

T.C.
DİCLE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI

DENEYSEL DİYABETİK NEFROPATİ MODELİNDE
BAZI ADİPOKİNLERİN OLASI ROLÜ

DR. SADIK BAŞKARA
UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI
PROF. DR. ABDURRAHMAN ŞERMET

DİYARBAKIR 2018

İÇİNDEKİLER

ÖZET

ABSTRACT

ŞEKİLLER LİSTESİ

GRAFİKLER LİSTESİ

KISALTMALAR LİSTESİ

1.	GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2.	GENEL BİLGİLER	3
2.1.	DİABETES MELLİTUS.....	3
2.1.1	Diyabetes Mellitus Tanımı	3
2.1.2	Diyabetes Mellitusun Sınıflandırması	3
2.1.3	Tip 1 Diabetes Mellitus	4
	Sınıflandırma, Epidemiyoloji ve Patogenez	4
2.1.3.1	Otoimmün Diabetes Mellitus.....	4
2.1.3.2	İdiopatik Tip 1 Diyabet.....	6
2.1.3.3	Fulminant Tip 1 Diyabet.....	6
2.1.4	Tip 2 Diabetes Mellitus	6
2.1.4.1	İnsülin Direnci ve Sinyalizasyon	8
2.1.5	Diyabetin Diğer Şekilleri.....	9
2.1.5.1	Monogenik Diabet	9
2.1.5.2	Egzokrin Pankreas Hastalığı	10
2.1.5.3	Hormonlar ve İlaçlar	10

2.1.5.4 Genetik Sendromlar	11
2.1.5.5 Prediyabet	11
2.1.6 Gestasyonel Diabet	12
2.1.7 Diabet için Tanı Kriterleri	13
2.1.8 Diabet ve Genetik	14
2.1.8.1 Tip 2 Diabetin Moleküler Genetiği	14
2.1.8.2 Tip 1 Diabetin Moleküler Genetiği	16
2.1.8.3 Monogenik Diabetin Moleküler Genetiği	17
2.1.9 Diabet Komplikasyonlarının Moleküler Genetiği	18
2.2 DİABETİK NEFROPATİ (DN).....	19
2.2.1 DN Epidemiyoloji ve Risk Faktörleri.....	22
2.2.2 Diabetik Nefropati Patogenezi.....	23
2.2.2.1 DN Genetik Temeli.....	23
2.2.2.2 DN Epigenetik Olaylar	23
2.2.2.3 MikroRNA'ların Etkileri	24
2.2.2.4 Hemodinamik Değişiklikler	24
2.2.2.5 Renal Hipertrofi	25
2.2.2.6 Glomerül Hacim ve Glomerül Sayısı.....	25
2.2.2.7 Metabolik Faktörler	26
2.2.2.7.1 Poliol Yolağı	26
2.2.2.7.2 Heksozamin Yolağı	27
2.2.2.7.3 -Protein Kinaz C (PKC) Yolağı	28
2.2.2.7.4 AGE oluşumu.....	30
2.2.2.7.5 Oksidatif Stress	32
2.2.2.7.6 Mitokondriyal Değişiklikler	39
2.2.2.8 Podositlerin Rolü	39

2.2.2.9 Endotel Hücre Disfonksiyonu.....	41
2.2.2.10 VEGF-A.....	41
2.2.2.11 Renin Anjiyotensin Aldosteron Sistemi (RAAS)	42
2.2.2.12 ACE ve Kinin Sistemi.....	43
2.2.2.13 Fibroz Süreci	43
2.2.2.14 TGF- β	44
2.2.3 DN Tanı	44
2.2.3.1 DN Biyokimyasal Markerlar.....	45
Kreatinin.....	45
Üre.....	46
2.2.3.2 GFR azalması.....	46
2.2.3.3 Histopatolojik Sınıflandırma.....	47
Glomerül lezyonlarının Klasifikasyonu.....	47
Klass I: Glomerüler Basal Membranı Kalınlaşması.....	47
Klass II: Mesangial Genişleme	47
Class III: Nodüler Glomeruloskleroz	48
(Kimmelstiel-Wilson lezyonları).....	48
Klass IV: İleri Diabetik Glomerüloskleroz	49
Vasküler Lezyonlar	50
2.3 ADİPOKİNLER.....	51
2.3.1 Adiponektin	53
Adiponektinin Keşfi.....	54
Biyokimyasal Özellikleri	55
Adiponektinin Yapısı.....	56
Fizyolojik rolü.....	57
Sonuçlar ve perspektifler	59

2.3.2	Visfatin	61
2.3.3	Adipsin.....	62
3.	MATERYAL ve METOT	64
	Ratların Temini ve Bakımı	64
	Grupların Oluşturulması.....	64
	Kanların Alınması	64
	Kullanılan Çözelti ve Tamponlar	65
4.	SONUÇLAR.....	66
5.	TARTIşMA	73
6.	REFERANSLAR	76

ÖZET

Deneysel Diyabetik Nefropati Modelinde Bazı Adipokinlerin Olası Rolü.

Amaç: Adiponektin, adipsin ve visfatin gibi adipokinlerin Diyabetik Nefropati ile olası ilişkilerini deney hayvanlarında, plazma parametrelerini baz alarak analiz edip tanımlamak ve sonuçlara ulaşmak.

Method: 25 adet Wistar-Albino rat alınarak, kontrol (n=5) ve diyabet (n=20) grubu olmak üzere iki gruba ayırdık. Diyabet grubu oluşturmak için her bir rata 0,1 M sitrat tamponu içerisinde 50 mg/kg dozunda STZ uygulandı. STZ uygulamasından 72 saat sonra plazma glukozu, glukometre ile ölçülerek, >350 mg/dl glukoz düzeylerine sahip olan ratlar diyabet grubu olarak tanımlandı ve çalışmaya alındı. İki aylık bir süreçten sonra ketamin anestezisi altında intrakardiyak yöntemle kan dokusu uygun tüplere alındı ve Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi merkez laboratuvarı olanakları kullanılarak plazma Adiponektin, Adipsin, Visfatin, BUN, Kreatinin, seviyeleri ölçüldü. İstatistik analizleri kullanılarak ölçülen bu parametrelerle tümevarımsal, nedensel ve diyalektik analiz yöntemleri ile DN ve adipokinler arasında doğrudan, dolaylı ve diğer parametrelerle beraber var olan ilişkilerin niteliği üzerine sonuçlar ve çıkarımlara ulaşıldı.

Sonuçlar ve Tartışma: Yaptığımız çalışma sonucunda adipokinlerden; adiponektin ve visfatinin, plazma kreatinin düzeyini etkilediği ve ilişki içerisinde olduğu buna karşın adipsinin plazma kreatinin seviyesi üzerinde herhangi bir etkiye sahip olmadığı.

Ayrıca adiponektin ve visfatin değerlerinin kendi aralarında pozitif bir ilişki içerisinde olduğu halde plazma adipsin değerleri ile herhangi bir korelasyona sahip olmadıklarını, analiz sonuçları ortaya koymuştur.

Anahtar Kelimeler: Diyabetik Nefropati, Adipokin, Adiponektin, Adipsin, Visfatin

ABSTRACT

The Role of Some Adipokines in Experimental Diabetic Nephropathy Models.

Objective: To analyze possible relationships between adipokines such as adiponectin, adipon and visfatin with diabetic nephropathy in experimental animals. Based on plasma parameters to reach the results.

Material and Methods: Twenty-five Wistar Albino rats were divided into two groups: control (n = 5) and diabetic (n = 20) groups. STZ was administered at a dose of 50 mg / kg in 0.1 M citrate buffer in each rat to form the diabetes group. Plasma glucose was defined as a group of diabetic rats with glucose levels >350 mg / dl measured by glucometer 72 hours after administration of STZ and taken to work. After a 2 month period, blood was collected by intracardiac method under ketamine anesthesia, and plasma adiponectin, visatin, BUN, creatinine levels were measured with Dicle University Medical Hospital Central laboratory facilities. The results and inferences about the inductive, causal and dialectical analysis methods and the nature of the relationships that existed directly and indirectly with other parameters between DN and adipokines were reached with these parameters measured using statistical analyzes.

Results and Conclusion: As a result of the work we have done, adiponectin and visfatin affects plasma creatinine levels, but adipon does not have any effect on plasma creatinine levels.

In addition, analysis results show that, adiponectin and visfatin values are positively correlated with each other but they do not have any correlation with plasma adipon values.

Keywords: Diabetic Nephropathy, Adipokines, Adiponectin, Adipon, Visfatin

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1: Hipergliseminin indüklediği doku hasarına bütünsel bir bakış.

Şekil 2: Hiperglisemi glikolitik zincirin, poliol yolağına akışını arttırır.

Şekil 3: Hexozamin yolu

Şekil 4: Hiperglisemi ile indüklenen olan protein kinaz-C yolağıının sonuçları.

Şekil 5: AGE ürünlerinin artan üretimi ve patolojik sonuçları.

Şekil 6a: Elektron transport zinciri, süperoksit üretimi

Şekil 6b: Elektron transport zinciri

Şekil 7: Hiperglisemik hasarın dört majör yolu

Şekil 8: ROS, PARP enzim aktivasyonuna neden olur.

PARP, GAPDH'ı modifiye eder

Şekil 9: Bütünsel bakışla, hiperglisemi nedenli hücre hasarı

GRAFİKLER LİSTESİ

Grafik 1. Adiponektin, kontrol grubu plazma düzeyi

Grafik 2. Adiponektin, diyabet grubu plazma düzeyi

Grafik 3. Adiponektin kontrol ve diyabet grubu plazma değerleri

Grafik 4. Visfatin, kontrol grubu plazma düzeyi

Grafik 5. Adiponektin, diyabet grubu plazma düzeyi

Grafik 6.Visfatin kontrol ve diyabet grubu plazma değerleri

Grafik 7. Adipsin, kontrol grubu plazma düzeyi

Grafik 8.Adipsin, diyabet grubu plazma düzeyi

Grafik 9. Adipsin kontrol ve diyabet grubu plazma değerleri

Grafik 10. Plazma kreatinin düzeyleri (kontrol-diyabet)

Grafik 11. Çoklu karşılaştırma

Grafik 12. Çoklu karşılaştırma

Grafik 13. Adiponektin-Kreatinin korelasyon grafiği

Grafik 14.Visfatin-Kreatinin korelasyon grafiği

Grafik 15. Adipsin-Kreatinin korelasyon grafiği

Grafik 16. Adiponektin-Visfatin korelasyon grafiği

Grafik 17.Adiponektin-Adipsin korelasyon grafiği

Grafik 18.Visfatin-Adipsin korelasyon grafiği

KISALTMALAR LİSTESİ

DN: Diyabetik Nefropati

DM: Diabetes Mellitus

STZ: Streptozotocin

GDM: Gestational Diabetes Mellitus

ADA: American Diabetes Association

IDF: International Diabetes Federation

İAA: İdrar Albümin Atılımı

GAD: Glutamik Asit Dekarboksilaz

HLA-DR: Human Leukocyte Antigen

PKC: Protein Kinaz C

AMP/AMPK: Aktive Mitojen Protein/Kinaz

MODY-1/MODY-2: Maturity Onset Diabetes of the Young

PNDM: Permanent Neonatal Diabetes Mellitus

LADA: Latent Autoimmune Diabetes in Adults

DNA: Deoksiribonükleik Asit

IGT(BGT): Impaired Glucose Tolerance

OGTT: Oral Glukoz Tolerans Testi

HbA1c: Hemoglobin A1c (Glikozile Hemoglobin)

WHO (DSÖ): World Health Organisation (Dünya Sağlık Örgütü)

IDF: International Diabetes Federation

APG(FPG): Açlık Plazma Glukozu

GWAS: Genome Wide Association Studies

SNP: Single Nucleotide Polimorphysm

PPAR: Peroksizom Proliferatör Aktifleştirilmiş Reseptör

AIRE: Autoimmun Regülatör Gene

BUN: Blood Urine Nitrogen

HOMA-IR: Homeostatic Model Assessment İnsülin Resistance

ACE: Angiotensin Converting Enzyme

AGE: Advanced Glication End Products

AR: Aldo Redüktaz

VEGF: Vascular Endothelial Growth Factor

NO: Nitrik Oksit

PG: Prostoglandin
AT: Anjiyotensin
GFR: Glomerular Filtration Rate
RAAS: Renin-Anjiyotensin-Aldosteron Sistemi
PKC: Protein Kinaz C
ROS: Reactive Oxygen Species
GAPDH: Gliseraldehit 3P Dehidrojenaz
GFAT: Glutamine Fructose-6-Phosphate Amidotransferase
NADH: Nicotinamide Adenine Dinucleotide
FADH₂: Flavin Adenine Dinucleotide
PARP: Poli-ADP-Riboz Polimeraz
TGF- β : Tumor Growth Factor B
NF- κ B: Nuclear Factor Kappa B
TNF- α : Tumor Necrosis Factor
CTGF: Connective Tissue Growth Factor
VEGF: Vascular Endotelial Growth Factor
EGF: Epidermal Growth Factor
GBM: Glomeruler Bazal Menbran
ICAM-1: Intracellular Adhesion Molecule
VCAM-1: Vascular Cell Adhesion Molecule
VDR: Vitamin-D Receptor
TLR: Tall-Like Receptor
NLR: Nod Like Receptor
TBM: Tübüler Bazal Menbran
SDBY: Son Dönem Böbrek Yetmezliği
T1D/T2D: Tip 1 DM/Tip 2 DM
SOD: Süperoksit Dismutaz
IGF-1: İnsulin Like Growth Factor
GLUT-1,2,3,4: Glucose Transporter 1,2,3,4
ECM: Extracellular Matrix
DAG: Diaçilgliserol
PAI: Plasminogen Activator Inhibitor
RAGE: Receptor for AGE
TCA: Trikarboksilik Asit
UCP-1: Uncoupled Protein-1

NOX: NADPH Oksidaz
ACE: Angiotensin Converting Enzyme
EM: Elektron Mikroskop
IFTA: Intersitisyel Fibröz Tübüler Atrofi
PVAD: Perivasküler Adipoz Doku
ARB: Anjiotensin Reseptör Blokörü
SCAT: Subkutan Adipoz Doku
VAD: Vasküler Adipoz Doku
KVH: Kardiyovasküler Hastalık
ERK: Extracelluler Signal-Regulated Kinase
MAPK: Mitogen Activated Protein Kinase
ROS: Reactive Oxygen Species (Reaktif Oksijen Molekülleri)
HMW: High Molecular Weight
LMW: Low Molecular Weight
ANP: Atrial Natriuretic Peptide
STEMI: ST-Elevation Myocardial Infarction
IRS-1/2: Insulin Receptor Substrate
I / R: Iskemi / Reperfüzyon

1. GİRİŞ VE AMAÇ

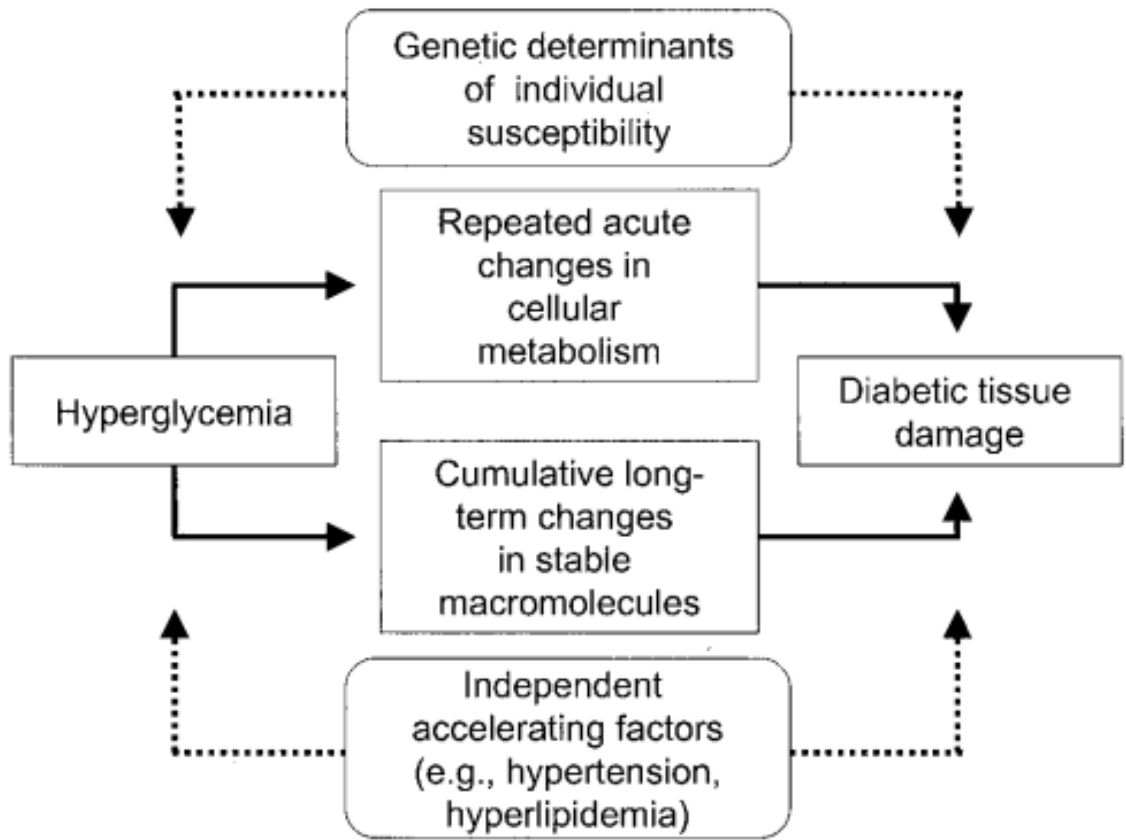
Diabetes mellitusun farklı bölgelerde salgın niteliği araştırıldı. Araştırma verilerine göre Orta Doğu ve Kuzey Afrika bölgeleri en yüksek yetişkin diyabet prevalansına sahiptir. (%10,9) Batı Pasifik bölgesi en yüksek diyabet tanısı alan yetişkin sayısına ve en yaygın diyabet prevalansı olan ülkeleri içerir (%37,5). Diabetes mellitusun farklı sınıfları; Tip 1, Tip 2, gestasyonel diyabet ve diğer diyabet türleri; tanısal kriterler, etiyoloji ve genetik nedensellik açısından karşılaştırılacaktır. Diyabetin moleküler genetiği son yıllarda birçok tanınmış araştırmacı ve biyomedikal alanındaki araştırma grupları tarafından büyük ilgi görmüştür.

