

TC
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

**TIP 2 DİYABETLİ ATEROSKLEROZİSİ OLAN ve
ATEROSKLEROZİSİ OLMAYAN HASTALARDA SERUM
LDL-SUBFRAKSİYONLARI, MATRİKS
METALLOPROTEİNAZLARI, MATRİKS
METALLOPROTEİNAZ İNHİBİTÖRLERİ
DÜZEYLERİNİN İNCELENMESİ**

Biyokimya Anabilim Dalı
TIPTA UZMANLIK TEZİ
Dr. Ömer KAYA

ESKİŞEHİR
2008

TC
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

**TIP 2 DİYABETLİ ATEROSKLEROZİSİ OLAN ve
ATEROSKLEROZİSİ OLMAYAN HASTALARDA SERUM
LDL-SUBFRAKSİYONLARI, MATRİKS
METALLOPROTEİNAZLARI MATRİKS
METALLOPROTEİNAZ İNHİBİTÖRLERİ
DÜZEYLERİNİN İNCELENMESİ**

Biyokimya Anabilim Dalı
TIPTA UZMANLIK TEZİ
Dr. Ömer KAYA

TEZ DANIŞMANI
Prof.Dr. Ömer ÇOLAK

ESKİŞEHİR
2008

T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞINA

Dr.Ömer Kaya'ya ait "Tip 2 Diyabetli (TIP 2 DM) ve Aterosklerozisi Olan ve Olmayan Hastalarda Serum LDL-Subfraksiyonları, Matriks Metalloproteinazları (MMP-9) Matriks Metalloproteinaz İnhibitörlerinin (TIMP-1) Düzeylerinin İncelenmesi" adlı çalışma jürimiz tarafından Biyokimya Anabilim Dalı'nda Tıpta Uzmanlık Tezi olarak oy birliği ile kabul edilmiştir.

Tarih:
04.08.2008

Jüri Başkanı

Prof. Dr. Ömer ÇOLAK
Biyokimya Anabilim Dalı

İmza

Üye

Prof. Dr. Özkan ALATAŞ

Üye

Doç. Dr. Sema USLU

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Yönetim Kurulu'nun

tarikh ve

Sayılı Kararıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr. Zübeyir KILIÇ
Dekan

ÖZET

KAYA. Ö. Tip 2 Diyabetli Aterosklerozisi Olan ve Aterosklerozisi Olmayan Hastalarda Serum LDL-Subfraksiyonları, MMP-9 TIMP-1 Düzeylerinin İncelenmesi; Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı Tıpta Uzmanlık Tezi, Eskişehir, 2008 Bu çalışma Tip 2 Diyabetli hastalarda makrovasküler komplikasyonu olan ve makrovasküler komplikasyonu olmayan hastalar arasındaki biyokimyasal belirteçlerdeki değişimleri incelemek amacıyla yapıldı. Çalışma grupları İç Hastalıkları Endokrinoloji polikliniğine başvuran veya takip edilen tip 2 diyabetli makrovasküler komplikasyon teşhisi almış 50 (20♀, 30♂) hasta ve Tip 2 diyabet tanısı almış makrovasküler komplikasyon saptanmamış 50 (35♀, 15♂) hasta ile ve 30 (15♀, 15♂) sağlıklı bireyden oluşturuldu. Gruplar arası sdLDL, TIMP-1, MMP-9, TG, LDL-C, total kolesterol düzeyleri istatistiksel olarak analiz edildi. Bütün gruplar arası yaş istatistiksel olarak farklıydı (P=0,001). Makrovasküler komplikasyonu olan grupta yaş ortalaması diğer gruplardan yüksekti. Total kolesterol düzeyleri açısından üç grup arasında anlamlı bir fark bulunamadı. TG düzeyleri açısından hasta grupları kontrol grubuna göre yüksek TG düzeylerine sahiptiler (P=0,011). Hasta gruplarının TG düzeyleri kendi aralarında anlamlı bir fark taşımıyorlardı. Kontrol grubunun LDL düzeyleri, hasta gruplarından yüksek bulundu (P=0.016). Tüm gruplar arası sdLDL düzeyleri anlamlı fark taşıyordu (P=0,001). sdLDL düzeyleri hasta gruplarında daha yüksekti. sdLDL düzeylerinin yüzde olarak total kolesterole oranları da anlamlı fark taşıyordu (P=0.001). Makrovasküler komplikasyonu olan ve olmayan gruplar arası fark anlamlı değildi. MMP-9 düzeyleri de gruplar arasında istatistiksel olarak farklıydı (P=<0,001). Kontrol grubuna göre hasta gruplarının MMP-9 düzeyleri yüksek saptandı. Hasta gruplarının kendi arasındaki MMP-9 düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı değildi. Her iki hasta grubunun TIMP-1 düzeyleri kontrol grubundan istatistiksel olarak düşük saptandı. Tip 2 DM'lu grupta LDL düzeyinin kontrol grubundan düşük olmasına rağmen sdLDL düzeylerinin yüksek saptanması TIMP-1 düzeylerinin düşük olması, MMP-9 yüksekliği, aterosklerotik komplikasyon riskini artırır.

Anahtar kelimeler; Tip 2 Diyabet, küçük yoğun LDL, TIMP-1, MMP-9

ABSTRACT

KAYA. Ö. Investigation of serum LDL-sub fractions, MMP-9 and TIMP-1 levels in Type II diabetic patients with or without Atherosclerosis: Eskisehir Osmangazi University Faculty of Medicine. Medical Speciality Thesis in Department of Biochemistry Eskisehir, 2008 This study aimed to investigate the alterations in biochemical markers of Type II diabetic patients with or without macrovascular complications. Patient groups were formed by 50 (20 females, 30 males) type II diabetic patients with macrovascular complication symptoms and 50 (35 females, 15 males) type II diabetic patients without symptoms of macrovascular complication who were followed by Endocrinology Polyclinic. 30 (15 females, 15 males) healthy individuals bearing similar features with patient groups were used as control group. sdLDL, TIMP-1, MMP-9, TG, LDL-C, total cholesterol levels among study groups were analyzed statistically. Age values differed significantly among study groups ($P=0,001$). No significant difference was found among groups in terms of total cholesterol levels. TG levels of patient groups were significantly increased compared to controls ($P=0,011$). No significant difference was found among patient groups in terms of TG levels. LDL levels of control group were found to be increased compared to patient groups ($P=0,016$). sdLDL levels differed significantly among study groups ($P=0,001$). MMP-9 levels also differed among study groups ($P<0,001$). MMP-9 levels of patient groups were found to be increased compared to control group. No significant difference was found among patient groups in terms of MMP-9 levels. Decreased MMP-9 levels and increased TIMP-1 levels of patient groups compared to control group is considerable in terms of atherosclerosis. In type II diabetic group LDL levels decreased whereas sdLDL levels are increased compared to control group and this increases the risk of atherosclerotic complications.

Key words:Type 2 Diabetes Mellitus, MMP-9, TIMP-1, small dense LDL

İÇİNDEKİLER

TEZ KABUL VE ONAY SAYFASI.....	iii
ÖZET.....	iv
ABSTRACT.....	v
İÇİNDEKİLER.....	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	ix
TABLolar DİZİNİ.....	x
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	1
2.1. Tip 2 diyabet ve Karbonhidrat Metabolizması.....	1
2.1.1. Tip 2 DM risk faktörleri.....	2
2.1.2. Diabetes Mellitus Tanı Kriterleri.....	5
2.1.3. Diabetes Mellitus Tiplerinin Sınıflandırılması.....	6
2.2. Ateroskleroz.....	7
2.2.1. Ateroskleroz Oluşum Hipotezleri.....	8
2.2.2. Aterosklerozun Fizyopatolojisi.....	10
2.2.3. Epidemiyolojik Risk Faktörleri.....	12
2.2.4. Diabetes Mellitus ve Aterosklerozis.....	13
2.2.5. Diyabetik Makrovasküler Hastalığın Etyopatogenezinde Özellikle Önem Olan Etkenler.....	16
2.2.6. Diyabet ve Dislipidemi.....	17
2.3. LDL-C ve Küçük Yoğun LDL-C.....	18
2.3.1. Lipoproteinlerin Sınıflandırılması.....	18
2.3.2. Modifiye LDL-C'ün “Scavenger Reseptörler” ile Metabolizması.....	23
2.3.3. LDL-C Alt Grupları.....	24
2.4. MMP-9.....	26
2.4.1. MMP Sentez ve Aktivitesinin Düzenlenmesi.....	29
2.4.2. MMP'lerin Biyolojik Etkileri.....	30
2.4.3. Ateroskleroz Patojenezinde MMP'lerin Rolü.....	31
2.5. TIMP.....	34

2.5.1. TIMP'lerin yapısı.....	34
2.5.6. TIMP'lerin Fonksiyonları.....	35
3. MATERYAL ve METODLAR.....	37
3.1. Materyal.....	37
3.2. Metodlar.....	38
3.2.1. MMP-9 Ölçümü.....	38
3.2.2. TIMP-1 Ölçümü.....	39
3.2.3. Küçük Yoğun LDL-C ölçümü.....	41
3.2.4. İstatistiksel Analiz.....	45
4. BULGULAR.....	46
4.1.1. Grupların Yaş Açısından Analizi.....	46
4.1.2. Grupların VKİ analizi.....	47
4.1.3. Grupların Total Kolesterol Düzeylerinin Karşılaştırılması.....	48
4.1.4. Grupların TG Düzeylerinin karşılaştırılması.....	49
4.1.5. Grupların LDL-C düzeylerinin Karşılaştırılması.....	50
4.1.6. Grupların sdLDL-C Düzeyleri Açısından Karşılaştırılması.....	52
4.1.7. Grupların sdLDL-C'ün Total Kolesterolle Oranlarına Göre Karşılaştırılması .53	
4.1.8. MMP-9 düzeyleri.....	55
4.1.9. TIMP-1 düzeyleri.....	56
5.1. TARTIŞMA.....	58
6.1. SONUÇ.....	67
7.1. KAYNAKLAR.....	69

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

ADA.....	Amerikan diyabet birliği
ATP	Erişkin tedavi paneli
bFGF	Fibroblast büyüme faktörü
ELISA	Enzyme Linked Immunosorbent Assay
ESM.....	Ekstraselüler matriks
FFA.....	Serbest yağ asit
IGF-BP.....	Insulin like Growth Factor-Binding Protein
IMK.....	Karotis arter intima-media kalınlığı
KAH.....	Koroner arter hastalığı
LDL.....	Düşük dansiteli lipoproteinler
LDL-C.....	LDL kolesterol
MI.....	Miyokard infarktüsü
MMP	Matriks Metalloproteinazları
MMP-9.....	Matriks Metalloproteinaz 9
NCEP.....	Ulusal kolesterol eğitim programı
OGTT.....	Oral glukoz tolerans testi
Oks-LDL-C.....	Okside-LDL kolesterol
proTGF- β	ProTransforming Growth Factor- β
proTNF- α	ProTumor Necrosis Factor- α
sdLDL-C.....	Küçük yoğun LDL kolesterol
sICAM-1.....	Soluble intersellüler adezyon molekül-1
sVCAM-1	Soluble vasküler hücre adezyon molekül-1
TG.....	Trigliserid
TIMP.....	Matriks Metalloproteinaz İnhibitörleri
TIMP-1.....	Matriks Metalloproteinaz İnhibitör 1
Tip 2 DM.....	Tip 2 Diabetes Mellitus

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
Şekil.2.1. İnsülinin salınımı ve aktivasyonu.....	4
Şekil.2.2. Hasara yanıt hipotezi.....	9
Şekil.2.3. Oksidatif modifikasyon hipotezi.....	10
Şekil.2.4. Bir LDL partikülünün vücut sıcaklığındaki şematik moleküler modeli..	19
Şekil.2.5. Küçük yoğun LDL'nin aterosklerotik plak oluşumuna katılımı.....	26
Şekil.2.6. MMP'lerin yapısal özellikleri.....	28
Şekil.2.7. Ateroskleroz etiolojisinde MMP aracılı matriks yıkımı	33
Şekil.2.8. TIMP-1'in şematik görünümü.....	35
Şekil.3.1. MMP-9 kitinin kalibrasyon grafiği.....	39
Şekil.3.2. TIMP-1 kitinin kalibrasyon grafiği.....	41
Şekil.3.3. Poliakrilamid jel elektroforezinde lipoprotein bantlarının şematik dizilimi.....	41
Şekil.3.4. Ölçüm sonrası lipoprotein bantlarının fotoğraf görünümü.....	42
Şekil.3.5. Poliakrilamid jel elektroforezinde normal bir lipoprotein profilinin görünümü.....	43
Şekil.3.6. Bir hastaya ait anormal lipoprotein profili.....	44
Şekil.4.1. Grupların yaş analizinin grafiksel görünümü.....	46
Şekil.4.2. Grupların VKİ açısından grafiksel görünümü.....	47
Şekil.4.3. Total kolesterol düzeylerinin grafiksel görünümü.....	48
Şekil.4.4. TG düzeylerinin grafiksel görünümü.....	50
Şekil.4.5. Gruplar arası LDL-C düzeyleri	51
Şekil.4.6. sdLDL-C düzeylerinin grafiksel görünümü	53
Şekil.4.7. sdLDL-C'ün total kolesterole oranının gruplar arası grafiksel görünümü.....	54
Şekil.4.8. Gruplar arası MMP-9 düzeyleri	56
Şekil.4.9. TIMP-1 düzeylerinin grafiksel görünümü	57

TABLOLAR DİZİNİ

	Sayfa
Tablo.2.1. Diabetes Mellitus tanı kriterleri.....	6
Tablo.2.2. Lipoproteinlerin sınıflandırılması.....	19
Tablo.3.1. Poliakrilamid jel elektroforezi intra-assay CV.....	43
Tablo.3.2. Poliakrilamid jel elektroforezi inter-assay CV.....	43
Tablo.3.3. Poliakrilamid jel elektroforezinin ultra santrifüjle karşılaştırılması.....	44
Tablo.4.1. Grupların yaş açısından karşılaştırılması.....	45
Tablo.4.2. Fisher LSD Metoduyla yaş açısından farklılık gösteren grupların karşılaştırılması.....	46
Tablo.4.3. Grupların VKİ analizi.....	47
Tablo.4.4. Grupların total kolesterol açısından karşılaştırılması.....	48
Tablo.4.5. Gruplar arası TG düzeylerinin karşılaştırılması.....	49
Tablo.4.6. Grupların kendi içinde farklılıklarının Dunn's metoduyla analizi.....	50
Tablo.4.7. Gruplar arası LDL-C düzeylerinin analizi.....	51
Tablo.4.8. LDL-C düzeylerinin Dunn's metoduyla karşılaştırılması.....	51
Tablo.4.9. sdLDL-C düzeylerinin gruplar arası analizi.....	52
Tablo.4.10. Gruplar arası sdLDL-C düzeylerinin Dunn's Metodu ile değerlendirilmesi.....	53
Tablo.4.11. sdLDL-C'ün total kolesterole oranına göre grupların karşılaştırılması.....	54
Tablo.4.12. Grupların sdLDL-C'ün total kolesterole oranına göre Dunn's Metodu ile karşılaştırılması	54
Tablo.4.13. Grupların MMP-9 düzeylerinin karşılaştırılması	55
Tablo.4.14. Grupların MMP-9 düzeylerinin Dunn's metoduyla analizi	55
Tablo.4.15. Grupların TIMP-1 düzeyleri açısından analizi.....	56
Tablo.4.16. Grupların TIMP-1 düzeylerinin Dunn's metodu ile karşılaştırılması.....	56

1. GİRİŞ

Diabetes Mellitus yüksek mortalite ve morbiditeye yol açan ciddi bir halk sağlığı problemidir. Yüksek kan glukoz düzeyleri ve diyabetik dislipidemi, ateroskleroz, nefropati, retinopati ve nöropati gibi istenmeyen komplikasyonların sebebidir. Tip 2 diyabet, diyabetin en yaygın formudur ve diyabet vakalarının % 90'ını oluşturmaktadır. Tip 2 diyabet, insülin rezistansı veya anormal insülin sekresyonu ile karakterize edilir (1).

Tip 2 diyabet genelde 45 yaş üzerinde ilk yakınmalar ile başlar. Kronik seyirlidir ve sinsi gidişlidir. Hastaların hekime ilk başvurma nedenleri polidipsi, poliüri ve polifaji gibi klasik yakınmalardan ziyade, görme bozuklukları, el ve ayaklarda uyuşukluk ve fasiyal sinir paralizi gibi kronik komplikasyonlarla ilgili yakınmalardır. İlk tanı konulduğunda çoğunlukla kronik komplikasyonlar mevcuttur. Hastaların çoğu obezdir. Aile öyküsüne sıklıkla rastlanır. Tip 2 DM'li bireylerin çocuklarında 1/3 oranında, ikizlerde %38 oranında diyabet veya glukoz tolerans bozukluğu ortaya çıkmaktadır.

Diyabetin makrovasküler komplikasyonları, aterosklerozla bağlantılı serebrovasküler, koroner arter ve periferik arter hastalıklarıdır. Diyabetteki makrovasküler komplikasyonların nedeni olarak, endotel hasarı, dislipoproteinemi ve bozulmuş hemostaz sorumlu tutulmaktadır. Geçen 10 yılda çok daha belirgin olmuştur ki genel olarak kardiyovasküler hastalıklar, kısmi olarak da ateroskleroz, önemli bir inflamatuvar komponente sahiptir (2).

2. GENEL BİLGİLER

2.1: Tip 2 Diyabet ve Karbonhidrat Metabolizması

Kan glukoz seviyeleri enerji metabolizmasında temel rol oynar. Kan glukoz düzeyi glukozun alım ve sentezi yolu ile belirlenir. Glukoz dengesi; karaciğer ve böbrekler tarafından glukoz üretimi ile beyin, böbrekler, kas ve yağ dokusu tarafından kullanılan glukozla bağlıdır. Pankreasta Langerhans adacıklarında hormon üreten hücreler karbonhidrat metabolizmasında önemli rol oynar. Pankreas adacıklarındaki α , β ve δ hücreleri sırasıyla glukagon, insülin ve somatostatin üretiminden sorumludurlar. Pankreas hormonlarının ana fonksiyonları besin

maddelerini glukojen ve trigliserid şeklinde depolamak, açlıkta veya streste enerji depolarını mobilize etmek, kan şeker düzeyini sabit tutmak ve büyümeyi hızlandırmaktır.

Tip 2 diyabetteki yetersiz insülin salınımının neden olduğu esas sorun glukozun uyardığı erken insülin cevabının kaybolmasıdır. Glukoz alımından sonra insülin konsantrasyonunun Tip 2 diyabetlilerde kontrollerden daha düşük olduğu görülmüştür. Erken faz insülin sekresyonunun azalması nedeniyle hepatik glukoz üretimi baskılanmamaktadır. Karaciğerden devamlı glukoz outputu ve intestinal sistemden dolaşıma devamlı glukoz geçişi ile hipergliseminin derecesi daha da artmaktadır. Yine insülin salınımının azalması nedeniyle kas dokusuna glukoz alımı azalmakta ve hiperglisemi şiddetlenmektedir. Bu tablonun ilerlemesi ile görünür açlık hiperglisemisi ve diyabet tablosu oluşmaktadır.

Tip 2 diyabette gözlenen kronik hiperglisemi dokulardaki insülin reseptörleri üzerinde toksik etki oluşturmakta ve reseptörlerin insüline duyarlılığını azaltmaktadır. Glukoz toksisitesi denilen bu durum insülin reseptörleri dışında pankreas adacık β - hücreleri üzerinde de etkili olarak insülin salınımını etkilemektedir. Bunun yanı sıra insüline karşı direnç gelişimine yol açmakta ve sonuçta β -hücre fonksiyonlarının ilerleyici kaybına neden olabilmektedir.

Aşık hiperglisemi sonucu büyüme bozukluğu ve bazı enfeksiyonlara yatkınlık, uzun dönemde de mikrovasküler komplikasyonlar (nöropati, retinopati, nefropati) ve makrovasküler komplikasyonlar (ateroskleroz, miyokard enfarktüsü, gangren, otonom nöropati) kronik hiperglisemiye eşlik edebilir. Diyabette yaşamı tehdit edici tablo olarak ketoasidoz veya non-ketotik hiperozmolar sendrom görülür.

2.1.1. Tip 2 Diabetes Mellitus Risk Faktörleri

Tip 2 diyabet, genler ve çevresel faktörler tarafından ortaya çıkan çok faktörlü bir hastalıktır. Tip 2 DM'un görülme sıklığındaki bu hızlı artışın sebebi ikincil faktörler olan obezite, hipertansiyon ve fiziksel aktivite eksikliğinin artmasıdır. Tip 2 DM' un tanımlanmış risk faktörleri aşağıda sıralanmıştır (3).

1. Genetik Yatkınlık : Tip 2 DM aile hikayesi olan kişilerin hastalığı geliştirme riskleri normal popülasyona göre daha yüksektir. Tip 2 diyabette hastalığın ortaya çıkışı birçok gen lokusuna bağlıdır ve hepsinin küçük de olsa etkileri vardır. Multifaktöriyel bir hastalık olan tip 2 DM'ta genler sadece kendi aralarında

etkileşmez. Aynı zamanda çevresel faktörlerle de etkileşir. İnsülin aktivitesi ve salınımı bir çok lokusta genetik varyansa sahiptir. Bu multifaktöriyel modele göre, hastalığa yatkınlık, değişik genetik varyantların (genotiplerin) ve çevresel faktörlerin birleşmesiyle kendini gösterir. Obezite ve tip 2 diyabetin genetiği çoğunlukla çakışır.

2. Yaş : Genellikle 40-45 yaş üzeri Tip 2 DM gelişimi için bir risk faktörüdür.

3. Obezite : Tip 2 DM hastalarının çoğu obezdir. Obezite, karaciğerde ve periferde azalmış insülin faaliyeti ile bağlantılıdır. Obezite ile Tip 2 DM arasındaki bağlantı birçok mekanizmanın sonucu ortaya çıkar.

4. Fiziksel Aktivite : Fiziksel aktivite yoksunluğu Tip 2 DM ile bağlantılıdır. Çalışmalar, egzersizin insülinin etkisini artırdığını ve kas hücrelerindeki glukoz taşıyıcılarının da düzenlenmesini sağladığını göstermektedir.

5. Hipertansiyon : Kan basıncının >140/90 mmHg olması Tip 2 DM gelişimi evresinde makrovasküler komplikasyonların oluşumunda etkili bir risk faktörüdür.

6. HDL-Kolesterol : Çalışmalar yüksek HDL-kolesterolün Tip 2 DM için potansiyel bir koruyucu faktör olduğunu göstermektedir . HDL-kolesterolün 35 mg/dl'den düşük olması Tip 2 DM için bir risk faktörüdür.

7. Trigliserid : Trigliserid düzeyinin 250 mg/dl' den yüksek olması Tip 2 DM için bir risk faktörüdür.

8. Metabolik Sendrom : İnsülin direnci sendromu olarak da bilinen metabolik sendrom, Tip 2 DM için bağımsız bir risk faktörüdür.

9. Doğum ağırlığı : Yüksek doğum ağırlığı Tip 2 DM için bağımsız bir risk faktörüdür. Doğum ağırlığının çok yüksek olduğu durumlarda annede gestasyonel diyabet görülmesi söz konusu olup ileride Tip 2 DM gelişmesi için anne risk altındadır. Yüksek doğum ağırlıklı bebekte de Tip 2 DM için genetik yatkınlık bulunmaktadır.

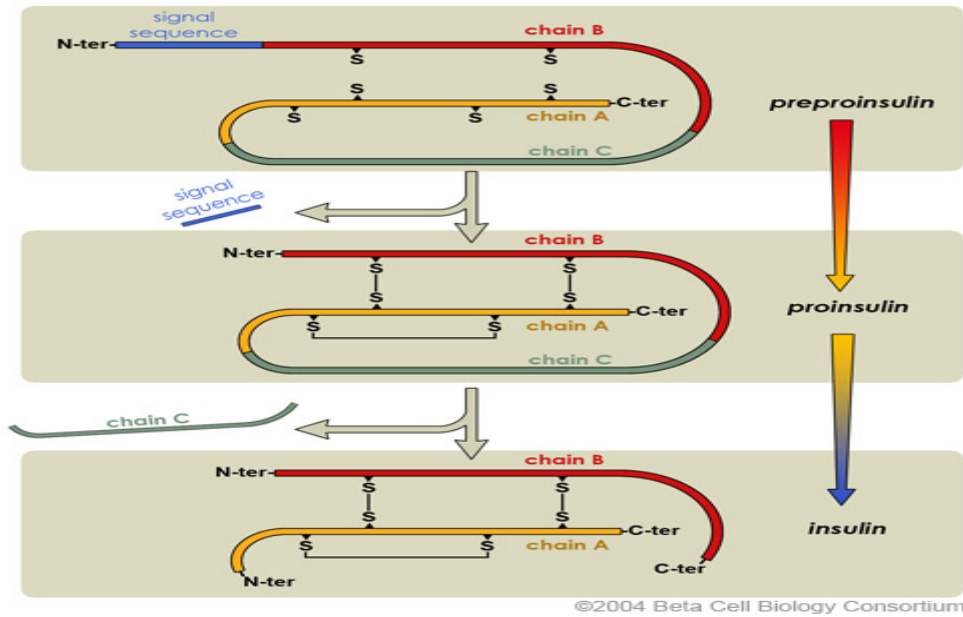
10. Etnik Köken : Çalışmalar ve yapılan demografik gözlemler sonucu Tip 2 DM prevalansı çeşitli toplumlarda incelenmiştir. Çin toplumunda ve Papua Yeni Gine'de prevalansı %1 gibi oldukça düşük bir değere sahipken, Kuzey Amerika'da bulunan Pima Hintlilerinde %50 gibi oldukça yüksek bir değere sahiptir.

11. Prediyabet : Oral glikoz tolerans testi ile belirlenen glukoz değerinin 140' tan yüksek 200'den az olduğu durum bozulmuş glukoz toleransı olarak bilinir. Bu tip hastaların yaklaşık % 30'unda 10 yıl içinde DM gelişme riski bulunmaktadır.

12. Bazı Hastalıklar : Polikistik over sendromu ve bazı endokrin hastalıklar (hipertiroidi, akromegali...) Tip 2 DM gelişimi için birer risk faktörüdür.

İnsülin

Pankreatik β hücrelerinden salgılanan peptid yapıda bir hormon olan insülin karbonhidrat, lipid ve protein metabolizmalarını düzenler. İnsülin, 51 amino asitten oluşan bir peptiddir ve proinsülinin C zincirinin uzaklaşması ile oluşur. Proinsülin, preproinsülinin parçalanması sonucu ortaya çıkar. İnsülin A ve B zincirleri olmak üzere iki peptid zincirden oluşmaktadır. Bu zincirler iki disülfid bağı (S-S bağları) ile birbirlerine bağlıdır. Daha sonra preinsülin ve insülin içeren granüller oluşur. Pankreasın insülin içeriği kabaca 6-10 mg olup bunun 2 mg' ı günlük salgılanan miktardır. İnsülinin yarı ömrü yaklaşık 10-30 dakikadır ve çoğunlukla karaciğer ve böbreklerde parçalanır.



