

T.C
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ
KALP VE DAMAR CERRAHİSİ ANABİLİM DALI

**ISI ŞOK PROTEİNİ 70 DÜZEYİNİN DİABETİK SIÇANLARDA VE
GLUTAMİN VERİLMİŞ DİABETİK SIÇANLARDA
KARDİOVASKÜLER SİSTEM DOKULARINDA BELİRLENMESİ**

UZMANLIK TEZİ
DR. MURAT UĞURLUCAN

TEZ DANIŞMANI
DOÇ. DR. UFUK ALPAGUT

İSTANBUL – 2009

T.C
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ
KALP VE DAMAR CERRAHİSİ ANABİLİM DALI

**ISI ŞOK PROTEİNİ 70 DÜZEYİNİN DİABETİK SIÇANLARDA VE
GLUTAMİN VERİLMİŞ DİABETİK SIÇANLARDA
KARDİOVASKÜLER SİSTEM DOKULARINDA BELİRLENMESİ**

UZMANLIK TEZİ
DR. MURAT UĞURLUCAN

TEZ DANIŞMANI
DOÇ. DR. UFUK ALPAGUT

İSTANBUL – 2009

ÖZET

Giriş: Diabetes mellitus, kronik hiperglisemi ile karakterize; karbonhidrat, protein ve yağ metabolizmasında bozukluklara yol açan bir metabolizma hastalığıdır. Hızla artarak giden global bir halk sağlığı sorunu haline gelen diabetin klinik önemi sebep olduğu komplikasyonlarla ilgilidir. Diabetes mellitus aterosklerotik hastalık ve iskemik kalp hastalığı açısından yatkınlık oluşturmaktadır. Günümüze kadar yapılan çalışmalarda diabetin endotel ve koroner arterler üzerindeki etkilerine ağırlık verilmiştir. Bu çalışmada diabetin direk kalp ve aort dokusu üzerine olan etkilerinin araştırılması planlanmıştır. Son yıllarda intrasellüler bir protein olan ısı şok proteinleri (HSP) ile ilgili yapılan çalışmalar kardiyovasküler cerrahi alanında da önem kazanmıştır. HSP 70 düzeyini çalışan bir çok çalışmada diabetik hasta grubu göz ardı edilmiştir. Ancak HSP 70 düzeyindeki farklılıklara neden olduğu düşünülen bir çok postoperatif morbidite için diabetin de literatürde bir risk faktörü olduğunu bilmekteyiz. Bu çalışmada diabetin kardiyovasküler sistem üzerine olan etkileri sıçanlarda; serum, kardiyak ve aort HSP 70 bakılarak ve sonuçlar sağlıklı popülasyonla karşılaştırılarak araştırıldı. Ayrıca, HSP 70 molekülünü indüklediği bilinen glutamin maddesinin diabetik sıçanlardaki etkinliği değerlendirildi.

Materyal ve Metod: Çalışmada 30 adet erişkin erkek sprague Dawley sıçan; kontrol grubu (Grup 1), diabetik grup (Grup 2) ve glutaminle indüklenmiş diabetik grup (Grup 3) olmak üzere 3 gruba ayrılmıştır. Grup 2 ve Grup 3'teki sıçanlara intravenöz yolla 50mg/kg Streptozocin (STZ) verilerek geri dönüşümsüz pankreas beta hücre hasarı oluşturularak diabet modeli oluşturulmuştur. Diabetin muhtemel yan etkilerinin ve özellikle de kardiyovasküler etkilerinin ortaya çıkması için sıçanlar bir ay yaşatılmıştır. Grup 3'teki sıçanlara, HSP 70 sentezini indüklemek amacıyla, dördüncü hafta içinde iki kere 1000mg/kg glutamin verilmiştir. Bir ayın sonunda tüm gruplardaki sıçanlara ötenazi uygulanmıştır. HSP 70 düzeylerini değerlendirmek amacıyla sıçanlardan kan örnekleri ile birlikte yeterli büyüklükte sağ atrium, sağ ventrikül, sol atrium, sol ventrikül ve aort dokuları çıkarılmıştır. Serum HSP 70 düzeylerini belirlemek için uygun ELISA kitleri kullanılmıştır. İmmunohistokimyasal değerlendirme için alınan dokular HSP 70 tavşan antikoru ile boyanma derecesi analiz edilmiştir. Histolojik derecelendirme 0 puan: HSP 70 boyanması negatif; 1 puan: hücrelerin %10'unda HSP 70 boyanması pozitif; 2 puan: hücrelerde %10-50 arasında HSP 70 boyanması pozitif; 3 puan: hücrelerin %50'sinden fazlasında HSP 70 boyanması pozitif şeklinde düzenlenmiştir.

Bulgular: Gruplardaki tüm sıçanlarda deney öncesi ölçülen kan şekeri düzeyi ortalama $72,80 \pm 11,516$ mg/dL olarak bulunmuştur. STZ uygulaması sonrası kan şekeri ikinci günde $358,70 \pm 44,749$ mg/dL; birinci hafta sonunda ise $382,80 \pm 34,941$ mg/dL ölçülmüştür. Kan şekeriindeki bu artış deney sonunda grup 2 ve grup 3'te hem serum hem de doku düzeyinde HSP 70 miktarında istatistiksel olarak anlamlı artışa neden olmuştur. Grup 1 ve Grup 2'deki sıçanlar karşılaştırıldıklarında HSP 70 düzeyi serumda ve kardiyovasküler sistem dokularında artmış olarak tespit edilmiştir. Ancak bu artış sadece aort dokusunda istatistiksel olarak anlamlı değildir. Grup 3'te ise diğer gruplarla karşılaştırıldığında serumda ve doku düzeyinde

HSP 70'in daha fazla arttığı gözlenmiştir; ayrıca bu artış aort dokusunda da istatistiksel olarak anlamlı olmuştur. Grup 2 ve Grup 3 karşılaştırıldığında her ne kadar Grup 3'te serum ve dokulardaki HSP 70 düzeyinde daha fazla artış saptanmış olsa da istatistiksel olarak özellikle sol atrium ve sol ventriküldeki HSP 70 miktarının anlamlı derecede yükseldiği görülmüştür. Yüksek kan şekeri ile ölçülen HSP 70 miktarları arasında güçlü korelasyon saptanırken bu korelasyon aort dokusu için orta derecede bir güce sahip olmuştur. Aynı durum serumdaki HSP 70 düzeyi, doku düzeyindeki HSP 70 düzeyleri ile korele edildiğinde de karşımıza çıkmıştır.

Sonuç: Diabet hastalığında sıçanlarda kardiyovasküler sistemde HSP 70 miktarı artmaktadır. Hücreleri koruma ile görevli HSP 70 molekülünün sentezi güvenle kullanılabilen glutamin sayesinde daha da artırılabilir. Çalışmamızda, literatürde ilk defa olarak kardi-yovasküler sistemde diabetik ve glutaminle indüklenmiş diabetik sıçanlarda HSP 70 düzeyleri değerlendirilmiştir. Serum, sağ atrium, sağ ventrikül, sol atrium, sol ventrikül ve aorttaki HSP 70 düzeylerinin birlikte göz önünde bulundurulmuş olmasının çalışmanın özgünlüğünü artırdığı kanaatindeyiz.

ABSTRACT

Objective: Diabetes mellitus is a metabolic disease characterized with chronic hyperglycemia and disorders of carbohydrate, protein and lipid metabolism. Incidence of the disease increases in recent years and the pathology has become a global public health problem. Clinical importance of the disease is related with its complications. Diabetes mellitus increases the tendency of atherosclerotic disorders and ischemic heart disease. Upto date effort was given to the effects of diabetes on endothelium and coronary arteries in many researches. In this study, we planned to investigate the effects of diabetes directly on cardiac and aortic tissues. Studies performed on intracellular heat shock proteins (HSP) have gained advance on cardiac surgery in the recent years. However, the diabetic patient group has not been taken into consideration in most of these studies. On the other hand, it is very well known that diabetes mellitus is also a risk factor for many of the postoperative morbidities leading to alterations on HSP 70 levels. In this study, the effects of diabetes mellitus on cardiovascular system were investigated by assessing the levels of HSP 70 levels in serum, heart, and aorta and compared with the normal population. Additionally, efficacy of glutamin, which is known to increase HSP 70, was studied on diabetic rats.

Material and Methods: Thirty male sprague Dawley rats were divided into three groups as: Control group (Group 1), Diabetic group (Group 2) and Glutamin induced diabetic group (Group 3). Diabetes models were created by damaging the pancreatic beta-cells irreversibly with intravenous 50mg/kg Streptozocin (STZ). The rats were kept alive for one month in order to see the side effects of diabetes. In Group 3, in order to induce HSP 70, the rats received 1000mg/kg glutamin two times in the fourth week. Euthanasia was performed at the end of one month and blood and adequate tissue samples were obtained from the right atrium, the right ventricle, the left atrium, the left ventricle and the aorta. ELISA kits were used to detect serum HSP 70 levels. Tissue staining with HSP 70 rabbit antibodies was analyzed for immunohistochemical assesment. Histologic scoring was organized as: 0 point: negative HSP 70 staining, 1 point: staining of 10% of the cells, 2 points: staining of 10-50% of the cells, 3 points: staining of more than 50% of the cells with HSP 70.

Results: The glucose levels were measured to be $72,80 \pm 11,516$ mg/dL among the rats in all groups before the procedure. They increased to $358,70 \pm 44,749$ mg/dL and $382,80 \pm 34,941$ mg/dL at the end of second day and first week, respectively, following STZ administration. This increase in the blood glucose levels resulted in significant increase of HSP 70 in both serum and tissue levels. When Group 1 and Group 2 were compared, HSP 70 was found to be increased in both serum and cardiovascular system tissues. However, statistical significance was negative on only aortic tissue. When Group 3 was compared with the other groups, HSP 70 was found to be more increased in both serum and tissue levels, as well as this increase was found to be also significant for the aorta. When Group 2 and Group 3 were compared, although more increased HSP 70 values were observed in Group 3, interestingly the statistical significance was obtained on the left atrial and the left ventricular HSP 70 levels.

Elevated blood glucose was strongly correlated with elevated HSP 70 levels; however, the degree of strength was found to be modest for aortic tissue. Same situation occurred when serum HSP 70 values were correlated with tissue HSP 70 values.

Conclusion: HSP 70 levels increase in the cardiovascular system in the rats in case of diabetes mellitus. Function of the HSP 70 molecules is cellular protection and level of HSP 70 can further be increased safely with administration of glutamin. We investigated the levels of HSP 70 in the cardiovascular system in diabetic and glutamin induced diabetic rats for the first time in the literature. We believe the originality of the study is raised by measurement of HSP 70 levels in serum, the right atrium, the right ventricle, the left atrium, the left ventricle and the aorta.

TEŞEKKÜR

Öğrenim hayatımda fedakarlıklarda bulunan ve hiç bir zaman benden desteğini esirgemeyen aileme teşekkür ederim.

Asistanlık eğitimim boyunca bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım ayrıca eğitim sürecimde önümü açan, pratik yaklaşımları ile beni cesaretlendiren tüm değerli hocalarıma minneti bir borç bilirim.

Beraber çalıştığım tüm asistan arkadaşlarım, ağabeylerim ve kardeşlerime asistanlık sürecimdeki katkılarından ötürü teşekkür ederim.

Tababet bilgi ve becerisini tüm insanlığın hizmetine sunmak amacı ve görevi ile ...

İÇİNDEKİLER

I. GİRİŞ

II. GENEL BİLGİLER

- II.1. Koroner Arter Hastalıkları
- II.2. Koroner Arter Hastalıkları ve Aterosklerozis
 - II.2. a. Aterosklerozis Risk Faktörleri
- II.3. Diabetes Mellitus
 - II.3.1. Tanım
 - II.3.2. Epidemiyoloji
 - II.3.3. Sınıflandırma
 - II.3.4. Diabetes Mellitus İçin Tanı Kriterleri
 - II.3.5. Etiyopatogenez
 - II.3.6. Diabetes Mellitusun Fizyopatolojisi
 - II.3.7. Diabetes Mellitusun Komplikasyonları
- II.4. Diabetes Mellitus ve Aortik Stiffnes
- II.5. Isı şok proteinleri

III. GEREÇ VE YÖNTEM

- III.1. Araştırma Planı
- III.2. Kullanılan Gereç ve Maddeler
- III.3. Ölçüm Yöntemleri
 - III.3.1. Glukoz ölçümü, diabet oluşturma ve diabetik sıçanların glutamin ile indüklenmesi
 - III.3.2. Serum HSP 70 düzeyi ölçümü
 - III.3.3. Doku HSP 70 düzeyi ölçümü
- III.4. İstatistik

IV.BULGULAR

- IV.1. Serum glukoz, serum HSP 70 ve dokulardaki (sağ atrium, sağ ventrikül, sol atrium, sol ventrikül ve aort) HSP 70 düzeylerinin birbirleri ile korele edilmesi
- IV.2. Grupların serum HSP 70 ve dokulardaki (sağ atrium, sağ ventrikül, sol atrium, sol ventrikül ve aort) HSP 70 düzeylerinin karşılaştırılması
 - IV.2.1.1. Diabetik grupta dokulardaki HSP 70 düzeylerinin karşılaştırılması
 - IV.2.1.2. Glutaminle indüklenmiş diabetik grupta dokulardaki HSP 70 düzeylerinin karşılaştırılması

V. TARTIŞMA VE SONUÇ

VI. KAYNAKLAR

KISALTMALAR

DM	:	Diabetes Mellitus
HSP 70	:	Isı şok proteini 70
IFG	:	Bozulmuş açlık glukozu
IGT	:	Bozulmuş glukoz toleransı
OGTT	:	Oral glukoz tolerans testi
DSÖ	:	Dünya Sağlık Örgütü
ADA	:	American Diabetes Association
MI	:	Myokard enfaktüsü
KAH	:	Koroner arter hastalığı
MODY	:	Maturity Onset Diabetes Young
AHA	:	American Heart Association
MVK	:	Makrovasküler Komplikasyonlar
STZ	:	Streptazocin

I. GİRİŞ

Diabetes Mellitus (DM), kronik hiperglisemi ile karakterize; karbonhidrat, protein ve yağ metabolizmasında bozukluklara yol açan bir hastalıktır. İnsülin sekresyonu, insülin etkisi ya da her ikisinin de kusurlu olmasından kaynaklanmaktadır. Etiyolojileri farklı bir dizi metabolik bozukluğu içine alan bir sendrom olarak da tanımlanmaktadır (1). Son yıllarda hızla artarak global bir halk sağlığı sorunu haline gelen diabetin klinik önemi zaman içinde ortaya çıkan kronik komplikasyonlarla ilgilidir. Diabetes mellitus; aterosklerotik hastalık ve özellikle koroner kalp hastalığı açısından yatkınlık oluşturmaktadır. Diabetik hastalarda ateroskleroz çok daha erken dönemde ortaya çıkabilmektedir (2).

Günümüzde son dönem böbrek yetmezliğinin, erişkin körlüğünün ve nontravmatik alt ekstremité amputasyonunun en sık nedeni diabettir. Bir çok çalışmaya göre komplikasyonlar tanıyı izleyen ilk yıllarda ortaya çıkmakta veya tanı konulduğunda hastaların etkilenmiş oldukları görülebilmektedir. Diabetin kronik komplikasyonlarının gelişmesinde asıl nedenin hiperglisemi olduğu bilinmesine rağmen, kan yağlarının niteliği ve yoğunluğu, endotel ve intima değişiklikleri, hiperkoagülabilité, hiperhomosisteinemi, inflamasyon, oksidatif stres, arteroskleroz gelişiminde hızlanma, obezite ve fiziksel aktivite eksikliği, hiperinsülinemi ve insülin direnci, protein glukasyonu gibi faktörler de rol oynamaktadır. Kronik komplikasyonların gelişmesinde, özellikle mikroanjyopatide genetik faktörlerin de rol oynadığı bildirilmektedir (3).

Diabetin makrovasküler komplikasyonları ilerlemiş ateroskleroza sekonder olarak gelişir. Nondiabetiklerde de gözlenen kardiyovasküler değişikliklerden farklılık göstermezler. Fakat bu kardiyovasküler değişiklikler diabetik hastalarda daha erken yaşlarda ortaya çıkar daha süratli ve agresif ilerler. Tip 2 diabetiklerde makrovasküler komplikasyonlar ölümlerin %80 nedenidir ve bunların da %60'ı koroner kalp hastalığındandır (4). Tip 2 diabet gelişiminden önceki prediyabet döneminde yani; bozulmuş açlık glukozu (IFG) ve bozulmuş glukoz toleransı (IGT) dönemlerinde, kardiyovasküler hastalık risk göstergeleri olan hipertansiyon, dislipidemi ve metabolik sendromun diğer komponentleri olan hiperinsülinemi, mikroalbüminüri, hemostatik ve inflamatuvar göstergelerin arttığı gösterilmiştir. İzole IFG ve izole IGT'ye göre, hem IFG hem IGT'si olan vakalarda kardiyovasküler risk faktörlerinin daha fazla olduğu saptanmıştır (5).

Vücudun temel canlı birimi olan hücrenin dinamik metabolizmasında değişikliğe en sık neden olan faktör iskemidir. Canlı organizmadaki en küçük yaşamsal birim olan hücrede yaşam ve ölüm döngüsü, metabolizmayı etkileyen spesifik sinyallere bağlı olarak özelleşmiş mekanizmalar ile sağlanır. Hücre farklı değişkenlere farklı yaşamsal cevaplar verir; farklı uyarılar ile oluşan ölüm biçimi de farklıdır. Yaşam süresince ritmik olarak kasılıp gevşeyen kalp kasının etkin şekilde çalışabilmesi için oksijen, glukoz ve iyonların hücrenin bulunduğu ortamda uygun konsantrasyonlarda bulunmaları gerekmektedir. Bu sayılan gereksinimlerden birinin bile eksikliği hücreyi geri dönüşümsüz olarak hasarlayabilir veya yaşam fonksiyonları devam etse bile kalp hücresinin asıl fonksiyonları olan kasılma ve gevşeme dinamiği bir süre için sekteye uğrayabilir. Gelişmiş ülkelerde en yaygın ölüm nedeni olarak bilinen ve nekrozisle sonuçlanabilen myokard iskemisi özellikle vasküler cerrahide ve transplantasyonda sıklıkla karşımıza çıkmaktadır. Kalp uzamış oksijen yokluğu durumlarında metabolik aktiviteyi koruma yeteneğine sahip olan organizmadaki tek sistemdir. Ancak koroner arter oklüzyonunun devamlı olması miyokard iskemisi ile sonuçlanmaktadır. Bilindiği gibi oksijen hücre fonksiyonu ve aerobik metabolizma için çok önemli ve gereklidir (6). Koroner kan akımı miyokarda oksijen ve metabolitler sağlar ve yine aynı anda transkapiller dolaşım ile karbondioksit ve metabolik artıkları temizler. Kalbin işlevi metabolik enerjiyi dolaşım basıncı ve akım şeklinde mekanik enerjiye dönüştürmektir.

Son yıllarda intrasellüler bir protein olan ısı şok proteinleri (HSP) ile ilgili yapılan çalışmalar kalp cerrahisi alanında da önem kazanmıştır. İskemi, hipertermi, hipotermi gibi stress durumlarında

sentezlenen bu moleküller, hücrelerin çeşitli stress durumlarında ihtiyaç duyulan savunma mekanizmalarında görev yapmaktadırlar (7,8). Bu konuda yapılan nadir çalışmalarda, bu proteinlerin iskekiye karşı kardiyak hasarı azalttığı gösterilmiş olsa da (9), bu çalışmalardaki en önemli kısıtlayıcı faktör oturmuş bir metodolojinin belirlenmemiş olmasıdır. Sağ atriumdan intraoperatif olarak alınan doku biopsilerini kullanan birkaç klinik çalışmada ise yüksek sağ atrium doku HSP 70 konsantrasyonunun iskemik kardiyak hasarı ve atrial fibrillasyon gibi postoperatif morbidite insidansını azalttığı gösterilmiştir (10).

Molekülün serum konsantrasyonlarının daha yüksek tespit edildiği bazı hastalarda, sonuçların diğer sistemik inflamatuvar cevap parametreleri ile ilişkili olduğu belirtilmiş ve yüksek serum düzeyinin iskemik kardiyak hasar nedeniyle hücre ölümünden kaynaklandığı bildirilmiştir (11-14). Bununla beraber, bu çalışmaların sonuçlarının genellikle çelişkili olduğu dikkati çekmektedir. Hastalar arası farkların da mevcut olduğu göz önünde bulundurulacak olursa, esas olarak kardiyak hastalık nedeniyle strese maruz kalan kalp dokusunda operasyon öncesi dönemdeki doku düzeyinin mi yoksa serum düzeyinin mi önemli olduğu halen tartışmalıdır (10). Öte yandan, diabetik hastalarda erken kardiyovasküler hastalık gelişme riski normal popülasyona oranla daha yüksektir. Buna neden olarak bir çok faktör öne sürülmektedir. HSP 70 düzeyini çalışan bir çok çalışmada diabetik hasta grubu göz ardı edilmiştir. Ancak HSP 70 düzeyindeki farklılıklara neden olduğu düşünülen bir çok postoperatif morbidite için diabetin de literatürde bir risk faktörü olduğunu bilmekteyiz. Günümüze kadar yapılan çalışmalarda diabetin endotel ve koroner arterler üzerindeki etkilerine ağırlık verilmiştir.

Biz bu çalışmada diabetin direk kalp dokusu üzerine olan etkilerini araştırmayı planlıyoruz. Amaç, diabetik sıçanlarda serum ve kardiyak HSP 70 düzeyinin normal popülasyondan farklı olup olmadığını araştırmak ve HSP 70 molekülünü indüklediği bilinen glutamin maddesinin bu hastalarda etkin olup olmadığını araştırmaktır. Literatürde ilk defa olarak diabet ile HSP 70 ve glutaminle indüklenmiş diabetik sıçanlardaki HSP 70 düzeyleri değerlendirilecektir. Serum, sağ atrium, sağ ventrikül, sol atrium, sol ventrikül ve aort HSP 70 konsantrasyonlarının da birlikte göz önünde bulundurulacak olması çalışmayı daha özgün kılacaktır.

II. GENEL BİLGİLER

II. 1. Koroner Arter Hastalıkları

Koroner kalp hastalığı gelişmiş batılı ülkelerde gerek mortalite gerekse morbidite nedeni olarak ilk sırada yer alan bir hastalıktır. Gelişmiş batı ülkelerinde bütün ölümlerin en az yarısı kardiyovasküler hastalıklara ve bunların 3/4'ü de aterosklerotik koroner arter hastalığına (KAH) bağlıdır. Amerika'da her yıl 600.000 kişi iskemik kalp hastalığı nedeniyle hayatını kaybetmekte ve bunların yarısında da olay ani gelişmektedir. Koroner arter hastalığının genel olarak görülme sıklığı erkeklerde kadınlardan daha fazladır (4/1). Erkeklerde en çok 50-60, kadınlarda ise 60-70 arası yaş grubunda rastlanılmaktadır. Türk Kardiyoloji Derneği tarafından 1990 yılından bu yana yürütülen TEKHARF çalışmasının 10 yıllık izlem verilerine göre Türkiye'de yaklaşık 2 milyon kişide koroner arter hastalığı bulunduğu tahmin edilmektedir. Yine resmi veriler ve TEKHARF verileri ortak değerlendirildiği zaman görülmektedir ki, ülkemizde tüm ölümlerin %45'i kalp ve damar hastalıklarından, %36'sı kalp hastalıklarından, %32'si ise koroner kalp hastalığından kaynaklanmaktadır. Gelişmekte olan ülkelere göre gelişmiş ülkeler örneğine benzeyen bu olumsuz eğilim devam ettiği takdirde 2010 yılında ülkemizde halen 2 milyon civarında olan koroner kalp hastası sayısının 1.4 milyon artarak 3.4 milyon kişiye ulaşacağı öngörülmektedir (2).

Erişkin nüfusun önemli bir bölümünün bu hastalıktan aktif yaşlarda, yani orta yaş ve erken yaşlılık dönemlerinde etkilenmesi olayın ekonomik boyutunu da arttırmaktadır. Türk toplumunda koroner ateroskleroz gelişiminde rol oynayan en önemli risk faktörleri olarak sigara içimi, hipertansiyon, DM ve şişmanlık, trigliserid yüksekliği ile bunlarla ilişkili olan HDL kolesterol düzeyi düşüklüğü ön plana çıkmaktadır (2). Korunma çalışmalarında da bu risk faktörlerine öncelik verilmesi gerekmektedir.

Ortalama yaşam süresinin uzaması ve gelişen tedavi olanakları sayesinde daha yaşlı ve tekrarlayan kardiyovasküler olaylara açık hasta sayısı artmaktadır. Koroner kalp hastalığı klinik olarak ortaya çıktıktan sonra uygulanan tıbbi, cerrahi ve girişimsel tedavi yöntemleri belirli olup yüksek maliyet getirmektedirler. Bu yöntemlerin uygulanması bir bakıma konunun kolay yönünü oluşturmaktadır. Oysa koroner ateroskleroz önemli ölçüde önlenebilen veya geciktirilebilen bir hastalıktır.

Koroner arterlerde meydana gelen daralma ve tıkanıklıklar sonucunda bu damarların beslediği kalp kasında kalıcı veya geri döndürülebilir hasar meydana gelebilmektedir. Günümüzde kalpte en sık görülen edinsel hastalık koroner ateroskleroz sonrasında gelişen iskemik kalp hastalığıdır. Aterosklerotik lezyonlar karakteristik olarak çok sayıdadır ve çoğunlukla birden fazla arterde yerleşir. Aterosklerotik tutulum en sık sağ koroner arterin akut margin ile posterior desandan dalları arasında kalan bölümde görülür. İkinci sıklıkta LAD'nin proksimal yarısında oluşur. Hastalığın üçüncü sıklıkta yerleştiği yer sağ koroner arterin çıkışı ile marginal dalı arasındaki segmenttir (15). Koroner arter hastalıkları ve bunun sonucunda myokard beslenme bozukluklarına sıklıkla sebep olan patolojiler şu şekilde sıralanabilir:

1. Aterosklerotik koroner arter hastalığı
2. Non-aterosklerotik koroner arter hastalığı

II. 2. Koroner Arter Hastalıkları ve Ateroskleroz

Ateroskleroz damar lümenine protrude olan ateroma adındaki plaklarla karakterizedir. Çocukluk çağına başlar ve daha sonraki dekadlarda sinsice ilerlemeye devam eder. Ateromalar damar duvarındaki media tabakasını zayıflatabilir ve tromboza neden olan birçok komplikasyona sebebiyet verebilir. Ateroskleroz nedeniyle tüm arterler etkilenebilir ancak aorta, koroner arterler ve serebral arterler daha fazla tutulmaktadır. Arteriyel lezyonlar tromboz ile komplike olursa

myokard enfarktüsü (MI) oluşabilir. Ateroskleroz bağırsak ve alt ekstremité iskemisine de sebep olur. Ayrıca abdominal aort anevrizmalarının en önemli sebebidir (16).

II.2. a. Ateroskleroz Risk Faktörleri:

Yaş: Yaş dominant faktördür. Aterosklerozun erken lezyonları çocukluk çağında görülmesine rağmen, asıl hastalık insidansı her dekad artmaya devam eder. 60 yaşındaki miyokard enfarktüsü insidansı 40 yaşındakinin beş katından fazladır (15,16).

