



**T.C.  
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ  
TIBBİ FARMAKOLOJİ ANABİLİMDALI**

**TİP 2 DİYABETTE METFORMİN TEDAVİSİNE  
CEVABIN LİVER X RESEPTÖR GEN  
EKSPRESYONU İLE İLİŞKİSİ**

**TIPTA UZMANLIK TEZİ**

**Dr. Özlem ERÇAL**

**KAYSERİ-2015**





**T.C.**  
**ERCIYES ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ**  
**TIBBİ FARMAKOLOJİ ANABİLİMDALI**

**TİP 2 DİYABETTE METFORMİN TEDAVİSİNE**  
**CEVABIN LİVER X RESEPTÖR GEN**  
**EKSPRESYONU İLE İLİŞKİSİ**

**TIPTA UZMANLIK TEZİ**

**Dr. Özlem ERÇAL**

**Danışman**

**Prof. Dr. Aydın ERENMEMİŞOĞLU**

**KAYSERİ-2015**

## TEŞEKKÜR

Bu araştırmanın planlanması, yürütölmesi sırasında desteğini ve emeğini esirgemeyen başta tez danışmanım Sayın Prof. Dr Aydın ERENMEMİŞOğLU'na, Farmakoloji Anabilim Dalındaki diğer öğretim üyeleri ve arkadaşlarıma, Kayseri Eğitim Araştırma Hastanesi ve Erciyes Üniversitesi Tıp Fakóltesinde emeği geçen herkese içtenlikle teşekkür ederim.

Bugünlere gelmem için fedakârlıklarını hiçbir zaman esirgemeyen ve üzerimde büyük emekleri olan sevgili annem, babam ve kardeşlerime, asistanlığım süresince anlayış ve desteğini esirgemeyen, her türlü zorluğumda hep yanımda olan eşime sonsuz sevgi ve şükranlarımı sunarım.

# İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	i
İÇİNDEKİLER.....	ii
KISALTMALAR .....	iv
TABLO LİSTESİ.....	vi
ŞEKİL LİSTESİ .....	vii
ÖZET .....	viii
ABSTRACT .....	ix
1. GİRİŞ VE AMAÇ .....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	5
2.1. DİYABETES MELLİTUSUN TANIMI VE EPİDEMİYOLOJİSİ.....	5
2.3. DİYABETES MELLİTUSUN TANISI.....	7
2.4. TİP 2 DİYABETES MELLİTUS VE PATOFİZYOLOJİSİ .....	9
2.4.1. Beta hücre disfonksiyonu .....	11
2.4.2. İnsülin direnci .....	12
2.5. TİP 2 DM RİSK FAKTÖRLERİ VE TARAMA .....	13
2.6. TİP 2 DİYABETES MELLİTUSUN KOMPLİKASYONLARI .....	14
2.6.1. Diyabetik nefropati.....	16
2.6.2. Diyabetik retinopati.....	16
2.6.3. Diyabetik nöropati.....	16
2.7. DİYABETLİ HASTALARDA GLİSEMİK KONTROL .....	16
2.8. TİP2 DİYABET MELLİTUS VE GENLERLE İLİŞKİSİ .....	18
2.9. TİP 2 DİYABETES MELLİTUSUN TEDAVİSİ.....	19
2.9.1. Güncel tedavi yaklaşımları .....	20
2.9.2. Oral antidiyabetik tedavi .....	20
2.10. METFORMİN .....	20
2.10.1. Yan etkileri: .....	21
2.10.2. Metforminin kontrendike olduğu durumlar: .....	21
2.10.3. İlaç etkileşimi: .....	21
2.10.4. Metforminin etkisi:.....	22
2.10.5. Etki mekanizması: .....	23

2.11. METFORMİN VE İLİŞKİLİ GENLER .....	23
2.12. LİVER X RESEPTÖRLER.....	25
<b>3. GEREÇ VE YÖNTEM .....</b>	<b>28</b>
3.1. ÇALIŞMA GRUBUNUN SEÇİMİ .....	28
3.2. ÇALIŞMAYA DAHİL OLMA KRİTERLERİ.....	28
3.3. ÇALIŞMA DIŞI BIRAKILMA KRİTERLERİ .....	28
3.4. BİYOKİMYASAL ÖLÇÜMLER .....	29
3.5. MONOSİT İZOLASYONU .....	29
3.6. RNA İZOLASYONU, cDNA SENTEZİ VE REAL-TIME PCR.....	30
3.7. İSTATİSTİKSEL ANALİZ .....	30
<b>4. BULGULAR.....</b>	<b>32</b>
<b>5. TARTIŞMA ve SONUÇLAR .....</b>	<b>43</b>
<b>6. KAYNAKLAR .....</b>	<b>48</b>

## KISALTMALAR

<b>ABC</b>	: ATP-binding cassette (ATP bağlayıcı kaset)
<b>ACE</b>	: American College of Endocrinology
<b>ADA</b>	: American Diabetes Association
<b>AKŞ</b>	: Açlık kan şekeri
<b>AMPK</b>	: AMP-activated protein kinase
<b>ApoE</b>	: Apoprotein E
<b>BAG</b>	: Bozulmuş açlık glukozu
<b>BGT</b>	: Bozulmuş glukoz toleransı
<b>BMI</b>	: Body mass index (Vücut kitle indeksi)
<b>CETP</b>	: Kolesterol ester transfer protein
<b>ChREBP</b>	: Karbonhidrat düzenleyici element bağlayan protein
<b>DCCT</b>	: Diabetes Control and Complications Trial
<b>DM</b>	: Diabetes Mellitus
<b>EASD</b>	: European Association for the study of Diabetes (Avrupa Diyabet Çalışma Birliği)
<b>FAT</b>	: Total fat mass (Total yağ kitlesi)
<b>GIP</b>	: Gastrik İnhibitör Polipeptid
<b>GİS</b>	: Gastrointestinal sistem
<b>GLP-1</b>	: Glukagon Like Polipeptid-1
<b>HDL</b>	: High density lipoprotein (Yüksek dansiteli lipoprotein)
<b>HPLC</b>	: High-performance liquid chromatography (Yüksek performanslı likid kromatografi)

<b>ICA</b>	: Islet cell antibody (adacık hücre antikorunu)
<b>IDF</b>	: Uluslararası Diyabet Federasyonu
<b>IFCC</b>	: International Federation of Clinical Chemistry (Uluslararası Klinik Kimyacılar Federasyonu)
<b>LDL</b>	: Low density lipoprotein (Düşük dansiteli lipoprotein)
<b>LPL</b>	: Lipoprotein lipaz
<b>LXR</b>	: Liver X reseptör (karaciğer X reseptörü)
<b>LXRE</b>	: LXR response element
<b>MODY</b>	: Maturity-Onset Diabetes of the Young (Gençlerin Erişkin Tipi Diyabeti)
<b>NGSP</b>	: National Glycohemoglobin Standardization Program (Ulusal Glikohemoglobin Standardizasyon Programı)
<b>NPDR</b>	: Non-proliferatif diyabetik retinopati
<b>OAD</b>	: Oral antidiyabetik ajanlar
<b>OGTT</b>	: Oral glukoz tolerans testi
<b>PDR</b>	: Proliferatif diyabetik retinopati
<b>PKOS</b>	: Polikistik over sendromu
<b>PPAR-<math>\gamma</math></b>	: Peroksizome Proliferatör-Activeted Receptor- $\gamma$
<b>RCT</b>	: Reverse cholesterol transport
<b>SREBP-1c</b>	: Sterol regulatory element-binding protein-1c
<b>SSS</b>	: Santral sinir sistemi
<b>TEMĐ</b>	: Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği
<b>TFAT</b>	: Truncal fat mass (Trunkal yağ kitlesi)
<b>TURDEP II</b>	: Türkiye Diyabet Epidemiyolojisi Çalışması II
<b>VLDL</b>	: Very low density lipoprotein (Çok düşük dansiteli lipoprotein )
<b>WC</b>	: Waist circumference
<b>WHO</b>	: World Health Organization

## TABLO LİSTESİ

<b>Tablo 1.</b> Diabetes mellitus'un Etyolojik Sınıflaması .....	6
<b>Tablo 2.</b> Diabetes mellitus Tanı Kriterleri.....	8
<b>Tablo 3.</b> Bozulmuş Glukoz Toleransı ve Bozulmuş Açlık Glukozu.....	9
<b>Tablo 4.</b> Erişkinlerde tip 2 diyabet taraması ve tanılama .....	14
<b>Tablo 5.</b> Tedavi Hedefleri (Uluslararası).....	17
<b>Tablo 6.</b> Tedavi Hedefleri (Ulusal/ TEMD) .....	17
<b>Tablo 7.</b> Liver X Reseptörlerin transkripsiyonel aktivasyonunun şematik sunumu. .	27
<b>Tablo 8.</b> Pozitif grup ile negatif grubun glukoz metabolizma parametrelerinin tedavi öncesi ve tedavi sonrası 3. ve 6. aydaki ortalamalarının karşılaştırılması .....	33
<b>Tablo 9.</b> Pozitif grup ile negatif grubun BMI, Bel Çevresi (WC), Vücut yağ yüzdesi (FAT) ve Trunkal yağ yüzdesi (TFAT) nin tedavi öncesi ve tedavi sonrası 3. ve 6. aydaki ortalamalarının karşılaştırılması .....	35
<b>Tablo 10.</b> Tedaviye cevap verenler (pozitif) ile cevap vermeyenlerin (negatif) Lipid Profilinin tedavi öncesi ve tedavi sonrası 3. ve 6. aydaki ortalamalarının karşılaştırılması. ....	36
<b>Tablo 11.</b> <i>LXRα</i> ve <i>LXRβ</i> gen ekspresyonlarının tedaviye cevap durumları arası ve zamana göre farklılıkları.....	37
<b>Tablo 12.</b> Hastaların metformin ile tedavi öncesi ve 3 aylık ve 6 aylık tedavi sonrası klinik ve laboratuvar parametrelerinin karşılaştırılması .....	40
<b>Tablo 13.</b> Tedaviden sonra hastaların klinik ve laboratuvar parametrelerindeki değişim ile <i>LXRα</i> ve <i>LXRβ</i> gen ekspresyonundaki değişimin ( $\Delta LXR\alpha$ ve $\Delta LXR\beta$ ) korelasyon değerleri (Spearman nonparametrik korelasyon testi).....	41

## ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1. Diabetes mellitus'un fizyopatolojisi .....	11
Şekil 2. Hastaların cinsiyet dağılımı.....	32
Şekil 3. Pozitif grup ile negatif grubun HbA1c değerlerinin metformin tedavisinden önce ve tedaviden sonra 3. ve 6. aydaki ortalamalarının karşılaştırılması .....	34
Şekil 4. Pozitif grup ile negatif grubun AKŞ değerlerinin metformin tedavisinden önce ve tedaviden sonra 3. ve 6. aydaki ortalamalarının karşılaştırılması .....	34
Şekil 5. Tedaviye cevap verenler ile vermeyenlerin 0, 3.ay ve 6.ayda <i>LXR<math>\alpha</math></i> ve <i>LXR<math>\beta</math></i> gen ekspresyonlarının değişimi.....	38

## TIP 2 DİYABETTE METFORMİN TEDAVİSİNE CEVABIN LİVER X RESEPTÖR GEN EKSPRESYON PROFİLİ İLE İLİŞKİSİ

### ÖZET

**Amaç:** Metformin tedavisine cevapta bireyler arasında önemli farklılıklar bulunmaktadır. Bu çalışmada, metformin tedavisine yanıtın Liver X Reseptör- $\alpha$  (*LXR- $\alpha$* ) ve Liver X Reseptör- $\beta$  (*LXR- $\beta$* ) gen ekspresyonu ile ilişkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

**Gereç ve Yöntem:** Bu çalışma, Amerikan Diyabet Derneği kriterlerine göre Tip 2 Diabetes mellitus tanısı konan, HbA1c değeri % 9 ve altında olan ve metformin tedavisi başlanan 30 gönüllü hasta üzerinde gerçekleştirildi. Hastalar 2000 mg/gün idame dozunda metformin verilerek 6 ay boyunca takip edildi. Hastalardan, tedavi başlamadan önce ve tedavinin başlanmasından 3 ve 6 ay sonra kan örnekleri alındı. Kanda fikoll-paque yöntemiyle elde edilen periferik kandaki mononükleer hücrelerden monosit izolasyonu yapıldı. Monositlerden de *LXR $\alpha$*  ve *LXR $\beta$*  genlerinin m-RNA'ları elde edildi. Gen ekspresyonları için RT-PCR tekniği kullanıldı. Ayrıca kanda HbA1c, Açlık kan şekeri (AKŞ), Total kolesterol (TKOL), Triglisericid (TRG), LDL ve HDL düzeylerine bakıldı.

**Bulgular:** Metformin tedavisine cevap veren hastalarda HbA1c, AKŞ, TKOL, TRG, LDL düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma, serum HDL seviyesinde ise anlamlı bir artış görülmüştür. Tedavi başlangıcından 3 ay sonra, tedaviye cevap veren hastalarda *LXR $\alpha$*  gen ekspresyonunda istatistiksel olarak anlamlı olmasa da bir artış izlenmiştir. Yine bu hastalarda, HbA1c'deki değişim ile *LXR $\alpha$*  gen ekspresyonundaki değişim arasında negatif bir korelasyon bulunmuştur (p=0,04).

**Sonuç:** Bu çalışmada elde edilen bulgular, *LXR $\alpha$*  geninin metforminin kan şekeri düşürücü etkisine ve lipid profili üzerindeki olumlu etkisine aracılık edebileceğini düşündürmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Tip 2 diabetes mellitus, metformin, *LXR $\alpha$* , *LXR- $\beta$*

## ABSTRACT

**Aim:** There are important differences among individuals in response to metformin treatment. The aim of this study was to evaluate relation between the response to metformin treatment and gene expression of *Liver X Receptor- $\alpha$*  (*LXR- $\alpha$* ) and *Liver X receptor  $\beta$*  (*LXR- $\beta$* ).

**Materials and Methods:** This study was performed on 30 volunteer patients who were diagnosed as Type 2 Diabetes Mellitus according to the American Diabetes Associations criterias and HbA1c level of %9 and less. 2000 mg/day maintenance dose of Metformin were given patients and they were followed for 6 months. Blood samples were taken from patients before starting treatment and after 3 and 6 months after starting treatment. We performed a monocyte isolation on peripheral blood mononuclear cells via Ficoll-Paque technique. The mRNAs of the *LXR $\alpha$*  and *LXR $\beta$*  genes were obtained from the monocytes. RT-PCR technique was applied for gene expression. Furthermore; HbA1c, fasting blood sugar (FBS), total cholesterol (TCOL), triglyceride (TRG), LDL and HDL levels were measured in blood.

**Results:** Patients who responded to the metformin therapy showed statistically significant decreases in HbA1c, FBS, TCOL, TRG, and LDL levels, while manifesting a significant decline in the HDL level. Three months after the onset of treatment, the patients who had responded to the therapy exhibited an increase, albeit not statistically significant, in the expression of *LXR $\alpha$*  gene . Furthermore, these patients showed a negative correlation between changes in HbA1c and *LXR $\alpha$*  gene expressions (p=0.04).

**Conclusion:** The results obtained in this study suggest that *LXR $\alpha$*  gene may act as a mediator for metformin in decreasing blood sugar levels and contributing positively to the lipid profile.

**Keywords:** Type 2 Diabetes Mellitus, Metformin, *LXR $\alpha$* , *LXR- $\beta$*

## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Tip 2 Diabetes mellitus (T2DM), bozulmuş insülin sekresyonu ve periferik insülin direnci ile karakterize, karbonhidrat, yağ ve protein metabolizmasında bozukluklar ile seyreden, kronik hiperglisemik bir metabolizma hastalığıdır (1). Diyabetin en sık görülen bir tipidir. Dünya çapında yaygınlığı giderek artmakta olup, mortalite ve orbiditesi ile önemli bir toplum sağlığı sorunudur. T2DM'nin erken evrelerinde görülen baskın defekt, insülin direnci olduğu için insüline duyarlılığı artırıcı ajanlarla tedavi son yıllarda giderek önem kazanmaktadır (2).

İnsüline duyarlılığı arttırıcı biguanid grubu bir ilaç olan metformin, yeni tanı almış T2DM'li hastaların tedavisinde en sık kullanılan birinci basamak bir ilaçtır. Metforminin yan etki bakımından, hafif kilo kaybına, dispeptik şikayetlere ve çok nadir olarak laktik asidoza neden olur. Hipoglisemi riski minimaldir. Metformin glisemik kontrolü; periferik glukoz uptake'ni ve insülin duyarlılığını artırarak ve hepatik glukoz üretimini (glukoneogenez) azaltarak sağlamaktadır (3).

Metforminin 50 yılı aşkın bir süredir klinikte kullanılmasına rağmen, moleküler mekanizması tam olarak bilinmemektedir. Metforminin belirlenen en önemli hücrenel hedefi; mitokondriyal solunum zinciri, lipit metabolizması ve hücrenel glukozun regülasyonunda önemli bir yeri olan, AMPK (Adenosine monophosphate-activated protein kinase)'dir (4, 5). Yapılan invivo ve invitro çalışmalarda metformin maruziyetine yanıt olarak iskelet kası ve karaciğerde AMPK aktivitesini artırdığı görülmüştür (4, 6). Metformin, AMPK'yı aktive ederek mitokondriyal solunum zincirindeki kompleks 1'i inhibe etmekte ve bunun sonucunda hücre içi AMP (Adenosine monophosphate) artışı meydana gelmektedir (7, 8).

Bununla birlikte yapılan bazı çalışmalar metforminin AMPK'yı direkt ya da fosforilasyon yoluyla aktive etmediğini göstermektedir. AMPK'nın onun bilinen tek terapötik hedefi olup olmadığı da belirsizliğini korumaktadır (9).

Metformine glisemik yanıtta bireyler arası çok önemli farklılıklar bulunmaktadır. Ancak metformin ile çok az sayıda farmakogenetik çalışma yapılmıştır. Yapılan bir çalışmada *ATM* (ataxia telangiectasia mutated) geni ile ilişkili bulunmuş ve bunun dışında tedaviye cevapta yararlı olabilecek herhangi bir klinik fenotipi ve genetik varyantı bildirilmemiştir (10).

T2DM bir metabolizma bozukluğudur. T2DM'de insülin direnci ve obezite ile ilişkili olarak kan glukoz, trigliserit ve kolesterol seviyeleri yüksektir (11).

Kolesterol, lipit ve karbonhidrat metabolizmasının transkripsiyonel regülasyonunda Liver X reseptörleri (*LXR*) anahtar bir rol oynar. *LXR*'leri nükleer reseptörlerdir (12). *LXR*'leri, *LXR*  $\alpha$  (11p11.2) ve *LXR*  $\beta$  (19q13.3) olarak iki farklı lokus tarafından kodlanmaktadır. *LXR*  $\alpha$ 'yı NR1H3, *LXR*  $\beta$ 'yi NR1H2 geni kodlamaktadır. *LXR*  $\alpha$  başlıca karaciğer, adipoz doku, bağırsak, böbrek ve makrofajlarda eksprese olurken, *LXR*  $\beta$  tüm dokularda eksprese olmaktadır (13).