Şekil.2.1.İnsülinin salınımı ve aktivasyonu

Yeni tespit edilen Tip 2 diyabet olguları incelendiğinde tanı konulduğu anda bu hastaların %30- 40'ında iskemik kalp hastalığı olduğu görülmüştür. Buradan da anlaşılacağı üzere muhtemelen tip 2 diyabet tanısı çoğu olguda geç konulmaktadır. Diyabetin ateroskleroz için bağımsız bir risk faktörü olduğu uzun süredir bilinmektedir (4). Ancak son yıllarda diyabet ve günümüzde onun öncüsü sayılan

metabolik sendromun, ateroskleroz için düşünöldüğünden daha ciddi bir risk faktörü olduğu anlaşılmıştır (5).

Diyabetiklerde görölen kardiyovasköler komplikasyonların hem mortalite hem de morbidite açısından en sık karşılaşılanı koroner arter hastalığı (KAH)'dır. KAH, diyabetiklerde hem daha erken yaşlarda ortaya çıkmakta hem de koroner lezyonlar daha kompleks ve yaygın olma eğilimi göstermektedir. Diyabetik hastalardaki endotel disfonksiyonu, proinflamatuvar durum, lipoproteinlerdeki bozukluklar, tromboza eğilim ve otonom disfonksiyon artmış kardiyovasköler olaylardan sorumlu mekanizmalardır. Dolayısıyla yoğun glisemik kontrol makrovasköler komplikasyonları önlemede yeterli değildir (8). Bunun nedeni olasılıkla aterosklerozun multifaktöryel olması ve de hipergliseminin bu risk faktörlerinden sadece biri olmasıdır. Bu risk faktörleri ve kardiyovasköler komplikasyonların varlığı klinik olarak diyabetin başlangıcından önce gösterilmiştir. Bu neden ile erken ve etkili risk faktörü tedavisi hem diyabet komplikasyonlarını önleyebilmekte hem de diyabetin ortaya çıkışını azaltabilmektedir (3).

2.1.2: Diabetes Mellitus Tanı Kriterleri

Dünya Sağlık Teşkilatı' nın 1997 ve Amerikan Diyabet Birliği' nin 2006 tanı kriterlerine göre; rasgele bir plazma örneğinde glukoz düzeyinin 200 mg/dl' den fazla olması veya 10–12 saatlik bir açlıktan sonra açlık plazma glukoz düzeyinin 126 mg/dl' den fazla olması Diabetes Mellitus olarak tanımlanır (9, 10). Açlık kan glikozu 126 mg/dl' nin altında fakat 100 mg/dl' nin üzerinde olan hastalarda insölin salınımının ilk fazının bozulmuş olabileceği düşünölmür ve bozulmuş açlık glukozu olarak isimlendirilir. 75 g glukozun oral yolla verilmesi ile 2. saat plazma glukoz değerinin ölçölmesi oral glukoz tolerans testi (OGTT) olarak adlandırılır. OGTT ile açlık kan glukozu 126 mg/dl'nin altında bulunan hastalarda OGTT 2. saat değerinin 140 mg/dl'den yüksek 200 mg/dl'den düşük olması bozulmuş açlık glukozu olarak isimlendirilir. (Tablo.2.1).

Tablo.2.1. Diabetes Mellitus tanı kriterleri

<p>Açlık Plazma Glukozu</p> <p>Normal : < 100 mg/dl</p> <p>Bozulmuş açlık glukozu: 100 mg/dl -125 mg/dl</p> <p>Diyabet : \geq126 mg/dl</p> <p>OGTT sırasında 2.saat plazma glukozu</p> <p>Normal : < 140 mg/dl altı</p> <p>Bozulmuş glukoz toleransı:140 mg/dl – 199 mg/dl</p> <p>Diyabet : \geq200 mg/dl</p>

2.1.3: Diabetes Mellitus Tiplerinin Sınıflandırması;

- * Tip 1 Diyabet
- * Tip 2 Diyabet
- * Gestasyonel Diyabet
- * Diğer spesifik diyabet tipleri olarak sınıflandırılır.

Tip 1 diyabet, insüline bağımlı diyabet veya juvenil başlangıçlı diyabet olarak da isimlendirilir. T hücreleri aracılığıyla pankreatik β hücrelerinin otoimmün harabiyeti söz konusudur. İnsülin yetersizliği görülür. Gestasyonel diyabet, gebelik esnasında ortaya çıkar ve çoğunlukla üçüncü trimesterde gelişir. Kesin tanısı için doğumdan 6 hafta sonra açlık plazma glukoz düzeyleri tayin edilmelidir. Bu hastaların tip 2 diyabet geliştirme riski oldukça yüksektir. Diğer spesifik diyabet tipleri içerisinde Tip 1 ve Tip 2 diyabet ile ilişkisi olmayıp etiyojileri bilinen diyabet tipleri bulunur. Pankreas hastalıkları (kronik pankreatit, hemakromatoz), hormon bozuklukları (feokromositoma, akromegali), ilaçlar ve kimyasal maddeler (kortikosteroid, tiazid), insülin reseptör anomalileri (Kahn A, B, C tipi), genetik sendromlar (Wermer sendromu, Alström sendromu) (11).

Diabetes Mellitus miyokard hasarını koroner makrovasküler hastalık, otonomik disfonksiyon, diyabetik kardiyomiopati ve koroner mikrovasküler hastalıklara yol açarak oluşturmaktadır. Bu fizyopatolojik mekanizmalar nadiren izole olarak bulunur, sıklıkla birbirlerini potansiyalize ederler.

Tip 2 DM son yıllarda “Koroner Arter Hastalığı Eşdeğeri Klinik Durum” olarak kabul edilmektedir. DM’li hastalarda kardiyovasküler komplikasyonlar mortalitenin %70’inden fazlasından sorumludur. Mortalite ve morbidite açısından en sık karşılaşılan kardiyovasküler komplikasyon ise koroner arter hastalığıdır. Diyabetik hastalarda koroner arter hastalığına bağlı mortalite normal popülasyona göre 2–4 kat daha yüksektir (6,8). MI öyküsü olmayan diyabetik hastaların, geçmişte MI geçirmiş gibi MI geçirme riskinin olduğu bildirilmektedir. Bu nedenlerle koroner arter hastalığı olmayan diyabetik bir kişinin gelecekteki kardiyovasküler olaylar için risk düzeyi önceden koroner arter hastalığı bulunan diyabetik olmayan bir kişi ile eşdeğer olarak kabul edilmektedir (7,22).

Koroner arter hastalığı diyabetiklerde hem daha erken yaşlarda ortaya çıkmakta hem de koroner lezyonlar daha kompleks ve yaygın olma eğilimi göstermektedir. (3). Diabetes mellitusun kalp üzerine koroner arter hastalığı dışında etkileri de vardır. Strong Heart çalışması’nda diyabetin kalp üzerine diğer faktörlerden bağımsız olarak olumsuz etkiler oluşturduğu, sol ventrikül kitle ve duvar kalınlığında artışa neden olduğu ve miyokard işlevlerini baskıladığı bulunmuştur(4).

2.2: Ateroskleroz

Gelişmiş batı ülkelerinde ölümlerin en başta gelen sebebi kardiyovasküler hastalıklardır. Bu yüzden çok sayıda araştırmaya konu olmakta ve gün geçtikçe bu konuda yeni gelişmeler sağlanmaktadır. Kardiyovasküler hastalıkların temelinde yatan asıl olay ateroskleroz olup etiyopatogenezinde çok sayıda genetik ve çevresel faktörler rol oynamaktadır. Kardiyovasküler hastalıklar, koroner kalp hastalığı, inme ve periferik damar hastalıklarını da içine alan farklı hastalık gruplarını kapsar. Fakat bütün bu hastalıkların tümünün altında yatan patoloji aterosklerozdur. Aterosklerozun fizyopatolojisi oldukça komplekstir. Kan damarlarının subendotelial aralığında, arter duvarının tüm yapısal elemanları, trombosit, lökosit ve özellikle monosit, makrofaj gibi çeşitli inflamatuvar hücreler ile lipid ve lipoproteinlerin birikimini içeren kronik, inflamatuvar bir hastalıktır (12,13). Bu süreçte merkezi rol oynayan vasküler endotel, arteriyel duvar ve kan dolaşımı arasında dinamik bir geçiş bölgesidir.

Damar duvarındaki değişiklikler yaşam boyunca oluşurken, ateroskleroz yaşlanmadan farklı patolojik bir süreçtir. Aterosklerozun öncü lezyonları; yağ izleri (fatty streak) ve fibröz plaktır. Yağ izleri, aterosklerozun en erken görülen bulgusudur. Batı tipi diyetle beslenen çoğu kişiler 20 yaş civarında bir kısım yağ izlerine sahip olurlar. Yağ izleri mikroskobik olarak; köpük görünümü veren intrasellüler lipidlerle dolu büyük hücrelerin (köpük hücreleri, foam cells) subendotelyal bölgeye toplanmasıyla karakterizedir. Köpük hücrelerinin bir kısmı düz kas orijinli olsa da esas olarak lipidlerle yüklü makrofajlardır. Fibröz plak, aterosklerotik hastalıkların kliniğinde önemli rol oynar. Yağ izleri arteriyel damarlarda yaygın plak gelişmeyen bölgelerde bile oluşabilir. Mikroskobik olarak, fibröz plaktaki değişikliklerin çoğu intimal tabakada meydana gelir ve burada monosit, lenfosit, köpük hücreleri ve konnektif doku toplanmıştır. Bazı lezyonlarda, hücre yıkıntılarının nekrotik çekirdeği, köpük hücreleri ve kolesterol kristalleri görülür. Bazılarında da konnektif matriks içinde düz kas hücrelerinden ibaret fibröz bir başlık bulunur. Yağ izlerinden farklı olarak, fibröz plak içindeki köpük hücrelerinin çoğu düz kas orijinelidir (4).

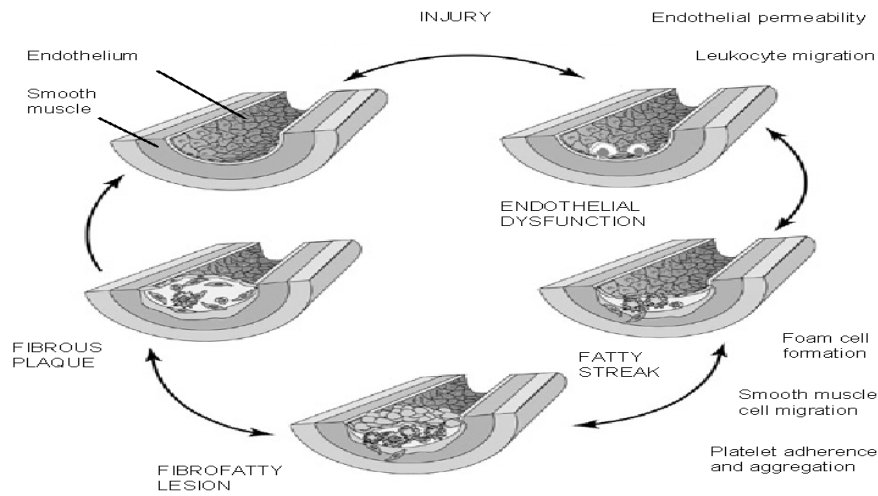
2.2.1: Ateroskleroz oluşum hipotezleri

Ateroskleroz gelişimiyle ilişkili üç farklı hipotez ortaya atılmıştır (5). Bunlar;

- a) Hasara yanıt hipotezi
- b) Tutulmaya (retention) yanıt hipotezi
- c) Oksidatif modifikasyon hipotezi

a) Hasara yanıt hipotezi: Bugün hala aterosklerotik sürecin nasıl başladığı tam olarak anlaşılamamıştır. Bu anlamda en fazla kabul gören görüş Ross tarafından ortaya atılan hasara tepki (“response to injury”) hipotezidir. Bu hipotezde anahtar olay endotel hasarıdır (6). Endotel hasarı, normal vasküler özellikleri değiştiren bir takım kompensatuvar cevaplara yol açar. Örneğin hasar, lökosit ve trombositlerin endotele adezyonunu artırır ve lokal vasküler antikoagulan çevreyi prokoagulan bir çevreye dönüştürür. Toplanan lökosit ve trombositler, sitokin, vazoaktif ajanlar ve büyüme faktörlerini salgırlar ve intima içerisine düz kas hücre migrasyonunu ve onların proliferasyonu ile karakterize olan inflamatuvar cevabı arttırlar (5).

İnflamatuvar cevabın bir diğer komponenti arter duvarı içerisine makrofajların toplanmasıdır. Bu makrofajlar düşük dansiteli lipoprotein (LDL-C) partiküllerini alarak içi lipid dolu köpük hücrelerini oluştururlar. Lipid birikimi ve köpük hücre oluşum süreci inflamatuvar cevapla devam eder. Süregelen inflamasyon olayını, sitokin, büyüme faktörleri ve proteolitik enzimlerin salınımı ile birlikte olan hücresel nekroz izler. Lezyonun oto-katalitik olarak genişlemesiyle lezyon lümenine doğru ilerler ve sonunda kan akımını bozar (5).

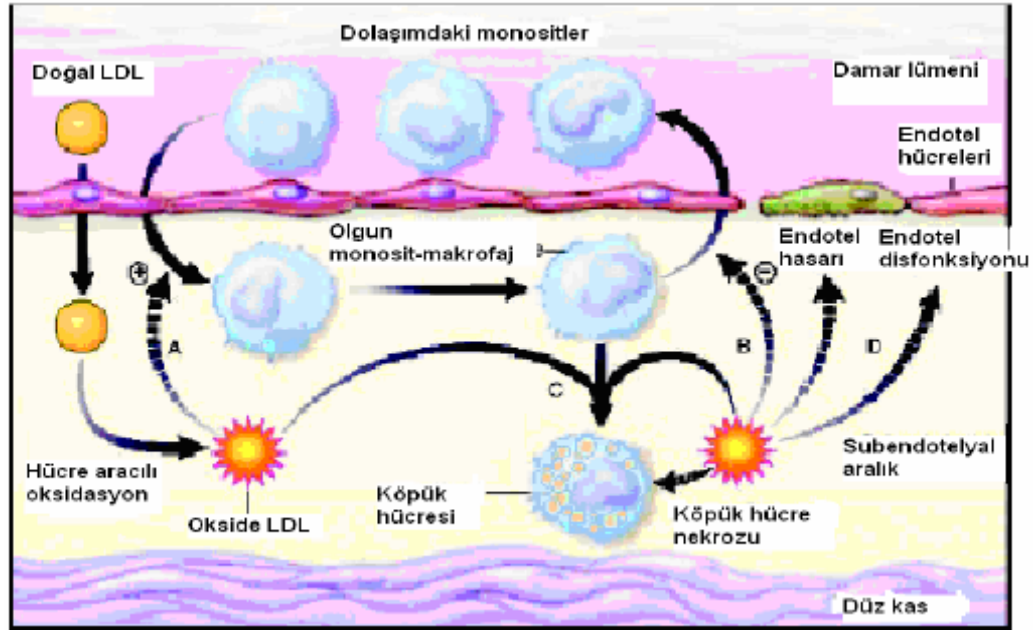


Şekil.2.2. Artmış endotel geçirgenliği ve subendotel aralığına LDL-C birikimi. Endotele lökosit adezyonu ve transmigrasyonu, T hücre aktivasyonu, lökosit adezyonu, trombosit adezyonu ve agregasyonu ile köpük hücre oluşumu, süregelen makrofaj birikimi, fibröz kapsül oluşumu.

b) Retansiyona yanıt hipotezi: Bu hipoteze göre ateroskleroza başlatan olay lipoprotein retansiyonudur. Arter duvarına lipoprotein retansiyonu, ekstrasellüler matriks komponentleriyle sıkı olarak bağlantılı gibi görünmektedir. Özellikle, apolipoprotein B-100 içeren lipoproteinlerin, damar duvarına birikiminin inflamatuvar kaskadı tetiklediği düşünülmektedir (5).

c) Oksidatif modifikasyon hipotezi: Aterosklerozda oksidatif modifikasyon hipotezi, Goldstein ve arkadaşlarının kültüre makrofajların kimyasal olarak modifiye olmuş LDL-C (okside LDL-C) varlığında lipid yüklü hücrelere dönüştüğü görüşü ile ortaya çıkmıştır (7). Modifiye LDL-C'ün invitro düz kas hücresi ve endotel hücrelerinde monosit kemotaktik protein-1'in sentezini arttırdığı gösterilmiştir. Okside LDL-C, monosit ve lenfositler için kemotaktiktir. Okside LDL-C'ün düz kas

hücrelerinin proliferasyonunu uyardığı bilinmektedir. Okside LDL-C, makrofajlar tarafından köpük hücre oluşumu için daha hızlı oranda alınmaktadır. Ayrıca okside LDL-C, endotelial hücreler gibi bir takım hücelere sitotoksiktir



Şekil.2.3.Oksidatif modifikasyon hipotezi. A: Okside LDL - C monositlerin kemotaksisini uyarır. B: Monosit gidişini engeller. C: Köpük hücre oluşumuna aracılık eder. D: Okside LDL-C endotel disfonksiyonu ve hasarına yol açar. E: Okside LDL-C birikiminden dolayı köpük hücre nekrozu oluşur.

2.2.2: Aterosklerozun Fizyopatolojisi

Aterosklerotik plak gelişiminde çeşitli evreler vardır. Bu evreler şunlardır:

1. Endotelial aktivasyon veya disfonksiyon
2. İnflamatuar evre
3. Reperatif evre
4. Trombotik evre

a. Endotelial aktivasyon veya disfonksiyon

Aterosklerotik süreçteki ilk basamak endotel disfonksiyonudur. Sirkülasyondaki yüksek lipid konsantrasyonları, artmış kan basıncı, sigaradaki toksinler ve yüksek glukoz düzeyleri gibi aterosklerotik risk faktörleri endotel fonksiyonunda bozukluğa yol açmaktadır (8,14). Lezyona eğilimli arter bölgelerinde albumin, LDL-C ve fibrinojene geçirgenliğin arttığı gösterilmiştir. LDL-C,

subendotelyal aralıktaki kollajen ve glukozaminoglikanlar gibi ekstra sellüler matriks proteinlerine bağlanarak arter duvarında birikir. Ayrıca endotelyal yüzeyde etkilenmiş bölgelerde, özellikle monositler toplanmaya başlar ve makrofajlara dönüşürler.

Ateroskleroz sıklıkla fokal olup kısmen, kan damarlarının dallanma noktalarına yakın lokal girdap bölgelerini etkiler (7,8).

b. İnflamatuvar evre

Arteriyel duvara monositlerin girişi ve makrofajlara dönüşümü inflamatuvar yanıtın tipik bir özelliğidir. Makrofajların asıl amacı hasarlı hücreleri bulmak ve reaktif oksijen ve nitrojen türevleri ile enflamasyonu başlatmaktır. Makrofajlar aynı zamanda lipid biriktirmekte ve bu faz ekstrasellüler lipid depolanmasının veya yağlı çizgilenmelerin görüldüğü faz olmaktadır ki bu durum çok genç insanlarda bile görülebilir (8).

c. Reperatif evre

Birçok aterosklerotik plağın olgunlaşma sürecinde belirli bir zaman periyoduna ihtiyaç duyması, plağın olgunlaşmasında inflamatuvar durumu önlemeye zıt bir defans veya savunma mekanizmasının olduğunu gösterir. Bu durum özellikle düz kas hücrelerinin kontraktıl özelliklerinin kaybı, kollajen ve matriks proteinlerini sentez edebilecekleri daha fibroblastik bir fenotipe dönüşmeleri ile ilişkilidir. Değişimin yararı ise yağlı dokunun yeniden yapılanmasında büyük mekanik güçlü bir fibröz kapsül, yani bir çeşit skar dokusu ile kaplanmasıdır. Bu noktada birçok plak progresyona gitmemekte ve klinik sonuç gelişmemektedir. Lipid depolanmasının ve yeni fibröz kapsüllerin oluşumunun çoklu fazları olabilir ve bazen arter duvarı kalınlaşır, plak arteriyel lümeneye girer ve kısmen kan akımını önler. Ayrıca oksijen ve besin maddeleri için kalınlaşmış arteri geçmek zorlaşır ve hipoksik ve sonuçta nekrotik hale gelebilir. Bunun önlenmesi için, anjiogenez süreci, yeni kan damarlarının oluşumu uyarılabilir ve gerekli besinler sağlanabilir (8).

d. Trombotik faz

Tüm aterosklerotik plaklar aynı değildir; içerikleri (makrofaj sayısı ve lipid oranı gibi) ve fibröz kapsülün kalınlığı değişiklik gösterebilir. Fibröz kapsülü ince olanlar mekanik bir zorlamaya daha duyarlı olabilir. Fibröz kapsüldeki hasarlanma doku faktörü gibi protrombotik proteinlerin sızıntısı sonucunda koagülasyon kaskadını aktive ederek trombüs oluşumunu başlatacaktır. Bu durumda oluşan trombüs arteri tamamen veya kısmen tıkayabilir veya oluşan trombüs bir başka artere göç ederek orada tıkanmaya sebep olabilir.

2.2.3: Aterosklerozda Epidemiyolojik Risk Faktörleri

Koroner arter hastalığının gelişmesini veya ilerlemesini önlemede ya da seyirini yavaşlatmada, özellikle geri döndürülebilir risk faktörleri çok önemlidir. Bunların en önemlileri; sigara içme, hipertansiyon ve hiperkolesterolemidir. Özellikle genç erişkinlerde bu risk faktörlerinin kontrolü koroner arter hastalığının yaygınlığını azaltmada çok önemlidir (4).

Koroner kalp hastalığı risk faktörleri

Majör risk faktörleri

Sigara içme

Hipertansiyon

Serum total kolesterol veya LDL-C yüksekliği

HDL kolesterol düşüklüğü

Diyabet

Kondisyonel risk faktörleri

Trigliserid yüksekliği

Lipoprotein(a)

Homosistein

Pıhtılaşma faktörleri

Plazminojen aktivatör inhibitör-1

Fibrinojen

C-reaktif protein

Predispozan risk faktörleri

Obezite (özellikle abdominal obezite)

Fiziksel aktivite azlığı

Erkek cinsiyet

Ailede erken yaşta KAH bulunması

Sosyal ve ekonomik faktörler

Psikolojik faktörler

İnsülin direnci

2.2.4: Diyabet ve Aterosklerozis

Diyabetli hastalar ateroskleroz ve koroner arter hastalığının artmış prevalansına sahiptir. Diyabet, kardiyovasküler hastalıklar için bağımsız bir risk faktörüdür ve bu risk beraberindeki dislipidemilerle daha da artar (15). Diyabetik hastalarda trigliseridlerin artması ve HDL kolesterolünün azalması aterosklerozu hızlandırır (16). Diabetes mellituslu hastalar nondiyabetiklere göre akut koroner sendrom ve MI sonrası daha fazla mortalite ve morbiditeye maruz kalırlar. Ayrıca DM ateroskleroz gelişimini uyarmakta ve gelişmekte olan aterosklerozu ise hızlandırmaktadır. Bu da aterosklerozun diyabete yüksek oranda eşlik etmesini ve ölüm nedenlerinin en önemli kaynağı olmasını açıklamaktadır.

Koroner arter hastalığı, serebrovasküler hastalık ve periferik damar hastalığı gibi aterosklerotik komplikasyonlar diyabet hastalarında en sık mortalite ve morbidite nedenidir. Diyabet hastalarında bu komplikasyonların riski, nondiyabetiklere göre 2–5 kat daha yüksektir. Aterosklerozda rol oynayan diyabete özgü diğer faktörler arasında fibrinojen düzeylerinde artış, trombosit agregasyonunda tetiklenme, tromboksan üretiminde artış, protein ve lipoprotein glukozillenmesi sayılabilir. İster anormal glukoz toleransı, ister açlık hiperglisemisi, isterse de belirgin diyabet biçiminde ortaya çıksın, bozulmuş glukoz toleransı kardiyovasküler olaylar gelişebileceğinin habercisidir. Tip 2 DM' li hastalarda sıkı glukoz kontrolü, retinopati ve nefropatiden korunma için önemli olmasına rağmen kardiyovasküler hastalık insidansı ile ilişkisi zayıftır. Diyabetiklerde aterosklerotik kalp ve damar hastalıkları ile hipertansiyon birlikteliği yüksek oranda görülür. Bu oran diyabetin

süresi, diyabetin kontrolündeki başarı düzeyi ve genetik faktörlerle değişmesine rağmen % 70'lere kadar yükselebilmektedir.

Diyabetiklerde kan glukoz düzeyinin kontrolünün, ateroskleroz gelişimini önlemede yetersiz olması aterosklerozun multifaktöryel doğası ve hipergliseminin bu faktörlerden sadece bir tanesi olmasıyla açıklanmaya çalışılmaktadır. Eğer hipertansiyon veya hiperkolesterolemi gibi ek risk faktörleri varsa koroner arter hastalığı riski diyabeti olmayanlara göre katlanarak artmaktadır (14). Glisemik kontrolün kardiyovasküler komplikasyonları azaltamamasının bir diğer önemli nedeni ise aterosklerozun prediyabetik dönemde başlamış olmasıdır. Norhommar ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada koroner yoğun bakıma akut koroner sendrom tanısı ile yatırılan ve önceden diyabet tanısı olmayan hastaların % 31'ine yeni DM tanısı ve % 35'ine bozulmuş glukoz toleransı tanısı konmuştur (17). Sonuçta aterosklerotik süreç prediyabetik dönemden itibaren hızlanmaktadır. Daha da önemlisi sadece kötü takipli hiperglisemik seyreden diyabetiklerin değil, iyi takipli ve normoglisemik diyabetiklerin de makrovasküler komplikasyonlardan korunamadığı ortaya çıkmaktadır.

Diyabetiklerde yapılan ileriye dönük çalışmalarda, hipergliseminin derecesi ile mikrovasküler ve makrovasküler komplikasyonlar ve genel mortalite nedenleri arasında doğrusal bir ilişki olduğunun gösterildiği çalışmalar vardır (18). Hiperglisemi, damar disfonksiyonu, dislipidemi ve koagülasyonu artırarak ateroskleroz oluşumuna katkıda bulunur (19).

Diyabetik hastalarda ateroskleroz çok daha erken dönemde ortaya çıkabilmektedir (20). Tip 2 diyabet hastalarının %75 kadarı kardiyovasküler hastalıklar nedeniyle yaşamlarını yitirmektedir. Diyabetik hastalar, miyokard enfarktüsülü (MI) hastalar arasında sayıca üstün olmakla kalmaz aynı zamanda diyabetik olmayanlara göre prognozları daha kötüdür (21). Diyabetin süresi mevcut risk faktörlerinden bağımsız şekilde koroner kalp hastalığına bağlı mortaliteyi artırır (23). Diyabetik hastalarda asemptomatik koroner hastalık insidansı yüksektir. Sessiz miyokardiyal iskemi oranı diyabetikler için %20'den fazla olarak bildirilmektedir. Diyabet, kardiyak otonomik disfonksiyona neden olmakta ve iskemiye karşı ağrı yanıtını bozmaktadır (24).