Cinsiyet: Erkeklerde ateroskleroz insidansı kadınlardan daha fazladır. Kadınlar hastalık oluşturan aterosklerozdan menopoza dek daha az etkilenir. Bu nedenle MI premenopozal kadınlarda daha nadirdir. Menopozdan sonra kadınlarda koruma azalır ve 7 ve 8. dekadlarda MI insidansı erkek ve kadınlarda eşit düzeye gelir (15,16).

Ailesel yatkınlık: Bazı olgularda hipertansiyon ve diyabet gibi diğer risk faktörleri ailesel yatkınlık ile ilişkilidir. Yüksek kan lipid seviyelerine sebep olan lipoprotein metabolizmasındaki bozukluklar da herediter genetik bozulma ile ilişkilidir. Bu durumların prototipi famiyal hiperkolesterolemidir (15,16).

Ayrıca 4 tane de sonradan kazanılan risk faktörü vardır. Bunlar kazanılmış hiperlipidemi, hipertansiyon, sigara içimi ve diyettir (15,16).

Hiperlipidemi: Ateroskleroz için majör risk faktörü olduğu tüm dünya tarafından bilinmektedir. Kanıtların çoğu risk faktörü olarak özellikle hiperkolesterolemiyi göstermektedir. Ancak hipertrigliseridemi de aterosklerozda önemli rol oynar.

Semptomatik ateroskleroz ile HDL seviyesi arasındaki ters ilişkiyi vurgulamak gerekir. HDL, lipidleri hücrelerden ve aterosklerotik plaklardan alıp karaciğere taşır. Buradan da lipidler safra yolu ile atılır. HDL3 ve HDL2 seviyeleri ne kadar yüksekse, iskemik kalp hastalığı riski o kadar azdır. Egzersiz ve orta derecede etanol tüketimi HDL'yi yükseltirken, obezite ve sigara düşürmektedir (16).

Hipertansiyon: Ateroskleroz için tüm yaşlarda majör risk faktörüdür. Belkide 45 yaşından sonra hiperkolesterolemiden daha önemli bir faktör olabilir. Risk faktörü olarak diastolik kan basıncı, sistolik kan basıncından daha önemlidir (15).

Sigara: Majör risk faktörüdür. Son zamanlarda kadınlardaki ateroskleroz insidansının artmasından sorumlu tutulmaktadır (15,16).

Diabetes mellitus: Diyabet, metabolik olduğu kadar vasküler de bir hastalıktır. Diabetes mellitusun ateroskleroz gelişimini uyardığı ve gelişmekte olan aterosklerozu hızlandırdığı bilinmektedir (2). Adult Treatment Panel III (ATP III: Erişkin Tedavi Paneli III) diyabetin riskini aterosklerozla eş olarak değerlendirmektedir. Diabette hiperglisemi ve hiperinsülinemi yanında dislipidemi, hipertansiyon gibi ilave metabolik bozukluklar aterosklerotik hastalığa katkıda bulunur ve birden fazla risk faktörünün bulunması, riski eksponansiyel olarak artırmaktadır (3,17).

American Heart Association (AHA), diyabetik hastalar için hiperglisemiye majör kardiyovasküler risk faktörü olarak bildirmektedir (18). Prediyabetik olgularda kardiyovasküler olay riskindeki artış, hipergliseminin direkt olarak endotel disfonksiyonuna neden olması dışında, prediyabetin diyabete progresyonu ve prediyabetin diğer geleneksel ve yeni araştırılan kardiyovasküler risk faktörleri ile beraberliğinin sık olmasına bağlı olabilir (19). Baltimore Longitudinal Study on Aging çalışmasında, açlık kan şekerinin 110mg/dL'den 120mg/dL'ye doğru yükselmesi ile birlikte koroner kalp hastalığı ve genel mortalitede belirgin artma izlenmiştir. Nondiabetik 937 bireyin ortalama 9.5 yıl izlendiği bu çalışmada prediyabetik (IFG, IFG ve IGT birlikte) olgularda; kan şekerlerinde ve bazal kardiyovasküler risk faktörlerinde takip süresinde artış gözlenmiş ve metabolik sendrom prevalansında artma tespit edilmiştir (20). Ateroskleroz gelişimi hiperinsülinemiden

çok insülin direnci ile de ilişkilidir (2). Diyabet hiperkolesterolemiyi indükler ve aterosklerozise yatkınlığı artırır. Diğer faktörlerin eşit olduğu durumlarda; diyabetiklerdeki miyokard enfarktüs insidansı, diyabetik olmayanlardan iki kat fazladır.

Aterosklerozun önemi nedeniyle sebebinin bulunması için büyük çalışmalar ortaya konmuştur. Ancak bu çalışmalar sonucunda kesin sonuç elde edilememiştir. Bu konuda birçok teori ortaya atılmıştır. Bu teorilerden günümüzde en çok dikkat çeken hasara cevap (response to injury) teorisidir (21). Burada en önemli unsur kronik veya tekrarlanan endotel hasarıdır. Kanla dolaşan endotoksinler, anoksi, karbonmonoksit veya sigaranın diğer ürünleri, virüsler ve homosistein gibi spesifik endoteliotoksinler endotel hasarı oluşturabilir. Ancak bu hasarda asıl önemli olan faktörler hemodinamik bozukluklar ve hiperkolesterolemi olarak düşünülmektedir. Damar üzerindeki stres ve türbülans akım endotel geçirgenliğini ve hücre yıkımını artırmakta olup LDL endositozuna neden olmaktadır. Plakların daha çok damarların ağızlarında, dallanma bölgelerinde ve desendan aorta ve abdominal aortanın posterior duvarında görülmesi bunu desteklemektedir (15,16,21).

Aterojenik sürecin önemli bir faktörü de LDL'nin oksidatif modifikasyonudur. Okside olmuş LDL endotel hücrelerine toksik olup, endotel hasarı oluşturur. Okside olmuş LDL monositler için kemotaktiktir ve makrofajları immobilize eder. Böylece bu hücreler aterom formasyonunun olduğu bölgede toplanmış olur. Bunlara ek olarak makrofaj ve düz kas hücreleri tarafından daha kolay alınır. Aterom plaklarının oluşumunda kompleks hücresel olaylar gerçekleşmektedir. Endotel hücrelerine yapıştıktan sonra, monositler endotel hücrelerinin arasından geçerek endotel hücrelerinin altına yerleşir. Burada makrofajlara dönüşürler ve okside olmuş LDL partiküllerini yutarak köpük hücrelerini oluştururlar. Buna ek olarak düz kas hücreleri intima tabakasında toplanıp lipidleri yutarak da köpük hücreleri halini alabilirler. Hiperkolesterolemi devam ederse; monosit ve lenfosit adhezyonu, düz kas hücrelerinin endotel hücrelerinin altına göçü ve makrofaj ve düz kas hücrelerinde lipid birikimi devam eder ve 'fatty streak'i oluşturur (21). Düz kas hücrelerinin çoğalması 'fatty streak'i 'fibrofatty ateroma'ya çevirir. Bu evrede intimal plak; bağ dokusu içinde düz kas hücreleri ve fibroblastlar tarafından çevrilmiş köpük hücrelerinden oluşur. Bu köpük hücrelerinden bazıları ölmüş ve lipidlerini ve debrislerini bırakmış olabilir. Koroner arter hastalıkları, inme ve periferik damar hastalıkları başlıkları altında incelenen aterosklerotik hastalıklar, arter duvarında başlayıp lümenin tıkanmasıyla sonuçlanabilen bir süreci içerir. Bunların anlaşılabilmesi için aterosklerotik hastalıkların altında yatan nedenin, yani aterom plağının, oluşumuna neden olan olayların, arter duvarında yaptığı değişikliklerin ve plağın komplike olmasını tetikleyen etmenlerin bilinmesinde yarar vardır (22).

Yakın zamana kadar aterom plağının sadece yağ, kireç ve fibröz dokudan oluştuğu düşünülmekteydi. Bu yapının zaman içinde yavaş yavaş büyüdüğü, kritik bir düzeye ulaşınca klinik bozukluklara neden olduğu ve lümeni tam tıkayınca da akut değişiklikler oluşturduğuna inanılırdı. Ancak son yıllarda moleküler biyoloji ve hücre biliminde elde edilen çarpıcı gelişmeler ile durumun böyle olmadığı anlaşıldı. Artık aterom plağının dinamik ve yaşayan bir oluşum olduğu bilinmektedir. Damar duvarının yapısında bulunan hücreler, buraya göç eden kan hücreleri, bunların salgıladıkları çeşitli maddeler, infeksiyon ajanları ve bütün bu sıralananların birbirleriyle etkileşimi, aterom plağına dinamik bir özellik kazandırır. İşte o nedenledir ki, koroner aterosklerozun gidişinin belirlenmesinde sadece aterom plağının anatomik özelliklerinin, bir başka deyişle lümeni ne kadar daralttığına bilinmesi ile yetinilmemekte, plağın ne kadar dinamik olduğunun da öğrenilmesine çalışılmaktadır (22).

II.3. Diabetes Mellitus

II.3.1.Tanım

Diabetes mellitus, pankreas beta hücrelerinde insülinin sekresyonunda ve/veya insülinin pe-

riferik hücrelere etkisinde meydana gelen bozukluklar sonucu ortaya çıkan, karbonhidrat yağ ve protein metabolizmalarını etkileyen, ağır komplikasyonlara neden olan, hiperglisemi ile karakterize bir grup metabolizma hastalığıdır. Son yıllarda bir dizi metabolik bozukluğu içine alan bir sendrom olarak da ifade edilmektedir (23). İnsülin hormon sekresyonunun ve/veya insülin etkisinin mutlak ve göreceli azlığı sonucu karbonhidrat, protein ve yağ metabolizmasında bozukluklara yol açan kronik hiperglisemik bir grup metabolizma hastalığı olan DM'deki bu bozukluklara kronik ve sürekli maruz kalmanın sonucunda; mikrovasküler komplikasyonlar (retinopati, nefropati, nöropati) ve makrovasküler komplikasyonlar (miyokard infarktüsü, inme, periferik arter hastalığı) sıklıkla gelişebilmektedir (24). Diabet; glukoz intoleransının ortak payda olduğu genetik ve klinik olarak heterojen bir grup bozukluğu içermektedir (23,24). Bu nedenle diabet tüm vücut enerji metabolizmasını etkilese de tanısı spesifik olarak plazma glukoz anormallikleriyle konur.

Diabetes mellitus; patogenezi, doğal gidiş ve tedaviye cevap açısından farklı birçok hastalığı kapsadığı için glukoz intoleransı olan hastaların sınıflamasında standardize sınıflama ve tanı kriterlerinin kullanılması gerekir. Temmuz 1997'de Amerikan Diyabet Cemiyeti (ADA) tanı ve sınıflama kriterleri yayınlamıştır. Bu kriterler 2003 ve 2005 yıllarında yeniden revize edilmiştir (25). Diabeti Önleme Programı çalışmasıyla karbonhidrat intoleransı derecelerinin anlaşılması IFG ve IGT'nin her ikisine birden pre-diabet denmiştir. Bunun nedeni düşük düzeyde karbonhidrat intoleransının bile makrovasküler komplikasyonlara yol açması ve sıklıkla diyabete ilerlemesidir (24,25).

II.3.2. Epidemiyoloji

Diabetes mellitus, bütün toplumlarda ve ırklarda görülebilen bir hastalıktır. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ)'nün tahminlerine göre dünya diyabetli nüfusu halen 200 milyon civarındadır ve bu sayının 2025 yılında 300 milyona ulaşacağı öngörülmektedir. Tip 1 diyabetin epidemiyolojisi ile ilgili çalışmalar hızla artmakla birlikte, dünya nüfusunun %5'ine ait veriler mevcuttur. Pek çok çalışma kuzey yarım kürede, özellikle Avrupa ve Kuzey Amerika'da yapılmıştır. Hastalık bazı etnik gruplar dışında her kıtada, hemen tüm toplumlarda görülebilmektedir. Tip 1 DM daha çok kış aylarında ortaya çıkan bir hastalıktır. Bu mevsimsel ilişki hemen tüm yaş gruplarında fark edilmekle birlikte, hastalık küçük yaş gruplarında her mevsimde görülebilir (26).

Tüm diabet olgularının %90-95'i tip 2 diyabetlidir. Yaşam tarzındaki hızlı değişim ile birlikte gelişmiş ve gelişmekte olan toplumların tümünde diabet prevalansı hızla artmaktadır. Özellikle gelişmekte olan ülkelerde ve bu ülkelerden gelişmiş ülkelere göç eden topluluklarda diabet epidemiyolojisinden bahsedilmektedir. Dünyada tip 2 diabet prevalansının önümüzdeki on yıl içinde yaklaşık olarak %40 artarak 150 milyondan 210 milyona ulaşması beklenmektedir. Thrifty (tutumlu) genotip hipotezinde ileri sürülen genlerin modern yaşam tarzının gerektirdiği şartlara adapte olamaması ya da thrifty fenotip teorisinde ileri sürüldüğü gibi intrauterin malnütrisyon ortamına göre ayarlanmış metabolizmanın ileri yaşlardaki zengin beslenme tarzına adapte olamaması veya basitçe enerji alımının enerji tüketimini aşması bu epidemiden sorumlu olduğu sanılan başlıca mekanizmalardır (26). Ülkemizde 1997-98 yıllarında 270 köy ve 270 mahalle merkezinde gerçekleştirilen ve random olarak seçilmiş 20 yaş üzerinde 24788 kişiyi kapsayan TURDEP Çalışması'nın sonuçlarına göre Tip 2 diabet prevalansı %7.2, IGT sıklığı %6.7'dir. Bu oranlara dayanarak 2000 yılı nüfus sayımına göre ülkemizde 2.6 milyonun üzerinde diyabetli ve 2.4 milyon civarında IGT' linin yaşadığı tahmin edilmektedir (27).

II.3.3. Sınıflandırma

ADA 1997 raporuna göre (23);

1. Tip 1 Diabetes Mellitus

(Pankreas, hücre yıkımı, çoğunlukla mutlak insülin eksikliği)

- İmmunolojik
- İdiopatik
- 2. **Tip 2 Diabetes Mellitus**
 - İnsülin direnci
 - İnsülin salgı bozukluğu
- 3. **Diğer spesifik tipler**
 - a. **Beta hücre fonksiyonundaki genetik defekt** (MODY, Mitokondriyal DNA)
 - b. **İnsülin etkisinde genetik defekt** (Tip A insülin rezistansı)
 - c. **Egzokrin pankreas hastalıkları** (Pankreatit, kistik fibroz, hemokromatoz)
 - d. **Endokrinopatiler** (Cushing sendromu, Akromegali)
 - e. **İlaç ve kimyasallara bağlı diabetes** (Glukokotrikoidler, tiazid diüretikleri)
 - f. **Enfeksiyonlar** (Konjenital Rubella, Sitomegalovirüs)
 - g. **İmmun-aracılıklı diabetesin nadir formları** (Anti-insülin antikorları)
 - h. **Diabetesle birlikteliği olan genetik sendromlar** (Down sendromu, Laurence-Moon-Biedel sendromu)
- 4. **Gestasyonel Diabetes Mellitus**
- 5. **Pre-diabet**

Diabetes tanısının basitleştirilmesi ile hatasız bir şekilde diabetes tanısı konulan bireylerin sayısını artırmak mümkün olabilir. Bu hastalığın ileri döneminde gelişebilecek mikrovasküler ve makrovasküler komplikasyonların daha iyi önlenmesi tanının erken konulması ve metabolik kontrolün iyi yapılması ile mümkün olacaktır. Yapılan çeşitli çalışmalarda, bozulmuş glukoz toleransı olan hastalarda diabetesin kardiyovasküler komplikasyonlarının görülme riskinin %26 olduğu ve bu komplikasyonların tanıdan 2-12 yıl önce olduğu bildirilmektedir (27). O halde, diabetesin komplikasyonları, klasik semptomların ortaya çıkmasından yıllar önce oluşmaya başlamaktadır. Erken tanı ve erken tedaviyi mümkün kılacak parametreler ile ilgili çalışmalar yapılmalıdır (1,27,28).

II. 3. 4. Diabetes Mellitus İçin Tanı Kriterleri

Amerika Birleşik Devletlerinde (ABD) tanı konulmamış DM prevalansı yaklaşık popülasyonun %3'ünü oluşturmaktadır ve bu gün diabetes için önerilen tanısal testlerin hiç birisi %100 spesifik ve %100 sensitif değildir. Yüksek riskte olan bireylerde tarama uygundur. Gebe olmayan erişkinler için tavsiye edilen tarama testi açlık kan şekeri tayinidir. Diabetes için tarama 45 yaşından büyük tüm bireylere yapılmalıdır. Eğer test normal ise üç yıllık aralarla tekrar edilmelidir. 45 yaşın altında test sadece ek risk faktörü (Vücut Kitle İndeksi 25'ten fazla, birinci dereceden akrabası DM olanlar, yüksek riskli etnik kökene mensuplar, hipertansifler, polikistik over sendromu olanlar, diğerleri) taşıyanlara yapılmalıdır (24,25).

DM tanısı üç şekilde konulabilmektedir:

1. Diabetes semptomları ile birlikte rastgele ölçülen plazma glukoz konsantrasyonunun $\geq 200 \text{ mg/dL}$ ($\geq 11.1 \text{ mmol/L}$) bulunması. Rastgele kelimesi günün en son alınan yemeği göz önüne katmadan günün herhangi bir zamanı olarak tanımlanmıştır. Diabetesin klasik semptomları olarak poliüri, polidipsi ve açıklanamayan kilo kaybı anlaşılmıştır.

2. Açlık plazma glukozu (AKŞ) $\geq 126 \text{ mg/dL}$ ($\geq 7 \text{ mmol/L}$) olması. Açlık en az 8 saat süren gıda alımının olmadığı süreyi belirtmektedir.

3. Oral glukoz tolerans testi (OGTT) sırasında plazma glukozunun $\geq 200 \text{ mg/dL}$ ölçülmesi. OGTT, DSÖ'nün belirttiği gibi üç günlük yeterli karbonhidrat alımından sonra açlık durumunda su içinde çözündürülmüş 75gr glukoz eşdeğeri kullanılarak yapılmalıdır. Akut dekompanseasyonla birlikte anlamlı hipergliseminin olmadığı durumlarda bu kriterler başka bir günde testin tekrarı ile

teyit edilmelidir. Açlık plazma glukozu 110mg/dL ile 126 mg/dL arasındaki değerler IFG olarak tanımlanır. Bozulmuş glukoz toleransında ise açlık plazma glukozu 110mg/dL'nin altındadır fakat OGTT uygulandığında 2. saat plazma glisemi düzeyi 140-199 arasına yükselir. Açlık plazma glukoz düzeyi 110mg/dL altında olan ve diyabet açısından yüksek risk taşıyan bireylerde belli aralıklarla OGTT yapılarak bozulmuş glukoz toleransı veya diyabet araştırılmalıdır (25).

II.3.5. Etiyopatogenez

II.3.5. a. Tip 1 Diabetes Mellitus (İnsüline Bağımlı DM)

Tip 1 diyabetin gelişiminde en önemli etiopatogenetik neden otoimmün destrüksiyondur. Organizmanın savunma sisteminin kendi pankreas beta hücrelerine karşı başlattığı immün saldırı, sağlam beta hücresi %20'lere ininceye kadar semptomsuz seyrederek. İşlev gören beta hücre sayısı bu oranın altına indiğinde kompensatuar mekanizmalar yetersiz kalır ve Tip 1 diyabet semptomları ortaya çıkar (29). Sağlıklı insanlarda immün sistem efektör hücreleri kendi hücrelerini tanır. Fakat hücresel bütünlüğü bozan birçok faktör immün toleransın bozulmasına ve otoimmünitenin aktivasyonuna neden olur. Bu etkenlerin başında virüsler, toksinler ve bazı gıda maddeleri gelir. Virüsler beta hücresini infekte ederek ya da infekte etmeden moleküler benzerlik yoluyla destrüksiyona uğratabilirler. Virüs ya da toksinlerle doğal yapısı bozulan beta hücreleri salgıladıkları sitokinlerle ya da antijenik peptidlerle immün sistem elemanlarını uyarır. Aktive olan T-lenfositleri destrüktif insülitisi başlatır. Destrüksiyon hızını etkileyen birçok faktör vardır. Hastalığın gidişatı, hastalık başlangıç yaşı küçük olanlarda, puberte döneminde, sekonder enfeksiyonlarda ve kız çocuklarında daha hızlıdır (30). Sağlam beta hücre oranının %20 civarına inmesi ve mutlak insülin yetersizliğinin gelişmesi, Tip 1 diyabetin klinik olarak başlamasına neden olur. Bu dönemde halen az da olsa C-peptid mevcuttur. Birinci yılın sonunda C-peptid düzeyleri sıfıra yakın noktaya geriler ve ekzojen insüline ihtiyaç duyulur (30,31).

II.3.5.b. Tip 2 Diabetes Mellitus

Heterojen bir hastalık olan Tip 2 diyabetin patogenezinde beta hücre fonksiyon bozukluğu, insülin direnci ve hepatik glukoz üretimi artışı gibi üç ana metabolik bozukluk sorumludur. Hepatik glukoz üretimi artışının primer defekt olduğunu gösteren bulgular azdır. İnsülin eksikliği ve/veya insülin direnci ise asıl nedeni oluşturur. Fakat Tip 2 diyabetin ortaya çıkışında insülin eksikliği ile seyreden beta hücre fonksiyon bozukluğundan veya insülin direncinden hangisinin primer sorumlu olduğu güncel bir tartışma konusudur (32). Tip 2 DM, toplumda en sık görülen (%80-90) diabetes mellitus tipidir. Semptomlar yavaş yavaş gelişir. Genetik predispozisyon ve çevresel faktörlerin etkisi ile de oluşabilmektedir. Hastalığın gelişiminde birden fazla anormal gen polimorfizmi rol oynayabilir (33). Beta hücrelerinde monogenetik defektlerle ilişkili diyabet formları arasında Maturity Onset Diabetes Young (MODY) ve mitokondriyal diyabet yer almaktadır. MODY; sıklıkla erken yaşta (genellikle 25 yaş öncesi) başlar ve orta derecede hiperglisemi ile karakterizedir. İnsülin etkisinde ya hiç defekt yoktur ya da minimal defektler vardır. Bunun yanında insülin sekresyon bozukluğu da mevcuttur. Otozomal dominant geçişlidir. Hastalarda ve diğer aile bireylerinde de diyabet öyküsü genellikle vardır. Otoantikorlar negatiftir. Mitokondriyal diabette DNA nokta mutasyonları olduğu gösterilmiştir (34). Bunlarda insülin bağımlı olmayan DM yanında; sağırılık, miyopati, tiroid disfonksiyonu, hiperkalsemi ve büyüme hormonu eksikliği bulunur. İnsülinin etkisindeki genetik defektlerden kaynaklanan diabette, insülin reseptörlerindeki mutasyonların yanında akontozis nigrikans, kadınlarda virilizasyon ve büyük kistik overler bulunabilir (22).

Obezite ile insülin direnci arasında doğrudan ilişki vardır ve tip 2 diyabet gelişen hastaların %80'i diyabet öncesi dönemde obezdir. Obezite, diyabetin açığa çıkmasına, var olan diyabetin daha da kötüleşmesine neden olur. Adipositler; insülin sekresyonu, insülin etkisi ve vücut ağırlığı gibi

süreçleri ayarlayan bazı biyolojik ürünleri salgırlar ve insülin direnci gelişimine katkıda bulunabilirler (22). Ancak obezite olmadan da tip 2 DM gelişebilir. Obez hastalarda Tip 2 DM’de insülin direnci daha ön planda iken, obez olmayanlarda insülin sekresyon bozukluğu ön plana geçer. Son yıllarda tip 2 DM patogenezi ile ilgili olarak yapılan çalışmaların çoğu insülin direnci ve buna neden olan dokuların (karaciğer, kas, yağ) rolleri, bozulmuş insülin sekresyonu ve genetik faktörler üzerine yoğunlaşmıştır. Genetik faktörler tip 2 diabetes oluşumunda kuvvetle etkilidir. Ancak mekanizması komplekstir ve tam aydınlatılamamıştır (35). Pankreas beta hücresi ile kas ve yağ dokusu metabolizmasında yer alan molekülleri ilgilendiren genler, DM’ye aday oluşturabilecek genlerdir (27,28,35). Normal glukoz toleransından bozulmuş glukoz toleransına ve hafif Tip 2 diabete geçildiğinde hiperinsülinemi oluşur. Açlık plazma glukoz düzeyi 80mg/dL’den 140mg/dL’ye yükseldiğinde insülin düzeyi normal sağlıklı bireylere göre 2-2.5 kat artar. Açlık glukoz düzeyi 140mg/dL’yi geçtiğinde ise beta hücreleri insülin salgılamasını daha fazla arttıramaz ve açlık hiperglisemisi arttıkça insülin salgılanması da kademeli olarak azalmaya başlar (32). Tip 2 diabette klinik dönemler; IFG, IGT ve tip 2 diabetes olarak özetlenebilir. Amerikan Diabetes Birliği 2004 kriterlerine göre, açlık plazma glukoz düzeyi 110-120 mg/dL olan grup bozulmuş açlık glukozu olarak sınıflandırılmaktadır. Bozulmuş glukoz toleransı ise glukoz yükleme testinin ikinci saatinde plazma glukoz düzeyinin 140-199 mg/dL olması durumu olarak tanımlanmıştır (36).

II.3.6. Diabetes Mellitusun Fiziopatolojisi

II.3.6.a. Glukoz Homeostazının Düzenlenmesi

Kan glukoz düzeyleri, karaciğerde glukoz üretimi ve insüline bağımlı dokular (yağ ve kas) ile insüline bağımlı olmayan dokularda (beyin, böbrek, eritrosit) glukozun kullanımı arasındaki denge sayesinde sağlanır. Bu denge pankreas endokrin hormonları olan insülin ve glukagon tarafından idare edilir (28).

Kan şekerinin kaynaklarından biri besinlerle alınan karbonhidrat, diğeri ise karaciğerdir. Açlık halinde karaciğer tek kaynak olmaktadır (32). Sağlıklı insanlarda açken karaciğerde glikoneogeneze ve glikojenoliz (sırasıyla aminoasitlerden ve glikojenden glukoz yapılması) üzerinden gerçekleşen glukoz yapımının glukoz kullanımı ile aynı miktarda olması, plazma glukoz düzeylerinin kontrol altında tutulduğunu gösterir (33). Yemek sonrası karaciğerden glukoz çıkışı ile dokular tarafından alınıp kullanılan glukoz miktarı arasındaki bu denge bozulur, kandaki glukoz düzeyi yükselir ve bu durumda, pankreas beta hücrelerinden salgılanan polipeptid yapıda hormon (insülin) glukoz homeostazının devamında esas rolünü üstlenir. İnsülin, karaciğerde glukoz yapımını baskılar (glikojenolizi ve glikoneogenezi), periferik dokularda yağ ve kaslarda glukozun alınımını ve kullanımını artırır (28,32,33).

