

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

**TİP 2 DİYABET TEDAVİSİNDE YAŞAM TARZI DEĞİŞİKLİĞİ
VE METFORMİN TEDAVİLERİNE EK OLARAK İNSULİN
DETEMİR VE GLICLAZİDE-MR TEDAVİLERİNİN ENDOTEL
FONKSİYONLARI ÜZERİNE ETKİSİ: AÇIK ETİKETLİ
RASTGELLENMİŞ PROSPEKTİF ÇALIŞMA**

Uzm. Dr. Uğur ÜNLÜTÜRK

ENDOKRİNOLOJİ VE METABOLİZMA HASTALIKLARI

BİLİM DALI

YAN DAL UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN

Prof. Dr. Rıfat EMRAL

ANKARA

2012

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

**TİP 2 DİYABET TEDAVİSİNDE YAŞAM TARZI DEĞİŞİKLİĞİ
VE METFORMİN TEDAVİLERİNE EK OLARAK İNSULİN
DETEMİR VE GLICLAZİDE-MR TEDAVİLERİNİN ENDOTEL
FONKSİYONLARI ÜZERİNE ETKİSİ: AÇIK ETİKETLİ
RASTGELLENMİŞ PROSPEKTİF ÇALIŞMA**

Uzm. Dr. Uğur ÜNLÜTÜRK

**ENDOKRİNOLOJİ VE METABOLİZMA HASTALIKLARI
BİLİM DALI**

YAN DAL UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN

Prof. Dr. Rıfat EMRAL

ANKARA

2012

Bu tez, TÜBİTAK tarafından 110 S 119 Proje numarası ile desteklenmiştir

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi

Endokrinoloji ve Metabolizma Hastalıkları Bilim Dalı

Tıpta Uzmanlık eğitimi çerçevesinde yürütölmüş olan “Tip 2 Diyabet Tedavisinde Yaşam Tarzı Değişikliği ve Metformin Tedavilerine Ek Olarak İnsölin Detemir ve Gliclazide-MR Tedavilerinin Endotel Fonksiyonları Üzerine Etkisi: Açık Etiketli Rastgellenmiş Prospektif Çalışma” başlıklı, Dr. Uğur Ünlütürk’e ait bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından Tıpta Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 27.02.2012

Jüri Başkanı

Prof.Dr. Demet ÇORAPÇIOĞLU

Endok.ve Metab. Hast. Bilim Dalı

Öğr. Üyesi

Tez Danışmanı

Prof.Dr. Rıfat EMRAL

Endok.ve Metab. Hast. Bilim Dalı

Öğr. Üyesi

Üye

Prof.Dr. Murat Faik ERDOĞAN

Endok.ve Metab. Hast. Bilim Dalı

Öğr. Üyesi

TEŞEKKÜR

Bu tezin oluşumunda katkıları olanlara,

Yan dal ihtisas eğitimim boyunca gösterdikleri yakın ilgileri nedeni ile başta Endokrinoloji ve Metabolizma Hastalıkları Bilim Dalı başkanları Prof. Dr. Nilgün Başkal, Prof Dr Ali Rıza Uysal ve çok erken yaşta aramızdan ayrılan değerli hocam Prof. Dr. Nuri Kamel'e olmak üzere Endokrinoloji ve Metabolizma Hastalıkları Bilim Dalının tüm öğretim üyelerine teşekkür ederim.

Bu çalışmanın yapılmasında desteği için tez danışmanı hocam Prof. Dr. Rıfat Emral'a ve Hacettepe Üniversitesi Onkoloji Enstitüsünden Prof. Dr. Dicle Güç'e, laboratuvar analizleri esnasında son derece titiz ve dikkatli çalışmaları ile verilerin en doğru biçimde elde edilmesinde yoğun emek harcayan yardımcı araştırmacılar Uzm. Dr. Altuğ Kesikli ve Dr. Gürcan Günaydın'a katkılarından dolayı teşekkür ederim. Çalışmanın örneklerinin uygun koşullarda toplanıp saklanmasında emeği geçen Şehnaz Akalın, Özlem Çoban, Zennure Uslu, Ayşe Halıcı, Emine Öztürk, Canset Güzel ve başhemsiremiz Birgül Yurdakul'a; FMD uygulaması eğitimime katkılarından dolayı, Dr Cansın Tulunay Kaya'ya, Dr Banu Evranos'a, birlikte çalıştığımız süre içerisinde varlıkları nedeni ile Uzm Dr Özgür Demir, Uzm Dr Kemal Ağbaht, iç hastalıkları araştırma görevlisi doktorlarına ve bilim dalımız çok kıymetli personellerine teşekkürlerimi bir borç bilirim.

Ayrıca çalışmamıza katılan tüm hastalarımıza teşekkür ederim.

Çalışmanın istatistiksel analizinde yardımlarını esirgemeyen Biyoistatistik Anabilim Dalı araştırma görevlisi Dr. Can Ateş'e ayrıca teşekkür ederim.

Tıp Fakültesindeki eğitimim ve İç Hastalıkları ihtisasım boyunca bana emeği geçen tüm hocalarıma içtenlikle teşekkür ederim.

Bugünlere erişmem için varlıklarını ve emeklerini hiçbir zaman esirgemeyen Aileme ve benzersiz bir dostluğu yaşatabildiğimiz Arkadaşlarıma...

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
İÇİNDEKİLER	iv
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	v
TABLolar VE ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vi
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
3. HASTALAR VE YÖNTEM.....	8
3.1. Akıma Bağlı Dilatasyon (flow mediated dilatation, FMD).....	8
3.2. Proinflamatuvar biyobelirteçler.....	9
3.3. Endotel fonksiyonu ile ilişkili biyobelirteçler	9
3.4. Koagülasyon statusu ile ilgili biyobelirteçler	9
3.5. Çalışma Örnekleme.....	9
3.6. Çalışma Protokolü	10
3.7. İstatistiksel Analizler	13
3.8. Araştırmanın Etik Yönü	14
3.9. Araştırmanın Bütçesi.....	14
3.10. Araştırmanın Kayıt Bilgisi:.....	14
4. BULGULAR.....	15
5. TARTIŞMA	43
6. SONUÇ.....	49
ÖZET.....	50
SUMMARY	53
7. KAYNAKLAR.....	56

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ADA : Amerikan Diyabet Birliği (American Diabetes Association)

FMD : Akıma Bağlı Dilatasyon (Flow Mediated Dilatation)

NO : Nitrik oksit

VKİ : Vücut Kitle İndeksi

TABLolar VE ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 3.1. Çalışma tasarımı	13
Tablo 4.1: Tedavi gruplarının demografik, bazal antropometrik ve HbA1c verileri .	15
Tablo 4.2: HbA1c ölçümlerinin tedavi kolları ve zamana göre dağılımları	15
Şekil 4.1. HbA1c ölçümlerinin tedavi kolları ve zamana göre dağılımları.....	16
Tablo 4.3: Vücut ağırlığı ölçümlerinin tedavi kolları ve zamana göre dağılımları....	17
Şekil 4.2: Vücut ağırlığı ölçümlerinin tedavi kolları ve zamana göre dağılımları.....	18
Tablo 4.4: VKİ ölçümlerinin tedavi kolları ve zamana göre dağılımları	19
Şekil 4.3: VKİ ölçümlerinin tedavi kolları ve zamana göre dağılımları	20
Tablo 4.5: AUC-glukoz ölçümlerinin tedavi kolları ve zamana göre dağılımları	21
Şekil 4.4: AUC-glukoz ölçümlerinin tedavi kolları ve zamana göre dağılımları	22
Tablo 4.6: AUC-insulin ölçümlerinin tedavi kolları ve zamana göre dağılımları	23
Şekil 4.5: AUC-İnsulin ölçümlerinin tedavi kolları ve zamana göre dağılımları	24
Tablo 4.7: FMD ölçümlerinin tedavi kolları ve zamana göre dağılımları	25
Şekil 4.6: FMD ölçümlerinin tedavi kolları ve zamana göre dağılımları	26
Tablo 4.8: sICAM-1 düzeylerinin tedavi kolları ve zamana göre dağılımları	27
Şekil 4.7: sICAM-1 düzeylerini tedavi kolları ve zamana göre dağılımları	28
Tablo 4.9: sVCAM-1 ölçümlerinin tedavi kolları ve zamana göre dağılımları	29
Şekil 4.8: sVCAM-1 düzeylerini tedavi kolları ve zamana göre dağılımları.....	30
Tablo 4.10: sP-Selectin düzeylerinin tedavi kolları ve zamana göre dağılımları	31
Şekil 4.9: sP-Selectin düzeylerinin tedavi kolları ve zamana göre dağılımları.....	32
Tablo 4.11: sE-Selectin düzeylerinin tedavi kolları ve zamana göre dağılımları	33
Şekil 4.10: sE-Selectin düzeylerinin tedavi kolları ve zamana göre dağılımları	34
Tablo 4.12: tPA düzeylerinin tedavi kolları ve zamana göre dağılımları	35

Şekil 4.11: tPA düzeylerinin tedavi kolları ve zamana göre dağılımları	36
Tablo 4.13: PAI-1 düzeylerinin tedavi kolları ve zamana göre dağılımları.....	37
Şekil 4.12: PAI-1 düzeylerinin tedavi kolları ve zamana göre dağılımları.....	38
Tablo 4.14:MCP-1 düzeylerinin tedavi kolları ve zamana göre dağılımları.....	39
Şekil 4.13: MCP-1 düzeylerinin tedavi kolları ve zamana göre dağılımları.....	40
Tablo 4.15: IL-6 düzeylerinin tedavi kolları ve zamana göre dağılımları	41
Şekil 4.14: IL-6 düzeylerinin tedavi kolları ve zamana göre dağılımları	42

1. GİRİŞ

Tip 2 diyabet tedavisinde yeni sınıf kan şekeri düşürücü ilaçların keşfi ve bunların var olan tedavilere eklenmeleri, tip 2 diyabette tedavi seçeneklerini artırmıştır. Ancak bu artış en uygun tedavi seçeneği hakkında belirsizliği de beraberinde getirmiştir. Tip 2 diyabet tedavisi için yeterli sayıda, yüksek kaliteli, kontrollü klinik çalışmaların azlığı, bir ilacı veya kombinasyon tedavisini diğerine karşı önermenin önündeki en önemli engeldir. Bu açıdan tip 2 diyabetin tedavisinde izlenecek en uygun yaklaşıma katkı sağlamaya yönelik klinik çalışmalara ihtiyaç vardır.

Tip 2 diyabette kullanılacak tedavi seçeneklerinin hiperglisemiye kontrol edici etkileri yanı sıra pleotropik etkileri de önemlidir. Amerikan Diyabet Birliği (ADA) tedavi algoritmasındaki tedavi alternatiflerinin hiperglisemi düzeltici etkileri yeteri kadar karşılaştırılmamakta birlikte, ayrıca glisemi üzerine etkileri dışındaki pleotropik etkileri de henüz karşılaştırılmamıştır. Pleotropik etkiler endotel fonksiyonları üzerine etkileri, vücut kitle indeksinde değişim, insulin direnci ve insulin salgılama kapasitesi üzerine etkiler olarak sayılabilir.

İnsulinin kas ve yağ dokuda glukoz alımını ve karaciğerde glukoneogenezi inhibe ederken aynı zamanda endotel üzerine de özelleşmiş etkileri olmaktadır. İnsulin, fosfatidil inositol 3 kinaz (PI3K) bağımlı olarak endotelyal nitrik oksit (NO) üretimini artırır. İnsulin direnci halinde kas ve yağ dokuda PI3K bağımlı yolak üzerinden insulinin metabolik etkilerine direnç gelişirken; buna paralel olarak vasküler yatakta da aynı yolak üzerinden NO üretimi azalmaktadır. Bunun sonucu olarak insulin direnci halinde glukoz tüketiminde bozulmaya ek olarak vasküler endotelyum da klinik fenotipe katkı sağlamaktadır. Sonuç olarak insulin direncine yol açan lipotoksisite, glukotoksisite ve inflamasyon, endotel disfonksiyonuna da yol açmaktadır. NO, endotel fonksiyonunun önemli bir belirleyicisidir. Endotelden üretilen NO komşu düz kas hücresinde vazodilatasyona yol açar. Vasküler tonusu etkilemesi yanı sıra NO, proinflamatuvar sitokin üretimini ve vasküler hücre adezyon moleküllerinin ekspresyonunu azaltır, lökosit göçünü sınırlar, vasküler düz kas

hücrelerinin çoğalmasını inhibe eder, trombosit agregasyonunu zayıflatır. “Endotel disfonksiyonu” terimi NO’de azalma, oksidatif strese artış, proinflamatuvar ve protrombotik faktörlerin ekspresyonunda artış ve anormal vazoreaktivite ile karakterize maladaptif bir fenotip olarak tanımlanabilir.

Tip 2 diyabette ana patofizyolojik bozukluk insulin rezistansı ve bozulmuş insulin salınımıdır. Bozulmuş beta hücre fonksiyonu özellikle hastalığın erken döneminde geri dönüşümlü olabilir. Yayınlar hafif-orta düzeyde hiperglisemisi olan yeni tanı tip 2 diyabette kısa dönem yoğun insulin tedavisi ile uzun dönem glukoz kontrolünün sağlanabileceği yönündedir. Diğer taraftan ADA tarafından yayınlanan rehberde tip 2 diyabet tedavi algoritmi içerisinde yaşam tarzı ve metformin tedavisine rağmen hedeflere ulaşılamayan hastalarda var olan tedaviye ek olarak, sulfonilüre veya bazal insulin başlanması önerilmektedir. Bu iki tedavi alternatifinin birbirine üstünlüğünü gösteren kanıtlar ise yeterli değildir.

Bu çalışmada ADA tedavi önerilerinin ikinci basamağını oluşturan, yaşam tarzı değişikliği ve metformin kullanımına gliklazid MR (sulfonilüre) veya insulin detemir (bazal insulin) tedavilerinin eklenmesinin pleotropik etkilerinin incelenmesi ve birbirleri ile kıyaslanması hedeflenmiştir. Çalışmada “bazal insulin tedavisinin 1. basamak tedaviyle kombinasyonu gliklazid e göre endotel fonksiyonu üzerine etkisi daha olumludur” ana hipotezi test edilmiştir. Bunun yanı sıra ikincil olarak, kilo ve vücut kitle indeksinde değişim, insulin direnci ve insulin salgılama kapasitesi üzerine etkiler değerlendirilmiştir. Ayrıca bu çalışma ile tedavi alternatiflerinin üç aylık dönemde glisemik kontrolde başarı oranları da incelenmiştir. Tedavi seçeneklerinin uzun dönemli etkilerini değerlendirmek için bazal insulin grubunda 12. hafta sonunda insulin kesilerek gliklazid tedavisi başlanmıştır. Yirmi dördüncü haftada hipotezler tekrar test edilerek kısa süreli (12 hafta) erken bazal insulin tedavisinin yalnız sulfonilüre tedavisi ile karşılaştırılması da amaçlanmıştır. Bu bağlamda çalışmamız literatürdeki açığın kapatılması yanı sıra en iyi tedavi seçiminin belirlenmesinde önemli yer tutacaktır.

2. GENEL BİLGİLER

Tip 2 diyabet tedavisinde en önemli basamak kan şekeri regülasyonudur. Yeni sınıf kan şekeri düşürücü ilaçların keşfi ve bunların var olan tedavilere eklenmeleri, tip 2 diyabette tedavi seçeneklerini artırmıştır. Ancak bu artış beraberinde en uygun tedavi seçeneği hakkında da belirsizliği beraberinde getirmiştir. Tip 2 diyabet tedavisi için yeterli sayıda, yüksek kaliteli, kontrollü klinik çalışmaların azlığı, bir ilacı veya kombinasyon tedavisini diğerine karşı önermenin önündeki en önemli engeldir (1). Ülkemizde yapılmış ve henüz tamamlanmış TURDEP-II çalışmasına göre Türk erişkin toplumunda diyabet sıklığının TURDEP-I'e (2) kıyasla oldukça yüksek düzeylere (%13,7) ulaştığı görülmüştür. Bu açıdan ülkemizde de epidemik olarak gözlenen tip 2 diyabetin tedavisinde izlenecek en uygun yola katkı sağlamaya yönelik klinik çalışmalara ihtiyaç vardır.

Tip 2 diyabette ana patofizyolojik bozukluk, insulin direnci ve bozulmuş insulin salınımıdır. Beta hücre fonksiyonunda azalma glukotoksisite ve lipotoksisite tarafından oluşturmaktadır. Bozulmuş beta hücre fonksiyonu özellikle hastalığın erken döneminde geri dönüşümlü olabilir. Yayınlar hafif-orta düzeyde hiperglisemisi olan yeni tanı tip 2 diyabette kısa dönem yoğun insulin tedavisi ile uzun dönem glukoz kontrolünün sağlanabileceği yönündedir (3-5). Diğer taraftan ADA tarafından yayınlanan rehberde tip 2 diyabet tedavi algoritmi içerisinde yaşam tarzı ve metformin tedavisine rağmen hedeflere ulaşılamayan hastalarda var olan tedaviye ek olarak sulfonilüre veya bazal insulin başlanması önerilmektedir. Bu iki tedavi alternatifinin birbirine üstünlüğünü gösteren kanıtlar olmamakla birlikte, bazal insulin tedavisinin A1C düzeyi %8,5 üzerinde olan ya da hiperglisemiye sekonder semptomları olan hastalarda daha uygun olacağı belirtilmiştir. Ayrıca oral ajanların da hiperglisemi semptomları üzerine etkili olduğunun altı çizilmektedir (1).

Son gelişmeler ışığında beta hücre hasarına, insulin direncine ve diyabetin vasküler komplikasyonlarına yol açan patofizyolojik mekanizmaların; inflamatuvar bir sürecin tetiklenmesi, endotel disfonksiyonu ve prokoagülan dengesizlik olduğu düşünülmektedir (6). Bu yollara ait dolaşımda yer alan biyo-belirteçler diyabetin

önlenmesi, erken teşhisi ve hedeflenmiş tedavisi için yeni fırsatlar sunmaktadır. Bu biyobelirteçler arasında inflamasyon yollarına ait tümör nekrotizan faktör alfa (TNF- α), interlökin-6 (IL-6), C-reaktif protein (CRP) ve monosit kemoatraktan protein-1 (MCP-1); endotel disfonksiyonunun belirteçleri olan vasküler-hücre adezyon molekülü-1 (VCAM-1), interselüler hücre adezyon molekülü-1 (ICAM-1), endotelin-1 (ET-1), E-selektin, Von Willebrand Faktör (vWF); prokoagülan durumu gösteren plazminojen aktivatör inhibitör 1 (PAI-1), P-selektin, doku plazminojen aktivatörü (tPA) ve anti-inflamasyon belirteçlerinden adiponektinin diyabetin patofizyolojisiyle ilişkili olduğu gösterilmiştir.