Çeşitli çalışmalar, kadınlarda ve erkeklerde, semptomatik veya asemptomatik, kronik hipergliseminin diğer risk faktörlerinden (sigara, kan basıncı, serum lipidleri ve lipoproteinleri, mikroalbüminüri, vs.) bağımsız major bir risk faktörü olduğunu doğrulamaktadır (25). Diyabetik hastalarda aterosklerotik lezyonlar daha yaygındır ve birçok koroner arterde hastalık gelişir. 30 yaş üzerinde ve böbrek komplikasyonu gelişen diyabetiklerde mortalite artışı daha yüksektir ve proteinüri olmayan olgulardan 15 kat fazladır (25,27). Diyabetik hastalarda ağır koroner arter hastalığı görülmesinin nedeni aterosklerozun erken gelişmesidir. Prediyabetik hastalarda koroner arter hastalığı mortalitesi, diyabetik olmayanların 2–3 katı artmış bulunmaktadır. Tip 2 diyabetin gelişiminden önceki prediyabetik dönemde metabolik sendromun bileşenleri olan dislipidemi, hipertansiyon, mikroalbüminüri, hemostatik ve inflamatuvar göstergelerin arttığı tespit edilmiştir (26). Geniş kapsamlı ileriye dönük 20 çalışmanın meta-analizinde açlık ve 2. saat kan glukoz değerleri ile kardiyovasküler hastalık ve total mortalite arasındaki ilişki incelenmiştir. Hipergliseminin diyabetik olmayan hastalarda da kardiyovasküler hastalıkların riskini yükselttiği gösterilmiştir (27).

Son yıllarda postprandiyal hipergliseminin diyabette bağımsız bir risk faktörü olduğunu gösteren kanıtlar çoğalmıştır. Tip 2 diyabetik hastalarda gerek glukoz yüklemesinden sonraki konsantrasyonların, gerekse postprandiyal glukoz konsantrasyonlarının, kardiyovasküler hastalıklarla açlık glukoz düzeyinden bağımsız olarak doğrudan bir ilişkisi bulunduğu görülmüştür (28). Postprandiyal glukoz değerlerinin kontrolü, diyabete bağlı makrovasküler ve mikrovasküler komplikasyonları geciktirebilir veya önleyebilir (29). DECODE (Diabetes Epidemiology: Collaborative Analysis of Diagnostic Criteria in Europe) çalışmasında 2. saat postprandiyal gliseminin bozulmuş açlık değerlerine oranla kardiyovasküler risk açısından daha prediktif olduğu gösterilmiştir (30).

Tip 2 diyabetik hastalarda kardiyovasküler hastalıkların tedavisinde multifaktöriyel yaklaşım söz konusudur. ADA sadece iyi bir glisemik kontrolün değil, aynı zamanda ilişkili kardiyovasküler risk faktörlerinin de tanımlanmasını ve agresif tedavilerini önermektedir. Ayrıca genel popülasyona oranla lipid ve kan basıncı değerlerinin kontrolünde daha sıkı hedefleri öngörmektedir (31).

2.2.5: Diyabetik Makrovasküler Hastalığın Etyopatogenezinde Özellikle Önemli Olan Etkenler;

- 1- Kan lipid profili ve düzeyi
- 2- Dolaşan kan elemanlarındaki değişiklikler
- 3- Ateroskleroz gelişiminde hızlanma
- 4- Endotel ve intima değişiklikleri
- 5- Protein-lipoprotein glikasyonu ve oksidasyonu
- 6- İnsülin direnci ve hiperinsülinemi
- 7- Obezite.

Bu faktörlerin çoğu hiperglisemi ile açık bir ilişki göstermezler. Hipertansiyon, sigara kullanımı ve lipid anormallikleri, diyabetik ve nondiyabetik hastalardaki ateroskleroz riski üzerinde benzer rol oynamaktadır. Ateroskleroz yaşamın ilk yıllarında başlayarak subklinik olarak ilerler ve 3. dekattan sonra klinik bulgularla karşımıza çıkar.

Lezyon klasik olarak intimada yağlı çizgilenme şeklinde başlar, bunu yağlı fibröz plak ve sonuçta fibröz plak çatlaması ve kanaması ile trombüs ve emboliler izleyebilir. Damar lümeninin daralması veya tıkanması ile dokularda gelişen iskemi ve nekroz sonucunda belirgin klinik tablolar ortaya çıkar. Diyabetin vasküler inflamasyon için tetikleyici olduğu ve kanda akut faz inflamatuvar reaktanlarının artışı ile karakterize inflamatuvar bir hastalık olduğu bilinmektedir. Tümör nekroz faktör, interlökin 6 ve C reaktif protein gibi inflamasyon belirteçleri insülin direnci ile ilişkilidir. Bunların ötesinde C reaktif proteinin aterosklerotik süreçte sadece bir inflamasyon belirteci olmadığı, adezyon molekülleri ve doku faktörü yapımını uyarması, LDL-C'ün fagositler tarafından fagosite edilmesini kolaylaştırması ve monosit göçünü tetikleyerek sürece doğrudan katıldığı düşünülmektedir. Diyabetik hastalarda sık görülen abdominal obezitedeki karın içi yağ dokusu düşük seviyeli kronik inflamatuvar durumun önemli bir belirleyicisidir ve buna bağlı olarak bu kişilerde interlökin 6, tümör nekroz faktör- α ve C reaktif protein düzeyleri artmaktadır. Bu kronik inflamasyon, insülin direnci ve obezite ile kardiyovasküler hastalıklar arasında ilişki olduğu görüşünü güçlendirir.

Ateroskleroz süreci birçok karmaşık humoral ve hücrel inflamatuvar elementin katılımıyla gerçekleşir. Makrofaj koloni uyarıcı faktör gibi

kemoatraktanlar, interlökin gibi sitokinler, monositlere bağlanan büyüme faktörü ve hücre yüzeyi adezyon molekülleri aracılığı ile inflamatuvar bir ateroskleroz sürecini başlatır (13). İntimada monositler ve T lenfositleri bu inflamatuvar cevabı düzenleyip sonunda köpük hücrelerin oluşumuna, intimal kalınlaşma ve plak formasyonuna neden olur. Daha sonraki safhalarda ise damar lümeninde daralma izlenir. Bundan başka tetiklenen inflamatuvar mekanizmalar hücre dışı matriksin temel bileşenlerinin dağılmasına ve bunun sonucunda fibröz kılıfın zayıflamasıyla birlikte plağın yırtılmaya daha dayanıksız hale gelmesine neden olur (12).

Hiperglisemi, makrofaj matriks metalloproteinaz (MMP) üretimini artırır. MMP' nin diyabetik ateroskleroz gelişiminde makrofajları tetikleyerek kilit rol oynadığı düşünülmektedir. Diyabetik hastalarda ortaya çıkan oksidatif stres sonucunda adventisyada başlayan inflamasyon aynı zamanda tunika mediaya ulaşarak atrofi ve fibroza neden olur. Bu hastalarda artmış MMP aktivitesi sonucu internal elastik laminada bozulma görülür. MMP'da plak yırtılmasının bağımsız bir ön belirteçidir. Diyabetik hastalarda aterom plağı kompozisyonu da farklılık gösterir. Makrofaj infiltrasyonu ve trombüs oluşumu bu hasta grubunda artar. Diyabetik ateroskleroz da adventisyal inflamasyon ve vazovazorum neovaskülarizasyonu, plak içi kanamaya, makrofaj aktivasyonuna ve lipid çekirdeğin genişlemesine neden olarak yüksek riskli aterosklerotik lezyonlar meydana getirir.

2.2.6 Diyabet ve Dislipidemi

Diyabet ve dislipidemi birlikteliği sık görülen, ancak özelliği olan bir birlikteliktir. Diyabetik hastalarda genellikle HDL-C düzeyi azalır, LDL-C değişmez ya da artar ve trigliserid düzeyi ise artar. Diyabetli olgulardaki LDL-C oksidasyona daha duyarlı ve daha aterojenik olan küçük ve yoğun LDL-C'dür. Buna ek olarak hiperglisemi LDL-C ve diğer lipoproteinlerin glukozillenmesini kolaylaştırarak daha kolay okside olmalarına ve daha aterojenik etkinlik göstermelerine yol açar. Bu özel dislipidemiden sorumlu olan DM'nin metabolizmada oluşturduğu bozukluklardır. Diyabetik hastalarda yağ dokusundan serbest yağ asit (FFA) salgılanmasında artış ve iskelet kaslarından da alımın azalmasına bağlı olarak dolaşımda FFA artar. Karaciğer ise FFA düzeyindeki artışa VLDL kolesterol ester sentezini arttırarak yanıt verir, bunun sonucunda diyabetik hastalarda tipik olarak görülen hipertrigliseridemi ortaya

çıkar. İnsülin direncinde tipik bulgular olan hipertrigliseridemi ve düşük HDL' nin endotel disfonksiyonu ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. FFA' lar serbest oksijen radikallerini arttırarak protein kinaz C'yi aktif hale getirir ve dislipidemi arttırır. Bunlarda endotel fonksiyon bozukluğuna yol açar. FFA'nın infüzyonunun endotele bağlı vazodilatasyonu azalttığı gösterilmiştir (11). Sonuçta bir yandan oksidasyon artarken öte yandan antioksidan etkinlik azalır, dolayısıyla oksidatif yük artar. Hipergliseminin reaktif oksijen radikallerini arttırarak lipoproteinlerin nonenzimatik oksidasyonunu hızlandırması sonucunda aterosklerotik sürecin başlamasına katkıda bulunduğu düşünülmektedir. Diyabetlilerde üretilen aşırı miktardaki karbonil grubunun antioksidan etkinliği iyice baskıladığı böylelikle de hastaları diğer oksidatif streslere karşı daha korumasız bıraktığı başka bir hipotezdir.

2.3. LDL-C ve sdLDL-C

2.3.1: Lipoproteinler ve sınıflandırılmaları

Organizmamıza diyetle gelen veya karaciğerde ve barsakta sentezlenen lipidlerin metabolik fonksiyonlarını yapabilmeleri için farklı dokulara taşınmaları gerekir. Lipidler, plazmanın sulu yapısından dolayı sınırlı olarak çözündüklerinden, taşınmaları için stabilize edilmeleri gereklidir. Kandaki lipidlerin bir dokudan diğerine taşınması, sulu ortamda stabil olan ve nonkovalan bağlarla bir arada tutulan çeşitli lipid ve protein komplekslerinin gelişimi ile kolaylaştırılmaktadır. Bu kompleksler, "plazma lipoproteinleri" adı verilen yapılardır (32).

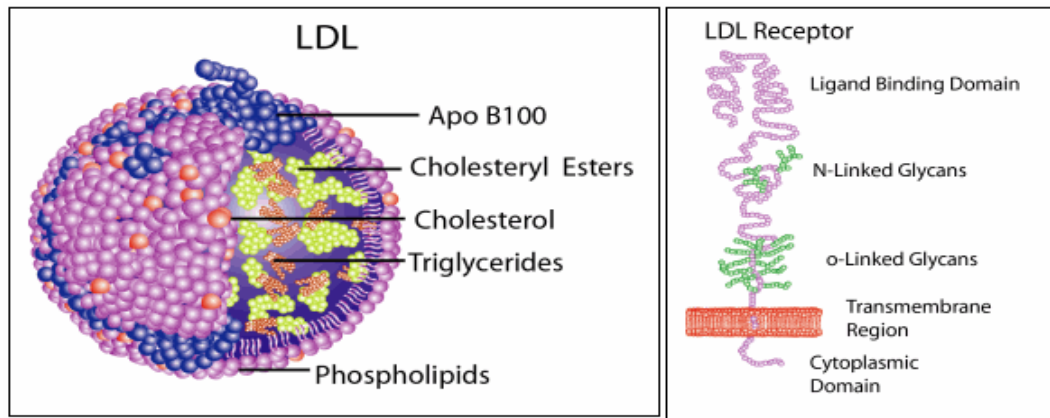
Lipoproteinler, yoğunluklarına ya da elektroforezdeki göçlerine göre sınıflandırılabilirler. Ultrasantrifüj yöntemi ile yoğunluk farklarına göre birbirinden ayrılmış olan dört ana lipoprotein sınıfı şöyledir: şilomikronlar, çok düşük dansiteli lipoproteinler (VLDL), düşük dansiteli lipoproteinler (LDL) ve yüksek dansiteli lipoproteinler (HDL). Bu lipoproteinler aynı zamanda, kimyasal kompozisyon, boyut, ve potansiyel aterojen özellikleri bakımından da birbirlerinden ayrılmaktadır. Her lipoprotein partikülü, temel olarak kolesterol esterleri ve trigliserid içeren nonpolar, hidrofobik bir lipid çekirdeği taşımaktadır. Bu çekirdek, apolipoproteinler, fosfolipidler ve serbest (esterleşmemiş) kolesterol içeren, suda çözünebilir bir tabaka ile çevrilidir. Bu polar yüzey bileşenleri, kan dolaşımında yüksek oranda çözünmez halde olan kolesterol esterleri ve trigliseritlerin taşınmasını

mümkün kılan çözünürlüğü sağlarlar (33). Her ana lipoprotein sınıfı içerisinde, boyut ve bileşenleriyle ilgili çeşitliliklere göre alt gruplar bulunmaktadır (Tablo.2.2).

LDL-C partikülleri, dansitesi 1,019–1,063 g/ml olan lipoprotein partikülleri olarak tanımlanmaktadır. Bundan dolayı, LDL-C, büyüklük, bileşim ve yapı açısından farklı partiküllerin heterojen bir grubunu teşkil etmektedir. LDL-C partikülleri yaklaşık 22 nm çapındadır. Çekirdek, yaklaşık 170 trigliserid molekülü ile 1600 kolesterol esterinden meydana gelmektedir ve yüzey tabaka yaklaşık 700 fosfolipid molekülü ile LDL-C'ün apoproteini olan apoB-100'den oluşmaktadır. İlave olarak, partiküller, 600 molekül esterleşmemiş kolesterol içermektedirler ve bunun 1/3'ü merkezde, 2/3'ü ise yüzeyde lokalize olmuştur. LDL-C partikülünün temel fosfolipid içeriği, fosfatidilkolin ve sfingomyelin'dir.

Tablo.2.2. Lipoproteinlerin sınıflandırılması

Lipoprotein	Yoğunluk (g/ml)	Elektroforetik mobilite	Kaynağı	Apolipoproteinler major & minor	Moleküler ağırlık (10 ⁶)	Çap (nm)
Şilomikron	~0.93	Orijin	Barsak	CI, II, III; B-48 A-I, II, IV; E	50-1,000	80-1,200
VLDL	0,93-1,006	Pre-β	Karaciğer	B-100 CI, II, III; E	10-80	40-80
IDL	1,006-1,019	Pre-β	VLDL Katabolizması	B-100 CIII; E	5-15	30-40
LDL	1,019-1,063	β	IDL Katabolizması	B-100 C	~3	18-30
HDL	1,063-1,21	α	Karaciğer, Barsak	A-I, II CI, II, III; E, D	0,36-0,20	5-12
Lp(a)	1,050-1,100	Pre-β	Karaciğer	B-100 & apo (a)	~5	25-35



Sekil 2.4. Bir LDL – C partikülünün vücut sıcaklığındaki şematik moleküler modeli. Bu partikül, 2 nm' lik bir yüzey tabakası ve ortalama olarak % 20 protein, % 20 fosfolipid, % 40 kolesterol esteri, % 10 esterleşmemiş kolesterol ve % 5 TG bileşimine sahip olup 22 nm çapındadır.

LDL-C partikülleri ayrıca, lizofosfotidilkolin, fosfatidiletanolamin, diaçilgliserol, seramid ve fosfatidilinositol de içermektedirler. Lipidlere ilave olarak, LDL-C partikülleri ayrıca, α -tokoferol, karotenoidler, oksikarotenoidler ve ubikinol-10 gibi lipofilik antioksidanlar da içermektedirler. LDL-C partikülleri, dinamik durumdadırlar, yapıları ve fiziksel özellikleri, apoB-100 konformasyonuna olduğu kadar lipid kompozisyonlarına da bağlıdır (34).

LDL-C oksidasyonu, serbest radikal ile indüklenen bir lipid peroksidasyon zincir reaksiyonudur. Lipid peroksidasyonu, çoklu doymamış yağ asiti ile bağlantılı bir çifte bağ üzerine serbest radikal atağı ile başlar. Bu, metilen grubundan bir hidrojen (H^+) atomunun ayrılması ile sonuçlanır ve H^+ atomunun ayrılma hızı, peroksidasyonun başlangıç hızını belirleyen bir anahtar basamaktır. Kararsız karbon radikali oluşumundan sonra gerçekleşen moleküler düzenleme, daha stabil bir konfigürasyon olan konjuge dien oluşumu ile sonuçlanır. Konjuge dien, moleküler oksijen ile çok hızlı reaksiyona girer ve zincir reaksiyonları için kesin bir aracı olan peroksil radikali oluşur. LDL-C partikülündeki bir çoklu doymamış yağ asiti peroksil radikali, komşu çoklu doymamış yağ asitin'den bir hidroperoksil ve diğer bir lipid radikali oluşturmak üzere bir hidrojen atomu ayıran, zincir yayılması ile sonuçlanan bir reaksiyona neden olmaktadır. Kolesterol içeren diğer lipidlerden, peroksil radikali tarafından hidrojen atomlarının uzaklaştırılması, sonuçta oksisterollerini vermektedir. Lipid hidroperoksitleri, malondialdehid ve 4-hidroksinonenali içeren kısa zincirli aldehidlere parçalanırlar. Bu reaktif aldehidler, proteine artmış negatif net yük vererek, apoB-100'ün ϵ -amino gruplarına bağlanabilirler. Klasik LDL-C reseptörleri, apo-B üzerindeki lizin, arginin ve histidin rezidülerindeki pozitif yüklerin spesifik etki alanlarını tanımaktadırlar. Bu etki alanlarının değiştirilmesi, apo-B/E reseptörü tarafından bağlanmanın kaybı ve apoB-100 için de, scavenger reseptör tarafından artmış bir şekilde tanınmasına neden olacak, artmış negatif yüzey yükü ile sonuçlanmaktadır (35).

Oksidatif olarak modifiye olmuş LDL-C partiküllerinin, doğal LDL-C partiküllerine göre bazı farklılıkları bulunmaktadır. Bu farklılıklar;

- scavenger reseptör tarafından, köpük hücre oluşumuna neden olacak şekilde, alınma ve degradasyon oranının artması,
- LDL-C reseptör tarafından alınma oranının azalması,

- negatif yükün artması,
- dansitenin artması (1,07 ya da 1,08 kadar yüksek),
- lizolesitin içeriğinin artması,
- oksidasyon nedeniyle çoklu doymamış yağ asiti içeriğinin azalması,
- okside kolesterol formu içeriğinin artması,
- apoB–100 fragmentasyonu, histidin, lizin ve prolin içeriğinin azalması,
- dolaşımdaki insan monositleri için kemotaktik aktivite,
- sitotoksiste.

LDL-C partiküllerinin yoğunluğu ve LDL-C oksidasyonu, LDL-C'deki tekli doymamış yağ asiti ve çoklu doymamış yağ asiti konsantrasyonuna bağlıdır. Diyetin yağ asidi içeriğindeki değişiklikler, LDL-C'nin oksidatif modifikasyonunu etkileyebilmektedir (36).

LDL-C partikülünün oksidasyon yolu ile modifikasyonu, scavenger reseptörler tarafından alınan, LDL-C reseptör ekspresyonunu regüle etmeyen ya da kolesterol sentezini baskılamayan ve kolesterolün arter duvarında akümülyasyonuna yol açan, aterojenik bir LDL-C oluşumu ile sonuçlanmaktadır. Okside LDL-C, köpük hücre oluşturmak üzere makrofajlar tarafından hızla alınabilme yeteneğine ilave olarak, potansiyel olarak aterogenezi ilerleten birçok karakteristiğe de sahiptir. Hem direkt olarak ve aynı zamanda, endotel hücrelerden MCP–1 (monosit kemoatraktan protein–1)'in salınımının uyarılması yolu ile dolaşımdaki monositler için kimyasal bir çekicidir. LDL-C'ün kimyasal çekici (kemoatraktan) özelliği, partikülün lipid kısmında yatmaktadır ve bu durum, LDL-C'ün okside formuna dönüşümü sırasında lizofosfotidilkolin oluşumuna yorumlanabilmektedir. Okside LDL-C, endotel hücrelerden, M-CSF (Makrofaj koloni sitümüle edici faktör) salınımını artırarak, monositlerin doku makrofajlarına farklılandırılmasını ilerletmekte ve yerleşik makrofajların hareketliliğini inhibe etmektedir (36).

Okside LDL-C, T-hücreleri için kemoatraktan olup; B-hücreleri için değildir ve sonuç olarak, aterosklerotik plak temelde monositleri ve T-hücrelerini içermektedir. Doğal LDL-C'ün aksine, okside LDL-C immunojeniktir ve aynı zamanda endotel hücreleri de içeren çeşitli hücre tiplerine karşı, endotel bütünlüğün bozulması ile sonuçlanacak şekilde sitotoksiktir. Okside LDL-C, TNF (tumour necrosis factor) ekspresyonunu inhibe etmekte monosit ve makrofajlardan interlökin-

1 salınımlını stimule etmekte, ve endotel hücre bağımlı arteriyel gevşemeyi inhibe etmektedir. Okside LDL-C ayrıca, plağın instabilitesinde rol oynayan matriks sindirim enzimlerini aktive etmektedir. Bununla birlikte, peroksidasyon ürünlerine karşı bazı hücrel yanıt koruyucu görünmektedir ve peroksidasyonun, oksidatif hasara karşı etkili bir yanıt için gerekli bir aracı konumunda olması muhtemeldir. Yüksek plazma LDL-C düzeyleri, artmış ateroskleroz riski ile korelasyon göstermektedir. LDL-C'ün in vivo okside olabileceğine ve okside LDL-C'ün erken aterosklerotik lezyonların oluşumunda etkili olduğuna dair kesin olmayan, fakat güçlü kanıtlar bulunmaktadır. Bu bağlamda en kesin bulgular şunlardır:

1. Okside LDL-C kemotaktik özelliklere sahiptir ve arterlerin intimal bölgesindeki mevcudiyeti, doku makrofajlarına dönüşecek olan kan monositlerinin oluşumuna neden olmaktadır.
2. Makrofajlar, lipid yüklü köpük hücrelerini oluşturmak üzere okside LDL-C'ü alırlar.
3. Okside LDL-C, yüksek derecede sitotoksiktir ve endotelial tabakadaki hasar ile düz kas hücrelerinin yıkımından sorumludur. Erken aterosklerotik lezyonlar, kolesterol ve kolesterol esterlerini içeren lipid damlaları ile kaplı hücrelerin kuvvetli akümüasyonu ile karakterize edilmektedir. Köpüksü görünüşleri nedeniyle, bu hücreler köpük hücreleri olarak adlandırılırlar. Aterosklerozun ilerlemesi sırasında, bu lezyonlar, yağ damarları ve plaklara dönüşebilirler. Köpük hücre prekürsörleri, çoğunlukla, intimaya giren monosit makrofajlardır; ayrıca, bazıları düz kas hücrelerinden de gelişebilmektedirler (34).

Kültüre edilmiş makrofaj hücreleri, doğal LDL-C partikülünü çok yavaş alırlar, hatta yüksek LDL-C konsantrasyonlarında ve uzun periyotlarla inkübe edilirse, kolesterol esterlerini biriktirmez ve lipid yüklü hücrelere transfer etmezler. Doğal LDL-C'ün monosit-makrofajlar tarafından alımı, intrasellüler kolesterol düzeyi arttığında, downregüle edilebilen (baskılanan) LDL-C reseptör (apoB/E reseptör) aracılı yolla ile olmaktadır. Makrofajların, aynı zamanda, modifiye LDL-C partikülünün çeşitli formlarının endositozunu yöneten bir scavenger reseptörü ifade ettiğini bulmuşlardır. Bu reseptör, intrasellüler kolesterolün kontrolü altında değildir. Kültürde, modifiye LDL-C'ün scavenger reseptörler tarafından alınması, bu nedenle, lipid damlaları şeklinde depolanan ve makrofajların, tipik

köpük hücre görünümündeki hücelere dönüştüğü kolesterol akümülyasyonuna neden olmaktadır.

In vivo LDL-C oksidasyonu oluşumu, bir dizi kanıtla desteklenmektedir:

1. Okside apoB-100 bağlanma bölgeleri ve artmış lipid peroksidasyon ürünü düzeyleri, tavşan ve insan aterosklerotik lezyonlarından ekstre edilen LDL-C'de ortaya çıkarılabilmektedir.
2. Aterosklerotik lezyonların, spesifik monoklonal antikorlarla immünohistokimyasal boyanması, okside LDL-C mevcudiyetini göstermektedir.
3. Dolaşımdaki okside-LDL-C karşıtı antikorlar serumda gösterilmiştir ve miktarları, aterosklerotik lezyonların ilerleyişi ile korelasyon göstermektedir (33).

2.3.2. Modifiye LDL-C' ün "Scavenger Reseptörler" ile Metabolizması:

Dolaşımdaki LDL-C partiküllerinin genel olarak üçte ikisi LDL-C reseptörleri ile geri kalanı ise scavenger reseptör sistemi ile dolaşımdan uzaklaştırılmaktadır. Scavenger reseptörler, yaşlanan hücreleri ve kimyasal ya da biyolojik olarak modifiye olmuş lipoproteinleri bağlayabilen hücre yüzey proteinleridir.

Bu scavenger (çöpçü) reseptörler makrofaj hücrelerinin yüzeylerinde ve kas hücresi gibi diğer hücrelerde bulunmaktadırlar. Geniş bir ligand bağlama özgünlüğüne sahip olan bu reseptörler kimyasal olarak değişikliğe uğramış LDL-C partikülünün endositozisine aracılık ederler. Dolaşımdaki LDL-C' lü reseptörler tarafından tanınabilen ligantlara dönüştüren kimyasal değişiklikler, apolipoprotein-B'nin asetilasyonu veya oksidasyonudur. LDL-C' ün kendi özgün reseptörleri tarafından alımı, yüksek LDL-C konsantrasyonlarında doyunluğa ulaşmakta ve reseptör yenilenme mekanizmasının baskılanması yolu ile hücre içerisine LDL-C' ün alımı önlenmektedir (36).

LDL-C reseptörleri tarafından alınan tersine, makrofajlar tarafından alınan değişikliğe uğramış, yani modifiye haldeki LDL-C, hücre içi kolesterol düzeylerini düzenlememektedir. Bu yüzden kolesterol bu hücrelerde birikir. Modifiye LDL-C' lerin makrofajlar tarafından aşırı alımı bu hücrelerin köpük hücrelerine (foam cell) dönüşmesine neden olmaktadır. Bu köpük hücreleri de aterosklerotik plak oluşumuna katılmaktadırlar.

2.3.3: LDL-C Alt Grupları

LDL-C adı verilen düşük dansite aralığındaki lipoproteinler, farklı büyüklükteki partiküllerin heterojen topluluğundan oluşmaktadır. LDL-C partikülleri ultra santrifüj veya elektroforez yardımıyla çap, yoğunluk ve lipid kapsamı bakımından değişiklik gösteren alt gruplara ayrılır.

Eğer LDL-C fraksiyonu, esas olarak geniş LDL-C partikülleri içeriyorsa, bu LDL-A alt grubu “Model A (pattern A)” olarak isimlendirilir. Temelde, daha küçük boyutlarda ve daha yoğun LDL-C partiküllerinin mevcudiyetinde ise, LDL-C alt grubu, “Model B (pattern B)” olarak adlandırılmaktadır. Model B, yüksek plazma trigliserid düzeyi ve düşük HDL kolesterol konsantrasyonu ile ilişkilidir ve özel olarak, genetik faktörlerle belirlenmektedir. LDL-C alt grubu Model B olan olgular, koroner kalp hastalığı için artmış bir risk taşımaktadırlar.

