



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
MARMARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**SIÇANLARDA STREPTOZOTOSİN İLE OLUŞTURULAN
DİABETES MELLİTUS MODELİNDE MİKORNA'LARIN
KARDİYOMİYOPATİDE ETKİLERİ**

ASLIHAN ŞEYDA ÇETİNSOY

YÜKSEK LİSANS TEZİ

FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN

Prof. Dr. HATİCE KÜBRA ELÇİOĞLU

II. DANIŞMAN

Dr. Öğr. Üyesi AYFER BECEREN

2019-İSTANBUL



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
MARMARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**SIÇANLARDA STREPTOZOTOSİN İLE OLUŞTURULAN
DİABETES MELLİTUS MODELİNDE MİKORNA'LARIN
KARDİYOMİYOPATİDE ETKİLERİ**

ASLIHAN ŞEYDA ÇETİNSOY

YÜKSEK LİSANS TEZİ

FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN

Prof. Dr. HATİCE KÜBRA ELÇİOĞLU

II. DANIŞMAN

Dr. Öğr. Üyesi AYFER BECEREN

2019-İSTANBUL

TEZ ONAYI

Kurum : Marmara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Programın seviyesi : Yüksek Lisans
Anabilim Dalı : Farmakoloji Anabilim Dalı
Tez Sahibi : Aslıhan Şeyda ÇETİNSOY
Tez Başlığı : Sıçanlarda Streptozotosin ile oluşturulan Diabetes Mellitus Modelinde
MikroRNA' ların Kardiyomiyopatide Etkileri
Sınav Yeri : Marmara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakoloji Abd
Sınav Tarihi : 03.05.2019

Tez tarafımızdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

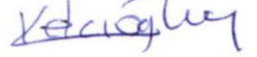
Danışman (Unvan, Adı, Soyadı)

Prof.Dr. Hatice Kübra ELÇİÖĞLU

Kurumu

Marmara Üniversitesi

İmza



Sınav Jüri Üyeleri (Unvan, Adı, Soyadı)

Prof. Dr. Levent KABASAKAL

Marmara Üniversitesi



Prof. Dr. Zeliha YAZICI

Biruni Üniversitesi



Yukarıdaki jüri kararı Enstitü Yönetim Kurulu'nun ..1.5./Mayıs/2019.. tarih ve 39. sayılı kararı ile onaylanmıştır.



Prof. Dr. Feyza ARICIOĞLU
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

-Sınav evrakları 3 iş günü içinde ıslak imzalı tek kopya halinde Enstitüye teslim edilmelidir.

-Bu form bilgisayar ortamında doldurulacaktır.

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmayla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığı beyan ederim.



Aslıhan Şeyda ÇETİNSOY

TEŞEKKÜR

Öncelikle bu Yüksek Lisans Tez Çalışmasının yürütülmesinde bilgisi ve sevgisiyle daima yanımda olan, kendisine ne zaman danışsam bana kıymetli zamanını ayırıp sabırla ve büyük bir ilgiyle bana faydalı olabilmek için elinden gelenin fazlasını sunan her sorun yaşadığımda yanına çekinmeden gidebildiğim, güler yüzünü ve samimiyetini benden esirgemeyen tez danışmanım Prof. Dr. Hatice Kübra Elçioğlu'na ve Dr. Öğr. Üyesi Ayfer Beceren'e, her konuda yardım ve destek sağlayan Farmakoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Levent Kabasakal'a teşekkürlerimi bir borç biliyor ve şükranlarımı sunuyorum.

Bana her konuda yol gösteren ve değerli bilgilerini benden esirgemeyen kıymetli hocam Prof. Dr. Zeliha Yazıcı'ya ve çalışmam boyunca her zaman yanımda olan Dr. Öğr. Üyesi Burak Önal'a teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmamda genetik araştırma kısmında katkıları nedeniyle Dr. Öğr. Üyesi Mukaddes Pala'ya; histopatolojik değerlendirme konusundaki katkıları nedeniyle Dr. Öğr. Üyesi Yalçın Polat ve Dr. Öğr. Üyesi Sibel Demirci'ye teşekkürü bir borç bilirim.

Hayatım boyunca bana destek olan ve bu günlere gelmemi sağlayan aileme ve dostlarıma her zaman yanımda oldukları ve bana inandıkları için teşekkür ederim. Her konuda bana sevgisiyle yol gösteren, desteğiyle ve bana olan inancıyla beni bugünlere getiren sevgili annem Zeliha Çetinsoy'a, varlığıyla beni mutlu eden kardeşim Bahadır Yasin Çetinsoy'a ve babam Mehmet Çetinsoy'a, her daim yanımda olan, desteklerini hiç esirgemeyen dayım Sedat Kızılarıslan, sevgili dedem Mehmet Kızılarıslan ve sevgili anneannem Ayfer Kızılarıslan'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
BEYAN.....	i
TEŞEKKÜR	ii
İÇİNDEKİLER	iii
I. KISALTMALAR ve SİMGELER LİSTESİ	vi
II. ŞEKİLLER LİSTESİ.....	vii
III. TABLOLAR LİSTESİ	viii
1. ÖZET.....	1
2. SUMMARY	2
3. GİRİŞ VE AMAÇ	3
4. GENEL BİLGİLER.....	5
4.1. Diyabetes Mellitus Tanımı	5
4.2. Epidemiyoloji ve Prevalans.....	7
4.3. Patogenez ve Sınıflandırma.....	7
4.3.1. Tip 1 Diyabet	10
4.3.1.1. Tip 1 diyabet epidemiyolojisi.....	10
4.3.1.2. Tip 1 diyabet teşhisi	11
4.3.1.3. Tip 1 diyabetin patofizyolojisi	13
4.3.1.4. Tip 1 diyabette pankreas patolojisi	13
4.3.1.5. Tip 1 diyabette tedavi yaklaşımları	14
4.3.2. Tip 2 Diyabet	15
4.3.2.1. Tip 2 Diyabet Teşhisi	17
4.3.2.2. Tip 2 diyabetin patofizyolojisi	18
4.3.2.3. Tip 2 diyabette pankreas patolojisi	18
4.3.2.4. Tip 2 diyabette tedavi yaklaşımları	18
4.4. Diyabette Komplikasyonlar.....	19
4.4.1. Akut Komplikasyonlar	20
4.4.1.1. Hipoglisemi	20
4.4.1.2. Laktik asidoz	21
4.4.1.3. Diyabetik ketoasidozis (DKA).....	21
4.4.1.4. Hiperosmolar hiperglisemik nonketotik koma (HHNK)	21

4.4.2. Kronik Komplikasyonlar.....	22
4.4.2.1. Kronik mikrovasküler komplikasyonlar	23
4.4.2.1.1. Diyabetik nefropati.....	23
4.4.2.1.2. Diyabetik nöropati.....	24
4.4.2.1.3. Diyabetik retinopati.....	24
4.4.2.1.4. Oksidatif stres.....	25
4.4.2.2. Kronik makrovasküler komplikasyonlar - diyabette kardiyovasküler komplikasyonlar	26
4.4.3. Kardiyomiyopati	27
4.4.3.1. Diyabetik kardiyomiyopatide teşhis ve prognoz.....	28
4.4.3.2. Diyabetik kardiyomiyopatinin nedenleri.....	29
4.4.3.2.1 Değiştirilebilir risk faktörleri	30
4.4.3.2.2 Değiştirilemeyen risk faktörleri	31
4.4.3.3. Diyabetik kardiyomiyopati mekanizması	32
4.5. miRNA'lar ve İşlevleri.....	34
4.5.1. Diyabetik Kardiyomiyopatide miRNA	38
4.5.2. Kardiyomiyosit Hipertrofisinde miRNA'lar	39
4.5.3. Miyokardiyal Fibroziste miRNA'lar.....	40
4.5.4. Kardiyomiyosit Apoptozunda ve Mitokondriyal Disfonksiyonda miRNA'lar	41
5. GEREÇ ve YÖNTEMLER	43
5.1. Kullanılan Kimyasal Madde ve Çözeltiler	43
5.2. Metod ve Gereçler	43
5.2.1. Deney Hayvanları	43
5.2.2. Deneysel Diyabet Modeli.....	44
5.2.3. miRNA Analizi	44
5.2.3.1. RNA İzolasyonu.....	44
5.2.3.2. Mikroarray Yöntemi.....	45
5.3. Histopatoloji	46
5.4. İstatistiksel Analiz	46
6. BULGULAR.....	47
6.1. Deney Hayvanlarının Ağırlıkları.....	47

6.2. Deney Hayvanlarının Kan-Glikoz Değerleri.....	47
6.3. miRNA	48
6.4. Histopatoloji	49
7. TARTIŞMA ve SONUÇ	52
8. KAYNAKLAR	59
9. EKLER.....	83
EK-1: ETİK KURUL ONAYI	83
EK-2: KONGRE BİLDİRİSİ	84
10. ÖZGEÇMİŞ.....	85



I. KISALTMALAR ve SİMGELER LİSTESİ

IDF	: Uluslararası Diyabet Federasyonu
miRNA	: MikroRNA
STZ	: Streptozotosin
DM	: Diabetes Mellitus
DKM	: Diyabetik Kardiyomiyopati
İP	: İntraperitoneal
DSÖ	: Dünya Sağlık Örgütü
T1DM	: Tip 1 Diyabet
T2DM	: Tip 2 Diyabet
GDM	: Gestasyonel Diabetes Mellitus
MODY	: Gençlerde Görülen Erişkin Tipi Diyabet
LADA	: Yetişkinlerde Gizli Otoimmün Diyabet
CDC	: Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezi
ADA	: Amerikan Diyabet Derneği
DKA	: Diyabetik Ketoasidoz
HHNK	: Hiperosmolar Hiperglisemik Nonketotik Koma
DR	: Diyabetik Retinopati
NO	: Nitrik Oksit
PGI2	: Prostatiklin
EDHF	: Endotel Aracılı Hiperpolarize Edici Faktör
ATP	: Adenozin Trifosfat
ROS	: Reaktif Oksijen Türleri
İGÜ	: İleri Glikozilasyon Son Ürünü

II. ŞEKİLLER LİSTESİ

Sayfa No

Şekil 1. Tip 2 diyabetin altında yatan, DKM’ deki yapısal ve fonksiyonel değişiklerle ilişkili hücresel ve moleküler yollar.....	16
Şekil 2. miRNA Yolağı	36
Şekil 3. miRNA olgunlaşması ve işlevleri.....	37
Şekil 4. Gruplara ait Hematoksilen ve Eosin boyanması sonucu elde edilen preparatlara ait şekiller	50
Şekil 5. Gruplara ait kalp dokularından Masson Trikrom boyanması sonucu elde edilen preperatlara ait şekiller	51

III. TABLOLAR LİSTESİ

	Sayfa No
Tablo 1. Diabetes Mellitusun Etiyolojik Sınıflandırılması	9
Tablo 2. Diyabette Görülen Komplikasyonlar.....	19
Tablo 3. Deneylerde kullanılan Spraque-Dawley Cinsi Sıçanların Ağırlıkları ve Kan-Glikoz değerleri.....	47
Tablo 4. Mikroarray Analizinde En fazla upregüle ve en fazla downregüle olan miRNA'lar.....	48
Tablo 5. Kontrol ve diyabet gruplarının miyosit çaplarının ortalamaları.....	49

Sıçanlarda Streptozotosin İle Oluşturulan Diabetes Mellitus Modelinde MikroRNA'ların Kardiyomiyopatide Etkileri

Öğrencinin Adı : Aslıhan Şeyda Çetinsoy
Danışmanı : Prof. Dr. Hatice Kübra ELÇİOĞLU
Anabilim Dalı : Farmakoloji (ECZ)

1. ÖZET

Amaç: Bu çalışmada sıçanlarda streptozotosin ile oluşturulan diyabet modelinde kardiyovasküler komplikasyonları etkileyebilecek miRNA'ların kalp dokusundaki ekspresyon düzeylerine bakılması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Çalışmamızda, 300-400 gr arasındaki ağırlıkta olan Sprague-Dawley cinsi erkek sıçanlar kullanıldı. Sıçanlar, 2 gruba ayrıldı; birinci gruba uygulama yapılmazken, ikinci gruptaki sıçanlara 60 mg/kg dozda streptozotosin (STZ) intraperitoneal (ip) uygulandı. Kan glikoz değerleri 200 mg/dl'nin üzerinde olanlar diyabetik olarak kabul edildi. 6 haftanın sonunda hayvanların dekapitasyonunu takiben çıkarılan diyabetik olan ve olmayan kalp dokularının bir kısmında miRNA'lar mikroarray yöntemi ile belirlendi. Kalp dokularının kalan kısmı % 10'luk formaldehite alınarak histolojik çalışmalarda kullanıldı.

Bulgular: Diyabetik kalp dokusunda kontrol grubuna nazaran miRNA ekspresyonunda değişiklikler saptandı. miR-200c-3p, miR-129-5p, miR-150-3p, miR-3584-5p, miR-34c-3p, miR-342-3p, miR-466d, miR-466c-3p, miR-15b-5p, miR-196b-3p, miR-466b-3p, miR-31a-5p, miR-208a-5p olmak üzere 13 miRNA ekspresyon düzeyi çalışıldı. Bu miRNA'lardan; ilk 4 tanesinin upregüle, diğer 9 tanesinin de downregüle olduğu bulundu. Histopatolojik bulgularımızın bu verilerle uyumlu olduğu görüldü.

Sonuç: Bugüne kadar yapılan çalışmalarda diyabetik kardiyomiyopati ile miR-200c ve miR-208a'nın ilişkili olabileceği gösterilmiştir. Biz bu çalışmada bu miRNA'ların dışında diyabetik kardiyomiyopatinin tanısında ve tedavisinde etkin olabilecek 11 miRNA daha saptadık.

Anahtar Kelimeler: Diabetes Mellitus, Streptozotosin, Kardiyomiyopati, miRNA'lar

Effects of MicroRNAs on Cardiomyopathy in Streptozotocin-induced Diabetes Mellitus in Rats

Student's Name : Aslıhan Şeyda ÇETİNSOY

Supervisor : Prof. Dr. Hatice Kübra ELÇİOĞLU

Department : Pharmacology

2. SUMMARY

Aim: This study aims to investigate the expression levels of miRNAs in cardiac tissue that may affect cardiovascular complications in streptozotocin-induced diabetes model in rats.

Material and Method: In our study, Sprague-Dawley male rats weighing between 300-400 gr were used. Rats were divided into 2 groups; While the first group was not treated, the rats in the second group received streptozotocin (STZ) intraperitoneal (ip) at a dose of 60 mg / kg. Blood glucose values above 200 mg / dl were considered as diabetic. miRNAs were determined by microarray method some of the diabetic and non-diabetic heart tissues taken after the decapitation of animals at the end of 6 weeks. Remaining heart tissues were used in histological studies by taking 10% formaldehyde.

Result: Changes in miRNA expression were detected in diabetic cardiac tissue compared to the control group. While the first 4 miRNA's (miR-200c-3p, miR-129-5p, miR-150-3p, miR-3584-5p) were upregulated, the other 9 (miR-34c-3p, miR-342-3p, miR-466d, miR-466c-3p, miR-15b-5p, miR-196b-3p, miR-466b-3p, miR-31a-5p, miR-208a-5p) were downregulated. Our histopathological findings were consistent with these data.

Conclusion: Studies to date showed that miR-200c and miR-208a may be related to diabetic cardiomyopathy. In this study, we found 11 miRNAs which may be effective in the diagnosis and treatment of diabetic cardiomyopathy.

Key words: Diabetes Mellitus, Streptozotocin, Cardiomyopathy, miRNAs

3. GİRİŞ VE AMAÇ

Diyabet insülin sentezinde azalma veya insülin direnci nedeniyle hiperglisemi ve glikozürinin yanısıra lipid, karbonhidrat ve protein metabolizmalarında bozukluk ile karakterize olan kronik endokrin bir hastalıktır. Uluslararası Diyabet Federasyonu'na (IDF) göre, 2010'da 285 milyon kişi olan prevalansın 2030'da yaklaşık % 50 oranında artış göstererek 439 milyona yükseleceği tahmin edilmektedir. Yapılan çalışmalarda diyabetik komplikasyonların gelişmesinde rol oynayan en önemli faktörlerden birinin hiperglisemi olduğu bildirilmiştir. Hiperglisemiye bağlı olarak polyol yolağının, diaçilgliserol/protein kinaz C, heksozamin yolaklarının aktivasyonu ve ileri glikozilasyon son ürünlerinin oluşumu sonucu reaktif oksijen türlerinin (ROS) miktarı artmaktadır. Bu bağlamda serbest oksijen radikallerinin oluşumunun artması oksidatif hasarı tetikleyerek; kardiyomiyopati, gastroenteropati, retinopati, nefropati, nöropati ve erektil disfonksiyon gibi önemli diyabetik komplikasyonların gelişmesine neden olmaktadır (Rochette ve ark., 2014; Schaffer ve ark., 2012; Francescato ve ark., 2014)

miRNA'lar endojen, korunmuş, tek zincirli, küçük (yaklaşık 22 nükleotid uzunluğunda), kodlamayan RNA'lardır. miRNA'lar hedefleri olan haberci RNA (mRNA)'lar aracılığıyla gen ekspresyonunu post-trankripsiyonel seviyede düzenlemektedir. miRNA'lar gen ekspresyonunu ya translasyonu inhibe ederek ya da mRNA'nın degrade olmasını sağlayarak gerçekleştirmektedir (Bartel, 2004).

Son yıllarda yapılan çalışmalarda diyabetin etiyolojisinde ve komplikasyonlarında MikroRNA (miRNA)'ların yer aldıkları belirtilmektedir.

MikroRNA (miRNA)'lar kardiyovasküler sistemde yüksek oranda eksprese olmaktadır (Lagos ve ark., 2002). Memeli kardiyovasküler sisteminde miRNA'ların biyolojik rolü 2005 yılından beri bilinmektedir (Ruby ve ark., 2007). Yapılan çalışmalarda miRNA'ların kardiyovasküler hastalıklarda rol oynayabileceği belirtilmiştir (Ji ve ark., 2007).

Diyabette oluşan kardiyomiyopatide yer alan miRNA genlerinin ekspresyon düzeylerinin değiştiği de gösterilmiştir (Bernardo ve ark., 2014).

Diyabette en sık görülen komplikasyonlardan biri olan diyabetik kardiyomiyopatide kalpte metabolik çevrenin değişmesiyle; kardiyomiyositlerde hipertrofi, interstisyel fibrozis ve hücre ölümünün teşvik edilmesinde bu miRNA genleri yer almaktadır. Pek çok moleküler yolağın regülasyonunun değişmesiyle kalpteki kontraktilite bozulmaktadır (Raut ve ark., 2015).

Diyabetik kardiyomiyopatide disregüle olan sinyal yollarından biri mitojen aktive eden protein kinaz (MAPKs)dır. MAPK'lar yüksek oranda korunmuş serin/threonin protein kinaz grubudur ve sıralı aktive edilmiş protein kinazlar olan ERK, JNK ve p38 MAPK'lardan oluşur. Bu üç MAPK'nin aktivitesinin artması, yüksek glukoz ile tedavi edilen kardiyomiyositlerde ve streptozotosin ile indüklenen diyabetik sıçanların miyokardiyumunda gösterilmiştir (Singh ve ark., 2017).

Diyabette oluşan kardiyomiyopatide yer alan çok sayıda miRNA geni tanımlanmıştır. Diyabetik kardiyomiyopatide ekspresyonları değişen çeşitli miRNA'ların diyabetik kalp yetmezliğini teşvik ettiği düşünülmektedir (Raut ve ark., 2015).

Bu çalışmada sıçanlarda streptozotosin ile oluşturulacak diyabet modelinde kardiyovasküler komplikasyonları etkileyebilecek miRNA'ların kalp dokusundaki ve dolaşımdaki ekspresyon düzeylerinin gösterilmesi hedeflenmiştir. Bu amaçla kalp dokusunda bulunan miRNA'ların ekspresyon düzeylerine bakılarak diyabetik kardiyomiyopati tanı ve tedavisinde etkili olabilecek miRNA'lar saptandı. Bu konuyu aydınlatmak amacıyla tedavide kullanılması düşünülen miRNA'lar ve hedef genlerin belirlenmesi için yeni çalışmaların yapılmasına ihtiyaç olduğu görüldü.

4. GENEL BİLGİLER

4.1. Diyabetes Mellitus Tanımı

Diabetes mellitus (DM), insülin üretim eksikliği ve/veya insülin direncinden kaynaklanan yüksek kan şekeri düzeyleri ile karakterize kronik ve ilerleyici hastalık olarak tanımlanmaktadır (Wild ve ark., 2004).

Kontrolsüz diyabetten kaynaklanan hiperglisemi; ketoasidoz veya non-ketotik hiperosmolar koma gibi akut ve hayatı tehdit eden durumlara neden olabilirken, uzun dönemde de mikro ve/veya makrovasküler komplikasyonlar ile retinal, renal, nöral, kardiyovasküler hastalıklara neden olarak morbidite ve mortalite oranlarında artışa neden olmaktadır (American Diabetes, 2008).

Diyabet patogeneğinde çoklu alt süreçler rol almaktadır. Bunlar arasında; pankreatik β hücrelerinin otoimmün mekanizmalara bağlı yıkımından sonuçlanan insülin eksikliği ve insülin etkisine direnç gösteren hücresel yollar bulunmaktadır. Diyabette; karbonhidrat, yağ ve protein metabolizmasında görülen sorunların, hedef dokularda insülin etkisinin azalması nedeniyle olduğu bildirilmiştir. İnsülinin yetersiz etkisinin, insülin sekresyonunun azalması ve / veya hormon hareketinin kompleks yollarındaki bir ya da daha fazla noktada insüline verilen doku yanıtlarının azalmasından kaynaklandığı bilinmektedir. İnsülin salgılanmasının bozulması ve insülin hareket yollarındaki kusurlar sıklıkla aynı hastada gözlenmektedir (American Diabetes, 2014).

Tanısı konulmuş olan hipergliseminin, dolayısı ile diabetes mellitus belirtileri arasında; poliüri, polidipsi, kilo kaybı, bazen polifaji ve bulanık görme sıralanabilir. Bazı enfeksiyonlara karşı duyarlılığın artması da kronik hiperglisemiye eşlik eder. Kontrolsüz diyabetes mellitusun akut, morbidite oluşturabilecek sonuçları; ketoasidoz veya nonketotik hiperosmolar sendroma eşlik eden hiperglisemidir. Diyabetes mellitusun uzun dönemli komplikasyonları arasında görme kaybı olasılığı bulunan retinopati; böbrek yetmezliğine yol açan nefropati; ayak ülserleri, amputasyonlar ile Charcot eklemleri riski olan periferik nöropati; ve gastrointestinal, genitoüriner ve kardiyovasküler semptomlara ve cinsel işlev bozukluğuna sebep olan

otonomik nöropati bulunmaktadır. Diyabetli bireylerde ateroskleroz, kardiyovasküler ve serebrovasküler hastalıkların görülme olasılığı artış göstermektedir (American Diabetes, 2014).

Diyabet hastalığına sahip bireylerde, hipertansiyon ve lipoprotein metabolizmasında da anormallikler görülmektedir. Diyabet vakalarının büyük kısmı etyopatogenetik kategoriye dahil edilmektedir. Birinci kategoride, Tip 1 diyabetin nedeni olarak insülin sekresyonunun mutlak eksikliği gösterilir. Tip 1 diyabet geliştirme riski yüksek olan ve bu risklerin genetik yatkınlığa dayandırılmış olduğu bireylerde, pankreatik adacıklarda görülen harabiyet ve otoimmün belirteçlerde görülen anomaliler serolojik kanıtlar ile sıklıkla tanımlanabilir. Prevelansı daha yüksek görülen bir diğer kategori olan tip 2 diyabetin nedeni ise, hücre içine insülin alımına karşı gelişen insülin direnci ve yetersiz insülin sekresyonunun oluşturduğu kombine tablo olarak nitelendirilebilir. İkinci kategoride, farklı hedef dokularda patolojik ve fonksiyonel değişikliklere sebep olan ancak klinik semptom vermeyerek hastanın kliniğe başvurusunu öteleyen hiperglisemi, diyabet teşhisi konmadan önce uzun bir süredir hastada mevcut olabilir. Bu asemptomatik dönemde, açlık plazma glikozunun belirlenmesi, oral glikoz tolerans testi ve HbA1c değerlerinin belirlenerek ayırıcı tanının konulması mümkün olmaktadır (American Diabetes, 2014).

Tokluk durumunda, insülin sekresyonunu uyaran kan şekeri düzeylerinde artış görülmekte ve bu da kaslar ile yağ dokusunda transportta, biyotransformasyonda ve depolamada artışa neden olmaktadır. Glikozun depolanmasının yanı sıra, insülin; glukagon salınımını da engellemekte ve karaciğerde glikoz üretiminde azalmaya neden olan serum yağ asitlerinin konsantrasyonunu düşürmektedir (Kangralkar ve ark., 2010).

Pankreatik β hücrelerinden yeteri miktarda salgılanamayan insülin veya hücresel bağlamda insüline karşı gösterilen direnç, intrasellüler hipoglisemi ve ekstrasellüler hiperglisemiyle sonuçlanan glikozun dokuya alınmasının engellenmesine neden olur. İntrasellüler hipoglisemi ve glukoneogenez gelişimini tetikleyerek diyabetik ketoasidoza neden olur. Bunun sonucu olarak da protein sentezi ve gamma

globülinlerin miktarında azalmaya sebep olarak, ekstraselüler hiperglisemi, hiperglisemik koma ve ozmotik diereze yol açar (Ozougwu ve ark., 2013).

4.2. Epidemiyoloji ve Prevalans

Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) verilerine göre, 1980 yılında 108 milyon olan diyabetli hasta sayısı, dramatik bir yükseliş göstererek 2014 yılında 422 milyona kadar ulaşmıştır. Yine DSÖ verilerine göre DM, dünya üzerindeki ölüm oranları arasında miyokard enfarktüsü, inme ve kronik akciğer hastalıklarının sonrasında 6. sırada gelmektedir ve DM'nin prevalansı; yaşlı nüfusun genç nüfusa göre oranının fazlalaşması, bununla birlikte şehirleşme ile karakterize olarak izlenen yaşam tarzı değişikliklerinin bir sonucu olarak artmaktadır (Chen ve ark., 2011; Federation, 2013).

4.3. Patogenez ve Sınıflandırma

DM'nin tüm tiplerinde ortak nokta, hiperglisemi olmakla birlikte, hiperglisemiye neden olan fizyopatolojik mekanizmalar da farklılık göstermektedir (Tablo 1). Tip 1 diyabette (T1DM), mutlak insülin eksikliği veya insülin salgılanmasının bozukluğuna sebep olan genetik yatkınlık mevcut iken, Tip 2 diyabette (T2DM) insülin direnci gözlenmektedir. T2DM sıklıkla obezite ilişkili insülin rezistansının bulunduğu, pankreas β -hücrelerinin de insülin rezistansını kompanse etmek için yanıt olarak fazla insülin salgıladığı diyabet tipidir. Hastalık ilerledikçe, insülin salgılama yetisi zaten bozuk olan pankreas β hücresinin, insülin salgılama kapasitesinin daha da azalması sonucu hiperglisemi gözlenmektedir (H., 2003).

DM patogenezi, hastalığa genetik yatkınlıkla başlamaktadır. Aynı zamanda bazı çevresel faktörlerin de bu süreci başlattığı bilinmektedir. Ayrıca viral enfeksiyonların, tetikleyici mekanizmalardan birisi olduğu düşünülmektedir (Karasu ve Arı, 2005).

