T.C.
SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
ANKARA SAĞLIK UYGULAMA VE ARAŞTIRMA MERKEZİ

DİYABETİK KADINLARDA HEM OKSİJENAZ-1 (HO-1) ENZİM DÜZEYLERİNİN GLİSEMİK KONTROL İLE İLİŞKİSİ

Dr. Osman SAĞLAM

TIPTA UZMANLIK TEZİ

ANKARA
2017

T.C.
SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
ANKARA SAĞLIK UYGULAMA VE ARAŞTIRMA MERKEZİ

DİYABETİK KADINLARDA HEM OKSİJENAZ-1 (HO-1) ENZİM DÜZEYLERİNİN GLİSEMİK KONTROL İLE İLİŞKİSİ

Dr. Osman SAĞLAM

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Tez Danışmanı
Prof. Dr. Neşe ERSÖZ GÜLÇELİK

ANKARA
2017

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim boyunca birlikte çalışmaktan onur duyduğum, bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım, başta Prof. Dr. Gül Gürsoy, Prof. Dr. Murat Kekilli, Doç. Dr. Selman Ünverdi, Uzm. Dr. Ömer Dönderici ve bu süreçte sabrını ve desteğini esirgemeyen tez hocam Prof. Dr. Neşe Ersöz Gülçelik olmak üzere tüm değerli hocalarımıza,

Asistanlığım süresince birlikte çalışma fırsatı bulduğum tüm abi ve ablalarımıza, asistan arkadaşlarıma, kliniğimiz hemşirelerine ve tüm hastane personeline,

Tezimin hazırlanmasında emeği geçen Dr. Tülay Omma'ya ve Dr. Anara Karaca'ya,

Sonsuz destek ve sevgilerini her zaman hissettiğim aileme, teşekkür ve saygılarımı sunarım.

Dr. Osman SAĞLAM

ÖZET

Sağlam, O. Diyabetik kadınlarda hem oksijenaz-1 (HO-1) enzim düzeylerinin glisemik kontrol ile ilişkisi. T.C. Sağlık Bilimleri Üniversitesi Ankara Sağlık Uygulama ve Araştırma Merkezi, İç Hastalıkları Kliniği, Uzmanlık Tezi, Ankara, 2017.

Amaç

Diyabeti olan kadınlarda serum HO-1(hem oksijenaz-1) enzim düzeylerinin glisemik kontrol üzerine etkisini incelemek.

Gereç ve Yöntem

Hem oksijenaz hem molekülünün parçalanması üzerinden gelişen hücre farklılaşması, eritrosit döngüsü ve demir konsantrasyonunu dengede tutmak gibi bilinen etkilerinin yanı sıra reaksiyon ürünleri üzerinden gelişen önemli sitoprotektif etkilere de sahiptir. HO-1'in yer aldığı reaksiyon sonucu CO (karbon monoksit), bilirubin ve Fe/Ferritin ortaya çıkar. DM(diyabetes mellitus) ile bilirubin arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışmalarda DM ile bilirübin arasında negatif ilişki saptanmıştır. Beslenme durumundan bağımsız olarak diyabetik hastalarda yüksek ferritin düzeyleri saptanmıştır. Ayrıca artmış demir depoları hemokromatozis sınırında olmasa bile diyabet gelişimi üzerine etkili bulunmuştur. Ratlarla yapılan çalışmalarda HO-1 enziminin açlık plazma glukozunu düşürdüğü ve insülin duyarlılığını artırdığı gösterilmiştir. Bu yüzden bizde ferritin, bilirübin ve HO-1 ile DM ilişkisini inceleyen bir çalışma planladık. T.C. Sağlık Bilimleri Üniversitesi Ankara Sağlık Uygulama ve Araştırma Merkezi İç hastalıkları ve Endokrinoloji Polikliniğine ayaktan başvuran 31 DM hastası ve benzer özelliklerde 32 sağlıklı kontrol grubu gönüllü olarak çalışmaya alındı. Hastalara bilgilendirilmiş onam formu imzalatıldı. Hastalar ve kontroller yaş ve beden kitle indeksi (BKİ) açısından benzer iki gruba ayrıldı. Katılımcıların İç Hastalıkları ve Endokrinoloji polikliniğindeki son 3 aya kadar yapılmış olan biyokimyasal testlerinin sonuçları değerlendirmeye alındı. İstatistiksel analiz SPSS 16.0 for Windows (SPSS, Inc.; Chicago, USA) paket programı kullanılarak yapıldı.

Bulgular

Çalışmaya katılan hasta grubunun yaş ortalaması 53,16 ± 6,13 yıl ve kontrol grubunun yaş ortalaması 49,22 ± 10,00 yıldır. Yaş açısından gruplar arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (p= 0,064). Çalışmaya katılan hasta grubunun BKİ 28,76 ± 3,12 kg/m^2 ve kontrol grubunun BKİ (beden kitle indeksi) 27,52 ± 3,752 kg/m^2'dir. BKİ açısından gruplar arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (p= 0,159). Çalışmayı alınan 31 kişilik hasta grubunun ferritin değeri 39,46 ± 37,80 ng/ml ve 32 kişilik kontrol grubunun ferritin değeri 22,51 ± 17,31 ng/ml olarak bulundu. Ferritin açısından gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu. (p=0,028). Çalışmaya alınan 31 kişilik hasta grubunun total bilirübin değeri 0,54 ± 0,22 mg/dl ve 32 kişilik kontrol grubunun total

bilirübin değeri 0,79 ± 1,21 mg/dl olarak bulundu. Total bilirübin açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı (p=0,260). Çalışmaya alınan 31 kişilik hasta grubunun HO-1 değerleri 2,99 ± 1,99 ng/ml ve 32 kişilik kontrol grubunun HO-1 değerleri 3,39 ± 1,94 ng/ml'dir. HO-1 açısından gruplar arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (p= 0,426). Ayrıca HO-1 ile glisemik parametreler arasında korelasyon saptanmadı (p>0,05). Ferritin ile Hemoglobin, HbA1c, AKŞ (açlık kan şekeri) ve TKŞ (tokluk kan şekeri) arasında pozitif yönde istatistiksel olarak anlamlı korelasyon bulundu. hsCRP ile AKŞ, TKŞ ve BKİ arasında pozitif yönde istatistiksel olarak anlamlı korelasyon bulundu.

Sonuç

Ferritin, bilirübin ve CO HO-1 enziminin yer aldığı reaksiyonun ürünleridir ve glisemik kontrol ile ilişkili olabileceğini öne süren çalışmalar bulunmaktadır. Çalışmamızda DM ile kontrol grubu arasında ferritin açısından anlamlı fark saptanırken total bilirübin ve HO-1 düzeyi açısından DM ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır. Ferritin düzeylerinin diyabetik hastalarda kontrol grubuna göre yüksek bulunması ve ferritin düzeylerinin glisemik parametrelerle korele olması ferritinin diyabet patogenezinde önemli rol oynadığını göstermektedir. Fakat bu ilişki hem molekülünün HO-1 aracılığıyla yıkılması ile ilişkilendirilememiştir. Ferritin, total bilirübin ve HO-1 ile DM ilişkisinin saptanması için daha kapsamlı çalışmalara ihtiyaç vardır.

Kısa Özet

HO-1'in yer aldığı reaksiyon sonucu CO, bilirubin ve Fe/Ferritin ortaya çıkar. HO-1 enziminin açlık plazma glukozunu düşürdüğü ve insülin duyarlılığını artırdığını gösteren çalışmalar vardır. Bu yüzden biz de ferritin, bilirübin ve HO-1 ile DM ilişkisini inceleyen bir çalışma planladık. Çalışmamızda DM ile kontrol grubu arasında ferritin açısından anlamlı fark saptanırken total bilirübin ve HO-1 düzeyi açısından DM ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır (sırasıyla; p=0,028, p=0,260, p= 0,426).

Anahtar Kelimeler: Diyabetes mellitus, Ferritin, Total bilirübin, Hem oksijenaz-1, Glisemik kontrol

ABSTRACT

Saglam, O. The relationship between heme oxygenase-1 (HO-1) enzyme levels and glycemic control in diabetic women. The Republic of Turkey, Health Sciences University Ankara Health Training and Research Centre, Department of Internal Medicine, Specialization Thesis, Ankara, 2017.

Aim

Effect of serum HO-1(heme oxygenase-1) enzyme levels on glycemic control in women with diabetes.

Materials and Methods

There are known effects of heme oxigenase, such as cell differentiation, hemocyte cycling and iron concentration, which are mediated by the degradation of the heme. However, it also has significant cytoprotective effects evoked by the reaction products of heme oxigenase. The reaction involving HO-1 produces CO (carbon monoxide), bilirubin and Fe/Ferritin. A negative relationship between DM (diabetes mellitus) and bilirubin was found in studies that investigate the relationship between DM and bilirubin. High levels of ferritin were detected in diabetic patients, regardless of nutritional status. In addition, increased iron stores were found to be effective on the development of diabetes even if not on the hemochromatosis level. Studies in rats have shown that HO-1 decreases fasting plasma glucose and increases insulin sensitivity. Therefore, we have planned a study that examines the relationship of DM with ferritin, bilirubin and HO-1. 31 DM patients and 32 healthy control groups with similar characteristics who were admitted to the outpatient services of The Republic of Turkey, Health Sciences University Ankara Health Training and Research Centre, Departments of Internal Medicine and Endocrinology were included in the study with the consent of the patients. Patients signed the informed consent form. Patients were divided into two groups according to their age and body mass index (BMI). All participants' biochemical measurements in the last three months were analyzed. Resulting data were analyzed by using SPSS 16.0 for Windows (SPSS, Inc.; Chicago, USA) package program.

Results

The average age of patients who participating in the study is 53.16 ± 6.13 years and the average age of the control group is 49,22 ± 10,00 years. The difference between the groups for age was not statistically significant (p= 0,064). The BMI of the patient group was 28.76 ± 3.12 kg/m^2 and the BMI of the control group was 27.52 ± 3.75 kg/m^2. The difference between the groups for BMI was not statistically significant (p= 0,159). The ferritin values of the patient group were (31 people) 39,46 ± 37,80 ng/ml and ferritin values of the control group (32 people) were 22,51 ± 17,31 ng/ml. In terms of ferritin, there was a statistically significant difference between the

groups. (p= 0,028). The total bilirubin values of the patient group were (31 people) 0,54 ± 0,22 mg/dl and total bilirubin values of the control group (32 people) were 0,79 ± 1,21 mg/dl. The difference between the groups in terms of total bilirubin was not statistically significant (p= 0, 260). The HO-1 values of the patient group were (31 people) 2.99 ± 1.99 ng/ml and HO-1 values of the control group (32 people) were 3.39 ± 1.94 ng/ml. The difference between the groups in terms of HO-1 was not statistically significant (p= 0,426). In addition, there was no correlation between HO-1 and glycemic parameters (p> 0.05). There was a statistically significant correlation between ferritin and hemoglobin, HbA1c, FBG (fasting blood sugar), PBG (postprandial blood glucose) in the positive direction. There was a statistically significant correlation between hsCRP and FBG, PBG, BMI in the positive direction.

Conclusion

Ferritin, bilirubin and CO are are products of HO-1 reaction and there are studies suggesting that HO-1 and products of HO-1 might be associated with glycemic control. In our study, there was a significant difference between DM and control group in terms of ferritin, meanwhile there was no statistically significant difference between DM and control group in terms of total bilirubin and HO-1 levels. The fact that ferritin levels are higher in diabetic patients compared to the control group and that ferritin levels correlate with glycemic parameters indicate that ferritin plays an important role in the pathogenesis of diabetes. But this relationship has not been associated with the degradation of both the molecule by HO-1. There is need for more comprehensive studies to determine the relationship ferritin, bilirubin, HO-1 and DM.

Short Abstract

The reaction involving HO-1 produces CO, bilirubin and Fe / Ferritin. There are studies showing that HO-1 reduces fasting plasma glucose and increases insulin sensitivity. Therefore, we have planned a study that examines the relationship of DM with ferritin, bilirubin and HO-1. In our study, there was a significant difference between DM and control group in terms of ferritin, meanwhile there was no statistically significant difference between DM and control group in terms of total bilirubin and HO-1 levels (respectively p = 0.028, p = 0.260, p = 0.426).

Key Words: Diabetes Mellitus, Ferritin, Bilirubin, Heme oxigenase-1, Glycemic control

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR i
ÖZET ii
ABSTRACT iv
İÇİNDEKİLER vi
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ viii
TABLO DİZİNİ x
ŞEKİLLER DİZİNİ xi
1. GİRİŞ 1
2. GENEL BİLGİLER 4
2.1. DİYABETES MELLİTUS 4
2.1.1. Tanımı ve Tarihçesi 4
2.1.2. Epidemiyoloji 5
2.1.3. Tanı Kriterleri 5
2.1.4. Sınıflama 6
2.1.5. Patogenez 8
2.2. TİP 2 DİYABET ve KRONİK KOMPLİKASYONLARI 10
2.2.1. Mikrovaskuler Komplikasyonlar 11
2.2.1.1. Diyabetik Retinopati: 11
2.2.1.2. Diyabetik Nefropati: 12
2.2.1.3. Diyabetik Nöropati: 13
2.2.2. Makrovasküler Komplikasyonlar 14
2.2.2.1. Diyabette Periferik Arter Hastalığı: 15
2.2.2.2. Diyabetik Ayak: 15
2.2.2.3. Diyabette Serebrovasküler Komplikasyonlar: 15
2.2.2.4. Diyabette Kardiyovasküler Komplikasyonlar: 16
2.3 HEM OKSİJENAZ ENZİM SİSTEMİ 17
2.3.1 Hem Molekülü 17
2.3.2 Hem Molekülünün Hem Oksijenaz ile Oksidatif Parçalanması 18
2.3.3. HO İzoformları ve Moleküler Özellikleri 18
2.3.4. Doku Dağılımları ve Subselüler Lokalizasyonları 18

2.3.5 HO-1/HO-2 İndüksiyonu ve Regülasyonu 19
2.3.6 Hem Oksijenazın Reaksiyon Ürünleri ve Fonksiyonları 20
2.3.6.1 Demir ve Ferritin: 20
2.3.6.2 Biliverdin ve Bilirubin: 21
2.3.6.3 Karbon Monoksit 21
2.3.7. HO-1 Ürünlerinin Vasküler Sistem Üzerine Etkileri 22
2.3.8. Bilirübin, Ferritin, Karbon monoksit ve HO-1 ile Diyabet İlişkisi 23
3.GEREÇ VE YÖNTEM 25
3.1. Hasta Seçimi 25
3.2. ÇALIŞMADAN DIŞLANMA KRİTERLERİ 25
3.3. BİYOKİMYASAL PARAMETRELERİN ÖLÇÜMÜ 25
3.4. İSTATİSTİKSEL ANALİZ 26
4. BULGULAR 27
5. TARTIŞMA 31
6. SONUÇ 37
7. KAYNAKLAR 38

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

ABD	: Amerika Birleşik Devletleri
ACE	: Anjiotensin Dönüştürücü Enzim
ADA	: Amerikan Diyabet Akademisi
AKŞ	: Açlık Kan Şekeri
ALT	: Alanin Aminotransferaz
AST	: Aspartat Aminotransferaz
BKİ	: Beden Kütle İndeksi
BMI	: Beden Kütle İndeksi
cGMP	: Siklik 3',5'-Guanozin Monofosfat
CO	: Karbon Monoksit
CoPP	: Kobalt Protoporfirin IX
DM	: Diyabetes Mellitus
DNA	: Deoksiribo Nükleik Asit
DSÖ	: Dünya Sağlık Örgütü
ET-1	: Endotelin-1
FBG	: Açlık Plazma Glukozu
Fe	: Demir
GFR	: Glomerüler Filtrasyon Hızları
GGT	: Gama Glutamil Transferaz
GS	: Guanilat Siklaz
HbA1c	: Glikolize Hemoglobin
HDL	: Yüksek Yoğunluklu Lipoprotein
HIV	: İnsan İmmünyetmezlik Virüsü
H2O	: Su
HO-1	: Hem Oksijenaz-1
HO-2	: Hem Oksijenaz-2
hsCRP	: Yüksek Duyarlılıklı C-Reaktif Protein
HSP 32	: Isı Şok Proteini 32
IDF	: Uluslararası Diyabet Federasyonu
IL-6	: İnterlökin-6

KBH	: Kronik Böbrek Hastalığı
Kca	: Kalsiyuma Bağlı Potasyum Kanalları
K*m*	: Michaelis-Menten Sabiti
L-4F	: Apolipoproteinmimetik Peptid
LDL	: Düşük Yoğunluklu Lipoprotein
M.Ö.	: Milattan Önce
M.S.	: Milattan Sonra
NADP	: Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat
NFkB	: Nükleer Faktör Kappa B
NO	: Nitrik Oksit
NOS	: Nitrik Oksit Sentaz
PBG	: Postprandial Kan Glukozu
SPSS	: Sosyal Bilimler İçin İstatistik Paketi
TEMD	: Türk Endokrin ve Metabolizma Derneği
TKŞ	: Tokluk Kan Şekeri
TNF- α	: Tümör Nekroz Faktörü Alfa
VCAM-1	: Vasküler Hücre Adezyon Molekülü-1
WBC	: Beyaz Küre

TABLO DİZİNİ

Tablo 1. DM ve glukoz metabolizmasının diğer bozukluklarında tanı kriterleri 6
Tablo 2. Bazı HO-1 indüktörleri 19
Tablo 3. Demografik Özellikler 27
Tablo 4. Diyabet ve kontrol grubunda parametrelerin dağılımı 28
Tablo 5. Korelasyon analizi sonuçları 30

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Hem molekülünün yapısı 17
Şekil 2. Hem molekülünün parçalanma ürünleri ve fonksiyonları 20
Şekil 3. Gruplara Göre Ferritin Grafiği 29
Şekil 4. Gruplara Göre HO-1 Grafiği 29

1. GİRİŞ

Diyabetes Mellitus (DM), insülin sekresyonunda, etkisinde veya her ikisinde bozukluğun sebep olduğu ve sonuçta hiperglisemi ile seyreden bir metabolik hastalıktır. Bununla beraber aminoasit ve yağ metabolizması da dahil olmak üzere birçok sistemi etkilemektedir (1).