*LXR* ligand aktivasyonunun periferik glukoz uptake'ni artırarak insülin duyarlılaştırıcı etkisi bazı çalışmalarda gösterilmiştir (14, 15). Pankreatik  $\beta$  hücre kültüründe, *LXR* reseptör agonistlerinin glukoz bağımlı insülin salınımını indüklediği görülmüştür. *LXR* reseptör agonistlerinin diyetle indüklenen bir obezite modelinde glukoz toleransını ve insülin direncini düzelttiği gösterilmiştir (16, 17). *LXR* agonistlerinin diyabetik olmayan hayvanlarda glisemiyi etkilememesi oldukça dikkat çekicidir (14, 18). Wild tipi farelerle yapılan çalışmada *LXR* aktivasyonunun, karaciğerde glukoneogenezin anahtar genlerini (Fosfoenol pirüvat kinaz, fruktoz-1,6 bifosfat ve glukoz-6-fosfat) belirgin bir şekilde baskılayarak glukoneogenezi inhibe ettiği bildirilmiştir (19). *LXR* agonistlerinin insan primer hepatositlerinde bu hücrelere direkt etki ederek glukoneogenik gen ekspresyonunu inhibe ettiği gösterilmiştir (14, 20). *LXR* $\alpha$  ve *LXR* $\beta$  reseptörlerinin her ikisinde de bu etki izlenmiştir (21).

Fizyolojik konsantrasyonlarda glukozun *LXR*'yi aktive etmesi, glukozun direkt *LXR* agonisti olduğunu düşündürmüştür (22). Yapılan bir çalışmada *LXR* $\beta$  yokluğunda glukoz intoleransı ve insülin direnci geliştiği görülmüştür (11). Ayrıca diyabetik farelerin kronik olarak *LXR* reseptör agonistleri ile tedavisinin bir sonucu olarak HDL düzeylerinde artış ve hepatik triaçilgliserol birikimi olduğu gösterilmiştir (17).

*LXRα* karaciğerde kolesterol metabolizmasının kontrolü için gerekli iken, *LXRβ* ise glukoz hemostazi, enerji kullanımı, kas ve adipoz dokuda yağ depolanmasında major regülatör olarak işlev gördüğü tespit edilmiştir (11).

*LXRα* başta lipit metabolizması olmak üzere, son zamanlarda yapılan yayınlardaki verilere göre glukoz metabolizmasından da sorumlu olduğu görülmüştür (23).

Glukoz, *LXRα*'nın protein seviyelerini değiştirmemekte, fakat pankreatik  $\beta$  hücrelerindeki lokalizasyonlarını değiştirmektedir. *LXRα* reseptörlerinin yüksek glukoz konsantrasyonunda nükleusta, düşük glukoz konsantrasyonunda ise sitoplazmada bulunduğu bildirilmiş ve *LXRα*'nın fizyolojik rolünün glukoz konsantrasyonuna bağlı değişebileceği düşünülmüştür. *LXRα*'nın yüksek glukoz konsantrasyonunda insülin salgısını ve glukoz uptake'ni artırdığı ve bazal glukoz konsantrasyonunu azalttığı görülmüştür (23, 24).

*LXRα*'sı olmayan fareler *LXR* ligandları ile tedavi edilmiş ve glukoneogenik gen ekspresyonu değerlendirilmiştir. *LXR* aktivasyonunun wild-tip farelerde glukoneogenik genlerin ekspresyonunu azalttığı, fakat *LXRα* yoksun hayvanlarda bunu yapmadığı gösterilmiştir (20). *LXRα* yoksun farelerde adipoz dokuda *GLUT4* mRNA' sında belirgin bir azalma izlenmiştir (24).

*LXR* agonistlerinin insülin sekresyonuna uyarıcı etkisi ve pankreas  $\beta$  hücrelerinde hem glukoz hem de lipit metabolizmasının düzenlenmesine aracılık ettiği görülmüştür (24, 25).

Bazı verilere göre *LXR* aktivasyonunun, kolesterolün safra asidine dönüşümünü, barsaktan eliminasyonunu ve yağ asidi ile trigliserit sentezi gibi periferden karaciğere ters kolestrol taşınmasını teşvik ettiği bildirilmiştir (13, 26). Vücutta periferdeki fazla kolesterolü ortadan kaldırmak için periferden HDL aracılı ters kolesterol taşıma (RCT) yolağında monositlerde bulunan *ABCG1* önemli bir unsurdur (27). *ATP bağlayıcı kaset protein G1 (ABCG1)* geninin makrofajlarda ve monositlerde ekspresyonu fazla olup, kolesterolün HDL'ye aktarılışında aracılık eder (28). Metformin ve bazı AMPK aktivatörlerinin de makrofajlarda *ABCG1* gen ekspresyonunu artırdığı gösterilmiştir (29). *ABCG1* ekspresyonu *LXR* tarafından düzenlenir (30). *ABCG1* aynı zamanda, *LXR* nin monositlerdeki hedef genidir (31).

Son zamanlardaki yapılan çalışmalar, hem *LXR α* hem de *LXR β* her iki nükleer reseptörlerinin diyabetin patofizyolojisi ile çok yakın ilişkisi olduğunu ileri

sürmektedir (14). *LXR* reseptörleri ( $\alpha$  ve  $\beta$ ) pankreas beta hücrelerinden insülin sekresyonunda ve insülin üretiminin kontrolünde önemli rol oynamaktadır. Bu reseptörleri kodlayan genlerdeki yaygın varyantlar pankreas beta hücrelerinin fonksiyonlarını değiştirebilir.

*LXR*'lerin lipit, karbonhidrat ve kolesterol metabolizmasındaki önemi belirgin bir şekilde dikkat çekmektedir (22, 32). *LXR* agonistlerinin antidiyabetik etkilerinin, metforminin metabolik etkisine benzer bir şekilde olduğu görülmektedir. Bazı verilere göre AMPK aktivasyonunun ligant aracılı *LXR* aktivitesini doğrudan etkilediği bildirilmiştir (33). Metforminin hücrel mekanizması bu reseptörlerle ilişkili olabilir.

Türk toplumunda ve literatürlerde *LXR* genlerinin ekspresyonu ile T2DM ve metformine cevap ilişkisi üzerine yapılmış bilgilerimiz dahilinde herhangi bir yayın mevcut değildir.

Metformine glisemik yanıtta bireyler arası önemli farklılıklar bulunmaktadır. Metformine cevaptaki bu farklılıklar, *LXR*'lerdeki varyantlarla ilişkili olabilir.

Bu çalışmadaki amaç, metforminin etkinliğinin *LXR*  $\alpha$  ve *LXR*  $\beta$  gen ekspresyonu ile ilişkisini araştırmaktır. Böylece bu çalışmanın, metforminin moleküler mekanizmasının aydınlatılmasına ve bu genle ilişkili yeni tedavi hedeflerinin bulunmasına ayrıca metforminin T2DM tedavisindeki terapötik etkisine katkıda bulunabileceği düşünülmektedir.

## **2. GENEL BİLGİLER**

### **2.1. DİYABETES MELLİTUSUN TANIMI VE EPİDEMİYOLOJİSİ**

DM; insülin hormonunun yokluğu, yetersizliği ya da etkisinin azalması sonucu gelişen, karbonhidrat, protein ve yağ metabolizma bozukluklarıyla birlikte olan kronik, metabolik bir hastalıktır (34).

Diyabetli hastaların sayısı, nüfus artışına, yaşlanmaya, kentleşmeye, fiziksel aktivitenin azalması ve obezitenin artmasına bağlı olarak her geçen gün daha da artmaktadır (35).

Yapılan araştırmalara göre 2000’li yıllarda diyabetli hasta sayısı dünya nüfusunun %4.6’sını (151 milyon) oluştururken, bu sayı 2010’da %6.6’ya (285 milyon) ulaşmıştır ve 2030 yılına kadar da %7.8’i (438 milyon) bulması beklenmektedir (36). 2010 yılındaki “Türkiye Diyabet Epidemiyolojisi Çalışması II” (TURDEP II) sonuçlarına göre Türk erişkin toplumunda 1990’ların sonunda %7.2 olan diyabet görülme sıklığının 2010 yılında %13.7’ye yükseldiği gözlenmiştir. TURDEP II verilerine göre, toplam Tip II diyabetli hasta sayısı 6.503.028’dir. Bu rakamlar, ayrıca, Türkiye’de diyabetin artış hızının dünya genelinin üzerinde olduğunu ve Dünya Sağlık Örgütü’nün 2030 yılı için öngördüğü Türkiye projeksiyonuna şimdiden ulaşıldığını göstermektedir.

### **2.2. DİYABETES MELLİTUSUN SINIFLANDIRILMASI**

DM’un etyolojik sınıflandırılması WHO (Dünya Sağlık Örgütü) ve ADA (Amerikan Diyabet Derneği)’nin önerileri doğrultusunda oluşturulmuştur (38)(Tablo 1).

**Tablo 1.** Diabetes mellitus'un Etyolojik Sınıflaması (38)

<b>I. Tip 1 diyabet</b> (Genellikle mutlak insülin noksanlığına sebep olan $\beta$ -hücre yıkımı vardır.)	
A. Otoimmün B. İdiyopatik	
<b>II. Tip 2 diyabet</b> (İnsülin direnci zemininde ilerleyici insülin sekresyon defekti ile karakterizedir.)	
<b>III. Gestasyonel Diabetes mellitus (GDM)</b> (Gebelik sırasında ortaya çıkan ve genellikle doğumla birlikte düzelen diyabet.)	
<b>IV. Diğer spesifik diyabet tipleri</b>	
<b>A. <math>\beta</math>-hücre fonksiyonlarının genetik defekti</b> (monogenik diyabet formları) <ul style="list-style-type: none"><li>• 20. Kromozom, HNF-4<math>\alpha</math> (MODY1)</li><li>• 7. Kromozom, Glukokinaz (MODY2)</li><li>• 12. Kromozom, HNF-1<math>\alpha</math> (MODY3)</li><li>• 13. Kromozom, IPF-1 (MODY4)</li><li>• 17. Kromozom, HNF-1<math>\beta</math> (MODY5)</li><li>• 2. Kromozom, NeuroD1 (MODY6)</li><li>• Mitokondriyal DNA</li><li>• Neonatal diyabet (Örn. Kir6.2 mutasyonuna bağlı diyabet)</li><li>• Diğerleri</li></ul> <b>B. İnsülinin etkisindeki genetik defektler</b> <ul style="list-style-type: none"><li>• Leprechaunizm</li><li>• Lipoatrofik diyabet</li><li>• Rabson-Mendenhall sendr.</li><li>• Tip A insülin direnci</li><li>• Diğerleri</li></ul> <b>C. Pankreasın ekzokrin doku hastalıkları</b> <ul style="list-style-type: none"><li>• Fibrokalkülöz pankreatopati</li><li>• Hemokromatoz</li><li>• Kistik fibroz</li><li>• Neoplazi</li><li>• Pankreatit</li><li>• Travma/pankreatektomi</li><li>• Diğerleri</li></ul> <b>D. Endokrinopatiler</b> <ul style="list-style-type: none"><li>• Akromegali</li><li>• Aldosteronoma</li><li>• Cushing sendr.</li><li>• Feokromositoma,</li><li>• Glukagonoma</li><li>• Hipertiroidi</li><li>• Diğerleri</li></ul>	<b>E. İlaç veya kimyasal ajanlar</b> <ul style="list-style-type: none"><li>• Atipik anti-psikotikler</li><li>• Anti-viral ilaçlar</li><li>• <math>\beta</math>-adrenerjik agonistler</li><li>• Diazoksid</li><li>• Fenitoin</li><li>• Glukokortikoidler</li><li>• <math>\alpha</math>-İnterferon</li><li>• Nikotinik asit</li><li>• Pentamidin</li><li>• Proteaz inhibitörleri</li><li>• Tiyazid grubu diüretikler</li><li>• Tiroid hormonu</li><li>• Vacor</li><li>• Diğerleri</li></ul> <b>G. İmmün aracılıklı nadir diyabet formları</b> <ul style="list-style-type: none"><li>• Anti-insülin reseptör antikolları</li><li>• Stiff-man sendr.</li><li>• Diğerleri</li></ul> <b>H. Diyabetle ilişkili genetik sendromlar (Monogenik diyabet formları)</b> <ul style="list-style-type: none"><li>• Alström sendr.</li><li>• Down sendr.</li><li>• Friedreich tipi ataksi</li><li>• Huntington korea</li><li>• Klinefelter sendr.</li><li>• Laurence-Moon-Biedl sendr.</li><li>• Miyotonik distrofi</li><li>• Porfiria</li><li>• Prader-Willi sendr.</li><li>• Turner sendr.</li><li>• Wolfram (DIDMOAD) sendr.</li><li>• Diğerleri</li></ul>

### 2.3. DİYABETES MELLİTUSUN TANISI

Diyabet ve diğer glukoz metabolizma bozukluklarının tanı ve sınıflamasında son 10 yılda bazı düzenlemeler yapılmıştır. Daha önce 1997 yılında, ADA yeni tanı ve sınıflama kriterlerini yayınlamıştır. WHO ve Uluslararası Diyabet Federasyonu (IDF) tarafından 2006 yılında yayınlanan raporda ise 1999 kriterlerinin korunması benimsenmiştir. 2003 yılında, bozulmuş açlık glukozu (BAG) tanısı için ADA tarafından küçük bir revizyon yapılmıştır. Buna karşılık, ADA ve Avrupa Diyabet Çalışma Birliği (EASD) 2007 yılında yayınlanan son konsensus raporlarında ise 2003 yılındaki düzenlemenin aynı kalması gerektiğini savunmaktadır (38, 39).

ADA, EASD, IDF ve IFCC (Uluslararası Klinik Kimyacılar Federasyonu) temsilcilerinin oluşturduğu Uluslararası Diyabet Uzmanlar Komitesinin 2008 yılında yaptığı toplantı sonucunda, uluslararası standardizasyon kurallarına uyulması koşulu ile diyabet tanısı için HbA1c alt sınırı %6.5 olarak belirlemiştir. A.B.D.'de tüm laboratuvarların kullandıkları A1C ölçüm yönteminin 'Ulusal Glikohemoglobin Standardizasyon Programı' (NGSP) tarafından sertifikalandırılması ve ölçüm yönteminde altın standart kabul edilen HPLC (yüksek performanslı likid kromatografi) yöntemine göre kalibre edilmesi şart koşulmaktadır (38).

Bununla birlikte HbA1c'nin tüm merkezlerde rutin olarak bakılamaması, olabilecek teknik sorunlar ve standardizasyonundaki eksikler ve maliyeti dikkate alındığında, testin tanı amaçlı kullanımının, birçok toplumda olduğu gibi; ülkemiz için de şu anda uygun olmadığı düşünülmektedir (38).

2010 yılında yeniden düzenlenen ADA'nın diyabet tanısı için belirlediği kriterler Tablo 2'de belirtilmiştir (40).

**Tablo 2.** Diabetes mellitus Tanı Kriterleri (40)

<p><b>1.</b> Diyabet semptomlarıyla beraber, günün herhangi bir saatinde ve son yenen yemekten sonra geçen zaman dikkate alınmaksızın plazma glukozunun <math>\geq 200</math> mg/dl (<math>\geq 11,1</math> mmol/l) olması.</p> <p>(Diyabet semptomları poliüri, polidipsi ve açıklanamayan kilo kaybıdır.)</p> <p>Veya</p>
<p><b>2.</b> Açlık plazma glukozunun <math>\geq 126</math> mg/dl (<math>\geq 7,0</math> mmol/l) olması. (Açlık; kalori almaksızın geçen en az 8 saat olarak tanımlanır.)</p> <p>Veya</p>
<p><b>3.</b> Oral glukoz tolerans testi (OGTT) ' inde 2. saat plazma glukozunun <math>\geq 200</math> mg/dl (<math>\geq 11,1</math> mmol/l) olması.</p> <p>OGTT; WHO'nün tanımlandığı, 3 günlük yeterli karbonhidrat (150 gr/gün) alımından sonra, açlık durumunda suda çözünen 75 gr glukoz ile yapılmalıdır.</p> <p>Veya</p>
<p><b>4.</b> HbA1c değerinin <math>\geq 6,5</math> olması (bu test DCCT (Diabetes Control and Complications Trial) tahlili ile standartize edilmiş ve NGSP (National Glycohemoglobin Standardization Program) onaylı metodu kullanan laboratuvarlarda yapılmalıdır.)</p>

Buna göre diyabet tanısı yukarıdaki dört yöntemden birisi ile konulabilir. Ancak tanının daha sonraki bir gün, diğer bir yöntemle de doğrulanması gerekmektedir. Herhangi bir enfeksiyon, travma, miyokard enfarktüsü ve stres gibi akut gelişen durumlarda ortaya çıkan ağır hiperglisemi, DM tanısı için yeterli kabul edilmez. Bu yüzden, akut geçici durum düzeldikten sonra, doğrulayıcı testler yapılarak kesin tanıya gidilmelidir (41).

1997 ADA ve 1999 WHO sınıflandırmalarında açlık kan glukoz düzeyinin normalin üzerinde fakat diyabet tanısı konulması için yeterli seviyede olmayan bireylerin

bulunduğu bir ara grup tanımlanmıştır (37). Bozulmuş açlık glukozu (BAG) ve bozulmuş glukoz toleransı (BGT) olarak tanımlanan bu ara grup günümüzde “Pre-diyabet” olarak adlandırılmaktadır (38). Bu grup tip 2 diyabet için yüksek risk taşımaktadır. WHO, bu hasta grubunda diyabeti ekarte etmek için OGTT yapılması gerektiğini önermektedir (37).

**Tablo 3.** Bozulmuş Glukoz Toleransı ve Bozulmuş Açlık Glukozu (37).

<b>Açlık plazma glukoz seviyesi;</b>		
< 100 mg/dl (<5.5 mmol/l)	Normal glisemi	
100-125 mg/dl (5.6-6.9 mmol/l)	Bozulmuş açlık glukozu	
≥126 mg/dl (7.0 mmol/l)	Diabetes mellitus	
<b>75 gr. OGTT’ de 2. saat plazma glukoz seviyesi;</b>		
< 140 mg/dl (<7.8 mmol/l)	Normal glisemi	
140-199 mg/dl (7.8-11.1 mmol/l)	Bozulmuş glukoz toleransı	
≥200 mg/dl (11.1 mmol/l)	Diabetes mellitus	

#### **2.4. TİP 2 DİYABETES MELLİTUS VE PATOFİZYOLOJİSİ**

Tip 2 diyabet, diyabetin en yaygın formudur. Tüm diyabetli hastaların %90-95’ini oluşturur. İnsülin sekresyonunda ve insülinin etkinliğinde ortaya çıkan bozuklukla karakterize bir hastalıktır. T2DM insülin eksikliğinden ziyade insülin fazlalığı ve insülin direnci görülür. T2DM gelişme riski yaş, obezite ve fiziksel inaktivite ile birlikte artış gösterir. Bununla birlikte aile hikâyesi önemlidir. Ailesinde diyabetik bireylerin olması, obezite, hipertansiyon ve kadınlarda gestasyonel diyabet öyküsünün bulunması T2DM görülme riskini artırmaktadır (37).

T2DM’nin patogenezinde çevresel ve genetik birçok faktörün etkisiyle insülin sekresyonunun bozulması ve insülinin hedef dokulardaki etkilerine karşı direnç gelişmesi rol oynamaktadır (Şekil 1) (42). Genetik faktörler T2DM oluşumunda kuvvetle etkilidir. T2DM’li hastaların 1. derece akrabalarında hastalık riski olmayanlara göre 5-10 kat daha yüksektir. Hastalığın oluşumunda birden fazla anormal gen polimorfizmi rol oynamaktadır. Ayrıca her biri genetik kontrol altında olan insülin sekresyonu ve sensitivitesi bozuklukları da görülebilmektedir (43).