Küçük, yoğun LDL-C partiküllerinin ateroskleroz, plazma trigliserid düzeyinin artması ve HDL kolesterol konsantrasyonunun azalması ile olan ilişkisi nedeniyle olabilir. Diğer taraftan, küçük LDL-C partikülleri fiziksel ve fizyolojik özelliklerinden dolayı da KAH'nın başlaması veya ilerlemesinde rol oynayabilmektedir. Küçük ve yoğun LDL-C, büyük ve dansitesi düşük LDL-C'den daha farklı bir karbonhidrat içeriğine sahiptir. Bu durum, küçük, yoğun LDL-C'ün intima media tarafından daha fazla alınmasına neden olmaktadır. İlave olarak, küçük, yoğun LDL-C'lerin, geniş LDL-C moleküllerine oranla oksidatif modifikasyona daha meyilli olduğu bilinmektedir.

LDL-C'ün koroner arter hastalığı için risk oluşturan niteliği yalnızca serum düzeyi ile değil aynı zamanda bileşimi (kompozisyonu) ile de bağlantılıdır. Sağlıklı kişilerde en bol bulunan LDL-C tipi LDL-C A'dır. Kadınlarda, yoğunluğu az büyük LDL-C partikül tipleri, erkeklerden daha çok görülür. Erkeklerde ise daha küçük çaplı ve yoğun LDL-C daha fazladır. LDL-C partiküllerinin gösterdiği bu heterojenlik, elektroforez yoluyla, jel üzerinde gözlenebilir. Elektroforezle yapılan bu yürütme işleminde yoğunluğu az olan partiküller pattern A, yoğunluğu yüksek ve çapı küçük olan LDL-C molekülleri ise pattern B yi oluşturur (37).

LDL-C, insanların çoğunda üç ayrı türde bulunur.

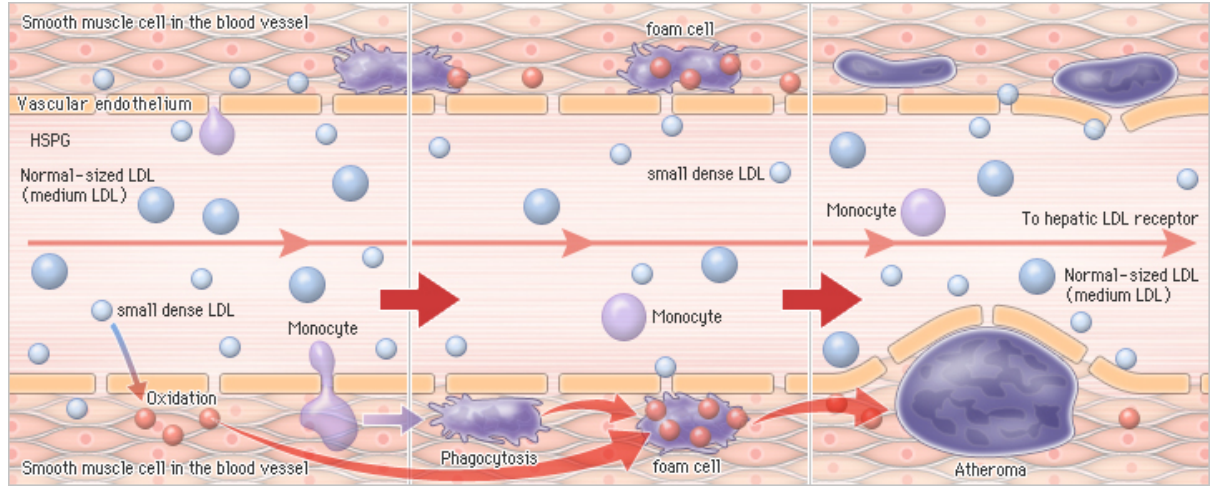
1. Düşük trigliserid düzeyine sahip (0.5-1.5 mmol/L) bireylerde LDL-C I ve LDL-C II adı verilen daha büyük çaplı LDL-C türleri daha yoğun bulunur. Bunlar jel elektroforezinde pattern A görünümünü oluşturur.

2. Yüksek normal trigliserid düzeyine sahip (1,5 mmol/L üstünde) bireylerde ise küçük yoğun LDL-C III (pattern B) egemendir.

LDL-C I/ LDL-C II'nin, içerdiği kolesterol esterinin, trigliseritten zengin lipoproteinlerdeki trigliseridle "esterleşmiş kolesterolü transfer eden protein" aracılığıyla değiş-tokuş edilmesi ve sonra trigliseritten zengin LDL-C'lü lipolize uğratan (ki böylece daha küçük ve yoğun türler oluşur) hepatik trigliserid lipaz'ın etkisiyle LDL-C III 'e dönüştürüldüğü ileri sürülmektedir. Daha küçük çaptaki LDL-C'ler büyük LDL-C'lere göre LDL-C reseptörlerine daha düşük bir afinite gösterir.

TG konsantrasyonu ile LDL-C fenotipi arasındaki ilişkiyi inceleyen Austin ve ark. A fenotipine uyan LDL-C partiküllerinin B ye göre daha büyük, sıvı ortamda batmayan ve oksidasyona daha az duyarlı moleküller olduğunu belirlemiştir (38). Daha öncede vurgulandığı gibi LDL-C' ün pattern A grubunda büyük ve hafif LDL-C molekülleri pattern B alt grubunda ise küçük ve yoğun LDL-C partikülleri egemendir. Pattern B'de miyokard enfarktüsünün sıklığı üç kat daha yüksektir. Koroner arter hastalığı kanıtı taşıyanlarda, LDL-C partiküllerinin taşımayanlara göre daha küçük ve yoğun LDL-C açısından zengin olduğu bildirilmiştir (39) . Küçük ve yoğun LDL-C'ün hangi mekanizma ile ateroskleroz riskini artırdığı tam olarak belirlenememiştir. Küçük, yoğun LDL-C'lerin aterojenitesi için birçok neden düşünülmüştür. Birincisi, küçük ve daha yoğun olan LDL-C partiküllerin, çok iyi olan endotel içi taşınımlarından dolayı geniş LDL-C partiküllerine göre arter dokusu tarafından daha kolay alınmaktadır. Ayrıca, daha küçük LDL-C partiküllerinin, reseptör aracılı alımlarının azalmış ve proteoglikan bağlanmalarının artmış olduğu bilinmektedir. Ayrıca, LDL-C boyutunun azaltılması ile oksidatif duyarlılığın arttığı ve antioksidan konsantrasyonlarının azaldığı gösterilmiştir. Küçük yoğun LDL-C'ün fraksiyonel katabolizma hızının yavaş olması da suçlanan faktörler arasındadır. Büyük yoğun LDL-C ile karşılaştırıldığında küçük ve yoğun LDL-C'ün sialik asit kapsamının daha düşük olup, bu durum, LDL-C'ün arter duvarındaki proteoglikanlara bağlanma kapasitesini artırıyor olabilir. Küçük ve yoğun LDL-C'ün varlığında, hemostatik değişkenler daha aterojenik bir örneğe dönüşür. LDL-C

partiküllerinin yoğunluğunun artmasıyla beraber tromboksan sentezinde de doza bağlı bir artışın olduğu bildirilmiştir (40).



Şekil.2.5. Küçük yoğun LDL - C'ün oksidasyona yatkınlığı, vasküler endotelden normal LDL-C'den daha kolay geçişi makrofajlar tarafından fagositozu ve aterom plağının oluşumu

LDL-C'ün pattern B grubunun yaklaşık olarak erkeklerin %37'sinde, kadınların %25'inde bulunduğu bildirilmişse de 6-19 yaş arası erkeklerin yalnızca %17'sinde ve premenapozal kadınların yalnızca %13'ünde varlığı saptanmıştır. LDL-C alt gruplarının değişikliklerinde %33-%50'sinde genetik etkiler sorumlu görünmektedir ki bu da esaslı çevresel (dolayısıyla, potansiyel olarak değiştirilebilir) faktörlerin varlığını göstermektedir. Küçük ve yoğun LDL-C'e sıklıkla, yüksek trigliserid düzeyleri, düşük HDL-C düzeyi, trunkal obezite ve hipertansiyon eşlik eder(40).

Küçük ve yoğun LDL-C'ü yüksek hastaların pattern A' ya göre daha yüksek insülin direnci gösterdiklerinin saptanmış olması, karmaşık metabolik faktörlerin de LDL-C alt gruplarını etkileyebileceğini göstermektedir.

3.4. MMP-9 (Matriks Metalloproteinaz-9)

“Matriksinler” olarak da adlandırılan MMP'ler, ekstrasellüler matriks yıkımı ve yeniden yapılanmasından sorumlu metal bağlayıcı endopeptidazlardır. Tüm MMP'ler, katalitik bölgelerinde Zn^{+2} içerir ve aktivitelerinin stabilitesi için Ca^{+2} gereklidir (41).

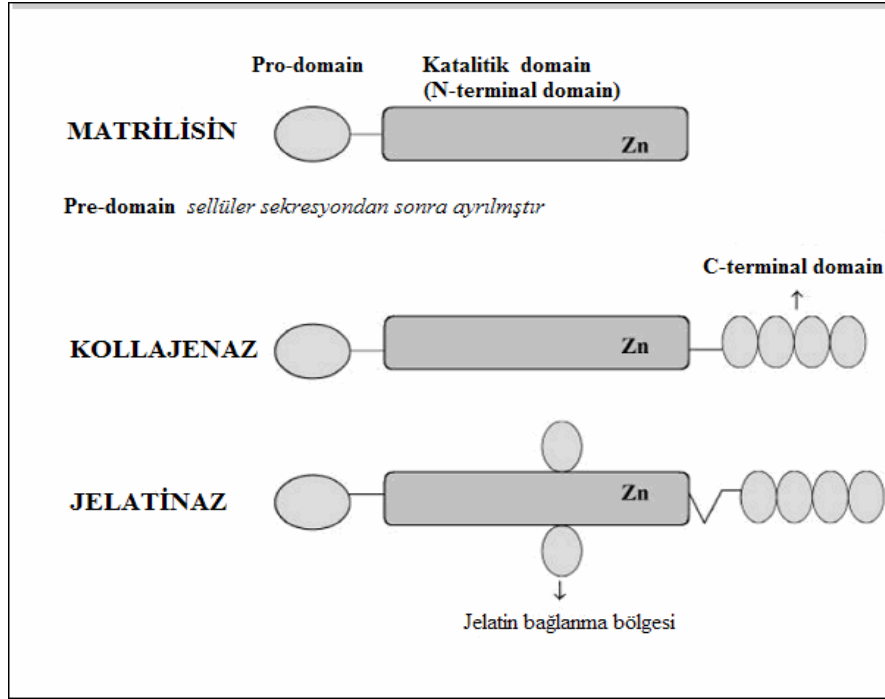
Tüm MMP'ler, adlarına uygun olarak, ESM(ekstrasellüler matriks) yıkımıyla ilişkilidirler. ESM; Tip 4 kollajen, laminin, elastin gibi fibröz proteinler, proteoglikanlar ve glikozaminoglikanlardan oluşan özelleşmiş bir bazal membrandır. Tüm dokularda bulunan bu membran, doku komponentleri arasında bariyer görevi görür (42).

Bugüne dek, insanlarda farklı genler tarafından kodlanan ve farklı hücre tipleri tarafından salınan en az 23 farklı MMP ailesi üyesi tanımlanmıştır.

MMP ailesi üyelerinin başlıca karakteristik özellikleri şunlardır:

- %40–80 homolog amino asit içeriği ile yapısal homoloji
- Enzimin katalitik bölgesinde bir Zn^{+2} varlığı
- Proteaz aktivitesi için Ca^{+2} gerekliliği
- Latent zimojenler (pro-MMP) şeklinde inaktif formlarda sentez ve salınım
- Fizyolojik pH değerlerinde ESM komponentlerini yıkabilme kabiliyeti. Tüm MMP'ler matriksin en azından bir komponentini yıkar. Substrat spesifitesi yalnızca bir ESM proteini ile sınırlı olmasa da, her bir MMP spesifik bir substratı ayrıcalıklı olarak yıkar.
- Enzim aktivitelerinin çok sayıda basamakta düzenlenmesi

Tüm MMP'ler yapısal olarak 3 bölge içerir: Bir predomain, bir prodomain ve bir katalitik domain. Predomain, intrasellüler olarak sentezlenen enzimin membrana transferi için gereklidir ve sellüler sekresyondan sonra hızla ayrılır. Prodomain, enzimatik aktivitenin latent formda tutulmasını sağlar ve katalitik bölgedeki sistein rezidüsü içeren peptid zinciri ile etkileşir. Üç boyutlu yapı incelendiğinde sistein rezidüsünden oluşan bölgeye tutunan bir Zn^{+2} vardır. Sistein rezidüsünden Zn^{+2} 'nin ayrılması katalitik bölgenin aktivasyonu ile sonuçlanır. MMP'lerin çoğunda, karboksi-terminal pozisyonda dördüncü bir bölge daha vardır. Bu yapısal bölge vitronektin ve hemopeksinle homoloji gösterir ve MMP'lerin substrat tanınmasıyla ilişkilidir (43).



Şekil.2.6. MMP'lerin yapısal özellikleri

MMP ailesinin üyeleri; yapıları ve substrat spesifitelerine dayanılarak 5 sınıfa ayrılmıştır. Bunlar:

- 1)Kollajenazlar: —MMP-1 İnterstisyel kollajenaz
—MMP-8 Nötrofil kollajenaz
—MMP-13 Rodent interstisyel kollajenaz
- 2)Jelatin azlar: —MMP-2 Jelatinaz A
—MMP-9 Jelatinaz B
- 3)Stromelisinler: —MMP-3 Stromelisin-1
—MMP-10 Stromelisin-2
—MMP-11 Stromelisin-3
- 4)Membran tip MMP'ler: —MMP-14 MT-MMP-1
—MMP-15 MT-MMP-2
—MMP-16 MT-MMP-3
—MMP-17 MT-MMP-4

- MMP-24MT-MMP-5
- MMP-25 MT-MMP-6

- 5)Matrisinler: —MMP-7Matrisilin-1
- MMP-26 Matrisilin-2
 - MMP-12 Metalloelastaz
 - Diğerleri MMP-18,23,27,28 (43).

MMP-9; MMP ailesinin en büyük üyesidir ve başlıca; nötrofiller, monositler ve makrofajlar tarafından üretilir. Jelatinaz sınıfına dahil olan MMP-2 ve MMP-9, bazal membranın ana komponentlerinden biri olan tip IV kollajeni yıkar. Hem latent, hem aktif formların jelatine yüksek bir afinitesi vardır (43).

MMP'lerin her biri farklı bir gen tarafından kodlanır ve epitel hücreleri, fibroblastlar, inflamatuvar hücreler gibi çeşitli hücre tiplerinde üretilirler. Endotel hücrelerde üretildiği gösterilen MMP tipleri ise: MMP-1, MMP-2, MMP-9 ve MT-1-MMP' dir (44).

2.4.1. MMP Sentez ve Aktivitesinin Düzenlenmesi:

MMP'lerin çoğu istirahat halindeki yetişkin dokularında hiç yoktur veya çok az eksprese edilir. Ancak; embriyogenesis, yara iyileşmesi, kemik yeniden yapılanması, aterosklerozis, menstrüel siklus süresince endometrial damarlanma, plasental damarlanma gibi ESM'in yeniden yapılanması olan birçok fizyolojik durum yanı sıra; romatoid artrit, diabetes mellitus, tümöral büyüme ve metastaz gibi patolojik durumlarda da MMP ekspresyonu hızla artırılır (43,45).

MMP aktivitesi en az 3 seviyede sıkı bir şekilde kontrol edilir:

- 1) Transkripsiyon,
- 2) Zimojen enzim formunun proteolitik aktivasyonu
- 3) Aktif enzimin doğal inhibitörler aracılığıyla inhibisyonu

Birçok büyüme faktörü, sitokinler ve hormonlar MMP ekspresyonunu transkripsiyon seviyesinde düzenlerler. Proinflamatuvar sitokinler MMP üretimini indükleyebilirken, İnterleukin-10, retinoik asit, glukokortikoidler ve steroidler bazı MMP'lerin ekspresyonunu negatif yönde etkiler (21). MMP'ler, in vivo olarak

yeniden yapılanma olayları sırasında dokuyu invaze eden major hücre tipleri yanısıra, o bölgede bulunan konnektif doku hücreleri tarafından da eksprese edilir (42).

MMP aktivitesinin ikinci kontrol yolu olan enzim aktivitesinin regülasyonu hücre içinde veya dışında meydana gelebilir. Pro-MMP'lerin ekstrasellüler olarak başlıca aktivatörü plazmindir (17). MMP aktivitesinin daha sonraki seviyeleri, bir MMP aktivasyonunun diğerlerine yol açması şeklinde bir geri iletim mekanizması oluşturur. Bu yolla, plazmin, pro-MMP-1, -3 ve -9'u aktif formlarına çevirir. MMP-1, pro-MMP-9'u aktive edebilir. MT-MMP'ler de özellikle MMP-2 olmak üzere birçok pro-MMP' nin aktivatörüdürler (43).

Doğal endojen inhibitörler aracılığıyla MMP aktivitesinin düzenlenmesi noktasında doku sıvılarındaki başlıca MMP inhibitörü alfa 2-makroglobülin'dir. MMP'lere bağlanarak irreversibl bir kompleks oluşturan alfa2-makroglobülin, çöpçü reseptörler aracılığıyla MMP'lerin ortamdan uzaklaştırılmalarını sağlar (45). Bununla birlikte üzerinde en çok çalışılmış olan MMP inhibitörleri metalloproteinazların doku inhibitörleri olan TIMP ailesidir. TIMP_s (Tissue Inhibitors of Metalloproteinases), moleküler ağırlıkları 21–30 kDa arasında değişen solubl proteinlerdir. 4 tipi tanımlanmış olan bu proteinler, aktive olmuş MMP'lerle güçlü, reversibl, nonkovalent kompleksler oluşturup, MMP katalitik bölgesini etkileyerek enzim aktivitesini inhibe ederler (45,46,47).

2.4.2. MMP'lerin Biyolojik Etkileri

İn vivo olarak MMP'lerin en büyük görevi; kollajenler, laminin, fibronektin, elastin ve proteoglikan gibi çeşitli ESM proteinlerinin yıkım veya değiştirilmesi yoluyla ESM'in yapısal organizasyonunu kesintiye uğratmaktır. ESM ve bazal membran yıkımı yanında; endotelial hücrelerin migrasyon ve adhezyonunu da uyarırlar. Bu fonksiyonlar anjiyogenez sürecinde yeni kapiller oluşumu ve matriks yeniden yapılanması için gereklidir. Dolayısıyla, MMP'ler anjiyogenezde kritik bir rol oynarlar ve anjiyogenezle birlikte ESM remodelingi olan tüm fizyolojik ve patolojik proselere katılırlar (43,48).

Anjiyogenez için MMP gerekliliği kesinlikle tespit edilmiştir. Örneğin; tümörle ilişkili MMP üretimi üzerine bariz azaltıcı etkisi olan TIMP-1 ve TIMP-

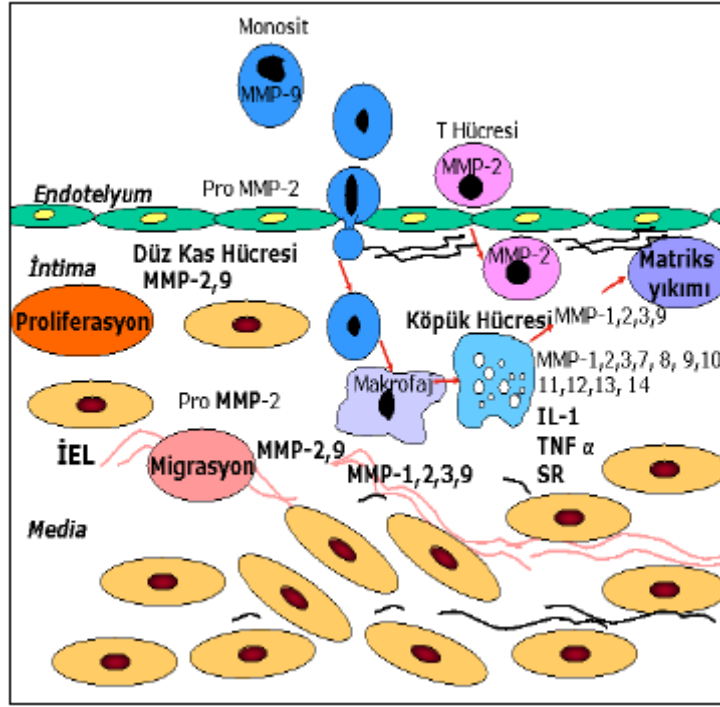
2'nin artmış ekspresyonu, tümörle ilişkili anjiyogenezi inhibe eder. Ayrıca sentetik MMP inhibitörlerinin anti anjiyogenik etki gösterdiğine ilişkin pek çok çalışma vardır. Örneğin; MMP-1, -3 ve -9 inhibisyonu yapan KB-R 7785 ile tedavi edilmiş farelerde, primer tümör ve metastazlarda artmış hücre apoptozisi ve azalmış damar yoğunluğu gözlenmiştir (44,46).

Son zamanlarda yapılan çalışmalarda, MMP'lerin ESM komponentleri yanında, ESM dışı molekülleri de substrat olarak kullandığına dair kanıtlar elde edilmiştir. Bunlar arasında; IGF-BP(Insulin like Growth Factor-Binding Protein), proTGF- β (Transforming Growth Factor- β) gibi büyüme faktör prekürsörleri ve bağlayıcı proteinler; proTNF- α (proTumor Necrosis Factor- α), proIL-1 β (Interleukin-1 β) ve IL-2 (Interleukin-2) gibi sitokinler, E-cadherin, β_4 -integrin, syndecan-1, ICAM-1(Intracellular Adhesion Molecule), integrin gibi adezyon reseptörleri vardır. Bu yeni tanımlanan özellikler, MMP'lerin daha önce anlaşıldığından çok daha fazla fizyolojik ve patolojik olayla ilişkili olduğunu öngörmektedir (45).

2.4.3: Ateroskleroz Patojenezinde MMP'lerin Rolü

MMP'lerin kardiyovasküler hastalıklarda esansiyel bir role sahip oldukları özellikle son birkaç yılda anlaşılmıştır. MMP enzimlerinin aterosklerotik sürecin erken dönemlerinde, arteriyel intimada hiperplazi gelişiminde ve aterosklerotik lezyonların plak yırtılmasına yol açacak şekilde zayıflamasında rolleri olduğu kabul edilmektedir. Aterosklerotik plak gelişimi dolaşımdaki monositlerin vasküler endotelyuma yapışması, subintimal aralığa geçmesi, bunu takiben hasar görmüş endotel hücreleri, düz kas hücreleri ve dolaşımdaki inflamatuvar hücreler arasında bir seri kompleks hücre-hücre etkileşimlerinin meydana gelmesi sonucu bu hücrelerden çeşitli sitokinler, büyüme faktörleri ve adhezyon moleküllerinin salıverilmesi ile paralel yürümektedir (40,50). Makrofajlardan salınan TNF- α ve IL-1, trombositlerden salıverilen PDGF, fibroblastlar ve endotel hücrelerinden salıverilen fibroblast büyüme faktörü gibi çeşitli büyüme faktörleri ve sitokinler, insanlarda vasküler düz kas hücreleri, endotel hücreleri, makrofajlar, lenfositler gibi farklı hücre tiplerinde değişen oranlarda olmak üzere MMP sentezini stimüle ederler (51,52).

Çeşitli deneysel ateroskleroz modellerinde oluşan aterosklerotik lezyonlarda ve aortik okluzif hastalığı ya da aortik anevrizması olan hastalardan alınan aterosklerotik arter örneklerinde özellikle MMP-1, MMP-2, MMP-3, MMP-7, MMP-8, MMP-9, MMP-10, MMP-11, MMP-12, MMP-13 ve MMP-14'ün ekspresyon ve aktivitelerinin arttığı gösterilmiştir. Aktive olan MMP'ler kollajen, jelatin, elastin, laminin, proteoglikan gibi ESM proteinlerini yıkıma uğratırlar ve böylece düz kas hücre migrasyonunu kolaylaştırır, proliferasyonunu hızlandırır (53,54,55). Süregelen düz kas hücre proliferasyonu, migrasyonu ve sonrasında ESM birikimi aracılığıyla damar duvar matriksi modifiye edilir ve sonuçta erken dönemde intimal kalınlaşma ileri evrede de aterosklerotik plak oluşumu gerçekleşir. İntimal kalınlaşmanın önce yağ izlerine daha sonra da fibröz aterosklerotik plağa dönüşmesinde ESM döngüsü (yapım ve yıkımı) önemlidir, MMP'lerin de ESM döngüsünde temel rol oynadıkları kabul edilmektedir. İntimal kalınlaşma gelişimi ve aterosklerozun erken dönem olayları genellikle jelatinazlar (MMP-2 ve MMP-9) ile ilişkilendirilmiş ve neointima geliştirilen çeşitli deneysel hayvan modellerinde çoğunlukla jelatinazların ekspresyon ve aktiviteleri incelenmiştir (54,56). Bununla birlikte daha az da olsa diğer MMP'lerin de intimal kalınlaşma sürecine olan katkıları farklı çalışmalarda araştırılmıştır. Bu çalışmalar intimal kalınlaşma için MMP aktivitesinin temel olduğunu ortaya koymuştur (57). Ayrıca MMP'lerin fibröz doku matriksinin aşırı yıkımına bağlı aterosklerotik plağın zayıflayıp yırtılmasında da rol oynadığı bildirilmiştir. MMP'ler eksternal elastik laminanın parçalanmasına yol açarak arteriyel duvarın dışa doğru (pozitif) yeniden modellenmesini kolaylaştırırlar (55). Bu durum başlangıçta lümen genişliğini koruduğu için yararlı olmasına rağmen sonuçta arteriyel duvarın yapısını bozar.



Şekil.2.7. Ateroskleroz patojenezinde MMP aracılı matriks yıkımı sonrası hücre-hücre ve hücre-matriks etkileşimleri. İLE : İnternal elastik lamina, SR: Serbest radikaller.

Aterosklerotik plağın yırtılmaya eğilimli bölgelerinde makrofaj kökenli köpük hücrelerinin biriktiğinin gösterilmesi, makrofaj kaynaklı MMP'lerin plak fragilitesi ve yırtılmasında önemli rollerini açıklar.