2000'li yılların başında tip 2 DM prevalansı sağlıklı verisi olan ülkelerin verilerine dayandırılarak %7-8 olarak açıklamıştır ve bu oran toplumlara göre değişkenlik göstermektedir. DM'in insidans hızını da göz önüne alarak 2025 yılında Tip 2 DM prevalansının DSÖ'ye göre iki katına çıkması beklenmektedir (5, 6). Aynı veriler Türkiye'de yapılan ve diyabet prevelansına bakılan TURDEP çalışmasında da 1999 yılında dünya ile benzer olarak %6.7 bulunmuştur (7). 2010 yılında yapılan prevalans çalışmalarında gerek tüm dünyada gerekse de ülkemizde Tip 2 DM'nin beklenenden çok hızlı arttığı görülmüş ve 2025 yılında DSÖ'nün öngördüğü rakamlara 20 yıl daha erken ulaşıldığı saptanmıştır. Bu artıştan sonra durumun pandemi seviyesinde olduğu kararına varılmıştır. Ülkemizde yapılan TURDEP-2 tarama çalışmasında da prevalansın %13.7'ye çıktığı görülmüştür (8).

Akut ve kronik komplikasyonlar DM'li hastaların erken ölümlerinden ve morbiditesinden sorumludur. Tüm komplikasyonlar hem tip 1 hem de tip 2 DM'de görülebilmekle birlikte bazı farklılıklar vardır. Her iki diyabet tipinde de mortalite ve morbiditenin önemli bir kısmından makrovasküler komplikasyonlar sorumludur. Tip 2 DM'de ise, ölümlerin %80'inden sorumlu olduklarından, makrovasküler komplikasyonlar daha da büyük bir önem kazanmaktadır. DM tüm hasta gruplarında aterosklerozun doğal seyrini hızlandırmaktadır. Tip 2 DM'de hipergliseminin kendisi ateroskleroz ilerleyişini kuvvetlendirmede önemli rol oynamaktadır. (38).

Hem-oksijenaz-1 (HO-1) enzimi hem proteininin metabolizmasında yer alan bir enzimdir. HO-1 aktivitesi sonucu hem proteini parçalanarak bilirübin, karbon monoksit (CO) ve ferröz demir oluşur. Hem proteininin HO-1 enzimi ile parçalanması sonucu açığa çıkan ürünlerin inflamasyonu baskıladığı gösterilmiştir (107,108). HO-1 aktivitesinin oksidatif strese karşı hücresel savunmada rol aldığı bildirilmiştir (109). Hem oksijenaz hem molekülünün parçalanması üzerinden gelişen hücre farklılaşması, eritrosit döngüsü ve demir konsantrasyonunu dengede tutmak

gibi bilinen etkilerinin yanı sıra reaksiyon ürünleri üzerinden gelişen önemli sitoprotektif etkilere de sahiptir. HO-1'in yer aldığı reaksiyon sonucu CO, bilirubin ve Fe/Ferritin ortaya çıkar. Günümüze kadar hem oksijenazın genetik olarak farklı iki izoformu tanımlanmıştır: indüklenebilir formu HO-1 ve yapısal formu HO-2 (56-58). HO-1 and HO-2 aynı reaksiyonları katalize ederler. Katalize ettikleri reaksiyonda kullandıkları substrat, kofaktör ve koenzim aynıdır. Ancak farklı enzim kinetikleri, K*m* değerleri, termostabiliteleri ve immünoreaktiviteleri vardır (56,57). HO-1 aynı zamanda stress proteini HSP32 olarak da bilinir (59). Yapısal hem oksijenaz formu olan HO-2 sadece adrenal glukokortikoidlere yanıt verirken, HO-1 kimyasal ve fiziksel bir çok uyarıdan etkilenir.

Oksidatif stres ve artan reaktif oksijen türleri diyabetik hastalarda kardiyovasküler komplikasyonlara neden olan faktörlerdendir (97). Diyabete bağlı olarak oksidan ve/veya antioksidan sistemler arasındaki bozulan denge ve buna bağlı olarak gelişen oksidatif stres antioksidan enzimler ile dengelenerek sitotoksik etkiler ortadan kaldırılabilir. Antioksidan enzimlerden indüklenebilir HO-1, ürünleri aracılığı ile sitoprotektif etki göstererek diyabetik vasküler hasar üzerinde regüle edici etki gösterebilir (98).

Ferritin sitoprotektif etkili bir moleküldür ve HO aktivitesine bağlı olarak artan sentezi HO aracılı sitoprotektif etkiyi potansiyalize ederek hücrelerin daha dirençli hale gelmesini sağlar (70-72). Bilirubin memeli hücrelerinde en fazla bulunan endojen antioksidandır ve insan serumundaki antioksidan aktivite büyük oranda bilirubin kaynaklıdır (74). Bilirubinin antiinflamatuvar etkisi büyük olasılıkla reaktif oksijen türlerini yakalamasına bağlı olarak gelişir (80). CO vazodilatatör etkilidir. Ayrıca CO'nun antiinflamatuvar etkili olduğunu göstermiştir. CO antiinflamatuvar sitokinlerin sentezini artırarak veya inflamatuvar etkili sitokinler üzerinde inhibitör etki göstererek inflamasyonu regüle eder (92).

Bilirübin vasküler inflamasyonu önleyerek HO-1 enziminin antiaterojenik etkisini oluşturur (104). Moleküler çalışmalarda yüksek kan glukoz düzeylerinin süperoksit oluşumunu artırarak ve nitrik oksit sentaz aktivitesini azaltarak HO-1 aktivitesini düşürdüğü gösterilmiştir. HO-1 düzeylerindeki artışın bilirübinin antioksidan özellikleri aracılığıyla yüksek glukoz düzeylerine karşı sitoprotektif etki gösterdiği moleküler çalışmalarda gösterilmiştir (110). Ratlarla yapılan çalışmalarda

HO-1 enziminin açlık plazma glukozu ve insülin seviyesini düşürdüğü, insülin duyarlılığını artırdığı gösterilmiştir (104). Biz de diyabeti olan kadınlarda serum ferritin, total bilirübin ve HO-1 düzeylerinin glisemik kontrol üzerine etkisini incelemeyi planladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. DİYABETES MELLİTUS

2.1.1. Tanımı ve Tarihçesi

DM insülin sekresyonunda, etkisinde veya her ikisinde bozukluğun sebep olduğu ve sonuçta hiperglisemi ile seyreden metabolik bir hastalıktır. Bununla beraber aminoasit ve yağ metabolizması da dahil olmak üzere birçok sistemi etkilemektedir (1).

Tarihte DM ile ilgili ilk tanımlamalar miladdan önceye (M.Ö.) dayanmaktadır. Klinik olarak ilk tanımı Aulus Cornelius Celsus tarafından M.Ö. 50 yıllarında yapılmıştır. Ayrıntılı tanımı ise Kapadokyalı Yunan hekim Aretaeus tarafından milattan sonra (M.S.) 2. yüzyılda yapılmıştır. İbni Sina M.S 960 yıllarında diyabet üzerine çalışmış ve tedavi rejimleri sunmuştur. Avrupa'da Mathew Dobson diyabetik hastalardaki idrarın tadının şekerden kaynaklandığını ispatlamış ve tedavi olarak düşük karbonhidratlı diyetler vermiştir. 1870 yıllarında Fransız doktor Bouchard diyabetik hastaların savaş dönemlerinde yetersiz beslenmeye bağlı düşük şeker alımı sonucunda iyileştiğini tespit etmiştir. Araştırmacı Claude Bernard, karaciğerde aşırı glikojenoliz sonucu ortaya çıkan aşırı glukozun idrara atıldığı ve aşırı glukozun diyabete neden olduğu hipotezini ortaya atmıştır. 1869 yılında Paul Langerhans pankreas dokusunda adacık hücrelerini keşfetmiştir. Alman bilim adamı, Georg Zuelzer ilk enjektabl insülin ekstresini üretmiş ancak kullanıldığında aşırı yan etkiler gözlenmiştir. 1921 yılında Frederick Grant Banting ve Charles H. Best özel kimyasal yöntemlerle pankreastan ilk saf insülini elde etmiş ve Leonar Thomson'un tedavisinde başarıyla kullanmışlardır. 1936 yılında Hagedorn kristalize insüline bir balık proteini olan protamin ilave ederek daha uzun etkili bir insülin elde etmiştir. 1940 yılında diyabet ve uzun dönem komplikasyonlar arasındaki ilişki saptanmıştır. 1955-1957 yıllarında hala geniş kapsamlı kullanıma sahip oral antidiyabetik ajanlardan metfromin ve sülfonilüreler piyasaya sürülmüştür. 1966 yılında ilk pankreas nakli yapılmıştır. 1983 yılında ilk biyosentetik insan insülini bulunmuş ve 1986 yılında ilk kez insülin preparatları kalem halinde kullanıma sunulmuştur. Son

yıllardaki gelişmelerle de çok kısa etkili ve uzun etkili insülin analogları kullanımına başlanmıştır (2-4).

2.1.2. Epidemiyoloji

2000'li yılların başında tip 2 DM prevalansı sağlıklı verisi olan ülkelerin verilerine dayandırılarak % 7-8 olarak açıklamıştır ve bu oran toplumlara göre değişkenlik göstermektedir. DM'in insidans hızını da göz önüne alarak 2025 yılında Tip 2 DM prevalansının DSÖ'ye göre iki katına çıkması beklenmektedir (5, 6). Aynı veriler 1999 yılında Türkiye'de yapılan ve DM prevelansına bakılan TURDEP çalışmasında da dünya ile benzer olarak % 6.7 bulunmuştur (7). 2010 yılında yapılan prevalans çalışmalarında hem tüm dünyada hem de ülkemizde Tip 2 DM'nin beklenenden çok hızlı arttığı görülmüş ve 2025 yılında DSÖ'nün öngördüğü rakamlara 20 yıl daha erken ulaşıldığı saptanmıştır. Bu artıştan sonra durumun pandemi seviyesinde olduğu kararına varılmıştır. Ülkemizde yapılan TURDEP-2 tarama çalışmasında da prevalansın % 13.7'ye çıktığı görülmüştür (8). Uluslararası Diyabet Federasyonu (IDF) verilerine göre 2007 yılı itibarı ile Dünya'da 246 milyon diyabetli kişinin yaşadığı, bunların % 46'sının orta (40-59) yaş grubunda olduğu ve eğer önlem alınmazsa 2025 yılında diyabetli nüfusun 380 milyona ulaşacağı tahmin edilmektedir (9).

2.1.3. Tanı Kriterleri

Diyabet ve glukoz metabolizmasının diğer bozuklukları için 2003 ve 2010 yılı revizyonlarınıda kapsayan yeni tanı kriterleri Tablo 1'de görülmektedir (10).

Tablo 1. DM ve glukoz metabolizmasının diğer bozukluklarında tanı kriterleri

	Aşikar DM	BAG(**)	BTG	BAG(**)+ BGT	DM Riski Yüksek
APG (≥8 st açlıkta)	≥126 mg/dl	100-125mg/dl	<100 mg/dl	100-125 mg/dl	-
OGTT 2.st PG (75 g glukoz)	≥200 mg/dl	<140 mg/dl	140-199 mg/dl	140-199 mg/dl	-
Rastgele PG	≥200 mg/dl + Diyabet semptomları	-	-	-	-
A1C(***)	≥ %6.5	-	-	-	%5.7-6.4

(*) Glisemi venöz plazmada glukoz oksidaz yöntemi ile 'mg/dl' olarak ölçülür.

(**) 2006 yılı WHO/IDF raporunda normal APG kesim noktasının 110 mg/dl ve IFG 110-125 mg/dl olarak korunması benimsenmiştir.

(***) Standardize metotlarla ölçülmelidir.

DM: Diabetes mellitus, APG: Açlık plazma glukozu, 2.st PG: 2. saat plazma glukozu, OGTT: Oral glukoz tolerans testi, A1C: Glikozillenmiş hemoglobin A1c, IFG: Bozulmuş açlık glukozu (impaired fasting glucose), WHO: Dünya Sağlık Örgütü, IDF: Uluslararası Diyabet Federasyonu

2.1.4. Sınıflama

ADA ve TEMD tarafından kabul edilen sınıflama (10).

DM Etyolojik Sınıflaması;

I. Tip 1 Diyabet

(Genellikle mutlak insülin noksanlığına sebep olan β-hücre yıkımı vardır.)

A. İmmün Aracılıklı

B. İdiyopatik

II. Tip 2 Diyabet

(İnsülin direnci zemininde ilerleyici insülin sekresyon defekti ile karakterizedir.)

III. Gestasyonel Diyabetes Mellitus (GDM)

(Gebelik sırasında ortaya çıkan ve genellikle doğumla birlikte düzelen diyabet.)

IV. Diğer spesifik Diyabet tipleri

A. ß-hücre fonksiyonlarının genetik defekti (monogenik diyabet formları)

- 20. Kromozom, HNF-4α (MODY1)
- 7. Kromozom, Glukokinaz (MODY2)
- 12. Kromozom, HNF-1α (MODY3)
- 13. Kromozom, IPF-1 (MODY4)
- 17. Kromozom, HNF-1ß (MODY5)
- 2. Kromozom, NeuroD1 (MODY6)
- 2.Kromozom, KLF 11 (MODY7)
- 9.Kromozom, CEL (MODY8)
- 7.Kromozom, PAX4 (MODY9)
- 11.Kromozom, INS (MODY10)
- Mitokondriyal DNA
- 11.Kromozom, Neonatal DM (Kir 6.2, ABCC8, KCNJ11 mutasyonu)
- Diğerleri

B. İnsülinin etkisindeki genetik defektler

- Leprechaunism
- Lipoatrofik diyabet
- Rabson-Mendenhall sendromu
- Tip A insülin direnci
- Diğerleri

C. Pankreasın ekzokrin doku hastalıkları

- Fibrokalkulöz pankreatopati
- Hemokromatoz
- Kistik fibroz
- Neoplazi
- Pankreatit

- Travma/pankreatektomi
- Diğerleri

D. Endokrinopatiler

- Akromegali
- Aldosteronoma
- Cushing sendromu
- Feokromositoma,
- Glukagonoma
- Hipertiroidi
- Somatostatinoma
- Diğerleri

E. İlaç veya kimyasal ajanlar

- Atipik anti-psikotikler
- Anti-viral ilaçlar (HIV tedavisi)
- ß-adrenerjik agonistler
- Diazoksid

HNF-1a: Hepatosit nükleer faktör-1a, MODY1-10: Gençlerde görülen erişkin tipi diyabet formları 1-10 (maturity onset diabetes of the young 1-10), HNF-4a: Hepatosit nükleer faktör-4a, IPF-1: İnsülin promotör faktör-1, HNF-1b: Hepatosit nükleer faktör-1b, NeuroD1: Nörojenik diferansiyasyon 1, DNA: Deoksi-ribonükleik asit, HIV: İnsan immun eksiklik virusu, KLF11: Kruppel like factor 11, CEL: Carboxyl ester lipase (bile salt-dependent lipase), PAX4: Paired box4, ABCC8: ATP-binding cassette C8, KCNJ11: Potassium inwardly rectifying channel J11, INS: İnsülin

2.1.5. Patogenez

Tip 2 DM klinik belirtileri her ne kadar 40 yaşın üzerinde ortaya çıksa da ve obesite ile ilişkili olsa da genetik faktörlerin patofizyolojide önemli bir rol oynadığı açıktır. Her iki ebeveyninde tip 2 DM olan veya monozigotik ikizinde tip 2 DM olan bir kimsenin yaşam boyu hastalık riski farklı sosyal çevrelerde yaşasalar bile % 80'e kadar çıkabilmektedir. Tip 2 DM tek bir ebeveyne sahip olmak veya tek bir kardeşe sahip olmak yaklaşık %30 kadar bir risk artışı getirmektedir ve bu rakam genel popülasyondaki riskin 2-4 katı kadardır. Çevresel faktörler olmadan tek başına

genetik faktörler tip 2 DM gelişiminde yetersiz kalmaktadır. İnsülin duyarlılığını etkileyerek tip 2 DM gelişiminde rol oynayan çevresel faktörler arasında yüksek yağ içerikli ve düşük lifli diyet, visseral obezite, fiziksel hareketsizlik yer alır (11-12). İnsülin sekresyonunu ve insüline karşı doku yanıtını olumsuz biçimde etkileyen, çevresel ve genetik faktörlerin karşılıklı olarak etkileşimi, tip 2 DM patogenezinde rol oynamaktadır. İnsülin direnci ve beta hücre fonksiyonunda bozulma, tip 2 DM ortaya çıkmadan önce mevcuttur ve hastalığın ortaya çıkacağını öngören göstergelerdir (13-14). İnsülin pulsatil olarak salgılanmaktadır. Pankreas beta hücrelerinin insülin salgılanması sürecinde iki faz dikkati çekmektedir. Biri hızlı insülin salgı fazı, diğeri yavaş ve sürekli insülin salgı fazıdır. İnsülin sekresyonunda birinci fazın yokluğu ve pulsatil salgı düzenindeki değişimler tip 2 DM gelişim sürecindeki beta hücre fonksiyon bozukluğunun ilk belirtilerini yansıtır ve genellikle de klinik belirtiler ortaya çıkmadan önce saptanabilir. İnsülin tarafından uyarılan hücre içine glukoz alımında azalma veya insülin direnci, tip 2 DM gelişiminde en erken tespit edilen fonksiyonel bozukluklardır. Yapılan prospektif bir çalışma, her iki ebeveyni de tip 2 diyabet hastası olan çocuklarda, insülin duyarlılığı ile birlikte insülin sekresyon şekillerini araştırmışlardır. Araştırmacılar her beş yılda bir çocukları incelemiş ve insülin duyarlılığındaki azalmayı, tip 2 DM ortaya çıkmadan 20 yıl öncesinde tespit etmişlerdir. Buna karşılık, insülin sekresyonundaki değişiklikler ise aşikar DM başlangıcından sadece 3-5 yıl önce tespit edilebilmiştir. Dolayısıyla tip 2 DM tanısı konulduğunda hem insülin salgılanmasında bozukluk hem de insülin işlevinde azalma mevcuttur (15). İnsülinin etkinliği, tip 2 DM'li hastalarda, sadece glukoz kullanımıyla ilgili olaylarla sınırlı değildir. Aynı zamanda mitokondrideki enerji tüketiminde veya solunum hızında, adipositlerin farklılaşmasında, metabolik olarak aktif ve inaktif kas hücrelerinin oluşumunda, hücre büyümesini etkileyen genlerin regülasyonunda insülinin etkisi söz konusudur. Bu nedenle gen ekspresyonundaki değişiklikler sadece hücrenin insülin direncinde rol oynamazlar. Beraberinde insülin direnci ile ilişkili, hipertansiyon, lipid bozuklukları, obezite, artmış kardiyovasküler risk gibi diğer klinik durumların gelişimiyle ilişkili moleküler değişikliklerde de rol oynarlar. Bu nedenle insülin duyarlılığı ile hipertansiyon, dislipidemi, obezite ve kardiyovasküler risk faktörleri arasında muhtemelen genlerle düzenlenen bir bağlantı söz konusudur (16). Adipoz

dokunun sadece trigliserid olarak depolanan enerji kaynağı olmayıp aynı zamanda tümör nekrozis faktör-alfa (TNF-alfa), adiponektin, resistin ve leptin gibi pek çok sitokin ve peptit salgılayan aktif bir endokrin organ olduğunun anlaşılması, anormal glukoz metabolizmasının patogenezinde adipoz dokunun çok güçlü rolü olduğunu düşündürmektedir. Bu sitokin ve peptidler kas ve karaciğerde enerji metabolizması ile birlikte enerji alımı ve insülin duyarlılığını düzenlerler. Ayrıca adipoz doku, TNF-alfa ve interlökin-6 (IL-6) gibi inflamatuar moleküller yanında kan basıncı ve koagülasyona etki eden mediatörleri salgılar. Yapılan bir çalışmada hücre içi lipid birikiminin bazı hücresel sinyalizasyon yollarını ve fonksiyonlarını bozduğunu ve bu durumun insülin direncine ciddi bir katkıda bulunacağı ortaya atılmıştır. Son klinik çalışmalar karaciğerin hücre içi lipid içeriğinin insülin direnciyle ilişkisi nedeniyle metabolik sendromun bir özelliği olabileceğini göstermektedir. Son deneysel araştırmaların sonuçları pankreas beta hücrelerindeki hücre içi lipid metabolizmasının, insülin sekresyonunun düzenlenmesinde rol aldığını göstermiştir. Bu nedenle hücre içi lipid homeostazisinde oluşabilecek primer ve sekonder değişiklikler tip 2 DM ve insülin direnciyle ilişkili durumların patogenezinde rol oynayabilmektedir (17-20).

