

**T.C.  
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI  
ENDOKRİNOLOJİ VE METABOLİZMA  
HASTALIKLARI BİLİM DALI**

Tez Yöneticisi  
Doç. Dr. Betül UĞUR ALTUN

**TİP 2 DİABETES MELLİTUSLU HASTALARDA AKUT  
VE DÜZENLİ EGZERSİZİN ENDOTELYAL  
DİSFONKSİYONUN BİYOKİMYASAL  
BELİRTEÇLERİNE OLAN ETKİSİ**

(Yandal Uzmanlık Tezi)

**Dr. Bengür TAŞKIRAN**

EDİRNE-2009

## **TEŐEKKÜR**

Biyoistatistik Ana Bilim Dalı öğretim üyesi Doç. Dr Necdet Süt'e, Fizyoloji Ana Bilim Dalı öğretim üyesi Yard. Doç. Dr. Arzu Vardar'a, Farmakoloji Ana Bilim Dalı öğretim üyesi Prof. Dr. Hakan Karadağ'a, İç Hastalıkları ve Kardiyoloji Ana Bilim Dalından çalışmaya katılan ve destek veren çalışma arkadaşlarıma, Sorumlu Hemşire Hülya Bozkurt başta olmak üzere tüm Endokrinoloji ve Romatoloji Bilim Dalı hemşirelerine, kan alma bölümünden Asuman Demir'e ve her aşamadaki desteğinden dolayı Dr. Hande Peynirci'ye sonsuz teşekkürler.

## İÇİNDEKİLER

<b>GİRİŞ VE AMAÇ.....</b>	<b>1</b>
<b>GENEL BİLGİLER.....</b>	<b>3</b>
<b>EGZERSİZ NEDİR.....</b>	<b>4</b>
<b>EGZERSİZ VE DİYABET.....</b>	<b>9</b>
<b>ATEROSKLEROZ VE ENDOTELYAL DİSFONKSİYON.....</b>	<b>10</b>
<b>GEREÇ VE YÖNTEMLER.....</b>	<b>15</b>
<b>BULGULAR.....</b>	<b>21</b>
<b>TARTIŞMA.....</b>	<b>41</b>
<b>SONUÇLAR.....</b>	<b>49</b>
<b>ÖZET.....</b>	<b>51</b>
<b>SUMMARY.....</b>	<b>53</b>
<b>KAYNAKLAR.....</b>	<b>55</b>
<b>EKLER</b>	

## SİMGE VE KISALTMALAR

<b>ADMA</b>	: Asimetrik dimetilarginin
<b>BAG</b>	: Bozulmuş açlık glukozu
<b>BGT</b>	: Bozulmuş glukoz toleransı
<b>DDAH</b>	: Dimethylarginine dimethylaminohydrolase
<b>DM</b>	: Diabetes mellitus
<b>ELISA</b>	: Enzyme linked immuno-sorbent assay
<b>HbA1c</b>	: Hemoglobin A1c
<b>HPLC</b>	: High performance liquid chromatography
<b>HR<sub>max</sub></b>	: Maximum heart rate
<b>HRR</b>	: Heart rate reserve
<b>kp</b>	: Kilopond
<b>kpm</b>	: Kilopond per minute
<b>KVH</b>	: Kardiyovasküler hastalık
<b>L-NMMA</b>	: NG-monometil-L-arginin
<b>MET</b>	: Metabolic equivalent
<b>NO</b>	: Nitric oxide
<b>NOS</b>	: Nitric oxide synthase
<b>OGTT</b>	: Oral glukoz tolerans testi
<b>rpm</b>	: Rates per minute
<b>SDMA</b>	: Simetrik dimetilarginin
<b>VO<sub>2max</sub></b>	: Maximum oxygen volume per time
<b>VO<sub>2R</sub></b>	: Volume of oxygen reserve per time
<b>VKİ</b>	: Vücut kitle indeksi

## GİRİŞ VE AMAÇ

Diabetes Mellitus (DM) makrovasküler ve mikrovasküler organ hasarlarıyla önemli sağlık yükü oluşturan bir endokrin hastalıktır. Prediyabet olarak tanımlanan bozulmuş açlık glukozu (BAG) ve bozulmuş glukoz toleransı (BGT) da toplumda yaygın görülür. DM’de ve BGT’de en sık ölüm nedeni kardiyovasküler hastalıktır (KVH) (1).

Tip 2 DM’nin patogeneğinde insülin direnci önemli bir rol oynar. Özellikle kilosu normalin üzerinde olan kişilerde insülin direnci belirgindir. Kiloyu ve insülin direncini, tıbbi beslenme tedavisi ve düzenli egzersiz ile azaltmak gerekir (2). Egzersizin şiddeti kişinin kardiyorespiratuvar dayanıklılık düzeyine göre belirlenir (3).

Kardiyovasküler hastalık, ateroskleroz ve koagülasyonda artış sonucu gelişir. Ateroskleroz temel olarak büyük damarların hastalığı olmakla birlikte mikrodolaşımda da fonksiyonel değişiklikler yapar. Arterlerde aterosklerotik değişiklikler oluşmadan önce KVH’nin erken belirteci olarak endotelial disfonksiyon görülür (4).

Endotelium, kan ve vasküler duvar düz kas tabakası arasındaki yerleşimi nedeniyle kritik öneme sahiptir. Endotelium, çok sayıda otokrin ve parakrin madde salgılayarak vasküler homeostazda anahtar rol oynayan metabolik olarak oldukça aktif bir organ sayılabilir.

Anti-aterojenik özelliği en kuvvetli olan madde, endotelium tarafından “nitric oxide synthase” (NOS) enzimi aracılığıyla üretilen “nitric oxide”dir (NO). İnsülin direncinde NOS aktivitesi azalır. Endojen bir NOS inhibitörü olan asimetrik dimetilargininin (ADMA) plazma düzeyleriyle insülin direnci arasında pozitif ilişkili bulunmuştur (5). Plazma ADMA düzeyleri ayrıca hiperkolesterolemi, ateroskleroz, hipertansiyon, kronik renal yetersizlik ve kronik kalp yetersizliği gibi pek çok durumda artar (6). Ancak ADMA’nın düzenli egzersizde gösterdiği

değişim, sadece Tip 1 DM'li hastalarda araştırılmıştır. Düzenli egzersiz esnasında azaldığı ancak program bırakıldıktan aylar sonra bu faydanın kaybolduğu izlenmiştir (7).

İlaç dışı Tip 2 DM tedavisinde önemli faktörlerden olan egzersiz, hem kilo kaybı aracılığıyla hem de bundan bağımsız olarak endotel fonksiyonunun belirteçlerini hemen egzersiz sonrasında ve bir egzersiz programını takiben uzun vadeli süreçte etkileyebilir. Günümüzde endotel fonksiyonuna ait yeni biyokimyasal belirteçler ortaya çıktıkça bunların rolü de araştırılmaktadır. ADMA, bu yeni belirteçler arasındadır. Tip 2 DM'li kişilerde ADMA düzeylerinin egzersizin sonrası ve bir aylık düzenli egzersiz programının ardından değişiklik gösterip göstermediği tam olarak bilinmemektedir. Ayrıca egzersizin kilodan bağımsız olarak ADMA düzeylerini nasıl etkilediği henüz araştırılmamıştır.

Bu çalışmanın amacı, kardiyovasküler hastalık sıklığının arttığı Tip 2 DM'li hastaların patogenezinde yer alan endotelial disfonksiyonun biyokimyasal belirteçlerinin egzersizle olan ilişkisini incelemektir.

## GENEL BİLGİLER

Diabetes Mellitus, 2000 yılında yaklaşık 170 milyon kişiyi etkileyen 2030'da bu rakamın iki katına ulaşması beklenen ve makrovasküler ve mikrovasküler organ hasarlarıyla önemli sağlık yükü oluşturan bir endokrin hastalıktır. Coğrafi bölge, kentsel-köy alan, yaş grubu ve cinsiyete göre farklılıklar olsa da genel olarak DM %6-8 oranında görülür ve bu oranın yaklaşık %90-95'inden Tip 2 DM sorumludur (8). Diyabetik hastaların yaklaşık yarısı hastalığından haberdar değildir. Günümüzde adeta bir epidemi halini alan Tip 2 DM sıklığı yaş, obezite ve fiziksel aktivite eksikliği ile birlikte artmaktadır (9).

Tip 2 DM tanısı en az 8 saatlik açlık sonrası açlık kan glukozunun  $\geq 126$  mg/dl olması ile veya suda eritilmiş 75 g anhidroz glukoz ile yapılan oral glukoz tolerans testinde (OGTT) 2. saat glukoz düzeyinin  $\geq 200$  mg/dl olması ile konur. Açlık kan glukozu 100-125 mg/dl ise BAG söz konusudur. OGTT'de 2. saat ölçümü 140-199 mg/dl ise BGT vardır. BAG ve BGT prediyabet başlığı altında tanımlanır (9). Amerika Birleşik Devletlerinde BAG prevalansı %26, BGT prevalansı %15'tir. BAG daha çok hepatik insülin direnciyle, BGT ise musküler insülin direnciyle karakterizedir. BGT daha çok kadınlarda görülür. Yaklaşık %25'i normal glukoz toleransına döner, %25'inde DM gelişir ve kalan %50'si ise prediyabet olarak devam eder.

Bozulmuş açlık glukozu ve BGT izole olabilecekleri gibi birlikte de bulunabilirler. Birlikte olduğunda DM gelişme riski, izole BAG veya izole BGT'ye göre yaklaşık iki kat daha yüksektir (10). DM'de en sık ölüm nedeni KVH'dir. KVH; koroner arter hastalığı (KAH), periferel damar hastalığı ve serebrovasküler hastalığı içerir.

Bozulmuş glukoz toleransı erişkinlerin %15-40'ında görülür. BAG ve BGT ateroskleroza hızlandırır (11). BGT olguları ister aşikar DM'ye ilerlesin ister ilerlemesin normal glukoz homeostazına sahip kişilere göre %40 daha fazla kardiyovasküler mortaliteye sahiptir (1). BGT'de kardiyovasküler mortalite riski BAG'dan daha fazladır (10). KAH dünyada halen en yaygın mortalite sebebidir (12).

Tip 2 DM'nin patogenezinde insülin direnci önemli bir rol oynar. Özellikle aşırı kilolu kişilerde insülin direnci belirgindir. Dünya Sağlık Örgütü, vücut kilosunun durumunu, kilonun metre cinsinden boyun karesine bölünmesiyle oluşan ve vücut kitle indeksi (VKİ) olarak adlandırılan oranlarla tanımlar (13). Buna göre VKİ 25-29 kg/m<sup>2</sup> olanlar kilolu ve VKİ ≥30 kg/m<sup>2</sup> olanlar obez olarak sınıflandırılır. Obezite de adeta bir epidemi halini almaktadır. Gelişmiş ülkelerde, örneğin ABD'de, 20 yaş üstü erişkinlerin yaklaşık %30'u obezdir; VKİ ≥25 kg/m<sup>2</sup> olanların oranı ise (%64) daha fazladır (14).

İnsülin direnci henüz aşikar DM gelişmeden bile hipertansiyon ve dislipidemi gibi KVH risk faktörlerine eşlik eder. Gıdanın kalori cinsinden alınımının kısıtlanması ve günlük 30 dakika fiziksel aktiviteyle dislipidemi, insülin direnci ve glisemi düzelir, DM riski azalır. Yine haftada en az 5 gün yapılan 30 dakikalık fiziksel egzersiz kardiyovasküler olay riskini azaltır (2). Dolayısıyla bu kısır döngüyü kırmak için, kiloyu diyet (tıbbi beslenme tedavisi) ve düzenli egzersizle azaltmak gereklidir. Fiziksel aktivitede ve kardiyovasküler dayanıklılıkta artış, koroner kalp hastalığına bağlı ölümlerde ve tüm nedenlere bağlı ölümlerde azalmayla ilişkili bulunmuştur (15).

### **EGZERSİZ NEDİR ?**

Fiziksel aktivite ve egzersiz sıklıkla birbirlerinin yerine kullanılabilen terimler olsa da aslında farklı kavramlardır. Fiziksel aktivite, istirahat enerji tüketiminden daha fazla enerji tüketimini gerektiren iskelet kaslarının kontraksiyonu tarafından oluşturulan egzersizi de kapsayan bedensel hareketlerdir. Egzersiz ise fiziksel dayanıklılığın bir veya daha fazla bileşenini muhafaza etmek veya pekiştirmek için yapılan planlı, yapılandırılmış ve tekrarlayıcı bedensel hareketlerden oluşan bir grup fiziksel aktivitedir.

Egzersiz ölçütü metabolik eşdeğer (MET) olarak ifade edilir. Bir MET, istirahatteki enerji tüketimine denk düşen yoğunluk birimidir. Üç MET fiziksel aktivite, hareket etmeden oturma esnasında harcanan enerjinin üç katı kadar enerji harcamaktır. MET-saat, yoğunluğun MET şeklinde hesaplandığı egzersiz hacminin saat cinsinden aktivite süresi ile çarpılması sonucu elde edilir.



### **Egzersiz Tipleri**

Egzersiz, tip açısından dayanıklılık (aerobik), kuvvet (rezistans) ve esneklik (fleksibilite) egzersizleri olarak üç ana gruba ayrılır. Yürüme, koşma, bisiklete binme, yüzme ve su aeroibiği dayanıklılık egzersizleri içinde yer alır. Büyük kas gruplarının ritmik, tekrarlayan ve aralıksız hareketlerle en az 10 dakika çalıştırılması dayanıklılık egzersizleri olarak tanımlanır. Kuvvet egzersizleri ise bir direnç yüküne karşı bir ağırlığı hareket ettirmek için kas gücünü kullanan aktivitelerdir. Ağırlık kaldırma veya ağırlık cihazları kullanılarak yapılan egzersizler kuvvet (rezistans) egzersizlerini oluşturur. Esneklik egzersizlerinde eklemlerde hareket açıklığını muhafaza etmek veya pekiştirmek için yapılan tipik olarak germe egzersizleridir.

### **Egzersiz Seansı Bileşenleri**

Egzersiz programı ısınma, dayanıklılık ve soğuma aşamalarından oluşur. Esneklik egzersizleri ısınma ve soğuma aşamalarında yapılabileceği gibi dayanıklılık egzersizinden farklı zamanda da yapılabilir. Kuvvet egzersizleri dayanıklılık egzersiziyle birlikte yapılabilir de genellikle ayrı olarak farklı günlerde yapılır. Isınma aşaması 5-10 dakika, dayanıklılık aşaması 20-60 dakika ve soğuma aşaması 5-10 dakika olmalıdır. Isınma ile kas-iskelet sistemi zedelenmeleri azalır. Ağır egzersizlerden önce yapılan ısınmanın ölümcül aritmilere ve ST segment depresyonuna bağlı ölümleri azalttığı da öne sürülmüştür. Dayanıklılık egzersizinde ulaşılması hedeflenen kalp hızının alt sınırına ulaşan progresif aerobik aktivite de ısınma olarak kabul edilebilir. Soğuma aşaması sayesinde kalp hızı ve kan basıncı istirahatteki düzeyine döner, venöz dönüş arttığı için egzersizden sonra hipotansiyon ve baş dönmesi olasılığı azalır, vücut ısısının dağılması kolaylaşır, laktik asit daha kolay uzaklaşır ve vücut egzersizden sonra plazma katekolaminlerinde oluşan artışın olumsuz etkileriyle mücadele eder. Katekolaminlerle mücadele özellikle kalp hastalığı buluna kişilerde ölümcül aritmilerin gelişimini azaltabilir. Bunu destekleyecek şekilde soğuma aşamasının ihmal edildiği durumlarda kardiyovasküler komplikasyonların arttığı belirlenmiştir. Bu durum muhtemelen kalp hızının ve oksijen ihtiyacının hala yüksek olduğu egzersizden hemen sonraki dönemde venöz dönüşte geçici azalma sonucu koroner kan akımında azalma olmasına bağlıdır (15).

### **Egzersiz Prensipleri**

Bir organ veya dokunun fonksiyonunun pekişmesi için alıştığı yükten daha fazla yüke maruz kalması gerekir. Tekrarlayan maruziyet sonucunda doku veya organın fonksiyonu gelişir. Bir egzersiz reçete edilirken egzersizin süresi, şiddeti ve sıklığı belirleyicidir. Bu üçlü

arasındaki etkileşim sonucunda doku veya organın uyum sağlayacağı birikici yük ortaya çıkar (15).

Fonksiyonu pekiştiren diğer bir unsur, egzersizin özgülüğüdür. Düşük-dirençli, sık tekrarlayan egzersizler aktif kaslarda mitokondri sayısında artış sonucunda kas gücünde oldukça hafif değişikliklere karşın kas dayanıklılığında artışa yol açar. Oysa ağır rezistans egzersizlerinde kas gücünde belirgin artışa karşılık kas dayanıklılığında artış çok az olur ya da hiç olmaz (15).

Egzersizin özgülüğüne bir başka örnek aynı maksimal oksijen tüketimi olarak bilinen “maximum oxygen volume per time” ( $VO_{2max}$ ) yüzdesinde ayarlanan farklı egzersiz modlarına verilen kardiyovasküler yanıtın farklı olmasıdır (15).

Maksimal oksijen tüketiminde en fazla artışı, büyük kas gruplarının ritmik ve aerobik olan aktivitelerden oluşan uzun dönemler halinde çalışması oluşturur. Yürüme, koşma, yüzme, bisiklete binme bu tip egzersizlere örnektir. Kişilerin adaptasyonu, ilgisi, becerisi ve klinik durumuna göre yapılacak egzersiz tipi seçilebilse de çoğu kişi için en kolay adapte olunan ve en kolay tolere edilen egzersiz yürüyüştür.

Kuvvet egzersizleri  $VO_{2max}$ 'ı arttırmada daha az etkindir; bu nedenle kardiyovasküler dayanıklılığı arttırmak için genellikle tavsiye edilen egzersiz tipi değildir. Ancak kas gücünü ve dayanıklılığını arttırmada, günlük aktivitelerin gerçekleştirilmesinde ve yağsız kitlenin muhafaza edilmesinde veya artmasında kuvvet egzersizleri faydalıdır.

### **Egzersiz Yoğunluğu**

Egzersiz yoğunluğu ve süresi bir egzersiz seansı sırasında harcanan toplam enerjiyi belirler ve harcanan enerjiyle ters orantılıdır. Egzersiz yoğunluğu “maximum heart rate”e ( $HR_{max}$ ), “volume of oxygen reserve per time”a ( $VO_2R$ ) veya “heart rate reserve”e (HRR) göre belirlenebilir.  $HR_{max}$ 'ın %55-90 olması,  $VO_2R$  veya HRR'nin %40-85 olması hedeflenir.

Oksijen alım rezervi ( $VO_2R$ ),  $VO_{2max}$ 'tan istirahattteki oksijen tüketiminin ( $VO_{2istihabat}$ ) çıkarılmasıyla elde edilir. Benzer şekilde HRR de  $HR_{max}$  ile istirahattteki kalp hızı arasındaki farktır. Özellikle dayanıklılığı düşük olan kişilerde HRR'ye göre hedef  $VO_{2max}$ 'ın hesaplandığı egzersiz reçetesini verirken  $VO_2R$ 'nin kullanılması daha doğru bir sonuç verir. Yinde de bir %  $HR_{max}$  veya % HRR değerini %  $VO_{2max}$ 'a çevirirken  $\pm 6$ 'lık bir hesap standart hatası vardır. Eğer ölçülen HR'den ziyade  $HR_{max}$  kullanılacak olursa bu tahmindeki hata, hesaplanan hedef HR'ye aktarılacaktır. Bir kişi egzersize başlarken bu durum göz önüne alınmalıdır.

Kardiyovasküler dayanıklılığın muhafazası veya artırılması için egzersiz yoğunluğunun geniş aralıkta olması kişinin dayanıklılığı ile bağlantılıdır. Dayanıklılığı az olan veya diğer bir deyişle kondisyonsuz bir kişide sadece %40-49 HRR ile veya %55-64  $HR_{max}$  ile kardiyovasküler dayanıklılıkta artış olur. Fiziksel olarak aktif olan bir kişide bu aralığın üst sınırına yakın hedef seçilmelidir. Bu durumda %70-85  $HR_{max}$  veya %60-80 HRR hedeflenmelidir.

Daha önce vurgulandığı gibi bu yoğunluktaki egzersiz uygun sıklıkta ve uygun süre yapılırsa kardiyovasküler dayanıklılık artar. Yüksek yoğunluktaki egzersiz programlarına uyum daha kötüdür ve ortopedik yaralanma riski daha yüksektir. Hedef kalp hızı tanımlanırken beta bloker ve non-dihidropiridin gibi kalp hızını etkileyen ilaçların kullanılıp kullanılmadığı önemlidir.

### **Egzersiz ve Kardiyovasküler Dayanıklılık**

Fiziksel dayanıklılığı belirleyen kardiyorespiratuvar dayanıklılık, kas dayanıklılık ve kas gücü ile esnekliktir (fleksibilite). Egzersizin şiddeti kişinin kardiyorespiratuvar dayanıklılık düzeyine göre belirlenir. Kardiyorespiratuvar dayanıklılık ya da diğer adıyla aerobik dayanıklılık, sürekli fiziksel aktivite esnasında dolaşım ve solunum sistemlerinin oksijen sağlama yeteneğidir. Kardiyorespiratuvar dayanıklılığı ölçmenin altın standardı, standart koşu bandı veya bisiklet ergometresinde yapılan egzersiz esnasında  $VO_{2max}$ 'ın ölçülmesidir. Standart koşu bandı veya bisiklet ergometresi protokollerinde indirekt kalorimetre kullanılmadan da kardiyorespiratuvar dayanıklılık dereceli maksimal egzersiz testiyle doğru şekilde hesaplanabilir. Orta yoğunluktaki aerobik egzersizde %40-60  $VO_{2max}$ 'a ulaşılırken ağır aerobik egzersiz için bu rakam %60'tan fazladır. Ölçümlerde  $VO_{2max}$ 'ın %40-60'ına ulaşıldığında maksimum kalp atım hızının %50-70'ine ulaşılmış demektir.  $VO_{2max}$ 'ın %60'tan fazla olması maksimum kalp atım hızının %70'inden daha fazlasına ulaşıldığını gösterir. Orta yoğunluktaki fiziksel aktivite 3-6 MET'e eşdeğerdir (15).

Musküler dayanıklılık, bir kasın ortaya çıkardığı güç miktarı (kas gücü) ve kasların yorulmaksızın çalışmaya devam etmesi (musküler dayanıklılık) anlamına gelir. Esneklik (fleksibilite), eklemlerde hareket açıklığı olarak tanımlanır.

### **Egzersiz ve Hormonal Kontrol**

Aerobik egzersiz sırasında yakıt tüketimi temel olarak nöroendokrin sistem tarafından kontrol edilir. Egzersiz sürekli ise insülin salınımı azalır ve glukagon, katekolamin ve kortizol artar. Amaç yakıt olarak kullanılacak glukozun elde edilebilirliğini arttırmaktır. Orta dereceli

egzersizde kastaki glukoz alımı ile endojen glukoz üretimi eşleşir. Hafif ve orta dereceli egzersizde endojen glukoz üretiminin uyarılmasında insülin ve glukagon önemli rol oynar. Glukagondaki artış glikojenolize ve glukoneogeneze neden olur. Glukagon ayrıca hepatik amino asit metabolizmasını ve yağ oksidasyonunu uyararak glukoneogenezin öncülerini temin eder ve bu teminatın gerçekleşmesi için gerekli enerjiyi sağlar. Tam bir glikojenolitik yanıt için egzersiz sırasında insülin salınımının azalması gereklidir. Aksine çok yoğun aerobik egzersizde ( $VO_{2max}$ 'ın  $>80\%$ 'i) katekolaminlerin rolü daha önemlidir. Bu durumda norepinefrin ve epinefrin 15 kat artarken endojen glukoz üretimi genç sağlıklı kişilerde 7 kat artar. Sonuçta yoğun egzersiz sırasında adacık hücreleri dışındaki nöroendokrin hormonların etkisini görmek için adacık klempı yapıldığında glukagonun insüline oranı artmadığı halde glukoz üretimi tıpkı klempsiz durumdaki kadar artar. Yoğun aerobik egzersizde glukozu arttıran glukagon değil katekolaminlerdir. Normal kişilerde çok yoğun egzersiz seansının hemen bitiminde plazma insülin düzeyi egzersiz sırasındaki düzeyin iki katına çıkar. Böylece bir saat içinde glisemi düzeyi başlangıçtaki düzeye gelir. Tip 1 DM'de endojen insülin olmadığından egzersizden sonra insülin artamaz ve çok yoğun egzersizden sonra saatler boyu süren hiperglisemi görülür. Hafif-orta düzeyde glukoz düzeyi yüksek olan Tip 2 DM'liler ise bozulmuş glukoz çıkımı nedeniyle egzersiz sırasında glukozda azalma yaşayabilir. Postprandiyal yapılan yoğun egzersizin glukoz ve insülin düzeylerini azaltma derecesi orta şiddetteki egzersizle aynıdır (15).

Orta düzeyde egzersizle yağ oksidasyonu yaklaşık 10 kat artar. Nedeni artan enerji tüketimiyle birlikte daha fazla yağ asidinin ulaşılabilir olmasıdır. Yağ asidindeki ulaşılabilirliği etkileyen ise lipolizdeki artış ve nonesterifiye yağ asitlerinin (NEFA) trigliseridlere reesterifikasyonunda azalmadır. İnsülin ve katekolaminler, adipoz dokudan akut NEFA salınımını düzenler. Egzersizin neden olduğu insülinde azalma önlenirse NEFA düzeylerindeki artış da önlenir. Egzersizle hem katekolaminler artar hem de adipositlerin  $\beta$  adrenerjik etkiye yanıt olarak lipolitik yanıt şeklindeki duyarlılığı artar. Sadece intraabdominal değil intramusküler adipositler de önemli bir enerji kaynağıdır. Obez Tip 2 DM'lilerde ve sağlıklı kişilerde egzersiz esnasındaki yağ metabolizması birbirinden farklıdır. Obez Tip 2 DM'lilerde plazma serbest yağ asitleri azalırken intramusküler trigliseridlerin kullanımı artar. Kilolu olmayan Tip 2 DM'lilerde ise egzersize karşı böyle bir adaptasyon yoktur. Egzersizle kastaki adenosin monofosfatın (AMP) artmasını algılayan AMP kinaz enzimi uyarılır ve sonucunda kas hücre yüzeyine doğru en önemli glukoz taşıyıcısı olan "glucose transporter-4" (GLUT4) translokasyonu artar. Böylece glukoz alımı artar. Ek olarak

kas kontraksiyonuyla birlikte kastaki NO sentezinin artması sonucu NO'nun aracılık ettiği glukoz alımında artış olur.

Egzersiz tamamlandıktan sonra bile glukoregölasyon üzerinde önemli etkileri olan çeşitli adaptasyonlara neden olur. Kasta glikojen depolarının yenilenmesi gerçekleşir. Bunu insülinin etkisinin devam etmesi yoluyla glukoz alımını ve glikojen sentazı arttırarak yapar. Benzer şekilde karaciğerde de egzersizden sonra glukoz alımı ve glikojen sentezi artar. Hem kas hem karaciğer egzersizden sonra insüline karşı daha duyarlı olur. Egzersizden sonra söz konusu organlara alınan glukozun büyük bir çoğunluğu oksidatif olmayan yoldan metabolize olur.

Sonuç olarak düzenli egzersizle pankreasın  $\beta$  hücrelerinden salınan bazal ve glukozla uyarılmış insülin düzeyleri azalır. Bunu iki yolla yapar: proinsülin "messenger" RNA'da (mRNA) azalma ve pankreasta glukoz algılanması için gereken glukokinazın mRNA'sında azalma.

Kronik egzersize metabolik adaptasyon egzersizin yoğunluğu, süresi, sıklığı ve biçimi gibi parametrelere ve hastalık varlığı, dayanıklılık ve genetik belirleyiciler gibi bireyin özelliklerine bağlıdır.

## **EGZERSİZ ve DİYABET**

Aerobik egzersizle hemoglobin A1c'de (HbA1c) düşme olduğu ve bu düşmenin kilo kaybından bağımsız olduğu bildirilmektedir (16).

Egzersizin glisemi kontrolü üzerindeki etkisi her ne kadar istatistiksel ve klinik olarak belirgin olsa da harcanan çabaya ve zamana göre ılımlı kabul edilebilir. Üstelik benzer düzeyde glisemi kontrolü tek bir oral hipoglisemik ajanla elde edilebilir. Ayrıca kan basıncı ve lipidler üzerindeki etkisi de ılımlıdır. Bununla birlikte aerobik egzersizi düzenli yapan diyabetik kişilerde kardiyovasküler ve genel mortalite oranları, glukozda düşmeyle açıklanamayacak şekilde düşmektedir.

Egzersizin kardiyovasküler sağlık üzerine olan olumlu etkilerine aracılık eden potansiyel mekanizmalar arasında sistemik inflamasyonda azalma, erken diyastolik dolumda düzelme (diyastolik disfonksiyonda azalma), endotelial vazodilatör fonksiyonda düzelme ve abdominal viseral yağ birikiminde azalma yer alır.

Egzersiz seansının insülin duyarlılığına olan etkisi 24-72 saat sürdüğünden, iki ardışık günden daha uzun süre aerobik egzersize ara verilmemesi önerilir. Düzenli egzersizin olumlu etkisi kilo kaybından bağımsızdır (2).

Hedeflenen amaca göre önerilen aerobik egzersizin miktarı ve yoğunluğu değişir. Glisemik kontrolü sağlarken kilonun muhafaza edildiği ve KVH riskinin azaldığı durum için en az haftada 150 dakika orta yoğunlukta ( $VO_{2max}$ 'ın %40-60'ı veya  $HR_{max}$ 'ın %50-70'i) aerobik egzersiz veya en az haftada 90 dakika şiddetli yoğunlukta ( $VO_{2max}$ 'ın >%60'ı veya  $HR_{max}$ 'ın >%70'i) aerobik egzersiz önerilir. Aerobik egzersizin haftada en az 3 gün, egzersiz seansları arasında ardışık iki günden fazla ara olmayacak şekilde yapılması önerilir. Delil düzeyi çok kuvvetlidir (delil düzeyi A). Haftada  $\geq 4$  saat orta veya şiddetli aerobik egzersiz ise daha düşük yoğunlukta egzersize göre KVH riskinde çok daha fazla azalmayla ilişkilidir. Delil düzeyi glisemik kontroldekine göre daha zayıf olmakla birlikte yine de kuvvetlidir (delil düzeyi B). Majör kilo kaybı olarak tanımlanan  $\geq 13.6$  kg kaybın uzun vadeli muhafazası için haftanın her günü orta-şiddetli yoğunlukta aerobik egzersiz gerekir. Delil düzeyi yine B sınıfıdır.

Otonom nöropatisi olanlarda sessiz iskemi, postüral hipotansiyon, kalp hızı cevabında küntleşme nedeniyle dikkatli olunmalıdır. Yine bu hastalarda susuzluk algılaması bozulduğundan dehidratasyona dikkat edilmeli; ayaklardaki terleme kusurlarının distrofik turnak değişiklikleri, periferik sensorimotor nöropati, eklem deformasyonları ile birlikte ayakta diyabetik yara gelişimini kolaylaştırabileceği akılda tutulmalıdır.

### **ATEROSKLEROZ ve ENDOTELYAL DİSFONKSİYON**

Kardiyovasküler hastalık, ateroskleroz ve koagülasyonda artış sonucu gelişir. Ateroskleroz temel olarak büyük damarların hastalığı olmakla birlikte mikrodolaşımda da fonksiyonel değişiklikler yapar. Arterlerde aterosklerotik değişiklikler oluşmadan önce KVH'nin erken belirteci olarak endotelyal disfonksiyon görülür. Yaşla birlikte endotelyal fonksiyon bozulur (4).

Ateroskleroza katkıda bulunan ana hücre tipleri endotelyal hücreler, vasküler düz kas hücreleri, fibroblastlar, lökositler (özellikle monosit ve nötrofiller) ve plateletlerdir (4). Ateroskleroz, endotelyumun hemen altında yer alan intimayı temel olarak tutar. Endotelyum, kan ve vasküler duvar düz kası arasındaki yerleşimi nedeniyle kritik öneme sahiptir. Endotelyum, metabolik olarak oldukça aktif bir organdır. Çok sayıda otokrin ve parakrin madde salgılayarak vasküler homeostazda anahtar rol oynar. Bu maddeler ya doğrudan endotel tarafından salgılanırlar ya da hastalık esnasında endotel yüzeyinden elde edilirler. Serum ya da plazmada "enzyme linked immuno-sorbent assay" (ELISA) yöntemiyle ölçülürler. Prokoagulan olan doku plazminojen aktivatör inhibitör I, doku plazminojen aktivatör, von Willebrand faktörü, faktör V; antikoagulan yüzeyi sağlayan trombomodulin

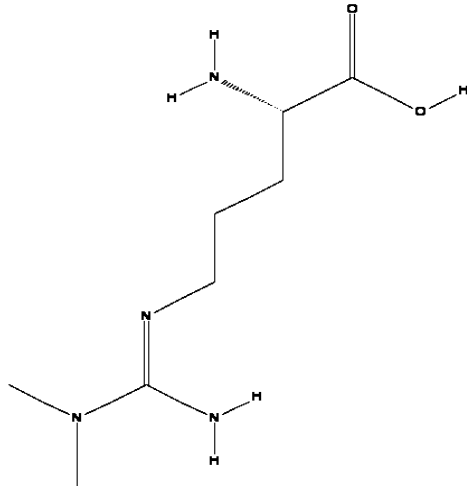
[“cluster of differentiation” (CD) 141], NO, CD 39, prostoglandin I<sub>2</sub>; NO'nun tam aksi yönünde faaliyet (vazokonstriksiyon, vasküler düz kasta çoğalma ve enflamasyon) yapan endotelin-1 ve tromboksan A<sub>2</sub>; E-selektin, P-selektin, vasküler adezyon molekülü-I, interselüler adezyon molekülü-I ve vasküler endotelial büyüme faktörü bu maddeler arasında yer alır (4).

### **“Nitric Oxide” ve Asimetrik Dimetilarginin**

Endotelden elde edilen maddeler arasında en anti-aterojenik olanı endotelyum tarafından NOS enzimi aracılığıyla bir yarı-esansiyel aminoasit olan L-argininden üretilen NO'dur. Dolaşımdaki yarılanma ömrü çok kısadır ve kararsızdır. Özellikle endotelyum kökenli NO hem altta bulunan vasküler düz kasın tonusunu ayarlar hem de monosit ve platelet adezyonu, düşük dansiteli lipoproteinlerin oksidasyonu, inflamatuvar sitokinlerin sentezi gibi çok sayıda proaterojenik süreci inhibe eder. Sonuçta önemli anti-aterojenik etkiler ortaya çıkar. Ayrıca NO insulin duyarlılığını artırır (15).

L-arginin, NO üretiminde substrat görevinin yanı sıra protein oluşumu, yara iyileşmesi, endokrin işlevler ve erektil işlevde de rol alır. Esansiyel olmama nedeni de novo olarak glutamin, glutamat ve pirolinden üretilmesidir. Ancak plazma düzeyinden esas sorumlu olan diyetle alınan L-arginindir. Sağlıklı kişilerde 40-100 µmol/L'dir (µM) (17).

Metillenmiş proteinin yıkılması sonucu oluşan ve bir L-arginin metaboliti olan ADMA (Şekil 1) veya diğer adıyla NG-NG dimetil arginin, ana endojen NOS inhibitörüdür (18). Moleküler ağırlığı 202.25 g.'dır. ADMA, “dimethylarginin dimethylaminohydrolase” enzimi (DDAH) tarafından parçalanır. Çalışmalarda ADMA ile birlikte L-arginin düzeyleri de ölçülür. ADMA serum düzeyleri, plazma düzeylerinden %60-70 daha yüksektir. ELISA ile ölçülen değerler, ölçümde altın standart olan yüksek performanslı likit kromatografi (HPLC) ile ölçülenlerden daha yüksektir (17). Son derlemelerde sağlıklı kişilerde normal ADMA düzeyleri 0.4-0.6 µM olarak verilse de literatürde 2.42 µM'ye ulaşan değerler de vardır (17). ADMA, yaşlanmayla birlikte artış gösterebilir (19).



**Şekil 1.** Asimetrik dimetilarginin bileşiğinin yapısı (20)

Asimetrik dimetilarginin dışında bir diğer dimetilarginin (DMA) bileşiği de simetrik dimetilarginindir (SDMA). ADMA NOS'u inhibe ederken SDMA, argininin hücre içine alımıyla yarışır, NOS'u inhibe etme gücü yoktur. SDMA'nın da tıpkı ADMA gibi vasküler hastalıkla ilişkili olduğuna dair yayınlar vardır (17). ADMA'ya göre SDMA renal yetersizlikle daha belirgin ilişki içindedir (17).

L-arginin/ADMA oranı, NO üretimini gösterir (21). Literatürde taranan çalışmalardan yapılan bir analizde sağlıklı erişkinlerde ortalama L-arginin/ADMA oranı 54.3-227 olarak bildirilmiştir (17).

Bir çalışmada, 1 µg/dakika hızında infüzyonla verilen ADMA'nın endotelyuma bağımlı akım yanıtını belirgin düzeyde bozduğunu gösterilmiştir (21). Diğer in vitro çalışmalarda da 1-10 µg/L (4-40 µM) düzeyindeki ADMA derişimlerinin NOS-1, 2 ve 3 aktivitesini belirgin düzeyde azalttığı bulunmuştur (22).

Plazma ADMA düzeyleri hiperkolesterolemi, ateroskleroz, hipertansiyon, kronik renal yetersizlik, kronik kalp yetersizliği ve sigara içimi gibi endotelyal disfonksiyonla ilişkili pek çok durumda artar (6,23). Ayrıca Tip 2 DM'de ADMA 2-3 kat artar (18,24). ADMA artışının belirlendiği bu klinik durumlarda L-arginin düzeyleri ise normal sınırlar içinde kalır [40-100 µmol/L (µM)]. Diğer bir deyişle bu olgularda L-arginin/ADMA oranı azalır (17). Adı geçen klinik durumlardaki ortalama L-arginin/ADMA oranı 17.6-194'tür.

Sağlıklı ve hasta kişilerde ADMA değerlerindeki çakışma nedeniyle L-arginin/ADMA oranının ölçülmesi tavsiye edilmektedir (17). Bu oran, NO üretimini gösterir (25). ADMA/SDMA oranı ise DDAH aktivitesini gösterir (24). L-arginin/SDMA oranı ise renal



yetersizliğin bir göstergesidir (26). L-arginin ile reabsorpsiyon için yarışan SDMA, renal yetersizlikteki değişen oranlardan sorumludur.

Diyabetik vasküler komplikasyonların patogeneğinde yer alan reaktif oksijen türlerinin yeni bir üyesi olarak düşünülen ADMA, NOS blokajından bağımsız olarak renin-anjiyotensin sistemini yukarıya regüle edebilir (27).

Anjiyotensin reseptör inhibitörleri (ACEİ), ADMA düzeylerini azaltabilir (18,27,28). Bu durum, kan basıncını düşürücü etkisinden bağımsızdır (18). Tip 2 DM'lilerde anjiyotensin reseptör blokerlerinin (ARB) ADMA üzerine etkisi konusunda çelişkili çalışmalar vardır (29,30). Yağdan zengin diyetin hem sağlıklı kişilerde hem tip 2 DM'lilerde endotelyum bağımlı vazodilatasyonu azalttığı belirlenmiştir (22). Yağdan zengin diyet Tip 2 DM'de ADMA düzeylerini ikiye katlayabilir (18,22). Yine tedavi almamış Tip 2 DM'de ADMA düzeyleri, hipertansiyonda ve hiperkolesterolemide eşleşmiş kontrollere göre iki katına çıkabilir (31). Hatta bu düzeylerin, kültüre edilmiş endotelial hücrelerde proinflamatuvar etki gösterdiği saptanmıştır (32,33).

Asimetrik dimetilargininde artış; endotelyuma bağımlı NO aracılı vasodilatasyonda bozulma, plateletlerin hiperagregabilitesi ve monosit adezyonunda artış ile ilişkilidir (34).

“Nitric oxide synthase”; insüline duyarlı dokular olan iskelet kası, karaciğer ve adipoz dokuya kan akımını artırır. İnsülin direncinde NOS aktivitesi azalır. NOS inhibe olduğunda iskelet kasına besin maddelerinin mikrovasküler yapıyla ulaşması bozulur ve insülinin uyardığı glukoz alımı körelir. Deneysel çalışmalarda NOS inhibitörü verildiğinde hipertansiyonun geliştiği ve insülin direncinin oluştuğu görülmüştür. Hatta normotansif ve diyabetik olmayan insanlarda, plazma ADMA düzeyleriyle insülin direnci arasında pozitif ilişkili bulunmuştur (5). İnsülin duyarlılaştırıcı ajanlar olan tiazolidinedionlar ve metformin plazma ADMA düzeylerini azaltır (21,31,35). Ancak bu katkının ne kadarının glisemik kontrole ait olduğu bilinmemektedir.

Diyabetik retinopatisi bulunan Tip 2 DM'lilerde ADMA düzeyleri yüksek bulunmuştur (27,36). Diyabetik retinopati ve nefropati sıklıkla birlikte bulunan mikrovasküler komplikasyonlar olduğu için bu durum nefropatiyle ilişkili olabilir. Özetle ADMA'nın ateroskleroza yol açan çok sayıda metabolik bozuklukla birliktelik gösteren Tip 2 DM'de de rolü vardır. Ancak ADMA'nın düzenli egzersizde gösterdiği değişim sadece Tip 1 DM'li hastalarda araştırılmıştır. Düzenli egzersiz esnasında azaldığı ancak program bırakıldıktan aylar sonra bu faydanın kaybolduğu izlenmiştir (7).

### **Asimetrik Dimetilarginin ve Egzersiz**

Egzersiz esnasında vasküler yatağın fonksiyonlarında değişiklikler olur. Bu değişikliklerden sorumlu sistemlerden birisi de NO'nun rol aldığı yolaklardır. Sağlıklı kişilerde orta yoğunlukta akut egzersizden sonra ön kol akımı yöntemi ve bir NOS inhibitörü olan NG-monometil-L-arginin (L-NMMA) kullanılarak dolaylı yoldan yapılan değerlendirmede NO'nun arttığı tespit edilmiştir (37). Sekiz haftalık şiddetli yoğunlukta egzersizin sağlıklı kişilerde NO'nun stabil son ürünü olan nitrit/nitrattaki artışa yol açtığı ve bu etkinin egzersiz bırakıldıktan 4 hafta sonra dahi devam ettiği, 8. haftada ise egzersizden önceki başlangıç düzeyine döndüğü belirlenmiştir (38).