Aterosklerotik plak dokusunda çeşitli MMP türlerinin (MMP-1, MMP-2, MMP-3 ve MMP-9) ekspresyon ve aktivasyonlarının arttığı gösterilmesi plak destabilizasyonunda MMP'lerin önemli role sahip olduğu görüşünü desteklemektedir (59). Benzer şekilde aortik anevrizmal lezyonlarda da MMP-3 ekspresyonunun anlamlı şekilde arttığı bildirilmiştir (57). Ayrıca MMP-1 ve MMP-13'ün ateromatöz plaklarda fibröz lezyonlara kıyasla daha fazla olduğu gösterilmiştir. Endarterektomi doku kültüründe MMP-7 ve MMP-12'nin fibröz plak içindeki lipid yüklü makrofajlarda arttığı gösterilmesi de plak yırtılmasında MMP'lerin önemli rolünü açıklamaktadır (58). Yakın zamanlarda ise MMP-8'in aterosklerotik plaklarda aktivitesinin arttığı ve kollajeni parçalayarak plak destabilizasyonuna katkı sağladığı gösterilmiştir (60). MMP-10'un aterosklerotik plak makrofajlarında artan ekspresyonunun plak stabilizesini azaltarak yırtılmaları kolaylaştırdığı ve yine insan aterosklerotik lezyonlarında MMP-11 aktivitesinin arttığı ve komplikasyonlara yol

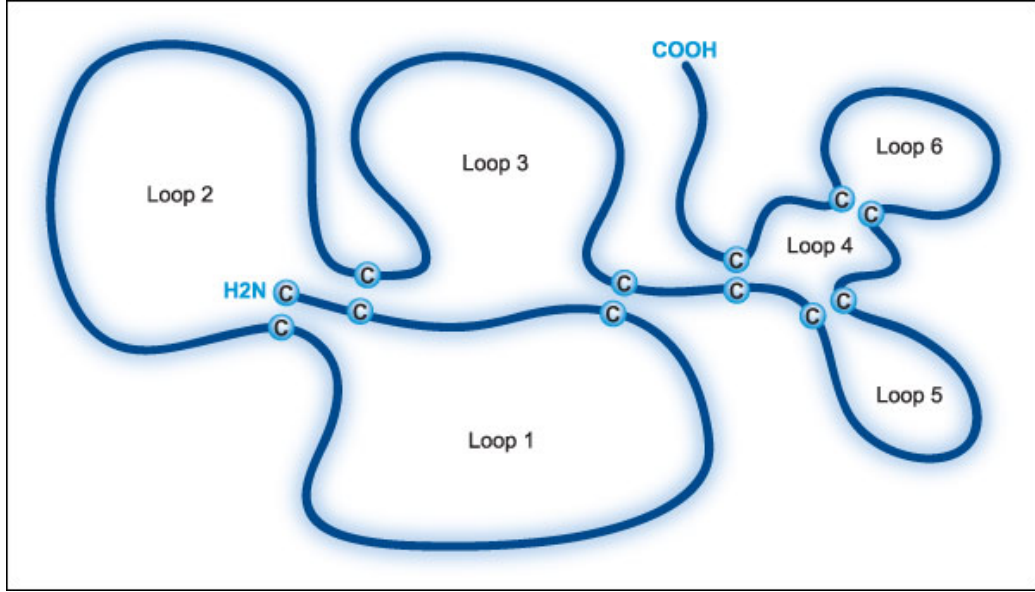
açtığı bildirilmiştir. Son olarak MMP-14'ün insan aterosklerotik plaklarında damarın media tabakasında MMP-2 ile birlikte bulunduğu ve MMP-2'yi aktive ederek aterosklerotik plakların yüzeysel erozyonuna yol açtığı gösterilmiştir (52). Aterosklerotik sürece katkısı olduğu bilinen tüm MMP'lere ilişkin insan çalışmalarından elde edilen veriler, deneysel hayvan çalışmalarının verileri ile paralellik göstermektedir.

2.5. TIMP (Doku Metalloproteinaz İnhibitörleri)

Fibroblast ve makrofajlar MMP'lerin proteolitik etkilerinin selektif inhibisyonunu sağlayan endojen doku metalloproteinaz inhibitörlerini (TIMP) de üretir (61). Bugüne kadar dört farklı TIMP tanımlanmış olup, bunların içinde en geniş dağılım gösteren TIMP-1'dir ve tüm aktif MMP'leri geri dönebilir nonkovalan bağlar oluşturarak inhibe eder (62,63). TIMP-1, MMP-9'un hem aktif hem de inaktif ilk formunun inhibisyonunda etkili bulunmuştur (11). TIMP ailesi, TIMP-1, TIMP-2, TIMP-3 ve TIMP-4 olmak üzere bugüne kadar tanımlanmış olan dört üyeden oluşmaktadır. Aralarında yaklaşık olarak %41–52 sekans benzerliği bulunur. Bunların ortak özellikleri 12 tane korunmuş sistein rezidüsüne sahip olmaları ve metalloproteinazlar ile nonkovalent kompleksler oluşturarak inhibe etmeleridir (64, 65)

2.5.1. TIMP'lerin Yapısı

TIMP ailesinin dört üyesinde sahip olduğu birtakım ortak özellikler bulunmaktadır. Bunlar; TIMP'lerin hepsi ikincil yapılarında 12 adet korunmuş sistein rezidüsünü içermeleridir ve bunlar altı adet disülfid bağı oluşturmaktadır (66,67). Bu bağlar moleküle yüksek pH ve ısıya karşı direnç sağlar. Ayrıca N terminal bölge MMP aktivitesinin inhibe edilebilmesi için gerekli olan bölgeyi oluşturmaktadır (66,67,68). N-terminalinde bulunan Cys1, His7 ve Gln9 rezidüleri MMP'lerin aktif bölgelerinde bulunan Zn_{n+2} ile etkileşimlerinden sorumludur. Bir diğer ortak özellikleri ise matür protein oluşumunda 29 aminoasitlik bir lider sekansın uzaklaştırılması gerekmektedir (68,63). TIMP-1 molekülü, 184 aminoasit içermektedir.



Şekil.2.8. TIMP-1'in şematik görünümü. TIMP-1 12 sistein rezidüsünün oluşturduğu 6 bağ ile loplara bölünür . N-terminal uç MMP aktivasyonunu inhibe edilmesini sağlayan bölgedir. C-terminal uç ile TIMP1 ve TIMP2, proMMP2 ve proMMP9'ye bağlanarak MMP fonksiyonlarını regüle ederler.

On iki adet sistein rezidüsünün oluşturduğu altı disülfid bağı moleküle altı kıvrımdan üç düğümlü bir yapıya benzer bir görünüm kazandırmaktadır. Yoğun olarak glukozenilmiş bir proteindir. Molekül ağırlığı yaklaşık olarak 20 kDa kadardır ve glukozenilmiş şeklin ağırlığı 28.5 kDa'a ulaşmaktadır (68,69). TIMP-2 molekülü, 194 aminoasit içeren, 21 kDa ağırlığında glukozenilmiş bir proteindir. Bu molekül TIMP-1 ile %40 sekans homolojisi göstermektedir. Altı korunmuş disülfid bağı aynı pozisyonda yer almaktadır. TIMP-3 molekülü, 21 kDa ağırlığında glukozenilmiş bir proteindir. TIMP-1 ile %30, TIMP-2 ile %38 sekans homolojisi göstermektedir. TIMP-3 diğer TIMP moleküllerinden farklı olarak çözünebilir formda değil, ESM komponentlerine bağlı olarak bulunur (66,68). TIMP-4 molekülü, TIMP ailesinin en son tanımlanmış olan üyesi olup 22 kDa ağırlığındadır. TIMP-1 ile %37, TIMP-2 ve TIMP-3 ile %51 sekans homolojisi göstermektedir (67,68).

2.5.2. TIMP'lerin Fonksiyonları

TIMP'lerin en önemli fonksiyonları, metalloproteinazlar etkisi ile oluşan bazal membran ve ESM parçalanmasını inhibe etmeleridir. TIMP'ler bu fonksiyonlarını aktif metalloproteinazlara non kovalent bağlarla bağlanıp, bire bir oranında kompleks oluşturarak gösterir. Bu inhibitör etkinlikte en önem taşıyan bölge TIMP molekülünün N

terminal bölgesidir (69,70). Ayrıca TIMP-1 ve TIMP-2 pro enzimlere de bağlanıp kompleks oluşturabilmektedir. TIMP-1 özellikle pro MMP-9 ile bağlanırken, TIMP-2 pro MMP-2'yi tercih etmektedir. TIMP-3'ün TIMP-1 ve TIMP-2'ye benzer şekilde pro MMP-9 ve pro MMP-2'ye, TIMP-4'ünde pro MMP-2'ye bağlanabildiği gösterilmiştir. Pro enzimlerle kompleks oluşturma her iki molekülün katalitik olarak aktif olmayan C terminal bölgeleri üzerinden olmaktadır. Bu bağlanma, proenzimlerin otokatalitik aktivitesini engellemektedir. Fakat; bu ikili komplekslerde yer alan proenzimler başka metalloproteinazların etkisi ile N terminaldeki propeptid domainlerin proteolitik yıkımları sonucu aktive olabilirler. TIMP-1 ile kompleks oluşturmuş proMMP-9 aktivasyonunda MMP-3, TIMP-2 ile kompleks oluşturmuş pro MMP-2 önemli rol üstlenir. Sonuç olarak MMP'ların ve bu özgül doku inhibitörleri arasındaki denge birçok fizyolojik ve patolojik olayda merkezi rol üstlenmektedir. Aterosklerozda malignitelerde, invazyon ve metastazda bu dengenin bozulması birçok araştırmanın odak noktasını oluşturmaktadır (66,67,68).

3. MATERYAL VE METODLAR

3.1: Materyal

Bu çalışma Eskisehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu'nun 27.07.2007 gün ve 2007/354 sayılı karar ile onaylanmıştır.

Araştırma Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Ana Bilim Dalı, endokrinoloji polikliniğinde takibi yapılan yaşları 40-74 arasında değişen toplam 100 diyabet hastasıyla yapıldı. Ekokardiyografi, anjiyografi, biyokimya sonuçları , fizik muayene bulgularına göre hastalar Tip 2 diyabeti ve makrovasküler komplikasyonu olmayan 50 (35♀, 15♂) ve Tip 2 diyabeti ve makrovasküler komplikasyonu olan 50 (20♀- 30♂) hastalar olarak iki gruba ayrıldı. Makrovasküler komplikasyonu olan hastalar örnek alınımından en az 6 ay öncesi kesinleşmiş bir makrovasküler komplikasyon teşhisi almış hastalardı (MI, Korner arter hastalığına bağlı anjiyografi, serebrovasküler olay, periferik damar hastalıkları). Makrovasküler komplikasyonlu olan ve olmayan gruplarda sırası ile 19 ve 17 hasta statin grubu ilaç veya fenofibrat grubu ilaç tedavisi almakta idi. Kronik bir hastalığı olmayıp akut sağlık problemi ile dahiliye polikliniğine başvuran 30 sağlıklı birey kontrol grubu olarak alındı.

Makrovasküler komplikasyon ve diyabeti olan hastaların 18'i koroner arter hastalığı teşhisi almış ve anjiyografi yapılmış 8'i en az bir kere miyokard enfarktüsü geçirmiş, 3'ü koroner arter darlığına bağlı by-pas ile tedavi edilmiş, 5'i serebrovasküler olay teşhisi almış, 1 hasta transiskemik atak, 1 hasta sol karotiste darlık nedeniyle hemiparezi, 1 hasta derin ven trombozu ve bir hastaya da ayak damarlarında stenoz nedeniyle stent takılmıştı. Diğer 12 hasta ise koroner arter hastalığı teşhisi almış fakat anjiyografi yapılmamıştı.

Hasta ve kontrol grubundan plazma örneklerinin alınması için lityum-heparin ve normal serum tüpleri kullanıldı. Tam kan örnekleri alındıktan hemen sonra 4000×g'de oda sıcaklığında 4 dakika santrifüj edilerek plazma ve serumları ayrıldı. Elde edilen plazma ve serum örnekleri analize kadar -85°C'de saklandı. Bu örneklerden heparinli plazmada TIMP-1 ve MMP-9 düzeyleri, serumda ise küçük yoğun LDL düzeyleri ölçüldü.

Hastaların, total kolesterol, LDL-C, HDL-C, TG, düzeyleri örnek alındığı gün Roche/Hitachi Modular otoanalizörde enzimatik kolorimetrik yöntemle ölçülerek değerlendirildi.

3.2. Metodlar:

3.2.1: MMP-9 Ölçümü:

Plazma MMP-9 konsantrasyonlarının saptanmasında kantitatif sandviç ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) tekniği kullanıldı (Bender MedSystems GmbH, Vienna, Austria, Europe).

İnsan MMP-9'una karşı geliştirilmiş spesifik monoklonal antikorların kullanıldığı bu teknik, solid fazlı bir ELISA ölçümü olup, rekombinant insan MMP-9'u içeren 8 adet standart kullanılarak ölçüm yapılmaktadır. Bu amaçla 30 ng/ml MMP-9 içeren standarttan seri dilüsyonlarla hazırlanmış 15, 7.5, 3.75, 1.88, 0.94, 0.47 0,23 ng/ml'lik 7 standart ve bir adet 0 standart olmak üzere toplam 8 standart kullanılmıştır. Standart ve plazma örnekleri için aynı koşullar altında ve eş zamanlı olarak aşağıdaki çalışma prosedürü uygulanarak sonuçlar elde edilmiştir:

- Plazma örneklerinin 1/25 oranında dilüe edilmesi
- Örnek kuyucuklarına 90 mikrolitre assay buffer pipetlenmesi
- 10 µL plazma örneklerinin tespit edilen kuyucuklara pipetlenmesi.(Örnek dilüsyonu 90 mikrolitre assay buffere pipetlendiği zaman 1/10 dilüe olur. Daha önce örnek 1/25 dilüe edildiği için toplam örnek dilüsyonu 1/250 olacaktır)
- Her bir kuyucuğa MMP-9'a karşı geliştirilmiş enzim işaretli poliklonal antikor içeren konjugattan 50µL pipetlenmesi ve immün kompleks oluşması amacıyla oda ısısında horizontal orbital karıştırıcı üzerinde 2 saat inkübasyon.
- Tampon özelliğindeki yıkama solüsyonu ile kuyucukların 4 kez yıkanması ve bu yolla bağlanmayan moleküllerin uzaklaştırılması.
- 100 mikrolitre streptavidin-HRP eklenmesi ve bir saat oda ısısında inkübasyon.
- Kuyucukların dört kez yıkanması ve hidrojen peroksit ve kromojen özellikle tetramethyl benzidine içeren substrat solüsyonundan 100µL pipetlenmesi ve enzim-substrat reaksiyonunun gerçekleşmesi için 10 dakika inkübasyon.
- Enzim-substrat reaksiyonun durdurulması için 2N sülfürik asit içeren stop solüsyonundan 100µL pipetlenmesi.

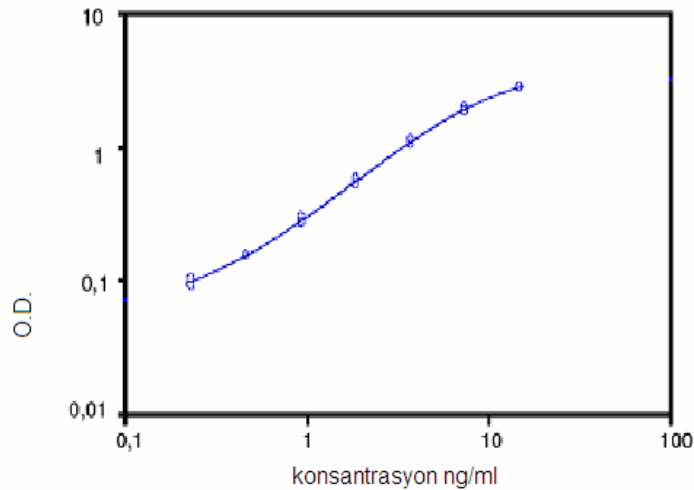
- Oluşan renk reaksiyonunun optik dansitesinin, mikropate okuyucu spektrofotometresinde 450 nm dalga boyunda okunması.

Sonuçların Hesaplanması:

Sonuçların hesaplanması için kullanılan kalibrasyon grafiği aşağıdadır. Sonuçlar dilüsyon faktörü ile çarpılarak hesaplanmıştır (Dilüsyon faktörü: 1/250).

Kullanılan MMP-9 kitinin analitik performansı:

Bender MedSystems MMP-9 ELISA kitinin üretici tarafından tespit edilmiş analitik sensitivitesi 0,05 ng/ml'dir. Örneklerimizi 1/250 dilüsyon ile çalıştık. 1/250 dilüsyon için belirlenmiş linearitesi %107,3'dür. Kitin ölçüm içi kesinlik göstergesi olarak CV (Coefficient of Variation) değeri tekrarlanan 6 ölçümde %7.3'dür.



Şekil.3.1.MMP-9 kitinin kalibrasyon grafiği

3.2.2: TIMP-1 Ölçümü:

Plazma TIMP-1 konsantrasyonlarının saptanmasında kantitatif sandviç ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) tekniği kullanıldı (Biosource, invitrogen immunoassay kit, Corporation Carlsbad, California).

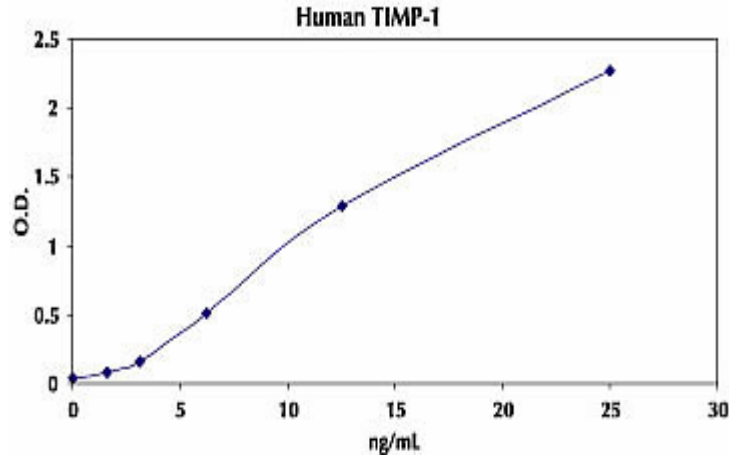
İnsan TIMP-1'ine karşı geliştirilmiş spesifik monoklonal antikorların kullanıldığı bu teknik, solid fazlı bir ELISA ölçümü olup, rekombinant insan TIMP-1'i içeren 6 adet standart kullanılarak ölçüm yapılmaktadır. Bu amaçla 25 ng/ml

TIMP-1 içeren standarttan seri dilüsyonlarla hazırlanmış 25, 12.5, 6.25, 3.12, 1.56 ng/ml'lik 5 standart ve bir adet 0 standart olmak üzere toplam 6 standart kullanılmıştır. Standart ve plazma örnekleri için aynı koşullar altında ve eş zamanlı olarak aşağıdaki çalışma prosedürü uygulanarak sonuçlar elde edilmiştir:

- Plazma örneklerinin 1/20 oranında dilüe edilmesi
- 50 µL standart ve plazma örneklerinin tespit edilen kuyucuklara pipetlenmesi ve 50 µL biotin konjugat eklenmesi immun kompleks oluşması için oda ısısında horizontal orbital karıştırıcı üzerinde 2 saat inkübasyonu.
- Tampon özelliğindeki yıkama solüsyonu ile kuyucukların 4 kez yıkanması ve bu yolla bağlanmayan antijenlerin uzaklaştırılması.
- Her bir kuyucuğa TIMP-1 karşı geliştirilmiş enzim işaretli poliklonal antikor içeren konjugattan 50µL pipetlenmesi ve immün kompleks oluşması amacıyla oda ısısında horizontal orbital karıştırıcı üzerinde 2 saat inkübasyon.
- Tampon özelliğindeki yıkama solüsyonu ile kuyucukların 4 kez yıkanması ve bu yolla bağlanmayan moleküllerin uzaklaştırılması.
- Hidrojen peroksit ve kromojen özellikte tetramethyl benzidine içeren substrat solüsyonundan 200µL pipetlenmesi ve enzim-substrat reaksiyonunun gerçekleşmesi için 30 dakika inkübasyon.
- Enzim-substrat reaksiyonun durdurulması için 2N sülfürik asit içeren stop solüsyonundan 100µL pipetlenmesi.
- Oluşan renk reaksiyonunun optik dansitesinin, mikroplate okuyucu spektrofotometresinde 450 nm dalga boyunda okunması.

Kullanılan TIMP-1 kitinin analitik performansı:

Biosource, invitrogen immunoassay kit, ELISA kitinin üretici tarafından tespit edilmiş analitik sensitivitesi < 1 ng/ml'dir. Örnekler 20 kez dilüe ederek çalışılmıştır. Kitin 1/8 dilüsyon için belirlenmiş linearitesi %103'dür. Kitin ölçüm içi kesinlik göstergesi olarak CV (Coefficient of Variation) değeri 2,09 ng/ml'lik örnek için tekrarlanan 16 ölçümde % 3,0'dür.

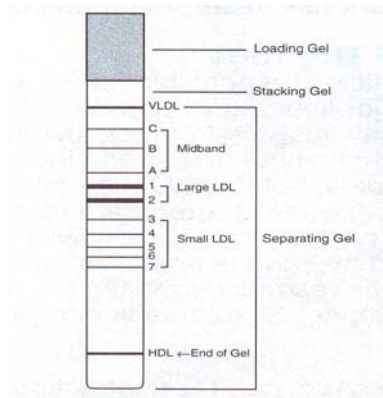


Şekil.3.2.TIMP-1 kitinin kalibrasyon grafiği

3.2.3: Küçük Yoğun LDL-C Ölçümü

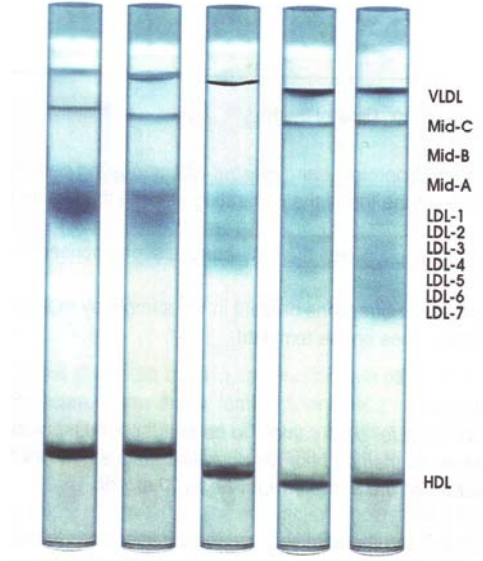
Küçük yoğun LDL-C ölçümünde Quantimetrix lipoprint system LDL subfraction kit kullanıldı. Bu kit serum, plazma veya hücre kültüründe LDL-C subfraksiyonlarını ölçmek için geliştirilmiştir. Ölçüm için total kolesterol 100 mg/dl 'nin üzerinde olmalıdır. Sistem LDL-C partiküllerini büyüklüğüne göre LDL-1 'den LDL-7 'ye kadar sınıflandırmaktadır. Lipoprint system lineer bir poliakrilamid jel elektroforezi yöntemidir.

- Örneklerin poliakrilamid jel tüplerine 25 µL pipetlenmesi
- Tüplere 200 µL lipoprotein moleküllerince tutulabilen özel boya eklenmesi ve tüplerin birkaç dakika çevrilerek serum ve boyanın karışmasının sağlanması.
- Her tüp için 3 mA voltaj uygulanarak 60 dakika lipoproteinlerin jel üzerinde yürütülmesi.



Şekil.3.3.Poliakrilamid jel elektroforezinde lipoprotein bantlarının şematik dizilimi

- Tüplerin analiz için tarayıcıya nakledilmesi ve sonuçların değerlendirilmesi.
- Ölçüm esnasında bir normal ve bir sdLDL-C düzeyi yüksek olmak üzere üretici firma tarafından hazırlanmış iki kontrol kullanıldı.



Şekil.3.4. Ölçüm sonrası lipoprotein bantlarının fotoğraf görünümü

Lipoprotein partikülleri elektrik yükleri ve partikül büyüklüğüne göre jel matriks üzerinde hareket eder. En fazla yol alan ve en uçtaki HDL-C bantı iken uygulama bölgesine en yakın bant VLDL-C bantıdır.

Lipoprotein profili elektroforez tamamlandığında 1 VLDL-C bantı 3 midbant ve LDL-C alt gruplarının varlığına göre LDL-1'den 7'ye kadar 7 LDL bantı ve HDL-C bantı oluşur. Tüm bu bantlar total lipoproteinlerin dağılımını ifade eder. Cihazın çalışma prensibi elektroforez yöntemi olduğundan dolayı total kolesterol ölçümü başka bir cihazda yapılmalıdır. Poliakrilamid jel üzerinde yürütülen bantlar daha sonra cihaza ait tarayıcıda okutulmakta ve bilgisayar tarafından yorumlanmaktadır. Sonuçlar miktar olarak ve total kolesterole oran olarak verilmektedir.

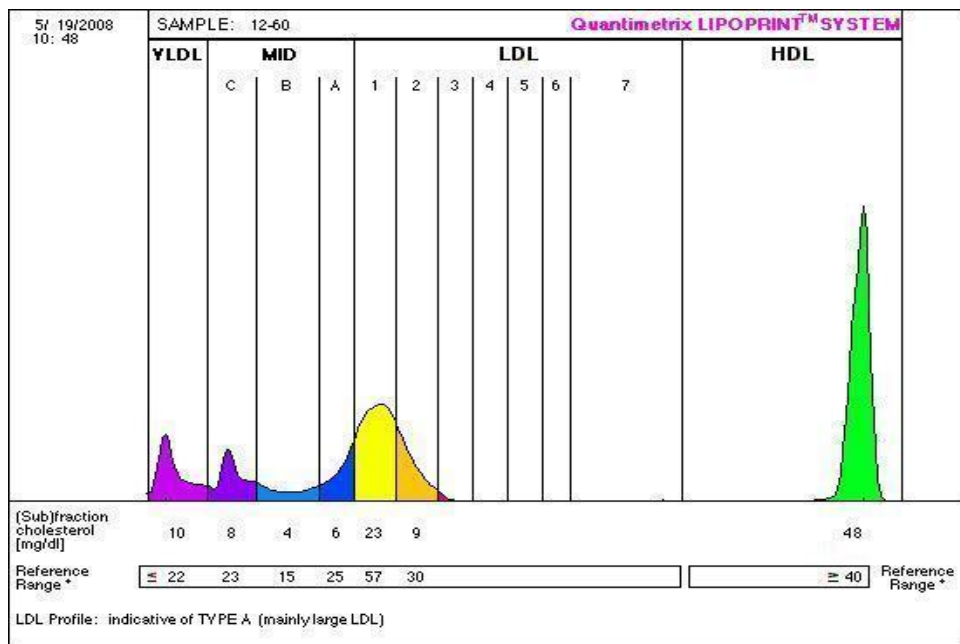
Kitin spesifik performans karakteristikleri belirlenirken seçilen örnek LDL-1'den 7'ye kadar tüm LDL-C fraksiyonlarını kapsıyordu ve 12 ölçümde intra-assay ve inter assay CV leri aşağıdaki gibiydi.