2.2. TİP 2 DİYABET ve KRONİK KOMPLİKASYONLARI

Akut ve kronik komplikasyonlar diyabetli hastaların erken ölümlerinden ve morbiditesinden sorumludur.

Akut Komplikasyonlar:

- Diyabetik ketoasidoz
- Nonketotik Hiperosmolar Koma
- Hipoglisemik Koma
- Laktik Asidoz

Kronik Komplikasyonlar:

- Mikrovasküler komplikasyonlar: diyabetik retinopati, diyabetik nefropati, diyabetik nöropati (periferik simetrik polinöropati, otonom nöropatiler, mononöropatiler).

- Makrovasküler komplikasyonlar: koroner arter hastalığı, serebrovasküler hastalık, periferik arter hastalığı, diyabetik ayak ve enfeksiyonlar.

Tüm bu komplikasyonlar hem tip 1 hem de tip 2 DM'de görülebilmekle birlikte bazı farklılıklar vardır. Tip 2 DM'li hastaların mortalitesinde en çok suçlanan makrovasküler komplikasyonlardır.

2.2.1. Mikrovaskuler Komplikasyonlar

2.2.1.1. Diyabetik Retinopati:

Gelişmiş ülkelerde, 20-74 yaşları arasındaki yetişkinlerde, yeni oluşan körlüklerin en önemli nedeni diyabetik retinopatidir. Hastalığın ilk iki dekatında, tip 1 DM'lilerin hemen hepsinde, tip 2 DM'lilerin de % 60' dan fazlasında retinopati vardır. Kötü kan şekeri kontrolü, diyabet süresi, puberte, gebelik, hipertansiyon, kötü lipid profili ve anemi retinopatinin gelişmesini hızlandıran risk faktörleridir. Diyabetik retinopati nonproliferatif ve proliferatif olmak üzere iki evrede sınıflandırılır.

Nonproliferatif retinopati: Tüm DM tiplerinde en sık görülen retinopati şeklidir. En erken klinik bulgusu, minik kırmızı noktalar şeklinde görülen ve "background retinopathy" olarak bilinen retinal kapillerlerdeki mikroanevrizmalardır. Kapiller duvarını çevreleyen perisit kaybı, ardından damar geçirgenliğinin artmasıyla periretinal hemoraji gercekleşir. Arterioler tıkanma, sert eksuda ve makula ödemi meydana gelir. Tip 2 diyabetiklerde görmeyi en çok bozan makula ödemi olup retinopatinin her evresinde karşımıza çıkabilir. Daha sonra kapiller ve terminal arteriollerin tıkanmasıyla iskeminin neticesinde proliferatif faz başlar.

Proliferatif retinopati: Oluşan retinal iskemi alanları, atılmış pamuk manzarası denilen yumuşak eksuda olarak adlandırılır. Karakteristik olarak neovaskularizasyon denilen yeni damar oluşumu ve skarlar meydana gelir. Proliferatif fazın körlükle sonuçlanan iki ciddi komplikasyonu vardır. Bunlar vitreus hemorajisi ve retina dekolmanıdır. DM'ye bağlı görülen diğer hastalıklar; başta artmış katarakt riski ile birlikte, optik nöropati, okuler sinir paralizileri (III, IV,VI), otonomik pupiller disfonksiyon, retinal arter ve ven tıkanıklıklarıdır. Retinopati

tedavisi, fotokoagülasyondur. Bu tedavi ile hemoraji ve skar gelişme insidansı azalmaktadır.

2.2.1.2. Diyabetik Nefropati:

ABD' de son dönem böbrek yetmezliği tanısını almış hastaların %40'ında etiyolojik neden diyabetik nefropatidir (21). Diyabetik nefropati, ölüme yol açabilen mikrovasküler komplikasyon olup erken tanı ve tedavisi çok önemlidir. Nefropati diyabetik erkeklerde 1.7 kat daha fazladır. Tip 1 DM'li hastalarda, tip 2 DM'lilere göre, böbrek yetmezliği daha sık oluşsa da, prevelansının yüksek olmasından dolayı tip 2 DM, diyabetik nefropatilerin yaklaşık yarısını oluşturmaktadır. Nefropatinin gelişmesi, diyabetin süresi ile de doğru orantılıdır.

Hipertansiyonun varlığı, kötü glisemik kontrol, dislipidemi, sigara kullanımı diyabetik nefropatinin gidişini etkileyen faktörlerdir. Diyabetik nefropati, primer olarak bozulmuş glomerüler fonksiyonlardan kaynaklanmaktadır. Diyabetik nefropatide glomerüler kapillerlerin bazal membranları kalınlaşır, glomerüler damarları çevreleyen mezengium genişler ve glomerüler damarların içine doğru ilerler. Bunun sonucunda afferent ve efferent glomerüler arterler skleroze olur ve glomerüloskleroz olarak adlandırılır. Glomeruloskleroz çoğunlukla diffüz olmakla birlikte, vakaların yarısında noduler skleroz gelişir. Kimmelstiel-Wilson nodülleri adı verilen bu komponent, DM için patognomoniktir. Tip 1 DM'lilerde glomerüllerdeki değişiklikler meydana gelmeden önce, hem afferent hem de efferent arteriollerdeki vazodilatasyona bağlı oluşan bir hiperfiltrasyon dönemi mevcuttur. Diyabetik nefropati, fonksiyonel olarak uzun dönem sessiz kalabilir (10-15 yıl). Başlangıçta böbrekler büyümüş ve hiperfonksiyonedir. Başlangıç aşamasından sonraki aşama mikroalbuminüridir. Mikroalbuminüri 20-200µg/dk veya 30-299 mg/gün albüminin idrarla atılması olarak tanımlanmaktadır. Diyabetik nefropatinin en erken ve klinik olarak takipte en iyi kullanılabilen bir bulgusudur (21-22). 15 yaşını aşmış, 5 yıldan uzun zamandır tip 1 DM olan ve yeni tanı alan tüm tip 2 DM'lilerde, nefropatinin erken evrede yakalanabilmesi amacıyla mikroalbuminuri taraması yapılmalıdır. Glomerüllerdeki hasar arttıkça proteinüri de artmakta ve aşikar nefropati (>300mg/gün) oluşmaktadır. Bu progresif olarak seyretmekte, hatta son dönem böbrek hastalığından önce masif düzeyde (> 3,5 g/gün) proteinüri meydana

gelebilmektedir. Hipertansiyonun varlığı bu süreci hızlandırmaktadır. Aşikar nefropati geliştikten sonra tedavi başlanmayan hastaların glomerüler filtrasyon hızları (GFR) kademeli olarak, ortalama yılda 2-20 ml/dk olarak azalmaktadır. Tip 2 DM'li hastalar arasında, GFR'nin düşme hızı bireyler arasında farklı olabilse de tip 1 ve tip 2 DM arasında çok farklı olmadığı düşünülmektedir. Ayrıca tip 2 DM'li popülasyonda artmış kardiyovasküler nedenli mortalite, erken evre diyabetik nefropatiden kronik böbrek hastalığına (KBH) ilerleyen hasta sayısının göreceli olarak daha az olmasına sebep olmaktadır. Koroner arter hastalığına yönelik tedavi yöntemlerinin gelişmesiyle birlikte, KBH oluşabilmesi için yeterli sürecin elde edilebileceği düşünülmektedir.

Mikroalbuminüri, nefropati tanısında kullanılan en erken belirteç olmasının yanısıra, tip 1 ve 2 DM'li hastaların artmış kardiyovasküler mortalite ve morbidite risklerini de göstermektedir. Mikroalbuminürinin saptanması, muhtemel vasküler hastalıkların taranması ve düşük dansiteli lipoprotein (LDL) kolesterolün düşürülmesi, hipertansiyonun tedavisi, sigaranın bıraktırılması gibi kardiyovaskuler risk faktörlerine yönelik girişimler için önemli bir endikasyondur (23-24). Kardiyovasküler risk faktörü bulunan hastalarda mikroalbuminürinin tayininde total idrar protein/kreatinin oranı da uygun eşik değeri tespit edilerek ucuz ve yaygın bir şekilde kullanılabilir (25). Diyabetik nefropatinin tedavisinde en önemli ilk adım kan şekeri regülasyonudur. Böylece nefropatinin başlamasını geciktirdiği veya ilerlemesini yavaşlattığı gösterilmiştir (26). Tedavide kan basıncı kontrolünün sağlanması önemli yer tutar. Anjiotensin dönüştürücü enzim (ACE) inhibitörleri ve angiotensin II reseptör antagonistlerinin mikroalbuminuri ile aşikar proteinüriyi azaltması açısından kullanılması öngörülmektedir. Bu etkisini hem glomerül içi basıncını düşürerek hem de doğrudan bazal membran geçirgenliğini değiştirerek göstermektedir. Öte yandan ACE inhibitörlerinin, kardiyoprotektif etkilerinin de olması antihipertansif tedavide seçilmeleri için ikinci bir avantajdır. Proteinden kısıtlı diyet nefropatinin seyrini yavaşlatmaktadır.

2.2.1.3. Diyabetik Nöropati:

Nöropati hem tip 1 hem tip 2 DM'de sık rastlanılan bir mikroanjiopatik komplikasyondur. 10 yılın sonunda DM'lilerin % 40-50'sinde nöropati

saptanabilmektedir. Bu % 50'lik grubun sadece küçük bir kısmında gelişse de, nöropatik ağrı en sık rastlanan sorundur. Tip 2 DMli hastalar daha ilk tanı aldıklarında bile nöropatik olabilirler. Patogenezi henüz aydınlatılamamıştır. Diyabetik nöropati aşağıdaki gibi sınıflandırılmıştır;

1. Simetrik distal polinoropati (duyusal ve sensorimotor polinoropati)
2. Otonom nöropati
3. Asimetrik mononöropati (monöropati multipleks)

a-Kranial sinirleri tutan nöropati

b-Periferik sinirleri tutan nöropati

En sık görülen form, simetrik distal polinöropatidir. Genelde bilateral olur. Uyuşma, karıncalanma, parestezi, ağrıya duyarlılığın artması ile seyreder. Ağrı özellikle geceleri artar. Mononöropati polinöropatiye oranla daha az görülür. Karakteristik olarak ani düşük el, ayak, III., IV. ve VI. sinir paralizisi ile seyreder. Otonom nöropatide gastrointestinal sistem hedef organdır. Ayrıca, kardiyovasküler ve termoregulatuvar bozukluklar, genito-üriner disfonksiyon, respiratuvar kontrol bozuklukları, hipogliseminin farkına varamama gibi bulgular ortaya çıkabilir.

2.2.2. Makrovasküler Komplikasyonlar

DM'li hastalarda aterosklerotik makrovasküler hastalık sıklığı artmıştır. Bunun sonucunda miyokard infarktüsü, felç ve alt ekstremitelerde kladikasyo ve kangren sıklıkları da artmıştır. Her iki DM tipinde de mortalite ve morbiditenin önemli bir kısmından makrovasküler komplikasyonlar sorumludur. Tip 2 DM'de ise, ölümlerin %80'inden sorumlu olduklarından, makrovasküler komplikasyonlar daha da büyük bir önem kazanmaktadır. Framingham kalp çalışmasında, periferik arter hastalığı, konjestif kalp yetmezliği, koroner arter hastalığı, miyokard infarktüsü ve ani ölüm gibi kardiyovasküler patolojilerin DM'de belirgin olarak arttığı gözlenmiştir. Ayrıca Amerikan Kalp Cemiyeti diyabeti, sigara içimi, hipertansiyon ve hiperlipidemiye eşit kardiyovasküler hastalık risk faktörü olarak belirlemiştir. Tek başına DM, erkeklerde 2, kadınlarda 4 kat koroner olay sıklığını arttırmaktadır.

2.2.2.1. Diyabette Periferik Arter Hastalığı:

Periferik arter hastalığının en önemli sebebi aterosklerozdur. Görülme riski normal populasyona göre DM hastalarında 2-5 kat artmıştır. Framingham çalışmasında ise, DM'lilerde ayak nabızlarının yokluğu normal populasyona göre %50 daha fazla bulunmuştur (28). DM'ye bağlı periferik arter hastalığında ateroskleroz multisegmental, bilateral ve distaldir. Daha çok popliteal, tibial ve peroneal arterlerde yoğunlaşmaktadır.

2.2.2.2. Diyabetik Ayak:

DM'ye bağlı ayak komplikasyonları, DM'li hastaların en önemli hastaneye başvurma nedenleridir. Morbidite ve mortaliteyi arttıran önemli sorunlar olmakla birlikte hem maddi hem manevi açıdan büyük yükler oluşturmaktadır. Amputasyona kadar gidebilen diyabetik ayak patofizyolojisinin temelinde, periferik arter hastalığı ve nöropati gibi iki önemli neden yatmaktadır. Ülsere alanların enfekte olmasıyla da kangren ve amputasyona doğru ilerleyen sürecin son aşamaları oluşmaktadır. Yüksek kan şekerleri düzeyleri, lökositlerin bütün fonksiyonlarını bozduğundan, DM'li hastalar enfeksiyonlara karşı daha duyarlıdır. Diyabetik ayak yaralarının enfeksiyonları genellikle miks ajanlarla oluşmaktadır. Ayrıca bu tür yaralarda, diyabeti olmayan kişilerden farklı olarak, mikrotrombüsler oluşmakta, böylece iskemiyi daha da arttırmaktadır.

2.2.2.3. Diyabette Serebrovasküler Komplikasyonlar:

Yıllardan beri inmenin DM'li hastalarda, koroner kalp hastalığından sonra en sık ölüm nedeni olduğu bilinmektedir. Birçok epidemiyolojik çalışma DM'yi, inme için risk faktörü olarak belirlemiştir. DM'li hastalarda inme riskini arttıran nedenler şöyle özetlenebilir; hipertansiyon, erkek cinsiyet, ileri yaş, sigara içimi, kötü glisemik kontrol, dislipidemi, obezite, mikroanjiopatiler ve diğer makroanjiopatiler. DM hem geçici iskemik atak hem de inme riskini arttırmaktadır. DM'nin serebrovasküler sistemin üzerindeki diğer bir olumsuz etkisi de, beyinde lakün sıklığı ve sayısını arttırmasıdır. Lakünler, genellikle kaviteleşen, küçük infarkt alanlarıdır. İki ayrı patolojik çalışma, lakünlerin DM'li hastalarda en az iki kat daha sık oluştuğunu ortaya çıkarmıştır (29).