II.3.7. Diabetes Mellitusun Komplikasyonları

1. Akut (metabolik) komplikasyonlar

- Hipoglisemi
- Hiperozmolar non-ketotik koma
- Diabetik ketoasidoz
- Laktik asidoz

2. Kronik (dejeneratif) komplikasyonlar (27,28)

A. Mikrovasküler komplikasyonlar

- Diabetik nefropati
- Diabetik retinopati
- Diabetik nöropati

B. Makrovasküler komplikasyonlar

- Hipertansiyon
- Koroner arter hastalığı
- Serebrovasküler hastalık
- C. Diğer kronik komplikasyonlar
 - Gastrointestinal (gastroparezi, diyare)
 - Genitoüriner (üropati, seksüel disfonksiyon)
 - Dermatolojik
 - Kemik ve mineral metabolizma bozuklukları
 - Diabetik ayak
 - Psikolojik problemler ve psikiyatrik bozukluklar

II.3.7.1. Diabetin Akut Komplikasyonları

Hipoglisemi

Diabetin akut komplikasyonlarından en sık görüleni hipoglisemidir. Diabetiklerde hipoglisemi hemen daima tedavinin bir yan etkisi olarak ortaya çıkmaktadır. Hipoglisemi, insülin kullanan diabetiklerde daha sık görülürken sülfonilüre kullananlarda daha nadir olarak ortaya çıkmaktadır. Hipoglisemi masum bir komplikasyon olmayıp kalıcı nörolojik sekellere sebep olabilir. Trombosit agregasyonunu artırarak diabetin vasküler komplikasyonlarını daha da ağırlaştırabilir. Tekrarlayan hipoglisemiler gerçek glisemi kontrolünün sağlanmasını önlemektedir. Dolayısıyla agresif tedaviye rağmen komplikasyonlar gelişebilir (37).

Hiperozmolar Non-Ketotik Koma

Ketoasidoz olmaksızın ileri derecede hiperglisemi, hiperozmolarite, dehidratasyon ve mental değişiklikler ile karakterize, mortalite oranı yüksek ve genelde ileri yaş grubunda görülen bir komplikasyondur. Bu vakalarda minimal de olsa bir endojen insülin rezervinin varlığı lipolizi engeller ve ketoz gelişmez. Tedavisi, komaya yol açan sebeplerin düzeltilmesi ve sıvı açığının yerine konulmasıdır (37).

Diabetik Ketoasidoz

Ketoasidoz koması, hayatı tehdit eden acil bir tablo olup mortalite hızı yaklaşık %5'tir. İnsülin ile insülin karşıtı hormonlar arasında dengenin insülin aleyhine bozulması sonucu oluşan ve ketoasidoz, hipovolemi, dehidratasyon semptom ve bulguları ile kendini gösteren, normalden tam komaya kadar varabilen şuur bulanıklıklarına sebep olabilen akut ve ağır bir metabolik komplikasyondur (37).

Laktik Asidoz

Serum laktat ve hidrojen iyonlarının artmasına bağlı gelişen metabolik asidoz tablosudur. Diabetik ketoasidozda vakaların yaklaşık %10-15'inde kan laktat düzeyi 5 mmol/L'yi aşabilmektedir. Genellikle ağır doku hipoksisi olan vakalarda ortaya çıkar (2,37).

II.3.7.2. Diabetin Kronik Komplikasyonları

Tip 1 ve Tip 2 diabetiklerde uzun süren metabolik dekompanseasyon makrovasküler ve mikrovasküler komplikasyonlara neden olur (38,39).

A. Mikrovasküler Komplikasyonlar

Diabette mikrovasküler sistemde hem yapısal, hem de fonksiyonel değişiklikler meydana gelir. Fonksiyonel değişiklikler kan akımında artış, intravasküler basıncın yükselmesi ve vasküler

geçirgenliğin artışı şeklinde iken, en önemli yapısal değişiklik bazal membran kalınlaşmasıdır. Özellikle genetik yatkınlığı olan bireylerde diyabetin süresi uzadıkça büyük küçük bütün kan damarları bozulur (28,39). Proteinlerin nonenzimatik glikolizasyonu, poliolmiyoinositol yolunun yoğun çalışması, hiperfiltrasyon ve hipertansiyon gibi hemodinamik değişiklikler, endotel, endotelin destekçisi dokular ve ekstrasellüler matriksin primer bozuklukları, koagülasyon sistemi ve büyüme faktörlerine ait anormallikler gibi patojenik mekanizmalar diyabetik mikrovasküler komplikasyonların oluşmasına yol açar.

Diabetik Nefropati

Diabetik nefropati diyabetin en ciddi komplikasyonlarından biridir. Hastaların %35'i son dönem böbrek hastalığı geliştirerek diyaliz ve renal transplantasyon gerektirirler. Tip 1 DM'si olanlarda proteinürisi olanların 40 yıl sonra sağ kalma olasılıkları %10 iken, olmayanlarda bu olasılık %70'dir. Makroproteinürisi olan diyabetik hastaların %50'si 10 yıllık izlemde kaybedilirken, olmayanlarda ölüm oranı %2'dir. Önceleri epidemiyolojik çalışmalarda diyabetik hastalarda nefropati insidansının oldukça yüksek olduğu bildirilmesine rağmen yeni çalışmalarda bulunan insidans muhtemel metabolik kontroldeki gelişmelere ve özellikle de antihipertansif ilaç kullanımına bağlı olarak daha düşüktür (40).

Metabolik kontrol değişmeden glomerüler hipertansiyonun ortadan kaldırılması (düşük proteinli diyet ve ACE inhibisyonu ile), kontrolsüz diyabetik hayvanlarda sadece albüminüri gelişimini önlemez, glomerüler histolojik değişikliklerin oluşmasını da geciktirebilir (41).

Nefropatinin genetik patogenezinde en sık araştırılan gen ACE geni olmuştur. Bazı gruplar bu gen polimorfizmi ile nefropati oluşumu arasında ilişki göstermişlerdir. Hastalarda retinopati, nöropati, periferik vasküler hastalık, sol ventrikül hipertrofisi, sessiz iskemik kalp hastalığı varlığı da nefropati için risk faktörleridir.

Diabetik nefropatinin tedavisinde; normoalbüminürik risk altındaki hastalar, mikroalbüminürik diyabetik hastalar ve aşikar diyabetik nefropatili hastalar ayrı ayrı değerlendirilmelidir. Normoalbüminürik risk altındaki hastalarda glisemik kontrolün temini ve varsa hipertansiyonun agresif şekilde tedavisi gereklidir. Normoalbüminüriye karşın ACE inhibitörlerinin kullanılmasının diyabetik nefropati progresyonunu geciktirdiği gösterilmiştir (41).

Diabetik nefropatili hastalar, normalde bir çok diğer komplikasyona sahiptir ve nefropati evresi ilerledikçe problemler artar. Hepsinde sıklıkla proliferatif olan retinopati mevcuttur. Çok büyük bir kısmında koroner arter hastalığı vardır ve bundan kaynaklanan ölüm riski, proteinürisi olmayan hastalara göre bir çok kez daha yüksektir. Son yıllarda yapılan bir çok çalışmada gösterilmiştir ki mikroalbüminüri varlığı diyabetik hastalarda iskemik kalp hastalığı gelişme riski ile çok yakından ilgilidir (42).

Diabetik Retinopati

Diabetik retinopatinin derecesi diyabetin tipinden bağımsız olarak hastalığın süresi ile orantılı olarak artar. Başlıca nonproliferatif ve proliferatif retinopati olarak sınıflandırılabilir (43).

Diabetik nonproliferatif retinopati, basit ve background retinopati adını da alır. Hastalığın prevalansı yaşla artar. Damarlarda konstriksiyon, dilatasyon, kıvrıntılar, nokta şeklinde retinal kanamalar, mikroanevrizmalar, çizgisel veya alev şeklinde preretinal kanamalar ve sert ya da yumuşak eksüdalar vardır. Retinal iskeminin artması ile nonproliferatif lezyonlar daha da ilerler ve damarsal değişiklikler, preproliferatif devreye geçiş ve 1-2 yıl içinde oluşacak proliferatif retinopatinin habercileridir. Proliferatif retinopati, diyabetik oftalmopatinin en ciddi komplikasyonudur ve vitreusda kanama, retinal dekolman ve amaroze riski taşır. Diyabetik retinopati tedavisinde, öncelikle hastalarda hipertansiyon varsa agresif olarak tedavi edilmeli, sonrasında retinopati tedavisine geçilmelidir (43).

Diabetik Nöropati

Yaşam kalitesini bozan semptomatik nöropati diabetik hastaların %50'sinde mevcuttur. Sensoryel bozukluk nedeni ile anestezi veya hipoestezi, vibrasyon ve pozisyon duyusunda kusur vardır. Bu his kusuru, eklemlerde ve ayak dokularında zedelenmelere neden olarak, diabetik ayak ve Charcot eklemi denilen tablonun oluşmasına neden olur (1-3). Glisemik kontrol semptomatik rahatlama sağlar, nöropatinin ilerlemesini yavaşlatıp durdurabilir.

B. Makrovasküler Komplikasyonlar (MVK)

Diabetin makrovasküler komplikasyonları ilerlemiş ateroskleroza sekonder olarak olarak gelişir. Nondiabetiklerde de gözlenen kardiovasküler değişikliklerden farklılık göstermezler. Fakat bu kardiyovasküler değişiklikler diabetik hastalarda daha erken yaşlarda ortaya çıkar daha süratli ve agresif ilerler. Tip 2 diabetiklerde MVK ölümlerin %80 nedenidir ve bunların da %60 koroner kalp hastalığından kaynaklanır. Özellikle insülin rezistansının bulunduğu Tip 2 DM'de hiperinsülinemi, muhtemelen düz kas hücresi proliferasyonunu stimüle ederek, makrovasküler hastalık oluşumunda etkili olmaktadır. Hipertansiyon prevalansı Tip 2 diabetiklerde en az 2 kat daha fazladır. Çünkü bu hastalarda obezite ve insülin rezistansı sıklıkla diabete eşlik eder. Bu hastalarda hipertansiyon iyi bir şekilde tedavi edildiği takdirde MVK'ya ait morbitide ve mortalitenin önemli derecede azaldığı gösterilmiştir (1-3,37-39).

Diabetin makrovasküler komplikasyonları başlığı altında 3 ana patoloji incelenmektedir:

1. Diabetik kalp hastalığı: Diabetik kalp hastalığı; koroner kalp hastalığı, diabetik kardiyomyopati ve diabetik kardiyovasküler otonom nöropati şeklinde olabilir.

2. Periferik arter hastalığı: Periferik arter hastalığı olan diabetiklerde bacak ve ayak amputasyonları diğer ateroskleroz nedenlerine bağlı gerekebilen amputasyonlardan 5 kat daha fazladır. Diz altındaki ufak ve orta çaplı damar lezyonları, mikrovasküler hastalık ve nöropati ile birlikte gangren oluşumu kolaylaştırır.

3. Serebrovasküler hastalık: Beyin kan akımını sağlayan büyük damarlar ateroskleroz nedeniyle değişikliğe uğrayabilir. Bu damarlarda trombüs oluşumu, diabetiklerde hiperkoagülabilite yaratan faktörlerin de etkisiyle daha sık görülür. Diabetiklerde inmeler daha ölümcül olmaktadır ve daha fazla sekel bırakmaktadır. Kanama tipi inmeler ise diabetik hastalarda %8 oranında görülebilmektedir (38,44).

Diabetin süresi mevcut risk faktörlerinden bağımsız şekilde koroner kalp hastalığına bağlı mortaliteyi arttırır. Diabetik hastalarda asemptomatik koroner hastalık insidansı yüksektir. Sessiz myokard iskemi oranı diyabetikler için %20'den fazla olarak bildirilmektedir. Kardiyak otonomik disfonksiyon iskemiye karşı ağrı yanıtını bozmaktadır (45).

Koroner kalp hastalığı açısından mortalite oranı diabetik kadınlar arasında diabetik erkeklere oranla genelde daha yüksektir (1-3). Bu artış kısmen östrojenin aterosklerozdan koruyucu etkisinin azalmasından kaynaklanmaktadır (2).

Son yıllarda postprandiyal hipergliseminin diabette bağımsız bir risk faktörü olduğunu gösteren kanıtlar çoğalmıştır. Tip 2 diabetik hastalarda gerek glukoz yüklemesinden sonraki konsantrasyonların, gerekse postprandiyal glukoz konsantrasyonlarının kardiyovasküler hastalıklarla açlık glukoz düzeyinden bağımsız olarak doğrudan bir ilişkisi bulunduğu görülmüştür (46). Postprandiyal glukoz değerlerinin kontrolü, diabete bağlı makrovasküler ve mikrovasküler komplikasyonları geciktirebilir veya önleyebilir (47).

Tip 2 diabetik hastalarda kardiyovasküler hastalıkların tedavisinde çok yönlü yaklaşım söz konusudur. ADA sadece iyi bir glisemik kontrolün değil, aynı zamanda ilişkili kardiyovasküler risk faktörlerinin de tanımlanmasını, sıkı tedavilerini önermektedir. Ayrıca genel popülasyona oranla lipid ve kan basıncı değerlerinin kontrolünde daha sıkı hedefleri öngörmektedir (22,23,25). Diabet, koroner arter hastalığı ve inme gelişimi için oldukça önemli bir risk faktörüdür. Diyabetik olmayanlardaki %30 oranına karşı, diyabetik hastalar arasındaki tüm ölümlerin %80'i ateroskleroz kaynaklıdır (42,44,45). Diabet tüm hasta gruplarında aterosklerozun doğal seyrini hızlandırmakta ve daha yaygın aterosklerotik lezyonla birlikte daha fazla koroner damar tutulumuna neden olmaktadır. Kardiyak kateterizasyon yapılan diabetik hastalarda anlamlı derecede daha ciddi distal ve proksimal KAH görülmüştür. Ayrıca, bunlara ek olarak; plak ülserasyonu ve trombozunun bu hastalarda anlamlı olarak daha yüksek olduğu bulunmuştur (48).

Hipergliseminin derecesi ve süresi mikrovasküler komplikasyonların gelişimi için kuvvetli risk faktörüdür; ama Tip 2 diabette, MVK'nın hastanın diabet süresi veya şiddeti ile bağlantılı olduğu gösterilememiştir. Bozulmuş glukoz toleransı bile, hiperglisemi minimal olmasına rağmen kardiyovasküler riski artırır. Tip 2 diabet gelişimine genetik yatkınlığı olan insanlarda bir problem olduğuna dair tespit edilebilen ilk bulgu, diabet gelişiminden 15-25 yıla kadar uzun süreler önce görülebilen insülin direncidir. Aterosklerotik süreci klinik hipergliseminin ortaya çıkışından yıllar önce başlatabilen insülin direnci çeşitli aterojenik faktörlerle ilişkilidir. İnsülin direnci olan hastalarda kompensatuar hiperinsülineminin ateroskleroz oluşumunda rol oynayıp oynamadığı açık değildir. Birkaç prospektif çalışma açlık ve postprandiyal hiperinsülinemi ile gelecekte KAH gelişimi arasında bir birliktelik olduğunu göstermiştir (38,39). Tip 2 diabette, hipergliseminin kendisi ateroskleroz ilerleyişini kuvvetlendirmekte önemli rol oynar. Hipergliseminin, aterojenik hale geldiği eşik değer seviyesi bilinmemektedir; ancak bu değer IGT olarak tanımlanan aralıkta (110-126mg/dL) olabilir. Tüm bu faktörlerin oynadığı role rağmen, toplum temelli çalışmalar hiperglisemi derecesinin KAH ve kardiyovasküler olaylar için riski artırdığını göstermektedir. UKPDS çalışması Tip 2 diabetik hastalarda glisemik kontrolle ilgili en büyük ve en iyi yürütülmüş çalışmadır. Yeni tanı konmuş Tip 2 diyabetlilerde sıkı glisemik kontrolün mikro ve makro anjiyopatiyi azaltmada etkisi sorgulanmıştır. Sıkı glisemik kontrol 108mg/dL'den düşük açlık plazma glukozu olarak tanımlanmıştır. Sıkı glisemik kontrolle makro ve mikrovasküler komplikasyonlarda anlamlı azalma olduğu gösterilmiştir (39).

II.4. Diabet ve Hipertansiyon

Birleşik Ulusal Komite'nin (JNC: Joint National Committee) 7. raporunda belirttiği biçimiyle hipertansiyon, kan basıncının 130/80 mmHg'den büyük olmasıdır (49). Bu durum, Tip 2 diabetikler arasında %70 oranında görülür ve diabetik olmayanlara göre 2 kat daha sıktır (3). Tip 2 diabette hipertansiyon, sıklıkla santral obezite ve dislipidemiye de içeren insülin rezistansı, metabolik sendromun bir parçasıdır (49). Arteriyel hipertansiyon, diabetik mikro ve makroanjiyopatinin başlangıcı ve ilerlemesi için bir risk faktörüdür. Hipertansiyon, böbrek ve kalp hastalığına olan katkısı nedeni ile diabette mortaliteyi 4-6 kat artırır. Diabeti ve hipertansiyonu olan hastalarda ciddi kardiyovasküler olay gelişme ihtimali, tek başına diabet ya da tek başına hipertansiyonu olanların 2-3 katıdır (3).

Yapılan çalışmalar, diabetik hastalarda sıkı kan basıncı kontrolünün kardiyovasküler morbidite ve mortaliteyi azalttığını göstermiştir. Hipertansiyon ve Tip 2 diabetli hastaların tedavisinde tansiyon kontrolüne öncelik verilmelidir. Bu nedenle ADA ve JNC-7 kan basıncı hedefi olarak 130/80 mmHg ve altını önermektedir (25,49). Hedef kan basıncının sağlanması için önerilen ilk basamak ilaçlar ACE inhibitörleridir. Ek olarak anjiyotensin reseptör blokerleri, beta blokerler, düşük doz tiazid diüretikleri de önerilmektedir. Etkinliğinin daha az olduğu şeklindeki endişeler-

den dolayı, dihidropiridin grubu kalsiyum kanal blokerleri ve alfa blokerler ikinci sırada ve spesifik endikasyonlarda kullanılabilecek ilaçlardır (25,41,49).

II.5. Diabet ve Dislipidemi

Diabet, kardiyovasküler hastalıklar için bağımsız bir risk faktörüdür ve bu risk beraberindeki dislipidemilerle daha da artar. Tip 2 diabetli hastalarda lipid anomalileri sadece hiperglisemiyle değil aynı zamanda insülin dirençli ortamda karşılıklı etkileşimle de ilişkilidir. Tip 2 diabetli hastaların düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) seviyeleri normal olabilir ancak çok düşük yoğunluklu lipoprotein (VLDL) ve trigliserid seviyeleri artmıştır ve yüksek yoğunluklu lipoprotein (HDL) seviyeleri düşmüştür (50). LDL normal olsa da bu molekülün aterojenik özellikleri artmıştır. LDL'nin reseptör aracılıklı hücre içi alımında ve temizlenmesinde bozulma vardır. Glukolizasyon LDL'yi oksidatif değişikliklere daha hassas hale getirir. LDL'nin hem glukolizasyon hem de oksidasyonundan oluşan ortak ürün çok daha aterojeniktir. Bu şekildeki LDL molekülleri aortik intimal hücreler ve makrofajlar tarafından daha kolaylıkla alınır ve bu da köpük hücrelerin oluşumuyla sonuçlanır (51). İnsülin direnciyle birlikte Tip 2 diabetli hastalarda küçük ve trigliseridden zengin fakat içerisinde çok az kolesterol bulunan LDL parçacıkları yaygın olarak vardır. Bu şekildeki LDL parçacıkları, muhtelemeden oksidatif değişikliklere artmış hassasiyetlerine bağlı olarak, KAH riskini toplam LDL seviyesinden bağımsız olarak artırırlar. Diabetik hastaların, artmış serbest yağ asidi mobilizasyonu ve yüksek glukoz düzeyleri nedeniyle VLDL seviyeleri de yüksek değerlerdedir. Trigliseridden zengin büyük VLDL'lerin çokluğu küçük yoğun aterojenik LDL parçacıklarında artış ile ilişkilidir (52). Bir çok çalışma diabetik hastalarda yüksek trigliserid seviyelerinin artmış KAH riski ile birlikte olduğunu göstermiştir (51,52). Buna karşın artmış trigliserid seviyeleri diabetik olmayan kişilerde KAH riski ile daha düşük ilişki göstermektedir. Diabetiklerde HDL'nin artmış yıkımı ve azalmış üretimi söz konusudur. Diabetik hastalarda trigliseridlerin artması ve HDL kolesterolünün azalması ateroskleroza hızlandırır. Tip 2 diabette görülen bu dislipidemi formu, genelde diabet başlamadan önce de vardır (3). Trigliseridden zengin büyük VLDL'nin artmış hepatik sekresyonu ve VLDL'nin bozulmuş klirensi, diabetik dislipidemisinin patofizyolojisinde merkezi rol oynamaktadır. Küçük yoğun LDL partikülleri, daha büyük VLDL prekürsörlerinin damar içinde özel olarak ilerlemesi sonucu yükselmektedirler (53).

Birçok hastada bu anormal değişiklikler, LDL kolesterolün normal serum seviyelerinde bile oluşur. Nitekim genel olarak Tip 2 diabet hastalarının LDL düzeyleri normal insanlardan belirgin olarak farklı değildir. Bu hastalarda, daha aterojenik olan küçük yoğun LDL miktarı artmış ve kalp açısından koruyucu olan HDL-2 ve HDL-3 alt grupları azalmıştır. Tip 2 diabetli hastalarda orta yoğunluklu lipoprotein IDL ve küçük yoğun VLDL miktarı da artar; bunlar da ateroskeroza ilişkilidir (3,51-53).

ADA, lipid düzeylerine yönelik tedavinin diabetik hastaların tedavisinde başlıca öncelik olduğunu ve kardiyovasküler riski azaltması açısından en yararlı girişim olduğunu kabul etmektedir (25). Tedavide ilk öncelik LDL'nin düşürülmesi, ardından trigliseridin azaltılması, HDL'nin yükseltilmesi ve kombine hipolipidemisinin hedeflenmesidir (3). Diabetik hastalarda statin tedavisi, ortalamanın altında LDL kolesterol seviyeleri olsa bile, bariz kardiyovasküler hastalık olup olmadığına bakmaksızın faydalıdır (2). Bu tedavinin, IFG'li hastalarda bile majör koroner olayların riskini %38 azalttığı, prognozu iyileştirebileceği bildirilmektedir (25).

II.6. Diabetes ve Aortik Stiffnes

Arteriyel stiffnes; damar duvarında elastik doku kaybından kaynaklanan damar katılaşması ve bunun sonucunda da aralıklarla kasılan kalbin oluşturduğu pulsasyonları yontarak, kanın bu dokular içinden hemen tamamen aralıksız bir akışla geçmesinin kaybıdır. Arteriyel kompliyans; sabit bir

damar uzunluğunda belirli bir basınç için mutlak çap değişikliği yani arteriyel duvarın genişleyebilirliğidir. Kan damarlarının duvar bileşenleri; damar yapısı ve biçimi, kan volümü, damar içi basıncı ve otoregülatuar mekanizmalar arteriyel komplianceyi oluşturmaktadır (54).

Sol ventrikül sistolü sırasında fırlatılan stroke volüm basınç oluşturmaktadır. Buna karşı arteriyel sistemde genişleme meydana gelir. Diyastol sonunda arterde kalan kan miktarı arteriyel komplianceye bağlıdır. Sistol sırasındaki aorta ve büyük arterlerde fazla miktarda volüm depolanabilir. Bu yüzden proksimal aorta ve major dalları arteriyel sirkülasyon komplianceyi üzerine en çok paya sahiptir (55).

Kardiyovasküler risk faktörlerinin kan damarları üzerine etkisi birçok çalışmada incelenmiştir. Bu risk faktörlerinin damarlarda yaptıkları yapısal değişiklikler sonucu damarların sertleştiği ve compliance'nin azaldığı ortaya konmuştur. Özellikle ilge büyük damarlara kaymış olup, büyük damarlardaki stiffnesin artmasıyla kardiyovasküler mortalite ve morbiditenin arttığı bulunmuştur (54,55). Bu yüzden son zamanlarda aortik stiffnesteki artışın tedavi gerektiren bir risk faktörü olduğu kabul görmüştür. KAH'ı olan bireylerde aortik stiffnesin artmış olması ve KAH için bağımsız bir belirleyici olduğu ortaya konmuştur (56). Aortik stiffnes bu yüzden kardiyovasküler sistem performansını belirlemede çok önemlidir.

Diabetin damar duvarında yaptığı bir takım değişiklikler arteriyel compliance ve stiffnesi değiştirmektedir. Bu hastalarda artmış olarak saptanan arteriyel stiffness sistolik kan basıncını arttırmakta, diyastolik kan basıncını azaltmakta; böylece nabız basıncının arttırarak damar üzerindeki stresi arttırmaktadır. Diyabetin büyük arterlerde yarattığı sertleşmenin kardiyovasküler mortalite ve morbiditenin en iyi belirteci olduğu bildirilmiştir (57).

Diabetik hastalarda aortik stiffnesin patogenezinde aterosklerotik orijin sorumlu tutulmuştur. Anjiyografi ve otopsi çalışmalarında diabetik hastalarda daha ciddi ve yaygın ateromatöz hastalık gözlenmiştir (58). Diabetin damar duvarında yaptığı bir takım değişiklikler arteriyel compliance ve stiffnesi değiştirmektedir. Monier ve arkadaşları (59) insülin bağımlı hastalarda diabetik olmayan kontrol grubuna göre stiffneste artma bulmuşlardır. Diğer bazı çalışmalara ise Tip 2 diabetik hastalarda karotis arterin artan stiffnesi glukoz seviyesiyle pozitif olarak korele bulunmuştur (57,58).

Eren ve arkadaşlarının (60) yaptığı çalışmada aort damar sertliği ile sol ventrikül diyastolik fonksiyonu arasındaki yakın bağlantıyı göstermesine rağmen, nedensel bir ilişkinin olup olmadığı kesin değildir. Bu ilişkinin iki olası mekanizması bulunmaktadır. Birincisi hipertansiyon ve diabetes mellitus nedeniyle kardiyak ve aort duvarında paralel değişimler meydana gelebilir. Yani diyabetin ve hipertansiyonun karakteristiği olan miyokard ve aort hasarına sekonder olarak sol ventrikül diyastolik disfonksiyonu ve aort damar sertliği oluşmuş olabilir. Diabetli hastalarda glikozidlerin miyokarddaki birikimine rağmen aynı değişikliklerin bu hastalığın erken evresinde kardiyak ve aort duvarında oluşup oluşmadığı bilinmemektedir. İkinci olası mekanizma ise; sol ventrikülün miyokardın yapısal değişikliklerine ve dolayısıyla sol ventrikül diyastolik disfonksiyonuna yol açacak şekilde artan aort damar sertliğinin aynı şekilde kalpten çıkan yükü (afterload) de artırabilmesidir. Kardiyak hipertrofi artışına yol açan en önemli faktör artmış sistol sonu duvar basıncıdır. Bu sistol sonu basıncı yenmek üzere miyokarda; sistolik ve diyastolik miyokard sertliğini artırıcı yapısal değişiklikler meydana gelir. Koroner arter hastalığı dışlansa dahi hipertansiyonlu ve diabetli hastalarda aort damar sertliğinde bir artış olduğunu bildirmiştir (60). Genel kabul gören düşünce; diabetli hastalarda aortik stiffnesin artması ile birlikte kardiyovasküler mortalite ve morbiditenin arttığı yönündedir.

II.7. Isı şok proteinleri

Isı şok proteinleri (HSP) tüm canlılarda birbirlerine benzer olarak bulunan, hücrelerin yenilenme ve tamir mekanizmalarında benzer görevler yapan moleküller arasında yer

almaktadırlar. İlk olarak yaklaşık 25 yıl önce tıp fakültesinden yeni mezun Pramod Srivastava tarafından kanser üzerine çeşitli araştırmalar yaparken tanımlanmışlar ve sonrasında çok merkezli çalışmalarda bu proteinler hakkında daha detaylı bilgiler edilmiştir (61). Günümüzde ise HSP üzerine en yoğun çalışmalar Susan Lindquist tarafından yürütülmektedir (62).