Tip 1 diyabetin aksine tip 2 diyabette inflamasyonun uyarılması santral obezite ve insulin direnci gibi sistemik etiyolojik faktörler yoluyla gerçekleşir. İnflamatuvar araçlar pek çok reseptör ve transkripsiyon faktörünü uyarır ve böylelikle beta hücre disfonksiyonuna ve apoptozuna, insuline-duyarlı dokularda bozulmuş insulin sinyal iletimine, sistemik endotelial disfonksiyona ve değişmiş vasküler akıma yol açar. İnflamasyonun erken döneminde vasküler endotel (7) ve yağ dokusu (8) gibi strese duyarlı dokularda MCP-1 düzeyleri artar. Artmış MCP-1, ICAM-1, VCAM-1 ve E-selektin düzeylerini artırarak duyarlı dokuya monosit ve diğer immünositlerin göçüne yol açar. Bu hücreler kemokinlerin etkisi altında çoğalır ve TNF- α , IL-1, IL-6, IL-18 ve interferon- γ gibi proinflamatuvar sitokinleri üretirler (9). Dolaşımdaki reaktif oksijen ara ürünleri (ROS), okside lipidler, redükte nitrik oksit (NO), artmış anjiyotensin II ve serbest yağ asitleri (FFA) de bu sitokinlerin üretimini destekler (10). Endotel hücrelerde ve makrofajlarda artmış PAI-1 ve doku faktörü (tF) ifadesi, platelet aktivasyonu ve fibrinojen ve faktör VIII gibi koagülasyon faktörlerinin düzeylerini artıran akut faz reaksiyonları ile birlikte vazoreaktivite bozulur ve prokoagülan koşullar tetiklenir (7). Düzeyleri inflamatuvar aktivitenin düzeyi ile korele olan bu moleküller dolaşıma katılır. IL-6 inflamasyonda bir mesajcı sitokin görevi alır ve inflamasyonun değerli bir klinik belirtici olan CRP'nin en önemli uyarıcısıdır (11).

Adipositler ise adiponektin adı verilen kollajen benzeri ve glukoz alımını, NO üretimini ve FFA oksidasyonunu artıran bir adipokin sentezler (12). Adiponektin

anti-inflamatuvar özelliklerini TNF- α , hücre adezyon molekülleri ve diğer doğal immünite reseptörlerinin ifadesini engelleyerek gösterir. Adiponektin kültürdeki beta-hücrelerinin apoptozunu engeller (13). Adiponektin düzeylerinde azalmanın tip 2 diyabette metabolik ve vasküler anormalliklere katkı yaptığı düşünülmektedir (14).

Artmış inflamasyonun tip 2 diyabetin patogenezindeki önemi, adacık hücrelerinin, yağ dokusunun, karaciğer ve kas inflamasyonunun insulin direncini ve beta hücre disfonksiyonunu tetiklediğinin ve bu nedenle de diyabet teşhisinden önce geldiğinin gösterilmesiyle desteklenmektedir (15). Bu yolaklara ait biyobelirteçlerin diyabet gelişiminin öngörülmesindeki yararlarının test edildiği büyük gözlemsel çalışmalarda ancak az sayıda ve iyi karakterize edilmiş belirteçler çalışılmıştır. PAI-1, CRP, doku plazminojen aktivatörü (tPA), IL-6, MCP-1, IL-8 ve endotel hasarı belirteçleri olan vWF, E-selectin ve sICAM-1 bağımsız prediktörler olarak belirlenmiştir. Bununla birlikte adı geçen belirteçler, tip 2 diyabet gelişiminin farklı safhalarında farklı prediktif değere sahiptir (16). Hastalığın teşhisi ile komplikasyonlarının ortaya çıkış zamanlarının bilindiği biyo-belirteç çalışmaları bu konunun aydınlatılmasını sağlayacaktır.

Artmış inflamatuvar faktörlerin ve endotel disfonksiyonu belirteçlerinin diyabetik mikro ve makroanjiyopatilerle de ilişkili olabileceği ve bu biyo-belirteçlerin diyabet komplikasyonlarının gelişiminde prediktif bir değere sahip olabilecekleri fikri son yayınlarla desteklenmektedir. Diyabetik nefropatinin gelişiminde proinflamatuvar faktörlerin ve adhezyon moleküllerinin önemli olduğuna ilişkin literatürde dikkate değer deneysel kanıt mevcuttur (17). Benzer şekilde bir tip 2 diyabet klinik çalışmasında, çözünür (*soluble*) adezyon moleküllerinin retinopatisi olan hastalarda retinopatisi olmayan gruba göre anlamlı derecede yüksek olduğu gösterilmiştir (18). Diyabetik nöropati gelişiminde subklinik inflamasyonun rolü ise daha az belirgindir. MONICA/KORA Survey F3 çalışmasında CRP düzeylerinin bağımsız olarak diyabetik nöropati gelişimiyle ilişkili olduğu rapor edilmiştir (19). Yukarıda sayılan tüm çalışmalar sonucunda tek ve özgün bir mikroanjiyopatik belirteç belirlenemese de sVCAM1, E-selectin ya da vWF gibi endotel disfonksiyonu belirteçlerinin veya inflamasyon ve endotel disfonksiyonu belirteçlerini birleştiren

(CRP ve sVCAM-1 gibi) bir kompozit skorlama sisteminin öngöedürücü bir değerinin olduğu ve diyabetik mikroanjiyopatilerin tedavisinde yeni hedefler olabileceği düşünölmektedir (6).

İnflamasyona ve endotel disfonksiyonuna ait belirteçlerin diyabetin makrovasköler komplikasyonlarına ait sonuçların ve mortalitenin öngörölmesinde de önemli olduğu bildirilmiştir. Farklı çalışmalarda vWF, sVCAM-1, CRP (20), E-selectin, tPA, fibrinojen (21) ve sICAM-1 (22) gibi biyobelirteçlerin bir ya da birkaçının birlikte kardiyovasköler risk ve mortalite için bağımsız prediktörler olduğu gösterilmiştir. Adiponektinin kardiyovasköler hastalıklarla ilişkisi ise daha karmaşıktır, ilişkili veya ilişkisiz olduğuna dair çalışmalar mevcuttur (23).

İnsulin kas ve yağ dokuda glukoz alımını artırır ve karaciğerde glukoneogenezi inhibe ederken aynı zamanda endotel üzerine de özelleşmiş etkiler gösterir. İnsulin hücre yüzeyinde reseptörüne bağlandıktan sonra iki kompleks sinyal iletim yolağını aktive eder. Bunlar insulinin metabolik etkilerini sergilemesinde aracılık eden fosfatidil inositol 3 kinaz (PI3K) bağımlı sinyal yolağı ve mitogenez, büyüme ve farklılaşma üzerine etkisine aracılık eden mitojen-aktive protein kinaz bağımlı sinyal yolağıdır.

NO, endotel fonksiyonunun önemli bir belirleyicisidir. Endotelyal nitrik oksit sentataz enzimi aktivasyonu ile vasköler endotelyumdan sentezlenir. Endotelden üretilen NO komşu düz kas hücrelerinde GMP üzerinden vazodilatasyona yol açar. Vasköler tonusu etkilemesinin yanı sıra NO, proinflatuvar sitokin üretimini ve vasköler hücre adezyon moleköllerinin (VCAM) ekspresyonunu azaltır, lökosit göçünü sınırlar, vasköler düz kas hücreleri çoğalmasını inhibe eder ve trombosit agregasyonunu zayıflatır. “Endotel disfonksiyonu” terimi NO’de azalma, oksidatif streste artış, proinflatuvar ve protrombotik faktörlerin ekspresyonunda artış ve anormal vazoreaktivite ile karakterize olan maladaptif bir fenotip olarak tanımlanabilir.

İnsulin, PI3K bağımlı olarak endotelyal NO üretimini artırır. İnsulin direnci halinde kas ve yağ dokuda PI3K bağımlı yolak üzerinden insulinin metabolik etkilerine direnç gelişirken; buna paralel olarak vasküler yatakta da aynı yolak üzerinden NO üretimi azalmaktadır. Bunun sonucu olarak insulin direnci halinde glukoz tüketiminde bozulmaya ek olarak vasküler endotelyum da klinik fenotipe katkı sağlamaktadır. Sonuç olarak insulin direncine yol açan lipotoksisite, glukotoksisite ve inflamasyon, endotel disfonksiyonuna da yol açar (24).

Tip 2 diyabette kullanılacak tedavi seçeneklerinin hiperglisemiye kontrol edici etkileri yanı sıra pleotropik etkileri de önemlidir (1). ADA tedavi algoritmasındaki tedavi alternatiflerinin hiperglisemi düzeltici etkileri yeteri kadar karşılaştırılmamış, pleotropik etkileri de henüz irdelenmemiştir. Bunlara örnek olarak vücut kitle indeksinde değişim, insulin direnci, insulin salgılama kapasitesi ve endotel fonksiyonları üzerine etkileri sayılabilir.

Bu çalışmada primer olarak, ADA tedavi önerilerinin ikinci basamağını oluşturan, yaşam tarzı değişikliği ve metformin kullanımına eklenmesi önerilen tedavi alternatifleri, gliklazid (sulfonilüre) veya insulin detemir (bazal insulin) tedavilerinin prospektif olarak pleotropik etkilerinin incelenmesi amaçlanmaktadır. Çalışmada “ insulin detemir tedavisinin 1. basamak tedaviyle kombinasyonu gliklazid e göre endotel fonksiyonu üzerine etkisi daha olumludur” ana hipotezi test edilecektir. Bunun yanı sıra ikincil amaç olarak, vücut kitle indeksinde ve yağ kitlesinde değişim, insulin direnci, insulin salgılama kapasitesi üzerine etkiler değerlendirilecektir. Çalışmanın üçüncü amacı ise tedavi alternatiflerinin üç aylık dönemde glisemik kontrolde başarı oranlarını saptamaktır. Tedavi seçeneklerinin uzun dönemli etkileri verifiye etmek için bazal insulin grubu 12. hafta sonunda gliklazid e grubuna katılarak 24. haftada hipotezler tekrar test edilerek kısa süreli (12 hafta) erken bazal insulin tedavisinin yalnız sulfonilüre tedavisi ile karşılaştırılması da amaçlanmaktadır.

3. HASTALAR VE YÖNTEM

Endotel fonksiyonunu ölçmek için birçok teknik bulunmaktadır. Bu teknikler invaziv ve invaziv olmayan teknikler olarak sınıflandırılabilir. Preklinik hastalığı değerlendirmede, endotel fonksiyon ölçümü için en ideal teknikler, invaziv olmayan, güvenilir, tekrarlandığında aynı sonucu verebilen, ucuz ve kolay uygulanabilen tekniklerdir. Tip 2 diyabette, kullanılan tedavilerin etkinliğinin karşılaştırılması, hiperglisemik ve öglisemik koşullar ile komplikasyon varlığında proinflatuvar faktör düzeylerinin, endotel hasarın ve koagülasyon durumunun belirlenmesi ve klinik düzelme ile patofizyolojide rol oynayan yukarıda adı geçen yolların durumunun değerlendirilmesi amacıyla aşağıdaki testler planlanmıştır:

3.1. Akıma Bağlı Dilatasyon (*flow mediated dilatation, FMD*)

NO düzeylerinin doğrudan *in vivo* ölçümü NO'nın kısa yarı ömrü ve düşük fizyolojik konsantrasyonu nedeniyle oldukça zordur. Bu nedenle NO'nun vazodilatatör etkisi sıklıkla endotelial fonksiyonu değerlendirmek için kullanılır. İnvaziv olmayan yöntemlerden brakiyal arter ultrasonografisi ile akım aracılı dilatasyonun tespiti (*ultrasound flow mediated dilatation, FMD*) en sık kullanılmakta olan yöntemdir. Bu yöntemle invaziv olmadan belirgin kardiyak risk faktörü olsun ya da olmasın preklinik kardiyovasküler risk saptanabilir. FMD, *shear* strese karşı brakiyal arter çapında geçici değişimin ölçümü olarak tanımlanabilir. Brakiyal arterde akım artışı, pnömotik manşonun fizyolojik sınırların üzerinde bir basınçla 5 dakika süreyle şişirilmesiyle elde edilir. Manşonun havasının boşaltılmasıyla artan akım *shear* stres oluşturur. *Shear* stres endotel hücrelerinin NO sentaz aktivitesini uyarak NO salınımına neden olur. NO düz kas hücrelerine nüfus ederek vazodilatasyona neden olur. FMD, bazal duruma göre artmış akım halinde brakiyal arter çapında yüzde değişimi verir. FMD ölçümü standardize edilmelidir. Dört kritik standardizasyon aşaması; i) manşona göre probun durumu (distalde olmalı), ii) manşonun oklüzyon süresi (5 dakika), iii) görüntüden yapılan ölçüm (ölçümler diyastol sonunda yapılmalı, maksimum dilatasyon kaydedilmeli) ve iv) çevresel faktörlerin kontrolünü (oda ısısı, saat, yağlı veya kafeinli yiyecek tüketimi, eşlik eden

infalamatuar durum veya infeksiyon ve de menstrüel siklusun evresi) içerir (25).

3.2. Proinflamatuvar biyobelirteçler

- IL-6
- MCP-1
- sICAM-1

3.3. Endotel fonksiyonu ile ilişkili biyobelirteçler

- VCAM-1
- E-selektin

3.4. Koagülasyon statusu ile ilgili biyobelirteçler

- P-selektin
- PAI-1
- tPA

Biyobelirteçlerin düzeyleri hasta serum ve plazma örneklerinden, uygun enzyme-linked-immunosorbent-assay (ELISA) kitleri kullanılarak, üretici firmanın talimatlarına göre belirlenmiştir.

3.5. Çalışma Örneklemi

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları AD Endokrinoloji ve Metabolizma Hastalıkları Bölümüne başvuran tip 2 diyabet tanılı hastalar çalışmaya dahil edilmiştir.

Çalışmaya dahil edilme kriterleri:

- Tip 2 diyabet ve en az 1 aydır ve en az 1000 mg/gün metformin kullanıyor olması
- Tip 2 diyabet tanı süresinin 10 yıl ya da 10 yıldan kısa olması
- $7 < A1C \leq 11$
- Metformin harici oral anti diyabetik ilaç veya insulin kullanmamış olmak

- 20–65 yaş aralığında erkek veya kadın hastalar
 - Çalışmadan dışarıda bırakma kriterleri:*
 - Aktif karaciğer hastalığı
 - Serum kreatinin erkekler için $> 1,5\text{mg/dl}$, kadınlar için $>1,4\text{mg/dl}$
 - Proliferatif diyabetik retinopati
 - Saptanmış koroner arter hastalığı
 - Kanseri tanısı
 - Gebelik ve laktasyon
 - Açlık C-peptid seviyesi $<2.0\text{ng/ml}$ (tip 1 diyabet ve latent otoimmün diyabet ekartasyonu için)
 - Sigara kullanması

3.6. Çalışma Protokolü

(1.basamak) Tip 2 diyabet nedeniyle Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Endokrinoloji ve Metabolizma Hastalıkları Bilim Dalı'na başvuran hastalarla ilk görüşme yapıldı. Hastaların demografik verileri kayıt edildi. Bu araştırmada hastaların tedavi izlemleri sırasında rutinde uygulanan diyabet tedavi kılavuzu birinci basamak tedavisi ile kan şekeri regülasyonu sağlanamaması halinde ($A1C>7$) yine rutin uygulama olan ikinci basamak tedavi seçenekleri olan bazal insulin (insulin detemir) veya sülfonilüre grubu oral antidiyabetik ajan (glizlazid MR) tedavi kollarına rastgellendi (randomize edildi). Hastaların glukoz kontrolü sağlandıktan sonra lipid profillerine göre gerekirse tedavi rehberlerinin önerdiği ve klinikte rutin uygulama gereği lipid düşürücü tedavi (statin) başlandı, bu açıdan da gruplar homojenize edildi.

Hastaların rutin testleri ile açlık C-peptid testinin yapılması ve sonuçlarının alınması sonrasında ilk değerlendirmeleri yapıldı. Çalışmaya uygun olan hastalardan onam alınarak tedavi gruplarına rastgellenme yapıldı. **(2. basamak)** Rastgellenme sonrasında haftalık olarak izlenecek, açlık kapiller glukozu $90-130\text{ mg/dl}$ postprandiyal kapiller glukoz düzeyi $<140-180\text{ mg/dl}$ ve yatma zamanı kapiller glukozu $100-160\text{ mg/dl}$ hedefine ulaşıldığında, albüminüri, retinopati, nöropati

incelemeleri (rutin komplikasyon taramaları) yapıldı. **(3.Basamak)** Komplikasyon taramalarından geçen hastalara ertesi gün sabah aç karna saat 08:00-08:30 aralığında Endokrinoloji ve Metabolizma Hastalıkları polikliniği ultrason odasında 24 °C oda sıcaklığında akım aracılı dilatasyon (Flow mediated dilatation, FMD) ölçümü yapıldı.

FMD Ölçümü: Endotel fonksiyonu sağ brakiyal arterin yüksek çözünürlüklü Doppler USG ile değerlendirilmesi ile yapıldı. FMD işlemi bölümümüze ait HITACHI 7000HV marka 14MHz lineer proba sahip Doppler ve elastografi özellikleri barındıran ultrason ile yapıldı. Ultrason cihazımızın donanımı oldukça yüksek düzeydedir ve düzenli bakımları yapılmaktadır.

