştır [248]. Pioglitazon'un tip 2 diyabetiklerde üriner ET-1 atılımını azalttığı gösterilmiştir [249].

Bakris ve ark. roziglitazon'un mikroalbuminüri gelişimi ve progresyonu üzerine etkilerini göstermek amacıyla yaptıkları çalışmalarında [12] normotansif tip 2 diyabetik hastaları gliburid (G grubu 99 hasta) ve roziglitazon (R grubu 104 hasta) gruplarına randomize etmişlerdir. 28 haftalık tedavi döneminin sonunda G grubunda başlangıçta normoalbuminürisi olan 47 hastanın 5 tanesinde (%10.6) mikroalbuminüri saptanmıştır. Bu oran R grubunda %7 olarak saptanmıştır (3/43). Roziglitazon grubunda başlangıçta

mikroalbuminürisi olan 14 hastanın 6 tanesinde (%42.9) 28 hafta sonunda üriner albumin atılımı normale dönmüştür. Bu oran G grubunda %6.3 (1/16) olarak bulunmuştur. Bakris ve ark. çalışmasının en önemli sonuçları tip 2 diyabetik hastalarda Roziglitazon ile normoalbuminüriden mikroalbuminüriye progresyonun azaltılabileceğinin ve üriner albumin atılımının da normale dönebileceğinin gösterilmesidir.

#### ***Tiazolidinedionlar ve TGF- $\beta$ :***

Tip 2 Diyabetes Mellitus seyrinde gelişen diyabetik nefropati patogeneğinde ve nefropatinin progresyonunda önemli rolü olan TGF- $\beta$ 'ya glitazonların etkisini gösteren insan çalışması bulunmamaktadır. Bu konuyla ilgili yapılan tüm çalışmalar hücre kültürü veya hayvan çalışmalarıdır. Bu çalışmalarda TZD'lerin TGF- $\beta$  ekspresyonunu azalttıkları bir çok defa gösterilmiştir. Tip 2 DM'li hastalarda serum TGF- $\beta$  düzeylerinin yüksek seyrettiğini gösteren çalışmalar mevcuttur ancak insanlarda glitazon tedavisi ile serum TGF- $\beta$  düzeyleri arasındaki ilişkiyi ortaya koyan bir çalışma literatürde bulunmamaktadır.



## **4. GEREÇLER ve YÖNTEMLER**

### **HASTA POPULASYONU**

Bu çalışmaya dahil edilen hastalar Kasım 2003 ve Mayıs 2005 tarihleri arasında Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi İç Hastalıkları ve Endokrinoloji Poliklinikleri'ne tip 2 diabetes mellitus nedeniyle başvuran kişilerden seçilmiştir. İlk planda toplam 81 hasta çalışmaya alınmış olup 39 hasta standardizasyon döneminin ardından çeşitli nedenlerden dolayı (mikroalbuminüri saptanması, a1c değerinin %6,5'dan küçük olması, kötü glisemik kontrol gibi) çalışmadan çıkarılmıştır.

### **ÇALIŞMAYA DAHİL OLMA KRİTERLERİ**

30-65 yaşları arasında olup, altı ay veya daha uzun süredir Tip 2 DM tanısı mevcut olan (2003 yılında Amerikan Diabet Cemiyeti'nin yayınladığı kılavuzdaki kriterlere göre tanı alan), normoalbuminürik (24 saatlik idrarda mikroalbumin 30mg/gün'den düşük olan), kan basıncı değerleri Amerikan Diabet Cemiyeti'nin diabetik hastalar için sınır değer kabul ettiği 130/80 mm-Hg'i aşmayan, A1c değeri iyi glisemik kontrol göstergesi olarak kabul edilen %6,5 in üzerinde olan ve vücut kitle indeksi  $\geq 25$  olan hastaların çalışmaya dahil edilmesi planlandı.

### **DIŞLAMA KRİTERLERİ**

Otuz yaşından genç veya 65 yaşından yaşlı, anginal yakınması veya bilinen koroner arter hastalığı veya periferik arter hastalığı olan, New York Kalp Cemiyeti kriterlerine göre klas 3-4 kalp yetmezliği semptomları tarif eden, kan basıncı değerlerinde 130/80 mm-Hg ve yüksek değerler saptanmış olan veya bir aylık standardizasyon dönemi boyunca yapılan 3 ölçümden bir tanesinde kan basıncı 130/80 mm-Hg'i aşan, serum kreatinin  $\geq 1.5$  olan, mikroalbuminürisi olan, karaciğer fonksiyon testlerinde bozukluk saptanan (AST-ALT-ALP veya total bilirubin serum düzeyleri referans değerlerinden 2,5 kat fazla ), diyabetik retinopatisi olan, ciddi ek hastalığı olanlar ve çocuk beklentisi olan kadınlar bu çalışmaya dahil edilmeyecek.

### **ÇALIŞMA PROTOKOLÜ**

Çalışmaya dahil olmak için uygun hastalardan aydınlatılmış onam formu alındı.

PERİYOT-1 (Standardizasyon dönemi = 4 hafta)

Standardizasyon döneminde hastalara boy ve kilolarına uygun diyet verildi. Oral antidiyabetikleri ve antilipidemik ilaçları standardize edildi. Sulfonilüre kullanımı gerekli olan hastalara glimepid, statin kullanımı gerekli olan hastalara simvastatin başlandı.

- Standardizasyon dönemi öncesi HbA1c  $\geq$  % 8,5 olan hastalara sülfonilüre (glimepid) başlandı
- HbA1c  $<$  % 8,5 olan hastalar diyet ve egzersiz ile izlendi
- LDL  $\geq$  130 olan ya da düzenli statin kullanmakta olan hastalara statin (Simvastatin) tedavisi verildi.
- LDL  $<$  130 olan ve düzenli statin kullanmayan hiperlipidemi açısından yalnız diyet ve egzersiz ile izlendi

#### PERİYOT-2 (Çalışma dönemi = 12 hafta)

Hastaların standardizasyon döneminin sonunda fizik muayeneleri ve metabolik parametreleri tekrarlandı. Dışlama kriterlerinden herhangi birine sahip olmayan hastalar çalışma dönemine dahil edildi. Standardizasyon döneminin sonunda HbA1c  $>$  %6,5 olan hastalar 12 haftalık çalışma dönemine alınarak roziglitazon veya metformin gruplarına randomize edildi. Statin tedavisi standardizasyon döneminde belirtildiği gibi düzenlendi. Hastaların genel durumları ve glisemik kontrolleri hakkında 15 günde bir telefon ile ve aylık olarak da yüzyüze görüşme ile bilgi alındı. Açlık kan şekeri 180 mg/dl üstünde seyreden hastaların glimepid dozu artırıldı. Tokluk kan şekeri 200 mg/dl üzerinde seyreden hastaların tedavisine akarboz eklendi.

#### **KLİNİK VE LABORATUAR ÖLÇÜMLERİ**

Tüm grupların standardizasyon dönemi başında ve çalışma dönemi başında (bazal ( 0. gün )) ayrıntılı fizik muayenesi yapıldı, bel- kalça oranları, vücut ağırlığı, boy, vücut kitle indeksi, kan basıncı değerleri kaydedildi. Laboratuar tetkikleri on-oniki saatlik açlık sonrası sabah kahvaltısından önce antekübital venden vacutainer ile alındı.

Hastalardan Endotelin-1 ve TGF-beta için kan örnekleri alındı. Endotelin-1 için kan örnekleri sitratlı tüplere alındı. Endotelin-1'in proteazlarla çok hızlı inaktif forma dönüşmesini engellemek için her tüpe toplam 0.2 cc Aprotinin (*Trasyol-Bayer*) ilave edildi. Tüpler buz içinde taşınarak bekletilmeden soğuk santrifüj edildi (0°C'de 1750 rpm'de 10 dakika). Plazma örnekleri plastik ependorflara ayrıldı ve -80°C'de saklandı. TGF-beta ölçümü için düz tüplere alınan kanlar buz içinde taşındı. Soğuk santrifüj ile (4°C'de 2000 rpm'de 10 dakika) serumları ayrıldı ve plastik ependorflarda -80°C'de saklandı.



### **Endotelin-1 çalışma protokolü:**

Çalışma günü tüm plazma örnekleri uygun sıcaklığa gelene kadar (18°C-26°C) soğutucunun dışında bekletildi. Standartlar, kontroller, ölçüm tamponları, dedeksiyon antikorları, presipitasyon sağlayan ajanlar ve yıkama solusyonları oda sıcaklığında hazırlandı.

Her örnekten 1ml plazma polipropilen tüplere aktarıldı. Örneğin üzerine 1,5 ml dilüe presipite edici ajan eklendi. Vortex karıştırıcı ile karıştırıldı. Örnekler 4°C'de soğutuldu ve ardından 4°C'de 3000g'de 20 dakika santrifüje edildi. Elde edilen supernatantlar yeni polipropilen tüplere aktarıldı. Dolaşımdaki plazma Endotelin-1 düzeyleri çok düşük konsantrasyonda olduğu için ekstraksiyon işlemi uygulandı. Supernatantların sıvı kısmı yüksek basınçlı azot gazı altında kurumaya bırakıldı ve tamamen kuru supernatant elde edilince ekstraksiyon işlemine son verildi. Kurutulmuş örnekler 500µl ölçüm tamponu ile çözüldü ve karıştırıldı. İçinde sentetik, liyofilize, tampon halinde insan Endotelin-1'i olan ET-stokları protokol B tamponu ile dilüe edildi. Platelerdeki kuyucuklara (well) 200µl standart/örnek/kontrol eklendi. Ardından her kuyucuğa 50µl dedeksiyon antikoru eklendi. Oda sıcaklığında 16-24 saat enkübasyona bırakıldı. Kuyucuklar 5 defa, dilüe edilmiş 300µl yıkama tamponu ile yıkandı. Her kuyucuğa 200µl konjugat eklendi. Bir saat boyunca 37°C'de enkübe edildi. Kuyucuklar 5 defa, dilüe edilmiş 300µl yıkama tamponu ile tekrar yıkandı. Her kuyucuğa 200µl substrat eklendi. Karanlık ve oda sıcaklığındaki bir ortamda 30 dakika enkübe edildi. Her kuyucuğa 50µl durdurma solusyonu eklendi. Hemen ardından 450 nm'de 620 nm referans ile optik dansite okundu ve sonuçlar hesaplandı.

### **TGF-beta çalışma protokolü:**

Çalışma günü tüm serum örnekleri uygun sıcaklığa gelene kadar (18°C-26°C) soğutucunun dışında bekletildi. Propilen tüplere 0,1ml serum örneği ve 0,3ml ekstraksiyon solusyonu eklendi. Tüpler vortekslendi ve shaker'da oda sıcaklığında 30 dakika boyunca enkübe edildi. On dakika boyunca 1000g'de santrifüje edildi. Elde edilen supernatant 10-defa Standart dilüsyon tamponu ile dilüe edildi. Bu ekstraksiyon basamağının ardından örnekler 40-defa dilüe edildi. Her kuyucuğa 200µl standart, ekstrakte edilmiş örnek veya kontroller ilave edildi. Boş kuyucuklar dışında tüm kuyucuklara 50µl Biotin konjugat ilave edildi. Kuyucukların bulunduğu "plate" kaplandı ve oda sıcaklığında 3 ssat enkübe edildi. Kuyucuklar 4 defa yıkama tamponu ile yıkandı. Tüm kuyucuklara 100µl dilüe edilmiş Streptavidin-HRP eklendi. Plate kaplandı ve oda sıcaklığında 30 dakika enkübasyona bırakıldı. Kuyucuklar 4 defa yıkama tamponu ile tekrar yıkandı. Her kuyucuğa 100µl stabilize

kromojen eklendi. Karanlıkta ve oda sıcaklığında 30 dakika enkübe edildi. Her kuyucuğa 100µl durdurma solusyonu eklendi. Absorbanslar 450 nm’de okundu ve sonuçlar hesaplandı.

## **İSTATİSTİK ANALİZ**

Araştırmada elde edilen sonuçların yorumlanmasında SPSS 11.0 Windows yazılımı kullanıldı. Parametrik olmayan yöntemlerle istatistik analiz yapıldı. Eş örneklerin karşılaştırılması için Wilcoxon Signed Rank Test, iki grup ortalamalarını karşılaştırırken Mann Whitney U Testi kullanıldı. Korelasyonlar Spearman Sıra Korelasyon analizi ile değerlendirildi.  $p < 0,05$  istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.



## 5. SONUÇLAR

Çalışmanın standardizasyon periyoduna Dokuz Eylül Üniversitesi İç Hastalıkları ve Endokrinoloji Poliklinikleri'ne başvuran toplam 81 hasta dahil edildi. Dört haftalık standardizasyon döneminin ardından 39 hasta çeşitli nedenlerden dolayı (kan şekeri regülasyonunun sağlanamaması, mikroalbuminüri saptanması, standardizasyon döneminin sonunda HbA1c'nin de %6,5'in altında saptanması) çalışma dışı bırakıldı. Randomizasyon dönemine toplam 42 hasta dahil edildi.