Kanser üzerine yapılan araştırmalarda kanser aşısı geliştirme yönündeki hayvan deneylerinde HSP kullanılmaktadır. Tıp dışında ise özellikle botanikte verimsiz topraklara adapte olabilecek ve verimli ürün verebilecek bitkilerin geliştirilmesinde de yine HSP kullanılmaktadır (63). Ancak bu çalışmalardan hala hiç biri günümüzde gerçek hayata ya da insanlar üzerinde denemeye geçirilebilmiş değildir.

Tüm canlılar yaşamları boyunca çeşitli nedenlerle stres altında kalabilmekte ve hücrel olarak proteinlerinde bozulma ile karşılaşabilmektedirler. Bu stres durumları kısaca 3 grupta toplanarak özetlenebilir:

1. Çevresel stres faktörleri

- a. Ani ısı değişiklikleri
- b. Ağır metallerle maruziyet
- c. Enerji metabolizmasının sekteye uğraması
- d. Amino asit analogları
- e. Kemoterpötik ajanlar

2. Hastalık durumları

- a. Viral enfeksiyonlar
- b. Ateş
- c. İnflamasyon
- d. İskemi
- e. Hipertrofi
- f. Malignite
- g. Oksidan hasarı

3. Normal hücrel olaylar

- a. Hücre bölünmesi siklusu
- b. Büyüme faktörleri
- c. Gelişme ve farklılaşma

Hücre içi bir proteinin normal olarak görevini sürdürebilmesi için kendine özgü üç boyutlu şeklini muhafaza etmesi şarttır. İşte stres durumlarında kolayca kaybolabilen bu üç boyutlu şekil durumunda HSP molekülleri karşımıza çıkmaktadırlar. Isı şok proteinleri stres koşullarında gelişebilen hücre hasarı durumlarında sayı ve miktarca artarak hücreyi koruma ya da hasarlı hücreleri yenileme sürecinde regülatör proteinler olarak işlev görürler (ısı şok cevabı). Yine bu proteinler tamamen normal fonksiyon gören hücrelerde de normal şartlarda sitoplazmada mevcuttur ve hücre içi proteinlerin doğru şekilde ve doğru yerde olmalarını düzenleyen “chaperon” moleküllerdir. Yapıları bozulmuş ya da görevlerini tamamlamış diğer proteinleri hücre içinde kompartmanlar arasında taşımak görevinde de yine HSP önemlidir (hücrel stres cevabı). Ayrıca bu proteinlerin immün sistem tarafından hastalıklı ya da normal diye tanınmak üzere hücre yüzeyinde peptid yapıların oluşumuna yardımcı oldukları da düşünülmektedir.

Her ne kadar HSP hücre içinde bulunsalar da bu moleküllerin hücre dışında saptanmaları o hücrenin yıkıldığı veya nekroza uğradığı anlamına gelir. İşte bu durumda HSP moleküllerinin hücre dışı görevleri başlar. Hücre dışı HSP miktarlarının artması özellikle enfeksiyon ve hastalık

durumlarında oraya çıkar ve bu canlının enfeksiyona yenik düştüğünün önemli göstergelerinden biridir. Bu durumda immün sistem tetiklenir ve canlı hastalıkla daha güçlü savaşıma başlar. Ayrıca HSP molekülleri hücre yıkımı sonucu ortaya çıkan zararlı artıkların immün sistem tarafından ayıklanması ve temizlenmesinde de görev almaktadırlar (64).

Kendileri de birer protein olan HSP molekülleri de yukarıda özetlenen stres durumlarına maruz kalabilmektedir. Ancak bu proteinler diğer proteinlere nazaran hücre içi daha kuvvetli hidrojen bağları, daha sağlam hidrofobik molekül içi paketlenmeleri, güçlendirilmiş sekonder yapıları ve heliks çift polar stabiliteleri nedeniyle daha dayanıklı olmakta ve daha az hasara uğramaktadırlar.

Isı şok proteinleri moleküler ağırlıklarına göre sınıflandırılırlar. Bu ailelerden en önemlileri HSP 100, HSP 90, HSP 70, HSP 60 (chaperonin) ve daha küçük HSP / alfa-kristalin proteinlerdir (65).

Isı şok proteinlerinin kardiyovasküler sistem içinde ayrı bir önemi olduğu bilinmektedir. HSP 90, HSP 84, HSP 70, HSP 27, HSP 20 ve alfa kristalin moleküllerinin kardiyovasküler sistem üzerinde farklı rolleri mevcuttur. HSP 90 endotelial nitrik oksit sentaz ve çözünülebilir guanilat siklaza bağlanarak çeşitli kanserler üzerinde olumlu etkilere sahiptir. Ayrıca GRP 90 alt grubu ile birlikte steroid reseptörleri gelişiminde ve DNA yazılım faktörlerinin üretiminde etkilidir. Nitrik oksit hücre sinyal yolunda kinaz olarak görevli protein kinaz G düşük molekül ağırlıklı HSP ve özellikle HSP 20 fosforilasyonunda görevlidir ki bu da düz kas gelişimi, trombosit agregasyonu, kardiyak miyozit fonksiyonu, iskemik hasar sonrası apoptozun engellenmesi, çizgili kas fonksiyonlarının düzenlenmesi ve kas insülin cevabında önemlidir. HSP 27 kasılma sırasında görev yapan majör fosfoproteinlerden biridir. Düz kas migrasyonu, aktin filamanlarının dinamiği ve fokal adhezyonlarda integral role sahiptir. Bir hipoteze göre HSP 27 ve HSP 20 aktin ile miyozin arasında köprü oluşumunda rol oynamaktadır. HSP 60 protein katlanmasında ve sentezi sonrası proteinin mitokondriye taşınmasında görevli olmaktadır. HSP 70 kendi içinde Hsp71, Hsc70, Hsp72, Grp78, BiP, Hsx70 gibi alt gruplara ayrılarak proteinlerin katlanması ya da katlanmamasını indükleyebilmektedir ki bu hücreyi ısı stresine karşı daha dayanıklı kılmaktadır. Ayrıca HSP 60 gibi HSP 70 de sentez sonrası proteinin mitokondriye taşınmasında görev yapabilmektedir. HSP 100, alt grup-ları HSP 104 ve HSP 110 ile birlikte aşırı yüksek ısılara karşı dayanıklılık sağlamaktadır (66).

Çalışmamızda kullanılan HSP 70 molekülü 70 kilodalton ağırlığındaki HSP ailesinin bir üyesidir. Her ne kadar HSP molekülleri Pramod Srivastava tarafından tanımlanmış olsa da ilk olarak 1960'larda F.M. Ritossa'nın laboratuvar çalışmaları sırasında tesadüfen fark edilmişler ancak anlaşılamamışlardır (67). Ancak 1980'lere kadar bu konu üzerinde yeterince durulmamış olması bu moleküllerin isimlendirilmesini geciktirmiştir. Ritossa, Drosophila sinekleri (meyve sinekleri) üzerinde çalışırken yanlışlıkla bu hayvanları yüksek sıcaklıkla muamele etmiş ve daha sonra bu sineklerin hücre ve genetik özelliklerini incelediğinde tanımlayamadığı ilginç protein yapısında moleküllerin sentezlendiğini fark etmiştir (68). Bu moleküller daha sonra HSP ismini almıştır.

Isı şok proteinlerinin sentezi transkripsiyonel olarak düzenlenmektedir ve sentezi tetikleyen ısı şok faktörü, hücre hasarına ısı şok cevabının bir parçasıdır. Ancak bu proteinlerin sentezinde halen bir çok konu açıklığa kavuşturulabilmiş değildir. Isı şok proteinleri ailesinden HSP 70 bu proteinler içerisinde üzerinde en çok çalışılanlardan biridir. Özellikle akut myokard stresine karşı koruyucu olduğu düşünülmektedir (69). Oksidatif strese karşı düz kas hücreleri üzerinde sitoprotektif etkileri olduğu ve nekrozu sınırlandırdıkları gösterilmiştir (10). Miyokard hücrelerinde bazal HSP 70 değerlerinin artması iskemi-reperfüzyon hasarına karşı koruyucu bulunmuştur (70,71). Yüksek myokardial HSP 70 makrofajlar tarafından tümör nekroz faktörü alfa sentezini azaltmakta ve bu da kardiyopulmoner bypass sonrası inflamasyonun daha az olmasına ve kardiyak fonksiyonların daha iyi korunmasına yardımcı olmaktadır (72). HSP 70 sadece doku düzeyinde değil aynı zamanda serumda da bulunmaktadır (14). Ancak serumdaki HSP 70 ile doku düzeyindeki HSP 70'in görevleri arasında ne gibi farklılıklar olduğu açıklığa

kavuşturulabilmiş değildir. Düşük seviyelerdeki serum HSP 70 düzeyleri düşük koroner arter hastalığı ile ilişkili olduğu düşünülmektedir (73). Artmış HSP 70 düzeylerinin periferik arter hastalığının bir göstergesi olabileceğini belirten yayınlar mevcuttur (74) ve bu proteinlerin hipertansif hastalarda ateroskleroz gelişiminde birer prediktör olabileceği gösterilmiştir (14). Her ne kadar mekanizmalar tam olarak açıklanamamış olsa da ileri basamak çalışmalar HSP 70 düzeylerinin arttırılmasına yönelik olmuştur. Bu yönde preoperatif stress ile koşullama ya da yine preoperatif özellikle kemoterapötik ajanların verilmesi sıklıkla denenmiştir. Yine bir başka çalışmada ise preoperatif olarak verilen glutaminin HSP 70 üretimini artırdığı ve kardiyopulmoner bypassa bağlı inflamatuvar yanıtı nitrik oksit sentaz aktivitesini düzenleyerek azalttığı gösterilmiştir (13).

III. GEREÇ VE YÖNTEM

III.1. Araştırma Planı

Çalışma İstanbul Üniversitesi Deneysel Tıp ve Araştırma Enstitüsü'nde gerçekleştirilmiştir. Histopatolojik ve biyokimyasal incelemeler Türkiye Cumhuriyeti Genel Kurmay Başkanlığı Gülhane Askeri Tıp Akademisi Haydarpaşa Eğitim Hastanesi Patoloji Servisi'nde yapılmıştır. Çalışmanın uygulanabilmesi için İstanbul Üniversitesi, Deneysel Tıp ve Araştırma Enstitüsü Deney Hayvanları Etik Kurulu'ndan gerekli onay alınmıştır (Etik kurul no: 15/2006, Tarih:18-04-2006).

Çalışmada 30 adet yaklaşık 300-350gr ağırlığında uygun koşullarda normal gıdayla beslenen erişkin (yaklaşık 3 ay) erkek sprague Dawley sıçan kullanılmıştır. Sıçanlar kontrol grubu (Grup 1), diabetik grup (Grup 2) ve glutaminle indüklenmiş diabetik grup (Grup 3) olmak üzere 3 gruba ayrılmıştır.

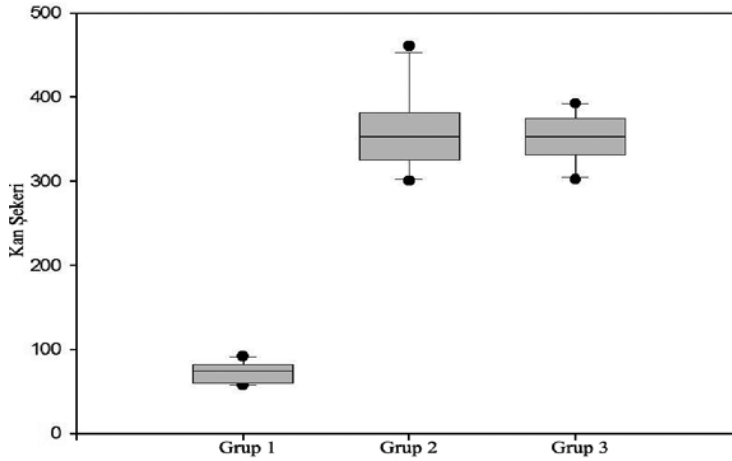
III.2. Kullanılan Gereç ve Maddeler

1. Heat Shock Protein 70 (HSP 70) Ab-3, 7ml Kullanıma Hazır 70 test
2. Heat Shock Protein 70 (HSP 70) Ig G ELISA kit (StressGen Biotechnologies Corp.)
3. UltraVision Polyvalent (Rabbit-Mouse) HRP-AEC Kit, 15ml; 150-300 test
4. Citrate Buffer pH 6.0, 125ml 10 Konsantre (1.250 Litre)
5. Phosphate Buffered Saline (PBS), 1 Litre 10 Konsantre = 10 Litre
6. Mayer's Hematoxylin, 125ml
7. Aqueous Mounting Medium (Low Viscosity), 30ml
8. Polysine Kaplı Lam, 72'lik ambalaj
9. Lamel 24 x 50, 100'lük ambala
10. Pap Pen
11. Streptazocin, 50mg/kg
12. Glutamin, 100gr flk, 1000mg/kg
13. Sodyum Pentotal, 1gr flk, 40mg/kg
14. Olympus DP2-BSW ışık mikroskobu (4x, 10x, 20x, 40x, 100x 400x)
15. Dijital fotoğraf makinası (mikroskoba adapte edilebilen)
16. Windows işletim sistemi ile çalışan ve içinde SPSS (Statistical Package for Social Sciences) 15.0 program paketi (SPSS for Windows, SPSS Inc, Chicago, IL) ve Adobe Photoshop 7.0 CE yüklü kişisel bilgisayar

III. 3. Ölçüm Yöntemleri

III.3.1. Sıçanlarda Glukoz Tayini, Diabet Oluşturma ve Diabetik Sıçanların Glutamin ile İndüklenmesi

Tüm sıçanlarda deneye alınmadan önce 6 saat açlık sonrası kuyruk veninden alınan damla kanla şeker ölçümü yapılmış, kan şekeri ≥ 110 mg/dL olan sıçanlar çalışmaya dahil edilmemiştir. Ayrıca bu sayede ortalama bazal kan şekeri düzeyi belirlenmiştir. Kan şekeri ölçümünde MediSense Precision Q.I.D glukometre ile MediSense Sensor Electrodes (Abbott Laboratories Warszawa, Poland) elektrodları kullanılmıştır. Grup 2 ve Grup 3'teki sıçanlara 40mg/kg sodyum pentotal verilip anestezi sağlandıktan sonra penis veninden intravenöz 50mg/kg Streptazocin (STZ) verilerek geri dönüşümsüz pankreas hasarı oluşturulmuştur. Diabet kontrolü STZ uygulamasını takiben sıçanlara 2. günün sonunda 6 saatlik açlık uygulaması sonrası kuyruk veninden alınan damla kanda kan şekerinin ≥ 300 mg/dL bulunması ile yapılmıştır (Tablo 1, Grafik 1).



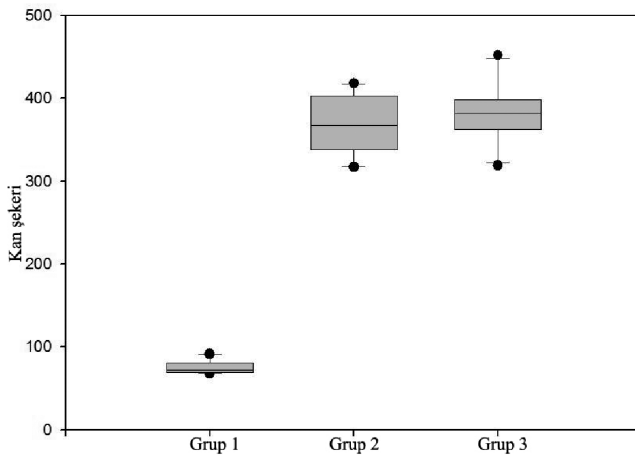
Grafik 1. Kontrol grubunda ve diabetik grupta Streptazocin uygulaması sonrası 2. gündeki açlık kan şekeri düzeyleri

Tablo 1. Kontrol grubunda ve diabetik grupta Streptazocin uygulaması sonrası 2. gündeki açlık kan şekeri düzeyleri (mg/dL)

Sıçan	Grup 1	Grup 2	Grup 3
1	61	380	366
2	75	385	387
3	82	357	303
4	58	321	337
5	66	301	328
6	59	369	393
7	75	328	371
8	92	349	367
9	84	336	333
10	76	461	341

(Grup 1, Kontrol grubu; Grup 2, Diabetik grup; Grup 3, Glutamin ile indüklenmiş diabetik grup)

Diabet takibi için 1. haftanın sonunda, 6 saatlik açlık uygulaması sonrası sıçanlarda aynı yöntemle tekrar açlık kan şekeri bakılmış ve kan şekeri düzeyinin ≥ 300 mg/dL olması ile kesin diabet doğrulanmıştır (Tablo 2, Grafik 2).



Grafik 2. Kontrol grubunda ve diabetik grupta Streptazocin uygulaması sonrası 1. hafta sonunda açlık kan şekeri düzeyleri

Tablo 2. Kontrol grubunda ve diabetik grupta Streptazocin uygulaması sonrası 1. hafta sonunda açlık kan şekeri düzeyleri (mg/dL)

Sıçan	Grup 1	Grup 2	Grup 3
1	70	362	379
2	72	413	365
3	69	342	412
4	72	328	355
5	79	390	319
6	68	317	452
7	91	355	388
8	83	372	394
9	75	418	385
10	69	400	379

Diabetin muhtemel kardiyovasküler komplikasyonlarının ortaya çıkması için sıçanlar 1 ay yaşatılmıştır. Bu takip süresince yeniden kan şekeri ölçümüne gerek duyulmamış diabetin klinik bulguları izlenmiştir. Takip süresinde diabet oluşturulmuş grupta 3 sıçan 3. hafta içerisinde muhtemelen diabetin yan etkileri dolayısıyla kaybedilmiş, yerlerine diabet oluşturulan 3 yeni sıçan eklenmiştir.

Grup 3'teki sıçanlara, sıçanlar sakrifiye edilmeden 1 hafta önce 2 kere 1000mg/kg glutamin intraperitoneal yolla verilerek HSP 70 sentezi indüklenmiştir.

Bir ayın sonunda tüm gruplardaki sıçanlara yüksek doz anestezi madde (90mg/kg pentotal) altında juguler venden kan alınarak ötenazi uygulanmıştır. HSP 70 düzeylerini değerlendirmek amacıyla sıçanlardan kan örnekleri ile birlikte yeterli büyüklükte sağ atrium, sağ ventrikül, sol atrium, sol ventrikül dokuları elde etmek için kalp enblok olarak ve aort tüm segmentleri boyunca çıkarılmıştır.

III. 3. 2. Serum HSP 70 Düzeyi Ölçümü

Serum HSP 70 düzeylerinin ölçümünde StressGen Biotechnologies Corp. ELISA kitleri kullanılmıştır. Çalışma ve kontrol gruplarının serum örneklerinde bulunan HSP 70 değerleri ELISA kitindeki anti-HSP IgG antikoru ile belirlenmiştir. Bu amaçla, serum örnekleri 1:500 dilüye edilmiştir ve dilüye edilen bu serum örneklerinden 100µl alınmış ve ELISA kitindeki haznelere konulduktan sonra oda ısısında 2 saat inkübasyona bırakılmıştır. Inkübasyonun sonunda serum örneklerinde bulunan HSP 70 (ng/mL) konsantrasyonlarına göre oluşan renk absorbansları mikropate spektrofotometre ile 450 nm'de üretici firmanın belirlediği standart eğriler doğrultusunda araştırılmıştır. Standart eğri aralığı 0,78-50ng/mL ve değerlendirmenin sensitivitesi 0,2ng/mL olarak belirlenmiştir (10).

III. 3. 3. Doku HSP 70 Düzeyi Ölçümü

Patoloji Protokolü;

Deney hayvanlarından alınan kalp dokuları %10'luk formalin içinde fiske edilmiştir. Fiksasyon işlemi sonrasında her bir kalp dokusundan sağ atrium, sağ ventrikül, sol atrium, sol ventrikül biopsileri ve aorttan örnekler alınmıştır. Patoloji laboratuvarında rutin takibe alınan dokular sırasıyla, alkol, ksilen ve parafinden geçirilerek bloklamaya hazır hale getirilmiştir. Parafine gömülerek bloklanan dokuların her birinden, otomatik mikrotom kullanılarak, hematoksil-eozin boyama ve immünohistokimyasal çalışma için 4 mikron kalınlığında kesitler alınmıştır.

Hematoksilen - Eozin Boyama;

Parafin bloktan alınan 4 mikron kalınlığındaki kesitler önce 60°C sıcaklıkta 20 dakika tutularak parafininin erimesi sağlanmıştır. Daha sonra otomatik boyama cihazına konan kesitler, parafinin dokudan uzaklaştırılmasını sağlamak için önce ksilenden geçirilmiştir. Ksilenin uzaklaştırılması için de alkolden geçirilen kesitler hematoksilende 5 dakika süre ile bekletilerek boyanması sağlanmıştır. Hematoksilinin fazla miktarının uzaklaştırılması için yıkanan dokular eozine konulmuştur. 1 dakika süre ile eozinde tutulan kesitlerden eozinin uzaklaşması için alkolden geçirilmişlerdir. Alkolün uzaklaştırılması için ksilenden geçirilen kesitlerin üzerine entellan damlatılarak lamelle kapatılmış ve ışık mikroskobu ile incelemeye alınmışlardır.

İmmünohistokimyasal Boyama;

Polilizin kaplı lamlara alınan 4 mikron kalınlığındaki kesitler önce 60°C sıcaklıkta 20 dakika tutularak parafininin erimesi sağlanmıştır. Daha sonra kesitler ksilenden geçirilerek parafinin uzaklaştırılması sağlanmıştır. Ksilenin uzaklaştırılması için alkolden geçirilen dokular sitrat tampon içerisinde 35 dakika süre ile 90-100°C'de tutularak antijen retrivali sağlanmıştır. 20 dakika

soğutulduktan sonra distile suda yıkanmışlardır. PBS’de 5 dakika bekletilen kesitler üzerine %3’lük hidrojen peroksit damlatılmış ve 10 dakika bekletilerek doku içindeki peroksidaz aktivitesinin bloklanması sağlanmıştır. Daha sonra protein blok solusyonu damlatılarak 10 dakika bekletilmişlerdir. Bu işlemle dokudaki antijen özelliği taşıyabilecek proteinler bloke edilmiştir. Daha sonra HSP 70’e karşı oluşmuş antikorlar içeren primer antikor solusyonundan kesitler üzerine damlatılarak 10 dakika bekletilmiştir. PBS ile yıkanan kesitler üzerine biyotinli sekonder antikor damlatılmış ve 10 dakika sonra PBS’de 5 dakika süre ile yıkanmıştır. Bundan sonra streptavidin peroksidaz damlatılan dokular 10 dakika süre ile bekletilmiştir. PBS ile yıkanan kesitlere renklendirici madde olan diaminobenzidin (DAB kromojen) damlatılarak boyanma sağlanmıştır. Boyanan kesitler sırası ile PBS ve distile su ile ayrı ayrı yıkandıktan sonra Mayer’s Hematoksilenle zemin boyanması sağlanmıştır. Daha sonra alkol ve ksilenden geçirilen kesitler entellan damlatılarak lamelle kapatılmış ve ışık mikroskobu ile incelenmiştir.

HSP 70 düzeyi skorlaması;

Alınan sağ atrium, sağ ventrikül, sol atrium, sol ventrikül ve aort dokularının immunohistokimyasal incelemesinde yine ELISA kitleri kullanılmış ve dokuların HSP 70 tavşan antikoruna boyanma derecesi analiz edilmiştir. Histolojik değerlendirme için skorlama;

- 0 puan : HSP 70 boyanması negatif;
- 1 puan : Hücrelerin %10’u HSP 70 boyanması pozitif;
- 2 puan : Hücrelerde %10-50 arasında HSP 70 boyanması pozitif;
- 3 puan : Hücrelerin %50’sinden fazlasında HSP 70 boyanması pozitif

şeklinde belirlenmiştir.

III. 4. İstatistik

İstatistiksel inceleme, SPSS (Statistical Package for Social Sciences) 15.0 program paketi (SPSS for Windows, SPSS Inc, Chicago, IL) kullanılarak gerçekleştirildi. Değişkenler ortalama $\pm$ standart sapma olarak ifade edildi. Verilerin istatistiksel değerlendirmesinde parametrik olmayan yöntemler kullanıldı. Gruplar arasında farklılığın değerlendirilmesi Kruskal-Wallis varyans analizi ile yapıldı. Farkın kaynaklandığı grubun tespiti için Bonferroni düzeltmesi ile Mann-Whitney U testi kullanıldı. Verilerin korelasyon analizi Spearman sıra korelasyon analizi ile yapıldı. p değerinin 0,05’den küçük olduğu durumlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

IV. BULGULAR

IV.1. Serum Glukoz, Serum HSP 70 ve Dokulardaki (sağ atrium, sağ ventrikül, sol atrium, sol ventrikül ve aort) HSP 70 Düzeylerinin Birbirleri ile Korele Edilmesi (Tablo 3).

Spearman sıra korelasyon analizi ile glukoz, serum, sağ atrium, sağ ventrikül, sol atrium, sol ventrikül ve aort dokularındaki HSP 70 düzeyleri korele edilmiştir. Spearman sıra korelasyon analizine göre rhu değerleri aşağıdaki şekilde değerlendirilmiştir:

- rhu değeri:
- 0,00-0,24: Zayıf korelasyon
- 0,25-0,49: Orta korelasyon
- 0,50-0,74: Güçlü korelasyon
- 0,75-1,00: Çok güçlü korelasyon

Gruplardaki tüm sıçanlarda deney öncesi ölçülen kan şekeri düzeyi ortalama $72,80 \pm 11,516 \text{ mg/dL}$ olarak bulunmuştur. Streptazocin uygulaması sonrası kan şekerleri 2. günde $358,70 \pm 44,749 \text{ mg/dL}$; 1. hafta sonunda ise $382,80 \pm 34,941 \text{ mg/dL}$ ölçülmüştür. Kan şekerindeki bu artış deney sonunda Grup 2 ve Grup 3'te hem serum hem de doku düzeyinde HSP 70 miktarında istatistiksel olarak olumlu ve anlamlı artışa neden olmuştur.

IV.1.1. Analiz sonucuna göre ortalama serum glukoz düzeyleri ile;

- Serum HSP 70 düzeyleri arasında olumlu, güçlü ve istatistiksel olarak çok anlamlı bir korelasyon vardır (rho: 0,627, p: 0,000),
- Sağ atrium HSP 70 düzeyleri arasında olumlu, çok güçlü ve istatistiksel olarak çok anlamlı bir korelasyon vardır (rho: 0,756, p: 0,000),
- Sağ ventrikül HSP 70 düzeyleri arasında olumlu, güçlü ve istatistiksel olarak çok anlamlı bir korelasyon vardır (rho: 0,725, p: 0,000),
- Sol atrium HSP 70 düzeyleri arasında olumlu, güçlü ve istatistiksel olarak çok anlamlı bir korelasyon vardır (rho: 0,608, p: 0,000),
- Sol ventrikül HSP 70 düzeyleri arasında olumlu, güçlü ve istatistiksel olarak çok anlamlı bir korelasyon vardır (rho: 0,638, p: 0,000),
- Aortik HSP 70 düzeyleri arasında olumlu, orta derecede ve istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon vardır (rho: 0,391, p: 0,033).