“Nitric oxide” inhibitörü olan ADMA düzeyinde egzersizle olan değişim farklı hasta gruplarında araştırılmıştır. ADMA, düzenli egzersiz ile metabolik sendromlu kişilerde azalır (39). Egzersizle ADMA düzeyinde görülen azalma, kalp yetersizliği bulunan kişilerde elde edilememiştir (40). DM'ye bakıldığında ADMA'nın düzenli egzersizde gösterdiği değişim, sadece Tip 1 DM'li hastalarda araştırılmıştır. Düzenli egzersiz esnasında azaldığı ancak program bırakıldıktan aylar sonra bu faydanın kaybolduğu izlenmiştir (7).

Tip 2 DM tedavisi için önemli olan egzersiz, hem kilo kaybı aracılığıyla hem de bundan bağımsız olarak endotel fonksiyonunun belirteçlerini gerek hemen egzersiz sonrasında, gerek bir egzersiz programını takiben uzun vadeli süreçte etkileyebilir. Günümüzde endotel fonksiyonuna ait yeni biyokimyasal belirteçler ortaya çıktıkça bunların rolü de araştırılmaktadır. ADMA bu yeni belirteçler arasındadır. Tip 2 DM'li kişilerde ADMA düzeylerinin egzersizin hemen ardından ve düzenli egzersiz programının ardından değişiklik gösterip göstermediği ve kilodan bağımsız olarak egzersizin hangi düzeyde etkili olduğu henüz araştırılmamıştır.

Bu çalışmada amaç, kardiyovasküler hastalık sıklığının arttığı Tip 2 DM hastalarında ve diyabeti olmayan kontrol grubunda, endotelial disfonksiyonun biyokimyasal belirteçlerden ADMA'nın ve NO sentezi sistemine etkili diğer iki molekül olan SDMA ve L-argininin egzersizle olan ilişkisini incelemektir.

## GEREÇ VE YÖNTEMLER

### HASTALAR ve PROTOKOL

Çalışma protokolü için Trakya Üniversitesi Yerel Etik Kurulundan onay alındı; onay yazısı ekte sunulmaktadır (Ek 1). Katılımcılardan alınan bilgilendirilmiş onam form örneği de ekte sunulmaktadır (Ek 2).

Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Endokrinoloji ve Metabolizma Bilim Dalı'na başvuran kriterlere göre Tip 2 DM tanısı alan 36 kadın hasta (DM grubu) ve 44 sağlıklı kadından oluşan kontrol grubu (K grubu) çalışmaya dahil edildi (9). Tüm katılımcıların tıbbi öyküsü sorgulandı ve fizik muayenesi yapıldı. Çalışmaya dahil edilen tüm katılımcılar aşağıda belirtilen kriterleri karşılamaktaydı.

Sağlıklı kontrol grubunu, bilinen sistemik hastalığı (DM, karaciğer sirozu, kronik hepatit, kronik böbrek yetersizliği, hipo-/hipertiroidizm, hipertansiyon, romatolojik hastalıklar, malignensi) ve kronik ilaç kullanımı olmayan kadın gönüllüler oluşturdu. Bu kişilerin son bir yıl içinde yapılan üre, kreatinin, "alanine aminotransferase" (ALT), "aspartate aminotransferase" (AST) ve tiroid fonksiyon testleri normal sınırlar içerisindeydi. Fizik muayenelerinde özellik yoktu. Sağlıklı grupta DM tanısını dışlamak için 75 g glukozla OGTT yapıldı. Açlık glukozu  $\geq 100$  mg/dL olanlar ve/veya 2. saat ölçümünde glukozu  $\geq 140$  mg/dL olanlar grup dışı tutuldular. Ayrıca tansiyon ölçümünde sistolik kan basıncı 140 mmHg'nin üzerinde olanlar ile diyastolik kan basıncı 90 mmHg'nin üzerinde olanlar da çalışmaya dahil edilmedi.

Diyabetik grupta steroid, insülin, nebivolol ve nitrat kullananlar dışlandı. Antihipertansif kullananlar ve tansiyon ölçümünde sistolik kan basıncı  $\geq 140$  mmHg olanlar ile diastolik kan basıncı  $\geq 90$  mmHg olanlar hipertansif olarak kabul edildi. Kan basıncı

160/90 mmHg'nin üzerinde olanlar, proliferatif diyabetik retinopatisi olanlar ve son bir yıl içinde yapılmış 24 saatlik idrarda mikroalbuminürisi  $\geq 300$  mg/gün olanlar, kas-iskelet sistem hastalığı, periferik arter hastalığı bulguları (klodikasyo ve/veya periferik nabızların alınamaması), kronik renal hastalığı (24 saatlik idrarda kreatinin klirensi  $< 30$  ml/dakika) ya da karaciğer yetmezliği olanlar çalışmaya dahil edilmedi.

Sigara kullanımı ve premenopoz-postmenopoz durumu belirlendi. Son bir yıldır menstürasyon görmeyenler menopozda kabul edildi. Çalışmaya katılan tüm olguların kan basıncı değerleri, boy, kilo, bel çevresi ve kalça çevresi ölçüldü. VKİ değeri ( $\text{kg/m}^2$ ) ve bel-kalça oranları hesaplandı.

Serum üre, kreatinin, total kolesterol, yüksek dansiteli lipoprotein (HDL), Friedewald yöntemi kullanılarak hesaplanan düşük dansiteli lipoprotein (LDL) değerleri, kimyasal immün ölçüm yöntemiyle ölçülen insülin düzeyleri kaydedildi (41). İnsülin direnci, homeostatik model değerlendirme (HOMA-R) formülü  $\{[\text{açlık kan glukozu (mg/dL)} - \text{açlık insulini (mU/mL)}] / 405\}$  kullanılarak hesaplandı (42).

### **EGZERSİZ REÇETESİNİN HAZIRLANMASI ve EGZERSİZ PROGRAMI**

Her iki grup da son üç aydır düzenli egzersiz programına katılmamış kişilerden oluştu. DM grubundan 14 ve K grubundan 19 kişi Fizyoloji Anabilim Dalında planlanan 12 seanstan oluşan düzenli egzersiz programına (E+) alındı. Programa katılmayı kabul etmeyen kişilerin (E-) günlük aktiviteleri serbest bırakıldı. Programa düzenli olarak katılmayan kişiler çalışmadan çıkarıldı.

Katılımcıların egzersiz öncesi değerlendirmelerinde istirahat kalp hızı, kan basıncı düzeyi ve bioimpedans yöntemiyle (Tanita Model 300, Tokyo, Japonya) yağ yüzdesi belirlendi. Egzersiz yoğunluğunu belirlemek amacıyla  $\text{VO}_{2\text{max}}$  düzeyleri bisiklet ergometresinde Astrand Bisiklet Ergometre Testine alındı. Bu test yardımıyla kişilerin submaksimal düzeyde egzersiz yapmaları sağlandı ve  $\text{VO}_{2\text{max}}$  düzeyleri belirlendi. Test sırasında kişiler bisiklet ergometre pedalını beş dakika veya kalp atım sayısı arka arkaya iki dakika aynı sayıda veya iki kalp atım sayısı arasındaki fark en fazla dört atım oluncaya kadar çevirdi. Elde edilen değerler Astrand tablosunda incelenerek, oksijen tüketimi belirlendi. Katılımcıların fiziksel iş kapasitesinin düşük olması gözönüne alınarak, iş yükü 1 kilopond (kp) ve 50 dakika devirde (rpm) yük 300 kilopond metre (kpm) olarak belirlendi. Kırk yaş üzerindeki deneklerin kalp hızı 150 atım/dakikayı aşması durumunda teste devam edilmedi. Yük, kadınlarda 600 kpm'nin üzerine çıkarılmadı. Egzersiz testi, Fizyoloji Anabilim Dalı'nda özel ayrılmış 20 m<sup>2</sup>'lik bir bölüm içinde bağımsız, sıcaklık ve nem ayarı ölçülebilen,

elektrokardiyografi cihazı ve resüsitasyon ekipmanı mevcut olan spor fizyolojisi laboratuvarında Monark 894-E ergometre ve bağlantılı olduğu bilgisayar donanımı kullanılarak yapıldı.

Test sonrası kişilere dört haftalık egzersiz programı verildi. Programa, egzersiz yoğunluğu kişisel olarak belirlenen  $VO_{2max}$  düzeyinin %40'ı olacak şekilde, günde 40 dakika, 3 gün/hafta sıklıkta yürüyüş egzersizi olarak başlandı. Katılımcılar egzersiz dönemi süresince EKG monitörizasyonu olmaksızın takip edilerek egzersize uyum sağlayan kişilerde egzersiz yoğunluğu artırıldı. Bu nedenle bu çalışmada orta yoğunlukta egzersiz programının uygun olacağı düşünüldü. Çalışmada, egzersiz programına başlandıktan sonra, egzersiz yoğunluğu haftada bir yavaş yavaş (%10 kadar) artırılarak,  $VO_{2max}$  düzeyinin %60'ına ulaşılması hedeflendi (37).

### **EGZERSİZ TOLERANS TESTİ**

En sık kullanılan protokol olan Bruce protokolü uygulandı (43). Hastalar egzersiz kardiyograma bağlandı. Oniki derivasyonlu elektrokardiyogram izlemiyle sürekli olarak HR ve ST-T dalgası değişiklikleri izlendi. Aralıklı olarak elektrokardiyogram kaydı yapıldı. Teste başlarken ve her aşamada kan basıncı ölçüldü. Toplam 21 dakika süren test, her biri 3 dakika süren 7 aşamadan oluştu. Hastalar 1. aşamada 2.7 km/saat hızla %10 eğimde teste başladılar. Bu aşamanın enerji tüketimi 4.8 MET'e tekabül etmektedir. Her aşamada eğim ve hız artırıldı. Test bittikten sonra 15 dakika daha elektrokardiyogram izlemi yapılarak toparlanma evresi gözlemlendi. Egzersiz sırasında ulaşılan en yüksek kalp hızının egzersizin durdurulmasından sonraki 1 dakikadaki azalması olarak tanımlanan HRR, istirahatın 1. dakikasındaki kalp hızından  $HR_{tepe}$ 'nin çıkarılması ile hesaplandı. HRR'nin >12 atım/dakika olması normaldir. Kronotropik indeks (Kİ), ise şu şekilde hesaplandı:  $[(HR_{tepe}-HR_{istirahat})/(220-yaş-HR_{istirahat})]$ .

### **ASİMETRİK DİMETİLARGİNİN, SİMETRİK DİMETİLARGİNİN ve ARGİNİN DÜZEYİNİN ÖLÇÜMÜ**

Çalışma başlangıcında tüm katılımcılardan ADMA, SDMA ve L-arginin ölçümü için bir gecelik açlık sonrası sabah 08:30-09:00 da antekubital venden alınan kan örnekleri, etilen daimin tetra asetik asit (EDTA) içeren tüplere kondu. Düzenli egzersiz programına alınan kişilerde ilk egzersiz seansından sonraki 15 dakika içinde dinlenme fazında tekrar örnek alındı. Egzersiz programına göre son seanstan hemen sonraki 15 dakika içinde ölçüm tekrarlandı. Egzersiz yapmayan grupta da bir ayın sonunda örneklemeler tekrar yapıldı.

Böylece egzersiz yapanların verileri akut ve kronik egzersiz açısından diyabetik-diyabetik olmayanlar arasında karşılaştırıldı. Öte yandan egzersiz yapan grubun verileri egzersiz yapmayan grup verileriyle karşılaştırıldı. Örnekler 30 dakika içinde 5000 devirde 5 dakika santrifüj edildikten sonra süpernatant kısmı poliprolin tüplerde -80 °C’de saklandı.

Asimetrik dimetilarginin için Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı laboratuvarında HPLC yöntemi kullanılarak ölçüm yapıldı. ADMA ve OGTT ölçümleri Trakya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri bölümünce karşılandı. L-arginin ve SDMA, standartları ADMA kitinin bir alt grubu olarak mevcuttu.

### **Kullanılan “High Performance Liquid Chromatography” Yöntemi**

**1. Donanım:** ADMA düzeyleri Waters Alliance 2690 XE separation module ve Model 474 fluorescence dedektör ve Millennium 32 Software kullanılarak ölçüldü. Örnekler solid faz ekstraksiyonu (20 kolon kapasiteli vakum manifoldlu SPE, Waters) uygulandı.

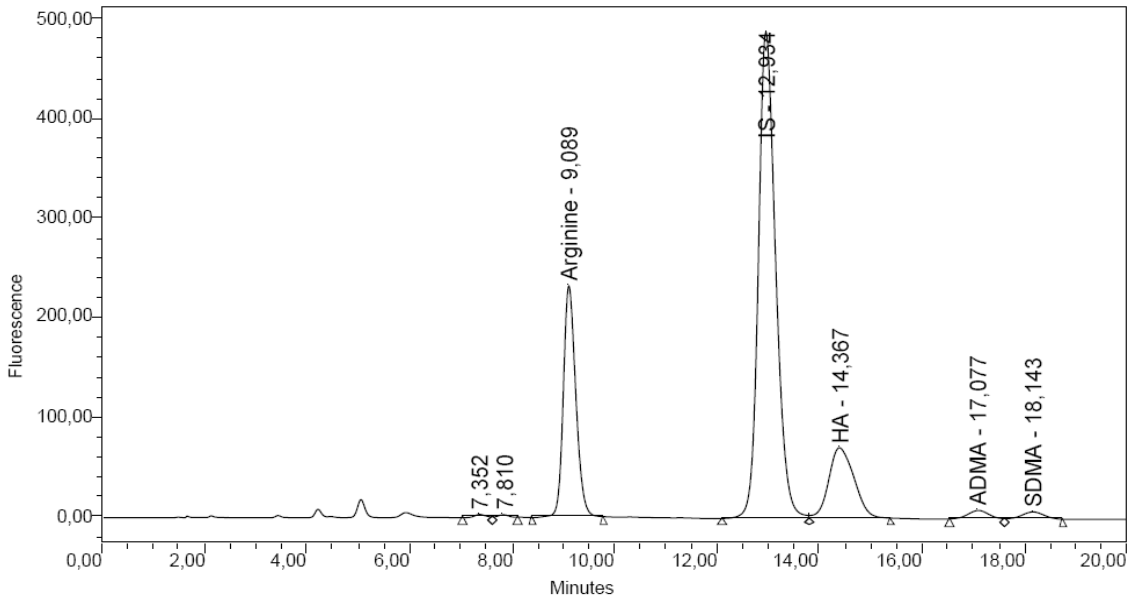
**2. Standart solüsyonlar:** Kalibrasyonda kullanılmak üzere 10 mM HCl içinde 100 µM L-arginin ve 10 µM homoarginin, ADMA ve SDMA içeren bir kombine *çalışma standardı* oluşturuldu. Gerek kalibratörlere gerek örnekler eklenmek üzere, 1mM’lık bir monometil arjinin (MMA) internal standart stok çözeltisi 10 mM HCl içinde hazırlandı ve bu çözelti PBS (10 mM sodyum fosfat, 140 mM NaCl, pH 7.0) ile seyreltilerek, 40 µM MMA içeren bir internal standart çalışma standardı hazırlandı.

**3. Derivatizasyon reageni:** On (10) mg *orto*-ftaldialdehid (OPA) 0.2 ml metanol içinde çözüldürülüp, 1.8 ml 200 mM potasyum borat tampon (pH 9.5) ve 10 µl 3-merkaptopropionik asit eklenerek bir stok çözelti elde edildi. Derivatizasyondan kısa bir süre önce stok çözelti borat tampon ile 5 kez seyreltilerek kullanıma hazır hale getirildi.

**4. Örneğin temizlenmesi ve derivatizasyon:** Serum örnekleri ve standartlara solid faz ekstraksiyonu (SPE) uygulandı. Rutin protokol şu şekildeydi: 0.2 ml örnek veya standart 0.1 ml internal standart ve 0.7 ml PBS ile karıştırıldı; ön koşullama yapılmaksızın Oasis MCX SPE kolonlarına uygulandı; tüm yıkama ve elution basamakları vakumlama ile gerçekleştirilerek, örneklerin uygulanmasından sonra kolonlar sırayla 0.1 ml, 100 mM HCl ve 1.0 ml metanol ile yıkandı; daha sonra analitler 3.0 ml’lik tüplere, 1.0 ml konsantre amonyak/su/metanol (10/40/50) ile elüe edildiler. Elde edilen elüent 60-80°C’de nitrojen ile

uçuruldu, ardından 0.1 ml su ile çözündürüldü ve 0.1 ml OPA reaktifi eklendi; karıştırıldı, viyallere aktarıldı ve cihaza kondu. Kromatografi örnek kompartmanı 4°C'ye ayarlandı.

**5. Kromatografi:** Kromatografi Symmetry C18 kolon (3.9x150 mm; 5 µm partikül büyüklüğü; 100 Å pore büyüklüğü) ve 3.9x20 mm Sentry Symmetry C18 guard kolon üzerinde alındı. Mobil faz A %8.7 asetonitril içeren 50 mM potasyum fosfat tampon (ph 6.5); mobil faz B ise asetonitril/su (50/50, v/v) idi. Ayırıştırma izokratik koşullarda, %100 mobil faz A ile, 1.1 ml/dak hız ve 30 °C kolon sıcaklığı değerlerinde yapıldı. Son analitin çıkışından sonra güçlü bir şekilde retansiyona uğrayan bileşikler güçlü solvent akımı (%50 B 20-22 dakikalar arası) ile elüe edildi; 22. ve 23. dakikalar arasında gradient başlangıç değerlerine döndürülerek kolon 7 dakika daha dengelenmeye bırakıldı; böylece bir örnek için çalışma süresi toplam 30 dakika oldu. Enjeksiyon hacmi 20 µl idi. Floresans eksitasyon ve emisyon dalgaboyları sırasıyla 340 ve 455 nm olarak ayarlandı. Elde edilen pikler, pik alanlarında göre değerlendirildi. Hesaplamalar, pik alanları, internal standardın pik alanına oranlanmak suretiyle yapıldı. Tek nokta kalibrasyon tekniği kullanıldı. Bir hastaya ait örnek kromatogram Şekil 2'de sunulmaktadır.



**Şekil 2.** Bir hastaya ait örnek kromatogram

### İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Değişkenlerin tanımlayıcı istatistikleri ve normal dağılıma uygunlukları tek örneklem Kolmogorov Smirnov testi ile incelendi. Klinik özellikler Fisher kesin testi ile karşılaştırıldı.

İki grup arasında farklılık araştırmada normal dağılım gösteren değişkenler için Student's t testi kullanıldı. Grupların kendi içerisinde başlangıç, ilk egzersiz seansı sonrası ve 1 aylık gezersiz sonrası ADMA, SDMA ve L-arginin değerlerini ve L-arginin/ADMA, L-arginin/SDMA ve ADMA/SDMA oranlarını karşılaştırmada Bonferroni oklu karşılaştırma testi ile incelendi. İki grup arasında tedavi öncesine göre tedavi sonrası ve 1 ay sonraki kontrol değerlerinin değişimlerini karşılaştırmada Kovaryans Analizi kullanıldı.

Çalışmanın sonuçları ortalama  $\pm$  standart sapma olarak ifade edildi.  $p<0,05$  değer i istatistiksel anlamlılık sınırı olarak kabul edildi. İstatistiksel analizler, Tıp Fakültesi Bioistatistik Anabilim Dalı'nda Statistica 7.0 (Installer Code: 31N6YUCV38) istatistiksel paket program kullanılarak değerlendirildi.



## **BULGULAR**

Egzersiz programına alınan DM'lilerden 9 kişi (bir hastada egzersiz tolerans testi pozitif bulunduğu için koroner anjiyografi önerildi ve bu kişiden sadece başlangıçta ve ilk egzersiz seansından sonra ADMA ölçümü yapıldı) ve K grubundan 5 kişi programı tamamlayamadı. Çalışma süresince eksitus, akut miyokard enfarktüsü, serebrovasküler olay ile ortopedik yaralanma gerçekleşmedi. Egzersiz tolerans testi yapılan DM grubu katılımcılarının hiçbiri testin Bruce protokolünün 3. evresinden sonraki evreleri tamamlayamadı. En sık semptom yorgunluk idi. Anjina ve hipotansiyon gelişen olmadı.

Katılımcıların klinik özellikleri ve test sonuçları Tablo 1'deki gibidir.

**Tablo 1. Çalışma gruplarının klinik ve laboratuvar özellikleri**

	K, E-		K, E+		DM, E-		DM, E+	
	N=25		N=19		N=22		N=14	
Yaş*	40.8±9.3		30.7±5.7		50.5±7.9		47.3±10.7	
Sigara	5		7		6		3	
Menopoz	7		1		15		8	
Bel* (cm)	95.8±10.9	96.05±11.7	88.5±11.5	87.7±10.7	99.5±8.5	100.3±10.0	109.0±10.8	112.6±12.0
BKO	0.90±0.05	0.91±0.05	0.90±0.07	0.90±0.06	0.92±0.07	0.93±0.07	0.95±0.07	0.95±0.06
VKİ* (kg/m <sup>2</sup> )	29.9±5.1	29.8±11.7	25.6±4.7	25.01±4.4	33.0±4.9	32.1±4.3	35.4±6.3	38.3±8.3
TSH (mIU/l)	1.90±1.05		2.13±1.32		2.01±1.2		2.25±1.76	
Total kolesterol (mg/dl)	192±42		175±28		199±45		186±38	
TG* (mg/dl)	115±41		107±46		142±85		127±45	
LDL (mg/dl)	119±40		105±28		128±38		110±30	
HDL* (mg/dl)	51±12		49±13		42±8		48±10	
VO <sub>2max</sub> * (ml/kg/dak)			34.4±8.9				17.4±3.4	
Yağsız kitle (kg)			48.5±5.1				47.1±5.9	
Yağ kitlesi* (%)			25.6±7.8				41.0±6.2	

**K:** Kontrol grubu, **E-:** Egzersiz yapmayan, **E+:** Egzersiz yapan, **DM:** Diabetes mellitus, **N:** Sayı, **BKO:** Bel/kalça oranı, **VKİ:** Vücut kitle indeksi, **TSH:** Tiroid stimulan hormon, **TG:** Trigliserid, **LDL:** "Low density lipoprotein", **HDL:** "High density lipoprotein", **VO<sub>2max</sub>:** Maksimal oksijen tüketimi.

\* p<0.05, DM grubu sağlıklı kontrolle karşılaştırıldığında.

Diyabetik komplikasyonlara bakıldığında E- grubunda (n=22) bir kişide (%4) ve E+ grubunda (n=14) 2 kişide (%14) nonproliferatif retinopati saptandı. Diyabetik nefropati varlığı mikroalbuminüri ile ortaya kondu; E- grubunda (n=22) 9 kişide (%40) ve E+ grubunda (n=14) 2 kişide (%14) mevcuttu. Hipertansiyon E- grubundan (n=22) 2 kişide (%9) ve E+ grubundan (n=14) 5 kişide (%35) saptandı. HbA1c düzeyleri, egzersiz tolerans testi sonuçları ve çalışma başlangıcındaki tedavi ile çalışmaya alındıktan hemen sonra klinik ve laboratuvar gerekliliklere göre tedavide yapılan değişiklikler Tablo 2’de sunulmaktadır.

**Tablo 2. Diyabet grubunun klinik ve laboratuvar özellikleri**

	DM, E-		DM, E+	
	N=22		N=14	
	Başlangıç	1. ay	Başlangıç	1. ay
NDRP		1		2
HT		2		5
SU	8	-	7	2
Metformin	10	-	7	8
Statin	3	-	5	1
Glitazon	1	-	1	-
Glinid	-	-	1	-
Fibrat	-	-	1	-
ACEI	-	-	-	-
ARB	1	-	5	-
HCTZ	-	-	4	-
Spirolakton	-	-	1	-
Furosemid	-	-	1	-
β-bloker	-	-	-	-
ASA	2	-	1	5
HOMAR	4.5±4.2	4.7±1.8	3,9±1,1	8,6±9,9
Ccr (ml/dak)	85.59±30.96		92.82±16.63	
Ccr grubu*	1:n=14, 2:n=5, 3:n=6		1:n=5, 2:n=6, 3:n=3	
MAU bulunanlar	9		2	
HbA1c (%)	7.58±1.53		7.67±1.18	
HRR**			40±23	
Kİ**			80±19	
EK (%)**			56±19	
MET**			6.7±1.7	

**DM:** Diabetes mellitus, **E-:** Egzersiz yapmayan, **E+:** Egzersiz yapan, **N:** Sayı, **NDRP:** Nonproliferatif diyabetik retinopati, **HT:** Hipertansiyon, **SU:** Sülfonilüre, **ACEI:** “Angiotensin converting enzyme inhibitors”, **ARB:** Anjiyotensin reseptör blokerleri, **HCTZ:** Hidroklorotiazid, **ASA:** Asetilsalisilik asit, **HOMAR:** “Homeostatic model assessment of resistance”, **Ccr:** Kreatinin klirensi, **MAU:** Mikroalbuminüri, **HbA1c:** Hemoglobin A1c, **HRR:** “Heart rate reserve”, **Kİ:** Kronotropik indeks, **EK:** Egzersiz kapasitesi, **MET:** “Metabolic equivalent”.  
\*Ccr grubu: 1=>90 ml/dak, 2=60-90 ml/dak, 3=30-60 ml/dak. \*\* Egzersiz tolerans testinde elde edilen ölçümler.

Asimetrik dimetilarginin, SDMA, L-arginin düzeyleri ile L-arginin/ADMA, L-arginin/SDMA ve ADMA/SDMA oranlarının ortalama ve standart sapma değerleri Tablo 3’te yer almaktadır.

**Tablo 3. Asimetrik dimetilarginin, simetrik dimetilarginin, L-arginin düzeyleri ile L-arginin/asimetrik dimetilarginin, L-arginin/simetrik dimetilarginin ve asimetrik dimetilarginin/simetrik dimetilarginin oranlarının ortalama ve standart sapma değerleri**

	GRUP			
	K, E-	DM, E-	K, E+	DM, E+
ADMA-0 (µM)	0.51±0.18	0.56±0.20	0.52±0.14	0.56±0.12
SDMA-0 (µM)	0.40±0.17	0.42±0.15	0.40±0.09	0.41±0.20
Arginin-0 (µM)	65.1±23.6	70.0±30.2	68.8±29.7	82.3±53.0
Arginin/ADMA-0	137.9±56.7	128.9±43.5	128.9±36.0	139.1±63.5
Arginin/SDMA-0	199.8±155.3	182.7±84.2	168.2±54.3	158.8±32.4
ADMA/SDMA-0	1.38±0.49	1.40±0.36	1.31±0.25	1.30±0.50
ADMA-1 (µM)	-	-	0.47±0.23	0.58±0.18
SDMA-1 (µM)	-	-	0.37±0.09	0.37±0.18
Arginin-1 (µM)	-	-	83.3±40.6	87.2±34.5
Arginin/ADMA-1	-	-	171.7±59.7	152.8±49.9
Arginin/SDMA-1	-	-	221.2±91.4	238.2±129.4
ADMA/SDMA-1	-	-	1.28±0.23	1.48±0.37
ADMA-2 (µM)	0.55±0.12	0.53±0.18	0.46±0.11	0.57±0.10
SDMA-2 (µM)	0.43±0.14	0.41±0.12	0.36±0.11	0.50±0.20
Arginin-2 (µM)	72.9±26.5	65.6±31.3	92.9±49.3	69.0±24.4
Arginin/ADMA-2	136.3±51.4(*)	122.1±49.6(t)	187.9±58.1(*,t, q)	119.0±35.8 (q)
Arginin/SDMA-2	181.0±70.9(**)	166.1±71.0	248.4±91.6 (**)	156.9±86.9
ADMA/SDMA-2	1.33±0.24	1.34±0.36	1.31±0.25	1.26±0.40

**DM:** Diabetes mellitus, **E-:** Egzersiz yapmayan, **E+:** Egzersiz yapan, **N:** Sayı, **ADMA:** Asimetrik dimetilarginin, **SDMA:** Simetrik dimetilarginin.

0: başlangıç, 1: ilk egzersiz sonrası, 2: 1. ay sonu. Başlangıç değerine göre farklılık: \*(p= 0.004), t( p=0.022), q (p=0.001). Başlangıç değerine göre farklılık: \*\* p=0.017

Asimetrik dimetilarginin ile yaş arasında bağıntı yoktu. SDMA ile yaş arasında pozitif bağıntı vardı (beta=0.226, p=0.044). Bu ilişkiler L-arginin/ADMA, L-arginin/SDMA ve ADMA/SDMA oranlarına yansımadı.

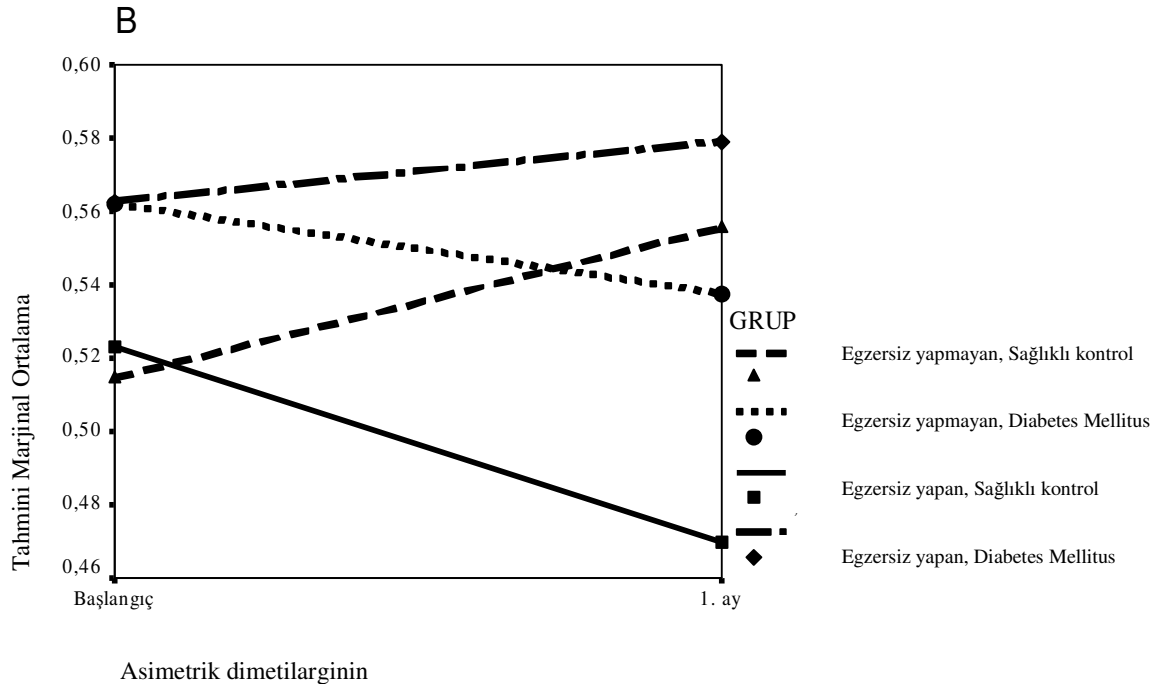
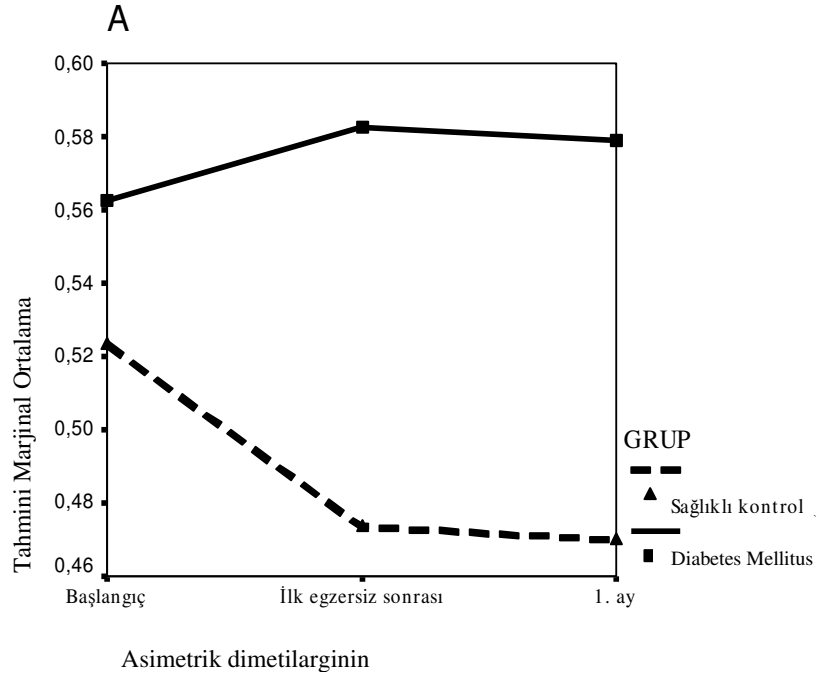
Sadece DM grubunun kreatinin klirensine bakıldı. Kreatinin klirensi ile SDMA (beta=-0.477, p=0.003) ve ADMA (beta=-0.482, p=0.003) düzeyleri arasında regresyon analiziyle negatif bağıntı bulundu. Bu bağıntı ADMA/SDMA oranına pozitif bağıntı olarak

yansıdı ( $\beta=0.348$ ) ( $p=0.037$ ). L-arginin ile kreatinin klirensi arasında bağıntı bulunmamasına rağmen L-arginin/SDMA oranı ile arasında pozitif bağıntı ( $\beta=-0.343$ ,  $p=0.04$ ) vardı. L-arginin/ADMA oranı ile arasında bağıntı gözlenmedi.

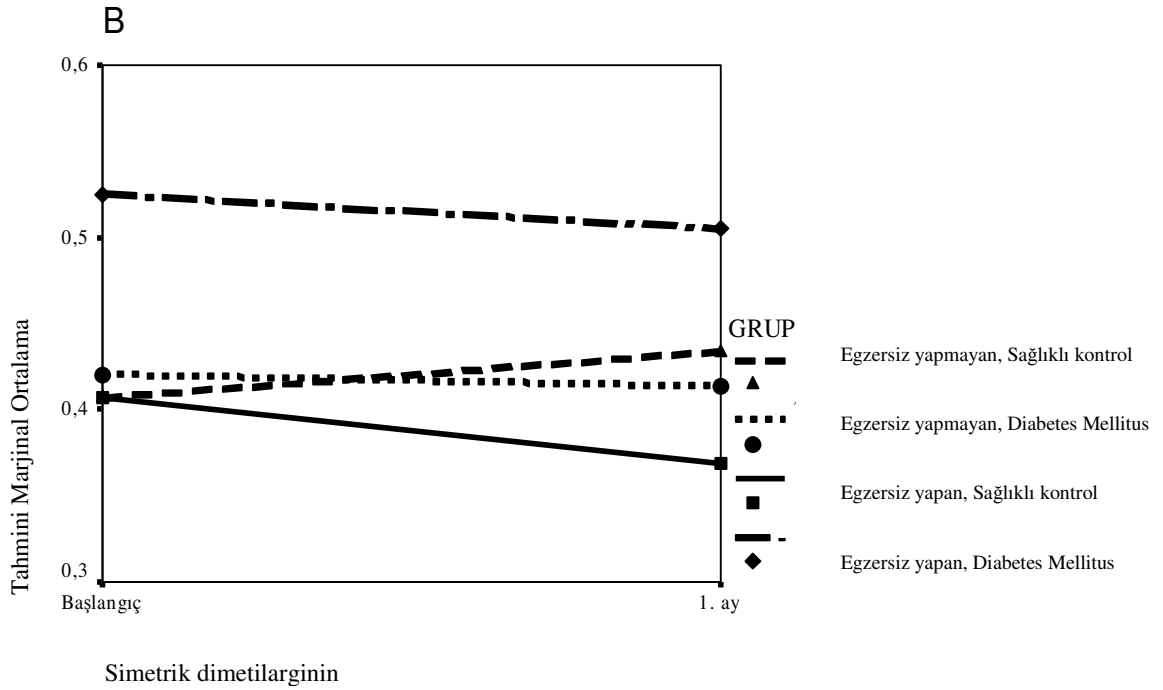
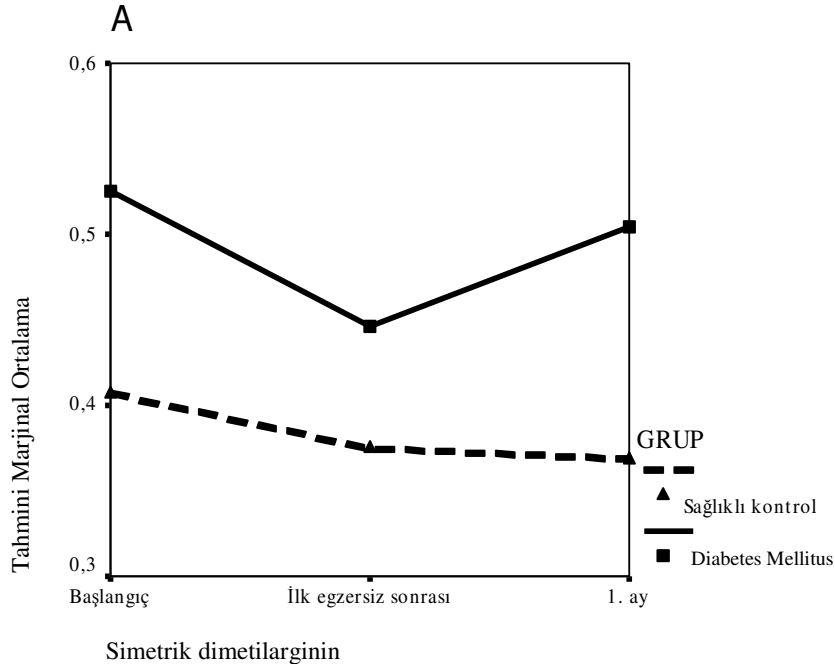
### **BAŞLANGIÇ ÖLÇÜMLERİ ve ORANLARI**

Diyabet grubu K ile karşılaştırıldığında çalışma başlangıcındaki ortalama ADMA, L-arginin ve SDMA düzeyleri ile L-arginin/ADMA, L-arginin/SDMA ve ADMA/SDMA oranları açısından istatistiksel fark göstermedi (Tablo 3).

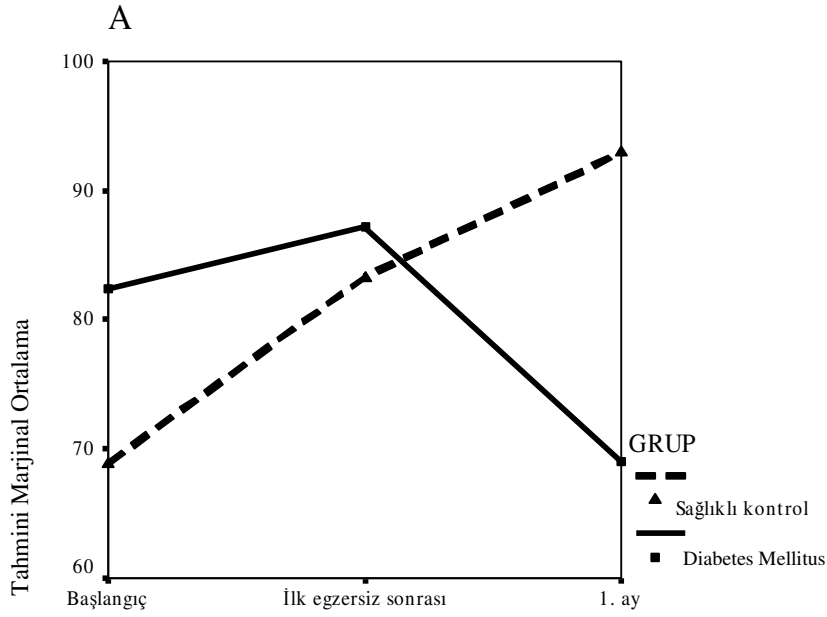
Yukarıda bahsi geçen ortalamaların çalışma başlangıcına göre gösterdiği değişim grafik olarak sırasıyla Şekil 3, 4, 5, 6, 7 ve 8'de gösterilmektedir.