Çalışmayı tamamlayan 42 hastanın 20 tanesi kadın (%47,6), 22'i erkekti (%52,4). Hastaların yaş ortalaması  $53,57 \pm 7,6$  olarak saptandı.

Çalışma süresi boyunca hastaların 18 tanesi (% 42,9) Metformin (Metformin (M) grubu), 24'u (%57,1) da Roziglitazon (Roziglitazon (R) grubu) tedavisi aldı. Simvastatin tedavisi eklenen 11 hastanın 5'i M grubunda 6 tanesi de R grubundaydı. Çalışmaya dahil edilen hastalardan 3 tanesinde 3.ayın sonunda mikroalbuminüri gelişti.

Üç aylık çalışma döneminin sonunda tüm hastaların verileri birlikte değerlendirildiğinde 3. ayda hastaların AKŞ ve A1c düzeylerinde anlamlı olarak azalma, TG düzeylerinde ise anlamlı olarak artış saptandı. Endotelin-1 ve TGF-beta değerleri de 0 ve 3.ayda birbirinden anlamlı olarak farklı değildi (Tablo 11).

	Randomizasyon öncesi ortalama değerler (n=42)	3.ay ortalama değerler (n=42)	<i>p</i>
AKŞ (mg/dl)	175,81±50,7	145,14±32,9	<b>0.001</b>
A1c (%)	8.17±1.5	7,16±1,1	<b>0.000</b>
TKŞ (mg/dl)	247,4±93,7	212.8±59,7	p>0,05
VA (kg)	74,7±11,7	73,7±11,6	p>0,05
VKİ (kg/m <sup>2</sup> )	27,6±3,4	27,3±3,5	p>0,05
Bel çevresi (cm)	91,0±8,3	91,7±7,4	p>0,05
Kalça Çevresi (cm)	101,6±6,8	102,4±6,7	p>0,05
Bel/Kalça oranı	0,8±0,07	0,8±0,06	p>0,05
Total Kolesterol (mg/dl)	198,8±43,5	215.94±47.62	p>0,05
Trigliserid (mg/dl)	157,8±91,1	196,8±153,1	<b>0.015</b>
HDL-Kolesterol (mg/dl)	51,0±12,8	50,6±12,5	p>0,05
LDL-Kolesterol (mg/dl)	116,6±34,7	126,6±36.5	p>0,05
Plazma ET-1 (fmol/ml)	0,291±0,07	0,281±0,077	p>0,05
Serum TGF-beta (ng/dl)	29,25±7,12	29,29±6.73	p>0,05

**Tablo 12.** Tüm hastaların bazal ve 3.ay verilerinin karşılaştırılması. (Wilcoxon Signed Rank Test)

Metformin ve Rozigitazon gruplarının çalışma dönemi başlangıcındaki (0.gün) ve 3.ay labarotuar ve antropometrik değerleri Tablo 12’de belirtilmiştir. 0.günde her iki grup arasında yaş, cinsiyet, açlık kan şekeri, HbA1c, vücut ağırlığı, VKİ, bel-kalça oranı,tokluk kan şekeri, lipid proilleri ve 24 saat idrarda albumin atılımları bakımından anlamlı fark yoktu.

Tedavi grupları kendi içlerinde değerlendirildiklerinde Metformin grubunda 3.ayın sonunda A1c, VA, VKİ değerlerinde başlangıça göre anlamlı düzelme oldu. Hastaların bel ve kalça çevreleri, bel-kalça oranları, TKŞ, lipid profillerinde, plazma ET-1 ve serum TGF-beta düzeylerinde anlamlı değişiklik saptanmadı.

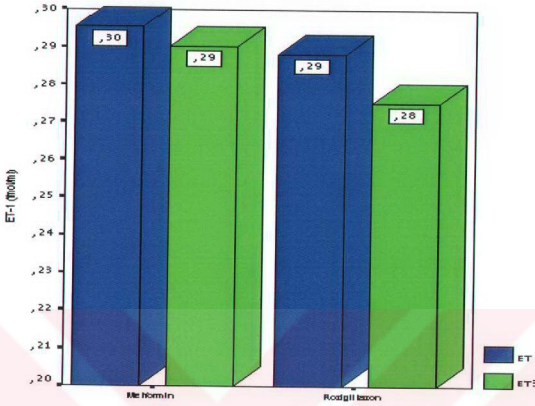
Rozigitazon grubunda ise 3 aylık tedavi ile hastaların AKŞ ve A1c değerlerinde anlamlı düzelme ve TG düzeyinde anlamlı artış saptanırken diğer parametrelerde anlamlı değişiklik saptanmadı.

Üç aylık tedavi sonrasında her iki grubun laboratuar ve antropometrik ölçümleri birbirleri ile karşılaştırıldığında parametreler arasında anlamlı fark saptanmadı (Tablo 12).

	M (0)	M (3)	R (0)	R (3)
AKŞ	165,3±50,0	143,6±43,9	183,6±50,8**	146,29±22,3**
A1C	7,8±1,2*	6,9±1,0*	8,3±1,8**	7,3±1,1**
TKŞ	248,0±86,4	214,1±59,1	247,0±100,6	211,8±61,4
VA	75,3±12,6*	73,8±12,1*	74,3±11,2	73,6±11,4
VKİ	27,9±3,9*	27,4±3,9*	27,4±3,0	27,2±3,3
BEL	91,7±8,7	91,6±7,5	90,5±8,1	91,8±7,4
KALÇA	102,3±6,5	102,9±6,7	101,1±7,2	102,1±6,9
T.KOL	196,3±47,9	210,5±40,1	200,7±40,8	216,04±53,5
TG	154,6±72,4	189,8±104,7	160,2±104,5**	202,0±183,3**
HDL-K	47,5±10,3	47,9±11,8	53,7±14,0	52,7±12,9
LDL-K	117,8±36,5	124,5±31,6	115,7±34,0	128,2±40,4
ET-1 (fmol/ml)	0,295±0,09	0,290±0,09	0,288±0,05	0,275±0,06
TGF-β (ng/dl)	27,60±5,98	29,26±7,04	30,49±7,76	29,32±6,64

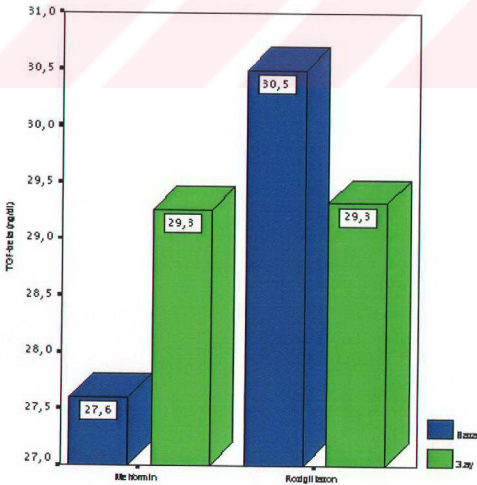
**Tablo 13** M ve R gruplarının 0 ve 3.ay sonuçları (\*, M grubunda 0-3.ay karşılaştırıldığında p<0,05 ve \*\*, R grubunda 0-3.ay karşılaştırıldığında p<0,05)

Üç aylık tedavi ile roziglitazon tedavisi alan grupta ET-1 düzeyleri 0,288 fmol/L'den 0,275 fmol/L'ye gerilerken M grubunda ET-1 düzeyi 0,295 fmol/L'den 0,290 fmol/L'ye geriledi. Bu değişimler istatistiksel anlamlılığa ulaşmadı.



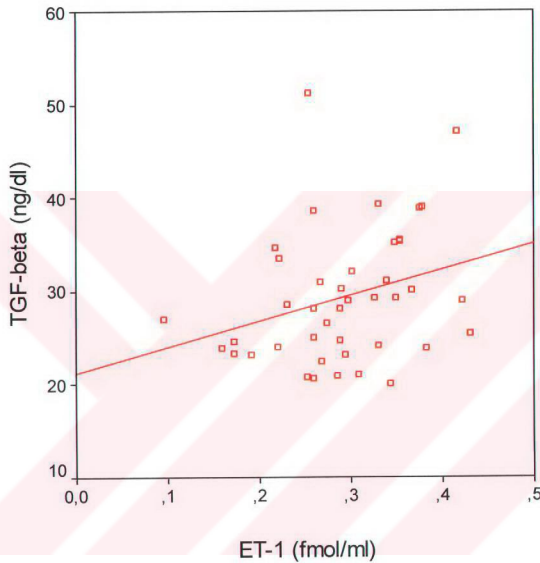
**Grafik 1.** M ve R gruplarında plazma ET-1 düzeyi değişimi

Metformin tedavisinin serum TGF-beta düzeylerini arttırdığı saptanırken Rosiglitazon tedavisi ile serum TGF-beta düzeylerinde azalma saptandı Bu farklar istatistiksel olarak anlamlı değildi. (Grafik 2).



**Grafik 2.** M ve R gruplarında serum TGF-beta düzeyi değişimi

Tüm hastaların verileri bir arada değerlendirildiğinde bazal ET-1'in 3.aydaki TG düzeyi ile ( $r=0,363$   $p<0,05$ ) ve bazal TGF- $\beta$  düzeyi ile ( $r=0,331$   $p<0,05$ ) ile korele olduğu (Tablo 13) saptandı. Üçüncü aydaki ET-1 düzeyinin, 3.aydaki bel çevresi ile ( $r=0,334$   $p<0,05$ ) ve 3.aydaki bel/kalça oranı ile korele olduğu ( $r=0,335$   $p<0,05$ ) görüldü. Bazal TGF- $\beta$  düzeyi ile 0.gün kalça çevresi arasında negatif korelasyon mevcuttu ( $r=-0,400$   $p<0,05$ ). Üçüncü ayda bel çevresi ile TGF- $\beta$  düzeyleri arasında da negatif korelasyon saptandı ( $r=-0,344$   $p<0,05$ ).

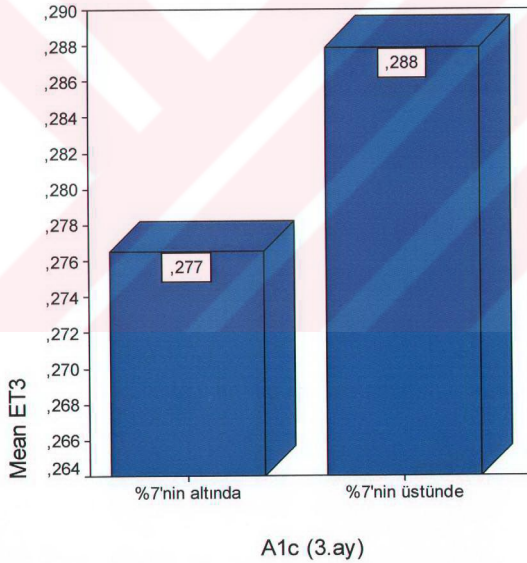


**Grafik 3** Tüm hasta grubunda bazal ET-1 ile bazal TGF- $\beta$  arasındaki pozitif korelasyon.

Alt grup analizinde ise M grubunda bazal ET-1 ile 3.ay TG arasında ( $r=0,708$   $p=0,001$ ) ve bazal TGF- $\beta$  arasında ( $r=0,591$   $p<0,05$ ) korelasyon saptandı. Üçüncü ay ET-1 düzeyi bazal ve 3.ay bel çevresi, üçüncü ay ortalama bel/kalça oranı ve üçüncü ay ortalama TG düzeyi ile korele idi (sırasıyla  $r=0,540$   $p<0,05$   $r=0,580$   $p<0,05$   $r=0,521$   $p<0,05$  ve  $r=0,476$   $p<0,05$ ). Metformin grubunda bazal TGF- $\beta$  ile bazal ve 3.ay VKİ arasında negatif korelasyon saptandı (sırasıyla,  $r=-0,498$   $p<0,05$  ve  $r=-0,523$   $p<0,05$ ) ayrıca bazal TGF-  $\beta$  ile 3.ay TG düzeyi arasında pozitif korelasyon mevcuttu ( $r=0,582$   $p<0,05$ ). Üçüncü ay TGF-  $\beta$  düzeyi ile bazal LDL-K arasında pozitif korelasyon mevcuttu ( $r=0,515$   $p<0,05$ ).

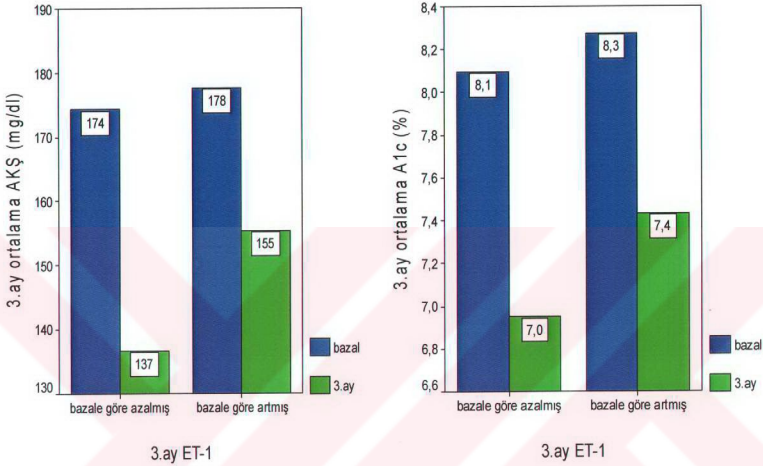
Roziqlitazon grubunda ise bazal ve 3.ay ET-1 düzeyinin diğler parametreler ile arasında korelasyon yoktu. Roziqlitazon grubunda bazal TGF-  $\beta$  düzeyi ile bazal kalça çevresi arasında negatif korelasyon ( $r=-0,596$   $p<0,05$ ) mevcuttu. Üçüncü ay TGF-  $\beta$  düzeyi ile 3.ay LDL-K ve bazal ve 3.ay TG arasında negatif (sırasıyla  $r=-0,462$   $p<0,05$ ,  $r=-0,548$   $p<0,05$  ve  $r=-0,501$   $p<0,05$ ), 3.ay HDL-K arasında ise pozitif korelasyon saptandı ( $r=0,401$   $p<0,05$ ).