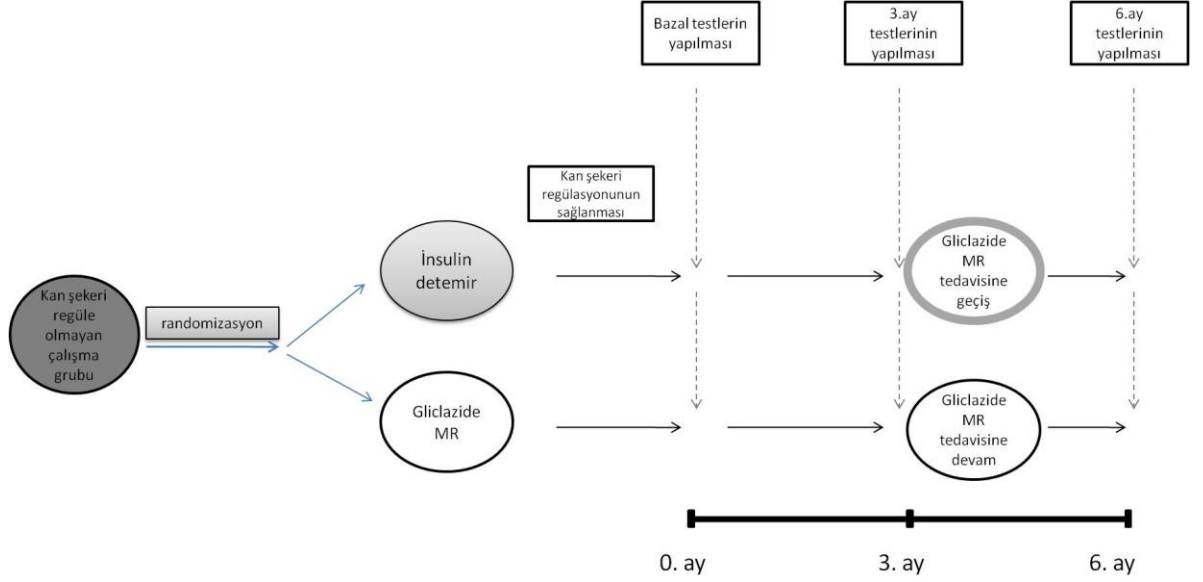
Tüm değerlendirmeler 10 saatlik açlık periyodunu takiben, 20-25 °C oda sıcaklığında, tek bir operatör tarafından yapıldı. Kadın hastalar menstrual siklusun folliküler fazında değerlendirildi. Brakiyal arter sonografisi dirsek ekleminin 2 cm üzerinden yapıldı. Bazal olarak brakiyal arter çapı ölçüldü, daha sonra ön kola tansiyon aleti manşonu sarıldı ve 5 dakika süre ile manşon 300 mmHg basınçla tutularak arteriyal oklüzyon sağlandı. Sonra manşon havası boşaltıldı. Brakiyal arter lümen çapı manşon söndürülmesini takiben 1. tekrar ölçüldü. FMD, reaktif hiperemi esnasında damar çapında yüzde değişim olarak verildi. Her ölçüm ardışık 5 kardiyak siklusda saptanan maksimum 3 ölçümün ortalaması olarak verildi.

(4.Basamak) FMD ölçümünü izleyen günde hastaların almakta olduğu tedavileri (metformin +SU/Ins) 24 saat süre ile kesilerek, 10 saatlik gece açlığını takiben sabah saat 8:00-9:00 aralığında yaklaşık 30 dakikalık dinlenmeyi takiben önkol toplar damarlarından uygun olan bir tanesine kan almak üzere kateter yerleştirildi. Bazal kan örnekleri 0. dakika A1C, LDL, HDL, TG, glukoz, insulin ölçümü için kullanıldı. Alınan örneklerden glukoz ölçümleri yapılması için direk laboratuara gönderilirken, alınan diğer örnekler vakit kaybetmeden 5000 devirde 20 dakika boyunca çevrilerek ve elde edilen serum ve plazma örnekleri çalışılana kadar -80°C 'de saklandı. Çalışma örnekleri iki kez (her bir örnek için) çalışıldı.

(5.Basamak) Hastalar daha sonra 4 haftada bir ayaktan, evde sabah-öğle ve akşam açlık ve tokluk ile yatma zamanı kapiller glukoz ölçümleri (7'li Kan glukoz takibi) ile ve 3. ayda A1C ölçümü ile 12. haftaya kadar izlendi, 12. haftada testler tekrarlandı.

Doz titrasyonu: Gliklazid MR 30 mg/gün dozunda başlandı ve maksimum doz olan 120 mg'a kadar titre edildi. Bazal insulin olarak 0.2 U/kg insulin detemir başlandı ve doz titre edildi.

Çalışma tasarımı şekil 3.1’de özetlenmektedir.



Şekil 3.1. Çalışma tasarımı

3.7. İstatistiksel Analizler

Verilerin analizi için SAS Sistem 9 ve SPSS 15 programları kullanıldı. Sonuçlar ortalama $\pm$ standart sapma ve ortanca (minimum-maksimum) olarak verildi. Başlangıçta her iki grubu karşılaştırırken verilerin dağılımına göre T-test ve Mann-Whitney U testleri kullanıldı. Her iki grubu karşılaştırırken takip süresince zamana göre, tedavi gruplarına göre ve gruplararası farkı değerlendirmede parametrik olmayan faktöriyel tasarımlar için F1-LD-F1 analizi ve Bonferoni düzeltmeli Wilcoxon Signed Rank Test uygulanmıştır. $p < 0,05$ olan değerler istatistiksel olarak anlamlı olarak kabul edildi.

3.8. Araştırmanın Etik Yönu

Çalışmamız açık etiketli çift kollu prospektif randomize bir çalışma olması ve çalışma grupları tedavilerine müdahale içermesi nedeni ile etik kurul onayı ve gönüllü hastalardan aydınlatılmış gönüllü onam formları alınarak yapıldı. (Etik kurul; AÜTF Etik Kurulu, Görüşme Tarihi: 29.06.2009, Karar no: 154-4946)

3.9. Araştırmanın Bütçesi

Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu, araştırma projesi desteği (1001), Ekim 2010, 110 S 119 (UÜ).

3.10. Araştırmanın Kayıt Bilgisi:

ClinicalTrials.gov'a kayıtlıdır. *ClinicalTrials.gov* numarası:
NCT01420692

4. BULGULAR

Çalışmamıza toplam 54 hasta alınmıştır. Hastalardan 11 tanesi takiplerine gelmemesi nedeni ile çalışma dışı bırakıldı. Toplam 43 hasta 6 aylık takiplerini tamamladı. Bunlardan 16 hasta insulin detemir, 27 hasta gliklazid MR tedavi kollarında randomize edilmişti. Tedavi grupları yaş dağılımları, VKİ ve HbA1c değerleri arasında çalışma başlangıcında fark yoktu (tablo 4.1)

Tablo 4.1: Tedavi gruplarının demografik, bazal antropometrik ve HbA1c verileri

	İnsulin detemir (n=16)	Gliklazid MR (n=27)	P değeri
Yaş	47±5,8	49±6,8	AD
Cinsiyet	E:5 K:11	E:8 K:19	AD
Bazal VKİ	31,5±3,9	32,1±4,2	AD
Bazal HbA1c	8,0±0,8	8,4±1,4	AD

AD: Anlamlı değil, E:erkek cinsiyet, K:Kadın cinsiyet

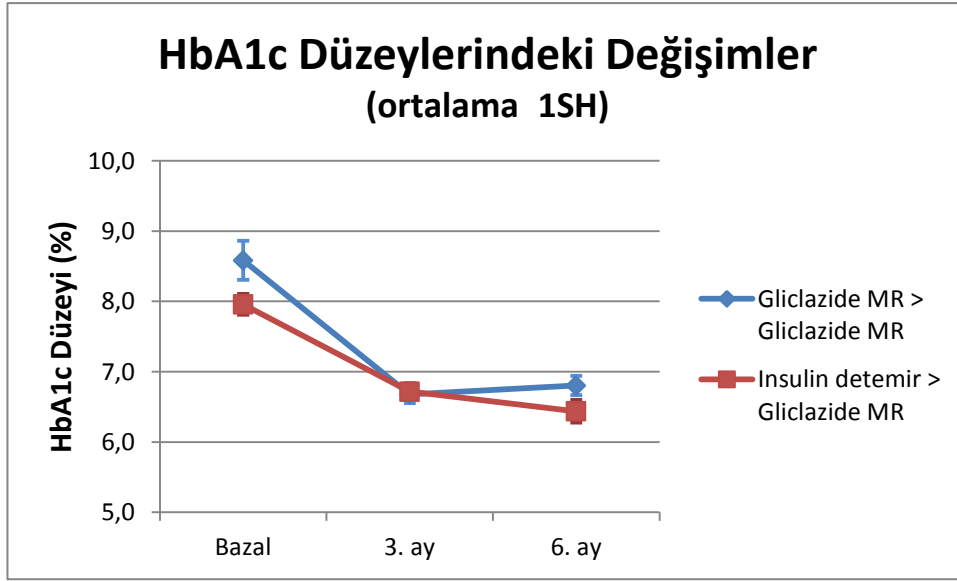
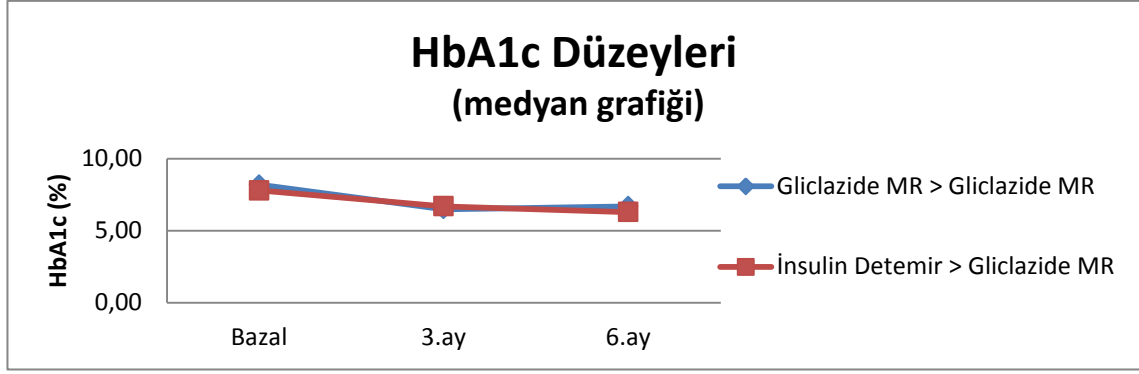
Çalışmanın sonunda HbA1c’de izlenen anlamlı düşüş tedavi kolları arasında farksızdı (Tablo 4.2 ve Şekil 4.1).

Tablo 4.2: HbA1c ölçümlerinin tedavi kolları ve zamana göre dağılımları

HbA1c (%)	Bazal	3.ay	6.ay	P değeri
Gliklazid MR	8,2 (7,1-11)	6,5 (5,7-8,4)	6,7 (5,7-8,1)	<001*, 012**, <.001[†]
İnsulin detemir**	7,8 (7,1-9,5)	6,7 (5,2-7,4)	6,3 (5,4-7,8)	001*, 023**, <.001[†]

*bazale göre 3.ay değerleri, **3.aya göre 6.ay değerleri, †bazale göre 6.ay değerleri.

**3.aydan itibaren insulin kesilerek gliklazid tedavisi başlanmıştır



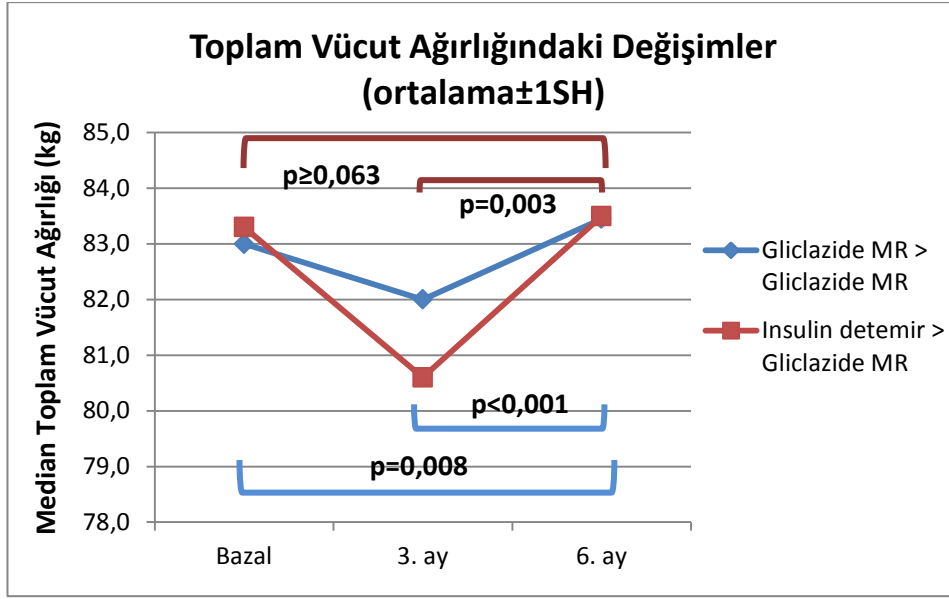
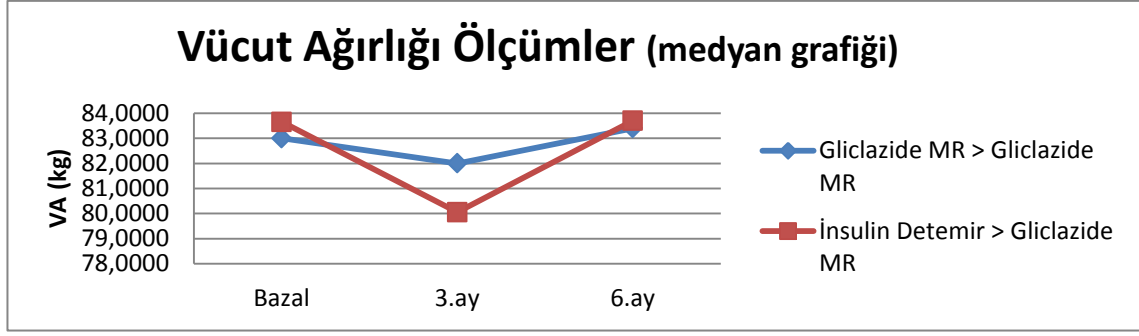
Şekil 4.1. HbA1c ölçümlerinin tedavi kolları ve zamana göre dağılımları

Çalışmanın sonunda VKİ ve vücut ağırlığı gliklazid tedavi kolunda anlamlı olarak artarken erken bazal insulin başlanan tedavi kolunda gliklazid tedavisine geçilmesi sonrasında anlamlı artış izlendi. Bazal insulin ile tedavi esnasında anlamlı olmayan alma izlenirken bu tedavi kolunda çalışma sonunda vücut ağırlığı ve VKİ'ndeki değişimler çalışma başlangıcına göre farksızdı. (Tablo 4.3, 4,4 ve Şekil 4.2, 4,3).

Tablo 4.3: Vücut ağırlığı ölçümlerinin tedavi kolları ve zamana göre dağılımları

Vücut Ağırlığı (kg)	Bazal	3.ay	6.ay	P değeri
Gliklazid MR	83,0 (62,4-122,6)	82,0(64,4-124,9)	83,4 (64,7-126,1)	AD*, <001**, 007 [†]
İnsulin detemir***	83,7 (67,8-113,0)	80,1(67,5-111,6)	83,7(68,2-112,9)	.034*, .003** , AD [†]

AD: Anlamlı değil *bazale göre 3.ay değerleri,**3.aya göre 6.ay değerleri, †bazale göre 6.ay değerleri, **3.aydan itibaren insulin kesilerek gliklazid tedavisi başlanmıştır

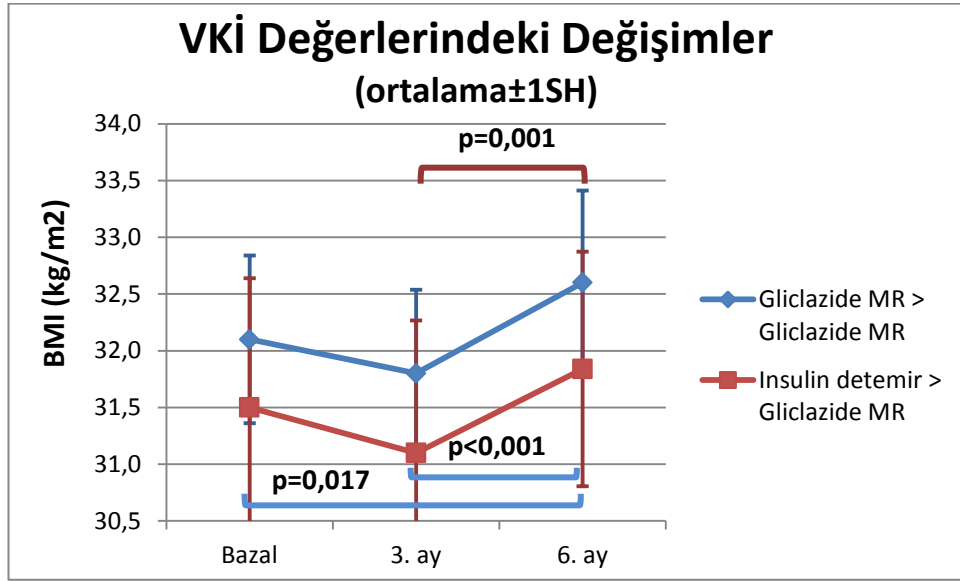
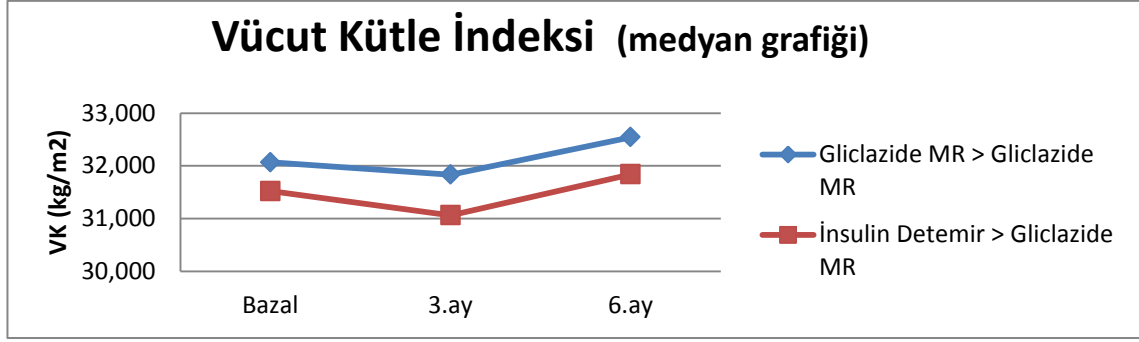