2.2.2.4. Diyabette Kardiyovasküler Komplikasyonlar:

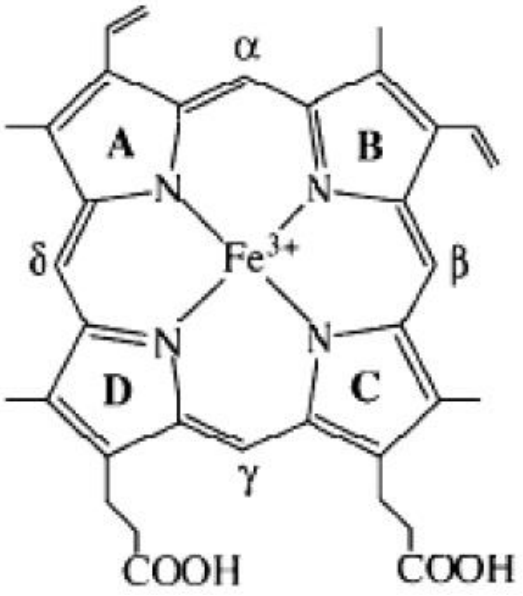
Tip 2 DM'lilerde makrovasküler komplikasyonlar ölümlerin %80 nedenidir ve bunların da %70 koroner kalp hastalığındandır. Genel olarak her 100 DM'li hastadan %85-90'ında Tip 2 DM, geri kalan %10-12'inde Tip 1 DM olduğu bilinmektedir. Dolayısıyla Tip 2 DM yaygınlığı nedeniyle toplum sağlığı açısından önemli bir sorun olarak devam etmektedir. DM aterosklerotik damar hastalığı, koroner arter hastalığı, serebrovasküler hastalık ve periferik arter hastalığı riskini artırır (30). Kardiyovasküler ölümler erişkin DM'lilerde diyabetik olmayanlara göre 2-4 kat daha fazladır. Koroner arter hastalığına sahip hastaların %55'inden fazlasında DM mevcuttur. Glikoz toleransında hafif bozukluk bulunanlarda dahi koroner arter hastalığı riski yükselmiştir. Akut koroner sendromlu hastaların da %20'si DM'lidir. Glikoz düzeyi yüksek olan akut miyokard infarktüslü hastalarda hastane içi ölüm 4 kat daha fazladır. Akut miyokard infarktüslü DM'li hastalarda ölüm, DM olmayanlara göre 2-3 kat yüksektir (31). Miyokard infarktüsü sonrası hastaların prognozu daha kötüdür (32-33). DM'li hastalarda miyokard infarktüsü sonrası bu ölümlerin en önemli nedeni kalp yetmezliğidir ve çoğunlukla hastane içi dönemde olur (32-34). Orta yaş grubu, koroner arter hastalığı olmayan DM'lilerde 7 yıllık miyokard infarktüsü sıklığı, DM olmayan koroner arter hastaları ile aynıdır (35). Dolayısıyla DM'li hastalar koroner arter hastalığı yoksunluğunda bile yüksek risk grubundadır. Koroner arter hastalığı sıklığı DM'li hastalarda %55 iken genel popülasyonda %2-4 arasındadır. Bu nedenlerle DM, Amerikan Kalp Cemiyetinin 1999 yılı bilimsel raporunda "DM kardiyovasküler bir hastalıktır" şeklinde tanımlanmasına yol açmıştır (36). Tip 2 DM olanlarda, birçok kardiyovasküler risk faktörü hipertansiyon, obezite, hiperinsülinemi ve serum lipid ve lipoprotein anormallikleri ile birliktedir (37-38). DM tüm hasta gruplarında aterosklerozun doğal seyrini hızlandırmakta ve daha yaygın aterosklerotik lezyonla birlikte daha fazla koroner damar tutulumuna neden olmaktadır (39-40). Kardiyak kateterizasyon yapılan DM'li hastalarda anlamlı derecede daha ciddi distal ve proksimal koroner arter hastalığı görülmüştür (41-42). Bununla birlikte, plak ülserasyonu ve trombozun DM'li hastalarda anlamlı olarak daha yüksek olduğu bulunmuştur (43-44). Hipergliseminin derecesi ve süresi mikrovasküler komplikasyonların gelişimi için kuvvetli risk faktörlerdir, ama tip 2 DM'de makrovasküler komplikasyonların

hastanın DM süresi veya şiddeti ile bağlantılı olduğu gösterilememiştir (45-47). Tip 2 DM'de hipergliseminin kendisi ateroskleroz ilerleyişini kuvvetlendirmede önemli rol oynamaktadır. Toplum temelli çalışmalar hiperglisemi derecesinin koroner arter hastalığı ve kardiyovasküler olaylar için riski arttırdığını göstermektedir. UKPDS çalışması tip 2 DM hastalarında glisemik kontrolle ilgili en büyük ve en iyi yürütülmüş çalışmadır. Yeni tanı konmuş tip 2 DM'lilerde sıkı glisemik kontrolün mikroanjiyopatiyi ve makroanjiyopatiyi azaltmada etkisi sorgulanmıştır (49-50).

2.3 HEM OKSİJENAZ ENZİM SİSTEMİ

2.3.1 Hem Molekülü

Hem (fe-protoporfirin IX) tetrapirol yapısında, merkezinde demir içeren önemli biyolojik aktivitelere sahip bir moleküldür ve oksijen transportu/depolanması, enerji üretimi ve detoksifikasyonunda görev alan proteinlerin yapısında bulunur. Yapısında hem molekülü içeren proteinlere hemoprotein denir. Hem molekülü proteinlere kovalent veya kovalent olmayan bağ ile bağlanarak hemoproteinlerin aktif merkezini oluşturur (51). Hem molekülündeki pirol halkaları methen (mezo) karbon köprüleri ile birleşmiştir (Şekil 1).



Şekil 1. Hem molekülünün yapısı* (131)

* Hem, protoporfirin IX'un tetra pirol halkasının ortasında iki değerlikli Fe atomu içer.

2.3.2 Hem Molekülünün Hem Oksijenaz ile Oksidatif Parçalanması

Safra pigmentlerinden biliverdin ve bilirubinin uzun yıllar önce tanımlanmasına rağmen bu reaksiyonun hem oksijenaz (HO) tarafından katalize edildiği 1968 yılında Tenhunen ve arkadaşları tarafından bulunmuştur (52). HO basit protein yapısında olup oksijen aktivasyonu için prostetik gruba ihtiyaç duymadan substrat hem ile kompleks oluşturduğunda aktive olan mikrozomal bir enzimdir. Ferrik hem-HO kompleksinin oluşması ile başlayan reaksiyonda NADPH-sitokrom p-450 redüktaz tarafından aktarılan bir elektron ile yapıda bulunan demir indirgenir (53,54). Daha sonra moleküler oksijen enzim kompleksine bağlanarak oksi formu oluşturur. Demire bağlı oksijen, redüktazdan bir elektron ve H2O'dan proton alır ve bunun sonucunda Fe+3-OOH yapısı meydana gelir. Fe+3-OOH'ın terminal oksijeni porfirin halkasının α-mezo karbonuna saldırır ve α-mezo-hidroksihem yapısı oluşur (55). Oluşan bu yapı bir molekül oksijenle tekrar reaksiyona girerek Fe+3-verdo hem yapısını oluştururken CO, reaksiyondan salıverilir. Reaksiyonun bu basamağında bir elektron kullanılır. Bir sonraki basamak olan verdo hem'in ferrik biliverdin-IXα kompleksine dönüşümü ise bir molekül oksijen ve 3 elektron gerektirmektedir. Reaksiyonda, daha sonra demir ve biliverdin serbestleşir (53).

2.3.3. HO İzoformları ve Moleküler Özellikleri

Günümüze kadar HO'nun genetik olarak farklı iki izoformu tanımlanmıştır: indüklenebilir formu HO-1 ve yapısal formu HO-2 (56-58). HO-1 ve HO-2 aynı reaksiyonları katalize ederler. Katalize ettikleri reaksiyonda kullandıkları substrat, kofaktör ve koenzim aynıdır. Ancak farklı enzim kinetikleri, K*m* değerleri, termostabiliteleri ve immünoreaktiviteleri vardır (56,57). HO-1 aynı zamanda stres proteini HSP32 olarak da bilinir (59).

2.3.4. Doku Dağılımları ve Subselüler Lokalizasyonları

HO-1 büyük oranda eritrositlerin parçalandığı organ olan dalakta bulunur. Ayrıca karaciğer retiküloendotelyal hücrelerinde ve kemik iliğinde de eksprese olmaktadır (60,61). Hemoliz gibi kan hemoglobin düzeyinin aşırı derecede arttığı durumlarda HO-1 enzimi böbrek, makrofaj ve karaciğer parankim hücrelerinde ciddi bir artış gösterir. Bunun dışında eritrosit veya hemoglobin metabolizması ile direkt

ilgisi olmayan dokularda HO-1 bazal düzeyde bulunur. Ancak kimyasal veya fiziksel bir uyarıya karşı hızlı transkripsiyonel aktivasyon gösterir (62,63). Yapısal izoform HO-2, en fazla testis ve beyinde bulunur. Ayrıca, damarlar, merkezi sinir sistemi, gastrointestinal sistem, karaciğer ve böbrekler de yüksek miktarda HO-2 içermektedir. HO-2 çevresel stres ile aktive olamaz ancak beyinde adrenal glukokortikoidlere cevap verebilir (56,57,58,64).

2.3.5 HO-1/HO-2 İndüksiyonu ve Regülasyonu

Yapısal hem oksijenaz formu olan HO-2 sadece adrenal glukokortikoidlere yanıt verirken, HO-1 Tablo 2'de özetlendiği gibi kimyasal ve fiziksel bir çok uyarıdan etkilenir.

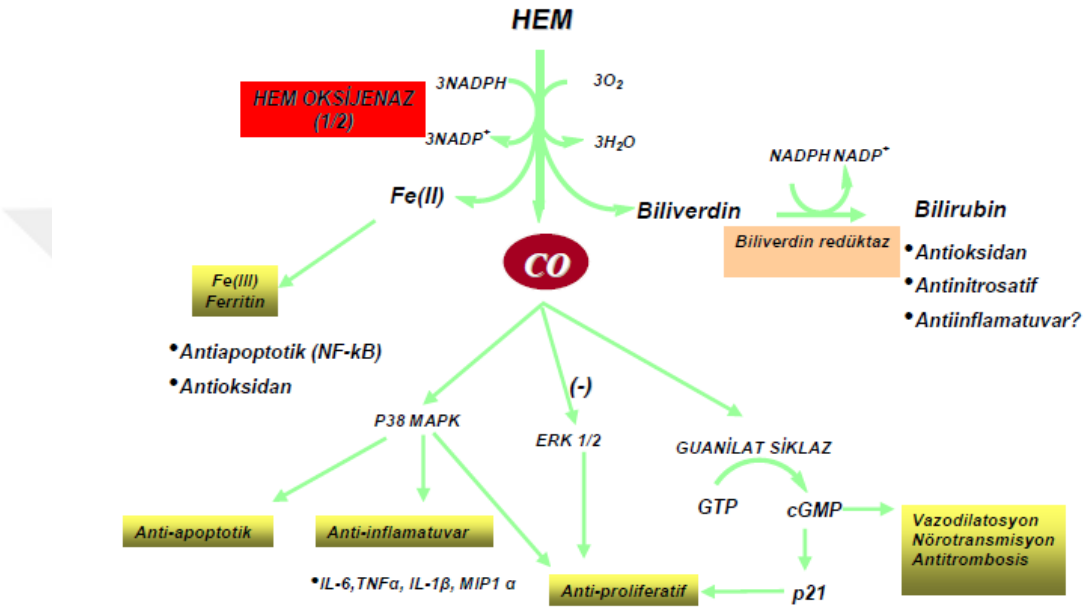
Tablo 2. Bazı HO-1 indüktörleri (62).

İndüktör
Sitokinler
Anjiojenezis
Ağır metaller (CoCl2, SnCl2)
Hipoksi
Hiperoksi
NO ve NO donörleri
UVA
Hem
Prostaglandinler
H2O2
Forbol esterleri
Tiyol yakalayıcılar (GSH baskılanması)
Sodyum arsenit
Metaloporfirinler (ZnPP IX, CoPPIX)
Kurkumin
Anjiotensin II

HO-1 ve HO-2 arasındaki bu farklılık enzimlerin promotör bölgelerinde regülatör elementlerin olup olmaması ile ilgilidir. Örneğin nükleer faktör kappa B (NFkB), heat shock faktör, aktivatör protein veya metal regülatör element gibi regülatör elementlerin bağlanma bölgeleri HO-1'in promotör bölgesinde bulunur. Buna karşın HO-2 geni sadece fonksiyonel glukokortikoid cevap elementi içerir. HO-1 geni reaktif oksijen türlerinin de dahil olduğu hücresel oksidatif stres oluşturan ajanlar ve kimyasallar tarafından güçlü bir şekilde indüklenir. Bu nedenle strese yanıt veren gen olarak bilinir (62-64).

2.3.6 Hem Oksijenazın Reaksiyon Ürünleri ve Fonksiyonları

Hem oksijenaz hem molekülünün parçalanması üzerinden gelişen hücre farklılaşması, eritrosit döngüsü ve demir konsantrasyonunu dengede tutmak gibi bilinen etkilerinin yanı sıra reaksiyon ürünleri üzerinden gelişen önemli sitoprotektif etkilere de sahiptir. Şekil 2'de CO, bilirubin ve Fe/Ferritin üzerinden gelişen etkiler kısaca özetlenmiştir.



Şekil 2. Hem molekülünün parçalanma ürünleri ve fonksiyonları (131).

2.3.6.1 Demir ve Ferritin:

Demir biyolojik sistemlerde hem ve metaloporfirin havuzundan bağımsız olarak düşük molekül ağırlıklı organik bileşiklerle kompleks halde bulunur ve çok sıkı bağlı olmayan bu formu metal şelatörler ile reaksiyona hazır durumdadır (67). Hem molekülünün parçalanması ile salıverilen demir labil ve şelat oluşturabilen demir havuzunu oluşturur (68). Serbest demir intrasellüler reaktif oksijen türlerinin oluşumuna neden olur. Bunun dışında lipid peroksidasyonu, nitrik oksite (NO) bağlı tiyol gruplarının nitrozilasyonu ve hidrojen peroksitten reaktif oksidan hidroksil radikalinin oluştuğu Haber-Weiss reaksiyonunda önemli görevleri vardır (69). Ferritin sitoprotektif etkili bir moleküldür ve HO aktivitesine bağlı olarak artan sentezi HO aracılı sitoprotektif etkiyi potansiyalize ederek hücrelerin daha dirençli hale gelmesini sağlar (70-72).

2.3.6.2 Biliverdin ve Bilirubin:

HO enziminin yer aldığı reaksiyon ürünlerinden birisi de bilirübindir (137). Hem molekülünün parçalanması ile ortaya çıkan ilk ürün olan biliverdin çözünür yeşil renkli bir pigmenttir. Biliverdinin biliverdin redüktaz ile enzimatik reaksiyonla indirgenmesi sarı renkli hidrofobik özellik gösteren bilirubini oluşturur (73). Bilirubin memeli hücrelerinde en fazla bulunan endojen antioksidandır ve insan serumundaki antioksidan aktivite büyük oranda bilirubin kaynaklıdır (74). Konjuge/konjuge olmayan bilirubin ve biliverdin direkt olarak peroksil radikalini yakalama özelliği gösterir (75,76). Ayrıca bilirubin ve biliverdin S-nitrozotiyol, nitroksil iyonu, peroksinitrit gibi reaktif nitrojen türlerini de etkili bir şekilde yakalar (77,78). Aynı zamanda NADPH oksidaz enzimini bloke ederek süperoksit oluşumunu bloke ettiği bildirilmiştir (79). Bilirubinin son yıllarda tanımlanan antiinflamatuvar etkisi büyük olasılıkla reaktif oksijen türlerini yakalamasına bağlı olarak gelişir. Bir çalışmada *in vitro* ortamda bilirubinin lökosit migrasyonunu bloke edip vasküler hücre adezyon molekülü-1 (VCAM-1) ile ilişkili havayolu inflamasyonunu inhibe ettiği bildirilmiştir (80). HO-1 enziminin bilirübin ve ferritin düzeyleri üzerine olan etkisinin diyabetik hastalarda koroner arter hastalığı üzerine etkili olabileceği gösterilmiştir (137).

2.3.6.3 Karbon Monoksit:

Karbon monoksit (CO) hemoglobine bağlanarak oksijenin dokulara dağılımını bloke etme özelliği gösteren biyolojik sistemlerde genelde stabil, ortaklanmamış elektronu olmayan bir gazdır. CO önemli bir sinyal molekülüdür ve hücre fonksiyonlarını regüle edici etkiler gösterir.

CO vazodilatatör etkilidir. Molekülün dilatör etkisi büyük oranda guanilat siklaz (GS) aktivasyonuna bağlı olarak artan siklik 3',5'-guanozin monofosfat (cGMP) düzeyine bağlıdır. CO'ya bağlı olarak gelişen dilatasyonun spesifik GS inhibitörleri varlığında bloke edilmesi bu etkinin belirli oranda bu mekanizma ile geliştiğini doğrulamaktadır (81). Bunlara ilave olarak endotel hücrelerinde cGMP'ye bağlı mitojen endotelin-1 (ET-1) down regülasyonu ile oluşan antiproliferatif etki CO molekülünün indirekt vazoregülatör etkisine bir örnektir (82). CO direkt olarak kalsiyuma bağlı potasyum (Kca) kanallarını aktive eder ve bu etkisi ile

vazodilatasyona sebep olur (83,84). Ayrıca düşük konsantrasyonlarda CO uygulaması internal depolardan nitrik oksit (NO) salınımına neden olarak vazodilatör etki gösterebilir (85).

CO'nun antiapoptotik etkisi ilk kez *in vitro* ortamda tanımlanmıştır. Hücre kültürü ortamında fare endotel hücre ve fibroblastlarında tümör nekroz faktörü-α (TNF- α) ile indüklenen apoptozis ekzojen CO uygulaması ile inhibe olmuştur (86,87). CO molekülünün sitoprotektif etkilerinden büyük oranda cGMP sorumludur ve antiproliferatif etkisinde de aynı yolağın sorumlu olduğunu ileri süren bir çok çalışma mevcuttur (88-91).

Hücre kültürü ve hayvan modelleri çalışmaları HO-1 kaynaklı veya ekzojen CO'nun antiinflamatuvar etkili olduğunu göstermiştir. CO antiinflamatuvar sitokinlerin sentezini artırarak veya inflamatuvar etkili sitokinler üzerinde inhibitör etki göstererek inflamasyonu regüle eder (92).

2.3.7. HO-1 Ürünlerinin Vasküler Sistem Üzerine Etkileri

İmmunohistokimyasal incelemeler ve western blot analizleri HO-1 ve HO-2 enzimlerinin arteriyel ve venöz kan damarlarının endotel tabakası, düz kas hücre tabakası ve adventisya dokusunda bulunduğunu göstermektedir (93,94).

HO ve nitrik oksit sentaz (NOS) enzimleri, aktivasyonları ve regülasyonları bakımından benzerlikler gösterirler ve aynı zamanda reaksiyon ürünleri olan CO ve NO'da benzer biyolojik etkilere sahiptirler. Örneğin her iki molekül de önemli biyolojik etkilerini guanilat siklaz enzimini aktive ederek göstermektedir (95). NO, CO molekülüne göre daha güçlü bir guanilat siklaz aktivatörüdür. Fizyolojik koşullarda ortamda bulunan NO, GS aktivasyonundan sorumlu ana moleküldür. NO biyoaktivitesinin azaldığı patolojik durumlarda ise CO devreye girerek GS aktivasyonu üzerinden regüle edici etkilerini gösterir (96).