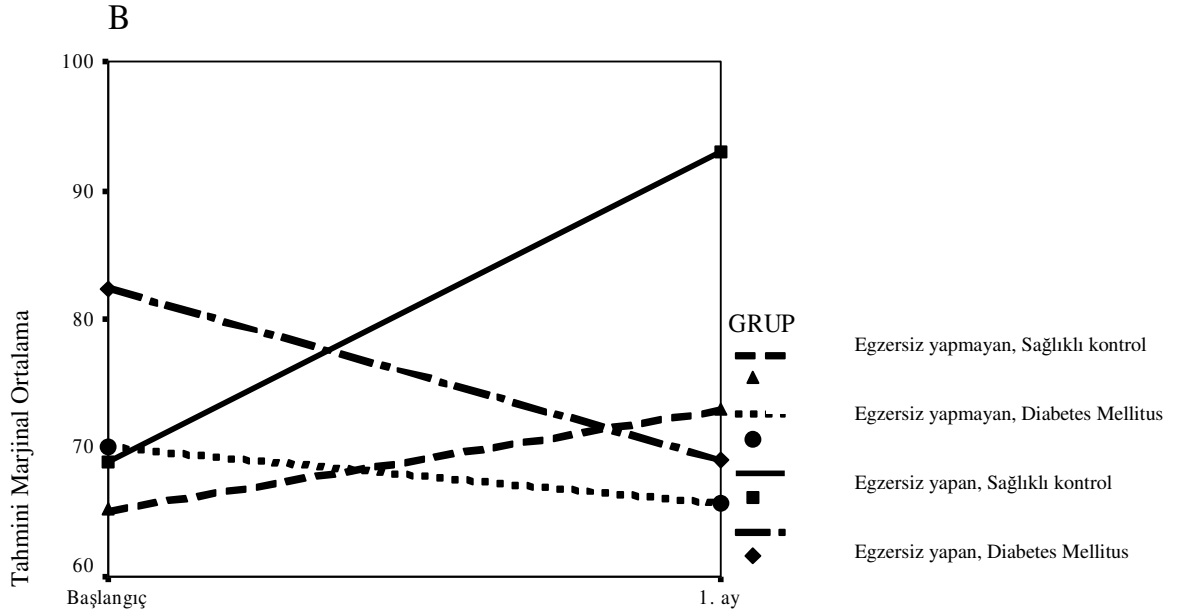
**Şekil 3.** Sağlıklı kontrol grubunda ve diabetes mellitus grubunda ölçülen plazma asimetrik dimetilarginin düzey ortalamalarının gösterildiği çizgi grafik: A-Çalışma başlangıcı, ilk egzersiz sonrası ve 1. ayın sonunda, B-Çalışma başlangıcında ve 1. ayın sonunda



**Şekil 4. Sağlıklı kontrol grubunda ve diabetes mellitus grubunda ölçülen plazma simetrik dimetilargininin düzey ortalamalarının gösterildiği çizgi grafik: A- Çalışma başlangıcı, ilk egzersiz sonrası ve 1. ay sonunda, B-Çalışma başlangıcında ve 1. ay sonunda**



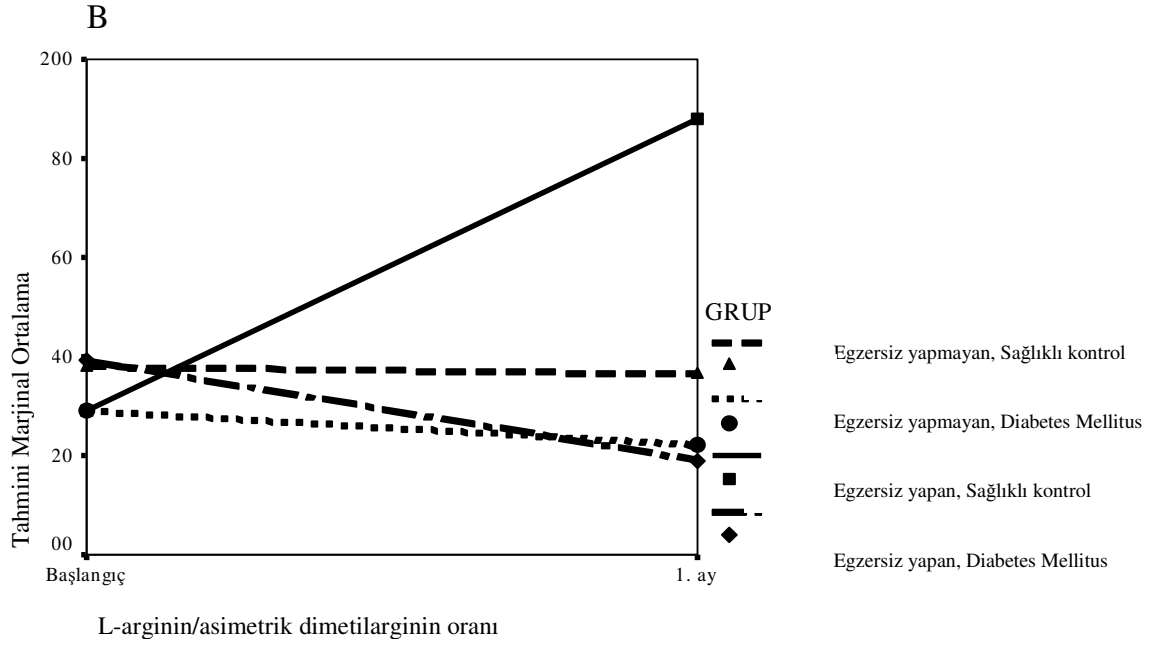
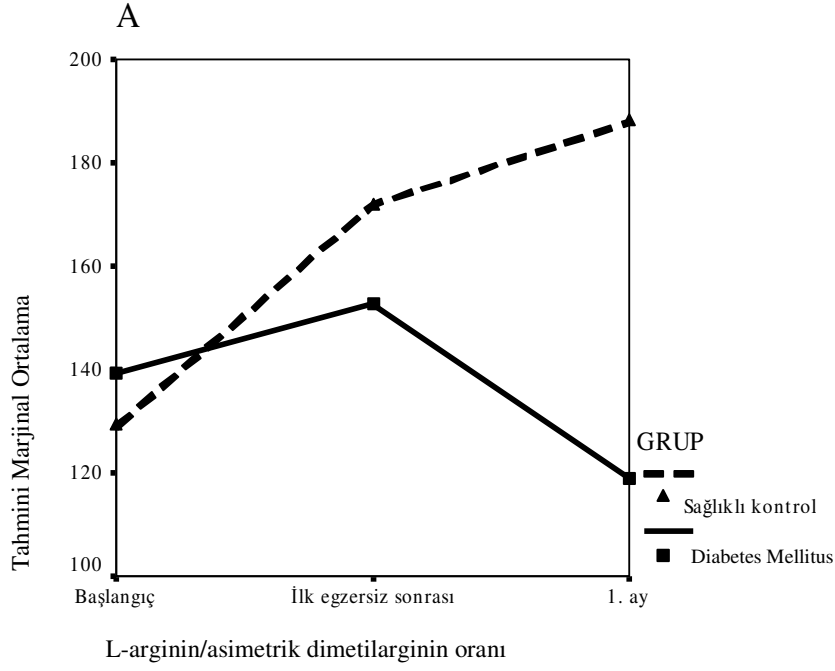
Arginin



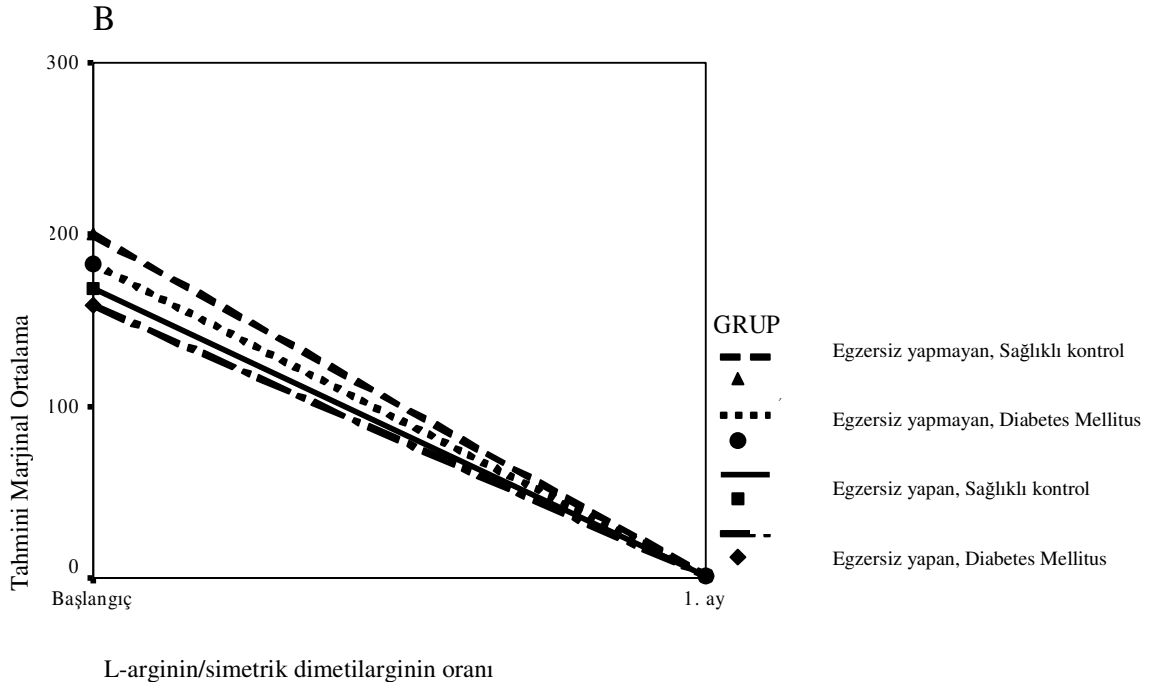
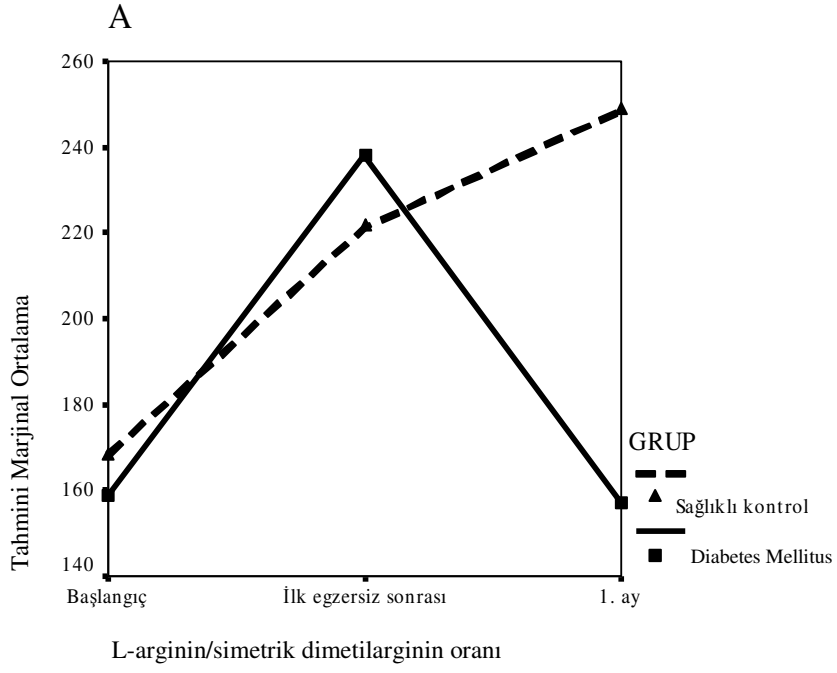
Arginin

**Şekil 5.** Sağlıklı kontrol grubunda ve diabetes mellitus grubunda ölçülen plazma L-arginin düzey ortalamalarının gösterildiği çizgi grafik: A-Çalışma başlangıcı, ilk egzersiz sonrası ve 1. ayın sonunda, B-Çalışma başlangıcında ve 1. ayın sonunda

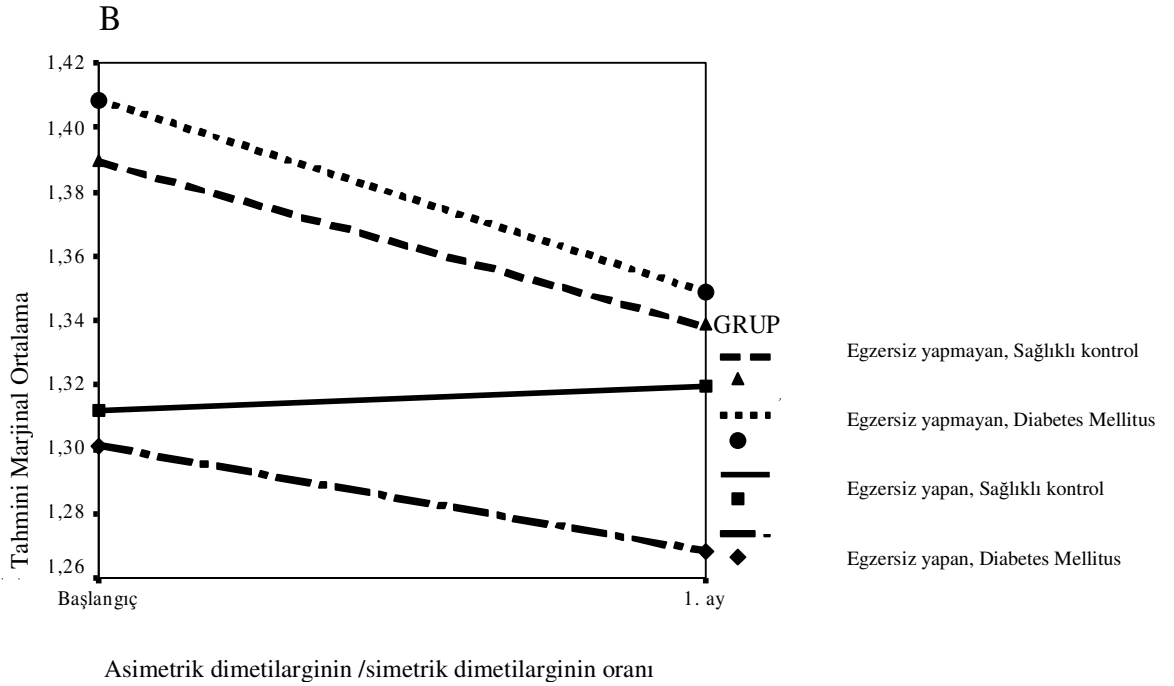
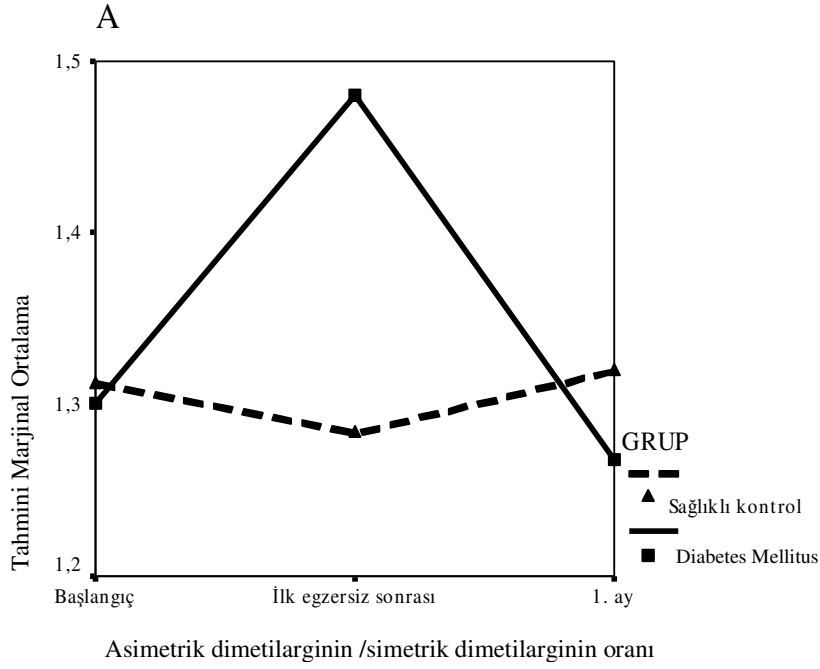




**Şekil 6. Sağlıklı kontrol grubunda ve diabetes mellitus grubunda ölçülen plazma L-arginin/asimetrik dimetilarginin düzey ortalamalarının gösterildiği çizgi grafik: A-Çalışma başlangıcı, ilk egzersiz sonrası ve 1. ay sonunda, B-Çalışma başlangıcında ve 1. ay sonunda**



**Şekil 7. Sağlıklı kontrol grubunda ve diabetes mellitus grubunda ölçülen plazma L-arginin/simetrik dimetilarginin düzey ortalamalarının gösterildiği çizgi grafik: A-Çalışma başlangıcı, ilk egzersiz sonrası ve 1. ay sonunda, B-Çalışma başlangıcında ve 1. ay sonunda**



**Şekil 8.** Sağlıklı kontrol grubunda ve diabetes mellitus grubunda ölçülen plazma asimetrik dimetilarginin/simetrik dimetilarginin düzey ortalamalarının gösterildiği çizgi grafik: A-Çalışma başlangıcı, ilk egzersiz sonrası ve 1. ayın sonunda, B-Çalışma başlangıcında ve 1. ayın sonunda

## **İLK EGZERSİZ SONRASI ÖLÇÜMLERİ ve ORANLARI**

Egzersiz yapan DM grubu; K, E+ ile karşılaştırıldığında ilk egzersizden hemen sonraki L-arginin/ADMA oranı (Şekil 6A) ile L-arginin/SDMA oranı (Şekil 7A) artış göstermekle birlikte bu artış istatistiksel olarak anlamlı farka ulaşmadı.

Asimetrik dimetilarginin (Şekil 3A), SDMA (Şekil 4A) ve L-arginin (Şekil 5A) düzeyleri ile ADMA/SDMA (Şekil 8A) oranları başlangıçtaki ilgili değerlere göre istatistiksel olarak anlamlı fark göstermedi.

## **BİRİNCİ AY SONUNDA ÖLÇÜMLER ve ORANLARI**

### **Başlangıca Göre**

Birinci ay sonunda E+ ve E- DM grubu E+ ve E- K ile karşılaştırıldığında ADMA (Şekil 3B), SDMA (Şekil 4B) ve L-arginin (Şekil 5B) düzeyleri başlangıçtaki ilgili değerlere göre istatistiksel olarak anlamlı fark göstermedi.

Birinci ay sonunda E+ K grubunda L-arginin/ADMA oranı (Şekil 6B) artış gösterirken, diğer 3 grupta bu oran yaklaşık olarak aynı düzeyde seyretti veya azaldı. E+ K grubu, diğer 3 grup ile karşılaştırıldığında başlangıçtaki orana göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde farklılık gösterdi [E- K, (p=0.004); E+ DM, (p=0.022); E+ DM (p=0.001)].

Birinci ay sonunda ADMA/SDMA oranı sadece E+ K grubunda artış gösterdi; diğer 3 grupta da azalma oldu. Ancak bu değişim, istatistiksel olarak anlamlı düzeye ulaşmadı.

Birinci ay sonunda L-arginin/SDMA oranı (Şekil 7B) tüm gruplarda azalma göstermekle birlikte sadece K grubunda E+ olanlar E- olanlara göre istatistiksel olarak anlamlı düzeye ulaştı (p=0.017).

### **İlk Egzersize Göre**

Egzersiz yapan DM grubu E+ K grubu ile karşılaştırıldığında bir aylık egzersiz sonunda elde edilen ADMA, SDMA ve L-arginin düzeyleri ilk egzersizin sonrasına göre istatistiksel olarak anlamlı fark göstermedi.

Egzersiz yapan DM grubunda L-arginin/ADMA, L-arginin/SDMA ve ADMA/SDMA oranları artarken ve E+ K grubunda oran azaldı. Bu değişim, istatistiksel olarak anlamlı düzeyde farklıydı (sırasıyla p=0.037 ve p=0.026).

Diyabet grubunda her bir hastaya ait ADMA, SDMA ve L-arginin ölçüm sonuçları sırasıyla Tablo 4, 5 ve 6'da sunulmaktadır. K grubuna ait olanlar sırasıyla Tablo 7, 8 ve 9'da yer almaktadır.

**Tablo 4. Tip 2 diabetes mellituslu grubun genel özellikleri ve asimetrik dimetilarginin sonuçları**

Sıra	Protokol no	İsim	Yaş	Egzersiz	ADMA Başlangıç	ADMA ES	ADMA 1. ay
1.	356671	NE	44	Var	0.431	0.509	-
2.	355084	NA	55	Var	0.341	0.348	-
3.	79940	NY	40	Var	0.549	0.364	-
4.	83992	SÇ	63	Var	0.518	0.620	-
5.	355750	VÇ	58	Var	0.586	0.468	-
6.	358536	ME	50	Var	0.800	0.629	-
7.	344541	ZS	42	Var	0.446	0.454	-
8.	230507	GM	26	Var	0.472	0.472	-
9.	336610	NK	47	Var	0.640	0.594	-
10.	141647	HK	60	Var	0.596	0.388	0.414
11.	286641	HB	33	Var	0.374	0.620	0.563
12.	74266	SC	45	Var	0.566	0.481	0.579
13.	344541	ZY	42	Var	0.568	0.555	0.643
14.	356175	SB	58	Var	0.710	0.868	0.697
15.	354229	NB	44	Yok	0.906	-	0.629
16.	337225	ŞK	71	Yok	0.302	-	0.360
17.	300326	NZ	44	Yok	0.530	-	0.319
18.	337709	ÜÇ	57	Yok	0.319	-	0.302
19.	73888	EE	54	Yok	0.503	-	0.378
20.	299796	FK	56	Yok	0.379	-	0.379
21.	315342	HE	46	Yok	0.387	-	0.421
22.	325132	AA	46	Yok	0.496	-	0.387
23.	71177	KH	56	Yok	0.436	-	0.466
24.	139944	SY	71	Yok	0.625	-	0.695
25.	211619	TG	38	Yok	0.307	-	0.509
26.	2278	HV	58	Yok	0.531	-	0.531
27.	175051	ŞÜ	41	Yok	0.461	-	0.571
28.	308041	ŞC	42	Yok	0.767	-	0.591
29.	79523	MG	56	Yok	0.628	-	0.628
30.	173526	NG	46	Yok	0.375	-	0.266

**ADMA:** Asimetrik dimetilarginin, **ES:** Egzersiz sonrası.

**Tablo 4 (Devam). Tip 2 diabetes mellituslu grubun genel özellikleri ve asimetrik dimetilarginin sonuçları**

31.	325938	ÜA	42	Yok	0.635	-	0.670
32.	124043	AP	59	Yok	0.671	-	0.671
33.	102315	HS	57	Yok	0.695	-	0.505
34.	214252	NG	51	Yok	0.518	-	0.740
35.	293430	HK	52	Yok	0.854	-	0.767
36.	233767	VK	53	Yok	1.041	-	1.035

**ADMA:** Asimetrik dimetilarginin, **ES:** Egzersiz sonrası.

**Tablo 5. Tip 2 diabetes mellituslu grubun genel özellikleri ve simetrik dimetilarginin sonuçları**

Sıra	Protokol no	İsim	Yaş	Egzersiz	SDMA Başlangıç	SDMA ES	SDMA 1. ay
1.	356671	NE	44	Var	0.273	0.342	-
2.	355084	NA	55	Var	0.217	0.263	-
3.	79940	NY	40	Var	0.377	0.272	-
4.	83992	SÇ	63	Var	0.330	0.395	-
5.	355750	VÇ	58	Var	0.490	0.378	-
6.	358536	ME	50	Var	0.531	0.418	-
7.	344541	ZS	42	Var	0.385	0.361	-
8.	230507	GM	26	Var	0.254	0.254	-
9.	336610	NK	47	Var	0.364	0.367	-
10.	141647	HK	60	Var	0.384	0.244	0.269
11.	286641	HB	33	Var	0.223	0.325	0.305
12.	74266	SC	45	Var	0.320	0.309	0.575
13.	344541	ZY	42	Var	0.852	0.381	0.691
14.	356175	SB	58	Var	0.845	0.974	0.684
15.	354229	NB	44	Yok	0.736	-	0.166
16.	337225	ŞK	71	Yok	0.175	-	0.175
17.	300326	NZ	44	Yok	0.286	-	0.642
18.	337709	ÜÇ	57	Yok	0.270	-	0.330
19.	73888	EE	54	Yok	0.287	-	0.348
20.	299796	FK	56	Yok	0.503	-	0.503
21.	315342	HE	46	Yok	0.401	-	0.401
22.	325132	AA	46	Yok	0.593	-	0.402
23.	71177	KH	56	Yok	0.474	-	0.437
24.	139944	SY	71	Yok	0.495	-	0.365
25.	211619	TG	38	Yok	0.199	-	0.355
26.	2278	HV	58	Yok	0.265	-	0.265
27.	175051	ŞÜ	41	Yok	0.315	-	0.433
28.	308041	ŞC	42	Yok	0.501	-	0.369
29.	79523	MG	56	Yok	0.505	-	0.553
30.	173526	NG	46	Yok	0.174	-	0.358

**SDMA:** Simetrik dimetilarginin, **ES:** Egzersiz sonrası.

**Tablo 5 (Devam). Tip 2 diabetes mellituslu grubun genel özellikleri ve simetrik dimetilarginin sonuçları**

31.	325938	ÜA	42	Yok	0.553	-	0.373
32.	124043	AP	59	Yok	0.495	-	0.485
33.	102315	HS	57	Yok	0.514	-	0.514
34.	214252	NG	51	Yok	0.373	-	0.475
35.	293430	HK	52	Yok	0.514	-	0.505
36.	233767	VK	53	Yok	0.632	-	0.632

**SDMA:** Simetrik dimetilarginin, **ES:** Egzersiz sonrası.



**Tablo 6. Tip 2 diabetes mellituslu grubun genel özellikleri ve L-arginin sonuçları**

Sıra	Protokol no	İsim	Yaş	Egzersiz	Arginin Başlangıç	Arginin ES	Arginin 1. ay
1.	356671	NE	44	Var	68.426	77.580	-
2.	355084	NA	55	Var	36.592	41.232	-
3.	79940	NY	40	Var	71.825	51.290	-
4.	83992	SÇ	63	Var	66.593	109.962	-
5.	355750	VÇ	58	Var	67.768	51.214	-
6.	358536	ME	50	Var	206.569	229.433	-
7.	344541	ZS	42	Var	69.027	58.772	-
8.	230507	GM	26	Var	96.451	96.451	-
9.	336610	NK	47	Var	110.909	100.250	-
10.	141647	HK	60	Var	60.209	64.613	41.177
11.	286641	HB	33	Var	38.277	143.774	91.605
12.	74266	SC	45	Var	49.311	56.162	78.223
13.	344541	ZY	42	Var	94.511	78.853	44.479
14.	356175	SB	58	Var	169.455	92.656	89.676
15.	354229	NB	44	Yok	107.528	-	14.543
16.	337225	ŞK	71	Yok	42.175	-	42.175
17.	300326	NZ	44	Yok	60.947	-	0.211
18.	337709	ÜÇ	57	Yok	39.411	-	42.369
19.	73888	EE	54	Yok	51.529	-	47.420
20.	299796	FK	56	Yok	59.032	-	59.032
21.	315342	HE	46	Yok	52.635	-	52.635
22.	325132	AA	46	Yok	80.911	-	86.189
23.	71177	KH	56	Yok	24.780	-	47.529
24.	139944	SY	71	Yok	47.114	-	61.444
25.	211619	TG	38	Yok	47.434	-	86.654
26.	2278	HV	58	Yok	54.986	-	54.986
27.	175051	ŞÜ	41	Yok	72.500	-	86.840
28.	308041	ŞC	42	Yok	130.714	-	84.813
29.	79523	MG	56	Yok	107.528	-	131.019
30.	173526	NG	46	Yok	42.175	-	86.063
31.	325938	ÜA	42	Yok	60.947	-	101.066

ES: Egzersiz sonrası.

**Tablo 6 (Devam). Tip 2 diabetes mellituslu grubun genel özellikleri ve L-arginin sonuçları**

32.	124043	AP	59	Yok	39.411	-	30.920
33.	102315	HS	57	Yok	51.529	-	76.394
34.	214252	NG	51	Yok	59.032	-	61.585
35.	293430	HK	52	Yok	52.635	-	116.976
36.	233767	VK	53	Yok	80.911	-	73.392

**ES:** Egzersiz sonrası.

**Tablo 7. Sağlıklı grubun genel özellikleri ve asimetrik dimetilarginin sonuçları**

Sıra	Protokol no	İsim	Yaş	Egzersiz	ADMA Başlangıç	ADMA ES	ADMA 1. ay
1.	251752	EA	29	Var	0.683	0.602	-
2.	242107	ED	21	Var	0.535	0.481	-
3.	65540	FB	43	Var	0.538	0.538	-
4.	91742	AD	32	Var	0.654	0.530	-
5.	144503	FK	21	Var	0.437	0.437	-
6.	252053	MA	32	Var	0.589	0.598	0.255
7.	200603	FY	29	Var	0.476	0.509	0.362
8.	229898	BA	30	Var	0.332	0.289	0.390
9.	44991	TEM	28	Var	0.410	0.315	0.394
10.	192132	ÇKS	30	Var	0.400	0.328	0.403
11.	97905	YÖE	31	Var	0.503	0.592	0.411
12.	2920	HT	27	Var	0.521	0.304	0.440
13.	91730	BP	30	Var	0.515	0.490	0.487
14.	200724	HTK	28	Var	0.476	0.501	0.519
15.	94507	MBA	29	Var	0.944	0.559	0.521
16.	351036	KK	31	Var	0.625	0.634	0.532
17.	159450	HP	35	Var	0.458	0.418	0.532
18.	218746	BT	34	Var	0.576	0.586	0.643
19.	78483	BK	44	Var	0.501	0.506	0.688
20.	36711	EU	34	Yok	0.412	-	0.500
21.	50461	KD	30	Yok	0.415	-	0.618
22.	348283	NE	54	Yok	0.384	-	0.523
23.	94611	NY	51	Yok	0.494	-	0.526
24.	303399	ZA	36	Yok	0.471	-	0.548
25.	337058	GA	31	Yok	0.631	-	0.806
26.	197196	NS	33	Yok	0.215	-	0.606
27.	52995	SY	40	Yok	0.533	-	0.421
28.	4624	ÖK	41	Yok	0.696	-	0.415
29.	342460	ET	21	Yok	0.621	-	0.625
30.	339561	BK	24	Yok	0.496	-	0.646
31.	91742	AD	32	Yok	0.681	-	0.660

**ADMA:** Asimetrik dimetilarginin, **ES:** Egzersiz sonrası.

**Tablo 7 (Devam). Sağlıklı grubun genel özellikleri ve asimetrik dimetilarginin sonuçları**

32.	18745	SB	39	Yok	0.262	-	0.446
33.	335178	HT	40	Yok	0.378	-	0.442
34.	157191	ME	41	Yok	0.560	-	0.625
35.	338269	GŞ	42	Yok	0.820	-	0.505
36.	148115	BY	42	Yok	1.101	-	0.483
37.	63461	NM	42	Yok	0.677	-	0.487
38.	79780	ZS	49	Yok	0.428	-	0.496
39.	319446	SE	46	Yok	0.485	-	0.600
40.	78483	BK	44	Yok	0.372	-	0.886
41.	61173	EK	46	Yok	0.556	-	0.688
42.	344744	GA	50	Yok	0.446	-	0.506
43.	334885	HF	56	Yok	0.408	-	0.420
44.	72288	AO	57	Yok	0.322	-	0.412

**ADMA:** Asimetrik dimetilarginin, **ES:** Egzersiz sonrası.

**Tablo 8. Sağlıklı grubun genel özellikleri ve simetrik dimetilarginin sonuçları**

Sıra	Protokol no	İsim	Yaş	Egzersiz	SDMA Başlangıç	SDMA ES	SDMA 1. ay
1.	251752	EA	29	Var	0.533	0.507	-
2.	242107	ED	21	Var	0.415	0.305	-
3.	65540	FB	43	Var	0.438	0.438	-
4.	91742	AD	32	Var	0.391	0.309	-
5.	144503	FK	21	Var	0.290	0.290	-
6.	252053	MA	32	Var	0.395	0.513	0.157
7.	200603	FY	29	Var	0.309	0.340	0.247
8.	229898	BA	30	Var	0.289	0.252	0.363
9.	44991	TEM	28	Var	0.315	0.320	0.347
10.	192132	ÇKS	30	Var	0.498	0.337	0.379
11.	97905	YÖE	31	Var	0.392	0.476	0.345
12.	2920	HT	27	Var	0.428	0.217	0.382
13.	91730	BP	30	Var	0.311	0.300	0.338
14.	200724	HTK	28	Var	0.347	0.456	0.519
15.	94507	MBA	29	Var	0.612	0.349	0.328
16.	351036	KK	31	Var	0.391	0.419	0.291
17.	159450	HP	35	Var	0.318	0.303	0.359
18.	218746	BT	34	Var	0.553	0.423	0.496
19.	78483	BK	44	Var	0.536	0.540	0.608
20.	36711	EU	34	Yok	0.277	-	0.277
21.	50461	KD	30	Yok	0.318	-	0.318
22.	348283	NE	54	Yok	0.264	-	0.262
23.	94611	NY	51	Yok	0.358	-	0.288
24.	303399	ZA	36	Yok	0.431	-	0.401
25.	337058	GA	31	Yok	0.522	-	0.346
26.	197196	NS	33	Yok	0.061	-	0.363
27.	52995	SY	40	Yok	0.353	-	0.331
28.	4624	ÖK	41	Yok	0.740	-	0.405
29.	342460	ET	21	Yok	0.616	-	0.398
30.	339561	BK	24	Yok	0.382	-	0.348
31.	91742	AD	32	Yok	0.531	-	0.474

**SDMA:** Simetrik dimetilarginin, **ES:** Egzersiz sonrası.

**Tablo 8 (Devam). Sağlıklı grubun genel özellikleri ve simetrik dimetilarginin sonuçları**

32.	18745	SB	39	Yok	0.173	-	0.475
33.	335178	HT	40	Yok	0.311	-	0.343
34.	157191	ME	41	Yok	0.409	-	0.412
35.	338269	GŞ	42	Yok	0.616	-	0.307
36.	148115	BY	42	Yok	0.713	-	0.407
37.	63461	NM	42	Yok	0.588	-	0.471
38.	79780	ZS	49	Yok	0.412	-	0.596
39.	319446	SE	46	Yok	0.568	-	0.629
40.	78483	BK	44	Yok	0.205	-	0.461
41.	61173	EK	46	Yok	0.434	-	0.430
42.	344744	GA	50	Yok	0.404	-	0.962
43.	334885	HF	56	Yok	0.258	-	0.524
44.	72288	AO	57	Yok	0.224	-	0.612

**SDMA:** Simetrik dimetilarginin, **ES:** Egzersiz sonrası.

**Tablo 9. Sağlıklı grubun genel özellikleri ve L-arginin sonuçları**

Sıra	Protokol no	İsim	Yaş	Egzersiz	Arginin Başlangıç	Arginin ES	Arginin 1. ay
1.	251752	EA	29	Var	43.313	92.837	-
2.	242107	ED	21	Var	81.592	63.017	-
3.	65540	FB	43	Var	92.787	92.787	-
4.	91742	AD	32	Var	63.944	133.519	-
5.	144503	FK	21	Var	93.892	93.892	-
6.	252053	MA	32	Var	117.346	140.575	30.207
7.	200603	FY	29	Var	43.945	57.237	42.193
8.	229898	BA	30	Var	26.833	23.664	79.983
9.	44991	TEM	28	Var	57.365	51.498	67.132
10.	192132	ÇKS	30	Var	49.571	43.198	54.383
11.	97905	YÖE	31	Var	53.003	95.484	81.568
12.	2920	HT	27	Var	66.624	82.392	74.275
13.	91730	BP	30	Var	62.912	72.992	82.816
14.	200724	HTK	28	Var	57.759	66.120	64.036
15.	94507	MBA	29	Var	130.167	84.771	88.904
16.	351036	KK	31	Var	84.464	178.412	120.882
17.	159450	HP	35	Var	44.305	60.880	142.692
18.	218746	BT	34	Var	66.368	91.572	166.993
19.	78483	BK	44	Var	103.744	117.522	205.597
20.	36711	EU	34	Yok	71.377	-	71.377
21.	50461	KD	30	Yok	84.648	-	84.648
22.	348283	NE	54	Yok	44.023	-	43.992
23.	94611	NY	51	Yok	111.624	-	45.840
24.	303399	ZA	36	Yok	94.119	-	54.942
25.	337058	GA	31	Yok	96.999	-	80.787
26.	197196	NS	33	Yok	52.488	-	102.125
27.	52995	SY	40	Yok	53.416	-	98.858
28.	4624	ÖK	41	Yok	115.903	-	85.233
29.	342460	ET	21	Yok	64.776	-	64.457
30.	339561	BK	24	Yok	85.818	-	69.361
31.	91742	AD	32	Yok	64.915	-	54.057

ES: Egzersiz sonrası.

**Tablo 9 (Devam). Sağlıklı grubun genel özellikleri ve L-arginin sonuçları**

32.	18745	SB	39	Yok	53.435	-	90.393
33.	335178	HT	40	Yok	61.039	-	63.890
34.	157191	ME	41	Yok	58.025	-	116.581
35.	338269	GŞ	42	Yok	64.949	-	73.046
36.	148115	BY	42	Yok	44.430	-	42.346
37.	63461	NM	42	Yok	49.425	-	56.929
38.	79780	ZS	49	Yok	93.429	-	136.273
39.	319446	SE	46	Yok	60.069	-	78.955
40.	78483	BK	44	Yok	52.864	-	66.765
41.	61173	EK	46	Yok	45.047	-	30.585
42.	344744	GA	50	Yok	32.591	-	52.446
43.	334885	HF	56	Yok	47.440	-	116.841
44.	72288	AO	57	Yok	24.724	-	42.249

ES: Egzersiz sonrası.



## TARTIŞMA

Diyabet, sıklığı gittikçe artan, mikrovasküler ve makrovasküler komplikasyonları ile morbiditesi olduğu kadar mortalitesi de yüksek bir hastalıktır. Özellikle makrovasküler komplikasyonlarını değerlendirebilmek amacıyla etyo-patogeneze yönelik araştırmalara literatürde sık rastlanmaktadır. Diyabette endotel fonksiyon bozukluğu olduğu bilinmektedir. Endotelin önemli bir fonksiyonu olan NO üretimi azalmıştır. Bunda ADMA'nın rolü olduğu bilinmekle birlikte diyabet-ADMA ilişkisini değerlendiren çalışmalar sınırlıdır. Literatürdeki çalışmalar değerlendirildiğinde, ADMA düzeyleri kullanılan yöntemlere göre de değişiklik göstermektedir. ELISA ile daha yüksek değerler elde edilmektedir. Ayrıca serum örneğinde çalışıldığında daha yüksek sonuçlar elde edilir. Bu nedenle çalışmamızın sonuçlarını HPLC'nin kullanıldığı çalışmalarla kıyaslamak doğru olur. Yayınların çoğunda tip 2 DM'de ADMA düzeylerinin arttığı görülür (24,44). Hipergliseminin ADMA'yı parçalayan DDAH enzimini inhibe edebileceği öne sürülmüştür (11). Diğer bir olasılık da DDAH enziminin ileri glikozilasyon ürünleri ile baskılanmasıdır (45). Bunun aksini gösteren yayınlar da vardır: Krzyzanowska ve ark.'nın (46) çalışmasında makrovasküler hastalığı bulunmayan diyabetiklerde, plazma ADMA düzeyleri normal sınırlar içerisindedir. Makrovasküler hastalık varlığında 0.72 µM düzeyine ulaşır. Makino ve ark.'nın (47) çalışmasında Tip 2 DM'lilerde plazma ADMA düzeyi normal aralıktadır. Ancak bu kişilerde normal aralıkta kalmakla birlikte mikroalbuminüriklerde normoalbuminüriklere göre daha yüksektir. Ayrıca aşikar proteinürisi olanlarda ADMA'nın daha da arttığı görülür. Ancak yine de 0.66 µM ile normal değerlere oldukça yakındır. Kawata ve ark.'nın (18) çalışmasında da serum ADMA düzeyleri normal aralıktadır. Päivä ve ark.'nın (19) yaptığı çalışmada Tip 2 DM'lilerde sağlıklı kontrollere göre daha düşük düzeylerde ve normal aralıkta bulunan ADMA değerleri, artmış

glomerüler filtrasyon hızına bağlanmıştır. Sağlıklı kişiler ve hastalık bulunanlarda ADMA değerlerindeki bu çakışma nedeniyle L-arginin/ADMA oranları tercih edilmektedir (17,21). Üstelik ADMA, L-argininden protein arginin metil transferaz enzimi ile doğrudan üretilir yani karşılıklı etkileşim halindedirler (17).

Çalışmamızda ADMA, SDMA ve L-arginin düzeylerinde sağlıklı ve DM grubu arasında bir fark görülmediği gibi DM grubunda mutlak değer ortalamaları da normal sınırlar içinde yer aldı. Kontrol grubunun ADMA ortalamalarını literatürle uyumlu bulduk (0.4-0.6  $\mu\text{M}$ ) (17). Düzeyler, akut egzersiz sonrası ve düzenli egzersiz sonrası da normal aralıkta kalmaya devam etti. Diyabet grubunda ise hipertansiyon, vasküler hastalık ve bazı yayınlarda saptanan 2-3 kat artışları gözlemedik (17,24). Tip 2 DM'de plazma ADMA düzeyine ait Abbasi ve ark.'nın (24) yayınında çalışmadan önceki 4 hafta boyunca oral antidiyabetiklerin kesildiği görülmektedir. Bizim çalışmamızda 36 kişiden oluşan diyabet grubunda 15 kişi çalışma başlangıcında oral antidiyabetik ilaç kullanmıyordu. Ancak ilaç ile ADMA düzeyi arasında ilişki saptanmadı. Bu kişilere medikal tedavi başlanmaması etik açıdan uygun olmadığı için ilaç etkisinden temizlenme amacıyla herhangi bir süre beklenmedi ve gerekli olan tedavi başlandı. Yani heterojen bir hastalık grubu oluşturan tip 2 DM'de ADMA düzeyleri değerlendirilirken ilaç kullanımı da dahil olmak üzere klinik özellikler eşleştirilmeden bu çalışmalardan elde edilen verilerin karşılaştırılması doğru olmayabilir.

L-arginin düzeyleri sağlıklı ve diyabetik grupta literatürle uyumlu şekilde 40-100  $\mu\text{M}$  aralığında kaldı. L-arginin/ADMA oran ortalamalarımız, literatürde yukarıda bahsi geçen klinikopatolojik durumlara (17.6-194) ve sağlıklı kişilere (54.3-227) ait verilerle uyumlu bulundu. ADMA düzeylerimiz yüksek olmadığı halde oranların normal aralıkta olmasını, literatürdeki değerlerin geniş bir aralıkta olmasına bağladık.

Diyabetik retinopatisi bulunan Tip 2 DM'lilerde ADMA düzeyleri yüksek bulunmuştur (27,36). Diyabetik retinopati ve nefropati sıklıkla birlikte bulunan mikrovasküler komplikasyonlar olduğu için bu durum nefropatiyle ilişkili olabileceği düşünülse de retinopatisi Tip 2 DM'lilerde nefropatinin olmadığı durumlarda da ADMA'nın arttığı gözlenebilir (44).

"High performance liquid chromatography" ile ölçülen ADMA düzeyleri mikroalbuminürik ve normoalbuminürik diyabetik hastalarda benzer bulunmuştur, ancak makroalbuminürik olanlarda anlamlı düzeyde yüksek olduğu tespit edilmiştir (44). Tip 2 DM'lilerde yapılan bir çalışmada ise ADMA, albuminürik olanlarda normoalbuminürik kişilere göre belirgin derecede daha yüksek bulunmuştur ama albuminüri miktarıyla ilişkili bulunmamıştır (46). Bu çalışmada kreatinin klirensiyle ilişkili olduğu gösterilmiştir. Renal

yetersizlikte ADMA artar. Bunun nedeni ADMA'nın renal yolla atılımının azalması ve DDAH enzim aktivitesinde azalma nedeniyle ADMA'nın degradasyonunda azalmadır (34). Nefropatinin evresi ile ilişkili olabilir örneğin, Tip 2 DM'de hiperfiltrasyon evresinde ADMA düzeyi non-diyabetik kontrollere göre daha düşük bulunmuştur (19).

Çalışmamızda DM grubunun tüm katılımcılarının kreatinin klirensi 30 ml/dakika ve üstü idi. Kreatinin klirensi ile ADMA ve SDMA düzeyleri arasında negatif bir bağıntı bulundu. Yani klirens azaldıkça ADMA ve SDMA artış gösterdi. Bu negatif bağıntı, ADMA/SDMA oranına pozitif bağıntı olarak yansıdı (beta=0.348, p=0.037), diğer bir deyişle SDMA'daki artış ADMA'dakinden daha fazla olduğu için bunların oranı ile klirens arasında pozitif bağıntı saptandı. Bu nedenle SDMA'nın ADMA'dan daha fazla oranda arttığı ve dolayısıyla renal klirensi daha iyi yansıttığı düşünülebilir. Bu sonuç literatürde renal klirens ile ADMA ve SDMA arasındaki ilişkiye ait yayınlarla uyumludur (17,19,36,46).