Diyabet tipleri, aşağıdaki şekilde sınıflandırılmaktadır;

1. Tip 1 DM (genellikle insülin eksikliğine yol açan otoimmün pankreatik β hücre hasarı)
2. Tip 2 DM (sıklıkla insülin direncinin arka planında pankreatik β hücre insülin sekresyonunda ilerleyici bir azalma)

3. Gestasyonel DM (GDM) (hamileliğin 2. veya 3. trimesterinde gebelik öncesi açık diyabet tanısı olmayan diyabet)
4. Diğer nedenlere bağlı olarak gelişen diyabetin spesifik türleri; monogenik diyabet sendromları (Gençlerde Görülen Erişkin Tipi Diyabet (MODY)), ekzokrin pankreas hastalıklarına bağlı gelişen diyabet (kistik fibrozis ya da pankreatid gibi), ilaç veya kimyasallarla indüklenen diyabet (glukokortikoid kullanımına bağlı, AIDS tedavisine bağlı veya organ transplantasyonu sonrası immünoterapiye bağlı) olarak sıralanmaktadır (American Diabetes, 2018).

Tip 1 diyabetli çocuklarda tipik olarak poliüri / polidipsi semptomlarıyla ve yaklaşık üçte biri diyabetik ketoasidoz ile kendini göstermektedir (Dabelea ve ark., 2014). Yetişkinlerde ise, yukarıda sayılan nedenleri de kapsayacak biçimde farklı değişkenlere bağlı olmakla birlikte çocuklarda görülen klasik semptomlarla birlikte görülmeyebilir (Newton ve Raskin, 2004).

Başlangıçta diyabet tiplerini tüm yaş gruplarında ayırt etmek zor olsa da, net ve doğru teşhis zaman içinde daha belirgin hale gelmektedir (Association, 2018).

Hiperglisemi gözlendikten sonra, tüm diyabet tiplerine sahip bireyler, aynı kronik komplikasyonları geliştirme riski altındadır ancak ilerleme hız ve dereceleri farklılık göstermektedir. Gelecekte diyabet için kişiselleştirilmiş tedavilerin tanımlanması, β -hücre kaybı veya işlev bozukluğunun yollarını daha iyi anlamamızı sağlayacaktır. Bu bağlamda da yeni tedavi yolları geliştirilmesi hedeflenmektedir (Skyler ve ark., 2017).

Tablo 1. Diabetes Mellitusun Etiyolojik Sınıflandırılması (Temd, 2018)

I. Tip 1 diyabet {Genellikle mutlak insülin noksanlığına sebep olan β - hücre yıkımı vardır.} A. İmmün aracılıklı B. İdiyopatik	
II. Tip 2 diyabet {İnsülin direnci zemininde ilerleyici insülin sekresyon defekti ile karakterizedir.}	
III. Gestasyonel Diabetes Mellitus (GDM) {Gebelik sırasında ortaya çıkan ve genellikle doğumla birlikte düzelen diyabet formudur .}	
IV. Diğer spesifik diyabet tipleri	
A. β- hücre fonksiyonlarının genetik defekti (monogelik diyabet formları) • 20.Kromozom, HNF-4α (MODY1) • 7. Kromozom, Glukokinaz (MODY2) • 12.Kromozom, HNF-1α (MODY3) • 13.Kromozom, IPF-1 (MODY4) • 17. Kromozom, HNF-1β (MODY5) • 2.Kromozom, NeuroD1 (MODY6) • 2.Kromozom, KLF11 (MODY7) • 9.Kromozom, CEL (MODY8) • 7.Kromozom, PAX4 (MODY9) • 11.Kromozom, INS (MODY) • 8.Kromozom, BLK (MODY) • Mitokondriyal DNA • 11.Kromozom, Neonatal DM (Kir6.2, ABCC8, KCNJ11 Mutasyonu) • 11.Kromozom, KJN11 (MODY13) • 3.Kromozom, APLL1 (MODY14) • Diğerleri	E. İlaç veya kimyasal ajanlar • Atipik anti-ψsikotikler • Anti-viral ilaçlar • β-adrenerjik agonistler • Diazoksid • Fenitoin • Glukokortikoidler • α- İnterferon • Nikotinik asit • Pentamidin • Preotez inhibitörleri • Tiyazid grubu diüretikler • Tiroid hormonu • Vacor • Statinler • Diğerleri (Transplant rejeksiyonunu önlemek için kullanılan ilaçlar)
B. İnsülinin etkisindeki genetik defektler • Leprechaunism • Lipotrafik diyabet • Rabson-Mendenhall sendromu • Tip A insülin direnci • Diğerleri	F. İmmün aracılıklı nadir diyabet formları • Anti insülin -reseptör antikorları • "Stiff-man" sendromu • Diğerleri
C. Pankreasın ekzokrin doku hastalıkları • Fibrokalkülöz pankreatopati • Hemokromatoz • Kistik fibroz • Neoplazi • Pankreatit • Travma/pankreatektomi • Diğerleri	G. Diyabetle ilişkili genetik sendromlar • Alström sendromu • Down sendromu • Friedreich tipi ataksi • Huntington korea • Klinefelter sendromu • Laurence-Moon-Biedl sendromu • Miyotonik distrofi • Porfiria • Prader-Willi sendromu • Turner sendromu • Wolfram (DIDM0AD) sendromu • Diğerleri
D. Endokrinopatiler • Akromegali • Aldosteronoma • Cushing sendromu • Feokromositoma • Glukagonoma • Hipertiroidi • Somatostatinoma • Diğerleri	H. İnfeksiyonlar • Konjenital rubella • Sitomegalovirus • Koksaki B • Diğerleri (adenovirus, kabakulak)

Kısaltmalar: HNF-1a: Hepatosit nükleer faktör-1a, MODY1-11: Gençlerde görülen erişkin tipi diyabet formları 1-11 (maturity onset diabetes of the young 1-11), HNF-4a: Hepatosit nükleer faktör-4a, HNF-1a: Hepatosit nükleer faktör-1a, IPF-1: İnsülin

promotör faktör-1, HNF-1b: Hepatosit nükleer faktör-1b, NeuroD1: Nörojenik diferansiyasyon 1, BLK: Beta lenfosit-spesifik kinaz, DNA: Deoksiribonükleik asit, HIV: İnsan immün eksikliği virüsü, DIDMOAD sendromu: Diabetes insipidus, diabetes mellitus, optik atrofi ve sağırılık (deafness) ile seyreden sendrom (Wolfram sendromu), KLF11: Kruppel benzer faktör 11, CEL: Carboxyl ester lipase (bile salt-dependent lipase), PAX4: Paired box4, ABCC8: ATP-binding cassette C8, KCNJ11: Potassium inwardly-rectifying channel J11, INS: İnsülin.

4.3.1. Tip 1 Diyabet

Tip 1 diyabet, immün aracılı olabildiği gibi çoğunlukla pankreas β -hücrelerinin dolaylı yıkımı ile ilişkili olduğu düşünülmektedir (Atkinson ve ark., 2014).

Tip 1 diyabet olgularının sıklıkla çocuklarda ve adolesanlarda gözleendiği genel kanısı gelişmiştir. Ancak bu görüş, son on yılda değişime uğramıştır. Bu nedenle bulgulara bakıldığında, tip 1 diyabet başlangıcı için yaşı artık bir kısıtlayıcı faktör olmadığı görülmektedir (Leslie, 2010).

Çocuklarda ve ergenlerde gelişen hiperglisemi olgusu ile birlikte; hastalığın başlangıcı ile ilişkili klasik semptomların üçlüsü olarak nitelendirilen polidipsi, polifaji ve poliüri gibi tanısal belirteçler yetişkinlere kıyasla daha fazla oranda görülmektedir. Tip 1 diyabeti; diğer diyabet tiplerinden ayıran temel özellik ekzojen insülin replasmanına acilen ihtiyaç duyulması ve ömür boyu tedaviye ihtiyaç duyulması gibi ayırt edici özellikleri bulunmaktadır. Tip 1 diyabetin epidemiyolojisinin nasıl geliştiği, güncel tedavilerin etkinliği, hasarın nasıl geliştiğini anlamak, hastalığın önlenmesi veya tedavi edilmesi ile ilgili önemli sorular devam etmektedir (Atkinson ve ark., 2014).

4.3.1.1. Tip 1 diyabet epidemiyolojisi

Tip 1 diyabet, çocukluk döneminin en sık görülen kronik hastalıklarından biri olmasının yanında her yaşta görülebilmektedir (Gale, 2005).

Sıklıkla 5-7 yaş arasında ve adolesan dönemde meydana gelmektedir (Harjutsalo, Sjöberg, ve Tuomilehto, 2008). Otoimmün kaynaklı çoğu hastalık, orantısız olarak kadınları etkilerken, tip 1 diyabetin erkeklerde ve erkek çocuklarında kadınlara oranla daha yaygın olduğu saptanmıştır (Ostman ve ark., 2008).

4.3.1.2. Tip 1 diyabet teşhisi

Açlık kan şekerinin, 7 mmol / L'den (126 mg / dL) yüksek olması durumunda, herhangi bir zamanda ölçülen kan şekerinin 11.1 mmol / L (200 mg / dL) veya daha yüksek hiperglisemi semptomlarıyla birlikte görülmesi veya 2 saatlik oral glikoz tolerans testi bireye uygulandığında 200 mg/dl üzerinde bulunması ile Tip 1 Diyabet tanısı konulmaktadır (Association, 2014).

2009 yılında, Amerikan Diyabet Derneği; diyabet tanısı için glikolize hemoglobin (HbA1c) değerinin 6,5 veya daha yüksek olanları kapsayacak şekilde kılavuzlarını değiştirmiştir (Committee, 2009)

Tip 1 diyabet tanı standardizasyonlarına rağmen, tip 1 diyabetin nedenleri ve tiplendirmedeki belirsizlikler tam olarak aydınlatılamamıştır. Özellikle yetişkinlerde sınıflandırma yapılırken, tip 1 ve tip 2 diyabet ayrımı, hala net olarak belirlenememektedir. Tip 2 diyabet teşhisi konulan yetişkinlerin yaklaşık % 5-15' inde adacık otoantikorları bulunan tip 1 diyabet görülebilmekte, bu durumda (Tuomi, 2005) , gerçekte tip 1 diyabet tanısı konması gereken % 50' lik bir kısma tip 2 diyabet tanısı konulabilmektedir. Tip 1 diyabet vakalarının çok az bir bölümü doğru olarak teşhis edilebilmektedir (Usher ve ark., 2011).

Tip 1 diyabetin doğru teşhis edilmesi, uygun bakım koşulları ve komplikasyonlardan korunma açısından çok önemli olup, tip 1 diyabet tanısında diyabetik ketoasidozun doğru bir şekilde saptanması, tip 1 diyabetli bireyin yaşamını sürdürebilmesi açısından da büyük önem taşımaktadır (Atkinson ve ark., 2014).

Yetişkinlerde tip 1 diyabetlileri tip 2 diyabetlilerden ayırt etme girişimleri, erişkinlerin gizli otoimmün hastalığı (LADA: Yetişkinlerde Gizli Otoimmün Diyabet) yetişkinlerde otoimmün diyabet ve ketoza eğilimli diyabet dahil yeni hastalık sınıflandırmalarının yapılmasına yol açmıştır (Leslie ve ark., 2008; Naik ve ark., 2009).

LADA için tip 1 diyabet ve LADA'lı hastalar arasındaki retrospektif kriterler ve benzerlikler de dahil olmak üzere tanı kriterlerinin olmaması, bunun diyabet için yeni bir kategori olarak benimsenmesinin önünü açmıştır (Atkinson ve ark., 2014).

Tip 1 diyabet vakalarının çoğu, otoimmün aracılı olmasa da, Tip 1 diyabet patogenezinde immüitenin rol aldığı ve bunun da Tip 1 diyabet patogenezinine katkı sağlayan (örn., Otoantikorlar veya bağışıklık yanıtlarını kontrol eden genlerle genetik ilişkiler) immünolojik özelliklerin varlığının bulunduğunu bize göstermektedir. Bununla birlikte, tip 1 diyabetli tüm bireyler bu özelliklere sahip olup, bu da tip 1A (otoimmün) diyabetin sınıflandırılması önerilerine yol açmaktadır. Tip 1 diyabetli bireylerin % 70-90'ı immünolojik, oto-reaktif otoantikorlar ve spesifik patogenezi kesin olarak bilinmeyen Tip 1B (idiyopatik) diyabeti olarak karşımıza çıkmaktadır (Atkinson ve ark., 2014).

Son gruptaki bireylerin bir alt kümesi, MODY, monogenik diyabet formlarına sahiptir (Atkinson ve ark., 2014).

Tip 1 diyabet vakaları için bu yeni terminolojinin benimsenmesini sağlayan bilgi olmasına rağmen, tip 1A ve tip 1B diyabet terimleri yaygın olarak halen kullanılmamaktadır (Atkinson ve ark., 2014).

Tip 1 diyabetin teşhisini zorlaştıran diğer faktörlere bakıldığında, giderek artan obezite sorunu (çocukluk ve yetişkinler), göç ve sosyal değişimlere bağlı olarak gittikçe artan genetik katkılar sayılmaktadır (Puett ve ark., 2012; Soderstrom ve ark., 2012; Wilkin, 2009)

Örneğin, Hispanik ve Afro-Amerikan çocuklarının üçte-birinde adacık otoantikorları olmayan Tip 1 diyabet ve pankreas histolojisi, adacık eksikliğini ve β hücrelerinin tamamen kaybını (yani psödoatrofik adacıklar) göstermektedir (Atkinson ve ark., 2014).

Erişkin başlangıçlı tip 1 diyabet ile ilgili 2011 yılında yapılan bir çalışmada, çocuklarda ve yetişkinlerde otoimmün tip 1 diyabetin, sadece bazı yaşlara bağlı genetik etki ile farklılaştığını göstermiştir. Bununla birlikte, genel olarak, tip 1 diyabetin, patojenik süreçleri olan heterojenik bir hastalığı temsil ettiği, genetik ve fenotipik özelliklerin belirgin varyasyona sebep olduğu görülmektedir (Atkinson ve ark., 2014).

4.3.1.3. Tip 1 diyabetin patofizyolojisi

Tip 1 diyabet patogenezinin çözülmesine ilişkin araştırmaların çoğu, bu diyabet tipinin insülin salgılayan pankreas hücrelerinin otoimmün yıkımından kaynaklandığı bilgisini vermektedir (Atkinson ve ark., 2014).

Tip 1 diyabetin semptomatik başlangıcında pankreas adacıkları etkileyen kronik inflamatuvar infiltratın varlığı bu gözlemin temelini oluşturmaktadır (Veld, 2011). Başka bir görüşe göre, bu diyabet tipini uzun süre barındıran hastalarda, pankreasın insülin üreten β hücrelerinden yoksun olması ve az miktarda olan β -hücrelerinin rejenerasyonunun olmamasıdır (Butler, Meier, Butler, ve Bhushan, 2007; B. E. Gregg ve ark., 2012). Tip 1 diyabetin patogenezi hakkında anladıklarımızın çoğu, bozukluğu olan hastalardan elde edilen serum ve periferik kan lenfositlerinin analizleri sayesinde anlaşılmaktadır (Bingley, 2010; Roep ve Peakman, 2011). Bu analizlerden elde edilen sonuçlar, kemik iliği, timüs, bağışıklık sistemi ve β -hücrelerindeki bir dizi fonksiyonel bozukluğun, tip 1 diyabetin patofizyolojisine kolektif olarak katkıda bulunduğunu göstermektedir (Atkinson ve ark., 2014).

4.3.1.4. Tip 1 diyabette pankreas patolojisi

Tip 1 diyabetin pankreas patolojisi ile ilgili birçok çalışma; tanı anında ya da yakın zamanda hayatını kaybeden bireylerin otopsilerinden elde edilen pankreas, adacık hücresi ve tüm organ özelliklerinin çeşitliliğini ortaya koyan retrospektif, örnek tabanlı analizleri içermektedir (Atkinson ve ark., 2014).

Otopsi materyalinden alınan dokuların araştırılması ile tip 1 diyabetin doğal öyküsü boyunca pankreas patolojisi çalışmalarını genişletmek için Belçika, Finlandiya ve ABD'de nPOD denilen Pankreas Organ Bağışçılarının projesi yapılmaktadır (Campbell ve ark., 2012).

Ek olarak, nPOD projesi, biyopsi materyalinin kısıtlayıcı kullanımı yerine, araştırmayı tüm pankreas için genişletmeye çalışmaktadır (Atkinson ve ark., 2014).

Kadavra dokularından alınan dokularda, anti-adacık otoimmünitesinin (yani tip 1 diyabete bağlı otoantikörler); bunların alt kümelerinin hayatta kalmaları halinde tip 1

diyabetin gelişmiş olabileceğine dair serolojik kanıtların toplanmasını sağlamıştır (Foulis ve ark., 1986; Gepts, 1965; Gregg ve ark., 2012; Keenan ve ark., 2010).

Tip 1 diyabetli hastalarda, pankreastaki sağlıklı kalmayı başarabilen β -hücrelerinin, insulitis (langerhans adacıklarında iltihap) lezyonları genellikle lobüllerde, melanositlerin lobuler kaybına benzer şekilde görülmektedir (Michels ve Eisenbarth, 2011).

Genellikle Beta-hücrelerinin % 90-95' inin kaybedilmesi durumunda semptomların ortaya çıktığı bilinmesine rağmen, adacıkların yaklaşık üçte ikisi insülin üreten hücrelerden yoksun duruma geldiğinde tip 1 diyabet tanısı konulmaktadır (Foulis ve Stewart, 1984; Willcox ve ark., 2009)

Potansiyel patojenik mekanizmalar açısından, CD8 + T hücrelerinin insülitis lezyonu içinde en baskın popülasyon olduğu ve bunu makrofajlar (CD68 +), CD4 + T hücreleri, B lenfositleri (CD20 +) ve plazma hücrelerinin (CD138 +) takip ettiği gözlemlenmektedir (Willcox ve ark., 2009).

Şaşırtıcı bir şekilde, bu lezyonda FOXP3+ hücreleri ve doğal öldürücü hücreler seyrek olarak görülmektedir. İnflamatuvar hücreler incelenmesine rağmen, tip 1 diyabette diğer pankreatik özellikler patojenik belirti verme özelliğine sahiptir. Hastalığın en beklenmedik yönlerinden birinin pankreas boyutunda olduğu bildirilmiştir (Atkinson ve ark., 2014).

4.3.1.5. Tip 1 diyabette tedavi yaklaşımları

İlk tanı ve metabolik stabilizasyondan sonra, tip 1 diyabetli bazı hastalar endojen insülin üretme yeteneğini korurlar. Bu endojen sekresyon tipik olarak düşük olsa da, hastalığın sonraki aşamalarında daha az retinopati ve daha az hipoglisemi ile ilişkili olması nedeniyle önemini korumaktadır. Bu nedenle, hastalık başlangıcından sonra insülin sekresyonunun korunmasının önemi, terapötik bir hedef olarak gün geçtikçe artmaktadır ve yoğun insülin terapisini, mekanik teknolojileri veya birkaç denemede olduğu gibi, β -hücre yıkımını bozmaya yönelik immün müdahaleleri içerebilmektedir (Atkinson ve ark., 2014).

C-peptid, hücrelerden insülin ile bire bir oranında salgılanır ve hastalık başlangıcından sonra C-peptid konsantrasyonunun analizi, teşhisin ardından ilk yıldaki kaybın, ikinci yılda olduğundan daha hızlı olduğunu göstermektedir (Greenbaum ve ark., 2012).

Ayrıca, çocuklar ve adolesanlarda, tip 1 diyabetli yetişkinlerden daha fazla oranda endojen insülin üretimi kaybı görülmektedir (Atkinson ve ark., 2014).

Son on yılda sürekli deri altı insülin infüzyonları (CSII; insülin pompaları) kullanımı önemli ölçüde artmıştır (Pickup, 2012).

Tip 1 diyabetli erişkinlerde yapılan randomize kontrollü bir çalışmada, subkutan enjeksiyona kıyasla sensörle güçlendirilmiş insülin pompa tedavisi ile daha düşük HbA1c düzeyleri belirlenmiştir (Atkinson ve ark., 2014).

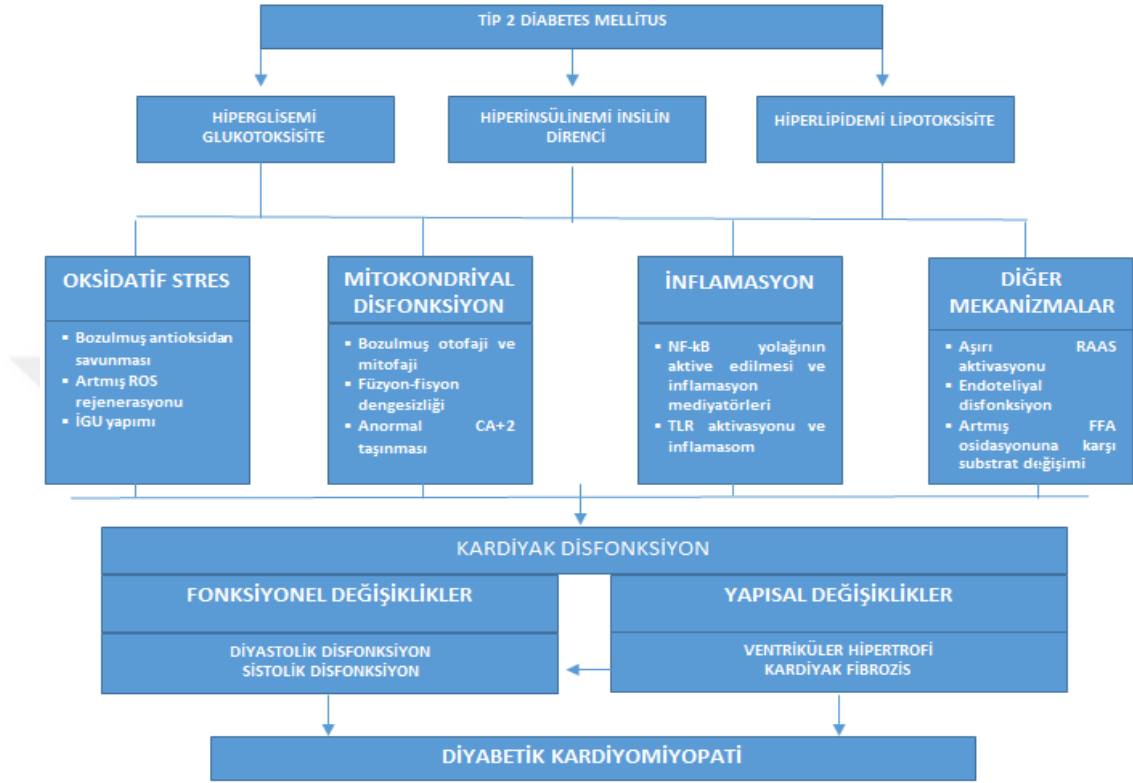
İnsülin pompaları ve sürekli glikoz izleme monitörlerini, bir bilgisayar algoritmasıyla yapay pankreasla birleştirmek için çalışmalar devam etmektedir (Atkinson ve ark., 2014).

4.3.2. Tip 2 Diyabet

Tip 2 diyabetes mellitus, hiperglisemi ile karakterize olan ve insülin etkisine, yetersiz insülin sekresyonuna ve aşırı veya uygun olmayan glukagon sekresyonuna karşı direnç kombinasyonundan oluşan metabolik bir hastalıktır (Şekil 1). Tip 2 diyabetin takibi yeterli düzeyde yapılmazsa, mikrovasküler ve makrovasküler komplikasyonların gelişebileceği bilinmektedir (Khardori, 2013).

Diyabetin mikrovasküler komplikasyonları retinal, renal ve nöropatik hastalıkları içermektedir. Makrovasküler komplikasyonlar ise, koroner arterleri ve periferik vasküler dokuları etkileyen hastalıkları içermektedir. Diyabetik nöropati, otonom ve periferik sinirleri etkilemektedir. Tip 1 diyabetes mellituslu bireylerin aksine, tip 2 diyabeti olan bireylerin yaşamlarını sürdürebilmeleri için insüline bağımlı olmadıkları bilinmektedir. Bireyler endojen insülin salgılama yeteneklerini korudukları için, insüline ihtiyaç duydukları ancak insüline bağımlı olmadıkları düşünülmektedir (Idiopathic ve Endocrinopathies, 2003).

Halen, çocuklarda obezite ve hareket yetersizliği nedeniyle, tip 2 diyabet mellitus daha genç yaşlarda ortaya çıkmaktadır. Tip 2 diyabetes mellitus tipik olarak 40 yaşın üstündeki bireylerde daha çok görülse de aile öyküsü bulunan 2 yaşın altındaki çocuklarda da görülebileceği bilinmektedir (Khardori, 2013).



Şekil 1. Tip 2 diyabetin altında yatan, DKM’deki yapısal ve fonksiyonel değişikliklerle ilişkili hücresel ve moleküler yollardaki temel metabolik anormallikler (Nunes ve ark., 2012)

Kısaltmalar: AGE'ler, gelişmiş glikasyon son ürünleri; FFA'lar, serbest yağ asitleri, NF-B, nükleer faktör-B; RAAS, renin-anjiyotensin-aldosteron sistemi; ROS, reaktif oksijen türleri; TLR'ler, Toll benzeri reseptörler

2017 CDC (Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezi), Amerika Birleşik Devletleri'nde 2015 itibarıyla, her yaştan 30.3 milyon insanın veya toplam nüfusun % 9.4' ünün diyabet hastalığına sahip olduğunu (18 yaş ve üzeri 30,2 milyon yetişkin veya tüm ABD yetişkinlerinin % 12,2' si dahil) ve 84,1 milyon yetişkinin (Yetişkin nüfusun % 33.9' u) prediyabet olduğunu öngörmüştür (Control, 2017)

Kan glikoz seviyelerinin normalden yüksek olduğu, ancak diyabet teşhisi için yeterince yüksek olmadığı durum Amerikan Diyabet Derneği tarafından prediyabet olarak tanımlanmıştır. Prediyabetli bireylerin üçte birinde daha sonra diyabet

gelişebileceği düşünülmektedir. 2015 yılındaki CDC raporuna göre, 65 yaş ve üzeri (% 48,3) 23.1 milyon kişide prediyabet görülmüştür (Control, 2017).

2015 yılı için öngörüldüğü üzere, diyabet, 18-44 yaş aralığında (yaklaşık % 4) tahmini olarak 4.6 milyonda, 45-64 yaş aralığında 14.3 milyon (% 17) ve 65 yaş ve üzeri 12 milyon (% 25,2) yetişkinte saptanmıştır. Bununla birlikte, diyabetli yetişkinlerin 7,2 milyonunun diyabetli olduğundan habersiz olduğu düşünülmektedir (Control, 2017).

CDC, 2014 yılında ABD'li yetişkinlerin yaklaşık % 40' ının hayatları boyunca tip 2 diyabetli olma riskinin bulunduğu ve etnik azınlıkların % 50' sinden fazlasının bu hastalıktan etkileneceği bilinmektedir. Bu varsayım, daha önceki veriler ve öngörülere göre oldukça yüksek orandadır. Bu artışın en önemli nedeninin ise obezite olduğu düşünülmektedir (Gregg ve ark., 2014; Valinezhad, 2014).