Oksidatif stres ve artan reaktif oksijen türleri diyabetik hastalarda kardiyovasküler komplikasyonlara neden olan faktörlerdendir (97). Hiperglisemi endotel disfonksiyonuna, apoptosise ve hücre replikasyonunda gecikmeye neden olur (98,99). Diyabete bağlı olarak oksidan ve/veya antioksidan sistemler arasındaki bozulan denge ve buna bağlı olarak gelişen oksidatif stres antioksidan enzimler ile dengelenerek sitotoksik etkiler ortadan kaldırılabilir. Antioksidan enzimlerden

indüklenebilir HO-1, ürünleri aracılığı ile sitoprotektif etki göstererek diyabetik vasküler hasar üzerinde regüle edici etki gösterebilir (98). Retrovirüs ile insan HO-1 geninin insan mikrodamar endotel hücrelerine transferi glukoz ile bloke edilen hücre büyümesinin ve indüklenen apoptozun düzenlenmesine katkıda bulunmuştur (100). HO-1 oksidatif stres ile indüklenebilen bir enzimdir ve diyabetik sıçanlardan alınan karaciğer dokusunda ve glomerül hücrelerinde HO-1 ekspresyonunun arttığı gözlenmiştir (101,102). Ancak yüksek glukoz konsantrasyonu insan HO-1 geni transfer edilmiş insan mikrodamar endotel hücrelerinde HO-1 promotör bölgesini baskılamıştır (103).

2.3.8. Bilirübin, Ferritin, Karbon monoksit ve HO-1 ile Diyabet İlişkisi

Bilirübinin kardiyometabolik hastalıklar için vazoprotektif rol oynadığı son zamanlarda yapılan çalışmalarda fark edilmiştir. Bilirübinin in vitro ortamda peroksil radikallerini ortadan kaldırdığı ve lipid peroksidasyonunu azalttığı, NAD(P)H oksidaz aktivitesini azalttığı ve ratlarda diyabetik mikrovasküler komplikasyon olan nefropatiyi önlediği gösterilmiştir (104). Ayrıca HbA1c düzeyi ve diyabet ile bilirubin arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışmalarda HbA1c ve diyabet ile bilirübin arasında negatif ilişki saptanmıştır. Bu sonuçlar diyabet patogenezinde ve tedavisinde bilirübinin etkili olabileceği düşüncesini doğurmuştur (124, 135, 136). HO-1 enziminin bilirübin ve ferritin düzeyleri üzerine olan etkisinin diyabetik hastalarda koroner arter hastalığı üzerine etkili olabileceği gösterilmiştir (137). Etki mekanizması net olarak açıklanamamakla birlikte antioksidan etkili olan bilirübinin diyabetik komplikasyonlar üzerine etkili olduğu saptanmıştır. Bilirübin düzeyleri ve diyabetik komplikasyonlar arasında negatif ilişki saptanmıştır (125).

Diyetle demir alımının artması ile diyabet gelişimi arasında ilişki olduğunu ortaya koyan çalışmalar mevcuttur. Ayrıca flebotomi sebebiyle vücutta azalan demir miktarının insülin duyarlılığını artırdığı gösterilmiştir (117). Serum ferritin düzeyi bağımsız bir şekilde insülin direnci ve metabolik sendromla ilişkili bulunmuştur (106). Bununla beraber diyabet ile ferritin düzeyi arasında ilişki saptanan bir çalışmada bu ilişkinin ferritinin diyabet patogenezi üzerine etkili olabileceği gibi diyabet patogenezinde meydana gelen değişikliklerin ferritin düzeyleri üzerine de etkili olabileceği iddia edilmiştir. (118). Doku düzeyinde karaciğer, pankreas ve kas

dokusundaki demir birikiminin insülin direncine sebep olabileceği iddia edilmiştir (119). Beslenme durumundan bağımsız olarak diyabetik hastalarda yüksek ferritin düzeyleri saptanmıştır (105). Ayrıca artmış demir depoları hemokromatozis sınırında olmasa bile diyabet gelişimi üzerine etkili bulunmuştur (120,123). Yüksek ferritin düzeylerinin diyabet gelişimini öngörmede bir belirteç olabileceği iddia edilmiştir (122).

Ekspiryum havasındaki CO düzeyinin DM hastalarında sağlıklı ve sigara içmeyen gruba göre fazla bulunduğu bir çalışmada bu farkın oksidatif stres ve HO-1 indüksiyonu ile ilişkili olabileceği iddia edilmiştir (141). HO-1 ürünü olan CO'nun hiperglisemiyi azalttığı gösterilmiştir (138). CO salgılatıcı molekül ile uzun süreli tedavi yapılan obez farelerde beslenme ve egzersizden bağımsız olarak insülin direncini normal düzeye getirdiği saptanmıştır (142). Tip 1 DM hastalarında artmış CO düzeylerinin adiponektin aracılığıyla vasküler korumaya sebep olduğu iddia edilmiştir (139). Tip 1 DM olan ratlarda yapılan bir çalışmada eksojen CO uygulamasının endotel parçalanmasını azalttığı gösterilmiştir (140).

Hem-oksijenaz-1 (HO-1) enzimi hem proteininin metabolizmasında yer alan bir enzimdir. HO-1 aktivitesi sonucu hem proteini parçalanarak bilirübin, karbon monoksit ve ferröz demir oluşur. Hem proteininin HO-1 enzimi ile parçalanması sonucu açığa çıkan ürünlerin inflamasyonu baskıladığı gösterilmiştir (107,108). HO-1 aktivitesinin oksidatif strese karşı hücresel savunmada rol aldığı bildirilmiştir (109). Bilirübin vasküler inflamasyonu önleyerek HO-1 enziminin antiaterojenik etkisini oluşturur (104). Yüksek kan glukoz düzeyleri süperoksit oluşumunu ve nitrik oksit sentaz aktivitesini azaltarak HO-1 aktivitesini düşürür. HO-1 düzeylerindeki artış bilirübinin antioksidan özellikleri aracılığıyla yüksek glukoz düzeylerine karşı sitoprotektif etki gösterdiği moleküler çalışmalarda gösterilmiştir (110). Ratlarla yapılan çalışmalarda HO-1 enziminin açlık plazma glukozu ve insülin seviyesini düşürdüğü, insülin duyarlılığını artırdığı gösterilmiştir (104).

Bu bilgiler göz önüne alındığında bilirübin, ferritin, karbon monoksit ve HO-1 düzeyi diyabetik hastalarda önem kazanmaktadır. Biz de diyabeti olan kadınlarda serum bilirübin, ferritin ve HO-1 düzeylerinin glisemik kontrol üzerine etkisini incelemeyi planladık.

3.GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. HASTA SEÇİMİ

Çalışma için T.C. Sağlık Bakanlığı Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi Etik Kurulu'ndan 24.08.17 tarihli ve 5492 nolu etik kurul onayı alınmıştır. Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi İç Hastalıkları ve Endokrinoloji Polikliniğine ayaktan başvuran 31 DM hastası ve benzer özelliklerde 32 sağlıklı kontrol grubu gönüllü olarak çalışmaya alındı. Hastalara bilgilendirilmiş onam formu imzalatıldı. Hastaların dijital tartı cihazı ile kiloları ve ayakta boy ölçer cihazı ile boyları ölçüldü. Hastalar yaş ve beden kitle indeksi (BKİ) açısından benzer iki gruba ayrıldı. Katılımcıların iç hastalıkları ve endokrinoloji polikliniğindeki son 3 aya kadar yapılmış olan biyokimyasal testlerinin sonuçları değerlendirmeye alındı.

3.2. ÇALIŞMADAN DIŞLANMA KRİTERLERİ

Akut ve kronik böbrek yetmezliği olan hastalar, akut veya kronik karaciğer hastalığı olan hastalar, akut enfeksiyonu bulunan hastalar, BKİ $\leq$ 18 kg/m^2 veya $\geq$ 35 kg/m^2 olan hastalar, 18 yasından küçük ve 65 yasından büyük hastalar çalışma dışı bırakıldı.

3.3. BİYOKİMYASAL PARAMETRELERİN ÖLÇÜMÜ

Çalışmada elde edilen biyokimyasal veriler (AKŞ, TKŞ, hsCRP, Kreatinin, Kalsiyum, Fosfor, Ürik asit, HDL kolesterol, LDL kolesterol, Trigliserit, Albümin, Ferritin, Total Bilirubin) ROCHE COBAS 8000 modüler cihazı ile standart yöntemlerle çalışıldı. Hemogram verileri için SYSMEX XN 3000 ve SYSMEX XN 2000 cihazı ile çalışıldı. Sedimentasyon verileri için YHLO BIOTECH, VISION ES ANALYZER cihazı ile ölçüm yapıldı. HbA1c verisi için HPLC yöntemi ile ROCHE COBAS 6000 cihazı kullanıldı. HO-1 düzeyi ölçümü ise BIOTEK INSTRUMENTS INC. ELX50 ve BIOTEK INSTRUMENTS INC. ELX800 cihazları kullanılarak yapıldı.

3.4. İSTATİSTİKSEL ANALİZ

İstatiksel analiz SPSS 16.0 for Windows (SPSS, Inc.; Chicago, USA) paket programı kullanılarak yapılmıştır. İstatistiksel analiz olarak, tanımlayıcı bulgular kısmında kategorik değişkenler sayı, yüzde ile değerlendirilirken, sürekli değişkenler ise ortalama ± standart sapma ve ortanca (en küçük, en büyük değer) ile sunulmuştur. Sürekli değişkenler, Kolmogorov-Smirnov ve Shaphiro-Wilk testleri ile yapılan normallik değerlendirmesine göre değerlendirilmiştir. Sürekli değişkenler normal dağılıma uygun değil ise nonparametrik Mann-Whitney U ile ve uygun ise parametrik Bağımsız Gruplarda T Testi ile karşılaştırılmıştır. Kan değerlerinin arasındaki ilişkilerin değerlendirilmesinde normal dağılıma uygunluğuna göre Pearson Korelasyon analiz testi kullanıldı. İstatistiksel anlamlılık düzeyi $p < 0,05$ kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

Çalışmaya katılan hasta grubunun yaş ortalaması 53,16 ± 6,13 yıl ve kontrol grubunun yaş ortalaması 49,22 ± 10,00 yıldır. Yaş açısından gruplar arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (p= 0,064).

Çalışmaya katılan hasta grubunun BKİ 28,76 ± 3,12 kg/m^2 ve kontrol grubunun BKİ 27,52 ± 3,75 kg/m^2'dir. BKİ açısından gruplar arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (p= 0,159).

Tablo 3. Demografik Özellikler

	Diyabet Grubu (n=31)	**Kontrol Grubu (n=32)**	**P Değeri**
Yaş	53,16 ± 6,13 yıl	49,22 ± 10,00 yıl	0,064
BKİ	28,76 ± 3,12 kg/m^2	27,52 ± 3,75 kg/m^2	0,159

Çalışmayı alınan 31 kişilik DM grubunun ortalama değerleri olarak AKŞ 163,00 ± 68,54 mg/dl; TKŞ 235,33 ± 90,03 mg/dl; HbA1c % 7,96 ± 2,01; Sedimantasyon 20,97 ± 12,80 mm/sa; hsCRP 4,24 ± 2,86 mg/L; Hemoglobin 13,18 ± 1,46 g/dl; WBC 7,70 ± 1,48 *10^3/mm^3; Platelet 292,23 ± 52,08 *10^3/mm^3; Nötrofil 1,91 ± 0,70 *10^3/mm^3; Lenfosit 3,21 ± 0,68 *10^3/mm^3; MPV 9,01 ± 0,92 fl; Kreatinin 0,77 ± 0,10 mg/dl; Üre 1,91 ± 1,82 mg/dl; Kalsiyum 9,82 ± 0,56 mg/dl; Fosfor 3,86 ± 0,51mg/dl; Ürik asit 5,06 ± 1,46 mg/dl; Total kolesterol 221,03 ± 49,48 mg/dl; LDL 128,87 ± 37,02 mg/dl; HDL 49,61 ± 11,63 mg/dl; Albumin 4,45 ± 0,42 g/dl; Ferritin 39,46 ± 37,80 ng/ml ve Total bilirübin 0,54 ± 0,22 mg/dl olarak bulundu.

Çalışmayı alınan 32 kişilik kontrol grubunun ortalama değerleri olarak AKŞ 90,81 ± 6,29 mg/dl; TKŞ 110,83 ± 22,05 mg/dl; HbA1c %5,46 ± 0,38; Sedimantasyon 11,94 ± 9,32 mm/sa; hsCRP 2,43 ± 2,83 mg/L; Hemoglobin 13,11 ± 1,19 g/dl; WBC 7,11 ± 1,95 *10^3/mm^3; Platelet 267,50 ± 57,60 *10^3/mm^3; Nötrofil 2,22 ± 1,00 *10^3/mm^3; Lenfosit 2,95 ± 0,69 *10^3/mm^3; MPV 9,20 ± 0,85 fl; Kreatinin 0,80 ± 0,10 mg/dl; Üre 2,38 ± 1,68 mg/dl; Kalsiyum 9,47 ± 0,52 mg/dl; Fosfor 3,50 ± 0,59 mg/dl; Ürik asit 4,41 ± 0,94 mg/dl; Total kolesterol 193,25 ± 35,61 mg/dl; LDL 114,03 ± 28,66 mg/dl; HDL 52,31 ± 10,09 mg/dl; Albumin 4,34

± 0,33 mg/dl; Ferritin 22,51 ± 17,31 ng/ml ve Total bilirübin 0,79 ± 1,21 mg/dl olarak bulundu.

Tablo 4. Diyabet ve kontrol grubunda parametrelerin dağılımı

	Diyabet Grubu (n=31)	**Kontrol Grubu (n=32)**	**P değeri**
AKŞ	163,00 ± 68,54 mg/dl	90,81 ± 6,29 mg/dl	<0,001***
TKŞ	235,33 ± 90,03 mg/dl	110,83 ± 22,05 mg/dl	<0,001***
HbA1c	%7,96 ± 2,01	%5,46 ± 0,38	<0,001***
Sedimentasyon	20,97 ± 12,80 mm/sa	11,94 ± 9,32 mm/sa	0,002**
hsCRP	4,24 ± 2,86 mg/L	2,43 ± 2,83 mg/L	0,014*
Hemoglobin	13,18 ± 1,46 g/dl	13,11 ± 1,19 g/dl	0,840
WBC	7,70 ± 1,48 $*10^3/mm^3$	7,11 ± 1,95 $*10^3/mm^3$	0,189
Platelet	292,23 ± 52,08 $*10^3/mm^3$	267,50 ± 57,60 $*10^3/mm^3$	0,079
Nötrofil	1,91 ± 0,70 $*10^3/mm^3$	2,22 ± 1,00 $*10^3/mm^3$	0,164
Lenfosit	3,21 ± 0,68 $*10^3/mm^3$	2,95 ± 0,69 $*10^3/mm^3$	0,140
MPV	9,01 ± 0,92 fl	9,20 ± 0,85 fl	0,400
Kreatinin	0,77 ± 0,10 mg/dl	0,80 ± 0,10 mg/dl	0,289
Üre	1,91 ± 1,82 mg/dl	2,38 ± 1,68 mg/dl	0,298
Kalsiyum	9,82 ± 0,56 mg/dl	9,47 ± 0,52 mg/dl	0,014*
Fosfor	3,86 ± 0,51 mg/dl	3,50 ± 0,59 mg/dl	0,018*
Ürik asit	5,06 ± 1,46 mg/dl	4,41 ± 0,94 mg/dl	0,040*
T. Kolesterol	221,03 ± 49,48 mg/dl	193,25 ± 35,61 mg/dl	0,013*
LDL	128,87 ± 37,02 mg/dl	114,03 ± 28,66 mg/dl	0,082
HDL	49,61 ± 11,63 mg/dl	52,31 ± 10,09 mg/dl	0,329
Albumin	4,45 ± 0,42 mg/dl	4,34 ± 0,33 mg/dl	0,247

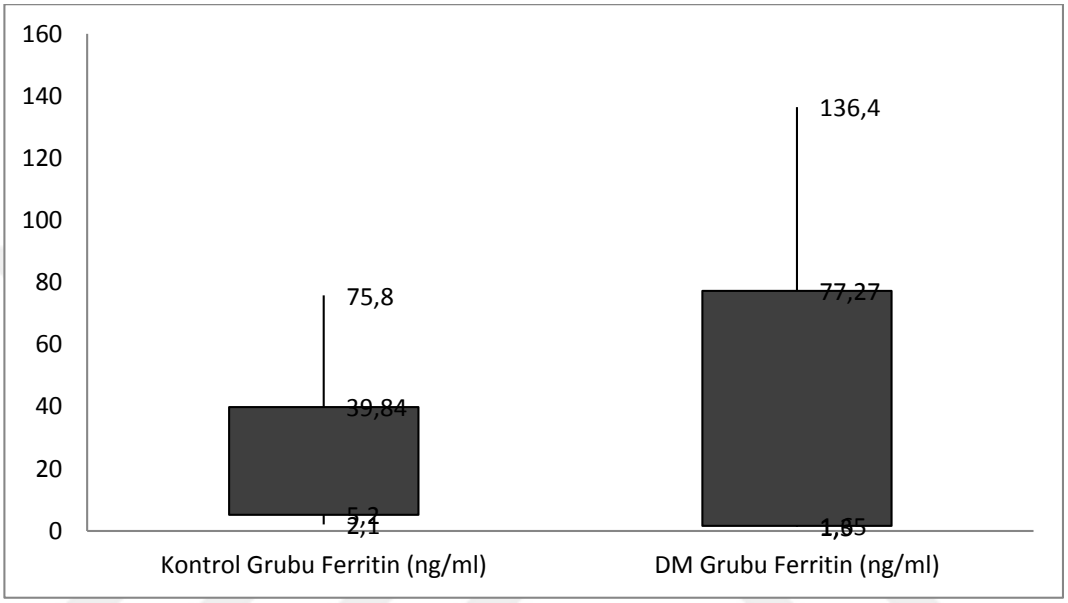
*** Çok yüksek istatistiksel anlamlılık, ** Yüksek düzeyde istatistiksel anlamlılık, *İstatistiksel anlamlılık

Çalışmaya alınan 31 kişilik hasta grubunun total bilirübin değerleri 0,54 ± 0,22 mg/dl ve 32 kişilik kontrol grubunun total bilirübin değerleri 0,79 ± 1,21 mg/dl'dir. Total bilirübin açısından gruplar arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (p=0,260).