Hem sağlıklı kişilerde hem Tip 2 DM'lilerde akut hiperglisemi endotel bağımlı vazodilatasyonu bozar (48). ADMA'nın vazodilatasyonu bozduğuna dair insan çalışması yoktur, sadece hayvan çalışması vardır (49). Tip 2 DM'lilerde hipergliseminin oral ajanlarla ve/veya insülinle ile kontrol altına alınmasıyla ADMA düzeylerinde azalma olduğu gözlenmiştir (48). Burada söz konusu hastaların HbA1c değerleri %9'un üzerindedir. Päivä ve ark.'nın (19) yaptığı çalışmada ise hiperfiltrasyonu bulunan diyabetiklerde ADMA ve HbA1c düzeyinin (%8.3±1.7) ters ilişkili olduğu saptanmıştır. Ancak bunun nedeni konusunda bir hipotez ortaya konamamıştır. Sonuçlarımızda hiperglisemi düzeyini yansıtan HbA1c değeri ile ADMA ve SDMA arasında anlamlı bir bağıntı bulunamadı. Bu durum gliseminin her düzeyinin değil belli bir yüksekliğinin (örneğin HbA1c>%9) ADMA düzeyini etkilemesine bağlı olabilir. Ayrıca gliseminin ADMA üzerindeki etkisini glomerüler filtrasyon hızı belirliyor olabilir.

“Dimethylarginine dimethylaminohydrolase” enzimi üzerine olan etkilerinden dolayı lipidler, ADMA düzeylerinde azalmaya yol açabilir (22,28). Çalışmamızda lipid ve sigara kullanımı ile ilişki kurulamadı. Ancak hastaların bir kısmı antilipidemik kullanmaktaydı.

Sağlıklı kişilerde orta yoğunlukta akut egzersizden sonra ön kol akımı yöntemi ve bir NOS inhibitörü olan L-NMMA kullanılarak dolaylı yoldan yapılan değerlendirmede NO'nun arttığı ve bu artışın egzersiz bırakıldıktan 4 hafta sonra dahi devam ettiği tespit edilmiştir (37,38). Düzenli egzersizden ADMA'nın nasıl etkilendiğine bakacak olursak literatürde üç yayın vardır: Gomes ve ark. (39), Niebauer ve ark. (40) ile Mittermayer ve ark.'nın (7) çalışmaları (Ek 3). İlk ikisi diyabetiklerde ne olduğu sorusuna cevap veren çalışmalar değildir. Diyabette ADMA'nın düzenli egzersizde gösterdiği değişim bu çalışmalardan sonuncusunda

ve sadece Tip 1 DM'li hastalarda araştırılmıştır (7). Düzenli egzersiz esnasında ADMA'nın azaldığı ancak program bırakıldıktan aylar sonra bu faydanın kaybolduğu izlenmiştir. SDMA ve L-arginin düzeyleri değişmemekle birlikte ADMA'daki azalmadan dolayı L-arginin/ADMA oranı artmıştır. Bu çalışmada sağlıklı kontrol grubu egzersiz programına alınmamıştır.

Gomes ve ark.'nın (39) 20 sedanter sağlıklı kontrol ve 28 metabolik sendrom hastasından oluşan çalışmasında metabolik sendromlu 18 olgu 3 aylık egzersiz programına alınmıştır. Sağlıklı ayakta egzersiz yoktur.  $VO_{2max}$ 'a göre hesaplanan egzersiz yoğunluğunda haftada 3 gün olacak şekilde hastalar bisiklet ergometrisinde egzersiz programı uygulanmıştır. Yaş ve cinsiyet açısından eşleşmiş olan metabolik sendromlu ve sağlıklı grupta başlangıçta ADMA düzeylerinde anlamlı fark yoktur. Üç aylık süre sonunda egzersiz yapmayan alt grupta 3 ay sonunda ADMA artarken, egzersiz yapan alt grupta ADMA düzeyi istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalma göstermiştir. Egzersiz kan akımını ve vasküler stresi artırarak NO oluşumunu artırabilir. Egzersizden sonra ADMA'daki azalışın, NO'daki bu artışa bağlı olabileceği öne sürülmüştür. Ancak bu çalışmada bizim çalışmamızdan farklı olarak egzersiz yapan sağlıklı kontrol yoktur. DM tanısını daha yüksek oranda koyduran OGTT yapılmamıştır ve egzersiz grubunun açlık plazma glukozu ortalamasının prediyabetik olduğu görülür. Çalışmaya alınan kişilerin yaş ortalamaları bizim vakalarımızdan daha fazladır. Ancak bu çalışmada ADMA düzeyleri ELISA ile değerlendirilmiştir ve SDMA ile L-argininin ölçümü yapılmamıştır. Sağlıklı kişilerde bile  $1.5 \mu M$ 'nin üzerinde olan değerler beklenen normal değerlerden yüksektir. Bu durum muhtemelen ELISA yönteminden kaynaklanmaktadır.

Niebauer ve ark.'nın (40) yaptığı çalışmada 8 haftalık egzersiz programında yeni başlayan kalp yetmezliği bulunan hastaların HPLC ile çalışılan plazma ADMA düzeyleri yaş ve cinsiyet açısından eşleşmiş sağlıklı kontrollerle karşılaştırıldı. Sekiz haftalık egzersiz programı sonunda sağlıklı ve kalp yetmezlikli grupta ADMA ve L-arginin artarken, SDMA ve L-arginin/ADMA oranı hasta grupta azaldı ve sağlıklı grupta arttı. Ancak bu farklar istatistiksel olarak anlamlı düzeyde değildir. Kalp yetersizliğinde artan NOS enzim aktivitesine kompanseuar olarak ADMA'nın arttığı öne sürülmüştür. Ancak bu çalışmaya ait makalede hastaların glukoz metabolizmasına (açlık glukoz düzeyleri veya OGTT sonuçları) ait bilgi yoktur. Çalışmaya alınan kişilerin yaş ortalamaları bizim vakalarımızdan daha fazladır. Egzersiz sıklığı ve süresi daha fazladır.

Çalışmamızda egzersiz yapan sağlıklılarda ADMA düzeylerinde azalma oldu. Azalma, en belirgin düzeyde ilk egzersizden sonra gözlemlendi. Bir aylık düzenli egzersizle sonucunda azalma, daha düşük düzeydeydi. Egzersiz yapan DM grubunda ise ilk egzersiz

sonrası azalma değil aksine artma oldu. Bir aylık düzenli egzersizden sonra ADMA düzeyinde azalma izlenmekle birlikte yine de başlangıca göre yüksek seyretti. SDMA'ya bakıldığında sağlıklı grupta daha belirgin olmak üzere gerek sağlıklı kişilerde gerek DM bulunanlarda egzersizle birlikte 1. ayın sonunda azalma gözlemlendi. L-arginin ise sağlıklı egzersiz yapanlarda artarken egzersiz yapan DM grubunda azaldı. Ancak bu 3 molekül düzeyinde olan değişim istatistiksel olarak belirgin bir farka ulaşmamakla birlikte aralarındaki oranlarda (L-arginin/ADMA ve L-arginin/SDMA) anlamlı değişim gözledik. Bu oranlardaki en belirgin artışın egzersiz yapan sağlıklılarda görülmesi, egzersizden en fazla faydalananın sağlıklılar olduğunu düşündürmektedir. Ancak DM'lilerde egzersizin hipertansiyon, kilo, vücut yağ bileşeni ve glisemi kontrolü üzerine olan etkisi ile morbidite ve mortaliteyi azaltıcı etkisinde NOS sistemi bileşenleri (ADMA, SDMA ve L-arginin) dışında veya en azından buna ek olarak başka koruyucu yolların önem kazandığını akla getirmektedir.

Çalışmamızda egzersiz yapanlarda yapmayanlara göre bir ayın sonunda anlamlı kilo kaybı olmadı. Ancak çalışmada hedeflenen kilo kaybı değildi. Egzersiz sıklığının daha fazla olması ve kalori kısıtlaması olmaksızın anlamlı kilo kaybı hedeflenemez. Benzer şekilde Boulé'in (16) yaptığı bir meta-analizde  $\geq 8$  hafta süren 12 aerobik ve 2 rezistans egzersizi çalışmasında Tip 2 DM'lilerde kilo açısından anlamlı değişiklik olmamıştır. Boulé bu çalışmalarda kilo verilememiş olmasını egzersizin yeterli sıklık ve sürede yapılmamış olmasına bağlamakla birlikte, meta-analizde incelenen çalışmalarda vücut bileşiminin incelenmemiş olması nedeniyle belki de egzersizle kaybedilen yağ miktarının artan yağsız kitle miktarıyla karşılanmasının söz konusu olabileceğini öne sürmektedir. Boulé'in (50) egzersiz yoğunluğunun  $VO_{2max}$ 'ın %50'sinden  $>75$ 'ine kadar değiştiği ve egzersiz hacminin haftada 8.75-24.75 MET-saat arasında değiştiği aerobik egzersiz çalışmalarında yaptığı bir diğer meta-analizde manyetik rezonans görüntülemeyle yapılan ölçümde abdominal visceral yağda %48, abdominal subkutanöz yağda %18 azalma görüldü. Bizim çalışmamızda egzersizi tamamlayan DM hastası sayısı az olduğu için vücut kompozisyonunda değişimin değerlendirilmesine uygun değildir.

Bruce protokolüne göre yapılan egzersiz tolerans testinde ölçülen HRR ve Kİ, kardiyovasküler mortaliteyle ilişkilidir (51). Bizim çalışmamızda sadece egzersiz yapacak olan DM hastalarına egzersiz tolerans testi uygulandı. Genel olarak beklenen 9-12 MET'lik egzersiz kapasitesi hastalarımızda ortalama 6.7 MET idi ve tüm hastalar Bruce protokolünde azami 3. evreye kadar ulaştı. Kronotropik indeks ortalaması beklendiği şekilde 0.8'den daha fazlaydı ve HRR ortalaması 12'den fazlaydı. Ancak zaten retinopati ve nefropati açısından ileri evre hastaları değillerdi.

Egzersiz kapasitesini belirleyen  $VO_{2max}$  değerine bakıldığında yaş etkisi ve VKİ etkisi artırıldığında dahi DM grubunun sağlıklılara göre belirgin düzeyde düşük olduğu görüldü ( $p=0.01$  ve  $p=0.00$ ). Aşırı kardiyovasküler hastalığı olmayan DM'lilerde kilo ve yaşın dışında egzersiz kapasitesini kısıtlayan hipertansiyon ve mikrovasküler kalp hastalığı gibi başka etkenler olabilir.

Sonuç olarak düzenli egzersizin ADMA, SDMA ve L-arginin üzerine olan etkisinin Tip 2 DM'lilerde inceleyen ilk çalışma olması açısından araştırmamız önem taşımaktadır. NOS sistemini değerlendirmek için mutlak ADMA, SDMA ve L-arginin düzeylerinden ziyade L-arginin/ADMA ve L-arginin/SDMA oranlarının daha yararlı olduğunu düşünüyoruz. Sağlıklı kişilerde NOS sisteminin adı geçen bileşenleri, ateroskleroz sürecine olumlu etkisi yadsınmaz olan egzersizde önemli rol oynamakla birlikte DM bulunan kişilerde bu rol azalmaktadır. Daha net sonuçlar için daha uzun süreli ve vaka sayısı daha yüksek deneyimlere ihtiyaç duyulmaktadır.

## SONUÇLAR

Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Endokrinoloji ve Metabolizma Hastalıkları Bilim Dalı'nda çalışmaya alınan 36 Tip 2 DM'li kadından 14'ü u ve 44 sağlıklı kadından 19'u egzersiz programına alındı. Egzersiz programına alınan DM'lilerden 9 kişi ve sağlıklı gruptan 5 kişi programı tamamlayamadı. Tüm katılımcılardan çalışma başlangıcında, egzersiz programına alınanlarda ilk egzersizden hemen sonra ve egzersiz yapmayanlar ile egzersiz yapanlardan bir ayı tamamlayanlardan birinci ayın sonunda alınan kan örneklerinde ADMA, SDMA ve L-arginin düzeyleri değerlendirildi. L-arginin/ADMA, L-arginin/SDMA ve ADMA/SDMA oranları hesaplandı. Hastalara ait aşağıdaki sonuçlar elde edildi:

1. Egzersiz tolerans testi sırasında DM grubunda anjina ve hipotansiyon gelişmemesine karşılık en sık saptanan semptom yorgunluk idi. Katılımcıların hiçbiri testin 3. evresinden sonraki evreleri tamamlayamadı. Bu kişilerin  $VO_{2max}$ 'ı da kontrol grubuna göre düşüktü. DM grubunun egzersiz tolerans testini tamamlayamaması düşük egzersiz kapasitesine bağlandı.
2. Diyabet grubunda ADMA, SDMA ve L-arginin mutlak değer ortalamaları normal sınırlar içinde yer aldı. Düzeyler, akut egzersiz sonrası ve düzenli egzersiz sonrası da normal aralıkta kalmaya devam etti. Bu maddelerin mutlak düzeyleri vasküler hasarı göstermek için tek başına kullanılamaz.
3. Asimetrik dimetilarginin, SDMA ve L-arginin düzeyleri ile aralarındaki oranlar hiperglisemiden ve lipid düzeyinden etkilenmez.
4. Birinci ay sonunda başlangıç ölçümüne göre egzersiz yapan sağlıklı grupta L-arginin/ADMA oranı anlamlı düzeyde artış gösterirdi. Birinci ay sonunda

5. başlangıç ölçümüne göre L-arginin/SDMA oranı sağlıklı grupta anlamlı düzeyde azaldı. Egzersiz yapanlarda birinci ay sonu ölçümleri ilk egzersiz sonrası ölçümlerle karşılaştırıldığında DM grubunda L-arginin/ADMA, L-arginin/SDMA ve ADMA/SDMA oranları artarken ve kontrol grubunda istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azaldı. Dolayısıyla mutlak ölçüm sonuçlarından ziyade oranların değerlendirilmesi daha yararlıdır.
6. Oranlardaki en belirgin artışın egzersiz yapan sağlıklılarda görülmesi, egzersizden en fazla faydalananın sağlıklılar olduğunu düşündürmektedir. Ancak DM'lilerde egzersizin hipertansiyon, kilo, vücut yağ bileşeni ve glisemi kontrolü üzerine olan etkisi ile morbidite ve mortaliteyi azaltıcı etkisinde NOS sistemi bileşenleri (ADMA, SDMA ve L-arginin) dışında veya en azından buna ek olarak başka koruyucu yollar rol alıyor olabilir.
7. Simetrik dimetilarginin, yaşla birlikte artar.
8. Klirens azaldıkça ADMA ve SDMA artar. SDMA'daki artış ADMA'dakinden daha fazla olduğu için SDMA'nın ADMA'dan daha fazla oranda arttığı ve dolayısıyla renal klirensi daha iyi yansıttığı düşünülebilir.



## ÖZET

En kuvvetli anti-aterojen madde olan “nitric oxide”ın endojen inhibitörü olan asimetrik dimetilarginin ile simetrik dimetilarginin artışı Tip 2 diabetes mellitusta kardiyovasküler hastalığa neden olan aterosklerotik değişiklikler oluşmadan önce görülen endotelial disfonksiyona işaret eder. Bu projenin amacı, Tip 2 diabetes mellituslu hastalarda bu maddelerin egzersizle olan ilişkisini incelemektir.

Tip 2 diabetes mellitus tanılı 36 kadın ve 44 sağlıklı kadın çalışmaya alındı. Sırasıyla 14 ve 19 kişi orta yoğunlukta dört haftalık egzersiz programı verildi. Çalışma başlangıcında, 1. ayda ve egzersiz programına alınan kişilerde ilk egzersiz seansından sonra alınan kan örneklerinde asimetrik ve simetrik dimetilarginin ile L-arginin düzeyleri kromatografi yöntemiyle ölçüldü.

Ölçümlerin grup içi karşılaştırmasında Bonferroni çoklu karşılaştırma testi ve iki grup arasında değerlerin değişimlerinin karşılaştırmasında Kovaryans Analizi kullanıldı.

Diyabet grubunda ve sağlıklı grupta ölçümler tüm zaman noktalarında literatürle uyumlu şekilde normal sınırlar içinde yer aldı. Birinci ay sonunda başlangıç ölçümüne göre egzersiz yapan sağlıklı grupta gözlenen L-argininin asimetrik ve simetrik dimetilarginine olan oranları istatistiksel olarak anlamlı bulundu (sırasıyla  $p < 0.022$  ve  $0.017$ ).

Egzersiz yapanlarda birinci ay sonu ölçümleri ilk egzersiz sonrası ölçümlerle karşılaştırıldığında diyabet grubunda bu oranlar artarken ve kontrol grubunda azaldı. Simetrik dimetilarginin ile yaş arasında pozitif bağıntı saptandı ( $\beta = 0.226$ ,  $p = 0.044$ ). Kreatinin klirensi değerlendirilen diyabet grubunda asimetrik ve simetrik dimetil arginin düzeyleri ile arasında negatif bağıntı bulundu (sırasıyla  $\beta = -0.482$ ,  $p = 0.003$  ve  $\beta = -0.477$ ,  $p = 0.003$ ).

“Nitric oxide” sistemini değerlendirmede mutlak dimetilargininlerin ve argininin düzeylerinden ziyade argininin asimetric ve simetric dimetilarginine olan oranlarının daha yararlı olduğunu düşünüyoruz.

Bu moleküller sağlıklı kişilerde egzersizin olumlu etkilerinin ortaya cıkmasında önemli rol oynamakla birlikte diyabet bulunan kişilerde bu rol azalır.

**Anahtar kelimeler:** Diabetes Mellitus, asimetric dimetilarginin, egzersiz

# **THE BIOCHEMICAL MARKERS OF ENDOTHELIAL DYSFUNCTION IN TYPE 2 DIABETES MELLITUS AFTER ACUTE AND REGULAR EXERCISE**

## **SUMMARY**

The increase in symmetric dimethyl arginine and the inhibitor of the most anti-atherogenic molecule nitric oxide, namely asymmetric dimethyl arginine indicates endothelial dysfunction observed before atherosclerotic changes leading to cardiovascular disease in Type 2 diabetes mellitus.

The aim of the project was to evaluate the relationship of these molecules with exercise in patients with Type 2 diabetes mellitus.

Thirty six women with Type 2 diabetes mellitus and 44 healthy women were enrolled to the study. Fourteen and 19 subjects, respectively, attended a four-weeks of moderate intensity exercise schedule. Symmetric and asymmetric dimethyl arginine and arginine levels were studied by chromatography in the blood samples taken at the initial and first month of the study as well as those taken immediately after the first exercise session in the exercise group.

Bonferroni multiple comparisons were done for within-group comparisons of the measurement at the initial and after the first month of the study and after the first exercise session. Covariance analysis was done for comparison of the changes at different timepoints between two groups.

All measurement at different timepoints was within normal range both in diabetic and healthy groups in agreement with the literature. In the exercise group of healthy subjects the ratios of arginine to asymmetric and symmetric dimethyl arginine after one month were significantly higher than the initial values ( $p < 0.022$  and  $0.017$ , respectively). After one month of exercise the abovementioned ratios increased in diabetics and decreased in healthy subjects when compared to the measurement after first exercise session. There was a positive correlation between symmetric dimethylarginine and age ( $\beta = 0.226$ ,  $p = 0.044$ ). There was a negative correlation between creatinine clearance in diabetics and asymmetric and symmetric dimethyl arginine levels ( $\beta = -0.482$ ,  $p = 0.003$  and  $\beta = -0.477$ ,  $p = 0.003$ , respectively). We suggest that ratios of arginine to asymmetric and symmetric dimethyl arginine should be used in spite of their absolute levels to determine the status of nitric oxide system. We also conclude that these molecules have a substantial role in beneficial effects of exercise in healthy subjects while their role is scarce in diabetics.

**Key words:** Diabetes mellitus, asymmetric dimethylarginine, exercise

## KAYNAKLAR

1. Roglic G, Unwin N, Bennett PH, Mathers C, Tuomilehto J, Nag S et al. The burden of mortality attributable to diabetes. *Diabetes Care* 2005;28(9):2130-5.
2. American Diabetes Association. Nutrition recommendations and interventions for diabetes: a position statement of the American Diabetes Association. *Diabetes Care* 2007;31:48-65.
3. Sigal RJ, Kenny GP, Wasserman DH, Castaneda-Sceppa C. Physical activity/ exercise and type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2004;27(10):2518-39.
4. Abdu TAM, Elhadd T, Pfeifer M, Clayton RN. Endothelial dysfunction in endocrine disease. *Trends Endocrinol Metab* 2001;12(6):257-65.
5. Sydow K, Mondon CE, Cooke JP. Insulin resistance: potential role of the endogenous nitric oxide synthase inhibitor ADMA. *Vascular Medicine* 2005;10(2):35-43.
6. Böger RH. Asymmetric dimethylarginine (ADMA) and cardiovascular disease: insights from prospective clinical trials. *Vascular Medicine* 2005;10(2):19-25.
7. Mittermayer F, Pleiner J, Krzyzanowska K, Wiesinger GF, Francesconi M, Wolzt M. Regular physical exercise normalizes elevated asymmetrical dimethylarginine concentrations in patients with type 1 diabetes mellitus. *Wien Klin Wochenschr* 2005;117(23-24):816-20.
8. King H, Aubert RE, Herman WH. Global burden of diabetes, 1995-2025: prevalence, numerical estimates, and projections. *Diabetes Care* 1998;21(9):1414-31.
9. American Diabetes Association. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care* 2008;31(1):55-60.
10. Nathan DM, Davidson MB, DeFronzo RA, Heine RJ, Henry RR; Pratley R et al. Impaired fasting glucose and impaired glucose tolerance. *Diabetes Care* 2007;30(3):753-9.

11. Surdacki A, Stochmal E, Szurkowska M, Bode-Böger SM, Martens-Lobenhoffer J, Stochmal A et al. Nontraditional atherosclerotic risk factors and extent of coronary atherosclerosis in patients with combined impaired fasting glucose and impaired glucose tolerance. *Metabolism* 2007;56(1):77–86.
12. Mackay J, Mensah G. *Atlas of Heart Disease and Stroke*. 1<sup>st</sup> ed. Geneva: WHO, 2004:18-9.
13. World Health Organization. Physical status: the use and interpretation of anthropometry: report of a WHO expert committee. *World Health Organ Tech Rep Ser* 1995;854:1–452.
14. Flegal KM, Carroll MD, Ogden CL, Johnson CL. Prevalence and trends in obesity among US adults, 1999–2000. *JAMA* 2002;288(14):1723–7.
15. American College of Sports Medicine. *ACSM's Resource Manual for Guidelines for Exercise Testing and Prescription*. 6<sup>th</sup> ed. New York: Lippincott Williams & Wilkins, 2005:137-216.
16. Boulé NG, Haddad E, Kenny GP, Wells GA, Sigal RJ. Effects of exercise on glycemic control and body mass in type 2 diabetes mellitus: a meta-analysis of controlled clinical trials. *JAMA* 2001;286(10):1218–27.
17. Bode-Böger SM, Scalera F, Ignarro LJ. The l-arginine paradox: Importance of the l-arginine/asymmetrical dimethylarginine ratio. *Pharmacol Ther* 2007;114(3):295-306.
18. Kawata T, Daimon M, Hasegawa R, Teramoto K, Toyoda T, Sekine T et al. Effect of angiotensin-converting enzyme inhibitor on serum asymmetric dimethylarginine and coronary circulation in patients with type 2 diabetes mellitus. *Int J Cardiol*. In press 2007.
19. Päivä H, Lehtimäki T, Laakso J, Ruukonen I, Rantalaiho V, Wirta O et al. Plasma concentrations of asymmetric-dimethyl-arginine in type 2 diabetes associate with glycemic control and glomerular filtration rate but not with risk factors of vasculopathy. *Metabolism* 2003;52(3):303-7.
20. PubChem [database on the internet]. The National Center for Biotechnology Information (US). 2008. <http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/summary/summary.cgi?cid=123831>.
21. Vallance P, Leone A, Calver A, Collier J, Moncada S. Accumulation of an endogenous inhibitor of nitric oxide synthesis in chronic renal failure. *Lancet* 1992;339(8793):572–5.
22. Fard A, Tuck CH, Donis JA, Sciacca R, Di Tullio MR, Wu D et al. Acute elevations of plasma asymmetric dimethylarginine and impaired endothelial function in response to a high-fat meal in patients with type 2 diabetes. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000;20(9):2039-44.
23. Oguz A, Uzunlulu M, Yorulmaz E, Yalçın Y, Hekim N, Fici F. Effect of nebivolol and metoprolol treatments on serum asymmetric dimethylarginine levels in hypertensive patients with type 2 diabetes mellitus. *Anadolu Kardiyol Derg* 2007;7(4):383-7.
24. Abbasi F, Asagmi T, Cooke JP, Lamendola C, McLaughlin T, Reaven GM et al. Plasma concentrations of asymmetric dimethylarginine are increased in patients with type 2 diabetes mellitus. *Am J Cardiol* 2001;88(10):1201-3.

25. Bode-Böger SM, Scalerà F, Kielstein JT, Martens-Lobenhoffer J, Breithardt G, Fobker M et al. Symmetrical dimethylarginine: a new combined parameter for renal function and extent of coronary artery disease. *J Am Soc Nephrol* 2006;17:1128–34.
26. Fleck C, Schweitzer F, Karge E, Busch M, Stein G. Serum concentrations of asymmetric (ADMA) and symmetric (SDMA) dimethylarginine in patients with chronic kidney diseases. *Clin Chim Acta* 2003;336(1-2):1-12.
27. Sugai M, Ohta A, Ogata Y, Nakanishi M, Ueno S, Kawata T et al. Asymmetric dimethylarginine (ADMA) in the aqueous humor of diabetic patients. *Endocrine Journal* 2007;54(2):303-9.
28. Ito A, Egashira K, Narishige T, Muramatsu K, Takeshita A. Angiotensin-converting enzyme activity is involved in the mechanism of increased endogenous nitric oxide synthase inhibitor in patients with type 2 diabetes mellitus. *Circ J* 2002;66(9):811–5.
29. Chen JW, Hsu NW, Wu TC, Shing-Jong L, Chang MS. Long-term angiotensin-converting enzyme inhibition reduces plasma asymmetric dimethylarginine and improves endothelial nitric oxide bioavailability and coronary microvascular function in patients with syndrome X. *Am J Cardiol* 2002;90(9):974–82.
30. Galle J, Schwedhelm E, Pinnetti S, Böger RH, Wanner C, Galle J et al. Antiproteinuric effects of angiotensin receptor blockers: telmisartan versus valsartan in hypertensive patients with type 2 diabetes mellitus and overt nephropathy. *Nephrol Dial Transplant* 2008;23(10):3174-83.
31. Asagami T, Abbasi F, Stuelinger M, Lamendola C, McLaughlin T, Cooke JP et al. Metformin treatment lowers asymmetric dimethylarginine concentrations in patients with type 2 diabetes. *Metabolism* 2002;51(7):843-6.
32. Böger RH, Bode-Böger SM, Tsao PS, Lin PS, Chan JR, Cooke JP. An endogenous inhibitor of nitric oxide synthase regulates endothelial adhesiveness for monocytes. *J Am Coll Cardiol* 2000;36(7):2287-95.
33. Chan JR, Böger RH, Bode-Böger SM, Tangphao O, Tsao PS, Blaschke TF et al. Asymmetric dimethylarginine increases mononuclear cell adhesiveness in hypercholesterolemic humans. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000;20(4):1040-6.
34. Bardi P, de Lalla A, Pieragalli D, de Franco V, Meini S, Ceccatelli L et al. Effect of iloprost on plasma asymmetric dimethylarginine and plasma and platelet serotonin in patients with peripheral arterial occlusive disease. *Prostaglandins Other Lipid Mediat* 2006;80(3-4):175–82.
35. Kelly AS, Thelen AM, Kaiser DR, Gonzalez-Campoy JM, Bank AJ. Rosiglitazone improves endothelial function and inflammation but not asymmetric dimethylarginine or oxidative stress in patients with type 2 diabetes mellitus. *Vasc Med* 2007;12(4):311-8.
36. Malecki MT, Undas A, Cyganek K, Mirkiewicz-Sieradzka B, Wolkow P, Osmenda G et al. Plasma asymmetric dimethylarginine (ADMA) is associated with retinopathy in type 2 diabetes mellitus. *Diabetes Care* 2007;30(11):2899-901.

37. Goto C, Nishioka K, Umemura T, Jitsuiki D, Sakaguchi A, Kawamura M et al. Acute moderate-intensity exercise induces vasodilation through an increase in nitric oxide bioavailability in humans. *Am J Hypertens* 2007;20(8):825-30.
38. Maeda S, Miyauchi T, Kakiyama T, Sugawara J, Iemitsu M, Irukayama-Tomobe Y et al. Effects of exercise training of 8 weeks and detraining on plasma levels of endothelium-derived factors, endothelin-1 and nitric oxide, in healthy young humans. *Life Sci* 2001;69(9):1005–16.
39. Gomes VA, Casella-Filho A, Chagas ACP, Tanus-Santos JE. Enhanced concentrations of relevant markers of nitric oxide formation after exercise training in patients with metabolic syndrome. *Nitric Oxide* 2008;19(4):345-50.
40. Niebauer J, Clark AL, Webb-Peploe KM, Böger R, Coats AJS. Home-based exercise training modulates pro-oxidant substrates in patients with chronic heart failure. *Eur J Heart Fail* 2005;7(2):183–8.
41. Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of low density lipoprotein cholesterol in plasma without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem* 1972;18(6):499–502.
42. Matthews DR, Hosker JR, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF, Turner RC. Homeostasis model assessment: insulin resistance and  $\beta$ -cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia* 1985;28(7):412-9.
43. Hill J, Timmis A. ABC of clinical electrocardiography: Exercise tolerance testing. *BMJ* 2002;324:1084-7.
44. Yamagishi S, Ueda S, Nakamura K, Matsui T, Okuda S. Role of asymmetric dimethylarginine (ADMA) in diabetic vascular complications. *Curr Pharm Des* 2008;14(25):2613-8
45. Yamagishi S, Ueda S, Okuda S. A possible involvement of crosstalk between advanced glycation end products (AGEs) and asymmetric dimethylarginine (ADMA), an endogenous nitric oxide synthase inhibitor in accelerated atherosclerosis in diabetes. *Med Hypotheses* 2007;69(4):922-4.
46. Krzyzanowska K, Mittermayer F, Shnawa N, Hofer M, Schnabler J, Etmüller Y et al. Asymmetrical dimethylarginine is related to renal function, chronic inflammation and macroangiopathy in patients with Type 2 diabetes and albuminuria. *Diabet Med* 2007;24(1):81-6.
47. Makino H, Doi K, Hiuge A, Nagumo A, Okada S, Miyamoto Y et al. Impaired flow-mediated vasodilatation and insulin resistance in type 2 diabetic patients with albuminuria. *Diabetes Research and Clinical Practice* 2008;79(1):177–82.
48. Yasuda S, Miyazaki S, Kanda M, Goto Y, Suzuki M, Harano Y et al. Intensive treatment of risk factors in patients with type-2 diabetes mellitus is associated with improvement of endothelial function coupled with a reduction in the levels of plasma asymmetric dimethylarginine and endogenous inhibitor of nitric oxide synthase. *Eur Heart J* 2006;27(10):1159–65.



49. Xiong Y, Lu R, Li YJ, Deng HW. Elevation of an endogenous inhibitor of nitric oxide synthase in diabetic rat serum. *Zhongguo Yao Li Xue Bao* 1997;18(6):511-4.
50. Boulé NG, Kenny GP, Haddad E, Wells GA, Sigal RJ. Meta-analysis of the effect of structured exercise training on cardiorespiratory fitness in type 2 diabetes mellitus. *Diabetologia* 2003;46(8):1071–81.
51. Dogru MT, Gunaydin S, Simsek V, Tulmac M, Guneri M. Correlation of chronotropic index and heart rate recovery to heart rate variability and diastolic function values in men. *The Internet Journal of Cardiology* [serial online]. 2007. <http://www.ispub.com/ostia/index.php?xmlFilePath=journals/ijc/vol4n2/index.xml>.

## **EKLER**

## EK 2

### BİLGİLENDİRİLMİŞ OLUR FORMU

Bu katıldığınız çalışma bilimsel bir araştırma olup, araştırmanın adı “Tip 2 diabetes mellituslu hastalarda akut ve düzenli egzersizin endotelial disfonksiyonun biyokimyasal belirteçlerine olan etkisi”dir.

Diyabet yani şeker hastalığı özellikle kontrolsüz olduğunda vücutta bulunan tüm damarları (göz, böbrek, bacak damarları, kalp damarları vb.) etkileyen bir hastalıktır. Tedavisinde diyet, egzersiz ve çeşitli ilaçlar yer alır. Egzersiz haftanın çoğu günü en az yarım saat olacak şekilde önerilir. Ancak bazı hastalar gerek sosyal nedenlerle gerekse eşlik eden ortopedik problemler gibi ek faktörler nedeniyle düzenli egzersiz yapamazlar.

Bu araştırmanın amaçları; düzenli egzersiz yapan ve yapamayan şeker hastalarında kanda ne gibi değişikliklerin olduğunu gözlemlemektir. Bu amaçla şeker hastalarındaki verileri şeker hastası olmayanlarıkiyle karşılaştıracağız. Daha önce tansı olmayan kişilerden şeker hastası olmayanları belirlemek için şekerli yükleme testi yapılacaktır. Bu amaçla sekiz saat açlıktan sonra kan alınacak, 75 g glukoz bir bardak suda 5 dakika içerisinde içirilecek ve 2 saat sonra tekrar şeker ölçümü için kan örneği alınacaktır. Bu testin sonucunda şeker hastası veya adayı olup olmadığını belirleme ve buna yönelik önlem alma imkanımız olacaktır. Şeker hastası veya adayı olmayan kişiler sağlıklı grupta incelenecektir. Bu tetkik herhangi bir yan etki ve risk içermemektedir.

Şeker hastası olan ve olmayan kişiler iki eşit gruba ayrılacaktır: düzenli egzersiz yapan ve yapamayan. Kişiyeye özel egzersiz programınız Trakya Üniversitesi Fizyoloji Bilim Dalı öğretim üyesi Doç. Dr. Arzu Vardar tarafından verilecektir.

Bu araştırmada size araştırma amacıyla herhangi bir tedavi uygulanmayacaktır. Çalışmada ilaç tedaviniz sadece şeker kontrolünüz hedefte olmazsa değiştirilecektir. Çalışma içeriğinde tedavinize araştırma maksatlı müdahale yoktur.

Kan tetkikleri izleminizde kullanılan tetkiklerden ve günlük pratikte kullanılmayan maddelere ilişkin testlerden oluşmaktadır. Bu çalışmanın sonucunda, incelenecek yeni laboratuvar incelemesi ile damar hasarlanmalarının mekanizmasını aydınlatma imkanı bulabileceğimizi düşünmekteyiz. Laboratuvar incelemesi için egzersiz yapan kişilerden ilk egzersiz seansı öncesi, ilk egzersiz seansının hemen akabinde ve düzenli bir aylık egzersizden sonra 20cclik kan alınacaktır. Egzersiz yapmayan kişilerden ise çalışmanın başlangıcında ve bir ayın sonunda 20cclik kan alınacaktır. Araştırmaya katılacak toplam gönüllü sayısı 80’dir.

Bu araştırma ile ilgili olarak sizin herhangi bir sorumluluğunuz yoktur.

Bu araştırma sizin için herhangi bir risk taşımamaktadır. Ancak damar sertliğine ait incelemeleriniz yapılacak ve kalp damar hastalıklarına olan eğiliminiz belirlenecektir. Egzersizin faydaları belirlenecektir.

Bu araştırma içerisinde herhangi bir alternatif tedavi ya da işlem bulunmamaktadır.

Araştırma sırasında sizi ilgilendirebilecek herhangi bir gelişme olduğunda, bu durum size veya yasal temsilcinize derhal bildirilecektir. Araştırma hakkında ek bilgiler almak için ya da çalışma ile ilgili herhangi bir sorun, istenmeyen etki ya da diğer rahatsızlıklarınız için 0 284 2357646-2636 no.lu telefondan Dr.Bengür Taşkırın’a başvurabilirsiniz.

Bu araştırmada yer almanız nedeniyle size hiçbir ödeme yapılmayacaktır; ayrıca, bu araştırma kapsamındaki bütün muayene, tetkik, testler ve tıbbi bakım hizmetleri için sizden veya bağlı bulunduğunuz sosyal güvenlik kuruluşundan hiçbir ücret istenmeyecektir. Bu araştırma Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma Fonu tarafından desteklenmektedir.

Bu araştırmada yer almak tamamen sizin isteğinize bağlıdır. Araştırmada yer almayı reddedebilirsiniz ya da herhangi bir aşamada araştırmadan ayrılabilirsiniz; bu durum herhangi bir cezaya ya da sizin yararlarınıza engel duruma yol aēmayacaktır. Araştırıcı bilginiz dahilinde veya isteğiniz dışında, uygulanan tedavi şemasının gereklerini yerine getirmemeniz, aēlıřma programını aksatmanız veya tedavinin etkinliğini artırmak vb. nedenlerle sizi araştırmadan aēıkarabilir. Araştırmanın sonuēları bilimsel amaēla kullanılacaktır; aēlıřmadan aēkilmeniz ya da araştırıcı tarafından aēıkarılmanız durumunda, sizle ilgili tıbbi veriler de gerekirse bilimsel amaēla kullanılabilir.

Size ait tım tıbbi ve kimlik bilgileriniz gizli tutulacaktır ve araştırma yayınlansa bile kimlik bilgileriniz verilmeyecektir, ancak araştırmanın izleyicileri, yoklama yapanlar, etik kurullar ve resmi makamlar gerektiğinde tıbbi bilgilerinize ulaşabilir. Siz de istediğinizde kendinize ait tıbbi bilgilere ulaşabilirsiniz

#### **ēalıřmaya Katılma Onayı:**

Yukarıda yer alan ve araştırmaya başlanmadan önce gōnüllüye verilmesi gereken bilgileri okudum ve sōzlü olarak dinledim. Aklıma gelen tım soruları araştırıcıya sordum, yazılı ve sōzlü olarak bana yapılan tım aēıklamaları ayrıntılarıyla anlamış bulunmaktayım. ēalıřmaya katılmayı isteyip istemediğime karar vermem iēin bana yeterli zaman tanındı. Bu koşullar altında, bana ait tıbbi bilgilerin gōzden geēirilmesi, transfer edilmesi ve işlenmesi konusunda araştırma yūritūcüsüne yetki veriyor ve sōz konusu araştırmaya ilişkin bana yapılan katılım davetini hiēbir zorlama ve baskı olmaksızın bŸyŸk bir gōnŸllŸlŸk iēerisinde kabul ediyorum.

Bu formun imzalı bir kopyası bana verilecektir.

#### **GōnŸllŸnŸn,**

Adı-Soyadı:

Adresi:

Tel.-Faks:

Tarih ve İmza:

#### **Velayet veya vesayet altında bulunanlar iēin veli veya vasinin,**

Adı-Soyadı:

Adresi:

Tel.-Faks:

Tarih ve İmza:

#### **Aēıklamaları yapan araştırmacının,**

Adı-Soyadı: BengŸr Taşkıran

Gōrevi: uzman doktor

Adresi: Trakya Ÿniversitesi Tıp FakŸltesi Hastanesi, İē Hastalıkları ABD, Endokrinoloji ve Metabolizma Hastalıkları BD.

Tel.-Faks: 0 284 2357646-2636

Tarih ve İmza:

#### **Olur alma işlemine başından sonuna kadar tanıklık eden kuruluş gōrevlisinin/gōrŸřme tanığının,**

Adı-Soyadı:

Gōrevi:

Adresi:

Tel.-Faks:

Tarih ve İmza:

### EK 3

#### Düzenli egzersiz sonrası asimetrik dimetilarginin düzeyinin ölçüldüğü çalışmaların özellikleri

	Çalışma							
	Niebauer*		Gomes**		Mittermayer***		Bizim çalışma****	
	Sağlıklı (n=9)	Hasta (n=18)	Sağlıklı (n=0)	Hasta (n=18)	Sağlıklı (n=0)	Hasta (n=11)	Sağlıklı (n=14)	Hasta (n=5)
ADMA	↑	↑	-	-	-	↓	↓	↑
L-arginin	↑	↑	-	-	-	↔	↑	↓
SDMA	↑	↓	-	-	-	↔	↓	↓
L-arginin/ADMA	↑	↓	-	-	-	↑	↑	↓

**N:** Sayı, **ADMA:** Asimetrik dimetilarginin, **SDMA:** Simetrik dimetilarginin.

\*40 nolu kaynak. Hasta grubu: kalp yetmezliği. Egzersiz sıklığı 5 gün/hafta ve süresi 8 hafta. Yöntem: “High performance liquid chromatography” ve plazma.

\*\*39 nolu kaynak. Hasta grubu: metabolik sendrom. Egzersiz sıklığı 3 gün/hafta ve süresi 12 hafta. Yöntem: “Enzyme linked immuno-sorbent assay” ve plazma.

\*\*\*7 nolu kaynak. Hasta grubu: Tip 1 Diabetes Mellitus. Egzersiz süresi 16 hafta. Yöntem: Plazma.

\*\*\*\*Hasta grubu: Tip 2 Diabetes Mellitus. Egzersiz sıklığı 3 gün/hafta ve süresi 4 hafta. Yöntem: “High performance liquid chromatography” ve plazma. Bir aylık programı tamamlayan kişi sayıları gösterilmektedir.

**T.C.  
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI  
ENDOKRİNOLOJİ VE METABOLİZMA  
HASTALIKLARI BİLİM DALI**

Tez Yöneticisi  
Doç. Dr. Betül UĞUR ALTUN

**TİP 2 DİABETES MELLİTUSLU HASTALARDA AKUT  
VE DÜZENLİ EGZERSİZİN ENDOTELYAL  
DİSFONKSİYONUN BİYOKİMYASAL  
BELİRTEÇLERİNE OLAN ETKİSİ**

(Yandal Uzmanlık Tezi)

**Dr. Bengür TAŞKIRAN**

EDİRNE-2009

## **TEŐEKKÜR**

Biyoistatistik Ana Bilim Dalı öğretim üyesi Doç. Dr Necdet Süt'e, Fizyoloji Ana Bilim Dalı öğretim üyesi Yard. Doç. Dr. Arzu Vardar'a, Farmakoloji Ana Bilim Dalı öğretim üyesi Prof. Dr. Hakan Karadağ'a, İç Hastalıkları ve Kardiyoloji Ana Bilim Dalından çalışmaya katılan ve destek veren çalışma arkadaşlarıma, Sorumlu Hemşire Hülya Bozkurt başta olmak üzere tüm Endokrinoloji ve Romatoloji Bilim Dalı hemşirelerine, kan alma bölümünden Asuman Demir'e ve her aşamadaki desteğinden dolayı Dr. Hande Peynirci'ye sonsuz teşekkürler.