4.3.2.1. Tip 2 Diyabet Teşhisi

Amerikan Diyabet Derneği (ADA), diyabet tanı kriterlerini aşağıdaki gibi belirlemiştir; (Khardori, 2013)

- Açlık plazma glikozu 126 mg / dL (7.0 mmol / L) veya daha yüksek veya
- 75 g oral glikoz tolerans testi (OGTT) sırasında 2 saatlik plazma glikoz seviyesi 200 mg / dL (11.1 mmol / L) veya daha yüksek veya
- Klasik hiperglisemi veya hiperglisemik kriz semptomları olan bir hastada 200 mg / dL (11.1 mmol / L) veya daha yüksek bir rastgele plazma glikozu saptandıysa Hemoglobın A1c (HbA1c) seviyesinin % 6.5 veya daha yüksek olmasının primer teşhis için gerekip gerekmediği; ölçüt ya da isteğe bağlı bir kriter tartışma konusu olmaya devam etmektedir.

Asemptomatik yetişkinlerde diyabet taraması için endikasyonlar aşağıdakileri içerir: Devam eden kan basıncı > 135/80 mm Hg

Aşırı kilo ve diyabet için 1 veya daha fazla risk faktörü (örneğin, birinci derece akraba diyabet, BP> 140/90 mm Hg ve HDL <35 mg / dL ve / veya trigliserit seviyesi> 250 mg / dL)

ADA, yukarıdaki kriterlerin yokluğunda 45 yaşında taramayı önermektedir (Khardori, 2013).

4.3.2.2. Tip 2 diyabetin patofizyolojisi

Tip 2 diyabette β hücrelerinde insülin yapımı ve depolanması genellikle bozulmamıştır. Pankreas β hücrelerinin insülin salgılanmasında başta bir sorun görülmez. Genetik açıdan eğilimli bireylerde, vücuda olması gerekenden fazla kalori girmesi ve kişinin de bunu harcayamaması sonucu, reseptör sonrası düzeyde bozukluğa bağlı olarak insülin glikozun enerji olarak kullanılmasını sağlayamamakta yani insülin direnci gelişmektedir. Vücut çok erken dönemlerde fazla miktarda insülin salgılayarak şekerin yükselmesini engeller. Hastalığın ilerleyen dönemlerinde karaciğerde (glikoz üretiminin artması) ve kas veya yağ dokusunda (glikoz alımının azalması), insülin direnci daha da ağırlaşır ve sonraki basamakta pankreas β hücrelerinden insülin salgılanması azalmaktadır (Khardori, 2013).

4.3.2.3. Tip 2 diyabette pankreas patolojisi

Uzun süre devam eden tip 2 diyabetli bireylerde pankreas atrofisi oluşabilmektedir. Philippe ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada 15 yıllık diyabetes mellitus öyküsü olan 5-26 yaş arası bireylerde bilgisayarlı tomografi (BT) tarama bulguları, glukagon stimülasyon testi sonuçları ve fekal elastaz-1 ölçümleri, pankreas hacminin azaldığını göstermektedir (Philippe ve ark., 2011).

4.3.2.4. Tip 2 diyabette tedavi yaklaşımları

Tip 2 diyabete sahip bireylerde makrovasküler hastalık gelişme riskinin artması nedeniyle, tedavide tek başına glisemik kontrol yeterli değildir. Bununla birlikte; obezite, glikoz intoleransı, lipid anormallikleri, hipertansiyon ve varsa sigara kullanımı gibi risk faktörleri de göz önüne alınarak düzeltilmelidir (Koloğlu, 1996).

Tip 2 DM hastalarının tedavisinde çoğunlukla insülin desteğine ihtiyaç duyulmaz. Diyet, egzersiz, kilo kaybı ve genellikle metformin tercihi başta olmak üzere oral antidiyabetiklerle hipergliseminin kontrolünün sağlanması gereklidir. Fakat bu yaklaşımların yetersiz kaldığı durumda insülin tercih edilebilir (Yki ve ark., 1992).

4.4. Diyabette Komplikasyonlar

Tablo 2. Diyabette Görülen Komplikasyonlar

Akut Komplikasyonlar	Kronik-Mikrovasküler Komplikasyonlar	Kronik-Makrovasküler Komplikasyonlar
Hipoglisemi Koması	Nefropati	Koroner Arter Hastalıkları
Laktik Asidoz	Nöropati	Serebrovasküler Hastalıklar
Diyabetik Ketoasidoz	Retinopati	
Hiperosmolar Hiperglisemik Nonketotik Koma		

Diyabetin patolojik özelliği, hem mikrovasküler hem de makrovasküler komplikasyonlara yol açan damar yapısını içermektedir (Orasanu ve Plutzky, 2009) (Tablo 2).

Hipergliseminin kronik sürecinin, uzun süreli hasarlara yol açacağı bilinmektedir. Diyabetin mikrovasküler olarak gözler, sinir sistemi, böbrekler ve kalp gibi çeşitli organlar ve sistemleri etkileyen bozukluklar ile bağlantılı olduğu da düşünülmektedir (Medical, 2016).

Diyabet atlasının 7. baskısına göre; küresel olarak yaklaşık 415 milyon insanın diyabet tanısı olduğu düşünülmekte ve diyabet vakalarının önümüzdeki 25 yıl içinde 642 milyona çıkacağı tahmin edilmektedir. Ayrıca, dünya çapında yaklaşık 193 milyon diyabetli bireye teşhis konmadığı ve tedavi edilmeyen kronik hipergliseminin uzun süreli komplikasyonların gelişmesinde önemli rol oynadığı düşünülmektedir (IDF Atlas., 2015).

Yoğun glisemik kontrolün, mikrovasküler komplikasyonların görülme sıklığını ve ilerlemesini azalttığı bilinmekte ancak bu komplikasyonlarla ilişkili morbiditenin hızla artarak devam ettiği görülmektedir (Group ve ark., 2008).

Birleşik Krallık Prospektif Diyabet Çalışması (UKPDS); yoğun glisemik kontrol ile mikrovasküler hastalığın sınırlandırıldığı ve kan glikoz düzeyinin azaltılması

yoluyla da makrovasküler hastalıkların iyileşmesine yönelik girişimlerin hala netleşmediğini göstermektedir. UKPDS' nin takip ettiği 10 yıllık süreçte, miyokard infarktüsünde (MI) relatif risk (RR) azalması ($P = 0.052$) gözlenmiştir (Holman ve ark., 2008).

Benzer şekilde, plasebo grubuna kıyasla makrovasküler olaylarda Prospektif Pioglitazon Klinik Denemesinde pioglitazon ile birlikte kardiyovasküler mortalite, ölümcül olmayan MI ve inme riski azalmıştır (Charbonnel ve ark., 2004).

Diyabetle birlikte, kardiyovasküler riske yönelik yapılan çalışmalarda 3,5 yıl boyunca yoğun tedavi gören bireylerde mortalitenin arttığı ancak majör kardiyovasküler riski önemli ölçüde azaltmadığı bulunmuştur (Launer ve ark., 2011).

Son yıllarda yapılan çalışmalar, genellikle inme ve akut koroner sendrom gibi makrovasküler komplikasyonlara yöneliktir. Belirli bir dokudaki vasküler komplikasyonların genelde diğer vasküler bölgelerdeki patolojik bulgularla birlikte gözlemlendiği görülmüştür. Yapılan çalışmalarda, mikrovasküler komplikasyonlar ve hastalık süresi arasındaki doğrusal ilişki, farklı yaş gruplarında mikrovaskülopatinin varlığı, 25 yaş ve üzerinde olan ve 5 yıldan uzun süredir diyabetli bireylerin % 25-40'ında ortaya çıktığı gözlemlenmiştir (Chawla ve ark., 2014).

Elde edilen bulgulara göre, diyabette hem mikrovasküler hem de makrovasküler komplikasyonların aynı anda geliştiği gözlemlenmiştir (AlWakeel ve ark., 2009; Krentz ve ark., 2007).

4.4.1. Akut Komplikasyonlar

4.4.1.1. Hipoglisemi

Diyabetli hastalarda en sık karşılaşılan akut komplikasyondur. Diyabet tedavisinde sıkı glisemik kontrol sağlanmasında en sık karşılaşılan problem hipoglisemi riskinin oluşmasıdır. İnsülin tedavisinde sık görülmektedir. Hipoglisemi tanısı için genellikle plazma glikozunun 50 mg /dl altında bulunması gerekmektedir. Fakat pek çok diyabetli birey 50 mg/dl altına inmeyen plazma glikoz seviyesinde de oluşan semptomları hissetmekte ve tedavi edilmeye ihtiyaç duymaktadır. Bu durum

özellikle kötü glisemik kontrolü olan, uzun süre hiperglisemik kalmış hastalarda oluşmaktadır (Temd, 2011).

4.4.1.2. Laktik asidoz

Laktik asidoz, kanda laktat konsantrasyonunun yükseldiği durumlarda görülen anyon açıklı bir asidoz durumudur. Ağır diyabetli bireylerde düşük bikarbonat ve pH, artmış anyon gap ile ketoasitlerin düşük olması laktik asidoz komasını akla getirmektedir. Sıklıkla altta yatan ciddi bir hastalığı bulunanlarda görülen ve dokulara oksijen dağılımı ve kullanımının yetersizliğinin neden olduğu ağır metabolik bir durumdur. Laktik asit birikimi; laktat yapımı ile kullanımı arasındaki dengenin bozulmasını göstermektedir. Laktik asit anaerobik metabolizmanın son ürünüdür. Karaciğer ve kısmen böbrek tarafından alınıp plazmadan piruvata ve oradan da glikoza dönüştürülerek vücuttan uzaklaştırılır (Lu ve ark., 2011).

4.4.1.3. Diyabetik ketoasidozis (DKA)

Diyabetik Ketoasidozis (DKA), insülin yetersizliği sonucunda protein, karbonhidrat ve yağ metabolizmalarının ileri derecede bozulmasına neden olur ve zamanında tedavi edilmediğinde koma kaynaklı ölüme neden olabilecek akut bir diyabet komplikasyonu olarak karşımıza çıkmaktadır. Diyabetik Ketoasidoz sonucu mortalite %6-10 oranında görülmekte ve çocukluk döneminde bu komplikasyonla daha sık karşılaşılmaktadır (Tüzün ve ark., 2004).

DKA oluşumunu tetikleyen en önemli nedenler arasında insülin eksikliği, enfeksiyon, ağır stres (fiziksel veya duygusal), hipokalemi (diüretiğe bağlı), myokard infarktüsü, travma, serebrovasküler ataklar, renal yetmezlik ve sıvı alımı yetersizliği gösterilmektedir (Hatun ve ark., 2006; Tüzün ve ark., 2004)

4.4.1.4. Hiperosmolar hiperglisemik nonketotik koma (HHNK)

Ketonemi, ketonüri ve asidoz olmaksızın ağır hiperglisemi, hiperozmolarite ve dehidratasyonla karakterize bir durumdur. Genellikle 50 yaş üstü bireylerde

görülmektedir. Hastanede diyabet nedeniyle yatan hastaların yaklaşık %1 'inde HHNK görülmektedir (Kitabchi ve ark., 2009).

Enfeksiyonlar başta olmak üzere; miyokard infarktüsü, MSS hastalıkları (serebrovasküler) gastrointestinal sorunlar, böbrek yetmezliği, endokrin sistem hastalıkları (hipertroidi, akromegali) karbonhidrat toleransını bozan ilaçlar HHNK' yı kolaylaştıran faktörler arasında gösterilmektedir. Bakımsızlık, tedavide eksiklik veya tedavi uygulama hataları nedeniyle HHNK ortaya çıkmaktadır (Kitabchi ve ark., 2009).

4.4.2. Kronik Komplikasyonlar

Diyabet ilişkili mikrovasküler komplikasyonları olan bireylerde, daha yüksek oranda serebrovasküler ve kardiyovasküler hastalık ve erken ölümle sonuçlanan hızlandırılmış ateroskleroz riski ortaya çıkmaktadır (Kalofoutis ve ark., 2007).

Mikrodamarlar, arteriyoller, kılcal damarlar ve venüller, kardiyovasküler sistemin temel fonksiyonel birimi olarak kabul görmektedir. Makro yapılardan ve hücresel bileşenlerden farklı oldukları bilinmektedir. Organlara kan sağlayan makrodamarların aksine, mikrodamarlar kan basıncını ve uygun besin alımını sağlamada önemli rol oynamaktadır (Orasanu ve Plutzky, 2009).

Mikrosirkülasyonda, kan akışını lokal metabolik ihtiyaçlara göre uyarlayabilen vasküler geçirgenliği ve miyojenik tepkileri kontrol eden düzenleyici sistemler bulunmaktadır. Mikrovasküler fonksiyonda değişiklik, açlık hiperglisemisi ve vasküler patolojik değişiklikler ortaya çıkmadan önce görülebilmektedir. Diyabet, diyabet mikroanjiyopatisinin gelişmesine yol açan, vasküler yapıların kalınlıklarını artırarak glomerüller, retina, miyokard, deri ve kasta arteriyoller de dahil olmak üzere kılcal bazal membranı etkileyen mikrovaskülerde tanı koymaya yardımcı olan değişikliklere neden olmaktadır. Bu kalınlaşma sonunda, hipertansiyon, yara iyileşmesi gecikmesi ve doku hipoksisi gibi birçok klinik problemi indükleyen damar fonksiyonlarında anormallikler gelişmektedir. Benzer şekilde, vücutta gelişen yeni damarlanmalar makro ve mikroanjiyopatiyi birbirine bağlayabilir, trombosit parçalanması ve ateroskleroz oluşumu tetiklenebilir. Mikrovasküler patolojinin, makrovasküler ateroskleroz da dahil olmak üzere sistemik diyabetik

komplikeasyonlardaki rolu, daha fazla tartişmaya konu olmaya devam etmektedir (Orasanu ve Plutzky, 2009).

4.4.2.1. Kronik mikrovaskuler komplikeasyonlar

4.4.2.1.1. Diyabetik nefropati

Proteinuri, tip 1 diyabetli bireylerin %15-40' ında gorulurken, tip 2 diyabetli bireylerde %5 ile %20 arasında gorulmektedir (Gross ve ark., 2005).

Avrupa Diyabet Aday Komplikeasyon Calışmasına gore, T1DM'li hastalarda kumulatif mikroalbuminuri gorulme sikligi 7,3 yıl içinde % 12,6 olarak bulunmuştur (Gross ve ark., 2005). Bununla birlikte, Danimarka'da yapılan 18 yıllık bir takip calışmasında tip 1 diyabetli populasıyonda % 33' luk bir yaygınlık oranı bildirmiştir (Soedamah-Muthu ve ark., 2008). Diyabetik nefropatinin yaygınlığı, Afrikalı Amerikalılar, Asyalılar ve Yerli Amerikalılarda Kafkasyalılarından daha yuksek gorulmektedir (Gross ve ark., 2005).

Hindistan'da CURES 45, acık diyabetik nefropati için % 2.2, mikroalbuminuri için % 26.9'luk bir prevalansın olduğunu kanıtlamıştır (Adler ve ark., 2003).

Sistolik basınç <120 mm Hg olan bireylerde, sistolik kan basıncındaki 10 mm Hg azalmanın, mikrovaskuler komplikeasyonlarda %13'luk bir azalma ile ilişkili olduğu bildirilmiştir. Kan duzeyleri yuksek seyreden LDL, kolesterol ve trigliserit duzeylerine sahip bireylerde dislipideminin bu faktörlerden bağımsız olarak diyabetik böbrek hastalığı ile ilişkili olduğu belirtilmiştir (Adler ve ark., 2000).

Diyabetik nefropatinin altında yatan patojenik mekanizmalar, reaktif oksijen türlerinin (ROS) oluşumu, ileri glikozilasyon son ürününün (İGÜ) birikmesi ve protein kinaz C (PKC) gibi hücre içi sinyal moleküllerinin aktivasyonunu içermektedir (Cade, 2008; Trevisan ve ark., 2006).

4.4.2.1.2. Diyabetik nöropati

Yaşamı tehdit eden diğer önemli bir komplikasyon olan diyabetik nöropati, diyabetik popülasyonun neredeyse yarısını etkileyen hem periferik hem de otonomik sinirleri etkilemektedir (Tong ve ark., 2006).

Diyabetik nöropatinin gelişme riski, hipergliseminin hem süresi hem de büyüklüğü ile doğru orantılıdır. Ayrıca, bazı bireyler de bu tür komplikasyonların gelişmesinde genetik yatkınlık eğilimine sahip olabilirler (Fowler, 2008).

Diyabetik nöropatinin prevalansı ülkeden ülkeye değişmektedir; Hindistan'da, Kuzey Hintliler arasında (% 29.2) diyabetik periferik nöropati prevalansının yüksek olduğu bildirilmiştir (Chawla ve ark., 2016).

Kuzey Hindistan bölgesinde (Lucknow) ve Kuzeydoğu bölgesinde yapılan diğer çalışmalarda yeni tanı konmuş diyabetli bireyler arasında % 6.6, % 29.2 ve % 29'luk bir yaygınlık görülmüştür (Bansal ve ark., 2014; Dutta ve ark., 2005).

4.4.2.1.3. Diyabetik retinopati

Tip 2 diyabetli bireylerin diyabetik retinopati (DR) gelişme riskinin hem hipergliseminin şiddeti ile hem de hipertansiyon varlığı ile ilişkili olduğu bulunmuştur. ABD'de Fong ve ark yapmış olduğu çalışmayla DR ile birlikte yaklaşık 10.000 bireyde körlük vakasının görüldüğü saptanmıştır (Fong ve ark., 2004).

Hindistan'da, Chennai Kentsel Kırsal Epidemiyoloji Çalışması (CURES) diyabetik popülasyonda % 17,6 olan genel bir DR prevalansı bildirmiştir. Daha yakın zamanda, Sankara Nethralaya DR Epidemiyoloji ve Moleküler Genetik Çalışma, kentsel alanda % 18 ve kırsal alandaki prevalansı %10,3 olarak tahmin edilmektedir (Raman ve ark., 2014; Raman ve ark., 2009).

Diyabetin Dünya Sağlık Örgütü Çok Uluslu Damar Hastalığı Çalışmasında; DR'nin, MI insidansının ve kardiyovasküler hastalıkların ölüm ile ilişkili olduğunu bulmuştur (Fuller ve ark., 2001).

Chawla ve ark tarafından Kuzey Hint bölgesindeki 720 hastayı içeren çalışmada, %15.3' lük prevalans bildirilmiştir (Orasanu ve Plutzky, 2009).

Diyabetik nöropatinin hiperglisemiden periferik sinirlere olan kesin mekanizması tam olarak bilinmemekle birlikte, hiperglisemi ile indüklenen poliol yolağı, İGÜ oluşumunun artması ve oksidatif stres gelişmesi patogeneizde rol oynamaktadır. Periferik sinirlerde görülen hasar, sinir dokusu üzerindeki etkiler veya endotelyal yaralanma veya vasküler disfonksiyon ile oluşmaktadır. Diyabette periferik nöropati, duyusal, fokal / multifokal ve otonomik nöropatiler olarak; bölgeye bağlı olarak çeşitli şekillerde ortaya çıkmaktadır (Jakus ve Rietbrock, 2004).

Diyabetik nöropati nedenli ayak ülseri veya ayak yaralanmaları sonrasında % 80'den fazla olguda amputasyona neden olmuştur (Fowler, 2008). Miguel ve ark tarafından diyabetik nöropati ile periferik nöropatisi olan diyabetli bireylerin, nöropatisi olmayan diyabetli bireylere göre anlamlı derecede daha yüksek kalp rahatsızlığı ve periferik vasküler hastalık (PVH) oranları gösterdiği bildirilmiştir (Chawla ve ark., 2016).

Chawla ve arkadaşları tarafından 2011-2012 yılları arasında, 855 bireyde diyabetik nöropati ile DR ve mikroalbüminüri gelişimi arasında bir ilişki olduğu gösterilmiştir. Diyabetik kardiyak otonomik nöropatinin, DR (% 22' ye karşılık % 14.3), diyabetik nöropati (%14'e karşılık %6.8) ve kötü glisemik kontrol ile güçlü bir ilişkisi olduğu bulunmuştur. Bu nedenle, otonomik sinir sistemi fonksiyonunun tip 2 diyabet teşhisi sırasında ve daha sonra senede bir kez değerlendirilmesi önerilmektedir. Chawla ve ark tarafından otonomik nöropati ve periferik nöropati arasında pozitif bir ilişki olduğu saptanmıştır; ancak bu sonuçlar, istatistiksel olarak istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (Chawla ve ark., 2016).

4.4.2.1.4. Oksidatif stres

ROS' un aşırı üretiminin neden olduğu oksidatif stres; artmış poliol yolağı aktivitesi, İgü oluşması ve PKC seviyeleri de dahil olmak üzere diyabet komplikasyonlarına dahil olan diğer patojenik yolların aktivasyonunda önemli bir rol oynar ve bu da mikro ve makrovasküler komplikasyonların gelişmesine yol açar (Jakus ve Rietbrock, 2004).

Hiperglisemi; hem DNA ve proteinlerle etkileşime giren, hem de özellikle mitokondriyal DNA'yı hedef alan hücresel hasara neden olan ROS oluşumuna neden

olmaktadır. İnsan retina endotel hücresi üzerine yapılan bir çalışmada, hiperglisemiye bağlı ROS'un aşırı üretimiyle çok erken mitokondriyal DNA hasarı olduğu gösterilmiştir (Giacco ve Brownlee, 2010).

ROS'un aracılık ettiği hücresel hasar, mikro damar sisteminde glikozun normal düzeylere inmesinden sonra bile devam eden bir patolojik "hafıza" olabilir. Bazı deneysel çalışmalara göre, diyabetiklerde metabolik bozuklukların gelişiminde en önemli neden olarak mitokondriyal süperoksit aşırı üretimi gösterilmiştir (Xie ve ark., 2008).

Diyabeti olmayan ve bozulmuş glikoz toleransına sahip bireylerde, IR değeri yüksektir ve sigara kullanımı, LDL, trigliserit, HDL ve sistolik kan basıncı gibi kardiyovasküler risk faktörleri düzenlendikten sonra %20 lik bir kısmında KVH riskinin 2 katına çıktığı görülmüştür (Duncan, 2011).

İGÜ oluşumu, PKC aktivasyonu, artmış poliol değişimi ve hekzosamin oluşumu gibi diyabetik komplikasyonlarda rol oynayan diğer yollar, oksidatif strese bağlı olarak, çoklu mekanizmalarla makrovasküler komplikasyonların oluşmasında rol oynamaktadırlar. Glikoz konsantrasyonlarının artması; vasküler düz kas hücreleri (VSMC'ler), endotelial hücreler ve makrofajlarda çoklu proinflamatuvar ve pro-aterosklerotik hedef genleri düzenleyen önemli bir faktör olan nükleer faktör kappa B'yi aktive etmektedir. Hiperglisemi, ateroskleroz gelişmesine neden olan oksidatif stres oluşmasına yol açmaktadır (Giacco ve Brownlee, 2010).

4.4.2.2.Kronik makrovasküler komplikasyonlar - diyabette kardiyovasküler komplikasyonlar

Diyabet olgusu, konjestif kalp yetmezliği, hipertansiyon ve akut miyokard infarktüsü gibi kardiyovasküler olaylar için, bir risk faktörüdür. Diyabetin, endotel hasarı ile ateroskleroz oluşumunu artırdığı ve sonuçta kardiyovasküler olayların geliştiği bildirilmiştir (Arauz ve Raskin, 1996).

Endotelial hücreler; vasküler tonusu ve vasküler reaktiviteyi düzenlemek amacı ile çeşitli vazokonstriktör ve vazodilatör ajanların salınmasından sorumludurlar. Endotel aracılı vazodilatör faktörlerden başlıcaları; nitrik oksit (NO), prostasiklin (PGI₂) ve endotel aracılı hiperpolarize edici faktör (EDHF)' dür. Endotel ilişkili

vazodilatasyon yanıtında bozukluğa neden olan mekanizmalar arasında; sinyal iletimi ve substrat kullanılabilirliğinin bozulması, NO sentezi azalması ya da serbest oksijen radikallerini salıveren NO inaktivasyonunu artırmaları, NO'nun düz kas hücrelerine difüzyonunun bozulması, NO'ya düz kasın cevap verme yetisinin azalması ve endotel aracılı olan kasıcı faktörlerin sentezlerinin artması sayılabilir (Çınar ve ark., 2001; Utkan ve ark., 2001).

Diyabette kardiyovasküler komplikasyonların gelişmesinde oksidatif stres de rol oynamaktadır; serbest radikallerin oluşumunun artması ve antioksidan savunma mekanizmasının zayıflaması reaktif oksijen türevlerinin oluşmasına neden olmaktadır (Miller ve ark., 1994).

Antioksidan durumla ilgili farklı bulgular olmasına rağmen süperoksit dismutaz, katalaz, glutatyon ve askorbik asidin plazma ve doku konsantrasyonlarının azaldığı gösterilmiştir. Yapılan pek çok çalışmada glikozun otooksidasyonu ile oluşan reaktif oksijen türevlerinden süperoksit anyon radikalının NO ile reaskiyona girerek endotel disfonksiyonuna neden olduğu (Vriese ve ark., 2000); aterosklerozda süperoksit anyon radikalının oluşumunun arttığı bildirilmiştir (Hu ve ark., 1994; Puddu ve ark., 2000)

4.4.3. Kardiyomiyopati

Kardiyomiyopatiler veya kalbin normal işlevini bozan kalp hastalıkları, aile öyküsü ile veya sonradan kazanılmış olmakta; bu bozuklukların sınıflandırılması aritmojenik, dilate, hipertrofik, iskemik veya kısıtlayıcı olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu çeşitli kalp yetmezliği tipleri için spesifik tanı kriterleri net olmamakla birlikte hastalıkların patogenezi ve tedavi yöntemleri önemli ölçüde farklılık göstermektedir (Bozkurt ve ark., 2016).

Bu farklı tipler, genellikle transtorasik ekokardiyografi, manyetik rezonans görüntüleme veya Benek izleme ekokardiyografinin ortaya çıkardığı alanlar gibi non-invaziv ölçümler kullanılarak değerlendirilen kalbin morfolojisi ve fonksiyonundaki değişikliklerle kategorize edilmektedir. Swan-Ganz kateterizasyonu, arteriyel hat kateterizasyonu veya transözofageal ekokardiyografi gibi ek minimal invaziv yöntemler de kullanılabilir. Bu yaklaşımların her biri,

kardiyak fonksiyonun sağlıklı değeriendirilmesini sağlamaktadır (Williams ve ark., 2017).

Diabetes mellitus kardiyovasküler komplikasyonların gelişme riskini artırmaktadır. Diğer kardiyomiyopati tiplerinin aksine, diyabetik kardiyomiyopatinin (DKM) teşhisi diğer komplikasyonlardan hariç tutulmaktadır ve belli testlerden ziyade, doktorlar semptomların diğer potansiyel nedenlerini göz ardı etmektedirler. Başlangıçta, koroner kalp hastalığı olmayan ancak kalp yetmezliği gözlemlenen diyabetli bireylerin bulguları üzerinde durulmuş ve genel olarak DKM; sistolik ve diyastolik sol ventrikül disfonksiyonu, patolojik sol ventrikül hipertrofisi ve artmış interstisyel fibrozisin bir kombinasyonu olarak tanımlanmıştır (Lorenzo ve ark., 2017).

4.4.3.1. Diyabetik kardiyomiyopatide teşhis ve prognoz

DKM' nin doğru teşhisi ve diyabet tiplerinden bağımsız olarak var olup olmadığı halen net değildir (Holscher ve Bugger, 2016; Litwin, 2013). Diyabetin ve özellikle glisemik kontrolde dalgalanmaların hastalığa yatkınlığı değıştirdiğı belirtilmiştir. Tip 1 diyabet için, Diyabet Kontrol ve Komplikasyonlar Epidemiyolojisi tarafından Diyabet Kontrol ve Komplikasyon Deneme grubunda hasta kohortunun (aynı yaş grubu, ileriye dönük izlem) sürekli takibi, 30 yıl sonrasında bile, yoğun tedavi gören bireylerin kan glikoz düzeylerini kontrol ederek, kardiyovasküler hastalık ve miyokard enfarktüsü veya kardiyovasküler hastalık kaynaklı ölüm dahil olmak üzere majör olaylarda yaklaşık % 30' luk bir düşüş olduğu gösterilmiştir (Diabetes, 2016).