Genlerde meydana gelen geniş bir dizi mutasyon ve tek nükleotid polimorfizmi diyabet gelişiminde çeşitli aşamalarda rol oynar. Glikoz metabolizmasına katılan yollar; pankreas hücrelerinin gelişimi, kontrolü ve fonksiyonu gibi alanlarda verilerin artması bilgilerin kapsamlı birikimine, moleküler ve hücresel seviyelerde çalışmaların artmasına rağmen diyabet gelişimi ve komplikasyonlarının mekanizması hala bütün yönleriyle anlaşılmış değildir. Nihai hedef olarak tanı, terapi, iyileştirmeye yönelik ve kronik komplikasyonların gelişme olasılığını en aza indirmek için daha kapsamlı ve geniş araştırmaların yapılmasına ihtiyaç olduğu muhakkaktır.

Son dönem böbrek hastalığı ve diyalizin başlıca nedeni diyabetik nefropatidir. Tedavi gören ve tıbbi kontrol altında tutulan bazı diyabetik hastalarda da diyabetik nefropati gelişebilmektedir. Diyabetik nefropatinin önlenmesi ve tedavisinin tam olarak yapılabilmesi için öncelikle patogeneziyle ilgili mekanizmaların tam olarak bilinmesi gerekmektedir.

Bu çalışmada deneysel diyabetik nefropati oluşturacağımız sıçanlarda bazı adipokinlerin (adiponektin, adipsin ve visfatin) serum düzeyleri ile diyabetik nefropati (BUN, kreatinin klirensi) arasındaki olası ilişkiler incelendi. Ayrıca, diyabetik nefropati patogenezinde rol oynayan başlıca oksidatif stres göstergeleriyle bazı adipokinlerin olası ilişkileri araştırılacaktır. Bu çalışmada amacımız; diyabetik nefropati patogenezinde söz konusu adipokinlerin olası rolleri ile ilgili deneysel sonuçları belirlemek ve çeşitli serum parametrelerinin etkinliği ve fonksiyonlarını göz önünde bulundurarak, bilimsel ve istatistik temelde; diyalektik, nedensel, tümevarımsal düşünce yöntemleriyle çıkarımlar ve sonuçlara

ulaşmak yorumlamak anlamlandırmak ve tedavide nasıl kullanılabilir sorusuna verilecek cevaba katkı sunmaktır.



Şekil 1: Hipergliseminin indüklediğı doku hasarına bütünsel bakış.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. DİABETES MELLİTUS

2.1.1 Diyabetes Mellitus Tanımı

Diabetes mellitus; insülin sekresyonunda, etkinliğinde veya her ikisinde meydana gelen defekt nedeniyle oluşan kronik hiperglisemi ile karakterize edilen bir grubun metabolik hastalığıdır. Karbonhidratlar, lipitler ve proteinlerin metabolizma anormallikleri bir anabolik hormon olan insülini kaynaqlar. Yeterli etki meydana getiremeyen düşük insülin seviyeleri ve hedef dokuların özellikle iskelet kasları, yağ dokusu ve daha az oranda karaciğerde insülin reseptörleri düzeyinde veya sinyal iletim sistemi, efektör enzimler ve genlerde meydana gelen olaylarla gerçekleşen insülin rezistansı diyabetin de içinde olduğu metabolik anormalliklerden sorumludur. Semptomların şiddeti diyabetin tipi ve süresi ile bağlantılıdır. Bazı diyabet hastaları asemptomatiktir, Tip 2 diyabetli olanlar hastalığın ilk yıllarında diğerlerine göre belirgin hiperglisemiye sahiptir.

Özellikle mutlak insülin eksikliği olan çocuklarda poliüri, polidipsi, polifaji, kilo kaybı ve bulanık görme semptomları belirgindir. Kontrolsüz şeker hastalığı stupora, komaya ve tedavi edilmezse ketoasidoz veya nadiren non-ketotik hiperozmolar sendrom sebebiyle ölüme neden olabilir [1-3].

2.1.2 Diyabetes Mellitusun Sınıflandırması

Diyabetin sınıflandırılması önemlidir ve tedavi stratejilerini belirlemek için önemli etkileri vardır ancak bu o kadar kolay bir iş değildir ve birçok hasta tek bir sınıfa kolayca uymaz. Özellikle de genç yetişkinlerde [1,4-6]. Başlangıçta sınıflandırılanların %10'unun revize edilmesi gerekebilir [7]. Amerikan Diyabet Derneği (ADA) tarafından 1997 yılında önerilen diyabetin klasik sınıflandırması Tip 1, Tip 2, diğer tipler ve gestasyonel diabetes mellitus (GDM) halen en çok kabul edilen sınıflandırmadır [1]. Wilkin [8] bu konuda hız (acceleratör) hipotezini öne sürüyor. Bu hipoteze göre, "Tip 1 ve Tip 2 diyabetin insülin direnci bozukluğu ile şekillenen farklı genetik geçmişleri olan aynı hastalıklardır [9]. İki tip arasındaki fark tempoya dayanır. Daha hızlı tempo daha duyarlı genotipi ve erken belirti demektir. Bu nedenle obezite ve insülin direnci hipotezin merkezidir. Diğer Tip 1 diyabet belirleyicisi ve göstergesi büyüme hızının artan ivmesi [10,11] ve pankreatik-β hücrelerinde bozulmuş glukoz duyarlılığıdır [12]. Artan serbest radikallerin etkileri, oksidatif stres ve birçok metabolik stres

faktörünün; diabetes mellitusun gelişme, patogenezi ve komplikasyonları üzerindeki roller hakkında yapılan [13-18] klinik çalışmalarda, uygulanan tedavi rejimlerinde bu faktörlere karşı antioksidanlar kullanılarak sonuçlara ulaşılmış, elde edilen bu sonuçlardaki tutarsızlıklara rağmen çalışmalar çok sağlam ve iyi belgelenmiştir [19-21]. Dişi hormonu olan 17- β estradiolun, östrojen reseptörü- α (ER- α) aracılığıyla, pankreatik- β hücre fonksiyonunun gelişimi ve korunması için gerekli olduğu bulunmuştur. Oksidatif stress, ER- α reseptörleri elimine edilen farelerde β -hücre destrüksiyonuna neden olur. ER- α reseptör aktivitesi pankreatik adacıkları glikolipotoksositeye karşı korur ve β -hücre disfonksiyonunu önler [22].

2.1.3 Tip 1 Diabetes Mellitus

Sınıflandırma, Epidemiyoloji ve Patogenezi

2.1.3.1 Otoimmün Diabetes Mellitus

Bu diyabet türü diyabet tanısı konmuş kişilerin %5-10'luk kısmını oluşturur [23] ve pankreasın B-hücrelerinin tahribi nedeniyle oluşur [24,25]. Tip 1 diyabet çocuklarda ve adolesanlarda diyabet hastalığının %80-90'ını oluşturur [2,26]. Uluslararası Diyabet Federasyonuna (IDF) göre 2013 yılında dünya çapında Tip 1 diyabet tanısı konan gençlerin sayısı (0-14 yaş) 497.100, yeni tanı konan sayısı yılda 78.900 olgu olarak rapor edilmiştir [27]. Bu rakamlar Tip 1 diyabetin yüksek prevalansı ergenlik çağını ve 14 yaş üstü yetişkinleri kapsamaması nedeniyle Tip 1 diyabetli hastaların toplam sayısını göstermez. Birleşik Devletlerde Tip 1 diyabet tahmin raporuna göre 2010 yılında ABD'de Tip 1 DM hasta sayısı 3 milyon kişi olarak bildirilmiştir [28,29]. ABD'de 20 yaşından küçük gençlerle 2009 yılı için Tip 1 diyabetli hasta sayısı 166.984 olduğu tahmin edilmektedir [30].

Amerikada Tip 1 diyabet prevalansı, 20 yaş altındaki gençlerde 2009 yılında binde 1,93 olarak tesbit edilmiştir. (Farklı etnik gruplarda 0.35-2.55) %2,6-2,7 göreceli yıllık artış oranı söz konusudur [26,31].

Tip 1 diyabet esas olarak T-hücre aracılı inflamatuvar yanıt yoluyla ve B-hücre aracılı humoral yanıtla pankreatik- β hücrelerinin otoimmün (insulitis) yıkımı sonucu oluşur [25]. Pankreatik adacık hücrelerine karşı gelişen otoantikorların varlığı, Tip 1 diyabetin esas belirleyici bileşenidir. Ancak bu otoantikorların patogeneziadaki rolü tüm yönleriyle belirlenmemiştir.

Bu oto-antikorlar insülin adacık hücre otoantikorlarını ve insülin otoantikorları (IAA), glutamik asit dekarboksilaz (GAD ve GAD65), protein tirozin fosfataz (IA2 ve IA2 β), ve çinko taşıyıcı protein (ZnT8A) içerir [32]. Bu pankreas otoantikorları Tip 1 DM için karakteristiktir. Bunlar hastalık gelişmeden aylar yıllar önce hastalık gelişecek kişinin kan örneklerinde tesbit edilebilmektedirler [33]. Otoimmün Tip 1DM HLA ilişkilidir. DR ve DQ genleri ile bağlantısı vardır. HLA-DR / DQ gen allelleri hastalığa karşı predispozan veya koruyucu olabilir [1]. Bu otoimmün Tip 1 diyabet için karakteristik olan, insülin sekresyonunun hiç olmaması ve çocuklarda ve adolesanlarda daha dominant gelişim göstermesidir.

Tip 1 diyabet etiolojisinde, genetik yatkınlığın önemine ek olarak birçok çevresel faktör de yer edinir [9,33]. Viral faktörler arasında doğumsal kızamıkçık, [34,35] enterovirüs, rotavirüs, herpes ve sitomegalovirüs, endojen retrovirüs enfeksiyonları, [36,37] İtalyan virüsü sayılır. Diğer faktörler, düşük vitamin-D düzeyleri, [38] doğum öncesi polütanlara maruz kalmadır. ‘Hijyen ve yaşam koşullarında iyileşme’ faktörü, yüksek sosyoekonomik statüye sahip ülkelerdeki çocuklarda enfeksiyon temelli etyolojinin düşmesi ve otoimmün hastalıklara bağlı diyabetin artması olgusunun açıklayıcı nedenidir (Hijyen hipotezi). Ayrıca bebeğin ilk 6 ay beslenme şekli, anne sütü yerine inek sütü formülü [39] buna ek olarak erken çocukluk dönemindeki obezite ve artan boy büyüme hızına bağlı gelişen insülin direnci de etyolojide yer alır. Ancak çevresel faktörlerin rolü tartışmalıdır [40]. Kanıtlar viral enfeksiyonların diyabetteki nedensel rolünü desteklemektedir [41-43]. Tip 1 diyabet sıklıkla ani gelişir ve polidipsi, poliüri, enürezis, enerji azlığı, aşırı yorgunluk, polifaji, ani kilo kaybı, yavaş iyileşen yaralar, tekrarlayan enfeksiyonlar, bulanık görme [27] şiddetli dehidratasyon, çocuklarda ve ergenlerde diyabetik ketoasidoz şeklinde bulgu verir.

Belirtiler karşılaştırıldığında çocuklarda yetişkinlere göre daha şiddetlidir. Otoimmün Tip 1 diyabet hastaları aynı zamanda Graves hastalığı, Hashimoto tiroiditi, Addison hastalığı, vitiligo, çölyak supruve, otoimmün hepatit, miyastenia gravis ve pernisiyöz anemi [1] gibi diğer otoimmün bozukluklara karşı daha hassastır.

Tip 1 diyabetin insüline tam bağımlılık durumu bazı hastalar da balayı fenomeni ile kesilebilir. Bu fenomen bazı durumlarda haftalarca aylarca sürer bazen 2-3 yıla kadar uzayabilir. Bazı çocuklarda insülin tedavisi gereksinimi, hiperglisemi tesbit edilemeyecek düzeye düştüğünden dozu düşürülüp geçici olarak geri çekilebilir [44].

2.1.3.2 İdiopatik Tip 1 Diyabet

Tip 1 diyabetin kökeni bilinmeyen seyrek bir formudur. Otoimmün Tip 1 diabetten daha az şiddetli ve otoimmünite ile ilişkisi olmayan bir sınıftır. Bu tip çoğunlukla Afrika veya Asya kökenlilerde görülür ve çeşitli derecelerde insülin eksikliği ve epizodik ketoasidoz söz konusudur [45].

2.1.3.3 Fulminant Tip 1 Diyabet

Tip 1 diyabetin ayrı bir formudur. İlk defa 2000 yılında tanımlandı ve idiyopatik Tip 1 diyabet ile non-immun aracılı olmak gibi bazı ortak özellikleri vardır [46,47]. Hipergliseminin başlangıcından kısa bir süre sonra ketoasidoz ile karakterize olur. Yüksek glikoz seviyeleri (≥ 288 mg/dL) ile beraber saptanamayan serum C-peptid seviyeleri, endojen insülin sekresyonu için bir göstergedir [48]. Başlıca Doğu Asya ülkelerinde görülür yaklaşık olarak Japonya'da akut başlangıçlı Tip 1 diyabetli hastaların %20'si (5000-7000 vaka) son derece hızlı ve neredeyse bütün beta-hücrelerinin hasarı ile sonuçlanır bunun yanında rezidüel insülin sekresyonu neredeyse sıfıra iner [48,49]. Genetik ve çevresel faktörler, özellikle viral enfeksiyonlar etiolojide başat role sahiptir. Anti-viral immun tepki pankreasın tahrip eden olayları tetikleyebilir. Beta-hücrelerine karşı gelişen tesbit edilemeyen antikorların olduğu hızlandırılmış bağışıklık reaksiyonu oluşur [48,50]. Fulminan Tip 1 diyabetin gebelikle ilişkili olduğu durumlarda bildirilmiştir [51].

2.1.4 Tip 2 Diabetes Mellitus

Epidemiyoloji ve Patogenez

Yetişkinlerde küresel diyabet prevalansı (20-79 yaş aralığı) IDF'nin 2013 yılında yayınladığı bir rapora göre %8,3 (382 milyon kişi) olarak rapor edilmiştir. Erkekler kadınlara oranla daha yüksek prevalansa sahiptir (198 milyon erkeğe karşı 184 milyon kadın hasta). Bu hastaların çoğunluğu 40-59 yaşları arasında olup rakamın 2035 yılına kadar 592 milyonun ötesine geçmesi, %10,1 küresel prevalans düzeyine ulaşması bekleniyor. 175 milyon olarak tahmin edilen hasta sayısı, teşhis edilmeyi bekleyen vakalar ile beraber diyabetten muztarip insan sayısı yarım milyarı aşıyor. Ek olarak 21 milyon kadına da gebelik hiperglisemisi teşhisi konuldu. Orta Doğu ve Kuzey Afrika bölgesi en yüksek diyabet (%10,9) prevalansına sahiptir. Ancak, Batı Pasifik bölgesi en fazla yetişkin diyabet tanısı alan bölgedir (138,2 milyon). En

yüksek prevalansa sahip ülkeler de bu bölgelerdedir [27]. Düşük ve orta düzey geliri olan ülkeler vakaların %80'ini kapsar.

Diyabetik epidemi toplumda alarm verici bir düzeydedir [27]. Diyabet hastalarının %90-95 'inden fazlası Tip 2 diyabettir ve bu hastaların çoğu erişkin yaştadır. 2009 yılında Birleşik Devletlerde Tip 2 diyabetli gençlerin sayısı (20 yaş altı) binde 0,46 olarak bildirilmiştir. Bu sayı o zaman Tip 2 diyabetlilerin yaklaşık %20 'sini oluştuyordu [26].