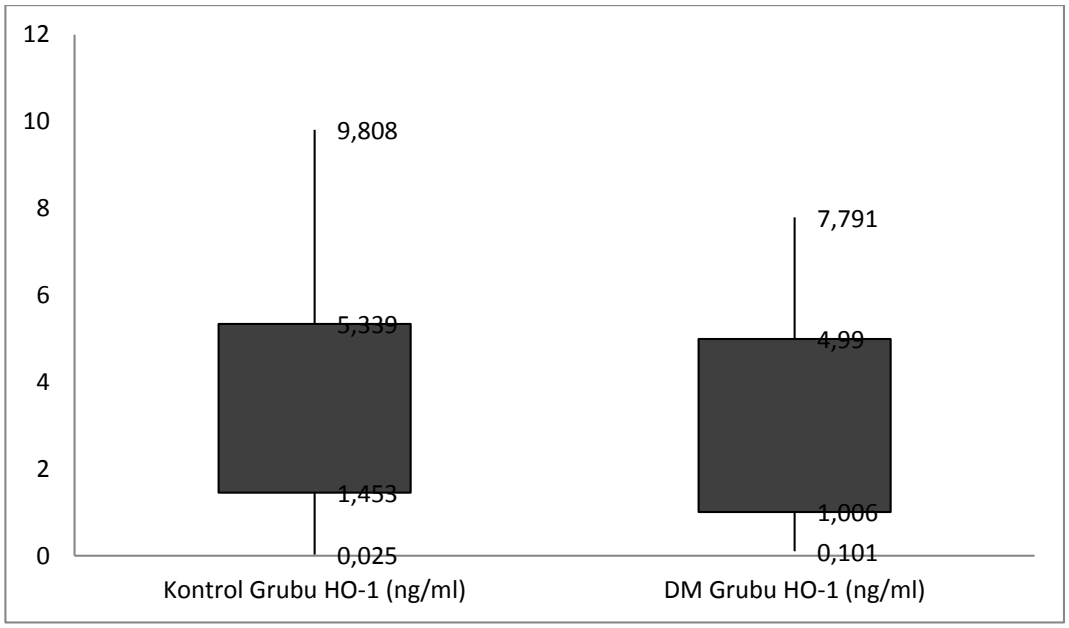
Çalışmaya alınan 31 kişilik hasta grubunun ferritin değerleri 39,46 ± 37,80 ng/ml ve 32 kişilik kontrol grubunun ferritin değerleri 22,51 ± 17,31 ng/ml'dir.

Ferritin açısından gruplar arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulundu (p=0,028).

Çalışmaya alınan 31 kişilik hasta grubunun HO-1 değerleri 2,99 ± 1,99 ng/ml ve 32 kişilik kontrol grubunun HO-1 değerleri 3,39 ± 1,94 ng/ml'dir. HO-1 açısından gruplar arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (p= 0,426).



Şekil 3. Gruplara Göre Ferritin Grafiği



Şekil 4. Gruplara Göre HO-1 Grafiği

Tablo 5. Korelasyon analizi sonuçları

		HO-1	Ferritin	T.bilirübin	Hemoglobin	HbA1c	hsCRP	AKŞ	TKŞ	BKİ
HO-1	r	1	-.024	.210	-.089	.088	-.090	-.015	-.038	-.062
	p		.849	.098	.490	.491	.483	.909	.775	.627
Ferritin	r	-.024	1	.087	.366**	.482**	.226	.474**	.484**	-.168
	p	.849		.498	**.003**	**.000**	.075	**.000**	**.000**	.188
T.bilirübin	r	.210	.087	1	.090	-.066	.012	-.058	-.053	.091
	p	.098	.498		.482	.610	.928	.654	.689	.479
Hemoglobin	r	-.089	.366**	.090	1	.169	.048	.175	.176	-.073
	p	.490	**.003**	.482		.186	.709	.170	.182	.570
HbA1c	r	.088	.482**	-.066	.169	1	.481**	.838**	.741**	.109
	p	.491	**.000**	.610	.186		**.000**	**.000**	**.000**	.396
hsCRP	r	-.090	.226	.012	.048	.481**	1	.434**	.468**	.294*
	p	.483	.075	.928	.709	**.000**		**.000**	**.000**	**.019**
AKŞ	r	-.015	.474**	-.058	.175	.838**	.434**	1	.843**	.021
	p	.909	**.000**	.654	.170	**.000**	**.000**		**.000**	.872
TKŞ	r	-.038	.484**	-.053	.176	.741**	.468**	.843**	1	.094
	p	.775	**.000**	.689	.182	**.000**	**.000**	**.000**		.477
BKİ	r	-.062	-.168	.091	-.073	.109	.294*	.021	.094	1
	p	.627	.188	.479	.570	.396	**.019**	.872	.477	

** Korelasyon 0.01 seviyesinde anlamlıdır (2-tailed). * Korelasyon 0.05 seviyesinde anlamlıdır (2-tailed).

Ferritin ile Hemoglobin, HbA1c, AKŞ ve TKŞ arasında pozitif yönde istatistiksel olarak anlamlı korelasyon bulundu.

HbA1c ile Hemoglobin, hsCRP, AKŞ ve TKŞ arasında pozitif yönde istatistiksel olarak anlamlı korelasyon bulundu.

hsCRP ile AKŞ, TKŞ ve BKİ arasında pozitif yönde istatistiksel olarak anlamlı korelasyon bulundu.

5. TARTIŞMA

Akut ve kronik komplikasyonlar diyabetli hastaların erken ölümlerinden ve morbiditesinden sorumludur. DM' de mortalite ve morbiditenin önemli bir kısmından makrovasküler komplikasyonlar sorumludur. DM tüm hasta gruplarında aterosklerozun doğal seyrini hızlandırmaktadır. Tip 2 DM'de hipergliseminin kendisi ateroskleroz ilerleyişini kuvvetlendirmede önemli rol oynamaktadır. (38).

HO-1'in yer aldığı reaksiyon sonucu CO, bilirubin ve Fe/Ferritin ortaya çıkar. Ferritin sitoprotektif etkili bir moleküldür ve HO-1 aktivitesine bağlı olarak artan sentezi HO-1 aracılı sitoprotektif etkiyi potansiyalize ederek hücrelerin daha dirençli hale gelmesini sağlar (70-72). Bilirubin memeli hücrelerinde en fazla bulunan endojen antioksidandır ve insan serumundaki antioksidan aktivite büyük oranda bilirubin kaynaklıdır (74). Bilirubinin antiinflamatuvar etkisi büyük olasılıkla reaktif oksijen türlerini yakalamasına bağlı olarak gelişir (80). HO-1 enziminin bilirübin ve ferritin düzeyleri üzerine olan etkisinin diyabetik hastalarda koroner arter hastalığı üzerine etkili olabileceği gösterilmiştir (137). CO vazodilatatör etkilidir. Ayrıca CO'nun antiinflamatuvar etkili olduğunu göstermiştir. CO antiinflamatuvar sitokinlerin sentezini artırarak veya inflamatuvar etkili sitokinler üzerinde inhibitör etki göstererek inflamasyonu regüle eder (92).

Oksidatif stres ve artan reaktif oksijen türleri diyabetik hastalarda kardiyovasküler komplikasyonlara neden olan faktörlerdendir (97). Diyabete bağlı olarak oksidan ve/veya antioksidan sistemler arasındaki bozulan denge ve buna bağlı olarak gelişen oksidatif stres antioksidan enzimler ile dengelenerek sitotoksik etkiler ortadan kaldırılabilir. Antioksidan enzimlerden indüklenebilir HO-1, ürünleri aracılığı ile sitoprotektif etki göstererek diyabetik vasküler hasar üzerinde regüle edici etki gösterebilir (98).

Çalışmamızda demografik veriler yönünden hastalarla kontrol grubu arasında yaş yönünden anlamlı fark bulunmadı. Bu durum yaşın HO-1 düzeyine yapabileceği etkiyi önlemiş oldu. Böylece daha sağlıklı değerlendirme yapma imkanı sağlandı. Çalışmamızın limitasyonları arasında hasta sayısının az olması ve çalışmamın tek merkezli olması sayılabilir.

Pradhan ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada inflamasyonun diyabet gelişiminde rolü olabileceği kanısına varılmıştır (111). Ayrıca Freeman ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada düşük düzeyde inflamasyonun diyabetin patogenezinde önemli olduğu vurgulanmıştır (112). Festa ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada kronik subklinik inflamasyonun insülin direnci ile ilişkili olduğu saptanmıştır (113). Bizim çalışmamızda da inflamasyonu gösteren belirteçlerden hsCRP ve sedimentasyon düzeyleri DM grubunda kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde yüksek saptanmıştır (hsCRP p= 0,014 ve sedimentasyon p= 0,002).

Serum kalsiyum ve fosfor düzeyleri açısından DM grubu ve kontrol grubu arasında istatiksel fark saptanmıştır (Kalsiyum p= 0,014 Fosfor p= 0,018). Bununla beraber serum kalsiyum ve fosfor düzeyleri her iki grupta da normal aralıktadır.

Zhu ve arkadaşlarının yaptığı hayvan çalışmasında yüksek ürik asit düzeylerinin hem in vivo hem de in vitro olarak insülin rezistansını artırabileceği gösterilmiştir. Ayrıca yüksek ürik asit düzeyine bağlı insülin direncinde reaktif oksijen ürünlerinin yer aldığı yolağın etkili olduğu ifade edilmiştir. (114). Bhole ve arkadaşlarının yapmış olduğu prospektif bir çalışmada serum ürik asit yüksekliğinin genç erişkinlerde dahil olmak üzere tüm bireylerde DM gelişimi için bağımsız bir risk faktörü olduğunu tespit etmişlerdir (134). Facchini ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada ürik asit klirensinin azalmasının serum ürik asit düzeyini artırarak insülin direncine sebep olduğu tespit edilmiştir. Bu yüzden serum ürik asit yüksekliğine bağlı oluşan insülin direncinde düzenleyici rolün böbrek tarafından gerçekleştiği iddia edilmiştir. (115). van der Schaft ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada serum ürik asit yüksekliğinin DM gelişiminin patogenezinde etkili olduğu saptanmıştır. Bu etkinin DM gelişiminin geç fazında yer alan mekanizmalara nazaran erken fazında yer alan mekanizmalarla daha yakından ilişkili olduğu iddia edilmiştir (143). Bizim çalışmamızda da serum ürik asit düzeyi DM grubunda kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde yüksek saptanmıştır (Ürik asit p= 0,04).

Dislipidemi, diyabetin ortak bir özelliğidir (116). Bizim çalışmamızda serum total kolesterol düzeyi DM grubunda kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde yüksek saptanırken (T. kolesterol p= 0,013), HDL ve LDL düzeyi arasında istatiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır (HDL p= 0,329 ve LDL p= 0,082). Bu sonuç üzerine hastaların statin tedavisi alıyor olmaları etkili olmuş olabilir.

Chen ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada metabolik sendromu olan hastalarla kontrol grubu arasında ferritin düzeyi, glukoz düzeyi, insülin düzeyi ve homa-ir indeksi incelenmiş, metabolik sendromu ve insülin direnci olanlarda normal sınırlarda olsa dahi ferritin düzeyi daha yüksek bulunmuştur (106). Bizim çalışmamızda DM hastaları ile kontrol grubu karşılaştırıldığı için Chen ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmadan farklı olarak homa-ir indeksi ve insülin düzeyi bakılmamıştır. Bizim çalışmamızda Chen ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada ile uyumlu olarak ferritin düzeyi ile AKŞ ve TKŞ arasında pozitif kolerasyon (arttıkça artan, azaldıkça azalan) saptanmıştır.

Jukka ve arkadaşları 42-60 yaş arasında DM olmayan Finlandiyalı erkeklerin takip edildiği çalışmada, hemokromatozisle ilişkili olmasa bile yüksek ferritin düzeyleri olanlarda DM gelişimi daha yüksek saptanmıştır (120). Bizim çalışmamızda Jukka ve arkadaşlarının yaptığı çalışmadan farklı olarak çalışma kadınlarda yapılmıştır. Bizim çalışmamızda DM hastalarında ve kontrollerde ferritin düzeyi normal sınırlarda olmasına rağmen DM hastalarında kontrol grubuna göre belirgin yüksek ferritin düzeyleri saptanmıştır (p=0,028).

Jiang ve arkadaşlarının 32 826 sağlıklı kadının 10 yıl içerisinde DM gelişimini inceledikleri çalışmada demir depolarını gösteren parametrelerde (ferritin düzeyinde yükseklik veya transferrin reseptörü/ferritin oranında düşüklük) yükseklik saptanmasının DM gelişimi ile ilgili olduğunu saptamışlardır (121). Montonen ve arkadaşlarının 27 548 hastanın 7 yıl içerisindeki DM gelişimini inceledikleri çalışmada ferritin yüksekliğinin DM gelişimi ile ilişkili olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca bu sonucun hemokromatizis düzeyinin altındaki ferritin yüksekliğinin tip 2 DM gelişimi ile ilişkili olduğu hipotezini desteklediği ifade edilmiştir (123). Bizim çalışmamızda Jiang ve arkadaşlarının yaptığı çalışma ve Montonen ve arkadaşlarının yaptığı çalışma ile uyumlu olarak kadın hastalarda ferritin düzeyleri açısından kontrol grubu ve DM grubu arasında anlamlı ilişki saptanmıştır (p=0,028).

Forouhi ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada yeni tanı DM hastaları ile kontrol grubu arasında ferritin düzeyleri değerlendirilmiş ve DM grubunda ferritin düzeyleri anlamlı ölçüde yüksek saptanmıştır. Bu sonuçla beraber ferritin düzeyinin hem DM gelişimi açısından önemli bir prediktör olduğu hem de DM etyolojisini anlamada önemli bir rolü olduğu iddia edilmiştir (122). Bizim çalışmamızda Forouhi

ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmadan farklı olarak yeni tanı DM hastaları yerine DM ile takipli hastalar çalışmaya alınmıştır. Buna ek olarak, DM ile takipli hastalarda Forouhi ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışma ile uyumlu olarak ferritin düzeyleri açısından kontrol grubu ve DM grubu arasında anlamlı ilişki saptanması (p=0,028) ferritinin DM etyolojisinde etkili olduğunu düşündürmektedir.

Seong ve arkadaşları tip 2 DM olan Koreli hastalarda total bilirübin ve HbA1c arasındaki ilişkiyi incelemişlerdir. Çalışmada ALT, AST ve GGT gibi ek risk faktörleri göz önüne alınmadığında total bilirübin ve HbA1c arasında anlamlı ilişki saptanmazken, ek risk faktörleri göz önüne alındığında total bilirübin ve HbA1c arasında negatif bir ilişki saptamışlardır (124). Lee ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada yüksek bilirübin düzeylerinin metabolik sendrom gelişme riskini artırdığı gösterilmiştir (144). Bizim çalışmamızda total bilirübin ile HbA1c arasında korelasyon saptanmamıştır (p=0,610). Ayrıca çalışmamızdaki DM grubu ve kontrol grubu arasında total bilirübin düzeyleri arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır (p=0,260). Bu konudaki bulgular tartışmalıdır. Bu sonuçlar üzerinde çalışma dizaynı arasındaki farklılıklar ve ırksal farklılıklar etkili olmuş olabilir.

Zhu ve arkadaşlarının yaptığı meta analizde bilirübin düzeyleri ile DM komplikasyonları arasında lineer olmayan negatif bir ilişki saptanmıştır. Ayrıca bilirübin konsantrasyonu ile DM retinopati, DM nefropati ve DM nöropati riski arasında negatif ilişki tespit edilmiştir (125). Bizim çalışmamızda DM grubu oluşturulurken hastalar komplikasyon varlığına göre alt sınıflara ayrılmamıştır. DM grubu ile kontrol grubu arasında anlamlı ilişki saptanmaması üzerine (p=0,260) DM komplikasyonlarının göz önüne alınmamış olması etkili olmuş olabilir.

Peterson ve arkadaşları diabetik rat modelinde L-4F (apolipoprotein mimetik peptid) tedavisinin insülin direnci, adiponektin düzeyi ve yağ doku üzerine etkisini incelemişlerdir. Bu çalışmada L-4F'nin pozitif etkisi ile ortaya çıkan HO-1 ve adiponektin ilişkisinin diyabete bağlı olumsuz etkileri önlediği gösterilmiştir (126). Li ve arkadaşları CoPP (kobalt protoporfirin IX) kullanarak HO-1 düzeylerini artırmanın obez olmayan tip 1 DM farelerde etkisini incelemişlerdir. Bu çalışmada HO-1 düzeylerinin artışının hücre sağ kalımını artırarak DM üzerine etkili olabileceği iddia edilmiştir (127). Li ve arkadaşları CoPP kullanarak HO-1 düzeylerini artırmanın obez tip 2 DM farelerde etkisini incelemişlerdir. Bu çalışmada

HO-1 ile adiponektin arasında güçlü bir ilişki olduğu ve bu ilişkinin obezite ve metabolik sendrom üzerine etkili olabileceği iddia edilmiştir (128). Burgess ve arkadaşları CoPP kullanarak HO-1 düzeylerini artırmanın obez farelerde etkisini incelemişlerdir. Bu çalışmada HO-1 indüksiyonunun adiponektin düzeylerini artırdığını ve inflamatuar sitokinleri azalttığı tespit edilmiştir. Ayrıca HO-1 indüksiyonunun obeziteye bağlı gelişen insülin direnci ve dislipidemi üzerine etkili olabileceği iddia edilmiştir (129). Ndisang ve arkadaşları yaptıkları rat çalışmasında hem proteini ile uyarılmış HO-1 aktivitesinin antidiyabetik etkisi olduğunu saptamışlardır. Bizim çalışmamızda her iki grup arasında serum HO-1 seviyelerinde anlamlı farklılık saptanmadı (p= 0,426). Ayrıca kötü glisemik kontrolün göstergeleri olan AKŞ, TKŞ ve HbA1c ile HO-1 ilişkisi incelendiğinde istatiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmadı (HO-1 ve AKŞ ilişkisi için p= 0,909, HO-1 ve TKŞ ilişkisi için p= 0,775, HO-1 ve HbA1c ilişkisi için p= 0,491). Yukarıda bahsedilen ve HO-1 ile DM ilişkisinin ortaya koyduğu çalışmalar hayvan çalışmalarıdır. Bizim çalışmamızda yukarıda bahsedilen çalışmalardan farklı olarak hayvan modelleri yerine insanlardaki HO-1 düzeyleri incelenmiştir. Ayrıca yukarıda bahsedilen çalışmalarda HO-1 indüksiyonu ile ortaya çıkan sonuçlar incelenmiştir. Tüm bu faktörler bizim çalışmamız ile yukarıda bahsedilen çalışmalar arasındaki farklılıklara sebep olmuş olabilir.