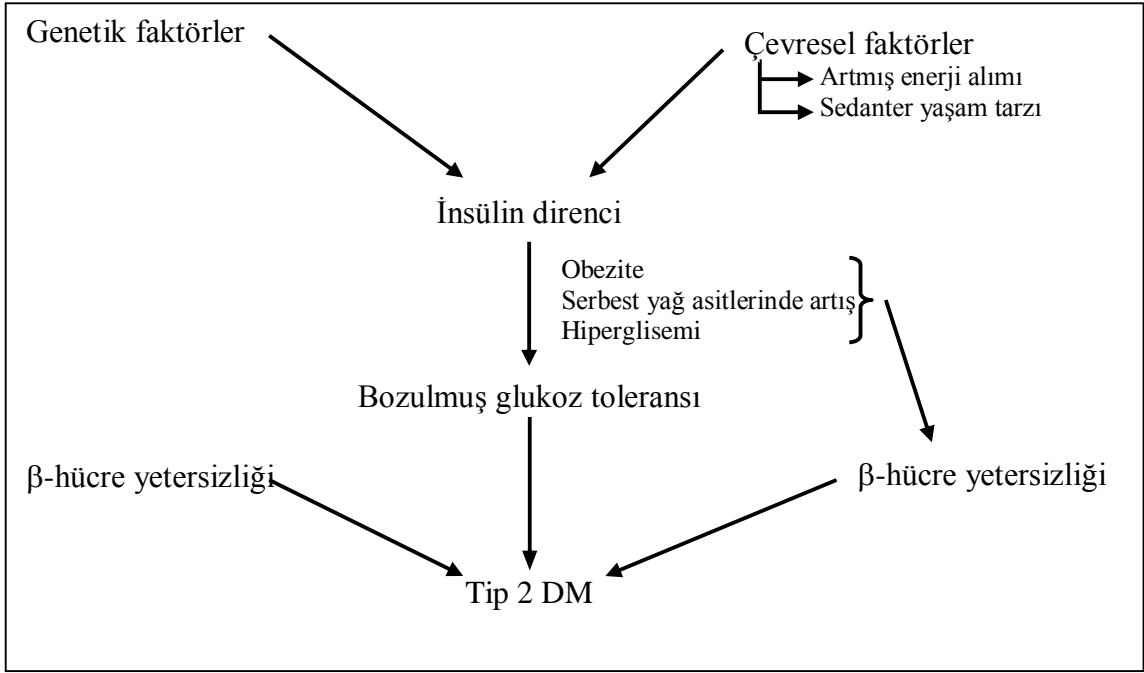
T2DM’li hastalarda hiperglisemi kademeli olarak ortaya çıkar ve yıllarca klinik olarak bulgu vermez bu nedenle hastalar yıllar boyu tanısız ve asemptomatiktir.

Ancak yine de farkına varılmayan hiperglisemi, organ ve sistemlerde hasar yapabilir ve diyabet tanısı konulduğunda bir kısım olguda hastalığın patolojik ve fonksiyonel değişikliklerinin başlamış olduğu görülür. Bu nedenle; hastalar poliüri, polidipsi, polifaji ve kilo kaybı gibi diyabetin klasik semptomları ile başvurabilecekleri gibi hastaların bir bölümü tanı anında asemptomatik olabilir. Ketoasidoza meyilli değillerdir, fakat enfeksiyon gibi ciddi stres durumlarında ketoasidoz veya nonketotik hiperosmolar hiperglisemik bir tablo gelişebilir ve bu durumda stupor, koma, hatta ölüm ile sonlanabilir.

Tip 2 DM hastalarında genellikle mikrovasküler ve makrovasküler komplikasyonlar birlikte bulunmaktadır (34, 37).

Mikrovasküler hastalıkların bozulmuş glukoz toleransı ile beraber ve makrovasküler hastalıkların diyabetik düzeydeki hiperglisemi ile beraber başlaması nedeniyle hastalığın erken tanı ve tedavisi son derece önemlidir. T2DM' li hastalar sıklıkla makrovasküler hastalıklar nedeniyle ölerken, mikrovasküler hastalıkları nedeniyle de büyük sorunlar yaşamaktadır (44).

Diyabet tanısı konulduktan sonraki dönemlerde insülin direnci artışı ve beta hücre fonksiyonunda azalma progresif olarak devam etmektedir. Faz I adını alan bu dönemde, yaşam kalitesini artırıcı yöntemler ve bazı oral ilaçlar uygulanarak glisemik kontrol elde edilmeye çalışılmakta, daha sonraki faz II döneminde glisemik kontrol sağlanması çeşitli oral ilaç kombinasyonları ile mümkün olabilmektedir. Son dönemde ise, insülin replasman tedavileri uygulanması gerekmektedir. Tip 2 diyabetiklerde sekonder direnç adını alan bu döneme geçişin % 2-5 hasta/yıl olduğu bildirilmektedir (45).



Şekil 1. Diabetes mellitus'un fizyopatolojisi

#### 2.4.1. Beta hücre disfonksiyonu

β-hücre yetmezliği, T2DM için karakteristik olup, patogenezinde ileri yaş önemli bir rol oynamaktadır. Birçok çalışmada β- hücre fonksiyonlarının yaşa bağlı olarak azaldığı gösterilmiştir. Buna paralel olarak DM prevalansı da artmaktadır (46).

Obezite ve azalmış fiziksel aktivite, ikisi birlikte insülin direncine yol açan durumlardır. Bu durumlara insülin direncini etkileyen genetik faktörler eklendiğinde, pankreatik β-hücreleri insülinin etki defektini telafi etmek için, insülin salgısını artırmaya çalışır ve bu da pankreatik β-hücreleri üzerine önemli bir stres yüküne yol açar. Bu süreçte glukoz toleransı normal kalmaya devam eder. Ancak, zamanla β-hücreleri yetersiz kalarak aşikâr diyabetin ortaya çıkmasına yol açar. Başlangıçta postprandial plazma glukoz düzeyleri ve ardından açlık plazma glukoz konsantrasyonu yükselmeye başlar. Hiperglisemi ve kötü metabolik kontrol, insülin duyarlılığında daha da düşüşe neden olabilir, ancak hastalığın ilerleme hızını belirleyen faktör, ilerleyici β-hücre yetmezliğidir (46).

### 2.4.2. İnsülin direnci

İnsülin direnci, kas ve yağ dokusu gibi periferik hedef organlarda ve karaciğer gibi santral hedef organlarda endojen ve ekzojen insüline karşı normal biyolojik yanıtın bozulması olarak tanımlanır. Özellikle visseral veya santral obezitesi olan T2DM'li hastalarda insülin direnci oldukça yaygın olarak görülmektedir ve bu hastalarda DM gelişiminden yıllar öncesinde insülin direnci bulunmaktadır (34).

İnsülin normal şartlarda, karaciğerde glukoneogenezi ve glikojenolizi inhibe ederek hepatik glukoz üretimini baskılar. Ayrıca glukozun kas ve yağ dokusu gibi periferik dokularda tutulmasını ve kullanımını artırarak kas dokusunda glikojen ve yağ dokusunda trigliserid olarak depolanmasını sağlar (47).

İnsülin direnci, insülinin glukozu hücre içine gönderme etkisinin azalması veya kaybolması olayıdır. Bu olay sonunda kanda artan glukoz, insülin salgılama mekanizmasını uyarır. Böylece hiperglisemi ve hiperinsülinemi birlikte oluşur. Bu özellik insülin direncinin en göze çarpan tablosudur. İnsülinin karaciğer, kas ve yağ dokusundaki etkilerine karşı direnç oluşarak, karaciğer kaynaklı glukoz yapımı artar. Kas ve yağ dokusuna insülin aracılığıyla olan glukoz alımı azalır (48). Artmış olan hepatik glukoz çıkışı özellikle açlık hiperglisemi düzeyleri ile ilişkilidir. Azalmış periferik glukoz kullanımı ise postprandiyal hiperglisemiye neden olmaktadır. Normal glukoz toleransını devam ettirmek için beta hücresinden daha fazla insülin salınımı gerçekleşmektedir. Beta hücresi fonksiyonlarını kaybetmeye başlayınca, insülin salınımında eksiklik ve bunun sonucunda da DM gelişmektedir (46).

İnsülin direnci kavramını ilk kez 1936'da Himsworth tarafından, insüline duyarlı ve insüline duyarlı olmayan iki tip diyabetik hastanın bulunduğunu ileri sürerek gündeme getirmiştir. Reaven 1988'de obezite, diyabet, hipertansiyon, hiperlipidemi ve aterosklerotik kalp hastalıklarının aynı hastada bulunmalarını gözlemleyerek bunların aynı metabolik bozukluktan kaynaklandığını ileri sürmüştür. Daha sonra Reaven, insülin direnci, hiperinsülinemi, obezite, glukoz tolerans bozukluğu, hipertrigliseridemi, azalmış HDL kolesterol konsantrasyonu, hipertansiyon ve koroner arter hastalığından oluşan insülin direnci sendromunu (sendrom X'i) tarif etmiştir (48).

## 2.5. TİP 2 DM RİSK FAKTÖRLERİ VE TARAMA

Tip 2 diyabetin ilk evreleri genellikle asemptomatiktir ve tanı konulana dek uzun bir süreç geçmektedir. Tanı konmamış tip 2 diyabetikler de diyabeti olmayan kişilere göre artmış mikrovasküler ve makrovasküler hastalık riski mevcuttur (44).

Erken tanı ve tedavi ile diyabete bağlı komplikasyonlar azaltılabileceğinden tüm yetişkinler demografik ve klinik özelliklerine uygun olarak tip 2 diyabet risk faktörleri açısından değerlendirilmelidir. ADA tarafından önerilen tarama ve tanı kriterleri; HbA1c, AKŞ değerleri ve BAG ve BGT olan bireylerde 75gr glukoz ile 2. saat OGTT değeridir (40)(Tablo 4). Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği (TEMĐ) kılavuzunda bu değerler ADA'nın önerilerine paralel olarak ortak görüşe dayalı kanıt olarak önerilmiştir. Buna göre;

- Obez veya kilolu (BMI  $\geq 25$  kg/m<sup>2</sup>) ve özellikle santral obezitesi (bel çevresi kadında  $>88$  cm, erkekte  $>102$  cm) olan kişilerde, 45 yaşından itibaren, 3 yılda bir, tercihen AKŞ ile diyabet taraması yapılmalıdır.

- Ayrıca BMI  $\geq 25$  kg/m<sup>2</sup> olan kişilerin, aşağıdaki risk gruplarından birini bulundurmaları halinde, daha genç yaşlardan itibaren ve daha sık araştırılmaları gerekir. TEMĐ'ne göre bu risk faktörleri şunlardır (38):

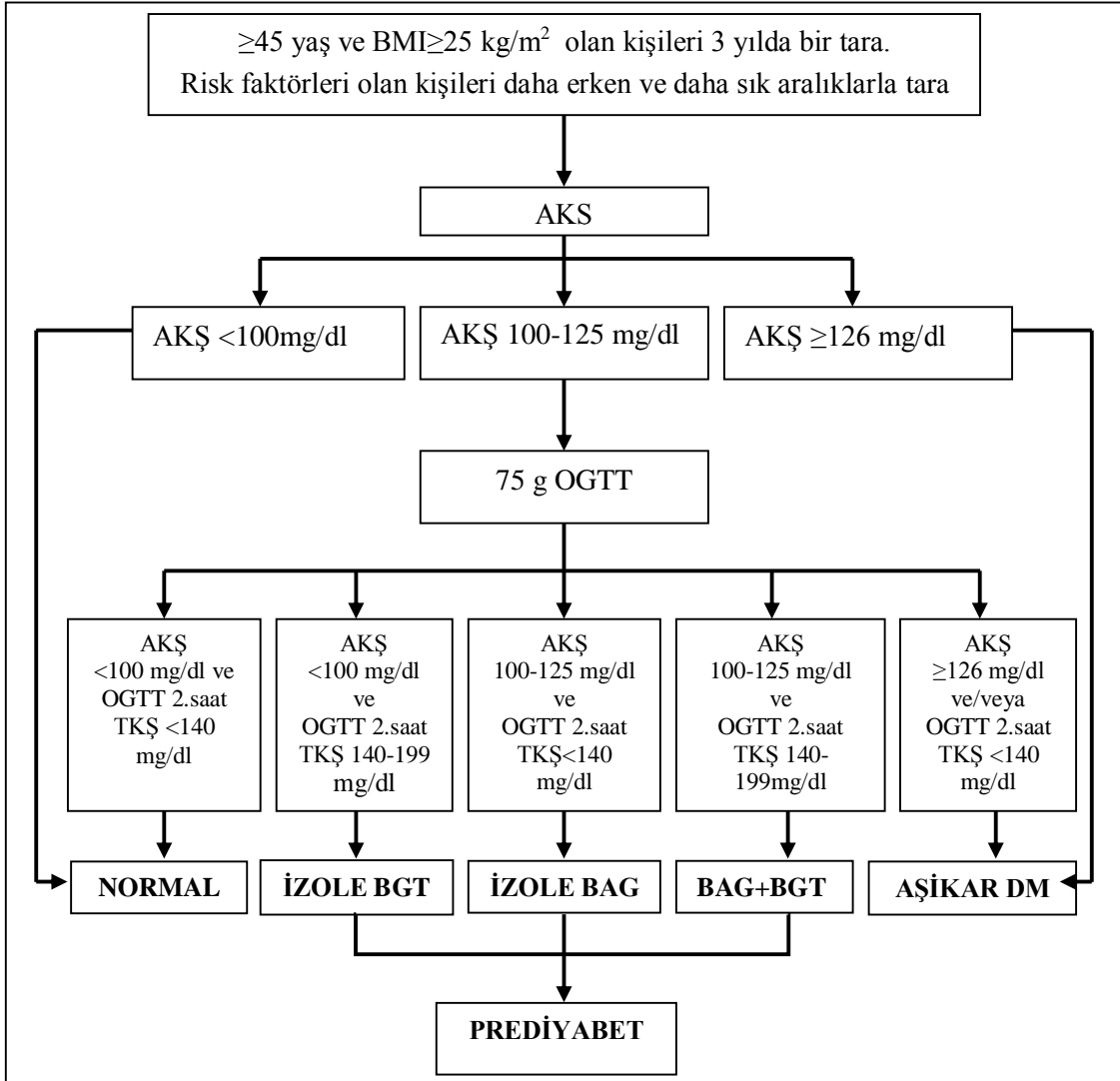
1. Birinci derece yakınlarında diyabet bulunan kişiler
2. Diyabet prevalansı yüksek etnik gruplara mensup kişiler
3. İri bebek doğuran veya daha önce gestasyonel DM tanısı almış kadınlar
4. Hipertansif bireyler (kan basıncı:  $\geq 140/90$  mmHg)
5. Dislipidemikler (HDL-kolesterol  $\leq 35$  mg/dl veya trigliserid  $\geq 250$  mg/dl)
6. Daha önce BAG veya BGT saptanan bireyler
7. Polikistik over sendromu olan kadınlar
8. İnsülin direnci ile ilgili klinik hastalığı veya bulguları (akantozis nigrikans) bulunanlar
9. Koroner, periferik veya serebral vasküler hastalığı bulunanlar
10. Düşük doğum ağırlıklı doğan kişiler
11. Sedanter yaşam süren veya fizik aktivitesi düşük olan kişiler

12. Doymuş yağlardan zengin ve posa miktarı düşük beslenme alışkanlıkları olanlar

13. Şizofreni hastaları ve atipik antipsikotik ilaç kullanan kişiler

HbA1c ölçümü ADA'nın tarama ve tanı kriterleri arasında yer almasına karşın teknik ve standardizasyonundaki eksikler ve maliyeti dikkate alındığında ülkemizde tarama ve tanı amacıyla kullanılması TEMD tarafından uygun görülmemiştir (38).

**Tablo 4.** Erişkinlerde tip 2 diyabet taraması ve tanılama



## 2.6. TİP 2 DİYABETES MELLİTUSUN KOMPLİKASYONLARI

T2DM, erken tanı konup tedavi edilmesi gereken, aksi halde mortaliteye yol açabilen akut komplikasyonlara ve birçok organ ve sistemi etkileyebilen kronik bir hastalıktır. Diyabetin komplikasyonları için bilinen en önemli risk faktörü diyabetin süresidir. Diyabet için modern tedavi ve bakım yöntemlerinden faydalanan hastalarda

mikrovasküler komplikasyon gelişme riski belirgin bir şekilde azalmıştır. Bununla birlikte diyabet hala periferik nöropati için ana neden ve son dönem böbrek yetmezliği ve körlüğün en sık nedenidir (37). Tip 2 DM hastalarında tanı anında %20–30 diyabetik retinopati, %10–20 mikroalbuminüri, %30–40 hipertansiyon, %50–80 dislipidemi ve %80–100’e yakın oranlarda damar hasarı görülmektedir. Tip 2 DM’nin komplikasyonları iki ana başlıkta incelenmektedir (49):

### **I. Akut (metabolik) komplikasyonlar**

- Hiperosmolar non-ketotik koma
- Diyabetik ketoasidoz
- Laktik asidoz
- Hipoglisemi

### **II. Kronik (dejeneratif) komplikasyonlar**

#### **A. Mikrovasküler komplikasyonlar**

- Diyabetik nefropati
- Diyabetik retinopati
- Diyabetik nöropati

#### **B. Makrovasküler komplikasyonlar**

- Hipertansiyon
- Koroner arter hastalığı
- İnme

#### **C. Diğer kronik komplikasyonlar**

- Gastrointestinal (gastroparezi, diyare)
- Genitoüriner (üropati, cinsel işlev bozukluğu)
- Dermatolojik
- Kemik ve mineral metabolizma bozuklukları
- Diyabetik ayak
- Psikolojik problemler ve psikiyatrik bozukluklar

### **2.6.1. Diyabetik nefropati**

Diyabetik nefropati, çoğunlukla intraglomerüler arteriollerin hasarına bağlı olarak progressif böbrek fonksiyonların bozulması ile ortaya çıkan tablodur. Son dönem böbrek yetersizliğinin en sık nedenidir. Diyabetik nefropati Tip 1 DM'de ve Tip 2 DM'lilerin %50'sinde vardır. T2DM'lilerde tanı anında bile saptanabilir. İlk klinik bulgu mikroalbüminüridir. 3-6 ay ara ile yapılan iki ölçümde 24 saatlik idrarda albümin atılımının 30-299 mg olması ile tanı konmaktadır (50).

### **2.6.2. Diyabetik retinopati**

Diyabetik retinopati, kronik hiperglisemi nedeniyle gelişen, hipertansiyon gibi durumların da sürecini etkilediği ilerleyici bir hastalıktır. Öncelikle retinal prekapiller arterioller, kapillerler ve venülleri etkileyen bir mikroanjyopatidir, daha büyük damarları da tutulabilir. Diyabetik retinopati gelişmesinde en önemli faktörler hiperglisemi ve diyabetin süresidir. Diyabet süresi 20 yıl üzerinde olan hastaların %60'ın da diyabetik retinopati görülür. Nonproliferatif diyabetik retinopati (NPDR), proliferatif diyabetik retinopati (PDR) ve makülopati olmak üzere üç grupta değerlendirilmektedir (50).