Dünyadaki artışa paralel olarak Türkiye'de de diyabet insidans ve prevalansı giderek artmaktadır. Türkiye'de son yıllarda yapılan 4 çalışmada diyabet prevalansı araştırılmıştır. TURDEP-II çalışması 2010 yılında yapılmış ve 27.000 bireyin alındığı bu çalışmada diyabet sıklığı %13,7, bozulmuş glukoz toleransı ise %13,8 olarak tespit edilmiştir. Yine aynı çalışmada diyabet olduğunu bilmeyen olgu sayısı %45 olarak tespit edilmiştir. 1998 yılında yapılan TURDEP-I çalışmasına göre diyabet sıklığı arada geçen 12 yılda %90'dan fazla oranda artmıştır. CREDIT çalışması ise 2009 yılında yapılmış ve 10.000 üzerinde birey taranmıştır. Bu çalışmada diyabet prevalansı %12,7 olarak tespit edilmiştir. TEKHARF çalışmasının 2011 yılına ait verilerinde ise diyabet sıklığı %11,3 iken, 2014 yılına ait takip verilerinde diyabet sıklığında %5 artış olduğu tespit edilmiştir.

Çocukların yaşam tarzı, sedanter hayat, sağlıklı yiyeceklerin sorumlu olduğu obezite, insülin direncinin arkasındaki esas nedenlerdir ve gençlerde Tip 2 diyabetin artan insidansının başlıca risk faktörleridir. ADA, Tip 2 diyabetin tespiti için kilolu çocukların ve ergen yaş grubunun düzenli taranmasını öneriyor [55,56]. Çocuklarda obezite prevalansı sürekli artış gösteren bir durumdur [6]. Tip 2 diyabet insidansının genç bireylerde artmasının ana nedeni değinildiği gibi olasılıkla bu durumdur.

Tip 2 diyabetli hastalarda insülin direnci insülinin etkilediği hedef dokularda insülin talebini artırır. İnsülin direncine ek olarak artmış insülin talebi pankreatik- β hücrelerin işlevindeki kusurlara bağlı olarak pankreas tarafından karşılanamaz [18]. İnsülin sekresyonu azalır, insülin talebi zamanla kademeli olarak artar ve sonuçta β -hücrelerinin tahribi gerçekleşir [57].

Tip 2 diyabet hastaları başta insülin bağımsız olmalarına karşın zamanla insülin bağımlı hale gelirler. Çoğu Tip 2 diyabet hastalar insüline bağımlı değildirler çünkü insülin salgısı devam eder ve insülin üreten β -hücrelerinin tamamen tükenmesi nadiren oluşur.

İnsülin bağımlı olmaması; Tip 2 diyabeti Tip 1 diyabetten ayıran en önemli farklardan biridir. Diğer farklılıklardan söz etmek gerekirse Tip 2 diyabet hastalarının çoğunda ketoasidoz

olmaz ve β -hücrelerinin otoimmün yıkımı söz konusu değildir. Her iki diyabet türünde de genetik yatkınlık vardır. Bununla birlikte genetik eğilim Tip 2'de daha güçlü olmakla beraber Tip 1'de genler daha karakteristiktir (TCF7L2 geni Tip 2 diyabetle güçlü bir şekilde ilişkilidir) [58].

Tip 2 diyabetin hafif semptomlarına bağlı olarak teşhis genellikle yıllarca gecikebiliyor. Özellikle düzenli kontrollerin kültürün bir parçası olmadığı ülkelerde bu gecikme çok sık görülen bir durumdur. Bu durum Tip 2 diyabet hastalarında uzun süreli hiperglisemi komplikasyonlarının insidansını arttırabilir. Diyabetin yanısıra insülin direncinin; obezite, nefropati, esansiyel hipertansiyon, dislipidemi, (hipertrigliseridemi, düşük HDL, azalan LDL partikül çapı, gelişmiş postprandial lipemi ve lipoprotein kalıntılarının birikimi) overan hiperandrojenizm ve prematüre adrenarş, non-alkolik yağlı karaciğer hastalığı, sistemik inflamasyon gibi manifestasyonları vardır [6,54].

Çocukluk ve ergenlik çağındaki obez olmayan Tip 2 diyabetik bireylerde Tip 2 diyabetin [59-61] zaman zaman şiddetli dehidratasyona ve bazı pediatrik hastalarda ketoasidoza neden olması Tip 2 diyabetle Tip 1 diyabetin kesin bir şekilde sınıflandırmasında bazı aksaklıklara yol açmıştır [55].

Tip 2 diyabet özelliklerine sahip bazı hastalarda adacık hücre otoantikorlarının varlığı veya GAD65 genine karşı otoantikorların varlığı, yetişkin latent otoimmün diyabet olarak adlandırılan farklı bir diyabet türü olarak sınıflandırılır. (LADA) [62] LADA teşhisi konan insanlar insülin tedavisine ihtiyaç duymazlar. Yakın tarihli bir çalışmada [63] Avrupa'da ortalama yaş aralığı 62 olan Tip 2 diyabetli hastaların %7,1'inde GAD otoantikorları pozitif bulunmuştur. Daha genç yaşta diyabet tanısı alan hastalarda LADA prevalansı daha yüksek bildirilmiştir. Ancak LADA'nın farklı bir diyabet tipi olarak sınıflandırılması henüz kabul görmüş değildir [6,64-66].

2.1.4.1 İnsülin Direnci ve Sinyalizasyon

İnsülin bağımlı substrat proteinlerindeki bozukluklar IRS-1 ve IRS-2 aracılı sinyal yolları, metabolik bozuklukların özellikle de diyabetin gelişiminde rol oynarlar. Bu yol hücrenin insüline tepkisine aracılık eder ve çok sayıda insülinle uyarılmış protein kinazları, örneğin insüline metabolik yanıtında ilgili insülin reseptör substrat proteinleri (IRS) içinde çok sayıda Ser / Thr kalıntısını fosforile eden serin / treonin kinaz, AKT ve PKC'ye (protein kinaz C) aracılık eder [67]. Ek olarak insüline bağımlı olmayan diğer kinazlar AMP ile aktive protein

kinaz, c-Jun N-terminali protein kinaz ve G-proteine bağı reseptör-kinaz-2 çeşitli koşullar altında iki insüline duyarlı substratı fosforile edebilir [67-71]. AKT ve PKC kinaz yollarındaki bozulma diyabet gelişmesinde merkezi rol oynar [72]. Hiperinsülinemi, dislipidemi ve insülin direnci dahil olmak üzere hastalığın tüm önemli özellikleriyle ilişkilidir [73]. Genetik knocking yaklaşımını kullanarak üç bölgede tirozinin yerine alanin proteininin mutant versiyonu kullanılan vahşi tip IRS-1, insülin direnci gelişiminde IRS-1 fosforilasyonunun merkezi rol oynadığını ortaya koymuştur [74].

Üretmek için benzer bir yaklaşım kullanarak tek mutasyona sahip spesifik tirozin kalıntısı içeren bir IRS-1 mutanı oluşturuldu ve yapılan gözlem de insülin direnci patogenezinin gelişiminde IRS-1 fosforilasyonunun rolü doğrulandı [75]. Kümülatif kanıtlar karmaşık bir dizi etkenin; çevresel faktörlerin [76] çeşitli dokularda glikoz ve lipid metabolizmasındaki hücresel bozuklukların insülin direnci gelişimine katkıda bulunduğunu gösteriyor [77].

Bu durum karaciğer ve kaslar başta olmak üzere karaciğerin yetersizliğine yol açan karmaşık hücresel metabolik değişikliklere sebep olur. Glukozu taşımak ve dağıtmak için glukoneogenez yoluyla glikoz kan düzeyi kontrolü, glukozu glikojen olarak depolamada bozukluk, de novo lipogenez ve hipertrigliseridemi gibi [77] insülin direncinin ve obezitenin gelişmesi ile ilişkilendirilen faktörler, diyabeti ve insülin sensitivitesini belirleyen risk faktörleri olarak hastalığın patogenezinde yer alan mekanizmalar arasında en önde gelenlerdir. [78] Obeziteye bağı insülin direnci artmış besin alımı ve doku enerji birikimi ile doğrudan bağlantılıdır ve insüline yönelik hücre cevabını doğrudan etkiler [77]. Karaciğerin merkezi rolüne ek olarak glikoz homeostazisinin genel metabolik bozuklukları ve diyabet, insülinde bağımsız mekanizmalar ile de ekstrahepatik dokularda etkilerde bulunur.

2.1.5 Diyabetin Diğer Şekilleri

2.1.5.1 Monogenik Diabet

Diyabetin genetik etiolojisinin karakterizasyonu danışmanlık, uygun tedavi ve iyi prognoz için daha iyi olanak sağlayacaktır [79]. Monogenik diyabet, pankreatik β -hücrelerindeki tek gen defekti β -hücre fonksiyonunun bozulmasına veya β -hücrelerinin sayısında bir azalmaya neden olur.

Geleneksel olarak monojenik diyabet başlangıç yaşına göre sınıflandırılır. Altı aydan önce görülürse neonatal diyabet olarak tanımlanır, 25 yaşından önce maturity onset diabet of young (MODY) olarak isimlendirilir. Bununla birlikte bazı ailesel defektler de neonatal diyabet, MODY veya yetişkin diyabetinde gösterilmiştir [2,9,80].

Beta hücre farklılaşması homeodomain transkripsiyon faktörünün ekspresyonuna PDX1 bağlıdır. PDX1 genindeki mutasyon erken dönemde MODY ile sonuçlanır. Gen ekspresyonu diyabet gelişim öncesi azalır [81]. Anjiyopoetin like protein 8 (ANGPTL8) "betatrophin" olarak görev gördüğü ve ANGPTL8 aktif geni veya aşırı ekspresyonunun bazı çalışmalar doğrulamasına da Beta-hücre proliferasyonunda rol oynadığına yönelik bilgiler mevcuttur. Mitokondrial diyabet bir nokta mutasyonuna bağlıdır. Sağırılık ile ilişkili mitokondriyal DNA ve mutant DNA'nın maternal iletimine bağlı olarak maternal olarak kalıtılan diyabet hastalığı oluşur [1,83].

Mutant insülin ile sonuçlanan mutasyonlar veya proinsülinin insüline dönüştürülmesinde aksaklık, glukoz intoleransına neden olur. İnsülin reseptöründeki genetik bozukluklar veya insülin sinyal iletim yolağının defektleri hiperinsülinemi, hafif hiperglisemi veya şiddetli diyabet ile kendini gösterir [1].

2.1.5.2 Egzokrin Pankreas Hastalığı

Pankreas β -hücrelerinin diffüz hasarlanması, pankreasın yaralanması diyabete neden olabilir. Bu zarara pankreas kanseri, pankreatit, enfeksiyon, pankreatektomi ve travma neden olabilir [1]. Ekzokrin pankreasın atrofisi pankreas β -hücre kaybının ilerlemesine yol açar [84]. Pankreasta yağ birikmesi veya pankreatosteatoz insülin salınımını azalttığı için diyabete yol açabilir. Ancak β -hücrelerini hasara uğratması için uzun süre gerekir [85]. Diyabetin oluşması için pankreasın büyük oranda hasarlanması gerekir. Bu hastalarda hastalık oluşmadan önce pankreasın ekzokrin fonksiyonu azalır [86].

2.1.5.3 Hormonlar ve İlaçlar

Endokrin hastalığı olanlarda sırasıyla growth hormon sekresyonu glukokortikoidler, glukagon, epinefrin, akromegali, Cushing's gibi bazı endokrinopatilerde ve glucagonoma, feokromositoma gibi sendromlarda diyabet gelişir [1].

2.1.5.4 Genetik Sendromlar

Down sendromu, Klinefelter, Turner sendromu ve Wolfram sendromu gibi çeşitli genetik sendromlu hastalarda diyabet tesbit edilmiştir [1].

2.1.5.5 Prediyabet

Prediabetli bireyler diyabet kriterlerini karşılamamakla beraber gelecekte Tip 2 diyabet gelişme riski yüksektir. ADA uzmanlar komitesine göre bireyler bozulmuş açlık plazma glikozuna sahipse, açlık Plazma glukozu seviyeleri 100-125 mg/dl (5.6-6.9 mmol/l) veya bozulmuş glukoz tolerans testi (IGT) ile oral glukoz tolerans testinde 2 saatlik plazma glikoz seviyeleri (OGTT) 140-199 mg/dL (7.8-11.0 mmol / L) bulgulanırsa prediabetten söz edilebilir. Dünya Sağlık Örgütü, (WHO) IFG aralığını 110-125 mg/dl (6.1-6.9 mmol /L) olarak düzeltmiştir. Prediabetin artmış kardiyovasküler mortalite ve kanser [89] ile ilişkili olduğu gösterilmiştir [87,88]. Prediabetin belirtilen cut-off düzeyleri ile tanımlanması, normal aralıkta daha düşük değerlerde glikoz düzeyleri devamlı glisemik risk perspektifi ile kardiyovasküler hastalıklarla ilişkili bulunduğundan yanıltıcıdır [90].

ADA'nın tavsiyesi doğrultusunda 2009 yılından bu yana diyabet teşhisi için hemogloblin-A1c (HbA1c) kullanılması önerilmektedir. ADA, HbA1c: (%5,7-6,4) seviyelerine prediabet teşhisi önermektedir [91].

IDF verilerine göre bozulmuş glukoz toleransına sahip birey sayısı 2013 yılında 316 milyon düzeyindedir. (Erişkinlerde küresel prevalans %6,9) Bunun 2030 yılında 471 milyona yükselmesi beklenmektedir [27]. Hastalık kontrol ve önleme merkezi tarafından 2014 yılında yayınlanan bir rapora göre 86 milyon Amerikalı (Her üç Amerikalıdan biri) prediabet tanımına uymaktadır [92]. En yüksek Prediabet prevalansına sahip ilk on ülkenin dördü orta doğu körfezi yani Arap devletlerinde bulunmaktadır. (Kuveyt, Katar, BAE ve Bahreyn %17,9, %17,1, %16,6 ve %16,3 sırayla) [27] Prediabet teşhisi konan insanların sayısı prediabet teşhisinde kullanılan yöntem ve ölçütlere göre değişmektedir. Tanımlanan prediabet hastalarının sayısı, IFG:100-125 mg/dL kriteri kullanıldığında, DSÖ (WHO) kriteri olan 110-125 mg/dl [93] ölçütüne göre 4-5 kat daha yüksek bir sayı elde edilir. Diyabet ve prediabet tanıları için HbA1c kriteri kullanıldığında PFG (APG) veya OGTT kullanan yöntemlere göre daha yüksek yüzdeler elde edilir [94-96]. Prediabet metabolik sendrom ile ilişkilidir ve obezite (özellikle abdominal veya visceral obezite), yüksek trigliserit, düşük HDL kolesterolü, hipertansiyon ile birlikte [97].

Prediabetik bireylerin hepsi gelecekte diyabet oluşturmaz. Egzersiz ve kilonun %5-10 oranında azaltılması diyabet gelişme riskini önemli ölçüde (%40-70) azaltır. [98] HbA1c değeri %6,0-6,5 olan bireylerin) beş yıl içinde diyabet gelişme riski HbA1c %5,5-6,0 olan kişilere oranla iki kat fazladır (%25-50) [99].

2.1.6 Gestasyonel Diyabet

Gebelik koşullarından kaynaklanan hiperglisemidir. Gebelik öncesi veya sırasında teşhis edilen Tip 2 diyabet veya gestasyonel diyabet formunda ve maternal, fetal ve neonatal olumsuz sonuçların riskinde artış söz konusudur. Gestasyonel diyabetli anneler ve bu annelerden doğan bebeklerde hayatın ilerleyen dönemlerinde diyabet gelişme riski yüksektir. Hamilelikte hiperglisemi, makrozomi, (Doğum kilosu $\geq 4,5$ kg) gebelik haftasına göre büyük bebekler, preeklampsi ve preterm doğum; sezaryen doğum riskinin artmasından sorumludur [127]. Obezite, kişisel gestasyonel diyabet öyküsü, diyabet aile öyküsü, anne yaşı, polikistik over sendromu, sedanter yaşam ve toksik faktörlere maruz kalma gestasyonel diyabet için risk faktörleridir [3]. Hamilelikten önce veya sonra Tip 2 diyabetin teşhis edilmesi daha önce bahsedilen kriterlere dayanmaktadır. Açlık plazma glikozu ≥ 126 mg/dl (7.0 mmol/L) veya 2 saatlik plazma glikozu ≥ 200 mg/dl (11.1 mmol/L) (75 gr oral glikoz yükünden sonra). Bununla birlikte gebelik haftası 24-28 haftalık daha önce diyabet tanısı konmamış gebe kadınlarda diyabet tanısı koymak için iki yaklaşım kullanılır. İlk yaklaşım uluslararası "Bir Adım" Uluslararası Diyabet ve Gebelik Çalışma Grubu Birliğinin (IADPSG) konsensüsü [128] ve yakın zamanda DSÖ [129] tarafından kabul edilip uyarlanan gestasyonel diyabet tanı metodu; FPG (APG) ≥ 92 mg/dl (5.1 mmol/L) 75 gr glukoz yükünden sonra 1.saat plazma glikozu ≥ 180 mg/dl (10.0 mmol/L) veya 75 gr glukoz yükünden sonraki 2.saat plazma glikozu ≥ 153 mg/dl (8.5 mmol/L) olmasıdır. Hiperglisemi ve olumsuz gebelik sonuçları (HAPO) çalışması sonuçlarına göre sürekli hiperglisemi ve kısa vadeli olumsuz gebelik sonuçları arasında eşik değer ile bağlantısız bir ilişki söz konusudur [127,130].