IV.1.2. Analiz sonucuna göre serum HSP 70 düzeyleri ile;

- Sağ atrium HSP 70 düzeyleri arasında olumlu, güçlü ve istatistiksel olarak çok anlamlı bir korelasyon vardır (rho: 0,687, p: 0,000),
- Sağ ventrikül HSP 70 düzeyleri arasında olumlu, çok güçlü ve istatistiksel olarak çok anlamlı bir korelasyon vardır (rho: 0,750, p: 0,000),
- Sol atrium HSP 70 düzeyleri arasında olumlu, güçlü ve istatistiksel olarak çok anlamlı bir korelasyon vardır (rho: 0,500, p: 0,005),
- Sol ventrikül HSP 70 düzeyleri arasında olumlu, güçlü ve istatistiksel olarak çok anlamlı bir korelasyon vardır (rho: 0,682, p: 0,000),
- Aortik HSP 70 düzeyleri arasında olumlu, orta ve istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon vardır (rho: 0,412, p: 0,024).

IV.1.3. Analiz sonucuna göre sağ atrium HSP 70 düzeyleri ile;

- Sağ ventrikül HSP 70 düzeyleri arasında olumlu, çok güçlü ve istatistiksel olarak çok anlamlı bir korelasyon vardır (rho: 0,785, p: 0,000),
- Sol atrium HSP 70 düzeyleri arasında olumlu, çok güçlü ve istatistiksel olarak çok anlamlı bir korelasyon vardır (rho: 0,801, p: 0,000),
- Sol ventrikül HSP 70 düzeyleri arasında olumlu, güçlü ve istatistiksel olarak çok anlamlı bir korelasyon vardır (rho: 0,741, p: 0,000),
- Aortik HSP 70 düzeyleri arasında olumlu, orta korelasyon saptanmış ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (rho: 0,317, p: 0,088).

IV.1.4. Analiz sonucuna göre sağ ventrikül HSP 70 düzeyleri ile;

- Sol atrium HSP 70 düzeyleri arasında olumlu, çok güçlü ve istatistiksel olarak çok anlamlı bir korelasyon vardır (rho: 0,754, p: 0,000),
- Sol ventrikül HSP 70 düzeyleri arasında olumlu, çok güçlü ve istatistiksel olarak çok anlamlı bir korelasyon vardır (rho: 0,798, p: 0,000),

c. Aortik HSP 70 düzeyleri arasında olumlu, orta ve istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon vardır (rho: 0,452, p: 0,012).

IV.1.5. Analiz sonucuna göre sol atrium HSP 70 düzeyleri ile;

a. Sol ventrikül HSP 70 düzeyleri arasında olumlu, güçlü ve istatistiksel olarak çok anlamlı bir korelasyon vardır (rho: 0,658, p: 0,000),

b. Aortik HSP 70 düzeyleri arasında olumlu, orta ve istatistiksel olarak sınırda anlamlı bir korelasyon vardır (rho: 0,362, p: 0,050).

IV.1.6. Analiz sonucuna göre sol ventrikül HSP 70 düzeyleri ile;

a. Aortik HSP 70 düzeyleri arasında olumlu, orta ve istatistiksel olarak çok anlamlı bir korelasyon vardır (rho: 0,490, p: 0,006).

Tablo 3: Serum glukoz, serum HSP 70 ve dokulardaki (sağ atrium, sağ ventrikül, sol atrium, sol ventrikül ve aort) HSP 70 düzeylerinin birbirleri ile korele edilmesi

	Spearman's rho	Glukoz	Serum	RA	RV	LA	LV	Ao
Glukoz	Correlation Coefficient Sig. (2-tailed) N	1,000 . 30	,627(**) ,000 30	,756(**) ,000 30	,725(**) ,000 30	,608(**) ,000 30	,638(**) ,000 30	,391(*) ,033 30
Serum	Correlation Coefficient Sig. (2-tailed) N	,627(**) ,000 30	1,000 . 30	,687(**) ,000 30	,750(**) ,000 30	,500(**) ,005 30	,682(**) ,000 30	,412(*) ,024 30
RA	Correlation Coefficient Sig. (2-tailed) N	,756(**) ,000 30	,687(**) ,000 30	1,000 . 30	,765(**) ,000 30	,801(**) ,000 30	,741(**) ,000 30	,317 ,088 30
RV	Correlation Coefficient Sig. (2-tailed) N	,725(**) ,000 30	,750(**) ,000 30	,765(**) ,000 30	1,000 . 30	,754(**) ,000 30	,798(**) ,000 30	,452(*) ,012 30
LA	Correlation Coefficient Sig. (2-tailed) N	,608(**) ,000 30	,500(**) ,005 30	,801(**) ,000 30	,754(**) ,000 30	1,000 . 30	,658(**) ,000 30	,362(*) ,050 30
LV	Correlation Coefficient Sig. (2-tailed) N	,638(**) ,000 30	,682(**) ,000 30	,741(**) ,000 30	,798(**) ,000 30	,658(**) ,000 30	1,000 . 30	,490(**) ,006 30
Ao	Correlation Coefficient Sig. (2-tailed) N	,391(*) ,033 30	,412(*) ,024 30	,317 ,088 30	,452(*) ,012 30	,362(*) ,050 30	,490(**) ,006 30	1,000 . 30

(RA, Sağ atrium; RV, Sağ ventrikül; LA, Sol Atrium; LV, Sol ventrikül; Ao, Abdominal aort; N, Denek sayısı)

IV.2 Grupların Serum HSP 70 ve Dokulardaki (sağ atrium, sağ ventrikül, sol atrium, Sol Ventrikül ve aort) HSP 70 Düzeylerinin Karşılaştırılması

IV.2.1. Grupların HSP 70 Düzeylerinin Karşılaştırılması

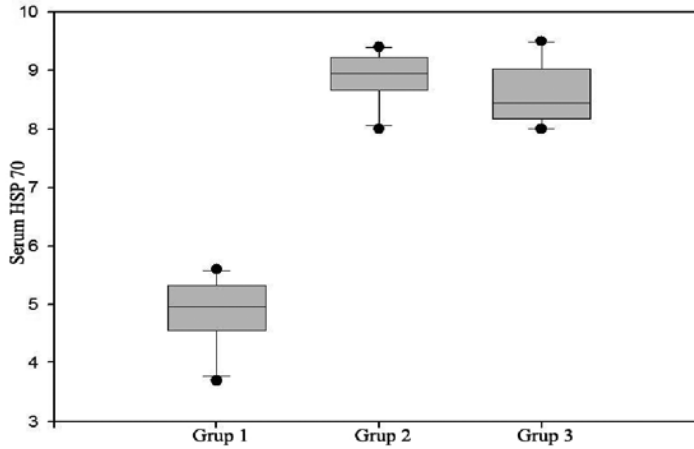
IV.2.1.1. Kontrol-Diabetik-Glutaminle indüklenmiş diabetik gruplarda HSP 70 düzeylerinin karşılaştırılması

Kontrol grubu, diabetik grup ve glutaminle indüklenmiş diabetik grupta serumdaki HSP 70 ve sağ atrium, sağ ventrikül, sol atrium, sol ventrikül ve aort dokularındaki HSP 70 miktarı gruplar birbirleri ile karşılaştırıldığında farklılık ileri derecede anlamlı olarak bulunmuştur.

a. Serum HSP 70 dağılımı (Tablo 4; Grafik 3)

Analiz sonucuna göre serumda 3 grubun HSP 70 düzeyleri arasındaki farklılık istatistiksel olarak çok anlamlıdır. (χ^2_{K-W} : 25,689, SD: 2, P:0,00).

Saptanan farklılığın hangi gruptan kaynaklandığını anlamak için Bonferroin düzeltmesi ile Mann-Whitney U testi kullanıldı. Anlamlılık düzeyi $p < 0,0167$ olarak kabul edildi. Gruplar arasındaki farkın kontrol grubu dolayısıyla kaynaklandığı görüldü. Buna göre; Grup 1 ile Grup 2 ve Grup 3 arasında anlamlı farklılık saptanmış, Grup 2 ile Grup 3 arasında anlamlı farklılık bulunmamıştır (Tablo 5).



Grafik 3: Kontrol grubu, diabetik grup ve glutaminle indüklenmiş diabetik grupta serum HSP 70 düzeyleri

Tablo 4: Kontrol grubu, diabetik grup ve glutaminle indüklenmiş diabetik grupta serum HSP 70 düzeyleri

Sıçan	Grup 1	Grup 2	Grup 3
1	4,4	8,6	9,5
2	3,7	8,7	9,4
3	4,8	8,8	8,9
4	4,6	8,9	8,0
5	4,7	9	8,6
6	5,1	9,1	8,4
7	5,2	9,2	8,5
8	5,3	9,3	8,3
9	5,6	9,4	8,1
10	5,4	8	8,2

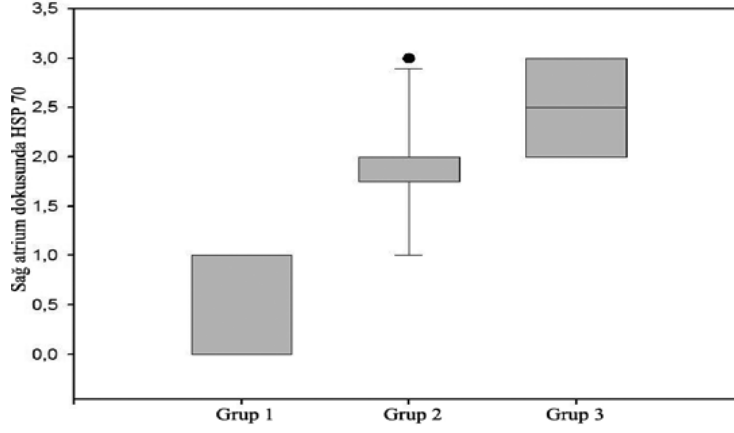
Tablo 5: Kontrol grubu, diabetik grup ve glutaminle indüklenmiş diabetik grupta serum HSP 70 düzeylerinin istatistiksel analiz sonuçları

Gruplar	Ortalama	U değeri	P (iki yönlü)
Grup 1-2	4,88±0,563–8,9±0,408	0	0,000
Grup 1-3	4,88±0,563–8,59±0,521	0	0,000
Grup 2-3	8,9±0,408–8,59±0,521	31,000	0,150

(Grup 1, Kontrol grubu; Grup 2, Diabetik grup; Grup 3, Glutamin ile indüklenmiş diabetik grup)

b. Sağ atrium dokusunda HSP 70 dağılımı (Tablo 6; Grafik 4; Resim 1, 2, 3)

Analiz sonucuna göre sağ atrium dokusunda 3 grubun HSP 70 düzeyleri arasındaki farklılık istatistiksel olarak çok anlamlıdır (χ^2_{K-W} : 21,597, SD: 2, P:0,00).



Grafik 4: Kontrol grubu, diabetik grup ve glutaminle indüklenmiş diabetik grupta sağ atriumda HSP 70 düzeyleri

Tablo 6: Kontrol grubu, diabetik grup ve glutaminle indüklenmiş diabetik grupta sağ atriumda HSP 70 düzeyleri

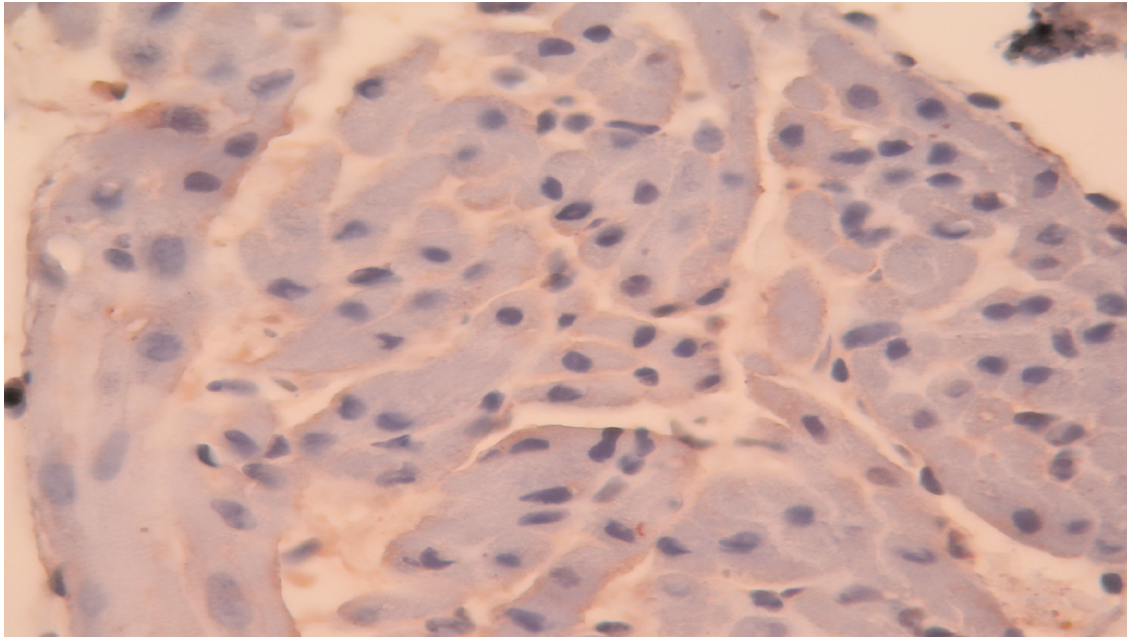
Sıçan	Grup 1	Grup 2	Grup 3
1	1	2	3
2	0	2	3
3	0	1	2
4	0	1	3
5	0	2	2
6	1	3	3
7	0	2	2
8	0	2	2
9	1	2	3
10	1	2	2

Tablo 7: Kontrol grubu, diabetik grup ve glutaminle indüklenmiş diabetik grupta sağ atriumda HSP 70 düzeylerinin istatistiksel analiz sonuçları

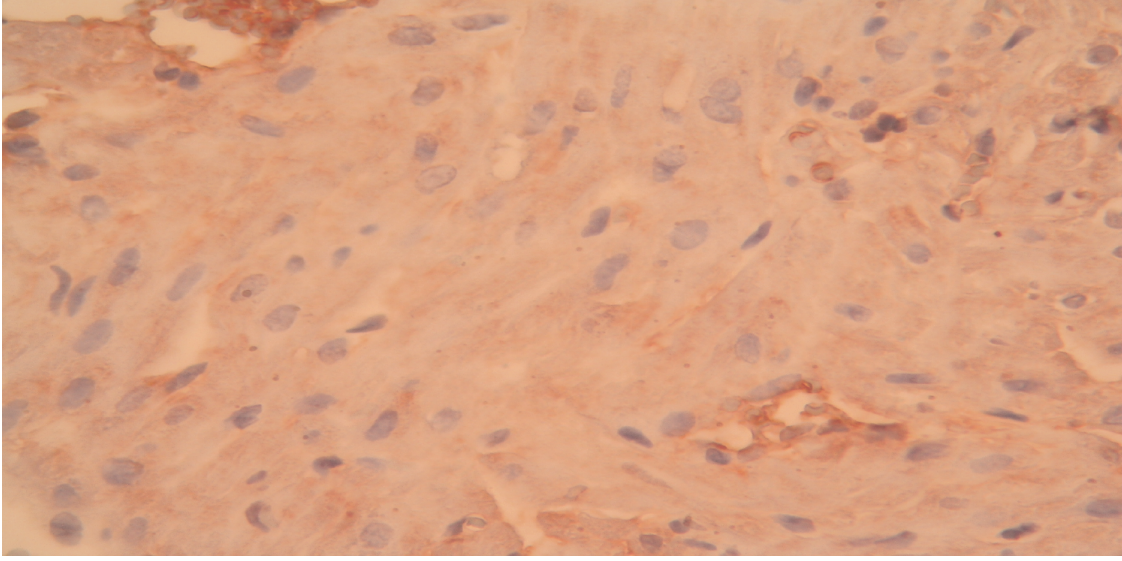
Gruplar	Ortalama	U değeri	P (iki yönlü)
Grup 1-2	$0,4 \pm 0,516 - 1,9 \pm 0,568$	4,000	0,000
Grup 1-3	$0,4 \pm 0,516 - 2,5 \pm 0,527$	0	0,000
Grup 2-3	$1,9 \pm 0,568 - 2,5 \pm 0,527$	25,000	0,03

(Grup 1, Kontrol grubu; Grup 2, Diabetik grup; Grup 3, Glutamin ile indüklenmiş diabetik grup)

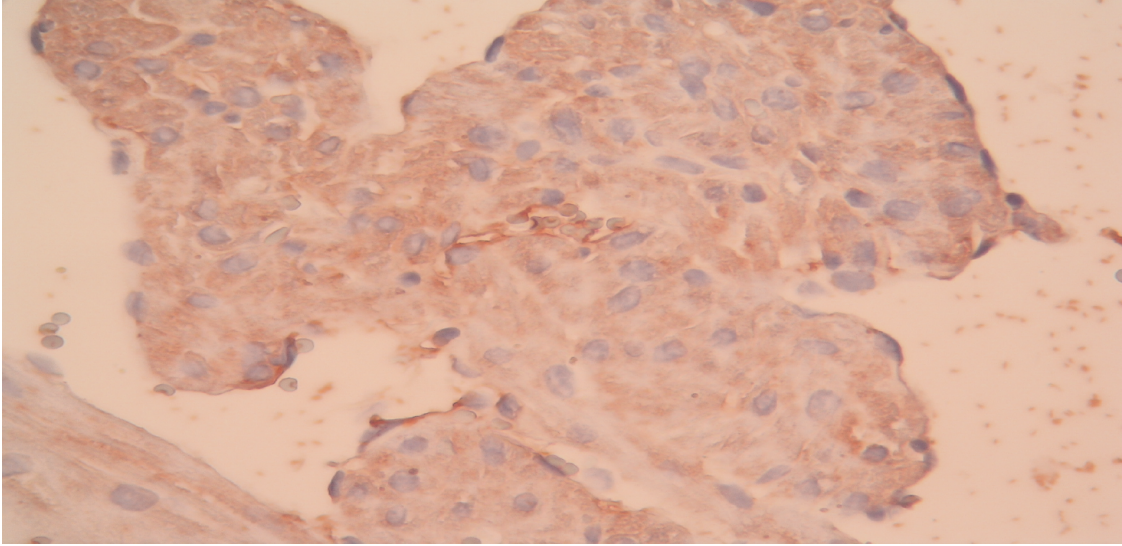
Saptanan farklılığın hangi gruptan kaynaklandığını anlamak için Bonferroni düzeltmesi ile Mann-Whitney U testi kullanıldı. Anlamlılık düzeyi $p < 0,0167$ olarak kabul edildi. Gruplar arasındaki farkın kontrol grubu dolayısıyla kaynaklandığı görüldü. Buna göre; Grup 1 ile Grup 2 ve Grup 3 arasında anlamlı farklılık saptanmış, Grup 2 ile Grup 3 arasında sınırda anlamsız fark tespit edilmiştir (Tablo 7). Bu sınırda anlamsız farkın gruplardaki denek sayısının az olmasından kaynaklandığı düşünülmüştür.



Resim 1: Kontrol grubunda sağ atrium dokusundaki HSP 70 boyaması (İmmunohistokimyasal boyama, X60, Olympus DP2-BSW).



Resim 2: Diabetik grupta sağ atrium dokusundaki HSP 70 boyaması (İmmunohistokimyasal boyama, X60, Olympus DP2-BSW).

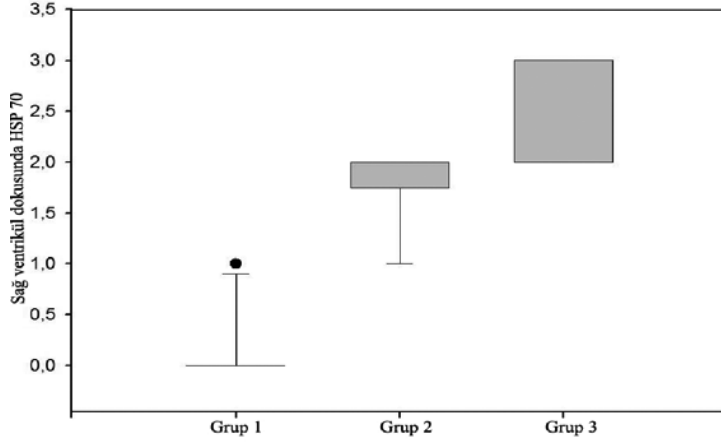


Resim 3: Glutaminle indüklenmiş diabetik grupta sağ atrium dokusundaki HSP 70 boyaması (İmmunohistokimyasal boyama, X60, Olympus DP2-BSW).

c. Sağ ventrikül dokusunda HSP 70 dağılımı (Tablo 8; Grafik 5; Resim 4, 5, 6)

Analiz sonucuna göre sağ ventrikül dokusunda 3 grubun HSP 70 düzeyleri arasındaki farklılık istatistiksel olarak çok anlamlıdır (χ^2_{K-W} : 23,940, SD: 2, P:0,000).

Saptanan farklılığın hangi gruptan kaynaklandığını anlamak için Bonferroni düzeltmesi ile Mann-Whitney U testi kullanıldı. Anlamlılık düzeyi $p < 0,0167$ olarak kabul edildi. Gruplar arasındaki farkın kontrol grubu dolayısıyla kaynaklandığı görüldü. Buna göre; Grup 1 ile Grup 2 ve Grup 3 arasında anlamlı farklılık saptanmış, Grup 2 ile Grup 3 arasında sınırda anlamsız fark tespit edilmiştir (Tablo 9). Bu sınırda anlamsız farkın gruplardaki denek sayısının az olmasından kaynaklandığı düşünülmüştür.



Grafik 5: Kontrol grubu, diabetik grup ve glutaminle indüklenmiş diabetik grupta sağ ventrikülde HSP 70 düzeyleri

Tablo 8: Kontrol grubu, diabetik grup ve glutaminle indüklenmiş diabetik grupta sağ ventrikülde HSP 70 düzeyleri

Sıçan	Grup 1	Grup 2	Grup 3
1	0	2	2
2	0	1	3
3	0	2	3
4	0	2	2
5	0	1	2
6	0	2	2
7	0	2	2
8	0	2	2
9	0	2	2
10	1	2	3

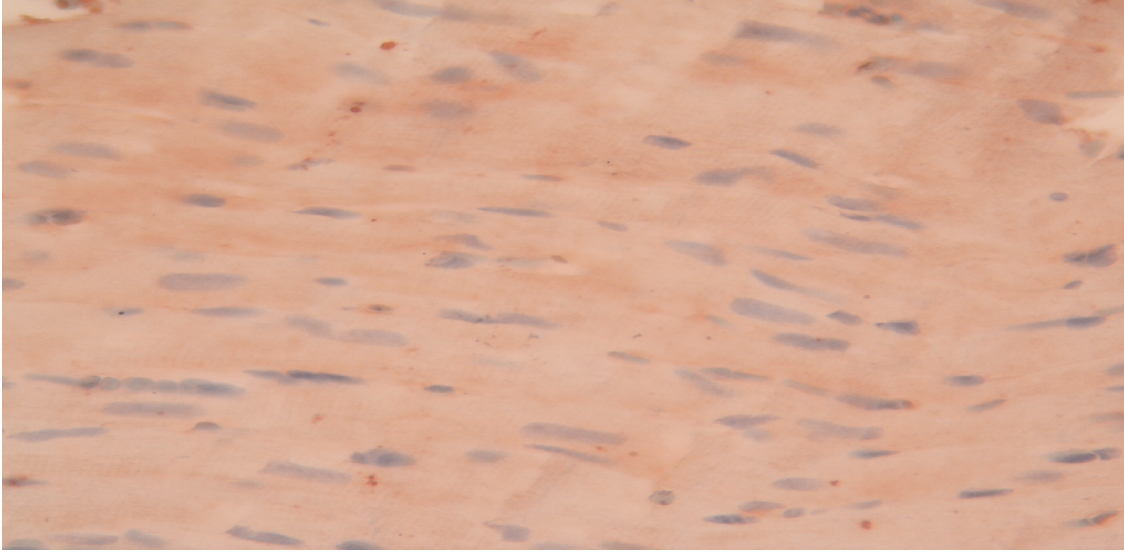
Tablo 9: Kontrol grubu, diabetik grup ve glutaminle indüklenmiş diabetik grupta sağ ventrikülde HSP 70 düzeylerinin istatistiksel analiz sonuçları

Gruplar	Ortalama	U değeri	P (iki yönlü)
Grup 1-2	0,1±0,316 – 1,6±0,422	1,000	0,000
Grup 1-3	0,1±0,316 – 2,3±0,483	0	0,000
Grup 2-3	1,8±0,422 – 2,3±0,483	28,000	0,028

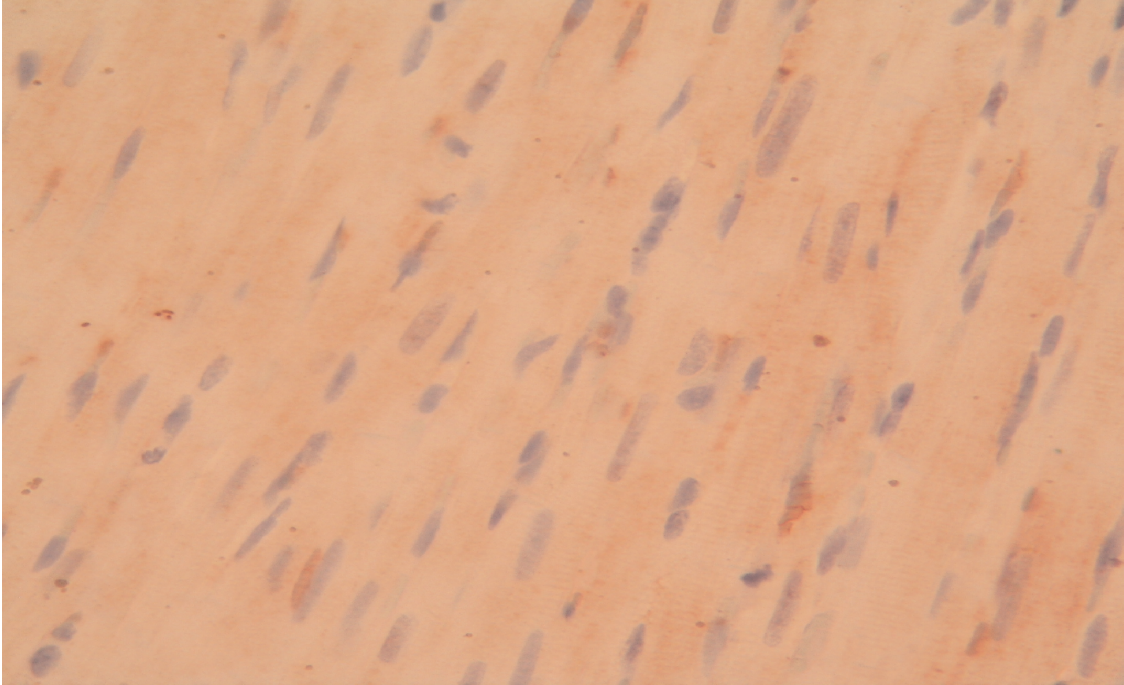
(Grup 1, Kontrol grubu; Grup 2, Diabetik grup; Grup 3, Glutamin ile indüklenmiş diabetik grup)



Resim 4: Kontrol grubunda sağ ventrikül dokusundaki HSP 70 boyaması (İmmunohistokimyasal boyama, X60, Olympus DP2-BSW)



Resim 5: Diabetik grupta sağ ventrikül dokusundaki HSP 70 boyaması (İmmunohistokimyasal boyama, X60, Olympus DP2-BSW)

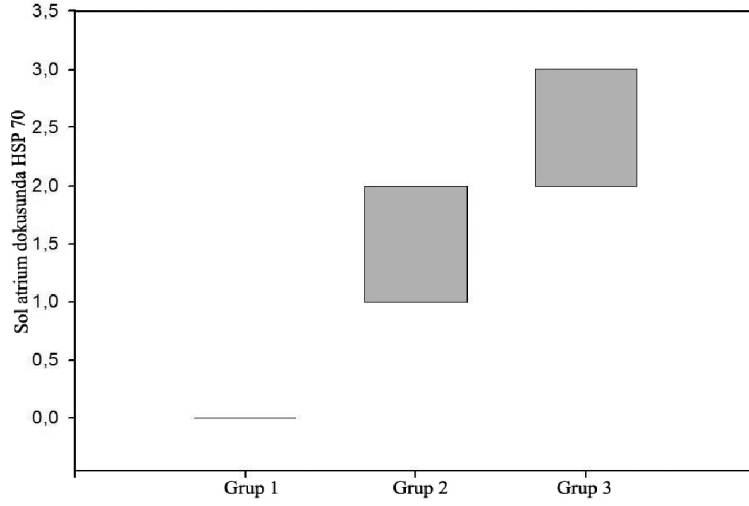


Resim 6: Glutaminle indüklenmiş diabetik grupta sağ ventrikül dokusundaki HSP 70 boyaması (İmmunohistokimyasal boyama, X60, Olympus DP2-BSW)

d. Sol atrium dokusunda HSP 70 dağılımı (Tablo 10; Grafik 6; Resim 7, 8, 9)

Analiz sonucuna göre sol atrium dokusunda 3 grubun HSP 70 düzeyleri arasındaki farklılık istatistiksel olarak çok anlamlıdır (χ^2_{K-W} : 21,733, SD: 2, P:0,00).