Benzer şekilde, glisemik kontrolün sıkı şekilde takip edildiğı tip 2 diyabetli bireylerin uzun süreli takip çalışmasında daha az ana kardiyovasküler olay ortaya çıktığı bildirilmiştir (Hayward ve ark., 2015).

Birçok çalışmada glikoz seviyelerinin önemli olduğu göz önüne alınarak, glikoz alımını, depolanmasını ve kullanımını kontrol eden sinyal yollarına odaklanılmıştır. Araştırmaların temel konusu hücrel disfonksiyonu teşvik ederek kardiyak disfonksiyonun gelişiminde rol oynayan insülin direnci olmuştur. Bu durum,

mitokondrinin ayrılmasını, bozulmuş otofajiyi, artmış inflamasyonu, Ca^{+2} tutulumunu ve apoptozu içine almaktadır (Williams ve ark., 2017).

Kardiyak hücrelerin moleküler değişikliklerden oluşan bir kaskata tam olarak yanıt vermesi, transkripsiyon faktörü Foxo1 (Forkhead box protein O1) gibi iyi bilinen faktörleri içermektedir. Bu durumda metabolizma, oksidatif stres, inflamasyon ve apoptoz için genlerin düzenlenmesinde önemli bir role sahip olduğu düşüncesini yakın zamanda yapılan çalışmalarla ortaya çıkarmıştır (Kandula ve ark., 2016).

Sağlıklı bireylerde, insülin içerisindeki postprandiyal artışların; kan dolaşımından glikoz alımını uyardığı, anabolik metabolizmayı ve enerji depolamasını başlattığı saptanmıştır. Bundan farklı olarak, hızlı bir şekilde katabolik metabolizma için glukagon gibi diğer hormonların adenozin trifosfat (ATP) için sinyal oluşturdıkları bildirilmiştir (Guo, 2017).

4.4.3.2. Diyabetik kardiyomiyopatinin nedenleri

Diyabetes mellitus, açlık sırasında dolaşımdaki yüksek seviyelerde bulunan glikoz seviyeleri ile karakterizedir, ancak diyabet tipleri arasında farklılıklar gözlemlenmektedir. İnsüline bağımlı diyabetes mellitus olarak da adlandırılan tip 1 diyabet, pankreastaki β -hücrelerinin otoimmün yıkımını ifade etmektedir ve bu da yetersiz insülin üretimine yol açmaktadır. İnsüline bağımlı olmayan diyabetes mellitus olarak anılan tip 2 diyabet ise, insülin duyarlılığının kaybı ile tanımlanır ve yetersiz beslenme, obezite ve hareket eksikliği ile ilişkilendirilir. Diyabetli bireylere sıklıkla hipertansiyon ve koroner arter hastalığı gibi bozukların eşlik ettiği bilinmektedir (Williams ve ark., 2017).

Diyabetin özellikle miyokardiyal disfonksiyona nasıl katkıda bulunduğuna dair mekanizmalar halen net olarak anlaşılamamıştır. Tip 2 diyabetli bireylerin kalp yetmezliği için yüksek risk altında olduğu bilinmektedir. Diyabetli bireylerde daha sık ve daha erken yaşlarda kalp yetmezliği gelişimi gözlemlenmektedir (Shah ve ark., 2015).

Diyabetli bireyler sıklıkla çoklu risk faktörlerini birlikte bulundurdıkları için, diyabetin kalp yetmezliğine ne ölçüde katkıda bulunduğunu tanımlamak oldukça zordur (Williams ve ark., 2017).

4.4.3.2.1 Değiştirilebilir risk faktörleri

Beslenme ve egzersiz, kardiyovasküler sağlık için son derece önemli olan değiştirilebilir faktörlerdir (Steinberg ve ark., 2017).

Düzenli bir beslenme alışkanlığı olan bireylerde dahi, hareketsiz yaşam tarzı, glikoz alımı ve kalp sağlığı üzerinde zararlı etkilere sebep olabilmektedir (Williams ve ark., 2017).

Hem beslenme hem de egzersiz, genel sağlığın korunmasında önemlidir ve yetersiz günlük beslenme, DKM gibi kronik hastalıklara yol açmaktadır. Diyabet ve kalp yetmezliği gibi hastalıklar için beslenme ve egzersiz en kolay şekilde değiştirilebilecek risk faktörleri arasındadır (Williams ve ark., 2017).

Bununla birlikte, sosyal etkileşimler uygun bir beslenme ve yeterli bir egzersiz yapmak için zorlayıcı olmaktadır. Özellikle sosyoekonomik statü, genel olarak beslenme ve egzersiz kalp sağlığı üzerinde büyük bir rol oynamaktadır (Puckrein ve ark., 2015).

Politika, reformlar ve eğitim sosyoekonomik durumu değiştirebilir olsa da, bu risk faktörü, özellikle geniş toplumlarda, doğrudan beslenme ve egzersiz alışkanlığının kazanımında yeterli katkıyı sağlayamamaktadır. Stres, diyabet ve kalp yetmezliği için bir başka değiştirilebilir risk faktörüdür (Esler, 2017). Bu kronik hastalıkta, bir hastanın prognozunu büyük ölçüde iyileştirmek için yaşam tarzında tümüyle değişiklik sağlamak gerekmektedir. Bununla birlikte, kronik hastalıklarda, hareketsiz geçirilen zamanları en aza indirmek gibi küçük değişiklikler bile yaşam kalitesini arttırmak ve geliştirmek için çok anlamlı olmaktadır (Healy ve ark., 2008). Yapılan çalışmalarda kardiyometabolik riskin azaltılmasının ve glisemik kontrolün iyileştirilmesinin, hareketsiz yaşam tarzını değiştirmekle mümkün olabileceği gösterilmiştir (Dempsey ve ark., 2016).

4.4.3.2.2 Değiştirilemeyen risk faktörleri

Değiştirilebilir risk faktörleri, yaş, ırk ve cinsiyet gibi değiştirilemeyen risk faktörleri tarafından daha da artırılmaktadır. Asyalılar ve Afrikalı Amerikalılar gibi bazı topluluklar diyabet ve kalp yetmezliği geliştirmeye yönelik genetik yatkınlığa sahiptir. Örneğin, aldehid dehidrojenaz 2 familyasındaki (mitokondriyal; ALDH2) spesifik bir genetik varyant, metabolik sendromla anlamlı şekilde ilişkili bulunmuştur, bu da etkilenen bireylerin daha yüksek oranda bir kardiyovasküler hastalık ve diyabet riski taşıdığı anlamına gelmektedir (Zhu ve ark., 2017).

Bununla birlikte, Kore Genom ve Epidemiyoloji Çalışmasında, prediyabet ile anlamlı şekilde bağlantılı olan Ansong ve Ansan kohortlarında glukokinaz (GCK) ve YKT6 v-SNARE homologlarında (YKT6) iki tek nükleotid polimorfizmi (SNP) tanımlanmıştır (Choi ve ark., 2017).

Yakın zamanda yapılan bir çalışmada, Afrikalı Amerikalılarda tip 2 diyabetin yüksek görülme sıklığını açıklamaya yardımcı olabilecek bazı genetik varyantlar üzerinde durulmuştur (Ng, 2015).

Diğer ırksal alt popülasyonlarda çok daha fazla örnek bulunmakta, fakat hepsi birlikte, sağlık hizmetleri, hastaların hassas tedavilere gereksinim duyduğunun farkına varılmasına katkı sağlamak ve değiştirilebilir olmayan risklerin etkilerini en aza indirmek için çalışmaktadır (Williams ve ark., 2017).

Ayrıca, yakın zamanda ortaya çıkan bilgiler doğrultusunda epigenetik değişiklikler, hastaların hastalık aşamalarının bir göstergesi olarak kullanılmaktadır. Kısaca, epigenetik, genetik kodu değiştirmeden gen ifadesinin modifikasyonunu içermektedir (Wende, 2016).

Bu modifikasyonlar arasında DNA metilasyonu, histon modifikasyonları (ör. Asetilasyon) ve kodlayıcı olmayan (non-coding) RNA'lar bulunmaktadır. Bu modifikasyonlar, SNP'lerin tam tersidir ve çevresel etkiler ile genom arasındaki etkileşimi göstermektedir. DKM'nin nedeninin belirlenmesi için bireylerin yaşamı boyunca meydana gelebilecek epigenetik değişikliklerin tam olarak anlaşılması ve verilen ilaçların kişiselleştirilmesi gerekmektedir. Terapötik müdahale için özellikle odaklanılması gereken başka bir faktör ise mikroRNA'lardır (Guo ve Nair, 2017).

DKM' nin kronik bir hastalık olması bireyler arasında farklılık göstermektedir. Bununla birlikte, genel eğilimler hakkında daha fazla bilgi sahibi olunması durumunda, epigenetik değişiklikler, değiştirilebilir risk faktörleri olarak işlev görmektedir (Williams ve ark., 2017).

Diyabetli olmayan bireylerin ciddi şekilde azalmış kalp fonksiyonlarına sahip olabileceği, ancak diyabetin kalp yetmezliği ile uyumsuz olduğu düşünülmektedir. Diyabetle birlikte kalp yetmezliği bulunan bireyleri tedavi etmenin değerli olduğu düşünülmektedir. Diyabet ve kalp yetmezliği için birlikte görülen risk faktörleri bulunmaktadır ve bunlar çoğunlukla substrata sahip olunması ile ilgilidir. İskemide oksijen eksikliği ve diyabetli bireyin aşırı beslenmesi DKM' yi ölümcül yapan çevresel faktörlere katkıda bulunmaktadır (Williams ve ark., 2017).

4.4.3.3. Diyabetik kardiyomiyopati mekanizması

DKM'de hiperglisemi, kardiyak kontraktilitede azalma ve kardiyak inflamasyonda artma gibi sistemik bir seviyede belirgin değişiklikler meydana gelmektedir. Artmış fibroz ve yağ asidi kullanımı gibi hücresele seviyede ek değişiklikler görülmektedir. Ayrıca, gen ifadesindeki değişiklikler, sinyal verme ve protein seviyeleri gibi moleküler seviyede değişiklikler saptanmıştır. DKM'ye yol açan kalp dokusunda artan stres organizmal, hücresele ve moleküler seviyede yükselmeler olarak kombine halde karşımıza çıkmaktadır. Organizmal seviyede artmış kardiyak rijidite, kardiyak kontraktil fonksiyonu, tansiyonu ve kardiyak outputu değiştirmektedir. Endoplazmik retikulum stresi, bozulmuş otofaji, artmış apoptoz-nekroz, inflamasyon ve değiştirilmiş insülin sinyalizasyonu dahil olmak üzere fonksiyondaki bu azalmaya katkıda bulunacağı düşünülen bir dizi hücresele ve moleküler mekanizma bulunmaktadır (Bugger ve Abel, 2014).

İnsülin duyarlılığındaki azalmaya bağlı olarak, daha az glikoz alımı vardır ve bu da hipergliseminin gelişimine katkıda bulunmaktadır. Bu da ileri glikozilasyon son ürünleri (İGÜ' ler) üretimi yoluyla moleküler düzenlenme hakkında geri bildirim yapmaktadır. Bu glikozile proteinler, kolajen molekülleri çapraz bağlar, kollajen parçalanamadığı için fibroz artışına neden olurlar (Bugger ve Abel, 2014).

DKM' nin ayrıca, DNA hasarına yol açan ve hatta İGÜ reseptörlerinin artışına neden olan reaktif oksijen türlerindeki (ROS) artış ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. Diyabetli bireylerde görülen hiperlipideminin, protein üretiminin artmasına bağlı olarak endoplazmik retikulum üzerindeki stresi artırdığı ve yeterli ATP üretmeye çalışırken mitokondri üzerine baskıyı artırdığı gösterilmiştir. Üretimdeki bu artış ROS seviyelerinin artmasına neden olmaktadır (Wellen ve Hotamisligil, 2005).

Kardiyovasküler hasarı olan bireylerde antioksidan ilaç kullanımının yararlarını gösteren pekçok çalışma yapılmıştır (Ni ve ark., 2016; Saklani ve ark., 2016; Xu ve Kong, 2017). Karotenoid biksin, anti-enflamatuar ve antioksidan aktiviteye sahiptir ve kardiyak fibrozu inhibe ettiği ve proinflamatuar sitokinleri azalttığı gösterilmiştir. Aynı zamanda nükleer faktör-E2 ilişkili faktör 2 (Nrf2) yollarını aktive ederek yüksek yağlı diyetin tetiklediği oksidatif stresi azaltmıştır (Xu ve Kong, 2017).

Tip 1 ve Tip 2 diyabette, Mito-TEMPO'nun ((2- (2,2,6,6-Tetrametilpiperidin-1-oksil-4-ilamino) -2-oksoetil) trifenilfosfonyum klorür) ROS'u düşürdüğü, apoptozu azalttığı ve hipertrofiyi azalttığı gösterilmiştir (Ni ve ark., 2016).

Flavonoit olan quercetin-3-O-rutinosid (Rutin)'in, streptozotosin ile indüklenen diyabetli farelerde azaltılmış antioksidan kapasitesini, artan inflamasyonu ve dejeneratif değişiklikleri iyileştirdiği bildirilmiştir (Saklani ve ark., 2016).

DKM ile metabolik disfonksiyon arasında mitokondride sıkı bir bağlantı bulunmaktadır, bu da karbon yerleşiminin kaymasına neden olmakta ve solunum yoluyla ROS varlığını artırmaktadır. Sağlıksız bir kalpte ROS'un büyük miktarı mitokondriyal elektron taşıma zincirinden gelmekte ve ROS sinyalinin uyumsuz hipertrofi ve kontraktıl disfonksiyonla ilişkili olduğu ve mitokondriyal DNA'ya zarar verdiği saptanmıştır. Bu mitokondriyal DNA hasarının enerji çıkışını etkilediği ve bunun sonucunda da kardiyomiyosit ölümüne yol açtığı belirtilmiştir (Okonko ve Shah, 2015).

Mitokondriyal disfonksiyon ve ROS üretim döngüsü, DKM'ye önemli katkıda bulunan hücre ölümü ve fibrozis gibi daha büyük ölçekli sorunlara yol açmaktadır. Büyüme faktörü- β gibi sinyal yollarındaki artışın kardiyomiyositlerde apoptozu artırabildiği gösterilmiştir. Bir başka sinyalleme molekülü olan vasküler endotelyal

büyüme faktörü B (VEGFB), kardiyomiyositlerin yüzeyinde yer alır ve yüksek glikoza yanıt olarak yaşam döngüsünü devam ettirmek için gen ekspresyonuna sinyal vermek üzere serbest bırakılır. Bununla birlikte diyabetli bireylerde kardiyomiyositlerin VEGFB'ye yanıt veremediği ve apoptoziste bir artışa neden olduğu gösterilmiştir (Lal ve ark., 2017).

4.5. miRNA'lar ve İşlevleri

MikroRNA'lar (miRNA) kodlama yapmayan, 22 nükleotid uzunluğundaki endojen, tek iplikli RNA molekülleridir. Genel olarak mRNA ekspresyonunun baskılanmasında, transkripsiyon sonrası düzenlemelerde ve mRNA' nın yıkılmasında görev alırlar (Hitit ve ark., 2015).

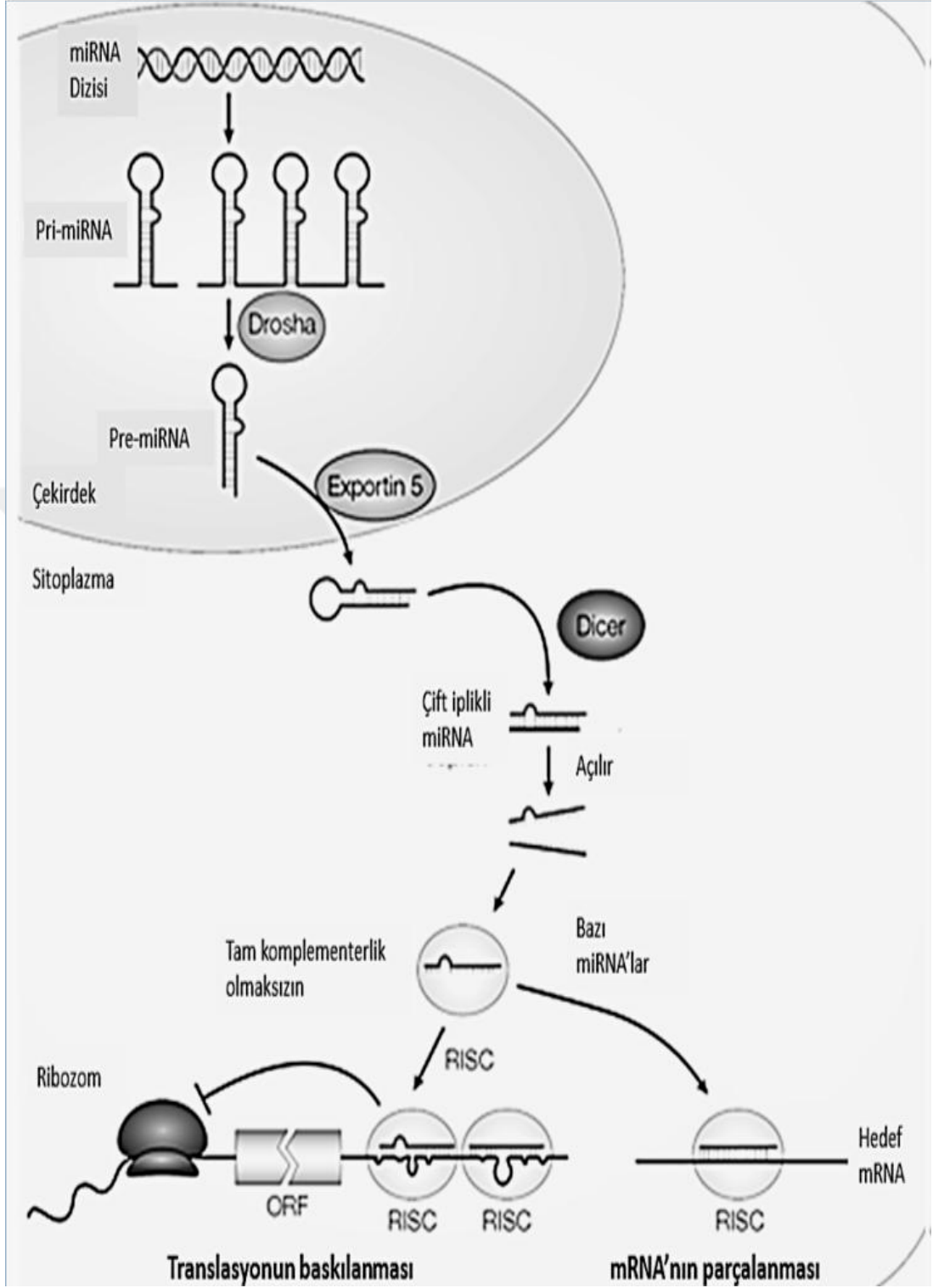
Hayvanlarda, miRNA biyogenezinde rol oynayan iki ana unsur bulunmaktadır. Birincisi, kabul edilmiş olan, çekirdek içindeki intergenik miRNA' yı kodlayan genler (DNA), polimeraz II ile bir ribonükleaz III (RNaz III) tarafından distal kök kısmında daha iyi tanınan ve ayrılan primer mRNA'ya (pri-mRNA) kopyalanır ve sonrasında; endonükleaz, Drosha, esansiyel kofaktör DiGeorge sendromu kritik bölge geni 8 (DGCR8) ile birlikte, öncül miRNA (pre-miRNA) olarak adlandırılan daha kısa bir hairpine dönüşür. Yaklaşık 70 nükleotit içeren pre-miRNA, daha sonra aktarma faktörleri Exportin 5 ve Ran-GTP ile çekirdekten sitoplazmaya aktarılır ve interferon ile indüklenmiş proteinin bir protein aktivatörü ile bağlantılı başka bir RNase III endonükleaz olan Dicer ile bölünür. Kinaz (PACT), çift sarmallı RNA bağlanma proteini ve TAR RNA bağlanma proteini (TRBP), yaklaşık 22 nükleotitli bir çift sarmallı miRNA'ya dönüştürülür. Sonuçta, miRNA dupleks, RNA kaynaklı susturma kompleksi (RISC) oluşumu için AGO2 gibi argonaute (AGO) proteinlerine yüklenmektedir. RISC' de bulunan kılavuz miRNA, olgun miRNA'lardan oluşmaktadır ve hedef mRNA'nın inhibe edilmesi, parçalanması, modifikasyonu veya translasyonunun baskılanması için hedeflenmemiş mRNA'sının 3 'çevrilmemiş bölgesini (UTR) tanır. Bazen miRNA, inaktif mRNA'nın baskılanması, kromozomal remodeling, mikroribonükleoprotein (microRNP) düzenlemesi veya hedef mRNA'nın spesifik bölgelerine bağlanma gibi doğrudan ve dolaylı mekanizmalar yoluyla mRNA aktivasyonunu artırmaktadır (AU bakımından zengin öge veya

5'UTR) (Saraiya ve ark., 2013; Valinezhad ve ark., 2014; Vasudevan, 2012) (Şekil 2,3).

Kısaca, olgun miRNA' lar genin çok kısa intronları tarafından üretilbilir, miRNA' ları doğrudan oluşturmak için mirtronlar olarak adlandırılabilir ve daha sonra kabul edilmiş biyojenez yoluna erişebilir (Condorelli ve ark., 2010).

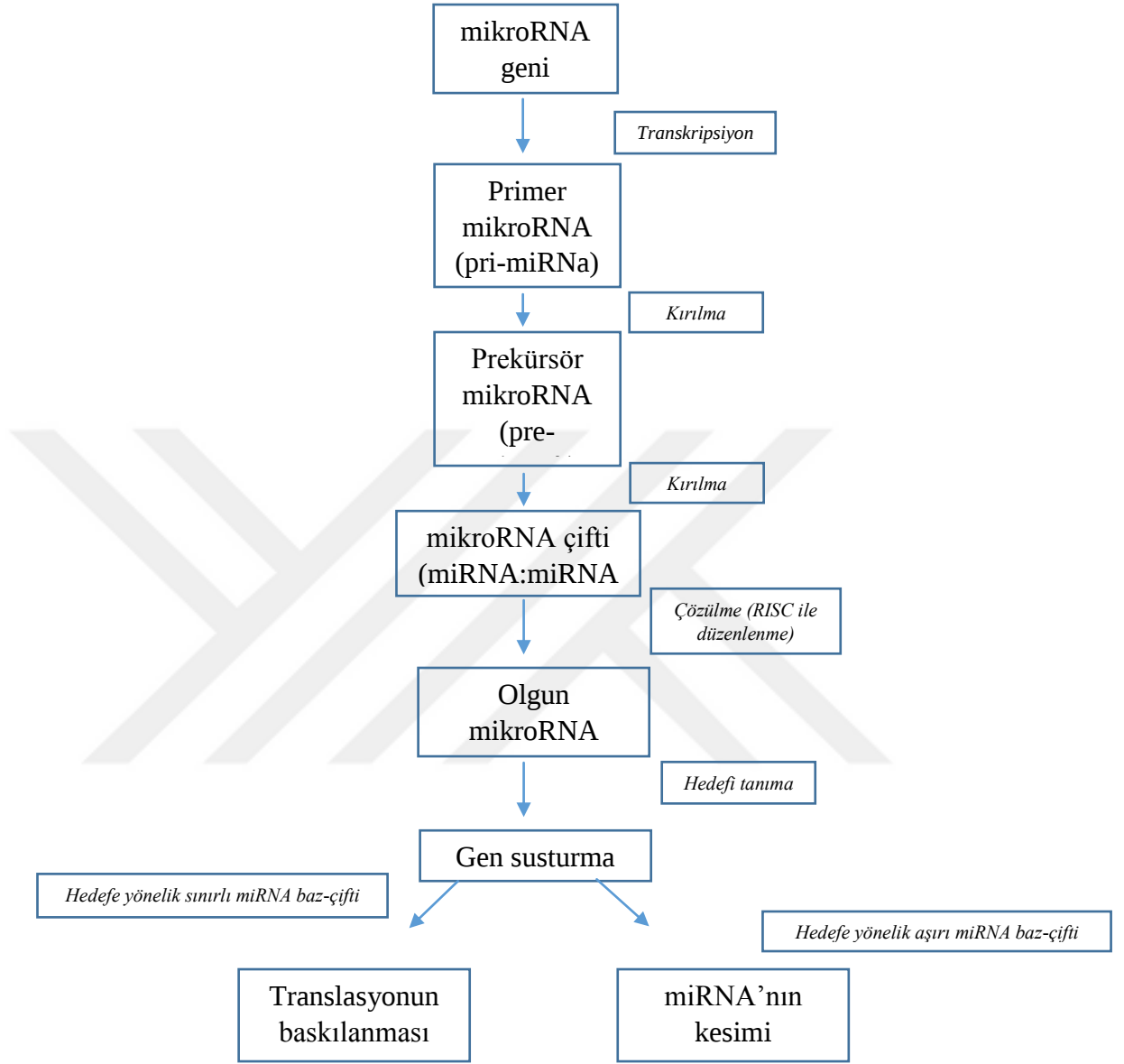
Bazı durumlarda, miRNA' lar ayrıca eksozomlar ve apoptotik cisimler gibi vezikül benzeri yapılar yoluyla salgılanabilmektedir (Gianluigi ve ark., 2014).

Ek olarak, miRNA'ların transkripsiyon sonrası düzenlemesi ayrıca miRNA işlemeyi ve hedef tanımayı potansiyel olarak etkileyebilecek olan RNA düzenleme, modifikasyon ve dejenerasyonunu içermektedir (Blow ve ark., 2006) (Şekil 2,3).



Şekil 2. miRNA Yolağı (He ve Hannon, 2004)

Kısaltmalar: RISC: RNA kaynaklı susturma kompleksi, CRF: Kortikotropin Salıcı Faktör



Şekil 3. miRNA olgunlaşması ve işlevleri (Macfarlane ve Murphy, 2010)

MiRNA geni, bir öncül mikroRNA (pre-miRNA) oluşturmak üzere nükleer ayrılma geçiren primer bir mikroRNA (pri-miRNA) öncül molekülü üretmek üzere kopyalanır. pre-miRNA, olgun miRNA'yı içeren bir mikroRNA çifti (miRNA:miRNA*, yıldız ile belirtilen zincir) oluşturmak için sitoplazmada ayrılır. Çift yönlü çözülür ve olgun miRNA RISC'de toplanır. MiRNA, mRNA bölünmesi veya mRNA hedefi arasındaki tamamlayıcılık seviyesine bağlı olarak mRNA bölünmesi veya translasyon baskılanması yoluyla gen susturmak için hedef mRNA ile eşleşir.

4.5.1. Diyabetik Kardiyomiyopatide miRNA

Diyabetik kardiyomiyopati (DKM), diyabet ile ilgili diğer kardiyovasküler hastalıklara göre nisbeten daha yeni tanımlanmış bir hastalık olmakla birlikte, mekanizmasının koroner kalp hastalığından tamamen farklı olduğu düşünülmektedir. DKM' nin patogenezi daha karmaşık olarak nitelendirilmiştir ve bu zamana kadar net olarak anlaşılamamıştır. Kalsiyum tutulumunun bozulması, metabolizmada meydana gelen değişiklikler, oksidatif stresin artması, endotelial disfonksiyon ve mitokondriyal disfonksiyonun yeniden oluşumu, DKM'nin patogeneze katkı sağlamaktadır (Asrih ve Steffens, 2013; Trachanas ve ark., 2014; Wegner ve ark., 2014).