İkinci yaklaşım ise NIH tarafından önerilen ABD'nin de uyguladığı 'iki adım' konsensusudur [131]. İlk adım 50 gr glukoz yükünden sonra 1. Saatte ölçülen plazma glikozu ≥ 140 mg/dl (7.8 mmol/L) ikinci adım açlık koşullarında 100 gr glikoz yükünden sonra ilk aşamada anormal değerde glukozu olanlar gestasyonel diyabet tanısı alırlar.

Gestasyonel diyabet tanısı için dört plazma glikoz düzeyi olarak tanımlanan bileşenlerden en az ikisi karşılanmalıdır. Dört plazma glikoz seviyesi, olarak tanımlanan Carpenter/Coustan kriterleri:

- A) FPG ≥ 95 mg/dl (5.3 mmol/L)
- B) 1 saatlik ≥ 180 mg/dl (10.0 mmol/L)
- C) 2 saat ≥ 155 mg/dl (8.6 mmol/L) ve
- D) 3 saatlik ≥ 140 mg/dl (7.8 mmol/L) [1]

2.1.7 Diabet için Tanı Kriterleri

Diabetes mellitus FPG, OGTT veya HbA1c hangisi ile tanı konursa konsun, glikoz için cut-off değerlerinin tahmini APG veya HbA1c'nin retinopati ile ilişkisi baz alınarak hesaplanmıştır. Açlık plazma glikozu; (FPG) ≥ 126 mg/dl (7.0 mmol/L) postprandial 2 saat sonra plazma glikozu (2.saat OGTT) ≥ 200 mg/dl (11.1 mmol/L), HbA1c $\geq 6,5$ (48 mmol/mol) veya rastgele ölçülen plazma glukoz seviyesinin ≥ 200 mg/dl (11.1 mmol/L) olması ve hiperglisemi semptomlarının eşlik etmesi diabetes mellitusun tanı kriterleri aynı zamanda diabet tedavisi izlem göstergeleridir. Endokrin topluluğu, WHO, [102] birçok bilim adamı ve ilgili kuruluşlar bütün dünyada diabet tanısı için plazma HbA1c düzeyinin kullanılmasını önermektedir. Bu öneri 2009 yılında uluslararası uzman komitesi [100] ve ADA tarafından onaylanmıştır [101]. Diabet teşhisi için kullanılan farklı testlerin avantaj ve dezavantajları yapılan çalışmalarda belgelendirilmiştir [103]. Diabet tanısında HbA1c düzeyini kullanmak, açlık plazma glukozuna göre daha fazla kolaylık, preanalitik stabilite sağlar. Bunun yanısıra OGTT 2 saat sonraki plazma değerlerinin mikrovasküler sistemle, komplikasyonlar, özellikle retinopati ile daha güçlü korelasyonu vardır. Diabet tanısı ile komplikasyonlar arasında doğrudan bağlantısı olan glisemik kontrol ve proteinlerin glikozilasyonu için bir marker gibi görev görür [104-109]. Asemptomatik hastalarda iki hafta içinde HbA1c testinin tekrarlanması önerilir [110]. HbA1c için cut-off değeri $\geq 6,5$ (48 mmol /mol) birçok ülke tarafından kabul edilmiştir. HbA1c cut-off değeri için birçok ülkede ve farklı etnik gruplarda yapılan çalışmalarda belirlemelere gidilmiş ve etnik kökenin diyabet teşhisi için kullanılan cut-off değerini etkilediği görülmüştür. Japonya'da yapılan bir çalışmada diabet teşhisi için belirlenen cut-off değeri $5,5$ (37 mmol/mol) [111-113] başka bir çalışmada $6,5$ (48 mmol/mol) olarak bildirilmiştir [114]. Amerika Halk Sağlığı biriminin yaptığı çalışmada $6,0$ (42 mmol/mol) beslenme inceleme anketi (NHANES III) sonuçlarında $6,2$ (44 mmol/mol Pima Indian çalışmasında) Mısır'da yapılan çalışmada sonuç $6,3$ (45 mmol/mol) olarak bildirilmiştir [105]. Çin'de yapılan çalışmalarda üç cut-off değeri rapor edilmiş [112]. Avustralyalılar iki cut-off değerinin kullanılmasını önermişlerdir; $\leq 5,5$ ila "eksik" ve $\geq 7,0$ ila % "Kuralsız"

diyabet hastalığı [115]. Diabet ve prediabette etnisiteye bağlı prevalansdaki değişiklikler belgelenmiştir [94,116-120].

2.1.8 Diabet ve Genetik

Diabet değinildiği gibi genetik ve çevresel faktörlerin etkilediği geniş bir alanı kapsayan kompleks bir hastalıktır. Yakın zamanda diabetin gelişmesinde ve moleküler mekanizmasında rol oynayan geniş gen spektrumunun aydınlatılması için birçok çalışma yapıldı [142-144]. Bununla birlikte genetik bilimindeki geniş çalışmalar ve bulguların yanısıra gen mutasyonlarının, tek nükleotid polimorfizmlerinin (SNP) tanımlanması ve kan şekeri seviyelerini etkileyen metabolik yolların aydınlatılmasına rağmen, diabetin kesin genetik mekanizması tam olarak aydınlatılmış değildir [145,146].

Majör handikaplardan biri de tek gen mutasyonu veya polimorfizminin farklı bireylerde aynı etkiyi meydana getirmemesidir. Bu varyasyon doğrudan veya dolaylı olarak bireyin genel genetik arka planı, bireysel, ailesel veya potansiyel olarak daha komplike yüksek değişkenli çevresel etmenler ve modifiye edici faktörlerle etkileşimlere bağlıdır [147,148].

2.1.8.1 Tip 2 Diabetin Moleküler Genetiği

Biyomedikal araştırmanın temel odak noktalarından biri de diabet gelişiminde insan genomundaki kollektif ve geniş genetik değişkenleri tanımlamak ile ilgilidir. Bu çaba tüm popülasyonda ve farklı etnik grupların bireyleri arasında Tip 1, Tip 2 ve monogenik neonatal diabet gibi hastalığın farklı şekillerinin moleküler genetiğini anlamak için bizlere gerekli bilgi sunar.

Linkaj ve assosiasyon çalışmaları sayesinde Tip 2 diyabet ile ilişkili birçok aday gen için tanımlama ve karakterizasyon sağlandı [144,149,150]. Ancak bu genlerin hepsi diyabet ile ilgili tutarlı ve yeniden aynı sonucu üretebilme ilişkisi göstermiyor [151]. Geniş çaplı assosiasyon çalışmaları ile (GWAS) çeşitli popülasyonlarda Tip 2 diyabet ile ilişkili genom üzerinde 70 lokus tespit edilmiştir. Birçok mutasyon ve SNP sonucunda ilgili proteinlerin ekspresyonu ve fizyolojik etkileri Tip 2 diyabet gelişme riski ile pozitif ilişkili bulunmuştur.

İngiltere’de yapılan ve binlerce Tip 2 diyabet hastası ve kontrol grubu içeren bir çalışma, CDKAL1, CDKN2A/B, HHEX/IDE ve SLC30A8 genlerinin içinde ve çevresinde diabetle ilişkili varsayılan bazı gen lokuslarının tanımlanmasına yardımcı oldu. Buna ek olarak diabetin gelişiminde çok sayıda diğer genetik varyantların da katkısı ve rolü vardır [152].

Finlandiya, İsveç ve ABD popülasyonunda yapılan benzer çalışmalar benzer tek nükleotid varyantlarının tanımlanmasıyla sonuçlandı [153]. Bunlar Tip 2 diyabet hastalığı ile bağlantılıdır [154,155].

SNP'ler IGFBP2, CDKAL1 ve diğer birkaç aday gen buna ek olarak genin yakınında veya içinde bulunan bazı varyant genler Tip 2 diyabet ile çok sıkı ilişki içerisindedir. Diğer GWAS analiz çalışmalarında Çin, Malezya ve Asya-Hint gibi bölgelerdeki popülasyondan alınan verilerin Avrupa ve ABD popülasyonlarından farklı olarak meta-analizine gidilmiş ortaya çıkan sonuçlar Avrupa ve Amerika'da yapılan çalışmalarla benzer çıkmıştır [156]. Birleştirilmiş analizin sonuçlarına göre SNP'lerin DKAL1, CDKN2A/B, HHEX, KCNQ1 ve SLC30A8 genleri ile belirgin bir şekilde ilişkili olduğu görülmüştür. Daha yakın zamanda, Afro-Amerikan Tip 2 diyabet hastalarını içeren GWAS meta-analiz verilerinde de benzer lokuslar tanımlanmış, HLA-B ve INS-IGF olmak üzere iki yeni loci bunlara eklenmiştir [157].

Bu sonuçlar ortak genetik determinantlar ve spesifik genlerin diabet ile bağlantılı olduğunun güçlü kanıtıdır. Tip 2 diabet gelişme riski ile kuvvetli ilişkili TCF7L2 [158] ve CAPN10 genlerini de içeren spesifik genetik markerlar [159,160] diabetin patogeneğinde önemli bir rol oynar [158,159].

TCF7L2 gen varyantlarının Tip 2 diabet ile bağlantısı ve hareket mekanizması bazı araştırmacıların özel bir dikkatini çekmiştir [161,162]. Bu gen proteininin aşırı sentezlenmesinin β -adacık hücrelerinde insülin sekresyonu için gerekli duyarlılığı azalttığı gösterilmiştir [165]. TCF7L2'nin insülin sekresyonunda rolü vardır [166]. Beta hücrelerinin inkretinlere duyarlılığını azaltarak inkretinlerin insülin sekresyonuna etkisinde değişiklik meydana getirirler.

Bazı genlerin spesifik bir SNP ile beraber bir hematopoetik olarak ifade edilen homeobox (HHEX) geni ile Tip 2 diabet gelişim riski belirgin bir şekilde ilişkili olduğu bulunmuştur [167]. Adacık çinko taşıyıcı protein (SLC30A8) Tip 2 diyabet gelişim riski ile pozitif korelasyon gösterir [168]. Daha yakın zamanlarda HNF1A'nın düşük frekanslı bir varyantı 'Tüm exom sekanslama' yöntemi ile tanımlandı ve diabet gelişme riski ile ilişkili olduğu bulgulandı. Bunun diabette tarama testi olarak potansiyel bir değer taşıyıp taşımadığına yönelik çalışmalar devam ediyor [170].

Genetik varyasyonlar, interlökin ve ilişkili genlerdeki (interlukin-6, tümör nekrozu faktör- α ve IL-10 genleri) kombine spesifik polimorfizmler, Tip 2 diabet gelişme riski ile

ilişkili bulunmuştur [171]. Bunlara IL12B, IL23R ve IL23A genlerindeki genetik varyasyonlar da eklenebilir [172].

Bazı çalışmalarda adipoz dokuda lipolizden sorumlu hormona duyarlı lipazın mutasyonları sonucu (delesyon) adipositlerden salgılanan proteinlerin üretimi etkileyerek metabolik sendromla ilişkili olduğu bildirilmiştir [173]. Peroksizom proliferatör aktiveleştirilmiş reseptör gama (PPAR- γ) geninde görülen dokuz spesifik ve seyrek varyasyon ile meydana gelen adiposit farklılaşmasından görevli proteinin fonksiyon kaybı, Tip 2 diabetes gelişme riski ile ilişkilidir [174]. Ek olarak Alfa2A adrenerjik reseptör genindeki (ADRA2A) bazı SNP'ler, sempatik sinir sistemi kontrollü insülin sekresyonu ve lipolizin sistem kontrolü, obezite ve Tip 2 diabetes ile ilişkili bulunmuştur [175]. Melatonin-reseptör-geni MT2 (MTNR1B arasındaki bağlantı analizi) bir G-proteini bağlantılı reseptördür. Exome sekanslama yöntemi ile ortaya çıkarılmış 40 bilinen varyantın, 14'ünde Tip 2 diyabetle pozitif ilişki gösterilmiştir [176].

Önemli metabolik fonksiyonlar sonucu meydana gelen spesifik reaktif metabolitlerin üretilmesi; lipidleri, proteinleri ve diğer biyolojik bileşenleri etkileyen oksidatif stresin oluşumuna ve birçok organ ve dokunun ciddi hasar görmesine yol açar.

Süperoksit dismutaz, katalaz, glutatyon peroksidaz gibi antioksidan genlerdeki mutasyonlar ve SNP'ler bu enzimlerin aktivitesinde düşme yaparak Tip 2 diabetesin patogenezinde etkili olurlar [180].

2.1.8.2 Tip 1 Diabetesin Moleküler Genetiği

Tip 1 diabetes temel olarak pankreatik Beta-hücrelerinin tahribi ile sonuçlanan otoimmün bir hastalık olarak tanımlanmakla beraber tek gen mutasyonu ve SNP'lerin de bu hastalığa karşı kişisel duyarlılığın oluşması yönünden ilişkili olduğu ortaya çıkmıştır. İlk başlarda iki gende oluşan mutasyonların Tip 1 diabetes gelişimi ile bağlantılı olduğu keşfedildi. Otoimmün regülatör gen (AIRE) kendi antijenlerine karşı immün toleransı etkiler ve bozukluğunda otoimmüniteye yol açar [182]. FOXP3 geni bu gen de defektif regülatör-T-hücrelerine neden olur [183]. Buna ek olarak histon deasetilaz (SIRT1) genindeki bir mutasyon ağırlıklı olarak Beta-hücrelerinde eksprese edilir ve insülin sekresyonunun düzenlenmesinde yer alır [184]. Bu Tip 1 diabetes hastalarında tesbit edilen bir genidir [186]. Ayrıca periferik dokuların insüline duyarlılığını modüle eder [185].

Son zamanlarda ek mutasyonlar ve CTLA-4 + 49A/G ve HLA-DQB1 ve VNTR allellerinin INS genlerinde meydana gelen SNP'lerin de Tip 1 ile ilişkili olduğu bulunmuştur.

Latent otoimmün Tip 1 ve Tip 2 diabeti ayırtetme konusunda bilgi verir [187]. HLA-DQB1, HLA-DR allelleri ile birlikteliği ve PTPN22 geninde polimorfizm yaş başlangıcı olarak geç tip Tip 1 diabet ile ilişkili görülmüştür [188,189].

Makrofajlarda eksprese edilen bir transmenbran proteinin (DCSIGN) promotör bölgesinin gen ekspresyonunun, T hücre aktivasyonu ve inflamasyonu için önemli rolü vardır ve Tip 1 diyabete karşı koruyucu özellikte olduğu bulunmuştur [190]. Yenilikçi bir non-parametrik SNP zenginleştirme aracı GWAS-DATA kullanılarak, birkaç transkripsiyon faktörü ile Tip 1 diabet hastalığı arasındaki ilişkiyi aydınlatmakta faydalı olmuştur [191]. Dokuz SNP varyantı ve birkaç genin Tip 1 diabet ile ilişkisi tesbit edilmiştir. Kromozom 16 üzerindeki CLEC16A geninde bir bölgede birkaç yeni SNP ile Tip 1 diabet arsında ilişki olduğu gösterilmiştir [193]. İnsan genomunda kırkın üzerinde bölgenin Tip 1 diyabet için duyarlılıkla ilişkili oldukları belirlendi [194-196]. Seçilmiş genlerdeki SNP'ler kullanılarak ağırlıklı bir risk modeli geliştirildi. Bunlar bebeklerin Tip 1 diyabet gelişimine duyarlılığını test etmek için belirteçler olarak veya küçük çocuklarda, hastalığın önlenmesine yönelik ilerde kullanılabilir [197].

2.1.8.3 Monogenik Diabetin Moleküler Genetiği

Diabet hastalarının yaklaşık %2-5'inde monogenik diyabetin gelişiminde rolü olan geniş bir gen dizisi tanımlanmış bulunmaktadır [80]. Monogenik diabet, esasen β -hücre sayısını veya işlevini düşüren gen kusurlarından kaynaklanmaktadır.

Monogenik diabet genleri, glukoz homeostazını doğrudan etkileyen linkaj ya da protein kodlarını belirleme çalışmaları kullanılarak tanımlandı. Monogenik diabetten sorumlu genlerin çoğunluğu ya nükleer genin kontrolünde rol alan transkripsiyon faktörlerinin ekspresyonu, hücre membranı üzerindeki veya sitoplazma, endoplazmik retikulum, insülin sentezi ve sekresyonunda rol oynayan proteinler, ekzokrin pankreatik proteinler ve otoimmün diabet proteinleri gibi geniş bir yelpazede kodlama yapılar [80].