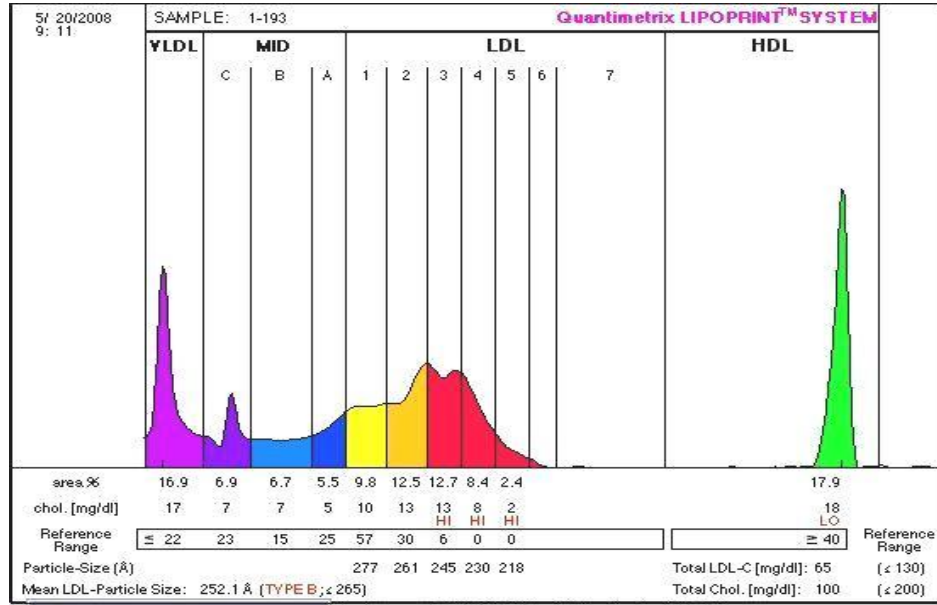
Tablo.3.1.Poliakrilamid jel elektroforezi intra-assay CV

	LDL-1	LDL-2	LDL-3	LDL-4	LDL-5	LDL-6	LDL-7
CV%	3,58	3,64	1,65	2,45	1,72	4,62	17,89

Tablo.3.2.Poliakrilamid jel elektroforezi inter-assay CV

	LDL-1	LDL-2	LDL-3	LDL-4	LDL-5	LDL-6	LDL-7
CV%	3,67	6,73	5,59	3,45	2,58	12,06	33,90

**Şekil.3.5.**Poliakrilamid jel elektroforezinde normal bir lipoprotein profilinin görünümü



Şekil.3.6. Bir hastaya ait anormal lipoprotein profili. LDL 3-4-5 'ün görünümü

Lipoprint sistemin LDL-C sensitivitesi 8,38 mg/dL'dir. Cihaz research modunda LDL moleküllerini çapına göre sınıflamaktadır. 245 -231 Angstrom LDL 3, 230-219 Angstrom LDL 4'dür. Sistem performans açısından referans metod kabul edilen ultra santrifüjle (β -Quantification) karşılaştırılmış. Sonuçlar ultra santrifüjle (β -Quantification) ile uyumlu bulunmuştur.

Tablo.3.3.Poliakrilamid jel elektroforezinin ultra santrifüjle karşılaştırılması

	Lipoprint LDL-C	β -Quant LDL-C
N	40	40
mean(mg/dL)	130.8	130.0
SD(mg/dL)	30.14	30.42
regression	Lipoprint LDL=0.933(LDL _{β-Quant})+9.430	
r^2	0.887	

3.2.4. İstatistiksel Analiz

Verilerin istatistiksel olarak değerlendirilmesinde 'SPSS for Windows 13.0 ve Sigma stat 3.1 paket programları kullanıldı. Sonuçlar, ortalama \pm SEM olarak verildi. Gruplar arası karşılaştırılma tek yönlü Varyans analizi (ANOVA) kullanılarak yapıldı. Varyansların homojen olmadığı değerlerde ANOVA'nın

nonparametrik karşılığı olan Kruskal-Wallis testi uygulandı. 0.05 değerinin altında olması istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

Bu çalışma, 50 (20♀, 30♂) Tip 2 Diabetes Mellitus tanısı almış makrovasküler komplikasyonlu hasta, 50 (35♀, 15♂) Tip 2 Diabetes Mellitus tanısı almış makrovasküler komplikasyonu olmayan hasta ve 30 (15♀, 15♂) gönüllü sağlıklı birey ile yapıldı.

4.1.1: Grupların Yaş Açısından Analizi

Tablo.4.1. Grupların yaş açısından analizi

Grup İsmi	N	Ortalama
Kontrol	30	55,9 ± 8,2
Mak.Komp.(+)	50	61,7 ± 7,4
Mak.Komp.(-)	50	55,2 ± 9,1

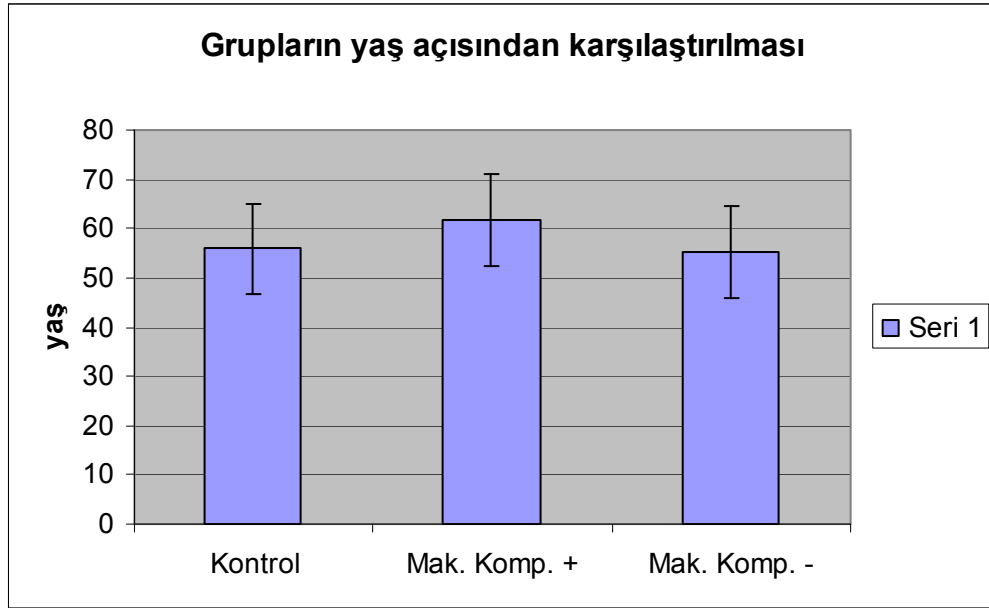
(P=0.001) Mak.Komp.(+):Makrovasküler komplikasyonu olan hasta grubu
Mak.Komp.():Makrovasküler komplikasyonu olmayan hasta grubu

Tüm gruplar arasında yaş istatistiksel olarak farklıydı. (P=0.001) Makro vasküler komplikasyonu olan grup yaş ortalaması (61,700±7,410) kontrol grubuna (55,900 ± 8,281) ve makrovasküler komplikasyonu olmayan gruba (55,260 ± 9,178) göre daha yüksekti. Anlamlı farklılığın hangi gruplardan kaynaklandığını belirlemek için Fisher LSD Metodu kullandık.

Tablo.4.2. Fisher LSD Metoduyla yaş açısından anlamlı farklılığın hangi gruplardan kaynaklandığının analizi

Gruplar	P	Diff >= LSD
Mak.Komp(+) ve Mak.Komp(-)	<0,001	P<0,001
Mak.Komp(+) ve Kontrol grubu	0,003	P<0,05
Kontrol ve Mak.Komp (-)	0,740	P>0.05

Mak.Komp.(+):Makrovasküler komplikasyonu olan hasta grubu
Mak.Komp.(-):Makrovasküler komplikasyonu olmayan hasta grubu



Şekil.4.1.Grupların yaş analizinin grafiksel görünümü

Makrovasküler komplikasyonu olmayan hastalar ve kontrol grubu arasında istatistiksel bir fark saptayamadık. Makrovasküler komplikasyonu olan hasta grubu, kontrol grubu ve komplikasyonsuz gruptan daha yaşlıydı.

4.1.2:Grupların VKİ Analizi

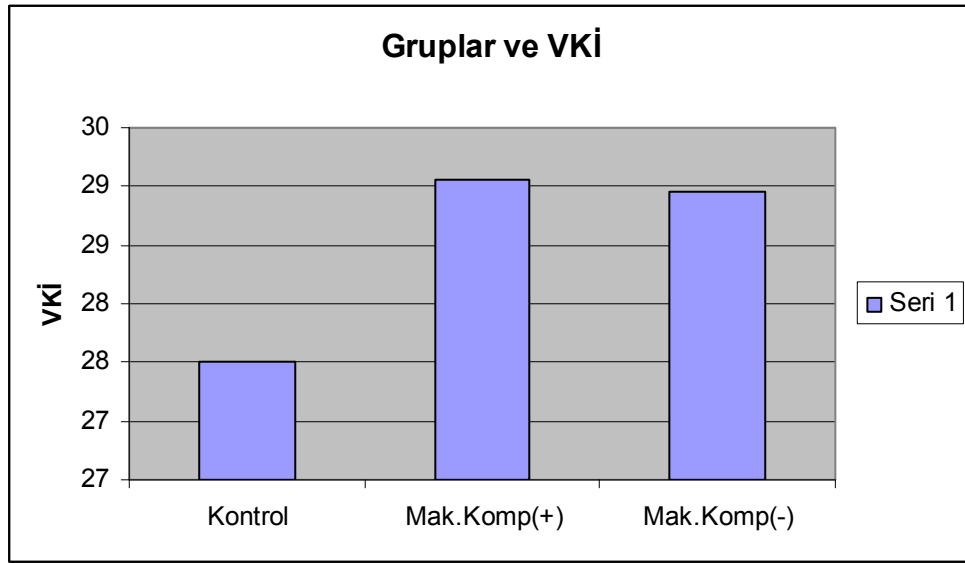
Tablo.4.3.Grupların VKİ analizi

Grup	N	Ortanca	25%	75%	P=0,177
Kontrol	30	27,5	25,7	29,8	
Mak. Komp. (+)	50	29,0	26,3	33,3	
Mak. Komp. (-)	50	28,9	25,8	32,7	

Mak.Komp.(+):Makrovasküler komplikasyonu olan hasta grubu

Mak.Komp.(-):Makrovasküler komplikasyonu olmayan hasta grubu

VKİ'leri açısından tüm gruplar arasında anlamlı bir fark saptayamadık. Makrovasküler komplikasyonu olan grubun VKİ ortalaması sayısal olarak daha yüksekti fakat istatistiksel olarak anlamlı değildi.



Şekil.4.2.Grupların VKİ açısından grafiksel görünümü

4.1.3:Grupların Total Kolesterol Düzeylerinin Karşılaştırılması

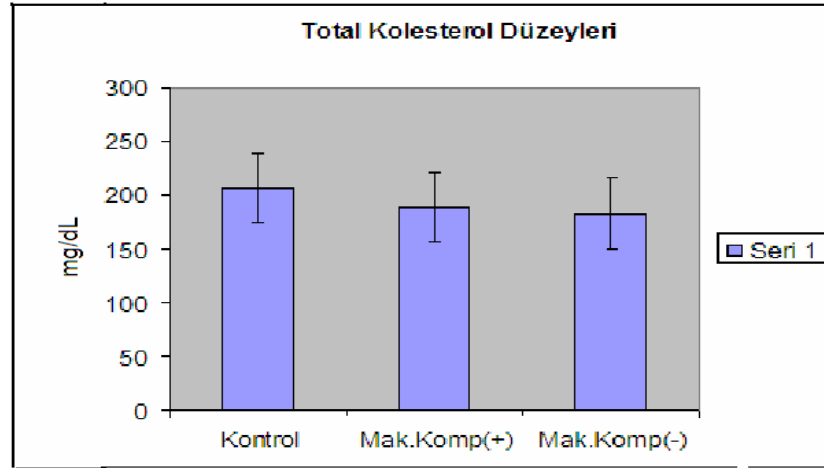
Tablo.4.4.Grupların total kolesterol açısından varyans analizi ile istatistiksel analizi (mg/dL)

Grup Name	N	Ortalama
Kontrol	30	206,4 ± 32,7
Mak. Komp.(+)	50	188,8 ± 44,1
Mak. Komp.(-)	50	183,1 ± 42,9

Mak.Komp.(+):Makrovasküler komplikasyonu olan hasta grubu
Mak.Komp.(-):Makrovasküler komplikasyonu olmayan hasta grubu

Gruplar	P
Gruplar arası farklılık	0,050

Kontrol gurubu ile (206,433±32,701) ile diğer gruplar arasında total kolesterol düzeyleri açısından rakamsal fark olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı değildi. (P=0,050)



Şekil.4.3.Total kolesterol düzeylerinin grafiksel görünümü

4.1.4: Grupların TG Düzeylerinin Karşılaştırılması

Gruplar arası TG düzeylerinin dağılımı homojen olmadığı için non parametrik Kruskal-Wallis analiz metodu kullanıldı.

Tablo.4.5. Gruplar arası TG düzeylerinin nonparametrik varyant analizi (mg/dL)

Grup	N	Median	25%	75%
Kontrol	30	107,0	88,0	190,0
Makrovasküler Komplikasyon (+)	50	159,5	118,0	249,0
Makrovasküler Komplikasyon (-)	50	169,5	128,0	208,0

(P=0,011) Mak.Komp.(+):Makrovasküler komplikasyonu olan hasta grubu
Mak.Komp(-):Makrovasküler komplikasyonu olmayan hasta grubu

Gruplar arası istatistiksel fark anlamlı idi ve saptanan anlamlı farklılığın hangi gruplardan kaynaklandığını belirlemek için tamamlayıcı bir karşılaştırma tekniği olan Dunn's metodu ile karşılaştırdık.

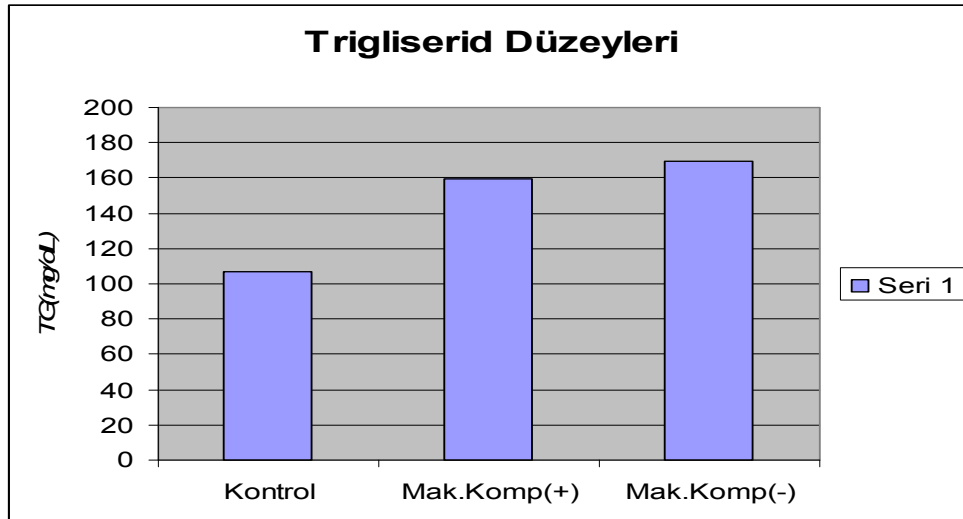
Tablo.4.6.Grupların kendi içinde farklılıklarının Dunn's metoduyla analizi

Grup	P
Mak.Komp(-) ve Kontrol	P<0,05
Mak.Komp(+) ve Mak.Komp(-)	P>0,05
Mak.Komp(+) ve Kontrol	P<0,05

Mak.Komp(+):Makrovasküler komplikasyonu olan hasta grubu

Mak.Komp(-):Makrovasküler komplikasyonu olmayan hasta grubu

Gruplar arasında TG düzeyleri açısından Tip 2 Diyabetli ve makrovasküler komplikasyonu olan grup ve kontrol grubu ile yine Tip 2 Diyabetli makrovasküler komplikasyonu olmayan grup ve kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmasına rağmen makrovasküler komplikasyonu olan ve olmayan gruplar arasında anlamlı bir fark yoktu ($P>0,05$). TG düzeyleri tip 2 DM'lu hastalarda kontrol grubuna göre daha yüksekti.

**Şekil.4.4.** TG düzeylerinin grafiksel görünümü

4.1.5: Grupların LDL-C Düzeylerinin Karşılaştırılması

Analiz nonparametrik Kruskal-Wallis metoduyla yapıldı.

Tablo.4.7.Gruplar arası LDL-C düzeylerinin analizi (mg/dL)

Grup	N	Ortanca	25%	75%
Kontrol	30	141	113	155
Mak. Komp. (+)	50	119	87	145
Mak. Komp. (-)	50	115	89	138

(P = 0,016)

Mak.Komp.(+):Makrovasküler komplikasyonu olan hasta grubu

Mak.Komp.(-):Makrovasküler komplikasyonu olmayan hasta grubu

LDL-C düzeyleri açısından gruplar arasında istatistiksel olarak fark vardı.

(P = 0,016) Anlamlı farklılığın hangi gruplardan kaynaklandığını belirlemek için Dunn's metodu ile analiz yapıldı.

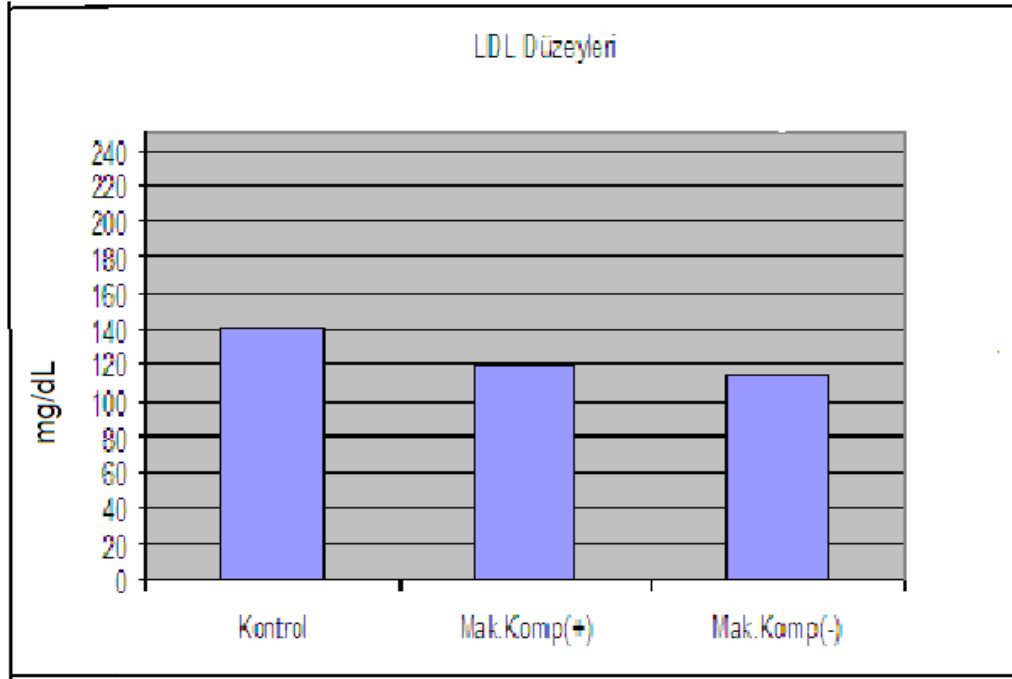
Tablo.4.8.LDL-C düzeylerinin Dunn's metoduyla istatistiksel analizi (mg/dL)

Gruplar	P
Kontrol ve Mak.Komp(+)	P<0,05
Kontrol ve Mak.Komp(-)	P<0,05
Mak.Komp(+) ve Mak.Komp(-)	P>0,05

Mak.Komp.(+):Makrovasküler komplikasyonu olan hasta grubu

Mak.Komp.(-):Makrovasküler komplikasyonu olmayan hasta grubu

Kontrol grubu ve makrovasküler komplikasyonu olan grup ile komplikasyonsuz grup arasındaki LDL-C düzeyleri arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı idi, kontrol grubunun LDL-C kolesterol düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksekti. Makrovasküler komplikasyonu olan ve olmayan grup arasında istatistiksel bir fark saptayamadık.



Şekil.4.5.Gruplar arası LDL-C düzeyleri (mg/dL)

4.1.6:Grupların sdLDL-C Düzeyleri Açısından Karşılaştırılması

Tablo.4.9. sdLDL (küçük, yoğun LDL-C) düzeylerinin varyans analizi(mg/dL)

Grup	N	Ortanca	25%	75%
Kontrol	30	3,7	1,6	6,4
Mak. Komp. (+)	50	7,8	5,0	22,6
Mak. Komp. (-)	50	5,1	3,6	12,0

Mak.Komp.(+):Makrovasküler komplikasyonu olan hasta grubu

Mak.Komp.(-):Makrovasküler komplikasyonu olmayan hasta grubu

Gruplar arasındaki istatistiksel fark önemli derecede anlamlı idi ($P = <0,001$)

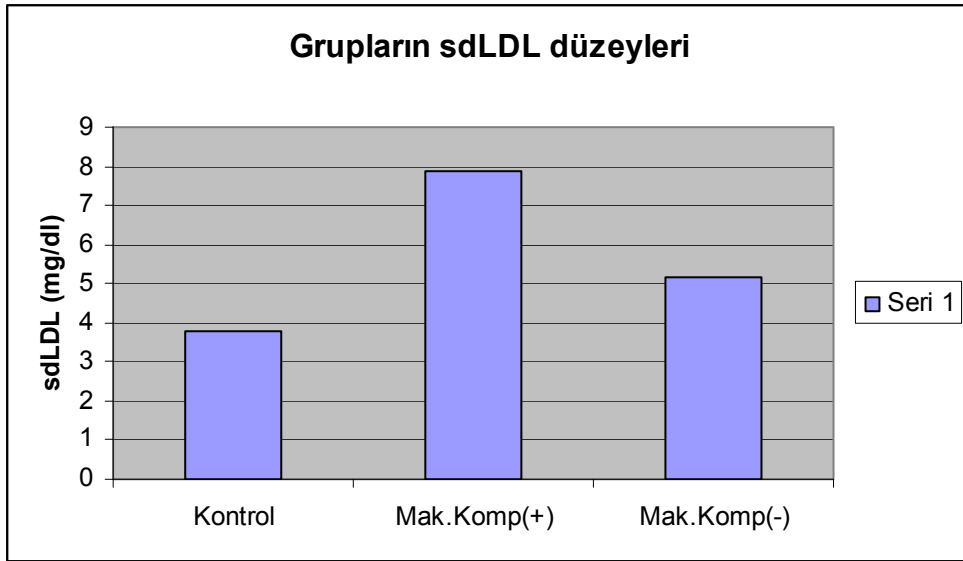
Tablo.4.10. Gruplar arası sdLDL-C düzeylerinin Dunn's Metodu ile değerlendirilmesi

Karşılaştırılan Gruplar	P
Mak. Komp (+) ve Kontrol	P<0,05
Mak. Komp (+) ve Mak. Komp (-)	P>0,05
Mak. Komp (-) ve Kontrol	P<0,05

Mak.Komp.(+):Makrovasküler komplikasyonu olan hasta grubu

Mak.Komp.(-):Makrovasküler komplikasyonu olmayan hasta grubu

Kontrol grubu ile makrovasküler komplikasyonu olan ve olmayan grupların küçük yoğun LDL-C düzeylerini kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek saptadık (P<0,05). Fakat makrovasküler komplikasyonu olan ve olmayan Tip 2 diyabetli gurupların küçük yoğun LDL-C düzeyleri kendi aralarında istatistiksel olarak anlamlı derecede fark taşııyordu (P>0,05).



Şekil.4.6.sdLDL-C düzeylerinin grafiksel görünümü

4.1.7:Grupların sdLDL-C'ün Total Kolesterolle Oranlarına Göre Karşılaştırılması

Tablo.4.11.sdLDL-C'ün total kolesterolle oranına göre gruplar arası analizi(%)

Grup	N	Ortanca	25%	75%
Kontrol	30	0,02	0,01	0,03
Mak. Komp. (+)	50	0,05	0,03	0,13
Mak. Komp. (-)	50	0,04	0,03	0,08

Gruplar arası fark istatistiksel olarak anlamlı idi ($P = <0,001$).

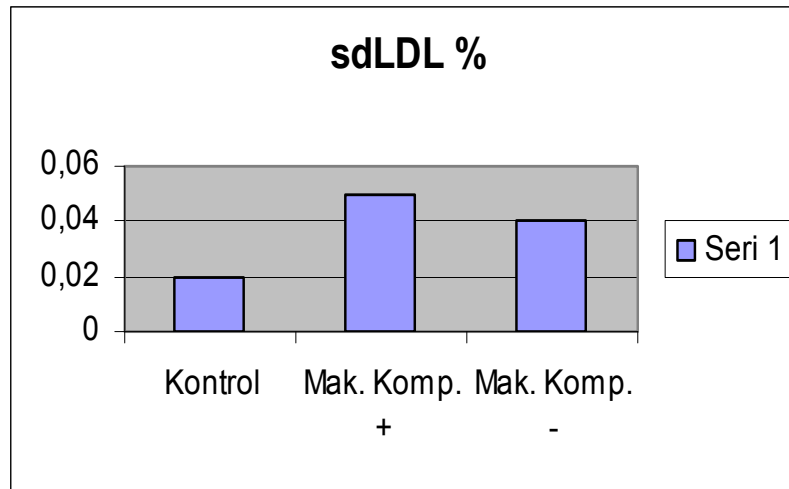
Tablo.4.12.Farklılığın hangi gruplardan kaynaklandığının Dunn's Metodu ile araştırılması

Karşılaştırma	P
Mak. Komp. (+) ve Kontrol	$P < 0,05$
Mak. Komp. (+)ve Mak. Komp. (-)	$P > 0,05$
Mak. Komp. (-) ve Kontrol	$P < 0,05$

Mak.Komp.(+):Makrovasküler komplikasyonu olan hasta grubu

Mak.Komp(-):Makrovasküler komplikasyonu olmayan hasta grubu

Tip 2 diyabetli ve makrovasküler komplikasyonu olan ve olmayan hasta gruplarının küçük yoğun LDL-C'ün total kolesterolle yüzde olarak oranı kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksekti. Fakat diyabetli her iki grup arasında istatistiksel bir fark yoktu.



Şekil.4.7.sdLDL-C'ün total kolesterolle oranının grafiksel görünümü

4.1.8:MMP-9 Düzeylerinin İstatistiksel Analizi

Tablo.4.13. Gruplar arası nonparametrik Kruskal-Wallis analizi (ng/ml)

Grup	N	Median	25%	75%
Kontrol	30	385	287	517
Mak.Komp. (+)	50	848	557	1435
Mak. Komp. (-)	50	812	592	1435

Mak.Komp.(+):Makrovasküler komplikasyonu olan hasta grubu

Mak.Komp.(-):Makrovasküler komplikasyonu olmayan hasta grubu

Tip 2 diyabetli makrovasküler komplikasyonu olan ve olmayan gruplar ve kontrol grubu arasındaki MMP-9 düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı derecede fark vardı. ($P = <0,001$) Dunn's Metodu ile farklılığın hangi gruplardan kaynaklandığını analiz ettik

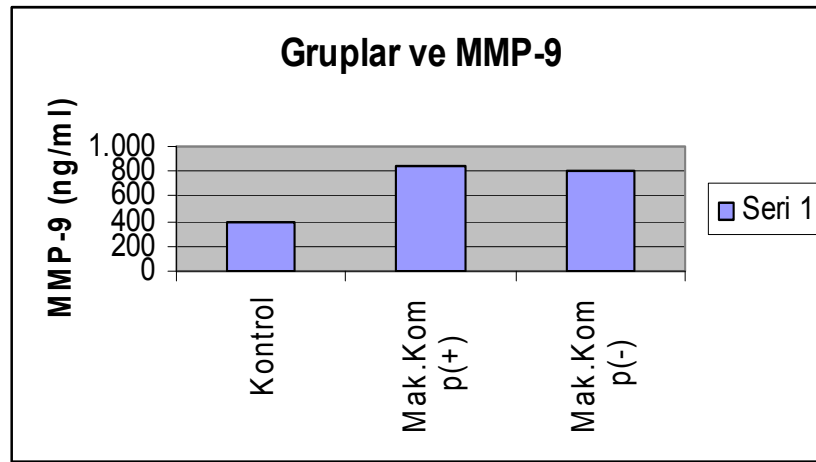
Tablo.4.14. Dunn's Metodu ile grupların analizi

Karşılaştırılan gruplar	P
Mak.Komp. (-) ve Kontrol	$P<0,05$
Mak.Komp. (-) ve Mak.Komp. (+)	$P>0,05$
Mak.Komp. (+) ve Kontrol	$P<0,05$

Mak.Komp.(+):Makrovasküler komplikasyonu olan hasta grubu

Mak.Komp.(-):Makrovasküler komplikasyonu olmayan hasta grubu

Hasta grubunda MMP-9 düzeyleri kontrol grubundan istatistiksel olarak yüksek saptandı. Fakat tip 2 diyabetli ve makrovasküler komplikasyonu olan ve olmayan gruplar arasında istatistiksel olarak fark bulunamadı.