### **2.6.3. Diyabetik nöropati**

Diyabetik nöropati, periferik sinirleri besleyen küçük damarların hasarına bağlı motor, duyuşal ya da otonomik sinir liflerinin tutulduğu, aksonal dejenerasyonun da görüldüğü bir komplikasyondur. Periferik diyabetik nöropatinin prevalansı hastanın yaşına, diyabet süresine ve tanı yöntemlerine bağlı olarak değişmektedir. Tuttuğu sinir lifinin çapına bağlı olarak yanma hissi, iğnelenme, dikenleşme, güçsüzlük, halsizlik gibi semptomlar görülür. Otonomik liflerin tutulumuna bağlı ise terlemede azalma ya da artma, empotans, idrar retansiyonu, hipotansiyon ya da aritmi gelişebilir (50).

## **2.7. DİYABETLİ HASTALARDA GLİSEMİK KONTROL**

Diyabetik hastalarda glisemik kontrolün izlenmesinde, açlık ve tokluk kan şekerleri ve HbA1c değerleri kullanılır (51). HbA1c değeri ölçümden önceki 3 aylık ortalama glisemik kontrolü yansıtır. HbA1c ölçümü için kişinin aç olması gerekmez ve 2009 ADA'nın DM kriterleri arasında yer almaktadır. HbA1c %6.5 üzeri DM kabul edilirken, %6-6.5 arası DM gelişimi için prediyabet kabul edilmektedir (40).

DM'lilerde yapılan çalışmalarda, mikrovasküler komplikasyon gelişme riskinin glisemik kontrol derecesi ile yakından ilişkili olduğu görülmüştür. HbA1c normale ne kadar yakınsa risk o kadar düşüktür. Güncel çalışmalar ışığında önerilen, gerekli tedavilerle kan şekerini mümkün olan en kısa sürede normale çekmektir. Glisemik kontrol hedeflerine ulaşıncaya kadar 3 ayda, stabil hastalarda ise 6 ayda bir HbA1c ölçülmelidir (38).

Günümüzde hedef değerler konusunda mutlak bir fikir birliği bulunmamaktadır. Bununla birlikte, bazı ulusal ve uluslararası önemli diyabet derneklerinin düzenlediği tedavi hedefleri takip edilmektedir (51) (Tablo 5, Tablo 6).

**Tablo 5.** Tedavi Hedefleri (Uluslararası)

	<b>NORMAL</b>	<b>ADA*</b>	<b>ACE*</b>
<b>Açlık plazma glukozu (mg/dl)</b>	<100	70-100	<110
<b>Tokluk plazma glukozu (mg/dl)</b>	<140	<180	<140
<b>HbA1c</b>	%4-6	<%7	< %4-6

\*ADA: American Diabetes Association; ACE: American College of Endocrinology

**Tablo 6.** Tedavi Hedefleri (Ulusal/ TEMD\*)

	<b>İDEAL</b>	<b>HEDEF</b>	<b>GEBELİKTE</b>
<b>Açlık plazma glukozu (mg/dl)</b>	70-100	70-120	60-90
<b>1.saat tokluk plazma glukozu (mg/dl)</b>	<130	-	<140 tercihen <120
<b>2.saat tokluk plazma glukozu (mg/dl)</b>	<120	<140	<120
<b>HbA1c</b>	< %6	≤ %6.5	≤ %6.5(tercihen<%6)

\* TEMD: Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği

## 2.8. TİP2 DİYABET MELLİTUS VE GENLERLE İLİŞKİSİ

T2DM, ortak ve yaygın olarak görülen genetik varyantların çevresel faktörlerle etkileşim içinde olduğu kompleks, poligenik bir hastalıktır. Genetik faktörlerin T2DM gelişiminde önemli bir rol oynadığı bilinmektedir. Bu yüzden bazı etnik gruplarda prevalansı oldukça yaygındır. Ancak diyabetin gelişiminde genetiğin rolü çok iyi bilinmemektedir (52).

İnsülin direncinin, bozulmuş insülin sekresyonunun ve T2DM gelişimine genetik faktörlerin katkısı yıllardan beri bilinmektedir. Destekleyici bulgulara, aile içi kalıtım birikimi, çift yumurta ikizlerinden çok tek yumurta ikizlerindeki yüksek T2DM risk oranı ve bazı etnik gruplarda yüksek T2DM sıklığı dahildir. Diğer yandan çevresel faktörlerin etkileri olduğu görülmektedir. T2DM nin diyet ve yaşam tarzı ile iyi bilinen bağlantısı ve farklı bölgelerde yaşayan, genetik açıdan birbirine benzer popülasyonlarda, T2DM sıklığının değişiklik gösterdiği saptanmıştır. Böylece T2DM kompleks bir hastalık olmakla birlikte, çevresel risk faktörlerinin hiperglisemiye artmış yatkınlığı genetik faktörlerle birleşmiştir. T2DM in nedeninin %25-75'nin genetik faktörlerden kaynaklabileceği tahmin edilmektedir (37).

T2DM 'le yakın ilişkili genetik varyantları belirlemek için en iyi yöntemlerden birisi, insan popülasyonlarında hastalıkla ilgili asosiasyonu incelemektir. Bu çalışmalarda, polimorfik lokusun alel dağılımı aynı popülasyonda bulunan T2DM'li hastalar ve non-diyabetik kontrol grubu arasında karşılaştırma yapılmaktadır (37). T2DM'nin genetiği üzerine yapılmış aday gen varyasyonlarının asosiasyon çalışmalarından elde edilmiş büyük bir data mevcuttur. Son yıllarda yüzlerce genin, kompleks T2DM'e yatkınlıktaki potansiyel rolü araştırılmıştır. Bu genlerden ancak birkaçının hastalığa yatkınlığı etkileyebileceği tam olarak kanıtlanmıştır. Bunlardan birisi, T2DM'den sorumlu genlerden biri olan ve kromozomun 2q bölgesinde bulunan *calpain 10* geni birkaç yıl süren yoğun bir araştırma sonucu saptanmıştır. Bu çalışmada *calpain10* geninin çeşitli SNP (Single nucleotid polimorphisms)'leri ile T2DM arasında bir ilişki varlığı tesbit edilmiştir. Bulunan SNP ler intronda lokalize olup, proteinin aminoasit yapısını etkilememektedir. Muhtemel patofizyolojik mekanizması gen ekspresyonu ile ilişkili bulunmuştur (53).

Ayrıca yapılan diğer çalışmalarda, *PPARG*( peroxisome proliferator-activated receptor gamma), *KCNJ11*(potassium inwardly rectifying channel, subfamily

J,member11), *PC-1/ENPPI* (plasma cell glycoprotein-1/ encoding ectonucleotide pyrophosphate phosphodiesterase1), *TCF7L2* (transcription factor 7-like 2), *SLC30A8* (solute carrier family 30, member 8) gibi genlerin T2DM ile yakından ilişkili olduğu gösterilmiştir (52).

Çeşitli mutasyonları insanlarda monogenik hastalıklara neden olan nadir genler , poligenik hastalık formlarına yatkınlığı olan polimorfizm sıklığını araştırmak için çok iyi bir adaydırlar. T2DM 'e yatkınlık üzerine yapılan genetik çalışmalarda kapsamlı bir şekilde analiz edilen gen ve proteinler transkripsiyon faktörleridir (53).

2010 yılında yapılmış geniş bir kohort çalışmasında da transkripsiyonel bir reseptör olan *LXRβ* geninin bir varyantının T2DM ve obezite ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (54).

T2DM üzerine yapılan çalışmalar sonucu edinilen bazı datalarla diğer poligenik hastalıklar da tahmin edilebilir. Bu datalardan biri çeşitli ırk ve etnik gruptaki rol alan genlerdeki farklılıktır. İnsan genom projesinin tamamlanması ile daha fazla genlerin belirlenmesi daha kolay olacaktır (53).

İnsanlardaki hastalıklardan sorumlu genleri araştırmada temel strateji genom taramasıdır. 2007'de başlayan GWAS (Genome wide association scans) çalışmaları lokuslardaki polimorfizm ilişkisinin belirlenmesine yol açmıştır. T2DM gelişiminden sorumlu genlerdeki lokus sayısı, 2006 'larda 3 iken günümüzde yaklaşık 20'yi bulmuştur. Tamamlanan genom çalışmalarında T2DM üzerinde en fazla etkiye sahip genlerden biri *TCF7L2* geni gösterilmiştir. Diğer ilişkili lokusların T2DM üzerinde orta derecede etkiye sahip olduğu görülmüştür. T2DM ile geniş ölçüde çalışma yapılmasına rağmen hastalıktan doğrudan sorumlu bir gen bulunamamıştır. Hastalığa yatkınlıkla ilişkili tüm varyantların rolü, yalnızca altta yatan moleküler mekanizmalar hakkında daha fazla bilgi edinilerek bilinecektir (52).

## **2.9. TİP 2 DİYABETES MELLİTUSUN TEDAVİSİ**

T2DM tedavisinin temelini; eğitim, kan glukoz düzeyinin normal sınırlarda tutulması, mikro ve makrovasküler komplikasyonların ve kardiyovasküler risk faktörlerinin kontrol altına alınması oluşturur. Diyabetin tipi ya da etki mekanizması ne olursa olsun hastanın eğitimi, diyet ve egzersiz tedavinin değişmez öğeleridir. Bu tedavilere her hastada tanı anından itibaren başlanmalıdır (51).

### **2.9.1. Güncel tedavi yaklaşımları**

Son yıllarda yapılan çalışmaların ışığında T2DM tedavi yaklaşımları değişiklik göstermiştir. IDF'nin önerilerine göre hedef HbA1c %6.5 ve altında olmalı ve tedavinin ilk 6 ayında bu hedefe ulaşılmalıdır. Tedavi başlangıcında HbA1c %9'un altında olan hastalara OAD monoterapisi başlanması ve 3 ay sonunda HbA1c hedefine ulaşamamışsa ikinci bir OAD veya insülin eklenmesi önerilmektedir. Başlangıçta HbA1c %9'un üzerinde olanlarda ise direkt olarak OAD kombinasyonları ve/veya insülin ile başlanması gerekmektedir (51).

TEMED'nin tedavi yaklaşımına göre yeni tanı almış tüm Tip 2 DM hastalarına birinci basamakta, yaşam tarzı değişikliklerine ek olarak metformin başlanması önerilmektedir. HbA1c<%10 olanlara yaşam tarzı değişiklikleri ile birlikte metformin başlanması önerilir. 3 ay sonra HbA1c >%6.5, fakat <%8.5 ise metformine ek olarak bir OAD eklenebilir. Eğer HbA1c >%8.5 ise insülin başlanmalıdır. Metformine ikinci bir OAD ekledikten 3-6 ay sonra HbA1c>%6.5 ise insülin tedavisine geçilmelidir (51).

### **2.9.2. Oral antidiyabetik tedavi**

Tıbbi beslenme tedavisi ve fiziksel aktivite artışı sağlandıktan sonra glisemik kontrol tekrar değerlendirilmelidir. Eğer 3-4 hafta sonra glisemik hedefe ulaşamamışsa farmakolojik tedaviye başlanmalıdır. Tip 2 DM'nin farmakolojik tedavisi; oral antidiyabetik ajanlar ve insülinde oluşmaktadır. ADA-2014, yeni tanı konmuş T2DM için başlangıç farmakolojik ajan olarak metformini önermektedir. İstenilen glisemik kontrolün (HbA1c<%7) sağlanması için erken dönemde insülin tedavisi de dahil olmak üzere ek ajanlarla kombinasyonlar önerilmektedir.

Oral antidiyabetik (OAD) ajanlar genel olarak olarak insülin sekresyonunu arttırma, insüline duyarlılığı arttırma veya karbonhidrat absorpsiyonunu azaltma yoluyla etki gösterirler (51).

## **2.10. METFORMİN**

Metformin, T2DM tedavisinde yaklaşık 50 yıldır kullanılmakta olan bir biguaniddir. Etki mekanizması üzerine birçok çalışma yapılmış olmasına rağmen, moleküler ve biyokimyasal etki yerleri keşfedilememiştir (55).

Metformin oral yolla alındıktan sonra ince barsaklardan emilir. Gıdalar emilimini azaltır ve emilim süresini uzatır. İlacın biyoyararlanımı %50-60 arasında değişir. Oral 500-1000 mg'dan alındıktan 1-2 saat sonra plazma pik konsantrasyonuna ulaşır. Metformin plazma proteinlerine bağlanmaz. Plazma yarı ömrü 1.5-4.9 saattir. Kararlı durum konsantrasyonlarına 24-48 saat içinde ulaşır. Karaciğerde metabolize edilmez ve böbrekler tarafından hızlıca temizlenir (12 saatte %90'nı) (55). Metformin açlık kan şekerinde 50mg/dl, HbA1c'de ise yaklaşık %1.5 oranında bir azalma sağlamaktadır (51).

### **2.10.1. Yan Etkileri:**

Metforminin yan etkisi genel olarak gastrointestinal semptomlardır. Semptomlar genel olarak doz ile ilişkili olup geçicidir. Hastaların yaklaşık %5-20'sinde görülmektedir. En çok görülen Gastrointestinal semptomları (GİS) metalik tat, iştahsızlık, gaz, bulantı, karın ağrısı ve ishaldir. GİS semptomlar, düşük doz tedaviye başlanması ve dozun yavaşça artırılması ile en aza indirilebilir. Aynı zamanda ilacın yemeklerle birlikte alınması da semptomları azaltır. Hipoglisemi yapmaz. Diğer OAD'in aksine kilo kaybına veya kilonun sabit kalmasına neden olur. Uzun süreli kullanımda vitamin B12 eksikliğine neden olabilir (55). Biguanidlerin laktik asidoz yapabileceği bilinmektedir. Fakat metformine bağlı laktik asidoz insidansı 1/100.000'den daha azdır (51).

### **2.10.2. Metforminin Kontrendike Olduğu Durumlar:**

- Azalmış renal fonksiyonu; plazma kreatinin erkeklerde  $\geq 1.5$ mg/dl, kadınlarda  $\geq 1.4$ mg/dl veya kreatinin klerensinin  $< 60$  ml/dk olması
- Konjestif kalp yetmezliği
- Karaciğer hastalığı
- Kronik alkol kullanımı
- Sepsis ve azalmış doku perfüzyonu
- İntravenöz radyografik kontrast madde uygulanması esnasında (55).

### **2.10.3. İlaç Etkileşimi:**

Bir H<sub>2</sub> reseptör blokörü olan Simetidin, metforminin renal tübüler sekresyonunu yarışmalı olarak inhibe etmesi sonucu metforminin renal klerensi düşebileceğinden

dolayı metformin ve simetidin arasında potansiyel bir ilaç etkileşimi vardır. Bu etkileşim, metforminin ile birlikte sülfanilüre veya insülin alan hastalarda hipoglisemi riskini artırır. Ayrıca radyolojik tetkik için verilecek parenteral iyotlu kontrast madde, verilmeden 48 saat önce ve verildikten 48 saat sonra metformin kesilmelidir. Çünkü hastada kontrast madde ile indüklenen akut böbrek yetmezliği gelişmesi durumunda metforminin plazma düzeyi yükselir ve laktik asidoza neden olabilir.

#### **2.10.4. Metforminin Etkisi:**

Metformin T2DM’de birinci basamak tedavide ilk tercih ilaç olarak yaygın olarak kullanılmaktadır (56). Farklı metabolik yollarla bazal ve postprandial glukoz seviyesini düşürür. Metforminin glukoz düşürücü etkisi endojen glukoz üretimindeki yaptığı %25-30’luk azalmadan kaynaklanmaktadır. Daha az oranda iskelet kası ve yağ doku tarafından periferik glukoz alımının uyarılması ile plazma glukoz seviyesi azalmaktadır. Ancak bu etkinin glukoz toksisitesinin ortadan kalkması ile ilişkili olduğu düşünülmektedir (57). Metforminin pankreatik beta hücreleri üzerinde hiçbir direk etkisi yoktur ve insülin sekresyonunu direk olarak etkilemez, sadece plazma glukoz seviyelerinin değiştirilmesi üzerinden etkisi vardır (55).

Metformin hem karaciğerde hem de periferik dokuların insüline duyarlılığını artırır. Karaciğerde hem glukoneogenezi hem de glikojenolizi baskılar. Kaslarda ise insülin reseptör tirozin kinaz aktivitesini, GLUT4 sayısını ve glikojen sayını ve glikojen sentezini artırarak etki gösterir. Metformin tedavisi ile açlık insülin seviyeleri ve gün boyu plazma insülin yanıtı artarken, insülin sekresyonu uyarılmaz. İnsülin salınımını uyarmadığı için ne T2DM’lerde ne de normal bireylerde hipoglisemiye neden olmaz (51).

Metformin T2DM’li hastalarda ayrıca antihiperglisemik etkilerinin yanında kilo kaybı, hiperinsülineminin azalması, lipid profilinin düzelmesi gibi başka olumlu etkileri de vardır. Metformin tedavisi sonucu total kolesterol, düşük dansiteli lipoprotein (LDL) kolesterol ve trigliserit seviyelerinde azalmalar görülmüştür. Bazı çalışmalarda yüksek dansiteli lipoprotein (HDL) kolesterolde hafif artışlar bildirilmiştir. Total kolesterol ve LDL üzerindeki etkinin, ilacın yüksek dozlarında ortaya çıktığı görülmüştür. Metforminin bu etkileri, tek başına kullanıldığında ve kombine tedavilerde benzer bulunmuştur. Bu da metforminin total kolesterol ve LDL

üzerinde, glukoz düşürücü etkisinden bağımsız olarak etki gösterdiği fikrini desteklemektedir. Metformin aynı zamanda santral adipozitesi olan hastalarda hem total hem de visseral yağlanmayı azaltmaktadır (57).

Metformin tedavisinin insülin direnci ile ilişkili metabolik hastalık sendromunun birçok özellikleri üzerinde faydalı etkileri vardır; obeziteyi azaltır, plazminojen aktivatör inhibitör-1'i azaltarak fibrinolizi düzeltir ve plazma insülin seviyelerini azaltır. Yapılan geniş çaplı bir çalışmada kilolu T2DM'li hastaların metformin tedavisi ile myokard infarktüs riskini %39 oranda azalttığı görülmüştür (55).

#### **2.10.5. Etki Mekanizması:**

Metforminin etki mekanizması, yıllardır yoğun şekilde incelenmektedir. Metabolik etkisi birçok invitro ve deney hayvanı modellerinde tarif edilmesine rağmen, metforminin moleküler ve biyokimyasal etki yerleri ve moleküler etki mekanizması keşfedilmemiştir (55).

Metforminin yapılan invivo çalışmalarda AMPK stimüle ettiği ve mitokondriyal solunum zincirindeki kompleks 1'i inhibe ettiği görülmüştür (7). Ancak metforminin solunum zinciri kompleks 1'i hangi mekanizmalarla inhibe ettiği hala bilinmemektedir (57). Bazı çalışmalarda, metforminin, kan glukoz ve serum lipid konsantrasyonunu düşürme mekanizmasının AMPK enziminin aktivasyonu ile olduğu düşünülmektedir (7). AMPK defisitli farelerde yapılan bir çalışmada ise metforminin glukoz üretimini başarılı bir şekilde inhibe ettiği görülmüştür. Buna bağlı olarak metforminin hepatik glukoz üretimini inhibe etme mekanizması AMPK'dan bağımsız bir mekanizma ile olduğu da düşünülmektedir (58).

