



**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**



**YÜKSEK YAĞ DIYETİ VE DÜŞÜK DOZ
STREPTOZOTOSİN UYGULANAN DİABETİK SIÇAN
AORTASINDA BETA ADRENOSEPTÖR ARACILI
YANITLARA DAPAGLİFLOZİNİN ETKİLERİ**

Nihal ÖZTÜRK

**FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Ebru ARIOĞLU İNAN**

**ANKARA
2021**

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**YÜKSEK YAĞ DİYETİ VE DÜŞÜK DOZ
STREPTOZOTOSİN UYGULANAN DİABETİK SIÇAN
AORTASINDA BETA ADRENOSEPTÖR ARACILI
YANITLARA DAPAGLİFLOZİNİN ETKİLERİ**

Nihal ÖZTÜRK

**FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Ebru ARIOĞLU İNAN**

**ANKARA
2021**

Etik Beyan

Ankara Üniversitesi

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne,

Yüksek lisans tezi olarak hazırlayıp sunduğum “Yüksek Yağ Diyeti ve Düşük Doz Streptozotosin Uygulanan Diabetik Sıçan Aortasında Beta Adrenoseptör Aracılı Yanıtlara Dapagliflozinin Etkileri” başlıklı tez; bilimsel ahlak ve değerlere uygun olarak tarafımdan yazılmıştır. Tezimin fikir/hipotezi tümüyle tez danışmanım Prof. Dr. Ebru Arıoğlu İnan ve bana aittir. Tezde yer alan deneysel çalışma/araştırma tarafımdan yapılmış olup tüm cümleler, yorumlar bana aittir.

Yukarıda belirtilen hususların doğruluğunu beyan ederim.

Öğrencinin Adı Soyadı: Nihal ÖZTÜRK

Tarih:

İmza:

KABUL VE ONAY

Prof. Dr. Y. A. YILMAZ
Ankara Üniversitesi
İktisat Fakültesi

İÇİNDEKİLER

Etik Beyan	ii
Kabul ve Onay	iii
İçindekiler	iii
Önsöz	vi
Simgeler ve Kısaltmalar	viii
Şekiller	x
Çizelgeler	xi
1. GİRİŞ	1
1.1. Diabetes Mellitus	1
1.1.1. Tanı Kriterleri	1
1.1.2. Prediabet	3
1.1.3. Diabetes Mellitus Semptomları ve Sınıflama	4
1.1.4. Fizyopatoloji	5
1.1.5. Tedavi	6
1.2. Sodyum-Glukoz Co-Transport 2 (SGLT2) İnhibitörleri	12
1.3. Diabetes Mellitus'un Vasküler Komplikasyonları	17
1.3.1. Vasküler Komplikasyonların Patogenezi	18
1.3.2. Hasarın Moleküler Mekanizması	19
1.4. β -Adrenerjik Reseptörler	22
1.4.2 Kalpte β_3 Adrenerjik Reseptörler	25
1.4.3. Vasküler Sistemde β_3 Adrenerjik Reseptörler	26
1.5. Amaç	27
2. GEREÇ VE YÖNTEM	28
2.1. Kullanılan Gereçler	28
2.1.1. Kullanılan Cihaz, Alet ve Malzemeler	28
2.1.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler	29
2.2. Kullanılan Deney Hayvanları	30
2.2.1. Deney Grupları	30
2.3. Kullanılan Yöntemler	32
2.3.1. Diabet Oluşturulması	32
2.3.2. Tedavi	33
2.3.3. Kan Şekeri Ölçümleri	33
2.3.4. Serum Lipid Düzeylerinin Ölçümü	34
2.4. Deney Öncesi Yapılan İşlemler	34
2.4.1. İzole Organ Banyosu Deneyleri	34
2.4.1.1. Torasik Aorta Halkalarının (Ringlerinin) Hazırlanması	34
2.4.1.2. Torasik Aorta Halkalarında Kasılma-Gevşeme Yanıtlarının Ölçülmesi	35
2.5. İstatistiksel Analiz	36
3. BULGULAR	37
3.1. Deney Hayvanlarının Genel Özellikleri	37
3.1.1. Deney Hayvanlarının Beden Ağırlığı	37

3.1.2. Deney Hayvanlarının Kan Şekeri	38
3.1.2.1. Oral Glukoz Tolerans Testi	39
3.1.3. Serum Lipid Düzeyleri	41
3.2. İzole Organ Banyosu Deney Sonuçları	42
3.2.1. Fenilefrin Konsantrasyon – Yanıt Eğrileri	42
3.2.2. Asetilkolin Konsantrasyon - Yanıt Eğrisi	43
3.2.3. İzoprenalin Konsantrasyon-Yanıt Eğrileri	44
3.2.4. CL 316,243 Konsantrasyon-Yanıt Eğrileri	45
4. TARTIŞMA	47
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	52
ÖZET	53
SUMMARY	54
KAYNAKLAR	55
EKLER	65
Ek-1. Etik Kurul Belgesi	65
ÖZGEÇMİŞ	67

ÖNSÖZ

Yüksek lisans tezi olarak hazırladığım ‘Streptozotosin Diabetik Sıçan Aortasında Beta- Adrenoseptör Aracılı Yanıtlara Dapagliflozinin Olası Etkileri’ isimli çalışmada; beni tezli yüksek lisans öğrencisi olarak kabul edip çalışmalarına dahil eden, bilgi, fikir ve önerileriyle bana destek olan her zaman anlayış gösteren değerli hocam Prof. Dr. Ebru ARIÖĞLU İNAN’a,

Yüksek lisans eğitimime başlamama yardımcı olan, bu konuda bana yol gösteren sayın hocam Prof. Dr. A. Tanju ÖZÇELİKAY’a,

Eğitimim süresince kendilerinden ders alma şansını yakaladığım anlayış, destek ve güler yüzlerini esirgemeyen sayın hocalarım Prof. Dr. Arzu ONAY BEŞİKÇİ, Prof. Dr. Nuray ARI, Prof. Dr. Serap GÜR ve Prof. Dr. Gülgün OZANSOY’a,

Laboratuvar çalışmalarımda yardımlarını esirgemeyen Dr. Gizem KAYKI MUTLU’ya, laboratuvar çalışmalarımda pozitif enerjisiyle, tecrübesi ve bilgileriyle destek olan Doç. Dr. Işıl ÖZAKÇA GÜNDÜZ’e

Çalışmalarımın her aşamasında özellikle deney çalışmalarımda bana eşlik eden, bilgi, emek ve yardımlarını koşulsuz olarak sunan sevgili arkadaşlarım Dr. İrem KARAÖMERLİOĞLU, Dr. Betül R. ERDOĞAN, Uzm. Ecz. A. Elif MÜDERRİSOĞLU ve Ecz. Z. Elif YEŞİLYURT’a,

Resmi yazışmalarımın sorunsuzca yürümesini sağlayan anabilim dalı sekreterimiz sayın Fatma CEREPOĞLU’na, hayvanların her türlü bakımında yardımcı olan sayın İsmail BAŞER’e,

Ve bu güne kadar maddi manevi desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen ve hayatımın bu aşamasına gelmemde en büyük paya sahip olan annem, babam ve sevgili eşim Kadir ÖZTÜRK'e teşekkürü bir borç bilirim.



SİMGELER VE KISALTMALAR

α	Alfa
α -AR	Alfa adrenerjik resesptörler
AC	Adenilil siklaz
ADA	Amerikan Diabet Derneği
AMPK	Adenozin monofosfat-aktive protein kinaz
APG	Açlık plazma glukozu
β	Beta
β -AR	Beta adrenerjik resesptörler
BA	Beden ağırlığı
BAG	Bozulmuş açlık glukozu
BGT	Bozulmuş glukoz toleransı
Ca^{2+}	Kalsiyum
cAMP	Siklik adenozin monofosfat
CBP	CREB bağlayıcı protein
CREB	CAMP response element binding
CYP	Sitokrom P
D	Diabet
DD	Diabet + dapagliflozin
DAPA	Dapagliflozin
DM	Diabetes Mellitus
DT	Diabet tedavili
DL	Desilitre
DPP4-İ	Dipeptidil peptidaz-4 inhibitörleri
eNOS	Endotelyal nitrit oksit sentaz
EMDAC	Metabolik İlaç Danışma Komitesi
ET-1	Endotelin 1
FADH ₂	Flavin adenin dinükleotitin indirgenmiş hali
FDA	Amerika Gıda ve İlaç Dairesi
δ	Gama
GAPDH	Gliseraldehit 3-fosfat dehidrogenaz
GLP-1	Glukagon benzeri peptid-1
GIP	Gastrik inhibitör polipeptit
HCT	Hematokrit

HDL	Yüksek dansiteli lipid
HFD	Yüksek oranda yağ içeren diyet
IDF	Uluslararası Diabet Federasyonu
IGF-1	İnsülin benzeri büyüme faktörü (Insulin-like growth
i.p.	İntraperitoneal
K	Kontrol
KD	Kontrol + dapagliflozin
KŞ	Kan şekeri
KH	Karbonhidrat
KT	Kontrol tedavili
KVH	Kardiyovasküler hastalık
LDL	Düşük dansiteli lipid
MAPK	Mitojen aktive edici protein kinaz
MEK	Mitojen aktive edici protein kinaz
MG	Miligram
mGDP	Mitokondriyal gliserofosfat dehidrogenaz
NAD	Nikotinamid adenin dinükleotit
NADP	Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat
NF-Kb	Nükleer faktör kappa b
NO	Nitrik oksit
OGTT	Oral glukoz tolerans testi
PG	Plazma glukozu
PKA-C	Protein kinaz A-C
PKC-β	Protein kinaz C beta
PPAR-g	Peroxisom proliferatör aktive edici reseptör gama
ROS	Serbest oksijen radikali
SGLT	Sodyum glukoz kotransportu
SHP-1	Src homology region 2 domain-containing
STZ	Streptozotosin
UGT1A9	Üridin difosfatglukuronoziltransferaz
VEGF	Vasküler endotelyal büyüme faktörü
WHO	Dünya Sağlık Örgütü

ŞEKİLLER

Şekil 1.1. Tip 2 DM hastalarında tedavi algoritması	11
Şekil 1.2. Vücutta normal glukoz homeostazı	12
Şekil 1.3. Böbreğin glukoz metabolizmasındaki rolü	14
Şekil 1.4. Hiperglisemi ve Protein Kinaz C aktivasyonu	20
Şekil 1.5. Polyol yolağında NADPH tüketimi	21
Şekil 1.6. β adrenerjik reseptör yolağı	23
Şekil 1.7. β_3 -AR'lerin yapısı	24
Şekil 1.8. β_3 adrenerjik reseptörlerin kalpteki etki mekanizması	26
Şekil 3.1. Sıçanların haftalık beden ağırlığı değişimi	37
Şekil 3.2. Sıçanların ölüm anı beden ağırlığı değerleri.	38
Şekil 3.3. Sıçanların haftalık kan şekeri değerlerinin değişimi.	39
Şekil 3.4. Sıçanların ölüm anı kan şekeri değerleri	39
Şekil 3.5. Oral glukoz tolerans testi grafiğı	40
Şekil 3.6. Sıçanların serum lipid değerlerine ait grafikler	41
Şekil 3.7. Endoteli intakt aortada fenilefrin konsantrasyon-yanıt eğrisi.	42
Şekil 3.8. 10^{-5} M fenilefrin varlığında oluşan maksimum etki	43
Şekil 3.9. Endoteli intakt aortada asetilkolin konsantrasyon - yanıt eğrisi	43
Şekil 3.10. 10^{-4} M asetilkolin varlığında oluşan maksimum etki.	44
Şekil 3.11. Endoteli intakt aortada izoprenalin konsantrasyon-yanıt eğrisi	44
Şekil 3.12. 10^{-5} M izoprenalin varlığında oluşan maksimum etki.	45
Şekil 3.13. Endoteli intakt aortada CL 316,243 konsantrasyon-yanıt eğrisi.	45
Şekil 3.14. 10^{-6} M CL 316,243 varlığında oluşan maksimum etki.	46

ÇİZELGELER

Çizelge 1.1. Diabetes mellitus ve glukoz metabolizma bozukluklarının tanı kriterleri	3
Çizelge 2.1. Sıçanların normal yem bileşenleri listesi	31
Çizelge 2.2. Sıçanların yüksek yağlı yem bileşenleri listesi	32
Çizelge 2.3. Krebs çözeltisi formülü (Krebs-Henseleit Solution)	35
Çizelge 3.1. Sıçanların ölüm anı kan şekeri ve beden ağırlığı değerleri özellikleri	38
Çizelge 3.2. OGTT kan şekeri değerlerinin zamana göre değişimi.	40



1. GİRİŞ

1.1. Diabetes Mellitus

Diabet, insülin eksikliği ya da insülinin doku üzerindeki etkisinde defektler nedeniyle vücudun temel besin maddeleri olan karbonhidrat (KH), yağ ve proteinleri tam olarak kullanamadığı, daimi tedavi gerektiren, kronik, geniş spektrumlu metabolik bozukluğudur. Diabet ve glukoz metabolizması bozukluklarının tanı ve sınıflamasında yıllar içerisinde bazı değişiklikler gerçekleştirilmiştir. İlk olarak 1997 tarihinde, Amerikan Diabet Derneği (ADA) yeni tanı ve sınıflama kriterlerini yayımlamış (Diabetes Care 1997) ve daha sonra 1999'da Dünya Sağlık Örgütü (WHO) bu kriterlerde birkaç değişiklik yapmıştır (WHO Consultation Group 1999). 2003 senesinde ise, bozulmuş açlık glukoz (BAG) tanımı kullanılarak ADA tarafından değişiklikler gerçekleştirilmiştir. Buna rağmen 2006 yılında WHO ve Uluslararası Diabet Federasyonu (IDF) tarafından hazırlanan raporda 1999 ölçütlerinin aynı kalmasının daha uygun olacağı ifade edilmiştir (Diabetes Care 2009).

1.1.1. Tanı Kriterleri

Diabet tanısı konulabilmesi için var olan dört çeşit yöntemden sadece birisinin kullanılması yeterlidir. Belirgin diabet semptomları taşıyanlar haricinde, diabet tanısı için kullanılan test, mümkünse aynı veya diğer bir metot ile tekrar edilmesi gerekir. İlk başta kullanılan test sonuçları birbiri ile uyumsuz ise değeri yüksek olan test yöntemi farklı bir zamanda tekrar edilmeli ve bu test sonucu da diabet ile uyumlu ise tanı konulmalıdır.

Diabet tanısında 75 g glukoz kullanılarak yapılan standart oral glukoz tolerans testi (OGTT) en spesifik ve duyarlı yöntemdir. Fakat bu testin günlük pratikte kullanımı zor ve maliyeti daha fazladır. Buna karşılık, en az 8 saat açlığı takiben

sabah saatlerinde yapılan açlık plazma glukoz (APG) seviyesine dayalı tanı testinin kullanımının daha basit olması ve daha az maliyetli olması klinikte daha sık kullanılmasına neden olmaktadır. OGTT yüksek spesifitesi nedeniyle diabet hastalığının tanısı amacıyla veya prediabet ve diabet taraması amacı ile kullanımı önerilmektedir (Çizelge 1.1) (Kerner ve Brückel, 2014).

Hastalık klinik başlangıcı belirgin olanlarda ve Tip 1 diabet tanısı için genellikle OGTT yapılmasına ihtiyaç yoktur. Diabet tanısında kullanılan yöntemler için venöz kanda glukoz oksidaz testi ile yapılması gerekmektedir. Hastaların farklı ortamlarda (ev veya hastane) alınan kan örneklerindeki glisemi değerleri, altta gösterilen hesaplamalara göre plazma glukoz (PG) seviyesine göre biraz daha düşüktür.

$$\text{Plazma glukoz (mg/dl)} = 0.558 + [20.254 \times \text{tam kan glukoz (mg/dl)} / 18]$$

$$\text{Plazma glukoz (mg/dl)} = 0.102 + [19.295 \times \text{kapiller kan glukoz (mg/dl)} / 18]$$

$$\text{Plazma glukoz (mg/dl)} = -0.137 + [18.951 \times \text{serum glukoz (mg/dl)} / 18]$$

Bu hesaplamaya örnek olarak, plazma glukozu 126 mg/dl saptanan bir hastada tam kandaki glukoz seviyesi 112 mg/dl (~%11), kapiller düzeyde 118 mg/dl (~%7), serumda ise 120 mg/dl (~%5) olarak tespit edilir.

Bu formüller esas alındığında, kapiller glukoz seviyesini ölçen cihazların PG seviyesine göre hesaplanarak kullanılması kabul görmektedir. Ayrıca hematokrite (Hct) seviyesine göre bazı farklılıklar gözlenebilmektedir. Aradaki fark Hct %55 olan bir hastada %15'e yükselirken, Hct %30 olan bir hastada ise bu fark %8'e inmektedir (Evans 2019).

Çizelge 1.1. Diabetes mellitus ve glukoz metabolizma bozukluklarının tanı kriterleri

	Aşık DM	İzole BAG	İzole BGT	BAG + BGT	DM Riski Yüksek
APG (≥8 saat açlıkta)	≥126 mg/dl	100-125 mg/dl	<100 mg/dl	100-125 mg/dl	-
OGTT 2.saat PG (75 g glukoz)	≥200 mg/dl	<140 mg/dl	140-199 mg/dl	140-199 mg/dl	-
Rastgele PG	≥200 mg/dl + Diabet semptomları	-	-	-	-
A₁C(**)	≥%6.5 (≥48 mmol/mol)	-	-	-	%5.7-6.4 (39-47 mmol/mol)

DM: Diabetes mellitus, APG: Açlık plazma glukozu, 2.saat PG: 2. saat plazma glukozu, OGTT: Oral glukoz tolerans testi, A₁C: Glukozillenmiş hemoglobin A₁C, BAG: Bozulmuş açlık glukozu (impaired fasting glucose), BGT: Bozulmuş glukoz toleransı (impaired glucose tolerance),

1.1.2. Prediabet

Plazma glukoz düzeyleri normalden yüksek olmasına rağmen diabetes mellitus (DM) tanı kriterlerini karşılayacak seviyede yüksek olmayan değerler, 'Prediabet' olarak sınıflandırılır. Önceki yıllarda 'Sınırdaki Diabet' veya 'Latent Diabet' olarak anılan bozulmuş glukoz toleransı (BGT) ve bozulmuş açlık glukozu (BAG), günümüzde 'Prediabet' olarak kabul edilmektedir. Prediabet, DM gelişimi için risk faktörü olduğu kadar kardiyovasküler hastalık (KVH) için de anlamlı bir risk faktörüdür. Çizelge 1.1 de gösterildiği gibi, APG 100-125 mg/dl ve 2.saat PG <140 mg/dl arasında olduğunda izole BAG olarak tanımlanırken, 2.saat PG 140-199 mg/dl ve APG <100 mg/dl seviyelerinde izole BGT olarak kabul edilmektedir. APG 100-125 mg/dl ve 2.saat PG 140-199 mg/dl arasında tespit edilen durumlarda ise kombine BAG + BGT olarak nitelendirilmektedir. Bu durum DM ve kardiyovasküler hastalıklar için daha ileri bozukluğun varlığını gösterir. Aynı şekilde Uluslararası Diabet Uzmanlar Komitesi, A₁C seviyesine göre yüksek riskli ve koruma programına dahil edilmesi gereken bireyleri tanımlamış olup bu seviyeyi A₁C için %5.7-6.4 (39-47 mmol/mol) olarak belirlemiştir (Satman ve ark., 2013 ve Diabetes Care 2003).

1.1.3. Diabetes Mellitus Semptomları ve Sınıflama

Klinik olarak en sık görülen semptomlar;

- ✓ Poliüri
- ✓ Polidipsi
- ✓ Polifaji ve iştahsızlık
- ✓ Halsizlik ve yorgunluk
- ✓ Ağız kuruluğu ve noktüri

Daha az oranda görülen semptomlar ise;

- ✓ Bulanık görme
- ✓ Açıklanamayan kilo kaybı
- ✓ İnatçı enfeksiyonlar
- ✓ Tekrarlayan mantar enfeksiyonları
- ✓ Kaşıntı

Klinik olarak diabet 4 farklı alt gruba ayrılmaktadır. Tip 1, Tip 2 DM ve Gestasyonel DM primer olarak kabul edilirken, birçok hastalığa ve nedene bağlı ortaya çıkan DM sekonder olarak adlandırılmaktadır. Tip 1 DM'de β hücre yıkımı sonrası ortaya çıkan mutlak insülin eksikliği söz konusu iken, Tip 2 DM insülin direnci bağlı olarak ortaya çıkan insülin salınım yetersizliğidir. Gestasyonel DM gebelik öncesi diabet tanısı olmayan bireylerde glukoz değerlerinin gebelikte artması ile seyreden ve gebelik sonrasında ise genellikle normale dönen diabet formudur. Sekonder nedenler ise, genetik bozukluklar, pankreas ekzokrin yetmezliği, endokrinolojik bozukluklar, ilaçlar ve enfeksiyonlar gibi birçok sebebe bağlı olarak ortaya çıkan glisemi bozukluğu olup primer hastalık tedavisi sonrası genelde glisemi regülasyonu sağlansa da bu hastalarda daha sonraki süreçte genellikle diabet gelişme riski yüksektir (ADA 2018a).

1.1.4. Fizyopatoloji

Tip 1 DM da mutlak insülin eksikliği söz konusudur. Hastaların %90'ında otoimmün nedenler rol alırken, %10'unda non-otoimmün nedenler sebep olmaktadır. Genetik yatkınlığı olan bireylerde virüsler, toksinler, emosyonel stres gibi çevresel tetikleyiciler tetiği çekerek β hücre yıkımına neden olur. β hücre rezervinin %80-90'ındaki azalma klinik olarak aşikâr DM semptomlarının ortaya çıkmasına neden olur. Ayrıca bu hastalarda adacık hücre antikor varlığı da tanıda yardımcıdır. Tip 1 DM akut ortaya çıktığı için tanıda HbA1C den ziyade APG'nin ölçülmesi daha güvenilirdir. Tip 1 DM daha sıklıkla 30 yaş öncesinde görülürken, genellikle zayıf görünümlü olan bireylerde görülmektedir. Son yıllarda Tip 2 DM'a benzeyen obez kişilerde görülen "Double diabet veya Hybrid diabet" formları da tanımlanmıştır (Khawandanah 2019 ve Beckman ve ark., 2002).

Tip 2 DM'de post-reseptör düzeyde hücre-reseptör defekti sonucu pankreas adacık hücresinde üretilen insülinin kullanımındaki sorunlar sonucunda, glukozun hücre düzeyinde enerji olarak kullanımı bozulur ve hücre içi hipoglisemi görülür. Kas ve yağ dokusu gibi periferik dokularda insülinin etkisi yetersizliği sonucu bu dokularda glukoz uptake azalmıştır. Buna karşılık artan kan glukoz düzeyine rağmen pankreas β hücreleri yanıt olarak yeteri kadar insülin salgılayamaz. İnsülin sekresyonundaki defekt ve sabaha karşı daha aktif olan kortizol, büyüme hormonu ve adrenalın gibi kontr-insülinler sistem hormonları karaciğerde glukoz yapımını aşırı derecede artırmıştır. Bu nedenle Tip 2 DM'li hastalar aşikâr klinik öncesi uzun yıllar boyunca insülin direncine maruz kalmaktadır. Diabetin ileri dönemlerinde veya araya giren bazı hastalıklar esnasında insülin salınımındaki belirgin eksilme patogeneizde ön plana çıkmaktadır. Çoğunlukla 30 yaş öncesinde görülmekle birlikte son yıllarda adolosan dönemde artan obeziteye bağlı erken yaşlarda da görülmektedir. Güçlü bir genetik yatkınlık söz konusu olup obezite ile çok yakın ilişkilidir. Sessiz bir şekilde başlar ve klinik semptomlar genellikle siliktir (ADA 2015; Yoon ve ark., 2006 ve McNeely ve ark., 2004). Fakat bazı vakalarda uzun süren hiperglisemiye sekonder olarak hiperglisemik ketoasidoz da görülebilmektedir.