Şekil.4.8. Gruplar arası MMP-9 düzeyleri

4.1.9: TIMP-1 Düzeylerinin Gruplar Arası Analizi

Tablo.4.15. Grupların TIMP-1 düzeyleri açısından analizi (ng/ml)

Grup	N	Median	25%	75%
Kontrol	30	735,0	585,2	766,8
Mak. Komp (+)	50	479,5	418,9	517,3
Mak. Komp (-)	50	543,9	506,4	580,4

Bütün gruplar arası TIMP-1 düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı derecede fark saptadık ($P = <0,001$).

Tablo.4.16. Grupların Dunn's metodu ile karşılaştırılması

Karşılaştırılan gruplar	P	
Kontrol ve Mak.Komp(+)	$P < 0,05$	
Kontrol ve Mak.Komp(-)	$P < 0,05$	
Mak.Komp(+)	ve Mak.Komp(-)	$P < 0,05$

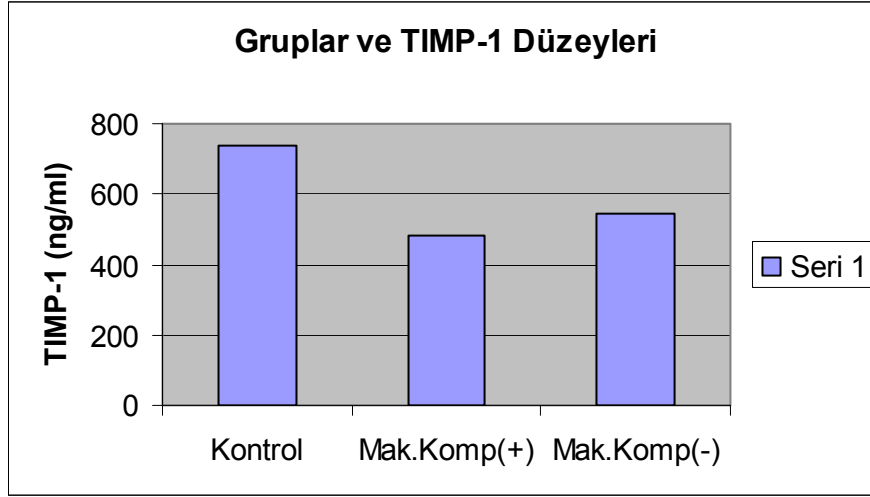
Mak.Komp(+): Makrovasküler komplikasyonu olan hasta grubu

Mak.Komp(-): Makrovasküler komplikasyonu olmayan hasta grubu

Dunn's Metodu ile farklılığın hangi gruplardan kaynaklandığını araştırdık.

Kontrol grubunda TIMP-1 düzeylerini hasta gruplarına göre anlamlı derecede yüksek

olduğunu saptadık. Makrovasküler komplikasyonu olan hasta grubunun TIMP-1 düzeyleri komplikasyonu olmayan hasta grubundan daha düşüktü.



Şekil.4.9.TIMP-1 düzeylerinin grafiksel görünümü

5. TARTIŞMA

Ateroskleroz doğumdan itibaren başlayan ve insan yaşamını etkileyen patolojik bir prosestir ve diyabetle tetiklenmektedir. Son yıllarda hızla artarak global bir halk sağlığı sorunu haline gelen diyabetin klinik önemi zaman içinde ortaya çıkan kronik komplikasyonlarla ve özellikle aterosklerozla ilgilidir. Diyabetik ateroskleroz hipergliseminin kontrolüne rağmen kontrol altına alınamayan bir komplikasyondur. Diyabetik aterosklerozun patogenezinde rol alan faktörlerin çeşitliliği tedaviyi güçleştiren nedenlerden biridir.

Kardiyovasküler risk faktörlerine sahip bireylerde aşikar kardiyovasküler hastalık gelişiminden önce endotel fonksiyonlarında anormallikler izlenmesi, ateroskleroz gelişiminde endotel disfonksiyonunun, kilit özellikte erken basamak olması hipotezi ile uyumludur (71). İnsülin direncinin Tip 2 diyabete ilerleyişi ile endotel disfonksiyonundan ateroskleroza kadar ilerleyen sürecin paralel seyrettiğine dair kanıtlar artmaktadır (72). Bizim çalışmamızın bir amacı da Tip 2 diyabetteki makrovasküler değişimlerin endotelyal düzeydeki değişimlerinin TIMP-1 ve MMP-9 düzeylerine nasıl yansıdığını incelemektir.

Birçok çalışmaya göre komplikasyonlar tanıyı izleyen ilk yıllarda ortaya çıkmakta veya tanı konulduğunda hastaların etkilenmiş oldukları görülmektedir. Diyabetin kronik komplikasyonlarının gelişmesinde asıl nedenin hiperglisemi olduğu görüşüne rağmen, kan yağlarının niteliği ve yoğunluğu, endotel ve intima değişiklikleri, hiperkoagülabilité, hiperhomosisteinemi, inflamasyon, oksidatif stres, ateroskleroz gelişiminde hızlanma, obezite ve fiziksel aktivite eksikliği, hiperinsülinemi ve insülin direnci, protein glikasyonu, sigara gibi faktörler de rol oynamaktadır.

Diyabet, kardiyovasküler hastalıklar için bağımsız bir risk faktörüdür ve bu risk beraberindeki dislipidemilerle daha da artar. Trigliseritten zengin VLDL-C'ün artmış hepatik sekresyonu ve VLDL-C'ün bozulmuş klirensi, diyabetik dislipideminin patofizyolojisinde merkezi rol oynamaktadır.

Total kolesterol düzeyi ile koroner arter hastalığı mortalitesi arasında lineer bir ilişki söz konusudur. Total kolesterolde her 20 mg/dl artış, koroner arter hastalığı mortalitesinde %12'lik bir artışa sebep olmaktadır (73). Ayrıca Framingham Kalp

Çalışması total kolesteroldeki her %1 yükselmenin koroner arter hastalığı riskinde yaklaşık %2 artışa sebep olduğunu göstermiştir (74). Bizim çalışmamızda Tip 2 diyabetli makrovasküler komplikasyonu olan ve olmayan grubun total kolesterol düzeyleri arasında istatistiksel olarak fark saptayamadık ($P=0,050$). Diğer beklenmeyen bir sonuç ise gruplar arası LDL-C düzeylerinin kontrol grubundan istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük olması idi. ($P <0,05$) Bizim çalışmamıza aldığımız hastalar tedavi altındaki hastalardı. Örnek alındığı anda oral antidiyabetik, antihipertansif koroner vazodilatörler , lipid düşürücü ilaçlar ve diyet tedavisi alıyorlardı. Makrovasküler komplikasyonlu olan ve olmayan gruplarda sırası ile 19 ve 17 hasta statin veya fenofibrat grubu ilaç tedavisi almakta idi. Yapılan çalışmalarda statin grubu ilaç kullanımının beşinci haftadan sonra LDL-C düzeylerinde ve total kolesterol düzeylerinde anlamlı azalma yaptığı tespit edilmiştir (75,76,77). Diyetle ilgili eğitimin ve diyet uygulaması arttıkça hastaların lipid profilinin düzeldiğine dair çalışmalar vardır (78). Diyet ve hasta eğitimini araştıran bir çalışmada diyet ve eğitim ile hastaların metabolik değerlerinde anlamlı düzelmeler saptanmıştır. Total kolesterol ve LDL-C düzeylerinde anlamlı düşmeler olmuş fakat beklenenin aksine tüm gruplarda vücut kitle indeksinde istatistiksel olarak anlamlı artış olmuştur. (79)

Bizim çalışma grubumuza dahil Tip 2 Diyabetli ve makro vasküler komplikasyonu olan ve makrovasküler komplikasyonu olmayan gruplarda sırasıyla 37 ve 40 hasta belli bir kalori düzeyine endekli bir diyabet diyeti uyguladığını belirtmişlerdir. Diğer hastalar ise kendilerine göre diyet yapıyorlar ya da bir diyet programına uymuyorlardı.

Grupların vücut kitle indeksleri median değerleri kontrol, makrovasküler komplikasyonu olan ve olmayan hastaların sırasıyla 27.50, 29.05, 28.95 idi. Fakat non parametrik varyans analizine göre istatistiksel olarak önemli bir fark bulunamadı. Obezite ile insülin direnci arasında doğrudan ilişki vardır ve tip 2 diyabet gelişen hastaların %80'i diyabet öncesi dönemde obezdir. Obezite, diyabetin açığa çıkmasına ve var olan diyabetin daha da kötüleşmesine neden olmaktadır (80).

Gruplar arasında TG düzeyleri hasta gruplarında diyet, lipid düşürücü ve oral antidiyabetik ilaç tedavileri almalarına rağmen kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulundu ($P=0,001$). Hasta grupları arasında komplikasyonlu hastalarda TG

düzeıı makrovasküler komplikasyonu olmayan gruba göre rakamsal olarak yüksek olmasına rağmen istatistiksel anlamı yoktu.

Hipertrigliseridemi, insülin rezistansı ve hiperinsülinemi ile birlikteliği sıktır. İnsülin normalde karaciğerde VLDL-C sentezini ve trigliseridin dolaşıma geçmesini baskılar. İnsüline rezistans olduğu zaman VLDL-C sentezi ve dolaşıma geçişı artmaktadır. İnsülin direnci arttıkça trigliserid düzeyleri yükselmekte, HDL-C düşmektedir. Hipertrigliserideminin etkisinin aterojenik veya trombotik olduğu gösterilememiş olmakla beraber koroner arter hastalığı riskini arttırır. Diyabetik hastalarda trigliseridlerin yükselmesi ve HDL kolesterolünün azalması ile oluşan dislipideminin ateroskleroıu hızlandırdığı bilinmektedir (81). Trigliseridden zengin bazı lipoproteinler direkt olarak aterojeniktir. Açlık TG düzeyleri, 200 mg/dl nin üzerinde olan kişilerde, total LDL-C konsantrasyonunun büyük kısmını aterojenik ve oksidasyona yatkınlığı bilinen küçük ve yoğun LDL-C oluşturmaktadır(40).

Tip 2 DM'li hastalarda dislipidemi çok yaygın olarak görölmektedir. Ayrıca rutin kan şekeri düşürölmesine yönelik tedaviye rağmen varlığını sürdürmektedir. Diyabetik hastaların yaklaşık %70-97'sinde bir veya daha fazla lipid bozukluğu bildirilmiştir (82). Tip 2 diyabeti olan hastalardaki dislipideminin, prediyabetik dönemde dahi var olan bir durum olduğu çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir (24,83, 84, 85). Diyabette, trigliserid yüksekliği, HDL kolesterol düşükliğü ve küçük yoğun LDL kolesterol yoğunluğu oranında artışla karakterize, birbirleriyle ilişkili bir lipid ve lipoprotein metabolizması bozukluğu sıklıkla görölür (86).

Diyabetik hastalardaki dislipidemide, normal plazma LDL kolesterolü bulunmakla beraber aterojenik küçük yoğun LDL-C parçacıkları sayıca artmaktadır (16,83,88). Bizim çalışma gruplarımızda gruplar arasında LDL-C düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark vardı (P=0,016). Kontrol grubuna göre makrovasküler komplikasyonu olan ve olmayan grupların LDL-C düzeyleri anlamlı derecede düşüktü. Kontrol grubu hastalar herhangi bir ilaç veya diyet tedavisi almıyordu. Tip 2 diyabetli makrovasküler komplikasyonu olan ve olmayan grupların kendi aralarında LDL-C düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı değildi.

Klinik çalışmalarda, düşük dansiteli lipoprotein-kolesterol (LDL-C) düzeyinin düşürölmesi ile kardiyovasküler mortalite ve morbiditenin azaldığı tespit edilmiştir (89). Ancak erişkin hastaların sadece %20'sinin ulusal kılavuzlara göre

tedavisi yapılabilmektedir (90). Hastalar tedaviyi yeterli derecede uygulamadıkları için yeterli sonuçlar alınamamaktadır. Ekonomik imkanları çok iyi olan ülkelerde bile dislipidemisi olan bireylerin %70-80'i NCEP-ATP III' de bildirilen hedeflere ulaşamamaktadır (90).

Bizim çalışma grubumuzda küçük yoğun LDL-C (sdLDL-C) serum düzeyleri Tip 2 diyabetli makrovasküler komplikasyonu olan ve olmayan gruplarda kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksekti. Hasta gruplarının Sldl-C düzeyleri kendi aralarında istatistiksel olarak farklı değildi. Çalışma grubundaki hastaların LDL-C düzeyleri kontrol grubundan düşük olmasına rağmen lipid profillerinin anormal olmaması diyabette engellenemeyen ateroskleroz ile uyumludur. Kontrol grubuna göre LDL-C 3,4,5,6,7 düzeyleri diyabetli hastalarda istatistiksel olarak da anlamlı derecede yüksekti. Makrovasküler komplikasyonlu hastalarda, küçük yoğun LDL-C'ün total kolesterole oranı da kontrol grubu ve hasta grupları arasında istatistiksel olarak anlamlıydı (P=0,001) ve sdLDL-C'ün düzeylerine benzer şekilde diyabetli hastalarda daha yüksek orandaydı. sdLDL-C'ün total kolesterole oranı tip 2 diyabetli makrovasküler komplikasyonu olan ve olmayan gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı değildi. Bu veriler normal LDL-C oranlarına rağmen diyabetik hastalardaki makrovasküler komplikasyonların benzer özelliklere sahip kontrol grubundan yüksek olmasını açıklamaktadır (80). Başka çalışmalarda, sdLDL-C ölçümünün diğer lipit parametrelerine göre karotid arter aterosklerozisi ile daha ilgili olduğunu ve sdLDL-C'ün kantitatif ölçümünün, aterosklerotik hastalıkta risk değerlendirmesinde iyi bir belirteç olabileceği belirtilmiştir (91). Tip 2 diyabetik Hastalarda küçük LDL-C / total LDL-C karotis arteri intima-media kalınlığı ile de yakından ilişkilidir. LDL-C alt fraksiyonlarının poliakrilamid jel elektroforezi ile ölçüldüğü bir çalışmada ultrasonografik olarak ölçülen karotis arterinin intima-media kalınlığı (IMK), maksimum IMT (Maks-IMK) ve ortalama IMT (Ort-IMK) olarak verildi. Sonuçlar, sağlıklı kontrollerle karşılaştırıldığında hem IMK hem de küçük LDL-C düzeylerinin diyabetik hastalarda anlamlı derecede yüksek olduğu gözlemlendi. IMK'nın, LDL-C düzeylerinden daha fazla derecede, küçük LDL-C düzeyleri ve küçük LDL-C/total LDL-C ile ilişkili olduğu görüldü (92). Scott ve arkadaşlarının yaptığı bir değerlendirmede küçük yoğun LDL kolesterol yüksekliği, trigliserid yüksekliği ve

düşük HDL kolesterol düzeyi kardiyovasküler hastalıklar için aterojenik lipoprotein fenotipi olarak tanımlanmıştır (93).

Diyabet ve buna bağlı sdLDL-C düzeylerinin yüksek olması kadın olmanın kardiyovasküler hastalık konusunda sağladığı hormonal avantajı da ortadan kaldırır (19). Koroner kalp hastalığı açısından mortalite oranı diyabetik kadınlar arasında diyabetik erkeklerin oranına yaklaşır. Bu artış kısmen östrojenin aterosklerozdan koruyucu etkisinin azalmasına dayanır (20). Erkek ve kadın diyabetik hastalar, miyokard enfarktüslü hastalar arasında sayıca üstün olmakla kalmaz aynı zamanda diyabetik olmayanlara göre prognozları daha kötüdür (21).

Son yıllarda, MMP'lerin kardiyovasküler hastalıklarla ilişkisini değerlendirmek amacıyla yapılan çalışmalarda artış olmuştur. Örneğin; bir çalışmada, MMP'lerin arteriyel intima hiperplazisini başlatma, ilerlemiş aterosklerotik lezyonu zayıflatma ve rüptürüne yol açma üzerine major bir etkisi olduğunu bildirilmiştir (94). Yine son zamanlarda yapılan çalışmalarla, MMP ekspresyonu ve aktivitesindeki artışın aterosklerotik plakların oluşumunda önemli bir rol oynadığı, konjestif kalp yetmezlikli hastalarda plazma MMP-9 düzeylerinin artmış olduğu gösterilmiştir. Biz çalışmamızda MMP-9 düzeyleri kontrol grubu ve diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptadık (P=0.001). Tip 2 diyabetli makrovasküler komplikasyonu olan ve olmayan gruplarda MMP-9 düzeyleri anlamlı derecede kontrol grubundan yüksekti.

Tip 2 diyabetli makrovasküler komplikasyonu olan ve olmayan gruplarda MMP-9 düzeylerinin kontrol grubundan yüksek çıkması MMP ekspresyonu ve aktivitesindeki artışın aterosklerotik plakların oluşumunda önemli bir rol oynadığı, koroner arter hastalıklarında ve plak rüptüründe plazma MMP-9 düzeylerinin artmış olduğu çalışmalarla uyumludur. Diyabetli iki hasta grubu arasında MMP-9 düzeyleri makrovasküler komplikasyonu olan hasta grubunda rakamsal olarak daha yüksekti fakat istatistiksel fark saptayamadık. MMP'lerin kardiyovasküler hastalıklarda esansiyel bir role sahip oldukları özellikle son birkaç yılda daha iyi anlaşılmıştır. MMP enzimlerinin aterosklerotik sürecin erken dönemlerinde, arteriyel intimada hiperplazi gelişiminde ve aterosklerotik lezyonların plak yırtılmasına yol açacak şekilde zayıflamasında rolleri olduğu kabul edilmektedir (95). İntimal kalınlaşmanın önce yağ izlerine daha sonra da fibröz aterosklerotik plağa dönüşmesinde ESM

döngüsü (yapım ve yıkımı) önemlidir. MMP'ler ESM döngüsünde temel rol oynarlar. İntimal kalınlaşma gelişimi ve aterosklerozun erken dönem olayları genellikle jelatinazlar (MMP-2 ve MMP-9) ile ilişkilendirilmiş ve neointima geliştirilen çeşitli deneysel hayvan modellerinde çoğunlukla jelatinazların ekspresyon ve aktiviteleri incelenmiştir (96). Bununla birlikte daha az da olsa diğer MMP'lerin de intimal kalınlaşma sürecine olan katkıları farklı çalışmalarda araştırılmıştır (57). Bu çalışmalar intimal kalınlaşma için MMP aktivitesinin temel olduğunu ortaya koymuştur. Ayrıca MMP'lerin fibröz doku matriksinin aşırı yıkımına bağlı aterosklerotik plağın zayıflayıp yırtılmasında da rol oynadığı bildirilmiştir (95,97). MMP'ler eksternal elastik laminanın parçalanmasına yol açarak arteriyel duvarın dışa doğru (pozitif) yeniden modellenmesini kolaylaştırırlar (98). Bu durum başlangıçta lümen genişliğini koruduğu için yararlı olmasına rağmen sonuçta arteriyel duvarın mekanik direncini azaltarak plağın yırtılma eğilimini arttırmaktadır. Aterosklerotik plağın yırtılmaya eğilimli bölgelerinde makrofaj kökenli köpük hücrelerinin biriktiğinin gösterilmesi, makrofaj kaynaklı MMP'lerin plak fragilitesi ve yırtılmasında önemli rolleri olduğunu düşündürmektedir (97).

Orta yaş erkeklerin 10 yıl boyunca izlendiği, bir çalışmada, yüksek serum MMP konsantrasyonunun, akut MI için bağımsız bir risk faktörü olduğu koroner kalp hastalığı artışına bağlı ölümlerle ilişkili olduğu sonucuna varıldı. Klinik olarak belirti göstermeyen aterosklerozlu erkeklerde yüksek serum MMP konsantrasyonu kardiyovasküler sebepli ölümler için özellikle önemliydi. Yüksek serum MMP konsantrasyonu diğer CVD risk faktörlerinden bağımsız olarak üç kat ölüm riskini artırıyordu. Bu çalışmaya göre TIMP-1 düzeyleri kardiyovasküler riski belirlemede tek başına yetersizdir. MMP-8/TIMP-1 oranı kardiyovasküler hastalıklar için daha belirleyicidir (95). Blankenberg ve arkadaşları 1127 hastayı 4.1 yıl izledikleri çalışmalarında koroner arter hastalığına bağlı ölümlerle MMP-9 düzeylerinin yüksekliği arasında pozitif bir bağlantı buldular ve MMP-9 düzeylerinin koroner arter hastalığına bağlı kardiyovasküler mortaliteyi belirlemede iyi bir belirteç olduğunu ileri sürdüler(96).

Organizmada fizyolojik olayların sürdürülmesinde MMP aktivitesi ile onların spesifik endojen doku inhibitörleri (TIMP'ler) arasında sürekli bir denge söz konusudur (100). MMP'ler ve TIMP'ler normal dokularda düşük düzeyde eksprese

edilirler ve birçok biyolojik süreçte rol oynarlar. Bunlar arasında kemiğin yeniden modellenmesi, yara iyileşmesi, anjiyogenez, inflamasyon, apoptozis, immün cevap gelişimi, embriyonik gelişim, blastosit implantasyonu, organ morfogenezi, sinir hücre gelişimi, ovülasyon, servikal dilatasyon, postpartum uterin involüsyonu, endometriyal siklus ve saç folikülü siklusu sayılabilir. MMP ekspresyonu, gen transkripsiyonunu etkileyen faktörlerin etkisi altındaki çeşitli fizyolojik ve patolojik koşullarda gelişen doku yeniden modellenmesi sırasında artar (95). Bu sırada MMP'lerin üretimi TIMP'lerin üretimini aşabilir. Böylece MMP'ler ve TIMP'ler arasındaki denge bozulur. Dengenin MMP aktivitesi yönüne kayması matriksin kontrolsüz olarak yıkılmasına ve sonuçta patofizyolojik olayların oluşumuna zemin hazırlar.

MMP'lerin rol oynadığı patolojik olaylar arasında ateroskleroz ve kanser başta olmak üzere artrit, nefrit, gastrointestinal ülser, peridontal hastalık, kornea ülseri, deri ülseri, multipl skleroz, nörolojik hastalık, Alzheimer hastalığı, karaciğer fibrozu, fibrotik akciğer hastalığı, amfizem, kan beyin bariyerinin yıkılması sayılabilir.

TIMP'ler bağ dokusu metabolizmasının düzenlenmesinde temel olan proteinlerdir (101). Pek çok dokuda ve vücut sıvılarında bulunurlar. MMP'lere irreversibl ve non-kovalent biçimde bağlanarak latent enzim formunun aktivasyonunu ve katalitik aktivitenin sürdürülmesini de inhibe ederler. Böylece TIMP'ler MMP enzim aktivitesini ve MMP/TIMP dengesini sıkı kontrol altında tutarlar (100,102). TIMP-1 düzeylerinde bizim tüm gruplarımız arasında istatistiksel olarak fark saptadık($P = 0,001$). TIMP-1 düzeyleri makrovasküler komplikasyonu olan hasta grubunda en düşüktü ve bu grupta MMP-9 düzeyleri en yüksekti. Çalışma grubumuzda ki hastaların MMP-9 düzeylerinin yüksek olmasına rağmen TIMP-1 düzeylerinin düşük olması aterosklerotik sürecin devam ettiğini gösteriyordu.

TIMP'ler MMP aktivitesini inhibe etme yönünden benzerlik göstermekle beraber matriksteki lokalizasyonları ve gen ekspresyonunun düzenlenmesi yönünden aralarında farklar vardır. Ayrıca değişik MMP türlerine göre de özgüllük gösterirler. Örneğin; Jelatinaz A (MMP-2) tercihen TIMP- 2 ile Jelatinaz B (MMP-9) ise TIMP-1 ile inhibe edilirler (103). İntravasküler ultrasound'la yapılan bir çalışmada rüptüre plağı olan hastalarda pro-MMP-1 ve TIMP-1 düzeylerini anstabil plağı veya stabil

plağı olan hastalardan daha yüksek olduğu ve plak rüptürünün pro-MMP-1 ve TIMP-1 arasındaki dengesizlikle ilgili olduğu bildirildi (104). TIMP'lerin en önemli fonksiyonları, metalloproteinazların etkisi ile oluşan bazal membran ve ESM parçalanmasını inhibe etmeleridir (69,70). Aterosklerozda malignitelerde, invazyon ve metastazda TIMP ve MMP dengenin bozulması birçok araştırmanın odak noktasını oluşturmaktadır. TIMP düzeylerindeki düşüş ve MMP'nin artışı vasküler patolojinin kontrolsüz şekilde ateroskleroz yönünde ilerlediğini gösterir (66). MMP aktivitesinde önemli bir artış da çoğu zaman aterosklerotik plağa makrofajların birikmesi ve TIMP-1 düzeylerinde düşme ile beraber görülür (105). Makrofajların kolesterolle yüklü olması ve TIMP-1 düzeylerinin düşük olması aterosklerozda belirgin bir role sahiptir. TIMP-1 ve TIMP-2'ye ilave olarak TIMP-3'ün salınımının regüle edilmesi MMP-9 aktivitesinde azalmaya ve aterosklerotik plak stabilitesini korumaya yardımcı olur. Serum TIMP-1 düzeylerinin, yükselmesi aterosklerotik plaklardaki lezyonların pozitif yeniden biçimlendirilmesi ile ilgilidir. Oysa MMP-2 serum düzeylerindeki artış, aterosklerotik plaklardaki tekrarlayan kalsiyum çökmesi ile beraberdir (106).