Şekil 4.2: Vücut ağırlığı ölçümlerinin tedavi kolları ve zamana göre dağılımları

Tablo 4.4: VKİ ölçümlerinin tedavi kolları ve zamana göre dağılımları

VKİ (kg/m²)	Bazal	3.ay	6.ay	P değeri
Gliklazid MR	32,1±4,2	31,8±4,1	32,6±4,2	AD*, <001**, 017 [†]
İnsulin detemir***	31,5±3,9	31,1±4,1	31,8±4,1	.024, .001**, AD [†]

AD: Anlamlı değil *bazale göre 3.ay değerleri, **3.aya göre 6.ay değerleri,
†bazale göre 6.ay değerleri, ***3.aydan itibaren insulin kesilerek gliklazid tedavisi
başlanmıştır



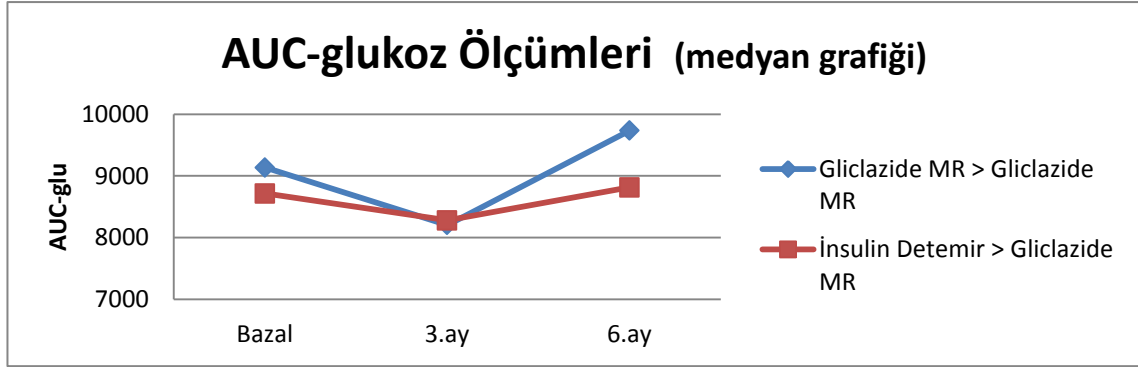
Şekil 4.3: VKİ ölçümlerinin tedavi kolları ve zamana göre dağılımları

Çalışmanın sonunda AUC-glukoz ölçümlerindeki değişimler çalışma sonunda bazal değerlere göre ve her iki tedavi kolunda birbirinden farksızdı (Tablo 4.5 ve Şekil 4.4).

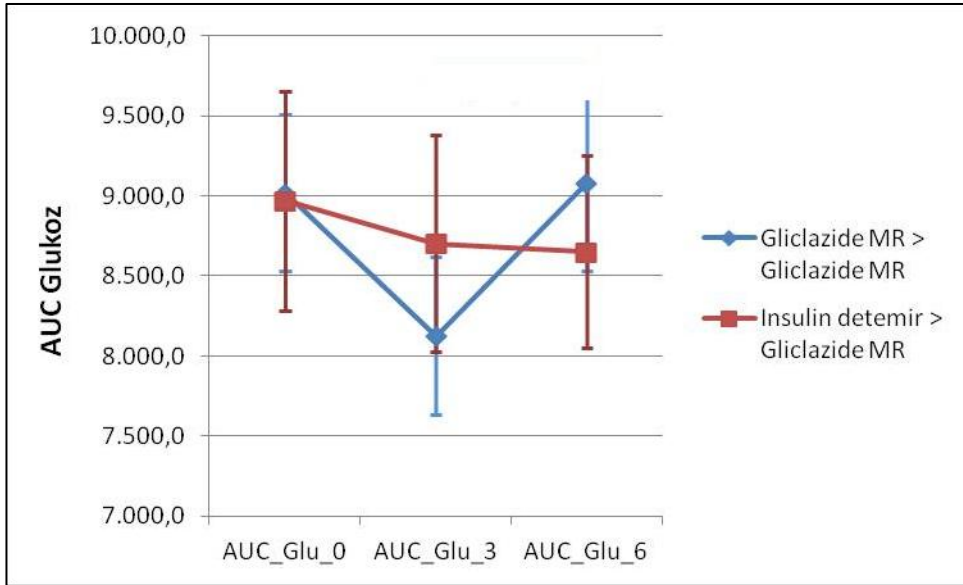
Tablo 4.5: AUC-glukoz ölçümlerinin tedavi kolları ve zamana göre dağılımları

AUC-glukoz		AUC_glu_0	AUC_glu_3	AUC_glu_6	P değeri
Gliklazid MR	Median	9135	8205	9735	AD [†]
	Minimum	4305	2805	2025	
	Maksimum	13905	12855	13485	
İnsulin Detemir*	Median	8715	8280	8812,5	AD [†]
	Minimum	3525	3435	3930	
	Maksimum	13335	13395	13590	
Tüm grup	Median	8940	8205	9180	AD [†]
	Minimum	3525	2805	2025	
	Maksimum	13905	13395	13590	

AD: Anlamlı değil [†]bazale göre 6.ay değerleri, *3.aydan itibaren insülin kesilerek gliklazid tedavisi başlanmıştır



AUC-glukoz ölçümlerinin (ortalama $\pm$ 1SH)



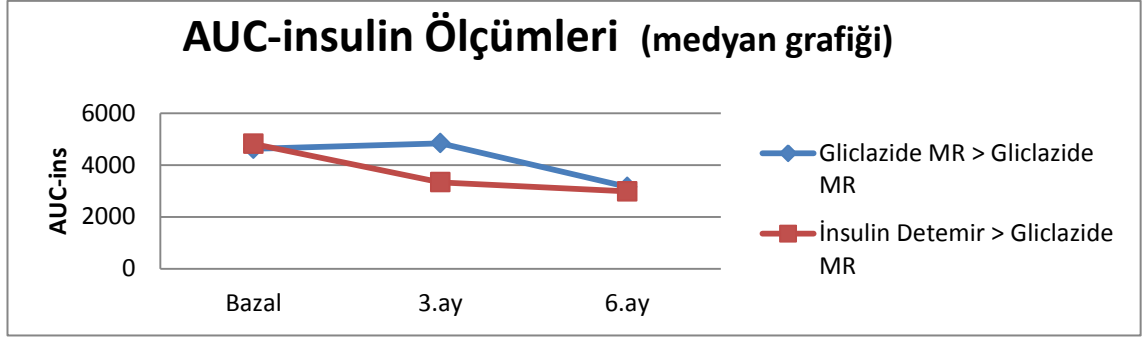
Şekil 4.4: AUC-glukoz ölçümlerinin tedavi kolları ve zamana göre dağılımları

Çalışmanın sonunda AUC-insulin ölçümlerindeki değişimler çalışma sonunda bazal değerlere göre anlamlı olarak azalma ile birlikte her iki tedavi kolunda benzerdi (Tablo 4.6 ve Şekil 4.5).

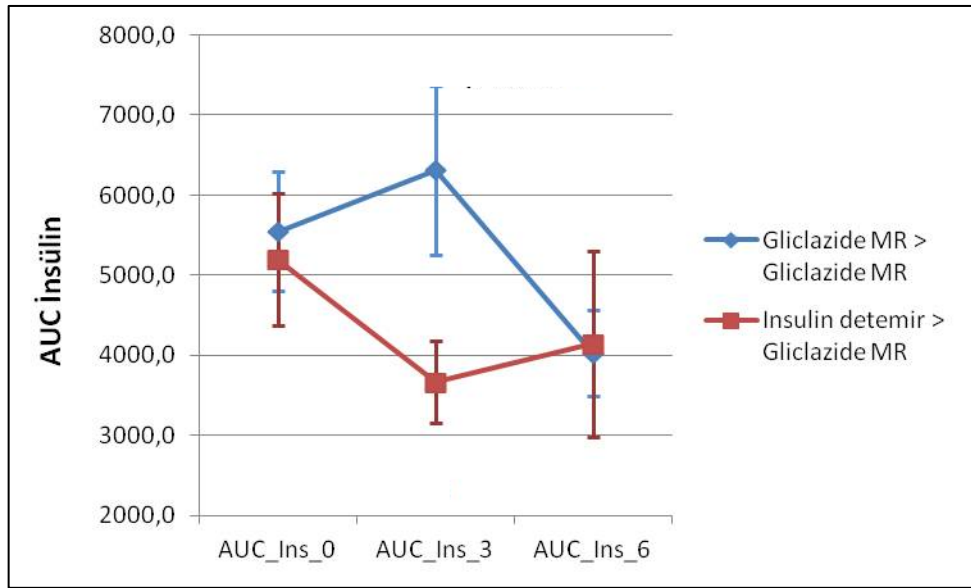
Tablo 4.6: AUC-insulin ölçümlerinin tedavi kolları ve zamana göre dağılımları

AUC-insulin		AUC_ins_0	AUC_ins_3	AUC_ins_6	P değeri
Gliklazid MR	Median	4624,5	4837,5	3150	AD
	Minimum	1270,5	799,5	865,5	
	Maksimum	15417	23755,5	11518,5	
İnsulin Detemir**	Median	4812,75	3330,75	2977,5	AD
	Minimum	633	708	655,5	
	Maksimum	13198,5	7537,5	20320,5	
Tüm grup	Median	4624,5	4110	3150	.031 [†]
	Minimum	633	708	655,5	
	Maksimum	15417	23755,5	20320,5	

AD: Anlamlı değil †bazale göre 6.ay değerleri, **3.aydan itibaren insulin kesilerek gliklazid tedavisi başlanmıştır



AUC-insulin ölçümlerinin (ortalama $\pm$ 1SH)



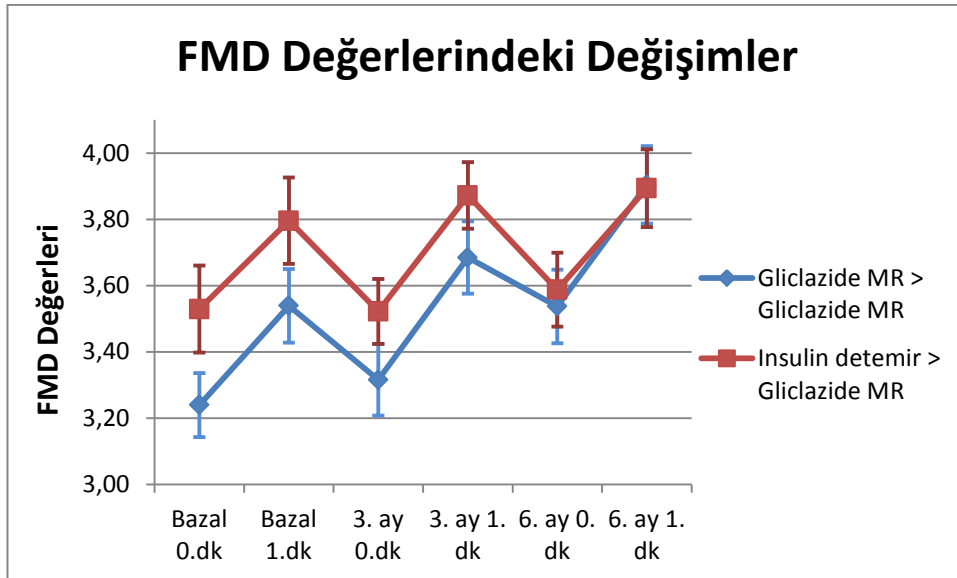
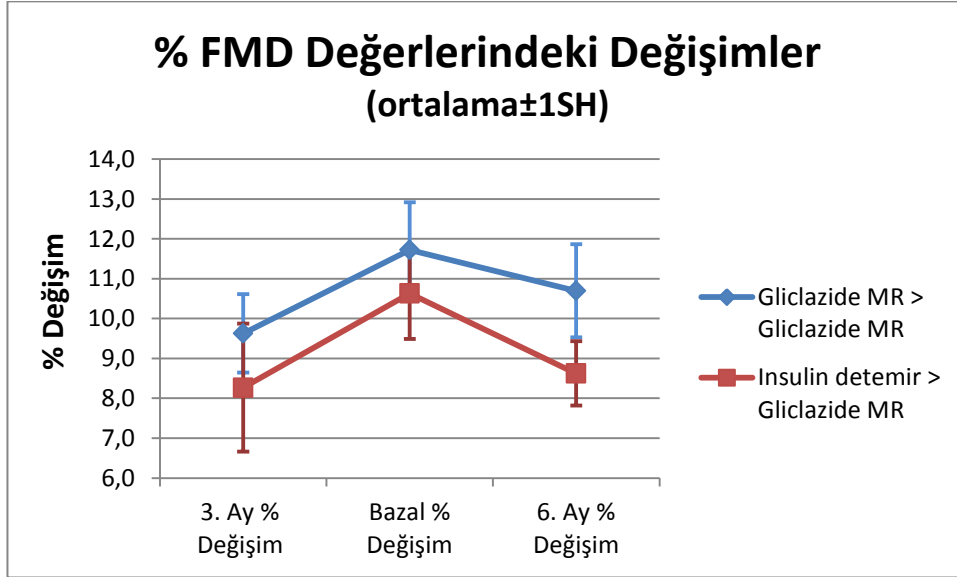
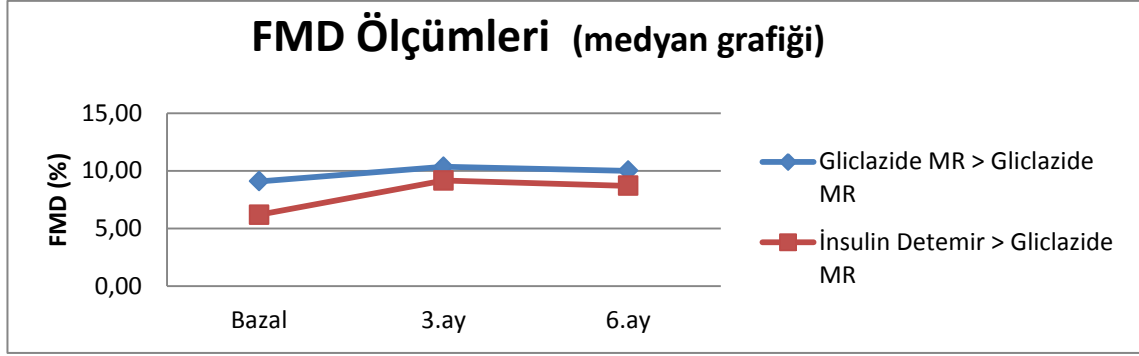
Şekil 4.5: AUC-İnsulin ölçümlerinin tedavi kolları ve zamana göre dağılımları

Çalışmanın sonunda FMD ölçümlerindeki değişimlerde bazal değerlere göre istatistiksel olarak anlamlı olmayan iyileşme izlendi. Bu düzelme insulin ile tedavi esnasında daha belirgin olmakla birlikte istatistiksel anlamlılığa ulaşmamıştır. (Tablo 4.7 ve Şekil 4.6).

Tablo 4.7: FMD ölçümlerinin tedavi kolları ve zamana göre dağılımları

FMD (%)	Bazal	3.ay	6.ay	P değeri
Gliklazid MR	9,09 (0,00-24,12)	10,34 (0,00-30,43)	10,00 (0,00-25,00)	AD [†]
İnsulin detemir*	6,19 (1,46-24)	9,16 (5,13-19,23)	8,70 (2,33-13,89)	AD [†]
Tüm grup	7,71(0,00-24,12)	9,59 (0,00-30,43)*	9,37 (0,00-30,43)	AD [†]

AD: Anlamlı değil †bazale göre 6.ay değerleri. *3.aydan itibaren insulin kesilerek gliklazid tedavisi başlanmıştır



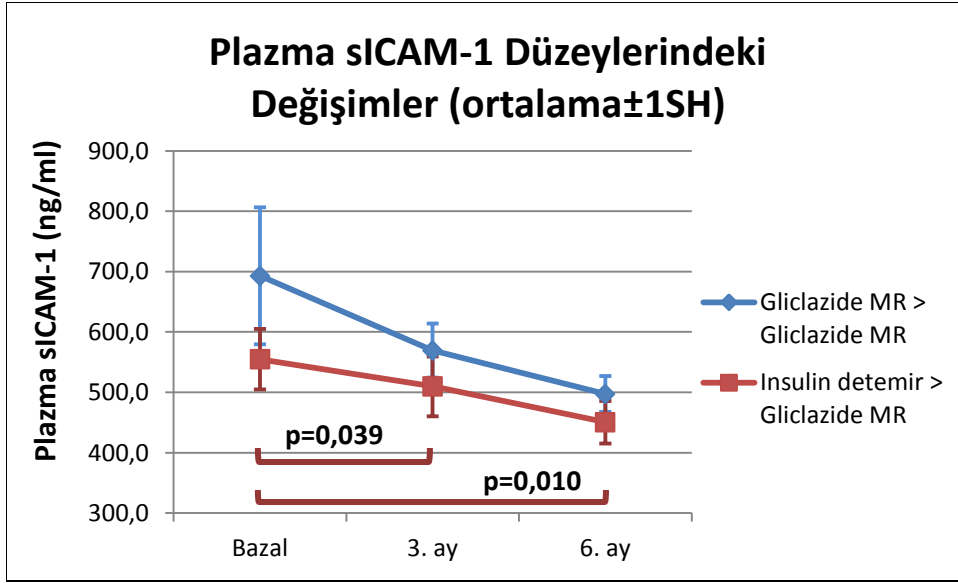
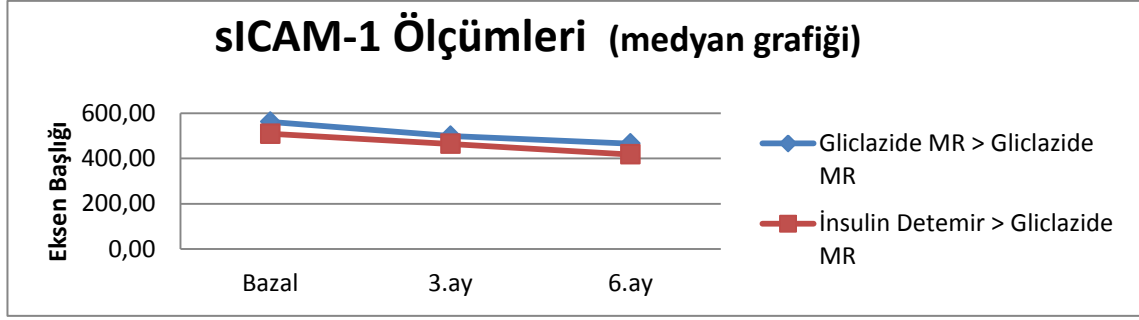
Şekil 4.6: FMD ölçümlerinin tedavi kolları ve zamana göre dağılımları

Çalışmanın sonunda sICAM-1 düzeylerinde erken bazal insulin tedavi kolunda ve tüm grup birlikte değerlendirildiğinde bazal değerlere göre istatistiksel olarak anlamlı azalma izlendi. Bu düzelme gliklazid ile tedavi kolunda izlenmekle birlikte istatistiksel anlamlılığa ulaşmamıştır. (Tablo 4.8 ve Şekil 4.7).