Protein kinaz C, NfκB, peroksizom proliferatörü aktive edilmiş reseptör-α, fosfatidilinositol 3 kinaz (PI3K) ve mitojen aktif protein kinaz (MAPK) sinyalleri dahil olmak üzere, DKM' nin gelişimine katkıda bulunan bir dizi sinyalleme proteini ve yolağı bulunmaktadır (Huynh ve ark., 2014; Liu ve ark., 2012).

Elimizdeki güncel bilgiler ışığında, miRNA' ların DKM patogenezinde önemli rol oynadığı bilinmektedir. miRNA' lar; Lee ve arkadaşları (Lee, Feinbaum, ve Ambros, 1993) tarafından 1993'te *C. elegans* nematodlarında tanımlanmıştır. Yüksek düzeyde korunmuş, kısa (~18-25 nükleotid), kodlamayan, tek iplikli RNA molekülleri olan yeni bir aile olarak görülen miRNA'lar transkripsiyon ve transkripsiyon sonrası genleri düzenlemektedir. Hedef miRNA' larının (Rawal ve ark., 2014) 3' çevrilmemiş bölgesine (3' UTR) bağlanarak ifade edilmektedirler. miRNA' ların, hücre proliferasyonu, apoptoz, nekroz, göç ve farklılaşma dahil olmak üzere çok sayıda kritik biyolojik süreçte önemli rol oynadığı göz önüne alındığında, (disregüle edilmemiş) düzenli miRNA' ların diyabet ve kardiyovasküler hastalıklar dahil olmak üzere çeşitli hastalıklara katkıda bulundukları bilinmektedir (Bartel, 2004; Udali ve ark., 2013; Zhou ve ark., 2014).

miR-126, miR-17, miR-92a, miR-145, miR-155, miR-133 ve miR-208a'nın koroner arter hastalığı ile ilişkili olduğu; miR-1, miR-21, miR-208, miR-133a / b ve miR-499, akut kardiyak enfarktüsün patogenezinde önemli olduğu bulunmuştur. Ayrıca, miR-24, miR-125b, miR-195, miR-199a ve miR-214' kalp yetmezliği ile ilişkili miRNA' lardır (Fichtlscherer ve ark., 2010; Udali ve ark., 2013).

Yapılan çalışmalarda, miRNA'lar ve DKM arasında bir ilişki olduğu gösterilmiştir (Diao ve ark., 2011; Figueira ve ark., 2014; Rawal ve ark., 2016).

DKM' li bireylerin kalplerindeki miRNA ekspresyon düzeyinin sağlıklı bireylere göre farklı olduğu saptanmıştır (Nandi ve ark., 2015; Rawal ve ark., 2016).

Ayrıca, çeşitli sıçan ve fare diyabetik modellerinin kalplerindeki miRNA ekspresyon seviyeleri analiz edildiğinde, miRNA' ların anormal düzeyde arttığı görülmektedir. Diğer çalışmalarda, miRNA'ların kardiyomiyosit hipertrofisi, miyokardiyal fibrozis, kardiyomiyosit apoptozisi, mitokondriyal disfonksiyon, miyokardiyal elektrik yeniden modelleme ve epigenetik modifikasyon dahil olmak üzere DKM' nin önemli patofizyolojik süreçlerine katkıda bulunduğu gösterilmiştir (Chavali ve ark., 2012; Yu ve ark., 2015).

4.5.2. Kardiyomiyosit Hipertrofisinde miRNA'lar

Kardiyomiyosit hipertrofisi, DKM' nin farklı yapısal özelliklerinden biridir. Yapılan çalışmalarda çeşitli miRNA' ların düzensiz olduğu ve DKM' de kardiyomiyosit hipertrofisi patogeneze katkıda bulunduğunu gösterilmiştir. miR-30c, miR-133a, miR-150 ve miR-373' ün DKM' de downregüle olduğu yani azaldığı, miR-451' in ise upregüle olduğu yani arttığı saptanmıştır (Duan ve ark., 2013; Feng ve ark., 2010; Kuwabara ve ark., 2015; Raut ve ark., 2015; Shen ve ark., 2011).

miR-133 kalp dokusunda çok fazla eksprese edilmektedir ve diyabetik olmayan kardiyak hipertrofide çeşitli fizyolojik ve patofizyolojik olayları düzenlediği bilinmektedir (Care ve ark., 2007; Liu ve ark., 2008).

Hipergliseminin kardiyak hipertrofiye neden olduğu bilinmektedir. Yapılan çalışmalarda, miR-133a'nın ekspresyon düzeyinin, yüksek glikoz uygulanan kardiyomiyositlerde ve streptozotosin (STZ) ile oluşturulan diyabetik fare kalp dokusunda azaldığı ve miR-133a transfeksiyonunun, gen ekspresyonu ve hipertrofik değişiklikleri önlediği bildirilmiştir (Feng ve ark., 2010). Bu nedenle miR-133a'nın diyabette glikoza bağlı oluşan kardiyomiyosit hipertrofisinde etkili olduğu belirtilmiştir. Başka bir çalışmada ise, serum ve glukokortikoid aracılı düzenlenmiş

kinaz-1 ve insülin benzeri büyüme faktörü-1 (IGF-1) reseptörünün miR-133a' nın potansiyel hedefleri olabileceği ileri sürülmüştür (Liu ve ark., 2008).

Histon asetil transferazın bir türü olarak, transkripsiyonel ko-aktivatör, p300'ün hipertrofik uyarıcı, özellikle hiperglisemi tarafından indüklenen kardiyomiyosit hipertrofisinde görev aldığı bildirilmiştir. Yapılan çalışmalarda, miR-150 ekspresyon seviyesinin önemli ölçüde azaldığı belirtilmiştir (Duan ve ark., 2013).

MiR-373'ün de hipergliseminin neden olduğu kardiyak hipertrofinin patogeneğinde rol oynadığı gösterilmiştir. Bununla birlikte miR-373'ün, STZ ile indüklenmiş diyabet modeli oluşturulmuş farelerin kalplerinde azaldığı bildirilmiştir. Bundan farklı olarak, neonatal sıçanların kardiyomiyositlerinin glikoza maruz bırakılması sonucunda, miR-373'ün ekspresyon düzeyinin arttığı saptanmıştır (Shen ve ark., 2011).

Trigliserit birikimi ve palmitik asit gibi doymuş yağ asitlerinin artması, diyabetik kardiyak hipertrofide indükleyici olarak rol oynar. miR-451 ekspresyon düzeylerinin ise, hipertrofik diyet modeli oluşturulmuş obez fare kalplerinde ve palmitat ile uyarılan yenidoğan sıçan kardiyomiyositlerinde anlamlı derecede yüksek olduğu gözlenmiştir (Kuwabara ve ark., 2015).

4.5.3. Miyokardiyal Fibroziste miRNA'lar

Miyokardiyal fibrozis, DKM' nin başka bir temel nedeni olarak görülmektedir. Ekstrasellüler matrikste aşırı oranda birikme görülmekte ve özellikle de kollajen yapıda birikmeden kaynaklı olarak miyokard sertliği artmakta ve bu da geri dönüşümsüz doku hasarına yol açmaktadır. Bu durumun sonucu olarak miyokardiyal fibrozis oluşmaktadır (Huynh ve ark., 2014).

Kardiyak hipertrofi ile birlikte miR-133a'nın diyabet kaynaklı miyokardiyal fibrozisin patogeneğinde rol oynadığı saptanmıştır. MiR-133a'nın ekspresyon seviyesi, STZ ile indüklenen diyabetik farelerin kalplerinde azaldığı görülmüştür (Chen ve ark., 2014).

Ayrıca, miR-133a aşırı ekspresyonu, majör fibrozis belirteçlerinin ve mikroskobik incelemenin değerlendirilmesinde gözlemlendiği gibi kardiyak fibrozu

belirgin bir şekilde düzeltmekte, bu da miR-133a'nın kalp fibrozisinin karşısında potansiyel bir terapötik tedavi hedefi olduğunu göstermektedir (Chen ve ark., 2014).

MiR-21'in periferik kan seviyesi miyokardiyal fibroz için bir biyobelirteç olarak gösterilmiştir (Ji ve ark., 2007). Yakın zamanda yapılan bir çalışmada, miR-21'in, yükselmiş fibroblast proliferasyonu ve kollajen sentezi ile birlikte yüksek seviyelerde glikoza yanıt olarak sıçan kardiyak fibroblastlarında arttığı gösterilmiştir (Liu ve ark., 2014).

4.5.4. Kardiyomiyosit Apoptozunda ve Mitokondriyal Disfonksiyonda miRNA'lar

miR-34a, miR-1, miR-206, miR-195 ve miR-30d gibi farklı miRNA'lar DKM ile ilişkili kardiyomiyosit apoptosis ve mitokondriyal disfonksiyonunda rol oynamaktadır. Yüksek düzeyde glikoz, kardiyomiyosit apoptozunu tetikleyerek DKM' nin patojenezine katkıda bulunduğu bilinmektedir; Bu süreçte miR-34a'nın aktif olduğu bulunmuştur. Yüksek düzeyde glikoza maruz kalan sıçan H9C2 kardiyomiyosit hücre hattında miR-34a ve B hücreli lösemi / lenfoma 2 (Bcl2) ekspresyonlarının azaldığı gözlenmiş ve H9C2 hücrelerinin apoptozisinin önemli ölçüde arttığı bildirilmiştir (Zhao ve ark., 2013).

Ayrıca, miR-34a benzerleri ile tedavi, Bcl2 ekspresyon seviyesini önemli ölçüde azaltmış ve H9C2 hücrelerinde yüksek düzeyde glikoz kaynaklı apoptotik değişiklikleri teşvik etmiştir, buna karşılık miR-34a inhibitörü ile tedavi, Bcl 2 ekspresyon seviyesini belirgin bir şekilde artırmıştır ve H9C2 hücre apoptozunu önlemiştir (Zhao ve ark., 2013).

Isı şoku proteini 60 (Hsp60), Bcl 2 familyasını düzenleyebilen önemli bir anti apoptotik proteindir. Diyabetik sıçan miyokard ve yüksek düzeyde glikoz ile tedavi edilen neonatal sıçan ventriküler kardiyomiyositlerinde Hsp60 proteininin azaltılmış ekspresyon seviyeleri gözlenmiş; bu, miR-1 ve miR-206'nın belirgin şekilde upregüle olması ile desteklenmiştir (Shan ve ark., 2010).

Daha sonra yapılan çalışmalarda, sıçan miR-1 ve miR-206'nın, Hsp60 mRNA'nın 3 'UTR'sini doğrudan hedefleyerek Hsp60 ekspresyonunu negatif olarak düzenlediğini ve miR-1 ve miR-206'nın, Hsp60 aracılığıyla H9C2 hücre apoptozu

üzerindeki etkilerine aracılık ettiğini göstermiştir. Bu bulgular miR-1 ve miR-206'nın ortak hedef Hsp60 ekspresyonunu ve sonuç olarak kardiyomiyositlerin yüksek düzeyde glikoz kaynaklı apoptozunu düzenlediğini belirtmektedir (Shan ve ark., 2010).

Diğer bir çalışmada ise, miR-195 ekspresyonunun seviyesinin arttığını ve hedef proteinlerinin (Bcl 2 ve sirtuin 1) ekspresyon düzeylerinin STZ kaynaklı tip 1 ve tip 2 diyabetli fare kalplerinde azaldığı gösterilmiştir. miR-195'in diyabetik kalplerdeki up-regülasyonu, oksidatif stres, apoptoz, miyokardiyal hipertrofi ve disfonksiyonun yanı sıra koroner kan akışında bir azalma ile ilişkili bulunmuş, miR-195'in susturulmasının oksidatif hasarı, apoptoz ve hipertrofiyi azalttığı ve diyabetik kalplerde koroner kan akışını iyileştirdiği bildirilmiştir (Zheng ve ark., 2015).

Bcl 2 ve sirtuin 1 eşzamanlı upregülasyonu ile miyokardiyal fonksiyonda görülen iyileşme; miR-195'in DKM kalbindeki apoptosisi ve diğer patofizyolojik olayları desteklemesindeki rolünü doğrulamıştır (Zheng ve ark., 2015).

Mitokondrinin disfonksiyonu da DKM' nin patogeneze katkıda bulunur ve miR-141'in bu sürece katıldığı bulunmuştur. MiR-141 ekspresyon seviyesi, STZ kaynaklı diyabetik farelerin kalplerinde önemli ölçüde upregüle durumdadır. Ayrıca, potansiyel hedefi düzenleyerek, mitokondriyal matrise inorganik fosfat sağlayan ve iç mitokondriyal membran fosfat taşıyıcısı olarak ATP üretimi için gerekli olan 25 taşıyıcı aileden 3 tanesinin, miR-141'in aşırı ekspresyonu inorganik fosfat taşınmasını azalttığı ve mitokondriyal ATP üretimine katkıda bulunduğu düşünülmektedir (Baseler ve ark., 2012).

5. GEREÇ ve YÖNTEMLER

5.1. Kullanılan Kimyasal Madde ve Çözeltiler

0.01 mol Sitrat Tamponu hazırlanışı: 0.21 g. Sitrik asit monohidrat ve 0.294 g. trisodyum sitrat ayrı ayrı 100 ml distile suda çözündürüldü. Çözeltilerin pH'sı 1N NaOH ile 4.6'ya ayarlandı. Sitrik asit monohidrat çözeltisinden 44.5 ml ve trisodyum sitrat çözeltisinden 55.5 ml alınarak pH 4.6 olan 100 ml 0.01 mol sitrat tamponu hazırlandı.

Streptozotosin (Sigma): 60 mg/kg STZ 0.01 mol sitrat tamponunda çözündürülerek hazırlandı.

Sitrik Asit Monohidrat (Sigma)

Trisodyum Sitrat (Sigma)

5.2. Metod ve Gereçler

RNA İzolasyon kiti (GenUP TM Total RNAKit-biotechrabbit)

Santrifüj (Thermo SCIENTIFIC Megafuge 40R Centrifuge)

Nanodrop Thermo Scientific™ NanoDrop™ 2000 spektrofotometre

Homojenizatör (RETSCH MM400 Bilyalı Öğütücü)

5.2.1. Deney Hayvanları

Bu çalışmaya başlanmadan önce Marmara Üniversitesi Deney Hayvanları Yerel Etik Kurulu (MÜHDEK)'ndan onay alındı. (Proje No: 34.2017.mar Onay Tarihi: 02.05.2017) alınarak yapılmıştır.

Çalışmamızda 300-400 gr ağırlığındaki erkek Sprague-Dawley cinsi erkek sıçanlar kullanıldı. Deney süresince laboratuvar koşullarına (20°C $\pm$ 2, 12 saat aydınlık/12 saat karanlık) alıştıran sıçanlar 2 gruba ayrıldı. (Marmara Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma Merkezi (DEHAMER))

5.2.2. Deneysel Diyabet Modeli

Çalışmamızda, 300-400 gr arasındaki ağırlıkta olan Sprague-Dawley cinsi erkek sıçanlar kullanıldı. Sıçanlar, 2 gruba ayrıldı; birinci gruba STZ çözücüsü sitrat tamponu, ikinci gruptaki sıçanlara 60 mg/kg dozda streptozotosin (STZ) intraperitoneal (ip) uygulandı.

Diyabet oluşturulan grubun STZ enjeksiyonundan 2 gün sonra kan-glikoz değerleri Accu-Chek Go (Roche) glukometre ile ölçülerek kan-glikoz değerleri 200 mg/dL üzerindeki sıçanlar diyabetik olarak kabul edilmiştir.

6 haftanın sonunda, hayvanlar eter anestezisi uygulamasını takiben intrakardiyak kan alımı sonrasında dekapite edildi ve kalpleri çıkarıldı. Kalbin sol ventrikülü çıkarıldıktan sonra, bir kısmı küçük parçalara ayrılarak, -80°C de saklanarak miRNA analizi için kullanıldı. Geriye kalan kısmı ise % 10'luk formaldehite alınarak histolojik çalışmalarda kullanılmak üzere ayrıldı.

5.2.3. miRNA Analizi

5.2.3.1. RNA İzolasyonu

RNA izolasyonu için; diseksiyon sonrasında alınan kalpler küçük parçalara ayrıldı. Sonrasında buz üzerinde alınan doku örneklerinden 50 mg lık ağırlığa sahip kesitler alındı. Ardından, homojenizasyon işlemi gerçekleştirmek için, seramik boncuklu tüplere kalp dokusu ile birlikte 450 µl lysis buffer solüsyonu eklendi. Kalp ve lysis buffer içeren seramik boncuklu tüpler, 8 dakika boyunca çalkalanarak homojenize edildi. Oluşan homojenattan, total RNA izolasyon kiti (GenUP TM Total RNAKit-biotechrabbit) yardımı ile RNA izolasyonu işlemi gerçekleştirildi.

RNA izolasyon kitinin standart protokolü aşağıdaki şekilde gerçekleştirildi:

1. Seramik boncuklu tüplerdeki homojenat, 1.5 ml'lik ependorflara konuldu.
2. Tüpler, 14.000 rpm'de 1 dk boyunca santrifüj edildi.
3. Elde edilen süpernatantlar; DNA'ları uzaklaştırmak için, kit içerisinde bulunan filtre içeren toplama tüplerine konuldu ve 12,000 rpm'de 2 dakika boyunca santrifüj edildi. Sonrasında DNA'ların tutunmuş olduğu filtre uzaklaştırıldı.

4. Elde ettiğimiz süpernatanta 400 µl %70'lik etanol eklendi.
5. Tüpteki süpernatant, RNA ayırım filtresi içeren tüpe aktarıldı.
6. Tüpteki süpernatant, 12.000 rpm'de 2 dk boyunca santrifüj edildi.
7. Santrifüj sonrasında, RNA ayırım filtresinin üzerine, 500 µl Wash Buffer A solüsyonu eklendi.
8. Tekrar 12.000 rpm'de 1 dakika boyunca santrifüj edildi. Sonrasında, filtrenin üzerine 700 µl Wash Buffer B eklenerek 12.000 rpm'de 1 dk boyunca santrifüj edildi.
9. Tüpteki fazla etanolü uzaklaştırmak için, 14.000 rpm'de 2 dk boyunca santrifüj edildi.
10. RNA örneklerini içeren filtre, elüsyon tüpüne yerleştirildi ve 500 µl RNAaz içermeyen ultra saf su, filtrenin ortasına gelecek şekilde eklendi ve oda sıcaklığında 1 dakika inkübe edildi. RNA örneklerinin filtreden ayrımını sağlamak için 8,000 rpm da 1 dakika boyunca santrifüj edildi.

RNA izolasyon işleminin tamamlanmasının ardından, nanodrop ile RNA saflık ve miktar tayini gerçekleştirildi. Bu amaçla örnekler, 260 ve 280 nm dalga boylarında okutuldu. Diyabet ve kontrol gruplarındaki sıçanların kalp dokularından elde edilen RNA'lar her grup için bir tüpte 30 ng/µl olacak şekilde eşit miktarda karıştırılarak havuz oluşturuldu.

5.2.3.2. Mikroarray Yöntemi

Oluşturulan RNA havuzundan, tüm genomda miRNA taraması mikroarray yöntemiyle yapıldı. Çalışmanın bu aşamasında hizmet alımı gerçekleştirildi (Ay-ka Ltd. Şti).

1. Diyabet grubunda bulunan sıçanlardan elde edilen RNA'lar bir tüpte 30 ng/µl olacak şekilde eşit miktarda karıştırılarak havuz yöntemi uygulandı. Aynı yöntem kontrol grubunda bulunan sıçanlardan elde edilen RNA'lar için de uygulandı.
2. Profil tarama çalışmalarında uygulanan havuz yöntemi kullanılarak oluşturulan havuzda; sıçanların tüm genomu Afimetriks oligonükleotid çiplerinin kullanıldığı mikroarray yöntemiyle tarandı.
3. Mikroarray yöntemi ile *Rattus norvegicus* türüne ait 1250 miRNA taranmış, bunlardan 81'inde 2 kat ve üzeri değişiklik saptanmıştır.

4. Mikroarray yöntemiyle diyabet ve kontrol grubunda ekspresyonlarında farklılık olduğu belirlenen en fazla upregüle ve en fazla downregüle olan 13 miRNA geni seçildi. Bu seçimde Fold change ≥ 2 ve $p < 0.05$ değerleri dikkate alındı.
5. Sonrasında, miRNA'ların nicel incelemelerinin gerçekleştirilebilmesi için, cDNA sentezi kiti (qScript TM microRNA Synthesis Kit-VWR) kullanılarak miRNA'lardan cDNA sentezi yapıldı.

5.3. Histopatoloji

Diyabet ve kontrol grubundan elde edilen kalp dokularının yarısı, %10'luk tamponlanmış nötral formaldehit ile 24 saat fıkse edildikten sonra, her birinde 24 saat bekletilmek üzere sırasıyla %70, %90, %96 ve %100'lük yükselen etil alkol serilerinden geçirilerek dehidratasyon işlemi uygulandı. Dokular şeffaflaştırma işlemi için 3x5 dk toluenden geçirildikten sonra infiltrasyon işlemi için 56°C'lik etüv içerisinde, yumuşak parafin (46-48 °C) ve sert parafin (56-58 °C)'de 45'er dk. bekletildi. (Erich Hematoksilen Boyama)

Doku takibi tamamlanan kalp dokusu, sert parafin içerisine gömüldü ve kalıpların oda ısısında sertleşmesi beklendi. Parafin blok haline getirilen doku örneklerinden mikrotom aracılığı ile 4 µm kalınlığında kesitler alındı ve pozitif şarjlı lamalar üzerine yapıştırıldı. deparafinizasyon ve hidratasyon işlemlerinden sonra örneklerle, ışık mikroskopik incelemeler için hematoksileneve eosin boyası ve atom scientific marka masson trikrom boyası uygulandı. kesitlerin tamamı grupları bilmeyen patoloji uzmanı tarafından Nikon Model Eclipse E200MV R Marka Mikroskop ve Nikon Dijital Görüntüleme Kamerası ile değerlendirildi. Histopatolojik inceleme ve skora yapıldı.

5.4. İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analiz Graphpad Prism 5.0 (Graphpad Yazılım, San Diego, Ca, ABD) kullanılarak gerçekleştirildi. Tüm veriler ortalama $\pm$ standart sapma olarak ifade edildi. Gruplararası değerlendirmede tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ve ileri analiz olarak Tukey's testi kullanıldı. Kontrol ve diyabet gruplarının miyosit çaplarının ortalamaları arasında yapılan karşılaştırmalarda Mann-Whitney U testi kullanıldı.p değerinin 0.05' ten küçük olduğu durumlar anlamlı olarak kabul edildi.

6. BULGULAR

6.1. Deney Hayvanlarının Ağırlıkları

Deneylerde kullanılan hayvanların ağırlıkları Tablo 3 'de verilmiştir. STZ ile diyabet oluşturulmuş sıçanların vücut ağırlıklarında 6 haftanın sonunda anlamlı bir azalma olduğu görüldü. Diyabet grubundaki sıçanlarda STZ enjeksiyonundan deneyin sonuna kadar hiperglisemi gözlemlendi.

6.2. Deney Hayvanlarının Kan-Glikoz Değerleri

Deneylerde STZ ile diyabet oluşturulmuş Sprague-dawley cinsi erkek sıçanların kan glikoz değerlerinde kontrol grubuna göre anlamlı bir artış olduğu görüldü (Tablo 3).

Tablo 3. Deneylerde kullanılan Sprague-Dawley Cinsi Sıçanların Ağırlıkları ve Kan-Glikoz Değerleri

	Vücut Ağırlığı Değişimi (g)		Kan Glikoz (mg/dl)	
	Başlangıç	6 haftada	Başlangıç	6 haftada
K	346.3 ± 11.6	358.8 ± 7.7	93,80 ± 2,01	96.88 ± 1.64
D	371.9 ± 5.08	271.5 ± 6.32*	98,99 ± 1,81	471.4.8 ± 30.26 ⁺

Veriler ortalama ± standart sapma olarak gösterildi.

*; p<0,001 Başlangıca göre farklı olan

+; p<0,001 K'ye göre farklı olan

6.3. miRNA

Mikroarray yöntemi ile oluşturulan RNA havuzundan, tüm genomda miRNA taraması yapıldı. *Rattus norvegicus* türüne ait 1250 miRNA tarandı, bunlardan 81'inde 2 kat ve üzeri değişiklik saptandı. Bilgi bankalarında yer alan biyoinformatik analizler dikkate alınarak, diyabet ve kontrol grubunda, ekspresyonlarında farklılık olduğu belirlenen, en fazla upregüle olan 4 tane ve en fazla down regüle olan 9 tane olmak üzere 13 miRNA geni seçildi. Bu seçimde Fold change ≥ 2 ve $p < 0.05$ değerleri dikkate alındı (Tablo 4).

Tablo 4. Mikroarray Analizinde En Fazla Upregüle ve En Fazla Downregüle Olan miRNA'lar

MiRNA'lar	Fold Change	ERİŞİM NUMARALARI	PRİMER DİZİLERİ	BAZ SAYISI
rno-miR-200c-3p	4,15	MIMAT0000873	TAATACTGCCGGTAATGATG	21
rno-miR-129-5p	3,89	MIMAT0000600	CTTTTGCGGTCTGGGCTTGC	21
rno-miR-150-3p	3,82	MIMAT0017133	CTGGTACAGGCCTGGGGGA	19
rno-miR-3584-5p	3,55	MIMAT0017875	GGGAGGAGTCCAGGAGGC	18
rno-miR-34c-3p	-7,02	MIMAT0004723	AATCACTAACCACACAGCCAGG	22
rno-miR-342-3p	-8.07	MIMAT0000589	TCTCACACAGAAATCGCACCCGT	23
rno-miR-466d	-8.39	MI0015419	GTGTATATGAATATACATATACA	23
rno-miR-466c-3p	-9.58	MIMAT0017287	TATACATGCACACATACACAC	21
rno-miR-31a-5p	-9.72	MIMAT0000810	AGGCAAGATGCTGGCATAGCTG	22
rno-miR-15b-5p	-9.9	MIMAT0000784	TAGCAGCACATCATGGTTTACA	22
rno-miR-196b-3p	-19.37	MIMAT0017171	TCGACAGCACGACACTGCCTTCA	23
rno-miR-466b-3p	-36.47	MIMAT0017285	ATACATACACACACATACAC	22
rno-miR-208a-5p	-60.8	MIMAT0017155	GAGCTTTTGGCCCGGGTTATAC	22

Çalışmamızda, diyabetli sıçan kalplerinde kontrol grubuna göre miRNA ekspresyon düzeylerinde değişiklikler olduğu saptandı. Çalışmamızda tablo 6.2.'de verilmiş olan miR-200c-3p, miR-129-5p, miR-150-3p, miR-3584-5p, miR-34c-3p, miR-342-3p, miR-466d, miR-466c-3p, miR-15b-5p, miR-196b-3p, miR-466b-3p, miR-208a-5p olmak üzere 13 miRNA ekspresyon düzeyi çalışılmıştır. Bu miRNA'lardan; miR-200c-3p, miR-129-5p, miR-150-3p, miR-3584-5p olmak üzere ilk 4 tanesi upregüle, diğer 9 tanesi de downregüle olmuştur.