Hastalar bazal glisemik kontrollerine göre gruplandırıldıklarında bazal A1c değeri %7'nin üstünde olan ( $n=33$ ) hastalar ve bazal A1c değeri %7'nin altında olan ( $n=9$ ) hastaların 0.gün ortalama plazma ET-1 değeri ortalama 0.291 fmol/L olarak saptandı. Çalışma sonunda benzer gruplama yapıldığında iyi glisemik kontrolü olanlarda ( $n=23$ ) ortalama plazma ET-1 düzeyi 0,276 fmol/ml, kötü glisemik kontrolü olanlarda ise ( $n=19$ ) ortalama plazma ET-1 düzeyi 0,287 fmol/ml olarak saptandı (Grafik 3). Üçüncü ay ET-1 düzeyleri arasındaki istatistiksel olarak anlamlı değildi ( $p=0,383$ )



**Grafik 4** Çalışma sonundaki A1c değeri ve ET-1 ilişkisi

Glisemik kontrol ile plazma ET-1 düzeyi arasındaki ilişkiyi değerlendirmek için yapılan diğer bir analizde 3.ay ortalama plazma ET-1 düzeyi bazale göre artmış hastaların (n=19) 3.ay A1c %7,43 ve AKŞ 155,3 mg/dl saptanırken 3.ayda ortalama plazma ET-1 düzeyi bazale göre azalmış hastalarda (n=23) ortalama A1c %6,95, AKŞ 136,7 mg/dl olarak bulundu (sırasıyla p=0,106 ve p=0,146 ) (Grafik 4).



**Grafik 5.** ET-1 değişimi ve 3.ay AKŞ ve A1c arasındaki ilişki.

Gerek tüm hastalar değerlendirildiğinde gerekse de alt grup analizinde bazal ve 3.ay ET-1 ve TGF-beta değerleri ile AKŞ ve A1c parametreleri arasında korelasyon saptanmadı

Üçüncü ay serum TGF-beta değerleri bazale göre artış gösteren hastalar ile azalma saptanan hastaların değerlendirilmesi Tablo 17’de gösterilmiştir. Üç aylık tedavi sonrasında bazale göre serum TGF-beta değeri yükselen tüm hastaların gerek bazal gerekse de 3.ay glisemik kontrolü serum TGF-beta değeri 3.ayın sonunda azalan hastalara göre bozuk olarak saptansa da istatistiksel anlamlılık bazal A1c ve TKŞ’de saptandı.



<i>Ortalama değerler</i>	3.ay TGF β >bazal TGF-beta (n=24)	3.ay TGF- β <bazal TGF-beta (n=18)	p
Bazal AKŞ (mg/dl)	185,5±57,0	162,83±38,6	0.099
3.ay AKŞ (mg/dl)	148,8±40,1	140,1±19,6	0.713
Bazal A1c (%)	8,7±1,8	7,4±0,7	<b>0,011</b>
3.ay A1c (%)	7,39±1,3	6,8±0,5	0.266
Bazal TKŞ (mg/dl)	271,0±94,6	216,1±85,0	<b>0,043</b>
3.ay TKŞ (mg/dl)	221,6±65,9	201,1±49,7	0.628

**Tablo 14** Serum TGF-beta değişimi ve A1c ile ilişkisi

Çalışma boyunca 42 hastanın 11 tanesine statin tedavisi verildi. Statin alan grubun yaş ortalaması almayan gruba göre anlamlı olarak fazla idi (56,47 vs 51,24 p=0,038). Statin alan 11 hastanın 9 tanesi kadındı. Statin tedavisi alan grup ile almayanlar arasında tedavi öncesinde ve sonrasındaki laboratuvar ve antropometrik ölçümler Tablo 19'da belirtilmiştir

3.AY SONUÇLARI	Statin alan grup (n=11)	Statin almayan grup (n=31)	P
AKŞ	184,8	172,6	0,463
AKŞ-3	158,5	140,3	0,308
TKŞ	270,5	239,2	0,322
TKŞ-3	263,1	195,0	0,002
A1C (%)	8,2	8,1	0,756
A1C-3 (%)	7,5	7,0	0,612
VA	68,9	76,8	0,030
VA-3	68,8	75,5	0,028
BEL/KALÇA	0,85	0,91	0,013
BEL/KALÇA-3	0,86	0,90	0,06
ET-1	0,287	0,292	0,933
ET-1-3	0,268	0,286	0,381
TGF- β	30,53	28,80	0,592
TGF-β-3	30,36	28,92	0,714

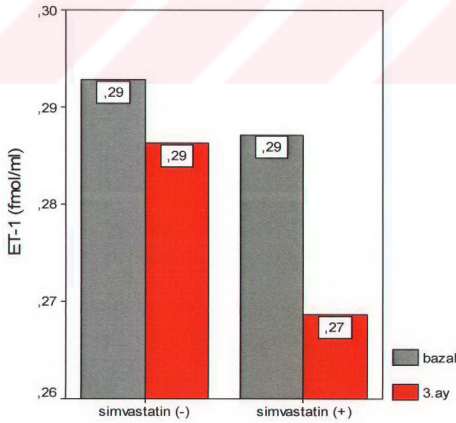
**TABLO 15** Statin tedavisi alan hastalar ile almayan hastaların bazal ve 3.ay sonuçları

Statin tedavisi alan grubun kendi içinde 0 ve 3. aylardaki parametrelerinin karşılaştırılması Tablo 20’de verilmiştir.

	0.AY	3.AY	p
AKŞ	184,8	158,5	0,220
A1c	8,2	7,5	0,074
VA	68,9	68,8	0,779
VKİ	27,9	27,9	0,899
BEL	86,5	88,9	<b>0,04</b>
KALÇA	101,6	103,2	0,276
BEL/KALÇA ORANI	0,85	0,86	0,401
TKŞ	270,5	263,1	0,799
ET-1	0,287	0,268	0,248
TGF-beta	30,53	30,36	0,859

**Tablo 16** Statin tedavisi alan hastalarda 0-3.ay verileri

Hastaların statin tedavisi ile ET-1 düzeylerindeki azalma istatistiksel olarak anlamlı değildi.



**Grafik 6** Simvastatin kullanımına göre plazma ET-1 değişimi

Çalışma boyunca izlenen 42 hastanın 3 tanesi 3.ayın sonunda mikroalbuminürik idi. Hastaların 2 tanesi R grubundaydı. Mikroalbuminüri gelişen hastalar ile gelişmeyenler arasındaki bazal ve üçüncü ay TGF-beta düzeyleri karşılaştırıldığında mikroalbuminürik grubun bazal TGF-beta değeri üçüncü ay sonunda üriner albumin atılımı normal olan gruba göre anlamlı olarak yüksek bulundu ( $p=0,04$ ).



## **6. TARTIŞMA**

Bu çalışmada bilinen mikro ve makrovasküler komplikasyonu olmayan normotansif , normoalbuminürik tip 2 DM hastaların diyabet tedavilerine 3 ay süre ile Metformin veya Roziglitazon ilavesinin hastaların bazal glisemik kontrolü, antropometrik parametreleri ve endotelyal disfonksiyon ve glomerulopatinin biyokimyasal göstergelerinden olan plazma ET-1 ve serum TGF- $\beta$  düzeyleri üzerine etkileri araştırılmıştır.

Çalışmaya dahil edilen tüm hastalar metabolik kontrolü kötü ( $A_{1c} > \%6,5$ ) hastaları ve tedavilerine insülin duyarlılaştırıcı ajan ilavesinden sonra 3.ay AKŞ ve  $A_{1c}$  düzeylerinde bazale göre anlamlı olarak azalma sağlandı. Bu hastaların tamamının VKİ  $25 \text{ kg/m}^2$ 'nin üstünde olan obez hastalar oldukları için insülin dirençleri belirgindi ve insülin duyarlılaştırıcı ilaçlardan fayda gördüler. Gerek bazal gerekse de 3.ay sonunda hastaların plazma ET-1 ve TGF- $\beta$  düzeylerinde belirgin farklılık saptanmadı. Bu literatürde tip 2 DM hastalarında insülin duyarlılaştırıcı ajanların serum TGF- $\beta$  ve plazma ET-1 düzeylerine etkisi ile ilgili ilk sonuçtur.

Bu çalışmadaki amaç metformin ve roziglitazon kullanımının plazma ET1 düzeyine olan etkisini değerlendirmek olduğundan sağlıklı kontrol grubu kullanılmamıştır. Bir çok çalışmada plazma ET-1'in diyabetiklerde sağlıklı insanlara göre yüksek konsantrasyonda olduğu gösterilmiştir [6, 15]. Plazma ET-1 düzeyinin normal insanlarda  $0,34 \text{ fmol/ml}$  olduğu bildirilse de vasküler endotelin bütünlüğünü bozan inflamasyon, shear stress gibi faktörler ile ET-1 düzeyi değişir ve çok dinamik bir değişim söz konusudur. Bu nedenlerden dolayı ET-1 düzeyi söz konusu olduğunda normal bir eşik değer belirlenmesi doğru olmayabilir.

Çalışmaya katılan hastalar bazal ve 3.ay  $a_{1c}$ 'lerine göre iki gruba ayrıldıklarında  $A_{1c}$ 'si  $\%7$ 'nin üzerinde olan hastaların ortalama bazal ve 3.ay ET-1 düzeyleri ile  $A_{1c}$ 'si  $\%6,5-7$  arasında olan hastaların ortalama bazal ve 3.ay ET-1 düzeyleri arasında fark yoktu. Glisemik kontrolün ET-1 düzeyleri ile olan ilişkisini değerlendirmek için yapılan diğer bir analizde 3.ayda ET-1 düzeyi bazal ET-1'e göre artmış saptanan hastalar ile 3.ay ET-1 düzeylerinde azalma saptanan hastaların 3.ay  $A_{1c}$  düzeyi karşılaştırıldığında ortalama ET-1 düzeyi azalan grubun  $A_{1c}$ 'sinin diğer gruba göre daha düşük olduğu saptandı ( $\% 6,95$  vs  $\% 7,43$   $p=0,106$ ). Sonuçlar arasında farklar olsa da istatistiksel anlamlılığın gösterilemeyişi nedeniyle iyi glisemik kontrol ve ET-1 düzeyleri arasındaki ilişki hakkında kesin yargılara varılamamaktadır. Literatürde Tip 2 diabetiklerde ET-1 ve  $A_{1c}$  düzeyi ilişkisi hakkında çelişkili sonuçlar mevcuttur. Bu iki parametre arasında korelasyon olduğunu gösteren çalışmaların yanısıra [14, 165], herhangi bir ilişki saptamayan çalışmalar da bulunmaktadır

[15]. Kakizawa ve ark. 2004 yılındaki çalışmalarında glisemik kontrolün düzelmesinin plazma ET-1 düzeylerine olumlu etkisinin olmadığını göstermişlerdir [15]. Yine 2004 yılında yayınlanan bir çalışmada Pontiroli ve ark. plazma ET-1 düzeylerinin regülasyonunda vücut ağırlığında azalmanın glisemik kontrolden daha önemli olduğunu göstermişlerdir [136].

Bazal serum TGF- $\beta$  düzeylerinde 3.ay düşme saptanan grup ile artış saptanan grup karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı farklar sadece bazal A1c ve bazal TKŞ'de saptandı. Ancak TGF- $\beta$  düzeyinde 3.ay sonunda artış olan hastaların 3.ay sonundaki glisemik kontrolleri istatistiksel olarak anlamlı olmasa da diğer gruba göre belirgin olarak bozuktur. Literatürde de glisemik kontrol ve serum TGF-beta ilişkisi tartışmalıdır. Pfeiffer ve ark. 44 tip 2 diabetik hasta ve 28 sağlıklı kontrolü dahil ettikleri çalışmalarında TGF- $\beta$ 1 düzeyinin diyabetiklerde sağlıklı kontrollere göre anlamlı yüksek ve A<sub>1c</sub> düzeyi ile de korele olduğunu göstermişlerdir [136]. Glisemik kontrol ile TGF- $\beta$  düzeyleri arasında korelasyon olmadığını gösteren çalışmalar da mevcuttur [137, 149].