1.1.5. Tedavi

Glisemi düzeyi hedefleri hastalara göre bireyselleştirilmelidir. Yaşam beklentisi düşük, uzun diabetes süresi ve tekrarlayan hipoglisemik atakları olanlarda glisemik değerler normal popülasyona göre daha yüksek seviyelerde hedeflenmelidir. Bunların dışındaki hasta popülasyonunun da ise hedeflenen değerler aşağıdaki gibidir (ADA 2018b ve UKPDS group 1998):

- ✓ A1C: <%7
- ✓ Açlık kan şekeri: 80-130 mg/dl
- ✓ Tokluk kan şekeri: <160 mg/dl
- ✓ Çocuk ve adolesanlarda A1C: <%7.5
- ✓ Yaşlı ve hipoglisemi riski yüksek A1C %7-7.5
- ✓ Yaşam beklentisi 5 yıldan az ise A1C %8-8.5

Hemoglobin A1C üç aylık kan glukozu ortalamasını yansıtmaktadır. A1C ölçümü için hastanın aç olmasına gerek yoktur ve günün herhangi bir saatinde ölçüm yapılabilir. Hemoglobin A1C'nin % 5'lik değeri kan glukozunda ortalama 100 mg/dl ye denk gelmektedir. A1C seviyesindeki her %1'lik artış ise plazma glukozunda 35 mg/dl lik artışa denk gelmektedir (Little ve ark., 2011; The ADVANCE Collaborative Group 2008 ve Woerle ve ark., 2007).

Diyet: Beslenme Tip 1 ve Tip 2 DM hastalarında tedavi ve bakımında önemli bir yere sahiptir. Her hastaya göre ayrı beslenme değişiklikleri uygulanabilir. Dislipidemik hastadaki diyet önerileri ile hipertansiyonu olan bireydeki diyet önerileri arasında fark vardır. Bu nedenle tüm diabetli hastaların beslenme alışkanlıkları uzman diyetisyenler tarafından düzenlenmelidir. Beslenme alışkanlığına yönelik uygulanan tedavilerde Tip 1 DM'li hastalarda A1C değerlerinde %1'lik bir azalma gözlenirken, Tip 2 DM'li hastalarda %0,5-2 arasında düşüş görülmektedir. Klasik olarak tüm diabetli hastalarda önerilen diyetlerdeki makro besin oranları: %45-60 karbonhidrat, %2-35 lipid ve %15-20 proteinlerden

oluşur. Günlük doymuş yağ oranı %7-8 düzeyini aşmamalıdır (Academy of Nutrition and Dietetics 2016; Ellis ve ark., 2004 ve Norris ve ark., 2001).

Egzersiz: Hastaların mevcut komplikasyonlarına göre ayarlanmış fiziksel aktivite tüm diabetli hastalarda önerilmektedir. Düzenli fiziksel aktivite insülin direncinde azalmaya, kilo kontrolünün sağlanmasına, kan basıncı regülasyonuna ve lipid profilinde olumlu gelişmelere neden olmaktadır. Hastalara egzersiz planlaması yapılmadan önce mutlaka kardiyak riskin belirlenmesi ve nörolojik muayenenin yapılması önerilmektedir. Diabetli hastalarda genellikle tempolu yürüme, koşma ve yüzme gibi aerobik egzersizler ile birlikte kas gücünde artışa neden olan direnç egzersizleri önerilmektedir. Egzersiz programı hafifden başlayıp daha ağıra doğru ilerleyecek şekilde haftada 3 gün ve en az 150 dk süre ile yapılması önerilmektedir (ADA 2018c; ADA 2018d ve Garber ve ark., 2018).

Medikal tedavi: Tip 2 DM tedavisinde en sık kullanılan ilaçlar biguanid grubudur. Metformin (sentetik guanidin türevi) ve fenformin bu grubun başlıca üyeleridir. 1970 yılında fenforminin laktik asidoza yol açtığı tespit edilmesi üzerine kullanımı yasaklanmıştır. Günümüzde metformin biguanid grubunda yer alan tek ilaçtır. Metformin yaklaşık 60 yıldır Tip 2 DM tedavisinde kullanılmaktadır. Fakat bu ilacın etki mekanizması halen daha tam olarak anlaşılamamıştır. Metforminin hücre içerisinde dolaylı yoldan 5'-adenozin monofosfat-aktif protein kinaz (AMPK) enzimini aktive ettiği ve mitokondriyal gliserofosfat dehidrogenaz (mGDP) enzimini kısmen engellediği gösterilmiştir. Bu sayede karaciğerde artmış olan glukoneogenezi inhibe ettiği, lipid ve kolesterol biyosentezini baskıladığı düşünülmektedir. Ayrıca kas hücrelerinde glukoz uptake'ini ve yağ asidi oksidasyonunu artırarak insülin direncini azalttığına dair tartışmalı bilgiler mevcuttur. İştah üzerine olumsuz etkileri nedeniyle bir miktar kilo kaybına neden olmaktadır. Hipoglisemi riski düşüklüğü ve kardiyovasküler sistem üzerine olumlu etkileri nedeniyle diabet hastalarının tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Metformin gastrointestinal sistemde gaz, şişkinlik ve diyare gibi geçici yan etkileri yanı sıra laktik asidoz gibi dikkat edilmesi gereken yan etkilere de sahiptir. Bu nedenle ileri derecede böbrek yetmezliği (GFR <30 ml/dk), karaciğer yetmezliği ve

laktik asidoz hikâyesi olanlarda kullanımına dikkat edilmelidir (Buse ve ark., 2016 ve Diabetes Canada Clinical Practice Guidelines 2018).

Pankreastan insülin salınımını arttırarak fonksiyon gören sekretegog grubu ilaçlar diğer sık kullanılan antidiabetik ilaçlardır. Pankreas β hücrelerinden insülin salınımını arttırarak etki eden sulfanüreler ve etki süresi daha kısa olan glinid grubu ilaçlar yer almaktadır. Her iki gruptaki ilaçlar pankreas adacık hücrelerinden glukoz seviyesinden bağımsız olarak K-ATP kanallarını kapatarak insülin salınımını arttırmaktadır. Glinid grubu ilaçların etki süresi kısa olduğu için genellikle postprandial glisemi üzerine etkileri mevcuttur. Bu nedenle her öğün öncesinde kullanılırlar. Bu grup ilaçlar hipoglisemi ve kilo artışı gibi sık görülen yan etkilere sahip olup riskli hasta gruplarında kullanımına dikkat edilmelidir. Ayrıca Tip 1 DM ve gebelikte kullanımı kontrendikedir (ADA 2018e).

Tiazolidindion grubundaki ilaçlar periferde insülin etkisini artırarak etki gösterir. Periferik dokularda artan insülin etkisine bağlı olarak glukoz alımı artar ve karaciğerde glukoz üretimi anlamlı oranda azalır. Tiazolidindion grubundaki ilaçlar nükleer transkripsiyon faktörü olan PPAR-g (peroxisome proliferator-activated receptor-g)'yı aktiveleştirerek (PPAR-g agonisti) kas, karaciğer ve yağ dokusu gibi periferik dokularda insülin direncini azaltarak insülin duyarlılığında artışa neden olur. Ayrıca adiposit diferansiyasyonunda artışa neden olarak da yağ dokusunda etkili olmaktadır. A1C'yi düşürücü etkileri diğer ilaçlar ile karşılaştırıldığında yüksektir. Kan basıncı üzerine olumlu etkileri olduğu da bazı çalışmalarda gösterilmiştir. Bu grup ilaçlardan ülkemizde sadece pioglitazon yer almakta olup hipoglisemi yapmaması ve lipit profili üzerine pozitif etkileri nedeniyle Tip 2 DM'li hastalarda etkili ilaçlardır. Fakat su tutulumu ve kilo artışı nedeniyle kalp yetmezliği olan hastalarda kullanımı sınırlıdır (ADA 2018d; Buse 2016; De Jong 2017; Diabetes Canada Clinical Practice Guidelines 2018 ve Garber 2018).

Barsaklarda alfa glukozidazı kompetitif olarak inhibe ederek polisakkaridlerin yıkımını engelleyerek karbonhidrat sindirimi ve emilimini azaltarak fonksiyon gösteren alfa glukozidaz inhibitörleri diabet tedavisinde destekleyici ilaç grubu

olarak kullanılmaktadır. Tokluk kan şekeri üzerine etkileri mevcut olup hipoglisemi yapmaması ve kilo kaybına neden olması önemli avantajlarıdır. Ülkemizde bu grup ilaçlardan sadece akarboz bulunmaktadır. Glisemi üzerine etkileri az olması ve sık gastrointestinal yan etkileri nedeniyle günlük pratikte sık ve tek başına kullanılan preparatlar değildir (Min ve ark., 2018).

Tip 2 DM patogenezindeki önemli sorunlardan bir tanesi barsaktaki inkretin hormonlarının (GLP-1 ve GIP) seviyelerinin azalması veya etkilerinin gerilemesidir. Bunun sonucunda ise glukagon sekresyonunun inhibisyonundaki defekte bağlı anti-insülin etkilerin artışıdır. İncretinemimetik grubu ilaçlar olarak adlandırılan glukagon benzeri peptid-1 reseptör agonistleri (GLP-1A: Glucagon like peptid-1 receptor agonists) inkretin hormonları taklit ederken, dipeptidil peptidaz-4 inhibitörleri (DPP4-İ) ise inkretinlerin yıkımını engelleyerek inkretin seviyesinde artışa neden olarak etki gösterirler.

GLP-1 reseptörlerini aktive ederek etki gösteren GLP-1 agonistleri, pankreas β - hücrelerinde glukoz karşı hassasiyeti artırır ve α hücrelerinden glukagon salınımını engelleyerek etki gösterirler. Ayrıca midenin boşalmasını geciktirerek tokluk hissini artırır. Bu grup ilaçların insülin salınımı glukoz seviyesi ile ilişkili olduğu için hipoglisemi görülme oranı çok azdır. Ayrıca bu gruptaki ilaçlar, sistolik kan basıncında hafif düşüşe neden olurken ortalama 2-4 kg kilo kaybına da sebep olduğu gösterilmiştir. Bu grup içerisinde eksenatid, liraglutid ve eksenatid XR yer almaktadır. Eksenatid, liraglutid ve liksisenatid obez hastaların kullanıldığı bazı çalışmalarda bazal insülin ile birlikte kullanılmıştır. Bu çalışmalardan elde edilen sonuçlarda, glisemik kontrol daha düşük insülin dozları ile sağlanmış olup yüksek doz insüline bağlı kilo artışı önemli oranda azaldığı gözlenmiştir. Bu grup ilaçlarda pankreatit ve pankreas kanseri gibi yan etkiler yönünden dikkatli olunması gerekmektedir. Bu yan etkilerin hastalığa mı yoksa ilaca bağlı mı olduğu kesinleşmiş değildir (Mars ve ark., 2016).

İncretin artırıcı olarak görev yapan DPP-4 inhibitör grubu ilaçlar, barsakta yemek sonrası artan inkretinlerin DPP-4 tarafından yıkımını engelleyerek endojen

GLP-1 ve GİP düzeylerinde artışa neden olurlar. Bu gruptaki ilaçlar da GLP-1 agonistleri gibi β hücrelerinden insülin salınımını glukoz seviyesine göre artırarak tokluk glukoz düzeyini azaltır ve pankreas α hücrelerinden glukagon salınımını engeller. Sitagliptin, vildagliptin, saksagliptin, linagliptin ve alogliptin bu grupta yer alan DPP4-İ'leri olup bu ilaçlar oral yoldan alınmaktadır.

DPP4-İ grubundaki ilaçlar; Tip 2 DM hastalarında kullanılan metformin, sülfonilüre, pioglitazon veya insülin gibi anti-diabetik ilaçlara rağmen kan glukozunda istenilen düşüş sağlanamadığında sonraki basamaklarda tedaviye ek olarak kullanılmaktadır. Kilo üzerine olumlu veya olumsuz etkileri olmayıp hipoglisemi riski düşüktür. Üst solunum yolu enfeksiyonu benzeri etkilerin yanı sıra pankreatit riski bu grup ilaçlarda da bulunmaktadır (Wang ve ark., 2018).

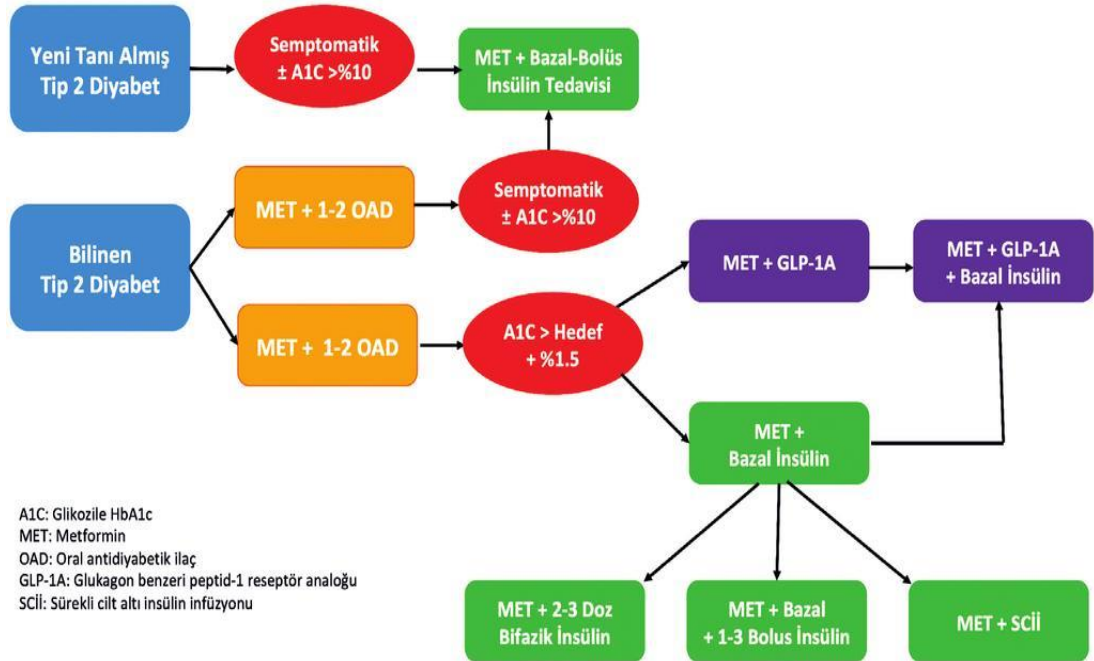
İnsülinin 1922'de keşfinden sonra özellikle Tip 1 DM'de olmak üzere tüm diabet hastalarının yaşam süresi ve kalitesinde önemli gelişmeler olmuştur.

İnsülin tedavisinin başlıca kullanım alanları:

- ✓ Tip 1 DM
- ✓ Oral anti-diabetikler ile yeterli glisemik regülasyon sağlanamayan (HbA1C>%10) Tip 2 DM
- ✓ Hiperglisemik aciller (diabetik ketoasidoz ve hiperosmolar non ketotik koma)
- ✓ Akut MI, şiddetli ağır enfeksiyonlar ve cerrahi operasyonlar
- ✓ Gebelik ve laktasyon
- ✓ Diyet ile kontrol altına alınamayan Gestasyonel DM

İnsülin hücre içine glukoz girişini ve karaciğerde glikojen depolanmasını arttırarak, karaciğerden glukoz salınımını azaltarak ve periferik dokularda yağ ve protein yıkımını engelleyerek fonksiyon görür. Ülkemizde rekombinant DNA teknolojisi ile üretilen insülin (insülin analogu ve insan insülini) kullanılmaktadır. İnsülin cilt altı dokuya enjeksiyon yöntemiyle kullanılarak vücutta absorbe edilir (Palmer 2016 ve Horvath 2007). İnsan insülini daha hızlı absorbe edilirken, egzersiz ve enjeksiyon bölgesine uygulanan masaj emilimi hızlandırır. Ayrıca acil durumlarda

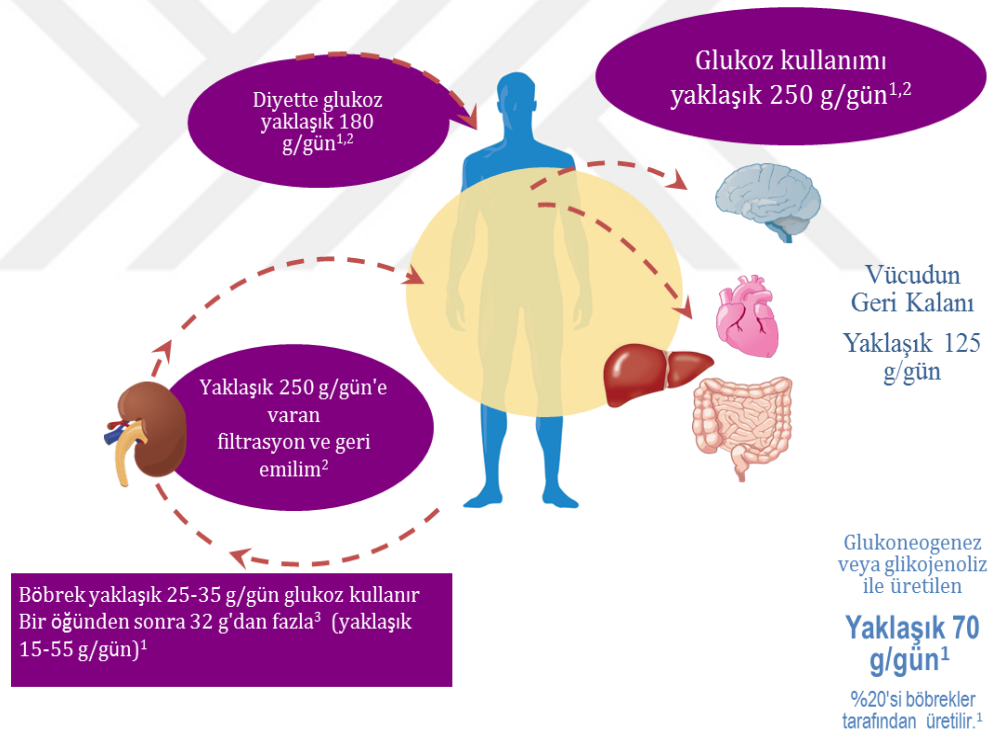
kısa etki süreli insülinler IV olarak da kullanılabilir. İnsülinler etki süresine göre kısa (regüler/lispro/aspart), orta (regüler/NPH) ve uzun etkili (detemir/glarjin) insülinler olarak sınıflandırılır. Hızlı etkili insülinler postprandial glisemi kontrolü sağlarken orta/uzun etkili insülinler bazal insülin seviyesini arttırarak açlık glisemi regülasyonunu sağlarlar. Ayrıca bazı hastalarda insülin kullanım sıklığını azaltmak için günde 2 kez kullanılan farklı oranlarda kısa ve orta etkili insülin içeren karışım preparatları da mevcuttur. İnsülin kullanımının etkinliği yanı sıra önemli yan etkiler de bildirilmiştir. Hipoglisemi ve kilo artışı en sık görülen yan etkilerdir. Ayrıca alerjik reaksiyonlar (analog insülinlerde daha nadir) ve lipohipertrofi –atrofi diğer sık görülen yan etkilerdir. İnsülin tedavisi sonrası IGF-1 reseptörlerinin aktivasyonu sonucu malignite ve ateroskleroz sıklığında artış olduğu şüphesi olsa da henüz bu konuyla ilgili kanıtlanmış yeterince veri bulunmamaktadır (Dailey 2004; Ross 2001 ve Rosenfalck 2000).



Şekil 1.1. Tip 2 DM hastalarında tedavi algoritması
(TEMD-2018)

1.2. Sodyum-Glukoz Co-Transport 2 (SGLT2) İnhibitörleri

Normal glukoz homeostazında, böbrekler günde ~180 g glukozu filtreler ve geri emilimini gerçekleştirir. Diyetle günlük olarak 180 g glukoz emilir iken, 70 g glukozun karaciğer tarafından glukoneogenez ve glikojenoliz yolu ile üretimi sağlanır. Toplam günlük glukoz havuzunun 125 g beyin tarafından tüketilirken, geri kalanı diğer dokular tarafından kullanılır. Böbrekler tarafından günlük 180 g filtre edilirken neredeyse tamamı yine böbrek tubülleri ile geri emilim sağlanarak yeniden dolaşıma verilmektedir (Şekil 1.2). Diabette ise günlük glukoz girişi 280 g'ı aştığı için glukoz düzeyleri glukoz geri emilim eşik değerini aşar ve bu durum glukozüri ile sonuçlanır (Neal ve ark., 2017 ve Zinman ve ark., 2015).



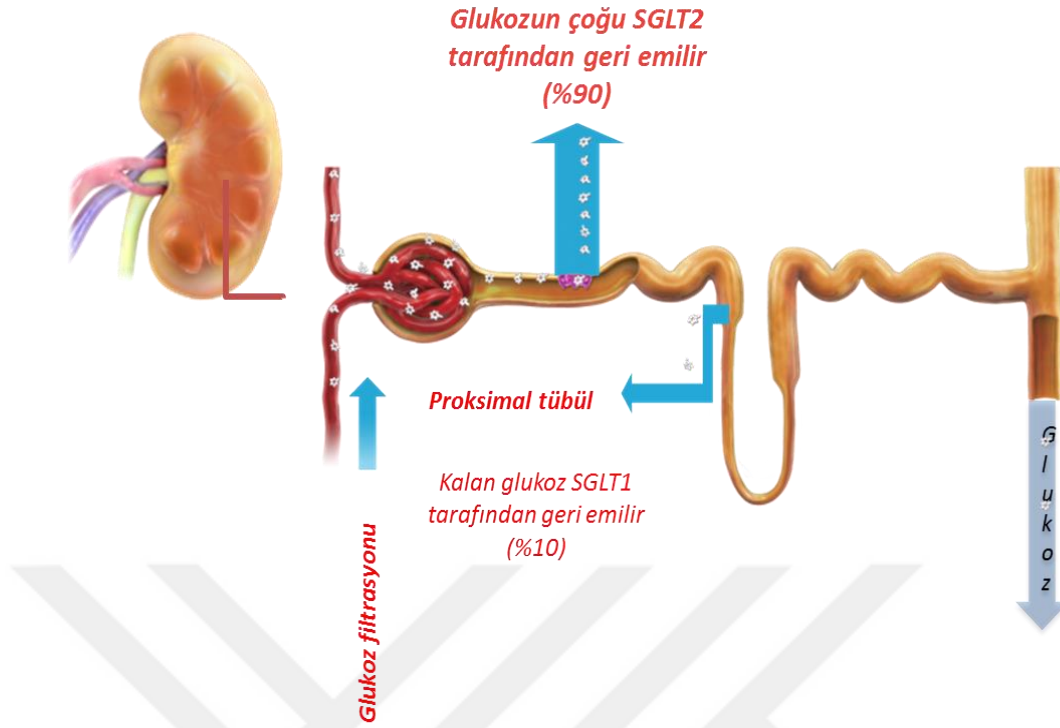
Şekil 1.2. Vücutta normal glukoz homeostazı (Gerich, 2010)

1930'lu yıllarda böbreğin glukoz dengesinde önemi ve fonksiyonu ilk olarak açıklanmıştır. Böbreğin glukoz dengesinde 3 temel görevi vardır:

1. Glukoz üretimi
2. Glukoz tüketimi
3. Glukoz filtrasyonu ve geri Emilimi

Glukoz üretimi; başta renal kortekste olmak üzere glukoneogenez ile üretir. Glukoz 6-fosfataz enzimine insan vücudunda sadece karaciğer ve böbrekler sahiptir. Bu nedenle sadece bu organlardan tarafından kan dolaşımına glukoz salınımı gerçekleşmektedir. Açlık durumunda salgılanan toplam vücut glukozunun yaklaşık %20'sine katkıda bulunur. Glukoneogenez ile üretilen miktar ise tüm glukozun yaklaşık %40'ına katkıda bulunur (Stumvoll ve ark., 1997).