6.4. Histopatoloji

Tablo 5. Kontrol ve Diyabet Gruplarının Miyosit aplarının Ortalamaları

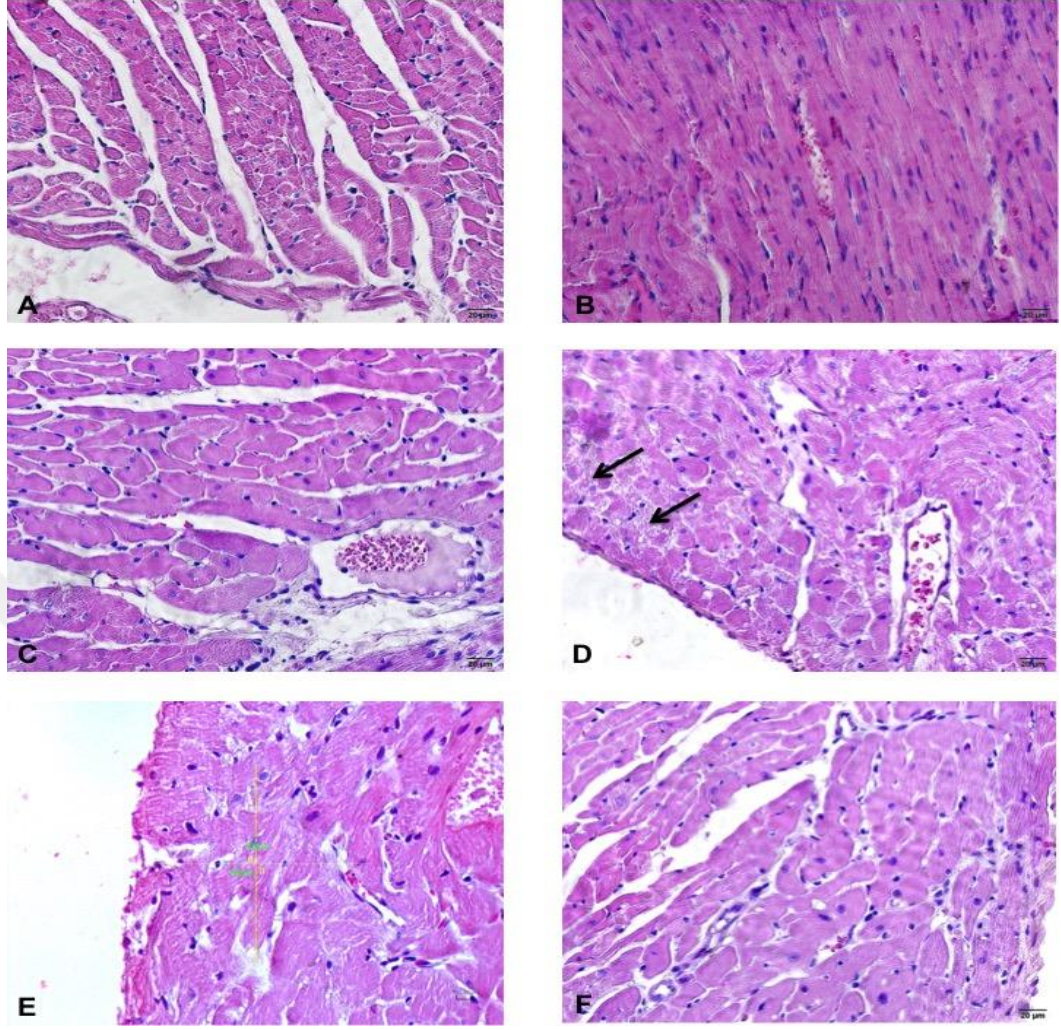
	Kontrol	Diyabet
Miyosit apı	16,35±0,66	31,45±0,74**

Veriler Mann-Whitney U Test ile karşılaştırılmıştır. Ortalama ± standart sapma olarak gösterildi.

*(*p≤0.5; **p≤0.001)*

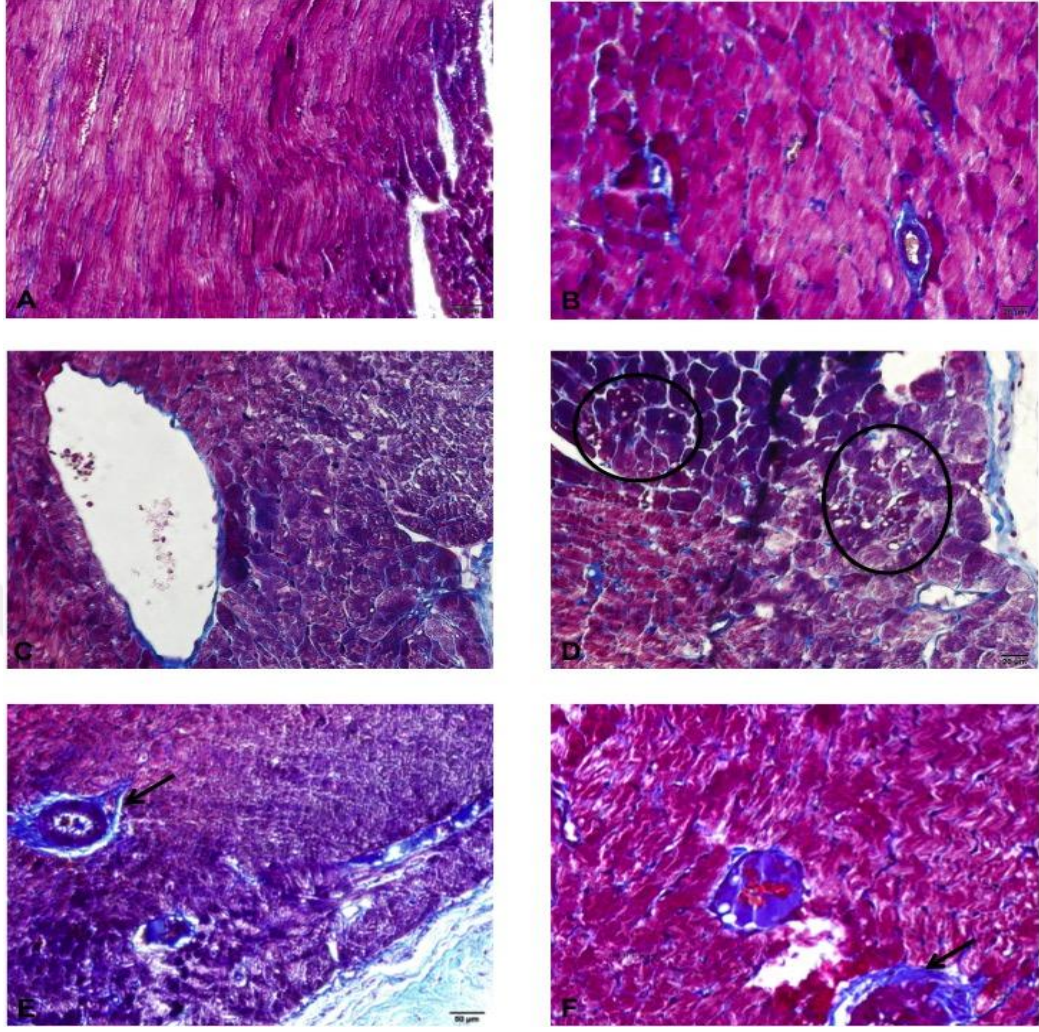
Diyabet grubunun miyosit çapı ortalaması, kontrol grubunun miyosit çapı ortalamasından istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur ($p\leq 0.5$, $p\leq 0.001$) (Tablo 5).

Ayrıca yapılan histopatolojik inceleme sonucu, diyabet grubundaki hayvanların kalp dokularından alınan kesitlerde, ventriküler bölgede hipertrofik kardiyomiyositlere rastlandı (Şekil 4 C,D,E,F). Yine bu bölgelerde, daha soluk asidofilik boyanma gösteren kardiyomiyositler de dikkat çekiciydi (Şekil 4 D). Bazı kardiyomiyositlerde ise yer yer vakuolizasyonlar gözlemlendi (Şekil 5 D). Kontrol grubundaki kalp dokuları ile karşılaştırıldığında, diyabet grubunda daha yoğun bağ doku boyanması, artmış interstisyel kardiyak fibrozis ile uyumlu bulgular sergiledi (Şekil 5 E,F). Sistolik ve diyastolik disfonksiyon, kardiyak kontraktilitede azalma ve kardiyak inflamasyonda artma gözlemlenmiştir. Ayrıca, kontrol grubundan elde edilen 6 ayrı kalp dokusu ve diyabet grubundan elde edilen 9 ayrı kalp dokusundan alınan kesitlerin her birinde miyosit çapları ölçülmüş ve ortalama değeri hesaplanmıştır. Miyosit apı ölçümleri diyabet ve kontrol grubu için kıyaslandığında, diyabet ve kontrol grupları arasında anlamlı farklılık belirlenmiştir ($p<0.01$).



Şekil 4. Gruplara Ait Hematoksilen ve Eosin Boyanması Sonucu Elde Edilen Preparatlara Ait Şekiller

A: Kontrol x40 B: Kontrol x40 C: Diyabet x40 D:Diyabet x40 E: Diyabet x40 F: Diyabet x40 D; siyah ok: miyofibril kaybı



Şekil 5. Gruplara Ait Kalp Dokularından Masson Trikrom Boyanması Sonucu Elde Edilen Preperatlara Ait Şekiller

A: Kontrol x10; B: Kontrol x40; C: Diyabet x40 D: Diyabet x40 E: Diyabet x20 F: Diyabet x40 (siyah ok: fibrosis, daireler: kardiyomiyosit hipertrofisi)

7. TARTIŞMA ve SONUÇ

Diyabetes mellitus, pankreasta insülin salınımının yetersiz olması ve/veya dokuların insüline yetersiz yanıt vermesine bağlı olarak gelişen, hiperglisemi ve glikozüri ile karakterize; ilerleyici, kronik ve metabolik bir hastalıktır. Tanı ve tedavi seçeneklerinin artması ve aynı zamanda HbA1C gibi teşhis seçeneklerinin artması ile beraber, hipergliseminin kontrol altına alınması; diyabete bağlı ölüm oranlarını ve akut komplikasyonlarını önemli oranda azaltmıştır. Teşhis ve tedavideki gelişmelere rağmen, kronik komplikasyonlar hala önemini korumaktadır. Nöropati, kardiyomiyopati, anjiyopati ve nefropati gibi komplikasyonlar, diyabet hastalarında morbidite ve mortalite görülme sıklığını artırmaktadır. Gastropati, mesane disfonksiyonu veya erektil disfonksiyon gibi komplikasyonlar da, hastanın günlük yaşam kalitesini etkileyen ancak mortaliteye katkıda bulunmayan komplikasyonlardır (Öztürk ve ark., 1996).

Deneyssel diyabet modellerinde ya da diyabetik bireylerde yapılan çok sayıda çalışmadan anlaşıldığı üzere, serbest radikallerin düzeylerinin bu hastalıkta arttığı ve oluşan bu radikallerin başta endotel olmak üzere çok sayıda dokuda oksidasyona bağlı hücre hasarına neden olarak diyabetik komplikasyonların gelişmesine katkıda bulunduğu bildirilmiştir (Göçmen ve ark., 2000; Tesfamariam ve Cohen, 1992)

Tip 1 ve tip 2 diyabet olguları, kardiyovasküler hastalıklar için primer risk faktörleri arasında tanımlanmaktadır. Diyabetik bireylerde artan kardiyovasküler hastalıkların, dolayısı ile kardiyomiyopatinin sıklığı, yeni terapötik yaklaşımların geliştirilmesini daha da önemli kılmaktadır. Bu bağlamda, farklı birçok mekanizma araştırılmış ve bu çalışmaların bir kısmında, preklinik olarak diyabetik kardiyomiyopati (DKM) patogenezi üzerinde olumlu sonuçlar bildirilmiş ancak miRNA ve epigenetik mekanizmalar ile ilgili henüz yeterli bilgi bulunamamıştır (Bugger ve Abel, 2014).

Yapılan çalışmalarda, miRNA'ların; kardiyomiyosit hipertrofisi, miyokardiyal fibrozis, kardiyomiyosit apoptozu, mitokondriyal disfonksiyon, miyokardiyal elektriksel yeniden modelleme, epigenetik modifikasyon ve çeşitli diğer patofizyolojik süreçleri düzenledikleri; bu nedenle de DKM'nin patogenezinde önemli rol aldıkları bildirilmiştir. Ayrıca, DKM ile ilişkili miRNA'ların ekspresyon seviyelerine bağlı değişikliklerin

hastalığın patofizyolojisini etkileyerek tedavisi ve önlenmesi için yeni bakış açıları sağladığı gösterilmiştir (Chen ve ark., 2014; Duan ve ark., 2013; Kuwabara ve ark., 2014; Raut ve ark., 2015; Zheng ve ark., 2015).

Çalışmamızda; kontrol grubu ile karşılaştırdığımızda STZ ile diyabet modeli oluşturulmuş olan sıçan kalplerinde, miRNA ekspresyon düzeylerinde değişiklikler olduğu belirlenmiştir.

Çalışmamızda; araştırdığımız 13 miRNA'dan miR-200c-3p, miR-129-5p, miR-150-3p, miR-3584-5p'nin up regüle olduğu, miR-34c-3p, miR-342-3p, miR-466d, miR-466c-3p, miR-15b-5p, miR-196b-3p, miR-466b-3p, miR-31a-5p, miR-208a-5p'nin ise downregüle olduğu bulunmuştur (Tablo 4). Bu miRNA'larda gözlenen ekspresyon düzeyi değişimlerinin, diyabetik kardiyomiyopati patogeneğinde rol oynadığı düşünülmektedir. Diyabet dışındaki; kardiyak hipertrofi, kalp yetmezliği ve miyokardiyal enfarktüs gibi kardiyak patolojilerde, miRNA ekspresyon düzeylerinin benzer şekilde değiştiği yapılan çalışmalarla gösterilmiştir (Care ve ark., 2007; Chen ve ark., 2008; Cheng ve ark., 2007; Sayed ve ark., 2007; Tatsuguchi ve ark., 2007; Rooij ve ark., 2008). Söz konusu kardiyovasküler hastalıklar ile diyabetik kardiyomiyopati arasındaki fonksiyonel benzerlikler, miRNA'ların diyabetik kardiyomiyopatide rol oynayabileceğini göstermektedir.

Yapılan çalışmalarda, diyabetik kardiyomiyopati modeli oluşturulmuş olan sıçanlarda, miR-200c'nin kardiyak ekspresyonunun önemli derecede upregüle olduğu bildirilmiştir. miR-200c'nin ; p-ERK, p-JNK ve p-p38'in fosforilasyonunu düzenleyen MAP kinaz fosfataz olan DUSP-1'in fonksiyonları üzerinde özgün etkili olduğu saptanmıştır. Yüksek glikoz uygulanarak deneysel model oluşturulan kardiyomiyositlerde, miR-200c inhibisyonunun DUSP-1' i aktive ederek kardiyak hipertrofiyi azalttığı bilinmektedir (Singh ve ark., 2017). Yapılan çalışmalara paralel olarak Bizim çalışmamızda da miR-200c-3b'nin upregüle olduğu gözlenmiştir.

Yapılan diğer çalışmalarda, diyabetik yara iyileşmesinde Sp1 aracılı MMP-9 ekspresyonunun önemli rol oynadığı bildirilmiştir. miR-129 ve miR-335'in; Sp1'i hedefleyerek MMP-9 ekspresyonunu inhibe ettiği bilinmektedir. miR-129 ve miR-

335'in upregüle olarak, MMP-9 downregülasyonuna yol açtığı ve bunun da yara iyileşmesini hızlandırdığı bildirilmiştir (Wang ve ark., 2018). Bizim çalışmamızda da miR-129 ekspresyonunun bu çalışmaya paralel olarak upregüle olduğu saptanmıştır.

miR-3584 için, hipertansiyon modeli oluşturulmuş olan sıçanlarda ise, sol ventrikül hipertrofisi ve kardiyomiyosit apoptozu üzerine yapılmış bir çalışmada; miR-3584'ün downregüle olduğu bildirilmiştir. Bunun hangi mekanizma ya da yolak üzerinden olduğu net bir biçimde aydınlatılamamıştır (Yang ve ark., 2015). Bizim çalışmamızda ise bu çalışmadan farklı olarak miR-3584 düzeyleri upregüle olduğu bulunmuştur.

Yapılan başka bir çalışmada, C2C12 miyoblastlarındaki miRNA'lar baskılanarak C2C12 miyotüplerindeki miRNA'lar belirlenerek iskelet kasındaki mitokondriyal metabolizmanın düzenlenmesine olumlu katkıda bulunabileceği düşünülen 19 adet miRNA belirlendiği bildirilmiştir. Bu miRNA'lardan dördünün (miR-34c-3p, miRNA-150-5p, miR-196b-3p ve miR-320a) insanlarda *in vivo* iskelet kası mitokondriyal fonksiyonuyla ilişkili olduğu gösterilerek bu miRNA'ların klinik anlamda etkili olduğu bildirilmiştir. İnsanlarda mitokondriyal fonksiyonun düzenlenmesi için de bu sonuçların katkıda bulunabileceği ileri sürülmüştür (Dahlmans ve ark., 2017).

Diyabetik kardiyomiyopati ile mitokondriyal fonksiyonların incelendiği başka bir çalışmada ise, mitokondriyal fonksiyonların ve MnSOD aracılı antioksidan kapasitenin, diyabetik kardiyomiyopati patogenezinde koruyucu rol oynadığı belirtilmiştir (Shen ve ark., 2006).

Bu çerçeveden bakıldığında, diyabetik kardiyomiyopatide mitokondriyal metabolizmanın düzenlenmesinin primer rolü olduğu anlaşılmakta ve bu rolün, hastalık patogenezi ile ilişkili olduğu bilinmektedir. Bizim çalışmamızda da miRNA-34c ve miRNA-196b'nin ekspresyonlarının kontrol gruplarına kıyasla azaldığı, miR-150 ekspresyonunun ise arttığı belirlenmiştir. Böylece diyabetik kardiyomiyopati patogenezinde miR-34c ve miR-196b'nin hastalığı tetikleyici rolünün mitokondriyal yolak üzerinden olabileceği düşünülmektedir.

miR-15b için yapılmış olan bir çalışmada; hepatosellüler karsinomada, miR-15b-5p'nin; Rab1A ekspresyonunun post-transkripsiyonel downregülasyonunun, endoplazmik retikulum stresini ve apoptozu artırdığı gösterilmiştir (Yang ve ark., 2015). Rab1A ve miRNA'lar ile ilgili yapılmış başka bir çalışmada, miR-101'in, Rab1A üzerinden

sıçanlarda kardiyak hipertrofiyi inhibe ettiği bildirilmiştir (Wei ve ark., 2015). Bu bağlamda, miR-15b'nin de Rab1A ekspresyonunu düzenlemesinden dolayı DKM patogenezindeki rolünün önemi görülmektedir. Bizim çalışmamızda da miR-15b'nin ekspresyonunun, yapılan çalışmalarla paralel olarak downregüle olduğu gösterilmiştir.

miR-466-3p'nin hedef genleri, birçok fizyolojik fonksiyonun gerçekleşmesi için önemli rol oynamaktadır. Bunların bazıları hücre döngüsünde, apoptozda ve diğer hücrel olaylarda etkin olarak görev alan transkripsiyon faktörleri ve kinazlardır. Akciğer ve meme kanseri gelişiminde rol oynayan ADAT2, ADCYAP1R1, BHLHE40, CDK6, FASLG, FGFR3, FLT1, MACC1, MAPKAPK2, MECOM, SPN, STAT6 ve UGT8 genlerinin mRNA'larının, miR-466-3p ile ilişkili olduğu bildirilmiştir, bu sonuca bağlı olarak miR-466-3p'nin akciğer ve meme kanserlerinde rol oynadığı düşünülmektedir. ADRBK2, BHLHE40, CD36, EGR3, NDUFS2, NFAT5, NOS1, PLA2G7, S1PR2 ve STAT6 genlerinin de, kardiyovasküler sistem hastalıklarından sorumlu olduğu ve mRNA'ları miR-466-3p ile etkileşime girerek etkilediği varsayılmıştır. Bu çerçevede, söz konusu proteinlerin inflamasyon ile de yakından bağlantılı olanları bilindiğinden (BHLHE40, CD36, NDUFS2, NFAT5, PLA2G7 gibi) diyabetik kardiyomiyopatide de primer rol alabilecekleri ileri sürülmüştür (Niyazova ve ark., 2015). Çalışmamızda miR-466 ekspresyonlarının azalmış olduğu bulunmuş ve bu sonuçlar değerlendirildiğinde diyabetik kardiyomiyopati patogenezinde rol oynayabilecekleri tespit edilmiştir.

MiR-31a-5p için kardiyomiyositler üzerinde yapılmış bir çalışmada, sıçanlarda postnatal 0. gün ve 10.gün kardiyomiyositlerindeki miRNA analizleri karşılaştırılmıştır. Yapılan çalışmada, P10. günde izole edilen kardiyomiyositlerde miR-31a-5p ekspresyonunun arttığı görülmüştür. P10. günde izole edilen kardiyomiyositlerde, miR-31a-5p'nin upregülasyonunun ise, hücre döngüsünün sonlanması için bir yanıt niteliğinde olduğu düşünülmektedir (hücre döngüsünden çıkış). Ancak tüm bu bilgilere rağmen, miR-31a-5p'nin olgun kardiyomiyosit proliferasyonunu nasıl etkilediği ve miR-31a-5p'nin RhoBTB1'in olgun kardiyomiyositlerde bir hedefi olup olmadığı yeni bir araştırma konusu olarak gizemini korumaktadır (Xiao ve ark., 2017).

miR-31a-5p'nin olgun kardiyomiyosit proliferasyonu üzerinde etkisinin olmadığı düşünülmekte ve miR-31a-5p'nin (miR-31) kalpteki rolü hakkında yeterli bilgi

bulunmamaktadır. Daha önce yapılan çalışmalarda, miR-31a-5p'nin epikardiyal mezotel hücrelerinin kardiyak fibrojenik epitelyal-mezenşimal transisyonunda negatif bir modulator olduğu bildirilmiştir (Bronnum ve ark., 2013).

İnsan atriyal fibrilasyonunda miR-31a-5p'in atriya özgü artışı saptanmış, bunun atriyal distrofin ve nöronal nitrik oksit sentazın kaybına sebep olan önemli bir faktör olduğu düşünülmektedir (Reilly ve ark., 2015). Bizim çalışmamızda da miR-31a-5p'nin downregülasyonu saptanmıştır. Bunun, önceki çalışmalarda bildirilen sonuçların aksi yönde olması, olası bir kompensatuvar mekanizmanın varlığı ile açıklanabilir. Böylelikle kardiyomiyopati gelişimine yanıt olarak distrofin ve nöronal nitrik oksit sentaz düzeylerinin artışı hedeflenmiş olabilir. Aynı zamanda, ateromatöz plaklar ile ilgili yapılan diğer bir çalışmada miR31'in, antiinflamatuvar etkisinin olduğu öne sürülmüştür. Bu bağlamda bizim çalışmamızda da miR-31a-5p'nin downregüle olması, inflamasyonun da kardiyomiyopatide temel etkenlerden birisi olması ile açıklanabilir (Papageorgiou ve ark., 2013).

miR-342-3p için yapılan bir araştırmada, miR-342-3p plazma düzeyinin, sağlıklı gönüllülere oranla kalp yetmezliği hastalarında önemli ölçüde azaldığı bildirilmiştir (Ellis ve ark., 2013). Kardiyomiyopatide miR-342'nin downregüle olması ile bizim çalışmamıza paralel sonuçlar bulunmuştur.

miR-208a susturulmuş farelerde yapılan bir çalışmada; miR-208a'nın kaybı, normal olarak kalpte eksprese edilmeyen çok sayıda iskelet kası kasılma protein geninin belirgin şekilde ekprese edilmesine neden olmaktadır (Rooij ve Olson, 2007). Bizim çalışmamızda da miR-208a downregülasyonu görülmüş bu durum da gözlenen kardiyomiyopati patogenezinin karşı gelişen bir kompensatuvar mekanizma olduğunu bize düşündürmektedir.

Bununla birlikte, miR-208a'nın hasar görmüş kardiyomiyositlerden salınarak, kan dolaşımında mikropartikül formunda bulunduğu düşünülmektedir. Ancak bu mekanizma tam olarak netlik kazanmamıştır. Dolaşımdaki miR-208a partiküllerinin düzeyinin artması da diyabetik kardiyomiyopati teşhisinde önemli bir belirteç olabileceğini düşündürmüştür. Benzer biçimde, farelerle yapılan bir çalışmada, miR-208a'nın plazma konsantrasyonunun, miyokard hasarında arttığı ve kardiyak troponin plazma konsantrasyonu ile de anlamlı bir korelasyon gösterdiği saptanmış ve bu

durumun miyokard hasarında önemli bir gösterge olabileceği bildirilmiştir (Jaffe ve ark., 2000; Ji ve ark., 2009).

Histopatolojik sonuçlara bakıldığında; kontrol grubu preparatlarında kalp kası hücreleri nükleusları santral yerleşimlidir ve sitoplazmaları soluk boyanmıştır (Şekil 4). Discus interkalaris normal görünümündedir. Diyabetik gruplarda ise miyositlerde hidropik dejenerasyon, nükleus boyutunda artış ve yer yer vezikülasyon izlenmiştir ayrıca Trikom boyası ile intertisyel alanda hafif-orta şiddette fibrozis görülmüştür. Farklı miRNA' ların DKM'de kardiyomiyosit hipertrofisi patogeneze katkıda bulunduğu, farklı çalışmalar ile gösterilmiştir. (Duan ve ark., 2013; Feng ve ark., 2010; Kuwabara ve ark., 2015; Raut ve ark., 2015; Shen ve ark., 2011). Yapılan diğer çalışmalarda da, kardiyomiyosit hipertrofisinde miR-150 ekspresyon seviyesinin önemli ölçüde azaldığı bildirilmiştir (Duan ve ark., 2013). Bizim çalışmamızda da bu çalışmanın histolojik sonuçlarına paralel olarak diyabet grubunda kardiyomiyosit hipertrofisi gözlenmiş ve bu da ventriküler hipertrofinin geliştiğini göstermektedir (Şekil 5).

Yapılan başka bir çalışmada, STZ kullanılarak oluşturulan deneysel diyabet modellerinde, sıçanların kalp kası hücrelerinde myofibrillerde hasar, lipid birikimi ve çekirdekte kromatin kondensasyonu gibi dejeneratif değişiklikler olduğu bildirilmiştir (Cai, 1989; Seager ve ark., 1984; Zhu ve ark., 1993)

Başka çalışmalar da göstermektedir ki; hücre içi pH düzeyinin azalması ve hücrenin asidoza gitmesi sonucu çoklu enzim aktivitesi gözlenmektedir. Aktive olan enzimlerin yapısal ve enzimatik sitoplazma proteinlerini denatüre etmesi ile ortama verilen bazik gruplar, asit boyalara (eozin) affinite göstererek sitoplazmanın asidofilik boyanmasına neden olmaktadır (Cotran ve ark., 1999).

Bizim çalışmamızda, diyabetli sıçanlarda soluk asidofilik boyanma gözlenmiş; bu durum da miyofibril kaybını akla getirmiştir; ancak bunun net tanısını koyabilmek için immünohistokimyasal ve ultrastrüktürel çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Ayrıca; yapılan çalışmalarda; kardiyak fibrozisin kollajen fibrillerin artması ve kontraktıl fonksiyonun azalması ile karakterize olduğu bildirilmektedir. Diyabette izlenen kalp dokusundaki kollajen birikiminde metalloproteinaz 2 ve 9'un önemli rol oynadığı gösterilmektedir (Heymans ve ark., 2005; Kwak ve ark., 2011; Li ve ark., 2000).