Bu çalışmada glisemik kontrolün plazma ET-1 ve serum TGF- $\beta$  düzeylerine anlamlı bir etkisi gösterilememiştir. Kakizawa ve ark. çalışmalarında yüksek trigliserid düzeylerine sahip olan bireylerde glisemik kontrolün iyi olmasına rağmen plazma ET-1 düzeyindeki iyileşmenin beklenenden az olduğunu belirterek hipertrigliserideminin bu yanıtı baskılayabileceğini belirtmişlerdir. İlginç olarak bizim çalışmamızda da tüm hastalar değerlendirildiğinde 3.ayın sonunda bazale göre trigliserid düzeyinde anlamlı artma olmuştur ve A1c değeri 3.ayın sonunda %7'nin altında olan hastalardaki plazma ET-1 değişimi istatistiksel anlamlılığa ulaşmamıştır (Grafik 5). Plazma ET-1 değişimini köreltebilecek diğer faktörler ise ET-1 düzeylerinde olumlu yönde değişim olması için daha uzun bir süre gerekliliği veya ET-1 üretimi bir kez başladıktan sonra diğer faktörler düzelse de üretimin önlenememesi olabilir. Çalışmamızda bazale göre TGF- $\beta$  düzeyi artan hastaların 3.ay glisemik kontrolleri bozuk olarak saptanmasına rağmen sonuçların anlamlı olmamasının en önemli nedeni hasta sayısının yetersizliği olabilir.

Çalışmaya katılan hastaların ET-1 düzeylerine glisemik kontrol dışında etki eden parametreler araştırıldığında 3.ay ET-1 ile 3.ay bel çevresi ve bel/kalça oranı arasındaki korelasyon hastaların bel çevreleri arttıkça plazma ET-1 düzeyinin de arttığını gösterdi. Bu gözlem daha önceden yapılmış olan çalışmalarda da saptanmıştır. Viseral adipozite artışı inflamatuvar sitokinlerin düzeyindeki artışa neden olarak endotelial aktivasyona neden olmaktadır. Çalışmaya katılan hasta grubunda 3.ayın sonunda anlamlı vücut ağırlığı azalması olmadığı için plazma ET-1 düzeyi ile arasında beklenen korelasyon gösterilemedi..

Literatürde VKİ'nin ET-1 üzerine etkileri tartışmalıdır. Ak ve ark. çalışmasında VKİ ile ET-1 arasında ilişki gösterememişlerdir [188]. Yakın zamanda yapılan başka bir çalışmada dolaşımdaki ET-1 düzeyinin kontrolünde kilo kaybının glisemik kontrolden daha önemli olduğu saptanmıştır [250].

Grainger ve ark. diabetiklerde lipoproteinlerin in-vivo TGF-beta aktivitesini azaltabileceğini ve non-diabetiklerde TG'den zengin lipoprotein artışının da yine TGF-beta aktivitesini azaltabileceğini göstermişlerdir [251]. Grainger ve ark. TGF-beta'nın aktivitesinin azaltılmasında lipoproteinler tarafından uzaklaştırılmalarının önemli olduğunu saptamışlardır. Başka araştırmacılar da serum LDL-kolesterolü ile serum TGF-beta arasında negatif korelasyon bulmuşlardır. Bizim hasta grubumuzda 3.ay TGF-beta düzeyi ile 3.ay LDL-kolesterol düzeyi arasında zayıf ( $r=-0,208$   $p>0,05$ ), 3.ay trigliserid düzeyi arasında ise orta güçte korelasyon ( $r=-0,247$   $p>0,05$ ) saptandı. Bu bulgular Grainger ve ark. TGF-beta'nın lipoproteinler aracılı sekestrasyon hipotezine kısmen destek olan sonuçlardır. Diyabetiklerde bu şekilde gelişen TGF-beta sekestrasyonu ile endotelial hücrelerde aterogenezin erken dönemlerinde ortaya çıkan inflamatuvar sitokinler aracılı aktivasyonun inhibe edilemediği ve aterosklerotik kalp hastalığına yatkınlık geliştiği de düşünülmektedir.

Glisemik kontrol dışındaki parametreler ile serum TGF-beta düzeylerinin ilişkisi irdelendiğinde TGF- $\beta$  düzeylerinin obez kişilerde yüksek olduğu bilinmekle bizim hasta grubumuzda bu gösterilememiştir. Daha da ilginç olarak bazal TGF- $\beta$  düzeyi ile bazal kalça çevresi ve 3.ay TGF- $\beta$  düzeyi ile de 3.ay bel çevresi arasında negatif korelasyon saptanmıştır. Literatüre aykırı bu sonucun değerlendirilmesinde Grainger ve ar. Hipotezi yol gösterici olabilir. Adipozite ile ilişkili lipoprotein düzeyi artışının TGF- $\beta$  sekestrasyonuna neden olabileceği düşünülebilir.

Tüm hastaların verileri birlikte değerlendirildiğinde saptanan diğer bir korelasyon bazal ET-1 ile bazal TGF- $\beta$  arasındaki korelasyondur ( $r=0,331$   $p=0,032$ ). Çalışma grubu diyabetin mikrovasküler ve makrovasküler komplikasyonlarının henüz gelişmediği hastalardan oluşmaktadır. Ancak bu hastalarda ve bozulmuş glukoz toleransı olan kişilerde endotelial aktivasyon ve disfonksiyon ve yüksek plazma ET-1 düzeyleri bir çok çalışmada gösterilmiştir [13-15, 94]. Benzer şekilde glomerüler epitelin (podosit), erken dönemde hasarlandığını gösteren çalışmalar mevcuttur. Pagtalunan ve ark. tip 2 diyabetiklerdeki çalışmalarında glomerüler bazal membran kalınlığını mikroalbuminürik ve normoalbuminürik grupta benzer ve erken diyabetiklere göre anlamlı artmış olarak saptanmıştır [10]. Diyabetik nefropati gelişiminde ve progresyonunda suçlanan TGF- $\beta$  ve ET-1'in normoalbuminürik tip 2

diabetiklerde yüksek saptanması [14, 189] mikroalbuminürik dönem öncesinde de bu hastalarda erken renal etkilenme olduğunu düşündürmektedir. Bu bilgilerin ışığında hastalarımızda bazal ET-1 ve bazal TGF- $\beta$ 'nın korele saptanması endotelial aktivasyonu olanlarda glomerüler etkilenmenin de olduğunu düşündürmektedir. Aynı zamanda plazma ET-1 düzeyi glomerüler hasarın göstergelerinden biridir. Glomerülopatinin diğer bir göstergesi olan serum TGF- $\beta$  ile korele bulunması bu iki parametrenin renal etkilenme göstergesi olarak da güvenle kullanımlarını destekleyebilir. Bu güne kadar literatürde tip 2 diyabetik hasta grubunda plazma ET-1 düzeyi ve serum TGF-beta düzeyini birlikte değerlendiren bir çalışma yoktur.

Gerek Metformin tedavisi alan grupta gerekse de Roziglitazon tedavisi alan grupta tedavinin 3. ayında plazma ET-1 ve serum TGF-beta düzeylerinde bazal değerlere göre istatistiksel anlamlı fark saptanmadı. Ayrıca her iki grubun birbirleri ile karşılaştırılmasında da bu iki parametre açısından fark yoktu. Ancak Roziglitazon tedavisi alanlarda plazma ET-1 düzeyindeki gerileme daha belirgindi. Roziglitazon tedavisi ile saptanan değişikliğin istatistiksel olarak anlamlılığının gösterilemeyişinin nedeni kontrollerin tedavinin 3 ayında yapılmış olması olabilir. Tedavi süresinin 6 aya tamamlanması ile farkın daha da belirgin hale gelebileceği beklenebilir çünkü insülin duyarlılaştırıcıların plazma ET-1 düzeyine etkisini gösteren ve Metformin ile yapılan tek çalışmada polikistik over sendromlu hastalarda Metformin'in plazma ET-1 düzeylerini azalttığı 6. ayda gösterilmiştir [201].

Bu çalışma literatürde tip 2 DM'de Roziglitazon ve Metformin tedavilerinin plazma ET-1 düzeylerine etkisi ile ilgili ilk çalışmadır. Metformin tedavisinin plazma ET-1 düzeylerine etkisi bugüne kadar sadece polikistik over sendromunda çalışılmış ve bu çalışmada 6 aylık tedavi ile plazma ET-1 düzeyinde azalma saptanmıştır [201]. Hasta grubumuzda metformin'in ET-1 düzeylerinde anlamlı bir etkisi gösterilememiştir. Bunun nedeni tedavi süresinin yetersizliği olabilir. Roziglitazon'un 3. aydaki etkisinin daha belirgin olması da etkinliğin başlamasının Roziglitazon için daha hızlı olduğunu düşündürmektedir.

Glitazonlar'ın diabetik nefropati gelişimi ve progresyonuna etkileri ile ilgili insan çalışmalarında en sık değerlendirilen parametre mikroalbuminüridir. Troglitazon'un, roziglitazon'un ve pioglitazon'un tip 2 diabetik hastalarda mikroalbuminüriyi azalttığı çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir [12, 247-249]. Roziglitazon'un diabetik nefropati gelişimini ve progresyonunu önlediği ve bu etkisini glisemik kontrolü sağlayarak gösterdiği bilinmektedir. Hayvan çalışmalarında TZD'lerin nefropatiden koruyucu etkilerinin sadece glisemik kontrol aracılığıyla olmadığı ve kan şekeri regülasyonundan bağımsız etkileri olduğu da gösterilmiştir. Hasta grubumuzda Roziglitazon tedavisi ile 3. ayda görülen TGF-beta düzeyinde azalma

anlamli değildir. Bu Rozigitazon tedavisinin serum TGF-beta düzeylerine etkisini gösteren ilk çalışma olduğu için önemli bir veridir. Çalışma süresinin kısa olması etkinliğin anlamli olacak düzeylerde saptanmamasının nedeni olabilir. Metformin tedavisi ile saptanan istatistiksel anlamli olmayan serum TGF-beta artışı da literatürde yeni bir veridir. Her iki grupta 3. ay mikroalbuminüri gelişen hastaların sayısı az ve her iki grupta bu hastalar çıkarıldıktan sonraki 3.ay mikroalbumin atılımı da birbirinden farklı olmadığı için metforminin bu etkisinin nefropati gelişimi için bir risk oluşturabileceği spekülatif olur.

TGF-beta düzeylerinin üriner albumin atılımı ile olan ilişkisi çalışmamızda bir kez daha gösterilmiştir. 3.ayda mikroalbuminürisi saptanan hastalar ile normoalbuminürik hastaların TGF-beta düzeyleri karşılaştırıldığında anlamli fark olmaması olasılıkla almış oldukları farklı tedavilerle ilişkilidir. nc ay sonunda mikroalbuminürisi gelişen hastaların bazal TGF-beta düzeyleri diğer hastalardan anlamli olarak yüksek saptanmıştır. Bazal TGF-beta düzeyleri mikroalbuminüri gelişimi için önemli bir prediktör olarak kabul edilebilir. Bu durum TGF-beta düzeyinde başlayan artışın başta Smad'lar olmak üzere intrasellüler proteinleri uyararak renal hasarlanmayı başlattığını gösterir. Bu durum TGF-beta-Smad sistemi uyarıldıktan sonra TGF-beta düzeyleri gerilese de renal hasarlanmanın sürdüğünü düşündürmektedir.

Çalışma boyunca LDL-kolesterol hedefine ulaşabilmek için simvastatin kullanıldı. Bu grup daha önce çeşitli statinler kullanmış veya kullanıp ara vermiş hastalardan oluşmaktaydı ve 1 aylık standardizasyon periyodundan itibaren tedavileri uygun dozda simvastatin ile düzenlendi. Statinlerin lipid düşürücü etkileri dışında endotelyal aktivasyonu, inflamasyonu azaltan, aterom plak stabilizasyonunu arttıran pleotropik etkileri bilinmektedir. Bu çalışmada simvastatinin ET-1 düşürücü etkinliği istatistiksel olarak anlamli değildi. Tedavi süresinin 3 ay olması ve ortalama 20 mg gibi düşük dozda kullanımı farkın daha belirli olmasını engellemiş olabilir.



## **7. SONUÇ ve ÖNERİLER**

Bu çalışma tip 2 diyabetik hastalarda roziglitazon ve metformin tedavilerinin plazma ET-1 ve serum TGF- $\beta$  düzeylerine etkileri ile ilgili ilk çalışmadır. Rozigitazon'un anlamlı olmayan biçimde plazma ET-1 ve serum TGF- $\beta$  düzeylerini azalttığı saptanmıştır. Üç aylık tedavi süresinin uzatılması ile tedavinin bu parametrelerdeki etkinliği daha net değerlendirilebilir. Üçüncü ay sonunda mikroalbuminürisi gelişen hastaların bazal TGF-beta düzeylerinin diğer hastalardan anlamlı olarak yüksek saptanması TGF-beta düzeylerinin mikroalbuminüri gelişimi için önemli bir prediktör olarak kabul edilebileceğini düşündürmektedir. Bu durum TGF-beta düzeyinde başlayan artışın başta Smad'lar olmak üzere intrasellüler proteinleri uyararak renal hasarlanmayı başlattığını ve TGF-beta-Smad sistemi aktifleştikten sonra TGF-beta değişiminden bağımsız olarak bu etkinin sürdüğünü düşündürmektedir.