Glukoz tüketimi; kendi enerji ihtiyacı için gerekli olan glukoz renal medullada kullanır. Beyin zorunlu bir glukoz tüketicisi olup kandaki glukozun %50'sini böbrekler ise %10'unu kullanır. Glukoz filtrasyon ve geri Emilimi; glomerülden plazma glukozunu filtreledikten sonra filtre sıvıdan tübüller aracılığıyla yaklaşık 180-250 g/gün kadar miktarı geri emilir. Plazma glukozu için eşik değer (~180-198 mg/dl) tübüller maksimum geri Emilim kapasitesini aşana kadardır (glukozun atılma noktası). Normal renal glukoz kullanımında, glukozun %90'ı SGLT2 tarafından geri emilir (Şekil 1.3) Böbrek proksimal tubül S1 segmentinde Na ile birlikte glukozun geri Emilimi hipergliseminin kalıcı hale gelmesine katkı sağlamaktadır (Triplitt 2012).



Şekil 1.3. Böbreğin glukoz metabolizmasındaki rolü
(Wright, 2001)

Vücutta toplam 6 adet sodyum glukoz yardımcı taşıyıcısı rol almaktadır.

SGLT 1: Sodyum, glukoz ve galaktozun böbreğin proksimal tübülünden ve bağırsağın fırçası kenarından eşzamanlı olarak taşınmasını sağlar.

SGLT 2: Böbreğin proksimal tübülünün S1 segmentinde, sodyum ve glukozu eşzamanlı olarak taşır

SGLT 3: İnce barsak uterus ve testislerde glukozu taşır iken sodyum taşımaz

SGLT 4: İnce barsak, mide ve karaciğerde glukoz ve mannoz taşır

SGLT 5: Böbrekte rol alır fakat fonksiyonu bilinmiyor

SGLT 6: Omurilik, böbrek ve beyin de myoinositol ve glukoz taşır.

Dapagliflozin, 1835 yılında Fransızlar tarafından elma ağacı kabuğunda bulunan filorizin isimli bileşikten elde edilmiştir (İdris ve Donnelly, 2009). Filorizin, flavonoid sınıfından dihidroalkon türevi ve filoretin bileşiğinin 2'-glukozidi olan bir bileşiğidir (Blaschek 2017). Başlangıçta antipiretik ve antimikrobiyal olarak denenmesine rağmen, daha sonraki yıllarda glukozüriye neden olduğu görülmüştür (Rossetti ve ark., 1987). Daha sonraki yıllarda bu etkiyi böbrekte glukoz

transportunu engelleyerek yaptığı anlaşılmış olup filorizinin böbrekte SGLT1 ve SGLT2'yi birlikte inhibe ederek etki ettiği tespit edilmiştir. Fakat bu ilacın barsak ve beyindeki yan etkileri nedeniyle ilk zamanlarda şeker hastalarında kullanılamamıştır. Diabette kandaki hiperglisemi sonucu ortaya çıkan glukozüri nedeniyle diabet, böbreklerin yapısal hastalığı olarak da kabul edilmektedir. Son yıllarda diabet tedavisi amacıyla kullanıma giren SGLT inhibitörü bileşiklerin öncüsü niteliğinde filorozinin olduğu bilinmektedir.

Dünyada onaylanan ve kullanıma giren ilk SGLT2 inhibitörü dapagliflozin olup Kasım 2012'de Amerika'da onaylanmıştır. Ancak, bu ilaç meme ve mesanede kanser gelişim riskini arttırması ve klinik çalışmalar sonucunda karaciğerde hasara neden olduğu tespit edilmesi üzerine FDA'nın Endokrinoloji ve Metabolik İlaç Danışma Komitesi (EMDAC) tarafından piyasadan çekilmesine karar verilmiştir. Daha sonra yapılan klinik çalışmalarda bu risklerin olmadığına dair verilerin ortaya çıkması üzerine, FDA tarafından 8 Ocak 2014'de 'Farxiga/ Forxiga' ismiyle, Tip 2 DM olan hastaların glisemik kontrolünde kullanılmak üzere tekrar onay almıştır. Bu ilaç metformin hidroklorür ile kombine edilerek dapagliflozinin daha uzun sürede salınan Xigduo XR isimli tabletin Ekim 2014'te FDA tarafından kullanımı onaylanmıştır. Dapagliflozin emilim hızı yüksek olup yarı ömrü 12,9 saattir. İlacın biyoyararlanımı ise %78' e kadar ulaşmaktadır (Dhillon 2019 ve Paik ve ark., 2019). Diğer ilaçlar ile birlikte kullanıldığında anlamlı bir ilaç etkileşim olmadığı gözlenmiştir. Metabolizmasından esas olarak uridin difosfatglukuronoziltransferaz (UGT1A9) sorumlu olup düşük oranda da sitokrom 450 enzimi tarafından metabolize edildiği bilinmektedir. Karaciğer ve böbrekte CYP1A9 enzimi ile dapagliflozin 3-O-glukuronid'e çevrilmektedir. Dapagliflozin etkinliği tek başına kullanımda metformin ile kıyaslanacak kadar etkili olduğu gözlenmiş ve bu etkinlik 52-102 hafta boyunca devam etmiştir (Fioretto ve ark., 2015). Diğer oral antidiabetik olan ilaçlar (glimepirid, metformin, pioglitazon ve sitagliptin) ile birlikte kullanıldığında, hem dapagliflozinin hem de bu ilaçların metabolizmasının ve farmakokinetik özelliğinin etkilenmediği tespit edilmiştir (Kasichayanula ve ark., 2013).

SGLT2 nin inhibisyonu ile glukozürinin neden olduğu kan glukoz seviyesinde azalmaya bağlı olarak hipergliseminin neden olduğu kardiyovasküler morbiditenin önlenmesine ve glukotoksisitenin azalmasına katkı sağlamaktadır. Bu fonksiyonunu insülininden bağımsız mekanizma ile gerçekleştirdiği için tüm hastalık evrelerinde ve diğer antihiperglisemik ilaç sınıfları ile kombinasyon halinde kullanabilir. Ozmotik diürez sayesinde başlangıçta kilo kaybı ve kan basıncında azalmaya neden olur. İdrarda aşırı miktarda glukoz atılımı ile kalıcı kilo kaybına ve diğer ilaçların neden olduğu kilo artışının engellenmesine katkı sağlar. Dapagliflozin ile sağlanan kilo kaybı esas olarak yağsız doku veya sıvıdan ziyade yağ dokusunda gözlenen kayıp ile ilişkilidir. HbA1C 'de diğer anti-diabetik ilaçlar ile kombine kullanıldığında ekstra düşmeye neden olduğu gözlenmiştir. Ayrıca insülin tedavisi alan hastalarda insülin ihtiyacında azalma ve kardiyovasküler olaylarda gerilemeye neden olduğu gözlenmiştir (Thomson ve ark., 2019 ve Verma ve ark., 2018). Bu grup ilaçlar ile ilgili en önemli kaygı mesane kanseri riskindeki artıştır. Fakat bu zamana kadar yapılan insan ve hayvan çalışmalarında mesane kanseri riski artışına dair bir bulgu gözlenmemiştir.

Dapagliflozin kullanımı ile hipoglisemi riskinin çok düşük olduğu gözlenmiştir. Bu ilacın en önemli yan etkilerinden biri idrar yolu infeksiyonudur. Hali hazırda Tip 2 DM genital/idrar yolları infeksiyon insidansı/prevalansı artışıyla ilişkilendirilmektedir. Dapagliflozin böbrekteki aşırı glukozun geri emilimini inhibe ettiği için idrar yollarında glukoz artışına yol açmaktadır ki bu da genitoüriner sistemde bakteriyel çoğalmanın artışı için önemli bir risktir. Görülen genitoüriner infeksiyonların büyük kısmı hafif ve orta şiddette olup, nadiren Dapagliflozin'in bırakılmasına yol açmış ve genellikle tek bir standart tedavi kürüyle giderilmeleri mümkün olmuştur. Piyelonefrit sıklığında artış görülmemiş olup plasebo ile genellikle benzer sıklıkta meydana geldiği gözlenmiştir (Scheen 2019). Bu ilacın başlangıç aşamasında eGFR değerinde hafif bir düşmeye neden olduğu, daha sonra eGFR değerlerinin normale geldiği gözlenmiştir. Böbrek üzerine olan etkisinin geçici olduğu bilinmektedir. İlacın bırakılması sonrası SGLT2 inhibisyonu ortadan kalkmasına bağlı proksimal tübülde glukoz emilimi tekrar başlamaktadır (Heerspink ve ark., 2018). Ayrıca dapagliflozin kullanan hastalarda glukozürinin

etkisi ile hacim deplesyonuna bağlı hipotansiyon atakları plaseboya göre daha sık görülmektedir. Dapagliflozin günde tek doz kullanılmaktadır.    nlerden bağımsız olarak kullanıldığı ve doz titrasyonu gerektirmediği için kullanım kolaydır.

1.3. Diabetes Mellitus'un Vasküler Komplikasyonları

Vasküler komplikasyonlar DM'nin en ciddi ve sık morbidite/mortalite nedenlerinden biridir. Ateroskleroz azalmış yaşam s resinin en önemli belirleyicisi iken diabetik nefropatiye bağlı son dönem böbrek yetmezliği ve retinopatiye bağlı körlük ise hastalığa bağlı yaşam kalitesindeki bozulmada önemli rol oynamaktadır. Bu nedenle vasküler komplikasyonların önlenmesinde en iyi tanımlanmış klinik yaklaşımlar kan glukoz seviyesinde yoğun antidiabetik, antilipidemik ve antihipertansif tedavilerdir (Adler ve ark., 2000 ve Collins ve ark., 2003). Ayrıca retinopatiye yönelik olarak uygulanan fotokoagülasyon ve vasküler endotelyal büyüme faktörüne yönelik ajanlar hastalık progresyonunu azaltmada önemlidir (Klein ve ark., 1984). Tüm bu gelişmelere karşın hastalık prevelansındaki artış nedeniyle vasküler komplikasyonlar halen önemli bir sağlık sorunu olarak karşımıza çıkmaktadır. Glukoz düşürücü ilaçların kullanımı nefropati ve retinopati başlangıcını geciktirdiği halde, kardiyovasküler hastalık gelişiminin hiperglisemi ile daha az ilişkili olduğu ve antidiabetik ilaçlardan daha az fayda görüldüğü gösterilmiştir (DCCT GROUP 1995 ve Gaede ve ark., 2003). Ayrıca, diabetli hastalarda sık görülen dislipidemi ve hipertansiyonun etkisi dışında kardiyovasküler hastalıklar ile DM arasında bağımsız bir ilişkili olduğu açıktır. Tip 2 DM deki insülin direnci ve onun dokulardaki etkisi aterotrombotik olayların gelişiminde hiperglisemiden daha önemli bir risk faktörüdür (THE ONTARGET 2008).

Bu bilgilere karşın, halen diabetin vasküler komplikasyonlarını hedefleyen çok az terapötik alternatif bulunmaktadır. Diabetik vasküler komplikasyonların altta yatan patogeneze yönelik yapılan çalışmaların sonuçlarından yola çıkarak, hastalığın moleküler hasar mekanizması ile endojen koruyucu faktörler arasındaki dengenin sağlanması vasküler hasarın gelişmesindeki en önemli gösterge olarak

düşünülmektedir. Bu nedenle vasküler komplikasyonun patogeneziye yönelik incelemeler ve tedavi algoritmaları gelecekte diyabetin yönetim stratejisinin en önemli belirleyicisi olacaktır.

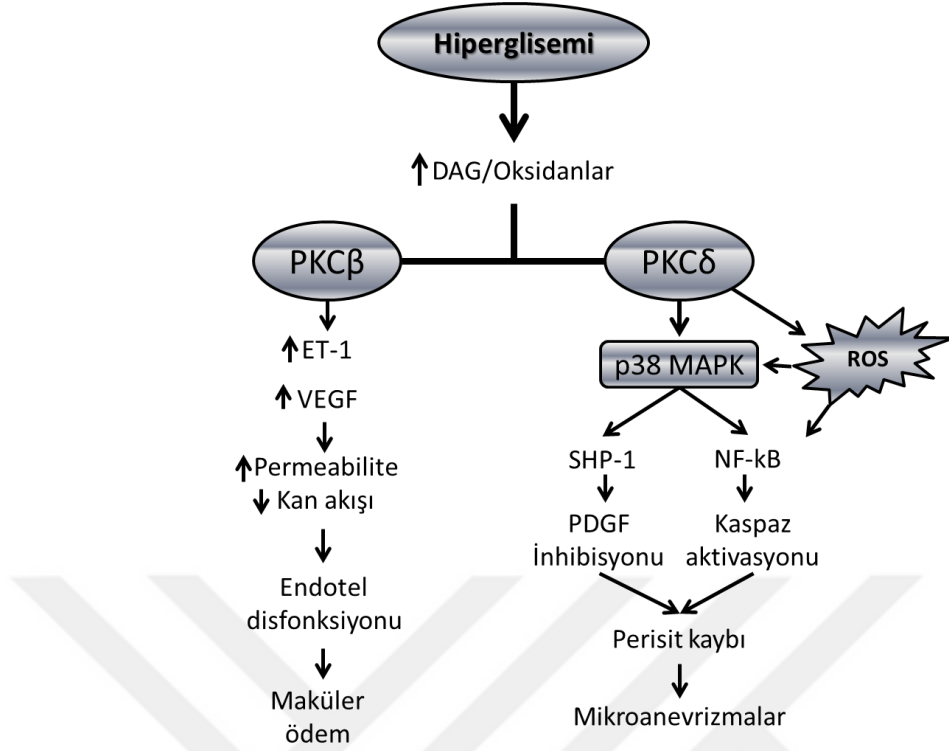
1.3.1. Vasküler Komplikasyonların Patogenezi

Diabete bağlı gelişen aterosklerozun patolojisi, diğer majör risk faktörü olan sigara ve dislipidemiye bağlı gelişen lezyonlardan karakteristik olarak ayırt edilemez. Kolesterol özellikle de LDL kolesterol ateroskleroza yatkınlıkta en önemli katkı sağlayan faktör olarak düşünülse de, hipertrigliseridemi, düşük HDL ve küçük yoğunluklu LDL ateroskleroz gelişiminde daha önemli parametrelerdir (The Emerging Risk Factors Collaboration 2010). Arteriyal duvardaki apolipoprotein B içeriği ve modifiye LDL, monositlerden derivate edilen makrofajları aktif hale getirerek lipoproteinleri alır ve köpük hücrelerine derivate etmektedir. Köpük hücrelerden ve diğer immün hücrelerden salınan kemokin ve sitokinler immün cevabın başlamasında önemli rol almaktadır. İleri glikasyon son ürünlerinin formasyonu ve değişmiş glukoz metabolizmasının sonucu olarak serbest oksijen radikallerinin aşırı üretimi nükleer faktör-kappa B (NF-Kb) ve diğer proinflamatuvar yollarını aktive ederek sürecin daha da ilerlemesine neden olmaktadır. Bu değişiklikler adhezyon moleküllerinin ekspresyonu ile endotelial disfonksiyonun gelişmesine yol açmaktadır. Vasküler düz kas hücrelerinin proliferasyonu aterosklerotik plaktaki ve plak üzerini örten fibrotik örtünün ana kaynağıdır. Bu süreç içerisinde makrofajlarda ortaya çıkan apoptozis ilerlemiş plak içerisindeki nekrotik çekirdek formasyonunun oluşmasına ve makrofajlardan ve diğer hücrelerden matrix metalloproteaz ve diğer enzimlerin salınmasına neden olmaktadır. Bu enzimler fibrotik örtünün kırılmasına ve plak rüptürüne yol açmaktadır. Nekrotik çekirdek ve diğer ekstrasellüler komponentlerin dolaşımdaki kan ile teması sonucunda tromboz gelişmekte, strok ve myokard infarktüsü oluşmaktadır (Bernesis ve ark., 2002 ve Libby ve ark., 2011).

1.3.2. Hasarın Moleküler Mekanizması

Diabetes mellitus hastalarında gen ekspresyonu, hücresel sinyalizasyon ve hücre fizyolojisi ile ilgili bir dizi anormallikler tanımlanmıştır. Bu anormallikler birçok dokuda benzer özellikte olup nadiren farklılıklar kişiye özgü olarak görülmektedir. Diabet hastalarında görülen hücresel düzeydeki moleküler hasar mekanizmaları aşağıda farklı yollar ile anlatılmıştır.

Protein kinaz C aktivasyonu: Protein kinaz C (PKC), birçok hücre içi sinyalizasyonda rol alan ve geniş yelpazede eksprese edilen bir enzimdir. Bu enzimin diabetli hastalarda özellikle vasküler yatakta aktivitesi artmaktadır. PKC'nin 10 izoformu olmasına rağmen diabetli hastalarda α , β ve δ olmak üzere 3 izoformu sürekli olarak belirtilmektedir (Steinberg 2008). PKC β izoformunu inhibe eden ruboxistaurin ile yapılan hayvan çalışmalarında retinal ve glomerular hemodinamide iyileşmeye ve aterosklerozda gerilemeye neden olduğu gösterilmiştir (Deissler ve Lang, 2016). PKC izoformları yapısal olarak ve aktivasyon modlarına göre klasik (β), yeni (δ) ve atipik olmak üzere 3 alt gruba sınıflandırılmıştır. β ve δ izoformları gliseraldehid 3-fosfat ve fosfotidik asit tarafından intraselüler olarak artan lipid diaçilgliserol tarafından aktive olmaktadır. Ayrıca sürekli olarak hipergliseminin devam etmesi de PKC de transkripsiyonel upregulasyona neden olarak aktivitesinin artmasına neden olur. PKC aktive olmasıyla endotelin-1 ve vasküler endotelyal büyüme faktör ekspresyonunda artışa, sonunda da vasküler permeabilitenin bozulmasına neden olmaktadır (Şekil 1.4) (Koya ve King, 1998). PKC özellikle diabet hastalarında inflamatuvar sürecin tetikleyicilerinden biri olarak düşünülmekte olup PKC inhibitörleri ile ilgili birçok çalışma devam etmektedir. Diabetik obez hastalarda karaciğer insülin direnci üzerine etkilerinden sonra araştırmacılar yeni PKC inhibitörleri üzerine eğilimlerini arttırmıştır.



Şekil 1.4. Hiperglisemi ve Protein Kinaz C aktivasyonu

(PKCβ; Protein kinaz C beta, PKCδ; protein kinaz C sigma, ET-1; endotelin-1, VEGF; vasküler endotelyal büyüme faktörü, MAPK; mitojen aktive protein kinaz, ROS; serbest oksijen radikali, SHP-1; Src homology region 2 domain-containing phosphatase-1, NF-Kb; nükleer faktör kappa B) (Geraldine ve King, 2010)

Poliol yolağı: Hücre içine glukoz artışı polyol yolağı aracılığıyla fruktoz ve sorbitol gibi ürünlerin hücre içi oranında artışa neden olmaktadır. Normalde bu dönüşüm sağlıklı bireylerde de görülmesine karşın, diabete bağlı aşırı hücre içi glukoz artışı bu yolağın daha fazla aktive olmasına ve hücre içi hasar oluşumuna yol açmaktadır. Bu yolda hız kısıtlayıcı basamak olan aldolaz redüktaz enzim aktivasyonu ile NADPH'ı tüketirken ve sorbitol redüktaz aktivitesi ile NAD (+) azaltır (Şekil 1.5) (Ruef ve ark., 2000). Bu yolağın aktivasyonu glukoz artışı dışında GAPDH inaktivasyonu ile de ortaya çıkabilir. Bu olay oksijen radikalleri tarafından ADP'nin GAPDH'e eklenmesi ile gerçekleşir. GAPDH gliseralehit 3 fosfatın glikolitik konversiyonu için gerekli olduğundan bu enzimin inhibisyonu gliseralehit 3 fosfatın artmasına yol açar. Artmış olan gliseralehit 3 fosfat PKC aktivatörü olan diaçil gliserole dönüşür. Hiperaktif polyol yolağı hücresel düzeyde intraselüler antioksidan olarak görev yapan NADPH'ın depleksiyonuna neden olur (Li ve ark., 2019).



Şekil 1.5. Polyol yolağında NADPH tüketimi
(NAD; Nikotinamid adenin dinükleotit, NADP; Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat)
(Chung, 2003)

Serbest oksijen radikalleri: Vasküler duvarda serbest oksijen radikalleri ve süperoksit üretimi vasküler hastalıkların ve diyabetin patogeneğinde çok önemli bir role sahiptir. Vasküler hücrelerdeki süperoksitin esas kaynağı NADH'ı substrat olarak kullanan ve fagositik NADPH oksidazı taklit eden enzim tarafından üretilmektedir. Diabette polyol yolağının artışına bağlı olarak NADH/NAD⁺ oranının artmasının bu enzimin aktivasyonuna neden olduğu düşünülmektedir. NADH oksidaz enzim aktivitesindeki artış ayrıca PKC aktivasyonuna bağlı artmış glukoz ve serbest yağ asiti seviyesi ile de ilişkili olabilir. Mitokondri ayrıca önemli serbest oksijen radikali kaynağından biridir. Mitokondrideki sitrik asit siklusu elektron transport zinciri için elektron donörü olarak hareket eden NADH VE FADH₂ oluşumunu sağlamaktadır. Hücre içi glukoz konsantrasyonu arttığında proton gradienti artar ve elektron transferini inhibe eder. Böylece elektronlar süperoksit üretimine neden olan moleküler oksijene transfer olur. Diabette serbest oksijen radikali oluşumundaki farklı ve birbiri ile ilişkili birçok mekanizma olması hastalığın vasküler patogeneindeki karmaşıklığı yanında ortak hedef hakkında ipuçları da sağlamaktadır (Nishikawa ve ark., 2000).