MMP artışının ateroskleroza etkisi ile ilgili bir diğer kanıt sentetik MMP inhibitörleridir. Sentetik veya doğal MMP inhibitörlerinin etkisi TIMP'e benzemektedir. Tetrasiklin analogları, non-selektif MMP inhibitörleri olarak kabul edilebilir. MMP molekülünün Zn⁺⁺ içeren aktif bölgesine bağlanarak enzimde yapısal değişikliğe yol açarlar ve enzimin aktivitesini kaybetmesine neden olurlar (107). Doksisiklinin insan vasküler graft ateroskleroz modelinde intimal hiperplaziyi azalttığı ve sıçan aortik anevrizma modelinde anevrizma gelişimini inhibe ettiği gösterilmiştir(107,108). Son yıllarda peptid ve non-peptid yapıda sentetik MMP inhibitörleri de üretilmiştir. Bu inhibitörler en çok kanser tedavisinde olmak üzere kardiyovasküler hastalıklar, artrit, psöriyazis, peridontal hastalık ve makula dejenerasyonu gibi farklı hastalıkların tedavisinde denenmiştir. Bu ilaçların TIMP benzeri düz kas hücre proliferasyonu ve migrasyonunu azalttıkları, dolayısıyla ateroskleroz gelişimini inhibe ettikleri de deneysel çalışmalarda gösterilmiştir (109).

Bizim çalışmamızda sdLDL düzeyleri diyabetli hastalarda yüksek bulundu ve sdLDL düzeyleri birçok çalışmada saptandığı gibi diyabetli hastalarda ateroskleroz ile bağlantılıdır. Sadece hiperglisemi ve diğer hipertansiyon, obezite gibi faktörlerin

sdLDL kontrolü sağlanmadan tedavisi kardiyovasküler olayları engellemede yetersiz görünmektedir. MMP-9 düzeyleri vasküler komplikasyonlar oluşmadan önce ve hatta aşikar diyabet gelişmeden önce yükselir. Yukarda bahsettiğimiz tüm bu araştırmalardan ve bizim çalışmamızdan elde edilen sonuçlar, MMP enzimlerinin ve inhibitörlerinin ateroskleroz patojenezinde ki esansiyel rollerini güçlü bir biçimde vurgulamaktadır. Bu nedenle MMP enzimlerinin ve aterosklerotik sürece olan katkılarının anlaşılması, aterosklerotik hastalıklarda yeni tedavi yaklaşımlarının ve yeni özgün MMP inhibitörlerinin geliştirilmesine ışık tutabilecektir. MMP düzeylerinin ateroskleroz dışında anjiyogenez, uterin involüsyon, kemik yapılanması, malignite, Alzheimer hastalığı, karaciğer fibrozu, fibrotik akciğer hastalığı, amfizem gibi değişik durumlarda da yükselmesi tek başına bir belirteç olarak kullanımını kısıtlamaktadır. Biz çalışma grubumuzdaki hastalarda MMP-9 düzeyleri yüksek olan hastaların TIMP-1 düzeylerini düşük saptadık. Kontrol grubunda TIMP-1 düzeyleri diyabetli hastalardan daha yüksekti. Ateroskleroz takibinde diğer inflamasyon belirteçleri ile beraber MMP/TIMP düzeylerinin tesbiti daha faydalı gibi görünmektedir.

6.SONUÇLAR

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim dalında Tip 2 Diyabetli makrovasküler komplikasyonu olan ve makrovasküler komplikasyonu olmayan hastalarda sdLDL, MMP-9 ve TIMP-1 düzeylerini araştırdığımız çalışmada aşağıdaki sonuçlara varılmıştır;

1. Makrovasküler komplikasyonu olan hastaların yaşı diğer gruplardan daha yüksekti (61.700 ± 7.410) (Gruplar arası fark $P=0.001$).
2. Gruplar arasında VKİ açısından anlamlı bir fark yoktu
3. TG düzeyleri hasta gruplarında kontrol grubundan yüksekti ($P=0.011$). Fakat hasta grupları kendi aralarında TG düzeyleri açısından anlamlı fark taşımıyorlardı.
4. Total kolesterol düzeyleri gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı değildi.
5. LDL-C oranları kontrol grubunda hasta gruplarına göre daha yüksekti fakat hasta gruplarında LDL-C düzeyleri açısından fark bulunamadı.
6. sdLDL düzeyleri gruplar arası istatistiksel fark önemliydi ($P=0.001$) Hasta grupları sdLDL oranları kontrol grubundan belirgin derecede yüksekti. Fakat hasta gruplarının kendi içinde sdLDL düzeyleri açısından istatistiksel fark yoktu.
7. MMP-9 düzeyleri tüm gruplar arasında anlamlı derecede farklıydı ($P<0.001$). Hasta gruplarında MMP-9 düzeyleri kontrol grubundan yüksekti. Kendi aralarındaki MMP-9 düzeyleri ise istatistiksel olarak anlamlı değildi.
8. TIMP-1 düzeyleri tüm gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı derecede farklıydı ($P<0.001$). Makrovasküler komplikasyonu olan grupta TIMP-1 düzeyi diğer gruplardan daha düşüktü. Kontrol grubu TIMP-1 düzeyleri hasta gruplarından yüksek tespit edildi.

Elde edilen veriler MMP-9 ve TIMP-1 parametrelerinin rutin olarak tanıda kullanılabilmesi, buna karşılık tedaviye cevabın takibinde yararı olup olmadığının belirlenmesi için yeni çalışmalara gerek vardır. MMP/TIMP oranlarını kullanılması sadece MMP-9 kullanımından daha tanısaldır. Küçük yoğun LDL-C düzeyleri diyabetli hastalarda artmaktadır ve ateroskleroza bağlı komplikasyonların ağırlaşmasını ve hızlanmasını sağlamaktadır. Diyabet teşhisi alan hastaların sdLDL düzeyleri açısından takibi ve etkili tedavisi makrovasküler komplikasyon gelişimini

azaltacaktır. Kesin veriler elde etmek için yeni diyabet tanısı almış veya tedavi görmeyen hastalardan oluşturulan gruplarla çalışma yapılmalıdır.

7.KAYNAKLAR

1. Garber A.J. Diabetes Mellitus. Internal Medicine. Editor: Stein J. H., Mosby Year Book, St.Louis. 1994; p: 1391 – 1392.
2. Ross R. Atherosclerosis and inflammatory disease. N Engl J Med.1999; 340: 115-126.
3. Tai ES, Goh SY, Lee JJM, Wong M, et al. Lowering the criterion for impaired fasting glucose: Impact on disease prevalence and associated risk of diabetes and ischemic heart disease. Diabetes Care 2004; 27(7): 1728
4. Satman I, Yılmaz T, Şengül A, Salman S, Salman F, Uygur S, Bastar I, Tutuncu Y, Sargin M, Dinccag N, Karsidag K, Kalaca S, Ozcan C, King H. Population-based study of diabetes and risk characteristics in Turkey: results of the Turkish diabetes epidemiology study (TURDEP). Diabetes Care 2002; 25: 1551-1556.
5. Gu K, Cowie C, Haris M. Diabetes and decline in heart disease mortality in US adults. JAMA .1999; 281: 1291-1297.
6. Payzin S. Diyabetik dislipidemide statinlerin yeri. Türkiye Klinikleri Kard. 2004; s. 9-12
7. King H, Aubert AU, Herman WH. Global burden of diabetes, 1995-2025: prevalence, numerical estimates, and projections. Diabetes Care. 1998;21, 1414-1431.

8. Haffner SM, Lehto S, Ronnema T, Pyorala K, Laakso M. Mortality from coronary heart disease in subjects with type 2 diabetes and in nondiabetic subjects with and without prior myocardial infarction. *N Engl J Med.* 1998; 339: 229-234.
9. Altuntas Y, Diabetes Mellitus'un Tanımı, Tanısı ve Sınıflanması, Her Yönüyle Diabetes Mellitus, Ed: Yenigün M, Altuntas Y, Nobel Tıp Kitabevleri; 2001;s. 51-62
10. Kaplan LA, Pesce AJ, Kamierczak SC. *Clinical Chemistry.* Mosby Publishers, Fourth Edition, Chapter 33, 2003.
11. Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. Report of the Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes. *Diabetes Care.* 2003 Jan; 26 Suppl 1. p.5-20.
12. Ford ES. Leukocyte count, erythrocyte sedimentation rate and diabetes incidence in a national sample of U.S. adults. *Am J Epidemiol.* 2002; 155:57-64.
13. Crook MA, Tutt P, Pickup JC. Elevated serum sialic acid concentration in NIDDM and its relationship to blood pressure and retinopathy. *Diabetes Care* .1993; 16:57-60
14. Deedwania , D . Hunninghake , H . Bays , P . Jones , V . Cain , J . Blasetto Effects of ,atorvastatin , simvastatin and on atherogenic dyslipidemia in patients with characteristics of the metabolic syndrome . *Am J Cardiol* , 2005; Volume 95 ;360 - 366

15. Fleal MK. Blood, lipid levels in type 2 diabetes: What are the effect of diet? Diabetes Care 1999; 22: 1605-1606
16. Willa AH, Moore L, Bryer-Ash M. Contemporary Diagnosis of and management of type 2 diabetes. Çev. Ed: Karpuz H, Handbooks in Health Care Co, Avrupa Tıp Kitapçılık, 2004;s.36-72
17. M. Rizzo and K. Berneis Low-density lipoprotein size and cardiovascular risk assessment From the 1Department of Clinical Medicine and Emerging Diseases, University of Palermo, Italy, and Department of Endocrinology and Diabetology, University Hospital Zurich, Switzerland Q J Med 2006; 99:1–14
18. Stratton MI, Adler IA, Neil WA, Mattheus ND, Manley ES, Cull AC, Hadden D, Turner CR, Rholman R on behalf of the UK Prospective Diabete Group Study. Association of glycemia macrovascular and microvascular complications of type 2 diabetes (UKPDS35). BMJ 2000; 321: 405-412
19. Beckman JA, Creager MA, Libby P. Diabetes and atherosclerosis epidemiology, pathology and management. JAMA 2002; 287: 2570- 2581
20. Yenigün M. Kardiyovasüler Diyabet. Her Yönüyle Diabetes Mellitus. Nobel Tıp Kitabevleri 2001;s. 639-697
21. Miettinen H, Lehto S, Salomaa VV. Impact of diabetes on mortality after the first myocardial infarction. Diabetes Care 1998; 21: 69-75

22. Haffner SM, Lehto S, Ronnema T, et al. Mortality from coronary disease in subject with type 2 diabetes and in nondiabetic subjects with or without prior myocardial infarction. *N Engl J Med* 1998; 339: 229-234
23. Fox CS, Sullivan L, Agostino RB, Wilson PWF. The significant effect of diabetesduration on coronary heart disease mortality. *Diabetes Care* 2004; 27: 704-708
24. Wackers F, Young LH, Inzucci SH, Chun DA, et al. Detection of silent myocardial ishemia is asytmomatic diabetic subjects. The DIAD Study. *Diabetes Care* 2004; 27: 1954-1961
25. Gök H. Endokrin Hastalıklar ve Kalp. Klinik Kardiyoloji, genişletilmiş 2. baskı. Nobel Tıp Kitabevleri 2002;s. 745-760
26. Bjornholt VJ, Erikksen G, Aasar E, Sandvik L, et al. Fasting blood glucose: An underestimated risk factor for cardiovascular death. *Diabetes Care* 1999; 22: 45-50
27. Countinho M, Gerstein HC, Wang Y, Yusuf S. The relationship between glucose and incident cardiovascular events: A metaregression analysis of published data from 20 studies of 95; 738 individuals followed for 12,4 years. *Diabetes Care* 1999; 2: 233-238
28. Gavin RJ. Pathophysiologic mechanism of postprandial hyperglycemia. *Am J Cardiol* 2001; 88: 32-36

29. Zimmermann BR. Postprandial hyperglycemia implications for practice. *Am J Cardiol* 2001; 88: 32-36
30. The DECODE Study Group. Glucose tolerance and mortality comparison of WHO and American Diabetes Association diagnostic criteria. *Lancet* 1999; 354: 617-621
31. Solomon GG. Reducing cardiovascular risk in type 2 diabetes. *N Engl J Med* 2003; 348: 457-459
32. Steinberg, D, Lewis, A. Oxidative modification of LDL and atherogenesis. *Circulation*. 1997; 95: 1062-1071.
33. Ravandi, A. Kuksis, A, Shaikh, N.A. Glycated phosphatidylethanolamine promotes macrophage uptake of low density lipoprotein and accumulation of cholesteryl esters and triacylglycerols. *J. Biol. Chem.* 1999; 274: 16494-16500.
34. Mesa, M.D. ,Buckley, R., Minihane, A.M. Yaqoob, P. Effects of oils rich in eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids on the oxidizability and thrombogenicity of low-density lipoprotein. *Atherosclerosis*. 2004; 175: 333-343.
35. Lu, Y.F., Lu, S. Influence of dietary fat saturation on lipid peroxidation of serum and low density lipoprotein in rats. *Nutr. Res.* 2002; 22:463-472.

36. Hevonoja, T. Pentikainen N, M.O. Hyvonen, M.T., Kovanen, P.T., Alakorpela, M. Structure of low density lipoprotein (LDL) particles: Basis for understanding molecular changes in modified LDL. *Biochim. Biophys. Acta.* 2000;1488:189-210
37. Griffin BA: Low-density lipoprotein subfractions in Dyslipidaemia (ed. DJ Betteridge) *Clin Endocrin Metab* 1995;9:687-703
38. Austin MA, King M-C, Vranizan KM, Krauss RM: Atherogenic lipoprotein phenotype: a proposed genetic marker for coronary artery disease risk. *Circulation* 1990;82:495-506
39. Austin MA, Breslow JL, Hennekens CH et al: Low density lipoprotein subclass patterns and risk of myocardial infarction *JAMA* 1988;260:1917-1921
40. Betteridge DJ, Morrel JM: *Clinicians guide to Lipids and Coronary Heart Disease* Chapman and Hall Medical, London 1998 ; p.3-20
41. Souza A., Line S.: The biology of matrix metalloproteinases. *FOB Rev.* 2002;Vol:10;1:1-6
42. Beaudoux J., Giral P., Bruckert E.: Matrix metalloproteinases, inflammation and atherosclerosis: therapeutic perspectives. *Clin Chem Lab Med.* 2004; 42(2):121-131

43. Michael S. Pepper: Role of the matrix metalloproteinase and plasminogen activator- Plasmin systems in angiogenesis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.*2001; 21:1104-1117
44. Stetler WG.: Matrix metalloproteinases in angiogenesis; a moving target for therapeutic intervention. *J Clin Invest.* 1999; 103:1237-1241
45. Smutzer G: Matrix metalloproteinases and their inhibitors play key roles in tissue remodelling and pathogenesis of metastatic and inflammatory diseases. *The Scientist.*2002;16(4):34-37
46. Stamenkovic I: Extracellular matrix remodelling: the role of matrix metalloproteinases. *J Pathol.* 2001; 200:448-464
47. Sternlicht MD., Werb Z.: How matrix metalloproteinases regulate cell behavior. *Annu Rev Cell Biol.* 2001; 17:463-516
48. Amano S., Akutsu N., Matsunaga Y., et al.; Importance of balance between extracellular matrix synthesis and degradation in basement membrane formation. *Exp Cell Res.* 2001; 271: 249-262,
49. Dollery CM, McEwan JR, Henney AM. Matrix metalloproteinases and cardiovascular disease. *Circ Res* 1995;77:863-8.
50. Mook OR, Frederiks WM, Van Noorden CJ. The role of gelatinases in colorectal cancer progression and metastasis. *Biochim Biophys Acta* 2004;1705: 69-89.

51. Loftus IM, Thompson MM. The role of matrix metalloproteinases in vascular disease. *Vasc Med* 2002;7: 117-33.
52. Cho A, Graves J, Reidy MA. Mitogen-activated protein kinases mediate matrix metalloproteinase-9 expression in vascular smooth muscle cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000;20:2527-32.
53. Zaltsman AB, Newby AC. Increased secretion of gelatinases A and B from the aortas of cholesterol fed rabbits: Relationship to lesion severity. *Atherosclerosis* 1997;130:61-70
54. Zempo N, Koyama N, Kenagy RD, Lea HJ, Clowes AW. Regulation of vascular smooth muscle cell migration and proliferation in vitro and in injured rat arteries by a synthetic matrix metalloproteinase inhibitor. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1996;16:28-33
55. Galis ZS, Khatri JJ. Matrix metalloproteinases in vascular remodeling and atherogenesis: The good, the bad, and the ugly. *Circ Res* 2002;90:251-62.
56. Godin D, Ivan E, Johnson C, Magid R, Galis ZS. Remodeling of carotid artery is associated with increased expression of matrix metalloproteinases in mouse blood flow cessation model. *Circulation* 2000;102:2861-6.
57. Carrell TW, Burnand KG, Wells GM, Clements JM, Smith A. Stromelysin-1 (matrix metalloproteinase-3) and tissue inhibitor of metalloproteinase-3 are overexpressed in the wall of abdominal aortic aneurysms. *Circulation* 2002; 105:477-82.

58. Halpert I, Sires UI, Roby JD, et al. Matrilysin is expressed by lipid-laden macrophages at sites of potential rupture in atherosclerotic lesions and localizes to areas of versican deposition, a proteoglycan substrate for the enzyme. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1996;93:9748-53.
59. Galis ZS, Sukhova GK, Lark MW, Libby P. Increased expression of matrix metalloproteinases and matrix degrading activity in vulnerable regions of human atherosclerotic plaques. *J Clin Invest* .1994;94: 2493-503.
60. Herman MP, Sukhova GK, Libby P, et al. Expression of neutrophil collagenase (matrix metalloproteinase-8) in human atheroma: A novel collagenolytic pathway suggested by transcriptional profiling. *Circulation* 2001;104:1899-904.
61. Aoudjit F, Potworowski EF, St-Pierre Y: Bi-directional induction of matrix metalloproteinase-9 and tissue inhibitor of matrix metalloproteinase-1 during T lymphoma/endothelial cell contact: implication of ICAM-1. *J Immunol*. 1998; 160:2967-2973
62. Balbin M, Fueyo A, Knauper V, Pendas AM, Lopez JM, Jimenez MG, Murphy G, Lopez-Otin C: Collagenase 2 (MMP-8) expression in murine tissue-remodeling processes. Analysis of its potential role in postpartum involution of uterus. *J Biol Chem*. 1998; 273:23959-23968
63. Basset P, Bellocq JP, Lefebvre O, Noel A, Chenard MP, Wolf C, Anglard P, Rio MC: Stromelysin-3: a paradigm for stroma-derived factors implicated in carcinoma progression. *Crit Rev Oncol Hematol*. 1997; 26:43-53,

64. Bode W, Maskos K: Structural basis of the matrix metalloproteinases and their physiological inhibitors, the tissue inhibitors of metalloproteinases. *Biol Chem.* 2003; 384:863-872
65. Visse R, Nagase H: Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases: structure, function, and biochemistry. *Circ Res.* 2003; 92:827-839
66. Cao Y: Tumor angiogenesis and therapy. *Biomed Pharmacother.* 2005; 59.p.340-334
67. Carmeliet P: Mechanisms of angiogenesis and arteiogenesis. *Nat Med.* 2000; 6:389-395,
68. Carmeliet P, Jain RK: Angiogenesis in cancer and other disease. *Nature.* 2000; 407:249-257
69. Carmeliet P: Angiogenesis in life, disease and medicine,2005.438:932-936,
70. Carmeliet P: Angiogenesis in health and disease. *Nat Med.* 2003; 9:653-660
71. Schachiner V, Britten MB, Zeiher AM. Prognostic impact of coronary vasodilator dysfunction on adverse long-term outcome of coronary heart disease. *Circulation* 2000; 101: 1899-1906

72. Hsueh WA, Lyon CJ, Quinones MJ, et al. Insulin resistance and endothelium. *Am J Med.* 2004; 117: 109-117.
73. Haffner SM, Lehto S, Rönnemaa T, Pyörälä K, Laakso M: Mortality from coronary heart disease in subjects with type 2 diabetes and in nondiabetic subjects with and without prior myocardial infarction. *N Engl J Med* 1998, 339:229–234.
74. Stein E. The lower the better? Reviewing the evidence for more aggressive cholesterol reduction and goal attainment. *Atherosclerosis* 2002 (Suppl):2;19-25.
75. Visse R, Nagase H: Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases: structure, function, and biochemistry. *Circ Res.* 2003; 92:827-839
76. Knopp RH, Frolich JJ. Efficacy and Safety of Fluvastatin in Patients with NIDDM and Hyperlipidemia: Preliminary Report. *Am J Cardiol.* 1994; 73: 39-41
77. Lye M, Valacio K, Recklas JP. Elderly patients with hypercholesterolemia: a double-binding study of the efficacy, safety and tolerability of fluvastatin. *Coroner Artery Dis.* 1998; 9:583-590
78. Erdoğan G, Güllü S, Erdoğan MF, Başkal N, Kamel N, Uysal AR. Influence of patient education on glycemic control in diabetic patients. *Turk J Endocrinol* 1998;2:101-104

79. Ersoy C, Tuncer E, Özdemir B, Ertürk E, İmamoğlu Ş, İnsülin Kullanan Tip 2 Diabetes Mellituslu Hastalarda Diyabet Eğitimi ve Metabolik Kontrol*Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Endokrinoloji ve Metabolizma Bilim Dalı, Bursa.Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi 32 (2) 43-47, 2006
80. Goldstein JB, Müller-Wieland D. Tip 2 Diyabet. (Çev. ed: Akman C), A. Martin Dunitz London and New York. 2004 1. baskı
81. Willa AH, Moore L, Bryer-Ash M. Contemporary Diagnosis of and management of type 2 diabetes. Çev. Ed: Karpuz H, Handbooks in Health Care Co, Avrupa Tıp Kitapçılık, 2004
82. American Diabetes Association. Dyslipidemia Management in Adults With Diabetes. Diabetes Care 2004 27: 68-71.
83. Haffner SM. Coronary heart disease in patient with diabetes. N Engl J Med 2000; 342: 1040-1042
84. Hanefield M, Temelkova-Kurktschiev T, Schaper F, Henkel E, Siegert G, Koehler C. Impaired fasting glucose is not a risk factor for atherosclerosis. Diabet Med 1999; 16: 212-218
85. Vegt F, Dekker JM, Ruhe HG, Stehouwer CD, et al. Hyperglycemia is associated with all-cause and cardiovascular mortality in the Hoorn population: The Hoorn Study. Diabetologia 1999; 42: 926-931

86. Favei AS, Braunwald EB, Isselbacher KJ, Wilson JD, Martin JM, Kasper DL, et al. Harrison's principles of Internal Medicine. In: Gingsberg HN, Goldberg IJ, eds. Disorders of Lipoprotein Metabolism. 14th ed. Mc Graw-Hill, 1998:2138-48.
87. Asahara T, Masuda H, Takahashi T, Kalka C, Pastore C, Silver M, Kearne M, Magner M, Isner JM: Bone marrow origin of endothelial progenitor cells responsible for postnatal vasculogenesis in physiological and pathological neovascularization. *Circ Res.* 1999; 85:221-228
88. Krauss MR. Lipids and lipoproteins in patients with type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2004; 27: 1496-1505
89. Kwiterovich PO jr. State-of-the-art update and review: Clinical trials of lipid lowering agents. *Am J Cardiol* 1998;82:3U-17U
90. NCEP Expert Panel on Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults: Executive Summary of the Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). *JAMA* 2001, 285:2486–2497.
91. Tomi-Pekka Tuomainen, Jukka T. Salonen, Timo Sorsa and Pirkko J. Pussinen Anita M. Tuomainen, Kristiina Nyysönen, Jari A. Laukkanen, Taina Tervahartiala, Serum Matrix Metalloproteinase-8 Concentrations Are Associated With Cardiovascular Outcome in Men .*Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2007;27;2722-2728

92. Inukai T, Yamamoto R, Suesugu M, Matsumoto S, Wkabayashi S, Inukai Y, Matsutomo R, Takebayashi K, Aso y. Small low-density lipoprotein and small low-density lipoprotein/total low-density lipoprotein are closely associated with intima-media thickness of the carotid artery in Type 2 diabetic patients. *J Diabetes Complications*. 2005 Sep-Oct;19(5):269-75.
93. Scott M. Grundy. Small LDL, Atherogenic Dyslipidemia, and the Metabolic Syndrome. *Circulation* 1997;95:1-4.
94. Li D., Liu L., Chen H., et al.: Lox-1 mediates oxidized low density lipoprotein-induced expression of matrix metalloproteinases in human coronary artery endothelial cells. *Circulation*. 2003;107:612-617
95. Beaudoux JL, Giral P, Bruckert E, Foglietti MJ, Chapman MJ. Matrix metalloproteinases, inflammation and atherosclerosis: Therapeutic perspectives. *Clin Chem Lab Med* 2004;42:121-31.
96. Blankenberg S, Rupprecht HJ, Poirier O, Bickel C, Smieja M, Hafner G, et al, and AtheroGene Investigators. Plasma concentrations and genetic variation of matrix metalloproteinase 9 and prognosis of patients with cardiovascular disease. *Circulation* 2003;107:1579-85.
97. Godin D, Ivan E, Johnson C, Magid R, Galis ZS. Remodeling of carotid artery is associated with increased expression of matrix metalloproteinases in mouse blood flow cessation model. *Circulation* 2000;102:2861-6.
98. Kuzuya M, Iguchi A. Role of matrix metalloproteinases in vascular remodeling. *J Atheroscler Thromb* 2003;10:275-82.

99. Jones CB, Sane DC, Herrington DM. Matrix metalloproteinases: A review of their structure and role in acute coronary syndrome. *Cardiovasc Res* 2003;59:812-23.
100. Lambert E, Dasse E, Haye B, Petitfrere E. TIMPs as multifacial proteins. *Crit Rev Oncol Hematol*. 2004;49:187-98
101. Nagase H, Woessner JF Jr. Matrix metalloproteinases. *JBiol Chem* 1999; 274:214914.
102. Jacob MP. Extracellular matrix remodeling and matrix metalloproteinases in the vascular wall during aging and in pathological conditions. *Biomed Pharmacother* 2003;57: 195-202
103. Jacob MP, Badier-Commander C, Fontaine V, Benazzoug Y, Feldman L, Michel, JB. Extracellular matrix remodeling in the vascular wall. *Pathol Biol*. 2001;49:326-32.
104. Zhang Xing-wei, GE Jun-bo, Yang Jian-min, Ge Lei, Wang Ning-fu, Gao Yan, Li Pei-zhang, Pan Hao, Tong Guo-xin, Zhou Liang, Ye Xian-hua and Xu Jian Relationship between hs-CRP, proMMP-1, TIMP-1 and coronary plaque morphology: intravascular ultrasound study *Chin Med J* 2006;119(20):1689-1694
105. J. Silence, D. Collen and H.R. Lijnen Reduced Atherosclerotic Plaque but Enhanced Aneurysm Formation in Mice With Inactivation of the Tissue Inhibitor of Metalloproteinase-1 (TIMP-1) *Gene Circ. Res.* 2002;90:897-903; originally published online Mar 28, 2002

106. Ellis, Extracellular proteolysis in the development and progression of atherosclerosis, *Biochem. Soc. Trans.* 2002; 30, 163–167
107. Loftus IM, Thompson MM. The role of matrix Metalloproteinases in vascular disease. *Vasc Med* 2002;7:117-33.
108. Axisa B, Loftus IM, Naylor AR, et al. Prospective, randomized, double-blind trial investigating the effect of doxycycline on matrix metalloproteinase expression within atherosclerotic carotid plaques. *Stroke* 2002;33:2858-64.
109. Peterson JT. Matrix metalloproteinase inhibitor development and there modeling of drug discovery. *Heart Fail Rev* 2004;9:63-79.