Tablo 4.8: sICAM-1 düzeylerinin tedavi kolları ve zamana göre dağılımları

sICAM-1		sICAM1_0	sICAM1_3	sICAM1_6	P değeri
Gliklazid MR	Median	561,505	499,912	465,476	AD***, .069 [†]
	Minimum	335,005	356,207	293,822	
	Maksimum	3271	1319,473	879,032	
İnsulin Detemir***	Median	508,863	464,4395	417,587	.039*.088**. .010[†]
	Minimum	284,44	233,151	251,032	
	Maksimum	877,439	941,599	813,491	
Tüm grup	Median	558,338	496,927	456,625	025*.050**. .002[†]
	Minimum	284,44	233,151	251,032	
	Maksimum	3271	1319,473	879,032	

AD: Anlamlı değil *bazale göre 3.ay değerleri,**3.aya göre 6.ay değerleri, †bazale göre 6.ay değerleri, ***3.aydan itibaren insulin kesilerek gliklazid tedavisi başlanmıştır



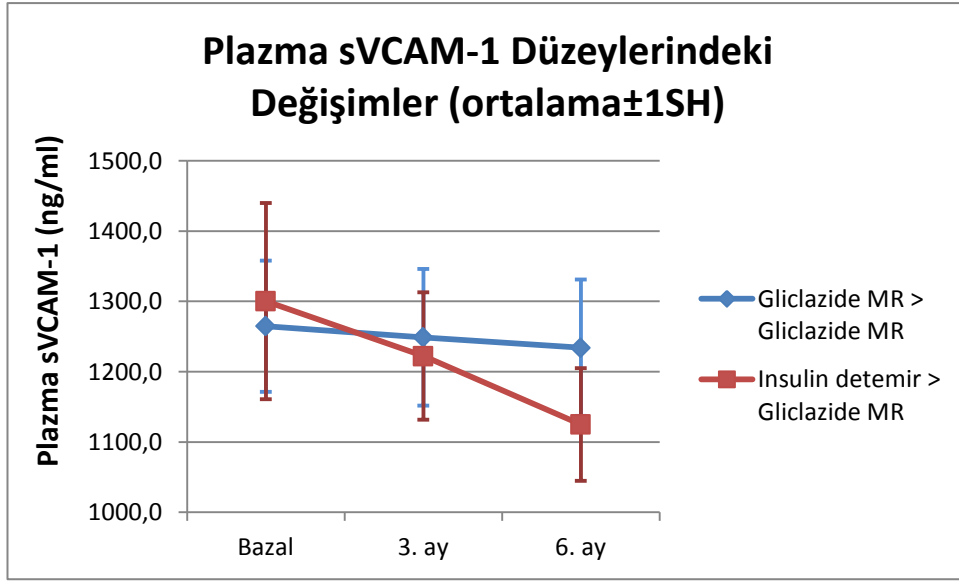
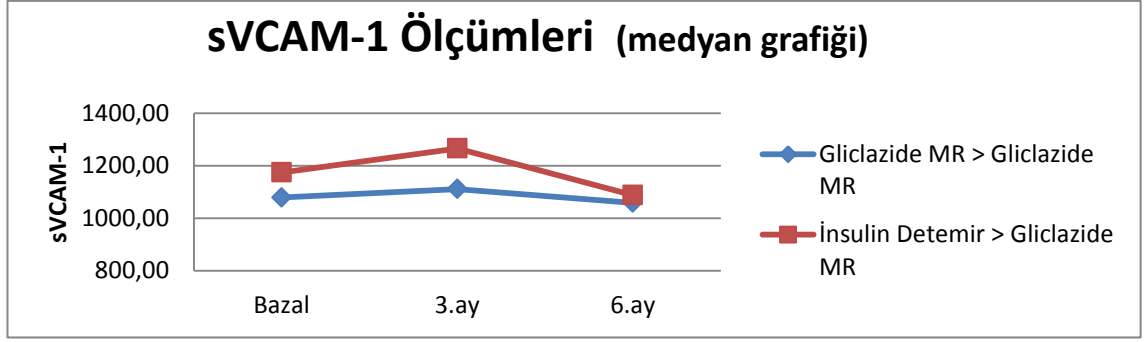
Şekil 4.7: sICAM-1 düzeylerini tedavi kolları ve zamana göre dağılımları

Çalışmanın sonunda sVCAM-1 düzeylerinde her iki tedavi kolunda anlamlı olmayan bir azalma izlenmiştir. (Tablo 4.9 ve Şekil 4.8).

Tablo 4.9: sVCAM-1 ölçümlerinin tedavi kolları ve zamana göre dağılımları

sVCAM-1		sVCAM1_0	sVCAM1_3	sVCAM1_6	P değeri
Gliklazid MR	Median	1078,603	1111,1345	1058,8015	AD
	Minimum	745,855	744,922	729,027	
	Maksimum	2350,045	2523,921	2655,671	
İnsulin Detemir*	Median	1174,521	1266,029	1087,826	AD
	Minimum	497,081	527,165	462,633	
	Maksimum	2703,512	2005,27	1614,249	
Tüm grup	Median	1135,3625	1136,663	1067,381	AD
	Minimum	497,081	527,165	462,633	
	Maksimum	2703,512	2523,921	2655,671	

AD: Anlamlı değil, *3.aydan itibaren insülin kesilerek gliklazid tedavisi başlanmıştır



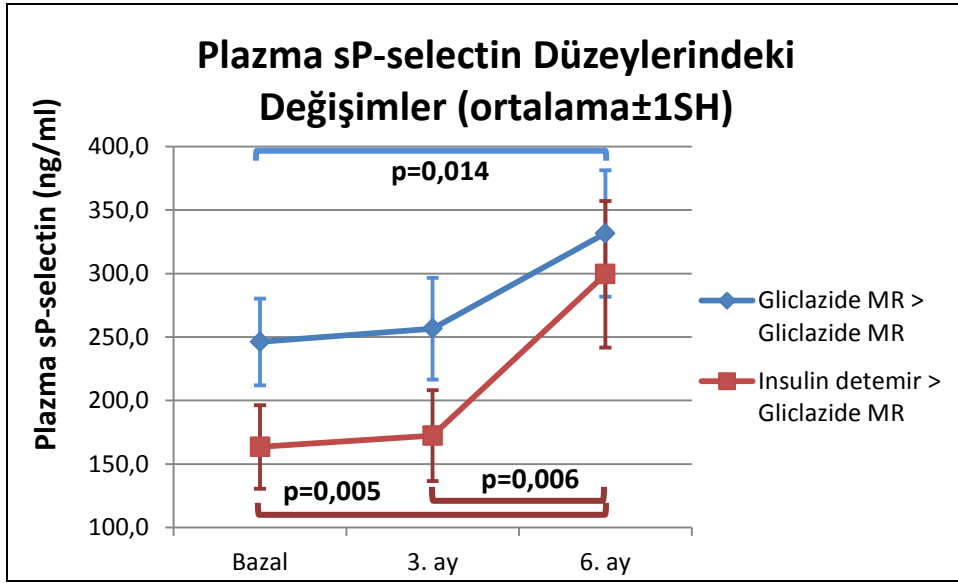
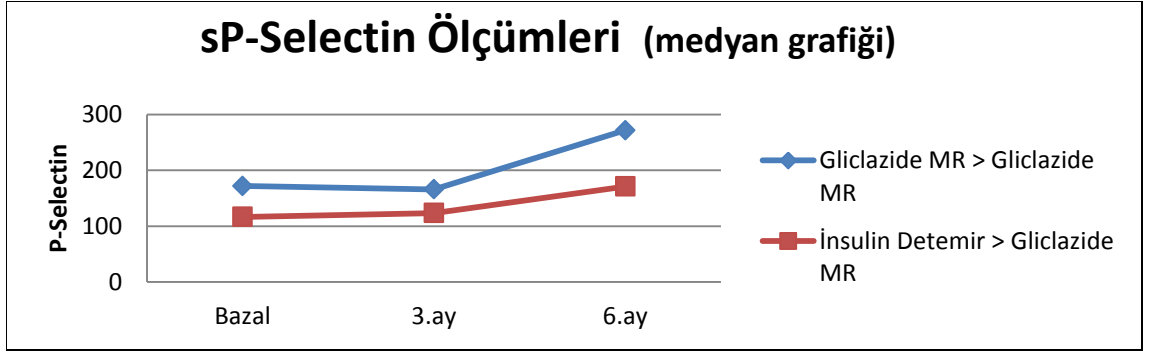
Şekil 4.8: sVCAM-1 düzeylerini tedavi kolları ve zamana göre dağılımları

Çalışmanın sonunda sP-Selectin düzeylerinde her iki tedavi kolunda anlamlı artış izlenmiştir. Bu artışın özellikle erken bazal insulin tedavi kolunda gliklazid tedavisine geçilmesi sonrasında anlamlı olduğu saptanırken, sadece gliklazid ile tedavi edilen hasta grubunda çalışma sonunda anlamlı bir yükselme olduğu saptanmıştır (Tablo 4.10 ve Şekil 4.9).

Tablo 4.10: sP-Selectin düzeylerinin tedavi kolları ve zamana göre dağılımları

sP-Selectin		P-Selectin_0	P-Selectin_3	P-Selectin_6	P değeri
Gliklazid MR	Median	171.8305	165.8755	271.4995	AD*, AD** .014†
	Minimum	65.117	70.906	68.774	
	Maksimum	614.161	628.427	897.687	
İnsulin Detemir***	Median	116.638	123.4	171.076	AD*, .006, .005†
	Minimum	34.532	48.866	88.434	
	Maksimum	484.01	524.618	748.68	
Tüm grup	Median	154.051	150.036	203.316	AD*, .005, <.001†
	Minimum	34.532	48.866	68.774	
	Maksimum	614.161	628.427	897.687	

AD: Anlamlı değil *bazale göre 3.ay değerleri,**3.aya göre 6.ay değerleri, †bazale göre 6.ay değerleri, ***3.aydan itibaren insulin kesilerek gliklazid tedavisi başlanmıştır



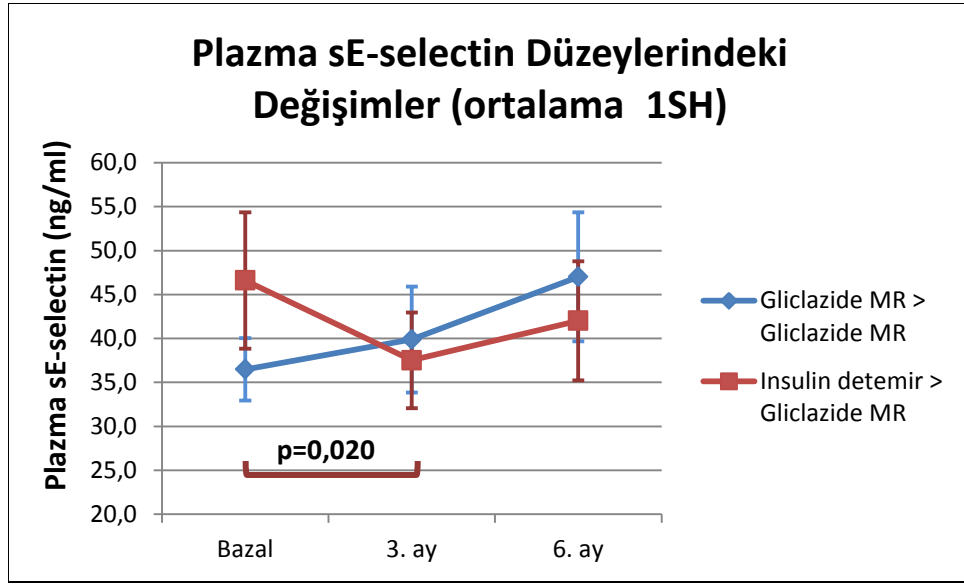
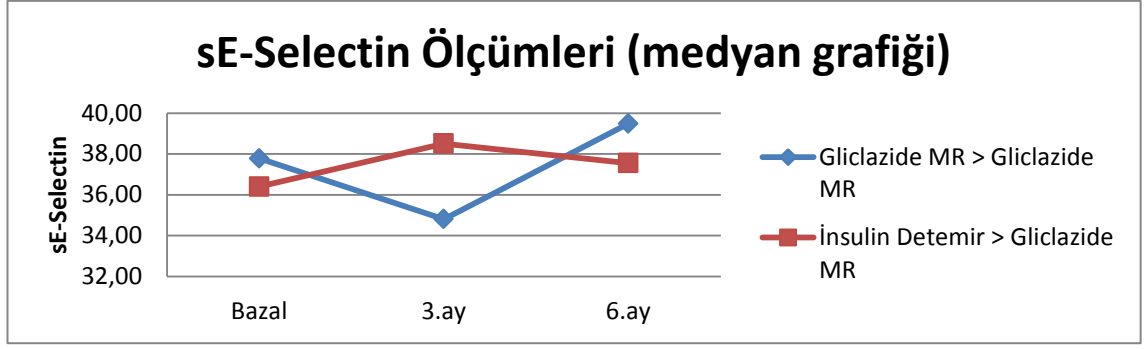
Şekil 4.9: sP-Selectin düzeylerinin tedavi kolları ve zamana göre dağılımları

Çalışmanın sonunda sE-Selectin düzeylerinde her iki tedavi kolunda anlamlı bir değişiklik izlenmemiştir. Ancak erken bazal insulin tedavisi sırasında sE-Selectin düzeylerindeki düşme sınırdadır. Ancak bu düşüş gliklazid tedavisine geçilmesi sonrasında bazal değerlere dönmüştür (Tablo 4.11 ve Şekil 4.10).

Tablo 4.11: sE-Selectin düzeylerinin tedavi kolları ve zamana göre dağılımları

sE-Selectin		E-Selectin_0	E-Selectin_3	E-Selectin_6	P değeri
Gliklazid MR	Median	37.785	34.811	39.494	AD
	Minimum	7.69	6.893	5.721	
	Maksimum	68.015	139.095	141.617	
İnsulin Detemir*	Median	36.401	38.511	37.558	AD
	Minimum	5.923	12.576	19.728	
	Maksimum	107.76	90.32	109.411	
Tüm grup	Median	36.477	35.023	38.865	AD
	Minimum	5.923	6.893	5.721	
	Maksimum	107.76	139.095	141.617	

AD: Anlamlı değil, *3.aydan itibaren insulin kesilerek gliklazid tedavisi başlanmıştır



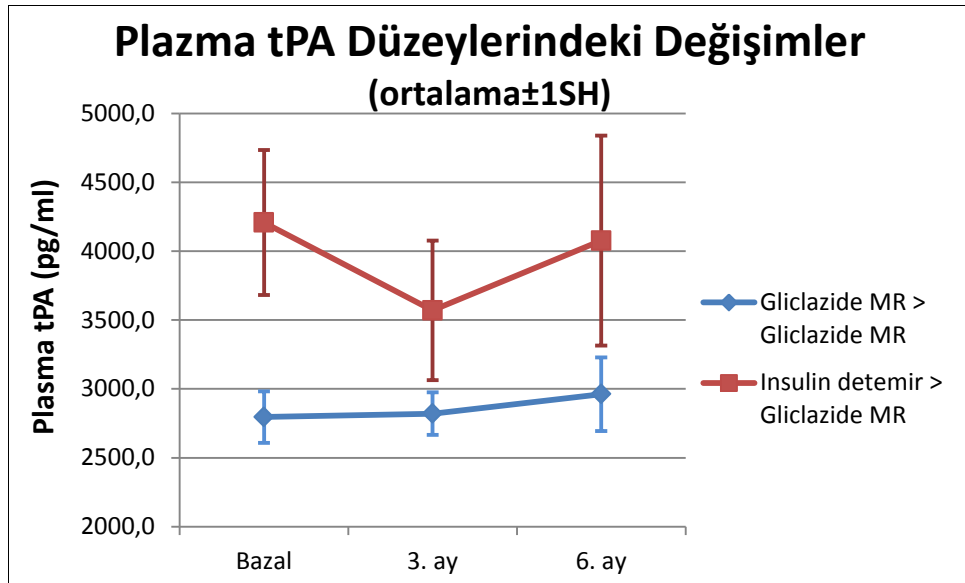
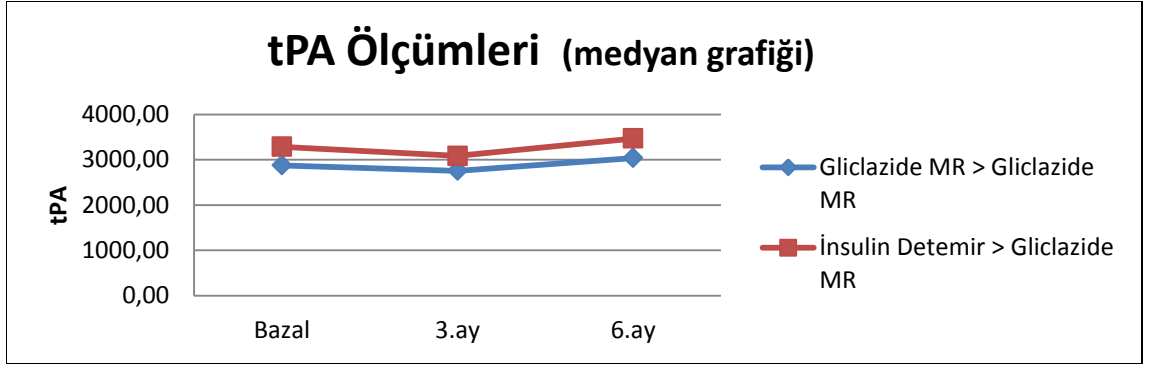
Şekil 4.10: sE-Selectin düzeylerinin tedavi kolları ve zamana göre dağılımları

Çalışmanın sonunda tPA düzeylerinde her iki tedavi kolunda anlamlı bir değişiklik izlenmemiştir. (Tablo 4.12 ve Şekil 4.11).