Bu proteinlerin kollektif fonksiyonu farklı derecelerde glukoz metabolizmasına katılımlarıdır. Bu genlerde meydana gelen yapısal veya işlevsel moleküler defektler plazma glukoz düzeyinin bozulması ile sonuçlanır. Bu diyabetin primer patolojik işaretidir. Monogenik diyabetle ilişkili olan ilk gen glikokinaz (GCK) genidir [198]. Kan glikozu için pankreas sensörü olarak işlev görür. Bu genin etkinliğini değiştiren yetmiş aşkın mutasyon belirlenmiştir [199].

GCK gen mutasyonları üzerine yapılan son çalışma bu genin, yenidoğan ve çocukluk çağı diyabeti için nedensellik teşkil ettiğini gösterdi. Bu mutasyonların birçoğu proteinin instabil özelliğinden dolayı enzim fonksiyonu kaybına sebep oluyor [148,150].

İki HNF4A ve HNF1A transkripsiyon faktörlerini kodlayan hepatosit nükleer faktör genleri MODY1 ve MODY2 ile yakından ilişkilidir [148,149]. Monogenik diyabet ile ilgili tanımlanan veya gözden kaçan bütün genler aynı zamanda Tip 1 ve Tip 2 diyabetin genetik belirleyicileridir. Bu konu daha fazla çalışma gerektirmektedir.

2.1.9 Diyabet Komplikasyonlarının Moleküler Genetiği

Diyabetin genetik determinantlarına ek olarak birkaç gen mutasyonu ve polimorfizmin diyabetin klinik komplikasyonları ile bağlantılı olduğu görülmüştür. Diyabetik hastalar hakkında kümülatif veriler, mikro ve makrovasküler komplikasyonların çeşitliliği çeşitli komplikasyonların gelişmesinde genetik faktörlerin varlığını destekleyen bulgulardır [200]. Diyabetik komplikasyonlarla ilişkili olduğu rapor edilen bazı genler; nefropati ile ilişkili genler ACE ve AKR1B1, retinopatide VEGF ve AKRB1 ve kardiyovasküler hastalıklarda ADIPOQ ve GLUL şeklinde sunulabilir [200].

Çin'li hastalarda yapılan bir araştırmada düz kas aktininin, promotor genindeki (ACTA2) tek nükleotid polimorfizmi, (SNP) Tip 2 diyabet hastalarında koroner arter stenozu ile ilişkilendirilmiştir [201]. GWAS çalışmalarında elde edilen veriler sonucu Alfa-kinaz-1 geni (ALPK1), kronik böbrek hastalığına yönelik bir duyarlılık geni olarak tanımlanmıştır. [202]

Tip2 diyabet hastalarında üç gen, diyabetik retinopati (DR) riski ile kuvvetle ilişkili bulunmuştur. Bunlar; vasküler endotelial growth faktör (VEGF), aldoz redüktaz (AR) ve ileri glikasyon ürünleri gen reseptörleri (AGERS) genleridir [203,204]. Bu genlerdeki spesifik polimorfizmler diyabet hastalarında DR gelişme riskini artırır [204]. Diyabetli hastalarda alınan örneklerde vitreusu karakterize eden proteomda komplikasyonsuz diyabet hastalarına ve kontrol bireylerine kıyasla önemli oranda fark görülmüştür (252 proteinden 56 adete düşmüştür) [205].

Bu proteinlerin büyük bir kısmı (30 protein), kallikrein-kinine, koagülasyon ve kompleman sistemleri, kompleman C3, kompleman-faktör-1, protrombin, alfa-1-antitripsin ve antithrombin-III gibi proteinlerdir ve diyabetik retinopatili hastalarda yüksek görülmüştür [205]. Ek olarak insanlarda 2 tek nükleotid polimorfizmi ile ilgili B7-I geninin diyabetik nefropatide podosit hasarına aracılık ettiği sanılıyor [206]. Ayrıca, artan B7-1 gen ligandı konsantrasyonu

diabet hastalarında son dönem böbrek yetmezliğinin ilerlemesi (ESRD) ile ilişkilidir [206]. Bu sonuçlar gösteriyor ki B7-I inhibisyonu diabetik nefropatinin önlenmesi ve tedavisi için potansiyel hedef olarak kullanılabilir. Son zamanlarda Amerikan yerli hastalarda yapılan çalışmada TNF-1 ve 2 nin dolaşımdaki seviyeleri ile ESRD arasında doğrudan korelasyonun olduğu gösterilmiştir [207].

Diabet ve uygun kemik gelişimi arasındaki bağlantı açıktır. hayvan modellerinde osteoprogenitor hücrelerdeki reseptörlerin (IR) azaltılması sonucu ince ve kırık riski yüksek zayıf kemikler gelişmiştir [208]. Benzer bulgular hayvan modellerinde kemik spesifik insülin reseptörden (IR) yoksun bırakılmış hayvanlarda gözlenlenmiştir. Bu bulgular kemiklerin doğru gelişmesinde de insülinin merkezi rolüne ışık tutar [208].

Tip 2 diabet aynı zamanda yağ dokusunda mitokondrial disfonksiyonla ilişkilidir. Spesifik mitokondrial genlerden yoksun bırakılmış özel hayvan modellerinde anahtar elektron taşıma kompleksleri sekresyonunda anlamlı azalmaya yol açmış ve sonunda adipositlerin ölümü gerçekleşmiştir [209].

2.2 DİABETİK NEFROPATİ (DN)

Diabetik nefropati, (DN) Türkiye’de ve dünyada son dönem böbrek yetmezliğinin en sık nedenidir. Uzun süreli hiperglisemiye maruz kalan kişilerde, glomerüler ve tübülointersitisyel lezyonlar oluşur. DN, klinik olarak albuminüri ve glomerüler filtrasyon hızında (GFR) düşüş ile kendisini gösterir.

Diyabetik nefropati (DN) gelişiminde ilk zamanlar, hemodinamik faktörlere daha çok önem verilmiştir. Renal hiperperfüzyon, intraglomerüler hipertansiyon ve glomerüler hiperfiltrasyon gibi hemodinamik faktörlerin DN patogenezinde önemli bir yere sahip olduğunu gösteren çok sayıda güçlü kanıt mevcuttur. Hemodinamik etkinlik vazodilatör elementlerin ekspresyonunda artış; histamin, bradikinin, NO ve PG, vasokonstrüktör faktörler, ATII ve PKC bezeri sinyal yolu ile transkripsiyon faktörlerinin aktivasyonu, endotelin-1 oluşumu, ayrıca glomeruler filtrasyon hızını kontrol altına alan juxtaglomeruler aparat güvenlik sistemi, juxtaglomeruler hücrelerden üretilen reninin oluşmasıyla başlayan RAAS aktivasyon süreci ayrıca distal tubule yerleşik makula densanın tübüler Na duyarlılığı ile glomeruler akım üzerinde kontrol edici etkisi gibi çok sayıda faktörlerle meydana gelen patolojik değişikliğin yanısıra yapısal ve işlevsel bozukluklar, DN gelişiminde, ilerlemesinde hemodinamik olarak önemli etki yaratır. Saydığımız bu öğeler DN gelişimi üzerinde etkili

hemodinamik faktörleri özetler. Bunlar DN gelişiminde metabolik faktörlerden ayrı olarak önemli bir role sahiptir. Glomerüler süreç içinde hemodinamik faktörlerin diğer metabolik yollar ve diğer faktörlerle etkileşimi ile patogeneze şiddetlenir ve tablo hızlanır.

Hiperglisemik doku hasarı, glukolizin ilerleyen basamaklarında meydana gelen enzim defektleri ve enzim inhibisyonları sonucunda (AGEs, ROS vb.) meydana gelen metabolik yollardaki patolojiler sonucu oluşur. DN patogenezinde rolü olan bu bozukluklar önemli oranda oksidatif stres artışından kaynaklanır. Aşırı reaktif oksijen metabolitlerinin (ROS) üretimi, glikolitik yolaktaki gliseraldehit-3-fosfat dehidrogenaz (GAPDH) enziminin yapısını bozar ve ara metabolitlerin birikimine, bu metabolitlerin farklı yollara yönelmesine neden olur. Poliol yolağında glukozdan, aldoz redüktaz enzimi yoluyla aşırı miktarda sorbitol oluşur bu basamakta kofaktör olarak ROS redüksiyonunda görev alan antioksidasyonun önemli molekülü NADPH kullanılır. NADPH bu yolla önemli oranda tüketilir. Fruktoz-6-fosfattan da Glutamine: fructose-6-phosphate amidotransferaz (GFAT) enzimi aracılığıyla glukozaminler oluşur. (AGE: advanced glycolytic end products) Gliseraldehit-3-fosfat basamağını bir sonraki basamaga (1,3 bifosfogliserat) bağlayan GAPDH enzimi çeşitli yollarla (AGE, ROS vb.) inaktif olduğundan poliol, heksozaminidaz ve protein kinaz-C yolağı aşırı aktive olur. Biriken metabolitler, az önce bahsedilen yolların aktivitesinde artışa yol açar. DN gelişim ve progresyonunda bir çok sayıda yol ve molekül rol alır. Reaktif oksijen metabolitleri ileri glikasyon son ürünlerini (AGE) oluşturur, bu da PKC yolağını aktive ederek, (VEGF, TGF-B) growth hormonları aktive eder. Angiogeneze ve hücre büyümesi bu şekilde aktive edilmiş olur.

İleri seviye glikasyon ürünleri (AGE) intrasellüler sinyal aktivasyonu (PKC, NF-KB) yaparak transkripsiyonu tetikler. İnflammatuar sitokinlerin (IL1,6,8,18, TNF-A, JAK-2, STAT-1,3,5) ve growth faktörlerin oluşumunu artırır. (VEGF, TGF-B, TCGF) Hiperglisemi sonucunda oluşan aşırı sitosolik glikoliz ve mitokondrial krebs döngüsü aktivasyonu sonucunda aşırı ROS oluşur. Bu da oksidatif stresi derinleştirir ve glomerulo-tubuler patoloji ilerler. Bu etkilerin sonucunda glomeruler filtrasyon bariyerini oluşturan GBM, glomeruler kapiller endotel hücreleri, podosit ayakları ve podosit gövdeleri; sürekli ve çok yönlü hasara uğrar. Bunun sonucunda filtrasyon bariyeri yozlaşarak seçici filtrasyon işlevini tam yerine getiremez ve albüminüri söz konusu olur.

Bu süregelen tahrip ve yozlaşma sırasıyla glomeruler arteriolar hyalinizasyon, yine değinildiği gibi ekstracellüler matrix ve kollajen elementlerinin birikimi sonucu GBM kalınlaşması, mesangial dilatasyon, hipertrofi, glomeruler kollajen birikimi, podosit ayak kaybı ve effasmanı, intersitisyel fibroz ve tübüler atrofi, inflammatuar reseptörlerin ve sitokinlerin

aktivasyonu sonucunda fibroblast ve myofibroblastların aktivasyonu, inflamatuvar hücrelerin intraglomeruler alana yoğun migrasyonu ve bunların sonucunda meydana gelen fibrotik ve sklerotik oluşumlar ve elementler. Sonunda ileri evre diabetik nefropatide de nodüler glomeruloskleroz, diffüz glomeruloskleroz neticede global glomeruloskleroz ve işlev dışı kalmış, atubuler glomerüllerle karakterizasyon meydana gelir.

DN patogenezi gelişimi, transkripsiyon faktörlerinin aktivasyonu ile (NFkB, PKC yoluyla) adhezyon molekülleri ICAM1, VCAM1, E-selectin lezyonları, adipokin dengesizliği adiponektinin azalması, leptinin artışı, nükleer reseptörlerin (VDR, PPAR-alfa, gama, delta) aktivasyonu ve metabolik etkileri, TLR, NLR, kemokinler ve yukarıda değinildiği gibi oksijen ürünlerinin (ROS) aşırı birikimi ile mevcut antioksidanların bunları elimine etmede yetersiz kalmaları NADPH'nin sorbitol üretimi için poliol yolağında ve diğer yollarda tüketilmesi, SOD ve katalazın yetersiz kalması glutatyon peroxidazın redükte edilememesi ve bunun sonucunda ROS elementlerinin sürekli birikimi sonucunda hücre ve hücrenin metabolik yollarında meydana gelen tahribatlar, işlev bozuklukları ve sürekli olarak bu durumun derinleşmesi ve glomeruler kapiller, mesangial, glomeruler basal membran, endotelial, epitelyal (podosit) ve tubuler elementlerin tahribatının sürekli ilerlemesi sonucunda tam olarak ifadesini bulur.

DN glukoz homeostazındaki dengesizlikten kaynaklanır. fakat bu dengesizlik tek başına bunu ifade etmede yeterli değildir. Kişide genetik yatkınlık da önemlidir. Tip 1 diyabet ve Tip 2 diyabetin kendilerine has özelliklere sahip olduğu, dolayısıyla DN'ye yol açan patofizyolojik mekanizmaların ayrı olabileceği düşüncesi ileri sürülmüştür. Fakat nefropati ile sonuçlanan sürecin temel özelliklerinin her iki hastalıkta da benzer olduğu genel kabul görmektedir (210). DN, hemen her zaman klinik bir tanıdır. Tipik DN tanısı için, diyabet zemininde albuminüri ile birlikte diyabetik retinopati olması ve albuminüri nedeni olabilecek alternatif bir tanıya ait klinik veya laboratuvar ipucu olmaması yeterlidir. Süreklilik gösteren albuminüri, (>300 mg/24 saat) DN için ayırıcı özelliktir. Mikroalbuminüri, DN tanısı için kabul edilmiş bir kriter değildir (211). DN yukarıda belirtilen kriterlere ek olarak; arteriyel kan basıncı yükselmesi, kardiyovasküler morbidite ve mortalite artışı ve glomerüler filtrasyon hızı (GFR) düşüşüyle karakterize klinik bir sendrom olarak da tanımlanmıştır (211). DN, renal korpüskülün tüm bileşenlerini içeren bir hastalıktır. Histopatolojik olarak glomerül bazal membran (GBM) ve tübüler bazal membran (TBM) kalınlaşmaları ile başlayıp mezengial ve interstisyel alanlarda ekstrasellüler matriks artışı ile devam eden, Kimmelstiel-Wilson nodülleri, segmental, diffüz

glomerüler skleroz, tübüler atrofi, atübüler glomerüller ve arteriollerde hiyalinosis gibi bulgularla kendini ortaya koyan bir süreçtir. Sürecin başlangıç safhasında böbreklerde meydana gelen bozukluklarda, glomerüler olaylar belirleyici role sahiptir ancak böbrek yetmezliği oluşuktan sonra, fonksiyonların kötüleşmesinde interstisyel bozukluklar daha belirleyici olmaktadır (211).

Neredeyse sayısız deneysel bulgunun olduğu bu alanda, oksidatif stres, podosit ve vasküler endotelyal büyüme faktörünü [vascular endothelial growth factor (VEGF)] merkeze alarak bulguları birleştirmeye çalışan teoriler ileri sürülmektedir.

DN beş temel döneme ayrılır.

- 1-Hiperfiltrasyon dönemi
- 2-Sessiz klinik dönem
- 3-Mikroalbüminüri evresi
- 4-Makroalbüminüri evresi
- 5-İlerleyici nefropati ve son dönem böbrek yetmezliği (SDBY)

2.2.1 DN Epidemiyoloji ve Risk Faktörleri

Tüm dünyada yaklaşık 200 milyon diyabetik hasta olduğu tahmin edilmektedir. Amerika Birleşik Devletlerinde toplam nüfusun yaklaşık %6'sı diyabetiktir, fakat toplum nüfusunun önemli bir kısmının da diyabetik olduğu halde, henüz tanı almadığı bilinmektedir (210). ABD verilerine göre, T1D hastalarının yaklaşık üçte birinde 20 yıl içinde nefropati gelişmektedir (212). DN gelişiminde, eski yıllara göre bir azalma eğilimi olduğu rapor edilmiştir (213). T1D hastalarında 10 yıldan önce DN gelişimi nadirdir, buna karşılık T2D tanısı anında %3 oranında DN vardır. Otuz yıl içinde DN gelişmeyen hastalarda daha sonraki dönemde nefropati gelişme riski düşüktür (%1 civarında) (211). Proteinüri nedeni ile böbrek biyopsisi yapılmış bir grup T2D hastasının %25'inde diyabet ile ilişkili olmayan glomerülopatiler tespit edilmiştir (214). Türkiye'de DN, SDBY'nin en sık nedenidir. 2014 yılı kayıtlarına göre hemodiyaliz tedavisi almakta olan tüm erişkin hastalar içinde diyabetik olanların oranı %39,3 olarak bildirilmiştir (T1DM: %11,21; T2DM: 28,10) (215). On sekiz yaş üstü erişkinlerde yapılan CREDIT çalışmasında DN prevalansı net olarak bildirilmemekle birlikte, diyabet oranı tüm grupta %12,7; kronik böbrek hastalığı olan alt grupta %26,6; kronik

böbrek hastalığı olmayan alt grupta ise %10,1 olarak bildirilmiştir. Diyabetik olanların %32,7'sinde, diyabetik olmayanların %13'ünde kronik böbrek hastalığı tespit edilmiştir. Böbrek yetmezliği diyaliz aşamasında olan grupta diyabetik hasta oranı %45,5 bulunmuştur (216).