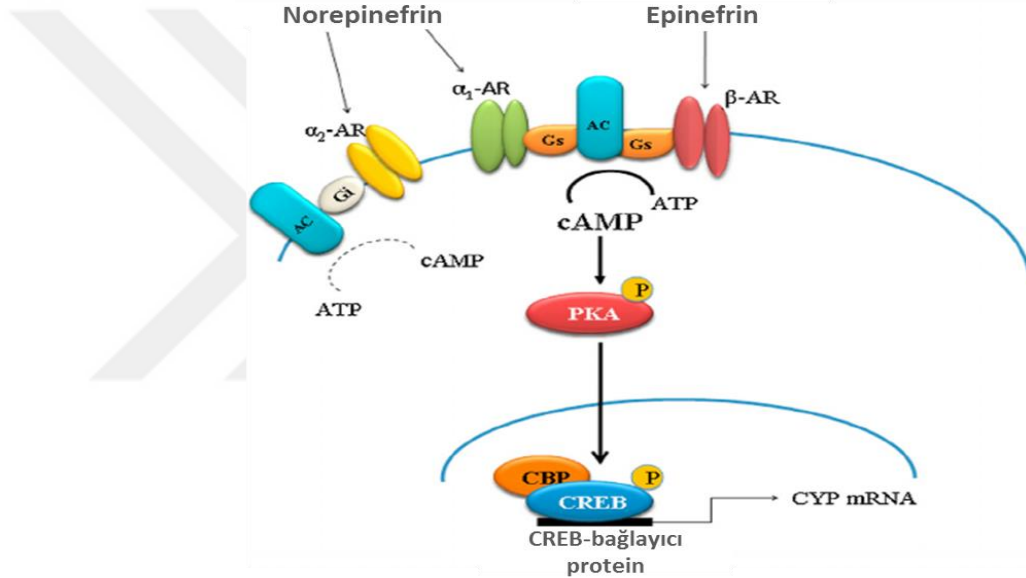
Glikolizasyon yolağı: Şekerler tarafından hücre içi ve dışı proteinlerin modifiye edilmesi sonucu glikolizasyon son ürünlerin ortaya çıktığı bilinmektedir. Bu ürünler proteinlerin yapısını ve fonksiyonunu değiştirerek proinflatuvar ve hücre yüzey reseptörlerinin aktive olmasına neden olur. Bu ürünlerin seviyesi kan şeker oranı ile doğrudan ilişkilidir. Glikolizasyon son ürünleri oluşumu protein ve glukoz arasında nonenzimatik yol ile ortaya çıkabilir. En yaygın olarak karboksimetil-lizin

görülmektedir. Kollajen gibi ekstrasellüler yapısal proteinler glikasyon son ürün modifikasyonuna özellikle hassastır. Glikasyon son ürünleri diabetes hastalarında retina, aorta ve glomerül gibi birçok dokuda gösterilmiştir. Bu modifikasyon ekstrasellüler matriks proteinleri ve sinyal moleküllerinin fonksiyonunu değiştirdiği ve diabetes hastalarında vasküler patogeneze önemli yere sahip olduğu birçok deneysel çalışmada bulunmuştur (Du ve ark., 2001; Federici ve ark., 2002 ve Makino ve ark., 2015). Diabetesin vasküler komplikasyon gelişiminde rol alan yukarıda bahsedilen patolojik olaylar bir bütünün parçası olarak farklı yolların katkısı ile ateroskleroz ve diğer vasküler komplikasyonların ortaya çıkmasına neden olmaktadır. Bu kompleks ve kısmen birbirinden bağımsız olan mekanizmalar nedeniyle vasküler komplikasyonların tedavisi genelde tek bir yolak üzerinden yapılamamaktadır. Örnek olarak, ACE inhibitörlerinin böbrek fonksiyonlarında önemli iyileşmeye neden olduğu birçok çalışmada gösterilmiştir. Anjiyotensin I ve II lokal olarak böbrekte üretilmekte olup diabetes hastalarında kardiyak fibrozis gelişiminde ve böbrek hastalığının ilerlemesinde önemli bir yere sahiptir. Anjiyotensin II TGF- β aracılığıyla ekstrasellüler matriks üretiminin artışına neden olmaktadır. Fakat Tip 1 diabetes hastalarının böbrek biyopsileri incelenerek yapılan çalışmada bu anjiyotensin dönüştürücü enzim inhibisyonun yapısal düzelmeye neden olmadığı ve böbrek kapiller basıncı azaltarak daha ziyade fonksiyonel düzelmeye neden olduğu gösterilmiştir. Bu nedenle diabetesin kardiyovasküler hastalıklarının yönetiminde kombine veya yeni tedavi seçeneklerine ihtiyaç olduğu düşünülmektedir.

1.4. β -Adrenerjik Reseptörler

β adrenerjik reseptörler (β -AR) özellikle kalpte çok önemli fonksiyonlarda kritik role sahiptir. Bu reseptörler β_1 , β_2 ve β_3 -AR olmak üzere üç alt gruba ayrılır. Baskın olarak rol alan β -AR'ler pozitif kronotropik etki ile kalp hızında ve pozitif inotropik etki ile de kalp kasılma kuvvetinde artışa neden olur. Ayrıca pozitif lusitropik etki sayesinde de gevşeme oranında artışa neden olmaktadır. β_2 -AR'ler genellikle periferik vasküler düz kas hücrelerinde ve plateletlerde bulunmakta olup periferik düz kas hücrelerinde vazodilatasyona ve plateletlerde agregasyonunun

inhibisyonuna neden olmaktadır (Emorine ve ark., 1989). β_2 -AR'ler ayrıca vasküler endotelial hücreler ve daha seyrek olarak kalp kasında da fonksiyon gösterdiği bilinmektedir. β -AR'ler G protein kenetli reseptör ailesine ait olup Gs proteini (vasküler düz kas hücrelerinde tanımlı), adenilil siklaz (AC), siklik adenosin monofosfat (cAMP) ve protein kinaz A (PKA) gibi hücresel elemanlar ve enzimler bu reseptörlerin klasik sinyal iletim yolağında rol almaktadır (Şekil 1.6). Bu yollar dışında p42/p44 mitojen aktive edici protein kinaz (p42/p44 MAPK ya da ERK1/2 yolağı), Gi protein kenetli fosfatidilinositol 3 kinaz (PI3)/ protein kinaz B (Akt) ve mitojen aktive edici protein kinaz (MEK) gibi yollar ile de uyarılabilmektedir.

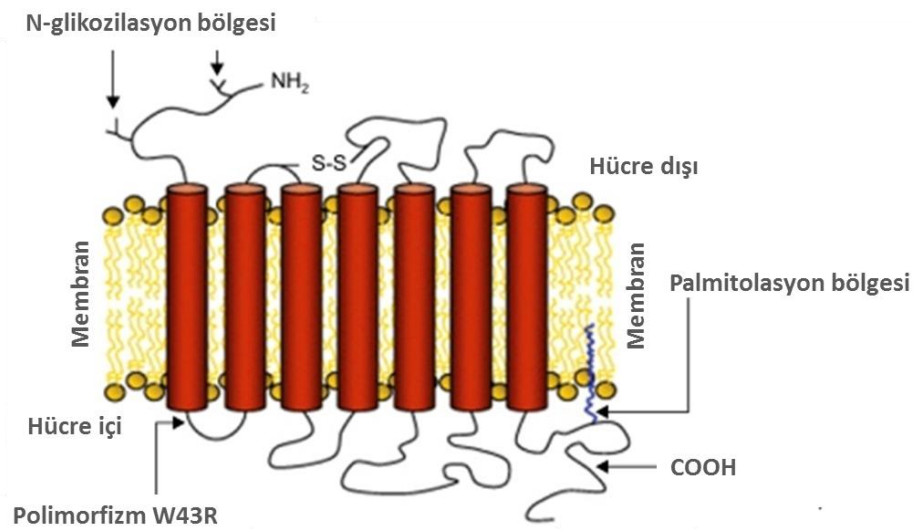


Şekil 1.6. β adrenerjik reseptör yolağı (CBP; CREB bağlayıcı protein, CREB; cAMP response element-binding, CYP; sitokrom P) (Cannavo ve Koch, 2017)

β -AR uyarılması ile Gs proteininin α ünitesi asetilkolin ile birleşmesi sonucu ATP'nin cAMP'ye dönüşümü sağlanmaktadır. Klasik sinyal yolağında oluşan cAMP PKA'yı aktifleyerek birçok proteinin fosforillenmesine neden olur. Örnek olarak PKA miyozin hafif zincir kinazı fosforilleyerek vasküler düz kas hücrelerinde bu proteinin kalmoduline olan affinitesini azaltmaktadır. Bu sayede β_2 -AR aracılık ettiği vazodilatasyon oluşmaktadır. PKA kardiyak myositlerde aktive olarak, L tipi Ca^{2+} kanallarının uyarılmasına ve hücre içine Ca^{2+} girişinin artışına neden olur. Hücre içi artan Ca^{2+} kalp kasında β_1 -AR/ β_2 -AR aracılı kasılmaya neden olmaktadır (Port ve ark., 2001 ve Queen ve ark., 2006).

1.4.1. β_3 Adrenerjik Reseptörler

β_3 -AR dizisi yaklaşık 400-408 aminoasitten oluşan G protein ailesi üyesindendir. Diğer β -AR ile karşılaştırıldığında daha homojen bir 7 transmembran domain içeren ekstrasellüler glikolize N-terminal ve intrasellüler C-terminal yapısına sahiptir (Şekil 1.7). İlk olarak 1989 yılında klonlanan bu reseptörler, esas olarak yağ dokusu içerisinde lipoliz ve termogenezis regülasyonunda rol aldığı gösterilmiştir (Cannavo ve ark., 2017 ve Emorine ve ark., 1989). Daha sonraki 20 yıl içerisinde yapılan çalışmalarda bu reseptörlerin kardiyovasküler sistem modülasyonu ve anjiyogenezis de önemli role sahip olduğu gösterilmiştir. Aslında β_3 -AR ile ilgili insan verileri β_1 ve β_2 -AR'lere oranla daha az olup birçok veri hayvan çalışmalarından elde edilmiştir. 1993 yılında yapılan hayvan çalışmalarında β_3 -AR'lerin kardiyovasküler sistem dışında beyaz ve kahverengi yağ hücrelerinde, ileumda ve rat mide fundusunda bulunduğu saptanmıştır (Arch ve Kaumann, 1993). Yine başka bir hayvan çalışmasında β_3 -AR'lerin yukarıda bahsedilen dokular dışında farklı dokularda görev aldığı tespit edilmiştir. İlk olarak 1996 yılında β_3 -AR'lerin kalp dokusunda yer aldığı ve kalbin kasılma gücünde azalmaya (negatif inotropik) neden olduğu gösterilmiş olup, araştırmacıların kardiyovasküler sistem üzerinde etkili bu yeni reseptörler ile ilgili birçok çalışmanın başlamasına neden olmuştur (Gauthier ve ark., 1996).

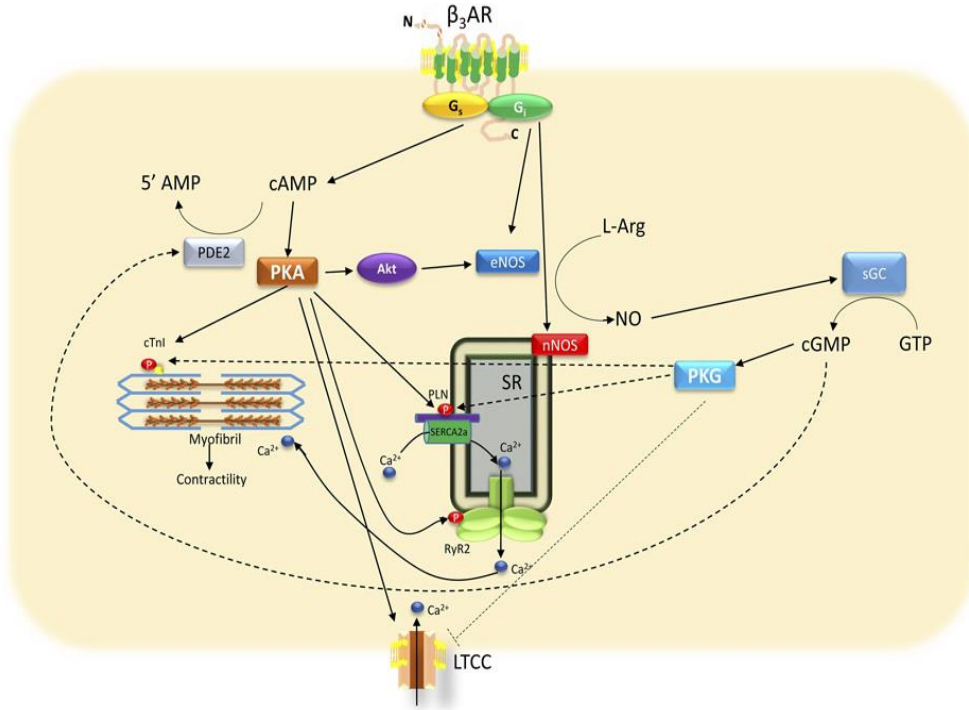


Şekil 1.7. β_3 -AR'lerin yapısı
(Igawa ve ark., 2010)

1.4.2 Kalpte β_3 Adrenerjik Reseptörler

β_3 -AR'lerin kalpte elektrofizyolojik etkilere neden olduğu yapılan çalışmalarda gösterilmiştir. Kalpte özellikle endotelyumda ve miyokardiyumda bulunan bu reseptörlerin kalp için önemli koruyucu rolleri olduğu son yıllarda toplanan veriler ile gösterilmiştir. Karşıt hipotezlerde ise kalp yetmezliğinde artan β adrenerjik aktivitenin kronik uyarılması sonucu miyokardiyumda β_3 -AR'lerin aktivasyonu ve kalp yetmezliğinin ilerlediği görüşü ve bu reseptörlere karşı geliştirilen antagonistlerin kalp yetmezliğinde yararlı olduğu düşünülmüştür (Masutani ve ark., 2013). β_3 -AR'lerin elektrofizyolojik çalışmasını inceleyen hayvan çalışmasında, tavşanların kalp kası hücrelerinde uyarılan β_3 -AR'ler NO yolağını aktive etmesiyle Ca^{2+} transiyentini ve L tipi Ca^{2+} geçişini engelleyerek K^+ transportunu (I_{KS}) arttırdığı gözlenmiştir (Gauthier ve ark., 2011). Ayrıca düşük sıcaklıklarda β_3 -AR'lerin uyarılması sonucu L tipi Ca^{2+} kanallarından Ca^{2+} geçişinin artması ile insan atriyumunda kasılmaya aracılık ederken, normal vücut ısısında bu etki oluşmamaktadır.

Ventriküllerde β_3 -AR'lerin uyarılmasının G alfa inhibitör proteini üzerinden etki yaparak Ca^{2+} transientini ve L tipi Ca^{2+} akışını engellediği gösterilmiştir. NO sentezini uyararak cGMP üretimini artırır ve negatif inotropik etkiye neden olur (Audigane ve ark., 2009). Bu etkileri nedeniyle β_3 -AR'lerin kardiyoprotektif özellikleri olduğu düşünülmektedir. Ayrıca egzersizin kardiyak fonksiyonları iyileştirmesinde ve iskemi sonrası miyokard hasarının düzelmesinde bu reseptörlerin nasıl rol aldığı gösterilmiştir. Bu reseptörlerin koruyucu rolündeki en önemli faktörlerden bir tanesi de yeterli NO sentaz aktivitesinin varlığıdır. NO seviyesindeki artış endotelial disfonksiyonun düzelmesini ve artmış anjiyogenezis sonucu hasarlı iskemik miyokardın iyileşmesini sağlar. β_3 -AR'ler, ayrıca, kalp yetmezliği gibi artmış sempatik aktiviteye bağlı katekolaminlerin sürekli neden olduğu β_1 ve β_2 nin istenmeyen etkilerine karşı da koruyucu role sahiptir (Arch ve ark., 1993; Audigane ve ark., 2009; Cannavo ve ark., 2017; Dessy ve ark., 2005; Gauthier ve ark., 2011; Masutani ve ark., 2013 ve Moens ve ark., 2010)



Şekil 1.8. β_3 -adrenerjik reseptörlerin kalpteki etki mekanizması (Cannavo ve Koch, 2017)

1.4.3. Vasküler Sistemde β_3 Adrenerjik Reseptörler

Hayvan çalışmalarında, torasik aortanın endotel hücrelerinde nadolol varlığında değişiklik gözlenmezken, β_3 -AR'lerin antagonist ve agonistleri uygulandığında kasılma ve gevşeme gözlenmiştir. Bu durum vasküler sistemde β_3 -AR'lerin etkin olduğunun en önemli kanıtlarından biridir (Trochu ve ark., 1999). Özellikle hayvan torasik aortasında gözlenen gevşeme yanıtından β_1 ve β_2 -AR'lerden ziyade β_3 -AR'lerin sorumlu olduğu sonucuna varılmıştır. β_3 -AR'lerin uyarılması sonucu ortaya çıkan vazodilatasyondan endotelial NO sentaz enzim aktivasyonunun sorumlu olduğu bulunmuştur. Yapılan farklı deneysel yöntemlerde endotelden bağımsız mekanizmaların da sorumlu olduğu hipotezi ortaya konulmuş olsa da hangi yolların bu mekanizmada aktif rol oynadığı henüz gösterilememiştir (Flacco ve ark., 2013).

1.5. Amaç

Diabetes mellitus ve neden olduğu kardiyovasküler komplikasyonlar bu patolojiye bağlı morbidite ve mortalite nedenlerinin başında gelmektedir. Diabetin yol açtığı vasküler hasarda ise endotel disfonksiyonunun önemi büyüktür. Endotel disfonksiyonunda vasküler duvarda endotel aracılı gevşeme yanıtlarındaki bozukluk ilk olarak ortaya çıkan bozukluklardan biridir. Vasküler gevşeme yanıtının değerlendirilmesinde endotel kaynaklı gevşemeye aracılık eden muskarinik ve β_3 -AR'lerin değişimi incelenebilmektedir. Öte yandan, β_2 -AR aracılı yanıt da vasküler gevşemeye önemli katkıda bulunmaktadır.

Günümüzde diabet tedavisinde sadece metabolik kontrol sağlamaya yönelik ilaçlar kullanmaktansa, diabetik komplikasyonların önlenmesine ya da tedavisine de odaklanan terapötik yaklaşımlar tercih edilmektedir. Bu anlamda SGLT2 inhibitörleri umut verici bir antidiabetik ilaç grubu olarak düşünülmektedir. Böbreklerdeki sodyum-glukoz kotransportını inhibe ederek glukozun idrardan reabsorbsiyonunu engelleyen bu ilaçlar hiperglisemiye etkin şekilde tedavi edebilmektedir. Öte yandan, bu ilaçların kardiyovasküler olumlu etkileri birçok prelinik ve klinik çalışmada gösterilmiştir. SGLT2 inhibitörlerin diabetik damarda etkilerini inceleyen çalışma sayısı oldukça sınırlıdır. Bu ilaçların damarda β -AR aracılı yanıtı ne şekilde değiştirdiği ise henüz bilinmemektedir. Bu noktadan hareketle, tez çalışmamızda bir SGLT2 inhibitörü olan dapagliflozinin düşük doz streptozotosin ve yüksek oranda yağ içeren diyet sonrası gelişen diabet modelinde torasik aortada β -AR aracılı yanıtlara etkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. Kullanılan Gereçler

2.1.1. Kullanılan Cihaz, Alet ve Malzemeler

- Anestezi kafesi (Animal anesthesia chamber) (MAY, Commat Ltd., Ankara, TR)
- Bilgisayar kontrollü veri kayıt ve analiz sistemi (MP30 Data Acquisition System, Biopac-System Inc, Santa Barbara-California, ABD)
- Buzdolabı (Arçelik, TR)
- Buz makinesi (HOSHIZAKI, FM-120DE, J)
- Cam laboratuvar malzemeleri (Beher, mezür, huni, petri, deney tüpü, havan vb.)
- Cerrahi makas ve pensler (INOX, DE)
- Çift cidarlı izole organ banyosu sistemi (MAY, Commat Ltd. Ankara, TÜRKİYE)
- Derin dondurucu (-20°C Arçelik, TR)
- Eldiven
- Enjektör (Değişik hacimlerde; 10ml, 5ml, 2ml, 1ml insülin enjektörü) (Hayat®, TR)
- Güç kaynakları (PowerPac Basic (300V,400mA,75W), Bio-Rad, USA),(Stimulus isolation 35)
- Hassas terazi (KERN ABJ)
- Kan şekeri ölçüm cihazı ve stripleri (Contour Plus, Bayer)
- Manyetik karıştırıcı (İsolab)
- Oksijen- karbondioksit karışım tüpü (%95 O₂ / %5 CO₂ içeren gaz karışım tüpü
- Otomatik Pipetler (10 µl, 100 µl, 1000 µl)(Eppendorf, Hamburg, DE)
- Otomatik Pipet uçları (10, 100 ve 1000 µl hacimlerinde) (Vertex/USA Scientific, USA)
- pH metre (ISOLAB, TR)
- Plastik malzemeler (Standart ve DNase Free özelliğe sahip)
- Sıcaklık ayarlayıcı (Temperature Controller DC for Steiert Papillary muscle organ bath, Type 391/1, Harvard Apparatus, DE)

- Su banyosu (Heating circulator) (MAY, WBC3044-PR, Commat Ltd., Ankara, TR)
- Transdüser (Isometric force displacement), (May FDT 10, Commat Ltd., Ankara, TR)
- Transdüser amplifikatörü (MAY, BA-97, Commat Ltd., Ankara, TÜRKİYE)
- Vorteks (SCIOLOGEX, MX-S, Connecticut, USA) (Velp Scientifica, I)

2.1.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler

- Asetilkolin (Sigma Chemical Co, ABD)
- CL 316,243 (Cayman Chemical, 17499, USA)
- Dapagliflozin (Forziga, AstraZeneca, USA))
- Dietil eter (Merck, DE)
- Enoksaparin (Clexane, Sanofi, TR)
- Etanol
- Glukoz monohidrat ($C_6H_{12}O_6 \cdot H_2O$) (Sigma-Aldrich, E)
- Heparin (Nevparin, Mustafa Nevzat, İstanbul, TR)
- İzofluran (Piramal Critical Care Inc./ADEKA, USA/TR)
- İzoprenalin (Sigma-Aldrich, RC)
- Kalsiyum klorür dihidrat ($CaCl_2 \cdot 2H_2O$) (Sigma-Aldrich, DE)
- L-Fenilefrin (Sigma Chemical Co, ABD)
- Magnezyum sülfat heptahidrat ($MgSO_4 \cdot 7H_2O$) (Sigma-Aldrich, DE)
- Noradrenalin (Sigma-Aldrich, USA)
- Potasyum fosfat monobazik (KH_2PO_4) (Sigma-Aldrich, DE)
- Potasyum klorür (KCl) (Sigma-Aldrich, DE)
- Sıçan yemi (Optima A.Ş. Bolu, TR)
- Sıçan yemi yağlı (%35) (Open Source Diet D12492, ARDEN Araştırma ve Deney, Ankara, TR)
- Sodyum bikarbonat ($NaHCO_3$) (Sigma-Aldrich, DE)
- Sodyum klorür (NaCl) (Sigma-Aldrich, DE)
- Sodyum sitrat (Sigma Chemical Co, ABD)
- Streptozotosin (Sigma-Aldrich, DE)

2.2. Kullanılan Deney Hayvanları

Bilkent Üniversitesi Fen Fakültesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü Deney Hayvanları Ünitesi'nden deneyler de kullanılması için 75 adet 5 haftalık (100-150 g) erkek Sprague-Dawley sıçan alınmıştır. Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı Deney Hayvanı Barındırma ve Kullanım Ünitesi'ne yerleştirilmiştir. Deney protokolü başlamadan önce sıçanların bu üniteye alışmaları için bir haftalık karantina süresi uygulanmıştır. Sıçanlar bu üniteye 12 saat aydınlık ve 12 saat karanlık ortamda (07.00-19.00 saatleri arası aydınlık, 19.00-07.00 saatleri arası karanlık), $22\pm1^{\circ}\text{C}$ sabit sıcaklık ve %30-70 sabit nemde tutulmuştur. Barındıkları süre boyunca sıçanlar yem ve su kısıtlaması yapılmadan (ad libitum) beslenmiştir.

Bu çalışma, Ankara Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 10.05.2017 tarih ve 2017-10-92 karar numaralı onayı alınarak yapılmıştır (Ek.1).