## **8. KAYANAKLAR**

1. *Clinical Practice Recommendations 2005*, in *Diabetes Care*. 2005. p. S1-79.
2. *Economic consequences of diabetes mellitus in the U.S. in 1997*. American Diabetes Association. *Diabetes Care*, 1998. **21**(2): p. 296-309.
3. Xu, D., et al., *ECE-1: a membrane-bound metalloprotease that catalyzes the proteolytic activation of big endothelin-1*. *Cell*, 1994. **78**(3): p. 473-85.
4. Caballero, A.E., et al., *Microvascular and macrovascular reactivity is reduced in subjects at risk for type 2 diabetes*. *Diabetes*, 1999. **48**(9): p. 1856-62.
5. Wollesen, F., L. Berglund, and C. Berne, *Plasma endothelin-1 and total insulin exposure in diabetes mellitus*. *Clin Sci (Lond)*, 1999. **97**(2): p. 149-56.
6. Piatti, P.M., et al., *Relationship between endothelin-1 concentration and metabolic alterations typical of the insulin resistance syndrome*. *Metabolism*, 2000. **49**(6): p. 748-52.
7. Jiang, Z.Y., et al., *Endothelin-1 modulates insulin signaling through phosphatidylinositol 3-kinase pathway in vascular smooth muscle cells*. *Diabetes*, 1999. **48**(5): p. 1120-30.
8. Locatelli, F., et al., *The importance of diabetic nephropathy in current nephrological practice*. *Nephrol Dial Transplant*, 2003. **18**(9): p. 1716-25.
9. van Dijk, C. and T. Berl, *Pathogenesis of diabetic nephropathy*. *Rev Endocr Metab Disord*, 2004. **5**(3): p. 237-48.
10. Pagtalunan, M.E., et al., *Podocyte loss and progressive glomerular injury in type II diabetes*. *J Clin Invest*, 1997. **99**(2): p. 342-8.
11. Bruno, G., et al., *Progression to overt nephropathy in type 2 diabetes: the Casale Monferrato Study*. *Diabetes Care*, 2003. **26**(7): p. 2150-5.
12. Bakris, G., et al., *Rosiglitazone reduces urinary albumin excretion in type II diabetes*. *J Hum Hypertens*, 2003. **17**(1): p. 7-12.
13. Yu, Y., et al., *Insulin resistance and endothelial dysfunction in type 2 diabetes patients with or without microalbuminuria*. *Diabetes Res Clin Pract*, 2004. **65**(2): p. 95-104.
14. Bagg, W., et al., *The influences of obesity and glycemic control on endothelial activation in patients with type 2 diabetes*. *J Clin Endocrinol Metab*, 2001. **86**(11): p. 5491-7.
15. Kakizawa, H., et al., *The relationship between glycemic control and plasma vascular endothelial growth factor and endothelin-1 concentration in diabetic patients*. *Metabolism*, 2004. **53**(5): p. 550-5.
16. Charles, M.A., et al., *Effect of weight change and metformin on fibrinolysis and the von Willebrand factor in obese nondiabetic subjects: the BIGPRO1 Study*. *Biguanides and the Prevention of the Risk of Obesity*. *Diabetes Care*, 1998. **21**(11): p. 1967-72.
17. Cefalu, W.T., et al., *Effect of combination glipizide GITS/metformin on fibrinolytic and metabolic parameters in poorly controlled type 2 diabetic subjects*. *Diabetes Care*, 2002. **25**(12): p. 2123-8.
18. Mather, K.J., S. Verma, and T.J. Anderson, *Improved endothelial function with metformin in type 2 diabetes mellitus*. *J Am Coll Cardiol*, 2001. **37**(5): p. 1344-50.
19. Pistrosch, F., et al., *In type 2 diabetes, rosiglitazone therapy for insulin resistance ameliorates endothelial dysfunction independent of glucose control*. *Diabetes Care*, 2004. **27**(2): p. 484-90.
20. Vinik, A.I., K.B. Stansberry, and P.M. Barlow, *Rosiglitazone treatment increases nitric oxide production in human peripheral skin: a controlled clinical trial in patients with type 2 diabetes mellitus*. *J Diabetes Complications*, 2003. **17**(5): p. 279-85.

21. *Diagnosis and classification of diabetes mellitus*. Diabetes Care, 2004. **27 Suppl 1**: p. S5-S10.
22. Kenneth L. Becker Principles and Practice of Endocrinology and Metabolism 3rd Edition
23. Czoski-Murray, C., et al., *Clinical effectiveness and cost-effectiveness of pioglitazone and rosiglitazone in the treatment of type 2 diabetes: a systematic review and economic evaluation*. Health Technol Assess, 2004. **8(13)**: p. iii, ix-x, 1-91.
24. Shaw, J.E. and D.J. Chisholm, *1: Epidemiology and prevention of type 2 diabetes and the metabolic syndrome*. Med J Aust, 2003. **179(7)**: p. 379-83.
25. Putzer, G.J., et al., *Prevalence of patients with type 2 diabetes mellitus reaching the American Diabetes Association's target guidelines in a university primary care setting*. South Med J, 2004. **97(2)**: p. 145-8.
26. Dunstan, D.W., et al., *The rising prevalence of diabetes and impaired glucose tolerance: the Australian Diabetes, Obesity and Lifestyle Study*. Diabetes Care, 2002. **25(5)**: p. 829-34.
27. Satman, I., et al., *Population-based study of diabetes and risk characteristics in Turkey: results of the turkish diabetes epidemiology study (TURDEP)*, in *Diabetes Care*. 2002. p. 1551-6.
28. Simpson, R.W., J.E. Shaw, and P.Z. Zimmet, *The prevention of type 2 diabetes--lifestyle change or pharmacotherapy? A challenge for the 21st century*. Diabetes Res Clin Pract, 2003. **59(3)**: p. 165-80.
29. Kahn, C.R., *Banting Lecture. Insulin action, diabetogenes, and the cause of type II diabetes*. Diabetes, 1994. **43(8)**: p. 1066-84.
30. Principles and Practice of Endocrinology and Metabolism 3rd Edition Part IX Section B Kenneth L.Becker Lipincott Williams &Wilkins
31. Cheatham, B. and C.R. Kahn, *Insulin action and the insulin signaling network*. Endocr Rev, 1995. **16(2)**: p. 117-42.
32. Czech, M.P. and S. Corvera, *Signaling mechanisms that regulate glucose transport*. J Biol Chem, 1999. **274(4)**: p. 1865-8.
33. Joost, H.G. and B. Thorens, *The extended GLUT-family of sugar/polyol transport facilitators: nomenclature, sequence characteristics, and potential function of its novel members (review)*. Mol Membr Biol, 2001. **18(4)**: p. 247-56.
34. Thorens, B., *GLUT2 in pancreatic and extra-pancreatic gluco-detection (review)*. Mol Membr Biol, 2001. **18(4)**: p. 265-73.
35. Gerich, J.E., *The genetic basis of type 2 diabetes mellitus: impaired insulin secretion versus impaired insulin sensitivity*. Endocr Rev, 1998. **19(4)**: p. 491-503.
36. Lebovitz, H.E., *Insulin resistance: definition and consequences*. Exp Clin Endocrinol Diabetes, 2001. **109 Suppl 2**: p. S135-48.
37. Vague, J., *The degree of masculine differentiation of obesities: a factor determining predisposition to diabetes, atherosclerosis, gout, and uric calculous disease*. Am J Clin Nutr, 1956. **4(1)**: p. 20-34.
38. Reaven, G.M., *Banting lecture 1988. Role of insulin resistance in human disease*. Diabetes, 1988. **37(12)**: p. 1595-607.
39. Bloomgarden, Z.T., *The 1st World Congress on the Insulin Resistance Syndrome*. Diabetes Care, 2004. **27(2)**: p. 602-9.
40. Lebovitz, H.E. and M.A. Banerji, *Treatment of insulin resistance in diabetes mellitus*. Eur J Pharmacol, 2004. **490(1-3)**: p. 135-46.
41. Kriketos, A.D., et al., *Inflammation, insulin resistance, and adiposity: a study of first-degree relatives of type 2 diabetic subjects*. Diabetes Care, 2004. **27(8)**: p. 2033-40.

42. Barker, D.J., et al., *Weight in infancy and death from ischaemic heart disease*. Lancet, 1989. **2**(8663): p. 577-80.
43. Banerji, M.A., et al., *Relationship of visceral adipose tissue and glucose disposal is independent of sex in black NIDDM subjects*. Am J Physiol, 1997. **273**(2 Pt 1): p. E425-32.
44. Goodpaster, B.H., et al., *Effects of weight loss on regional fat distribution and insulin sensitivity in obesity*. Diabetes, 1999. **48**(4): p. 839-47.
45. Farooqi, I.S., et al., *Effects of recombinant leptin therapy in a child with congenital leptin deficiency*. N Engl J Med, 1999. **341**(12): p. 879-84.
46. Farooqi, I.S., et al., *Beneficial effects of leptin on obesity, T cell hyporesponsiveness, and neuroendocrine/metabolic dysfunction of human congenital leptin deficiency*. J Clin Invest, 2002. **110**(8): p. 1093-103.
47. Cnop, M., et al., *Relationship of adiponectin to body fat distribution, insulin sensitivity and plasma lipoproteins: evidence for independent roles of age and sex*. Diabetologia, 2003. **46**(4): p. 459-69.
48. Hotta, K., et al., *Circulating concentrations of the adipocyte protein adiponectin are decreased in parallel with reduced insulin sensitivity during the progression to type 2 diabetes in rhesus monkeys*. Diabetes, 2001. **50**(5): p. 1126-33.
49. Weyer, C., et al., *Hypoadiponectinemia in obesity and type 2 diabetes: close association with insulin resistance and hyperinsulinemia*. J Clin Endocrinol Metab, 2001. **86**(5): p. 1930-5.
50. Cooper, M.E., *Pathogenesis, prevention, and treatment of diabetic nephropathy*. Lancet, 1998. **352**(9123): p. 213-9.
51. Mogensen, C.E., *How to protect the kidney in diabetic patients: with special reference to IDDM*. Diabetes, 1997. **46 Suppl 2**: p. S104-11.
52. Ritz, E. and S.R. Orth, *Nephropathy in patients with type 2 diabetes mellitus*. N Engl J Med, 1999. **341**(15): p. 1127-33.
53. Pettitt, D.J., et al., *Familial predisposition to renal disease in two generations of Pima Indians with type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus*. Diabetologia, 1990. **33**(7): p. 438-43.
54. McGill, M.J., et al., *Ethnic differences in the prevalence of hypertension and proteinuria in NIDDM*. Diabetes Res Clin Pract, 1996. **33**(3): p. 173-9.
55. Cowie, C.C., et al., *Disparities in incidence of diabetic end-stage renal disease according to race and type of diabetes*. N Engl J Med, 1989. **321**(16): p. 1074-9.
56. Freedman, B.I., et al., *The familial risk of end-stage renal disease in African Americans*. Am J Kidney Dis, 1993. **21**(4): p. 387-93.
57. Imperatore, G., et al., *Sib-pair linkage analysis for susceptibility genes for microvascular complications among Pima Indians with type 2 diabetes*. Pima Diabetes Genes Group. Diabetes, 1998. **47**(5): p. 821-30.
58. Vardarli, I., et al., *Gene for susceptibility to diabetic nephropathy in type 2 diabetes maps to 18q22.3-23*. Kidney Int, 2002. **62**(6): p. 2176-83.
59. Nosadini, R. and G. Tonolo, *Relationship between blood glucose control, pathogenesis and progression of diabetic nephropathy*. J Am Soc Nephrol, 2004. **15 Suppl 1**: p. S1-5.
60. Heidland, A., K. Sebekova, and R. Schinzel, *Advanced glycation end products and the progressive course of renal disease*. Am J Kidney Dis, 2001. **38**(4 Suppl 1): p. S100-6.
61. Brownlee, M., A. Cerami, and H. Vlassara, *Advanced glycosylation end products in tissue and the biochemical basis of diabetic complications*. N Engl J Med, 1988. **318**(20): p. 1315-21.