Risk faktörleri

İnsülin rezistansı, hiperglisemi, hiperlipidemi, hipertansiyon, obezite, genetik, sigara, etnik köken, erkek cinsiyet, yaş

2.2.2 Diabetik Nefropati Patogenezi

2.2.2.1 DN Genetik Temeli

Diyabetin mikrovasküler ve makrovasküler komplikasyonlarının belli ailelerde kümelenmesi, güçlü bir genetik zeminin varlığına işaret etmektedir. T1D hastalarında yapılan bir konkordans çalışmasında, bir kardeşte (proband) DN olması durumunda, diğerlerinde DN riski %71,5; buna karşılık kardeşlerinde (proband) DN yok ise diğerlerindeki DN riski %25,4 olarak bulunmuştur (217). Günümüze kadar DN hastalarında sıklığı artmış en az 24 gene ait 21 varyant tespit edilmiştir. Fakat genetik çalışmalar, şimdiye kadar ne tedavide hedeflenebilir net bir bozukluk ne de patogeneze dair net bir açıklama ortaya çıkarabilmiştir. Az önce de belirtildiği gibi, bulgular daha çok DN ile aday genlerin birlikte bulunma sıklığını yansıtmaktadır (218).

2.2.2.2 DN Epigenetik Olaylar

Gen ekspresyonu üzerindeki kontrol mekanizmalarından biri epigenetik kontroldür. Buradaki kontrolün özelliği, genetik şifre düzeyinde değişiklik olmadan gen ekspresyonunun değişmesidir. Çeşitli sinyaller doğrultusunda, genler aktif veya inaktif hâle gelebilir. Epigenetik kontrol DNA metilasyonu, histon asetilasyonu veya fosforilasyonu biçiminde gerçekleşebilmektedir. Hem DNA metilasyonu hem de histon modifikasyonu diyabette gösterilmiştir. Histon deasetilaz inhibitörlerinin, fibroz oluşumunda çok önemli bir role sahip

olan transforming growth factor-beta'nın (TGF- β) profibrotik etkilerini bloke edebildiği gösterilmiştir (219,220).

2.2.2.3 MikroRNA'ların Etkileri

Son yıllarda, miRNA araştırması büyük bir alan olarak ortaya çıkmaktadır. MikroRNA, protein kodlamayan, fakat gen ekspresyonunu düzenleyen gen etkilerini değiştiren RNA fragmanlarıdır. Messenger RNA translasyonunu inhibe ederek gen ekspresyonunu regüle ederler. MiR-29 ve miR-200a; DN patogenezinde yer alan süreçlerle bağlantılı miRNA'lardır. Örneğin, NRK-52E hücrelerinde mikroRNA-29 (miR-29) ekspresyonu TGF- β 1 tedavisi ile azaltılabilir. MiR-29'un ektopik ekspresyonu kollajenlerin I, III, IV ve artmış E-cadherin ekspresyonunu baskılamaktadır (217). NRK-52E hücrelerinde, miR-200a'nın TGF- β 1 ve TGF- β 2 tarafından bastırıldığı bulgulanmıştır.

MiR-200a tarafından smad-3 un downregülasyonu, kolajen I-IV ve fibronektin de dahil olmak üzere çeşitli matriks proteinlerinin azalmış ekspresyonu, E-cadherin, çinko parmak E-box binding-homeobox-1 ve 2'nin (ZEB1 ve ZEB2) ekspresyonunu artırırken α -SMA ekspresyonunu azaltır (318). Bu nedenle miR-29 ve miR-200a, TGF- β 1 sinyal yolunun fibroz gelişim sürecinde alt basamak medyatörleridir.

Diyabetik ratlarda mi-R192'nin etkinliğinin arttığı ve artmış etkinliğin de TGF- β etkisiyle kollajen birikimini kolaylaştırdığı gösterilmiştir. Diyabetik ratlarda mi-R216, mi-R377, mi-R23a ve mi-R21 ile ilgili çalışmalar vardır. Bu çalışmalar genellikle mi-R'lar ile TGF- β arasındaki etkileşimlere dairdir. Mi-R'lar ile süperoksit dismutaz (MnSOD) arasındaki bağlantıya dair yayınlar mevcuttur. Farklı olarak, mi-R93 ve mi-R29c fragmanlarının podosit ve endotel hücreleri üzerinde önemli etkileri olduğu bildirilmiştir (219).

2.2.2.4 Hemodinamik Değişiklikler

Glomerüler kapiller hemodinamik değişiklikler, diyabetik nefropatinin karakteristik bulgularındandır ve erken evrelerde görülür (210). Afferent arteriolde dilatasyon ve basınç artışına karşılık efferent arteriolde dilatasyon olmamasıyla karakterizedir. Afferent arteriol dilatasyonunda birçok vazoaaktif madde ve büyüme faktörlerinin rolü varsa da, en önemli

faktörün nitrik oksit (NO) sistemi olduğu düşünülmektedir (221). Diyabette, afferent arteriol seviyesinde otoregülasyon mekanizmasının bozulduğu da gösterilmiştir (222).

2.2.2.5 Renal Hipertrofi

Renal hipertrofi diyabetin erken safhalarında başlar ve hem mezangial hücre sayısında hem de kapiller hücre sayılarında artış görülür. Glomerüldeki büyüme daha çok hücresel hipertrofi ile olur fakat tübüllerde hem hipertrofi hem de proliferasyon görülür. Hayvan modellerinde hiperglisemi önlendiğinde hipertrofinin de önlenildiği gösterilmiştir. Glukozun, insulin-like growth factor (IGF-1), epidermal growth factor (EGF), TGF- β , AngII ve trombospondin aktivasyonu yoluyla renal hipertrofiye neden olduğu ileri sürülmektedir (223).

2.2.2.6 Glomerül Hacim ve Glomerül Sayısı

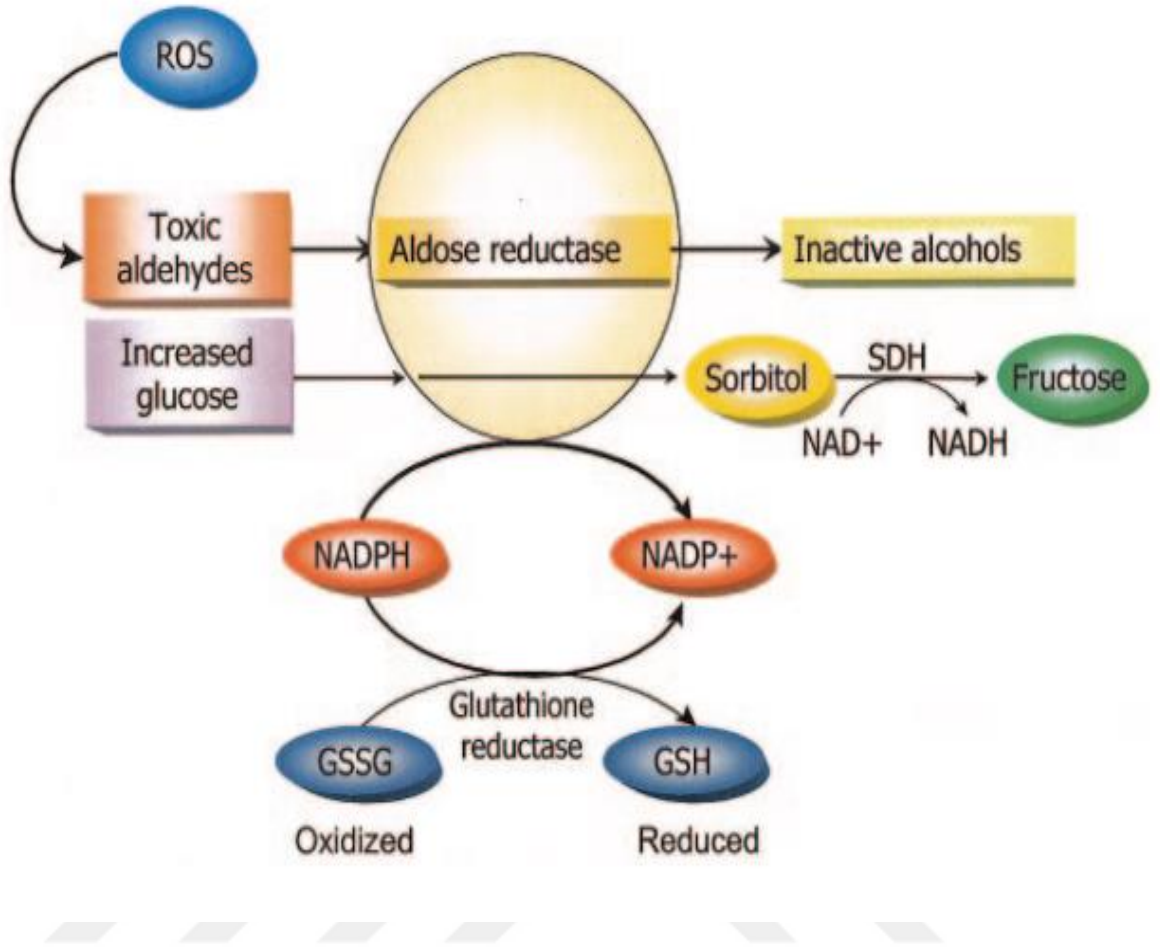
25 yılda DN gelişen T1D hastalarındaki ortalama glomerüler hacim, 15 yılda DN gelişenlere göre daha fazla bulunmuştur. Bir teoriye göre, mezangial alandaki genişlemeye uyumlu olarak glomerüler genişleme sağlayabilen glomerüller, fonksiyonunu daha uzun süre devam ettirebilirken volüm genişlemesi şeklinde uyum sağlayamayan glomerüllerde fonksiyonlar daha erken bitmektedir. Glomerül sayısındaki azalmanın başlangıç safhasında etkili olmadığı ve sadece DN tam olarak oluştuktan sonra fonksiyonların kötüleşmesinde rolü olduğu ileri sürülmüştür (211). Kronik hiperglisemi, DN'yi başlatan en önemli faktördür. Hipergliseminin derecesi ve süresi nefropati oluşumu ve progresyonunu etkiler. Diyabetik bir kişide tüm hücreler hiperglisemiye maruz kalır ama hücre hasarı sadece intrasellüler hiperglisemi gelişen hücrelerde olur. Rat mezangial hücrelerinde glukoz transporter [glucose transporter-1 (GLUT1) aşırı ekspresse edilirse, normoglisemik ortamda bile diyabet benzeri değişiklikler görülür. İntrasellüler hipergliseminin önemini gösteren başka bir bulgu da podositlerde GLUT4 delesyonu yapıldığı takdirde böbrekte diyabetik değişikliklerin olmamasıdır (224). Renal hücreler glukoz kullanmak için insüline ihtiyaç duymazlar. Özellikle mezangial hücrelerde, hiperglisemi durumunda taşıyıcı protein GLUT1 sentezi artar ve intrasellüler hiperglisemi olur. TGF- β , AngII ve kayma gerilmesi (shearstress); GLUT1 sentezini artırıp glukotoksisteye katkıda bulunurlar (210). Glukoz ve mikrovasküler

komplasyonlar konusunda ilgi çekici kavramlardan biri de “hiperglisemik hafıza” dır. Bu kavramın temelinde, kısaca söylemek gerekirse, “başlangıçtaki hiperglisemisi düzeltildikten sonra (posthiperglisemik normoglisemi) bile komplasyonlarda azalma olmaması veya başlangıçta normoglisemi sağlandıktan sonra hiperglisemi gelişse (postnormoglisemik hiperglisemi) bile komplasyonlarda artma olmaması” fenomenleri vardır. Hiperglisemik hafıza kavramına ilişkin deneysel ve klinik veriler bildirilmiştir (224). Hipergliseminin diyabetik mikrovasküler komplasyonların gelişiminde bir risk faktörü olduğuna şüphe yoktur (225). Glukoz hem doğrudan etkileriyle hem de poliöl, heksozamin, ileri glukozilasyon son ürünleri (AGE) ve protein kinaz-C (PKC) yollarını aktive ederek dolaylı bir biçimde de DN patogenezi etkiler. Glukoz metabolizmasındaki bu dört yolun başlatılmasında tetikleyici faktörün aşırı süperoksit üretimi (oksidatif stres) olduğu görüşü kuvvetli bir görüştür (226).

2.2.2.7 Metabolik Faktörler

2.2.2.7.1 Poliöl Yolağı

Piöl yolağı, aldoz redüktaz enzimi temeline dayalıdır. (Şekil 2) Aldo z redüktaz normal olarak hücredeki toksik aldehitleri azaltma ve inaktif alkollere dönüştürme işlevi görür ancak hücre içinde glukoz konsantrasyonu yükseldiğinde aldo z redüktaz glukozu, daha sonra fruktoza yükseltgenen sorbitole dönüştürölür. Yüksek intrasellöler glikozun, sorbitole indirgenmesi sürecinde aldo z redüktaz kofaktör olarak NADPH kullanır (365). (Şekil 2) NADPH aynı zamanda kritik bir hücre içi antioksidan olan redükte glutatyon rejenerasyonu için gerekli kofaktördür. Poliöl yolağı ile indirgenmiş glutatyonun azalması sonucunda hücre içi oksidatif stress artar. Yapılan bir çalışmada diyabetik köpekler 5 yıl boyunca aldo z redüktaz inhibitörü ile tedavi edilmiş ve bu köpeklerde sinir iletimi hızının zamanla azaldığı gözlemlenmiştir (366). Bu çalışmayla çelişen başka bir çalışmada, diyabetli köpeklerde ve hastalarda yapılan başka bir çalışmada yine aldo z redüktaz inhibitörü kullanılmış ve diyabetin neden olduğu sinir iletim hızı defektinin engellendiğı rapor edilmiştir. Sorbitol, PKC aktivasyonu, sitosolik NAD/NADH oranının artışı ve glutatyon rezervinin tükenmesine yol açarak olumsuz etkiler doğurur (226).

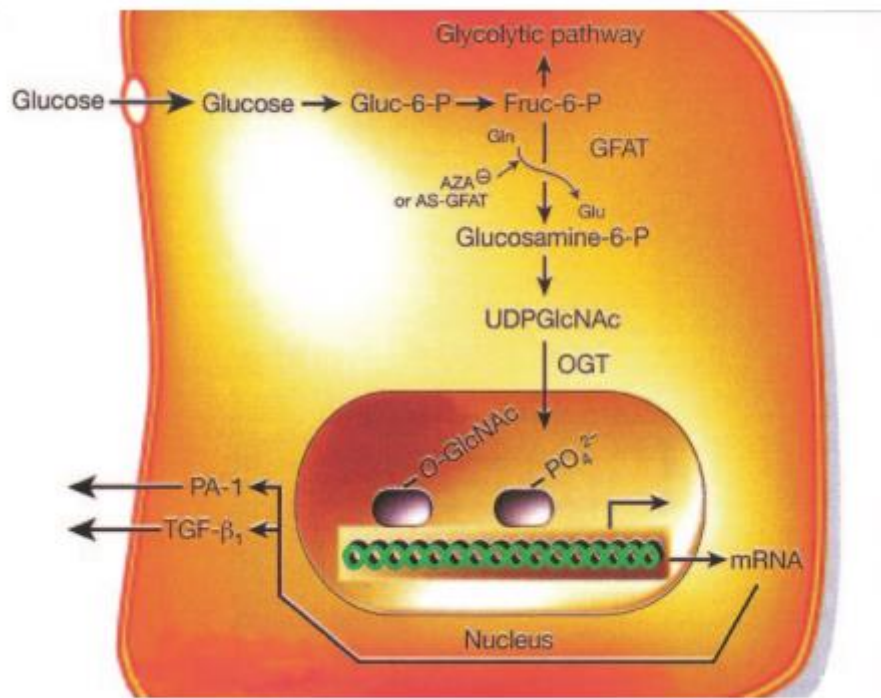


Şekil 2: Hiperglisemi glikolitik zincirin, Polyol yolağına akışını arttırır.
 'Brownlee M: Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications.
Nature 414:813–820, 2001.'