## İÇİNDEKİLER

<b>GİRİŞ VE AMAÇ.....</b>	<b>1</b>
<b>GENEL BİLGİLER.....</b>	<b>3</b>
<b>EGZERSİZ NEDİR.....</b>	<b>4</b>
<b>EGZERSİZ VE DİYABET.....</b>	<b>9</b>
<b>ATEROSKLEROZ VE ENDOTELYAL DİSFONKSİYON.....</b>	<b>10</b>
<b>GEREÇ VE YÖNTEMLER.....</b>	<b>15</b>
<b>BULGULAR.....</b>	<b>21</b>
<b>TARTIŞMA.....</b>	<b>41</b>
<b>SONUÇLAR.....</b>	<b>49</b>
<b>ÖZET.....</b>	<b>51</b>
<b>SUMMARY.....</b>	<b>53</b>
<b>KAYNAKLAR.....</b>	<b>55</b>
<b>EKLER</b>	



## SİMGE VE KISALTMALAR

<b>ADMA</b>	: Asimetrik dimetilarginin
<b>BAG</b>	: Bozulmuş açlık glukozu
<b>BGT</b>	: Bozulmuş glukoz toleransı
<b>DDAH</b>	: Dimethylarginine dimethylaminohydrolase
<b>DM</b>	: Diabetes mellitus
<b>ELISA</b>	: Enzyme linked immuno-sorbent assay
<b>HbA1c</b>	: Hemoglobin A1c
<b>HPLC</b>	: High performance liquid chromatography
<b>HR<sub>max</sub></b>	: Maximum heart rate
<b>HRR</b>	: Heart rate reserve
<b>kp</b>	: Kilopond
<b>kpm</b>	: Kilopond per minute
<b>KVH</b>	: Kardiyovasküler hastalık
<b>L-NMMA</b>	: NG-monometil-L-arginin
<b>MET</b>	: Metabolic equivalent
<b>NO</b>	: Nitric oxide
<b>NOS</b>	: Nitric oxide synthase
<b>OGTT</b>	: Oral glukoz tolerans testi
<b>rpm</b>	: Rates per minute
<b>SDMA</b>	: Simetrik dimetilarginin
<b>VO<sub>2max</sub></b>	: Maximum oxygen volume per time
<b>VO<sub>2R</sub></b>	: Volume of oxygen reserve per time
<b>VKİ</b>	: Vücut kitle indeksi

## GİRİŞ VE AMAÇ

Diabetes Mellitus (DM) makrovasküler ve mikrovasküler organ hasarlarıyla önemli sağlık yükü oluşturan bir endokrin hastalıktır. Prediyabet olarak tanımlanan bozulmuş açlık glukozu (BAG) ve bozulmuş glukoz toleransı (BGT) da toplumda yaygın görülür. DM’de ve BGT’de en sık ölüm nedeni kardiyovasküler hastalıktır (KVH) (1).

Tip 2 DM’nin patogeneğinde insülin direnci önemli bir rol oynar. Özellikle kilosu normalin üzerinde olan kişilerde insülin direnci belirgindir. Kiloyu ve insülin direncini, tıbbi beslenme tedavisi ve düzenli egzersiz ile azaltmak gerekir (2). Egzersizin şiddeti kişinin kardiyorespiratuvar dayanıklılık düzeyine göre belirlenir (3).

Kardiyovasküler hastalık, ateroskleroz ve koagülasyonda artış sonucu gelişir. Ateroskleroz temel olarak büyük damarların hastalığı olmakla birlikte mikrodolaşımda da fonksiyonel değişiklikler yapar. Arterlerde aterosklerotik değişiklikler oluşmadan önce KVH’nin erken belirteci olarak endotelial disfonksiyon görülür (4).

Endotelium, kan ve vasküler duvar düz kas tabakası arasındaki yerleşimi nedeniyle kritik öneme sahiptir. Endotelium, çok sayıda otokrin ve parakrin madde salgılayarak vasküler homeostazda anahtar rol oynayan metabolik olarak oldukça aktif bir organ sayılabilir.

Anti-aterojenik özelliği en kuvvetli olan madde, endotelium tarafından “nitric oxide synthase” (NOS) enzimi aracılığıyla üretilen “nitric oxide”dir (NO). İnsülin direncinde NOS aktivitesi azalır. Endojen bir NOS inhibitörü olan asimetrik dimetilargininin (ADMA) plazma düzeyleriyle insülin direnci arasında pozitif ilişkili bulunmuştur (5). Plazma ADMA düzeyleri ayrıca hiperkolesterolemi, ateroskleroz, hipertansiyon, kronik renal yetersizlik ve kronik kalp yetersizliği gibi pek çok durumda artar (6). Ancak ADMA’nın düzenli egzersizde gösterdiği

değişim, sadece Tip 1 DM'li hastalarda araştırılmıştır. Düzenli egzersiz esnasında azaldığı ancak program bırakıldıktan aylar sonra bu faydanın kaybolduğu izlenmiştir (7).

İlaç dışı Tip 2 DM tedavisinde önemli faktörlerden olan egzersiz, hem kilo kaybı aracılığıyla hem de bundan bağımsız olarak endotel fonksiyonunun belirteçlerini hemen egzersiz sonrasında ve bir egzersiz programını takiben uzun vadeli süreçte etkileyebilir. Günümüzde endotel fonksiyonuna ait yeni biyokimyasal belirteçler ortaya çıktıkça bunların rolü de araştırılmaktadır. ADMA, bu yeni belirteçler arasındadır. Tip 2 DM'li kişilerde ADMA düzeylerinin egzersizin sonrası ve bir aylık düzenli egzersiz programının ardından değişiklik gösterip göstermediği tam olarak bilinmemektedir. Ayrıca egzersizin kilodan bağımsız olarak ADMA düzeylerini nasıl etkilediği henüz araştırılmamıştır.

Bu çalışmanın amacı, kardiyovasküler hastalık sıklığının arttığı Tip 2 DM'li hastaların patogenezinde yer alan endotelial disfonksiyonun biyokimyasal belirteçlerinin egzersizle olan ilişkisini incelemektir.

## GENEL BİLGİLER

Diabetes Mellitus, 2000 yılında yaklaşık 170 milyon kişiyi etkileyen 2030'da bu rakamın iki katına ulaşması beklenen ve makrovasküler ve mikrovasküler organ hasarlarıyla önemli sağlık yükü oluşturan bir endokrin hastalıktır. Coğrafi bölge, kentsel-köy alan, yaş grubu ve cinsiyete göre farklılıklar olsa da genel olarak DM %6-8 oranında görülür ve bu oranın yaklaşık %90-95'inden Tip 2 DM sorumludur (8). Diyabetik hastaların yaklaşık yarısı hastalığından haberdar değildir. Günümüzde adeta bir epidemi halini alan Tip 2 DM sıklığı yaş, obezite ve fiziksel aktivite eksikliği ile birlikte artmaktadır (9).

Tip 2 DM tanısı en az 8 saatlik açlık sonrası açlık kan glukozunun  $\geq 126$  mg/dl olması ile veya suda eritilmiş 75 g anhidroz glukoz ile yapılan oral glukoz tolerans testinde (OGTT) 2. saat glukoz düzeyinin  $\geq 200$  mg/dl olması ile konur. Açlık kan glukozu 100-125 mg/dl ise BAG söz konusudur. OGTT'de 2. saat ölçümü 140-199 mg/dl ise BGT vardır. BAG ve BGT prediyabet başlığı altında tanımlanır (9). Amerika Birleşik Devletlerinde BAG prevalansı %26, BGT prevalansı %15'tir. BAG daha çok hepatik insülin direnciyle, BGT ise musküler insülin direnciyle karakterizedir. BGT daha çok kadınlarda görülür. Yaklaşık %25'i normal glukoz toleransına döner, %25'inde DM gelişir ve kalan %50'si ise prediyabet olarak devam eder.

Bozulmuş açlık glukozu ve BGT izole olabilecekleri gibi birlikte de bulunabilirler. Birlikte olduğunda DM gelişme riski, izole BAG veya izole BGT'ye göre yaklaşık iki kat daha yüksektir (10). DM'de en sık ölüm nedeni KVH'dir. KVH; koroner arter hastalığı (KAH), periferel damar hastalığı ve serebrovasküler hastalığı içerir.

Bozulmuş glukoz toleransı erişkinlerin %15-40'ında görülür. BAG ve BGT ateroskleroza hızlandırır (11). BGT olguları ister aşikar DM'ye ilerlesin ister ilerlemesin normal glukoz homeostazına sahip kişilere göre %40 daha fazla kardiyovasküler mortaliteye sahiptir (1). BGT'de kardiyovasküler mortalite riski BAG'dan daha fazladır (10). KAH dünyada halen en yaygın mortalite sebebidir (12).

Tip 2 DM'nin patogenezinde insülin direnci önemli bir rol oynar. Özellikle aşırı kilolu kişilerde insülin direnci belirgindir. Dünya Sağlık Örgütü, vücut kilosunun durumunu, kilonun metre cinsinden boyun karesine bölünmesiyle oluşan ve vücut kitle indeksi (VKİ) olarak adlandırılan oranlarla tanımlar (13). Buna göre VKİ 25-29 kg/m<sup>2</sup> olanlar kilolu ve VKİ ≥30 kg/m<sup>2</sup> olanlar obez olarak sınıflandırılır. Obezite de adeta bir epidemi halini almaktadır. Gelişmiş ülkelerde, örneğin ABD'de, 20 yaş üstü erişkinlerin yaklaşık %30'u obezdir; VKİ ≥25 kg/m<sup>2</sup> olanların oranı ise (%64) daha fazladır (14).

İnsülin direnci henüz aşikar DM gelişmeden bile hipertansiyon ve dislipidemi gibi KVH risk faktörlerine eşlik eder. Gıdanın kalori cinsinden alınımının kısıtlanması ve günlük 30 dakika fiziksel aktiviteyle dislipidemi, insülin direnci ve glisemi düzelir, DM riski azalır. Yine haftada en az 5 gün yapılan 30 dakikalık fiziksel egzersiz kardiyovasküler olay riskini azaltır (2). Dolayısıyla bu kısır döngüyü kırmak için, kiloyu diyet (tıbbi beslenme tedavisi) ve düzenli egzersizle azaltmak gereklidir. Fiziksel aktivitede ve kardiyovasküler dayanıklılıkta artış, koroner kalp hastalığına bağlı ölümlerde ve tüm nedenlere bağlı ölümlerde azalmayla ilişkili bulunmuştur (15).

### **EGZERSİZ NEDİR ?**

Fiziksel aktivite ve egzersiz sıklıkla birbirlerinin yerine kullanılabilen terimler olsa da aslında farklı kavramlardır. Fiziksel aktivite, istirahat enerji tüketiminden daha fazla enerji tüketimini gerektiren iskelet kaslarının kontraksiyonu tarafından oluşturulan egzersizi de kapsayan bedensel hareketlerdir. Egzersiz ise fiziksel dayanıklılığın bir veya daha fazla bileşenini muhafaza etmek veya pekiştirmek için yapılan planlı, yapılandırılmış ve tekrarlayıcı bedensel hareketlerden oluşan bir grup fiziksel aktivitedir.

Egzersiz ölçütü metabolik eşdeğer (MET) olarak ifade edilir. Bir MET, istirahatteki enerji tüketimine denk düşen yoğunluk birimidir. Üç MET fiziksel aktivite, hareket etmeden oturma esnasında harcanan enerjinin üç katı kadar enerji harcamaktır. MET-saat, yoğunluğun MET şeklinde hesaplandığı egzersiz hacminin saat cinsinden aktivite süresi ile çarpılması sonucu elde edilir.

### **Egzersiz Tipleri**

Egzersiz, tip açısından dayanıklılık (aerobik), kuvvet (rezistans) ve esneklik (fleksibilite) egzersizleri olarak üç ana gruba ayrılır. Yürüme, koşma, bisiklete binme, yüzme ve su aeroibiği dayanıklılık egzersizleri içinde yer alır. Büyük kas gruplarının ritmik, tekrarlayan ve aralıksız hareketlerle en az 10 dakika çalıştırılması dayanıklılık egzersizleri olarak tanımlanır. Kuvvet egzersizleri ise bir direnç yüküne karşı bir ağırlığı hareket ettirmek için kas gücünü kullanan aktivitelerdir. Ağırlık kaldırma veya ağırlık cihazları kullanılarak yapılan egzersizler kuvvet (rezistans) egzersizlerini oluşturur. Esneklik egzersizlerinde eklemlerde hareket açıklığını muhafaza etmek veya pekiştirmek için yapılan tipik olarak germe egzersizleridir.

### **Egzersiz Seansı Bileşenleri**

Egzersiz programı ısınma, dayanıklılık ve soğuma aşamalarından oluşur. Esneklik egzersizleri ısınma ve soğuma aşamalarında yapılabileceği gibi dayanıklılık egzersizinden farklı zamanda da yapılabilir. Kuvvet egzersizleri dayanıklılık egzersiziyle birlikte yapılabilir de genellikle ayrı olarak farklı günlerde yapılır. Isınma aşaması 5-10 dakika, dayanıklılık aşaması 20-60 dakika ve soğuma aşaması 5-10 dakika olmalıdır. Isınma ile kas-iskelet sistemi zedelenmeleri azalır. Ağır egzersizlerden önce yapılan ısınmanın ölümcül aritmilere ve ST segment depresyonuna bağlı ölümleri azalttığı da öne sürülmüştür. Dayanıklılık egzersizinde ulaşılması hedeflenen kalp hızının alt sınırına ulaşan progresif aerobik aktivite de ısınma olarak kabul edilebilir. Soğuma aşaması sayesinde kalp hızı ve kan basıncı istirahatteki düzeyine döner, venöz dönüş arttığı için egzersizden sonra hipotansiyon ve baş dönmesi olasılığı azalır, vücut ısısının dağılması kolaylaşır, laktik asit daha kolay uzaklaşır ve vücut egzersizden sonra plazma katekolaminlerinde oluşan artışın olumsuz etkileriyle mücadele eder. Katekolaminlerle mücadele özellikle kalp hastalığı buluna kişilerde ölümcül aritmilerin gelişimini azaltabilir. Bunu destekleyecek şekilde soğuma aşamasının ihmal edildiği durumlarda kardiyovasküler komplikasyonların arttığı belirlenmiştir. Bu durum muhtemelen kalp hızının ve oksijen ihtiyacının hala yüksek olduğu egzersizden hemen sonraki dönemde venöz dönüşte geçici azalma sonucu koroner kan akımında azalma olmasına bağlıdır (15).

### **Egzersiz Prensipleri**

Bir organ veya dokunun fonksiyonunun pekişmesi için alıştığı yükten daha fazla yüke maruz kalması gerekir. Tekrarlayan maruziyet sonucunda doku veya organın fonksiyonu gelişir. Bir egzersiz reçete edilirken egzersizin süresi, şiddeti ve sıklığı belirleyicidir. Bu üçlü

arasındaki etkileşim sonucunda doku veya organın uyum sağlayacağı birikici yük ortaya çıkar (15).

Fonksiyonu pekiştiren diğer bir unsur, egzersizin özgülüğüdür. Düşük-dirençli, sık tekrarlayan egzersizler aktif kaslarda mitokondri sayısında artış sonucunda kas gücünde oldukça hafif değişikliklere karşın kas dayanıklılığında artışa yol açar. Oysa ağır rezistans egzersizlerinde kas gücünde belirgin artışa karşılık kas dayanıklılığında artış çok az olur ya da hiç olmaz (15).

Egzersizin özgülüğüne bir başka örnek aynı maksimal oksijen tüketimi olarak bilinen “maximum oxygen volume per time” ( $VO_{2max}$ ) yüzdesinde ayarlanan farklı egzersiz modlarına verilen kardiyovasküler yanıtın farklı olmasıdır (15).

Maksimal oksijen tüketiminde en fazla artışı, büyük kas gruplarının ritmik ve aerobik olan aktivitelerden oluşan uzun dönemler halinde çalışması oluşturur. Yürüme, koşma, yüzme, bisiklete binme bu tip egzersizlere örnektir. Kişilerin adaptasyonu, ilgisi, becerisi ve klinik durumuna göre yapılacak egzersiz tipi seçilebilse de çoğu kişi için en kolay adapte olunan ve en kolay tolere edilen egzersiz yürüyüştür.

Kuvvet egzersizleri  $VO_{2max}$ 'ı arttırmada daha az etkindir; bu nedenle kardiyovasküler dayanıklılığı arttırmak için genellikle tavsiye edilen egzersiz tipi değildir. Ancak kas gücünü ve dayanıklılığını arttırmada, günlük aktivitelerin gerçekleştirilmesinde ve yağsız kitlenin muhafaza edilmesinde veya artmasında kuvvet egzersizleri faydalıdır.

### **Egzersiz Yoğunluğu**

Egzersiz yoğunluğu ve süresi bir egzersiz seansı sırasında harcanan toplam enerjiyi belirler ve harcanan enerjiyle ters orantılıdır. Egzersiz yoğunluğu “maximum heart rate”e ( $HR_{max}$ ), “volume of oxygen reserve per time”a ( $VO_2R$ ) veya “heart rate reserve”e (HRR) göre belirlenebilir.  $HR_{max}$ 'ın %55-90 olması,  $VO_2R$  veya HRR'nin %40-85 olması hedeflenir.

Oksijen alım rezervi ( $VO_2R$ ),  $VO_{2max}$ 'tan istirahattetki oksijen tüketiminin ( $VO_{2istihabat}$ ) çıkarılmasıyla elde edilir. Benzer şekilde HRR de  $HR_{max}$  ile istirahatteki kalp hızı arasındaki farktır. Özellikle dayanıklılığı düşük olan kişilerde HRR'ye göre hedef  $VO_{2max}$ 'ın hesaplandığı egzersiz reçetesini verirken  $VO_2R$ 'nin kullanılması daha doğru bir sonuç verir. Yinde de bir %  $HR_{max}$  veya % HRR değerini %  $VO_{2max}$ 'a çevirirken  $\pm 6$ 'lık bir hesap standart hatası vardır. Eğer ölçülen HR'den ziyade  $HR_{max}$  kullanılacak olursa bu tahmindeki hata, hesaplanan hedef HR'ye aktarılacaktır. Bir kişi egzersize başlarken bu durum göz önüne alınmalıdır.

Kardiyovasküler dayanıklılığın muhafazası veya artırılması için egzersiz yoğunluğunun geniş aralıkta olması kişinin dayanıklılığı ile bağlantılıdır. Dayanıklılığı az olan veya diğer bir deyişle kondisyonsuz bir kişide sadece %40-49 HRR ile veya %55-64  $HR_{max}$  ile kardiyovasküler dayanıklılıkta artış olur. Fiziksel olarak aktif olan bir kişide bu aralığın üst sınırına yakın hedef seçilmelidir. Bu durumda %70-85  $HR_{max}$  veya %60-80 HRR hedeflenmelidir.

Daha önce vurgulandığı gibi bu yoğunluktaki egzersiz uygun sıklıkta ve uygun süre yapılırsa kardiyovasküler dayanıklılık artar. Yüksek yoğunluktaki egzersiz programlarına uyum daha kötüdür ve ortopedik yaralanma riski daha yüksektir. Hedef kalp hızı tanımlanırken beta bloker ve non-dihidropiridin gibi kalp hızını etkileyen ilaçların kullanılıp kullanılmadığı önemlidir.

### **Egzersiz ve Kardiyovasküler Dayanıklılık**

Fiziksel dayanıklılığı belirleyen kardiyorespiratuvar dayanıklılık, kas dayanıklılık ve kas gücü ile esnekliktir (fleksibilite). Egzersizin şiddeti kişinin kardiyorespiratuvar dayanıklılık düzeyine göre belirlenir. Kardiyorespiratuvar dayanıklılık ya da diğer adıyla aerobik dayanıklılık, sürekli fiziksel aktivite esnasında dolaşım ve solunum sistemlerinin oksijen sağlama yeteneğidir. Kardiyorespiratuvar dayanıklılığı ölçmenin altın standardı, standart koşu bandı veya bisiklet ergometresinde yapılan egzersiz esnasında  $VO_{2max}$ 'ın ölçülmesidir. Standart koşu bandı veya bisiklet ergometresi protokollerinde indirekt kalorimetre kullanılmadan da kardiyorespiratuvar dayanıklılık dereceli maksimal egzersiz testiyle doğru şekilde hesaplanabilir. Orta yoğunluktaki aerobik egzersizde %40-60  $VO_{2max}$ 'a ulaşılırken ağır aerobik egzersiz için bu rakam %60'tan fazladır. Ölçümlerde  $VO_{2max}$ 'ın %40-60'ına ulaşıldığında maksimum kalp atım hızının %50-70'ine ulaşılmış demektir.  $VO_{2max}$ 'ın %60'tan fazla olması maksimum kalp atım hızının %70'inden daha fazlasına ulaşıldığını gösterir. Orta yoğunluktaki fiziksel aktivite 3-6 MET'e eşdeğerdir (15).

Musküler dayanıklılık, bir kasın ortaya çıkardığı güç miktarı (kas gücü) ve kasların yorulmaksızın çalışmaya devam etmesi (musküler dayanıklılık) anlamına gelir. Esneklik (fleksibilite), eklemlerde hareket açıklığı olarak tanımlanır.

### **Egzersiz ve Hormonal Kontrol**

Aerobik egzersiz sırasında yakıt tüketimi temel olarak nöroendokrin sistem tarafından kontrol edilir. Egzersiz sürekli ise insülin salınımı azalır ve glukagon, katekolamin ve kortizol artar. Amaç yakıt olarak kullanılacak glukozun elde edilebilirliğini arttırmaktır. Orta dereceli



egzersizde kastaki glukoz alımı ile endojen glukoz üretimi eşleşir. Hafif ve orta dereceli egzersizde endojen glukoz üretiminin uyarılmasında insülin ve glukagon önemli rol oynar. Glukagondaki artış glikojenolize ve glukoneogeneze neden olur. Glukagon ayrıca hepatik amino asit metabolizmasını ve yağ oksidasyonunu uyararak glukoneogenezin öncülerini temin eder ve bu teminatın gerçekleşmesi için gerekli enerjiyi sağlar. Tam bir glikojenolitik yanıt için egzersiz sırasında insülin salınımının azalması gereklidir. Aksine çok yoğun aerobik egzersizde ( $VO_{2max}$ 'ın  $>80\%$ 'i) katekolaminlerin rolü daha önemlidir. Bu durumda norepinefrin ve epinefrin 15 kat artarken endojen glukoz üretimi genç sağlıklı kişilerde 7 kat artar. Sonuçta yoğun egzersiz sırasında adacık hücreleri dışındaki nöroendokrin hormonların etkisini görmek için adacık klempı yapıldığında glukagonun insüline oranı artmadığı halde glukoz üretimi tıpkı klempsiz durumdaki kadar artar. Yoğun aerobik egzersizde glukozu arttıran glukagon değil katekolaminlerdir. Normal kişilerde çok yoğun egzersiz seansının hemen bitiminde plazma insülin düzeyi egzersiz sırasındaki düzeyin iki katına çıkar. Böylece bir saat içinde glisemi düzeyi başlangıçtaki düzeye gelir. Tip 1 DM'de endojen insülin olmadığından egzersizden sonra insülin artamaz ve çok yoğun egzersizden sonra saatler boyu süren hiperglisemi görülür. Hafif-orta düzeyde glukoz düzeyi yüksek olan Tip 2 DM'liler ise bozulmuş glukoz çıkımı nedeniyle egzersiz sırasında glukozda azalma yaşayabilir. Postprandiyal yapılan yoğun egzersizin glukoz ve insülin düzeylerini azaltma derecesi orta şiddetteki egzersizle aynıdır (15).

Orta düzeyde egzersizle yağ oksidasyonu yaklaşık 10 kat artar. Nedeni artan enerji tüketimiyle birlikte daha fazla yağ asidinin ulaşılabilir olmasıdır. Yağ asidindeki ulaşılabilirliği etkileyen ise lipolizdeki artış ve nonesterifiye yağ asitlerinin (NEFA) trigliseridlere reesterifikasyonunda azalmadır. İnsülin ve katekolaminler, adipoz dokudan akut NEFA salınımını düzenler. Egzersizin neden olduğu insülinde azalma önlenirse NEFA düzeylerindeki artış da önlenir. Egzersizle hem katekolaminler artar hem de adipositlerin  $\beta$  adrenerjik etkiye yanıt olarak lipolitik yanıt şeklindeki duyarlılığı artar. Sadece intraabdominal değil intramusküler adipositler de önemli bir enerji kaynağıdır. Obez Tip 2 DM'lilerde ve sağlıklı kişilerde egzersiz esnasındaki yağ metabolizması birbirinden farklıdır. Obez Tip 2 DM'lilerde plazma serbest yağ asitleri azalırken intramusküler trigliseridlerin kullanımı artar. Kilolu olmayan Tip 2 DM'lilerde ise egzersize karşı böyle bir adaptasyon yoktur. Egzersizle kastaki adenosin monofosfatın (AMP) artmasını algılayan AMP kinaz enzimi uyarılır ve sonucunda kas hücre yüzeyine doğru en önemli glukoz taşıyıcısı olan "glucose transporter-4" (GLUT4) translokasyonu artar. Böylece glukoz alımı artar. Ek olarak

kas kontraksiyonuyla birlikte kastaki NO sentezinin artması sonucu NO'nun aracılık ettiği glukoz alımında artış olur.

Egzersiz tamamlandıktan sonra bile glukoregölasyon üzerinde önemli etkileri olan çeşitli adaptasyonlara neden olur. Kasta glikojen depolarının yenilenmesi gerçekleşir. Bunu insülinin etkisinin devam etmesi yoluyla glukoz alımını ve glikojen sentazı arttırarak yapar. Benzer şekilde karaciğerde de egzersizden sonra glukoz alımı ve glikojen sentezi artar. Hem kas hem karaciğer egzersizden sonra insüline karşı daha duyarlı olur. Egzersizden sonra söz konusu organlara alınan glukozun büyük bir çoğunluğu oksidatif olmayan yoldan metabolize olur.

Sonuç olarak düzenli egzersizle pankreasın  $\beta$  hücrelerinden salınan bazal ve glukozla uyarılmış insülin düzeyleri azalır. Bunu iki yolla yapar: proinsülin "messenger" RNA'da (mRNA) azalma ve pankreasta glukoz algılanması için gereken glukokinazın mRNA'sında azalma.

Kronik egzersize metabolik adaptasyon egzersizin yoğunluğu, süresi, sıklığı ve biçimi gibi parametrelere ve hastalık varlığı, dayanıklılık ve genetik belirleyiciler gibi bireyin özelliklerine bağlıdır.

## **EGZERSİZ ve DİYABET**

Aerobik egzersizle hemoglobin A1c'de (HbA1c) düşme olduğu ve bu düşmenin kilo kaybından bağımsız olduğu bildirilmektedir (16).

Egzersizin glisemi kontrolü üzerindeki etkisi her ne kadar istatistiksel ve klinik olarak belirgin olsa da harcanan çabaya ve zamana göre ılımlı kabul edilebilir. Üstelik benzer düzeyde glisemi kontrolü tek bir oral hipoglisemik ajanla elde edilebilir. Ayrıca kan basıncı ve lipidler üzerindeki etkisi de ılımlıdır. Bununla birlikte aerobik egzersizi düzenli yapan diyabetik kişilerde kardiyovasküler ve genel mortalite oranları, glukozda düşmeyle açıklanamayacak şekilde düşmektedir.

Egzersizin kardiyovasküler sağlık üzerine olan olumlu etkilerine aracılık eden potansiyel mekanizmalar arasında sistemik inflamasyonda azalma, erken diyastolik dolumda düzelme (diyastolik disfonksiyonda azalma), endotelial vazodilatör fonksiyonda düzelme ve abdominal viseral yağ birikiminde azalma yer alır.

Egzersiz seansının insülin duyarlılığına olan etkisi 24-72 saat sürdüğünden, iki ardışık günden daha uzun süre aerobik egzersize ara verilmemesi önerilir. Düzenli egzersizin olumlu etkisi kilo kaybından bağımsızdır (2).

Hedeflenen amaca göre önerilen aerobik egzersizin miktarı ve yoğunluğu değişir. Glisemik kontrolü sağlarken kilonun muhafaza edildiği ve KVH riskinin azaldığı durum için en az haftada 150 dakika orta yoğunlukta ( $VO_{2max}$ 'ın %40-60'ı veya  $HR_{max}$ 'ın %50-70'i) aerobik egzersiz veya en az haftada 90 dakika şiddetli yoğunlukta ( $VO_{2max}$ 'ın >%60'ı veya  $HR_{max}$ 'ın >%70'i) aerobik egzersiz önerilir. Aerobik egzersizin haftada en az 3 gün, egzersiz seansları arasında ardışık iki günden fazla ara olmayacak şekilde yapılması önerilir. Delil düzeyi çok kuvvetlidir (delil düzeyi A). Haftada  $\geq 4$  saat orta veya şiddetli aerobik egzersiz ise daha düşük yoğunlukta egzersize göre KVH riskinde çok daha fazla azalmayla ilişkilidir. Delil düzeyi glisemik kontroldekine göre daha zayıf olmakla birlikte yine de kuvvetlidir (delil düzeyi B). Majör kilo kaybı olarak tanımlanan  $\geq 13.6$  kg kaybın uzun vadeli muhafazası için haftanın her günü orta-şiddetli yoğunlukta aerobik egzersiz gerekir. Delil düzeyi yine B sınıfıdır.

Otonom nöropatisi olanlarda sessiz iskemi, postüral hipotansiyon, kalp hızı cevabında küntleşme nedeniyle dikkatli olunmalıdır. Yine bu hastalarda susuzluk algılaması bozulduğundan dehidratasyona dikkat edilmeli; ayaklardaki terleme kusurlarının distrofik turnak değişiklikleri, periferik sensorimotor nöropati, eklem deformasyonları ile birlikte ayakta diyabetik yara gelişimini kolaylaştırabileceği akılda tutulmalıdır.

### **ATEROSKLEROZ ve ENDOTELYAL DİSFONKSİYON**

Kardiyovasküler hastalık, ateroskleroz ve koagülasyonda artış sonucu gelişir. Ateroskleroz temel olarak büyük damarların hastalığı olmakla birlikte mikrodolaşımda da fonksiyonel değişiklikler yapar. Arterlerde aterosklerotik değişiklikler oluşmadan önce KVH'nin erken belirteci olarak endotelyal disfonksiyon görülür. Yaşla birlikte endotelyal fonksiyon bozulur (4).

Ateroskleroza katkıda bulunan ana hücre tipleri endotelyal hücreler, vasküler düz kas hücreleri, fibroblastlar, lökositler (özellikle monosit ve nötrofiller) ve plateletlerdir (4). Ateroskleroz, endotelyumun hemen altında yer alan intimayı temel olarak tutar. Endotelyum, kan ve vasküler duvar düz kası arasındaki yerleşimi nedeniyle kritik öneme sahiptir. Endotelyum, metabolik olarak oldukça aktif bir organdır. Çok sayıda otokrin ve parakrin madde salgılayarak vasküler homeostazda anahtar rol oynar. Bu maddeler ya doğrudan endotel tarafından salgılanırlar ya da hastalık esnasında endotel yüzeyinden elde edilirler. Serum ya da plazmada "enzyme linked immuno-sorbent assay" (ELISA) yöntemiyle ölçülürler. Prokoagulan olan doku plazminojen aktivatör inhibitör I, doku plazminojen aktivatör, von Willebrand faktörü, faktör V; antikoagulan yüzeyi sağlayan trombomodulin

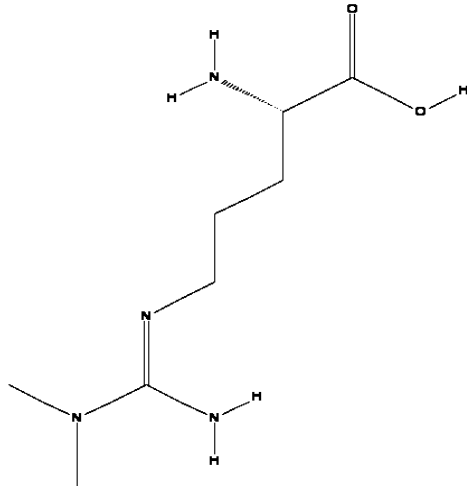
[“cluster of differentiation” (CD) 141], NO, CD 39, prostoglandin I<sub>2</sub>; NO'nun tam aksi yönünde faaliyet (vazokonstriksiyon, vasküler düz kasta çoğalma ve enflamasyon) yapan endotelin-1 ve tromboksan A<sub>2</sub>; E-selektin, P-selektin, vasküler adezyon molekülü-I, interselüler adezyon molekülü-I ve vasküler endotelial büyüme faktörü bu maddeler arasında yer alır (4).

### **“Nitric Oxide” ve Asimetrik Dimetilarginin**

Endotelden elde edilen maddeler arasında en anti-aterojenik olanı endotelium tarafından NOS enzimi aracılığıyla bir yarı-esansiyel aminoasit olan L-argininden üretilen NO'dur. Dolaşımdaki yarılanma ömrü çok kısadır ve kararsızdır. Özellikle endotelium kökenli NO hem altta bulunan vasküler düz kasın tonusunu ayarlar hem de monosit ve platelet adezyonu, düşük dansiteli lipoproteinlerin oksidasyonu, inflamatuvar sitokinlerin sentezi gibi çok sayıda proaterojenik süreci inhibe eder. Sonuçta önemli anti-aterojenik etkiler ortaya çıkar. Ayrıca NO insulin duyarlılığını artırır (15).

L-arginin, NO üretiminde substrat görevinin yanı sıra protein oluşumu, yara iyileşmesi, endokrin işlevler ve erektil işlevde de rol alır. Esansiyel olmama nedeni de novo olarak glutamin, glutamat ve pirolinden üretilmesidir. Ancak plazma düzeyinden esas sorumlu olan diyetle alınan L-arginindir. Sağlıklı kişilerde 40-100 µmol/L'dir (µM) (17).

Metillenmiş proteinin yıkılması sonucu oluşan ve bir L-arginin metaboliti olan ADMA (Şekil 1) veya diğer adıyla NG-NG dimetil arginin, ana endojen NOS inhibitörüdür (18). Moleküler ağırlığı 202.25 g.'dır. ADMA, “dimethylarginin dimethylaminohydrolase” enzimi (DDAH) tarafından parçalanır. Çalışmalarda ADMA ile birlikte L-arginin düzeyleri de ölçülür. ADMA serum düzeyleri, plazma düzeylerinden %60-70 daha yüksektir. ELISA ile ölçülen değerler, ölçümde altın standart olan yüksek performanslı likit kromatografi (HPLC) ile ölçülenlerden daha yüksektir (17). Son derlemelerde sağlıklı kişilerde normal ADMA düzeyleri 0.4-0.6 µM olarak verilse de literatürde 2.42 µM'ye ulaşan değerler de vardır (17). ADMA, yaşlanmayla birlikte artış gösterebilir (19).



**Şekil 1.** Asimetrik dimetilarginin bileşiğinin yapısı (20)

Asimetrik dimetilarginin dışında bir diğer dimetilarginin (DMA) bileşiği de simetrik dimetilarginindir (SDMA). ADMA NOS'u inhibe ederken SDMA, argininin hücre içine alımıyla yarışır, NOS'u inhibe etme gücü yoktur. SDMA'nın da tıpkı ADMA gibi vasküler hastalıkla ilişkili olduğuna dair yayınlar vardır (17). ADMA'ya göre SDMA renal yetersizlikle daha belirgin ilişki içindedir (17).

L-arginin/ADMA oranı, NO üretimini gösterir (21). Literatürde taranan çalışmalardan yapılan bir analizde sağlıklı erişkinlerde ortalama L-arginin/ADMA oranı 54.3-227 olarak bildirilmiştir (17).

Bir çalışmada, 1 µg/dakika hızında infüzyonla verilen ADMA'nın endoteliuma bağımlı akım yanıtını belirgin düzeyde bozduğunu gösterilmiştir (21). Diğer in vitro çalışmalarda da 1-10 µg/L (4-40 µM) düzeyindeki ADMA derişimlerinin NOS-1, 2 ve 3 aktivitesini belirgin düzeyde azalttığı bulunmuştur (22).

Plazma ADMA düzeyleri hiperkolesterolemi, ateroskleroz, hipertansiyon, kronik renal yetersizlik, kronik kalp yetersizliği ve sigara içimi gibi endotelial disfonksiyonla ilişkili pek çok durumda artar (6,23). Ayrıca Tip 2 DM'de ADMA 2-3 kat artar (18,24). ADMA artışının belirlendiği bu klinik durumlarda L-arginin düzeyleri ise normal sınırlar içinde kalır [40-100 µmol/L (µM)]. Diğer bir deyişle bu olgularda L-arginin/ADMA oranı azalır (17). Adı geçen klinik durumlardaki ortalama L-arginin/ADMA oranı 17.6-194'tür.

Sağlıklı ve hasta kişilerde ADMA değerlerindeki çakışma nedeniyle L-arginin/ADMA oranının ölçülmesi tavsiye edilmektedir (17). Bu oran, NO üretimini gösterir (25). ADMA/SDMA oranı ise DDAH aktivitesini gösterir (24). L-arginin/SDMA oranı ise renal

yetersizliğin bir göstergesidir (26). L-arginin ile reabsorpsiyon için yarışan SDMA, renal yetersizlikteki değişen oranlardan sorumludur.

Diyabetik vasküler komplikasyonların patogeneğinde yer alan reaktif oksijen türlerinin yeni bir üyesi olarak düşünülen ADMA, NOS blokajından bağımsız olarak renin-anjiyotensin sistemini yukarıya regüle edebilir (27).

Anjiyotensin reseptör inhibitörleri (ACEİ), ADMA düzeylerini azaltabilir (18,27,28). Bu durum, kan basıncını düşürücü etkisinden bağımsızdır (18). Tip 2 DM'lilerde anjiyotensin reseptör blokerlerinin (ARB) ADMA üzerine etkisi konusunda çelişkili çalışmalar vardır (29,30). Yağdan zengin diyetin hem sağlıklı kişilerde hem tip 2 DM'lilerde endotelyum bağımlı vazodilatasyonu azalttığı belirlenmiştir (22). Yağdan zengin diyet Tip 2 DM'de ADMA düzeylerini ikiye katlayabilir (18,22). Yine tedavi almamış Tip 2 DM'de ADMA düzeyleri, hipertansiyonda ve hiperkolesterolemide eşleşmiş kontrollere göre iki katına çıkabilir (31). Hatta bu düzeylerin, kültüre edilmiş endotelial hücrelerde proinflamatuvar etki gösterdiği saptanmıştır (32,33).

Asimetrik dimetilargininde artış; endotelyuma bağımlı NO aracılı vasodilatasyonda bozulma, plateletlerin hiperagregabilitesi ve monosit adezyonunda artış ile ilişkilidir (34).

“Nitric oxide synthase”; insüline duyarlı dokular olan iskelet kası, karaciğer ve adipoz dokuya kan akımını artırır. İnsülin direncinde NOS aktivitesi azalır. NOS inhibe olduğunda iskelet kasına besin maddelerinin mikrovasküler yapıyla ulaşması bozulur ve insülinin uyardığı glukoz alımı körelir. Deneysel çalışmalarda NOS inhibitörü verildiğinde hipertansiyonun geliştiği ve insülin direncinin olduğu görülmüştür. Hatta normotansif ve diyabetik olmayan insanlarda, plazma ADMA düzeyleriyle insülin direnci arasında pozitif ilişkili bulunmuştur (5). İnsülin duyarlılaştırıcı ajanlar olan tiazolidinedionlar ve metformin plazma ADMA düzeylerini azaltır (21,31,35). Ancak bu katkının ne kadarının glisemik kontrole ait olduğu bilinmemektedir.

Diyabetik retinopatisi bulunan Tip 2 DM'lilerde ADMA düzeyleri yüksek bulunmuştur (27,36). Diyabetik retinopati ve nefropati sıklıkla birlikte bulunan mikrovasküler komplikasyonlar olduğu için bu durum nefropatiyle ilişkili olabilir. Özetle ADMA'nın ateroskleroza yol açan çok sayıda metabolik bozuklukla birliktelik gösteren Tip 2 DM'de de rolü vardır. Ancak ADMA'nın düzenli egzersizde gösterdiği değişim sadece Tip 1 DM'li hastalarda araştırılmıştır. Düzenli egzersiz esnasında azaldığı ancak program bırakıldıktan aylar sonra bu faydanın kaybolduğu izlenmiştir (7).

### **Asimetrik Dimetilarginin ve Egzersiz**

Egzersiz esnasında vasküler yatağın fonksiyonlarında değişiklikler olur. Bu değişikliklerden sorumlu sistemlerden birisi de NO'nun rol aldığı yolaklardır. Sağlıklı kişilerde orta yoğunlukta akut egzersizden sonra ön kol akımı yöntemi ve bir NOS inhibitörü olan NG-monometil-L-arginin (L-NMMA) kullanılarak dolaylı yoldan yapılan değerlendirmede NO'nun arttığı tespit edilmiştir (37). Sekiz haftalık şiddetli yoğunlukta egzersizin sağlıklı kişilerde NO'nun stabil son ürünü olan nitrit/nitrattaki artışa yol açtığı ve bu etkinin egzersiz bırakıldıktan 4 hafta sonra dahi devam ettiği, 8. haftada ise egzersizden önceki başlangıç düzeyine döndüğü belirlenmiştir (38).

“Nitric oxide” inhibitörü olan ADMA düzeyinde egzersizle olan değişim farklı hasta gruplarında araştırılmıştır. ADMA, düzenli egzersiz ile metabolik sendromlu kişilerde azalır (39). Egzersizle ADMA düzeyinde görülen azalma, kalp yetersizliği bulunan kişilerde elde edilememiştir (40). DM'ye bakıldığında ADMA'nın düzenli egzersizde gösterdiği değişim, sadece Tip 1 DM'li hastalarda araştırılmıştır. Düzenli egzersiz esnasında azaldığı ancak program bırakıldıktan aylar sonra bu faydanın kaybolduğu izlenmiştir (7).

Tip 2 DM tedavisi için önemli olan egzersiz, hem kilo kaybı aracılığıyla hem de bundan bağımsız olarak endotel fonksiyonunun belirteçlerini gerek hemen egzersiz sonrasında, gerek bir egzersiz programını takiben uzun vadeli süreçte etkileyebilir. Günümüzde endotel fonksiyonuna ait yeni biyokimyasal belirteçler ortaya çıktıkça bunların rolü de araştırılmaktadır. ADMA bu yeni belirteçler arasındadır. Tip 2 DM'li kişilerde ADMA düzeylerinin egzersizin hemen ardından ve düzenli egzersiz programının ardından değişiklik gösterip göstermediği ve kilodan bağımsız olarak egzersizin hangi düzeyde etkili olduğu henüz araştırılmamıştır.

Bu çalışmada amaç, kardiyovasküler hastalık sıklığının arttığı Tip 2 DM hastalarında ve diyabeti olmayan kontrol grubunda, endotelial disfonksiyonun biyokimyasal belirteçlerden ADMA'nın ve NO sentezi sistemine etkili diğer iki molekül olan SDMA ve L-argininin egzersizle olan ilişkisini incelemektir.