Tablo 4.12: tPA düzeylerinin tedavi kolları ve zamana göre dağılımları

tPA		tPA_0	tPA_3	tPA_6	P değeri
Gliklazid MR	Median	2877.121	2755.857	3036.498	AD
	Minimum	496.153	1076.592	500.513	
	Maksimum	4310.153	4012.677	2820305	
İnsulin Detemir*	Median	3285.516	3085.031	3470.921	AD
	Minimum	3.728	3.585	1991.074	
	Maksimum	11134.71	9974.426	15001.62	
Tüm grup	Median	3232.915	2899.076	3182.187	AD
	Minimum	3.728	3.585	500.513	
	Maksimum	11134.71	9974.426	2820305	

AD: Anlamlı değil, *3.aydan itibaren insülin kesilerek gliklazid tedavisi başlanmıştır



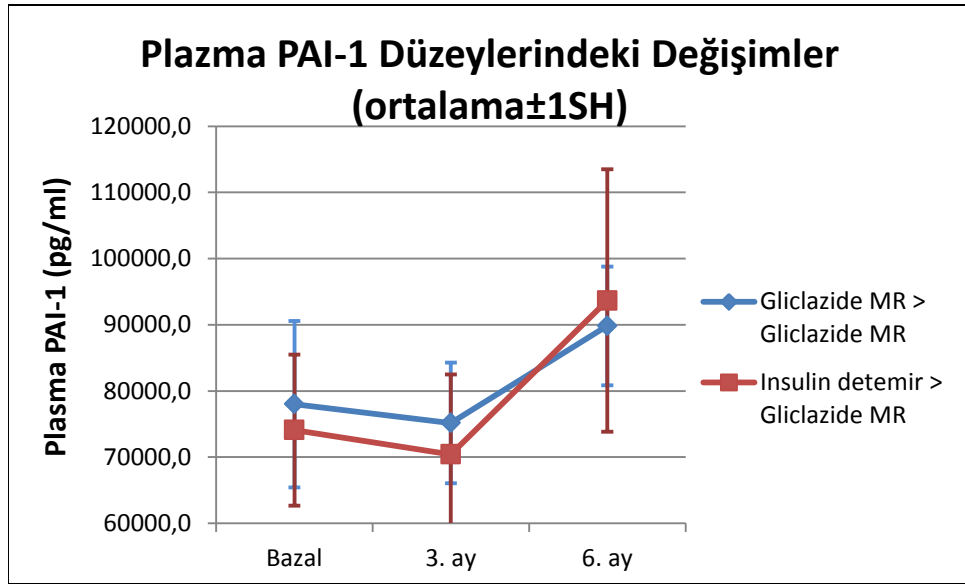
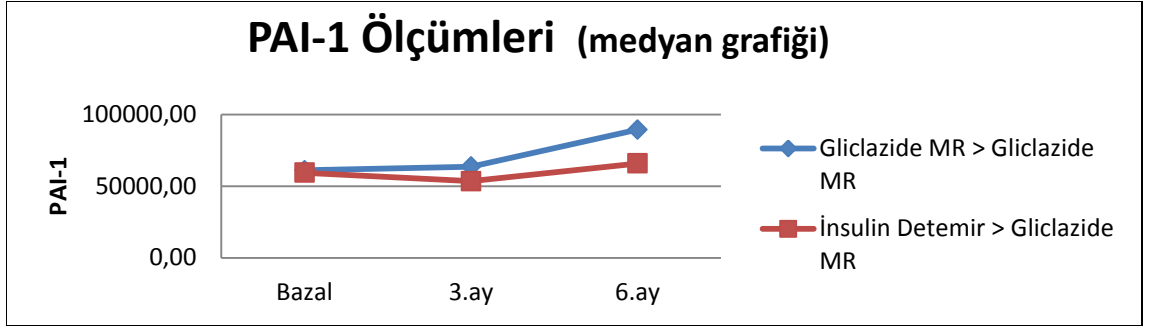
Şekil 4.11: tPA düzeylerinin tedavi kolları ve zamana göre dağılımları

Çalışmanın sonunda PAI-1 düzeylerinde her iki tedavi kolunda anlamlı olmayan bir artış izlenmiştir. (Tablo 4.13 ve Şekil 4.12).

Tablo 4.13: PAI-1düzeylerinin tedavi kolları ve zamana göre dağılımları

PAI-1		PAI-1_0	PAI-1_3	PAI-1_6	P değeri
Gliklazid MR	Median	61053.76	63576.36	89349.88	AD
	Minimum	11173.88	16216.15	26999.72	
	Maksimum	270560.7	190371.2	195014.9	
İnsulin Detemir*	Median	59409.33	53391.71	65868.51	AD
	Minimum	21924.01	26301.52	21728.5	
	Maksimum	160482.1	220419.3	299239.2	
Tüm grup	Median	59409.33	58269.18	85495.13	AD
	Minimum	11173.88	16216.15	21728.5	
	Maksimum	270560.7	220419.3	299239.2	

AD: Anlamlı değil, *3.aydan itibaren insülin kesilerek gliklazid tedavisi başlanmıştır



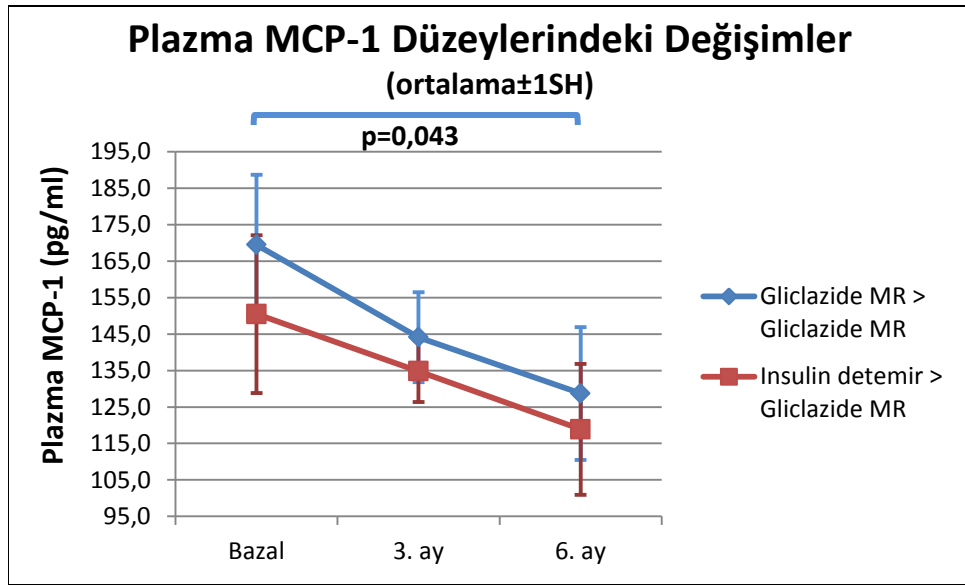
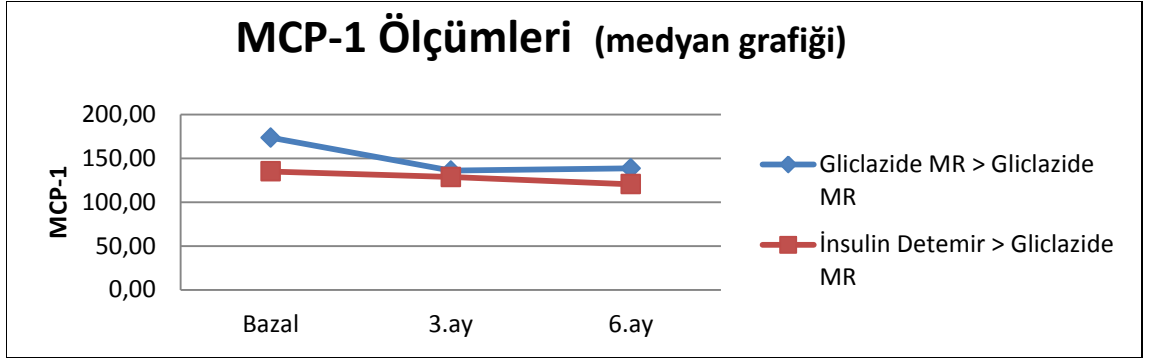
Şekil 4.12: PAI-1 düzeylerinin tedavi kolları ve zamana göre dağılımları

Çalışmanın sonunda MCP-1 düzeylerinde her iki tedavi kolunda anlamlı olmayan bir azalma izlenmiştir. Her iki tedavi kolu birlikte değerlendirildiğinde bu azalma anlamlılık sınırına yakındır (Tablo 4.14 ve Şekil 4.13).

Tablo 4.14:MCP-1 düzeylerinin tedavi kolları ve zamana göre dağılımları

MCP-1		MCP-1_0	MCP-1_3	MCP-1_6	P değeri
Gliklazid MR	Median	173.5145	135.916	138.479	AD
	Minimum	0	0	0	
	Maksimum	356.622	282.839	73958	
İnsulin Detemir*	Median	134.957	128.684	120.3895	AD
	Minimum	28.47	77.05	0	
	Maksimum	346.513	214.233	272.734	
Tüm grup	Median	164.602	131.797	130.075	.043†
	Minimum	0	0	0	
	Maksimum	356.622	282.839	73958	

AD: Anlamlı değil †bazale göre 6.ay değerleri, *3.aydan itibaren insulin kesilerek gliklazid tedavisi başlanmıştır



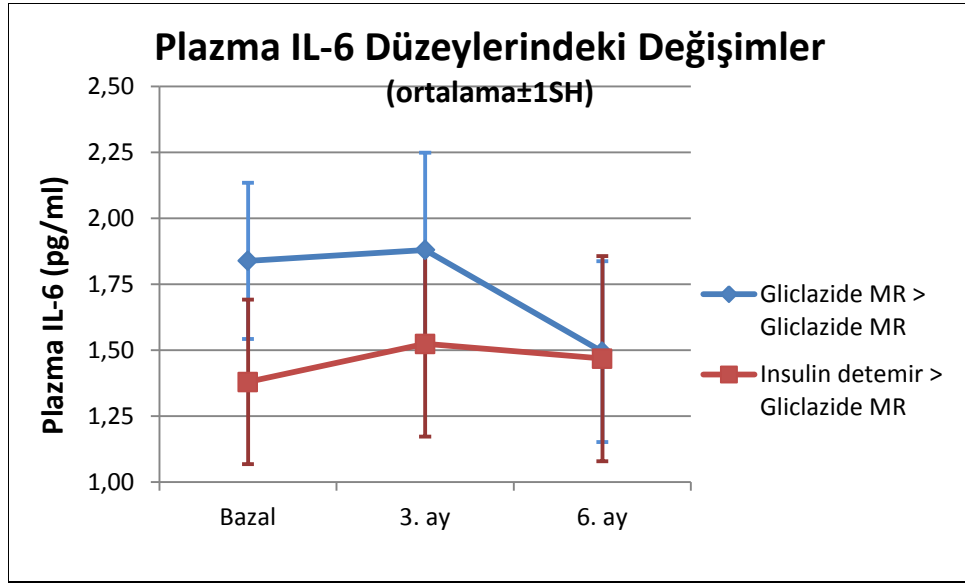
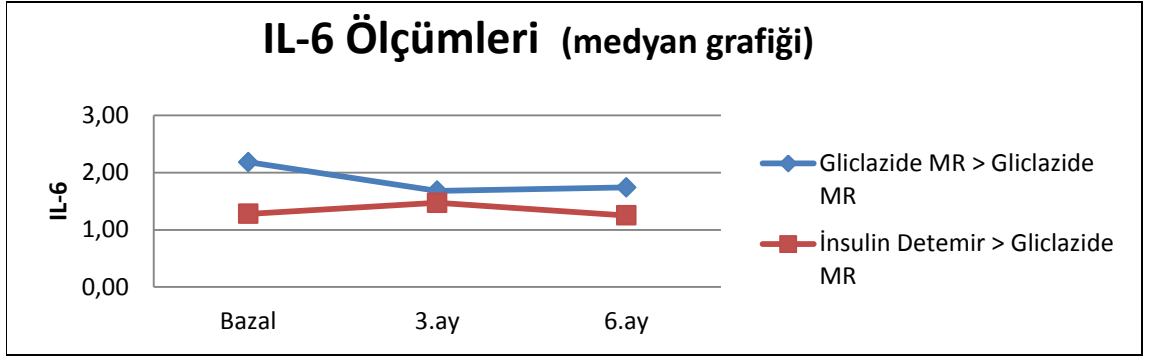
Şekil 4.13: MCP-1 düzeylerinin tedavi kolları ve zamana göre dağılımları

Çalışmanın sonunda IL-6 düzeylerinde her iki tedavi kolunda anlamlı bir değişiklik izlenmemiştir (Tablo 4.15 ve Şekil 4.14).

Tablo 4.15: IL-6 düzeylerinin tedavi kolları ve zamana göre dağılımları

IL6		IL6_0	IL6_3	IL6_6	P değeri
Gliklazid MR	Median	2.181	1.68	1.7405	AD
	Minimum	0	0	0	
	Maksimum	3.89	5.92	4.241	
İnsulin Detemir*	Median	1.279	1.47	1.254	AD
	Minimum	0	0	0	
	Maksimum	2.746	4.207	3.529	
Tüm grup	Median	1.569	1.539	1.388	AD
	Minimum	0	0	0	
	Maksimum	3.89	5.92	4.241	

AD: Anlamlı değil, *3.aydan itibaren insülin kesilerek gliklazid tedavisi başlanmıştır



Şekil 4.14: IL-6 düzeylerinin tedavi kolları ve zamana göre dağılımları

5. TARTIŞMA

Çalışmamız tip 2 diyabette ADA tedavi önerilerinin 2. basamağını oluşturan bazal insulin veya sulfonilüre grubu tedavi alternatiflerinin endotel üzerine etkileri, insulin detemir ve glüklazid MR tedavi seçenekleri kullanılarak, prospektif olarak değerlendirilmiştir. Çalışmamız bu anlamda ilk olma özelliği taşımaktadır. Çalışmamızda tip 2 diyabet tedavisinin ikinci basamağında 3 aylık erken bazal insulin tedavisi ile başlamanın yalnız sulfonilüre tedavisi başlanmasına kıyasla tedavinin 6. ayında endotel fonksiyon bozukluğunun en duyarlı belirteci olan *sICAM-1* (*soluble interstitial cell adhesion molecule-1*) düzeylerinde anlamlı bir azalmaya neden olduğu gösterilmiştir. Ayrıca endotel fonksiyon bozukluğunun başka bir belirteci olan *P-selectin*'nin düzeylerinin ise, bazal insulin tedavisi başlanan kolda ancak sulfonilüre tedavisine geçildikten sonra anlamlı bir yükselme olduğu gösterilmiştir. Ayrıca NO aracılı endotel fonksiyonunun dolaylı bir ölçeği olan FMD ölçümlerinde bazal insulin ile tedavi edilen kolda sulfonilüre ile tedavi edilen kola kıyasla istatistiksel olarak anlamlı olmayan daha iyi bir düzelme izlenmiştir.

Çalışmamızda ayrıca erken bazal insulin tedavisinin vücut ağırlığı üzerine sulfonilüre tedavisine kıyasla anlamlı derecede daha olumlu etkileri olduğu gözlenmiştir. Çalışmamızda tedavi alternatiflerinin glukoz regülasyonu üzerine etkilerinin farksız olduğu gösterilmekle birlikte her iki tedavi alternatifinin endojen insulin düzeylerini yansıtan AUC-insulin düzeylerini azalttığı gösterilmiştir.

İnsulinin vasküler endotel üzerine etkileri son yıllarda fark edilmeye başlanmıştır. Epidemiyolojik veriler (26) ve farklı çalışmalarda, “*the Quebec Cardiovascular Study* (27), *the Helsinki Policemen Study* (28)” gibi, yüksek insulin düzeylerinin vasküler olayların bağımsız bir prediktörü olduğu gösterilmiştir. Bu sonuçlar insulinin gerçekten bir aterosklerotik ajan olup olmadığına dair tartışma yaratmıştır. Ancak bu birliktelik tüm çalışmalarda gösterilemediği gibi kadınlarda da bu birliktelik gösterilememiştir (29). Güncel veriler hiperinsulineminin, vasküler hastalığa yol açması muhtemel olan, altta yatan insulin direncinin sadece bir belirteci olduğunu göstermiştir (30). Ayrıca “*the Diabetes Control and*

Complications Trial / Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications (DCCT/EDIC)” ve “*United Kingdom Prospective Diabetes Study*” çalışmalarında hem tip 1 hem de tip 2 diyabette insulinin kardiyovasküler olaylarda artışa yol açtığı gösterilememiştir. Esasında DCCT/EDIC çalışmasının yoğun insülin tedavisi kolunda kardiyovasküler olayların azaldığı gösterilmiştir (30, 31).

İnsulinin aterojenik etkisini inceleyen *in vitro* çalışmalarda 1400-14000 uU/ml gibi çok yüksek dozda büyüme faktörleri etkilerinde artışa, MAP-kinaz uyarılması ve mitojenik etkiye neden olduğu gösterilmiştir. Ancak bu çalışmalarda kullanılan dozda insulinin *in vivo* olarak kullanılması mümkün gözükmemektedir (29). Hatta kronik hiperinsulineminin eşlik ettiği insulinomaların ateroskleroz ile ilişkili gösterilememiştir (32).