2.2.1. Deney Grupları

Çalışmada hayvanlar 4 deney grubu ayrılmıştır:

- Kontrol grubu (K) (n=16): Normal yem ile beslenmiştir (Çizelge 2.1).
- Kontrol-DAPA grubu (KD) (n=17): Normal yem ile beslenmiştir ve 12 hafta boyunca dapagliflozin ile tedavi edilmiştir.
- Diabet grubu (D) (n=19): Yüksek yağ içerikli yem ile beslenmiştir ve düşük doz STZ uygulanarak diabet oluşturulmuştur (Çizelge 2.2).
- Diabetik- DAPA grubu (DD) (n=23): Yüksek yağ içerikli yem ile beslenmiştir ve düşük doz STZ uygulanarak diabet oluşturulmuştur ve 12 hafta boyunca dapagliflozin ile tedavi edilmiştir.

Sıçanların beden ağırlıkları ve kan şekerleri düzenli olarak her hafta ölçülmüştür.

Çizelge 2.1. Sıçanların normal yem bileşenleri listesi

Bileşenler	Açıklama
Soya fasulyesi kuspesi	Genetiği değiştirilmiş soya fasulyesinden elde edilmiştir: ACS-GMOO5-3, MON- O4032-6, MON-89788-1
Bonkalit	
Mısır	
Pirinç kepeği	
Bitkisel yağ	Genetiği değiştirilmiş soya fasulyesinden elde edilmiştir: ACS-GMOO5-3, MON- O4032-6, MON-89788-1
Melas	
Kalsiyum	
Karbonat	
Di kalsiyum fosfat	
Tuz vitamin-mineral karışımı	
Maya	
Mitoksin bağlayıcı	
Küf önleyici	
Analitik bileşenler (%)	
Ham protein	23,0
Ham selüloz	2,52
Ham yağ	5,08
Ham kül	7,17
Lizin	1,36
Metiyonin	0,51
Kalsiyum	1,11
Fosfor	0,76
Sodyum	0,25
İz Elementler	
E2 İyot (kalsiyum iyot anhidrat)	0,8 mg/kg
E3 Kobalt (kobalt karbonat monohidrat)	0,15 mg/kg
E4 Bakır (bakırsülfat pantahidrat)	10 mg/kg
E5 Mangan (mangan oksit)	50 mg/kg
E6 Çinko (çinko oksit)	50 mg/kg
E8 Selenyum (sodyum selenit)	0,15 mg/kg
Katkı maddeleri-Vitaminler	
E672 Vitamin A	36000 İ.Ü./kg
E671Vitamin D3	6520 İ.Ü./kg

Çizelge 2.2. Sıçanların yüksek yağlı yem bileşenleri listesi

Ürün No: D12492*		
	Gr (%)	Kcal (%)
Protein	26,2	20
Karbonhidrat	26,3	20
Yağ	34,9	60
Toplam kcal/gr	5,24	
Bileşenler		
Kazein, 30 meş	200	800
L-sistin	3	12
Mısır nişastası**	0	0
Maltodekstrin 10	125	500
Sükroz	68,8	275,2
Selüloz, BW200	50	0
Soya yağı**	25	225
Domuz yağı***	245	2205
Mineral karışımı S10026	10	0
Dikalsiyum fosfat	13	0
Kalsiyum karbonat	5,5	0
Potasyum sitrat 1 H ₂ O	16,5	0
Vitamin karışımı V1001	10	40
Kolin bitartarat	2	0
FD&C Mavi boya**	0,05	0
Toplam	773,85	4057

*Yemlerin hazırlanmasında Open Source Diet'in (USA) D12492 numaralı ürün formülü esas alınmış olsa da birkaç değişiklik yapılarak hazırlanmıştır.

**Formüldeki bu maddeler eklenmemiştir.

*** Domuz yağının Türkiye'de bulunması zor olduğu için yerine kuyruk yağı kullanılmıştır.

**** Tüm maddelerin karıştırılabilmesi için toplam miktarın %40'ı kadar su kullanılmıştır. Daha sonra bu su yemlerin kurutma işlemi sırasında buharlaşacağı için miktar göz ardı edilmektedir.

*****Bunlara ilaveten koruyucu olarak sitrik asit (0,01gr/su) kullanılmıştır.

2.3. Kullanılan Yöntemler

2.3.1. Diabet Oluşturulması

6 haftaya ulaşan sıçanlar 4 hafta boyunca yüksek oranda yağ içeren diyet (HFD %35 g/g) (Çizelge 2.2) ile beslendikten sonra 0,1 N Ph: 4.5 sitrat tamponu içerisinde STZ 25 mg/kg çözeltisi injekte edilerek diabet oluşturulmuştur.

Uygulamadan sonraki 72. saatte kuyruktan alınan kanda glukoz seviyesine bakılmış kan şekeri 200 mg/dl'nin üzerinde olan sıçanlar diabet olarak kabul edilmiştir. Bazı sıçanlarda ilk STZ dozu uygulamasından sonra kan şekeri yüksek çıkmasına karşın bir süre sonra normal seviyeye döndüğü gözlenmiştir. Diabetin tam olarak ortaya çıktığından emin olmak için tedaviye başlamadan önceki iki hafta boyunca sıçanlar izlenmiştir. Kan şekeri 200 mg/dl'nin altında olan sıçanlara STZ enjeksiyonu tekrarlanmıştır. Buna karşın kan şekeri 200 mg/dl'nin altında olan sıçanlar grup dışı bırakılmıştır.

2.3.2. Tedavi

Kan şekeri 200 mg/dl'nin üzerinde olan sıçanlar iki hafta takip edildikten sonra diabetik grup olarak kabul edilmiş ve ilaç tedavisine başlanmıştır. KD ve DD olarak ayrılan iki gruba, tedavi için SGLT2 inhibitörü dapagliflozin 1 mg/kg/gün dozunda her gün sabah saatlerinde oral olarak uygulanmıştır. Tedavi 12 hafta boyunca düzenli olarak bu iki gruptaki tüm sıçanlara uygulanmıştır.

2.3.3. Kan Şekeri Ölçümleri

Haftalık Kan Şekeri Ölçümü:

Kan şekeri ölçümü yapmak için pazartesi günleri sıçanların kuyruklarından alınan kanlar, kan şekeri ölçüm cihazı ile ölçülmüştür. Ölçüm yapılmadan önce hayvanlara yem ya da su kısıtlaması uygulanmamıştır.

Oral Glukoz Tolerans Testi:

Oral glukoz tolerans testi (OGTT) diabet tanı kriteri olarak kullanılan, vücudun glukozu kullanma ve kandan atabilme kabiliyetini gösteren bir testtir. Bu uygulamada 2 gr/kg olacak şekilde glukoz oral yoldan verilir ve 2 saat süreyle 30 dakikada bir kandan glukoz ölçümü yapılır.

Çalışmada K (n=8), D (n=8), KD (n=8) ve DD (n=8) olmak üzere toplam 32 sıçan gece 21.00'dan itibaren 12 saat aç bırakılmıştır. Sabah kuyruktan alınan kanda glukometre ile ölçüm yapılmış ve çıkan değerler açlık kan şekeri (0. dk. kan şekeri) olarak kaydedilmiştir. Daha sonra her sıçana oral gavaj ile 2 gr/kg olacak şekilde şeker çözeltisi (%25 g/ml'lik şeker-su çözeltisi) verilmiştir. Şeker yüklemesinin ardından 2 saat süreyle 30 dakikada bir (30, 60, 90 ve 120. dakikalarda) kuyruktan alınan kanlardan glukoz ölçümü yapılmıştır.

2.3.4. Serum Lipid Düzeylerinin Ölçümü

Deneyler için sakrifiye edilen sıçanların kanından elde edilen serum total, HDL ve LDL kolesterol ve trigliserid (TG) ölçümünde kullanılmıştır. Bu ölçümler Adana Devlet Hastanesi Laboratuvarında yapılmıştır.

2.4. Deney Öncesi Yapılan İşlemler

Deney günü sıçanların beden ağırlıkları ve kan şekeri değerleri ölçülmüştür. Daha sonra sıçanlara izofluran (%2) anestezisi uygulanarak sakrifiye edilmiştir. Sıçanların göğüs kafesleri açılarak aortaları izole edilmiştir.

2.4.1. İzole Organ Banyosu Deneyleri

2.4.1.1. Torasik Aorta Halkalarının (Ringlerinin) Hazırlanması

Göğüs kafesi açıldıktan sonra izole edilen aorta soğuk krebs çözeltisine (Çizelge 2.3) konulmuştur. %95 O₂-%5 CO₂ içeren gaz karışımıyla havalandırılan ve heparin içeren krebs çözeltisi içerisinde kendisini çevreleyen bağ dokusu ve yağdan dikkatlice temizlenmiştir. Yaklaşık 5 mm'lik uzunluktaki parçalara ayrılmıştır. Banyoların sıcaklığı 36°C'ye sabitlenip ve sürekli olarak %95 O₂ - %5 CO₂

karışımıyla havalandırılmıştır. Bu banyolara asılan aorta halkalarına 2000 mg'lık gerim uygulanmıştır. Aorta halkaları 15, 30, 45 ve 60. dakikalarda yıkanarak 1 saat boyunca inkübe edilmiştir. 1 saat sonunda halkalar 10^{-5} M fenilefrin ile kastırılmıştır.

Aortadaki kasılma platoya ulaşınca aorta halkaları 10^{-5} M asetilkolin ile gevşetilmiştir. Bu şekilde aortadaki endotel tabakasının sağlamlığı kontrol edilmiştir. %70'den az gevşeyen aorta halkaları deney dışı bırakılmıştır.

Çizelge 2.3. Krebs çözeltisi formülü (Krebs-Henseleit Solution)

	MA	mM	gram (1litre için)
NaCl	58,44	120	7,013
KCl	74,56	4,80	0,358
CaCl ₂ .2H ₂ O	147	1,25	0,184
MgSO ₄ .7H ₂ O	246,48	1,25	0,308
KH ₂ PO ₄	136	1,20	0,163
NaHCO ₃	84,01	25	2,100
C ₆ H ₁₂ O ₆ .H ₂ O	198,17	10	1,982

2.4.1.2. Torasik Aorta Halkalarında Kasılma-Gevşeme Yanıtlarının Ölçülmesi

Endotel tabakasının sağlam olduğu anlaşıldıktan sonra aorta halkaları yıkanıp bazal seviyeye inmesi sağlanmıştır. Sonrasında fenilefrin (10^{-8} ve 10^{-5} M) ile konsantrasyon-yanıt eğrisi çıkarılmıştır. Her bir damar için maksimum kasılmayı sağlayan fenilefrin dozunun %70'i (submaksimal doz) hesaplanarak ön kastırıcı agonist konsantrasyonu olarak kullanılmıştır. Yıkama sonucu bazal seviyeye inen aorta halkalarına tek doz olarak verilen submaksimal fenilefrin dozu ile ön kastırma uygulanmıştır. Bunu takiben endotele bağımlı gevşeme cevaplarını oluşturmak üzere değişen konsantrasyonlardaki (10^{-9} - 10^{-4} M) asetilkolin ile konsantrasyon-yanıt eğrisi çıkarılmıştır.

Yıkama sonrası bazal seviyesine inmesi beklenen aorta halkaları submaksimal fenilefrin dozu ile kastırılmıştır. İzoprenalin (10^{-9} - 10^{-5} M) ile konsantrasyon-yanıt

eğrisi çıkarılmıştır. Bu şekilde nonselektif β -AR agonisti olan izoprenalin ile β -AR aracılı gevşeme yanıtları elde edilmiştir. Yıkama sonrası yeniden bazal seviyesine düşen aorta halkaları fenilefrinin submaksimal dozunda kastırıldıktan sonra bu kez selektif β_3 -AR agonisti olan CL 316,243 ile 10^{-9} - 10^{-6} M dozları arasında konsantrasyon-yanıt eğrisi alınarak gevşeme yanıtları kaydedilmiştir.

2.5. İstatistiksel Analiz

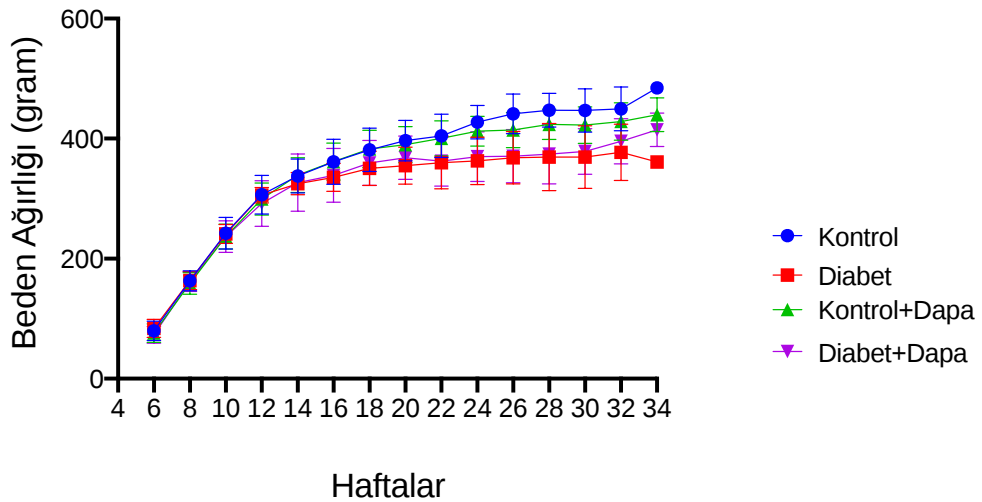
Deney sonucunda ulaşılan verilerin istatistiksel analizinde GraphPad Prism (8.3.1, USA) kullanılmıştır. Veriler ortalama ve standart sapma (ortalama $\pm$ standart hata) ile gösterilmiştir. Ayrıca One-way ANOVA Bonferroni çoklu karşılaştırma testi kullanılmıştır. İstatistiksel anlamlılık için $p < 0.05$ düzeyi kabul edilmiştir.

3. BULGULAR

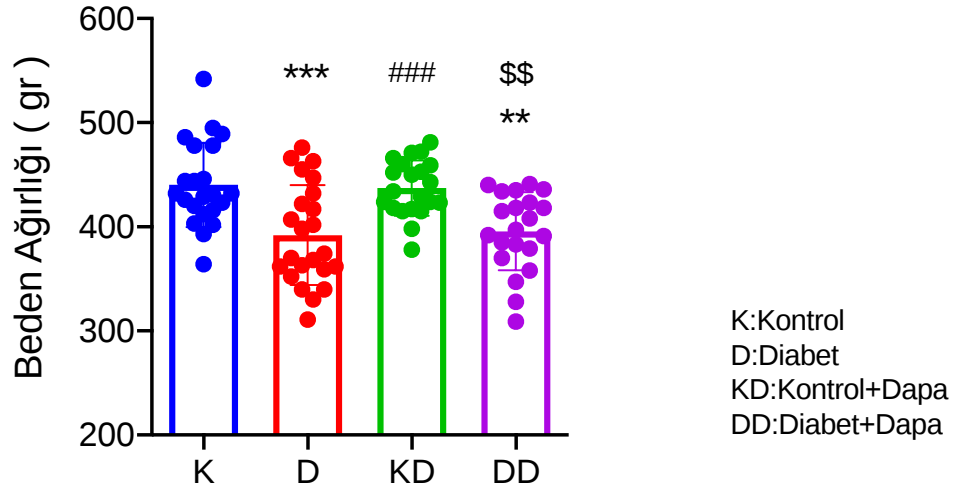
3.1. Deney Hayvanlarının Genel Özellikleri

3.1.1. Deney Hayvanlarının Beden Ağırlığı

Deney hayvanlarının beden ağırlıkları düzenli olarak yapılan haftalık ölçümlerle takip edilmiştir. Dört hafta süre ile yüksek oranda yağ içeren diyet ile beslenen sıçanların beden ağırlıkları, kontrol grubu ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı gözlenmiştir. STZ ile diabet oluşturulduktan sonra diabetik ve diabetik-dapa sıçanların beden ağırlıkları ortalaması, kontrol grubundakiler ile karşılaştırıldığında anlamlı olarak daha düşük bulunmuştur. Diabetik ve diabetik-dapa grup arasında ise beden ağırlığı bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir. Ayrıca dapagliflozin tedavisi alan kontrol grubundaki sıçanların beden ağırlığı, tedavi almayan kontrol grubu ile karşılaştırıldığında farklılık gözlenmemiştir (Çizelge 3.1 ve Şekil 3.1 ve Şekil 3.2).



Şekil 3.1. Sıçanların haftalık beden ağırlığı değişimi



Şekil 3.2. Sıçanların ölüm anı beden ağırlığı değerleri.

*** Kontrole göre anlamlılık, *** $p<0.001$; ### Diabete göre anlamlılık, $p<0.001$; \$\$ Kontrol-dapa'ya göre anlamlılık

Çizelge 3.1. Sıçanların ölüm anı kan şekeri ve beden ağırlığı değerleri özellikleri

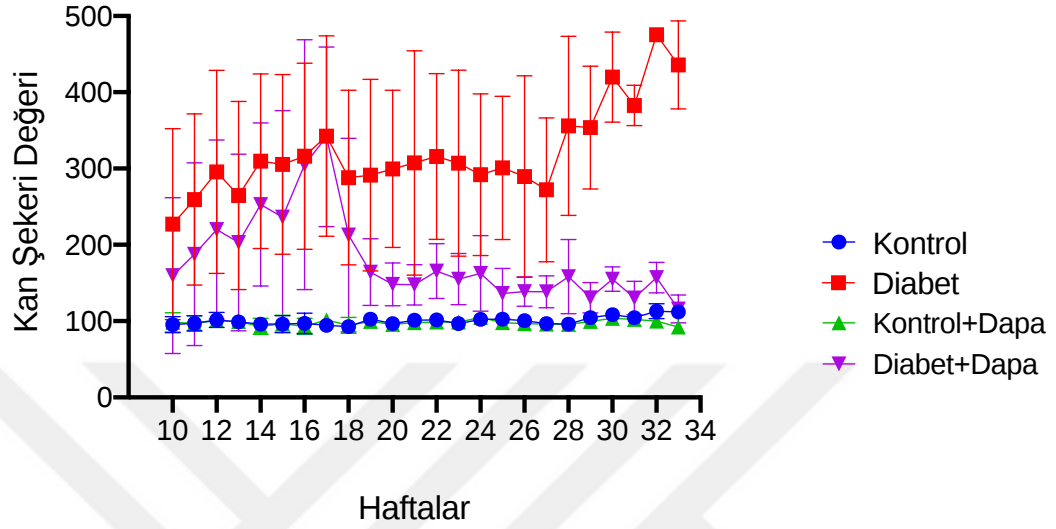
	BA (gr)	KŞ (mg/ml)
K (n=16)	440.2±40.4	106.5±9.2
D (n=17)	392.0±47.9***	307.0±125.9***
KD (n=19)	437.2±26.6##	99.9±8.0###
DD (n=23)	395.6±37.5**\$\$	151.4±29.9###

BA, beden ağırlığı; KŞ, kan şekeri. K, kontrol grubu; D, diabetik grup; KD, dapagliflozin tedavili kontrol grubu; DD, dapagliflozin tedavili diabetik grup. Değerler ortalama ± standart sapma (Ort±SD) olarak verilmiştir. **, $p<0.01$, ***, $p<0.001$, Kontrole göre anlamlılık; ##, $p<0.01$, ###, $p<0.001$, Diabete göre anlamlılık; \$\$, $p<0.01$, Kontrol-dapa'ya göre anlamlılık

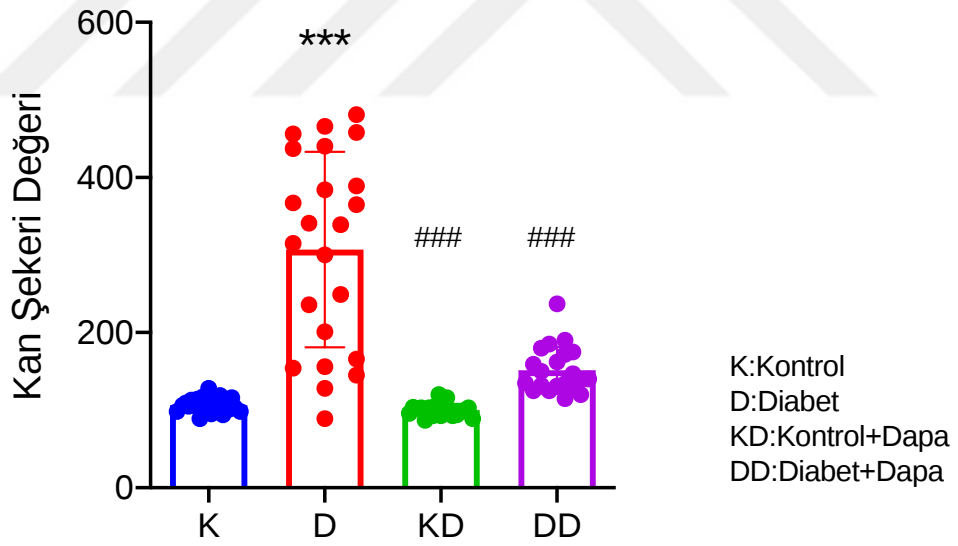
3.1.2. Deney Hayvanlarının Kan Şekeri

Deneye başlamadan hemen önce hayvanlardan kan şekeri seviyesini ölçmek üzere kuyruk kanı alınmıştır. STZ diabetik grupta kan şekeri beklendiği gibi yüksek bulunmuştur. Dapagliflozin ile tedavi uygulanan diabetik grupta kan şekeri seviyesinin, tedavi almayan diabetik gruba göre anlamlı bir şekilde düşük olduğu gözlemlendi. Kontrol grubundaki sıçanlarda dapagliflozin tedavisi sonrası kan şekeri

seviyesi, tedavi almayan kontrol grubundakiler ile karşılaştırıldığında her hangi bir farklılık izlenmemiştir (Şekil 3.3 ve Şekil 3.4).



Şekil 3.3. Sıçanların haftalık kan şekeri değerlerinin değişimi.



Şekil 3.4. Sıçanların ölüm anı kan şekeri değerleri

***Kontrolle göre anlamlılık, ### Diabete göre anlamlılık, $p < 0.001$

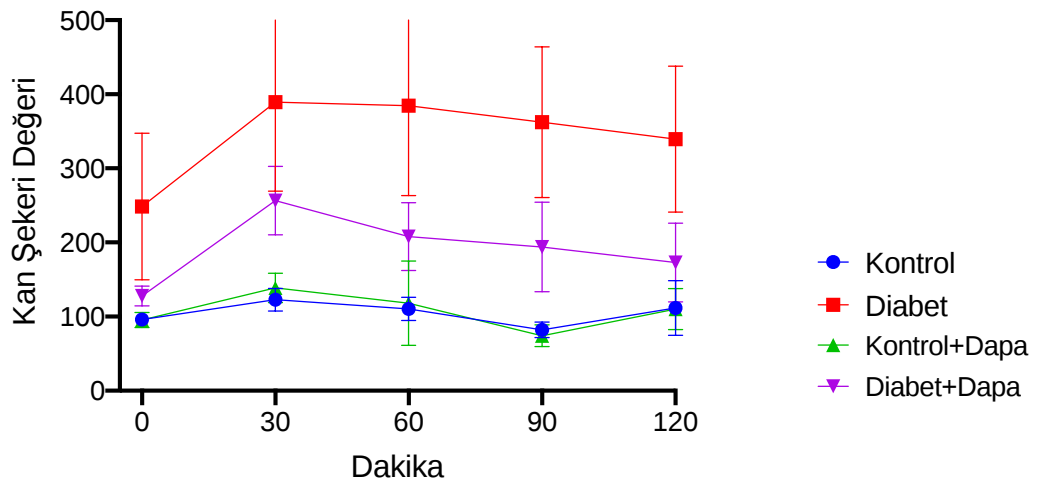
3.1.2.1. Oral Glukoz Tolerans Testi

Oral glukoz tolerans testinde şeker yüklemesinden 12 saat önce yem kısıtlaması uygulanmıştır. Kan şekerinin en yüksek seviyesi 60. dakikada ölçülmüş ve bu dakikadan sonra ölçümlerin yapıldığı 75. ve 90. dakikalarda kan şekeri düzeyinin düştüğü gözlenmiştir. (Çizelge 3.2. ve Şekil 3.5). Diabetik grupların kan şekeri düzeyleri kontrol grubuna göre yüksek bulunmuştur. Ama bu artış dapagliflozin tedavisi uygulanan grupta tedavi uygulanmayan gruba oranla daha azdır.