62. Tanji, N., et al., *Expression of advanced glycation end products and their cellular receptor RAGE in diabetic nephropathy and nondiabetic renal disease.* J Am Soc Nephrol, 2000. **11**(9): p. 1656-66.
63. Tanaka, S., et al., *Glycation induces expansion of the molecular packing of collagen.* J Mol Biol, 1988. **203**(2): p. 495-505.
64. Haitoglou, C.S., et al., *Altered cellular interactions between endothelial cells and nonenzymatically glucosylated laminin/type IV collagen.* J Biol Chem, 1992. **267**(18): p. 12404-7.
65. Bucala, R., K.J. Tracey, and A. Cerami, *Advanced glycosylation products quench nitric oxide and mediate defective endothelium-dependent vasodilatation in experimental diabetes.* J Clin Invest, 1991. **87**(2): p. 432-8.
66. Singh, R., et al., *Advanced glycation end-products: a review.* Diabetologia, 2001. **44**(2): p. 129-46.
67. Lal, M.A., et al., *Role of oxidative stress in advanced glycation end product-induced mesangial cell activation.* Kidney Int, 2002. **61**(6): p. 2006-14.
68. Li, J. and A.M. Schmidt, *Characterization and functional analysis of the promoter of RAGE, the receptor for advanced glycation end products.* J Biol Chem, 1997. **272**(26): p. 16498-506.
69. Pugliese, G., et al., *Upregulation of mesangial growth factor and extracellular matrix synthesis by advanced glycation end products via a receptor-mediated mechanism.* Diabetes, 1997. **46**(11): p. 1881-7.
70. Lu, M., et al., *Advanced glycation end products increase retinal vascular endothelial growth factor expression.* J Clin Invest, 1998. **101**(6): p. 1219-24.
71. Yang, C.W., et al., *Advanced glycation end products up-regulate gene expression found in diabetic glomerular disease.* Proc Natl Acad Sci U S A, 1994. **91**(20): p. 9436-40.
72. Wautier, M.P., et al., *Activation of NADPH oxidase by AGE links oxidant stress to altered gene expression via RAGE.* Am J Physiol Endocrinol Metab, 2001. **280**(5): p. E685-94.
73. Oldfield, M.D., et al., *Advanced glycation end products cause epithelial-myofibroblast transdifferentiation via the receptor for advanced glycation end products (RAGE).* J Clin Invest, 2001. **108**(12): p. 1853-63.
74. Lee, H.B., et al., *Reactive oxygen species-regulated signaling pathways in diabetic nephropathy.* J Am Soc Nephrol, 2003. **14**(8 Suppl 3): p. S241-5.
75. Gabbita, S.P., et al., *Redox regulatory mechanisms of cellular signal transduction.* Arch Biochem Biophys, 2000. **376**(1): p. 1-13.
76. Wang, X., et al., *Inhibition of the Jak/STAT signaling pathway prevents the high glucose-induced increase in tgf-beta and fibronectin synthesis in mesangial cells.* Diabetes, 2002. **51**(12): p. 3505-9.
77. Simon, A.R., et al., *Activation of the JAK-STAT pathway by reactive oxygen species.* Am J Physiol, 1998. **275**(6 Pt 1): p. C1640-52.
78. Ziyadeh, F.N., et al., *Long-term prevention of renal insufficiency, excess matrix gene expression, and glomerular mesangial matrix expansion by treatment with monoclonal antitransforming growth factor-beta antibody in db/db diabetic mice.* Proc Natl Acad Sci U S A, 2000. **97**(14): p. 8015-20.
79. Greene, D.A., S.A. Lattimer, and A.A. Sima, *Sorbitol, phosphoinositides, and sodium-potassium-ATPase in the pathogenesis of diabetic complications.* N Engl J Med, 1987. **316**(10): p. 599-606.
80. Steer, K.A., M. Sochor, and P. McLean, *Renal hypertrophy in experimental diabetes. Changes in pentose phosphate pathway activity.* Diabetes, 1985. **34**(5): p. 485-90.

81. Ghahary, A., et al., *Increased renal aldose reductase activity, immunoreactivity, and mRNA in streptozocin-induced diabetic rats*. *Diabetes*, 1989. **38**(8): p. 1067-71.
82. Heesom, A.E., et al., *Polymorphism in the 5'-end of the aldose reductase gene is strongly associated with the development of diabetic nephropathy in type I diabetes*. *Diabetes*, 1997. **46**(2): p. 287-91.
83. Shah, V.O., et al., *Aldose reductase gene expression is increased in diabetic nephropathy*. *J Clin Endocrinol Metab*, 1997. **82**(7): p. 2294-8.
84. Raats, C.J., J. Van Den Born, and J.H. Berden, *Glomerular heparan sulfate alterations: mechanisms and relevance for proteinuria*. *Kidney Int*, 2000. **57**(2): p. 385-400.
85. Denzer, A.J., et al., *Electron microscopic structure of agrin and mapping of its binding site in laminin-1*. *Embo J*, 1998. **17**(2): p. 335-43.
86. Denzer, A.J., et al., *An amino-terminal extension is required for the secretion of chick agrin and its binding to extracellular matrix*. *J Cell Biol*, 1995. **131**(6 Pt 1): p. 1547-60.
87. Denzer, A.J., et al., *Agrin binds to the nerve-muscle basal lamina via laminin*. *J Cell Biol*, 1997. **137**(3): p. 671-83.
88. Colognato, H., et al., *The laminin alpha2-chain short arm mediates cell adhesion through both the alpha1beta1 and alpha2beta1 integrins*. *J Biol Chem*, 1997. **272**(46): p. 29330-6.
89. Kjellen, L. and U. Lindahl, *Proteoglycans: structures and interactions*. *Annu Rev Biochem*, 1991. **60**: p. 443-75.
90. Salmivirta, M., K. Lidholt, and U. Lindahl, *Heparan sulfate: a piece of information*. *Faseb J*, 1996. **10**(11): p. 1270-9.
91. Kanwar, Y.S. and L.J. Rosenzweig, *Clogging of the glomerular basement membrane*. *J Cell Biol*, 1982. **93**(2): p. 489-94.
92. Wang, A., M.Y. Fan, and D.M. Templeton, *Growth modulation and proteoglycan turnover in cultured mesangial cells*. *J Cell Physiol*, 1994. **159**(2): p. 295-310.
93. Gambaro, G. and F.J. van der Woude, *Glycosaminoglycans: use in treatment of diabetic nephropathy*. *J Am Soc Nephrol*, 2000. **11**(2): p. 359-68.
94. Parving, H.H., et al., *Macro-microangiopathy and endothelial dysfunction in NIDDM patients with and without diabetic nephropathy*. *Diabetologia*, 1996. **39**(12): p. 1590-7.
95. Gilbert, R.E., et al., *The renin-angiotensin system and the long-term complications of diabetes: pathophysiological and therapeutic considerations*. *Diabet Med*, 2003. **20**(8): p. 607-21.
96. Singh, R., et al., *Role of angiotensin II in glucose-induced inhibition of mesangial matrix degradation*. *Diabetes*, 1999. **48**(10): p. 2066-73.
97. Zhang, S.L., et al., *Molecular mechanisms of glucose action on angiotensinogen gene expression in rat proximal tubular cells*. *Kidney Int*, 1999. **55**(2): p. 454-64.
98. Wolf, G., et al., *Angiotensin II-stimulated expression of transforming growth factor beta in renal proximal tubular cells: attenuation after stable transfection with the c-mas oncogene*. *Kidney Int*, 1995. **48**(6): p. 1818-27.
99. Ziyadeh, F.N., et al., *Stimulation of collagen gene expression and protein synthesis in murine mesangial cells by high glucose is mediated by autocrine activation of transforming growth factor-beta*. *J Clin Invest*, 1994. **93**(2): p. 536-42.
100. Ruiz-Ortega, M., O. Lorenzo, and J. Egido, *Angiotensin III up-regulates genes involved in kidney damage in mesangial cells and renal interstitial fibroblasts*. *Kidney Int Suppl*, 1998. **68**: p. S41-5.

101. Sharma, K., et al., *Captopril-induced reduction of serum levels of transforming growth factor-beta1 correlates with long-term renoprotection in insulin-dependent diabetic patients*. *Am J Kidney Dis*, 1999. **34**(5): p. 818-23.
102. Houlihan, C.A., et al., *Urinary transforming growth factor-beta excretion in patients with hypertension, type 2 diabetes, and elevated albumin excretion rate: effects of angiotensin receptor blockade and sodium restriction*. *Diabetes Care*, 2002. **25**(6): p. 1072-7.
103. Viberti, G. and N. Chaturvedi, *Angiotensin converting enzyme inhibitors in diabetic patients with microalbuminuria or normoalbuminuria*. *Kidney Int Suppl*, 1997. **63**: p. S32-5.
104. Raptis, A.E. and G. Viberti, *Pathogenesis of diabetic nephropathy*. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*, 2001. **109 Suppl 2**: p. S424-37.
105. Haneda, M., et al., *Overview of glucose signaling in mesangial cells in diabetic nephropathy*. *J Am Soc Nephrol*, 2003. **14**(5): p. 1374-82.
106. Koya, D., et al., *Amelioration of accelerated diabetic mesangial expansion by treatment with a PKC beta inhibitor in diabetic db/db mice, a rodent model for type 2 diabetes*. *Faseb J*, 2000. **14**(3): p. 439-47.
107. Feliers, D., et al., *Activation of renal signaling pathways in db/db mice with type 2 diabetes*. *Kidney Int*, 2001. **60**(2): p. 495-504.
108. Chuang L.Y. Extracellular signals and intracellular pathways in diabetic nephropathy. *Nephrology* 2001; 6, 165-172
109. Takeda, K. and S. Akira, *STAT family of transcription factors in cytokine-mediated biological responses*. *Cytokine Growth Factor Rev*, 2000. **11**(3): p. 199-207.
110. Zhang, Y. and R. Derynck, *Regulation of Smad signalling by protein associations and signalling crosstalk*. *Trends Cell Biol*, 1999. **9**(7): p. 274-9.
111. Poncelet, A.C., M.P. de Caestecker, and H.W. Schnaper, *The transforming growth factor-beta/SMAD signaling pathway is present and functional in human mesangial cells*. *Kidney Int*, 1999. **56**(4): p. 1354-65.
112. Wisdom, R., *AP-1: one switch for many signals*. *Exp Cell Res*, 1999. **253**(1): p. 180-5.
113. Lim, S.C., et al., *Soluble intercellular adhesion molecule, vascular cell adhesion molecule, and impaired microvascular reactivity are early markers of vasculopathy in type 2 diabetic individuals without microalbuminuria*. *Diabetes Care*, 1999. **22**(11): p. 1865-70.
114. Mogensen, C.E., *Microalbuminuria and hypertension with focus on type 1 and type 2 diabetes*. *J Intern Med*, 2003. **254**(1): p. 45-66.
115. Spoelstra-de Man, A.M., et al., *Rapid progression of albumin excretion is an independent predictor of cardiovascular mortality in patients with type 2 diabetes and microalbuminuria*. *Diabetes Care*, 2001. **24**(12): p. 2097-101.
116. Gerstein, H.C., et al., *Prevalence and determinants of microalbuminuria in high-risk diabetic and nondiabetic patients in the Heart Outcomes Prevention Evaluation Study. The HOPE Study Investigators*. *Diabetes Care*, 2000. **23 Suppl 2**: p. B35-9.
117. Adler, A.I., et al., *Development and progression of nephropathy in type 2 diabetes: the United Kingdom Prospective Diabetes Study (UKPDS 64)*. *Kidney Int*, 2003. **63**(1): p. 225-32.
118. Deferrari, G., M. Ravera, and V. Berruti, *Treatment of diabetic nephropathy in its early stages*. *Diabetes Metab Res Rev*, 2003. **19**(2): p. 101-14.
119. *Intensive blood-glucose control with sulphonylureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patients with type 2 diabetes (UKPDS 33). UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group*. *Lancet*, 1998. **352**(9131): p. 837-53.