2.2.2.7.2 Heksozamin Yolağı

Hücre içi glikoz konsantrasyonu yükseldiğinde glikoliz yoluyla metabolize olur (Şekil 3). Önce glikoz-6 fosfata, daha sonra fruktoz-6 fosfata ve sonra da glikolitik yolun kalan kısmı boyunca metabolize olur. Ancak bu fruktoz-6-fosfatın bir kısmı GFAT olarak adlandırılan enzimin bulunduğu bir sinyal yolağı (glutamin: fruktoz-6 fosfat amidotransferaz) ile fruktoz-6 fosfatı, glukozamin-6 fosfata dönüştürür. En sonunda UDP-N-asetil glukozamine dönüşür. (Şekil 3) Bundan sonra N-asetil glukozamin transkripsiyon faktörlerinin serin ve treonin artıkları üzerine bağlanır. Bu şekilde glukozamin ile aşırı modifikasyon, gen ekspresyonunda patolojik değişikliklere neden olur (382-384). Örneğin şekil üçte transkripsiyon faktörü Sp1 de

bir glukozamin modifikasyonu; artmış tümör growth faktörü-1 ve plazminojen aktivatörü inhibitör-1 ekspresyonu ile sonuçlanmıştır. Her iki durumda da diyabetik hasta kan damarları için kötü sonuçlar doğurur (385). Diyabetik komplikasyonların patogenezi ve glomerüler hücre gen ekspresyonunda, hipergliseminin neden olduğu anormallikler de rol oynar (382). Hücre kültüründe hiperglisemiye bağlı kardiyomyosit disfonksiyonu gösterilmiştir (386). Tip 2 diyabetik hastalardaki karotid arter plaklarında, heksozamin yolağı ile endotel hücre proteinlerinin modifikasyonu önemli derecede artmaktadır (387).



Şekil 3: Hexozamin yolu (Brownlee M: Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. *Nature* 414:813–820, 2001.)

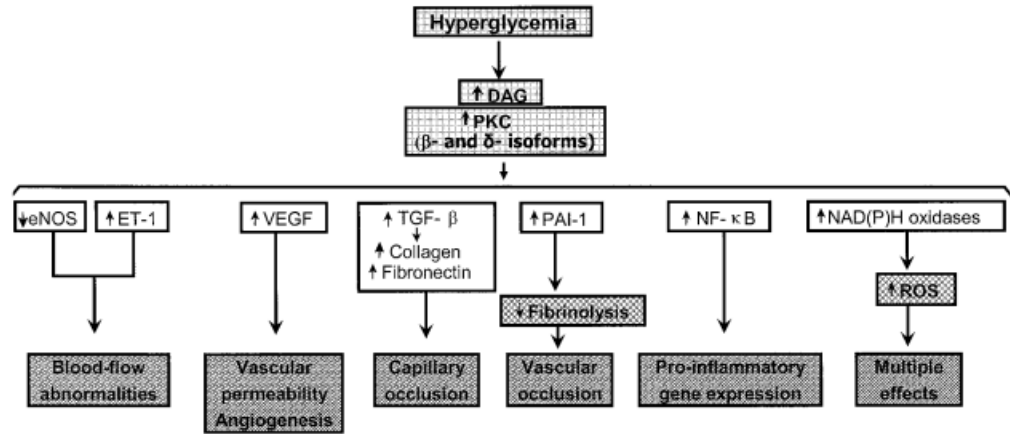
2.2.2.7.3 -Protein Kinaz C (PKC) Yolağı

Hiperglisemi, PKC aktivasyonuna yol açan en temel nedendir. PKC aktivasyonu vasküler geçirgenlik ve kontraktilite, endotel hücre aktivasyonu ve vazokonstriksiyon, extracellüler matriks (ECM) sentezi ve turnoverı, anormal anjiogenezis, aşırı apoptoz, lökosit adhezyonu, anormal büyüme faktörü sinyalizasyonu ve sitokin aktivasyonunun yanı sıra anormal hücre büyümesi ve angiogenesis kısaca diyabetik vasküler komplikasyonların

patofizyolojisi içindeki tüm diabetik vasküler komplikasyonlarla ilişkilidir (Şekil 4) (291,294,295). GLUT1 Yoluyla vasküler ve renal hücrelere glikoz girişi ve glikoliz metabolitlerinin hücre içi konsantrasyonunu yükseltir. Hücre dışı hiperglisemik durumu doğrudan hücrel aktivasyona çevirir (300). Hiperglisemi doğrudan veya dolaylı olarak PKC izoformlarını aktive eden, diaçilgliserolün (DAG) de novo sentezine yol açar. Yüksek glukoz direkt veya otokrin ve parakrin etkilerle, anjiyotensin II, endotelin-1 gibi vazoaktif peptitler ve VEGF (301) üzerinde aktive edici rol oynar (294). Kültüre alınan vasküler hücrelerde genellikle artan diaçilgliserol seviyelerinden saatler ile günler öncesinden yüksek glikoz seviyeleri gözlemlenmiştir. Bu da protein sentez indüksiyonunun sözkonusu olduğunu gösterir. (294,295,299,302) Hipergliseminin indüklediği renal hasarda PKC; (307) glomerüler hiperfiltrasyon, glomerüler ve tübüler bazal membran kalınlaşması ve artmış ECM birikimi sonucunda ilerleyen mezangial matriksin kitlesel artışı neticede de glomeruloskleroz ve tubulointerstisyel fibroza neden olur (308). Albuminüri, diyabetik hastalığın klinik temel belirtisini temsil eder. Oksidanlar ve AGE, Diaçilgliserol düzeylerini de artırır böylece PKC yolağı aktive olur (303,311-313). Glomerüler filtrasyonun farklı bölümlerinde sinyal olayları ve transkripsiyon başlar. Filtrasyon bariyerini oluşturan üç temel yapı olan; glomerüler endotel hücre tabakası, bazal membran ve podosit hücre tabakasında değişiklikler meydana gelir (309,310).

Reaktif oksijen türlerinin; (ROS) glomerüllerde ve tubulo-intersitisyumda ECM sentezinde ve birikmesinde merkezi bir rol oynadığı gösterilmiştir (291, 314). Yüksek glikoz, PKC'ye bağlı aktive olan NADPH oksidaz ve mitokondrial metabolizmayı değiştirerek celluler ROS üretir (82,106). ROS, hiperglisemiden etkilenen mitokondrilerde fazlaca üretilir bunun yanında mitojenle aktive protein kinazları (MAPK), Janus kinazı / sinyal transducerleri ve transkripsiyon aktivatörlerinin de içinde olduğu bir sinyal iletim kaskadını aktifleştirir (312, 316). Profibrotik sitokin TGF- β 1, diğer profibrotik faktörlerle beraber AGE oluşumunu ve ECM sentezini artırır (Şekil 5) (314). Glikolitik yolun metabolik ürünü olan diaçil gliserol (DAG) çoğu PKC enzimlerini aktive etme potansiyeline sahiptir. Hiperglisemi durumunda intrasellüler DAG miktarı artar ve PKC izoformlarının sürekli olarak aktive olmalarına neden olur. Hiperglisemi, poliol yolağı (Reaktif oksijen türlerinin etkisiyle) ve AGE reseptörleri aracılığıyla dolaylı olarak da PKC'leri aktive etme potansiyeline sahiptir. Sonuçta, PKC aktivasyonu, NO miktarını azaltıp, endotelin-1, VEGF, TGF- β , PAI, NF-kB ve NADPH aktivitelerini artırarak kan akımı bozuklukları, vasküler permeabilite ve anjiyogenezde değişiklikler, kapiller tıkanma, proinflamatuvar gen ekspresyonu ve oksidan stresin çok sayıda

olumsuz etkilerinin ortaya çıkmasına neden olur. İn vivo modellerde PKC inhibitörlerinin faydalı etkileri gösterilebilmiştir (223,226).

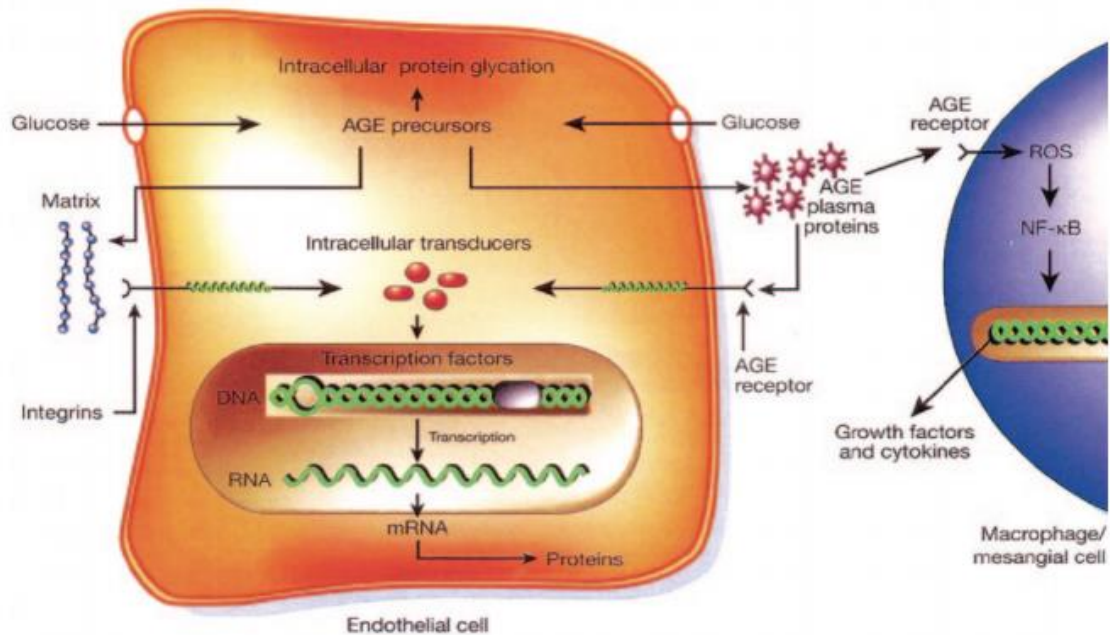


Şekil 4: Hiperglisemi ile indüklenen olan protein kinaz-C yolağının sonuçları.

2.2.2.7.4 AGE oluşumu

AGE prekürsörleri, enzimatik ve non enzimatik yollarla intrasellüler ve ekstrasellüler protein, lipid ve nükleik asitlerle reaksiyonlara girebilen glukoz kaynaklı moleküllerdir. AGE oluşumunu asıl başlatan etken intrasellüler hiperglisemidir. Başlıca AGE prekürsörleri şunlardır; glioksal, 3-deoksiglukozon, metilglioksal. AGE'ler, endotel mezangial hücrelerin makrofajlar üzerindeki reseptörlerine (RAGE) “receptor for advanced glycosilation end products” bağlanıp reaktif oksijen türlerinin oluşmasına yol açabilir (226). RAGE dışında reseptörler de vardır (AGE-R1, AGE-R2, AGE-R3, macrophage scavenger receptor) AGE reseptörleri böbrekte podosit ve tübüler hücrelerde bulunur (210). RAGE ekspresyonu sadece AGE varlığında değil, inflamatuvar durumlarda ve tümör nekrozis faktör-beta (TNF-β) ile stimülasyon durumlarında da artar. RAGE gen promotor bölgesinde NF-kB ve SR-1 gibi pro-inflamatuvar sitokinlerin bağlanma bölgelerinin olması aradaki ilişkiyi açıklayabilir (210). RAGE aktivasyonu ile meydana gelebilecek bazı hücrel olaylar şunlardır (210). NF-kB aktivasyonu, inflamasyon sitokinlerinin ekspresyonu, fibrosis, NO sentezinde azalma

sonucunda endotel disfonksiyonu, H_2O_2 miktarında artış sonucunda oksidatif stres; VEGF artışı ile proteinüri, TGF- β artışı sonucunda fibrosiz. AGE inhibitörü aminoguanidin hem hayvan modellerinde hem de diyabetik hastalarda kısmen başarılı olmuştur. RAGE inhibisyonu ile hayvanlarda DN engellenebilmiştir (228,229). Fizyolojik olarak, metilglioksal, D-laktata dönüştürülerek ortamdan uzaklaştırılır. Glioksalaz-1 enzimi aşırı ekspresyonu ve yok edilmesi deneylerinde, diyabetik ratlarda nefropati önlenmiş ve diyabetik olmayanlarda DN lezyonları görülmüştür (230). AGE ürünleri hücrelere üç mekanizma ile zarar verir (3). İlk mekanizma intrasellüler proteinlerin özellikle de gen transkripsiyonunda görev alan proteinlerin modifikasyonuna yol açar (367,368). İkinci olarak AGE öncülleri hücre dışına çıkıp yakınındaki ekstrasellüler matrix moleküllerini modifiye eder ve (369) hücre işlev bozukluğuna yol açar (370). Üçüncü olarak AGE ürünleri hücrenin dışına diffüze olur ve dolaşım kanında albümin gibi kan proteinlerini modifikasyona uğratar (Şekil 5). Bu şekilde modifiye edilmiş dolaşan proteinler daha sonra AGE reseptörlerine bağlanır ve onları aktive ederek inflammatuar sitokinler ve büyüme faktörlerinin üretimine yol açarak vasküler patolojiye neden oluşturlar (371-380). AGE ürünlerinin farmakolojik olarak inhibisyonunun deneysel diyabetik retinopatide geç yapısal değişiklikleri önlediği bulgulanmıştır (381).

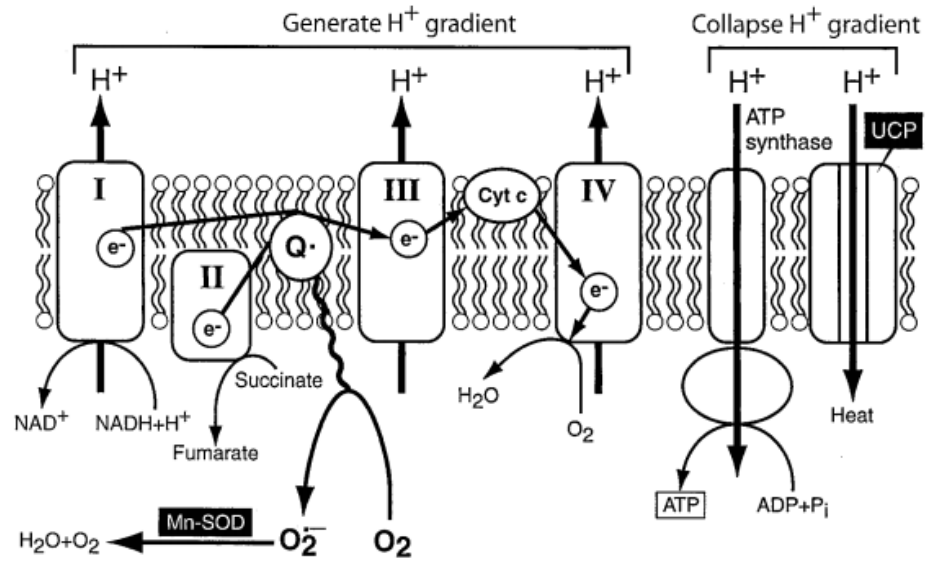


Şekil 5: AGE ürünlerinin artan üretimi ve patolojik sonuçları. (Brownlee M: Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. *Nature* 414:813–820, 2001.)