Çizelge 3.2. OGTT kan şekeri değerlerinin zamana göre değişimi.

	0. dk (mg/dl) mg	30.dk (mg/dl)	60. dk (mg/dl)	90. dk (mg/dl)	120. dk (mg/dl)
K (n=8)	95±5	129±14	108±19	82±11	91±14
D (n=8)	301±86	435±114***	409±120***	362±102***	348±92***
KD (n=8)	92±7	133±16	84±14	74±15	95±17
DD (n=8)	133±12	277±34 ^{&&&}	218±43 ^{&&&}	198±57 ^{&&&}	183±53 ^{&&&}

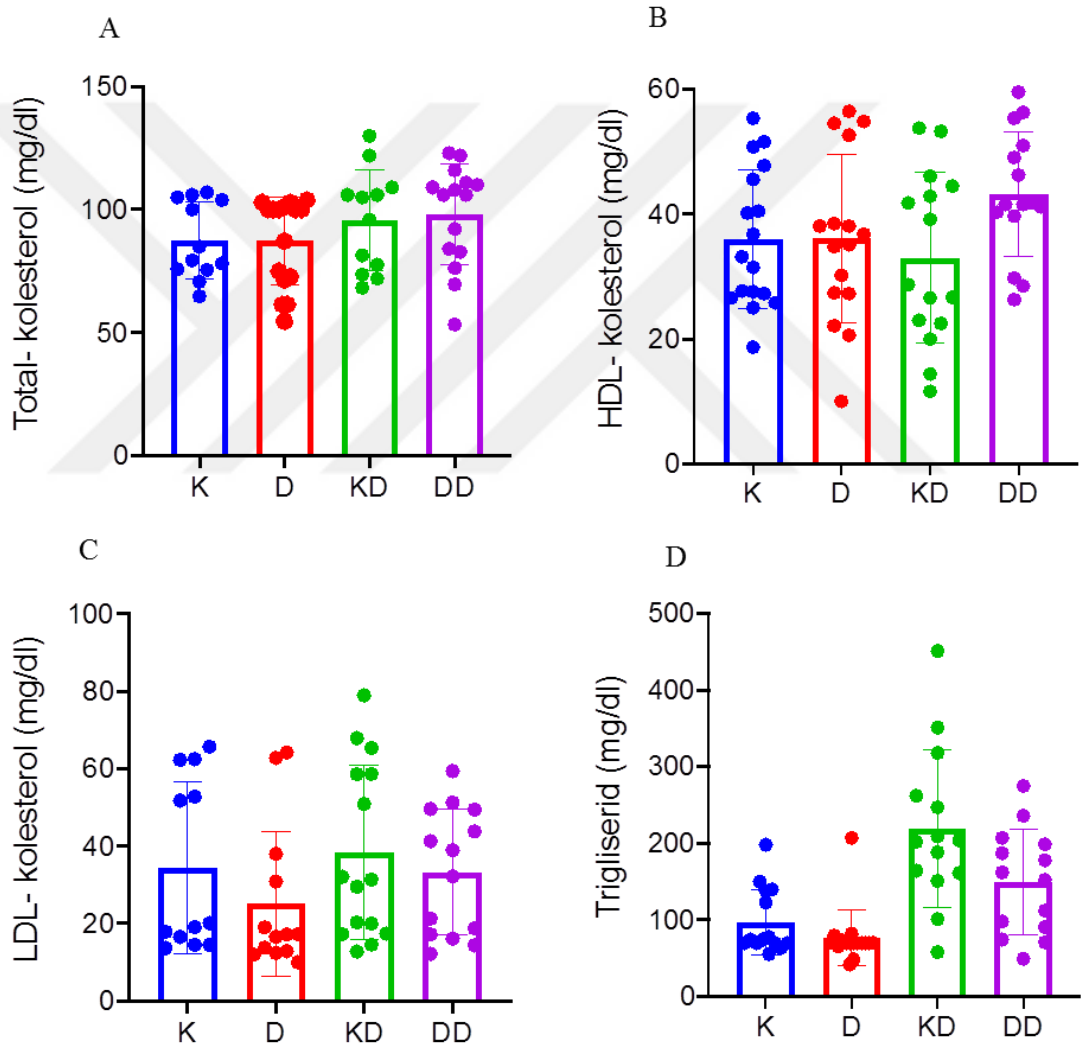
K, kontrol grubu; KD, dapagliflozin tedavili kontrol grubu; D, diabetik grup; DD, dapagliflozin tedavili diabetik grup.***; Kontrole göre anlamlılık. ***,^{&&&}Diabete göre anlamlılık, p<0.001



Şekil 3.5. Oral glukoz tolerans testi grafiği

3.1.3. Serum Lipid Düzeyleri

Bu çalışmada total kolesterol, HDL kolesterol, LDL kolesterol ve trigliserid düzeyleri ölçülmüştür. Kolesterol değerleri bakımından gruplar arası anlamlı bir farklılık bulunmamıştır (Şekil 3.6 A-C). Trigliserid düzeyleri açısından ise, HFD ile beslenen diabetik grupta kontrol grubuna göre artış görünse de bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (Şekil 3.6 D).



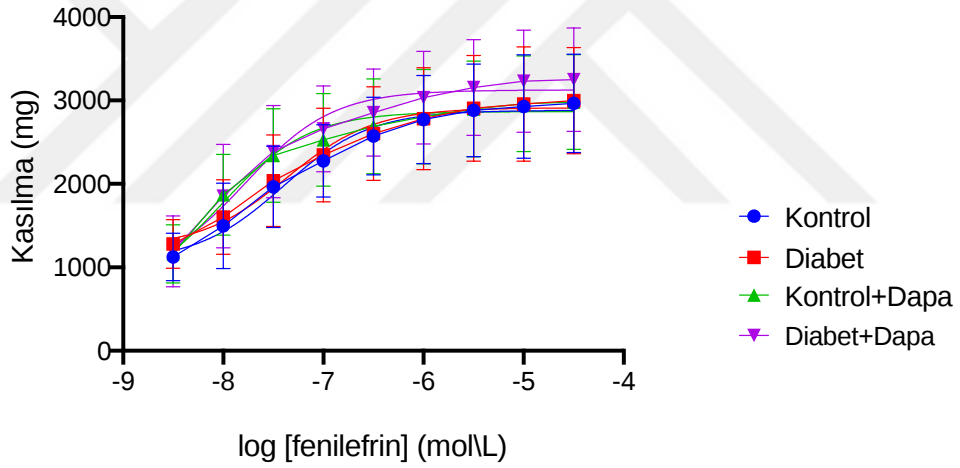
Şekil 3.6. Sıçanların serum lipid değerlerine ait grafikler

A) Total kolesterol düzeylerinin grafiği. B) HDL kolesterol düzeylerinin grafiği. C) LDL kolesterol düzeylerinin grafiği. D) Trigliserid düzeylerinin grafiği. K, kontrol grubu (n=12); KD, dapagliflozin tedavili kontrol grubu (n=13); D, diabetik grup (n=13); DD, dapagliflozin tedavili diabetik grup (n=14).

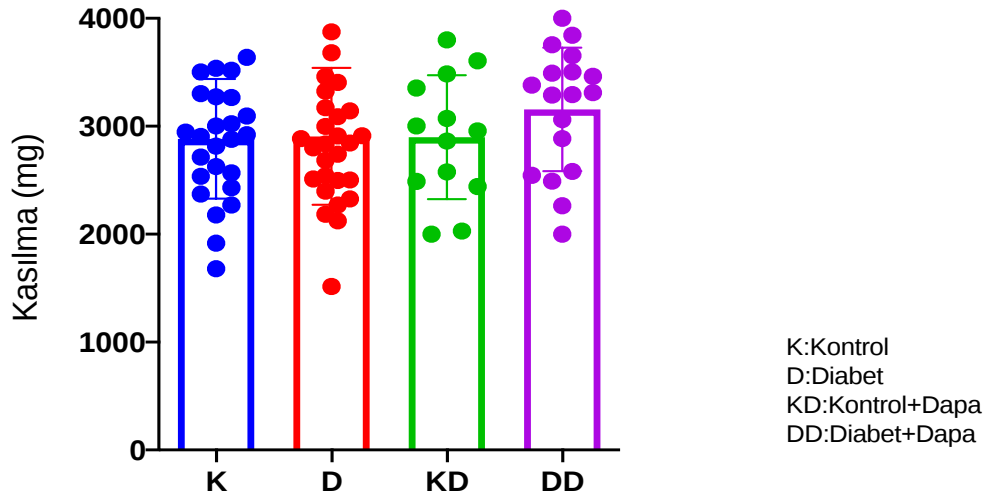
3.2. İzole Organ Banyosu Deney Sonuçları

3.2.1. Fenilefrin Konsantrasyon – Yanıt Eğrileri

Tüm gruplardaki sıçanlarda endotel tabakasının sağlam olduğu öncelikle tespit edilmiştir. Aorta halkaları yıkanarak bazal seviyeye indiği gözlemlendikten sonra fenilefrin (10^{-8} - 10^{-5} M) ile konsantrasyon-yanıt eğrisi çıkarılmıştır (Şekil 3.7 ve Şekil 3.8). Maksimum etki 10^{-5} M fenilefrin dozunda gözlenmiştir. Gruplar arasında istatistiksel bir farklılık olmadığı halde fenilefrinin diabet-dapa grubundaki aort halkalarında kasılmayı hafif düzeyde arttırdığı saptanmıştır (K: 2882 ± 554 mg; D: 2906 ± 634 mg; KD: 2898 ± 574 mg; DD: 3156 ± 573 mg).



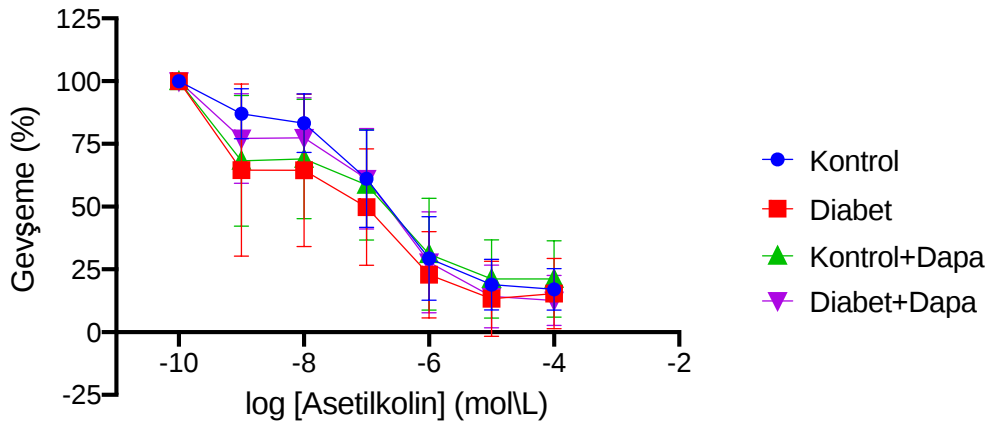
Şekil 3.7. Endoteli intact aortada fenilefrin konsantrasyon-yanıt eğrisi.



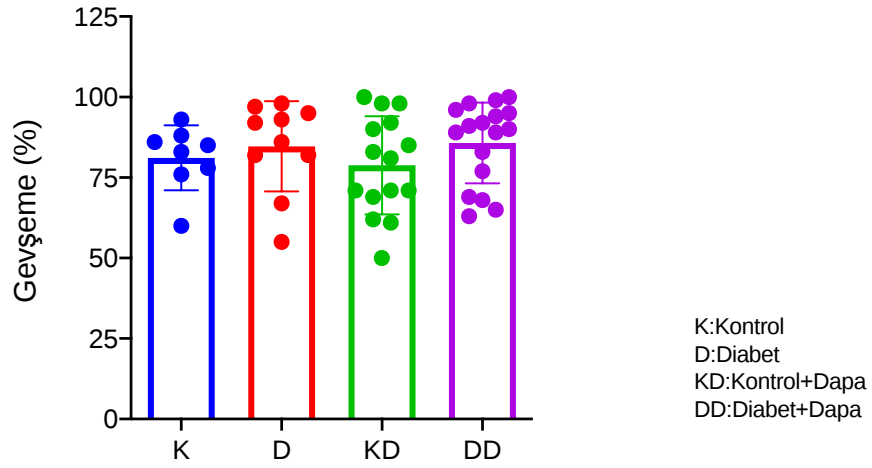
Şekil 3.8. 10^{-5} M fenilefrin varlığında oluşan maksimum etki

3.2.2. Asetilkolin Konsantrasyon - Yanıt Eğrisi

Asetilkolinin 10^{-9} - 10^{-4} M değişen konsantrasyonlarının kümülatif biçimde uygulanmasıyla sıçanların aorta halkalarında konsantrasyon bağımlı gevşeme yanıtları oluşturulmuştur (Şekil 3.9 ve Şekil 3.10). Buna göre asetilkolinin neden olduğu gevşeme yanıtlarında gruplar arasında bir farklılık tespit edilmemiştir (K: $\%81.2 \pm 10.0$; D: $\%84.7 \pm 14.0$; KD: $\%78.8 \pm 15.3$; DD: $\%85.8 \pm 12.4$).



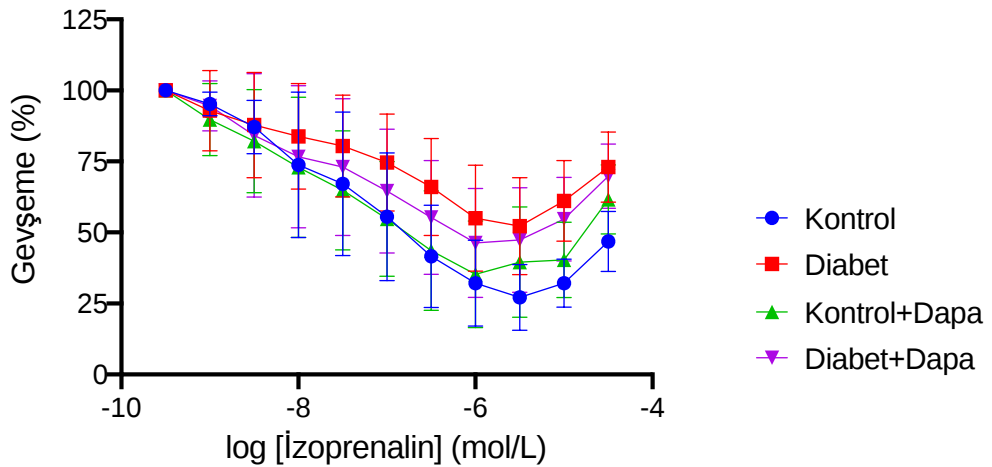
Şekil 3.9. Endoteli intakt aortada asetilkolin konsantrasyon-yanıt eğrisi



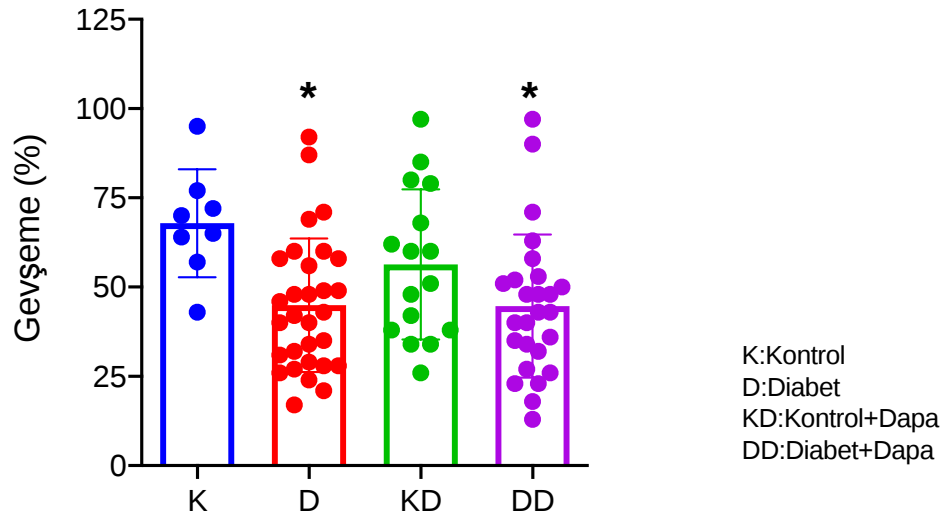
Şekil 3.10. 10^{-4} M asetilkolin varlığında oluşan maksimum etki.

3.2.3. İzoprenalin Konsantrasyon-Yanıt Eğrileri

İzoprenalinin 10^{-9} - 10^{-5} M değişen konsantrasyonlarının kümülatif biçimde uygulanmasıyla sıçanların aorta halkalarında konsantrasyon bağımlı gevşeme yanıtları oluşturulmuştur (Şekil 3.11 ve Şekil 3.12). Nonselektif β -AR agonisti izoprenalinin maksimum etkiyi 10^{-5} M dozunda gösterdiği saptanmıştır. İzoprenalin diabetik grupta kontrole göre anlamlı olarak daha az gevşeme yanıtı oluşturmuştur. Fakat dapagliflozin tedavisi sonrası bu durum değişmemiştir (K: 67.8 ± 15.1 ; D: $44.9 \pm 18.8^*$; KD: 56.3 ± 21.0 ; DD: $44.8 \pm 20.1^*$ $p < 0.05$, Kontrole göre anlamlılık).



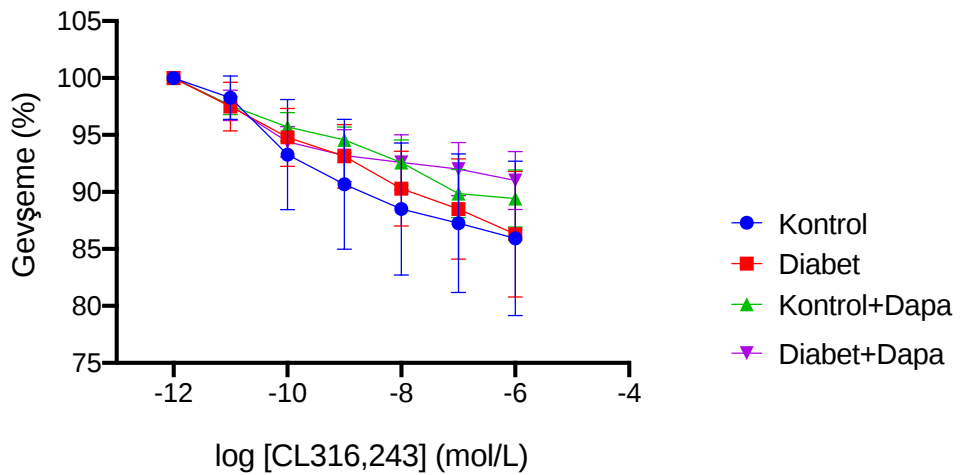
Şekil 3.11. Endoteli intakt aortada izoprenalin konsantrasyon-yanıt eğrisi



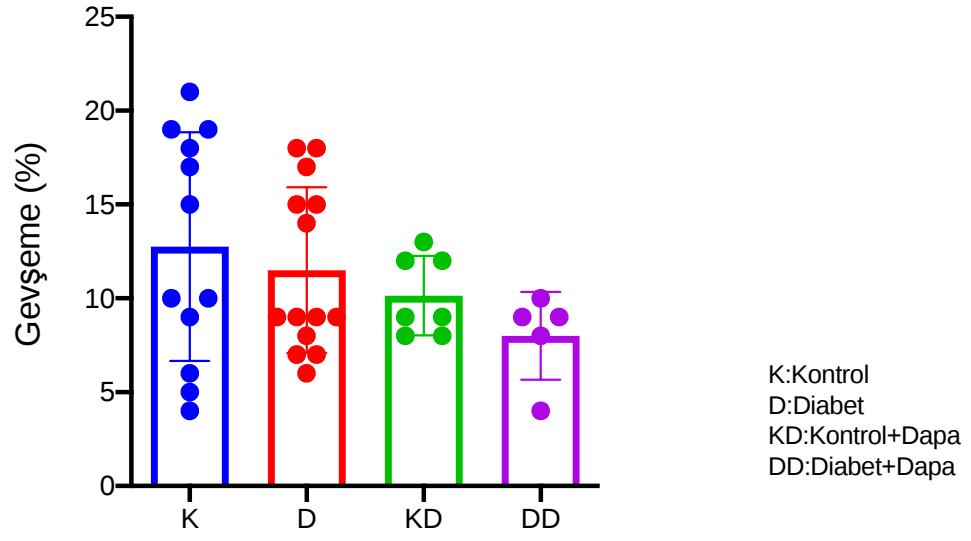
Şekil 3.12. 10^{-5} M izoprenalalin varlığında oluşan maksimum etki.
* Kontrolle göre anlamlılık, $p < 0.05$

3.2.4. CL 316,243 Konsantrasyon-Yanıt Eğrileri

CL 316,243' in 10^{-11} - 10^{-6} M değişen konsantrasyonlarının kümülatif biçimde uygulanmasıyla sıçanların aorta halkalarında konsantrasyon bağımlı gevşeme yanıtları oluşturulmuştur (Şekil 3.13 ve Şekil 3.14). Selektif β_3 -AR agonisti CL 316,243 maksimum etkiyi 10^{-6} M dozunda göstermiştir. Gruplar arasında istatistiksel olarak herhangi bir farklılık gözlenmemiştir (K: $\%12.7 \pm 6.2$; D: $\%11.3 \pm 4.4$; KD: $\%9.9 \pm 2.2$; DD: $\% 8.1 \pm 2.3$).



Şekil 3.13. Endoteli intact aortada CL 316,243 konsantrasyon-yanıt eğrisi.



Şekil 3.14. 10^{-6} M CL 316,243 varlığında oluşan maksimum etki.

4. TARTIŞMA

Çalışmamızda bir SGLT2 inhibitörü olan dapagliflozinin HFD ve düşük doz STZ ile indüklenen diabetik sıçan torasik aortasında β -AR aracılı yanıt verirliliği ne şekilde etkilediği araştırılmıştır. Kardiyovasküler hastalıklar diabete bağlı morbidite ve mortalitenin en önemli nedenlerinden biri olarak gösterilmektedir. Bu bakış açısıyla, diabetik bireylerde sadece metabolik bozukluğu tedavi edecek antidiabetik bir tedavi yaklaşımı yerine patolojiye bağlı kardiyovasküler sorunları da önlemeye ve/veya tedavi etmeye yönelik ilaçların kullanımı sıklıkla tercih edilmektedir. Bu anlamda SGLT inhibitörlerle gerçekleştirilen gerek prelinik gerekse klinik çalışmaların sonuçları umut verici görünmektedir (Chin ve ark., 2019; Furtado ve ark., 2019; Neal ve ark., 2017; Wiviott ve ark., 2019 ve Zinman ve ark., 2015).