#### **2.11. METFORMİN VE İLİŞKİLİ GENLER**

Metformin, karaciğerden glukoz çıkışını ve gastrointestinal glukoz emilimini azaltarak ve periferik dokularda insülin duyarlılığını artırarak hiperglisemiyi düzeltir. Sıklıkla yeni tanı T2DM hastalarını tedavi etmek için ilk ilaç olarak başlanır. Bununla birlikte metformine glisemik cevap bireyler arasında değişkenlik gösterir. İlacı kullanan hastaların yaklaşık %35-40'ında beklenen kan glukoz kontrolü sağlanamaz (59).

Metforminin farmakolojik profili, ilaca maruziyeti değiştirebilen ya da ilacın kan şekerini düşürücü etkisini etkileyen bazı farmakokinetik faktörlerden etkilenebilir.

Diğer yandan hastaların genetik yapısı yada çevresel faktörler, metforminin HbA1c'yi düşürücü etkisini etkileyebilir. Yapılan geniş çaplı GWAS çalışmasında Zhou ve ark. genetik varyantların metformin tedavisinden sonraki ilk 18 ay içinde metforminin HbA1c'yi düşürücü etkisindeki farklılıklara sebep olacağı sonucuna varmışlardır (60).

Metformin vücutta metabolize edilmez. Ancak bunun yerine glomerüllerde filtrasyon ve proksimal tübüllerde sekresyon yoluyla hızlı renal eliminasyona uğrar. Bu ilacın eliminasyonundaki değişkenliklerin genetik faktörlerden kaynaklandığı ileri sürülmektedir (5). Metforminin taşıyıcı genleriyle ( *OCT1*, *MATE1* ve *MATE2*) yapılmış başarılı farmakogenetik çalışmalar vardır. Bununla birlikte karaciğerdeki en önemli metformin taşıyıcısını kodlayan *OCT1* geninin fonksiyonel ve genetik olarak polimorfik olması ve *MATE1* ve *MATE2* genlerindeki yaygın genetik polimorfizm, metforminin glukoz düşürücü etkisindeki farklılıklar ile ilişkili olmasına rağmen, bu taşıyıcı gen polimorfizmlerinin klinikte hala kullanılmamaktadır. Benzer şekilde metforminin potansiyel hedef yolağındaki 40 genin aday gen çalışması sırasında belirlenen polimorfizmler için de geçerlidir . Günümüzde GWAS'ın ilaç yanıtını incelemek için başarılı bir şekilde uyguladığı birçok örnek vardır (59).

Birçok popülasyona dayalı farmakogenomik GWAS'da yapılmıştır. Metformine - yanıt GWAS çalışmalarından birisi İskoçya'da yapılmış bir çalışmadır. Toplum bazlı bu çalışmada *ATM* (ataxi telangiectasia mutated) geninin de bulunduğu yedi gen içeren bir bölgedeki 11. kromozom üzerinde genom ilişkili bir "sinyal" bildirilmiştir. Bununla birlikte metformin yanıtında *ATM* geninin potansiyel rolünün geçerliliği tartışılmaktadır (59).

Metforminin hepatik glukoneogenez üzerindeki inhibitör etkisini açıklamak için enzim aktivitesindeki değişiklik ya da glukoneogenez substratlarının karaciğere alımındaki azalma dahil olmak üzere pek çok mekanizma ileri sürülmüştür. Hepatositlerde metforminin etkisinde rol alan *OCT1* geninin ekspresyonu sonucu metforminin hücre içine alımı kolaylaştırdığı bildirilmiştir. Böylece *OCT1* gen delesyonu olan farelerde hepatositlerin metformin alımının belirgin bir şekilde azalmıştır. Bununla birlikte *OCT1* gen polimorfizmi taşıyan bireylerde metforminin kan şekeri düşürücü etkisinde farklılıklar görülmüştür (5).

Metformin ile ilişkili diğer bir gen olan *SLC47A1* geni MATE1 proteinini kodlar ve hepatosit ve böbrek epitelinde bulunur. Metforminin idrar ya da safra yoluyla atılmasını sağlar. MATE1 proteini, metforminin vücuttan uzaklaştırılmasında rol aldığından dolayı ilaca yanıtta farklılıklara neden olabilir. Fakat metformin yanıtına *SLC47A1* genindeki genetik varyantın etkisi hakkında çok az bilgi mevcuttur. Bununla ilgili bir çalışmada, metformin kullanan 116 hastalarda *SLC47A1* geninde 12 SNP genotiplendirilmiştir. Bu SNP'den rs622342 varyantı, metforminin HbA1c'yi düşürücü etkisi ile ilişkili bulunmuştur (61).

Sonuç olarak T2DM hastalarında metformin tedavisi ile HbA1c'deki azalma dikkate alındığında, muhtemelen multifaktöryel yapısı genetik varyantların etkisini maskeleyebilir. T2DM 'de metformin tedavisine doğru bir yaklaşım önermek için daha fazla genetik çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

## 2.12. LİVER X RESEPTÖRLER

*LXR*, nükleer reseptör ailesinden, ligand ile aktive olan bir transkripsiyon faktörüdür. *PPAR*, *FXR* ve *RXR* gibi nükleer reseptörlerle yakından ilişkilidir. İlk kez 1994'de bir rat karaciğerinde belirlenmiştir. Endojen ligandları bilinmeden önce "orphan" nükleer reseptörler olarak sınıflandırılmıştır (62).

*LXR*'nin *LXRα* (NR1H3) ve *LXRβ* (NR1H2) olarak bilinen iki izoformu vardır. Bu iki izoformun aktivasyonu ile *RXR* ile heterodimer oluşturur ve hedef genlerin promotor bölgesindeki LXRE (*LXR* response element)'e bağlanır. *LXR*, hedef genlerinin promotor bölgesinde bulunan LXRE'e bağlanarak aktive olduktan sonra bu genlerin ekspresyonunu düzenler. Bu genler, *ABC* (ATP-binding cassette) taşıyıcının *ABCA1* ve *ABCG1* izoformları, *FAS* (Yağ asit sentaz), *LPL* (Lipoprotein lipaz), *SREBP-1c* (Sterol düzenleyici element-bağlayan protein-1c), ApoE (Apoprotein E), *CETP* (Kolesterol ester transfer protein), *ChREBP* (Sitokrom P450-7A1 ve Karbonhidrat düzenleyici element bağlayan- protein)'dir. Bu genler, kolesterol, yağ asidi, lipid ve glukoz metabolizmasıyla ilişkilidir.

*LXR*'in doğal ligandları oksisterol adı verilen 22-hidroksikolesterol, 20-hidroksikolesterol, 24-hidroksikolesterol ve 24,25-epoksikolesterol gibi çeşitli oksijenize kolesterol ürünleridir. Bunların dışında birçok etkili sentetik *LXR* agonistleri geliştirilmiştir. Deneysel çalışmalarda en sık kullanılan sentetik agonistler T0901317 ve GW3965'dir (12).

*LXR $\alpha$* , karaciğer, dalak, yağ doku, ince barsak, böbrek, akciğer ve monosit ve makrofajlarda yüksek oranda ekspresyona sahipken, *LXR $\beta$*  ise tüm dokularda ekspresyon olmaktadır (12, 63).

*LXR*, kolesterol, lipid ve karbonhidrat metabolizmasının transkripsiyonel regülasyonunda anahtar bir rol oynamaktadır. İnsülin bağımlı glukoz taşıyıcısı *GLUT4* geninin promotor bölgesinde fonksiyonel LXRE tesbit edilmiştir. *GLUT4*, *LXR*'lerin direk hedef geni olduğundan dolayı *LXR*'ler iskelet kasında ve yağ dokusundaki *GLUT4* gen ekspresyonunu artırmaktadır. Böylece *LXR*, periferik dokuda glukoz alımını artırarak ve dokudaki katabolizma sonucu insülin duyarlılığının iyileştirmektedirler (62).

*LXR*'lerin glukoz hemostazındaki düzenleyici rolü, hepatik glukoneogenezi inhibe ederek ve iskelet kası ve yağ dokusunda *GLUT4* artışı ile birlikte glukoz uptake'ni artırarak gerçekleştirmektedir (62). *LXR*'lerin, glukoneogenik genleri baskılamasının altta yatan mekanizması tam olarak bilinmemektedir. *LXR $\beta$*  ve daha az oranda *LXR $\alpha$*  pankreasın beta hücrelerinde ekspre edilir ve glukoz–bağımlı insülin sekresyonunu arttırmaktadır (62).

*LXR*'ler kolesterol hemostazında da önemli rol oynar. Karaciğerde kolesterol biyosentezini ve atılımını ve periferik dokudan karaciğere kolesterol taşınmasını (ters kolestrol taşınması) düzenleyen genlerin ekspresyonunu kontrol eder (12). Aynı zamanda *LXR*'lerin aktivasyonu sonucu, diyetle alınan kolestrolün barsaklardan emilimi azalır ve kolesterolün de novo sentezi inhibe olur ve hücrel kolesterol atımını düzenleyen genleri (*ABCA1*, *ABCG1*) direk aktive ederek ters kolesterol taşınmasını uyarır. Böylece plazma HDL seviyesinde artışa sebep olurlar. *LXR*'leri, kolesterol metabolizmasına ek olarak karaciğerde yağ asidi sentezini kontrol etmektedir. *LXR* aktivasyonu ile, karaciğerdeki *SREBP-1c*, *FAS*, *ACC* (Asetil-Coa Karboksilaz), *SCD* (Sterol-CoA desaturaz) gibi yağ asidi biyosentezinde rol alan genlerin ekspresyonu sonucu plazma trigliserid seviyesinde artış ve karaciğerde trigliserid birikimi sonucu masif karaciğer yağlanması meydana gelmektedir. Ayrıca VLDL (çok düşük dansiteli lipoprotein ) seviyesinde azalmaya neden olur. Hepatik lipogenezis kontrolünde özellikle *LXR $\alpha$*  subtipi sorumludur (12,62) (Tablo 7).

**Tablo7.** Liver X Reseptörlerin transkripsiyonel aktivasyonunun şematiksunu (62).

<b>KARACİĞER</b>	
↑ Bilier kolesterol sekresyonu	↓ Hepatosit LDL kolesterol alımı
↑ Safra Asidi sentezi	↓ Glukoneogenez
↑ HDL biyogenezi	
↑ Yağ Asidi sentezi	
<b>İNCE BARSAK</b>	
↑ HDL biyogenezi	↓ Kolesterol emilimi
↑ Feçes içerisine sterol atılımı	
<b>MAKROFAJ</b>	
↑ Kolesterol efflux	↓ İnflamatuar döngü
<b>SERUM</b>	
↑ Ters kolesterol taşınması	↓ Kan glukoz konsantrasyonu
↑ Lipoprotein remodeling	
↑ Trigliserid	
<b>ADİPOZ DOKU</b>	
↑ Glukoz transport ve uptake	
<b>İSKELET KASI</b>	
↑ Glukoz uptake	

## 3. GEREÇ VE YÖNTEM

### 3.1. ÇALIŞMA GRUBUNUN SEÇİMİ

Bu çalışma, Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Endokrinoloji polikliniğinde ve Kayseri Eğitim ve Araştırma Hastanesi'nde Diyabet polikliniğinde, ADA kriterlerine göre Tip 2 Diyabet Mellitus tanısı konan ve HbA1c değeri % 9 ve altında olan metformin başlanan gönüllü 30 hasta üzerinde gerçekleştirilmiştir.

### 3.2. ÇALIŞMAYA DAHİL OLMA KRİTERLERİ

- 1- Açlık Plazma Glukozu  $\geq 126$  mg/dl
- 2- Rastlantısal Plazma Glukozu  $\geq 200$  mg/dl
- 3- OGTT'de 2. Saat Plazma Glukozu  $\geq 200$  mg/dl
- 4- HbA1c  $\leq$  % 9

### 3.3. ÇALIŞMA DIŞI BIRAKILMA KRİTERLERİ

- 1- Azalmış renal fonksiyon; plama kreatinini erkeklerde  $\geq 1.5$  mg/dl, kadınlarda  $\geq 1.4$  mg/dl veya kreatinin klirensi  $< 60$  ml/dk
- 2- Farmakolojik tedavi gerektiren Konjestif Kalp Hastalığı olan
- 3- Karaciğer Hastalığı
- 4- Sistemik ilaç kullanımı olan hastalar ( diüretik, steroid, antidiyabetik vb.)
- 5- Kanserli hastalar

Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Endokrinoloji polikliniği ve Kayseri Eğitim ve Araştırma Hastanesi'nde Diyabet polikliniğinde Tip 2 DM tanısı konan hastalar yukarıdaki kriterler açısından sorgulandı. Çalışmaya dahil edilme kriterlerini karşılayan hastalar çalışma ile ilgili olarak bilgilendirildi ve kabul edenlerden bilgilendirilmiş onamları alındı.

Hastalara başlangıçta bir hafta boyunca günde tek doz 500 mg Metformin başlandı. İkinci hafta doz 1000mg'a, üçüncü hafta ise doz 1500mg'a çıkarıldı. Daha sonra metforminin dozu günde iki kez 1000 mg olacak şekilde idame dozda devam edildi (Türkiye İlaç Klavuzu).

Standardizasyon sağlanması için tüm analizler aynı merkezde (Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesinde) yapıldı. Yine standardizasyon için hastalara, sabit bir egzersiz programı ile birlikte diyetisyene yönlendirilip erkeklere 1800 kcal, kadınlara 1600 kcal olacak şekilde diyetisyen tarafından düzenlenen bir diyet uygulandı.

Hastalara metformin kullanmaya başlamadan önce, ve tedaviye başladıktan sonraki 3. ve 6. ayda şu analizler yapıldı;

- Hastaların antropometrik analizleri sabah aç karnına yapıldı. Bu analizde boy, kilo ve bel çevresi ölçümlerine bakıldı. Ağırlık, BMI ve vücut yağ yüzdeleri vücut analiz cihazı ( Tanita bc 418) ile ölçüldü.

- Ayrıca rutin yapılması planlanan biyokimyasal analizler için kan örnekleri alındı.

- Genetik analiz için hastalardan sabah aç karnına alınan 15 cc kan, K3 EDTA tüpüne aktarılarak analiz için genetik laboratuvarına götürüldü. Laboratuarda EDTA'lı tüplerdeki periferik kandaki mononükleer hücrelerden monositler izole edildi. Monositlerinden elde edilen RNA örnekleri -80C derece derin dondurucuda toplandı. Daha sonra Real Time PCR tekniği ile LXR $\alpha$  ve LXR $\beta$  gen ekspresyonunu değerlendirildi.

### **3.4. BİYOKİMYASAL ÖLÇÜMLER**

Hastaların rutin biyokimyasal parametrelerini ölçmek için gerekli kan örnekleri 12 saat açlığı takiben sabah 9-11 saatleri arasında alındı. Ölçülen parametreler; HbA1c, açlık ve tokluk kan glukozu (yemekten 2 saat sonra), üre, kreatinin, sodyum, potasyum ve lipid profili (total kolesterol, HDL, LDL ve trigliserid) tetkikleri Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Laboratuvarında çalışıldı. HbA1c ölçümleri HPLC yöntemi ile yapıldı.

### **3.5. MONOSİT İZOLASYONU**

Monosit izolasyonu için öncelikle, Ficoll-Paque çözeltisi kullanılarak hastalardan lökosit elde edilmiştir. Bunun için yaklaşık 15 ml periferik kan 1:1 oranında serum fizyolojik ile seyreltilmiştir. Başka bir tüpte 15 ml Ficoll-Paque çözeltisi üzerine dilüe edilmiş kan, pastör pipetle kademe kademe aktarılmıştır. Oda sıcaklığında 300g'de 10 dakika santrifüj edildikten sonra belirgin beyaz bir halka şeklinde ayrışan mononükleer hücreler pastör pipet yardımıyla toplanarak 15ml'lik steril santrifüj tüpüne alınarak ve PBS (Phosphate buffered saline) ile yıkanmıştır. Lökositlerin elde

edilmesinden sonra bu hücre popülasyonundan Pan Monocyte Isolation Kit (Miltenyi Biotec) kullanılarak manyetik etiketleme yoluyla monositler elde edilmiştir. Bu kitin çalışma prensibi, insan monositlerinin negatif olarak etiketlenmesine dayanmaktadır. Kit içerisindeki antijenler monosit olmayan kan hücrelerine özgü biotin ile konjüge monoklonal antijen kokteyli içermektedir. Bu birincil manyetik etiketlemeye ek olarak, ikincil olarak Mikrobead parçacıklarına konjüge anti-biotin monoklonal antijenleriyle etiketlenmiştir. Manyetik olarak etiketlenmiş olan monosit olmayan hücreler manyetik alan içerisinde kolonlarda kalırken, etiketlenmemiş monositlerin kolonlardan geçmesiyle her hasta için monositler toplanmıştır. Bunun için kit manuelinde belirtilen basamaklar izlenerek her hasta için elde edilen hücre sayısı ile orantılı olarak hücreler tampon çözelti ile muamele edilmiş (10 milyon hücre başına 30ul tampon çözelti) ve FcR Blocking Reagent eklenmiştir (10 milyon hücre başına 10ul). Ardından bu karışıma monosit olmayan hücrelerin etiketlenmesi için Pan Monocyte Biotin-Antibody Cocktail eklenerek 4°C’de 5 dakika inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrası hücreler Anti-biotin Microbeads ile muamele edilerek 10 dakika daha 4°C’de bekletilmiştir. 10 milyon hücre başına 50ul tampon çözelti eklenerek hücreler kolonlara yüklenmiş ve üç yıkama aşaması ile etiketlenmemiş monositler elde edilmiştir.

### **3.6. RNA İZOLASYONU, cDNA SENTEZİ VE REAL-TIME PCR**

Her hastadan elde edilen monositlerden total RNA izole edilmiştir. Roche RNA izolasyon kit manuelinde belirtilen basamaklar takip edilerek elde edilen RNA örneklerinden Roche cDNA Synthesis Kit manuelinde belirtilen koşullara göre cDNA elde edilmiştir. Elde edilen cDNA’lardan hedef genler *LXR $\alpha$*  ve *LXR $\beta$*  genleri ve internal kontrol olarak *GAPDH* (Gliseraldehit 3-fosfat dehidrojenaz) ve *ACTB* (Aktin) genlerine özgü primer probe kullanılarak transkript seviyeleri belirlenmiştir.

Roche RealTime Ready deney dizaynı kullanılarak LightCycler 480 Real-Time cihazına yüklenen örneklerden elde edilen sonuçlar GraphPad6 adlı programla analiz edilmiştir.