Saptanan farklılığın hangi gruptan kaynaklandığını anlamak için Bonferroni düzeltmesi ile Mann-Whitney U testi kullanıldı. Anlamlılık düzeyi $p < 0,0167$ olarak kabul edildi. Gruplar arasındaki farkın kontrol grubu dolayısıyla kaynaklandığı görüldü. Buna göre; Grup 1 ile Grup 2 ve Grup 3 arasında ve Grup 2 ile Grup 3 arasında anlamlı farklılık saptanmıştır (Tablo 11).



Grafik 6: Kontrol grubu, diabetik grup ve glutaminle indüklenmiş diabetik grupta sol atriumda HSP 70 düzeyleri

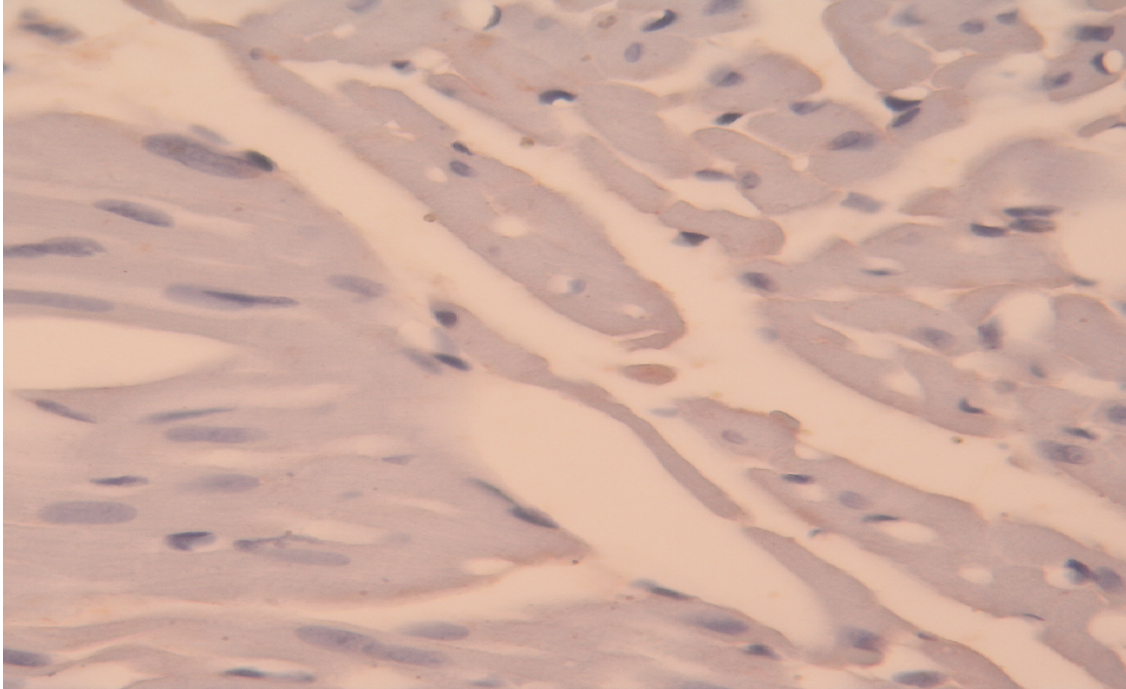
Tablo 10: Kontrol grubu, diabetik grup ve glutaminle indüklenmiş diabetik grupta sol atriumda HSP 70 düzeyleri

Sıçan	Grup 1	Grup 2	Grup 3
1	0	2	2
2	0	1	2
3	0	1	2
4	0	1	3
5	0	2	3
6	0	2	2
7	0	2	2
8	0	1	3
9	0	2	3
10	0	2	2

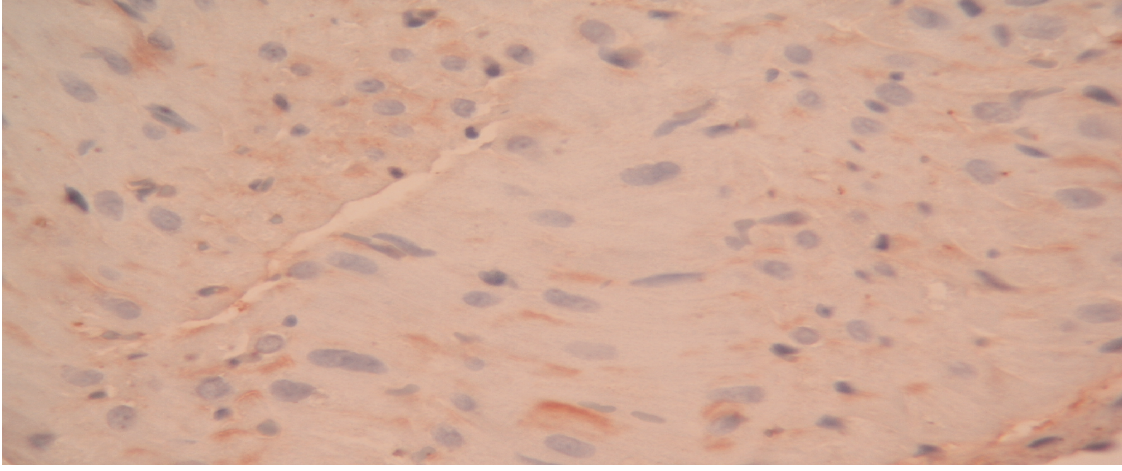
Tablo 11: Kontrol grubu, diabetik grup ve glutaminle indüklenmiş diabetik grupta sol atriumda HSP 70 düzeylerinin istatistiksel analiz sonuçları

Gruplar	Ortalama	U değeri	P (iki yönlü)
Grup 1-2	0,4±0,516 – 1,6±0,516	8,000	0,001
Grup 1-3	0,4±0,516 – 2,4±0,516	0	0,000
Grup 2-3	1,6±0,516 – 2,3±0,483	18,000	0,006

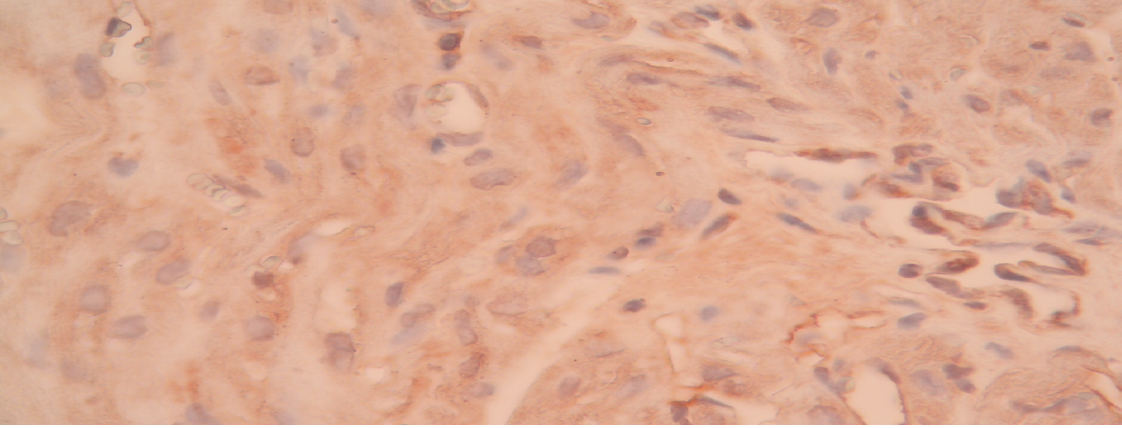
(Grup 1, Kontrol grubu; Grup 2, Diabetik grup; Grup 3, Glutamin ile indüklenmiş diabetik grup)



Resim 7: Kontrol grubunda sol atrium dokusundaki HSP 70 boyaması (İmmunohistokimyasal boyama, X60, Olympus DP2-BSW)



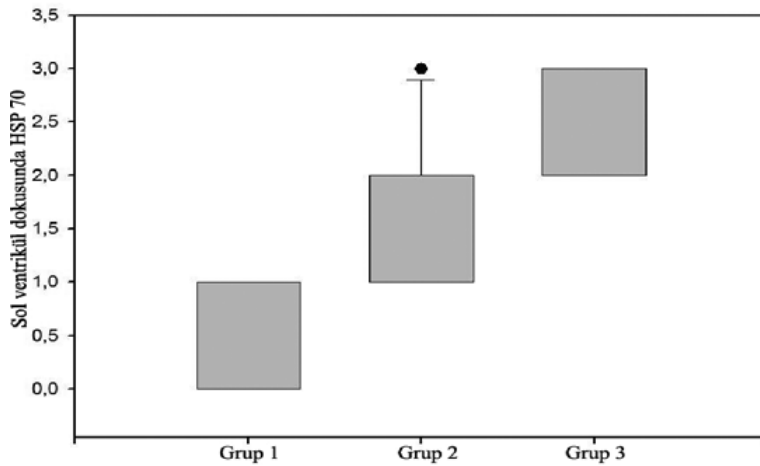
Resim 8: Diabetik grupta sol atrium dokusundaki HSP 70 boyaması (İmmunohistokimyasal boyama, X60, Olympus DP2-BSW)



Resim 9: Glutaminle indüklenmiş diabetik grupta sol atrium dokusundaki HSP 70 boyaması (İmmunohistokimyasal boyama, X60, Olympus DP2-BSW)

e. Sol ventrikül dokusunda HSP 70 dağılımı (Tablo 12; Grafik 7; Resim 10, 11, 12)

Analiz sonucuna göre sol ventrikül dokusunda 3 grubun HSP 70 düzeyleri arasındaki farklılık istatistiksel olarak çok anlamlıdır (χ^2_{K-W} : 20,913, SD: 2, P:0,00).



Grafik 7: Kontrol grubu, diabetik grup ve glutaminle indüklenmiş diabetik grupta sol ventrikülde HSP 70 düzeyleri

Tablo 12: Kontrol grubu, diabetik grup ve glutaminle indüklenmiş diabetik grupta sol ventrikülde HSP 70 düzeyleri

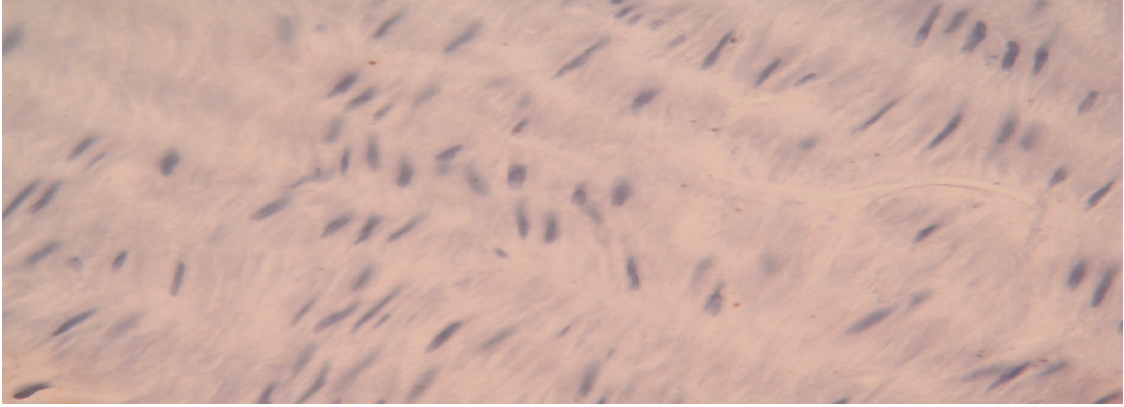
Sıçan	Grup 1	Grup 2	Grup 3
1	0	2	3
2	0	1	3
3	0	1	2
4	1	2	2
5	0	1	2
6	1	1	2
7	0	1	3
8	0	3	2
9	1	2	2
10	0	1	2

Tablo 13: Kontrol grubu, diabetik grup ve glutaminle indüklenmiş diabetik grupta sol ventrikülde HSP 70 düzeylerinin istatistiksel analiz sonuçları

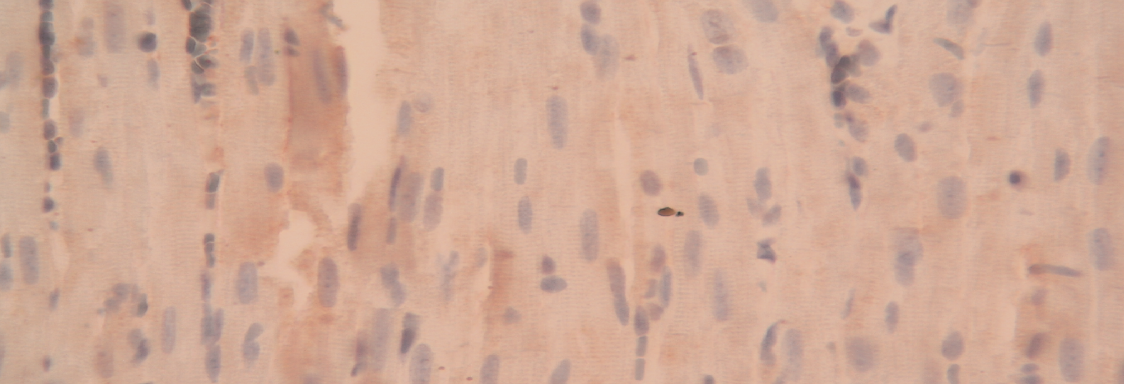
Gruplar	Ortalama	U değeri	P (iki yönlü)
Grup 1-2	$0,3 \pm 0,483 - 1,5 \pm 0,707$	9,000	0,001
Grup 1-3	$0,3 \pm 0,483 - 2,3 \pm 0,483$	0	0,000
Grup 2-3	$1,6 \pm 0,516 - 2,3 \pm 0,483$	19,000	0,011

(Grup 1, Kontrol grubu; Grup 2, Diabetik grup; Grup 3, Glutamin ile indüklenmiş diabetik grup)

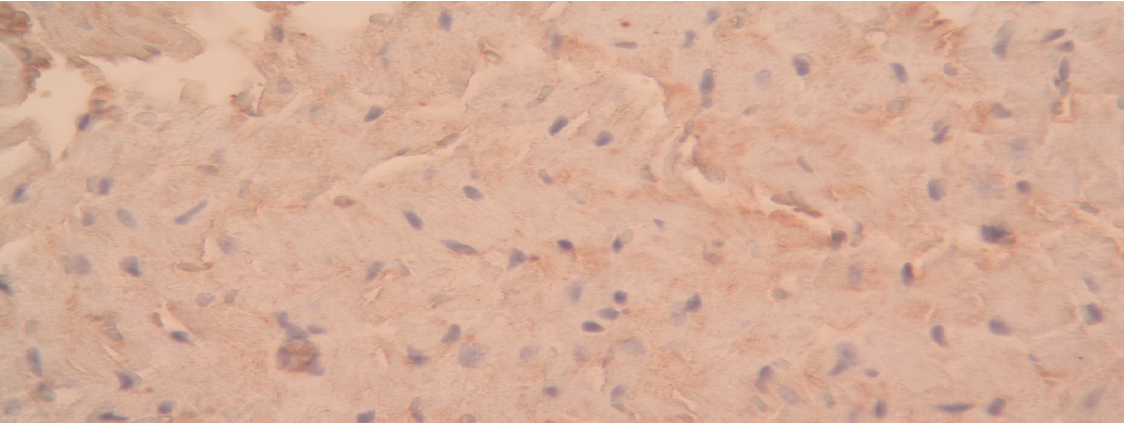
Saptanan farklılığın hangi gruptan kaynaklandığını anlamak için Bonferroni düzeltmesi ile Mann-Whitney U testi kullanıldı. Anlamlılık düzeyi $p < 0,0167$ olarak kabul edildi. Gruplar arasındaki farkın kontrol grubu dolayısıyla kaynaklandığı görüldü. Buna göre; Grup 1 ile Grup 2 ve Grup 3 arasında ve Grup 2 ile Grup 3 arasında anlamlı farklılık saptanmıştır (Tablo 13).



Resim 10: Kontrol grubunda sol ventrikül dokusundaki HSP 70 boyaması (İmmunohistokimyasal boyama, X60, Olympus DP2-BSW)



Resim 11: Diabetik grupta sol ventrikül dokusundaki HSP 70 boyaması (İmmunohistokimyasal boyama, X60, Olympus DP2-BSW)

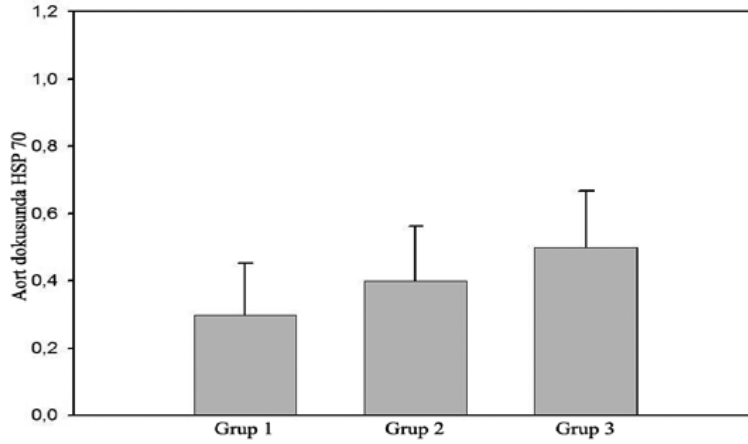


Resim 12: Glutaminle indüklenmiş diabetik grupta sol ventrikül dokusundaki HSP 70 boyaması (İmmunohistokimyasal boyama, X60, Olympus DP2-BSW)

f. Abdominal aort dokusunda HSP 70 dağılımı (Tablo 14; Grafik 8; Resim 13, 14, 15)

Analiz sonucuna göre aort dokusunda 3 grubun HSP 70 düzeyleri arasındaki farklılık istatistiksel olarak düşük derecede anlamlıdır (χ^2_{K-W} : 6,444, SD: 2, P:0,04).

Saptanan farklılığın hangi gruptan kaynaklandığını anlamak için Bonferroni düzeltmesi ile Mann-Whitney U testi kullanıldı. Anlamlılık düzeyi $p < 0,0167$ olarak kabul edildi. Gruplar arasındaki farkın kontrol grubu dolayısıyla kaynaklandığı görüldü. Buna göre; Grup 1 ile Grup 2 arasındaki fark sınırda anlamsız olarak bulunmuş ve farkın gruplardaki denek sayısının az olmasından kaynaklandığı düşünülmüştür. Ayrıca Grup 1 ile Grup 3 arasında anlamlı farklılık saptanmıştır. Ancak Grup 2 ile Grup 3 arasında anlamlı bir farklılık bulunmamıştır (Tablo 15).



Grafik 8: Kontrol grubu, diabetik grup ve glutaminle indüklenmiş diabetik grupta abdominal aortta HSP 70 düzeyleri

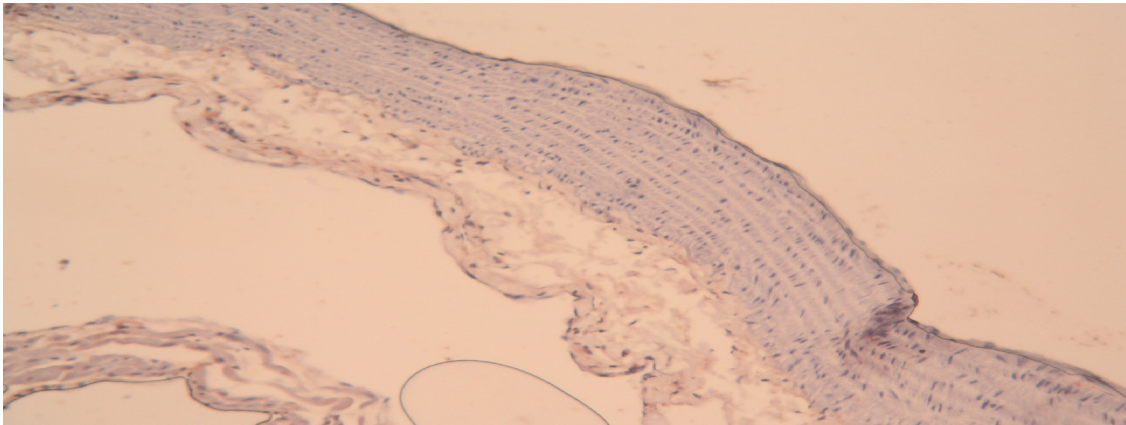
Tablo 14: Kontrol grubu, diabetik grup ve glutaminle indüklenmiş diabetik grupta abdominal aortta HSP 70 düzeyleri

Sıçan	Grup 1	Grup 2	Grup 3
1	0	0	1
2	0	0	0
3	0	1	1
4	1	0	0
5	0	0	0
6	1	0	0
7	0	0	1
8	0	1	1
9	1	1	1
10	0	1	0

Tablo 15: Kontrol grubu, diabetik grup ve glutaminle indüklenmiş diabetik grupta abdominal aortta HSP 70 düzeylerinin istatistiksel analiz sonuçları

Gruplar	Ortalama	U değeri	P (iki yönlü)
Grup 1-2	0,0±0,000 – 0,4±0,516	30,000	0,029
Grup 1-3	0,0±0,000 – 0,5±0,527	25,000	0,012
Grup 2-3	0,4±0,516 – 0,5±0,527	45,000	0,661

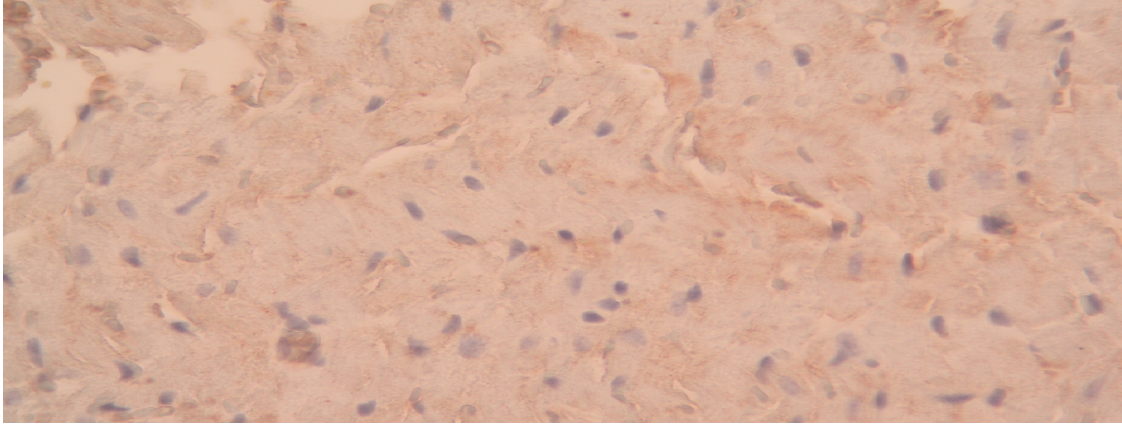
(Grup 1, Kontrol grubu; Grup 2, Diabetik grup; Grup 3, Glutamin ile indüklenmiş diabetik grup)



Resim 13: Kontrol grubunda abdominal aort dokusundaki HSP 70 boyaması (İmmünohistokimyasal boyama, X40, Olympus DP2-BSW)



Resim 14: Diabetik grupta abdominal aort dokusundaki HSP 70 boyaması (İmmunohistokimyasal boyama, X60, Olympus DP2-BSW)



Resim 15: Glutaminle indüklenmiş diabetik grupta abdominal aort dokusundaki HSP 70 boyaması (İmmunohistokimyasal boyama, X60, Olympus DP2-BSW)

IV.2.2. Diabetik ve Glutaminle İndüklenmiş Diabetik Gruplarda HSP 70 Düzeylerinin karşılaştırılması

IV.2.2.1. Diabetik grupta dokulardaki HSP 70 düzeylerinin karşılaştırılması

a. Diabetik grupta sağ atriumdaki HSP 70 düzeyinin sağ ventrikül, sol atrium, sol ventrikül ve aort dokularındaki HSP 70 düzeyleri ile karşılaştırılması

Analiz sonucuna göre diabetik grupta dokular arasında HSP 70 düzeyleri arasındaki farklılık istatistiksel olarak çok anlamlıdır (χ^2_{K-W} : 23,188, SD:4, P:0,00).

Saptanan farklılığın hangi gruptan kaynaklandığını anlamak için Bonferroni düzeltmesi ile Mann-Whitney U testi kullanıldı. Anlamlılık düzeyi $p < 0,01$ olarak kabul edildi. Diabetik grupta dokular arasındaki farkın aort dokusu nedeniyle kaynaklandığı belirlenmiştir. Buna göre; sağ atrium dokusu sağ ventrikül, sol atrium ve sol ventrikül dokuları ile karşılaştırıldığında anlamlı farklılık saptanmamış, ancak aort dokusu ile karşılaştırıldığında ileri derecede anlamlı farklılık görülmüştür (Tablo 16).

Tablo 16: Diabetik grupta sağ atriumdaki HSP 70 düzeyinin sağ ventrikül, sol atrium, sol ventrikül ve aort dokularındaki HSP 70 düzeyleri ile karşılaştırılmasının istatistiksel analiz sonuçları

Dokular	Ortalama	U değeri	P (iki yönlü)
RA-RV	1,9±0,567 – 1,8±0,421	40,000	0,689
RA-LA	1,9±0,567 – 1,6±0,516	37,000	0,240
RA-LV	1,9±0,567 – 1,5±0,707	32,000	0,131
RA-Ao	1,9±0,567 – 0,4±0,516	4,000	0,000

(RA, sağ atrium; RV, sağ ventrikül; LA, sol atrium; LV, sol ventrikül; Ao, Aort)

b. Diabetik grupta sağ ventriküldeki HSP 70 düzeyinin sol atrium, sol ventrikül ve aort dokularındaki HSP 70 düzeyleri ile karşılaştırılması

Analiz sonucuna göre diabetik grupta dokular arasında HSP 70 düzeyleri arasındaki farklılık istatistiksel olarak çok anlamlıdır (χ^2_{K-W} : 23,188, SD:4, P:0,00).