## GEREÇ VE YÖNTEMLER

### HASTALAR ve PROTOKOL

Çalışma protokolü için Trakya Üniversitesi Yerel Etik Kurulundan onay alındı; onay yazısı ekte sunulmaktadır (Ek 1). Katılımcılardan alınan bilgilendirilmiş onam form örneği de ekte sunulmaktadır (Ek 2).

Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Endokrinoloji ve Metabolizma Bilim Dalı'na başvuran kriterlere göre Tip 2 DM tanısı alan 36 kadın hasta (DM grubu) ve 44 sağlıklı kadından oluşan kontrol grubu (K grubu) çalışmaya dahil edildi (9). Tüm katılımcıların tıbbi öyküsü sorgulandı ve fizik muayenesi yapıldı. Çalışmaya dahil edilen tüm katılımcılar aşağıda belirtilen kriterleri karşılamaktaydı.

Sağlıklı kontrol grubunu, bilinen sistemik hastalığı (DM, karaciğer sirozu, kronik hepatit, kronik böbrek yetersizliği, hipo-/hipertiroidizm, hipertansiyon, romatolojik hastalıklar, malignensi) ve kronik ilaç kullanımı olmayan kadın gönüllüler oluşturdu. Bu kişilerin son bir yıl içinde yapılan üre, kreatinin, "alanine aminotransferase" (ALT), "aspartate aminotransferase" (AST) ve tiroid fonksiyon testleri normal sınırlar içerisindeydi. Fizik muayenelerinde özellik yoktu. Sağlıklı grupta DM tanısını dışlamak için 75 g glukozla OGTT yapıldı. Açlık glukozu  $\geq 100$  mg/dL olanlar ve/veya 2. saat ölçümünde glukozu  $\geq 140$  mg/dL olanlar grup dışı tutuldular. Ayrıca tansiyon ölçümünde sistolik kan basıncı 140 mmHg'nin üzerinde olanlar ile diyastolik kan basıncı 90 mmHg'nin üzerinde olanlar da çalışmaya dahil edilmedi.

Diyabetik grupta steroid, insülin, nebivolol ve nitrat kullananlar dışlandı. Antihipertansif kullananlar ve tansiyon ölçümünde sistolik kan basıncı  $\geq 140$  mmHg olanlar ile diastolik kan basıncı  $\geq 90$  mmHg olanlar hipertansif olarak kabul edildi. Kan basıncı



160/90 mmHg'nin üzerinde olanlar, proliferatif diyabetik retinopatisi olanlar ve son bir yıl içinde yapılmış 24 saatlik idrarda mikroalbuminürisi  $\geq 300$  mg/gün olanlar, kas-iskelet sistem hastalığı, periferik arter hastalığı bulguları (klodikasyo ve/veya periferik nabızların alınamaması), kronik renal hastalığı (24 saatlik idrarda kreatinin klirensi  $< 30$  ml/dakika) ya da karaciğer yetmezliği olanlar çalışmaya dahil edilmedi.

Sigara kullanımı ve premenopoz-postmenopoz durumu belirlendi. Son bir yıldır menstürasyon görmeyenler menopozda kabul edildi. Çalışmaya katılan tüm olguların kan basıncı değerleri, boy, kilo, bel çevresi ve kalça çevresi ölçüldü. VKİ değeri ( $\text{kg/m}^2$ ) ve bel-kalça oranları hesaplandı.

Serum üre, kreatinin, total kolesterol, yüksek dansiteli lipoprotein (HDL), Friedewald yöntemi kullanılarak hesaplanan düşük dansiteli lipoprotein (LDL) değerleri, kimyasal immün ölçüm yöntemiyle ölçülen insülin düzeyleri kaydedildi (41). İnsülin direnci, homeostatik model değerlendirme (HOMA-R) formülü  $\{[\text{açlık kan glukozu (mg/dL)} - \text{açlık insulini (mU/mL)}] / 405\}$  kullanılarak hesaplandı (42).

### **EGZERSİZ REÇETESİNİN HAZIRLANMASI ve EGZERSİZ PROGRAMI**

Her iki grup da son üç aydır düzenli egzersiz programına katılmamış kişilerden oluştu. DM grubundan 14 ve K grubundan 19 kişi Fizyoloji Anabilim Dalında planlanan 12 seanstan oluşan düzenli egzersiz programına (E+) alındı. Programa katılmayı kabul etmeyen kişilerin (E-) günlük aktiviteleri serbest bırakıldı. Programa düzenli olarak katılmayan kişiler çalışmadan çıkarıldı.

Katılımcıların egzersiz öncesi değerlendirmelerinde istirahat kalp hızı, kan basıncı düzeyi ve bioimpedans yöntemiyle (Tanita Model 300, Tokyo, Japonya) yağ yüzdesi belirlendi. Egzersiz yoğunluğunu belirlemek amacıyla  $\text{VO}_{2\text{max}}$  düzeyleri bisiklet ergometresinde Astrand Bisiklet Ergometre Testine alındı. Bu test yardımıyla kişilerin submaksimal düzeyde egzersiz yapmaları sağlandı ve  $\text{VO}_{2\text{max}}$  düzeyleri belirlendi. Test sırasında kişiler bisiklet ergometre pedalını beş dakika veya kalp atım sayısı arka arkaya iki dakika aynı sayıda veya iki kalp atım sayısı arasındaki fark en fazla dört atım oluncaya kadar çevirdi. Elde edilen değerler Astrand tablosunda incelenerek, oksijen tüketimi belirlendi. Katılımcıların fiziksel iş kapasitesinin düşük olması gözönüne alınarak, iş yükü 1 kilopond (kp) ve 50 dakika devirde (rpm) yük 300 kilopond metre (kpm) olarak belirlendi. Kırk yaş üzerindeki deneklerin kalp hızı 150 atım/dakikayı aşması durumunda teste devam edilmedi. Yük, kadınlarda 600 kpm'nin üzerine çıkarılmadı. Egzersiz testi, Fizyoloji Anabilim Dalı'nda özel ayrılmış 20 m<sup>2</sup>'lik bir bölüm içinde bağımsız, sıcaklık ve nem ayarı ölçülebilen,

elektrokardiyografi cihazı ve resüsitasyon ekipmanı mevcut olan spor fizyolojisi laboratuvarında Monark 894-E ergometre ve bağlantılı olduğu bilgisayar donanımı kullanılarak yapıldı.

Test sonrası kişilere dört haftalık egzersiz programı verildi. Programa, egzersiz yoğunluğu kişisel olarak belirlenen  $VO_{2max}$  düzeyinin %40'ı olacak şekilde, günde 40 dakika, 3 gün/hafta sıklıkta yürüyüş egzersizi olarak başlandı. Katılımcılar egzersiz dönemi süresince EKG monitörizasyonu olmaksızın takip edilerek egzersize uyum sağlayan kişilerde egzersiz yoğunluğu artırıldı. Bu nedenle bu çalışmada orta yoğunlukta egzersiz programının uygun olacağı düşünüldü. Çalışmada, egzersiz programına başlandıktan sonra, egzersiz yoğunluğu haftada bir yavaş yavaş (%10 kadar) artırılarak,  $VO_{2max}$  düzeyinin %60'ına ulaşılması hedeflendi (37).

### **EGZERSİZ TOLERANS TESTİ**

En sık kullanılan protokol olan Bruce protokolü uygulandı (43). Hastalar egzersiz kardiyograma bağlandı. Oniki derivasyonlu elektrokardiyogram izlemiyle sürekli olarak HR ve ST-T dalgası değişiklikleri izlendi. Aralıklı olarak elektrokardiyogram kaydı yapıldı. Teste başlarken ve her aşamada kan basıncı ölçüldü. Toplam 21 dakika süren test, her biri 3 dakika süren 7 aşamadan oluştu. Hastalar 1. aşamada 2.7 km/saat hızla %10 eğimde teste başladılar. Bu aşamanın enerji tüketimi 4.8 MET'e tekabül etmektedir. Her aşamada eğim ve hız artırıldı. Test bittikten sonra 15 dakika daha elektrokardiyogram izlemi yapılarak toparlanma evresi gözlemlendi. Egzersiz sırasında ulaşılan en yüksek kalp hızının egzersizin durdurulmasından sonraki 1 dakikadaki azalması olarak tanımlanan HRR, istirahatın 1. dakikasındaki kalp hızından  $HR_{tepe}$ 'nin çıkarılması ile hesaplandı. HRR'nin >12 atım/dakika olması normaldir. Kronotropik indeks (Kİ), ise şu şekilde hesaplandı:  $[(HR_{tepe}-HR_{istirahat})/(220-yaş-HR_{istirahat})]$ .

### **ASİMETRİK DİMETİLARGİNİN, SİMETRİK DİMETİLARGİNİN ve ARGİNİN DÜZEYİNİN ÖLÇÜMÜ**

Çalışma başlangıcında tüm katılımcılardan ADMA, SDMA ve L-arginin ölçümü için bir gecelik açlık sonrası sabah 08:30-09:00 da antekubital venden alınan kan örnekleri, etilen daimin tetra asetik asit (EDTA) içeren tüplere kondu. Düzenli egzersiz programına alınan kişilerde ilk egzersiz seansından sonraki 15 dakika içinde dinlenme fazında tekrar örnek alındı. Egzersiz programına göre son seanstan hemen sonraki 15 dakika içinde ölçüm tekrarlandı. Egzersiz yapmayan grupta da bir ayın sonunda örneklemeler tekrar yapıldı.

Böylece egzersiz yapanların verileri akut ve kronik egzersiz açısından diyabetik-diyabetik olmayanlar arasında karşılaştırıldı. Öte yandan egzersiz yapan grubun verileri egzersiz yapmayan grup verileriyle karşılaştırıldı. Örnekler 30 dakika içinde 5000 devirde 5 dakika santrifüj edildikten sonra süpernatant kısmı poliprolin tüplerde -80 °C’de saklandı.

Asimetrik dimetilarginin için Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı laboratuvarında HPLC yöntemi kullanılarak ölçüm yapıldı. ADMA ve OGTT ölçümleri Trakya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri bölümünce karşılandı. L-arginin ve SDMA, standartları ADMA kitinin bir alt grubu olarak mevcuttu.

### **Kullanılan “High Performance Liquid Chromatography” Yöntemi**

**1. Donanım:** ADMA düzeyleri Waters Alliance 2690 XE separation module ve Model 474 fluorescence dedektör ve Millennium 32 Software kullanılarak ölçüldü. Örnekler solid faz ekstraksiyonu (20 kolon kapasiteli vakum manifoldlu SPE, Waters) uygulandı.

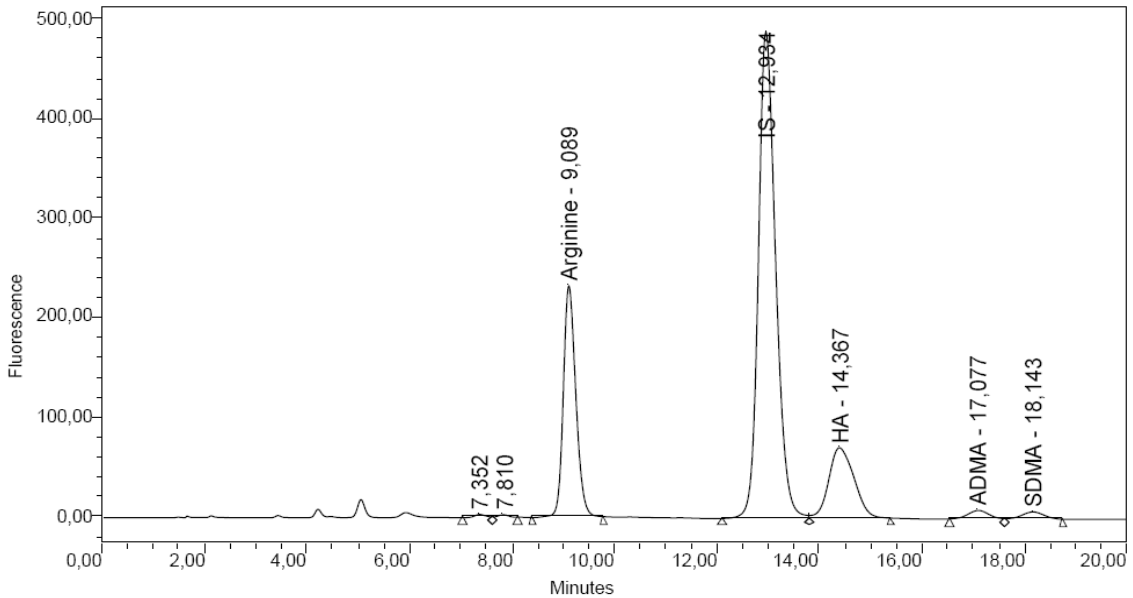
**2. Standart solüsyonlar:** Kalibrasyonda kullanılmak üzere 10 mM HCl içinde 100 µM L-arginin ve 10 µM homoarginin, ADMA ve SDMA içeren bir kombine *çalışma standardı* oluşturuldu. Gerek kalibratörlere gerek örnekler eklenmek üzere, 1mM’lık bir monometil arjinin (MMA) internal standart stok çözeltisi 10 mM HCl içinde hazırlandı ve bu çözelti PBS (10 mM sodyum fosfat, 140 mM NaCl, pH 7.0) ile seyreltilerek, 40 µM MMA içeren bir internal standart çalışma standardı hazırlandı.

**3. Derivatizasyon reageni:** On (10) mg *orto*-ftaldialdehid (OPA) 0.2 ml metanol içinde çözüldürülüp, 1.8 ml 200 mM potasyum borat tampon (pH 9.5) ve 10 µl 3-merkaptopropionik asit eklenerek bir stok çözelti elde edildi. Derivatizasyondan kısa bir süre önce stok çözelti borat tampon ile 5 kez seyreltilerek kullanıma hazır hale getirildi.

**4. Örneğin temizlenmesi ve derivatizasyon:** Serum örnekleri ve standartlara solid faz ekstraksiyonu (SPE) uygulandı. Rutin protokol şu şekildeydi: 0.2 ml örnek veya standart 0.1 ml internal standart ve 0.7 ml PBS ile karıştırıldı; ön koşullama yapılmaksızın Oasis MCX SPE kolonlarına uygulandı; tüm yıkama ve elution basamakları vakumlama ile gerçekleştirilerek, örneklerin uygulanmasından sonra kolonlar sırayla 0.1 ml, 100 mM HCl ve 1.0 ml metanol ile yıkandı; daha sonra analitler 3.0 ml’lik tüplere, 1.0 ml konsantre amonyak/su/metanol (10/40/50) ile elüe edildiler. Elde edilen elüent 60-80°C’de nitrojen ile

uçuruldu, ardından 0.1 ml su ile ozndrld ve 0.1 ml OPA reaktifi eklendi; kartrld, viyallere aktarıldı ve cihaza kondu. Kromatografi rnek kompartmanı 4°C'ye ayarlandı.

**5. Kromatografi:** Kromatografi Symmetry C18 kolon (3.9x150 mm; 5 µm partikül büyüklüğü; 100 Å pore büyüklüğü) ve 3.9x20 mm Sentry Symmetry C18 guard kolon üzerinde alındı. Mobil faz A %8.7 asetonitril içeren 50 mM potasyum fosfat tampon (ph 6.5); mobil faz B ise asetonitril/su (50/50, v/v) idi. Ayrtırma izokratik koşullarda, %100 mobil faz A ile, 1.1 ml/dak hız ve 30 °C kolon sıcaklığı değerlerinde yapıldı. Son analitin ıkndan sonra güçlü bir ŗekilde retansiyona uğrayan bileŗikler gcl solvent akımı (%50 B 20-22 dakikalar arası) ile elüe edildi; 22. ve 23. dakikalar arasında gradient baŗlang değerlerine döndürülerek kolon 7 dakika daha dengelenmeye bırakıldı; böylece bir örnek için alıŗma süresi toplam 30 dakika oldu. Enjeksiyon hacmi 20 µl idi. Floresans eksitasyon ve emisyon dalgaboyları sırasıyla 340 ve 455 nm olarak ayarlandı. Elde edilen pikler, pik alanlarında göre değerlendirildi. Hesaplamalar, pik alanları, internal standardın pik alanına oranlanmak suretiyle yapıldı. Tek nokta kalibrasyon tekniği kullanıldı. Bir hastaya ait örnek kromatogram ŗekil 2'de sunulmaktadır.



**ŗekil 2.** Bir hastaya ait örnek kromatogram

## İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Deđerŗenlerin tanımlayıcı istatistikleri ve normal dağılıma uygunlukları tek rneklem Kolmogorov Smirnov testi ile incelendi. Klinik zellikler Fisher kesin testi ile karŗılaŗtırıldı.

İki grup arasında farklılık araştırmada normal dağılım gösteren değişkenler için Student's t testi kullanıldı. Grupların kendi içerisinde başlangıç, ilk egzersiz seansı sonrası ve 1 aylık gezersiz sonrası ADMA, SDMA ve L-arginin değerlerini ve L-arginin/ADMA, L-arginin/SDMA ve ADMA/SDMA oranlarını karşılaştırmada Bonferroni oklu karşılaştırma testi ile incelendi. İki grup arasında tedavi öncesine göre tedavi sonrası ve 1 ay sonraki kontrol değerlerinin değişimlerini karşılaştırmada Kovaryans Analizi kullanıldı.

Çalışmanın sonuçları ortalama  $\pm$  standart sapma olarak ifade edildi.  $p<0,05$  değer i istatistiksel anlamlılık sınırı olarak kabul edildi. İstatistiksel analizler, Tıp Fakültesi Bioistatistik Anabilim Dalı'nda Statistica 7.0 (Installer Code: 31N6YUCV38) istatistiksel paket program kullanılarak değerlendirildi.

## **BULGULAR**

Egzersiz programına alınan DM'lilerden 9 kişi (bir hastada egzersiz tolerans testi pozitif bulunduğu için koroner anjiyografi önerildi ve bu kişiden sadece başlangıçta ve ilk egzersiz seansından sonra ADMA ölçümü yapıldı) ve K grubundan 5 kişi programı tamamlayamadı. Çalışma süresince eksitus, akut miyokard enfarktüsü, serebrovasküler olay ile ortopedik yaralanma gerçekleşmedi. Egzersiz tolerans testi yapılan DM grubu katılımcılarının hiçbiri testin Bruce protokolünün 3. evresinden sonraki evreleri tamamlayamadı. En sık semptom yorgunluk idi. Anjina ve hipotansiyon gelişen olmadı.

Katılımcıların klinik özellikleri ve test sonuçları Tablo 1'deki gibidir.

**Tablo 1. Çalışma gruplarının klinik ve laboratuvar özellikleri**

	K, E-		K, E+		DM, E-		DM, E+	
	N=25		N=19		N=22		N=14	
Yaş*	40.8±9.3		30.7±5.7		50.5±7.9		47.3±10.7	
Sigara	5		7		6		3	
Menopoz	7		1		15		8	
Bel* (cm)	95.8±10.9	96.05±11.7	88.5±11.5	87.7±10.7	99.5±8.5	100.3±10.0	109.0±10.8	112.6±12.0
BKO	0.90±0.05	0.91±0.05	0.90±0.07	0.90±0.06	0.92±0.07	0.93±0.07	0.95±0.07	0.95±0.06
VKİ* (kg/m <sup>2</sup> )	29.9±5.1	29.8±11.7	25.6±4.7	25.01±4.4	33.0±4.9	32.1±4.3	35.4±6.3	38.3±8.3
TSH (mIU/l)	1.90±1.05		2.13±1.32		2.01±1.2		2.25±1.76	
Total kolesterol (mg/dl)	192±42		175±28		199±45		186±38	
TG* (mg/dl)	115±41		107±46		142±85		127±45	
LDL (mg/dl)	119±40		105±28		128±38		110±30	
HDL* (mg/dl)	51±12		49±13		42±8		48±10	
VO <sub>2max</sub> * (ml/kg/dak)			34.4±8.9				17.4±3.4	
Yağsız kitle (kg)			48.5±5.1				47.1±5.9	
Yağ kitlesi* (%)			25.6±7.8				41.0±6.2	

**K:** Kontrol grubu, **E-:** Egzersiz yapmayan, **E+:** Egzersiz yapan, **DM:** Diabetes mellitus, **N:** Sayı, **BKO:** Bel/kalça oranı, **VKİ:** Vücut kitle indeksi, **TSH:** Tiroid stimulan hormon, **TG:** Trigliserid, **LDL:** "Low density lipoprotein", **HDL:** "High density lipoprotein", **VO<sub>2max</sub>:** Maksimal oksijen tüketimi.

\* p<0.05, DM grubu sağlıklı kontrolle karşılaştırıldığında.

Diyabetik komplikasyonlara bakıldığında E- grubunda (n=22) bir kişide (%4) ve E+ grubunda (n=14) 2 kişide (%14) nonproliferatif retinopati saptandı. Diyabetik nefropati varlığı mikroalbuminüri ile ortaya kondu; E- grubunda (n=22) 9 kişide (%40) ve E+ grubunda (n=14) 2 kişide (%14) mevcuttu. Hipertansiyon E- grubundan (n=22) 2 kişide (%9) ve E+ grubundan (n=14) 5 kişide (%35) saptandı. HbA1c düzeyleri, egzersiz tolerans testi sonuçları ve çalışma başlangıcındaki tedavi ile çalışmaya alındıktan hemen sonra klinik ve laboratuvar gerekliliklere göre tedavide yapılan değişiklikler Tablo 2’de sunulmaktadır.

**Tablo 2. Diyabet grubunun klinik ve laboratuvar özellikleri**

	DM, E-		DM, E+	
	N=22		N=14	
	Başlangıç	1. ay	Başlangıç	1. ay
NDRP		1		2
HT		2		5
SU	8	-	7	2
Metformin	10	-	7	8
Statin	3	-	5	1
Glitazon	1	-	1	-
Glinid	-	-	1	-
Fibrat	-	-	1	-
ACEI	-	-	-	-
ARB	1	-	5	-
HCTZ	-	-	4	-
Spiroolakton	-	-	1	-
Furosemid	-	-	1	-
β-bloker	-	-	-	-
ASA	2	-	1	5
HOMAR	4.5±4.2	4.7±1.8	3,9±1,1	8,6±9,9
Ccr (ml/dak)	85.59±30.96		92.82±16.63	
Ccr grubu*	1:n=14, 2:n=5, 3:n=6		1:n=5, 2:n=6, 3:n=3	
MAU bulunanlar	9		2	
HbA1c (%)	7.58±1.53		7.67±1.18	
HRR**			40±23	
Kİ**			80±19	
EK (%)**			56±19	
MET**			6.7±1.7	

**DM:** Diabetes mellitus, **E-:** Egzersiz yapmayan, **E+:** Egzersiz yapan, **N:** Sayı, **NDRP:** Nonproliferatif diyabetik retinopati, **HT:** Hipertansiyon, **SU:** Sülfonilüre, **ACEI:** “Angiotensin converting enzyme inhibitors”, **ARB:** Anjiyotensin reseptör blokerleri, **HCTZ:** Hidroklorotiazid, **ASA:** Asetilsalisilik asit, **HOMAR:** “Homeostatic model assessment of resistance”, **Ccr:** Kreatinin klirensi, **MAU:** Mikroalbuminüri, **HbA1c:** Hemoglobin A1c, **HRR:** “Heart rate reserve”, **Kİ:** Kronotropik indeks, **EK:** Egzersiz kapasitesi, **MET:** “Metabolic equivalent”.  
\*Ccr grubu: 1=>90 ml/dak, 2=60-90 ml/dak, 3=30-60 ml/dak. \*\* Egzersiz tolerans testinde elde edilen ölçümler.

Asimetrik dimetilarginin, SDMA, L-arginin düzeyleri ile L-arginin/ADMA, L-arginin/SDMA ve ADMA/SDMA oranlarının ortalama ve standart sapma değerleri Tablo 3’te yer almaktadır.



**Tablo 3. Asimetrik dimetilarginin, simetrik dimetilarginin, L-arginin düzeyleri ile L-arginin/asimetrik dimetilarginin, L-arginin/simetrik dimetilarginin ve asimetrik dimetilarginin/simetrik dimetilarginin oranlarının ortalama ve standart sapma değerleri**

	GRUP			
	K, E-	DM, E-	K, E+	DM, E+
ADMA-0 (µM)	0.51±0.18	0.56±0.20	0.52±0.14	0.56±0.12
SDMA-0 (µM)	0.40±0.17	0.42±0.15	0.40±0.09	0.41±0.20
Arginin-0 (µM)	65.1±23.6	70.0±30.2	68.8±29.7	82.3±53.0
Arginin/ADMA-0	137.9±56.7	128.9±43.5	128.9±36.0	139.1±63.5
Arginin/SDMA-0	199.8±155.3	182.7±84.2	168.2±54.3	158.8±32.4
ADMA/SDMA-0	1.38±0.49	1.40±0.36	1.31±0.25	1.30±0.50
ADMA-1 (µM)	-	-	0.47±0.23	0.58±0.18
SDMA-1 (µM)	-	-	0.37±0.09	0.37±0.18
Arginin-1 (µM)	-	-	83.3±40.6	87.2±34.5
Arginin/ADMA-1	-	-	171.7±59.7	152.8±49.9
Arginin/SDMA-1	-	-	221.2±91.4	238.2±129.4
ADMA/SDMA-1	-	-	1.28±0.23	1.48±0.37
ADMA-2 (µM)	0.55±0.12	0.53±0.18	0.46±0.11	0.57±0.10
SDMA-2 (µM)	0.43±0.14	0.41±0.12	0.36±0.11	0.50±0.20
Arginin-2 (µM)	72.9±26.5	65.6±31.3	92.9±49.3	69.0±24.4
Arginin/ADMA-2	136.3±51.4(*)	122.1±49.6(t)	187.9±58.1(*,t, q)	119.0±35.8 (q)
Arginin/SDMA-2	181.0±70.9(**)	166.1±71.0	248.4±91.6 (**)	156.9±86.9
ADMA/SDMA-2	1.33±0.24	1.34±0.36	1.31±0.25	1.26±0.40

**DM:** Diabetes mellitus, **E-:** Egzersiz yapmayan, **E+:** Egzersiz yapan, **N:** Sayı, **ADMA:** Asimetrik dimetilarginin, **SDMA:** Simetrik dimetilarginin.

0: başlangıç, 1: ilk egzersiz sonrası, 2: 1. ay sonu. Başlangıç değerine göre farklılık: \*(p= 0.004), t( p=0.022), q (p=0.001). Başlangıç değerine göre farklılık: \*\* p=0.017

Asimetrik dimetilarginin ile yaş arasında bağıntı yoktu. SDMA ile yaş arasında pozitif bağıntı vardı (beta=0.226, p=0.044). Bu ilişkiler L-arginin/ADMA, L-arginin/SDMA ve ADMA/SDMA oranlarına yansımada.

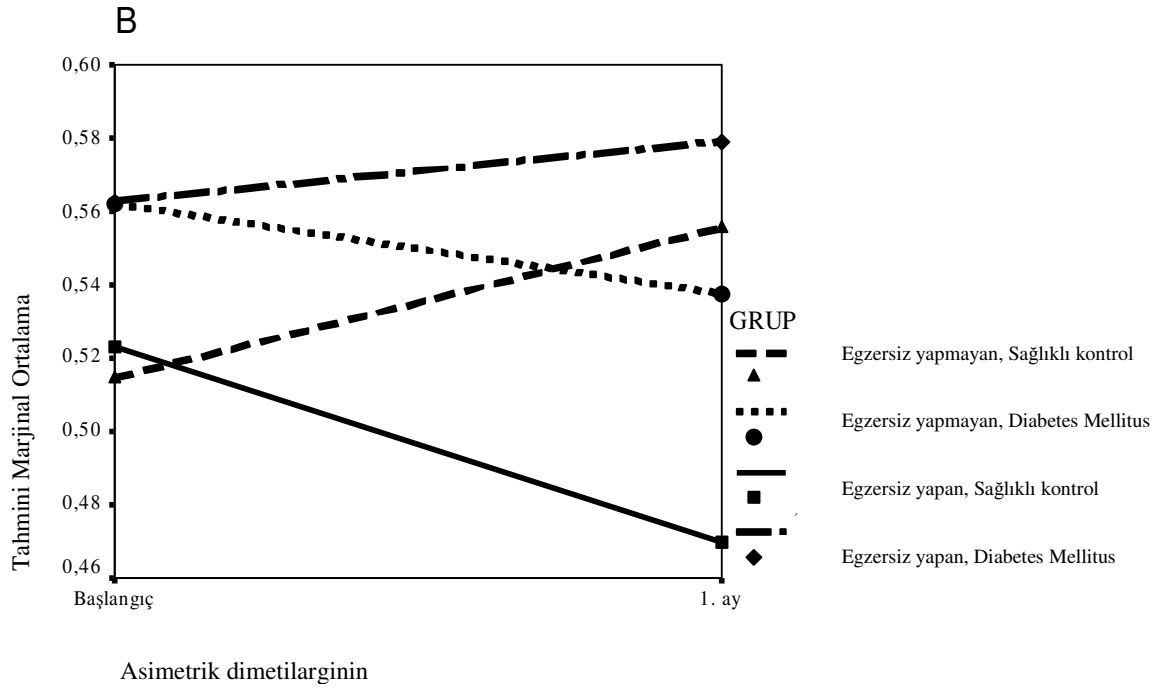
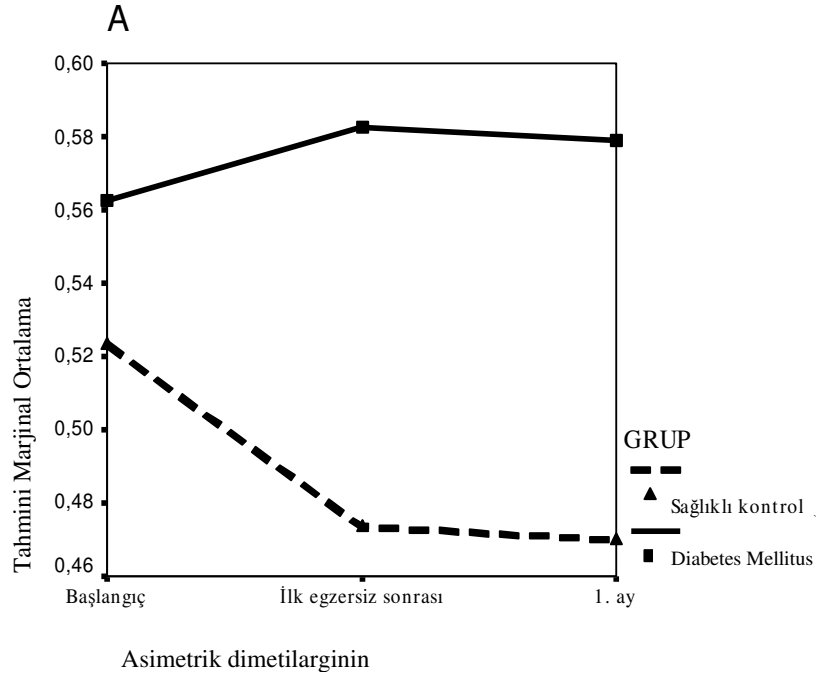
Sadece DM grubunun kreatinin klirensine bakıldı. Kreatinin klirensi ile SDMA (beta=-0.477, p=0.003) ve ADMA (beta=-0.482, p=0.003) düzeyleri arasında regresyon analiziyle negatif bağıntı bulundu. Bu bağıntı ADMA/SDMA oranına pozitif bağıntı olarak

yansıdı ( $\beta=0.348$ ) ( $p=0.037$ ). L-arginin ile kreatinin klirensi arasında bağıntı bulunmamasına rağmen L-arginin/SDMA oranı ile arasında pozitif bağıntı ( $\beta=-0.343$ ,  $p=0.04$ ) vardı. L-arginin/ADMA oranı ile arasında bağıntı gözlenmedi.

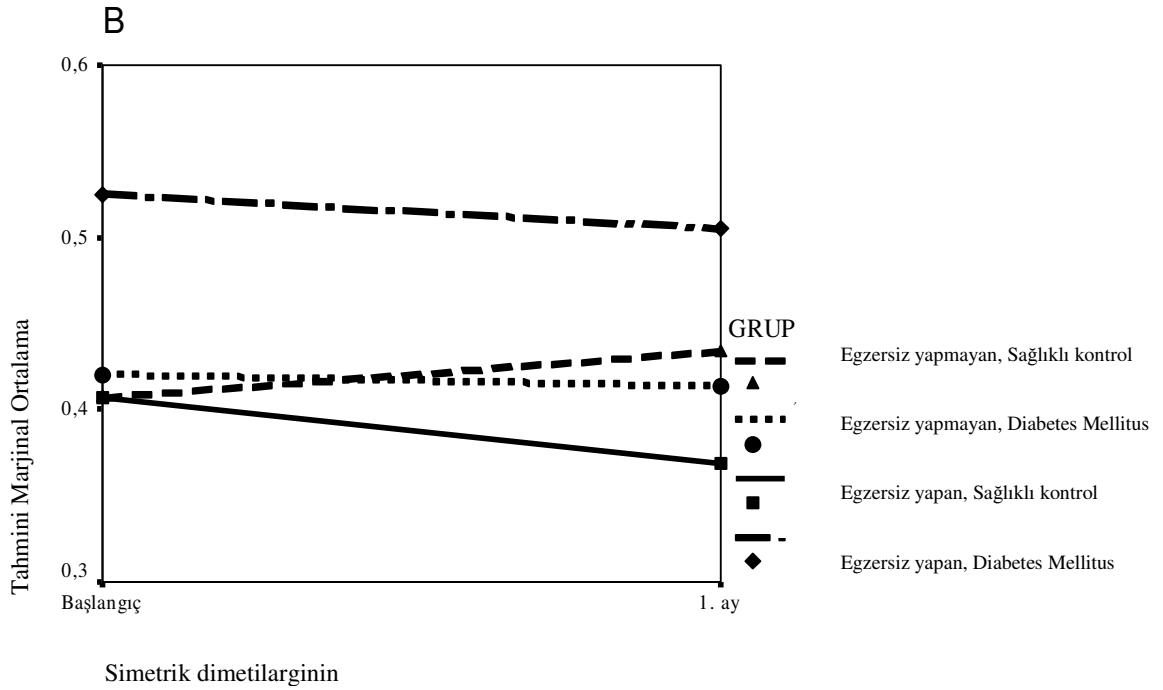
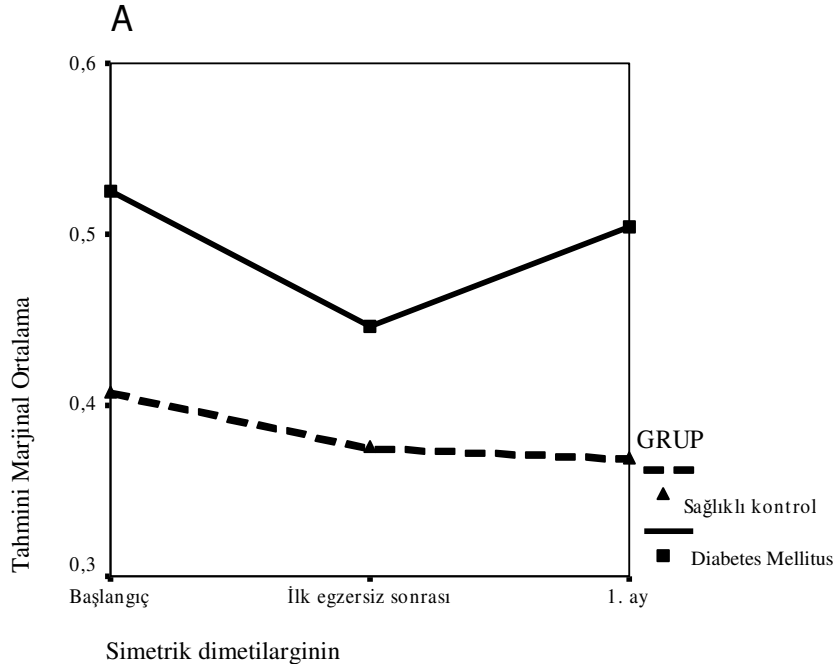
### **BAŞLANGIÇ ÖLÇÜMLERİ ve ORANLARI**

Diyabet grubu K ile karşılaştırıldığında çalışma başlangıcındaki ortalama ADMA, L-arginin ve SDMA düzeyleri ile L-arginin/ADMA, L-arginin/SDMA ve ADMA/SDMA oranları açısından istatistiksel fark göstermedi (Tablo 3).

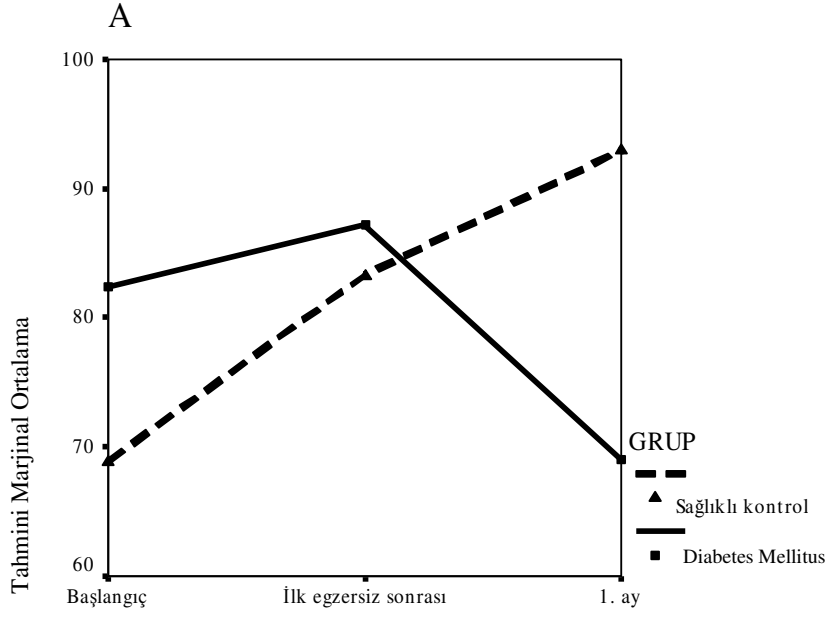
Yukarıda bahsi geçen ortalamaların çalışma başlangıcına göre gösterdiği değişim grafik olarak sırasıyla Şekil 3, 4, 5, 6, 7 ve 8'de gösterilmektedir.