Harackova ve Murphy'nin yapmış olduğu çalışmada, STZ ile oluşturulan diyabet modelinde sıçanlarda 8-10 haftalık süreçte, ventriküler kalp kası hücrelerinde minimal düzeyde değişiklik olduğu savunulmuştur (Horackova ve Murphy, 1988).

Cai ve ark yapmış oldukları çalışmada ise 60-65 mg/kg STZ enjeksiyonu ile erkek sıçanlarda oluşturduğu diyabet modellerinde, 12 hafta sonunda miyokard tabakasında inceleme gözlemlediklerini bildirmişlerdir (Cai, 1989).

Bizim çalışmamızda da; diyabet grubunda, kontraktilitede azalma ve bağ doku boyanmasında artış görülmüş ve bu durum kardiyak fibrozis ile ilişkilendirilmiştir.

Bu bilgiler ışığında, miR-200c-3p, miR-129-5p, miR-150-3p, miR-3584-5p upregüle olarak ve miR-34c-3p, miR-342-3p, miR-466d, miR-466c-3p, miR-15b-5p, miR-196b-3p, miR-466b-3p, miR-31a-5p, miR-208a-5p miRNA'larının ise downregüle olarak; DKM patogeneze katkıda bulundukları belirlenmiştir. Bugüne kadar yapılan çalışmalarda miR-200c ve miR-208a'nın diyabetik kardiyomiyopatide etkili oldukları bildirilmişken, diğerlerinin kanser modellerinde, kardiyomiyopatide, mitokondriyal metabolizmada ve diyabetik yara iyileşmesinde etkili oldukları gösterilmesine rağmen diyabetik kardiyomiyopatideki etkileri henüz bilinmemektedir.

Bizim çalışmamızda miR-200c ve miR-208a'nın dışındaki miRNA'ların diyabetik kardiyomiyopatide etkili olduğunu gördük. Bu miRNA'lar için downregüle olanların (miR34c-3p, miR342-3p, miR-466d, miR-446c-3p, miR-31a-5, miR-15b-5p, miR196b-3p, miR-466b-3p, miR208a-5p) aktivasyonunun, upregüle olanların (miR-200c-3p, miR129-5p, miR-150-3p, miR-3584-5p) ise inhibisyonunun DKM tedavisinde etkin rol oynayacağını düşünmekteyiz.

Çalışmamızın bir Yüksek Lisans tezi olmasından dolayı ve yine bu nedenden ötürü bütçesinin sınırlı olmasından dolayı yapılabilecek ileri çalışmalara (Western blotlama, immünohistokimya, immünfluoresan ya da ultrastrüktel) ihtiyaç duyulmaktadır. Gelecekte yapılacak olan ileri analizlerin de DKM patolojisine ve tedavi hedeflerine katkısı olacağı kanısındayız.

8. KAYNAKLAR

Adler AI, Stevens, RJ, Manley S. E, Bilous RW, Cull CA, Holman RR, Ukpds G. Development and progression of nephropathy in type 2 diabetes: the United Kingdom Prospective Diabetes Study. *Kidney Int.* 2003;63:225-232.

Adler AI, Stratton IM, Neil HA, Yudkin JS, Matthews DR, Cull CA, Holman RR. Association of systolic blood pressure with macrovascular and microvascular complications of type 2 diabetes, prospective observational study. *Br Med J.* 2000;321:412-419.

AlWakeel JS, Hammad D, Al Suwaida A, Mitwalli AH, Memon NA, Sulimani F. Microvascular and macrovascular complications in diabetic nephropathy patients referred to nephrology clinic. *Saudi J Kidney Dis Transpl.* 2009;20:77-85.

American Diabetes A. Standards of Medical Care in Diabetes. *Diabetes Care.* 2008;31(Suppl 1):12-54.

American Diabetes A. Standards of Medical Care in Diabetes. *Diabetes Care.* 2014;37(Suppl 1):14-80.

American Diabetes A. Classification and Diagnosis of Diabetes: Standards of Medical Care in Diabetes. *Diabetes Care.* 2018;41(Suppl 1):13-27.

Arauz PC, Raskin P. Hypertension in diabetes mellitus. *Endocrinol Metab Clin North Am.* 1996;25:401-423.

Asrih M, Steffens S. Emerging role of epigenetics and miRNA in diabetic cardiomyopathy. *Cardiovascular Pathol.* 2013;22:117-125.

Association AD. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care.* 2014;37 (Suppl 1):81-90.

Association AD. Diabetes Advocacy Standards of Medical Care in Diabetes. Diabetes Care. 2018; 41 (Suppl 1):152.

Atkinson MA, Eisenbarth GS, Michels AW. Type 1 diabetes. Lancet. 2014;383:69-82.

Bansal D, Gudala K, Muthyala H, Esam HP, Nayakallu R, Bhansali A. Prevalence and risk factors of development of peripheral diabetic neuropathy in type 2 diabetes mellitus in a tertiary care setting. J Diabetes Investig. 2014; 5:714-721.

Bartel DP. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function. Cell. 2004;116(Suppl 2):281-297.

Baseler WA, Thapa D, Jagannathan R, Dabkowski ER, Croston TL, ve Hollander JM. miR-141 as a regulator of the mitochondrial phosphate carrier (Slc25a3) in the type 1 diabetic heart. Am J Physiol Cell Physiol. 2012;303: 1244-1251.

Bernardo BC, Nguyen SS, Winbanks CE, Gao XM, Boey EJ, Tham YK, Thomas CJ. Therapeutic silencing of miR-652 restores heart function and attenuates adverse remodeling in a setting of established pathological hypertrophy. The FASEB Journal. 2014; 28:5097-5110.

Bingley PJ. Clinical applications of diabetes antibody testing. The Journal of Clinical Endocrinology ve Metabolism. 2010;95: 25-33.

Blow MJ, Grocock RJ, Van DS, Enright AJ, Dicks E, Futreal PA, .Stratton MR. RNA editing of human microRNAs. Genome Biol. 2006;7:27.

Bozkurt B, Colvin M, Cook J, Cooper LT, Deswal A, Fonarow GC, Outcomes R. Current Diagnostic and Treatment Strategies for Specific Dilated

Cardiomyopathies: A Scientific Statement From the American Heart Association. Circulation. 2016;134: 579-646.

Bronnum H, Andersen DC, Schneider M, Nossent AY, Nielsen SB, Sheikh SP. Islet-1 is a dual regulator of fibrogenic epithelial-to-mesenchymal transition in epicardial mesothelial cells. *Exp Cell Res*. 2013; 319:424-435.

Bugger H, Abel ED. Molecular mechanisms of diabetic cardiomyopathy. *Diabetol*. 2014;57:660-671.

Butler PC, Meier JJ, Butler AE, Bhushan A. The replication of beta cells in normal physiology, in disease and for therapy. *Nat Clin Pract Endocrinol Metab*. 2007;3:758-768.

Cade WT. Diabetes-related microvascular and macrovascular diseases in the physical therapy setting. *Phys Ther*. 2008;88(11):1322-1335.

Cai F. Studies of enzyme histochemistry and ultrastructure of the myocardium in rats with streptozotocin-induced diabetes. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi*. 1989;69:276-278.

Campbell TM, Wasserfall C, Kaddis J, Albanese OA, Staeva T, Nierras C, Atkinson M. Network for Pancreatic Organ Donors with Diabetes (nPOD): developing a tissue biobank for type 1 diabetes. *Diabetes Metab Res Rev*. 2012;28:608-617.

Care A, Catalucci D, Felicetti F, Bonci D, Addario A, Gallo P, Dalton ND.. MicroRNA-133 controls cardiac hypertrophy. *Nature Medicine*. 2007;13(5): 613.

Care A, Catalucci D, Felicetti F, Bonci D, Addario A, Gallo P, Condorelli G. MicroRNA-133 controls cardiac hypertrophy. *Nature Medicine*. 2007;13:613-618.

Charbonnel B, Dormandy J, Erdmann E, Massi BM, Skene A, Group PRS. The prospective pioglitazone clinical trial in macrovascular events (Proactive): can

pioglitazone reduce cardiovascular events in diabetes? Study design and baseline characteristics of 5238 patients. *Diabetes Care*. 2004;27:1647-1653.

Chavali V, Tyagi SC, Mishra PK. MicroRNA-133a regulates DNA methylation in diabetic cardiomyocytes. *Biochem Biophys Res Commun*. 2012; 425(3): 668-672.

Chawla A, Chawla R, Bhasin G, Soota K. Profile of adolescent diabetics in North Indian population. *J Clin Diabetol*. 2014;1:1-3.

Chawla A, Chawla R, Jaggi S. Microvascular and macrovascular complications in diabetes mellitus: distinct or continuum? *Indian J Endocrinol Metab*. 2016;20:546.

Chen JF, Murchison EP, Tang R, Callis TE, Tatsuguchi M, Deng Z, Selzman CH. Targeted deletion of Dicer in the heart leads to dilated cardiomyopathy and heart failure. *Proc Natl Acad Sci*. 2008;105, 2111-2116.

Chen L, Magliano DJ, Zimmet PZ. The worldwide epidemiology of type 2 diabetes mellitus--present and future perspectives. *Nat Rev Endocrinol*. 2011;8(4): 228-236.

Chen S, Puthanveetil P, Feng B, Matkovich SJ, Dorn GW, Chakrabarti S. Cardiac miR-133a overexpression prevents early cardiac fibrosis in diabetes. *J Cell Mol Med*. 2014;18:415-421.

Chen S, Puthanveetil P, Feng B, Matkovich SJ, Dorn GW, Chakrabarti S. Cardiac miR-133a overexpression prevents early cardiac fibrosis in diabetes. *J Cell Molec Med*. 2014;18: 415-421.

Cheng Y, Ji R, Yue J, Yang J, Liu X, Chen H, Zhang C. MicroRNAs are aberrantly expressed in hypertrophic heart: do they play a role in cardiac hypertrophy? *Am J Pathol*. 2007; 170:1831-1840.

Choi JW, Moon S, Jang EJ, Lee CH, Park JS. Association of prediabetes-associated single nucleotide polymorphisms with microalbuminuria. *Plos One*. 2017;12:14-24.

Cinar MG, Ulker S, Alper G, Evinc A.. Effect of dietary vitamin E supplementation on vascular reactivity of thoracic aorta in streptozotocin-diabetic rats. *Pharmacol.* 2001; 62(1): 56-64.

Committee IE. International Expert Committee report on the role of the A1C assay in the diagnosis of diabetes. *Diabetes Care.* 2009;32:1327-1334.

Condorelli G, Latronico MV, Cavarretta E. microRNAs in cardiovascular diseases: current knowledge and the road ahead. *J Am Coll Cardiol.* 2014;63:2177-2187.

Condorelli G, Latronico MV, Dorn GW. microRNAs in heart disease: putative novel therapeutic targets? *Eur Heart J.* 2010;31: 649-658.

Control, Prevention. National diabetes statistics report. GA: Centers for Disease Control and Prevention. Atlanta; 2017, p:124-128.

Cotran RS, Kumar V, Collins T, Robbins SL. Robbins pathologic basis of disease. 7 st ed. Philadelphia, Pa : Elsevier Saunders; 2005, p: 344-346.

Çalışma TDM, Grubu E. TEMD Diabetes Mellitus ve Komplikasyonlarının tanı, tedavi ve izlem Klavuzu. 10. Basım, Miki Matbaacılık, Ankara; s: 23.

Dabelea D, Rewers A, Stafford JM, Standiford DA, Lawrence JM, Saydah, S. Trends in the prevalence of ketoacidosis at diabetes diagnosis: the SEARCH for diabetes in youth study. *Pediatrics.* 2014;133: 938-945.

Dahlmans D, Houzelle A, Andreux P, Jorgensen JA, Wang X, Windt LJ, Hoeks J. An unbiased silencing screen in muscle cells identifies miR-320a, miR-150, miR-196b, and miR-34c as regulators of skeletal muscle mitochondrial metabolism. *Mol Metab.* 2017;6:1429-1442.

De Vriese AS, Verbeuren TJ, Van de VJ, Lameire NH, Vanhoutte PM. Endothelial dysfunction in diabetes. *Br J Pharmacol.* 2000;130: 963-974.

Dempsey PC, Owen N, Yates TE, Kingwell BA, Dunstan DW. Sitting Less and Moving More: Improved Glycaemic Control for Type 2 Diabetes Prevention and Management. *Curr Diab Rep.* 2016;16:114.

Diabetes, Complications Trial /Epidemiology of Diabetes, I, Complications Study Research G. Intensive Diabetes Treatment and Cardiovascular Outcomes in Type 1 Diabetes: The DCCT/EDIC Study 30-Year Follow-up. *Diabetes Care.* 2016;39:686-693.

Diao X, Shen E, Wang X, Hu B. Differentially expressed microRNAs and their target genes in the hearts of streptozotocin-induced diabetic mice. *Mol Med Rep.* 2011;4:633-640.

Duan Y, Zhou B, Su H, Liu Y, Du C. miR-150 regulates high glucose-induced cardiomyocyte hypertrophy by targeting the transcriptional co-activator p300. *Exp Cell Res.* 2013; 319:173-184.

Duan Y, Zhou B, Su H, Liu Y, Du C. miR-150 regulates high glucose-induced cardiomyocyte hypertrophy by targeting the transcriptional co-activator p300. *Exp Cell Res.* 2013;319:173-184.

Duncan JG. Mitochondrial dysfunction in diabetic cardiomyopathy. *Biochim Biophys Acta.* 2011;1813:1351-1359.

Dutta A, Naorem S, Singh TP, Wangjam K. Prevalence of peripheral neuropathy in newly diagnosed type 2 diabetics. *Int J Diab Dev Countries.* 2005; 25:30-33.

Ellis KL, Cameron VA, Troughton RW, Frampton CM, Ellmers LJ, Richards AM. Circulating microRNAs as candidate markers to distinguish heart failure in breathless patients. *Eur J Heart Fail.* 2013;15:1138-1147.

Esler M. Mental stress and human cardiovascular disease. *Neurosci Biobehav Rev.* 2017;74:269-276.

Federation ID. IDF diabetes atlas. Brussels: International Diabetes Federation. 2013;128:40-50.

Feng B, Chen S, George B, Feng Q, Chakrabarti S. miR133a regulates cardiomyocyte hypertrophy in diabetes. *Diabetes Metab Res Rev.* 2010;26:40-49.

Fichtlscherer S, De Rosa S, Fox H, Schwietz T, Fischer A, Liebetrau C, Dimmeler S. Circulating microRNAs in patients with coronary artery disease. *Circ Res.* 2010;107:677-684.

Figueira MF, Monnerat CG, Medei E, Carvalho AB, Morales MM, Lamas ME, Souza MJ. MicroRNAs: potential therapeutic targets in diabetic complications of the cardiovascular and renal systems. *Acta Physiol.* 2014;211:491-500.

Fong DS, Aiello LP, Ferris FL, Klein R. Diabetic retinopathy. *Diabetes Care.* 2004;27:2540-2553.

Foulis AK, Liddle CN, Farquharson MA, Richmond JA, Weir RS. The histopathology of the pancreas in type 1 (insulin-dependent) diabetes mellitus: a 25-year review of deaths in patients under 20 years of age in the United Kingdom. *Diabetol.* 1986;29:267-274.

Foulis AK, Stewart JA. The pancreas in recent-onset type 1 (insulin-dependent) diabetes mellitus: insulin content of islets, insulinitis and associated changes in the exocrine acinar tissue. *Diabetol.* 1984;26:456-461.

Fowler MJ. Microvascular and macrovascular complications of diabetes. *Clin Diabetes.* 2008;26:77-82.

Francescato MP, Stel G, Geat M, Cauci S. Oxidative stress in patients with type 1 diabetes mellitus: is it affected by a single bout of prolonged exercise?. Plos One. 2014; 9: 99062.

Fuller JH, Stevens LK, Wang SL. Risk factors for cardiovascular mortality and morbidity: the WHO Mutinational Study of Vascular Disease in Diabetes. Diabetol. 2001; 44 (Suppl 2):54-64.

Gale EA. Type 1 diabetes in the young: the harvest of sorrow goes on. Diabetol. 2005;48:1435-1438.

Gepts W. Pathologic anatomy of the pancreas in juvenile diabetes mellitus. Diabetes. 1965;14:619-633.

Giacco F, Brownlee M. Oxidative stress and diabetic complications. Circ Res. 2010;10:1058-1070.

Göçmen C, Seçilmiş A, Kumcu EK, Ertuğ PU, Önder S, Dikmen A, Baysal F. Effects of vitamin E and sodium selenate on neurogenic and endothelial relaxation of corpus cavernosum in the diabetic mouse. Eur J Pharmacol. 2000;398:93-98.

Greenbaum CJ, Beam CA, Boulware D, Gitelman SE, Gottlieb PA, Herold KC, Type 1 Diabetes TrialNet Study, G. (2012). Fall in C-peptide during first 2 years from diagnosis: evidence of at least two distinct phases from composite Type 1 Diabetes TrialNet data. Diabetes, 61, 2066-2073.

Gregg BE, Moore PC, Demozay D, Hall BA, Li M, Husain A, Rhodes CJ.. Formation of a human beta-cell population within pancreatic islets is set early in life. J Clin Endocrinol Metab. 2012; 97:3197-3206.

Gregg EW, Zhuo X, ChengYJ, Albright AL, Narayan KM, Thompson TJ. Trends in lifetime risk and years of life lost due to diabetes in the USA, 1985-2011: a modelling study. *Lancet Diabetes Endocrinol.* 2014;2:867-874.

Gross JL, Azevedo MJ, Silveiro SP, Canani LH, Caramori ML, Zelmanovitz T. Diabetic nephropathy: diagnosis, prevention, and treatment. *Diabetes Care.* 2005;28:164-176.

Group AC, Patel A, MacMahon S, Chalmers J, Neal B, Billot L, Travert F. Intensive blood glucose control and vascular outcomes in patients with type 2 diabetes. *N Engl J Med.* 2008;358:2560-2572.

Guo CA, Guo S. Insulin receptor substrate signaling controls cardiac energy metabolism and heart failure. *J Endocrinol.* 2017;233:131-143.

Guo R, Nair S. Role of microRNA in diabetic cardiomyopathy: From mechanism to intervention. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis.* 2017;1863:2070-2077.

Hu YJ. Insulin resistance in type 2 diabetes. In: Richard IG, eds. *Textbook of Diabetes.* 3 st ed. Southampton: 2010, p: 1-19.

Harjutsalo V, Sjoberg L, Tuomilehto J. Time trends in the incidence of type 1 diabetes in Finnish children: a cohort study. *Lancet.* 2008;371:1777-1782.

Hatun Ş, Çizmecioğlu F, Çalıkoğlu AS. Çocukluk çağında diyabetik ketoasidoz ve tedavisi. *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi.* 2006;49:50-59.

Hayward RA, Reaven PD, Emanuele NV, Investigators V. Follow-up of Glycemic Control and Cardiovascular Outcomes in Type 2 Diabetes. *N Engl J Med.* 2015;373:978.

Healy GN, Dunstan DW, Salmon J, Cerin E, Shaw JE, Zimmet PZ, Owen N. Breaks in sedentary time: beneficial associations with metabolic risk. *Diabetes Care*. 2008;31:661-666.

He L, Hannon GJ. MicroRNAs: small RNAs with a big role in gene regulation. *Nature Rev Genet*. 2004; 5:522.

Heymans S, Schroen B, Vermeersch P, Milting H, Gao F, Kassner A, Janssens S. Increased cardiac expression of tissue inhibitor of metalloproteinase-1 and tissue inhibitor of metalloproteinase-2 is related to cardiac fibrosis and dysfunction in the chronic pressure-overloaded human heart. *Circ*. 2005;112,1136-1144.

Hitit M, Kurar E, Güzeloğlu A. MikroRNA Biyogenezi. *Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi*. 2015;10:65.

Holman RR, Paul SK, Bethel MA, Matthews DR, Neil HA. 10-year follow-up of intensive glucose control in type 2 diabetes. *N Engl J Med*. 2008;359:1577-1589.

Holscher ME, Bode C, Bugger H. Diabetic Cardiomyopathy: Does the Type of Diabetes Matter? *Int J Mol Sci*. 2016;17:36.

Horackova M, Murphy MG. Effects of chronic diabetes mellitus on the electrical and contractile activities, 45Ca^{2+} transport, fatty acid profiles and ultrastructure of isolated rat ventricular myocytes. *Pflugers Arch*. 1988;411:564-572.

Hu ZW, Miller JW, Hoffman BB. Induction of enhanced release of endothelium-derived relaxing factor after prolonged exposure to alpha-adrenergic agonists: role in desensitization of smooth muscle contraction. *J Cardiovasc Pharmacol*. 1994;23:337-343.

Huynh K, Bernardo BC, McMullen JR, Ritchie RH. Diabetic cardiomyopathy: mechanisms and new treatment strategies targeting antioxidant signaling pathways. *Pharmacol Ther.* 2014;142:375-415.

IDF Atlas. International Diabetes Federation. 7th edition. 2015;35-37.

Idiopathic B, Endocrinopathies, D. Report of the expert committee on the diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care.* 2003;26:5-20.

In't Veld P. Insulitis in the human endocrine pancreas: does a viral infection lead to inflammation and beta cell replication? *Diabetol.* 2011;54:2220-2222.

Jaffe AS, Ravkilde J, Roberts R, Naslund U, Apple FS, Galvani M, Katus H. It's time for a change to a troponin standard. *Circ.* 2000;102:1216-1220.

Jakus V, Rietbrock N. Advanced glycation end-products and the progress of diabetic vascular complications. *Physiol Res.* 2004;53:131-142.

Ji R, Cheng Y, Yue J, Yang J, Liu X, Chen H, Zhang C. MicroRNA expression signature and antisense-mediated depletion reveal an essential role of MicroRNA in vascular neointimal lesion formation. *Circ Res.* 2007;100:1579-1588.

Ji X, Takahashi R, Hiura Y, Hirokawa G, Fukushima Y, Iwai N. Plasma miR-208 as a biomarker of myocardial injury. *Clin Chem.* 2009;55:1944-1949.

Kalofoutis C, Piperi C, Kalofoutis A, Harris F, Phoenix D, Singh J. Type II diabetes mellitus and cardiovascular risk factors: Current therapeutic approaches. *Exp Clin Cardiol.* 2007;12:17-28.

Kandula V, Kosuru R, Li H, Yan D, Zhu Q, Lian Q, Irwin MG. Forkhead box transcription factor 1: role in the pathogenesis of diabetic cardiomyopathy. *Cardiovasc Diabetol.* 2016;15:44.

Kangralkar V, Patil SD, Bandivadekar R. Oxidative stress and diabetes: a review. *Int J Pharm Appl.* 2010;1:38-45.

Karasu Ç, Arı N. Enerji Metabolizmasının Regülasyonu: Pankreasın Rolü, Gastroenteropankreatik Hormonlar, Yağ Dokusu Hormonları, Nöropeptidler, Diabetes Mellitus, Antidiyabetik İlaçlar, Diyabet/Diyabete Tedavisinde Yeni Ajanlar ve Potansiyel Hedefler. *Türkiye Clin J Int Med Sci.* 2005;1:1-61.

Keenan HA, Sun JK, Levine J, Doria A, Aiello LP, Eisenbarth G, King GL.. Residual insulin production and pancreatic β -cell turnover after 50 years of diabetes: Joslin Medalist Study. *Diabetes.* 2010;59: 2846-2853.

Khardori R. Type 2 diabetes mellitus. *Medscape Diabetes Endocrinol.* 2013;36:1.

Kitabchi AE, Umpierrez GE, Miles JM, Fisher JN. Hyperglycemic crises in adult patients with diabetes. *Diabetes Care.* 2009;32:1335-1343.

Koloğlu S. Endokrinolojide Temel ve Klinik. 1. Baskı, Medikal Network. Ankara; 2005, s: 320-324.

Krentz AJ, Clough G, Byrne CD. Interactions between microvascular and macrovascular disease in diabetes: pathophysiology and therapeutic implications. *Diabetes Obes Metab.* 2007; 9:781-791.

Kuwabara Y, Horie T, Baba O, Watanabe S, Nishiga M, Usami S, Otsu K. MicroRNA-451 exacerbates lipotoxicity in cardiac myocytes and high-fat diet-induced cardiac hypertrophy in mice through suppression of the LKB1/AMPK pathway. *Circ Res.* 2014;116:279-288.

Kuwabara Y, Horie T, Baba O, Watanabe S, Nishiga M, Usami S, Ono K. MicroRNA-451 exacerbates lipotoxicity in cardiac myocytes and high-fat diet-

induced cardiac hypertrophy in mice through suppression of the LKB1/AMPK pathway. *Circ Res*. 2015;116:279-288.

Kwak HB, Kim JH, Joshi K, Yeh A, Martinez DA, Lawler JM. Exercise training reduces fibrosis and matrix metalloproteinase dysregulation in the aging rat heart. *Fed Am Soci Exp Biol J*. 2011;25:1106-1117.

Lagos QM, Rauhut R, Yalcin A, Meyer J, Lendeckel W, Tuschl T. Identification of tissue-specific microRNAs from mouse. *Curr Biol*. 2002; 12:735-739.

Lal N, Chiu AP, Wang F, Zhang D, Jia J, Wan A, Rodrigues B. Loss of VEGFB and its signaling in the diabetic heart is associated with increased cell death signaling. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2017; 312:1163-1175.

Launer LJ, Miller ME, Williamson JD, Lazar RM, Gerstein HC, Murray AM, Investigators AM. Effects of intensive glucose lowering on brain structure and function in people with type 2 diabetes (Accord Mind): a randomised open-label substudy. *Lancet Neurol*. 2011;10:969-977.

Lee RC, Feinbaum RL, Ambros V. The *C. elegans* heterochronic gene *lin-4* encodes small RNAs with antisense complementarity to *lin-14*. *Cell*. 1993;75:843-854.

Leslie RD. Predicting adult-onset autoimmune diabetes: clarity from complexity. *Diabetes*. 2010;59:330-331.

Leslie RD, Kolb H, Schloot NC, Buzzetti R, Mauricio D, De Leiva A, Pozzilli P. Diabetes classification: grey zones, sound and smoke: Action LADA 1. *Diabetes Metab Res Rev*. 2008;24:511-519.

Li H, Simon H, Bocan TM, Peterson JT. MMP/TIMP expression in spontaneously hypertensive heart failure rats: the effect of ACE- and MMP-inhibition. *Cardiovasc Res.* 2000;46:298-306.

Litwin SE. Diabetes and the heart: is there objective evidence of a human diabetic cardiomyopathy? *Diabetes.* 2013;62:3329-3330.

Liu JW, Liu D, Cui KZ, Xu Y, Li YB, Sun YM, Su Y. Recent advances in understanding the biochemical and molecular mechanism of diabetic cardiomyopathy. *Biochem Biophys Res Commun.* 2012;427:441-443.

Liu N, Bezprozvannaya S, Williams AH, Qi X, Richardson JA, Bassel DR., Olson EN. microRNA-133a regulates cardiomyocyte proliferation and suppresses smooth muscle gene expression in the heart. *Genes Dev.* 2008;22:3242-3254.

Liu S, Li W, Xu M, Huang H, Wang J, Chen X. Micro-RNA 21Targets dual specific phosphatase 8 to promote collagen synthesis in high glucose-treated primary cardiac fibroblasts. *Can J Cardiol.* 2014;30:1689-1699.

Lorenzo AA, Tunon J, Orejas M, Cortes M, Egidio J, Lorenzo O. Diagnostic approaches for diabetic cardiomyopathy. *Cardiovasc Diabetol.* 2017;16:28.

Lu J, Zello GA, Randell E, Adeli K, Krahn J, Meng QH. Closing the anion gap: contribution of D-lactate to diabetic ketoacidosis. *Clin Chim Acta.* 2011;412:286-291.