Saptanan farklılığın hangi gruptan kaynaklandığını anlamak için Bonferroni düzeltmesi ile Mann-Whitney U testi kullanıldı. Anlamlılık düzeyi $p < 0,01$ olarak kabul edildi. Diabetik grupta dokular arasındaki farkın aort dokusu nedeniyle kaynaklandığı belirlenmiştir. Buna göre; sağ ventrikül dokusu sol atrium ve sol ventrikül dokuları ile karşılaştırıldığında anlamlı farklılık saptanmamış; ancak aort dokusu ile karşılaştırıldığında ileri derecede anlamlı farklılık görülmüştür (Tablo 17).

Tablo 17: Diabetik grupta sağ ventriküldeki HSP 70 düzeyinin sol atrium, sol ventrikül ve aort dokularındaki HSP 70 düzeyleri ile karşılaştırılmasının istatistiksel analiz sonuçları

Dokular	Ortalama	U değeri	P (iki yönlü)
RV-LA	1,8±0,421 – 1,6±0,516	40,000	0,342
RV-LV	1,8±0,421 – 1,5±0,707	34,000	0,168
RV-Ao	1,8±0,421 – 0,4±0,516	4,000	0,000

(RV, sağ ventrikül; LA, sol atrium; LV, sol ventrikül; Ao, Aort)

c. Diabetik grupta sol atriumdaki HSP 70 düzeyinin sol ventrikül ve aort dokularındaki HSP 70 düzeyleri ile karşılaştırılması

Analiz sonucuna göre diabetik grupta dokular arasında HSP 70 düzeyleri arasındaki farklılık istatistiksel olarak çok anlamlıdır (χ^2_{K-W} : 23,188, SD:4, P:0,00).

Saptanan farklılığın hangi gruptan kaynaklandığını anlamak için Bonferroni düzeltmesi ile Mann-Whitney U testi kullanıldı. Anlamlılık düzeyi $p < 0,01$ olarak kabul edildi. Diabetik grupta dokular arasındaki farkın aort dokusu nedeniyle kaynaklandığı belirlenmiştir. Buna göre; sol atrium dokusu sol ventrikül dokusu ile karşılaştırıldığında anlamlı farklılık saptanmamış, ancak aort dokusu ile karşılaştırıldığında ileri derecede anlamlı farklılık görülmüştür (Tablo 18).

Tablo 18: Diabetik grupta sol atriumdaki HSP 70 düzeyinin sol ventrikül ve aort dokularındaki HSP 70 düzeyleri ile karşılaştırılmasının istatistiksel analiz sonuçları

Dokular	Ortalama	U değeri	P (iki yönlü)
LA-LV	1,6±0,516 – 1,5±0,707	43,000	0,551
LA-Ao	1,6±0,516 – 0,4±0,516	8,000	0,001

(LA, sol atrium; LV, sol ventrikül; Ao, Aort)

d. Diabetik grupta sol ventriküldeki HSP 70 düzeyinin sol ventrikül ve aort dokularındaki HSP 70 düzeyleri ile karşılaştırılması

Analiz sonucuna göre diabetik grupta dokular arasında HSP 70 düzeyleri arasındaki farklılık istatistiksel olarak çok anlamlıdır (χ^2_{K-W} : 23,188, SD:4, P:0,00).

Saptanan farklılığın hangi gruptan kaynaklandığını anlamak için Bonferroni düzeltmesi ile Mann-Whitney U testi kullanıldı. Anlamlılık düzeyi $p < 0,01$ olarak kabul edildi. Diabetik grupta

dokular arasındaki farkın aort dokusu nedeniyle kaynaklandığı belirlenmiştir. Buna göre; sol ventrikül dokusu aort dokusu ile karşılaştırıldığında ileri derecede anlamlı farklılık görülmüştür (Tablo 19).

Tablo 19: Diabetik grupta sol ventriküldeki HSP 70 düzeyinin ve aort dokularındaki HSP 70 düzeyi ile karşılaştırılmasının istatistiksel analiz sonuçları

Dokular	Ortalama	U değeri	P (iki yönlü)
LV-Ao	1,5±0,707 – 0,4±0,516	12,000	0,003

(LV, sol ventrikül; Ao, Aort)

IV.2.2.2. Glutaminle indüklenmiş diabetik grupta dokulardaki HSP 70 düzeylerinin karşılaştırılması

a. Glutaminle indüklenmiş diabetik grupta sağ atriumdaki HSP 70 düzeyinin sağ ventrikül, sol atrium, sol ventrikül ve aort dokularındaki HSP 70 düzeyleri ile karşılaştırılması

Analiz sonucuna göre glutamin ile indüklenmiş diabetik grupta dokular arasında HSP 70 düzeyleri arasındaki farklılık istatistiksel olarak çok anlamlıdır (χ^2_{K-W} : 28,413, SD:4, P:0,00).

Saptanan farklılığın hangi gruptan kaynaklandığını anlamak için Bonferroni düzeltmesi ile Mann-Whitney U testi kullanıldı. Anlamlılık düzeyi $p < 0,01$ olarak kabul edildi. Glutamin ile indüklenmiş diabetik grupta dokular arasındaki farkın aort dokusu nedeniyle kaynaklandığı belirlenmiştir. Buna göre; sağ atrium dokusu; sağ ventrikül, sol atrium ve sol ventrikül dokuları ile karşılaştırıldığında anlamlı farklılık saptanmamış, ancak aort dokusu ile karşılaştırıldığında ileri derecede anlamlı farklılık görülmüştür (Tablo 20).

Tablo 20: Glutaminle indüklenmiş diabetik grupta sağ atriumdaki HSP 70 düzeyinin sağ ventrikül, sol atrium, sol ventrikül ve aort dokularındaki HSP 70 düzeyleri ile karşılaştırılmasının istatistiksel analiz sonuçları

Dokular	Ortalama	U değeri	P (iki yönlü)
RA-RV	2,5±0,527 – 2,3±0,483	40,000	0,374
RA-LA	2,5±0,527 – 2,4±0,516	45,000	0,661
RA-LV	2,5±0,527 – 2,3±0,483	40,000	0,374
RA-Ao	2,5±0,527 – 0,5±0,527	0	0,000

(RA, sağ atrium; RV, sağ ventrikül; LA, sol atrium; LV, sol ventrikül; Ao, Aort)

b. Glutaminle indüklenmiş diabetik grupta sağ ventriküldeki HSP 70 düzeyinin sol atrium, sol ventrikül ve aort dokularındaki HSP 70 düzeyleri ile karşılaştırılması

Analiz sonucuna göre glutamin ile indüklenmiş diabetik grupta dokular arasında HSP 70 düzeyleri arasındaki farklılık istatistiksel olarak çok anlamlıdır (χ^2_{K-W} : 28,413, SD:4, P:0,00).

Saptanan farklılığın hangi gruptan kaynaklandığını anlamak için Bonferroni düzeltmesi ile Mann-Whitney U testi kullanıldı. Anlamlılık düzeyi $p < 0,01$ olarak kabul edildi. Glutamin ile indüklenmiş diabetik grupta dokular arasındaki farkın aort dokusu nedeniyle kaynaklandığı belirlenmiştir. Buna göre; sağ ventrikül dokusu ile sol atrium ve sol ventrikül dokuları ile karşılaştırıldığında anlamlı farklılık saptanmamış, ancak aort dokusu ile karşılaştırıldığında ileri derecede anlamlı farklılık görülmüştür (Tablo 21).

Tablo 21: Glutaminle indüklenmiş diabetik grupta sağ ventriküldeki HSP 70 düzeyinin sol atrium, sol ventrikül ve aort dokularındaki HSP 70 düzeyleri ile karşılaştırılmasının istatistiksel analiz sonuçları

Dokular	Ortalama	U değeri	P (iki yönlü)
RV-LA	2,3±0,483 – 2,4±0,516	45,000	0,648
RV-LV	2,3±0,483 – 2,3±0,483	50,000	1,0
RV-Ao	2,3±0,483 – 0,5±0,527	0	0,000

(RV, sağ ventrikül; LA, sol atrium; LV, sol ventrikül; Ao, Aort)

c. Glutaminle indüklenmiş diabetik grupta sol atriumdaki HSP 70 düzeyinin sol ventrikül ve aort dokularındaki HSP 70 düzeyleri ile karşılaştırılması

Analiz sonucuna göre glutamin ile indüklenmiş diabetik grupta dokular arasında HSP 70 düzeyleri arasındaki farklılık istatistiksel olarak çok anlamlıdır (χ^2_{K-W} : 28,413, SD:4, P:0,00).

Saptanan farklılığın hangi gruptan kaynaklandığını anlamak için Bonferroni düzeltmesi ile Mann-Whitney U testi kullanıldı. Anlamlılık düzeyi $p<0,01$ olarak kabul edildi. Glutamin ile indüklenmiş diabetik grupta dokular arasındaki farkın aort dokusu nedeniyle kaynaklandığı belirlenmiştir. Buna göre; sol atrium dokusu sol ventrikül dokusu ile karşılaştırıldığında anlamlı farklılık saptanmamış, ancak aort dokusu ile karşılaştırıldığında ileri derecede anlamlı farklılık görülmüştür (Tablo 22).

Tablo 22: Glutaminle indüklenmiş diabetik grupta sol atriumdaki HSP 70 düzeyinin sol ventrikül ve aort dokularındaki HSP 70 düzeyleri ile karşılaştırılmasının istatistiksel analiz sonuçları

Dokular	Ortalama	U değeri	P (iki yönlü)
LA-LV	2,4±0,516– 2,3±0,483	45,000	0,648
LA-Ao	2,4±0,516– 0,5±0,527	0	0,000

(LA, sol atrium; LV, sol ventrikül; Ao, Aort)

d. Glutaminle indüklenmiş diabetik grupta sol ventriküldeki HSP 70 düzeyinin aort dokusundaki HSP 70 düzeyi ile karşılaştırılması

Analiz sonucuna göre glutamin ile indüklenmiş diabetik grupta dokular arasında HSP 70 düzeyleri arasındaki farklılık istatistiksel olarak çok anlamlıdır (χ^2_{K-W} : 28,413, SD:4, P:0,00).

Saptanan farklılığın hangi gruptan kaynaklandığını anlamak için Benforini düzeltmesi ile Mann-Whitney U testi kullanıldı. Anlamlılık düzeyi $p<0,01$ olarak kabul edildi. Glutamin ile indüklenmiş diabetik grupta dokular arasındaki farkın aort dokusu nedeniyle kaynaklandığı belirlenmiştir. Buna göre; sol ventrikül dokusu aort dokusu ile karşılaştırıldığında ileri derecede anlamlı farklılık görülmüştür (Tablo 23).

Tablo 23: Glutaminle indüklenmiş diabetik grupta sol ventriküldeki HSP 70 düzeyinin aort dokusundaki HSP 70 düzeyi ile karşılaştırılmasının istatistiksel analiz sonuçları

Dokular	Ortalama	U değeri	P (iki yönlü)
LV-Ao	2,3±0,483– 0,5±0,527	0	0,000

(LV, sol ventrikül; Ao, Aort)

V. TARTIŞMA VE SONUÇ

Diabetes mellitus, pankreas beta hücrelerinden insülinin sekresyonunda ve/veya insülinin periferik hücrelere etkisinde meydana gelen bozukluklar sonucu ortaya çıkan, karbonhidrat, yağ ve protein metabolizmalarını etkileyen, ağır komplikasyonlara neden olan, hiperglisemi ile karakterize bir metabolizma hastalığıdır. Bütün toplumlarda ve ırklarda görülebilir. Dünya sağlık örgütünün tahminlerine göre dünya diabetli nüfusu halen 200 milyon civarındadır ve bu sayının 2025 yılında 300 milyona ulaşacağı öngörülmektedir. Çeşitli hipotez ve teorilere göre genlerin modern yaşam tarzının gerektirdiği şartlara uyum sağlayamaması ya da intrauterin malnütrisyon ortamına göre ayarlanmış metabolizmanın ileri yaşlardaki zengin beslenme tarzına adapte olamaması veya basitçe enerji alımının enerji tüketimini aşması bu epidemiden sorumlu olduğu sanılan başlıca mekanizmalardır (25,26).

İnsülin hormon sekresyonunun veya insülin etkisinin mutlak ya da göreceli azlığı sonucu gelişen bu karbonhidrat, yağ ve protein metabolizmasındaki bozukluklara kronik ve uzun süreli maruz kalma sonucunda; retinopati, nefropati, nöropati gibi mikrovasküler komplikasyonlar ve miyokard infarktüsü, serebrovasküler hastalık ve periferik arter hastalığı gibi makrovasküler komplikasyonlar gelişebilmektedir (23). Diabette mikrovasküler sistemde hem yapısal, hem de fonksiyonel değişiklikler meydana gelir. Fonksiyonel değişiklikler kan akımında artış, intravasküler basıncın yükselmesi ve vasküler geçirgenliğin artışı şeklinde iken, en önemli yapısal değişiklik bazal membran kalınlaşmasıdır. Özellikle genetik yatkınlığı olan bireylerde diyabetin süresi uzadıkça büyük küçük bütün kan damarları bozulmaktadır. Diabetin makrovasküler komplikasyonları ilerlemiş ateroskleroza sekonder olarak ortaya çıkmaktadır (33,39).

Diabetin klinik önemi, yarattığı akut komplikasyonlar kadar özellikle zaman içinde ortaya çıkan kronik komplikasyonlarla da ilgilidir. Diabetin akut komplikasyonlarından en sık görüleni hipoglisemidir ve trombosit agregasyonunda artışa neden olarak vasküler komplikasyonlara ya da var olan komplikasyonların ağırlaşmasına neden olabilir. Kronik komplikasyonların gelişmesinde asıl nedenin hiperglisemi ile birlikte hiperinsülinemi, insülin direnci ve protein glikasyonu olduğu bilinmektedir. Yine diabet varlığında değişkenlik gösteren kan yağlarının niteliği ve yoğunluğu da önemli faktörlerden biridir. Ayrıca diabet dolayısıyla oluşan endotel ve intima değişiklikleri ve oksidatif stres inflamasyon ile birlikte hiperkoagülabilité ve arteroskleroz gelişiminde hızlanmaya sebep olmaktadır. Obezite, fiziksel aktivite eksikliği ve sigara içimi komplikasyon gelişme hızını artırmaktadır. Diabetik olmayan sağlıklı bireyler göz önünde bulundurulduğunda kan glukoz düzeyinin artması ile birlikte yüksek tansiyon, kalp hızı, kolesterol, trigliserid gibi kardiyovasküler risk faktörlerinin arttığı görülmüştür. Normalin üst sınırlarındaki değerlerde açlık kan glukozu kardiyovasküler mortalite için önemli bağımsız bir belirleyici olmaktadır (4,5). Bozulmuş glukoz toleransı bile, hiperglisemi minimal olmasına rağmen kardiyovasküler riski artırır. Prediyabetik olguların uzun dönem izlem sonucunda bazal kardiyovasküler risk faktörlerinde ve metabolik sendrom prevalansında artma tespit edilmiştir (20). Bu olgularda kardiyovasküler olay riskindeki artışın hipergliseminin direkt olarak özellikle endotel disfonksiyonuna neden olması ve kardiyovasküler risk faktörlerinde değişiklikler yaratması nedeniyle kaynaklandığı düşünülmektedir (19). Açlık kan şekerinin normalin üst seviyelerine çıkması ve özellikle bozulmuş kan şekeri düzeylerinde (110-120mg/dL) seyretmesi ile birlikte koroner kalp hastalığı ve genel mortalite ve morbiditede belirgin artma gözlenmektedir (20).

Diabetin makrovasküler komplikasyonları ilerlemiş ateroskleroza bağlı olarak gelişmektedir. Hastalık tüm arterleri etkileyebilir ancak aorta, koroner arterler ve serebral arterler ateroskerozdan daha fazla etkilenmektedir. Bu değişiklikler diabetik olmayan bireylerde gözlenen kardiyovasküler değişikliklerden farklılık göstermezler. Fakat bu kardiyovasküler değişiklikler diabetik hastalarda daha erken yaşlarda ortaya çıkar, daha süratli ve agresif ilerler (4).

Diabetik hastalarda ateroskleroz çok daha erken dönemde ortaya çıkabilmektedir (2). Ayrıca diabet, tüm hasta gruplarında aterosklerozun doğal seyrini hızlandırmakta ve daha yaygın aterosklerotik lezyonla birlikte daha fazla koroner damar tutulumuna neden olmaktadır (48). Diabetin süresi mevcut risk faktörlerinden bağımsız şekilde koroner kalp hastalığına bağlı mortaliteyi artırır. Diabetik hastalarda asemptomatik koroner hastalık insidansı yüksektir. Sessiz myokard iskemi oranı diabetikler için %20'den fazla olarak bildirilmektedir. Diabet kardiyak otonomik disfonksiyon oluşturarak iskemiye karşı ağrı yanıtını bozar (45). Ayrıca, bunlara ek olarak; plak ülserasyonu ve trombozunun bu hastalarda anlamlı olarak daha yüksek olduğu bulunmuştur (48). Asıl olarak diabetin damar duvarında yaptığı değişiklikler arteriyel kompliyansı değiştirmektedir (57). Bu hastalarda artmış olarak saptanan arteriyel sertlik sistolik kan basıncını arttırmakta, diyastolik kan basıncının azaltmaktadır. Bu da nabız basıncını arttırarak damar üzerindeki stresi arttırmaktadır. Diabet nedeniyle büyük arterlerdeki sertleşme kardiyovasküler mortalite ve morbiditenin en önemli sebebi olarak karşımıza çıkmaktadır (58,59).

Kardiyovasküler risk faktörlerinin kan damarları üzerine etkisi birçok çalışmada incelenmiştir. Bu risk faktörlerinin damarlarda yaptıkları yapısal değişiklikler sonucu damarların sertleştiği ve kompliyansın azaldığı ortaya konmuştur. Özellikle ilgi büyük damarlara kaymış olup, büyük damarlardaki serleşmenin artmasıyla kardiyovasküler mortalite ve morbitenin hızlandığı gösterilmiştir (54,56). Bu yüzden son zamanlarda aortik sertleşmedeki artışın tedavi gerektiren bir risk faktörü olduğu kabul görmektedir (55). Aortik sertleşme bu nedenle kardiyovasküler sistem performansını belirlemede çok önemlidir. Hipertansiyonlu ve diabetli hastalarda aort damar sertliğinde artış olmaktadır. Bu nedenle diabetin ve hipertansiyonun karakteristiği olan miyokard ve aort hasarına sekonder olarak sol ventrikül diyastolik disfonksiyonu gelişebilmekte ve bu da mortalite ve morbidite üzerinde önem kazanmaktadır (60).

Yaşam süresince görevi ritmik olarak kasılıp gevşemek olan kalp kasının etkin şekilde çalışabilmesi için oksijen, glukoz ve iyonların hücrenin bulunduğu ortamda uygun konsantrasyonlarda bulunmaları gerekmektedir (5,6). Bu gereksinimlerin eksikliği hücrelerde geri dönüşümsüz hasarlara yol açabilir veya yaşam fonksiyonları devam etse bile kalp kası hücrelerinin asıl fonksiyonları olan kasılma ve gevşeme dinamiği bir süre için kaybolabilir. Kalp uzamış oksijen yokluğu durumlarında metabolik aktiviteyi belli bir süre koruma yeteneğine sahip olan organizmadaki tek sistemdir.

Canlı organizmadaki en küçük yaşamsal birim olan hücrelerin normal işlevlerini sürdürebilmeleri için içsel bütünlüklerinin uygun şartlarda ve uyum içinde olması gereklidir. Hücrenin bu dinamik metabolizmasında değişikliğe en sık neden olan faktör iskemi olarak karşımıza çıkmaktadır. Hücrede yaşam ve ölüm döngüsü, metabolizmayı etkileyen spesifik sinyallere bağlı olarak özelleşmiş mekanizmalar ile sağlanır. Hücre farklı değişkenlere farklı cevaplar verir; farklı uyarılar ile oluşan ölüm biçimi de farklı şekillerde olmaktadır.

Isı şok proteinleri tüm canlılarda normal şartlar altında hücre içinde belli seviyelerde bulunan ve hücre içi proteinlerin doğru şekilde ve doğru yerde olmalarını düzenleyen "chaperon"

moleküllerdir. Bu proteinler özellikle iskemi, ısı değişiklikleri ve oksidatif stres gibi hücre fonksiyonlarını önemli derecede bozan stres koşullarında sayıca artarak hücreyi koruma görevini gerçekleştirirler. Normal hücre içi proteinlerle karşılaştırıldıklarında kendilerine özgü daha kuvvetli hidrojen bağları, daha sağlam hidrofobik molekül içi paketlenmeleri, güçlendirilmiş sekonder yapıları ve heliks çift polar stabiliteleri nedeniyle stres koşullarına karşı daha dayanıklı olmakta ve daha az hasara uğramaktadırlar. Bu sayede hücre içi diğer proteinler bozulmaya uğradıklarında bile belli bir dereceye kadar HSP molekülleri dayanıklılıklarını koruyabilmekte, hatta miktarca artarak bozulmakta olan hücre proteinlerini onarma işlevlerini sürdürmektedirler. İlk olarak yaklaşık 25 yıl önce kanser araştırmaları sırasında karşılaşılan bu proteinler (61) günümüzde bilimin bir çok alanında ve özellikle tıp konusunda geniş çalışma alanı bulmuştur (62). Özellikle kardiyovasküler sistem üzerinde HSP 70 ve diğer HSP moleküllerinin değerlendirildiği bir çok araştırma yapılmıştır ve günümüzde de çeşitli çalışmalar devam etmektedir.

Kardiyovasküler sistem üzerinde HSP 70 düzeyini çalışan bir çok çalışmada kardiyovasküler yan etkileri çok iyi bilinen diabetik hasta grubu göz ardı edilmiştir. Ayrıca HSP 70 düzeyindeki farklılıkların neden olduğu düşünülen bir çok postoperatif morbidite için diabetin de literatürde bir risk faktörü olduğunu bilmekteyiz. Günümüze kadar yapılan çalışmalarda diabetin endotel ve koroner arterler üzerindeki etkilerine ağırlık verilmiştir. Çalışmamızda literatürde ilk defa olarak diabet ile HSP 70 ve glutaminle indüklenmiş diabetik sıçanlardaki kardiyovasküler sistemde HSP 70 düzeyleri değerlendirilmiştir.

Isı şok proteinleri inflamasyonun patofizyolojisinde önemli rol üstlenmişlerdir ve HSP 70 moleküllerinin stres durumlarında artması organ hasarına karşı organizmanın kendi kendini koruma mekanizmalarından biridir. Yine HSP 70'in iskemi-reperfüzyon hasarına karşı myokard hasarını azalttığı ve myokard dayanıklılığını artırdığı bilinmektedir (75). Akut ve kronik myokard stres koşullarında HSP 70 kardiyoprotektif rol üstlenmektedir (69). Kalp dışında vasküler sistem üzerinde de HSP 70 özellikle ateroskleroza karşı ve ateroskleroz geliştiğinde ilerlemesinin engellenmesinde, hipertansiyonda, çeşitli vaskülit durumlarında vasküler endotel hücrelerini korumaya yönelik sayıca artmaktadır (76). Çalışmamızda sıçanlarda diabet oluşturularak serumda ve kardiyovasküler sistem üzerinde HSP 70 seviyeleri değerlendirilmiştir. Erkek hayvan tercihi STZ'nin intravenöz olarak uygulanması ile daha kesin diabet oluşturulabilmesi nedeniyle ajanın sıçan penil ven yolu enjeksiyon kolaylığından kaynaklanmıştır. Diabet sonrası sağ atrium, sağ ventrikül, sol atrium, sol ventrikül ve abdominal aort dokularından alınan örnekler sayesinde kardiyovasküler sistemin değişik dokularının incelenmesi imkanı elde edilmiştir. Serum glukoz düzeyi ve serum HSP 70 düzeyleri ile dokular ayrı ayrı kıyaslanmıştır. Literatüre bakıldığında HSP 70'in yaygın olarak kardiyovasküler sistem dokularında değil de serum ve belirli dokularda incelenmiş olması farklı dokulardaki HSP 70 düzeylerinin saptanmasında kısıtlayıcı olmaktadır. Örneğin Mandal ve ark.'ın HSP 70 ile atrial fibrilasyonu korele ettikleri çalışmada serum HSP 70 düzeyleri ile sadece sağ atrium HSP 70 düzeylerini değerlendirmiş, kalbin diğer boşluklarından örneklem yapmamışlardır (10). Pockley ve ark. ise vasküler doku biyopsileri almadan sadece artmış serum HSP 70 düzeyleri ile ateroskleroz çalışmışlardır (76). Her ne kadar hücre içi proteinler olsalar da ağır stres durumlarında HSP 70 hücre membranına ve hatta seruma da geçebilmektedir. HSP 70 moleküllerin hücre dışında saptanmaları o hücrenin ciddi olarak hasara uğradığı anlamına gelir. Bu durumda artmış HSP 70 molekülleri hücre dışına çıkıp serumda da görev yapabilirler. Serumdaki HSP 70 moleküllerinin görevi immün sistemi tetiklemek hücre yıkımı sonucu ortaya çıkan zararlı

artıkların immün sistem tarafından ayıklanmasını ve temizlenmesini sağlamaktır (64). Çalışmamızda diabetik sıçanlarda serumda ölçülen HSP 70 düzeyi ile sağ atrium, sağ ventrikül, sol atrium ve sol ventrikül dokularında saptanan HSP 70 miktarı, diabetik olmayan hayvanların serum ve doku örnekleri ile karşılaştırıldığında ileri derecede anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur. Ancak abdominal aort dokusunda HSP 70 miktarı diabetik grup ve diabetik olmayan grup karşılaştırıldığında, her ne kadar diabetik grupta aort dokusunda daha yüksek miktarlarda saptansa da, aradaki farkın anlamlı olmadığı tespit edilmiş ve sonucun böyle olmasının gruplardaki denek sayısının azlığından kaynaklandığı düşünülmüştür. Genel olarak diabet varlığında kardiyovasküler sistemde HSP 70 miktarının koruyucu olarak arttığı gözlenmiştir. Ayrıca bu artışın kan şekeri düzeyleri ile korele olduğu saptanmıştır. Aynı şekilde serumdaki ölçülen HSP 70 düzeyi ile aorttaki HSP 70 miktarı arasında orta derecede korelasyon saptanırken, diğer dokulardaki HSP 70 miktarında güçlü korelasyon belirlenmiştir. İlginç olarak abdominal aort dokusunun diabetik stres koşullarına diğer dokulara oranla daha düşük seviyede HSP 70 yanıtı verdiği görülmüştür. Doku düzeyinde HSP 70 düzeyinin aort dokusunda daha düşük saptanmasının hücre yıkımı sonucu kana geçen HSP 70 nedeniyle mi yoksa gerçekten aort dokusunda HSP 70'in daha az mı üretildiğinin anlaşılabilmesi için ışık mikroskobu altında vasküler endotel hücreleri detaylı olarak incelenmiştir. Hücre bütünlüklerinin korunmuş olması kana artmış HSP 70 salgısından çok üretim azlığını düşündürmüştür.