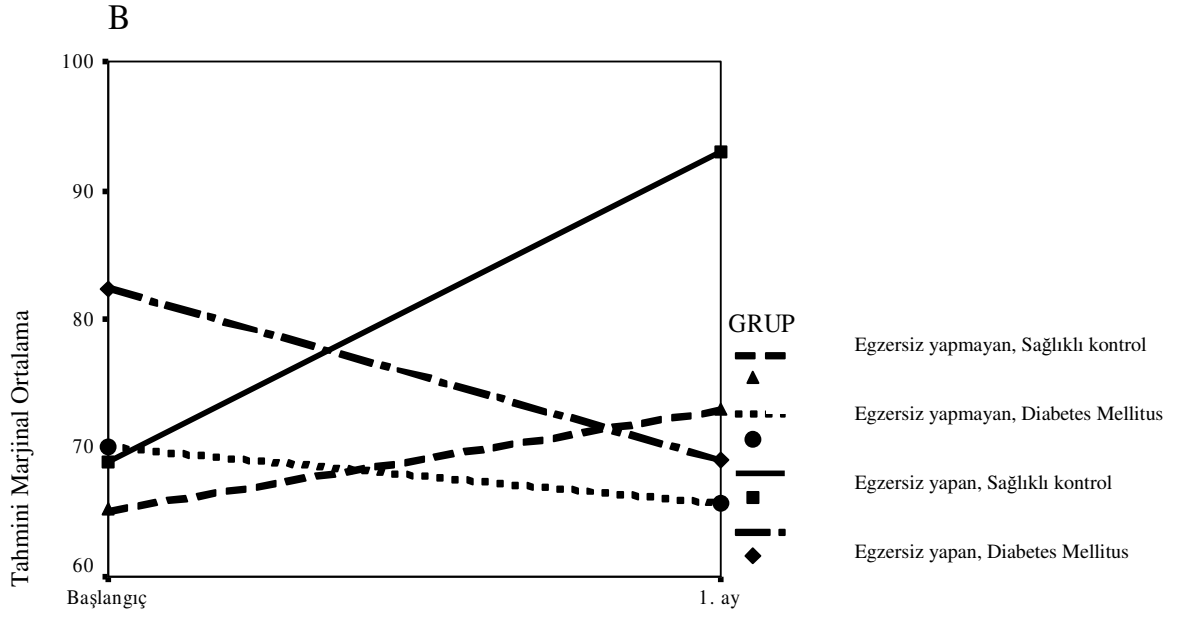
**Şekil 3.** Sağlıklı kontrol grubunda ve diabetes mellitus grubunda ölçülen plazma asimetrik dimetilarginin düzey ortalamalarının gösterildiği çizgi grafik: A-Çalışma başlangıcı, ilk egzersiz sonrası ve 1. ayın sonunda, B-Çalışma başlangıcında ve 1. ayın sonunda



**Şekil 4. Sağlıklı kontrol grubunda ve diabetes mellitus grubunda ölçülen plazma simetrik dimetilargininin düzey ortalamalarının gösterildiği çizgi grafik: A-Çalışma başlangıcı, ilk egzersiz sonrası ve 1. ay sonunda, B-Çalışma başlangıcında ve 1. ay sonunda**

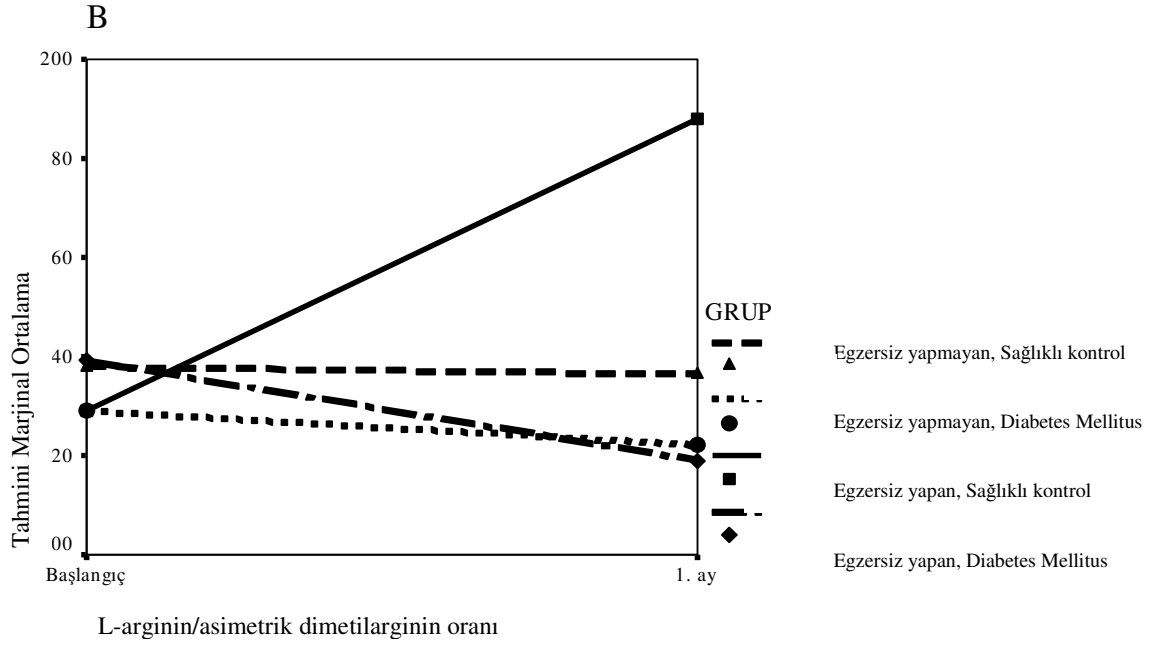
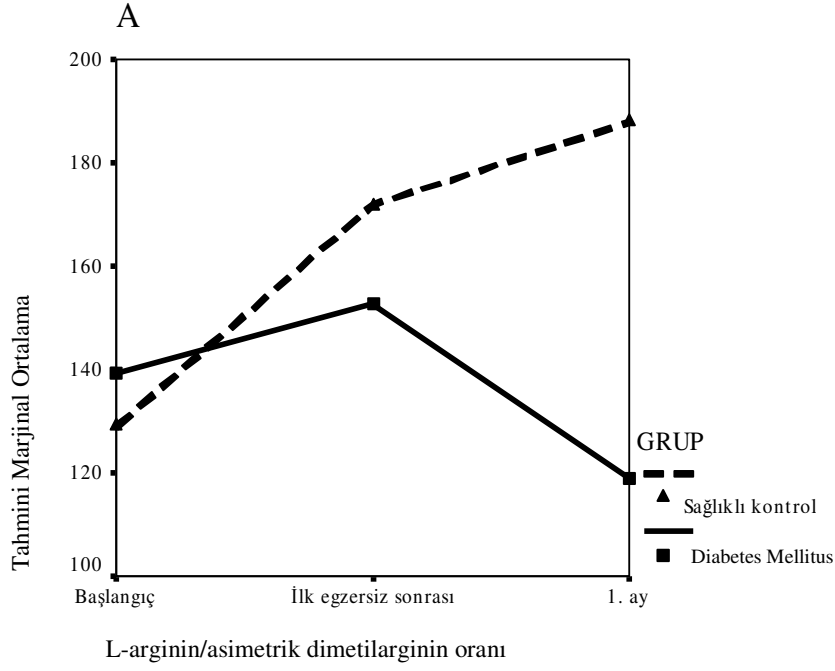


Arginin

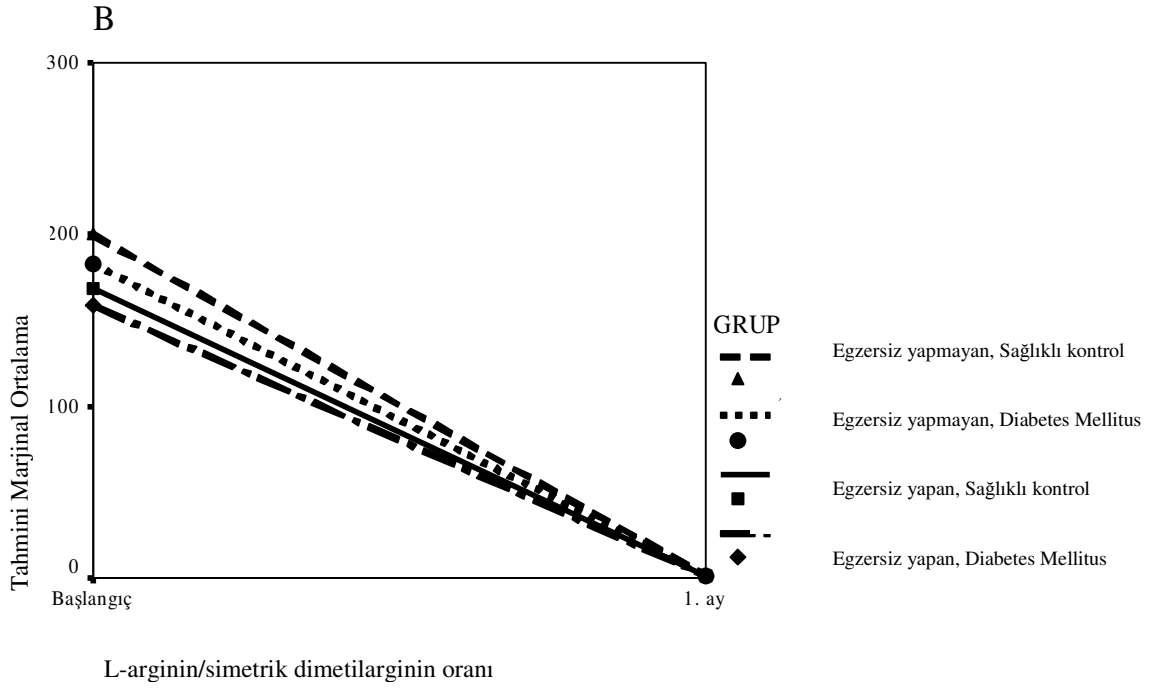
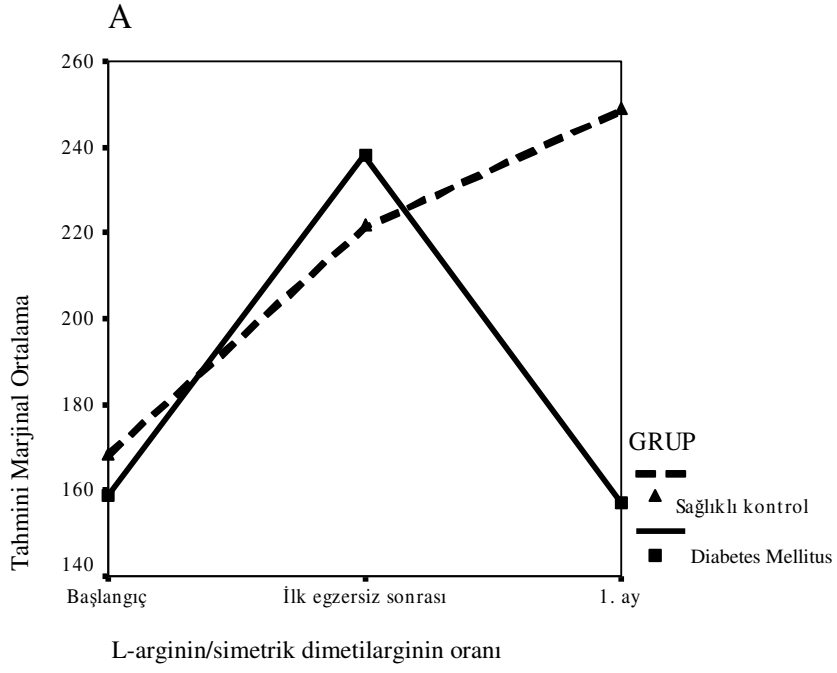


Arginin

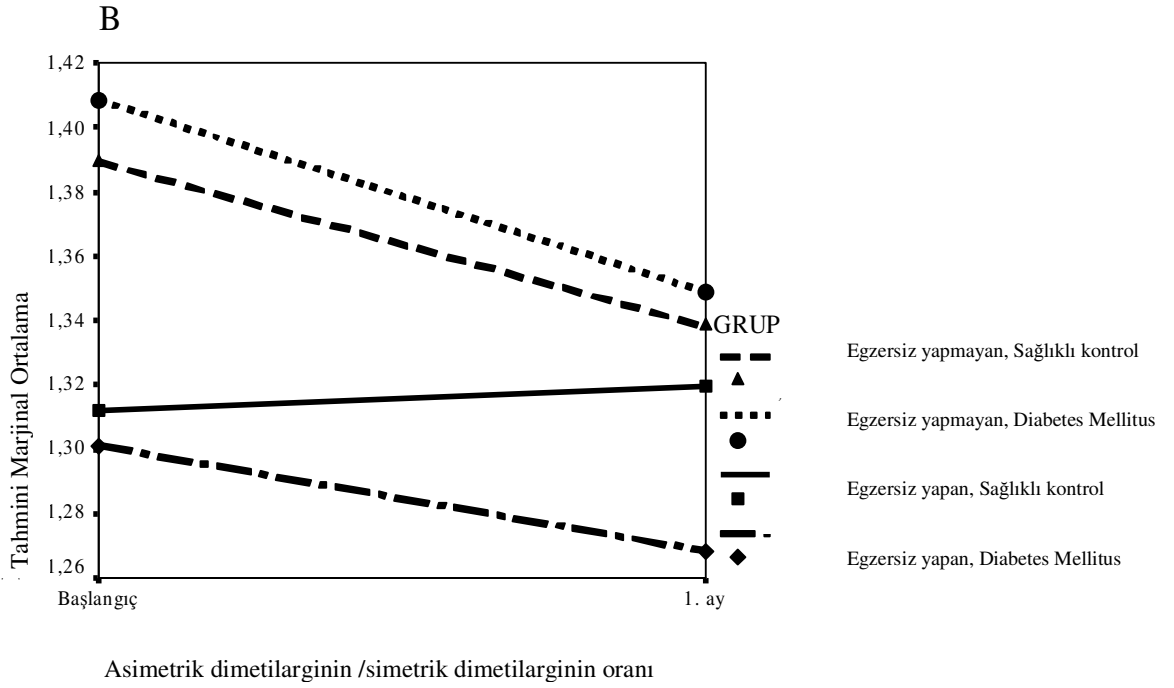
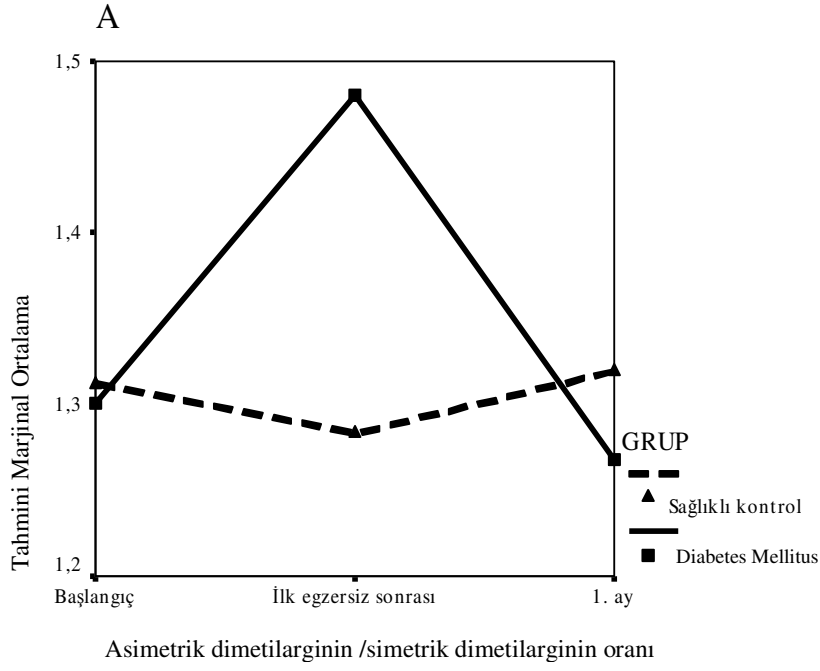
**Şekil 5. Sağlıklı kontrol grubunda ve diabetes mellitus grubunda ölçülen plazma L-arginin düzey ortalamalarının gösterildiği çizgi grafik: A-Çalışma başlangıcı, ilk egzersiz sonrası ve 1. ayın sonunda, B-Çalışma başlangıcında ve 1. ayın sonunda**



**Şekil 6. Sağlıklı kontrol grubunda ve diabetes mellitus grubunda ölçülen plazma L-arginin/asimetrik dimetilarginin düzey ortalamalarının gösterildiği çizgi grafik: A-Çalışma başlangıcı, ilk egzersiz sonrası ve 1. ay sonunda, B-Çalışma başlangıcında ve 1. ay sonunda**



**Şekil 7. Sağlıklı kontrol grubunda ve diabetes mellitus grubunda ölçülen plazma L-arginin/simetrik dimetilarginin düzey ortalamalarının gösterildiği çizgi grafik: A-Çalışma başlangıcı, ilk egzersiz sonrası ve 1. ay sonunda, B-Çalışma başlangıcında ve 1. ay sonunda**



**Şekil 8.** Sağlıklı kontrol grubunda ve diabetes mellitus grubunda ölçülen plazma asimetrik dimetilarginin/simetrik dimetilarginin düzey ortalamalarının gösterildiği çizgi grafik: A-Çalışma başlangıcı, ilk egzersiz sonrası ve 1. ayın sonunda, B-Çalışma başlangıcında ve 1. ayın sonunda



## **İLK EGZERSİZ SONRASI ÖLÇÜMLERİ ve ORANLARI**

Egzersiz yapan DM grubu; K, E+ ile karşılaştırıldığında ilk egzersizden hemen sonraki L-arginin/ADMA oranı (Şekil 6A) ile L-arginin/SDMA oranı (Şekil 7A) artış göstermekle birlikte bu artış istatistiksel olarak anlamlı farka ulaşmadı.

Asimetrik dimetilarginin (Şekil 3A), SDMA (Şekil 4A) ve L-arginin (Şekil 5A) düzeyleri ile ADMA/SDMA (Şekil 8A) oranları başlangıçtaki ilgili değerlere göre istatistiksel olarak anlamlı fark göstermedi.

## **BİRİNCİ AY SONUNDA ÖLÇÜMLER ve ORANLARI**

### **Başlangıca Göre**

Birinci ay sonunda E+ ve E- DM grubu E+ ve E- K ile karşılaştırıldığında ADMA (Şekil 3B), SDMA (Şekil 4B) ve L-arginin (Şekil 5B) düzeyleri başlangıçtaki ilgili değerlere göre istatistiksel olarak anlamlı fark göstermedi.

Birinci ay sonunda E+ K grubunda L-arginin/ADMA oranı (Şekil 6B) artış gösterirken, diğer 3 grupta bu oran yaklaşık olarak aynı düzeyde seyretti veya azaldı. E+ K grubu, diğer 3 grup ile karşılaştırıldığında başlangıçtaki orana göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde farklılık gösterdi [E- K, (p=0.004); E+ DM, (p=0.022); E+ DM (p=0.001)].

Birinci ay sonunda ADMA/SDMA oranı sadece E+ K grubunda artış gösterdi; diğer 3 grupta da azalma oldu. Ancak bu değişim, istatistiksel olarak anlamlı düzeye ulaşmadı.

Birinci ay sonunda L-arginin/SDMA oranı (Şekil 7B) tüm gruplarda azalma göstermekle birlikte sadece K grubunda E+ olanlar E- olanlara göre istatistiksel olarak anlamlı düzeye ulaştı (p=0.017).

### **İlk Egzersize Göre**

Egzersiz yapan DM grubu E+ K grubu ile karşılaştırıldığında bir aylık egzersiz sonunda elde edilen ADMA, SDMA ve L-arginin düzeyleri ilk egzersizin sonrasına göre istatistiksel olarak anlamlı fark göstermedi.

Egzersiz yapan DM grubunda L-arginin/ADMA, L-arginin/SDMA ve ADMA/SDMA oranları artarken ve E+ K grubunda oran azaldı. Bu değişim, istatistiksel olarak anlamlı düzeyde farklıydı (sırasıyla p=0.037 ve p=0.026).

Diyabet grubunda her bir hastaya ait ADMA, SDMA ve L-arginin ölçüm sonuçları sırasıyla Tablo 4, 5 ve 6'da sunulmaktadır. K grubuna ait olanlar sırasıyla Tablo 7, 8 ve 9'da yer almaktadır.

**Tablo 4. Tip 2 diabetes mellituslu grubun genel özellikleri ve asimetrik dimetilarginin sonuçları**

Sıra	Protokol no	İsim	Yaş	Egzersiz	ADMA Başlangıç	ADMA ES	ADMA 1. ay
1.	356671	NE	44	Var	0.431	0.509	-
2.	355084	NA	55	Var	0.341	0.348	-
3.	79940	NY	40	Var	0.549	0.364	-
4.	83992	SÇ	63	Var	0.518	0.620	-
5.	355750	VÇ	58	Var	0.586	0.468	-
6.	358536	ME	50	Var	0.800	0.629	-
7.	344541	ZS	42	Var	0.446	0.454	-
8.	230507	GM	26	Var	0.472	0.472	-
9.	336610	NK	47	Var	0.640	0.594	-
10.	141647	HK	60	Var	0.596	0.388	0.414
11.	286641	HB	33	Var	0.374	0.620	0.563
12.	74266	SC	45	Var	0.566	0.481	0.579
13.	344541	ZY	42	Var	0.568	0.555	0.643
14.	356175	SB	58	Var	0.710	0.868	0.697
15.	354229	NB	44	Yok	0.906	-	0.629
16.	337225	ŞK	71	Yok	0.302	-	0.360
17.	300326	NZ	44	Yok	0.530	-	0.319
18.	337709	ÜÇ	57	Yok	0.319	-	0.302
19.	73888	EE	54	Yok	0.503	-	0.378
20.	299796	FK	56	Yok	0.379	-	0.379
21.	315342	HE	46	Yok	0.387	-	0.421
22.	325132	AA	46	Yok	0.496	-	0.387
23.	71177	KH	56	Yok	0.436	-	0.466
24.	139944	SY	71	Yok	0.625	-	0.695
25.	211619	TG	38	Yok	0.307	-	0.509
26.	2278	HV	58	Yok	0.531	-	0.531
27.	175051	ŞÜ	41	Yok	0.461	-	0.571
28.	308041	ŞC	42	Yok	0.767	-	0.591
29.	79523	MG	56	Yok	0.628	-	0.628
30.	173526	NG	46	Yok	0.375	-	0.266

**ADMA:** Asimetrik dimetilarginin, **ES:** Egzersiz sonrası.

**Tablo 4 (Devam). Tip 2 diabetes mellituslu grubun genel özellikleri ve asimetrik dimetilarginin sonuçları**

31.	325938	ÜA	42	Yok	0.635	-	0.670
32.	124043	AP	59	Yok	0.671	-	0.671
33.	102315	HS	57	Yok	0.695	-	0.505
34.	214252	NG	51	Yok	0.518	-	0.740
35.	293430	HK	52	Yok	0.854	-	0.767
36.	233767	VK	53	Yok	1.041	-	1.035

**ADMA:** Asimetrik dimetilarginin, **ES:** Egzersiz sonrası.

**Tablo 5. Tip 2 diabetes mellituslu grubun genel özellikleri ve simetrik dimetilarginin sonuçları**

Sıra	Protokol no	İsim	Yaş	Egzersiz	SDMA Başlangıç	SDMA ES	SDMA 1. ay
1.	356671	NE	44	Var	0.273	0.342	-
2.	355084	NA	55	Var	0.217	0.263	-
3.	79940	NY	40	Var	0.377	0.272	-
4.	83992	SÇ	63	Var	0.330	0.395	-
5.	355750	VÇ	58	Var	0.490	0.378	-
6.	358536	ME	50	Var	0.531	0.418	-
7.	344541	ZS	42	Var	0.385	0.361	-
8.	230507	GM	26	Var	0.254	0.254	-
9.	336610	NK	47	Var	0.364	0.367	-
10.	141647	HK	60	Var	0.384	0.244	0.269
11.	286641	HB	33	Var	0.223	0.325	0.305
12.	74266	SC	45	Var	0.320	0.309	0.575
13.	344541	ZY	42	Var	0.852	0.381	0.691
14.	356175	SB	58	Var	0.845	0.974	0.684
15.	354229	NB	44	Yok	0.736	-	0.166
16.	337225	ŞK	71	Yok	0.175	-	0.175
17.	300326	NZ	44	Yok	0.286	-	0.642
18.	337709	ÜÇ	57	Yok	0.270	-	0.330
19.	73888	EE	54	Yok	0.287	-	0.348
20.	299796	FK	56	Yok	0.503	-	0.503
21.	315342	HE	46	Yok	0.401	-	0.401
22.	325132	AA	46	Yok	0.593	-	0.402
23.	71177	KH	56	Yok	0.474	-	0.437
24.	139944	SY	71	Yok	0.495	-	0.365
25.	211619	TG	38	Yok	0.199	-	0.355
26.	2278	HV	58	Yok	0.265	-	0.265
27.	175051	ŞÜ	41	Yok	0.315	-	0.433
28.	308041	ŞC	42	Yok	0.501	-	0.369
29.	79523	MG	56	Yok	0.505	-	0.553
30.	173526	NG	46	Yok	0.174	-	0.358

**SDMA:** Simetrik dimetilarginin, **ES:** Egzersiz sonrası.

**Tablo 5 (Devam). Tip 2 diabetes mellituslu grubun genel özellikleri ve simetrik dimetilarginin sonuçları**

31.	325938	ÜA	42	Yok	0.553	-	0.373
32.	124043	AP	59	Yok	0.495	-	0.485
33.	102315	HS	57	Yok	0.514	-	0.514
34.	214252	NG	51	Yok	0.373	-	0.475
35.	293430	HK	52	Yok	0.514	-	0.505
36.	233767	VK	53	Yok	0.632	-	0.632

**SDMA:** Simetrik dimetilarginin, **ES:** Egzersiz sonrası.

**Tablo 6. Tip 2 diabetes mellituslu grubun genel özellikleri ve L-arginin sonuçları**

Sıra	Protokol no	İsim	Yaş	Egzersiz	Arginin Başlangıç	Arginin ES	Arginin 1. ay
1.	356671	NE	44	Var	68.426	77.580	-
2.	355084	NA	55	Var	36.592	41.232	-
3.	79940	NY	40	Var	71.825	51.290	-
4.	83992	SÇ	63	Var	66.593	109.962	-
5.	355750	VÇ	58	Var	67.768	51.214	-
6.	358536	ME	50	Var	206.569	229.433	-
7.	344541	ZS	42	Var	69.027	58.772	-
8.	230507	GM	26	Var	96.451	96.451	-
9.	336610	NK	47	Var	110.909	100.250	-
10.	141647	HK	60	Var	60.209	64.613	41.177
11.	286641	HB	33	Var	38.277	143.774	91.605
12.	74266	SC	45	Var	49.311	56.162	78.223
13.	344541	ZY	42	Var	94.511	78.853	44.479
14.	356175	SB	58	Var	169.455	92.656	89.676
15.	354229	NB	44	Yok	107.528	-	14.543
16.	337225	ŞK	71	Yok	42.175	-	42.175
17.	300326	NZ	44	Yok	60.947	-	0.211
18.	337709	ÜÇ	57	Yok	39.411	-	42.369
19.	73888	EE	54	Yok	51.529	-	47.420
20.	299796	FK	56	Yok	59.032	-	59.032
21.	315342	HE	46	Yok	52.635	-	52.635
22.	325132	AA	46	Yok	80.911	-	86.189
23.	71177	KH	56	Yok	24.780	-	47.529
24.	139944	SY	71	Yok	47.114	-	61.444
25.	211619	TG	38	Yok	47.434	-	86.654
26.	2278	HV	58	Yok	54.986	-	54.986
27.	175051	ŞÜ	41	Yok	72.500	-	86.840
28.	308041	ŞC	42	Yok	130.714	-	84.813
29.	79523	MG	56	Yok	107.528	-	131.019
30.	173526	NG	46	Yok	42.175	-	86.063
31.	325938	ÜA	42	Yok	60.947	-	101.066

ES: Egzersiz sonrası.

**Tablo 6 (Devam). Tip 2 diabetes mellituslu grubun genel özellikleri ve L-arginin sonuçları**

32.	124043	AP	59	Yok	39.411	-	30.920
33.	102315	HS	57	Yok	51.529	-	76.394
34.	214252	NG	51	Yok	59.032	-	61.585
35.	293430	HK	52	Yok	52.635	-	116.976
36.	233767	VK	53	Yok	80.911	-	73.392

**ES:** Egzersiz sonrası.

**Tablo 7. Sağlıklı grubun genel özellikleri ve asimetrik dimetilarginin sonuçları**

Sıra	Protokol no	İsim	Yaş	Egzersiz	ADMA Başlangıç	ADMA ES	ADMA 1. ay
1.	251752	EA	29	Var	0.683	0.602	-
2.	242107	ED	21	Var	0.535	0.481	-
3.	65540	FB	43	Var	0.538	0.538	-
4.	91742	AD	32	Var	0.654	0.530	-
5.	144503	FK	21	Var	0.437	0.437	-
6.	252053	MA	32	Var	0.589	0.598	0.255
7.	200603	FY	29	Var	0.476	0.509	0.362
8.	229898	BA	30	Var	0.332	0.289	0.390
9.	44991	TEM	28	Var	0.410	0.315	0.394
10.	192132	ÇKS	30	Var	0.400	0.328	0.403
11.	97905	YÖE	31	Var	0.503	0.592	0.411
12.	2920	HT	27	Var	0.521	0.304	0.440
13.	91730	BP	30	Var	0.515	0.490	0.487
14.	200724	HTK	28	Var	0.476	0.501	0.519
15.	94507	MBA	29	Var	0.944	0.559	0.521
16.	351036	KK	31	Var	0.625	0.634	0.532
17.	159450	HP	35	Var	0.458	0.418	0.532
18.	218746	BT	34	Var	0.576	0.586	0.643
19.	78483	BK	44	Var	0.501	0.506	0.688
20.	36711	EU	34	Yok	0.412	-	0.500
21.	50461	KD	30	Yok	0.415	-	0.618
22.	348283	NE	54	Yok	0.384	-	0.523
23.	94611	NY	51	Yok	0.494	-	0.526
24.	303399	ZA	36	Yok	0.471	-	0.548
25.	337058	GA	31	Yok	0.631	-	0.806
26.	197196	NS	33	Yok	0.215	-	0.606
27.	52995	SY	40	Yok	0.533	-	0.421
28.	4624	ÖK	41	Yok	0.696	-	0.415
29.	342460	ET	21	Yok	0.621	-	0.625
30.	339561	BK	24	Yok	0.496	-	0.646
31.	91742	AD	32	Yok	0.681	-	0.660

**ADMA:** Asimetrik dimetilarginin, **ES:** Egzersiz sonrası.



**Tablo 7 (Devam). Sağlıklı grubun genel özellikleri ve asimetrik dimetilarginin sonuçları**

32.	18745	SB	39	Yok	0.262	-	0.446
33.	335178	HT	40	Yok	0.378	-	0.442
34.	157191	ME	41	Yok	0.560	-	0.625
35.	338269	GŞ	42	Yok	0.820	-	0.505
36.	148115	BY	42	Yok	1.101	-	0.483
37.	63461	NM	42	Yok	0.677	-	0.487
38.	79780	ZS	49	Yok	0.428	-	0.496
39.	319446	SE	46	Yok	0.485	-	0.600
40.	78483	BK	44	Yok	0.372	-	0.886
41.	61173	EK	46	Yok	0.556	-	0.688
42.	344744	GA	50	Yok	0.446	-	0.506
43.	334885	HF	56	Yok	0.408	-	0.420
44.	72288	AO	57	Yok	0.322	-	0.412

**ADMA:** Asimetrik dimetilarginin, **ES:** Egzersiz sonrası.

**Tablo 8. Sağlıklı grubun genel özellikleri ve simetrik dimetilarginin sonuçları**

Sıra	Protokol no	İsim	Yaş	Egzersiz	SDMA Başlangıç	SDMA ES	SDMA 1. ay
1.	251752	EA	29	Var	0.533	0.507	-
2.	242107	ED	21	Var	0.415	0.305	-
3.	65540	FB	43	Var	0.438	0.438	-
4.	91742	AD	32	Var	0.391	0.309	-
5.	144503	FK	21	Var	0.290	0.290	-
6.	252053	MA	32	Var	0.395	0.513	0.157
7.	200603	FY	29	Var	0.309	0.340	0.247
8.	229898	BA	30	Var	0.289	0.252	0.363
9.	44991	TEM	28	Var	0.315	0.320	0.347
10.	192132	ÇKS	30	Var	0.498	0.337	0.379
11.	97905	YÖE	31	Var	0.392	0.476	0.345
12.	2920	HT	27	Var	0.428	0.217	0.382
13.	91730	BP	30	Var	0.311	0.300	0.338
14.	200724	HTK	28	Var	0.347	0.456	0.519
15.	94507	MBA	29	Var	0.612	0.349	0.328
16.	351036	KK	31	Var	0.391	0.419	0.291
17.	159450	HP	35	Var	0.318	0.303	0.359
18.	218746	BT	34	Var	0.553	0.423	0.496
19.	78483	BK	44	Var	0.536	0.540	0.608
20.	36711	EU	34	Yok	0.277	-	0.277
21.	50461	KD	30	Yok	0.318	-	0.318
22.	348283	NE	54	Yok	0.264	-	0.262
23.	94611	NY	51	Yok	0.358	-	0.288
24.	303399	ZA	36	Yok	0.431	-	0.401
25.	337058	GA	31	Yok	0.522	-	0.346
26.	197196	NS	33	Yok	0.061	-	0.363
27.	52995	SY	40	Yok	0.353	-	0.331
28.	4624	ÖK	41	Yok	0.740	-	0.405
29.	342460	ET	21	Yok	0.616	-	0.398
30.	339561	BK	24	Yok	0.382	-	0.348
31.	91742	AD	32	Yok	0.531	-	0.474

**SDMA:** Simetrik dimetilarginin, **ES:** Egzersiz sonrası.

**Tablo 8 (Devam). Sağlıklı grubun genel özellikleri ve simetrik dimetilarginin sonuçları**

32.	18745	SB	39	Yok	0.173	-	0.475
33.	335178	HT	40	Yok	0.311	-	0.343
34.	157191	ME	41	Yok	0.409	-	0.412
35.	338269	GŞ	42	Yok	0.616	-	0.307
36.	148115	BY	42	Yok	0.713	-	0.407
37.	63461	NM	42	Yok	0.588	-	0.471
38.	79780	ZS	49	Yok	0.412	-	0.596
39.	319446	SE	46	Yok	0.568	-	0.629
40.	78483	BK	44	Yok	0.205	-	0.461
41.	61173	EK	46	Yok	0.434	-	0.430
42.	344744	GA	50	Yok	0.404	-	0.962
43.	334885	HF	56	Yok	0.258	-	0.524
44.	72288	AO	57	Yok	0.224	-	0.612

**SDMA:** Simetrik dimetilarginin, **ES:** Egzersiz sonrası.

**Tablo 9. Sağlıklı grubun genel özellikleri ve L-arginin sonuçları**

Sıra	Protokol no	İsim	Yaş	Egzersiz	Arginin Başlangıç	Arginin ES	Arginin 1. ay
1.	251752	EA	29	Var	43.313	92.837	-
2.	242107	ED	21	Var	81.592	63.017	-
3.	65540	FB	43	Var	92.787	92.787	-
4.	91742	AD	32	Var	63.944	133.519	-
5.	144503	FK	21	Var	93.892	93.892	-
6.	252053	MA	32	Var	117.346	140.575	30.207
7.	200603	FY	29	Var	43.945	57.237	42.193
8.	229898	BA	30	Var	26.833	23.664	79.983
9.	44991	TEM	28	Var	57.365	51.498	67.132
10.	192132	ÇKS	30	Var	49.571	43.198	54.383
11.	97905	YÖE	31	Var	53.003	95.484	81.568
12.	2920	HT	27	Var	66.624	82.392	74.275
13.	91730	BP	30	Var	62.912	72.992	82.816
14.	200724	HTK	28	Var	57.759	66.120	64.036
15.	94507	MBA	29	Var	130.167	84.771	88.904
16.	351036	KK	31	Var	84.464	178.412	120.882
17.	159450	HP	35	Var	44.305	60.880	142.692
18.	218746	BT	34	Var	66.368	91.572	166.993
19.	78483	BK	44	Var	103.744	117.522	205.597
20.	36711	EU	34	Yok	71.377	-	71.377
21.	50461	KD	30	Yok	84.648	-	84.648
22.	348283	NE	54	Yok	44.023	-	43.992
23.	94611	NY	51	Yok	111.624	-	45.840
24.	303399	ZA	36	Yok	94.119	-	54.942
25.	337058	GA	31	Yok	96.999	-	80.787
26.	197196	NS	33	Yok	52.488	-	102.125
27.	52995	SY	40	Yok	53.416	-	98.858
28.	4624	ÖK	41	Yok	115.903	-	85.233
29.	342460	ET	21	Yok	64.776	-	64.457
30.	339561	BK	24	Yok	85.818	-	69.361
31.	91742	AD	32	Yok	64.915	-	54.057

ES: Egzersiz sonrası.

**Tablo 9 (Devam). Sağlıklı grubun genel özellikleri ve L-arginin sonuçları**

32.	18745	SB	39	Yok	53.435	-	90.393
33.	335178	HT	40	Yok	61.039	-	63.890
34.	157191	ME	41	Yok	58.025	-	116.581
35.	338269	GŞ	42	Yok	64.949	-	73.046
36.	148115	BY	42	Yok	44.430	-	42.346
37.	63461	NM	42	Yok	49.425	-	56.929
38.	79780	ZS	49	Yok	93.429	-	136.273
39.	319446	SE	46	Yok	60.069	-	78.955
40.	78483	BK	44	Yok	52.864	-	66.765
41.	61173	EK	46	Yok	45.047	-	30.585
42.	344744	GA	50	Yok	32.591	-	52.446
43.	334885	HF	56	Yok	47.440	-	116.841
44.	72288	AO	57	Yok	24.724	-	42.249

ES: Egzersiz sonrası.

## TARTIŞMA

Diyabet, sıklığı gittikçe artan, mikrovasküler ve makrovasküler komplikasyonları ile morbiditesi olduğu kadar mortalitesi de yüksek bir hastalıktır. Özellikle makrovasküler komplikasyonlarını değerlendirebilmek amacıyla etyo-patogeneze yönelik araştırmalara literatürde sık rastlanmaktadır. Diyabette endotel fonksiyon bozukluğu olduğu bilinmektedir. Endotelin önemli bir fonksiyonu olan NO üretimi azalmıştır. Bunda ADMA'nın rolü olduğu bilinmekle birlikte diyabet-ADMA ilişkisini değerlendiren çalışmalar sınırlıdır. Literatürdeki çalışmalar değerlendirildiğinde, ADMA düzeyleri kullanılan yöntemlere göre de değişiklik göstermektedir. ELISA ile daha yüksek değerler elde edilmektedir. Ayrıca serum örneğinde çalışıldığında daha yüksek sonuçlar elde edilir. Bu nedenle çalışmamızın sonuçlarını HPLC'nin kullanıldığı çalışmalarla kıyaslamak doğru olur. Yayınların çoğunda tip 2 DM'de ADMA düzeylerinin arttığı görülür (24,44). Hipergliseminin ADMA'yı parçalayan DDAH enzimini inhibe edebileceği öne sürülmüştür (11). Diğer bir olasılık da DDAH enziminin ileri glikozilasyon ürünleri ile baskılanmasıdır (45). Bunun aksini gösteren yayınlar da vardır: Krzyzanowska ve ark.'nın (46) çalışmasında makrovasküler hastalığı bulunmayan diyabetiklerde, plazma ADMA düzeyleri normal sınırlar içerisindedir. Makrovasküler hastalık varlığında 0.72 µM düzeyine ulaşır. Makino ve ark.'nın (47) çalışmasında Tip 2 DM'lilerde plazma ADMA düzeyi normal aralıktadır. Ancak bu kişilerde normal aralıkta kalmakla birlikte mikroalbuminüriklerde normoalbuminüriklere göre daha yüksektir. Ayrıca aşikar proteinürisi olanlarda ADMA'nın daha da arttığı görülür. Ancak yine de 0.66 µM ile normal değerlere oldukça yakındır. Kawata ve ark.'nın (18) çalışmasında da serum ADMA düzeyleri normal aralıktadır. Päivä ve ark.'nın (19) yaptığı çalışmada Tip 2 DM'lilerde sağlıklı kontrollere göre daha düşük düzeylerde ve normal aralıkta bulunan ADMA değerleri, artmış

glomerüler filtrasyon hızına bağlanmıştır. Sağlıklı kişiler ve hastalık bulunanlarda ADMA değerlerindeki bu çakışma nedeniyle L-arginin/ADMA oranları tercih edilmektedir (17,21). Üstelik ADMA, L-argininden protein arginin metil transferaz enzimi ile doğrudan üretilir yani karşılıklı etkileşim halindedirler (17).

Çalışmamızda ADMA, SDMA ve L-arginin düzeylerinde sağlıklı ve DM grubu arasında bir fark görülmediği gibi DM grubunda mutlak değer ortalamaları da normal sınırlar içinde yer aldı. Kontrol grubunun ADMA ortalamalarını literatürle uyumlu bulduk (0.4-0.6  $\mu$ M) (17). Düzeyler, akut egzersiz sonrası ve düzenli egzersiz sonrası da normal aralıkta kalmaya devam etti. Diyabet grubunda ise hipertansiyon, vasküler hastalık ve bazı yayınlarda saptanan 2-3 kat artışları gözlemedik (17,24). Tip 2 DM'de plazma ADMA düzeyine ait Abbasi ve ark.'nın (24) yayınında çalışmadan önceki 4 hafta boyunca oral antidiyabetiklerin kesildiği görülmektedir. Bizim çalışmamızda 36 kişiden oluşan diyabet grubunda 15 kişi çalışma başlangıcında oral antidiyabetik ilaç kullanmıyordu. Ancak ilaç ile ADMA düzeyi arasında ilişki saptanmadı. Bu kişilere medikal tedavi başlanmaması etik açıdan uygun olmadığı için ilaç etkisinden temizlenme amacıyla herhangi bir süre beklenmedi ve gerekli olan tedavi başlandı. Yani heterojen bir hastalık grubu oluşturan tip 2 DM'de ADMA düzeyleri değerlendirilirken ilaç kullanımı da dahil olmak üzere klinik özellikler eşleştirilmeden bu çalışmalardan elde edilen verilerin karşılaştırılması doğru olmayabilir.

L-arginin düzeyleri sağlıklı ve diyabetik grupta literatürle uyumlu şekilde 40-100  $\mu$ M aralığında kaldı. L-arginin/ADMA oran ortalamalarımız, literatürde yukarıda bahsi geçen klinikopatolojik durumlara (17.6-194) ve sağlıklı kişilere (54.3-227) ait verilerle uyumlu bulundu. ADMA düzeylerimiz yüksek olmadığı halde oranların normal aralıkta olmasını, literatürdeki değerlerin geniş bir aralıkta olmasına bağladık.

Diyabetik retinopatisi bulunan Tip 2 DM'lilerde ADMA düzeyleri yüksek bulunmuştur (27,36). Diyabetik retinopati ve nefropati sıklıkla birlikte bulunan mikrovasküler komplikasyonlar olduğu için bu durum nefropatiyle ilişkili olabileceği düşünülse de retinopatisi Tip 2 DM'lilerde nefropatinin olmadığı durumlarda da ADMA'nın arttığı gözlenebilir (44).

"High performance liquid chromatography" ile ölçülen ADMA düzeyleri mikroalbuminürik ve normoalbuminürik diyabetik hastalarda benzer bulunmuştur, ancak makroalbuminürik olanlarda anlamlı düzeyde yüksek olduğu tespit edilmiştir (44). Tip 2 DM'lilerde yapılan bir çalışmada ise ADMA, albuminürik olanlarda normoalbuminürik kişilere göre belirgin derecede daha yüksek bulunmuştur ama albuminüri miktarıyla ilişkili bulunmamıştır (46). Bu çalışmada kreatinin klirensiyle ilişkili olduğu gösterilmiştir. Renal

yetersizlikte ADMA artar. Bunun nedeni ADMA'nın renal yolla atılımının azalması ve DDAH enzim aktivitesinde azalma nedeniyle ADMA'nın degradasyonunda azalmadır (34). Nefropatinin evresi ile ilişkili olabilir örneğin, Tip 2 DM'de hiperfiltrasyon evresinde ADMA düzeyi non-diyabetik kontrollere göre daha düşük bulunmuştur (19).

Çalışmamızda DM grubunun tüm katılımcılarının kreatinin klirensi 30 ml/dakika ve üstü idi. Kreatinin klirensi ile ADMA ve SDMA düzeyleri arasında negatif bir bağıntı bulundu. Yani klirens azaldıkça ADMA ve SDMA artış gösterdi. Bu negatif bağıntı, ADMA/SDMA oranına pozitif bağıntı olarak yansıdı (beta=0.348, p=0.037), diğer bir deyişle SDMA'daki artış ADMA'dakinden daha fazla olduğu için bunların oranı ile klirens arasında pozitif bağıntı saptandı. Bu nedenle SDMA'nın ADMA'dan daha fazla oranda arttığı ve dolayısıyla renal klirensi daha iyi yansıttığı düşünülebilir. Bu sonuç literatürde renal klirens ile ADMA ve SDMA arasındaki ilişkiye ait yayınlarla uyumludur (17,19,36,46).

Hem sağlıklı kişilerde hem Tip 2 DM'lilerde akut hiperglisemi endotel bağımlı vazodilatasyonu bozar (48). ADMA'nın vazodilatasyonu bozduğuna dair insan çalışması yoktur, sadece hayvan çalışması vardır (49). Tip 2 DM'lilerde hipergliseminin oral ajanlarla ve/veya insülinle ile kontrol altına alınmasıyla ADMA düzeylerinde azalma olduğu gözlenmiştir (48). Burada söz konusu hastaların HbA1c değerleri %9'un üzerindedir. Päivä ve ark.'nın (19) yaptığı çalışmada ise hiperfiltrasyonu bulunan diyabetiklerde ADMA ve HbA1c düzeyinin (%8.3±1.7) ters ilişkili olduğu saptanmıştır. Ancak bunun nedeni konusunda bir hipotez ortaya konamamıştır. Sonuçlarımızda hiperglisemi düzeyini yansıtan HbA1c değeri ile ADMA ve SDMA arasında anlamlı bir bağıntı bulunamadı. Bu durum gliseminin her düzeyinin değil belli bir yüksekliğinin (örneğin HbA1c>%9) ADMA düzeyini etkilemesine bağlı olabilir. Ayrıca gliseminin ADMA üzerindeki etkisini glomerüler filtrasyon hızı belirliyor olabilir.

“Dimethylarginine dimethylaminohydrolase” enzimi üzerine olan etkilerinden dolayı lipidler, ADMA düzeylerinde azalmaya yol açabilir (22,28). Çalışmamızda lipid ve sigara kullanımı ile ilişki kurulamadı. Ancak hastaların bir kısmı antilipidemik kullanmaktaydı.