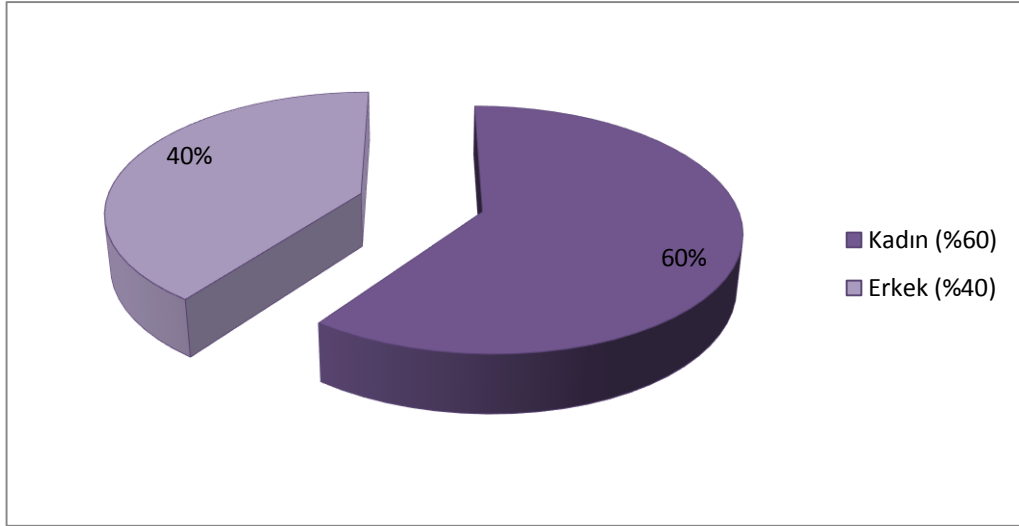
### **3.7. İSTATİSTİKSEL ANALİZ**

Verilerin normal dağılıma uygunluğu histogram, q-q grafikleri ve Shapiro-Wilk testleri ile değerlendirildi. Verilere logaritmik dönüşüm (10 tabanında) uygulanarak normal dağılıma uygunluğu sağlandı. Varyans homojenliği Levene testi ile

değerlendirildi. Tedaviye cevap durumu ile ölçüm zamanlarının ve etkileşimlerinin *LXRα* ve *LXRβ* gen ekspresyon düzeylerine olan etkisinin değerlendirilmesinde tekrarlı ölçümlerde iki yönlü varyans analizi kullanıldı. Tedaviye cevap verenler ile vermeyenler arasında gen ekspresyon düzeylerinin karşılaştırmasında bağımsız iki örneklem t testi, ölçüm zamanları arasındaki karşılaştırmalarda tekrarlı ölçümlerde tek yönlü varyans analizi kullanıldı. Veriler aritmetik ortanca ile kartiller arası uzaklık veya geometrik ortalama ve %95 bootstrap güven aralıkları (1,000 bootstrap) ile ifade edildi. Gen ekspresyon düzeyleri ile diğer değişkenler arasındaki korelasyonlar Spearman korelasyon analizi ile değerlendirildi. Verilerin analizi R 3.1.0 ([www.r-project.org](http://www.r-project.org)) yazılımı ile gerçekleştirildi.  $p < 0.05$  düzeyi anlamlı kabul edildi.

## 4. BULGULAR

Çalışmaya Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Endokrinoloji polikliniği ve Kayseri Eğitim ve Araştırma Hastanesi'nde Diyabet polikliniğine Ocak 2013- Mayıs 2013 tarihleri arasında başvuran ve T2DM tanısı konan 30 hasta dahil edildi. Hastaların %60'ı (n=18) kadın, %40'ı (n=12) erkek hastalardan oluşmaktadır. Cinsiyet dağılımı şekil 2'de verilmiştir.



Şekil 2. Hastaların cinsiyet dağılımı

Çalışmaya katılan hastalar tedavi sonrasında HbA1c seviyesindeki azalma oranına göre iki gruba ayrıldı;

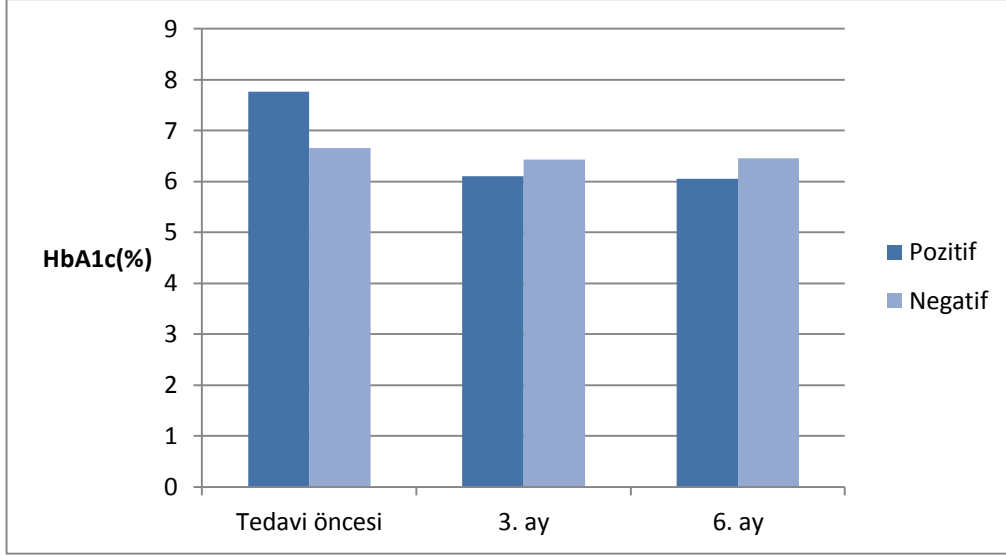
- Tedaviye cevap verenler (Pozitif grup, n:17)
- Tedaviye cevap vermeyenler (Negatif grup, n:13).

Tedavi sonrası HbA1c seviyesindeki azalma ( tedaviden önceki değerine göre) %1 ve daha fazla olanlar tedaviye cevap vermiş kabul edildi.

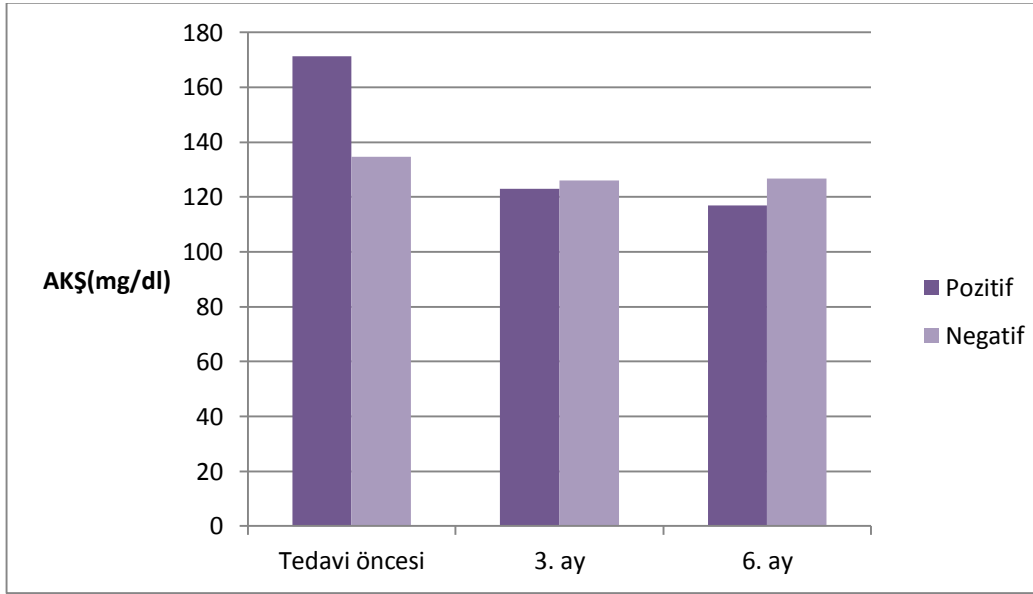
Metformin tedavisi öncesi ve tedavisi sonrası her iki grubun glukoz metabolizması ile ilgili çalışma parametreleri tablo 8’de göstermiştir.

**Tablo 8.** Pozitif grup ile negatif grubun glukoz metabolizma parametrelerinin tedavi öncesi ve tedavi sonrası 3. ve 6. aydaki ortalamalarının karşılaştırılması

Parametre	Tedavi öncesi	p	3 ay sonra	p	6 ay sonra	p			
<b>HbA1c</b>	Pozitif (n:17)	7.76±0.63	<0.000	Pozitif (n:17)	6.10±0.65	0.240	Pozitif (n:17)	6.05±0.54	<b>0.044</b>
	Negatif (n:13)	6.66±0.39		Negatif (n:13)	6.43±0.57		Negatif (n:13)	6.46±0.47	
<b>AKŞ</b>	Pozitif (n:17)	171.31±44.91	<b>0.012</b>	Pozitif (n:17)	122.94±20.43	0.646	Pozitif (n:17)	116.88±17.63	<b>0.024</b>
	Negatif (n:13)	134.61±21.85		Negatif (n:13)	126.00±13.80		Negatif (n:13)	126.69±27.75	
<b>TKŞ</b>	Pozitif (n:17)	222.94±53.20	0.295	Pozitif (n:17)	145.94±30.90	0.586	Pozitif (n:17)	153.23±37.85	0.832
	Negatif (n:13)	201.15±58.23		Negatif (n:13)	152.61±35.42		Negatif (n:13)	149.92±47.01	



**Şekil 3.** Pozitif grup ile negatif grubun HbA1c değerlerinin metformin tedavisinden önce ve tedaviden sonra 3. ve 6. aydaki ortalamalarının karşılaştırılması



**Şekil 4.** Pozitif grup ile negatif grubun AKŞ değerlerinin metformin tedavisinden önce ve tedaviden sonra 3. ve 6. aydaki ortalamalarının karşılaştırılması

Başlangıçtaki AKŞ ve HbA1C ortalamaları karşılaştırıldığında tedaviye cevap verenlerde AKŞ ve HbA1c düzeylerinin tedaviye cevap vermeyenlere göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ( $p < 0.05$ ). Tedaviden sonraki 6. ayda, tedaviye cevap verenlerde, AKŞ ve HbA1C düzeyleri cevap vermeyenlere göre anlamlı bir şekilde daha düşük bulunmuştur ( $p < 0.05$ ) (Şekil 3-4).

TKŞ düzeyinde ise, tedavi öncesi ve sonrasında tedaviye cevap verenler ile vermeyenler arasında anlamlı bir fark görülmedi (Tablo 8).

**Tablo 9.** Pozitif grup ile negatif grubun BMI, Bel Çevresi (WC), Vücut yağ yüzdesi (FAT) ve Trunkal yağ yüzdesi (TFAT) nin tedavi öncesi ve tedavi sonrası 3. ve 6. aydaki ortalamalarının karşılaştırılması

Parametre	Tedavi öncesi	p	3 ay sonra	p	6 ay sonra	p			
<b>BMI</b>	Pozitif (n:17)	34.48±4.05	0.260	Pozitif (n:17)	32.61±4.52	0.333	Pozitif (n:17)	32.67±4.09	0.315
	Negatif (n:13)	36.64±6.23		Negatif (n:13)	34.71±7.14		Negatif (n:13)	34.63±6.40	
<b>WC</b>	Pozitif (n:17)	109.64±10.65	0.650	Pozitif (n:17)	106.05±8.80	0.337	Pozitif (n:17)	104.70±7.38	0.545
	Negatif (n:13)	107.53±14.55		Negatif (n:13)	102.69±10.03		Negatif (n:13)	102.53±11.90	
<b>FAT</b>	Pozitif (n:17)	34.42±6.62	<b>0.019</b>	Pozitif (n:17)	31.65±7.61	0.084	Pozitif (n:17)	31.74±7.00	<b>0.025</b>
	Negatif (n:13)	40.70±7.13		Negatif (n:13)	36.80±8.04		Negatif (n:13)	38.36±8.35	
<b>TFAT</b>	Pozitif (n:17)	33.46±4.61	0.101	Pozitif (n:17)	31.92±5.99	0.963	Pozitif (n:17)	30.85±4.50	0.160
	Negatif (n:13)	36.46±5.07		Negatif (n:13)	31.82±6.43		Negatif (n:13)	34.33±7.59	

Hastaların antropometrik parametreleri karşılaştırıldığında, başlangıçtaki ve tedaviden sonraki 6.aydaki FAT düzeyleri bakımından tedaviye cevap veren ve vermeyenler arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmuştur ( $p<0.05$ ).

FAT düzeyleri, tedaviye cevap vermeyen hastalarda anlamlı şekilde daha yüksek bulunmuştur. BMI, WC ve TFAT açısından her iki grupta tedaviden sonra azalma görülmüştür. Fakat tedaviye cevap verenler ile vermeyenler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir (Tablo 9).

**Tablo 10.** Tedaviye cevap verenler (pozitif) ile cevap vermeyenlerin (negatif) Lipid Profilinin tedavi öncesi ve tedavi sonrası 3. ve 6. aydaki ortalamalarının karşılaştırılması.

Parametre	Tedavi öncesi	p	3 ay sonra	p	6 ay sonra	p			
<b>TKOL</b>	Pozitif (n:17)	227.00±43.59	0.799	Pozitif (n:17)	198.82±43.39	0.205	Pozitif (n:17)	201.11±50.56	0.9195
	Negatif (n:13)	230.92±38.45		Negatif (n:13)	216.61±26.79		Negatif (n:13)	201.23±53.12	
<b>TRG</b>	Pozitif (n:17)	172.82±59.10	0.736	Pozitif (n:17)	161.11±111.63	0.518	Pozitif (n:17)	147.88±44.61	0.977
	Negatif (n:13)	165.92±49.18		Negatif (n:13)	139.30±49.80		Negatif (n:13)	148.30±33.29	
<b>HDL</b>	Pozitif (n:17)	40.52±7.54	0.079	Pozitif (n:17)	41.35±8.57	<b>0.003</b>	Pozitif (n:17)	43.47±9.10	0.077
	Negatif (n:13)	47.00±11.83		Negatif (n:13)	51.23±8.17		Negatif (n:13)	49.92±10.06	
<b>LDL</b>	Pozitif (n:17)	151.82±39.45	0.933	Pozitif (n:17)	125.27±37.02	0.309	Pozitif (n:17)	128.07±42.09	0.763
	Negatif (n:13)	150.63±36.18		Negatif (n:13)	137.52±24.02		Negatif (n:13)	132.02±23.35	

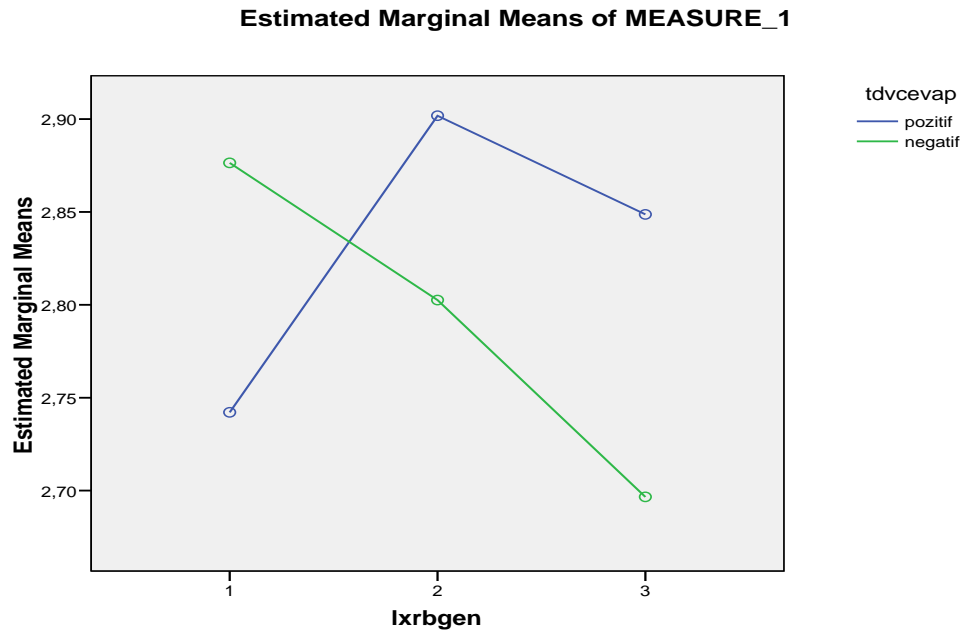
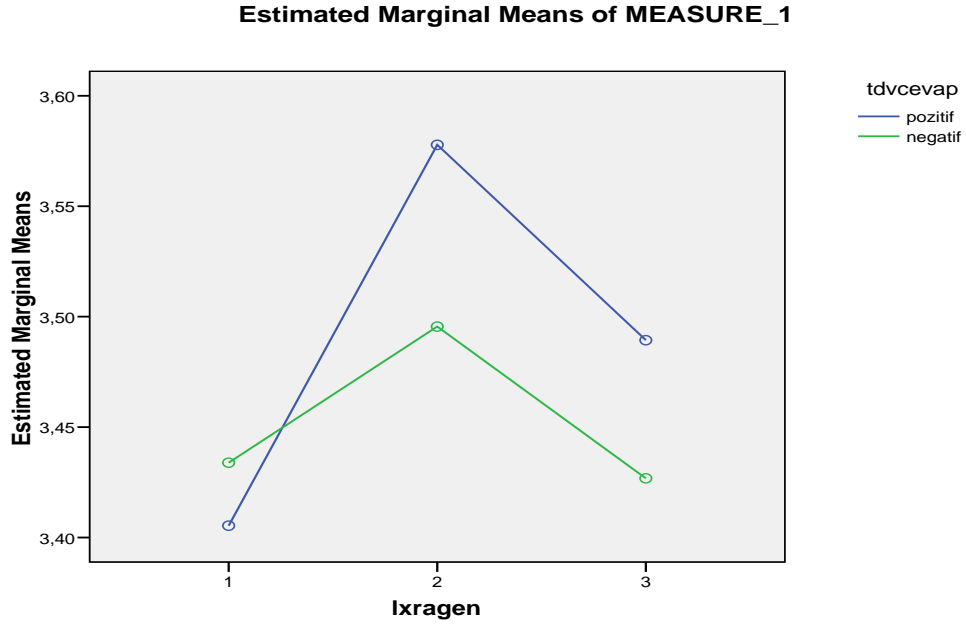
Metformin tedavisi sonrası tedaviye cevap verenler ve vermeyenlerde TKOL, TRG ve LDL düzeyinde azalma izlendi. Fakat her iki grup arasında anlamlı bir fark izlenmedi. HDL düzeyinde ise tedavi sonrasında her iki grupta artış izlendi. Tedaviden sonraki 3. ayda HDL ortalamaları tedaviye cevap verenlerde 41.35±8.57, tedaviye cevap vermeyenlerde ise 51.23±8.17 olup aralarındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p<0.05$ ). HDL düzeyi tedaviye cevap vermeyenlerde cevap verenlere göre istatistiksel olarak daha yüksek bulunmuştur (Tablo 10).

**Tablo 11.** LXR $\alpha$  ve LXR $\beta$  gen ekspresyonlarının tedaviye cevap durumları arası ve zamana göre farklılıkları

Gen	Tedaviye cevap durumu		P
	Pozitif (n=17)	Negatif (n=13)	
<b>LXR<math>\alpha</math></b>			
<b>0</b>	2543.07(2107.43-3071.46)	2715.71(2211.41-3311.00)	0.653
<b>3.ay</b>	3782.57(2530.69-5503.45)	3219.80(1709.34-5705.24)	0.600
<b>6.ay</b>	3085.65(2498.43-3848.88)	2671.76(1681.63-4389.95)	0.569
<b><math>\Delta</math>0-3.ay</b>	0.54(-0.02/1.33)	0.29(-0.19/1.74)	0.889
<b><math>\Delta</math>0-6.ay</b>	0.34(-0.18/0.50)	-0.31(-0.43/1.11)	0.707
<b>P</b>	0.128	0.851	-
<b>LXR<math>\beta</math></b>			
<b>0</b>	552.23(372.69-785.70)	752.31(486.29-1190.82)	0.297
<b>3.ay</b>	797.63(528.15-1244.50)	634.67(378.31-1071.68)	0.515
<b>6.ay</b>	789.65(532.96-1225.51)	497.28(369.29-663.26)	0.113
<b><math>\Delta</math>0-3.ay</b>	0.77(-0.12/1.35)	-0.07(-0.33/1.00)	0.220
<b><math>\Delta</math>0-6.ay</b>	0.13(-0.21/1.18)	-0.38(-0.61/0.04)	0.273
<b>P</b>	0.289	0.417	-

\*Veriler ortanca (25.yüzdilik/75.yüzdilik) veya geometrik ortalama (%95 bootstrap güven aralığı) olarak ifade edildi.