Günümüzde yapılan çalışmalarda intrensek olarak myokardial korunmanın yollarının araştırılması hız kazanmıştır. Varılan noktada bu koruma mekanizmalarının bir çoğunun da hücrenin kendi içinde kendi kendini koruma şeklinde gerçekleştirildiği keşfedilmiştir (77). Bu nedenle hücrelerin önceden stres koşullarına hazırlanması bir çok araştırmada çalışılmıştır. Kısaca ön koşullanma olarak tarif edilen bu hazırlık amacıyla stres yatarabilecek, iske mi, ısı değişiklikleri, çeşitli biyokimyasal maddeler hazırlık amacıyla ana girişim öncesi deneklere uygulanmış ve deney sonunda uygulanan bu maddenin özellikle HSP 70 moleküllerini artırarak hücreyi daha dayanıklı hale getirip getirmediği sorgulanmıştır (13,72). Bazı çalışmalarda izole olarak kalp termal ya da iskemik strese maruz bırakılmış ve bu koşullanma sonrası HSP 70 değerlendirilmiştir (78). Bazı çalışmalar ise spesifik olarak dokuya stres yaratmak yerine tüm vücuda ya da vücudun farklı bir bölgesine iske mi ya da ısı artışı uygulayarak HSP 70'i indüklemişler ve bu sayede deneklerin kardiyak iskemik hasara karşı çok daha dayanıklı hale geldiklerini saptamışlardır (79). Fakat uygulanan bir çok yöntem genellikle pratik hayatta gerek kullanılacak ajanın dozu (sitotoksik ajan kullanımı), gerek yapılacak işlem (eksternal ısı uygulaması) nedeniyle uygulanabilirlik açısından tartışma yaratabilecek nitelikte olarak karşımıza çıkmaktadır.

Isı şok proteinlerinin koruyucu etkilerinin saptanması sonucunda HSP 70 seviyesinin daha basit bir şekilde indüklenmesi ve bu indüksiyonun klinik pratikte de rahatlıkla uygulanması amacıyla kâr zarar karşılaştırmasında kârın ön plana çıktığı çeşitli ajanlar kullanılması gündeme gelmiştir. Bu ajanlardan biri de glutamindir. Hayashi ve ark. preopratif glutamin uygulaması sonrası kardiyopulmoner bypassa aldıkları sıçanlarda kardiyak ve serum HSP 70 düzeylerinin arttığını ve kardiyopulmoner bypassa bağlı inflamatuvar cevabın azaldığını göstermişlerdir. Aslında esansiyel aminoasit olmayan glutaminin pulmoner ve gastrointestinal sistem üzerinde HSP 70 düzeylerini artırarak koruyucu olduğunu gösteren literatürler mevcuttur. Ancak Hayashi ve ark.'ın çalışmasında ilk defa glutaminin HSP 70 yolu ile kardiyopulmoner bypassın yan etkilerini azaltıcı etkileri belirlenmiştir (13). Glutamin girişim öncesi diğer koşullama yöntemleri ile

karşılaştırıldığında son derece kolay kullanılabilir bir madde olarak karşımıza çıkmaktadır. Ayrıca toksik olmayan organik bir madde olması kullanım alanını ve doz aralığını genişletmektedir.

Çalışmamızda literatürde uygulanan yüksek dozlardan farklı olarak glutamin sıçanlarda sakrifiye edilmeden 1 hafta önce 3'er gün ara ile iki ayrı iki doz halinde 1000mg/kg intraperitoneal olarak verilmiştir. İntraperitoneal yol dışında glutaminin oral ya da intravenöz uygulanabileceği de bilinmektedir (13). Glutamin uygulanan diabetik sıçanlarda, diabetik grupta elde edilen HSP 70 değerlerine ek olarak, aort dokusundaki HSP 70 düzeyleri de anlamlı olarak yüksek bulunmuştur (Hatırlanacağı gibi glutamin uygulanmamış diabetik grupta aort dokusundaki HSP 70 miktarındaki artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır). Glutaminin diabetik sıçanlarda HSP 70 düzeyini hem serum hem de kardiyovasküler sistemin farklı dokularında diabetik grup ile karşılaştırıldığında daha fazla artırdığı gözlenmiştir. Glutamin ile HSP 70 sentezi indüklenen diabetik grup, indüklenmeyen diabetik grup ile karşılaştırıldığında, her ne kadar glutamin HSP 70 düzeyini artırsa da bu artış serumda, sağ atrium, sağ ventrikül ve aortta, muhtemel denek sayısının kısıtlı tutulması nedeniyle, istatistiksel olarak anlamlı fark yaratmamıştır. İlginç olarak glutamin kardiyak sol sistem yapılarında (sol atrium ve sol ventrikül) HSP 70 sentezini diabetik grup ile karşılaştırıldığında anlamlı olarak daha fazla artırmıştır. Genel olarak diabet varlığında kardiyovasküler sistemde HSP 70 miktarının koruyucu olarak arttığı gözlenmiştir. Ayrıca bu artışın kan şekeri düzeyleri ile korele olduğu saptanmıştır. İlginç olarak abdominal aort dokusunun diabetik stres koşullarına diğer dokulara oranla daha düşük seviyede HSP 70 yanıtı verdiği görülmüştür ancak bu bölgedeki HSP 70'in glutamin uygulaması ile artırılabilirliği saptanmıştır.

Çalışmamızın sonuçları literatür verileri ile uyumludur. Ancak literatürden farklı olarak diabetik populasyonda kardiyovasküler sistemin farklı dokularında ve serumda HSP 70 düzeylerinin incelenmesi çalışmaya özgünlük kazandırmaktadır. Ayrıca diabetik denek grubuna glutamin verilerek HSP 70 sentezinin indüklenebilirliğinin ispatı, bu ajanın belki de klinik kullanılabilirliğinin önünü açabilecektir.

SONUÇ

Diabetin kardiyovasküler sistem üzerinde çeşitli yan etkileri mevcuttur. İskemi, ısı değişiklikleri, oksidatif stres gibi durumlarda artan HSP 70 kardiyovasküler sistemde koruyucu rol oynamaktadır. Çalışmamızda sıçanlarda diabet modeli oluşturularak serumda ve kardiyovasküler sistemin farklı dokularında HSP 70 düzeyi literatürde ilk defa özgün olarak değerlendirilmiştir.

Diabetik sıçanlar, sağlıklı sıçanlarla karşılaştırıldıklarında HSP 70 düzeyi serumda ve kardiyovasküler sistem dokularında daha yüksek tespit edilmiştir. Ancak bu artış aort dokusunda istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. HSP 70 miktarını artırdığı bilinen glutamin uygulaması diabetik sıçanlarda, serumda ve doku düzeyinde HSP 70 seviyelerinde daha fazla artışa neden olmuştur. Glutamin verilerek sağlanan bu artış diabetik gruptan farklı olarak aort dokusunda da HSP 70 düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı artış sağlamıştır. Dikkati çeken bir diğer sonuç da glutamin her ne kadar diabete nazaran HSP 70 seviyelerinde daha fazla artış sağlamış olsa da bu artışın özellikle sol atrium ve sol ventriküldeki HSP 70 düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı kaydedilmesidir.

Ayrıca ölçülen kan şekeri düzeyleri ile serum ve kardiyak dokularda ölçülen HSP 70 miktarları arasında güçlü korelasyon saptanmıştır. Ancak bu korelasyon aort dokusu için orta derecede bir güce sahip olmuştur. Aynı durum serumdaki HSP 70 düzeyi, aort dokusundaki HSP 70 düzeyleri ile korele edildiğinde de karşımıza çıkmıştır.

Sonuç olarak, diabet hastalığında sıçanlarda kardiyovasküler sistemde HSP 70 miktarı artmaktadır. Hücreleri koruma ile görevli HSP 70 molekülünün sentezi güvenle kullanılabilen glutamin sayesinde daha da artırılabilir. Glutamin sağ sisteme nazaran sol sistem kardiyovasküler yapılarında daha yüksek koruyucu etkiye sahip olduğu görülmektedir.

VI. KAYNAKLAR

1. Aslan M (2003): Diabetes Mellitusta Tanı ve Sınıflandırma. In: İliçin G, Biberoğlu K, Süleymanlar G, Ünal S (eds). İç Hastalıkları, 2. baskı. Ankara, Güneş Kitabevi; s. 2279-2295
2. Yenigün M. (2001): Kardiyovasüler Diabet. In: Yenigün M, Altuntaş Y (eds): Her Yönüyle Diabetes Mellitus. İstanbul, Nobel Tıp Kitabevleri; s. 639-697
3. Willa AH, Moore L, Bryer-Ash M. (2004): Contemporary Diagnosis of and management of type 2 diabetes; Handbooks in Health Care Co. Çev. Eds: Karpuz H, İstanbul, Avrupa Tıp Kitapçılık, s. 38-41
4. Rutter MK, McComb JM, Brady S, Marshall SM (1999 Jan): Silent myocardial ischemia and microalbuminuria in asymptomatic subjects with non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Am J Cardiol.* 1;83(1):27-31
5. Haffner SM, Stern MP, Hazuda HP, Mitchell BD, Patterson JK.(1990): Cardiovascular risk factors in confirmed prediabetic individuals. Does the clock for coronary heart disease start ticking before the onset of clinical diabetes? *JAMA.* Jun 6;263(21):2893-8
6. Gardner TJ, Stewart JR, Casale AS, Downey JM, Chambers DE. (1983): Reduction of myocardial ischemic injury with oxygen-derived free radical scavengers. *Surgery.* 94(3): 423-427
7. Giannessi D, Caselli C, Vitale RL, Crucean A, Murzi B, Ry SD, Vanini V, Biagini A. (2003 Nov): A possible cardioprotective effect of heat shock proteins during cardiac surgery in pediatric patients. *Pharmacol Res.* 48(5):519-29
8. Dybdahl B, Wahba A, Lien E, Flo TH, Waage A, Qureshi N, Sellevold OF, Espevik T, Sundan A. (2002 Feb): Inflammatory response after open heart surgery: release of heat-shock protein 70 and signaling through toll-like receptor-4. *Circulation.* 105(6):685-90
9. Wan S, Izzat MB, Lee TW, Wan IY, Tang NL, Yim AP (1999). Avoiding cardiopulmonary bypass in multivessel CABG reduces cytokine response and myocardial injury. *Ann Thorac Surg.* 68(1):52-6
10. Mandal K, Torsney E, Poloniecki J, Camm AJ, Xu Q, Jahangiri M. (2005): Association of high intracellular, but not serum, heat shock protein 70 with postoperative atrial fibrillation. *Ann Thorac Surg.* 79(3):865-71
11. St Rammos K, Koullias GJ, Hassan MO, Argyrakis NP, Voucharas CG, Scarupa SJ, Cowte TG. (2002): Low preoperative HSP70 atrial myocardial levels correlate significantly with high incidence of postoperative atrial fibrillation after cardiac surgery. *Cardiovasc Surg.* 10(3):228-32
12. Tsan MF, Gao B. (2004 Apr): Cytokine function of heat shock proteins. *Am J Physiol Cell Physiol.* 286(4):C739-44
13. Hayashi Y, Sawa Y, Fukuyama N, Nakazawa H, Matsuda H.(2002): Preoperative glutamine administration induces heat-shock protein 70 expression and attenuates cardiopulmonary bypass-induced inflammatory response by regulating nitric oxide synthase activity. *Circulation.* 106(20):2601-7
14. Pockley AG, Wu R, Lemne C, Kiessling R, de Faire U, Frostegård J. (2000 Aug): Circulating heat shock protein 60 is associated with early cardiovascular disease. *Hypertension.* 36(2):303-7
15. Schwartz CJ, Kelley JL, Nerem RM, Sprague EA, Rozek MM, Valente AJ, Edwards EH, Prasad AR, Kerbacher JJ, Logan SA. (1989): Pathophysiology of the atherogenic process. *Am J Cardiol.* Oct 3;64(13):23G-30G
16. Schwartz CJ, Valente AJ, Sprague EA. (1993): A modern view of atherogenesis. *Am J Cardiol.* Feb 25;71(6):9B-14B

17. Beckman JA, Creager MA, Libby P. (2002 May): Diabetes and atherosclerosis: epidemiology, pathophysiology, and management. *JAMA*.287(19):2570-81
18. Grundy SM, Benjamin IJ, Burke GL, Chait A, Eckel RH, Howard BV, Mitch W, Smith SC Jr, Sowers JR. (1999): AHA Scientific Statement: Diabetes and Cardiovascular Disease. A Statement for Health Care Professionals from the American Heart Association. *Circulation*; Sep 7;100(10):1134-46
19. Coutinho M, Gerstein HC, Wang Y, Yusuf S. (1999): The relationship between glucose and incident cardiovascular events: A metaregression analysis of published data from 20 studies of 95; 738 individuals followed for 12.4 years. *Diabetes Care*; Feb;22(2):233-40
20. Blake DR, Meigs JB, Muller DC, Najjar SS, Andres R, Nathan DM. (2004): Impaired glucose tolerance, but not impaired fasting glucose, is associated with increased levels of coronary heart disease risk factors: results from the Baltimore Longitudinal Study on Aging. *Diabetes* Aug;53(8):2095-100
21. Libby P, Hansson GK. (1991): Involvement of the immune system in human atherogenesis: current knowledge and unanswered questions. *Lab Invest*. 64(1):5-15.
22. Powers AC. (2001): Diabetes Mellitus. In: Braunwald E, Fauci AS, Kasper DL, Hauser SL, Longo DL, Jameson JL (eds): *Harrison's Principles of Internal Medicine*, New York, Mc Graw Hill; pp. 2109-2138
23. Lebovitz HE (1998): Diagnosis and classification of Diabetes Mellitus. In: Lebovitz HE. (eds): *Therapy for Diabetes mellitus and related disorders*. American Diabetes Association clinical education series, Virginia; 4-7
24. Harris MI. (1988): Classification and diagnostic criteria for diabetes mellitus and other categories of glucose intolerance. *Prim Care*. Jun;15(2):205-25
25. Puavilai G, Chanprasertyotin S, Sriphrapradaeng A. (1999): Diagnostic criteria for diabetes mellitus and other categories of glucose intolerance: 1997 criteria by the Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus (ADA), 1998 WHO consultation criteria, and 1985 WHO criteria. *World Health Organization. Diabetes Res Clin Pract*. Apr;44(1):21-6
26. Barr EL, Zimmet PZ, Welborn TA, Jolley D, Magliano DJ, Dunstan DW, Cameron AJ, Dwyer T, Taylor HR, Tonkin AM, Wong TY, McNeil J, Shaw JE. (2007): Risk of cardiovascular and all-cause mortality in individuals with diabetes mellitus, impaired fasting glucose, and impaired glucose tolerance: the Australian Diabetes, Obesity, and Lifestyle Study (AusDiab). *Circulation*. Jul 10;116(2):151-7
27. Satman I, Yilmaz T, Sengül A, Salman S, Salman F, Uygur S, Bastar I, Tütüncü Y, Sargin M, Dinççag N, Karsidag K, Kalaça S, Ozcan C, King H. (2002): Population-based study of diabetes and risk characteristics in Turkey: results of the turkish diabetes epidemiology study (TURDEP). Sep;25(9):1551-6
28. Altuntaş Y. (2001): Diabetes Mellitus'un Tanımı, Tanısı ve Sınıflanması. In: Yenigün M, Altuntaş Y (eds): *Her Yönüyle Diabetes Mellitus*, İstanbul, Nobel Tıp Kitabevleri, s. 51-62
29. Eisenbbarth GS. (1986): Type 1 diabetes mellitus; a chronic autoimmune disease. *N Eng J Med*; May 22;314(21):1360-8
30. Buschard K, Damsbo P, Röpke C. (1990) Activated CD4+ and CD8+ T-lymphocytes in newly diagnosed type 1 diabetes: a prospective study. *Diabet Med*. Feb;7(2):132-6
31. Mitrakou A, Kelley D, Mokan M, Veneman T, Pangburn T, Reilly J, Gerich J. (1992): Role of reduced suppression of glucose production and diminished early insulin release in impaired glucose tolerance. *N Engl J Med*. Jan 2;326(1):22-9
32. DeFronzo RA, Ferrannini E, Simonson DC. (1989): Fasting hyperglycemia in non-insulin-dependent diabetes mellitus: contributions of excessive hepatic glucose production and impaired tissue glucose uptake. *Metabolism*. Apr;38(4):387-95

33. Orhan Y. (2001): Diabetes Mellitus. In: Sencer E (eds): Endokrinoloji Metabolizma ve Beslenme Hastalıkları. İstanbul, Nobel Tıp Kitabevleri, s. 247-286
34. Reardon W, Ross RJ, Sweeney MG, Luxon LM, Pembrey ME, Harding AE, Trembath RC. (1992): Diabetes mellitus associated with a pathogenic point mutation in mitochondrial DNA. *Lancet*. Dec 5;340(8832):1376-9
35. De Fonzo RA. (1997): Pathogenesis of type 2 diabetes: Metabolic and molecular implications for identifying diabetes genes. *Diabetes Rev*; 5(3): 177-269
36. Kahn R, Buse J, Ferrannini E, Stern M. (2005): The metabolic syndrome: time for a critical appraisal. Joint statement from the American Diabetes Association and the European Association for the Study of Diabetes. *Diabetologia*. Sep;48(9):1684-99
37. Türk Diabet Yıllığı. Türk Diabet Cemiyeti ve Türkiye Diabet Vakfı: 2002-2003
38. Fujimoto WY, Leonetti DL, Kinyoun JL, Newell-Morris L, Shuman WP, Stolov WC, Wahl PW (1987 Jun: Prevalence of diabetes mellitus and impaired glucose tolerance among second-generation Japanese-American men. *Diabetes*.36(6):721-9
39. Stratton MI, Adler IA, Neil WA, Matthews ND, Manley ES, Cull AC, Hadden D, Turner CR, Rholman R on behalf of the UK Prospective Diabete Group Study. (2000): Association of glycemia macrovascular and microvascular complications of type 2 diabetes (UKPDS35). *BMJ*; 321: 405-412
40. Cooper ME. (1998): Pathogenesis, prevention and treatment of diabetic nephropathy. *Lancet*; Jul 18;352(9123):213-9
41. Hodge AM, Dowse GK, Zimmet PZ (1996 May): Microalbuminuria, cardiovascular risk factors, and insulin resistance in two populations with a high risk of type 2 diabetes mellitus. *Diabet Med*.;13(5):441-9
42. Rutter MK, McComb JM, Brady S, Marshall SM (1999 Jan): Silent myocardial ischemia and microalbuminuria in asymptomatic subjects with non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Am J Cardiol*. 1;83(1):27-31
43. Lawson PM, Champion MC, Canny C, Kingsley R, White MC, Dupré J, Kohner EM. (1982): Continuous subcutaneous insulin infusion (CSII) does not prevent progression of proliferative and preproliferative retinopathy. *Br J Ophthalmol*. Dec;66(12):762-6
44. Uusitupa MI, Niskanen LK, Siitonen O, Voutilainen E, Pyörälä K (1993 Nov). Ten-year cardiovascular mortality in relation to risk factors and abnormalities in lipoprotein composition in type 2 (non-insulin-dependent) diabetic and non-diabetic subjects. *Diabetologia*.;36(11):1175-84
45. Haffner SM, Lehto S, Ronnema T, Pyorala K, Laakso M. (1998): Mortality from coronary disease in subject with type 2 diabetes and in nondiabetic subjects with or without prior myocardial infarction. *N Engl J Med*. Jul 23;339(4):229-34
46. Brindisi MC, Rabasa-Lhoret R, Chiasson JL. (2006): Postprandial hyperglycaemia: to treat or not to treat? *Diabetes Metab*. Apr;32(2):105-11
47. Zimmerman BR. (2001): Postprandial hyperglycemia: implications for practice. *Am J Cardiol*. Sep 20;88(6A):32H-6H
48. Silva JA, Escobar A, Collins TJ, Ramee SR, White CJ. (1995): Unstable angina. A comparison of angioscopic findings between diabetic and nondiabetic patients. *Circulation*. Oct 1;92(7):1731-6
49. Chobanian AV, Bakris GL, Black HR, Cushman WC, Green LA, Izzo JL Jr, Jones DW, Materson BJ, Oparil S, Wright JT Jr, Roccella EJ; Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure. National Heart, Lung, and Blood Institute; National High Blood Pressure Education Program Coordinating Committee. (2003): Seventh report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure. *Hypertension*. Dec;42(6):1206-52

50. Heinecke JW.. (1997): Mechanisms of oxidative damage of low density lipoprotein in human atherosclerosis. *Curr Opin Lipidol*; 27: 503-18
51. Bucala R, Makita Z, Vega G, Grundy S, Koschinsky T, Cerami A, Vlassara H. (1994): Modification of low-density lipoprotein by advanced glycosylation end products contributes to the dyslipidemia of Diabetes and renal insufficiency. *Proc Natl Acad Sci U S A*. Sep 27;91(20):9441-5
52. Stewart MW, Laker MF, Dyer RG, Game F, Mitcheson J, Winocour PH, Alberti KG. (1993): Lipoprotein compositional abnormalities and insulin resistance in type II diabetic patients with mild hyperlipidemia. *Arterioscler Thromb*. Jul;13(7):1046-52
53. Krauss RM. (2004): Lipids and lipoproteins in patients with type 2 diabetes. *Diabetes Care*; Jun;27(6):1496-504
54. Laurent S, Boutouyrie P, Asmar R, Gautier I, Laloux B, Guize L, Ducimetiere P, Benetos A. (2001): Aortic stiffness is an independent predictor of all-cause and cardiovascular mortality in hypertensive patients. *Hypertension*. May;37(5):1236-41
55. Madhavan S, Ooi WL, Cohen H, Alderman MH. (1994): Relation of pulse pressure and blood pressure reduction to the incidence of myocardial infarction. *Hypertension*. Mar;23(3):395-401
56. Stefanadis C, Dernellis J, Tsiamis E, Stratos C, Diamantopoulos L, Michaelides A, Toutouzas P. (2000): Aortic stiffness as a risk factor for recurrent acute coronary events in patients with ischaemic heart disease. *Eur Heart J*. Mar;21(5):390-6
57. Henry RM, Kostense PJ, Spijkerman AM, Dekker JM, Nijpels G, Heine RJ, Kamp O, Westerhof N, Bouter LM, Stehouwer CD; Hoorn Study. (2003): Arterial stiffness increases with deteriorating glucose tolerance status: the Hoorn Study. *Circulation*. Apr 29;107(16):2089-95
58. Freedman DS, Gruchow HW, Bamrah VS, Anderson AJ, Barboriak JJ. (1988): Diabetes mellitus and arteriographically-documented coronary artery disease. *J Clin Epidemiol*;41(7):659-68
59. Monnier VM, Vishwanath V, Frank KE, Elmets CA, Dauchot P, Kohn RR. (1986): Relation between complications of type 1 diabetes mellitus and collagen-linked fluorescence. *N Engl J Med*. Feb 13;314(7):403-8
60. Eren M, Gorgulu S, Uslu N, Celik S, Dagdeviren B, Tezel T. (2004): Relation between aortic stiffness and left ventricular diastolic function in patients with hypertension, diabetes, or both. *Heart*. Jan;90(1):37-43
61. Binder RJ, Vatner R, Srivastava P. (2004):The heat-shock protein receptors: some answers and more questions. *Tissue Antigens*. Oct; 64 (4): 442-51
62. Parsell DA, Taulien J, Lindquist S. (1993): The role of heat-shock proteins in thermotolerance *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*. Mar 29;339(1289):279-85
63. Srivastava PK. (2005): Immunotherapy for human cancer using heat shock protein-peptide complexes. *Curr Oncol Rep*. Mar; 7 (2):104-8
64. Aneja R, Odoms K, Dunsmore K, Shanley TP, Wong HR. (2006): TNF-alpha decreases hsp 27 in human blood mononuclear cells: involvement of protein kinase c. *Life Sci*. Dec 23; 80 (3):181-6
65. Liang P, MacRae TH (1997 Jul): Molecular chaperones and the cytoskeleton. *J Cell Sci*.;110 (Pt 13):1431-40
66. Yoshimune K, Yoshimura T, Nakayama T, Nishino T, Esaki N. (2002): Hsc62, Hsc56, and GrpE, the third Hsp70 chaperone system of Escherichia coli. *Biochem Biophys Res Commun* May 24;293(5):1389-95
67. Ritossa FM, Vonborstel RC. (1964): Chromosome puffs in drosophila induced by ribonuclease. *Science*. Jul 31; 145: 513-4

68. Wegele H, Müller L, Buchner J. (2004): Hsp70 and Hsp90--a relay team for protein folding. *Rev Physiol Biochem Pharmacol*. 151:1-44
69. Suzuki K, Murtuza B, Sammut IA, Latif N, Jayakumar J, Smolenski RT, Kaneda Y, Sawa Y, Matsuda H, Yacoub MH. (2002): Heat shock protein 72 enhances manganese superoxide dismutase activity during myocardial ischemia-reperfusion injury, associated with mitochondrial protection and apoptosis reduction. *Circulation*. Sep 24;106(12 Suppl 1): 270-6
70. Plumier JC, Ross BM, Currie RW, Angelidis CE, Kazlaris H, Kollias G, Pagoulatos GN. (1995): Transgenic mice expressing the human heat shock protein 70 have improved post-ischemic myocardial recovery. *J Clin Invest*. Apr; 95(4):1854-60
71. Amrani M, Corbett J, Allen NJ, O'Shea J, Boateng SY, May AJ, Dunn MJ, Yacoub MH. (1994): Induction of heat-shock proteins enhances myocardial and endothelial functional recovery after prolonged cardioplegic arrest. *Ann Thorac Surg*. Jan; 57(1):157-60
72. Demidov ON, Tyrenko VV, Svistov AS, Komarova YY, Karpishenko AI, Margulis BA, Shevchenko YL. (1999): Heat shock proteins in cardiosurgery patients. *Eur J Cardiothorac Surg*. Oct;16(4):444-9
73. Zhu J, Quyyumi AA, Wu H, Csako G, Rott D, Zalles-Ganley A, Ogunmakinwa J, Halcox J, Epstein SE. (2003): Increased serum levels of heat shock protein 70 are associated with low risk of coronary artery disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. Jun 1;23 (6): 1055-9
74. Wright BH, Corton JM, El-Nahas AM, Wood RF, Pockley AG. (2000): Elevated levels of circulating heat shock protein 70 (Hsp70) in peripheral and renal vascular disease. *Heart Vessels*. 15(1):18-22
75. Nomura F, Aoki M, Forbess JM, Mayer JE Jr. (1999): Myocardial self-preservative effect of heat shock protein 70 on an immature lamb heart. *Ann Thorac Surg*. Nov;68(5):1736-41
76. Pockley AG, Georgiades A, Thulin T, de Faire U, Frostegard J. (2003) Serum heat shock protein 70 levels predict the development of atherosclerosis in subjects with established hypertension. *Hypertension*. Sep;42(3):235-8
77. Schulman D, Latchman DS, Yellon DM. (2001): Effect of aging on the ability of preconditioning to protect rat hearts from ischemia-reperfusion injury. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. Oct;281(4):H1630-6
78. Dillmann WH, Mehta HB, Barrieux A, Guth BD, Neeley WE, Ross J Jr. (1986): Ischemia of the dog heart induces the appearance of a cardiac mRNA coding for a protein with migration characteristics similar to heat-shock/stress protein 71. *Circ Res*. Jul;59(1):110-4
79. Hutter MM, Sievers RE, Barbosa V, Wolfe CL. (1994): Heat-shock protein induction in rat hearts. A direct correlation between the amount of heat-shock protein induced and the degree of myocardial protection. *Circulation*. Jan;89(1):355-6