Sağlıklı kişilerde orta yoğunlukta akut egzersizden sonra ön kol akımı yöntemi ve bir NOS inhibitörü olan L-NMMA kullanılarak dolaylı yoldan yapılan değerlendirmede NO'nun arttığı ve bu artışın egzersiz bırakıldıktan 4 hafta sonra dahi devam ettiği tespit edilmiştir (37,38). Düzenli egzersizden ADMA'nın nasıl etkilendiğine bakacak olursak literatürde üç yayın vardır: Gomes ve ark. (39), Niebauer ve ark. (40) ile Mittermayer ve ark.'nın (7) çalışmaları (Ek 3). İlk ikisi diyabetiklerde ne olduğu sorusuna cevap veren çalışmalar değildir. Diyabette ADMA'nın düzenli egzersizde gösterdiği değişim bu çalışmalardan sonuncusunda



ve sadece Tip 1 DM'li hastalarda araştırılmıştır (7). Düzenli egzersiz esnasında ADMA'nın azaldığı ancak program bırakıldıktan aylar sonra bu faydanın kaybolduğu izlenmiştir. SDMA ve L-arginin düzeyleri değişmemekle birlikte ADMA'daki azalmadan dolayı L-arginin/ADMA oranı artmıştır. Bu çalışmada sağlıklı kontrol grubu egzersiz programına alınmamıştır.

Gomes ve ark.'nın (39) 20 sedanter sağlıklı kontrol ve 28 metabolik sendrom hastasından oluşan çalışmasında metabolik sendromlu 18 olgu 3 aylık egzersiz programına alınmıştır. Sağlıklı ayakta egzersiz yoktur.  $VO_{2max}$ 'a göre hesaplanan egzersiz yoğunluğunda haftada 3 gün olacak şekilde hastalar bisiklet ergometrisinde egzersiz programı uygulanmıştır. Yaş ve cinsiyet açısından eşleşmiş olan metabolik sendromlu ve sağlıklı grupta başlangıçta ADMA düzeylerinde anlamlı fark yoktur. Üç aylık süre sonunda egzersiz yapmayan alt grupta 3 ay sonunda ADMA artarken, egzersiz yapan alt grupta ADMA düzeyi istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalma göstermiştir. Egzersiz kan akımını ve vasküler stresi artırarak NO oluşumunu artırabilir. Egzersizden sonra ADMA'daki azalışın, NO'daki bu artışa bağlı olabileceği öne sürülmüştür. Ancak bu çalışmada bizim çalışmamızdan farklı olarak egzersiz yapan sağlıklı kontrol yoktur. DM tanısını daha yüksek oranda koyduran OGTT yapılmamıştır ve egzersiz grubunun açlık plazma glukozu ortalamasının prediyabetik olduğu görülür. Çalışmaya alınan kişilerin yaş ortalamaları bizim vakalarımızdan daha fazladır. Ancak bu çalışmada ADMA düzeyleri ELISA ile değerlendirilmiştir ve SDMA ile L-argininin ölçümü yapılmamıştır. Sağlıklı kişilerde bile  $1.5 \mu M$ 'nin üzerinde olan değerler beklenen normal değerlerden yüksektir. Bu durum muhtemelen ELISA yönteminden kaynaklanmaktadır.

Niebauer ve ark.'nın (40) yaptığı çalışmada 8 haftalık egzersiz programında yeni başlayan kalp yetmezliği bulunan hastaların HPLC ile çalışılan plazma ADMA düzeyleri yaş ve cinsiyet açısından eşleşmiş sağlıklı kontrollerle karşılaştırıldı. Sekiz haftalık egzersiz programı sonunda sağlıklı ve kalp yetmezlikli grupta ADMA ve L-arginin artarken, SDMA ve L-arginin/ADMA oranı hasta grupta azaldı ve sağlıklı grupta arttı. Ancak bu farklar istatistiksel olarak anlamlı düzeyde değildir. Kalp yetersizliğinde artan NOS enzim aktivitesine kompensatuar olarak ADMA'nın arttığı öne sürülmüştür. Ancak bu çalışmaya ait makalede hastaların glukoz metabolizmasına (açlık glukoz düzeyleri veya OGTT sonuçları) ait bilgi yoktur. Çalışmaya alınan kişilerin yaş ortalamaları bizim vakalarımızdan daha fazladır. Egzersiz sıklığı ve süresi daha fazladır.

Çalışmamızda egzersiz yapan sağlıklılarda ADMA düzeylerinde azalma oldu. Azalma, en belirgin düzeyde ilk egzersizden sonra gözlemlendi. Bir aylık düzenli egzersizle sonucunda azalma, daha düşük düzeydeydi. Egzersiz yapan DM grubunda ise ilk egzersiz

sonrası azalma değil aksine artma oldu. Bir aylık düzenli egzersizden sonra ADMA düzeyinde azalma izlenmekle birlikte yine de başlangıca göre yüksek seyretti. SDMA'ya bakıldığında sağlıklı grupta daha belirgin olmak üzere gerek sağlıklı kişilerde gerek DM bulunanlarda egzersizle birlikte 1. ayın sonunda azalma gözlemlendi. L-arginin ise sağlıklı egzersiz yapanlarda artarken egzersiz yapan DM grubunda azaldı. Ancak bu 3 molekül düzeyinde olan değişim istatistiksel olarak belirgin bir farka ulaşmamakla birlikte aralarındaki oranlarda (L-arginin/ADMA ve L-arginin/SDMA) anlamlı değişim gözledik. Bu oranlardaki en belirgin artışın egzersiz yapan sağlıklılarda görülmesi, egzersizden en fazla faydalananın sağlıklılar olduğunu düşündürmektedir. Ancak DM'lilerde egzersizin hipertansiyon, kilo, vücut yağ bileşeni ve glisemi kontrolü üzerine olan etkisi ile morbidite ve mortaliteyi azaltıcı etkisinde NOS sistemi bileşenleri (ADMA, SDMA ve L-arginin) dışında veya en azından buna ek olarak başka koruyucu yolların önem kazandığını akla getirmektedir.

Çalışmamızda egzersiz yapanlarda yapmayanlara göre bir ayın sonunda anlamlı kilo kaybı olmadı. Ancak çalışmada hedeflenen kilo kaybı değildi. Egzersiz sıklığının daha fazla olması ve kalori kısıtlaması olmaksızın anlamlı kilo kaybı hedeflenemez. Benzer şekilde Boulé'in (16) yaptığı bir meta-analizde  $\geq 8$  hafta süren 12 aerobik ve 2 rezistans egzersizi çalışmasında Tip 2 DM'lilerde kilo açısından anlamlı değişiklik olmamıştır. Boulé bu çalışmalarda kilo verilememiş olmasını egzersizin yeterli sıklık ve sürede yapılmamış olmasına bağlamakla birlikte, meta-analizde incelenen çalışmalarda vücut bileşiminin incelenmemiş olması nedeniyle belki de egzersizle kaybedilen yağ miktarının artan yağsız kitle miktarıyla karşılanmasının söz konusu olabileceğini öne sürmektedir. Boulé'in (50) egzersiz yoğunluğunun  $VO_{2max}$ 'ın %50'sinden  $>75$ 'ine kadar değiştiği ve egzersiz hacminin haftada 8.75-24.75 MET-saat arasında değiştiği aerobik egzersiz çalışmalarında yaptığı bir diğer meta-analizde manyetik rezonans görüntülemeyle yapılan ölçümde abdominal visceral yağda %48, abdominal subkutanöz yağda %18 azalma görüldü. Bizim çalışmamızda egzersizi tamamlayan DM hastası sayısı az olduğu için vücut kompozisyonunda değişimin değerlendirilmesine uygun değildir.

Bruce protokolüne göre yapılan egzersiz tolerans testinde ölçülen HRR ve Kİ, kardiyovasküler mortaliteyle ilişkilidir (51). Bizim çalışmamızda sadece egzersiz yapacak olan DM hastalarına egzersiz tolerans testi uygulandı. Genel olarak beklenen 9-12 MET'lik egzersiz kapasitesi hastalarımızda ortalama 6.7 MET idi ve tüm hastalar Bruce protokolünde azami 3. evreye kadar ulaştı. Kronotropik indeks ortalaması beklendiği şekilde 0.8'den daha fazlaydı ve HRR ortalaması 12'den fazlaydı. Ancak zaten retinopati ve nefropati açısından ileri evre hastaları değillerdi.

Egzersiz kapasitesini belirleyen  $VO_{2max}$  değerine bakıldığında yaş etkisi ve VKİ etkisi artırıldığında dahi DM grubunun sağlıklılara göre belirgin düzeyde düşük olduğu görüldü ( $p=0.01$  ve  $p=0.00$ ). Aşırı kardiyovasküler hastalığı olmayan DM'lilerde kilo ve yaşın dışında egzersiz kapasitesini kısıtlayan hipertansiyon ve mikrovasküler kalp hastalığı gibi başka etkenler olabilir.

Sonuç olarak düzenli egzersizin ADMA, SDMA ve L-arginin üzerine olan etkisinin Tip 2 DM'lilerde inceleyen ilk çalışma olması açısından araştırmamız önem taşımaktadır. NOS sistemini değerlendirmek için mutlak ADMA, SDMA ve L-arginin düzeylerinden ziyade L-arginin/ADMA ve L-arginin/SDMA oranlarının daha yararlı olduğunu düşünüyoruz. Sağlıklı kişilerde NOS sisteminin adı geçen bileşenleri, ateroskleroz sürecine olumlu etkisi yadsınmaz olan egzersizde önemli rol oynamakla birlikte DM bulunan kişilerde bu rol azalmaktadır. Daha net sonuçlar için daha uzun süreli ve vaka sayısı daha yüksek deneyimlere ihtiyaç duyulmaktadır.

## SONUÇLAR

Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Endokrinoloji ve Metabolizma Hastalıkları Bilim Dalı'nda çalışmaya alınan 36 Tip 2 DM'li kadından 14'ü u ve 44 sağlıklı kadından 19'u egzersiz programına alındı. Egzersiz programına alınan DM'lilerden 9 kişi ve sağlıklı gruptan 5 kişi programı tamamlayamadı. Tüm katılımcılardan çalışma başlangıcında, egzersiz programına alınanlarda ilk egzersizden hemen sonra ve egzersiz yapmayanlar ile egzersiz yapanlardan bir ayı tamamlayanlardan birinci ayın sonunda alınan kan örneklerinde ADMA, SDMA ve L-arginin düzeyleri değerlendirildi. L-arginin/ADMA, L-arginin/SDMA ve ADMA/SDMA oranları hesaplandı. Hastalara ait aşağıdaki sonuçlar elde edildi:

1. Egzersiz tolerans testi sırasında DM grubunda anjina ve hipotansiyon gelişmemesine karşılık en sık saptanan semptom yorgunluk idi. Katılımcıların hiçbiri testin 3. evresinden sonraki evreleri tamamlayamadı. Bu kişilerin  $VO_{2max}$ 'ı da kontrol grubuna göre düşüktü. DM grubunun egzersiz tolerans testini tamamlayamaması düşük egzersiz kapasitesine bağlandı.
2. Diyabet grubunda ADMA, SDMA ve L-arginin mutlak değer ortalamaları normal sınırlar içinde yer aldı. Düzeyler, akut egzersiz sonrası ve düzenli egzersiz sonrası da normal aralıkta kalmaya devam etti. Bu maddelerin mutlak düzeyleri vasküler hasarı göstermek için tek başına kullanılamaz.
3. Asimetrik dimetilarginin, SDMA ve L-arginin düzeyleri ile aralarındaki oranlar hiperglisemiden ve lipid düzeyinden etkilenmez.
4. Birinci ay sonunda başlangıç ölçümüne göre egzersiz yapan sağlıklı grupta L-arginin/ADMA oranı anlamlı düzeyde artış gösterirdi. Birinci ay sonunda

5. başlangıç ölçümüne göre L-arginin/SDMA oranı sağlıklı grupta anlamlı düzeyde azaldı. Egzersiz yapanlarda birinci ay sonu ölçümleri ilk egzersiz sonrası ölçümlerle karşılaştırıldığında DM grubunda L-arginin/ADMA, L-arginin/SDMA ve ADMA/SDMA oranları artarken ve kontrol grubunda istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azaldı. Dolayısıyla mutlak ölçüm sonuçlarından ziyade oranların değerlendirilmesi daha yararlıdır.
6. Oranlardaki en belirgin artışın egzersiz yapan sağlıklılarda görülmesi, egzersizden en fazla faydalananın sağlıklılar olduğunu düşündürmektedir. Ancak DM'lilerde egzersizin hipertansiyon, kilo, vücut yağ bileşeni ve glisemi kontrolü üzerine olan etkisi ile morbidite ve mortaliteyi azaltıcı etkisinde NOS sistemi bileşenleri (ADMA, SDMA ve L-arginin) dışında veya en azından buna ek olarak başka koruyucu yollar rol alıyor olabilir.
7. Simetrik dimetilarginin, yaşla birlikte artar.
8. Klirens azaldıkça ADMA ve SDMA artar. SDMA'daki artış ADMA'dakinden daha fazla olduğu için SDMA'nın ADMA'dan daha fazla oranda arttığı ve dolayısıyla renal klirensi daha iyi yansıttığı düşünülebilir.

## ÖZET

En kuvvetli anti-aterojen madde olan “nitric oxide”ın endojen inhibitörü olan asimetrik dimetilarginin ile simetrik dimetilarginin artışı Tip 2 diabetes mellitusta kardiyovasküler hastalığa neden olan aterosklerotik değişiklikler oluşmadan önce görülen endotelial disfonksiyona işaret eder. Bu projenin amacı, Tip 2 diabetes mellituslu hastalarda bu maddelerin egzersizle olan ilişkisini incelemektir.

Tip 2 diabetes mellitus tanılı 36 kadın ve 44 sağlıklı kadın çalışmaya alındı. Sırasıyla 14 ve 19 kişi orta yoğunlukta dört haftalık egzersiz programı verildi. Çalışma başlangıcında, 1. ayda ve egzersiz programına alınan kişilerde ilk egzersiz seansından sonra alınan kan örneklerinde asimetrik ve simetrik dimetilarginin ile L-arginin düzeyleri kromatografi yöntemiyle ölçüldü.

Ölçümlerin grup içi karşılaştırmasında Bonferroni çoklu karşılaştırma testi ve iki grup arasında değerlerin değişimlerinin karşılaştırmasında Kovaryans Analizi kullanıldı.

Diyabet grubunda ve sağlıklı grupta ölçümler tüm zaman noktalarında literatürle uyumlu şekilde normal sınırlar içinde yer aldı. Birinci ay sonunda başlangıç ölçümüne göre egzersiz yapan sağlıklı grupta gözlenen L-argininin asimetrik ve simetrik dimetilarginine olan oranları istatistiksel olarak anlamlı bulundu (sırasıyla  $p < 0.022$  ve  $0.017$ ).

Egzersiz yapanlarda birinci ay sonu ölçümleri ilk egzersiz sonrası ölçümlerle karşılaştırıldığında diyabet grubunda bu oranlar artarken ve kontrol grubunda azaldı. Simetrik dimetilarginin ile yaş arasında pozitif bağıntı saptandı ( $\beta = 0.226$ ,  $p = 0.044$ ). Kreatinin klirensi değerlendirilen diyabet grubunda asimetrik ve simetrik dimetil arginin düzeyleri ile arasında negatif bağıntı bulundu (sırasıyla  $\beta = -0.482$ ,  $p = 0.003$  ve  $\beta = -0.477$ ,  $p = 0.003$ ).

“Nitric oxide” sistemini değerlendirmede mutlak dimetilargininlerin ve argininin düzeylerinden ziyade argininin asimetric ve simetric dimetilarginine olan oranlarının daha yararlı olduğunu düşünüyoruz.

Bu moleküller sağlıklı kişilerde egzersizin olumlu etkilerinin ortaya çıkmasında önemli rol oynamakla birlikte diyabet bulunan kişilerde bu rol azalır.

**Anahtar kelimeler:** Diabetes Mellitus, asimetric dimetilarginin, egzersiz

# **THE BIOCHEMICAL MARKERS OF ENDOTHELIAL DYSFUNCTION IN TYPE 2 DIABETES MELLITUS AFTER ACUTE AND REGULAR EXERCISE**

## **SUMMARY**

The increase in symmetric dimethyl arginine and the inhibitor of the most anti-atherogenic molecule nitric oxide, namely asymmetric dimethyl arginine indicates endothelial dysfunction observed before atherosclerotic changes leading to cardiovascular disease in Type 2 diabetes mellitus.

The aim of the project was to evaluate the relationship of these molecules with exercise in patients with Type 2 diabetes mellitus.

Thirty six women with Type 2 diabetes mellitus and 44 healthy women were enrolled to the study. Fourteen and 19 subjects, respectively, attended a four-weeks of moderate intensity exercise schedule. Symmetric and asymmetric dimethyl arginine and arginine levels were studied by chromatography in the blood samples taken at the initial and first month of the study as well as those taken immediately after the first exercise session in the exercise group.

Bonferroni multiple comparisons were done for within-group comparisons of the measurement at the initial and after the first month of the study and after the first exercise session. Covariance analysis was done for comparison of the changes at different timepoints between two groups.



All measurement at different timepoints was within normal range both in diabetic and healthy groups in agreement with the literature. In the exercise group of healthy subjects the ratios of arginine to asymmetric and symmetric dimethyl arginine after one month were significantly higher than the initial values ( $p < 0.022$  and  $0.017$ , respectively). After one month of exercise the abovementioned ratios increased in diabetics and decreased in healthy subjects when compared to the measurement after first exercise session. There was a positive correlation between symmetric dimethylarginine and age ( $\beta = 0.226$ ,  $p = 0.044$ ). There was a negative correlation between creatinine clearance in diabetics and asymmetric and symmetric dimethyl arginine levels ( $\beta = -0.482$ ,  $p = 0.003$  and  $\beta = -0.477$ ,  $p = 0.003$ , respectively). We suggest that ratios of arginine to asymmetric and symmetric dimethyl arginine should be used in spite of their absolute levels to determine the status of nitric oxide system. We also conclude that these molecules have a substantial role in beneficial effects of exercise in healthy subjects while their role is scarce in diabetics.

**Key words:** Diabetes mellitus, asymmetric dimethylarginine, exercise

## KAYNAKLAR

1. Roglic G, Unwin N, Bennett PH, Mathers C, Tuomilehto J, Nag S et al. The burden of mortality attributable to diabetes. *Diabetes Care* 2005;28(9):2130-5.
2. American Diabetes Association. Nutrition recommendations and interventions for diabetes: a position statement of the American Diabetes Association. *Diabetes Care* 2007;31:48-65.
3. Sigal RJ, Kenny GP, Wasserman DH, Castaneda-Sceppa C. Physical activity/ exercise and type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2004;27(10):2518-39.
4. Abdu TAM, Elhadd T, Pfeifer M, Clayton RN. Endothelial dysfunction in endocrine disease. *Trends Endocrinol Metab* 2001;12(6):257-65.
5. Sydow K, Mondon CE, Cooke JP. Insulin resistance: potential role of the endogenous nitric oxide synthase inhibitor ADMA. *Vascular Medicine* 2005;10(2):35-43.
6. Böger RH. Asymmetric dimethylarginine (ADMA) and cardiovascular disease: insights from prospective clinical trials. *Vascular Medicine* 2005;10(2):19-25.
7. Mittermayer F, Pleiner J, Krzyzanowska K, Wiesinger GF, Francesconi M, Wolzt M. Regular physical exercise normalizes elevated asymmetrical dimethylarginine concentrations in patients with type 1 diabetes mellitus. *Wien Klin Wochenschr* 2005;117(23-24):816-20.
8. King H, Aubert RE, Herman WH. Global burden of diabetes, 1995-2025: prevalence, numerical estimates, and projections. *Diabetes Care* 1998;21(9):1414-31.
9. American Diabetes Association. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care* 2008;31(1):55-60.
10. Nathan DM, Davidson MB, DeFronzo RA, Heine RJ, Henry RR; Pratley R et al. Impaired fasting glucose and impaired glucose tolerance. *Diabetes Care* 2007;30(3):753-9.

11. Surdacki A, Stochmal E, Szurkowska M, Bode-Böger SM, Martens-Lobenhoffer J, Stochmal A et al. Nontraditional atherosclerotic risk factors and extent of coronary atherosclerosis in patients with combined impaired fasting glucose and impaired glucose tolerance. *Metabolism* 2007;56(1):77– 86.
12. Mackay J, Mensah G. *Atlas of Heart Disease and Stroke*. 1<sup>st</sup> ed. Geneva: WHO, 2004:18-9.
13. World Health Organization. *Physical status: the use and interpretation of anthropometry: report of a WHO expert committee*. World Health Organ Tech Rep Ser 1995;854:1–452.
14. Flegal KM, Carroll MD, Ogden CL, Johnson CL. Prevalence and trends in obesity among US adults, 1999–2000. *JAMA* 2002;288(14):1723–7.
15. American College of Sports Medicine. *ACSM's Resource Manual for Guidelines for Exercise Testing and Prescription*. 6<sup>th</sup> ed. New York: Lippincott Williams & Wilkins, 2005:137-216.
16. Boulé NG, Haddad E, Kenny GP, Wells GA, Sigal RJ. Effects of exercise on glycemic control and body mass in type 2 diabetes mellitus: a meta-analysis of controlled clinical trials. *JAMA* 2001;286(10):1218–27.
17. Bode-Böger SM, Scalera F, Ignarro LJ. The l-arginine paradox: Importance of the l-arginine/asymmetrical dimethylarginine ratio. *Pharmacol Ther* 2007;114(3):295-306.
18. Kawata T, Daimon M, Hasegawa R, Teramoto K, Toyoda T, Sekine T et al. Effect of angiotensin-converting enzyme inhibitor on serum asymmetric dimethylarginine and coronary circulation in patients with type 2 diabetes mellitus. *Int J Cardiol*. In press 2007.
19. Päivä H, Lehtimäki T, Laakso J, Ruukonen I, Rantalaiho V, Wirta O et al. Plasma concentrations of asymmetric-dimethyl-arginine in type 2 diabetes associate with glycemic control and glomerular filtration rate but not with risk factors of vasculopathy. *Metabolism* 2003;52(3):303-7.
20. PubChem [database on the internet]. The National Center for Biotechnology Information (US). 2008. <http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/summary/summary.cgi?cid=123831>.
21. Vallance P, Leone A, Calver A, Collier J, Moncada S. Accumulation of an endogenous inhibitor of nitric oxide synthesis in chronic renal failure. *Lancet* 1992;339(8793):572–5.
22. Fard A, Tuck CH, Donis JA, Sciacca R, Di Tullio MR, Wu D et al. Acute elevations of plasma asymmetric dimethylarginine and impaired endothelial function in response to a high-fat meal in patients with type 2 diabetes. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000;20(9):2039-44.
23. Oguz A, Uzunlulu M, Yorulmaz E, Yalçın Y, Hekim N, Fici F. Effect of nebivolol and metoprolol treatments on serum asymmetric dimethylarginine levels in hypertensive patients with type 2 diabetes mellitus. *Anadolu Kardiyol Derg* 2007;7(4):383-7.
24. Abbasi F, Asagmi T, Cooke JP, Lamendola C, McLaughlin T, Reaven GM et al. Plasma concentrations of asymmetric dimethylarginine are increased in patients with type 2 diabetes mellitus. *Am J Cardiol* 2001;88(10):1201-3.

25. Bode-Böger SM, Scalerà F, Kielstein JT, Martens-Lobenhoffer J, Breithardt G, Fobker M et al. Symmetrical dimethylarginine: a new combined parameter for renal function and extent of coronary artery disease. *J Am Soc Nephrol* 2006;17:1128–34.
26. Fleck C, Schweitzer F, Karge E, Busch M, Stein G. Serum concentrations of asymmetric (ADMA) and symmetric (SDMA) dimethylarginine in patients with chronic kidney diseases. *Clin Chim Acta* 2003;336(1-2):1-12.
27. Sugai M, Ohta A, Ogata Y, Nakanishi M, Ueno S, Kawata T et al. Asymmetric dimethylarginine (ADMA) in the aqueous humor of diabetic patients. *Endocrine Journal* 2007;54(2):303-9.
28. Ito A, Egashira K, Narishige T, Muramatsu K, Takeshita A. Angiotensin-converting enzyme activity is involved in the mechanism of increased endogenous nitric oxide synthase inhibitor in patients with type 2 diabetes mellitus. *Circ J* 2002;66(9):811–5.
29. Chen JW, Hsu NW, Wu TC, Shing-Jong L, Chang MS. Long-term angiotensin-converting enzyme inhibition reduces plasma asymmetric dimethylarginine and improves endothelial nitric oxide bioavailability and coronary microvascular function in patients with syndrome X. *Am J Cardiol* 2002;90(9):974–82.
30. Galle J, Schwedhelm E, Pinnetti S, Böger RH, Wanner C, Galle J et al. Antiproteinuric effects of angiotensin receptor blockers: telmisartan versus valsartan in hypertensive patients with type 2 diabetes mellitus and overt nephropathy. *Nephrol Dial Transplant* 2008;23(10):3174-83.
31. Asagami T, Abbasi F, Stuelinger M, Lamendola C, McLaughlin T, Cooke JP et al. Metformin treatment lowers asymmetric dimethylarginine concentrations in patients with type 2 diabetes. *Metabolism* 2002;51(7):843-6.
32. Böger RH, Bode-Böger SM, Tsao PS, Lin PS, Chan JR, Cooke JP. An endogenous inhibitor of nitric oxide synthase regulates endothelial adhesiveness for monocytes. *J Am Coll Cardiol* 2000;36(7):2287-95.
33. Chan JR, Böger RH, Bode-Böger SM, Tangphao O, Tsao PS, Blaschke TF et al. Asymmetric dimethylarginine increases mononuclear cell adhesiveness in hypercholesterolemic humans. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000;20(4):1040-6.
34. Bardi P, de Lalla A, Pieragalli D, de Franco V, Meini S, Ceccatelli L et al. Effect of iloprost on plasma asymmetric dimethylarginine and plasma and platelet serotonin in patients with peripheral arterial occlusive disease. *Prostaglandins Other Lipid Mediat* 2006;80(3-4):175–82.
35. Kelly AS, Thelen AM, Kaiser DR, Gonzalez-Campoy JM, Bank AJ. Rosiglitazone improves endothelial function and inflammation but not asymmetric dimethylarginine or oxidative stress in patients with type 2 diabetes mellitus. *Vasc Med* 2007;12(4):311-8.
36. Malecki MT, Undas A, Cyganek K, Mirkiewicz-Sieradzka B, Wolkow P, Osmenda G et al. Plasma asymmetric dimethylarginine (ADMA) is associated with retinopathy in type 2 diabetes mellitus. *Diabetes Care* 2007;30(11):2899-901.

37. Goto C, Nishioka K, Umemura T, Jitsuiki D, Sakaguchi A, Kawamura M et al. Acute moderate-intensity exercise induces vasodilation through an increase in nitric oxide bioavailability in humans. *Am J Hypertens* 2007;20(8):825-30.
38. Maeda S, Miyauchi T, Kakiyama T, Sugawara J, Iemitsu M, Irukayama-Tomobe Y et al. Effects of exercise training of 8 weeks and detraining on plasma levels of endothelium-derived factors, endothelin-1 and nitric oxide, in healthy young humans. *Life Sci* 2001;69(9):1005–16.
39. Gomes VA, Casella-Filho A, Chagas ACP, Tanus-Santos JE. Enhanced concentrations of relevant markers of nitric oxide formation after exercise training in patients with metabolic syndrome. *Nitric Oxide* 2008;19(4):345-50.
40. Niebauer J, Clark AL, Webb-Peploe KM, Böger R, Coats AJS. Home-based exercise training modulates pro-oxidant substrates in patients with chronic heart failure. *Eur J Heart Fail* 2005;7(2):183–8.
41. Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of low density lipoprotein cholesterol in plasma without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem* 1972;18(6):499–502.
42. Matthews DR, Hosker JR, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF, Turner RC. Homeostasis model assessment: insulin resistance and  $\beta$ -cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia* 1985;28(7):412-9.
43. Hill J, Timmis A. ABC of clinical electrocardiography: Exercise tolerance testing. *BMJ* 2002;324:1084-7.
44. Yamagishi S, Ueda S, Nakamura K, Matsui T, Okuda S. Role of asymmetric dimethylarginine (ADMA) in diabetic vascular complications. *Curr Pharm Des* 2008;14(25):2613-8
45. Yamagishi S, Ueda S, Okuda S. A possible involvement of crosstalk between advanced glycation end products (AGEs) and asymmetric dimethylarginine (ADMA), an endogenous nitric oxide synthase inhibitor in accelerated atherosclerosis in diabetes. *Med Hypotheses* 2007;69(4):922-4.
46. Krzyzanowska K, Mittermayer F, Shnawa N, Hofer M, Schnabler J, Etmüller Y et al. Asymmetrical dimethylarginine is related to renal function, chronic inflammation and macroangiopathy in patients with Type 2 diabetes and albuminuria. *Diabet Med* 2007;24(1):81-6.
47. Makino H, Doi K, Hiuge A, Nagumo A, Okada S, Miyamoto Y et al. Impaired flow-mediated vasodilatation and insulin resistance in type 2 diabetic patients with albuminuria. *Diabetes Research and Clinical Practice* 2008;79(1):177–82.
48. Yasuda S, Miyazaki S, Kanda M, Goto Y, Suzuki M, Harano Y et al. Intensive treatment of risk factors in patients with type-2 diabetes mellitus is associated with improvement of endothelial function coupled with a reduction in the levels of plasma asymmetric dimethylarginine and endogenous inhibitor of nitric oxide synthase. *Eur Heart J* 2006;27(10):1159–65.

49. Xiong Y, Lu R, Li YJ, Deng HW. Elevation of an endogenous inhibitor of nitric oxide synthase in diabetic rat serum. *Zhongguo Yao Li Xue Bao* 1997;18(6):511-4.
50. Boulé NG, Kenny GP, Haddad E, Wells GA, Sigal RJ. Meta-analysis of the effect of structured exercise training on cardiorespiratory fitness in type 2 diabetes mellitus. *Diabetologia* 2003;46(8):1071–81.
51. Dogru MT, Gunaydin S, Simsek V, Tulmac M, Guneri M. Correlation of chronotropic index and heart rate recovery to heart rate variability and diastolic function values in men. *The Internet Journal of Cardiology* [serial online]. 2007. <http://www.ispub.com/ostia/index.php?xmlFilePath=journals/ijc/vol4n2/index.xml>.

## **EKLER**

# EK 1



T.C.  
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI  
YEREL ETİK KURUL BAŞKANLIĞI  
ETİK KURUL KARARLARI

Oturum Sayısı:17

Karar Tarihi:13.09.2007

7-Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu 13.09.2007 tarihinde; “**Tip 2 diabetes mellituslu hastalarda akut ve düzenli egzersizin endotelial disfonksiyonun biyokimyasal belirteçlerine olan etkisi**” adlı TÜTFEK 2007/154 protokol no.lu Uzm. Dr. Bengür TAŞKIRAN’ın tez çalışmasını incelemek üzere toplandı. Doç. Dr. Dilek MEMİŞ ve Yrd. Doç. Dr. Ufuk USTA izinli olması nedeniyle katılmadı ve çalışmanın incelenmesine geçildi.

Yapılan inceleme sonunda çalışmanın Fakültemiz İç Hastalıkları AD, Endokrinoloji ve Metabolizma Hastalıkları BD’nda yapılacağı, yürütücüsünün Doç. Dr. Betül UĞUR ALTUN olduğu ve araştırma protokolünün amaç, yaklaşım, gereç ve yöntemler dikkate alınarak incelenmesi sonucunda; Helsinki Deklerasyonu Kararlarına, Hasta Hakları Yönetmeliğine ve etik kurallara uygun olarak hazırlandığına ve araştırma bütçesinin **Trakya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (TÜBAP)** tarafından desteklenmesi koşuluyla yapılmasının **UYGUN** olduğuna mevcudun oybirliği ile karar verildi.

Ünvanı/Adı/Soyadı EK Üyeliği	Uzmanlık Dalı	Kurumu	Cinsiyeti	İlişki (*)	Katılım (**)	İmza
Prof. Dr. Dikmen DÖKMECİ Başkan	Farmakoloji	T.Ü.T.F. Farmakoloji A.D.	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Yrd. Doç. Dr. Ümit N. BAŞARAN Başkan Yardımcısı	Çocuk Cerrahisi	T.Ü.T.F. Çocuk Cerrahisi A.D.	E	<input type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	<input type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	Katılmadı
Prof. Dr. Betül Biner ORHANER Üye	Çocuk Sağ. Ve Hst.	T.Ü.T.F. Çocuk Sağlığı ve Hst. A.D.	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Doç. Dr. Dilek MEMİŞ Üye	Anesteziyoloji	T.Ü.T.F. Anesteziyoloji A.D.	K	<input type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	<input type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	Katılmadı
Doç. Dr. Betül Uğur ALTUN Üye	Endokrinoloji	T.Ü.T.F. İç Hst. A.D.	K	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	
Doç. Dr. Gürcan ALTUN Üye	Adli Tıp	T.Ü.T.F. Adli Tıp A.D.	E	<input type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	<input type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Yrd. Doç. Dr. Hakan ERBAŞ Üye	Biyokimya	T.Ü.T.F. Biyokimya A.D.	E	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Yrd. Doç. Dr. Ufuk USTA Üye	Patoloji	T.Ü.T.F. Patoloji A.D.	E	<input type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	<input type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	Katılmadı
Ecz. Emine SAKMAN Üye	Eczacı	T.Ü.T.F. Başhekimliği	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Avukat Mustafa POLAT Üye	Ceza Hukuku	T.Ü. Rektörlüğü	E	<input type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	<input type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	Katılmadı

\* Araştırma ile İlişki

\*\* Toplantıda Bulunma

Prof. Dr. Filiz AKATA  
Dekan

Posta Adresi:  
T.Ü. Tıp Fakültesi Dekanlığı  
Güllapoğlu Yerleşkesi  
22030 EDİRNE

Tel: (0284) 235 76 53 – 235 73 73  
Faks: (0284) 235 76 52  
E-posta: dekanlik@trakya.edu.tr  
Elektronik Ağ: http://tipfak.trakya.edu.tr



## EK 2

### BİLGİLENDİRİLMİŞ OLUR FORMU

Bu katıldığınız çalışma bilimsel bir araştırma olup, araştırmanın adı “Tip 2 diabetes mellituslu hastalarda akut ve düzenli egzersizin endotelial disfonksiyonun biyokimyasal belirteçlerine olan etkisi”dir.

Diyabet yani şeker hastalığı özellikle kontrolsüz olduğunda vücutta bulunan tüm damarları (göz, böbrek, bacak damarları, kalp damarları vb.) etkileyen bir hastalıktır. Tedavisinde diyet, egzersiz ve çeşitli ilaçlar yer alır. Egzersiz haftanın çoğu günü en az yarım saat olacak şekilde önerilir. Ancak bazı hastalar gerek sosyal nedenlerle gerekse eşlik eden ortopedik problemler gibi ek faktörler nedeniyle düzenli egzersiz yapamazlar.

Bu araştırmanın amaçları; düzenli egzersiz yapan ve yapamayan şeker hastalarında kanda ne gibi değişikliklerin olduğunu gözlemlemektir. Bu amaçla şeker hastalarındaki verileri şeker hastası olmayanlarıkiyle karşılaştıracağız. Daha önce tansı olmayan kişilerden şeker hastası olmayanları belirlemek için şekerli yükleme testi yapılacaktır. Bu amaçla sekiz saat açlıktan sonra kan alınacak, 75 g glukoz bir bardak suda 5 dakika içerisinde içirilecek ve 2 saat sonra tekrar şeker ölçümü için kan örneği alınacaktır. Bu testin sonucunda şeker hastası veya aday olup olmadığını belirleme ve buna yönelik önlem alma imkanımız olacaktır. Şeker hastası veya aday olmayan kişiler sağlıklı grupta incelenecektir. Bu tetkik herhangi bir yan etki ve risk içermemektedir.

Şeker hastası olan ve olmayan kişiler iki eşit gruba ayrılacaktır: düzenli egzersiz yapan ve yapamayan. Kişiyeye özel egzersiz programınız Trakya Üniversitesi Fizyoloji Bilim Dalı öğretim üyesi Doç. Dr. Arzu Vardar tarafından verilecektir.

Bu araştırmada size araştırma maksadıyla herhangi bir tedavi uygulanmayacaktır. Çalışmada ilaç tedaviniz sadece şeker kontrolünüz hedefte olmazsa değiştirilecektir. Çalışma içeriğinde tedavinize araştırma maksatlı müdahale yoktur.

Kan tetkikleri izleminizde kullanılan tetkiklerden ve günlük pratikte kullanılmayan maddelere ilişkin testlerden oluşmaktadır. Bu çalışmanın sonucunda, incelenecek yeni laboratuvar incelemesi ile damar hasarlanmalarının mekanizmasını aydınlatma imkanı bulabileceğimizi düşünmekteyiz. Laboratuvar incelemesi için egzersiz yapan kişilerden ilk egzersiz seansı öncesi, ilk egzersiz seansının hemen akabinde ve düzenli bir aylık egzersizden sonra 20cclik kan alınacaktır. Egzersiz yapmayan kişilerden ise çalışmanın başlangıcında ve bir ayın sonunda 20cclik kan alınacaktır. Araştırmaya katılacak toplam gönüllü sayısı 80’dir.

Bu araştırma ile ilgili olarak sizin herhangi bir sorumluluğunuz yoktur.

Bu araştırma sizin için herhangi bir risk taşımamaktadır. Ancak damar sertliğine ait incelemeleriniz yapılacak ve kalp damar hastalıklarına olan eğiliminiz belirlenecektir. Egzersizin faydaları belirlenecektir.

Bu araştırma içerisinde herhangi bir alternatif tedavi ya da işlem bulunmamaktadır.

Araştırma sırasında sizi ilgilendirebilecek herhangi bir gelişme olduğunda, bu durum size veya yasal temsilcinize derhal bildirilecektir. Araştırma hakkında ek bilgiler almak için ya da çalışma ile ilgili herhangi bir sorun, istenmeyen etki ya da diğer rahatsızlıklarınız için 0 284 2357646-2636 no.lu telefondan Dr.Bengür Taşkırın’a başvurabilirsiniz.

Bu araştırmada yer almanız nedeniyle size hiçbir ödeme yapılmayacaktır; ayrıca, bu araştırma kapsamındaki bütün muayene, tetkik, testler ve tıbbi bakım hizmetleri için sizden veya bağlı bulunduğunuz sosyal güvenlik kuruluşundan hiçbir ücret istenmeyecektir. Bu araştırma Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma Fonu tarafından desteklenmektedir.

Bu araştırmada yer almak tamamen sizin isteğinize bağlıdır. Araştırmada yer almayı reddedebilirsiniz ya da herhangi bir aşamada araştırmadan ayrılabilirsiniz; bu durum herhangi bir cezaya ya da sizin yararlarınıza engel duruma yol ağmayacaktır. Araştırıcı bilginiz dahilinde veya isteğiniz dışında, uygulanan tedavi şemasının gereklerini yerine getirmemeniz, ağışma programını aksatmanız veya tedavinin etkinliğini artırmak vb. nedenlerle sizi araştırmadan ağkarabilir. Araştırmanın sonuçları bilimsel amaağla kullanılacaktır; ağışmadan ağkilmeniz ya da araştırıcı tarafından ağkarılmanız durumunda, sizle ilgili tıbbi veriler de gerekirse bilimsel amaağla kullanılabilir.

Size ait tım tıbbi ve kimlik bilgileriniz gizli tutulacaktır ve araştırma yayınlansa bile kimlik bilgileriniz verilmeyecektir, ancak araştırmanın izleyicileri, yoklama yapanlar, etik kurullar ve resmi makamlar gerektiğinde tıbbi bilgilerinize ulaşabilir. Siz de istediğinizde kendinize ait tıbbi bilgilere ulaşabilirsiniz

#### **Çalışmaya Katılma Onayı:**

Yukarıda yer alan ve araştırmaya başlanmadan önce gönüllüye verilmesi gereken bilgileri okudum ve sözlü olarak dinledim. Aklıma gelen tım soruları araştırıcıya sordum, yazılı ve sözlü olarak bana yapılan tım ağışlamaları ayrıntılarıyla anlamış bulunmaktayım. Çalışmaya katılmayı isteyip istemediğime karar vermem için bana yeterli zaman tanındı. Bu koşullar altında, bana ait tıbbi bilgilerin gözden geağirilmesi, transfer edilmesi ve işlenmesi konusunda araştırma yürütücüsüne yetki veriyor ve söz konusu araştırmaya ilişkin bana yapılan katılım davetini hiãbir zorlama ve baskı olmaksızın büyük bir gönüllülük iãerisinde kabul ediyorum.

Bu formun imzalı bir kopyası bana verilecektir.

#### **Gönüllünün,**

Adı-Soyadı:

Adresi:

Tel.-Faks:

Tarih ve İmza:

#### **Velayet veya vesayet altında bulunanlar için veli veya vasinin,**

Adı-Soyadı:

Adresi:

Tel.-Faks:

Tarih ve İmza:

#### **Aağışlamaları yapan araştırmacının,**

Adı-Soyadı: Bengür Taşkıran

Görevi: uzman doktor

Adresi: Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi, İã Hastalıkları ABD, Endokrinoloji ve Metabolizma Hastalıkları BD.

Tel.-Faks: 0 284 2357646-2636

Tarih ve İmza:

#### **Olur alma işlemine başından sonuna kadar tanıklık eden kuruluş görevlisinin/görüşme tanığının,**

Adı-Soyadı:

Görevi:

Adresi:

Tel.-Faks:

Tarih ve İmza:

### EK 3

#### Düzenli egzersiz sonrası asimetrik dimetilarginin düzeyinin ölçüldüğü çalışmaların özellikleri

	Çalışma							
	Niebauer*		Gomes**		Mittermayer***		Bizim çalışma****	
	Sağlıklı (n=9)	Hasta (n=18)	Sağlıklı (n=0)	Hasta (n=18)	Sağlıklı (n=0)	Hasta (n=11)	Sağlıklı (n=14)	Hasta (n=5)
ADMA	↑	↑	-	-	-	↓	↓	↑
L-arginin	↑	↑	-	-	-	↔	↑	↓
SDMA	↑	↓	-	-	-	↔	↓	↓
L-arginin/ADMA	↑	↓	-	-	-	↑	↑	↓

**N:** Sayı, **ADMA:** Asimetrik dimetilarginin, **SDMA:** Simetrik dimetilarginin.

\*40 nolu kaynak. Hasta grubu: kalp yetmezliği. Egzersiz sıklığı 5 gün/hafta ve süresi 8 hafta. Yöntem: “High performance liquid chromatography” ve plazma.

\*\*39 nolu kaynak. Hasta grubu: metabolik sendrom. Egzersiz sıklığı 3 gün/hafta ve süresi 12 hafta. Yöntem: “Enzyme linked immuno-sorbent assay” ve plazma.

\*\*\*7 nolu kaynak. Hasta grubu: Tip 1 Diabetes Mellitus. Egzersiz süresi 16 hafta. Yöntem: Plazma.

\*\*\*\*Hasta grubu: Tip 2 Diabetes Mellitus. Egzersiz sıklığı 3 gün/hafta ve süresi 4 hafta. Yöntem: “High performance liquid chromatography” ve plazma. Bir aylık programı tamamlayan kişi sayıları gösterilmektedir.