Tedaviye cevap verenlerde ve cevap vermeyenlerde, tedavi öncesi ve tedavi sonrası 3. ve 6. aylarda LXR $\alpha$  gen ekspresyon düzeyinde anlamlı bir farklılık olmadığı görülmüştür (p=0.128 ve p=0.851). Benzer şekilde tedaviye cevap verenlerde ve cevap vermeyenlerde, tedavi öncesi ve tedavi sonrası 3. ve 6. aylarda LXR $\beta$  gen ekspresyon düzeyinde de anlamlı bir farklılık olmadığı görülmüştür (p=0.289 ve p=0.417). Pozitif ve negatiflerde, her iki genin 3 aylık ve 6 aylık ekspresyon seviyesindeki değişimlerinde anlamlı bir fark görülmedi (p>0.05) ( Tablo 11).



**Şekil 5.** Tedaviye cevap verenler ile vermeyenlerin 0, 3.ay ve 6.ayda  $LXR\alpha$  ve  $LXR\beta$  gen ekspresyonlarının değişimi

Tedaviye cevap ve zaman etkileşimi istatistiksel olarak anlamlı bulunmasa bile her grup için değişimin farklılık gösterdiği gözlenmiştir. Pozitiflerde, *LXRα* gen ekspresyonunda ilk 3 ayda hızlı bir artış ve 3. aydan sonra azalmayla birlikte ilk 6 ayda daha yavaş bir artış sergilemiştir. Negatiflerde ise ilk 3 ayda *LXRα* ekspresyonunda artış, daha sonra bazal değerinin altında bir azalma izlenmiştir. Gen *LXRβ* ekspresyonunda ise tedaviden sonra pozitiflerde artış izlenirken negatiflerde ise giderek azalma görülmüştür (Şekil 5).

**Tablo 12.** Hastaların metformin ile tedavi öncesi ve 3 aylık ve 6 aylık tedavi sonrası klinik ve laboratuvar parametrelerinin karşılaştırılması

Parametre	Tedaviye cevap	Tedavi öncesi	3 ay sonra	6 ay sonra	P
<b>HbA1c</b>	Pozitif	7.76±0.63	6.10±0.65*	6.05±0.54*	<b>0.000</b>
	Negatif	6.66±0.39	6.43±0.57	6.46±0.47	0,173
<b>AKŞ</b>	Pozitif	171.11±44.91	122.94±20.43*	116.88±17.63*	<b>0.000</b>
	Negatif	134.61±21.85	126.00±13.80	126.69±27.75	0.440
<b>TKŞ</b>	Pozitif	222.94±53.20	145.94±30.90*	153.23±37.85*	<b>0.000</b>
	Negatif	201.15±58.23	152.61±35.42*	149.92±47.01*	<b>0.004</b>
<b>WC</b>	Pozitif	109.64±10.65	106.05±8.80	104.70±7.38*	<b>0.030</b>
	Negatif	107.53±14.55	102.69±10.03	102.53±11.90	0.083
<b>BMI</b>	Pozitif	34.48±4.05	32.61±4.52*	32.67±4.09*	<b>0.000</b>
	Negatif	36.64±6.23	34.71±7.14*	34.63±6.40*	<b>0.001</b>
<b>FAT</b>	Pozitif	34.42±6.62	31.65±7.61*	31.74±7.00*	<b>0.000</b>
	Negatif	40.70±7.13	36.80±8.04*	38.36±8.35*	<b>0.004</b>
<b>TFAT</b>	Pozitif	33.46±4.61	31.92±5.99	30.85±4.50*	<b>0.005</b>
	Negatif	36.46±5.07	31.82±6.43*	34.33±7.59	<b>0.011</b>
<b>TKOL</b>	Pozitif	227.00±43.59	198.82±43.39*	201.11±50.56*	<b>0.002</b>
	Negatif	230.92±38.45	216.61±26.79	201.23±53.12	0.076
<b>TRG</b>	Pozitif	172.82±59.10	161.11±11.6*	147.88±44.61*	<b>0.002</b>
	Negatif	165.92±49.18	139.30±49.80	148.30±33.29	0.150
<b>HDL</b>	Pozitif	40.52±7.54	41.35±8.57	43.47±9.10*	<b>0.043</b>
	Negatif	47.00±11.83	51.23±8.17	49.92±10.06	0.168
<b>LDL</b>	Pozitif	151.82±39.45	125.27±37.02*	128.07±42.09*	<b>0.001</b>
	Negatif	150.63±36.18	137.52±24.02	132.02±23.35	0.090

Metformin ile tedavisi sonrasında, tedaviye cevap verenlerde HbA1c, AKŞ, WC, TKOL, TRG, LDL düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azalma, HDL düzeyinde ise anlamlı bir artış görüldü. Tedavi sonrasında hem tedaviye cevap veren hem de cevap vermeyen hastaların TKŞ, BMI, FAT, TFAT düzeylerinde anlamlı bir şekilde azalma izlendi (Tablo 12).

**Tablo 13.** Tedaviden sonra hastaların klinik ve laboratuvar parametrelerindeki değişim ile *LXRα* ve *LXRβ* gen ekspresyonundaki değişimin ( $\Delta LXR\alpha$  ve  $\Delta LXR\beta$ ) korelasyon değerleri (Spearman nonparametrik korelasyon testi)

Parametre		$\Delta 0-3$ ay				$\Delta 0-6$ ay			
		<i>LXRα</i>		<i>LXRβ</i>		<i>LXRα</i>		<i>LXRβ</i>	
		r	p	r	p	r	P	r	P
WC	Pozitif	.021	.937	-.092	.725	<b>-.581*</b>	.014	<b>-.493*</b>	.045
	Negatif	-.127	.680	.349	.242	.181	.553	-.064	.887
BMI	Pozitif	-.380	.133	.294	.252	-.150	.567	.103	.694
	Negatif	<b>-.527*</b>	.054	-.297	.325	-.286	.344	-.269	.437
FAT	Pozitif	-.414	.098	.306	.232	.228	.379	.358	.158
	Negatif	-.390	.188	-.412	.162	-.484	.094	-.231	.448
TFAT	Pozitif	-.233	.368	.331	.195	.137	.599	-.355	.162
	Negatif	-.407	.168	-.440	.133	-.473	.103	-.220	.471
HbA1c	Pozitif	<b>-.436*</b>	.040	.304	.236	.162	.535	-.005	.985
	Negatif	-.239	.431	-.129	.674	-.369	.215	.105	.734
AKŞ	Pozitif	-.135	.606	-.118	.653	-.098	.708	-.355	.162
	Negatif	.330	.271	-.071	.817	-.527	.064	.016	.957
TKŞ	Pozitif	-.304	.236	.103	.694	-.071	.786	-.100	.701
	Negatif	.027	.929	-.379	.201	-.560	.066	.022	.943
TKOL	Pozitif	.186	.474	.461	.063	.218	.400	.326	.202
	Negatif	<b>-.698**</b>	.008	.346	.247	.066	.831	.154	.616
TRG	Pozitif	.449	.071	-.027	.918	-.054	.837	.297	.248
	Negatif	<b>-.698**</b>	.008	-.297	.325	.022	.943	-.016	.957
LDL	Pozitif	.100	.701	.328	.198	.350	.168	.385	.127
	Negatif	<b>-.736**</b>	.004	.352	.239	.159	.603	.308	.306
HDL	Pozitif	.105	.687	.161	.538	-.055	.833	<b>.499*</b>	.041
	Negatif	.220	.471	-.038	.901	.451	.122	-.104	.734

r, Spearman korelasyon katsayısı;  $\Delta$ , yüzde değişim

\* korelasyon

\*\* kuvvetli korelasyon

Tedaviden sonraki 3. ayda tedaviye cevap verenlerde, HbA1c'deki değişim ile *LXRα* gen ekspresyonundaki değişim arasında negatif bir korelasyon bulunmuştur (p:0.04). Bu korelasyona göre HbA1c düzeyi azalırken *LXRα* gen ekspresyonunda artma görüldü. Tedaviden sonraki 6. ayda tedaviye cevap verenlerde, WC'deki değişim ile *LXRα* gen ekspresyonundaki değişim ve *LXRβ* gen ekspresyonundaki değişim arasında negatif bir korelasyon bulunmuştur (p<0.05). Bu korelasyon, WC azalırken

*LXR $\alpha$*  ve *LXR $\beta$*  gen ekspresyonunun artışı şeklindedir. Aynı zamanda HDL düzeyindeki değişim ile *LXR $\beta$*  gen ekspresyonundaki değişim arasında da pozitif bir korelasyon bulunmuştur (p:0.04). HDL düzeyi artarken, *LXR $\beta$*  gen ekspresyonu da artmıştır.

Tedaviye cevap vermeyenlerde ise tedavinin 3.ayındaki *LXR $\alpha$*  gen ekspresyonundaki değişim ile BMI'deki değişim arasında negatif yönde korelasyon, TKOL, TRG ve LDL deki değişim arasında ise negatif yönde fakat kuvvetli bir korelasyon bulunmuştur (p<0.05) (Tablo 12). *LXR $\alpha$*  gen ekspresyonu artarken VKI, TKOL, TRG ve LDL düzeylerinde azalma görülmüştür (tablo 13).

## 5. TARTIŞMA ve SONUÇLAR

T2DM bozulmuş insülin sekresyonu ve periferik insülin direnci ile karakterize, karbonhidrat, yağ ve protein metabolizmasında bozukluklarla seyreden kronik, multisistemik bir hastalıktır. Günümüzde yaygınlığı giderek artmakta olan T2DM, neden olduğu akut ve kronik komplikasyonlarla önemli mortalite ve morbidite riski taşıyan hastalıkların başında gelmektedir (1).

ADA'ya göre yeni tanı konmuş T2DM hastalarında ilk başlanması gereken oral antidiyabetik ilaç metformindir. Crandall ve ark.'na göre metformin, uzun süreli kullanım deneyimi, düşük maliyeti ve güvenirlilik raporlarının çok iyi olması nedeniyle DM hastalarında ilk tercih edilmesi gereken ajandır (64).

Metformin glisemik kontrolü, periferik dokularda insülin duyarlılığını ve glukoz alımını arttırarak ve karaciğerde glukoz üretimini (glukoneogenezis) azaltarak sağlamaktadır (3). Metformin yaklaşık 50 yıldır araştırılmasına rağmen, çok sayıda hücrenel mekanizma tanımlanmıştır, fakat reseptör, enzim ya da transkripsiyon faktörü gibi etkinin tek birleştirici yönü henüz tanımlanmamıştır.

Metforminin bilinen en önemli hücrenel hedefi, hücre ve vücudun enerji regülasyonunda rol alan AMPK enzimidir. Fakat metforminin AMPK'yı nasıl aktive ettiği bilinmemektedir. Bu konuda ilk olarak Zhou ve ark. 2001'de rat hepatositlerinde metformin tedavisinin AMPK'yı aktive ettiğini göstermişlerdir (7) ve daha sonraki insan ve rodent dokusunda metforminin AMPK'yı uyardığı gösterilmiştir (65). Metforminin kan şekerini düşürücü özelliği sadece AMPK aktivasyonuna bağlı olmayabilir ve metforminin hepatik glukoneogenez üzerine AMPK'dan bağımsız etkisini gösteren çalışmalar da vardır (58). Son zamanlarda yapılan çalışmalarda metforminin AMPK' dan bağımsız glukoz düşürücü etkisi tanımlanmıştır (66). Yakın zamanda A. Mahrooz ve ark. nın yaptığı çalışmada, metforminin antidiyabetik etkisine cevabın *OCT1-Met420del* gen varyantıyla ilişkisini ve bu gen varyantının metformin tedavisine yanıt vermeyenlerde daha sık olduğunu göstermişlerdir. Böylece bu mutant alel taşıyıcılarında, metforminin karaciğer hücreleri tarafından alınması azalacağı ve bunun da metforminin etkisinde

azalmaya sebep olabileceğini ileri sürmüşlerdir (67). Chai ve ark. yaptıkları bir başka çalışmada ise metforminin kan şekeri regülasyonu ile ilgili etki mekanizmasının *Txnip* gen ekspresyonu ile ilişkisini ve metforminin AMPK'dan bağımsız olarak hepatik glukoneogenez üzerine etkisini göstermişlerdir (68). Metforminin T2DM tedavisine cevap ile ilişkili Leeuwen ve ark. nın yaptığı kohort çalışmasında *ATM* genindeki SNP varyasyonunun metformin tedavisine cevap vermeyenlerde daha sık görüldüğünü bildirmişlerdir (69).

Nükleer reseptörler olan *LXR*'leri, karbonhidrat, lipid ve kolesterol metabolizmasında önemli bir role sahiptir. *LXR*'ler karaciğerde glukoneogenezini inhibe ederek ve aynı zamanda periferik dokularda glukoz uptake'ni artırarak insülin duyarlılaştırıcı etki ile kan glukozunu düzenlediği gösterilmiştir. Aynı zamanda serum kolesterol ve LDL düzeyinde azalma ve HDL düzeyinde artışa sebep olmaktadır (62). Glukoz ve lipid metabolizması üzerinde etkileri metforminle benzerlik göstermektedir. Bizim hipotezimiz, metformine yanıtındaki farklılıkların bu gen ile ilişkili olabileceğidir.

İlaç yanıtı organların fonksiyonu, hastalığın yapısı gibi çeşitli faktörler tarafından etkilenmesine rağmen, genlerin aynı ilaca cevaptaki bireysel farklılıkların %20-95'ni belirleyebileceği tahmin edilmektedir. Bu önemli ilacı alan hastaların yaklaşık %35-40'ında, metformine yanıtta bireylerarası farklılıklardan dolayı beklenen glukoz düşürücü cevaba ulaşamamıştır (67). Bu farklılıkların ilaçla ilişkili genlerdeki polimorfizmden kaynaklanabileceği düşünülmektedir (66, 67). Metformin tedavisine cevap ile çok az sayıda farmakogenetik çalışma yapılmıştır. Bu konu ile ilgili yapılan geniş çaplı bir kohort çalışmasında *ATM* geninin bir varyantının Tip 2 DM 'de metformin tedavisine cevapla anlamlı bir şekilde ilişkili olduğu bulunmuştur (69).

Bu çalışma metformin tedavisine cevap ile *LXR* reseptörleri arasındaki ilişkiyi araştıran ilk çalışmadır. Çalışma yeni tanı konan T2DM'li toplam 30 hasta üzerinde yapılmıştır. Hastalarda tedavi öncesi ve tedaviden sonra 3. ve 6. aylarda PBMC'den (Periferik kanın mononükleer hücreleri) *LXR $\alpha$*  ve *LXR $\beta$*  gen ekspresyonu ve aynı zamanda hastanın HbA1c, AKŞ, TKŞ, lipid parametrelerine ve antropometrik ölçümlerine bakılmıştır.

Bu çalışmada Metformin ile periferik kanın *LXR*'ler tarafından transkripsiyonel aktivasyonu değerlendirmek için diğer bir çalışmada olduğu gibi periferik kandan elde edilen monositler kullanılmıştır (70).

Bu çalışmanın sonuçları değerlendirilirken, hastalar metformin tedavisinden sonra HbA1c'deki düşme oranına göre tedaviye cevap veren (pozitif grup) ve vermeyenler (negatif grup) olarak iki gruba ayrılmıştır. Literatürde de bildirildiği gibi metformin tedavisinin HbA1c 'de yaklaşık %1 -2 arasında bir azalma meydana getirdiği bilinmektedir (55, 71, 72). Shikata ve ark. çalışmalarında, HbA1c'de %0,5 ve üzerindeki azalmayı metforminin cevap kriteri olarak kabul etmiştir. Mahrooz ve ark. ise metforminle yaptıkları çalışmalarında HbA1c'deki % 1 ve üzerindeki azalmayı tedaviye cevap kabul ederek hastaları iki gruba ayırmışlardır. Bu çalışmada da HbA1c değerindeki  $\geq$ %1 deki azalma metformin tedavisinde cevap kriteri olarak kabul edilmiştir.

T2DM tedavisine yanıtın incelenmesinde HbA1c ve AKŞ değerleri birinci derece önemli parametrelerdir. Amerika'da metformin onayı için yapılmış tescil çalışmalarında, 29 haftalık metformin tedavisi ile HbA1c de ortalama % 1,8, AKŞ de ise 58mg/dl düşüş gözlenmiştir. Metforminin glukoz düşürücü etkisi, HbA1c ve AKŞ değerleri yüksek olanlarda en fazla, HbA1c ve AKŞ değerleri düşük hastalarda en az olarak saptanmıştır (55). Benzer şekilde, bizim çalışmamızda da tedavi öncesi HbA1c ve AKŞ ortalamaları pozitif grupta negatif gruba göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Metformin tedavisi sonrasında pozitif grupta HbA1c değerindeki ortalama azalma %1,6 iken, negatif grupta ortalama %0,2 oranında bir azalma görülmüştür. AKŞ değerlerindeki düşüş ise bahsedilen çalışma ile uyumlu olarak pozitif grupta 3. ayda %48 ve 6. ayda % 54 oranında, negatif grupta ise 3. ayda %8,6 ve 6. ayda %7,9 oranında gerçekleşmiştir. Mahroz ve ark. yaptığı bir çalışmada da benzer şekilde 3 aylık metformin tedavisi sonrasında, HbA1c ve AKŞ değeri tedaviye cevap verenlerde (cevap kriteri HbA1c deki  $\geq$  % 1 azalma) cevap vermeyenlere göre anlamlı derecede daha düşük olduğunu bildirmişlerdir (67). Bu çalışmada da metformin ile tedavisi sonrasında, tedaviye cevap verenlerde HbA1c, AKŞ düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma görülmüştür (p=0,00).

Çalışmamızda metformin tedavisinin lipid profili üzerine etkisi incelendiğinde; tedaviden sonraki 3. ve 6. ayda, tedaviye cevap verenlerde TKOL, TRG ve LDL seviyelerinde anlamlı bir düşme izlenirken, serum HDL seviyesinde anlamlı bir artış görüldü. Daha önce yapılmış çalışmalarda da metforminin TKOL, TRG ve LDL seviyelerini düşürüp HDL seviyesinde artışa neden olduğu bildirilmiştir. Bu

çalışmada elde edilen veriler mevcut literatür verilerini destekler niteliktedir (55, 57, 73, 74).

T2DM hastaları sıklıkla kilo fazlalığı olan veya obez bireylerden oluşmaktadır. Bu çalışmada her iki grubun BMI'lerinde metformin tedavisi sonrasında yaklaşık olarak %2 oranında bir azalma görülmüştür. Bu azalma istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ve metforminin kilo verdirici etkisi ile ilgili verileri desteklemektedir (55, 72, 74).