Andrews ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada kısa-orta genotipli HO-1 promoter bölgesine ve yüksek ferritin düzeylerine sahip olma tip 2 DM riski ile ilişkilendirilmiştir (105). Yapılan bir metanalizde HO-1 geni promoter bölgesinde uzun GT tekrarı olanların tip 2 DM riskinin daha fazla olduğu saptanmıştır. HO-1'in DM üzerine etkisi serum düzeyinden bağımsız olarak genetik düzeydeki farklılıklardan kaynaklanıyor olabilir. Bu nedenle bizim çalışmamızda HO-1 serum düzeyleri arasında anlamlı fark saptanmamış olabilir.

Lee ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada HO-1 enzim polimorfizminin tip 2 DM olan hastalarda albuminüri gelişimi üzerine etkili olduğu saptanmıştır (132). Castillo ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada HO-1 hiperglisemi ve oksidatif strese bağlı gelişen retinopati üzerine koruyucu olduğu saptanmıştır (133). Negi ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada HO-1'in diyabetik nöropatik ağrıdan sorumlu nöron apoptozisi ve nöron hasarı üzerine faydalı olabileceği iddia edilmiştir

(109). HO-1 DM'nin mikrovasküler komplikasyonları ile ilişkilendirilmiştir. Bizim çalışmamızda hastaların mikrovasküler komplikasyonlarına göre sınıflama yapılmamıştır. Bu nedenle HO-1 ile DM komplikasyonları arasında ilişki olup olmadığı konusunda yorum yapılması zor gözükmektedir.

HO-1 ürünü olan ferritin ve total bilirübin düzeyleri incelendiğinde istatiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmamıştır (HO-1 ve ferritin ilişkisi için p= 0,849, HO-1 ve total bilirübin ilişkisi için p= 0,098). HO-1 ürünü olan ferritin ve bilirübin düzeyleri arasında anlamlı ilişki saptanmaması üzerine hasta sayısının az olması etkili olmuş olabilir.

6. SONUÇ

DM ile kontrol grubu arasında ferritin düzeyleri açısından gruplar arasında istatistiksel fark saptanırken (p=0,028), total bilirübin düzeyi (p=0,260) ve HO-1 düzeyi (p= 0,426) açısından istatiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır. Bununla beraber HO-1 ürünü olan ferritin ve total bilirübin düzeyleri incelendiğinde istatiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmamıştır (HO-1 ve ferritin ilişkisi için p= 0,849, HO-1 ve total bilirübin ilişkisi için p= 0,098). Çalışmamızda DM ile kontrol grubu arasında ferritin açısından anlamlı fark saptanırken total bilirübin ve HO-1 düzeyi açısından DM ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır. Ferritin düzeylerinin diyabetik hastalarda kontrol grubuna göre yüksek bulunması ve ferritin düzeylerinin glisemik parametrelerle korele olması ferritinin diyabet patogenezinde önemli rol oynadığını göstermektedir. Fakat bu ilişki hem molekülünün HO-1 aracılığıyla yıkılması ile ilişkilendirilememiştir. Ferritin, total bilirübin ve HO-1 ile DM ilişkisinin saptanması için daha kapsamlı çalışmalara ihtiyaç vardır.

7. KAYNAKLAR

1. American Diabetes, A., "Diagnosis and classification of diabetes mellitus." ***Diabetes Care***,. 36 Suppl 1: 67-74 (2013).

2. Savona, C., "The History of Diabetes Mellitus in Maltese Island Malta University.", Malta, 4-10 (2002).

3. Schadewaldt H., "The history of diabetes mellitus. In: Van Englehardt D, ed. Diabetes, its medical and cultural history.", Berlin, Springer Verlag, 43-100 (1987).

4. Yılmaz C., Yılmaz T., İmamoğlu S., "In Diabetes Mellitus 2000, Diabetes Mellitus'un Tarihçesi" Gri Tasarım, 13-15 (2000).

5. King, H., R.E. Aubert, and W.H. Herman, "Global burden of diabetes, 1995-2025: prevalence, numerical estimates, and projections." ***Diabetes Care***,. 21(9): 1414-1431 (1998).

6. King, H. and M. Rewers, "Global estimates for prevalence of diabetes mellitus and impaired glucose tolerance in adults." ***Diabetes Care***, 16(1): 157-77 (1993).

7. Satman, I., et al., "Population-based study of diabetes and risk characteristics in Turkey: results of the turkish diabetes epidemiology study (TURDEP) " ***Diabetes Care***, 25(9): 1551-6 (2002).

8. Satman, I., et al., "A patient-based study on the adherence of physicians to guidelines for the management of type 2 diabetes in Turkey." ***Diabetes Res. Clin. Pract***., 98(1): 75-82 (2012).

9. International Diabetes Federation., "Diabetes Atlas. 3rd ed." Brussels, 80-94 (2006).

10. TEMD Diabetes Mellitus Çalışma ve Eğitim Grubu., "Diabetes mellitus ve komplikasyonlarının tanı, tedavi ve izlem kılavuzu. 9. Baskı" Ankara, 38-44 (2017).

11. Gloyn A., "The genetics of diabetes: a progress report." ***Practical Diabetes Int***., 18: 246-250 (2001).

12. Shatten B., Smith G., Kuller L., et al., "Risk factors for the development of type 2 diabetes among men enrolled in the usual care group of the multiple risk factor intervention trial." ***Diabetes***, 16: 1331-1338 (1993).

13. Weyer C., Bogardus C., Mott D. et al., "The natural history of insulin secretory dysfunction and insulin resistance in the pathogenesis of tip 2 diabetes mellitus." ***J. Clin. Invest***., 104: 787-794 (1999).

14. Pratley R., Weyer C., "The role of impaired early insulin secretion in the pathogenesis of type 2 diabetes mellitus.", ***Diabetologia***, 44: 929-945 (2001).

15. Martin BC., Warram JH., Krolewski AS. et al., "Role of glucose and insulin resistance in development of tip 2 diabetes mellitus: results of a 25-year follow-up study.", ***Lancet***, 340: 925-929 (1992).

16. Auwerx J., Mangelsdorf D., "X-ceptors, nuclear receptors for metabolism" In: ***Stemme S, Olsson AG,*** editors. Atherosclerosis XII. Amsterdam. Elsevier Science B.V., 21-39 (2000).

17. Havel PJ., "Control of energy homeostasis and insulin action by adipocyte hormones: leptin, acylation stimulating protein, and adiponectin.", ***Curr. Opin. Lipidol.***, 13: 51-59 (2002).

18. McGarry JD., "Dysregulation of fatty acid metabolism in the etiology of type 2 diabetes.", ***Diabetes***, 51: 7-18 (2002).

19. Unger RH., "Lipotoxic diseases." ***Annu. Rev. Med***., 53: 319-336 (2002).

20. Boden G., Shulman GI., "Free fatty acids in obesity and tip 2 diabetes: defining their role in the development of insulin resistance and beta-cell dysfunction." ***Eur. J. Clin. Invest.,*** 32: 14-23 (2002).

21. Almdal T., Norgaard K., Feldt-Rasmussen B. et al., "Predictive value of microalbuminuria in IDDM. A five-year follow-up study.", ***Diabetes Care***, 17: 120-125 (1994).

22. Viberti GC., Hill RD., Jarrett, RJ. et al., "Microalbuminuria as a predictor of clinical nephropathy in insulin-dependent diabetes mellitus." ***Lancet,*** 1: 1430-1432 (1982).

23. Yenigün M., Altuntaş Y. "Her Yönüyle Diabetes Mellitus. 2. Baskı.", İstanbul, 50-58 (2001).

24. Bakris GL., Sowers JR., "Microalbuminuria in diabetes: focus on cardiovasculer and renal risk reduction.", ***Curr. Diab. Rep***., 2(3): 258-62 (2002).

25. Kyoko Y., Hiroyuki Y., Katsumi Y., et al., "The Total Urine Protein-to-Creatinin Ratio Can Predict the Presence of Microalbuminüria.", ***PLoS One***, 9(3): 10-18 (2014).

26. UK Prospective Diabetes Study Group, "Intensive Blood glucose control with sulphonylureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patients with type 2 diabetes.", UKPDS 33 ***Lancet,*** 352: 837-853 (1998).

27. ????

28. Abbot RD., Brand FN., et al., "Epidemiology of some peripheral arterial findings in diabetic men and women: Experiences from the Framingham study.", ***AJM***., 88: 376-381 (1990).

29. Alex M., Baron EK., Goldenberg S., et al., "An autopsy of cerebrovascular accident in diabetes mellitus." ***Circulation***, 25: 663-673 (1962).

30. Pyörola K., Laakso M., Uusitupa M., "Diabetes and atherosclerosis: an epidemiologic view." ***Diabetes Metab. Rev***., 3: 463 (1987).

31. Abbud ZA., Schindler DM., Wilson AC., Kostis JB., "Effect of diabetes mellitus on short and long term mortality rates of patients with acute myocardial infarction: a statewide study. Myocardial Infarction Data Acquisition System Study Group." ***Am. Heart J.,*** 130: 51 (1995).

32. Lehto S., Pyörala K., Miettinen H., Rönnemaa T., et al., "Myocardial infarct size and mortality in patients with non-insülin dependent diabetes mellitus.", ***J. Intern. Med.*** 236: 291 (1994).

33. Fava S., Azzopardi J., Muscat HA., Fenech FF., "Factors that influence outcome in diabetic subjects with myocardial infarction.", ***Diabetes Care***., 16: 1615 (1993).

34. Kannel WB., Hjortland M., Castelli WP., "Role of diabetes in congestive heart failure: the Framnigham study.", ***Am. J. Cardiol***., 34: 29 (1974).

35. Haffner SM., Lehto S., Ronnemaa T., Pyorala L., Laakso M., "Mortality from coronary heart disease in subjects with type 2 diabetes and non diabaetic subjects with and without prior myocardial infarction." ***N. Eng. J. Med***., 339: s229-234 (1998).

36. Pertyńska-Marczewska M., Głowacka E., Sobczak M., Cypryk K., Wilczyński J., "Glycation endproducts, soluble receptor for advanced glycation endproducts and cytokines in diabetic and non-diabetic pregnancies.", ***Am. J. Reprod. Immunol***., 61(2): 175-82 (2009).

37. Tip 2 diyabet patogenezi, klinik özellikleri ve izleme ölçütleri, "In: Diabetes Mellitus 2000" Ed: ***Candeğer Yılmaz, Temel Yılmaz, Şazi İmamoğlu***, Gri Tasarım, 37-46 (2000).

38. Laakso M., Baret-Connor E., "Asymptomatic hyperglycemia is associated with lipid and lipoprotein changes favoring atherosclerosis.", ***Arteriosclerosis***., 9: 665 (1989).

39. Kawata R., Ymakido M., et al., "Diabetes mellitus and its vasculer complications in Japanese migrants on the Island Hawaii.", ***Diabetes Care***, 2: 161-170 (1979).

40. Waller BF., Pulombo PJ., Lie JT., et al., "Status of the coronary arteries at necropsy in Diabetes mellitus after age 30 years: Analysis of 229 diabetic patients with and without evidence of coronary heart disease and comparison to 183 control subjects." ***Am. J. Med***., 69: 498-506 (1980).

41. Granger CB., Califf RM., Young S., et al., "Outcome of patients with Diabetes mellitus and acute myocardial infarction treated with thrombolytic agents: The Thrombolysis and Angioplasty in Myocardial Infarction.", ***J. Am. Coll. Cardio***., 21: 920-25 (1993).

42. Barzilay JI., Kronmal RA., et al., "Coronary artery disease and coronary artery bypass grafting in diabetic patients." ***Am. J. Cardio***., 74: 334-39 (1994).

43. Davis M., Bland J., et al., "Factors influencing the presence or absence of acute coronary thrombi in sudden ischemic death.", ***Eur. Herat. J***., 10: 203-08 (1989).

44. Silva JA., Escobar A., et al., "Unstable angina: A comparison between diabetic and nondiabetic patients.", ***Circulation***., 92: 1731-36 (1995).

45. The Diabetes control and complications trial research group, "The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long term complications in insulin dependent diabetes mellitus.", ***N. Eng. J. Med***., 329: 977-86 (1993)

46. Head J., Fuller JH., "International variations in mortality among diabetic patients.", ***Diabetologia***, 33: 447-481 (1990).

47. American Diabetes Association Concensus statement, "Role of cardiovasculer risk factors in prevention and treatment of macrovasculer disease in Diabetes.", ***Diabetes Care,*** 16: 72-78 (1993).

49. UKPDS group, "Effect of intensive blood glucose control with metformin on complications in overweight patiets in type 2 DM" UKPDS 34. ***Lancet,*** 352: 845-865 (1998).

50. UKPDS group, "Tight blood pressure control and risk of macrovasculer and microvasculer complications in type 2 DM" UKPDS 38. ***BMJ,*** 317: 703-713 (1998).

51. Maines M.D., "The heme oxygenase system: a regulator of second messenger gases.", ***Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol***., 37: 517-554, 517-554 (1997).

52. Tenhunen R., Marver H.S., Schmid R., "The enzymatic conversion of heme to bilirubin by microsomal heme oxygenase.", ***Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A***., 61: 748-755 (1968).

53. Yoshida, T., Kikuchi, G., "Reaction of the microsomal heme oxygenase with cobaltic protoporphyrin IX, and extremely poor substrate." ***J. Biol. Chem***. 253: 8479-8482 (1978).

54. Yoshida, T., Kikuchi, G., "Purification and properties of heme oxygenase from rat liver microsomes." ***J. Biol. Chem***. 254: 4487-4491 (1979).

55. Yoshida, T., Noguchi, M., Kikuchi, G., "Oxygenated form of heme. heme oxygenase complex and requirement for second electron to initiate heme degradation from the oxygenated complex." ***J. Biol. Chem***. 255: 4418-4420 (1980).

56. Maines M.D., Trakshel G.M., "Differential regulation of heme oxygenase isozymes by Sn- and Zn-protoporphyrins: possible relevance to suppression of hyperbilirubinemia.", ***Biochim. Biophys. Acta***., 1131: 166-174 (1992).

57. Maines M.D., Trakshel G.M., Kutty R.K., "Characterization of two constitutive forms of rat liver microsomal heme oxygenase. Only one, molecular species of the enzyme is inducible.", ***J. Biol. Chem***., 261: 411-419 (1986).

58. Trakshel G.M., Kutty R.K., Maines M.D., "Purification and characterization of the major constitutive form of testicular heme oxygenase. The noninducible isoform.", ***J. Biol. Chem.,*** 261: 11131-11137 (1986).

59. Keyse S.M., Tyrrell R.M., "Heme oxygenase is the major 32-kDa stress protein induced in human skin fibroblasts by UVA radiation, hydrogen peroxide, and sodium arsenite." ***Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.,*** 86: 99-103 (1989).

60. Tenhunen R., Marver H.S., Schmid R., "Microsomal heme oxygenase. Characterization of the enzyme.", ***J. Biol. Chem***., 244: 6388-6394 (1969).

61. Tenhunen R., Marver H.S., Schmid R., "The enzymatic catabolism of hemoglobin: stimulation of microsomal heme oxygenase by hemin.", ***J. Lab. Clin. Med***., 75: 410-421 (1970).

62. Pimstone N.R., Engel P., Tenhunen R. et al., "Further studies of microsomal heme oxygenase: mechanism for stimulation of enzyme activity and cellular localization.", ***S. Afr. Med. J.,*** 25: 169-74 (1971).

63. Pimstone N.R., Tenhunen R., Seitz P.T. et al., "The enzymatic degradation of hemoglobin to bile pigments by macrophages.", ***J. Exp. Med***., 133: 1264-1281 (1971).

64. Raju V.S., McCoubrey W.K., Jr. Maines M.D., "Regulation of heme oxygenase-2 by glucocorticoids in neonatal rat brain: characterization of a functional glucocorticoid response element.", ***Biochim. Biophys. Acta***., 1351(1-2): 89-104 (1997).

65. McCoubrey W.K., Jr. Maines M.D., "The structure, organization and differential expression of the gene encoding rat heme oxygenase-2.", ***Gene***, 139: 155-161 (1994).

66. Muller R.M., Taguchi H., Shibahara S., "Nucleotide sequence and organization of the rat heme oxygenase gene.", ***J. Biol. Chem***., 262: 6795-6802 (1987).

67. Richardson D.R., Ponka P., "The molecular mechanisms of the metabolism and transport of iron in normal and neoplastic cells.", ***Biochim. Biophys. Acta***., 1331: 1-40 (1997).

68. Ryter S.W., Tyrrell R.M., "The heme synthesis and degradation pathways: role in oxidant sensitivity. Heme oxygenase has both pro- and antioxidant properties.", ***Free Radic. Biol. Med***., 28: 289-309 (2000).

69. Halliwell B., "Antioxidant defence mechanisms: from the beginning to the end (of the beginning).", ***Free Radic. Res***., 31: 261-272 (1999).

70. Balla J., Jacob H.S., Balla G. et al., "Endothelial-cell heme uptake from heme proteins: induction of sensitization and desensitization to oxidant damage.", ***Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A,***. 90: 9285-9289 (1993).

71. Balla J., Jacob H.S., Balla G. et al., "Endothelial cell heme oxygenase and ferritin induction by heme proteins: a possible mechanism limiting shock damage.", ***Trans. Assoc. Am. Physicians***., 105: 1-6 (1992).

72. Vile G.F., Basu-Modak S., Waltner C. et al., "Heme oxygenase-1 mediates an adaptive response to oxidative stress in human skin fibroblasts.", ***Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A***., 91: 2607-2610 (1994).

73. Heirwegh K.P., Fevery J., Blanckaert N., "Chromatographic analysis and structure determination of biliverdins and bilirubins." ***J. Chromatogr***., 496: 1-26 (1989).

74. Gopinathan V., Miller N.J., Milner A.D. et al., "Bilirubin and ascorbate antioxidant activity in neonatal plasma.", ***FEBS Lett***., 349: 197-200 (1994).

75. Reiter R., Wendel A., "Selenium and drug metabolism. Multiple modulations of mouse liver enzymes.", ***Biochem. Pharmacol***., 32: 3063-3067 (1983).