MacFarlane LA, Murphy P. MicroRNA: biogenesis, function and role in cancer. *Current genomics.* 2010;11:537-561.

Michels AW, Eisenbarth GS. Immune intervention in type 1 diabetes. *Seminars Immunol.* 2011;23: 214-219.

Miller MA, Morgan RJ, Thompson CS, Mikhailidis DP, Jeremy JY. Adenylate and guanylate cyclase activity in the penis and aorta of the diabetic rat: an in vitro study. *Br J Urol*. 1994;74:106-111.

Naik RG, Brooks WB. M, Palmer JP. Latent autoimmune diabetes in adults. *J Clin Endocrinol Metab*. 2009;94:4635-4644.

Nandi SS, Duryee MJ, Shahshahan HR, Thiele GM, Anderson DR, Mishra PK. Induction of autophagy markers is associated with attenuation of miR-133a in diabetic heart failure patients undergoing mechanical unloading. *Am J Transl Res*. 2015;7:683-696.

Newton CA, Raskin P. Diabetic ketoacidosis in type 1 and type 2 diabetes mellitus: clinical and biochemical differences. *Arch Intern Med*. 2004; 164:1925-1931.

Ng MC. Genetics of Type 2 Diabetes in African Americans. *Curr Diab Rep*. 2015;15:74.

Ni R, Cao T, Xiong S, Ma J, Fan GC, Lacefield JC, Peng T. Therapeutic inhibition of mitochondrial reactive oxygen species with mito-TEMPO reduces diabetic cardiomyopathy. *Free Radic Biol Med*. 2016;90:12-23.

Niyazova R, Atambayeva S, Akimniyazova A, Pinsky I, Alybaeva A, Faye B, Ivashchenko A. Features of mir-466-3p binding sites in mRNA genes with different functions. *Int J Biol Chem*. 2015;8:44-51.

Nunes S, Soares E, Pereira FC, Reis F. The role of inflammation in diabetic cardiomyopathy. *Int J Inflamm Cytokine Mediator Res*. 2012;4:59-73.

Okonko DO, Shah AM. Heart failure: mitochondrial dysfunction and oxidative stress in CHF. *Nat Rev Cardiol*. 2015;12:6-8.

Orasanu G, Plutzky J. The pathologic continuum of diabetic vascular disease. *J Am Coll Cardiol*. 2009; 53(Suppl 5):35-42.

Ostman J, Lonnberg G, Arnqvist HJ, Blohme G, Bolinder J, Ekbom Schnell A, Nystrom L. Gender differences and temporal variation in the incidence of type 1 diabetes: results of 8012 cases in the nationwide Diabetes Incidence Study in Sweden 1983-2002. *J Intern Med*. 2008;263:386-394.

Ozougwu J, Obimba K, Belonwu C, Unakalamba C. The pathogenesis and pathophysiology of type 1 and type 2 diabetes mellitus. *J Physiol Pathophysiol*. 2013;4:46-57.

Oztürk Y, Altan VM, Yildizoğlu AN. Effects of experimental diabetes and insulin on smooth muscle functions. *Pharmacol Rev*. 1996; 48:69-112.

Harrison P. Almost Half the US Population Has Diabetes or Its Precursor. *Medscape Med News*. 2017;15:83-89.

Papageorgiou N, Tousoulis D, Androulakis E, Kontogeorgou A, Charakida M, Giolis A, Stefanadis C. The role of microRNAs in the initiation and progression of stable atheromatous plaque. *Curr Pharm Des*. 2013;19:1651-1657.

Philippe MF, Benabadji S, Barbot TL, Vadrot D, Boitard C, Larger E. Pancreatic volume and endocrine and exocrine functions in patients with diabetes. *Pancreas*. 2011;40:359-363.

Pickup JC. Insulin-pump therapy for type 1 diabetes mellitus. *N Engl J Med*. 2012; 366:1616-1624.

Puckrein GA, Egan BM, Howard G. Social and Medical Determinants of Cardiometabolic Health: The Big Picture. *Ethn Dis*. 2015;25:521-524.

Puddu P, Puddu GM, Zaca F, Muscari A. Endothelial dysfunction in hypertension. *Acta Cardiol.* 2000;55:221-232.

Puett RC, Lamichhane AP, Lawson AB, Liu L, Liese AD. Neighborhood context and incidence of type 1 diabetes: the SEARCH for Diabetes in Youth study. *Health Place.* 2012;18:911-916.

Raman R, Ganesan S, Pal SS, Kulothungan V, Sharma T. Prevalence and risk factors for diabetic retinopathy in rural India. Sankara Nethralaya Diabetic Retinopathy Epidemiology and Molecular Genetic Study III, Report No 2. *Bmj Open Diabetes Res Care.* 2014;2:1.

Raman R, Rani PK, Reddi RS, Gnanamoorthy P, Uthra S, Kumaramanickavel G, Sharma T. Prevalence of diabetic retinopathy in India: Sankara Nethralaya Diabetic Retinopathy Epidemiology and Molecular Genetics Study report 2. *Ophthalmol.* 2009;116:311-318.

Raut SK, Kumar A, Singh GB, Nahar U, Sharma V, Mittal A, Khullar M. miR-30c Mediates Upregulation of Cdc42 and Pak1 in Diabetic Cardiomyopathy. *Cardiovasc Ther.* 2015;33:89-97.

Raut SK, Kumar A, Singh GB, Nahar U, Sharma V, Mittal A, Khullar M. miR-30c mediates upregulation of Cdc42 and Pak1 in diabetic cardiomyopathy. *Cardiovasc Therap.* 2015;33:89-97.

Rawal S, Manning P, Katare R. Cardiovascular microRNAs: as modulators and diagnostic biomarkers of diabetic heart disease. *Cardiovasc Diabetol.* 2014;13:44.

Rawal S, Ram TP, Coffey S, Williams MJ, Saxena P, Bunton RW, Katare R. Differential expression pattern of cardiovascular microRNAs in the human type-2 diabetic heart with normal ejection fraction. *Int J Cardiol.* 2016;202:40-43.

Reilly S, Liu X, Carnicer R, Rajakumar T, Sayeed R, Krasopoulos G, Casadei B. Evaluation of the role of miR-31-dependent reduction in dystrophin and nNOS on atrial-fibrillation-induced electrical remodelling in man. *Lancet*. 2015;385 (Suppl 1):82.

Roep BO, Peakman M. Diabetogenic T lymphocytes in human type 1 diabetes. *Curr Opin Immunol*. 2011;23:746-753.

Rochette L, Zeller M, Cottin Y, Vergely C. Diabetes, oxidative stress and therapeutic strategies. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*. 2014;1840:2709-2729.

Ruby JG, Jan CH, Bartel DP. Intronic microRNA precursors that bypass Drosha processing. *Nature*. 2007;448:83.

Schaffer SW, Jong CJ, Mozaffari M. Role of oxidative stress in diabetes-mediated vascular dysfunction: unifying hypothesis of diabetes revisited. *Vascular Pharmacol*. 2012;57:139-149.

Saklani R, Gupta SK, Mohanty IR, Kumar B, Srivastava S, Mathur R. Cardioprotective effects of rutin via alteration in TNF-alpha, CRP, and BNP levels coupled with antioxidant effect in STZ-induced diabetic rats. *Mol Cell Biochem*. 2016;420:65-72.

Saraiya AA, Li W, Wang CC. Transition of a microRNA from repressing to activating translation depending on the extent of base pairing with the target. *Plos One*, 2013;8:2.

Sayed D, Hong C, Chen IY, Lypowy J, Abdellatif M. MicroRNAs play an essential role in the development of cardiac hypertrophy. *Circ Res*. 2007;100:416-424.

Seager MJ, Singal PK, Orchard R, Pierce GN, Dhalla NS. Cardiac cell damage: a primary myocardial disease in streptozotocin-induced chronic diabetes. *Br J Exp Pathol.* 1984;65:613-623.

Shah AD, Langenberg C, Rapsomaniki E, Denaxas S, Pujades RM, Gale CP, Hemingway H. Type 2 diabetes and incidence of cardiovascular diseases: a cohort study in 1.9 million people. *Lancet Diabetes Endocrinol.* 2015;3:105-113.

Shan ZX, Lin QX, Deng CY, Zhu JN, Mai LP, Liu JL, Yu XY. miR-1/miR-206 regulate Hsp60 expression contributing to glucose-mediated apoptosis in cardiomyocytes. *Fed Eur Biochem Soci Lett.* 2010;584:3592-3600.

Shen E, Diao X, Wang X, Chen R, Hu B. MicroRNAs involved in the mitogen-activated protein kinase cascades pathway during glucose-induced cardiomyocyte hypertrophy. *Am J Pathol.* 2011;179:639-650.

Shen X, Zheng S, Metreveli NS, Epstein PN. Protection of cardiac mitochondria by overexpression of MnSOD reduces diabetic cardiomyopathy. *Diabetes.* 2006;55:798-805.

Singh GB, Raut SK, Khanna S, Kumar A, Sharma S, Prasad R, Khullar M. MicroRNA-200c modulates DUSP-1 expression in diabetes-induced cardiac hypertrophy. *Molec Cell Biochem.* 2017;424:1-11.

Skyler JS, Bakris GL, Bonifacio E, Darsow T, Eckel RH, Groop L, Ratner RE. Differentiation of Diabetes by Pathophysiology, Natural History, and Prognosis. *Diabetes.* 2017;66:241-255.

Soderstrom U, Aman J, Hjern A. Being born in Sweden increases the risk for type 1 diabetes - a study of migration of children to Sweden as a natural experiment. *Acta Paediatrici.* 2012;101(1):73-77.

Soedamah MS, Chaturvedi N, Witte DR, Stevens LK, Porta M, Fuller JH. Relationship between risk factors and mortality in type 1 diabetic patients in Europe: the EURODIAB Prospective Complications Study (PCS). *Diabetes Care*. 2008;31:1360-1366.

Standards of Medical Care in Diabetes Summary of Revisions. *Diabetes Care*. 2016;39 (Suppl 1):4-5.

Steinberg D, Bennett GG, Svetkey L. The DASH Diet, 20 Years Later. *J Am Med Ass*. 2017;317:1529-1530.

Tatsuguchi M, Seok HY, Callis TE, Thomson JM, Chen JF, Newman M, Wang DZ. Expression of microRNAs is dynamically regulated during cardiomyocyte hypertrophy. *J Molec Cell Cardiol*. 2007;42:1137-1141.

Tesfamariam B, Cohen RA. Free radicals mediate endothelial cell dysfunction caused by elevated glucose. *Am J Physiol-Heart Circ Physiol*. 1992;263:321-326.

Tong PC, Kong AP, So WY, Ng MH, Yang X, Ng MC, Chan JC. Hematocrit, independent of chronic kidney disease, predicts adverse cardiovascular outcomes in chinese patients with type 2 diabetes. *Diabetes Care*. 2006;29:2439-2444.

Trachanas K, Sideris S, Aggeli C, Poulidakis E, Gatzoulis K, Tousoulis D, Kallikazaros I. Diabetic cardiomyopathy: from pathophysiology to treatment. *Hellenic J Cardiol*. 2014;55:411-421.

Trevisan R, Dodesini AR, Lepore G. Lipids and renal disease. *J Am Soc Nephrol*. 2006;17 (Suppl 2):145-147.

Tuomi T. Type 1 and type 2 diabetes: what do they have in common? *Diabetes*. 2005;54 (Suppl 2):40-45.

Tüzün M, Yılmaz C, Kabalak T. Endokrinoloji El Kitabı. 3. baskı. Güven Kitabevi, İzmir; 2004, s: 609-700.

Udali S, Guarini P, Moruzzi S, Choi SW, Friso S. Cardiovascular epigenetics: from DNA methylation to microRNAs. *Mol Aspects Med.* 2013;34:883-901.

Usher SJA, Thompson MJ, Sharp SJ, Walter FM.. Factors associated with the presence of diabetic ketoacidosis at diagnosis of diabetes in children and young adults: a systematic review. *Br Med J.* 2011;343:4092.

Utkan T, Yildirim MK, Yildirim S, Sarioglu Y. Effects of the specific phosphodiesterase inhibitors on alloxan-induced diabetic rabbit cavernous tissue in vitro. *Int J Impot Res.* 2001;13:24-30.

Hackethal V. 2 in 5 American Adults Will Develop Diabetes. *Medscape Med News.* 2014;69:34-37.

Valinezhad OA, Safaralizadeh R, Kazemzadeh BM. Mechanisms of miRNA-Mediated Gene Regulation from Common Downregulation to mRNA-Specific Upregulation. *Int J Genomics.* 2014;97:607.

Van RE, Olson EN. MicroRNAs: powerful new regulators of heart disease and provocative therapeutic targets. *J Clin Invest.* 2007;117:2369-2376.

Van RE, Sutherland LB, Thatcher, JE, DiMaio JM, Naseem RH, Marshall WS, Olson EN. Dysregulation of microRNAs after myocardial infarction reveals a role of miR-29 in cardiac fibrosis. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 2008;105:13027-13032.

Vasudevan S. (Posttranscriptional upregulation by microRNAs. *Wiley Interdiscip Rev RNA.* 2012;3:311-330.

Wang W, Yang C, Wang XY, Zhou LY, Lao GJ, Liu D, Ren M. MicroRNA-129 and -335 Promote Diabetic Wound Healing by Inhibiting Sp1-Mediated MMP-9 Expression. *Diabetes*. 2018;67:1627-1638.

Wegner M, Neddermann D, Piorunska SM, Jagodzinski PP. Role of epigenetic mechanisms in the development of chronic complications of diabetes. *Diabetes Res Clin Pract*. 2014;105:164-175.

Wei L, Yuan M, Zhou R, Bai Q, Zhang W, Zhang M, Shi L. MicroRNA-101 inhibits rat cardiac hypertrophy by targeting Rab1a. *J Cardiovasc Pharmacol*. 2015;65:357-363.

Wellen KE, Hotamisligil GS. Inflammation, stress, and diabetes. *J Clin Invest*. 2005;115:1111-1119.

Wende AR. Post-translational modifications of the cardiac proteome in diabetes and heart failure. *Proteomics Clin Appl*. 2016;10(1):25-38.

Wild S, Roglic G, Green A, Sicree R, King H. Global prevalence of diabetes: estimates for the year 2000 and projections for 2030. *Diabetes Care*. 2004;27:1047-1053.

Wilkin TJ. The accelerator hypothesis: a review of the evidence for insulin resistance as the basis for type I as well as type II diabetes. *Int J Obes (Lond)*. 2009;33:716-726.

Willcox A, Richardson SJ, Bone AJ, Foulis AK, Morgan NG. Analysis of islet inflammation in human type 1 diabetes. *Clin Exp Immunol*. 2009;155:173-181.

Williams LJ, Nye BG, Wende AR. Diabetes-Related Cardiac Dysfunction. *Endocrinol Metab*. 2017;32:171-179.

Xiao J, Liu H, Cretoiu D, Toader DO, Suciu N, Shi J, Li X. miR-31a-5p promotes postnatal cardiomyocyte proliferation by targeting RhoBTB1. *Exp Mol Med*. 2017;49:386.

Xie L, Zhu X, Hu Y, Li T, Gao Y, Shi Y, Tang S. Mitochondrial DNA oxidative damage triggering mitochondrial dysfunction and apoptosis in high glucose-induced HRECs. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2008;49:4203-4209.

Xu Z, Kong XQ. Bixin ameliorates high fat diet-induced cardiac injury in mice through inflammation and oxidative stress suppression. *Biomed Pharmacother*. 2017;89:991-1004.

Yang X, Yu H, Hu H, Yue J, Tian X, Wang C, Wang Z. MiR-139-3p is related to left ventricular hypertrophy and cardiomyocyte apoptosis in two-kidney one-clip hypertensive rats. *Archives Biol Sci*. 2015;67(2):427-435.

Yang Y, Hou N, Wang X, Wang L, Chang S, He K, Huang C. miR-15b-5p induces endoplasmic reticulum stress and apoptosis in human hepatocellular carcinoma, both in vitro and in vivo, by suppressing Rab1A. *Oncotarget*. 2015;6:16227-16238.

Yki JH, Kauppila M, Kujansuu E, Lahti J, Marjanen T, Niskanen L. Comparison of insulin regimens in patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus. *N Engl J Med* 1992;327:1426-1433.

Yu M, Liu Y, Zhang B, Shi Y, Cui L, Zhao X. Inhibiting microRNA-144 abates oxidative stress and reduces apoptosis in hearts of streptozotocin-induced diabetic mice. *Cardiovasc Pathol*. 2015;24:375-381.

Zhao F, Li B, Wei YZ, Zhou, B, Wang H, Chen M, Xiong SX. MicroRNA-34a regulates high glucose-induced apoptosis in H9c2 cardiomyocytes. *J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci*. 2013;33:834-839.

Zheng D, Ma J, Yu Y, Li M, Ni R, Wang G, Lacefield JC. Silencing of miR-195 reduces diabetic cardiomyopathy in C57BL/6 mice. *Diabetol*. 2015;58: 1949-1958.

Zheng D, Ma J, Yu Y, Li M, Ni R, Wang G, Peng T. Silencing of miR-195 reduces diabetic cardiomyopathy in C57BL/6 mice. *Diabetol*. 2015;58:1949-1958.

Zhou Q, Lv D, Chen P, Xu T, Fu S, Li J, Bei Y. MicroRNAs in diabetic cardiomyopathy and clinical perspectives. *Front Genet*. 2014;5:185.

Zhu XX, Zhou XP, Zhong XL, Zhong CS, Yu YF. Streptozotocin induced cardiomyopathy in diabetic rats. *Chin Med J*. 1993;106:463-466.

Zhu, Y, Zhang D, Zhou D, Li Z, Li Z, Fang L, Chen J. Susceptibility loci for metabolic syndrome and metabolic components identified in Han Chinese: a multi-stage genome-wide association study. *J Cell Mol Med*. 2017;21:1106-1116.

9. EKLER

EK-1: ETİK KURUL ONAYI



MARMARA ÜNİVERSİTESİ HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU

PROJE ONAY FORMU

BAŞVURU BİLGİLERİ	PROTOKOL KODU	34.2017.mar	ÇALIŞMA: TEZ
	PROJE ADI	Sıçanlarda Streptozotosin ile oluşturulan Diabetes Mellitus Modelinde MikroRNA'ların Kardiyomiyopati de Etkileri	
	SORUMLU ARAŞTIRMACI ÜNVANI/ ADI	Doç. Dr. H. Kübra ELÇİOĞLU	
	ARAŞTIRMA MERKEZİ	DEHAMER	
	DESTEKLEYİCİ		
KARAR BİLGİLERİ	TARİH: 02.05.2017 Yukarıda başvuru bilgileri verilen araştırma başvuru dosyası ve ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve gerçekleştirilmesinde sakınca bulunmadığı için kurulumuzca onaylanmasına oy birliği ile karar verilmiştir. Onay sonrasında yapılacak her türlü proje değişiklikleri (katılımcılar, başlık vb.) veya protokol değişikliklerinin Etik Kurula bildirilerek proje onayının yenilenmesi gerekmektedir.		
ETİK KURUL BİLGİLERİ	ÇALIŞMA ESASI Deney hayvanları ile yapılacak olan bilimsel araştırma, test, sağlık hizmetleri uygulamaları ve eğitim-öğretim gibi temel etkinliklerde kullanılan yöntem ve materyaller ile ilgili etik standartları gözetmek, etik ilkeler doğrultusunda görüş bildirmek, araştırma önerilerini incelemek ve sertifikası olmayanların deney hayvanı kullanmalarını engellemektir.		
ÜYELER			
Ünvanı/ Adı/ Soyadı	Uzmanlık Dalı	Kurumu/ Ek Üyeliği	Onaylanan Proje ile İlişkisi Toplantıya Katılım İmza
Prof.Dr. Göksel ŞENER	Farmakoloji	M.Ü. Eczacılık Fakültesi ve Hayvan Deneyleri Etik Kurul Başkanı	Var Yok Evet Hayır
Prof.Dr. Levent KABASAKAL	Farmakoloji	M.Ü. Eczacılık Fakültesi ve Hayvan Deneyleri Etik Kurul Üyesi	Var Yok Evet Hayır
Prof.Dr. Ayşen YARAT	Biyokimya	M.Ü. Diş Hekimliği Fakültesi ve Hayvan Deneyleri Etik Kurul Üyesi	Var Yok Evet Hayır
Prof.Dr. Serap ŞIRVANCİ	Histoloji Embriyoloji ABD	M.Ü. Tıp Fakültesi ve Hayvan Deneyleri Etik Kurul Üyesi	Var Yok Evet Hayır
Prof.Dr. Rezzan GÜLHAN	Farmakoloji	M.Ü. Tıp Fakültesi ve Hayvan Deneyleri Etik Kurul Üyesi	Var Yok Evet Hayır
Doç.Dr. Gürkan SERT	Tıp Tarihi ve Etik	M.Ü. Tıp Fakültesi ve Hayvan Deneyleri Etik Kurul Üyesi	Var Yok Evet Hayır
Vet. Dr. Dilek ÖZBEYLİ	Veteriner Hekim	M.Ü. Tıp Fakültesi ve Hayvan Deneyleri Etik Kurul Üyesi	Var Yok Evet Hayır
Bio. Arif GÜMÜŞ	Biyoloji	Sivil Toplum Kuruluşu Üyesi ve Kurumla ilişkisi olmayan TC vatandaşı üye	Var Yok Evet Hayır
Cihanşah MURATOĞLU	Serbest Danışmanlık	Kurumla ilişkisi olmayan TC vatandaşı üye	Var Yok Evet Hayır

EK-2: KONGRE BİLDİRİSİ

Poster Sunumu: İstanbul Yeni Yüzyıl Üniversitesi I. Ulusal Genç Eczacılar Kongresi (GEKON 2019), 8-10 Mart 2019, İstanbul.

İstanbul Yeni Yüzyıl Üniversitesi I. Ulusal Genç Eczacılar Kongresi, 08-10 Mart İstanbul

Sıçanlarda Streptozotosin ile oluşturulan Diabetes Mellitus Modelinde MikroRNA'ların Kardiyomiyopatide Etkileri

Aslıhan Şeyda ÇETİNSOY^{1,4}, Mukaddes PALA², Yalçın POLAT³, Hatice Kübra ELÇİOĞLU⁴

¹Biruni Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı, İstanbul

²Biruni Üniversitesi, Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı, İstanbul

³Biruni Üniversitesi, Tıp Fakültesi Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı, İstanbul

⁴Marmara Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmakoloji Anabilim Dalı, İstanbul

acetinsoy@biruni.edu.tr

Diabetes mellitus, insülin sentezinde azalma veya insülin direnci nedeniyle hiperqlisemi ve glikozürinin yanı sıra, lipit, karbohidrat ve protein metabolizmalarında bozukluk ile karakterize olan kronik endokrin bir hastalıktır. Diyabetik kardiyomiyopati ise kronik, geri dönüşümsüz bir patoloji olup, erken diastolik disfonksiyona, kardiyak hipertrofiye, ventriküler dilatasyona ve sistolik disfonksiyona neden olarak kalp yetmezliğiyle sonuçlanabilmektedir. Bu kadar kompleks patofizyolojik olaylarla karakterize olan diyabetik kardiyomiyopatiye neden olan mekanizmaların tanımlanması son derece önemlidir. Diyabetin etiolojisinde ve komplikasyonlarında MikroRNA (miRNA)'ların varlığının önemi bilinmektedir.

Çalışmamızda, 250-300 gr arasındaki ağırlıkta olan Sprague-Dawley cinsi erkek sıçanlar kullandık. Sıçanlar, 2 gruba ayrıldı; birinci gruba hiçbir uygulama yapılmazken, ikinci gruptaki sıçanlara 60 mg/kg dozda streptozotosin (STZ) intraperitoneal (ip) uygulandı. Kan glikoz değerleri 200 mg/dl'nin üzerinde olanlar diyabetik olarak kabul edildi. 6 haftanın sonunda hayvanların dekapitasyonunu takiben çıkarılan kalp dokularının bir kısmında, kardiyomiyopati patogenezinde etkili olduğu düşünülen miRNA'lar mikroarray yöntemi ile belirlendi. Geriye kalan kalp dokuları ise, % 10'luk formaldehit solüsyonuna alınarak histolojik çalışmalarda kullanıldı.

Diyabetik kalp dokusunda, kontrol grubuna oranla miRNA ekspresyonunda değişiklikler saptandı. Bu bağlamda, STZ ile indüklenen diyabet grubunda miR-200c-3p, miR-129-5p, miR-150-3p ve miR-3584-5p'nin ekspresyonlarında kontrol grubuna kıyasla anlamlı derecede artış gözlenirken, miR-34c-3p, miR-342-3p, miR-466d, miR-466c-3p, miR-31a-5p, miR-15b-5p, miR-196b-3p, miR-466b-3p ve miR-208a-5p'nin ekspresyon düzeylerinde kontrol grubuna kıyasla anlamlı derecede azalma görüldü. Histopatolojik sonuçlarımız bulgularımızı desteklemektedir.

Çalışmamızın sonuçlarına göre; hedef miRNA'ların ekspresyon düzeylerinin diyabetik kardiyomiyopati tanısında ve tedavisinde yol gösterici nitelikte olabileceği düşünülmektedir. Buradan hareketle hedef miRNA'ların ve dolayısı ile hedef genlerin belirlenebilmesi ve tedavide kullanılabilmesi ile ilgili yeni çalışmaların yapılması son derece önem arz etmektedir.

10. ÖZGEÇMİŞ

Adı	ASLIHAN ŞEYDA	Soyadı	ÇETİNSOY
Doğum Yeri	İSTANBUL	Doğum Tarihi	12.06.1993
Uyruğu	TÜRKİYE	Tel	0539 721 45 44
E-mail	aseydacetinsoy@gmail.com		

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mezuniyet Yılı
Doktora/Uzmanlık	-	
Yüksek Lisans		
Lisans	İstanbul Üniversitesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü	2015
Lise	Kütahya Simav Anadolu Öğretmen Lisesi	2011

İş Deneyimi

	Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
	Arş. Gör.	Biruni Üniversitesi / Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı	2018-Halen
	Öğr. Gör.	Biruni Üniversitesi / Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu	2017-2018

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama*	Konuşma*	Yazma*
İngilizce	İyi	İyi	İyi

	Yabancı Dil Sınav Notu #								
YDS	YÖKDİL	ÜDS	IELTS	TOEFL IBT	TOEFL PBT	TOEFL CBT	FCE	CAE	CPE
60	71.25								

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
ALES Puanı	78,28	79,53	71,75
(Diğer) Puanı			

Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma becerisi
Office	İyi

*Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendiriniz.

EK : Diğer Bilimsel faaliyetler (yayın, kongre bildirisi vs.)

- BOĞAZİÇİ ÜNİVERSİTESİ Moleküler Biyoloji ve Genetik Haftasonu Sempozyumu Katılımı(Mart-2013)
- HALİÇ ÜNİVERSİTESİ 1. İnfertilite ve Tüp Bebek Paneli Katılımı(Aralık-2013)
- İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ 10. Uluslararası Katılımlı Moleküler Biyoloji ve Genetik Kış Okulu Katılımı (Mart-2014)
- MARMARA ÜNİVERSİTESİ Deney Hayvanları Kullanımı Sertifikası (07.11.2016-18.11.2016)
- BİRÜNİ ÜNİVERSİTESİ Faculty Development and Mentoring Kursu Katılımı (27.02.2019-01.03.2019)
- BİRÜNİ ÜNİVERSİTESİ 3. Peritonitis Karsinomatözada Güncel Tedaviler Yaklaşımı Kursu (Mart-2019)