Hastaların metformin tedavisi sonrası antropometrik parametreleri incelendiğinde; WC değerinin pozitif grupta negatif gruba göre anlamlı bir şekilde azaldığı izlenmiştir. Tedavi sonrasında her iki grubun FAT, TFAT değerlerinde anlamlı bir azalma görülmüştür. Akın ve ark.nın yaptığı çalışmada, T2DM'li hastaların 6 aylık metformin tedavisinden sonra FAT ve TFAT değerlerinde azalma olduğunu bildirmişlerdir. Bizim bulgularımız Akın ve ark.nın yaptığı çalışmayı destekleyerek istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (72).

Çalışmamızda, pozitif grup ve negatif grup arasında metformin tedavisi öncesinde ve tedavi sonrasında *LXRα* ve *LXRβ* gen ekspresyon düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır ( $p>0,05$ ). Fakat metformin tedavisine cevap verenlerde, tedavinin ilk 3 ayında HbA1c'deki değişim ile *LXRα* gen ekspresyonundaki değişim arasında negatif yönde bir korelasyon bulunmuştur ( $p:0,04$ ). Bu korelasyona göre, metformin tedavisi sonrası HbA1c düzeyi azalırken *LXRα* gen ekspresyonunda artış olmaktadır. Bu durum metforminin kan şekerini düşürücü etkisinin *LXRα* geni ile ilişkili olabileceğini düşündürmektedir.

*LXR* geni, glukoz hemeostazında rol almakla birlikte karaciğerde lipid ve karbonhidrat metabolizmasında yakından ilişkilidir. Özellikle *LXRα* agonistleri tarafından karaciğerde glukoneogenik gen ekspresyonlarını baskıladığı yapılan bazı çalışmalarda gösterilmiştir. *LXR* agonistinin, *LXRα* aracılığıyla fosfoenol piruvat karboksikinaz ve glukoz -6-fosfataz ekspresyonunu baskılayarak ve periferik dokularda insülin duyarlılığını artırarak kan şekerini düşürdüğü gösterilmiştir (12, 62). Ayrıca *LXRα* geni karaciğerde *SREBP* ve *ChREBP* hedef genlerini aktive ederek lipid regülasyonunda rol oynamaktadır. Kan Lipid düzeyine etkisi, total kolesterol, LDL ve TRG 'de azalma, ve HDL seviyesinde artış şeklindedir (12, 55). Bu çalışmada da, metformin tedavisinden sonra tedaviye cevap verenlerde cevap

vermeyenlere göre AKŞ, HbA1c, TKOL, TRG, LDL düzeyleri anlamlı bir şekilde azalırken, HDL düzeyinde anlamlı bir artış izlenmiştir. Bu sonuçlar da *LXRα* geninin metforminin etkisinde önemli olduğunu destekler niteliktedir. Ayrıca, tedavinin ilk 3 ayında tedaviye cevap veren hastalarda *LXRα* gen ekspresyonunda belirgin bir artış izlenmiştir (şekil 5). Fakat bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Bunun nedeni hasta sayısının nisbeten az olması ile ilişkili olabilir.

Sonuç olarak bu çalışmanın bulguları, *LXRα* geninin metforminin kan şekeri düşürücü etkisine ve lipid profili üzerindeki olumlu etkisine aracılık edebileceğini düşündürmektedir. Metformin ile *LXRα* geni arasındaki moleküler mekanizmanın aydınlatılması T2DM tedavisi için yeni ilaç hedeflerinin belirlenmesi için de imkan sağlayabilir. Ayrıca metforminin dozu ve kullanımının bireyselleşmesi ile daha iyi bir klinik uygulama sağlanacaktır.

## 6. KAYNAKLAR

1. Tabak AG, Jokela M, Akbaraly TN, Brunner EJ, Kivimaki M, Witte DR. Trajectories of glycaemia, insulin sensitivity, and insulin secretion before diagnosis of type 2 diabetes: an analysis from the Whitehall II study. *Lancet* 2009; 373(9682): 2215-21.
2. Aktunç E, Ünalacak M, Demircan N. Tip II Diyabet'te patofizyoloji ve akılcı tedavi yaklaşımı. *STED* 2002;11(9): 334.
3. Nathan DM, Buse JB, Davidson MB, et al. Medical management of hyperglycemia in type 2 diabetes: a consensus algorithm for the initiation and adjustment of therapy: a consensus statement of the American Diabetes Association and the European Association for the Study of Diabetes. *Diabetes care*. 2009; 32(1): 193-203.
4. Batandier C, Guigas B, Detaille D, et al. The ROS production induced by a reverse-electron flux at respiratory-chain complex 1 is hampered by metformin. *Journal of bioenergetics and biomembranes*. 2006; 38(1): 33-42.
5. Viollet B, Guigas B, Sanz Garcia N, Leclerc J, Foretz M, Andreelli F. Cellular and molecular mechanisms of metformin: an overview. *Clinical science*. 2012;122(6): 253-70.
6. Turban S, Stretton C, Drouin O, et al. Defining the contribution of AMP-activated protein kinase (AMPK) and protein kinase C (PKC) in regulation of glucose uptake by metformin in skeletal muscle cells. *The Journal of biological chemistry*. 2012; 287(24): 20088-99.
7. Zhou G, Myers R, Li Y, et al. Role of AMP-activated protein kinase in mechanism of metformin action. *The Journal of clinical investigation*. 2001; 108(8): 1167-74.
8. Hawley SA, Ross FA, Chevtzoff C, et al. Use of cells expressing gamma subunit variants to identify diverse mechanisms of AMPK activation. *Cell metabolism*. 2010; 11(6): 554-65.

9. Hawley JA, Lessard SJ. Exercise training-induced improvements in insulin action. *Acta physiologica*. 2008;192(1):127-35.
10. GoDarts, Group UDPS, Wellcome Trust Case Control C, Zhou K, Bellenguez C, Spencer CC, et al. Common variants near ATM are associated with glycemic response to metformin in type 2 diabetes. *Nature genetics*. 2011;43(2):117-20.
11. Korach-Andre M, Parini P, Larsson L, Arner A, Steffensen KR, Gustafsson JA. Separate and overlapping metabolic functions of LXRalpha and LXRbeta in C57Bl/6 female mice. *American journal of physiology Endocrinology and metabolism*. 2010;298(2):167-78.
12. Baranowski M. Biological role of liver X receptors. *Journal of physiology and pharmacology : an official journal of the Polish Physiological Society*. 2008;59 Suppl 7:31-55.
13. Annicotte JS, Schoonjans K, Auwerx J. Expression of the liver X receptor alpha and beta in embryonic and adult mice. *The anatomical record Part A, Discoveries in molecular, cellular, and evolutionary biology*. 2004; 277(2): 312-6.
14. Cao G, Liang Y, Broderick CL, et al. Antidiabetic action of a liver x receptor agonist mediated by inhibition of hepatic gluconeogenesis. *The Journal of biological chemistry*. 2003; 278(2): 1131-6.
15. Liu Y, Yan C, Wang Y, et al. Liver X receptor agonist T0901317 inhibition of glucocorticoid receptor expression in hepatocytes may contribute to the amelioration of diabetic syndrome in db/db mice. *Endocrinology*. 2006; 147(11): 5061-8.
16. Bonora E, Targher G, Alberiche M, et al. Homeostasis model assessment closely mirrors the glucose clamp technique in the assessment of insulin sensitivity: studies in subjects with various degrees of glucose tolerance and insulin sensitivity. *Diabetes care*. 2000; 23(1): 57-63.
17. Chisholm JW, Hong J, Mills SA, Lawn RM. The LXR ligand T0901317 induces severe lipogenesis in the db/db diabetic mouse. *Journal of lipid research*. 2003; 44(11): 2039-48.
18. Laffitte BA, Chao LC, Li J, et al. Activation of liver X receptor improves glucose tolerance through coordinate regulation of glucose metabolism in liver and adipose

tissue. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2003;100(9):5419-24.

19. Stulnig TM, Steffensen KR, Gao H, et al. Novel roles of liver X receptors exposed by gene expression profiling in liver and adipose tissue. *Molecular pharmacology*. 2002; 62(6): 1299-305.

20. Commerford SR, Vargas L, Dorfman SE, et al. Dissection of the insulin-sensitizing effect of liver X receptor ligands. *Molecular endocrinology*. 2007; 21(12): 3002-12.

21. Grempler R, Gunther S, Steffensen KR, et al. Evidence for an indirect transcriptional regulation of glucose-6-phosphatase gene expression by liver X receptors. *Biochemical and biophysical research communications*. 2005; 338(2): 981-6.

22. Mitro N, Mak PA, Vargas L, et al. The nuclear receptor LXR is a glucose sensor. *Nature*. 2007; 445(7124): 219-23.

23. Helleboid-Chapman A, Helleboid S, Jakel H, et al. Glucose regulates LXRA subcellular localization and function in rat pancreatic beta-cells. *Cell research*. 2006;16(7): 661-70.

24. Efanov AM, Sewing S, Bokvist K, Gromada J. Liver X receptor activation stimulates insulin secretion via modulation of glucose and lipid metabolism in pancreatic beta-cells. *Diabetes*. 2004; 53 Suppl 3:75-8.

25. Zitzer H, Wente W, Brenner MB, et al. Sterol regulatory element-binding protein 1 mediates liver X receptor-beta-induced increases in insulin secretion and insulin messenger ribonucleic acid levels. *Endocrinology*. 2006; 147(8): 3898-905.

26. Arner P. Free fatty acids--do they play a central role in type 2 diabetes? *Diabetes, obesity & metabolism*. 2001; 3 Suppl 1: 11-9.

27. Ku CS. Regulation of ATP Binding Cassette Transporter A1 and G1 Expression by Fatty Acids. *Nutrition & Health Sciences Dissertations*, 2010, ss 8.

28. Mauldin JP, Srinivasan S, Mulya A, et al. Reduction in ABCG1 in Type 2 diabetic mice increases macrophage foam cell formation. *The Journal of biological chemistry*. 2006 Jul 28;281(30):21216-24.

29. Li D, Wang D, Wang Y, Ling W, Feng X, Xia M. Adenosine monophosphate-activated protein kinase induces cholesterol efflux from macrophage-derived foam cells and alleviates atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice. *Journal of Biological Chemistry*. 2010; 285(43): 3499-509.
30. Schmitz G, Kaminski WE, Orso E. ABC transporters in cellular lipid trafficking. *Current opinion in lipidology*. 2000;11(5): 493-501.
31. Edwards PA, Kennedy MA, Mak PA. LXRs; oxysterol-activated nuclear receptors that regulate genes controlling lipid homeostasis. *Vascular pharmacology*. 2002; 38(4): 249-56.
32. Geyeregger R, Zeyda M, Stulnig TM. Liver X receptors in cardiovascular and metabolic disease. *Cellular and molecular life sciences: CMLS*. 2006; 63(5): 524-39.
33. Yap F, Craddock L, Yang J. Mechanism of AMPK suppression of LXR-dependent Srebp-1c transcription. *International journal of biological sciences*. 2011;7(5): 645-50.
34. American Diabetes A. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes care*. 2010 ; 33 Suppl1: 62-9.
35. Narayan KM, Boyle JP, Thompson TJ, Sorensen SW, Williamson DF. Lifetime risk for diabetes mellitus in the United States. *JAMA : the journal of the American Medical Association*. 2003; 290(14): 1884-90.
36. Colagiuri R. Diabetes: a pandemic, a development issue or both? Expert review of cardiovascular therapy. 2010; 8(3): 305-9.
37. Kahn CR, Weir GC, King GL, Jacopson AM, Moses AC, Smith RJ. *Joslin's Diabetes Mellitus*. Yumuk M(çev.ed). İstanbul Medikal Yayıncılık, 2008, ss 331-9.
38. TEVM Derneği. *Diabetes mellitus ve komplikasyonlarının tanı, tedavi ve izlem kılavuzu*. 5.baskı, 2011,
39. Burant CF. *Medical Management of Type Two Diabetes*. American Diabetes Association 5<sup>th</sup> ed. 2004.
40. Association AD. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care*. 2011; 1(34): 62-9.

41. Association. AD. Standards of medical care in diabetes. *Diabetes Care*. 2004;1(27):15-35.
42. Alice YYC, I. Fantus,G. Oral antihyperglycemic therapy for type 2 diabetes mellitus. *Canadian Medical Association Journal*. 2005; 2(172): 213-26.
43. Kayalar DA. Yeni tanı Tip 2 Diabetes mellitus hastalarında Rosiglitazonun adiponektin düzeyi ve insülin direnci üzerine etkisi [uzm. tezi]. İstanbul-2009.
44. Codario RA. Type 2 Diabetes, Pre-Diabetes, and the Metabolic Syndrome: The Primary Care guide to diagnosis and management. NJ, Humana Press & Totowa. 2005; 517-531.
45. Yılmaz C, Yılmaz MT, İmamoğlu S. Diabetes mellitus 2000. İstanbul ,2000;17-27.
46. Defronzo RA. From the triumvirate to the ominous octet: a new paradigm for the treatment of type 2 diabetes mellitus. *Diabetes care*. 2009; 58(4): 773-95.
47. Gardner DG, Shoback D. Greenspan's Basic & Clinical Endocrinology: NY, McGraw-Hill Companies, (8<sup>th</sup> ed) 2004.
48. Reaven GM. Role of insulin resistance in human disease. *Diabetes* 1988; 37 (12):1595-607.
49. Braunwald E, Fauci AS, Kasper DL, Hauser SL, Longo DL, Jameson JL. editors. Sağlıkler Y (çev. ed.). 13.Harrison İç Hastalıkları Prensipleri, cilt 2, 2004, Nobel Kitabevleri, S:2109-2138.
50. Ulusal Diyabet Kongresi, Diyabet Tanı ve Tedavi Rehberi -2011.
51. Özata M. Endokrinoloji Metabolizma ve Diyabet. İstanbul Tıp Kitabevi, (2. baskı) İstanbul 2011; ss 572-582.
52. Singh S. The Genetics of Type 2 Diabetes Mellitus: A Review. *Journal of scientific research*. 2011; 55: 35-48.
53. Malechi MT. Genetic of type 2 diabetes mellitus. *Diabetes Res Clin Pract*. 2005; 68(Supply 1): 10-21.
54. Solaas K, Legry V, Retterstol K, Berg PR, Holven KB, Ferrieres J at all. Suggestive evidence of associations between liver x receptor b polimorphisms with

type 2 diabetes mellitus and obesity in tree cohort studies: HUNT2(Norway), MONICA (France) and HELENA (Europe). *BMC Med Genet.* 2010;11(144):1471-2350.

55. Kahn CR, Weir GC, King GL, Jacopson AM, Moses AC, Smith RJ. *Joslin's Diabetes Mellitus.* Yumuk M(çev.ed). İstanbul Medikal Yayıncılık, 2008, ss 687-705.

56. American Diabetes Association Standarts of medical care in diabetes-2014 *Diabetes care,* 2014; 37(1): 26-32.

57. Harmancı A, Gürlek A. Eski İlaç, Eski ve Yeni Kullanımları: Metformin. *Dahili Tıp Bilimleri Dergisi.* 2005;1(12):29-37.

58. Foretz M, Hebrard S, Leclerc J, Zarrinpashneh E, Soth M, Mithieux G, et all. Metformin inhibits hepatic gluconeogenesis in mice independently of the LKB1/AMPK pathway via a decrease in hepatic energy state. *J Clin Invest.* 2010;120(7): 2355-69.

59. Wang L, Weinshillboun R. Metformin pharmacogenomics: Biomarkers to Mechanisms. *Diabetes* 2014; 63: 2609-10.

60. Scheen AJ. Personalising metformin therapy: a clinician's perspective. *Lancet Diabetes Endocrinol.* 2014; 2(6): 442-4.

61. Distefano JK, Watanabe R. Pharmacogenetics of Anti-Diabetes Drugs. *Pharmaceuticals* 2010; 3(8): 2610-46.

62. Vacca M, Degirolamo C, Mariani-Constantini R, Palasciano G, Moschetta A. Lipid-sensing nuclear receptors in the pathophysiology and treatment of the metabolic syndrome. *Syst Biol Med.* 2011; 3(5): 562-87.

63. Diblasio-Smith EA, Arai M, Quinet EM, Evans MJ, Kornaga T, Basso MD et all. Discovery and implementation of transcriptional biomarkers of synthetic LXR agonist in peripheral blood cells. *Journal of Translational Medicine* 2008; 6: 59.

64. Crandall JP, Knowler WC, Kahn SE, Marrero D, Florez D et all. The Prevention of Type 2 Diabetes. *Nat Clin Pract Endocrinol Metab.* 2008; 4(7): 382-93.

65. Musi N, Hirshman MF, Nygren J, Svanfeldt M, Bavenholm P et all. Metformin increases AMP-activated protein kinase activity in skeletal muscle of subjects with type 2 diabetes. *Diabetes care.* 2002;51(7): 2074-81.

66. Reitman ML, Schalt EE. Pharmacogenetics of metformin response: a step in the path toward personalized medicine. *J clin invest.* 2007;117(5):1226-9.
67. Mahrooz A, Parsanasab H, Hashemi- Soteh MB, Kashi Z, Bahar A et al. The role of clinical response to metformin in patients newly diagnosed with type 2 diabetes: a monotherapy study. *Clin Exp Med.* 2014.
68. Chai TF, Hong SY, Hongpeng H, Zheng L, Hagen T, Luo Y, Yu FX. A potential mechanism of metformin- mediated regulation of glucose homeostasis: inhibition of Thioredoxin-interacting protein (*Txnip*) gene expression. *Cell signal.* 2012;24(8):1700-5.
69. Leeuwen NV, Nijpels G, Becker ML, Deshmukh H, Zhou K, et al. A gene variant near *ATM* is significantly associated with metformin treatment response in type 2 diabetes: a replication and meta-analysis of five cohorts. *Diabetologia.* 2012;55:1971-7.
70. Lakomy D, Re'be' C, Sberna AL, Masson D, Gautier T, Chevriaux A et al. Liver X Receptor- Mediated Induction of Cholesteryl Ester Transfer Protein Expression Is Selectively Impaired in Inflammatory Macrophages. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2009;29(11):1923-9.
71. Sherifali D, Nerenberg K, Pullenayegum E, Cheng JE, Gerstein HC. The effect of oral antidiabetic agents on A1C levels: a systematic review and meta-analysis. *Diabetes care.* 2010;8(33):1859-64.
72. Goldstein BJ, Müller-Wieland D. Tip 2 Diyabet. *Textbook of type 2 diabetes (çev.). Akman AC (çev.ed) ( 1.baskı). AND Yayıncılık. İstanbul, 2004, ss86-96.*
73. Kurukulasuriya LR SJ. Therapies for type 2 diabetes:lowering HbA1c associated cardiovascular risk factors. *Cardiovasc Diabetol.* 2010;9(1):45-58.
74. Jamson JL . *Harrison's endocrinology.* New York: Mc Graw-Hill. 2006; 283-331.

T.C.  
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI'NA

**Dr. Özlem Erçal' a ait “ Tip 2 Diyabette Metformin Tedavisine Cevabın Liver X Reseptör Gen Ekspresyon Profili ile İlişkisi”** adlı çalışma, jürimiz tarafından Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı'nda Tıpta Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tarih:

Başkan Prof. Dr. Aydın Erenmemişoğlu

İmza:.....

Üye Prof. Dr. Muradiye Nacak

İmza:.....

Üye Doç. Dr. Hasan Basri Ulusoy

İmza:.....