SGLT2 inhibitörlerinin antidiabetik etki mekanizması bu ilaçların renal tübüllerde sodyum glukoz kotransportunu inhibe ederek glukozun idrarla atılması esasına dayanmaktadır. Bu şekilde kan şekerinin diabetik bireylerde efektif olarak düşürülmesi mümkün olmaktadır. Literatür ile uyumlu olarak, çalışmamızda dapagliflozin tedavisi sonucu diabetik sıçanların kan şekeri anlamlı olarak düşürülmüştür. Öte yandan, bu ilaçlar yalnızca diabete bağlı olarak renal tübüllerde reabsorbsiyon eşiği aşıl原因an glukoz üzerine etkili olduklarından normoglisemi durumunda kan şekerini düşürücü etki göstermemektedir. Gerçekten de, dapagliflozin tedavisi kontrol sıçanlarda antihiperglisemik etkiye yol açmamıştır.

Birçok klinik çalışmada SGLT2 inhibitörlerin kardiyovasküler yararı vurgulanmaktadır. Bu çalışmalardan DECLARE–TIMI 58 (Dapagliflozin *Effect on Cardiovascular Events: Thrombolysis in Myocardial Infarction 58*) klinik çalışmasında dapagliflozinin Tip 2 diabetik hastalarda kardiyovasküler ölüm oranını düşürdüğü gösterilmiştir (Wiviott ve ark., 2019). EMPA-REG OUTCOME (Empagliflozin *Cardiovascular Outcome*) çalışmasında, bu ilacın Tip 2 diabetik hastalarda kalp yetmezliğine bağlı hastaneye yatış, kardiyovasküler nedenlerden ölüm ve herhangi bir nedene bağlı ölüm oranları belirgin olarak azalmıştır (Zinman

ve ark., 2015). Yine CANVAS (Canagliflozin Cardiovascular Assessment Study program) çalışması ile de Tip 2 diabetik bireylerde kardiyovasküler ölüm riskinin kanagliflozin tedavisi ile azaldığı bildirilmiştir (Radholm ve ark, 2018). Bu olumlu etkiler yalnızca metabolik yararlar ilişkilendirilmemekle birlikte, altta yatan mekanizmalar henüz tam olarak aydınlatılamamıştır.

SGLT2 inhibitörlerinin diabetin aortada β -AR aracılı yanıtlarını ne şekilde etkilediği henüz bilinmemektedir. Bu noktadan hareketle, çalışmamızda Tip 2 diabet modelini yansıtan yüksek yağ diyeti ve düşük doz STZ injeksiyonu ile oluşturulan diabetik sıçanlar SGLT2 inhibitörlerin kliniğe giren ilk üyesi olan dapagliflozin ile tedavi edilmiştir. Bu sıçanlardan izole edilen torasik aortada öncelikle fenilefrin aracılı kasılma yanıtı incelenmiştir. Elde edilen sonuçlar α_1 -AR aracılı kasılma yanıtlarının diabetik damarlarda bir miktar arttığını gösterse de, gruplar arası anlamlı bir farklılık izlenmemiştir.

Çalışmamızda dapagliflozinin endotel aracılı gevşeme yanıtına etkisini araştırmak amacıyla torasik aorta halkalarında asetilkolin yanıtı incelenmiştir. Asetilkolin ile uyarılan gevşeme yanıtı ne diabetik ne de dapagliflozin tedavili diabetik sıçan aortasında farklı bulunmamıştır. Diabete bağlı endotel bağımlı gevşeme yanıtının bozulması sık karşılaşılan bir bulgu olmakla birlikte (Kazuyama ve ark. 2009; Lee ve ark., 2018; Steven ve ark., 2017; Salim ve ark., 2016 ve Yang ve ark., 2011), bu yanıtın bozulmadığını gösteren makaleler de literatürde bulunmaktadır (Kappagoda ve ark., 1989; Karasu, 2000 ve Muderrisoglu ve ark., 2020). Bu anlamda, elde ettiğimiz bulgu literatüre aykırı görünmemektedir. Ne var ki, diabetik aortada asetilkolin aracılı gevşemenin korunmuş olması, dapagliflozinin bu parametreye etkisinin değerlendirilmesini güçleştirmektedir.

SGLT2 inhibitörlerin diabetik damardaki etkisini araştıran makale sayısı oldukça sınırlıdır. Bunlardan birinde, db/db diabetik farelerde hem endotel bağımlı (asetilkolin ile uyarılan) hem de endotel bağımsız (sodyumnitroprusid ile uyarılan) gevşeme yanıtındaki bozulmanın dapagliflozin tedavisi sonucu düzeldiği bildirilmiştir (Lee ve ark., 2018). Araştırmacılar ilacın bu olumlu etkisini

antihiperglisemik etkinin yanı sıra inflamasyon üzerindeki yararı ile de ilişkilendirmiştir. Bir başka çalışmada, endotel aracılı gevşemeye etkisi Tip 2 diabet modellerinden biri olarak kabul edilen ZDF sıçanlarda incelenmiştir. Çalışmada diabete bağlı olarak bozulan asetilkolin ile uyarılan endotel aracılı gevşeme yanıtı bir SGLT2 inhibitörü olan empagliflozin hem düşük ve hem de yüksek dozu ile kısmen düzeltilmiştir (Steven ve ark., 2017). Araştırmacılar, bu yararlı etkiyi kan şekeriindeki düşüşe ek olarak, iyileştirilmiş insülin duyarlılığı ve sinyalizasyonuna bağlı olarak vasküler disfonksiyona yol açan çeşitli yollardaki bozuklukların düzeltilmesi ile ilişkilendirmiştir. Benzer şekilde, STZ diabetik farelerde empagliflozin tedavisi metabolik yarara ek olarak, asetilkolin ile uyarılan endotel bağımlı gevşeme cevabını düzeltilmiştir (Oelze ve ark., 2014). Ayrıca, metabolik sendrom ve kalp yetmezliği modeli olan ZSF1 (Zucker diabetic fatty/spontaneously hypertensive heart failure F1 hibrid) sıçanlarda yapılan bir çalışmada yüksek doz empagliflozin tedavisinin mesenterik arterde bozulan asetilkolin aracılı gevşeme yanıtını iyileştirdiği gösterilmiştir (Park ve ark., 2020). Bu çalışmada sodyumnitroprussid ile uyarılan endotel bağımsız gevşeme yanıtında ise herhangi bir değişim izlenmemiştir. Kronik empagliflozin tedavisi ile düzelen asetilkolin aracılı gevşeme cevabı diabetik apolipoprotein E geni eksik farelerde de gösterilmiştir (Ganbaatar ve ark., 2020). Bir başka SGLT2 inhibitörü olan ipragliflozinin ise STZ diabetik farelerde endotel bağımlı vazodilatasyonu kısmen eNOS fonksiyonundaki olumlu etkisi ile iyileştirdiği bulunmuştur (Salim ve ark., 2016). Araştırmacılar, bu bulguyu ilacın eNOS ve Akt fosforilasyonu üzerindeki etkisine bağlamıştır. Nitekim ipragliflozin tedavisi sonucu diabete bağlı bozulan eNOS'un Ser1177 fosforilasyonu ve Akt fosforilasyonu düzeltilmiştir.

SGLT2 inhibitörlerinin endotel aracılı vazodilatasyon üzerindeki olumlu etkileri sadece kronik tedavi sonucu değil akut olarak in vitro ortamda da gösterilmiştir. Sayour ve ark. sağlıklı sıçanlarda aorta halkalarının kanagliflozin ile inkübasyonu sonucu asetilkolin aracılı gevşeme yanıtlarında duyarlılık ve maksimum yanıtın anlamlı olarak arttığını bildirmiştir (Sayour ve ark., 2019). Öte yandan, bu olumlu etki yalnızca endotel aracılı gevşeme yanıtı üzerinde gözlenmiş, endotel bağımsız gevşemede (sodyum nitroprussid ile uyarılan) ise bir farklılık

bulunmamıştır. Benzer şekilde, in vitro olarak hiperglisemiye maruz bırakılan abdominal aorta halkalarında bir saatlik dapagliflozin inkübasyonu asetilkolin aracılı gevşeme yanıtındaki bozukluğu belli ölçüde iyileştirmiştir (Gaspari ve ark., 2018).

Yukarıda da belirtildiği üzere, SGLT2 inhibitörlerin diabetik damardaki etkisini inceleyen çalışma oldukça azdır. Öte yandan, bu çalışmaların hepsi de asetilkolin ile uyarılan endotel bağımlı gevşemeye ya da nitroprussid ile uyarılan endotel bağımsız gevşeme yanıtına odaklanmıştır. Bu anlamda çalışmamız nonselektif β -AR agonisti olan izoprenalin ile uyarılan gevşeme yanıtına dapagliflozin tedavisinin etkisini de değerlendirdiği için bir ilk özelliği taşımaktadır. Elde ettiğimiz sonuçlar izoprenalin ile uyarılan gevşeme yanıtının diabetik aorta halkalarında azaldığını göstermektedir. Bu sonuç literatür bulgusu ile uyumludur, nitekim diabetik sıçanlarda β_2 -AR aracılı vazodilatasyonun azaldığı bilinmektedir (Yakubu ve ark., 2012 ve Zeydanli ve ark., 2010). Öte yandan, dapagliflozin tedavisi bu bozulmayı düzeltememiştir. Aslında, çalışmamızda dapagliflozin tedavisi ile diabetik sıçanların kan şekeri anlamlı olarak düşürülmüştür. Literatür bilgisinden de yola çıkarak, bu metabolik yarar sonucunda β_2 -AR aracılı yanıtın da düzelmesini beklemek akla yatkın görünmektedir. Nitekim yukarıda da adı geçen birçok makalede metabolik yarara endotel aracılı gevşeme yanıtındaki düzelme de eşlik etmektedir. Öte yandan, çalışmamızda izoprenalin ile uyarılan gevşeme yanıtında bu iyileşmenin gözlenmemesi hipergliseminin ötesinde farklı etkenlere işaret etmektedir.

β_2 -AR aracılı vazodilatasyonun aortada adenilat siklaz-cAMP-PKA üzerinden olduğu bilinmektedir. Ayrıca, izoprenalin aracılı gevşeme yanıtına K^+ kanallarının açılması ve voltaj bağımlı Ca^{++} kanallarının kapanması da katkıda bulunmaktadır. Bu noktalardan hareketle, dapagliflozin tedavisinin yararının gözlenmemesinin de adı geçen sinyal yolları ile ilgili olması muhtemeldir. Ne var ki çalışmamızda, bu yolların değişimine fonksiyonel ya da moleküler düzeyde bakmak mümkün olmamıştır. Bu da, elde ettiğimiz sonucun yorumlanmasını zorlaştırmaktadır.

Çalışmamızda son olarak, dapagliflozin tedavisinin torasik aortada β_3 -AR aracılı gevşeme yanıtına etkisi incelenmiştir. β_3 -AR'lerin aortada vazodilatasyona aracılık ettiği ilk defa Trochu ve ark. tarafından gösterilmiştir (Trochu ve ark., 1999). Bu β -AR alt tipinin ya da aracılık ettiği yanıtın diabetteki değişimi ilk kez laboratuvarımızda Tip 1 diabete karşılık gelen STZ-diabet modelinde gösterilmiş olmakla birlikte (Muderrisoglu ve ark., 2020), Tip 2 diabete karşılık gelen ve kliniğe translasyonu daha yüksek olabilecek modellerde ise incelenmemiştir. İlk kez, çalışmamızda β_3 -AR aracılı gevşemenin yüksek yağ ve düşük doz STZ ile oluşturulan diabet modelinde ne şekilde değiştiği araştırılmıştır. Elde ettiğimiz bulgular, bu yanıtın STZ diabet modelinde olduğu gibi, bu modelde de bir farklılık göstermediğini ortaya koymaktadır. Ayrıca, dapagliflozin tedavisi ile de bu yanıtta herhangi bir değişim gözlenmemiştir.

Sonuç olarak çalışmamızda, yüksek yağ diyeti ve düşük doz STZ enjeksiyonu ile oluşturulan diabet modelinde kronik dapagliflozin tedavisi ile kan şekeri regülasyonu başarıyla sağlanmıştır. Buna karşın, β_2 -AR aracılı gevşeme yanıtındaki bozulma düzeltilememiştir. Öte yandan, bu yanıtta SGLT2 inhibitörlerin etkisine odaklanan başka çalışma bulunmadığı için elde ettiğimiz bulgunun altında yatan fonksiyonel ya da moleküler etkenlerin incelenmesi literatüre önemli katkı sağlayacaktır. Bu anlamda, SGLT2 inhibitörleri ile özellikle de bu grubun en parlak üyesi olan empagliflozin ile yapılacak çalışmalarla, bu ilaçların diabette β_2 -AR aracılı gevşeme yanıtına etkisinin mekanizmalarına odaklanılması önem arz etmektedir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmamızda yüksek yağ diyeti ve düşük doz streptozotosin injeksiyonu ile oluşturulan diabet modelinde aortada β -AR aracılı yanıtlara bir SGLT2 inhibitörü olan dapagliflozin tedavisinin etkileri incelenmiştir. Bu tedavi ile sıçanlarda kan şekeri kontrolü başarıyla sağlanmıştır. Sıçanların torasik aorta halkalarında fenilefrinle uyarılan kasılma yanıtı ile asetilkolin, izoprenalin ve CL 316,243 ile uyarılan gevşeme yanıtları değerlendirilmiştir. Sonuç olarak, izoprenalin ile uyarılan gevşeme yanıtı dışında, diğer agonistlerle elde edilen yanıtlarda gruplar arası herhangi bir farklılık izlenmemiştir. Buna karşın, izoprenalin ile uyarılan β_2 -AR aracılı gevşeme cevabı diabetik damarlarda azalmıştır. Öte yandan, bu bozulma tedavi sonrasında düzelmemiştir.

SGLT2 inhibitörlerin diabetik damarda etkisini araştıran tüm çalışmalarda metabolik yarara endotel aracılı gevşeme yanıtındaki düzelmenin de eşlik ettiği görülmektedir. Ne var ki, bu çalışmalardan hiçbirinde bu grup ilaçların β_2 -AR aracılı gevşeme yanıtına etkisi incelenmemiştir. Çalışmamızda, kan şekeri regülasyonuna karşın gevşeme yanıtının düzelmemesini açıklamak mümkün olmamıştır. Öte yandan, bu bulgunun alt yolaklar üzerinden fonksiyonel ve moleküler düzeyde araştırılması literatüre katkı sağlayacaktır. Bu anlamda, bu grubun üyeleriyle ilgili yapılacak kapsamlı çalışmalara ihtiyaç bulunmaktadır. Bu çalışmalarda, hem prelinik hem de klinik çalışmalarda grubun etkin ve parlak üyesi olarak gösterilen empagliflozini kullanmak yarar sağlayacaktır.

ÖZET

Yüksek Yağ Diyeti ve Düşük Doz Streptozotosin Uygulanan Diabetik Sıçan Aortasında Beta Adrenoseptör Aracılı Yanıtlara Dapagliflozinin Etkileri

Günümüzde diabet, sıklığı ve yarattığı sorunlar nedeniyle tüm dünyada önemi gittikçe artan bir sağlık sorunu olarak karşımıza çıkmaktadır. Diabet, ayrıca, birçok kardiyovasküler hastalık çeşidi için bağımsız bir risk faktörüdür. Diabetik hastalarda kardiyovasküler hastalık gelişiminde, endotel disfonksiyonu en önemli nedenlerden biri olarak düşünülmektedir.

SGLT2 inhibitörleri böbreklerde sodyum glukoz transportını inhibe ederek üriner glukoz atılımını artıran ve böylece hiperglisemiye düzeltten yeni bir oral antidiabetik sınıfıdır. Yeni kanıtlarla SGLT2 inhibitörlerinin sadece kan glukozunu kontrol etmekle kalmayıp kan basıncını da düşürmeye yardımcı olduğu gösterilmiştir. SGLT2 inhibitörlerinin kan basıncını düşürmede gösterdiği etkinin birkaç mekanizma ile ilgili olduğu düşünülmektedir. Fakat SGLT2 inhibitörlerinin diabetik damarda β -AR aracılı yanıtı ne şekilde değiştirdiğini inceleyen bir çalışma bulunmamaktadır. Bu noktadan hareketle, çalışmamızda SGLT2 inhibitörü olan dapagliflozinin yüksek yağ diyeti ve düşük doz STZ ile indüklenen diabet modelinde torasik aortada β -AR aracılı gevşeme yanıtına etkisinin incelenmesi amaçlanmıştır.

Çalışmamızda 6 haftalık Sprague-Dawley sıçan kullanılmıştır. Sıçanlar kontrol, kontrol-dapa, diabetik ve diabetik-dapa olmak üzere dört gruba ayrılmıştır. Diabet yüksek yağ içerikli diyet (%35 yağ g/g) ve düşük doz STZ (25 mg/kg, i.p.) ile indüklenmiştir. Diabet ve kontrol grubundaki tedavi alan sıçanlar 12-15 hafta boyunca dapagliflozin (1 mg/kg/gün, oral) tedavisi almıştır. Torasik aorta halkalarında fenilefrin, asetilkolin, izoprenalin ve CL 316,243 aracılı gevşeme ve kasılma yanıtları araştırılmıştır. Elde edilen değerlerin istatistiksel analizi GraphPad Prism ile yapılmış, değerler ortalama $\pm$ standart sapma ile ifade edilmiştir. Grupların karşılaştırması One-way ANOVA ve Bonferroni post-hoc test ile yapılmış ve $P<0,05$ istatistiksel anlamlılık olarak kabul edilmiştir.

Çalışmamızın sonucunda, dapagliflozin tedavisinin diabette artan kan şekerini etkin olarak düşürmüştür. Öte yandan, ilaç diabette bozulan β_2 -AR aracılı gevşeme yanıtını düzeltmemiştir. Torasik aortada değerlendirilen fenilefrin, asetilkolin ve CL 316,243 yanıtları bakımından ise gruplar arası bir farklılık bulunmamıştır. Bu bulgular ışığında, SGLT2 inhibitörlerinin diabetik aortada β -AR aracılı yanıtı etkisini anlayabilmek için foksionel ve moleküler düzeyde kapsamlı çalışmalara ihtiyaç bulunmaktadır.

Anahtar kelimeler: β -AR, dapagliflozin, torasik aorta, SGLT2 inhibitörleri, diabet.

SUMMARY

The Effects of Dapagliflozin on Beta Adrenoceptor Mediated Responses in The Aorta of Diabetic Rats Using a High Fat Diet and Low Dose Streptozotocin

Diabetes is a major health problem worldwide because of its high prevalence and complications. Diabetes is also an independent risk factor for several cardiovascular diseases. Endothelial dysfunction has been thought as one of the most important causes in the development of cardiovascular diseases in the diabetic patients.

SGLT2 inhibitors are a new class of oral antidiabetic drugs that improves hyperglycemia by increasing urine glucose excretion due to the inhibition of renal glucose-sodium cotransport. In addition to their antihyperglycemic effect, this group has been also demonstrated to decrease the blood pressure. This effect has been related to some mechanisms. On the other hand, the effect of SGLT2 inhibitors on the β -AR mediated effect in the diabetic aorta has not been studied yet. From this point of view, we aimed to investigate the possible effects of dapagliflozin, the first member of SGLT2 inhibitors, on the thoracic aorta in a diabetic model induced by high fat feeding and low dose STZ injection.

In our study, 6-week old Sprague Dawley rats have been used. The rats were divided to four groups as control, diabetic, diabetic-dapa and control-dapa. Diabetes was induced by high fat feeding (%35 fat g/g) and low dose STZ injection (25mg/kg). The rats in the treatment groups were treated with dapagliflozin (1mg/kg/day, oral) for 12-15 weeks. Phenylephrine, acetylcholine, isoprenaline and CL 316,243 mediated vascular responses were studied in the thoracic aorta. The results were analysed with GraphPad Prism. The values were presented as mean $\pm$ standard deviation. The statistical analysis was made by using One-way ANOVA and the group comparisons were made with Bonferroni post-hoc test. The value of $P < 0,05$ was considered significant.

In our study, dapagliflozin effectively reduced the blood glucose. On the other hand, it did not improve β_2 -AR mediated relaxation response which is impaired in diabetic groups. There was no significant difference between the groups regarding the effects mediated by phenylephrine, acetylcholine or CL 316,243. In the light of these findings, detailed functional and molecular studies are needed to clarify the effect of SGLT2 inhibitors in the diabetic aorta.

Keywords: β -AR, dapagliflozin, thoracic aorta, SGLT2 inhibitors, diabetes

KAYNAKLAR

- ACADEMY OF NUTRITION AND DIETETICS (2016). Position of the academy of nutrition and dietetics: interventions for the treatment of overweight and obesity in adults. *J Acad Nutr Diet*, **116**:129-147.
- ADA (2015). Standards of medical care in diabetes. *Diabetes Care*, **38** : 1-94.
- ADA (2018a). Classification and diagnosis of diabetes. *Diabetes Care*, **41**: 13-27.
- ADA (2018b). Glycemic targets: Standards of Medical Care in Diabetes. *Diabetes Care*, **41**: 55–64
- ADA (2018c). Lifestyle management: standards of medical care in diabetes-2018. *Diabetes Care*, **41**: 38-50.
- ADA (2018d). Obesity management for the treatment of type 2 diabetes: standards of medical care in diabetes-2018. *Diabetes Care*, **41**: 65-72.
- ADA (2018e). Pharmacologic approaches to glycemic treatment: standards of medical care in diabetes-2018. *Diabetes Care*, **41**: 73–85.
- ADLER AI, STRATTON IM, NEIL HA (2000). Association of systolic blood pressure with macrovascular and microvascular complications of type 2 diabetes (UKPDS 36): prospective observational study. *BMJ*, **321**: 412-419.
- ARCH JR, KAUMANN AJ (1993). Beta 3 and atypical beta-adrenoceptors. *Med Res Rev*. **13**: 663-729.
- AUDIGANE L, KERFANT BG, EL HARCHI A (2009). Rabbit, a relevant model for the study of cardiac beta 3-adrenoceptors. *Exp Physiol* **94**: 400-411.
- BECKMAN JA, CREAGER MA, LIBBY P (2002). Diabetes and atherosclerosis: epidemiology, pathophysiology, and management. *JAMA*, **287**: 2570–2581.
- BERNESIS KK, KRAUSS RM (2002). Metabolic origins and clinical significance of LDL heterogeneity. *J Lipid Res*, **43**: 1363-1379.
- BLASCHEK W (2017). Natural Products as Lead Compounds for Sodium Glucose Cotransporter (SGLT) Inhibitors. *Planta Med*. **83**: 985-993.
- BUSE JB, DEFRONZO RA, ROSENSTOCK J (2016). The Primary Glucose-Lowering Effect of Metformin Resides in the Gut, Not the Circulation: Results From Short-term Pharmacokinetic and 12-Week Dose-Ranging Studies. *Diabetes Care*, **39**: 198-205.