76. Stocker R., Ames B.N., "Potential role of conjugated bilirubin and copper in the metabolism of lipid peroxides in bile.", ***Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A,***. 84: 8130-8134 (1987).

77. Kaur H., Hughes M.N., Green C.J. et al., "Interaction of bilirubin and biliverdin with reactive nitrogen species.", ***FEBS Lett.,*** 543: 113-119 (2003).

78. Mancuso C., Bonsignore A., Di S.E. et al., "Bilirubin and S-nitrosothiols interaction: evidence for a possible role of bilirubin as a scavenger of nitric oxide.", ***Biochem. Pharmacol.,*** 66: 2355-2363 (2003).

79. Kwak J.Y., Takeshige K., Cheung B.S. et al., "Bilirubin inhibits the activation of superoxide-producing NADPH oxidase in a neutrophil cell-free system.", ***Biochim. Biophys. Acta.,*** 1076: 369-373 (1991).

80. Keshavan P., Deem T.L., Schwemberger S.J. et al., "Unconjugated bilirubin inhibits VCAM-1-mediated transendothelial leukocyte migration.", ***J. Immunol.,*** 174: 3709-3718 (2005).

81. Hussain A.S., Mark, G.S., Brien J.F. et al., "The soluble guanylyl cyclase inhibitor 1H-[1,2,4]oxadiazolo[4,3-alpha]quinoxalin-1-one (ODQ) inhibits relaxation of rabbit aortic rings induced by carbon monoxide, nitric oxide, and glyceryl trinitrate.", ***Can. J. Physiol Pharmacol.,*** 75: 1034-1037 (1997).

82. Morita T., Kourembanas S. "Endothelial cell expression of vasoconstrictors and growth factors is regulated by smooth muscle cell derived carbon monoxide.", ***J. Clin. Invest.,*** 96: 2676-2682 (1995).

83. Jaggar J.H., Leffler C.W., Cheranov S.Y. et al., "Carbon monoxide dilates cerebral arterioles by enhancing the coupling of Ca2+ sparks to Ca2+-activated K+ channels.", ***Circ. Res,***. 91: 610-617 (2002).

84. Kaide J.I., Zhang F., Wei Y. et al., "Carbon monoxide of vascular origin attenuates the sensitivity of renal arterial vessels to vasoconstrictors.", ***J. Clin. Invest.,*** 107: 1163-1171 (2001).

85. Wang R., Wang Z., Wu L., "Carbon monoxide-induced vasorelaxation and the underlying mechanisms.", ***Br. J. Pharmacol.,*** 121: 927-934 (1997).

86. Brouard S., Otterbein L.E., Anrather J. et al., "Carbon monoxide generated by heme oxygenase 1 suppresses endothelial cell apoptosis.", ***J. Exp. Med.***, 192: 1015-1026 (2000).

87. Petrache I., Otterbein L.E., Alam J. et al., "Heme oxygenase-1 inhibits TNF-alpha-induced apoptosis in cultured fibroblasts.", ***Am. J. Physiol Lung Cell Mol. Physiol.***, 278: 312-319 (2000).

88. Brune B., Ullrich V., "Inhibition of platelet aggregation by carbon monoxide is mediated by activation of guanylate cyclase.", ***Mol. Pharmacol.***, 32: 497-504 (1987).

89. Durante W., Schafer A.I., "Carbon monoxide and vascular cell function." ***Int. J. Mol. Med.***, 2: 255-262 (1998).

90. Morita T., Perrella M.A., Lee M.E. et al., "Smooth muscle cell derived carbon monoxide is a regulator of vascular cGMP.", ***Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.,***. 92: 1475-1479 (1995).

91. Otterbein L.E., Zuckerbraun B.S., Haga M. et al., "Carbon monoxide suppresses arteriosclerotic lesions associated with chronic graft rejection and with balloon injury.", ***Nat. Med.***, 9: 183-190 (2003).

92. Otterbein L.E., Bach F.H., Alam J. et al., "Carbon monoxide has anti-inflammatory effects involving the mitogen-activated protein kinase pathway.", ***Nat. Med.,*** 6: 422-428 (2000).

93. Ewing J.F., Raju V.S., Maines M.D., "Induction of heart heme oxygenase-1 (HSP32) by hyperthermia: possible role in stress-mediated elevation of cyclic 3':5'-guanosine monophosphate.", ***J. Pharmacol. Exp. Ther.***, 271: 408-414 (1994).

94. Marks G.S., McLaughlin B.E., Vreman H.J. et al., "Heme oxygenase activity and immunohistochemical localization in bovine pulmonary artery and vein.", ***J. Cardiovasc. Pharmacol.***, 30: 1-6 (1997).

95. Stone J.R., Marletta M.A., "Soluble guanylate cyclase from bovine lung: activation with nitric oxide and carbon monoxide and spectral characterization of the ferrous and ferric states.", ***Biochemistry.***, 33: 5636-5640 (1994).

96. Wagner C.T., Durante W., Christodoulides N. et al., "Hemodynamic forces induce the expression of heme oxygenase in cultured vascular smooth muscle cells.", ***J. Clin. Invest.***, 100: 589-596 (1997).

97. Giugliano D., Ceriello A., Paolisso G., "Diabetes mellitus, hypertension, and cardiovascular disease: which role for oxidative stress?", ***Metabolism***., 44: 363-368 (1995).

98. Lorenzi M., Nordberg J.A., Toledo S., "High glucose prolongs cell-cycle traversal of cultured human endothelial cells.", ***Diabetes.***, 36: 1261-1267 (1987).

99. Zou M.H., Shi C., Cohen R.A., "Oxidation of the zinc-thiolate complex and uncoupling of endothelial nitric oxide synthase by peroxynitrite.", ***J. Clin. Invest.***, 109: 817-826 (2002).

100. Abraham N.G., Kushida T., McClung J. et al., "Heme oxygenase-1 attenuates glucose-mediated cell growth arrest and apoptosis in human microvessel endothelial cells.", ***Circ. Res.***, 93: 507-514 (2003).

101. Cosso L., Maineri E.P., Traverso N. et al., "Induction of heme oxygenase 1 in liver of spontaneously diabetic rats.", ***Free Radic. Res.***, 34: 189-191 (2001).

102. Agarwal A., Nick H.S., "Renal response to tissue injury: lessons from heme oxygenase-1 Gene Ablation and expression.", ***J. Am. Soc. Nephrol.***, 11: 965-973 (2000).

103. Quan S., Kaminski P.M., Yang L. et al., "Heme oxygenase-1 prevents superoxide anion-associated endothelial cell sloughing in diabetic rats.", ***Biochem. Biophys. Res. Commun.***, 315: 509-516 (2004).

104. Liu J., Wang L., Tian X.Y., Liu L., Wong W.T., Zhang Y., Han Q.B., Ho H.M., Wang N., Wong S.L., Chen Z.Y., Yu J., Ng C.F., Yao X., Huang Y., "Unconjugated bilirubin mediates heme oxygenase-1-induced vascular benefits in diabetic mice.", ***Diabetes.***, 64(5): 1564-1575 (2015).

105. Andrews M., Leiva E., Arredondo-Olguín M., "Short repeats in the heme oxygenase 1 gene promoter is associated with increased levels of inflammation, ferritin and higher risk of type-2 diabetes mellitus.", ***J. Trace Elem. Med. Biol.***, 37: 25-30 (2016).

106. Chen L., Li Y., Zhang F., Zhang S., Zhou X., Ji L., "Association of serum ferritin levels with metabolic syndrome and insulin resistance in a Chinese population.", ***J. Diabetes Complications***., 31(2): 364-368 (2016).

107. Chen Q.Y., Wang G.G., Li W., Jiang Y.X., Lu X.H., Zhou P.P., "Heme Oxygenase-1 Promotes Delayed Wound Healing in Diabetic Rats.", ***J. Diabetes Res.***, 2016: 9726503 (2016).

108. Riquelme S.A., Carreño L.J., Espinoza J.A., Mackern-Oberti J.P., Alvarez-Lobos M.M., Riedel C.A., Bueno S.M., Kalergis A.M., "Modulation of antigen processing by haem-oxygenase 1. Implications on inflammation and tolerance.", ***Immunology.***, 149(1): 1-12 (2016).

109. Negi G., Nakkina V., Kamble P., Sharma S.S., "Heme oxygenase-1, a novel target for the treatment of diabetic complications: focus on diabetic peripheral neuropathy.", ***Pharmacol. Res.***, 102: 158-67 (2015).

110. He M., Nitti M., Piras S., Furfaro A.L., Traverso N., Pronzato M.A., Mann G.E., "Heme oxygenase-1-derived bilirubin protects endothelial cells against high glucose-induced damage.", ***Free Radic. Biol. Med.***, 89: 91-8 (2015).

111. Pradhan AD., Manson JE., Rifai N., Buring JE., Ridker PM., "C-reactive protein, interleukin 6, and risk of developing type 2 diabetes mellitus." ***JAMA***., 286(3): 327-34 (2001).

112. Freeman DJ., Norrie J., Caslake M.J., Gaw A., Ford I., Lowe G.D., O'Reilly D.S., Packard C.J., Sattar N.; West of Scotland Coronary Prevention Study., "C-reactive protein is an independent predictor of risk for the development of diabetes in the West of Scotland Coronary Prevention Study.", ***Diabetes***., 51(5): 1596-600 (2002).

113. Festa A., D'Agostino R. Jr., Howard G., Mykkänen L., Tracy RP., Haffner SM., "Chronic subclinical inflammation as part of the insulin resistance syndrome: the Insulin Resistance Atherosclerosis Study (IRAS).", ***Circulation.***, 102(1): 42-7 (2000).

114. Zhu Y., Hu Y., Huang T., Zhang Y., Li Z., Luo C., Luo Y., Yuan H., Hisatome I., Yamamoto T., Cheng J., "High uric acid directly inhibits insulin signalling and induces insulin resistance.", ***Biochem. Biophys. Res. Commun.,*** 447(4): 707-14 (2014).

115. Facchini F., Chen Y.D., Hollenbeck C.B., Reaven G.M., "Relationship between resistance to insulin-mediated glucose uptake, urinary uric acid clearance, and plasma uric acid concentration.", ***JAMA***., 266(21): 3008-11 (1991).

116. Jonathan D.S., Yifen L., Prasanna R.B., Rayaz A.M., Handrean S., "Diabetes Dyslipidemia", ***Diabetes Ther.***, 7(2): 203–219 (2016).

117. Rajpathak S.N., Crandall J.P., Wylie-Rosett J., Kabat G.C., Rohan T.E., Hu F.B., "The role of iron in type 2 diabetes in humans.", ***Biochim Biophys Acta.***, 1790(7): 671-81 (2009).

118. Jehn M.L., Guallar E., Clark J.M., Couper D., Duncan B.B., Ballantyne C.M., Hoogeveen R.C., Harris Z.L., Pankow J.S., "A prospective study of plasma ferritin level and incident diabetes: the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study.", ***Am. J. Epidemiol.***, 165(9): 1047-54 (2007).

119. Debargha B., Richard G.S., Frank M.T., Suzy V.T., "Epidemiological associations between iron and cardiovascular disease and diabetes.", ***Front. Pharmacol.***, 5: 117 (2014).

120. Jukka T.S., Tomi P.T., Kristiina N., Hanna-M.L., Kari P., "Relation between iron stores and non-insulin dependent diabetes in men: case-control study.", ***BMJ.***, 317(7160): 727–730 (1998).

121. Jiang R., Manson J.E., Meigs J.B., Ma J., Rifai N., Hu F.B. "Body iron stores in relation to risk of type 2 diabetes in apparently healthy women.", ***JAMA.***, 291(6): 711-7 (2004).

122. Forouhi N.G., Harding A.H., Allison M., Sandhu M.S., Welch A., Luben R., Bingham S., Khaw K.T., Wareham N.J., "Elevated serum ferritin levels predict new-onset type 2 diabetes: results from the EPIC-Norfolk prospective study.", ***Diabetologia.***, 50(5): 949-56 (2007).

123. Montonen J., Boeing H., Steffen A., Lehmann R., Fritsche A., Joost H.G., Schulze MB, Pischon T., "Body iron stores and risk of type 2 diabetes: results from the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC)-Potsdam study." ***Diabetologia.***, 2012 55(10): 2613-2621.

124. Seong W.C., Young H.L., Sun S.K., Hye R.S., Hye R.A.,Jung A.R., Jin S.C., Min H.S., "Association between Total Bilirubin and Hemoglobin A1c in Korean Type 2 Diabetic Patients.", ***J. Korean Med. Sci.***, 27(10): 1196–1201 (2012).

125. Zhu B., Wu X., Bi Y., Yang Y., "Effect of bilirubin concentration on the risk of diabetic complications: A meta-analysis of epidemiologic studies.", ***Sci. Rep.***, 7: 41681 (2017).

126. Peterson S.J., Drummond G., Kim D.H., Li M., Kruger A.L., Ikehara S., Abraham N.G. "L-4f treatment reduces adiposity, increases adiponectin levels, and improves insulin sensitivity in obese mice.", ***J. Lipid Res***., 49: 1658–1669 (2008).

127. Li M., Peterson S., Husney D., Inaba M., Guo K., Kappas A., Ikehara S., Abraham N.G., "Long-lasting expression of HO-1 delays progression of type I diabetes in nod mice.", ***Cell Cycle***., 6: 567–571 (2007).

128. Li M., Kim D.H., Tsenovoy P.L., Peterson S.J., Rezzani R., Rodella L.F., Aronow W.S., Ikehara S., Abraham N.G., "Treatment of obese diabetic mice with a heme oxygenase inducer reduces visceral and subcutaneous adiposity, increases adiponectin levels, and improves insulin sensitivity and glucose tolerance.", ***Diabetes***., 57: 1526–1535 (2008).

129. Burgess A., Li M., Vanella L., Kim D.H., Rezzani R., Rodella L., Sodhi K., Canestraro M., Martasek P., Peterson S.J., et al., "Adipocyte heme oxygenase-1 induction attenuates metabolic syndrome in both male and female obese mice.", ***Hypertension***. 56: 1124–1130 (2010).

130. Ndisang J.F., Jadhav A., "Up-regulating the hemeoxygenase system enhances insulin sensitivity and improves glucose metabolism in insulin-resistant diabetes in goto-kakizaki rats." ***Endocrinology***., 150: 2627–2636 (2009).

131. Türkseven S. "Tip 1 diyabet modelinde hem oksijenaz enzim sisteminin vasküler regülasyonu (tez)." İzmir: Ege Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü; 2007.

132. Lee E.Y., Lee Y.H., Kim S.H., Jung K.S., Kwon O., Kim B.S., Nam C.M., Park C.S., Lee B.W., Kang E.S., Cha B.S., Lee H.C., "Association Between Heme Oxygenase-1 Promoter Polymorphisms and the Development of Albuminuria in Type 2 Diabetes: A Case-Control Study.", ***Medicine (Baltimore).***, 94(43): 1825 (2015).

133. Castilho A., Aveleira C.A., Leal E.C., Simoes N.F., Fernandes C.R., Meirinhos R.I., et al., "Heme oxygenase-1 protects retinal endothelial cells against high glucose- and oxidative/nitrosative stress-induced toxicity.", ***PLoS One.***, 7(8): e42428 (2012).

134. Bhole V., Choi J.W., Kim S.W., de Vera M., Choi H., "Serum uric acid levels and the risk of type 2 diabetes: a prospective study." ***Am. J. Med.***, 2010 Oct;123(10):957-61

135. Oda E, Kawai R., "Bilirubin is negatively associated with hemoglobin a(1c) independently of other cardiovascular risk factors in apparently healthy Japanese men and women.", ***Circ. J.***, 2011;75(1):190-5.

136. Ohnaka K., Kono S., Inoguchi T., Yin G., Morita M., Adachi M., Kawate H., Takayanagi R., "Inverse associations of serum bilirubin with high sensitivity C-reactive protein, glycated hemoglobin, and prevalence of type 2 diabetes in middle-aged and elderly Japanese men and women.", ***Diabetes Res. Clin. Pract.***, 2010 Apr;88(1):103-10.

137. Ying H.C., Lee Y.C., Jaw W.C., Shing J.L., "Serum Bilirubin and Ferritin Levels Link Heme Oxygenase-1 Gene Promoter Polymorphism and Susceptibility to Coronary Artery Disease in Diabetic Patients.", ***Diabetes Care***., 2008 Aug; 31(8): 1615–1620.

138. Mishra M., Ndisang JF., "A critical and comprehensive insight on heme oxygenase and related products including carbon monoxide, bilirubin, biliverdin and ferritin in type-1 and type-2 diabetes.", ***Curr. Pharm. Des.***, 2014;20(9):1370-91.

139. Rodella L.F., Vanella L., Peterson S.J., Drummond G., Rezzani R., Falck J.R., Abraham N.G., "Heme oxygenase-derived carbon monoxide restores vascular function in type 1 diabetes.", ***Drug Metab. Lett***. 2008 Dec;2(4):290-300.

140. Rodella L., Lamon B.D., Rezzani R., Sangras B., Goodman A.I., Falck J.R., "Abraham N.G., "Carbon monoxide and biliverdin prevent endothelial cell sloughing in rats with type I diabetes.", ***Free Radic. Biol. Med***., 2006 Jun 15;40(12):2198-205.

141. Paredi P., Biernacki W., Invernizzi G., Kharitonov S.A., Barnes P.J., "Exhaled carbon monoxide levels elevated in diabetes and correlated with glucose concentration in blood: a new test for monitoring the disease?", ***Chest.,*** 1999 Oct;116(4):1007-11.

142. Hosick P.A., AlAmodi A.A., Hankins M.W., Stec D.E., "Chronic treatment with a carbon monoxide releasing molecule reverses dietary induced obesity in mice.", ***Adipocyte.***, 2015 Aug 7;5(1):1-10.

143. van der Schaft N., Brahimaj A., Wen K.X., Franco O.H., Dehghan A., "The association between serum uric acid and the incidence of prediabetes and type 2 diabetes mellitus: The Rotterdam Study." ***PLoS One***. 2017 Jun 20;12(6).

144. Lee Y.B., Lee S.E., Jun J.E., Jee J.H., Bae J.C., Jin S.M., Kim J.H., "Change in Serum Bilirubin Level as Predictor of Incident Metabolic Syndrome." ***PLoS One***. 2016 Dec 9;11(12).