Baron ve ark. (33) insulinin fizyolojik koşullarda vazodilatör etkisini ortaya koymuşlardır. Bu etki doz bağımlıdır ve tüm vücut glukoz *uptake*'i ile paraleldir. Ancak obezite ve tip 2 diyabette bozulmuş glukoz toleransı ve insülin direncine paralel olarak bu vasodilatör etki de bozulur (33). Kardiyak kan akımını inceleyen bir çalışmada hiperinsulinemi halinde kardiyak perfüzyonun eşlik eden hiperglisemi veya öglisemi halinde farklı olduğu, öglisemi halinde kardiyak kan akımının anlamlı olarak arttığı gösterilmiştir. Hiperglisemi halinde ise hiperinsulineminin kan akımını artırıcı etkisinin baskılandığı ortaya konmuştur (34). Bizim çalışmamızda da hastaların kan glukoz düzeylerinde kontrol sağlanması sonrasında endotel fonksiyonları değerlendirilerek tedavi seçeneklerinin endotel üzerine hiperglisemiden bağımsız etkisi değerlendirilmeye çalışılmıştır.

Son yıllarda hem aterosklerozun hem de diyabetin inflamatuvar hastalıklar olduğu görüşü oldukça yoğun destek görmektedir (30). Bu inflamasyon düşük dereceli ve yaygındır. Aynı zamanda endoteli de tutar. Hücresel ve moleküler düzeyde inflamasyonun uyarılması proinflamatuvar sitokinlerin salınmasına, bu sitokinlerde nüklear faktör kappa-B (NF-κB) aktivasyonuna neden olur. NF-κB aracılığı ile de proinflamatuvar moleküllerin, TNF-alfa, IL-6, IL-1beta, adezyon molekülleri (ICAM-1, vasküler hücre adezyon molekülü (VCAM-1), E-selectin, P-

selectin), kemokinler (MCP-1 gibi) ve CRP gen transkripsiyonlarında artışa neden olmaktadır (29). Transkripsiyonu artan moleküller monositlerin endotel hücrelerine yapışmasına, takiben MCP-1 sekresyonunu artırarak da monositlerin endotel altına ve kan damar intiması içine göçüne neden olurlar. Burada hücreler okside LDL-kolesterol ile etkileşerek aterosklerozun köpüksü hücrelerini (*foam cell*) oluştururlar.

İnsulinin fizyolojik konsantrasyonlarına benzer miktarı ile insan aortik endotel hücrelerinde intranükleer NF- κ B'yi, MCP-1 ve ICAM-1'i in vitro olarak baskıladığı gösterilmiştir (35, 36). Bu etkinin insulinin NO sentaz aktivitesini ve NO miktarını artırarak gösterdiği ileri sürülmüştür. Bunun nedeni de aynı çalışmada insulinin ICAM-1 baskılayıcı etkisinin NO sentaz aktivitesinin engellenmesi ile ortadan kaldırıldığına gösterilmesidir (35). Aterosklerozun arteriyal duvarın bir inflamasyonu olduğu ve NF- κ B'nin de bunda merkezi rol aldığı göz önüne alındığında, insulinin anti-inflamatuar etkisi uzun dönemde, muhtemelen, anti-aterojeniktir (29). Çalışmamızda erken bazal insulin uygulanan tedavi kolunda sICAM-1 düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı azalma elde edilmesi ile yukarıdaki bahsedilen verilere *in vivo* kanıt oluşturmaktadır. Çalışmamızda ayrıca P-selectin düzeylerinin bazal insulin tedavisinden sulfonilüre tedavisine geçilmesi sonrasında düzeylerinde anlamlı olarak artış izlenmesi de insulinin anti inflamatuvar etkisini destekler niteliktedir. Ayrıca çalışmamızın her iki kolunda da MCP-1 düzeylerinde anlamlı olmayan düşme izlenmiştir.

Hiperglisemik krizli hastalarda yapılan bir çalışmada intravenöz insulinin akut antiinflamatuvar özelliği *in vivo* olarak gösterilmiştir (37). Ayrıca tip 1 DM'li hiperglisemik hastalarda yoğun insulin tedavisi başlanması sonrasında sE-selectin ve SVCAM-1 düzeylerinde azalma izlenmiştir (38). Ancak bu etkiler hipergliseminin düzelmesinden bağımsız değildir. Çalışmamızın sonuçlarının, her iki tedavi kolunda kan glukoz regülasyonu sağlanması sonrasında elde edilmesi ve AUC-glukoz ile gösterilen glukoz değişimlerinin çalışma süresince ve gruplar arasında farklı olmaması nedeni ile, hiperglisemik etkiden bağımsız olduğu sonucu çıkarılabilir.

Başka bir çalışmada akut myokard infarktüsü geçiren ve ortalama kan glukoz düzeyleri normal sınırlarda olan hastalarda insulin infüzyonun hsCRP ve PAI-1 üzerine etkisi incelenmiş ve kontrol grubuna göre bu inflamasyon ve koagülasyon belirteçlerinin düzeylerinde anlamlı azalma izlenmiştir (39). İnsulin pompası ile bazal insulin, bazal insulin ve pioglitazon veya metformin ve sulfonilüre tedavilerinin hsCRP ve PAI-1 düzeyleri üzerine etkilerinin karşılaştırıldığı çalışmada bazal insulin tedavisi alan grupta PAI-1 değerleri değişmezken diğer gruplarda PAI-1 düzeyinin azaldığı gösterilmiştir (40). Ancak bu çalışmaya hiperglisemik hastalar alınmıştır ve sonuçları hiperglisemide izlenen düzelmelerin etkisinden bağımsız değildir. Bizim çalışmamızda ise glukoz kontrolü sağlanan hastalarda yapılmıştır ve PAI-1 düzeylerinde bazal insulin tedavisinden sulfonilüre tedavisine geçiş sonrasında istatistiksel olmayan bir yükselme izlenmiştir. Bu yükselme bazal insulin etkisinin ortadan kalkması ile ilişkili olabilir.

Endotel fonksiyonu değerlendirmede ultrason ile FMD ölçümü oldukça yaygın kullanılan bir yöntemdir bir çok çalışma diyabetik hastalarda FMD'nin bozulmuş olduğunu ortaya koymuştur (41). Gliklazid tedavisinin antioksidan özelliğinin ortaya konulmasından sonra (42-44) vasküler yatakta NO aracılı vazodilatasyonu artırdığı saptanmıştır. Bu etki gliklazid ve glibenklamide tedavilerini karşılaştıran bir çalışmada; gliklazid kolunda izlenirken, glibenklamide kolunda izlenmemiştir (45). Chen ve ark. (46) çalışmalarında yeni tanı tip 2 diyabetik hastalarda gliklazid'in endotel üzerine etkisini FMD yöntemi ile değerlendirmiş ve gliklazid tedavisinin endotel üzerine olumlu etkiye sahip olduğunu ortaya koymuşlardır. Ancak bu çalışmaların hiç birinde ilaçların etkisi glisemik kontrolden bağımsız olarak değerlendirilmemiştir. Çalışmamızda gliklazid tedavisinin, glukoz kontrolü sağlanmış, AUC-insulin ve AUC-glukoz değişimleri eşleştirilmiş bazal insulin tedavisi ile karşılaştırıldığında yukarda bahsedilen endotel üzerine olumlu etkileri izlenememiştir.

İnsulin vazodilatatör etkisini endotelial NO üretimi ile yapar (47). İnsulin direnci halinde bu etkinin köreldiğine inanılmaktadır (48, 49). İnsulin etkisi, insulin direnci halinde NO üretiminde kullanılan PI-3/akt yolağının aktivitesinin azalması

nedeni ile insulinin vazokonstriktör etkisini ön plana çıkaran MAP kinaz yolağına kayar (endotelin-1 aracılı), (24, 47, 50). Gliklazid tedavisinin insulin direncini iyileştirebileceğine dair yayınlar da yapılmıştır (51). İnsulin direnci endotel disfonksiyonla ilişkili olmakla birlikte birçok klinik faktör (52) birbiri ile ilişki halindedir. Bu nedenle insulin direnci ve kompanzatuvar hiperinsulinizmin endotel disfonksiyonuna katkılarının ayrı olarak önemini ortaya koymak zordur. Bu nedenle bilinen diğer risk faktörlerini barındırmayan sağlıklı gönüllülerde plazma insulin düzeyi ve FMD ilişkisini inceleyen çalışmada (53) hiperinsulinizm ve insulin direnci birlikteliğinin endotel disfonksiyonu ile bağımsız olarak ilişkili olduğu ortaya konmuştur. Ancak bu etki yüksek insulin düzeylerinden çok insulin direnci nedeni ile insulinin aterojenik etkilerinin daha belirgin izlenebileceği MAP kinaz yolağı aktivasyonu ile olmaktadır (24). Çalışmamızda glukoz kontrol seviyeleri ve endojen insulin değişimleri eş olan tedavi kollarında bazal insulin tedavisinin FMD’de anlamlı olmayan düzeyde iyileşme yapması, bazal insulin tedavisinin endotel üzerine olumlu etkisini yansıtır olabilir.

Tip 2 diyabette tedavi seçeneklerinin kilo üzerine etkileri önemli bariyerlerden bir tanesidir (54). UKPDS çalışmasında yoğun tedavi alan hasta grubunda 3 yıl sonunda sülfonilürelerle (ortalama 3,5 kg) veya insulin ile (ortalama 4,8 kg) birlikte anlamlı kilo artışı izlenmiştir (55). Yirmi yedi çalışma ve 11000 hasta ile yapılan bir meta analizde tiazolidinedionlar, sülfonilüreler ve glinidlerin metformine eklenmesi ile ortalama 2 kg alındığı gösterilmiştir (56). Yakın zamanda yapılan prospektif bir çalışmada kan glukoz düzeyleri metformin ve sülfonilüre tedavileri ile regüle olmayan hastalarda tedaviye bazal insulin eklemenin prandiyal veya bifazik insulin tedavilerine kıyasla anlamlı olarak daha az kilo aldırıldığı (ortalama 1,9 kg) ortaya konmuştur (57). Bazal insulinleri karşılaştıran bir derlemede insulin levemir ile ılımlı bir kilo kaybı izlenir iken insulin glargine ile benzer oranda kilo artışı izlenmiştir (58). Çalışmamızda, ilk kez, bazal insulin detemir ve gliklazid tedavileri prospektif olarak karşılaştırılmıştır. Sonuçta üç ay süre ile erken bazal insulin uygulanan grupta yalnız gliklazid tedavisi alan gruba göre 6.ay sonunda kilo değişimi izlenmezken, gliklazid tedavi kolunda anlamlı, bazal insulin kolunda ise gliklazid tedavisine

geçilmesi sonrasında anlamlı kilo artışı izlenmiştir. Bu anlamda erken bazal insulin tedavisi kilo nötral etkilidir denebilir.

6. SONUÇ

Bu çalışmada ADA tedavi önerilerinin ikinci basamağını oluşturan, yaşam tarzı değişikliği ve metformin kullanımına gliklazid MR (sülfonilüre) veya insülin detemir (bazal insülin) tedavilerinin eklenmesinin pleotropik etkileri incelenmiştir. Çalışmada bazal insülin tedavisinin 1. basamak tedaviyle kombinasyonunun gliklazid'e göre endotel fonksiyonu üzerine etkisinin daha olumlu olduğu sonucuna varılmıştır. Erken bazal insülin tedavisi, toplam vücut ağırlığını ve VKİ değiştirmeden endotel hasarının hassas belirteçlerinden olan sICAM-1 ve sE-selektin düzeylerini azaltmıştır. Sülfonilüre tedavisi ise hem bu belirteçleri etkilememiş, hem de vücut ağırlığı ve VKİ değerlerini artırmıştır. Bu bulgularla, erken dönem bazal insülin tedavisinin endotel aktivasyonunu ve hasarını engelleyerek diyabetin geç komplikasyonlarını önlemekte önemli olabileceği düşünülmektedir. Ayrıca bu çalışma ile tedavi alternatiflerinin 3 aylık dönemde glisemik kontrolde başarı oranları benzerdir. Erken bazal insülin tedavisinin uzun dönem sonuçlarını gösteren çalışmalara ihtiyaç vardır.

ÖZET

Arka plan: Tip 2 diyabet tedavisinde yeni sınıf kan şekeri düşürücü ilaçların keşfi ve bunların var olan tedavilere eklenmesi, tip 2 diyabette tedavi seçeneklerini artırmıştır. Ancak bu artış, en uygun tedavi seçeneği hakkında belirsizliği de beraberinde getirmiştir. Tip 2 diyabet tedavisi için yeterli sayıda, yüksek kaliteli, kontrollü klinik çalışmaların azlığı, bir ilacı veya kombinasyon tedavisini diğerine karşı önermenin önündeki en önemli engeldir. Bu açıdan, ülkemizde de epidemik olarak gözlenen tip 2 diyabetin tedavisinde izlenecek en uygun yola katkı sağlamaya yönelik klinik çalışmalara ihtiyaç vardır. Tip 2 diyabette kullanılacak tedavi seçeneklerinin hiperglisemiye kontrol edici etkilerinin yanında glisemi dışı pleotropik etkileri de önemlidir. Bu pleotropik etkilere vücut kitle indeksinde değişim, insulin direnci, insulin salgılama kapasitesi ve endotel fonksiyonları üzerine olan etkiler örnek olarak verilebilir. Amerikan Diyabet Birliği (ADA) tedavi algoritmasındaki tedavi alternatiflerinin hiperglisemi düzeltici etkileri yeteri kadar karşılaştırılmamış ve pleotropik etkileri ise henüz irdelenmemiştir.

Amaç: Bu tez çalışması, “Tip 2 diyabetes mellitus tedavi klavuzu ikinci basamağını oluşturan, yaşam tarzı değişikliği ve metformin kullanımına sulfonilüre veya bazal insulin tedavilerinin eklenmesinin, prospektif olarak endotel fonksiyonu üzerine etkilerinin incelenmesi” ana amacı ile hazırlanmıştır. İkincil amaç olarak, bu tedavi alternatiflerinin vücut kitle indeksi ve vücut yağ kitlesindeki değişimlere etkisi incelenmiştir. Çalışmanın üçüncü amacı ise tedavi alternatiflerinin altı aylık dönemde glisemik kontrolde başarı oranlarını saptamaktır.

Metodlar: Bu değerlendirmeleri yapabilmek için çalışmaya Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları AD Endokrinoloji ve Metabolizma Hastalıkları Bilim Dalına başvuran ve tip 2 diyabet tanısı olan 20-65 yaş aralığında kadın veya erkek hastalar alınmıştır. Çalışmanın erken insulin detemir ile tedavi koluna 16 ve gliklazid MR ile tedavi koluna 27 olmak üzere toplam 43 hasta alınmıştır. Hastalarda normoglisemi sağlandığında çalışma başlatılmış ve bazal, 3 ve 6. ay ölçümleri gerçekleştirilmiştir. Her iki tedavi kolundaki hastalar normogliseminin sağlanması sonrasında 4. aydan

itibaren 6. ayın sonuna kadar gliklazid MR ile tedavi edilmiştir. Endotel fonksiyonlarını değerlendirmek üzere hastalarda brakiyal arter ultrasonografisi kullanılarak akım aracılı dilatasyon (FMD) testi yapılmıştır. Endotelial aktivasyon ve hasarın çözümler belirteçleri olan interelüler adezyon molekülü-1 (sICAM-1), vasküler endotelial hücre adezyon molekülü-1 (sVCAM-1), E selektin ve P-selektin'in plazma düzeyleri "enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)" yöntemi kullanılarak araştırılmıştır. Benzer şekilde, inflamasyon belirteçleri olarak plazma monosit kemoatraktan protein -1 (MCP-1) ve interlökin-6 (IL-6), koagülasyon yatkınlığını belirlemek açısından da plazma doku plazminojen aktivatörü (tPA) ve plazminojen aktivatörünün inhibitörü-1 (PAI-1) ELISA yöntemi kullanılarak incelenmiştir. Vücut yağ kitlesinde değişim oranlarını değerlendirmek için bioimpedans yöntemi kullanılmıştır.

Bulgular: İki farklı tedavi alan hastalar arasında kan insulin ve glukoz değerleri, vücut yağ kitlesinde değişim ve hemoglobin A1c düzeyleri arasında fark gözlenmemiştir. Endotel fonksiyonunu belirlemek için gerçekleştirilen FMD ölçümleri arasında da bir fark saptanmamıştır. Bununla birlikte, tedavi kolları arasında endotel fonksiyonları üzerine olan etkiler ve vücut ağırlığı değişimi açısından farklılıklar gözlenmiştir. Erken insülin detemir kullanan hastalarda bazal ve 6. aylar arasında toplam vücut ağırlığı ve vücut kitle indeksi anlamlı olarak değişmemişken, gliklazid MR kullanan hasta grubunda anlamlı olarak artmıştır. Plazma sVCAM-1, tPA, PAI-1, MCP-1 ve IL-6 düzeyleri her iki grupta da anlamlı bir farklılık göstermemiştir. sICAM-1 düzeylerinin ise erken dönem insülin detemir kullanan hastalarda bazal ve 6. ay ölçümleri arasında anlamlı olarak azaldığı, gliklazid MR kullanan hastalarda ise değişmediği belirlenmiştir. Plazma sE-selektin düzeyleri, yalnız insülin detemir kullanan hasta grubunda bazal ve 3. ay ölçümleri arasında sınırda anlamlı bir azalma göstermiştir. Buna karşılık plazma sP-selektin düzeyleri, bazal ve 6. aylar arasında her iki hasta grubunda da anlamlı olarak artmıştır

Sonuç: Amerikan Diyabet Birliği (ADA) tedavi algoritmasındaki 2. basamak tedavi alternatiflerini oluşturan bazal insulin veya sülfonilüre tedavilerinden insulin

tedavisi, toplam vücut ağırlığını ve vücut kitle indeksini (VKİ) değiştirmeden endotel hasarının hassas belirteçlerinden olan sICAM-1 ve sE-selektin düzeylerini azaltmıştır. Sülfonilüre tedavisi ise hem bu belirteçleri etkilememiş, hem de vücut ağırlığı ve VKİ değerlerini artırmıştır. Bu bulgularla, erken dönem bazal insülin tedavisinin endotel aktivasyonunu ve hasarını engelleyerek diyabetin geç komplikasyonlarını önlemekte önemli olabileceği düşünölmektedir.