- CANNAVO A, KOCH WJ (2017). Targeting β_3 -Adrenergic Receptors in the Heart: Selective Agonism and β -Blockade. *J Cardiovasc Pharmacol*, **69**: 71-78.
- CHIN KL, OFORI-ASENSO R, HOPPER I, VON LUEDER TG, REID CM, ZOUNGAS S, WANG BH, LIEW D (2019). Potential mechanisms underlying the cardiovascular benefits of sodium glucose cotransporter 2 inhibitors: a systematic review of data from preclinical studies. *Cardiovasc Res*, **115(2)**: 266-276.
- CHUNG SS, HO EC, LAM KS, CHUNG SK (2003). Contribution of polyol pathway to diabetes-induced oxidative stress. *J Am Soc Nephrol*, **14**: 233-236.
- COLLINS R, ARMITAGE J, PARISH S (2003). Heart Protection Study Collaborative Group. MRC/BHF Heart Protection Study of cholesterol lowering with simvastatin in 5963 people with diabetes: a randomised placebo-controlled trial. *Lancet*, **361**: 2005-2016.
- DAILEY G, ROSENSTOCK J, MOSES RG (2004). Insulin glulisine provides improved glycemic control in patients with type 2 diabetes. *Diabetes Care*, **27**: 2363-2368.
- DCCT GROUP (The Diabetes Control and Complications Research Group) (1995). Effect of intensive therapy on the development and progression of diabetic nephropathy in the Diabetes Control and Complications Trial. *Kidney Int*, **47**: 1703-1720.
- DE JONG M, VAN DER WERP HB, VAN DER GRAAF Y, VISSEREN FLJ, WESTERINK J (2017). Pioglitazone and the secondary prevention of cardiovascular disease. A meta-analysis of randomized-controlled trials. *Cardiovasc Diabetol*, **16**: 134.
- DEISSLER HL, LANG GE (2016). The Protein Kinase C Inhibitor: Ruboxistaurin. *Dev Ophthalmol*, **55**: 295-301.
- DESSY C, SALIEZ J, GHISDAL P (2005). Endothelial β_3 -adrenoreceptors mediate nitric oxide-dependent vasorelaxation of coronary microvessels in response to the third-generation β -blocker nebivolol. *Circulation*, **112**: 1198-1205.
- DHILLON S (2019). Dapagliflozin: A Review in Type 2 Diabetes. *Drugs*, **79**: 1135-1146.
- DIABETES CANADA CLINICAL PRACTICE GUIDELINES (2018). Pharmacologic Glycemic Management of Type 2 Diabetes in Adults. **s:88**
- DIABETES CARE (1997). Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. Report of the Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care*, **20**: 1183-1197.
- DIABETES CARE (2003). Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. Follow-up report on the diagnosis of diabetes mellitus. *Diabetes Care*, **26**: 3160-3167.

- DIABETES CARE (2009). The International Expert Committee. International Expert Committee Report on the role of the A1C assay in the diagnosis of diabetes. *Diabetes Care*, **32**: 1327-1334.
- DU XL, EDELSTEIN D, DIMMELER S, JU Q, SUI C, BROWNLEE M (2001). Hyperglycemia inhibits endothelial nitric oxide synthase activity by posttranslational modification at the Akt site. *J Clin Invest*, **108**: 1341-1348.
- ELLIS S, SPEROFF T, DITTUS R (2004). Diabetes patient education: a meta-analysis and meta-regression. *Patient Educ Couns*, **52**: 97- 105.
- EMORINE LJ, MARULLO S, BRIEND-SUTREN MM (1989). Molecular characterization of the human beta 3-adrenergic receptor. *Science*, **245**: 1118–1121.
- EVANS WJ (2019). Diagnostic criteria for the diagnosis of type 2 diabetes: Discordance of multiple measures. *Clin Endocrinol (Oxf)*, **91**: 716-717.
- FEDERICI M, MENGhini R, MAURIELLO A, HRIBAL ML, FERRELLI F, LAURO D, SBRACCIA P, SPAGNOLI LG, SESTI G, LAURO R (2002). Insulin-dependent activation of endothelial nitric oxide synthase is impaired by O-linked glycosylation modification of signaling proteins in human coronary endothelial cells. *Circulation*, **106**: 466-472.
- FIORETTO P, GIACCARI A, SESTI G (2015). Efficacy and safety of dapagliflozin, a sodium glucose cotransporter 2 (SGLT2) inhibitor, in diabetes mellitus. *Cardiovasc Diabetol*, **14**: 142.
- FLACCO N, SEGURA V, PEREZ-ASO M (2013). Different β -adrenoceptor subtypes coupling to cAMP or NO/cGMP pathways: implications in the relaxant response of rat conductance and resistance vessels. *Br J Pharmacol*, **169**: 413-425.
- FURTADO RHM, BONACA MP, RAZ I, ZELNIKER TA, MOSENZON O, CAHN A, KUDER J, MURPHY SA, BHATT DL, LEITER LA, MCGUIRE DK, WILDING JPH, RUFF CT, NICOLAU JC, GAUSE-NILSSON IAM, FREDRIKSSON M, LANGKILDE AM, SABATINE MS, WIVIOTT SD (2019). Dapagliflozin and Cardiovascular Outcomes in Patients With Type 2 Diabetes Mellitus and Previous Myocardial Infarction. *Circulation*, **139**(22):2516-2527.
- GAEDE P, VEDEL P, LARSEN N (2003). Multifactorial intervention and cardiovascular disease in patients with type 2 diabetes. *N Engl J Med*, **348**: 383-393.
- GANBAATAR B, FUKUDA D, SHINOHARA M, YAGI S, KUSUNOSE K, HIROTSUGU YAMADA H, TAKESHI SOEKI T, KEN-ICHI HIRATA KI, SATA M (2020). Empagliflozin ameliorates endothelial dysfunction and suppresses atherogenesis in diabetic apolipoprotein E-deficient mice. *Eur J Pharmacol*, **15**: 875.

- GASPARI T, SPIZZO I, LIU HB, HU Y, SIMPSON RW, WIDDOP RE, DEAR AE(2018). Dapagliflozin attenuates human vascular endothelial cell activation and induces vasorelaxation: A potential mechanism for inhibition of atherogenesis. *Diabetes & Vascular Disease Research*, **15**: 64–73.
- GARBER AJ, ABRAHAMSON MJ, BARZILAY JI (2018). Consensus statement by the American Association of Clinical Endocrinologists and American College of Endocrinology on the comprehensive type 2 diabetes management algorithm–2018 executive summary. *Endocr Pract*, **24**: 91-120.
- GAUTHIER C, TAVERNIER G, CHARPENTIER F, LANGIN D, LE MAREC H (1996). Functional beta3-adrenoceptor in the human heart. *J Clin Invest*, **98**: 556-562.
- GAUTHIER C, ROZEC B, MANOURY B (2011). Beta-3 adrenoceptors as new therapeutic targets for cardiovascular pathologies. *Curr Heart Fail Rep*. **8**: 184-192.
- GERALDES P, KING GL(2010). Activation of Protein Kinase C Isoforms and Its Impact on Diabetic Complications. *Circulation Research*. **106**:1319–1331.
- GERICH JE (2010). Role of the kidney in normal glucose homeostasis and in the hyperglycemia of diabetes mellitus: therapeutic implications. *Diabet Med*, **27**: 136-142.
- HEERSPINK HJL, KOSIBOROD M, INZUCCHI SE(2018). Renoprotective effects of sodium-glucose cotransporter-2 inhibitors. *Kidney Int*. **94**: 26-39.
- HORVATH K, JEITLER K, BERGHOLD A (2007). A long-acting insulin analogue versus NPH insulin (human isophane insulin) for type 2 diabetes mellitus (Review). *Cochrane Database Syst Rev*, CD005613.
- IDRIS I, DONNELLY R (2009). Sodium-glucose co-transporter-2 inhibitors: an emerging new class of oral antidiabetic drug. *Diabetes Obes Metab*, **11**: 79-88.
- IGAWA Y, AIZAWA N, HOMMA Y(2010). Beta3-adrenoceptor agonists: possible role in the treatment of overactive bladder. *Korean J Urol*, **51**: 811-818.
- KAPPAGODA T, JAYAKODY L, RAJOTTE R, THOMSON AB, SENARATNE MP(1989). Endothelium-dependent relaxation to acetylcholine in the aorta of streptozotocin induced diabetic-rat and the BB-diabetic rat. *Clin Invest Med*, **12**: 187-193.
- KARASU C (2000). Time course of changes in endothelium-dependent and -independent relaxation of chronically diabetic aorta: role of reactive oxygen species. *Eur J Pharmacol*, **31**: 163-73.
- KASICHAYANULA S, LIU X, PE BENITO M (2013). The influence of kidney function on dapagliflozin exposure, metabolism and pharmacodynamics in healthy subjects and in patients with type 2 diabetes mellitus. *Br J Clin Pharmacol*, **76**: 432-444.

- KAZUYAMA E, SAITO M, KINOSHITA Y, SATOH I, DIMITRIADIS F, SATOH K (2009). Endothelial dysfunction in the early- and late-stage type-2 diabetic Goto-Kakizaki rat aorta. *Mol Cell Biochem*, **332**: 95-102.
- KERNER W, BRÜCKEL J (2014). GERMAN DIABETES ASSOCIATION. Definition, classification and diagnosis of diabetes mellitus, **122**: 384-386.
- KHAWANDANAH J (2019). Double or hybrid diabetes: A systematic review on disease prevalence, characteristics and risk factors. *Nutr Diabetes*, **9**: 33.
- KLEIN R, KLEIN BEK, MOSS SE (1984). The Wisconsin Epidemiologic Study of Diabetic Retinopathy. II. Prevalence and risk of diabetic retinopathy when age at diagnosis is less than 30 years. *Arch Ophthalmol*, **102**: 520-526.
- KOYA D, KING GL (1998) Protein kinase C activation and the development of diabetic complications. *Diabetes*, **47**: 859-866.
- LEE DM, BATTSON ML, JARRELL DK, HOU S, ECTON KE, WEIR TL AND GENTILE CL (2018). SGLT2 inhibition via dapagliflozin improves generalized vascular dysfunction and alters the gut microbiota in type 2 diabetic mice. *Cardiovascular Diabetology*, **17**: 62.
- LI W, CHEN S, MEI Z, ZHAO F, XIANG Y (2019). Polymorphisms in Sorbitol-Aldose Reductase (Polyol) Pathway Genes and Their Influence on Risk of Diabetic Retinopathy Among Han Chinese. *Med Sci Monit*, **25**: 7073-7078.
- LIBBY P, RIDKER PM, MASERI A (2002). Inflammation and atherosclerosis. *Circulation*, **105**: 1135.
- LIBBY P, RIDKER PM, HANSSON GK (2011). Progress and challenges in translating the biology of atherosclerosis. *Nature*, **473**: 317-325.
- LIPSCOMBE L, BOOTH G, BUTALIA S, DASGUPTA K, EURICH DT, GOLDENBERG R, KHAN N, MACCALLUM L, SHAH BR, SIMPSON S (2018). Diabetes Canada Clinical Practice Guidelines Expert Committee. Clinical Practice Guidelines: Pharmacologic glycemic management of type 2 diabetes in adults. *Can J Diabetes*, **42**: 88-103.
- LITTLE RR, ROHLFING CL, SACKS DB (2011). Status of HbA1c measurement and goals for improvement: from chaos to order for improving diabetes care. *Clin Chem*, **57**: 204-214.
- MAKINO A, DAI A, HAN Y, YOUSSEF KD, WANG W, DONTAMSETTY R, SCOTT BT, WANG H, DILLMANN WH (2015). O-GlcNAcase overexpression reverses coronary endothelial cell dysfunction in type 1 diabetic mice. *Am J Physiol Cell Physiol*, **309**: 593-599.

- MASUTANI S, CHENG HJ, MORIMOTO A (2013). β 3-Adrenergic receptor antagonist improves exercise performance in pacing-induced heart failure. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, **305**: 923-930.
- MARSO SP, DANIELS GH, BROWN-FRANDSEN K (2016). LEADER Steering Committee; LEADER Trial Investigators. Liraglutide and cardiovascular outcomes in type 2 diabetes. *N Engl J Med*, **375**:311–322.
- MCNEELY MJ, BOYKO EJ (2004). Type 2 diabetes prevalence in Asian Americans: results of a national health survey. *Diabetes Care*, **27**: 66–69.
- MIN SH, YOON JH, HAHN S, CHO YM (2018). Efficacy and safety of combination therapy with an α -glucosidase inhibitor and a dipeptidyl peptidase-4 inhibitor in patients with type 2 diabetes mellitus: A systematic review with meta-analysis. *J Diabetes Investig*, **9**: 893-902
- MOENS AL, YANG R, WATTS VL, BAROUCH LA (2010). Beta 3-adrenoreceptor regulation of nitric oxide in the cardiovascular system. *J Mol Cell Cardiol*. **48**: 1088-1095.
- MUDERRISOGLU AE, ERDOGAN BR, YESILYURT ZE, UYAR BOZTAS C, KARAOMERLIOGLU I, ALTAN VM, ARIOGLU INAN E (2020). Effects of sitagliptin on β -adrenoceptor mediated relaxation in streptozotocin-diabetic rat aorta. *Turk J Med Sci*, 2007-234.
- NEAL B, PERKOVIC V, MAHAFFEY KW, DE ZEEUW D, FULCHER G, ERONDUN, SHAW W, LAW G, DESAI M, MATTHEWS DR, GROUP CPC (2017). Canagliflozin and Cardiovascular and Renal Events in Type 2 Diabetes. *N Engl J Med*, **377**: 644-657.
- NISHIKAWA T, EDELSTEIN D, DU XL, YAMAGISHI S, MATSUMURA T, KANEDA Y, YOREK MA, BEEBE D, OATES PJ, HAMMES HP, GIARDINO I, BROWNLIE M (2000). Normalizing mitochondrial superoxide production blocks three pathways of hyperglycaemic damage. *Nature*, **404**: 787-790.
- NORRIS SL, ENGELGAU MM, NARAYAN KMV (2001). Effectiveness of self management training in type 2 diabetes: a systematic review of randomized controlled trials. *Diabetes Care*, **24**: 561-567.
- OELZE M, KROLLER-SCHON S, WELSCHOF P, JANSEN T, HAUSDING M, MIKHED Y, STAMM P, MADER M, ZINBIUS E, AGDAULETOVA S, GOTTSCHLICH A, STEVEN S, SCHULZ E, BOTTARI SP, MAYOUX E, MUNZEL T, DAIBER A (2014). The sodium-glucose co-transporter 2 inhibitor empagliflozin improves diabetes-induced vascular dysfunction in the streptozotocin diabetes rat model by interfering with oxidative stress and glucotoxicity. *PLoS One eCollection*, **9**: 112394.

- PAIK J, BLAIR HA (2019). Dapagliflozin: A Review in Type 1 Diabetes. *Drugs*, **79**: 1877-1884
- PALMER SC MAVRIDIS D, NICOLUCCI A, JOHNSON DW, TONELLI M, CRAIG JC, MAGGO J, GRAY V, DE BERARDIS G, RUOSPO M, NATALE P, SAGLIMBENE V, BADVE SV, CHO Y, NADEAU-FREDETTE AC, BURKE M, FARUQUE L, LLOYD A, AHMAD N, LIU Y, TIV S, WIEBE N, STRIPPOLI GFM (2016). Comparison of clinical outcomes and adverse events associated with glucose-lowering drugs in patients with type 2 diabetes: a meta-analysis. *JAMA*, **316**: 313–324.
- PARK SH, FAROOQ M A, GAERTNER S, BRUCKERT C, QURESHI A W, LEE H H, L BENRAHLA D, POLLET B, STEPHAN D, OHLMANN P, LESSINGER J M, MAYOUEX, AUGER C, MOREL O AND SCHINI-KERTH VB (2020). Empagliflozin improved systolic blood pressure, endothelial dysfunction and heart remodeling in the metabolic syndrome ZSF1 rat. *Cardiovasc Diabetol*, **19**: 19.
- PORT JD, BRISTOW MR (2001). Altered beta-adrenergic receptor gene regulation and signaling in chronic heart failure. *J Mol Cell Cardiol*, **33**: 887–905.
- QUEEN LR, FERRO A (2006). Beta-adrenergic receptors and nitric oxide generation in the cardiovascular system. *Cell Mol Life Sci*. **63**: 1070-1083.
- RADHOLM K, FIGTREE G, PERKOVIC V, SOLOMON SD, MAHAFFEY KW, DE ZEEUW D, FULCHER G, BARRET TD, HAW W, DESAI M, MATHEWS DR, NEAL B (2018). Canagliflozin and Heart Failure in Type 2 Diabetes Mellitus. *Circulation*, **138**: 458-468
- ROSS SA, ZINMAN B, CAMPOS RV(2001). A comparative study of insulin lispro and human regular insulin in patients with type 2 diabetes mellitus and secondary failure of oral hypoglycemic agents. *Clin Invest Med*, **24**: 292-298.
- ROSENFALCK AM, THORSBY P, KJEMS L, BIRKELAND K, DEJGAARD A, HANSEN K F, MADSBAD S (2000). Improved postprandial glycaemic control with insulin aspart in type 2 diabetic patients treated with insulin. *Acta Diabetol*, **37**: 41-46.
- ROSSETTI L, SMITH D, SHULMAN GI (1987). Correction of hyperglycemia with phlorizin normalizes tissue sensitivity to insulin in diabetic rats. *J Clin Invest*, **79**: 1510-1515.
- RUEF J, LIU SQ, BODE C, TOCCHI M, SRIVASTAVA S, RUNGE MS, BHATNAGAR A (2000). Involvement of aldose reductase in vascular smooth muscle cell growth and lesion formation after arterial injury. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, **20**: 1745-1752.
- SALIM HM, FUKUDA D, YAGI S, SOEKI T, SHIMABUKURO M, SATA M (2016). Glycemic control with ipragliflozin, a novel selective SGLT2 inhibitor, ameliorated endothelial dysfunction in streptozotocin-induced diabetic mouse. *Front Cardiovasc Med*, **3**: 43.

- SATMAN I, OMER B, TUTUNCU Y, KALACA S, GEDIK S, DINCCAG N, KARSIDAG K, GENC S, TELCI A, CANBAZ B, TURKER F, YILMAZ T, CAKIR B, TUOMILEHTO J (2013). TURDEP-II Study Group. Twelve-year trends in the prevalence and risk factors of diabetes and prediabetes in Turkish adults. *Eur J Epidemiol*, **28**: 169-180.
- SAYOUR AA, KORKMAZ-ICOZ S, LOGANATHAN S, RUPPERT M, SAYOUR VN, OLÁH A, BENKE K, BRUNE M, BENKO R, HORVÁTH EM, KARCK M, MERKELY B, RADOVITS T, SZABO G (2019). Acute canagliflozin treatment protects against in vivo myocardial ischemia-reperfusion injury in non-diabetic male rats and enhances endothelium-dependent vasorelaxation. *J Transl Med*, **17**: 127.
- SCHEEN AJ (2019). An update on the safety of SGLT2 inhibitors. *Expert Opin Drug Saf*. **18**: 295-311.
- STEINBERG SF (2008). Structural basis of protein kinase C isoform function. *Physiol Rev*. **88**: 1341-1378.
- STEVEN S, OELZE M, HANF A, KRÖLLER-SCHÖN S, KASHANI F, ROOHANI S, WELSCHOF P, KOPP M, GÖDTEL-ARMBRUST U, XIA N, LI H, SCHULZ E, LACKNER KJ, WOJNOWSKI L, BOTTARI SP, WENZEL P, MAYOUX E, MÜNZEL T, DAIBER A (2017). The SGLT2 inhibitor empagliflozin improves the primary diabetic complications in ZDF rats. *Redox Biol*, **13**: 370-385.
- STUMVOLL M, MEYER C, MITRAKOU A (1997). Renal glucose production and utilization: new aspects in humans. *Diabetologia*. **40**: 749-757.
- TEMED Diabetes Mellitus ve Komplikasyonlarının Tanı, Tedavi ve İzlem Kılavuzu-2018
- THE ADVANCE COLLABORATIVE GROUP (2008). Intensive blood glucose control and vascular outcomes in patients with type 2 diabetes. *New Engl J Med* **358**: 2560-2572.
- THE EMERGING RISK FACTORS COLLABORATION (2010). Diabetes mellitus, fasting blood glucose concentration, and risk of vascular disease: a collaborative meta-analysis of 102 prospective studies. *Lancet*, **375**: 2215-2222.
- THE ONTARGET INVESTIGATORS (2008). Telmisartan, ramipril, or both in patients at high risk for vascular events. *N Engl J Med*, **15**: 1547-1559.
- THOMSON SC, VALLON V (2019). Renal Effects of Sodium-Glucose Co-Transporter Inhibitors. *Am J Cardiol*. **124**: 28-35.
- TRIPLITT CL (2012). Understanding the kidneys' role in blood glucose regulation. *Am J Manag Care*. **18**: 11-16.
- TROCHU JN, LEBLAIS V, RAUTUREAU Y (1999). Beta 3-adrenoceptor stimulation induces vasorelaxation mediated essentially by endothelium-derived nitric oxide in rat thoracic aorta. *Br J Pharmacol*. **128**: 69-76.

- UKPDS GROUP (1998). UK Prospective Diabetes Study Group. Intensive blood-glucose control with sulphonylureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patients with type 2 diabetes (UKPDS 33). *Lancet*, **352**: 837-853.
- VERMA S, MCMURRAY JJV (2018). SGLT2 inhibitors and mechanisms of cardiovascular benefit: a state-of-the-art review. *Diabetologia*. **61**: 2108-2117.
- WANG B, SUN Y, SANG Y, LIU X, LIANG J (2018). Comparison of dipeptidyl peptidase-4 inhibitors and pioglitazone combination therapy versus pioglitazone monotherapy in type 2 diabetes: A system review and meta-analysis. *Medicine Baltimore*, **97**: 12633.
- WHO CONSULTATION GROUP (1999). Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Report of a WHO consultation. Part 1: Diagnosis and classification of diabetes mellitus. WHO, Geneva, WHO/NCD/NCS/99.2.
- WIVIOTT SD, RAZ I, BONACA MP, MOSENZON O, KATO ET, CAHN A, SILVERMAN MG, ZELNIKER TA, KUDER JF, MURPHY SA, BHATT DL, LEITER LA, MCGUIRE DK, WILDING JPH, RUFF CT, GAUSE-NILSSON IAM, FREDRIKSSON M, JOHANSSON PA, LANGKILDE AM, SABATINE MS, INVESTIGATORS D-T (2019). Dapagliflozin and Cardiovascular Outcomes in Type 2 Diabetes. *N Engl J Med*, **380**: 347-357.
- WRIGHT EM. [Renal Na\(+\)-glucose cotransporters](#). *Am J Physiol Renal Physiol*, 2001; **280**: 10-18.
- WOERLE HHJ, NEUMANN C, ZSCHAU S (2007). Impact of fasting and postprandial glycemia on overall glycemic control in type 2 diabetes. Importance of postprandial glycemia to achieve target HbA1c levels. *Diab Res Clin Pract*, **77**: 280-285.
- YANG XY, QIANG GF, ZHANG L, ZHU XM, WANG SB, SUN L, YANG HG, DU GH (2011). Salvianolic acid A protects against vascular endothelial dysfunction in high-fat diet fed and streptozotocin-induced diabetic rats. *Asian Nat Prod Res*, **13**: 884-894.
- YAKUBU MA, SOFOLA OA, IGBO I, OYEKAN AO (2012). Impaired endothelium-dependent and -independent relaxation of aorta from diabetic rats. *Bratisl Lek Listy*, **113**: 59-63
- YOON KH, LEE JH, KIM JW, CHO JH, CHOI YH, KO SH (2006). Epidemic obesity and type 2 diabetes in Asia. *Lancet*, **368**: 1681–1688.
- ZEYDANLI EN, BILGINOGLU A, TANRIVERDI E, GURDAL H, TURAN B (2010). Selenium restores defective beta-adrenergic receptor response of thoracic aorta in diabetic rats. *Mol Cell Biochem*, **338**: 191-201.
- ZINMAN B, WANNER C, LACHIN JM FITCHETT D, BLUHMKI E, HANTEL S, MATTHEUS M, DEVINS T, JOHANSEN OE, WOERLE HJ, BROEDL UC, INZUCCHI SE, INVESTIGATORS E-RO (2015). EMPA-REG OUTCOME

Investigators. Empagliflozin, cardiovascular outcomes, and mortality in type 2 diabetes. *N Engl J Med*, **373**: 2117–2128.