120. Shichiri, M., et al., *Long-term results of the Kumamoto Study on optimal diabetes control in type 2 diabetic patients*. *Diabetes Care*, 2000. **23 Suppl 2**: p. B21-9.
121. *Retinopathy and nephropathy in patients with type 1 diabetes four years after a trial of intensive therapy*. *The Diabetes Control and Complications Trial/Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications Research Group*. *N Engl J Med*, 2000. **342(6)**: p. 381-9.
122. Deferrari, G., et al., *Optimizing therapy in the diabetic patient with renal disease: antihypertensive treatment*. *J Am Soc Nephrol*, 2004. **15 Suppl 1**: p. S6-S11.
123. Mulec, H., et al., *Cholesterol: a renal risk factor in diabetic nephropathy?* *Am J Kidney Dis*, 1993. **22(1)**: p. 196-201.
124. Ravid, M., L. Neumann, and M. Lishner, *Plasma lipids and the progression of nephropathy in diabetes mellitus type II: effect of ACE inhibitors*. *Kidney Int*, 1995. **47(3)**: p. 907-10.
125. Krolewski, A.S., J.H. Warram, and A.R. Christlieb, *Hypercholesterolemia--a determinant of renal function loss and deaths in IDDM patients with nephropathy*. *Kidney Int Suppl*, 1994. **45**: p. S125-31.
126. Beckman, J.A., M.A. Creager, and P. Libby, *Diabetes and atherosclerosis: epidemiology, pathophysiology, and management*. *Jama*, 2002. **287(19)**: p. 2570-81.
127. Ziyadeh, F.N., *Mediators of diabetic renal disease: the case for tgf-Beta as the major mediator*. *J Am Soc Nephrol*, 2004. **15 Suppl 1**: p. S55-7.
128. Flanders, K.C., *Smad3 as a mediator of the fibrotic response*. *Int J Exp Pathol*, 2004. **85(2)**: p. 47-64.
129. Steed, D.L., *The role of growth factors in wound healing*. *Surg Clin North Am*, 1997. **77(3)**: p. 575-86.
130. Rossert, J., C. Terraz-Durasnel, and G. Brideau, *Growth factors, cytokines, and renal fibrosis during the course of diabetic nephropathy*. *Diabetes Metab*, 2000. **26 Suppl 4**: p. 16-24.
131. Shankland, S.J., et al., *Expression of transforming growth factor-beta 1 during diabetic renal hypertrophy*. *Kidney Int*, 1994. **46(2)**: p. 430-42.
132. Hong, S.W., et al., *Increased glomerular and tubular expression of transforming growth factor-beta1, its type II receptor, and activation of the Smad signaling pathway in the db/db mouse*. *Am J Pathol*, 2001. **158(5)**: p. 1653-63.
133. Iglesias-de la Cruz, M.C., et al., *Effects of high glucose and TGF-beta1 on the expression of collagen IV and vascular endothelial growth factor in mouse podocytes*. *Kidney Int*, 2002. **62(3)**: p. 901-13.
134. Wendt, T.M., et al., *RAGE drives the development of glomerulosclerosis and implicates podocyte activation in the pathogenesis of diabetic nephropathy*. *Am J Pathol*, 2003. **162(4)**: p. 1123-37.
135. Yamagishi, S., et al., *Advanced glycation end products inhibit de novo protein synthesis and induce TGF-beta overexpression in proximal tubular cells*. *Kidney Int*, 2003. **63(2)**: p. 464-73.
136. Pfeiffer, A., et al., *Elevated plasma levels of transforming growth factor-beta 1 in NIDDM*. *Diabetes Care*, 1996. **19(10)**: p. 1113-7.
137. Sharma, K., et al., *Increased renal production of transforming growth factor-beta1 in patients with type II diabetes*. *Diabetes*, 1997. **46(5)**: p. 854-9.
138. Chen, S., B. Jim, and F.N. Ziyadeh, *Diabetic nephropathy and transforming growth factor-beta: transforming our view of glomerulosclerosis and fibrosis build-up*. *Semin Nephrol*, 2003. **23(6)**: p. 532-43.



139. Weigert, C., et al., *Glutamine:fructose-6-phosphate aminotransferase enzyme activity is necessary for the induction of TGF-beta1 and fibronectin expression in mesangial cells*. Diabetologia, 2003. **46**(6): p. 852-5.
140. Lindschau, C., et al., *Glucose-induced TGF-beta1 and TGF-beta receptor-1 expression in vascular smooth muscle cells is mediated by protein kinase C-alpha*. Hypertension, 2003. **42**(3): p. 335-41.
141. Weigert, C., et al., *Angiotensin II induces human TGF-beta 1 promoter activation: similarity to hyperglycaemia*. Diabetologia, 2002. **45**(6): p. 890-8.
142. Ohno, M., et al., *Fluid shear stress induces endothelial transforming growth factor beta-1 transcription and production. Modulation by potassium channel blockade*. J Clin Invest, 1995. **95**(3): p. 1363-9.
143. Yamamoto, T., et al., *Expression of transforming growth factor-beta isoforms in human glomerular diseases*. Kidney Int, 1996. **49**(2): p. 461-9.
144. Hellmich, B., et al., *Activation of transforming growth factor-beta1 in diabetic kidney disease*. Metabolism, 2000. **49**(3): p. 353-9.
145. Russo, L.M., et al., *The effect of ramipril on albumin excretion in diabetes and hypertension: the role of increased lysosomal activity and decreased transforming growth factor-beta expression*. J Hypertens, 2003. **21**(2): p. 419-28.
146. Esmatjes, E., et al., *Effect of losartan on TGF-beta1 and urinary albumin excretion in patients with type 2 diabetes mellitus and microalbuminuria*. Nephrol Dial Transplant, 2001. **16 Suppl 1**: p. 90-3.
147. Ha, S.W., et al., *Elevation of urinary betaig-h3, transforming growth factor-beta-induced protein in patients with type 2 diabetes and nephropathy*. Diabetes Res Clin Pract, 2004. **65**(2): p. 167-73.
148. De Muro, P., et al., *Urinary transforming growth factor-beta1 in various types of nephropathy*. Pharmacol Res, 2004. **49**(3): p. 293-8.
149. Cohen, M.P., et al., *Glycated albumin increases oxidative stress, activates NF-kappa B and extracellular signal-regulated kinase (ERK), and stimulates ERK-dependent transforming growth factor-beta 1 production in macrophage RAW cells*. J Lab Clin Med, 2003. **141**(4): p. 242-9.
150. Benigni, A., et al., *Add-on anti-TGF-beta antibody to ACE inhibitor arrests progressive diabetic nephropathy in the rat*. J Am Soc Nephrol, 2003. **14**(7): p. 1816-24.
151. Levin, E.R., *Endothelins*. N Engl J Med, 1995. **333**(6): p. 356-63.
152. Sakurai, T., et al., *Cloning of a cDNA encoding a non-isopeptide-selective subtype of the endothelin receptor*. Nature, 1990. **348**(6303): p. 732-5.
153. Seo, B., et al., *Both ETA and ETB receptors mediate contraction to endothelin-1 in human blood vessels*. Circulation, 1994. **89**(3): p. 1203-8.
154. Haynes, W.G., F.E. Strachan, and D.J. Webb, *Endothelin ETA and ETB receptors cause vasoconstriction of human resistance and capacitance vessels in vivo*. Circulation, 1995. **92**(3): p. 357-63.
155. Verhaar, M.C., et al., *Endothelin-A receptor antagonist-mediated vasodilatation is attenuated by inhibition of nitric oxide synthesis and by endothelin-B receptor blockade*. Circulation, 1998. **97**(8): p. 752-6.
156. Cardillo, C., et al., *Increased activity of endogenous endothelin in patients with type II diabetes mellitus*. Circulation, 2002. **106**(14): p. 1783-7.
157. Hopfner, R.L. and V. Gopalakrishnan, *Endothelin: emerging role in diabetic vascular complications*. Diabetologia, 1999. **42**(12): p. 1383-94.
158. Sorokin, A. and D.E. Kohan, *Physiology and pathology of endothelin-1 in renal mesangium*. Am J Physiol Renal Physiol, 2003. **285**(4): p. F579-89.

159. Takahashi, K., et al., *Elevated plasma endothelin in patients with diabetes mellitus*. Diabetologia, 1990. **33**(5): p. 306-10.
160. Park, J.Y., et al., *Induction of endothelin-1 expression by glucose: an effect of protein kinase C activation*. Diabetes, 2000. **49**(7): p. 1239-48.
161. Quehenberger, P., et al., *Endothelin 1 transcription is controlled by nuclear factor-kappaB in AGE-stimulated cultured endothelial cells*. Diabetes, 2000. **49**(9): p. 1561-70.
162. Keynan, S., et al., *Increased expression of endothelin-converting enzyme-1c isoform in response to high glucose levels in endothelial cells*. J Vasc Res, 2004. **41**(2): p. 131-40.
163. Schneider, J.G., et al., *Elevated plasma endothelin-1 levels in diabetes mellitus*. Am J Hypertens, 2002. **15**(11): p. 967-72.
164. Anwaar, I., et al., *Increased plasma endothelin-1 and intraplatelet cyclic guanosine monophosphate in men with disturbed glucose metabolism*. Diabetes Res Clin Pract, 2000. **50**(2): p. 127-36.
165. Seligman, B.G., et al., *Increased plasma levels of endothelin 1 and von Willebrand factor in patients with type 2 diabetes and dyslipidemia*. Diabetes Care, 2000. **23**(9): p. 1395-400.
166. Verma, S., et al., *Hyperglycemia exaggerates ischemia-reperfusion-induced cardiomyocyte injury: reversal with endothelin antagonism*. J Thorac Cardiovasc Surg, 2002. **123**(6): p. 1120-4.
167. Chen, S., et al., *Diabetes-induced myocardial structural changes: role of endothelin-1 and its receptors*. J Mol Cell Cardiol, 2000. **32**(9): p. 1621-9.
168. Wu, S.Q., et al., *Altered paracrine effect of endothelin in blood vessels of the hyperinsulinemic, insulin resistant obese Zucker rat*. Cardiovasc Res, 2000. **45**(4): p. 994-1000.
169. Mather, K.J., et al., *Endothelin contributes to basal vascular tone and endothelial dysfunction in human obesity and type 2 diabetes*. Diabetes, 2002. **51**(12): p. 3517-23.
170. Winkles, J.A., et al., *Endothelin-1 and endothelin receptor mRNA expression in normal and atherosclerotic human arteries*. Biochem Biophys Res Commun, 1993. **191**(3): p. 1081-8.
171. Kalogeropoulou, K., et al., *Carotid atherosclerosis in type 2 diabetes mellitus: potential role of endothelin-1, lipoperoxides, and prostacyclin*. Angiology, 2002. **53**(3): p. 279-85.
172. Marano, G., et al., *ET(A)/ET(B) receptor antagonist bosentan inhibits neointimal development in collared carotid arteries of rabbits*. Life Sci, 1998. **63**(18): p. PL259-66.
173. Barton, M., et al., *Endothelin ETA receptor blockade restores NO-mediated endothelial function and inhibits atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice*. Proc Natl Acad Sci U S A, 1998. **95**(24): p. 14367-72.
174. Sugimoto, K., S. Tsuruoka, and A. Fujimura, *Renal protective effect of YM598, a selective endothelin ET(A) receptor antagonist, against diabetic nephropathy in OLETF rats*. Eur J Pharmacol, 2002. **450**(2): p. 183-9.
175. Benigni, A., et al., *Unselective inhibition of endothelin receptors reduces renal dysfunction in experimental diabetes*. Diabetes, 1998. **47**(3): p. 450-6.
176. Zoja, C., et al., *Proximal tubular cell synthesis and secretion of endothelin-1 on challenge with albumin and other proteins*. Am J Kidney Dis, 1995. **26**(6): p. 934-41.
177. Hocher, B., et al., *Endothelin-1 transgenic mice develop glomerulosclerosis, interstitial fibrosis, and renal cysts but not hypertension*. J Clin Invest, 1997. **99**(6): p. 1380-9.

178. Glogowski, E.A., et al., *High glucose alters the response of mesangial cell protein kinase C isoforms to endothelin-1*. *Kidney Int*, 1999. **55**(2): p. 486-99.
179. Khan, M.A., et al., *Upregulation of endothelin A receptor sites in the rabbit diabetic kidney: potential relevance to the early pathogenesis of diabetic nephropathy*. *Nephron*, 1999. **83**(3): p. 261-7.
180. Hargrove, G.M., et al., *Diabetes mellitus increases endothelin-1 gene transcription in rat kidney*. *Kidney Int*, 2000. **58**(4): p. 1534-45.
181. Yang, L., et al., [*Protective effect of angiotensin II receptor blockage on rats with experimental diabetes nephropathy in early stage*]. *Sichuan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban*, 2003. **34**(2): p. 317-9.
182. Itoh, Y., et al., *Changes of endothelin in streptozotocin-induced diabetic rats: effects of an angiotensin converting enzyme inhibitor, enalapril maleate*. *J Endocrinol*, 2002. **175**(1): p. 233-9.
183. Shin, S.J., Y.J. Lee, and J.H. Tsai, *The correlation of plasma and urine endothelin-1 with the severity of nephropathy in Chinese patients with type 2 diabetes*. *Scand J Clin Lab Invest*, 1996. **56**(6): p. 571-6.
184. Shin, S.J., et al., *Increased urinary endothelin-1 excretion in newly diagnosed type 2 diabetic patients*. *Kaohsiung J Med Sci*, 1999. **15**(10): p. 589-96.
185. De Mattia, G., et al., *Role of plasma and urinary endothelin-1 in early diabetic and hypertensive nephropathy*. *Am J Hypertens*, 1998. **11**(8 Pt 1): p. 983-8.
186. Sanchez, S.S., et al., *Relationship between plasma Endothelin-1 and glycemic control in type 2 diabetes mellitus*. *Horm Metab Res*, 2001. **33**(12): p. 748-51.
187. Meli, S. and C.M. Bruno, *Endothelin and diabetic nephropathy: a new pathogenetic factor?* *Panminerva Med*, 2001. **43**(1): p. 45-8.
188. Ak, G., et al., *The relation between plasma endothelin-1 levels and metabolic control, risk factors, treatment modalities, and diabetic microangiopathy in patients with Type 2 diabetes mellitus*. *J Diabetes Complications*, 2001. **15**(3): p. 150-7.
189. Azar, S.T., et al., *Alterations in plasma transforming growth factor beta in normoalbuminuric type 1 and type 2 diabetic patients*. *J Clin Endocrinol Metab*, 2000. **85**(12): p. 4680-2.
190. ADA Therapy 2004 Therapy for Diabetes Mellitus and Related Disorders 4th Edition, Part:21.Metformin. Clifford J.Bailey
191. Setter, S.M., et al., *Metformin hydrochloride in the treatment of type 2 diabetes mellitus: a clinical review with a focus on dual therapy*. *Clin Ther*, 2003. **25**(12): p. 2991-3026.
192. Zhou, G., et al., *Role of AMP-activated protein kinase in mechanism of metformin action*. *J Clin Invest*, 2001. **108**(8): p. 1167-74.
193. Bailey, C.J., *Biguanides and NIDDM*. *Diabetes Care*, 1992. **15**(6): p. 755-72.
194. Howlett, H.C. and C.J. Bailey, *A risk-benefit assessment of metformin in type 2 diabetes mellitus*. *Drug Saf*, 1999. **20**(6): p. 489-503.
195. Fanghanel, G., et al., *Effects of metformin on fibrinogen levels in obese patients with type 2 diabetes*. *Rev Invest Clin*, 1998. **50**(5): p. 389-94.
196. Campbell, I.W. and H.C. Howlett, *Worldwide experience of metformin as an effective glucose-lowering agent: a meta-analysis*. *Diabetes Metab Rev*, 1995. **11 Suppl 1**: p. S57-62.
197. Katakam, P.V., et al., *Metformin improves vascular function in insulin-resistant rats*. *Hypertension*, 2000. **35**(1 Pt 1): p. 108-12.
198. Caballero, A.E., et al., *The differential effects of metformin on markers of endothelial activation and inflammation in subjects with impaired glucose tolerance: a placebo-controlled, randomized clinical trial*. *J Clin Endocrinol Metab*, 2004. **89**(8): p. 3943-8.