Bu Tez Çalışması **TÜBİTAK tarafından desteklenmiştir**, 110S119 (ÜÜ).

Anahtar Kelimeler: Tip 2 Diabetes Mellitus, Endotel, Bazal insulin, Sülfonilüre, Gliklazid , insulin detemir

SUMMARY

Background: The discovery and the addition of novel classes of pharmaceuticals to the traditional treatment modalities in type 2 diabetes have increased the treatment options in this disease. However, this increase has also brought about the uncertainty concerning the best treatment modality to apply. The lack of enough number of randomized and controlled studies in the treatment of type 2 diabetes is the most important obstacle in recommending either a single-drug or a combination treatment. Therefore, clinical studies testing the most effective treatment modalities in type 2 diabetes are vitally essential especially for Turkey, where type 2 diabetes is endemic. The pleomorphic effects of the treatment choices in type 2 diabetes other than the control of hyperglycemia are equally important. Some of these pleomorphic effects are the changes in body-mass index, insulin resistance, insulin secretion capacity and the effects on endothelial functions and coagulation status. There is yet a lack of the comparison of different treatment alternatives found in the treatment algorithms of American Diabetes Association (ADA), both in terms of the effects on hyperglycemia control and of other pleomorphic effects.

Aim This study was mainly prepared to analyze the effects of the addition of sulfonylurea or alternatively basal insulin to life-style modifications and metformin treatment as a second step treatment in type 2 diabetes mellitus guidelines on endothelial cell functions. The second goal was to identify the effects of these treatment alternatives on body-mass index and on the changes in body fat mass. The third aim of this study was to determine the success rates of these treatment alternatives on glycemic control at 6 months follow-up.

Methods: To reach these aims, 20-65 year-old type 2 diabetes patients admitted to the Endocrinology and the Metabolism Unit of Ankara University Medical Faculty Department of Internal Medicine were recruited. A total of 43 patients were included in the study: 16 in the insulin treatment arm and 27 in the gliklazid-MR arm. The study was initiated at the time of normoglycemia for each patient and basal, 3rd and 6th month evaluations after reaching normoglycemia were performed. Patients in

both study arms began to receive gliklazid MR treatment 3 months following the achievement of normoglycemic status. To evaluate endothelial relaxation and functions, flow mediated dilatation (FMD) was performed on the day of reaching euglycemic status for each patient using brachial artery ultrasonography. Plasma levels of soluble markers of endothelial activation and damage, such as intercellular cell adhesion molecule-1 (sICAM-1), vascular endothelial cell adhesion molecule-1 (sVCAM-1), E (endothelial)-selectin and P (platelet)-selectin were evaluated using “enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)”. Similarly, plasma levels of markers of inflammation such as monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) and interleukin-6 (IL-6), and to determine the tendency to predispose to coagulation plasma tissue plasminogen activator (tPA) and plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) levels were investigated using ELISA. To identify the changes in body fat mass, bioimpedence analyses were performed for each patient.

Results: Peripheral blood insulin, glucose and hemoglobin A1c levels as well as changes in body fat mass were indifferent between the two treatment arms. FMD measurements evaluating endothelial functions were also found not to differ among the patient groups. However, the effects on endothelial functions as well as on the changes in body fat mass were found to differ significantly between the two study groups. The total weight and body mass indices increased significantly between the basal and 6th month follow-up measurements in patients using gliklazid-MR, in contrast to the patients using insulin detemir. Plasma sVCAM-1, tPA, PAI-1, MCP-1 and IL-6 levels were observed not to differ significantly between the two treatment groups. However sICAM-1 levels were observed to decrease significantly between the basal and 6th month follow-up measurements in patients using insulin detemir, contrary to the patients having gliklazid-MR treatment. Moreover, plasma sE-selectin levels were demonstrated to decrease with limited significance between the basal and 3rd month follow-up measurements only in the insulin detemir arm. On the other hand, plasma sP-selectin levels were demonstrated to increase significantly in both patient groups between the basal and 6th month follow-up measurements.

Conclusion: Composing the two second step treatment alternatives in the type 2 diabetes treatment recommendations of ADA, basal insulin treatment in comparison to gliklazid-MR significantly reduced plasma sICAM-1 and sE-selectin levels, without affecting total body weight or body mass index (BMI). On the other hand, sulfonylurea treatment did not affect those markers, in addition to increasing total body weight and BMI. These results suggest that basal insulin treatment might be a promising approach in preventing late complications associated with type 2 diabetes, through inhibiting endothelial activation and damage.

This study was supported by The Scientific and Technological Research Council of Turkey Grant, 110S119 (to UÜ)

Keywords: Tip 2 Diabetes Mellitus, Endothelium, Basal Insulin, Sulfonilurea, Gliklazid, Insulin Detemir

7. KAYNAKLAR

1. Nathan DM, Buse JB, Davidson MB, Ferrannini E, Holman RR, Sherwin R, et al. Medical management of hyperglycemia in type 2 diabetes: a consensus algorithm for the initiation and adjustment of therapy: a consensus statement of the American Diabetes Association and the European Association for the Study of Diabetes. *Diabetes Care*. 2009;32(1):193-203.
2. Satman I, Yilmaz T, Sengul A, Salman S, Salman F, Uygur S, et al. Population-based study of diabetes and risk characteristics in Turkey: results of the turkish diabetes epidemiology study (TURDEP). *Diabetes Care*. 2002;25(9):1551-6.
3. Alvarsson M, Sundkvist G, Lager I, Henricsson M, Berntorp K, Fernqvist-Forbes E, et al. Beneficial effects of insulin versus sulphonylurea on insulin secretion and metabolic control in recently diagnosed type 2 diabetic patients. *Diabetes Care*. 2003;26(8):2231-7.
4. Ryan EA, Imes S, Wallace C. Short-term intensive insulin therapy in newly diagnosed type 2 diabetes. *Diabetes Care*. 2004;27(5):1028-32.
5. Li Y, Xu W, Liao Z, Yao B, Chen X, Huang Z, et al. Induction of long-term glycemic control in newly diagnosed type 2 diabetic patients is associated with improvement of beta-cell function. *Diabetes Care*. 2004;27(11):2597-602.
6. Goldberg RB. Cytokine and cytokine-like inflammation markers, endothelial dysfunction, and imbalanced coagulation in development of diabetes and its complications. *J Clin Endocrinol Metab*. 2009;94(9):3171-82.
7. Ballantyne CM, Nambi V. Markers of inflammation and their clinical significance. *Atheroscler Suppl*. 2005;6(2):21-9.
8. Christiansen T, Richelsen B, Bruun JM. Monocyte chemoattractant protein-1 is produced in isolated adipocytes, associated with adiposity and reduced after weight loss in morbid obese subjects. *Int J Obes (Lond)*. 2005;29(1):146-50.
9. Ehres JA, Boni-Schnetzler M, Faulenbach M, Donath MY. Macrophages, cytokines and beta-cell death in Type 2 diabetes. *Biochem Soc Trans*. 2008;36(Pt 3):340-2.
10. Ceriello A, Motz E. Is oxidative stress the pathogenic mechanism underlying insulin resistance, diabetes, and cardiovascular disease? The common soil hypothesis revisited. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2004;24(5):816-23.
11. Libby P, Ridker PM. Inflammation and atherosclerosis: role of C-reactive protein in risk assessment. *Am J Med*. 2004;116 Suppl 6A:9S-16S.
12. Berg AH, Combs TP, Du X, Brownlee M, Scherer PE. The adipocyte-secreted protein Acrp30 enhances hepatic insulin action. *Nat Med*. 2001;7(8):947-53.
13. Rakatzi I, Mueller H, Ritzeler O, Tennagels N, Eckel J. Adiponectin counteracts cytokine- and fatty acid-induced apoptosis in the pancreatic beta-cell line INS-1. *Diabetologia*. 2004;47(2):249-58.
14. Matsuzawa Y. Adiponectin: Identification, physiology and clinical relevance in metabolic and vascular disease. *Atheroscler Suppl*. 2005;6(2):7-14.
15. Shoelson SE, Lee J, Goldfine AB. Inflammation and insulin resistance. *J Clin Invest*. 2006;116(7):1793-801.

16. de Jager J, Dekker JM, Kooy A, Kostense PJ, Nijpels G, Heine RJ, et al. Endothelial dysfunction and low-grade inflammation explain much of the excess cardiovascular mortality in individuals with type 2 diabetes: the Hoorn Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2006;26(5):1086-93.
17. Mora C, Navarro JF. Inflammation and diabetic nephropathy. *Curr Diab Rep.* 2006;6(6):463-8.
18. Matsumoto K, Sera Y, Ueki Y, Inukai G, Niino E, Miyake S. Comparison of serum concentrations of soluble adhesion molecules in diabetic microangiopathy and macroangiopathy. *Diabet Med.* 2002;19(10):822-6.
19. Herder C, Lankisch M, Ziegler D, Rathmann W, Koenig W, Illig T, et al. Subclinical inflammation and diabetic polyneuropathy: MONICA/KORA Survey F3 (Augsburg, Germany). *Diabetes Care.* 2009;32(4):680-2.
20. Jager A, van Hinsbergh VW, Kostense PJ, Emeis JJ, Nijpels G, Dekker JM, et al. Increased levels of soluble vascular cell adhesion molecule 1 are associated with risk of cardiovascular mortality in type 2 diabetes: the Hoorn study. *Diabetes.* 2000;49(3):485-91.
21. Stehouwer CD, Gall MA, Twisk JW, Knudsen E, Emeis JJ, Parving HH. Increased urinary albumin excretion, endothelial dysfunction, and chronic low-grade inflammation in type 2 diabetes: progressive, interrelated, and independently associated with risk of death. *Diabetes.* 2002;51(4):1157-65.
22. Soinio M, Marniemi J, Laakso M, Lehto S, Ronnemaa T. High-sensitivity C-reactive protein and coronary heart disease mortality in patients with type 2 diabetes: a 7-year follow-up study. *Diabetes Care.* 2006;29(2):329-33.
23. Sattar N, Nelson SM. Adiponectin, diabetes, and coronary heart disease in older persons: unraveling the paradox. *J Clin Endocrinol Metab.* 2008;93(9):3299-301.
24. Muniyappa R, Iantorno M, Quon MJ. An integrated view of insulin resistance and endothelial dysfunction. *Endocrinol Metab Clin North Am.* 2008;37(3):685-711, ix-x.
25. Al-Qaisi M, Kharbanda RK, Mittal TK, Donald AE. Measurement of endothelial function and its clinical utility for cardiovascular risk. *Vasc Health Risk Manag.* 2008;4(3):647-52.
26. Stout RW. Insulin and atherogenesis. *Eur J Epidemiol.* 1992;8 Suppl 1:134-5.
27. Dagenais GR, Ahmed Z, Robitaille NM, Gingras S, Lupien PJ, Christen A, et al. Total and coronary heart disease mortality in relation to major risk factors--Quebec cardiovascular study. *Can J Cardiol.* 1990;6(2):59-65.
28. Pyorala M, Miettinen H, Laakso M, Pyorala K. Plasma insulin and all-cause, cardiovascular, and noncardiovascular mortality: the 22-year follow-up results of the Helsinki Policemen Study. *Diabetes Care.* 2000;23(8):1097-102.
29. Dandona P, Aljada A, Mohanty P. The anti-inflammatory and potential anti-atherogenic effect of insulin: a new paradigm. *Diabetologia.* 2002;45(6):924-30.
30. Fonseca VA. The effects of insulin on the endothelium. *Endocrinol Metab Clin North Am.* 2007;36 Suppl 2:20-6.
31. Nathan DM, Cleary PA, Backlund JY, Genuth SM, Lachin JM, Orchard TJ, et al. Intensive diabetes treatment and cardiovascular disease in patients with type 1 diabetes. *N Engl J Med.* 2005;353(25):2643-53.

32. Leonetti F, Iozzo P, Giaccari A, Sbraccia P, Buongiorno A, Tamburrano G, et al. Absence of clinically overt atherosclerotic vascular disease and adverse changes in cardiovascular risk factors in 70 patients with insulinoma. *J Endocrinol Invest.* 1993;16(11):875-80.
33. Baron AD. Insulin and the vasculature--old actors, new roles. *J Investig Med.* 1996;44(8):406-12.
34. Srinivasan M, Herrero P, McGill JB, Bennik J, Heere B, Lesniak D, et al. The effects of plasma insulin and glucose on myocardial blood flow in patients with type 1 diabetes mellitus. *J Am Coll Cardiol.* 2005;46(1):42-8.
35. Aljada A, Saadeh R, Assian E, Ghanim H, Dandona P. Insulin inhibits the expression of intercellular adhesion molecule-1 by human aortic endothelial cells through stimulation of nitric oxide. *J Clin Endocrinol Metab.* 2000;85(7):2572-5.
36. Aljada A, Ghanim H, Saadeh R, Dandona P. Insulin inhibits NFkappaB and MCP-1 expression in human aortic endothelial cells. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001;86(1):450-3.
37. Stentz FB, Umpierrez GE, Cuervo R, Kitabchi AE. Proinflammatory cytokines, markers of cardiovascular risks, oxidative stress, and lipid peroxidation in patients with hyperglycemic crises. *Diabetes.* 2004;53(8):2079-86.
38. Albertini JP, Valensi P, Lormeau B, Aurousseau MH, Ferriere F, Attali JR, et al. Elevated concentrations of soluble E-selectin and vascular cell adhesion molecule-1 in NIDDM. Effect of intensive insulin treatment. *Diabetes Care.* 1998;21(6):1008-13.
39. Chaudhuri A, Janicke D, Wilson MF, Tripathy D, Garg R, Bandyopadhyay A, et al. Anti-inflammatory and profibrinolytic effect of insulin in acute ST-segment-elevation myocardial infarction. *Circulation.* 2004;109(7):849-54.
40. Fonseca VA, Theuma P, Mudaliar S, Leissinger CA, Clejan S, Henry RR. Diabetes treatments have differential effects on nontraditional cardiovascular risk factors. *J Diabetes Complications.* 2006;20(1):14-20.
41. Rossi R, Cioni E, Nuzzo A, Origliani G, Modena MG. Endothelial-dependent vasodilation and incidence of type 2 diabetes in a population of healthy postmenopausal women. *Diabetes Care.* 2005;28(3):702-7.
42. Sena CM, Louro T, Matafome P, Nunes E, Monteiro P, Seica R. Antioxidant and vascular effects of gliclazide in type 2 diabetic rats fed high-fat diet. *Physiol Res.* 2009;58(2):203-9.
43. Shimabukuro M, Higa N, Takasu N. Comparison of the antioxidant and vascular effects of gliclazide and glibenclamide in Type 2 diabetic patients: a randomized crossover study. *J Diabetes Complications.* 2006;20(3):179-83.
44. Elhadd TA, Newton RW, Jennings PE, Belch JJ. Antioxidant effects of gliclazide and soluble adhesion molecules in type 2 diabetes. *Diabetes Care.* 1999;22(3):528-30.
45. Fava D, Cassone-Faldetta M, Laurenti O, De Luca O, Ghiselli A, De Mattia G. Gliclazide improves anti-oxidant status and nitric oxide-mediated vasodilation in Type 2 diabetes. *Diabet Med.* 2002;19(9):752-7.
46. Chen LL, Yu F, Zeng TS, Liao YF, Li YM, Ding HC. Effects of gliclazide on endothelial function in patients with newly diagnosed type 2 diabetes. *Eur J Pharmacol.* 2009;659(2-3):296-301.

47. Mather K, Anderson TJ, Verma S. Insulin action in the vasculature: physiology and pathophysiology. *J Vasc Res.* 2001;38(5):415-22.
48. Zeng G, Nystrom FH, Ravichandran LV, Cong LN, Kirby M, Mostowski H, et al. Roles for insulin receptor, PI3-kinase, and Akt in insulin-signaling pathways related to production of nitric oxide in human vascular endothelial cells. *Circulation.* 2000;101(13):1539-45.
49. Hsueh WA, Quinones MJ. Role of endothelial dysfunction in insulin resistance. *Am J Cardiol.* 2003;92(4A):10J-7J.
50. Muller MM, Griesmacher A. Markers of endothelial dysfunction. *Clin Chem Lab Med.* 2000;38(2):77-85.
51. Kumar N, Dey CS. Gliclazide increases insulin receptor tyrosine phosphorylation but not p38 phosphorylation in insulin-resistant skeletal muscle cells. *J Exp Biol.* 2002;205(Pt 23):3739-46.
52. Zavaroni I, Bonora E, Pagliara M, Dall'Aglia E, Luchetti L, Buonanno G, et al. Risk factors for coronary artery disease in healthy persons with hyperinsulinemia and normal glucose tolerance. *N Engl J Med.* 1989;320(11):702-6.
53. Ardigo D, Franzini L, Valtuena S, Monti LD, Reaven GM, Zavaroni I. Relation of plasma insulin levels to forearm flow-mediated dilatation in healthy volunteers. *Am J Cardiol.* 2006;97(8):1250-4.
54. Ross SA, Dzida G, Vora J, Khunti K, Kaiser M, Ligthelm RJ. Impact of weight gain on outcomes in type 2 diabetes. *Curr Med Res Opin.* 2011;27(7):1431-8.
55. United Kingdom Prospective Diabetes Study (UKPDS). 13: Relative efficacy years. *BMJ.* 1995;310(6972):83-8.
56. Phung OJ, Scholle JM, Talwar M, Coleman CI. Effect of noninsulin antidiabetic drugs added to metformin therapy on glycemic control, weight gain, and hypoglycemia in type 2 diabetes. *JAMA.* 2010;303(14):1410-8.
57. Holman RR, Farmer AJ, Davies MJ, Levy JC, Darbyshire JL, Keenan JF, et al. Three-year efficacy of complex insulin regimens in type 2 diabetes. *N Engl J Med.* 2009;361(18):1736-47.
58. Waugh N, Cummins E, Royle P, Clar C, Marien M, Richter B, et al. Newer agents for blood glucose control in type 2 diabetes: systematic review and economic evaluation. *Health Technol Assess.* 2010;14(36):1-248.