199. Abbasi, F., et al., *Effect of metformin treatment on multiple cardiovascular disease risk factors in patients with type 2 diabetes mellitus*. *Metabolism*, 2004. **53**(2): p. 159-64.
200. Amador-Licona, N., et al., *The short-term effect of a switch from glibenclamide to metformin on blood pressure and microalbuminuria in patients with type 2 diabetes mellitus*. *Arch Med Res*, 2000. **31**(6): p. 571-5.
201. Diamanti-Kandarakis, E., et al., *Increased endothelin-1 levels in women with polycystic ovary syndrome and the beneficial effect of metformin therapy*. *J Clin Endocrinol Metab*, 2001. **86**(10): p. 4666-73.
202. Fujita, T., et al., *Reduction of insulin resistance in obese and/or diabetic animals by 5-[4-(1-methylcyclohexylmethoxy)benzyl]-thiazolidine-2,4-dione (ADD-3878, U-63,287, ciglitazone), a new antidiabetic agent*. *Diabetes*, 1983. **32**(9): p. 804-10.
203. Yki-Jarvinen, H., *Thiazolidinediones*. *N Engl J Med*, 2004. **351**(11): p. 1106-18.
204. Willson, T.M., M.H. Lambert, and S.A. Kliewer, *Peroxisome proliferator-activated receptor gamma and metabolic disease*. *Annu Rev Biochem*, 2001. **70**: p. 341-67.
205. Barbier, O., et al., *Pleiotropic actions of peroxisome proliferator-activated receptors in lipid metabolism and atherosclerosis*. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2002. **22**(5): p. 717-26.
206. Michalik, L., B. Desvergne, and W. Wahli, *Peroxisome proliferator-activated receptors beta/delta: emerging roles for a previously neglected third family member*. *Curr Opin Lipidol*, 2003. **14**(2): p. 129-35.
207. Pershadsingh, H.A., *Peroxisome proliferator-activated receptor-gamma: therapeutic target for diseases beyond diabetes: quo vadis?* *Expert Opin Investig Drugs*, 2004. **13**(3): p. 215-28.
208. ADA Therapy 2004 Therapy for Diabetes Mellitus and Related Disorders 4th Edition
209. Kim, H.I. and Y.H. Ahn, *Role of peroxisome proliferator-activated receptor-gamma in the glucose-sensing apparatus of liver and beta-cells*. *Diabetes*, 2004. **53** **Suppl 1**: p. S60-5.
210. Inzucchi, S.E., et al., *Efficacy and metabolic effects of metformin and troglitazone in type II diabetes mellitus*. *N Engl J Med*, 1998. **338**(13): p. 867-72.
211. Chao, L., et al., *Adipose tissue is required for the antidiabetic, but not for the hypolipidemic, effect of thiazolidinediones*. *J Clin Invest*, 2000. **106**(10): p. 1221-8.
212. Stumvoll, M. and H.U. Haring, *Glitazones: clinical effects and molecular mechanisms*. *Ann Med*, 2002. **34**(3): p. 217-24.
213. Miyazaki, Y., et al., *Effect of rosiglitazone on glucose and non-esterified fatty acid metabolism in Type II diabetic patients*. *Diabetologia*, 2001. **44**(12): p. 2210-9.
214. Ye, J.M., et al., *Direct demonstration of lipid sequestration as a mechanism by which rosiglitazone prevents fatty-acid-induced insulin resistance in the rat: comparison with metformin*. *Diabetologia*, 2004. **47**(7): p. 1306-13.
215. Rangwala, S.M. and M.A. Lazar, *Peroxisome proliferator-activated receptor gamma in diabetes and metabolism*. *Trends Pharmacol Sci*, 2004. **25**(6): p. 331-6.
216. Miyazaki, Y., et al., *Effect of pioglitazone on circulating adipocytokine levels and insulin sensitivity in type 2 diabetic patients*. *J Clin Endocrinol Metab*, 2004. **89**(9): p. 4312-9.
217. Olansky, L., A. Marchetti, and H. Lau, *Multicenter retrospective assessment of thiazolidinedione monotherapy and combination therapy in patients with type 2 diabetes: comparative subgroup analyses of glycemic control and blood lipid levels*. *Clin Ther*, 2003. **25** **Suppl B**: p. B64-80.

218. Raskin, P., et al., *Rosiglitazone short-term monotherapy lowers fasting and post-prandial glucose in patients with type II diabetes*. *Diabetologia*, 2000. **43**(3): p. 278-84.
219. Durbin, R.J., *Thiazolidinedione therapy in the prevention/delay of type 2 diabetes in patients with impaired glucose tolerance and insulin resistance*. *Diabetes Obes Metab*, 2004. **6**(4): p. 280-5.
220. Einhorn, D., V.R. Aroda, and R.R. Henry, *Glitazones and the management of insulin resistance: what they do and how might they be used*. *Endocrinol Metab Clin North Am*, 2004. **33**(3): p. 595-616, vii-viii.
221. Khan, M.A., J.V. St Peter, and J.L. Xue, *A prospective, randomized comparison of the metabolic effects of pioglitazone or rosiglitazone in patients with type 2 diabetes who were previously treated with troglitazone*. *Diabetes Care*, 2002. **25**(4): p. 708-11.
222. Freed, M.I., et al., *Effects of rosiglitazone alone and in combination with atorvastatin on the metabolic abnormalities in type 2 diabetes mellitus*. *Am J Cardiol*, 2002. **90**(9): p. 947-52.
223. Ko, S.H., et al., *The effect of rosiglitazone on serum lipoprotein(a) levels in Korean patients with type 2 diabetes mellitus*. *Metabolism*, 2003. **52**(6): p. 731-4.
224. Matsumoto, K., et al., *Increase of lipoprotein (a) with troglitazone*. *Lancet*, 1997. **350**(9093): p. 1748-9.
225. Kato, K., et al., *Thiazolidinediones down-regulate plasminogen activator inhibitor type 1 expression in human vascular endothelial cells: A possible role for PPARgamma in endothelial function*. *Biochem Biophys Res Commun*, 1999. **258**(2): p. 431-5.
226. Harte, A.L., et al., *Rosiglitazone inhibits the insulin-mediated increase in PAI-1 secretion in human abdominal subcutaneous adipocytes*. *Diabetes Obes Metab*, 2003. **5**(5): p. 302-10.
227. Collins, A.R., et al., *Troglitazone inhibits formation of early atherosclerotic lesions in diabetic and nondiabetic low density lipoprotein receptor-deficient mice*. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2001. **21**(3): p. 365-71.
228. Law, R.E., et al., *Expression and function of PPARgamma in rat and human vascular smooth muscle cells*. *Circulation*, 2000. **101**(11): p. 1311-8.
229. Calnek, D.S., et al., *Peroxisome proliferator-activated receptor gamma ligands increase release of nitric oxide from endothelial cells*. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2003. **23**(1): p. 52-7.
230. Tao, L., et al., *Antioxidative, antinitrative, and vasculoprotective effects of a peroxisome proliferator-activated receptor-gamma agonist in hypercholesterolemia*. *Circulation*, 2003. **108**(22): p. 2805-11.
231. Wang, C.H., et al., *Rosiglitazone facilitates angiogenic progenitor cell differentiation toward endothelial lineage: a new paradigm in glitazone pleiotropy*. *Circulation*, 2004. **109**(11): p. 1392-400.
232. Verma, S., et al., *Hyperglycemia potentiates the proatherogenic effects of C-reactive protein: reversal with rosiglitazone*. *J Mol Cell Cardiol*, 2003. **35**(4): p. 417-9.
233. Haffner, S.M., et al., *Effect of rosiglitazone treatment on nontraditional markers of cardiovascular disease in patients with type 2 diabetes mellitus*. *Circulation*, 2002. **106**(6): p. 679-84.
234. Mohanty, P., et al., *Evidence for a potent antiinflammatory effect of rosiglitazone*. *J Clin Endocrinol Metab*, 2004. **89**(6): p. 2728-35.
235. Kruszynska, Y.T., et al., *Effects of troglitazone on blood concentrations of plasminogen activator inhibitor 1 in patients with type 2 diabetes and in lean and obese normal subjects*. *Diabetes*, 2000. **49**(4): p. 633-9.

236. Sidhu, J.S., et al., *Effect of rosiglitazone on common carotid intima-media thickness progression in coronary artery disease patients without diabetes mellitus*. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2004. **24**(5): p. 930-4.
237. Satoh, H., et al., *Thiazolidinediones suppress endothelin-1 secretion from bovine vascular endothelial cells: a new possible role of PPARgamma on vascular endothelial function*. *Biochem Biophys Res Commun*, 1999. **254**(3): p. 757-63.
238. Fukunaga, Y., et al., *Thiazolidinediones, peroxisome proliferator-activated receptor gamma agonists, regulate endothelial cell growth and secretion of vasoactive peptides*. *Atherosclerosis*, 2001. **158**(1): p. 113-9.
239. Sakai, S., et al., *Peroxisome proliferator-activated receptor-gamma activators inhibit endothelin-1-related cardiac hypertrophy in rats*. *Clin Sci (Lond)*, 2002. **103 Suppl 48**: p. 16S-20S.
240. Iglarz, M., et al., *Effect of peroxisome proliferator-activated receptor-alpha and -gamma activators on vascular remodeling in endothelin-dependent hypertension*. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2003. **23**(1): p. 45-51.
241. Buckingham, R.E., et al., *Peroxisome proliferator-activated receptor-gamma agonist, rosiglitazone, protects against nephropathy and pancreatic islet abnormalities in Zucker fatty rats*. *Diabetes*, 1998. **47**(8): p. 1326-34.
242. Asano, T., et al., *Peroxisome proliferator-activated receptor gamma1 (PPARgamma1) expresses in rat mesangial cells and PPARgamma agonists modulate its differentiation*. *Biochim Biophys Acta*, 2000. **1497**(1): p. 148-54.
243. Isshiki, K., et al., *Thiazolidinedione compounds ameliorate glomerular dysfunction independent of their insulin-sensitizing action in diabetic rats*. *Diabetes*, 2000. **49**(6): p. 1022-32.
244. Ma, L.J., et al., *Peroxisome proliferator-activated receptor-gamma agonist troglitazone protects against nondiabetic glomerulosclerosis in rats*. *Kidney Int*, 2001. **59**(5): p. 1899-910.
245. McCarthy, K.J., et al., *Troglitazone halts diabetic glomerulosclerosis by blockade of mesangial expansion*. *Kidney Int*, 2000. **58**(6): p. 2341-50.
246. Guo, B., et al., *Peroxisome proliferator-activated receptor-gamma ligands inhibit TGF-beta 1-induced fibronectin expression in glomerular mesangial cells*. *Diabetes*, 2004. **53**(1): p. 200-8.
247. Imano, E., et al., *Effect of troglitazone on microalbuminuria in patients with incipient diabetic nephropathy*. *Diabetes Care*, 1998. **21**(12): p. 2135-9.
248. Nakamura, T., et al., *Effect of troglitazone on urinary albumin excretion and serum type IV collagen concentrations in Type 2 diabetic patients with microalbuminuria or macroalbuminuria*. *Diabet Med*, 2001. **18**(4): p. 308-13.
249. Nakamura, T., et al., *Comparative effects of pioglitazone, glibenclamide, and voglibose on urinary endothelin-1 and albumin excretion in diabetes patients*. *J Diabetes Complications*, 2000. **14**(5): p. 250-4.
250. Pontiroli, A.E., et al., *Body weight and glucose metabolism have a different effect on circulating levels of ICAM-1, E-selectin, and endothelin-1 in humans*, in *Eur J Endocrinol*. 2004. p. 195-200.
251. Grainger, D.J., et al., *Transforming growth factor beta is sequestered into an inactive pool by lipoproteins*, in *J Lipid Res*. 1997. p. 2344-52.