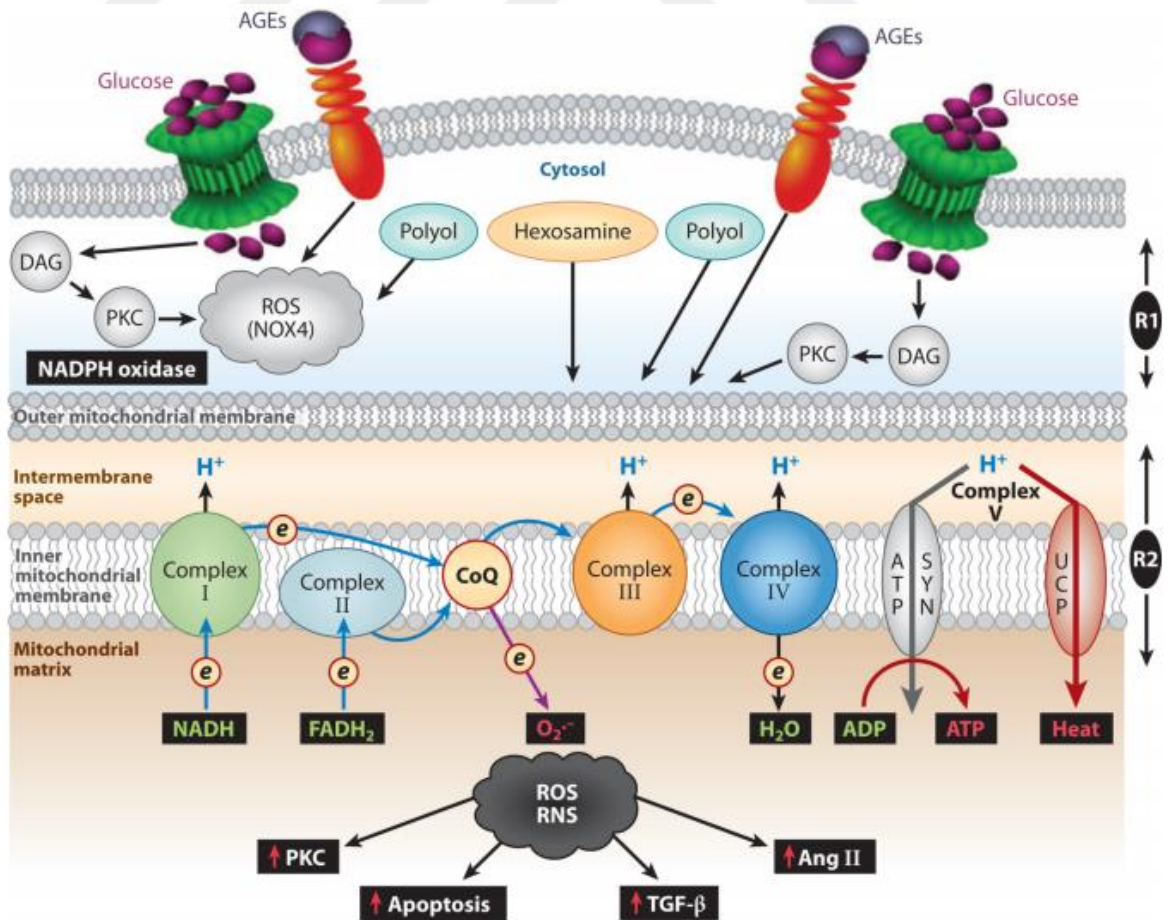
2.2.2.7.5 Oksidatif Stress

Mitokondrial elektron taşıma zincirinde 5 protein kompleksi vardır. Kompleks I, II, III, IV ve ATP Sentaz (Kompleks 5) (şekil 6) olarak soldan sağa sıralanır. Glikoz, trikarboksilik asit (TCA) döngüsüyle metabolize olur. Elektron donörlerini üretir. Ana elektron donörü NADH, kompleks-I protein kompleksine elektron verir. Diğer elektron donörü TCA siklüsü tarafından üretilen FADH₂ dir ve elektronları bağlayan süksinat dehidrogenaz tarafından oluşturulur. Kompleks-II bu iki kompleksin elektronlarını koenzim-Q yapısına aktarır ve daha sonra koenzim-Q, kompleks-III, sitokrom-C, kompleks-IV ve nihayet moleküler oksijene yönelerek suya indirgenir. Elektron taşıma sistemi bu şekilde organize edilir. Böylece ATP seviyesi kesin olarak düzenlenebilir. Elektronlar ETZ düzeneğinde soldan sağa taşınır, bu elektronların enerjisi, protonları mitokondri iç membranındaki kompleksler; I, III ve IV boyunca pompalamak için kullanılır. Bu akım mitokondrial membranda bir voltaj etkisi üretir. Bu voltaj gradyanının enerjisi ATP sentaz kompleksi aracılığıyla ATP sentezine yönlendirilir (390,391). Bunun yanında ayrışma proteinleri (UCP, Şekil 6) ATP üretim hızını sabit tutacak bir şekilde voltaj gradyan akımını matrikse yönlendirerek ısı üretimine sebep olur. Buna karşılık intrasellüler glukoz oranı yüksek diyabetik hücrelerde glikoz, TCA döngüsünde okside olur ve sonuçta daha fazla elektron vericisini (NADH ve FADH₂) elektron taşıma zincirine sunar. Bunun bir sonucu olarak, mitokondrial membran boyunca voltaj gradyanı artar bu artış kritik eşik değere ulaşıncaya kadar devam eder. Bu noktada kompleks-III içindeki elektron transferi bloke olur (392). Elektronlar koenzim-Q'ya geri dönerler. Bu elektronlar moleküler oksijene birer birer yönlendirilir ve böylece süperoksit üretilir (Şekil 6). Süperoksit dismutaz enziminin, mitokondrial izoformu bu oksijeni degrade eder süperoksit serbest radikali daha az zararlı olan hidrojen peroksit (H₂O₂) dönüştürülür ve daha sonra katalaz enzimiyle H₂O ve O₂ ye indirgenerek zararlı etkileri tamamen elimine edilir.

Brownlee ve arkadaşları artan voltajla rengi değişen bir boya kullanarak hücreler ve hücre içi süperoksit formasyonu için gereken eşik değerin üzerindeki hipergliseminin mitokondri membran voltajını gerçekten arttırdığını bulguladılar (393). Sırayla elektron taşıma zincirinin açıkladığımız mekanizma ile süperoksit ürettiğini ispatlamak için UCP-1 veya manganez-SOD'ın aşırı ekspresyonunun etkisini incelediler.



Şekil 6a: Elektron transport zinciri, Süperoksit üretimi



Şekil 6b. Elektron Transport Zinciri

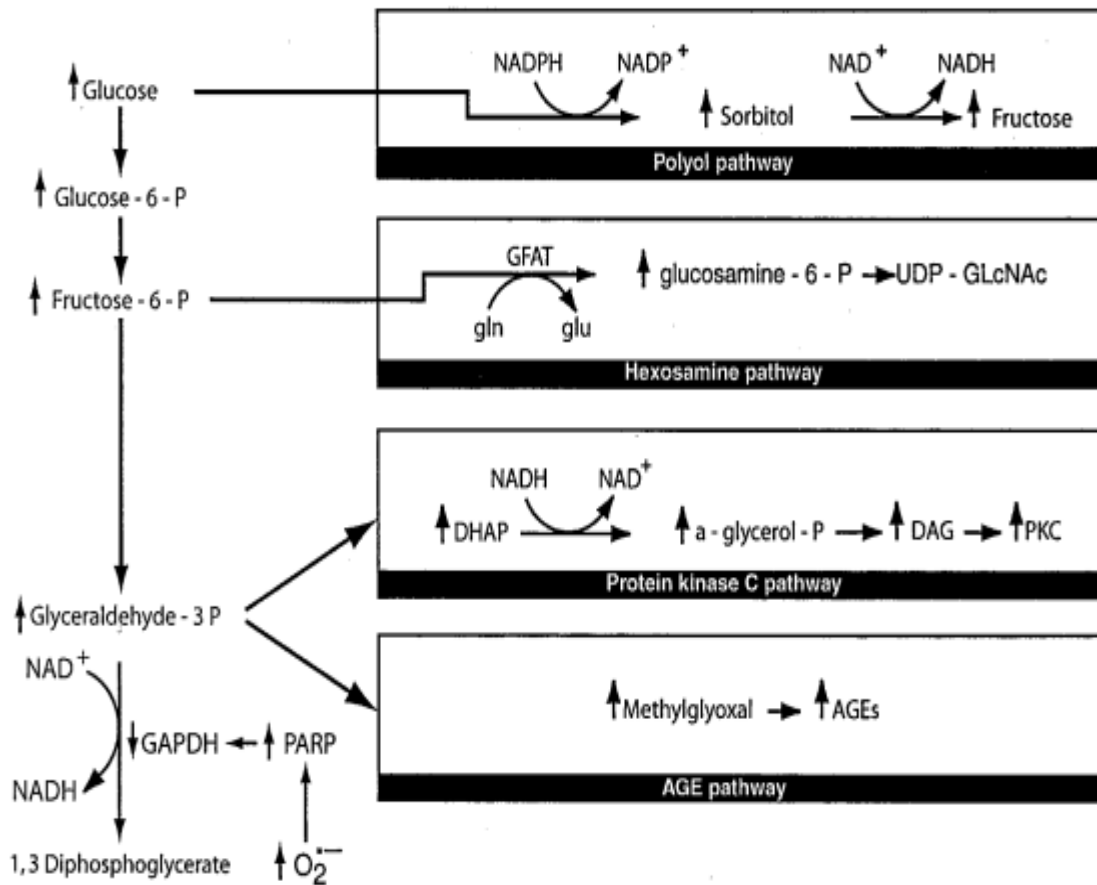
Süperoksit dismutazın (MnSOD) hiperglisemi kaynaklı ROS oluşumu üzerindeki etkisini aydınlatmak için yapılan çalışmalarda intrasellüler hiperglisemi ROS üretiminde büyük artış gerçekleştirdi ancak UCP nin aşırı ekspresyonu ile mitokondrial voltaj gradyanı baskılandığında belirli bir düzeyde aşırı hipergliseminin hiç ROS üretimine yol açmadığı gözlemlendiler (388). Aynı şekilde MnSOD enziminin aşırı ekspresyonu sağlanarak süperoksit yıkımı sağlandığında hipergliseminin yine ROS üretimine neden olmadığı görüldü. Bu veriler iki noktayı aydınlatmaktadır. Birincisi, UCP etkisi gösteriyor ki mitokondrial elektron taşıma zinciri hiperglisemiye bağlı süperoksitin oluşumunun esas kaynağıdır. İkincisi MnSOD gösterdiği etki, oluşan ilk ROS'un süperoksit olduğunu doğrular.

Bu bulguları bağımsız deneysel bir yaklaşımla doğrulamak için mitokondrial DNA normal endotel hücrelerine koyuldu ve deneysel endotel hücreleri oluşturuldu yani fonksiyonel mitokondriyal elektron transport zincirinden yoksun bir mitokondri modeli oluşturuldu. Mitokondriyal elektron taşıma zinciri kaldırıldığında, hipergliseminin ROS Üretim üzerindeki etkisi tamamen ortadan kalktığı görüldü (M.B. yayınlanmamış gözlemler). Benzer şekilde, oluşturulan deneysel endotel hücre modelinde, hipergliseminin poliol yolu, AGEs formasyonu hexozamin yolağının aktive edilme özelliği tamamen kayboldu. Ayrıca, UCP-1 aşırı ekspresyonunun veya MnSOD aşırı ekspresyonunun bu hiperglisemi ile aktive edilen yolların üzerine etkisi araştırıldı. Hiperglisemi yoktu ne zaman mitokondriyal membran boyunca voltaj gradyan oluşumu UCP-1 tarafından kollabe edildiğinde ya da devre dışı bırakıldığında veya üretilen süperoksit MnSOD ile elimine edildiğinde hiperglisemi bu majör dört yolağın herhangi birinde aktivasyona yol açmadı (388).

Bu verilerin tümü transgenik farelerde endotel hücre kültürü deneylerinde doğrulanmıştır. MnSOD enzimini aşırı ifade eden (M.B. yayınlanmamış gözlemler) vahşi tip hayvan diyabetik modelleri oluşturulduğunda majör dört yolak aktive olur ve diyabetik dokularda komplikasyonlar oluşur. Buna karşılık, MnSOD transgenik fare diyabetik modellerinde bu dört yoldan (Poliol, Heksozamin, PKC, AGEs) herhangi birinde bir aktivasyon olmamıştır.

Endotel hücrelerinde PKC, nükleer faktörü kappabeta'yi de (NF-kB) de aktive eder. Nfkb damar sisteminde birçok pro-inflamatuar geni aktive eden bir transkripsiyon faktörüdür.

Beklendiği gibi hiperglisemiye bağlı PKC aktivasyonu hem UCP-1 hem de MnSOD aşırı ekspresyonu ile hücre ve hayvan çalışmalarında engellenmiştir. Önemlisi transgenik bir yaklaşımla süperoksit dismutaz (SOD) kullanarak hipergliseminin neden olduğu süperoksit aşırı üretiminin inhibisyonu, bu komplikasyonun en iyi hayvan modelleri olan db/db diyabetik farelerde, uzun vadeli zamanda deneysel diyabetik nefropatiyi önlemiştir. (394) Hiperglisemi ile indüklenen mitokondrial ROS üretimi GAPDH enzimini inhibe ederek bu dört yolun (şekil 7) aşırı aktivasyonunu sağlar. Glikoliz yolu ara metabolitlerinin bu dört yola yönelme oranını artırır (Poliol, Hexosaminidaz, PKC, AGEs yolları).



Şekil 7: Süperoksit GAPDH'ı inhibe ederek hiperglisemik hasardan sorumlu dört majör yolu aktive eder. (Brownlee M: Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. *Nature* 414:813–820, 2001.)

Bu verilerin bütünsel olarak birbirine nasıl bağlandığına dair görsel şema verilmiştir. Yapılan kritik gözlemlerde: diyabetik hayvan modellerinde, klinik deneylerde ve hücresel çalışmalarda; hipergliseminin, anahtar glikolitik enzim olan gliseraldehit-3 fosfat dehidrojenaz (GAPDH) aktivitesini düşürdüğü ve süperoksitin aşırı mitokondrial üretiminin, UCP-1 veya

MnSOD aşırı ekspresyonu ile engellendiğinde GAPDH aktivitesinin hiperglisemi tarafından inhibisyonunun meydana gelmediği kanıtlanmıştır (385).

GAPDH aktivitesi engellendiğinde glikolitik yolun GAPDH enzimine kadar olan üst basamaklarında da tüm glikolitik ara ürünlerin aktivitesi artar ve bu ara ürün metabolitleri diyabetik hasara neden olan metabolik yollara kayar (Şekil 7).

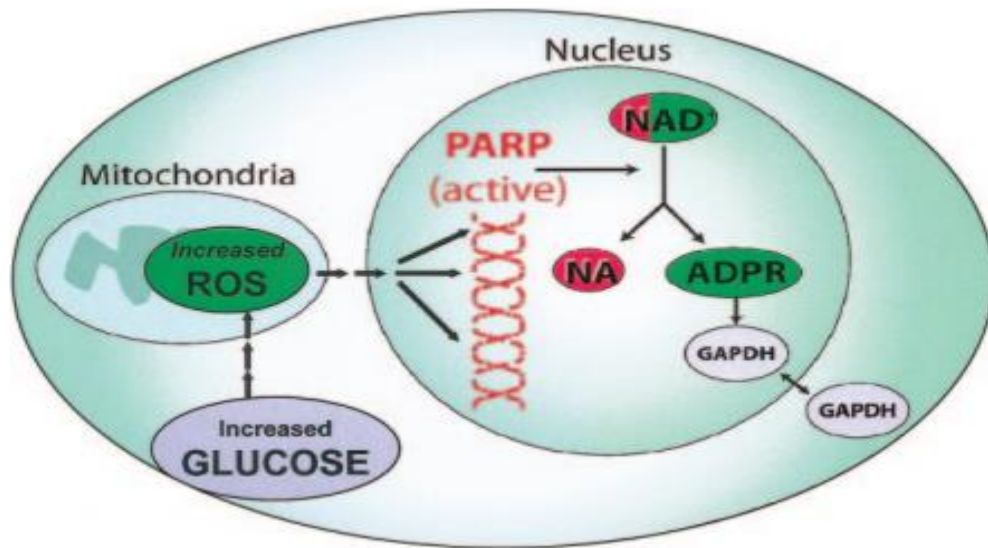
GAPDH enzim inhibisyonu ile artan glikolitik metabolit gliseraldehit-3-fosfat, dört yolun ikisini aktive eder. AGE yolağını aktive eder çünkü major hücre içi AGE prekürsörü metilglioksal, gliseraldehid-3 fosfattan oluşur. Ayrıca klasik PKC yolunu da etkinleştirir. PKC aktivatörü olan diaçilgliserol (DAG) aynı zamanda gliseraldehit-3 fosfattan meydana gelir. Glikolitik basamakların üst seviyelerinde fruktoz-6 fosfat artışı, metabolitin heksozamin yolağına akmasına neden olur. Glikolitik fruktoz-6 fosfat metabolite, GFAT enzimi tarafından UDP-Nasetil glukozamine (UDP-GlcNAc) dönüştürür. Son olarak GAPDH inhibisyonu ilk glikolitik metabolit olan glikozun intrasellüler seviyelerinin artmasına yol açarak glikozun poliol yolağına akışını artırır. Bu yolda enzim aldoz redüktaz kullanılır ve glukozu sorbitole dönüştürür. Koenzim olarak ta NADPH kullanılır oksidasyon sonucunda NADP açığa çıkar. Hiperglisemi ile indüklenen mitokondrial süperoksit üretimi, poli-ADP-riboz polimerazı (PARP) (Şekil 8) aktive ederek GAPDH enzimini inhibe eder. Bu noktada hiperglisemi, süperoksitin mitokondrium tarafından aşırı üretilmesi ile glikolitik yolun ilk dört metabolitinin içinde olduğu hiperglisemik hasarın dört ana yolağını aktive eder. Bir test tüpünde, hiperglisemik hücrelerde bulunan konsantrasyonu aşan seviyelerde süperoksit GAPDH enzimini doğrudan etkisiz hale getirmiştir, ancak asıl soru hücreler ve dokularda reaktif oksijen metabolitlerinin GAPDH inhibisyonunu nasıl gerçekleştirdiğidir.

Hipergliseminin neden olduğu süperoksit, GAPDH enzimi aktivitesini in vivo şartlarda ADP-riboz polimerleri kullanarak inhibe eder (395). UCP-1 ve MnSOD ile mitokondriyal süperoksit üretimini inhibe ederek GAPDH enziminin, hem ADP-riboz polimerleri tarafından modifikasyonu hem de hiperglisemik koşullar tarafından aktivitesinin azaltılması engeller. GAPDH enziminin, ADP-riboz tarafından modifikasyonu ve hiperglisemi ile aktivitesinin azaltılması Poli-ADP-Riboz polimerazın (PARP) spesifik bir inhibitörü tarafından da önlenabilir. Bu ADP-riboz polimerini yapan enzimdir.

PARP aktivasyonu ile GAPDH enzim değişiklikleri arasında bu şekilde bir neden-sonuç ilişkisi vardır.

Hiperglisemi, bir DNA onarım enzimi olan PARP enzimini nasıl etkinleştirir? Özellikle çekirdekte bulunan ve bir nukleolar enzim olan nukleer PARP, bir glikolitik yol enzimi olan ve sitoplazmada bulunan GAPDH ile nasıl biraraya gelir?

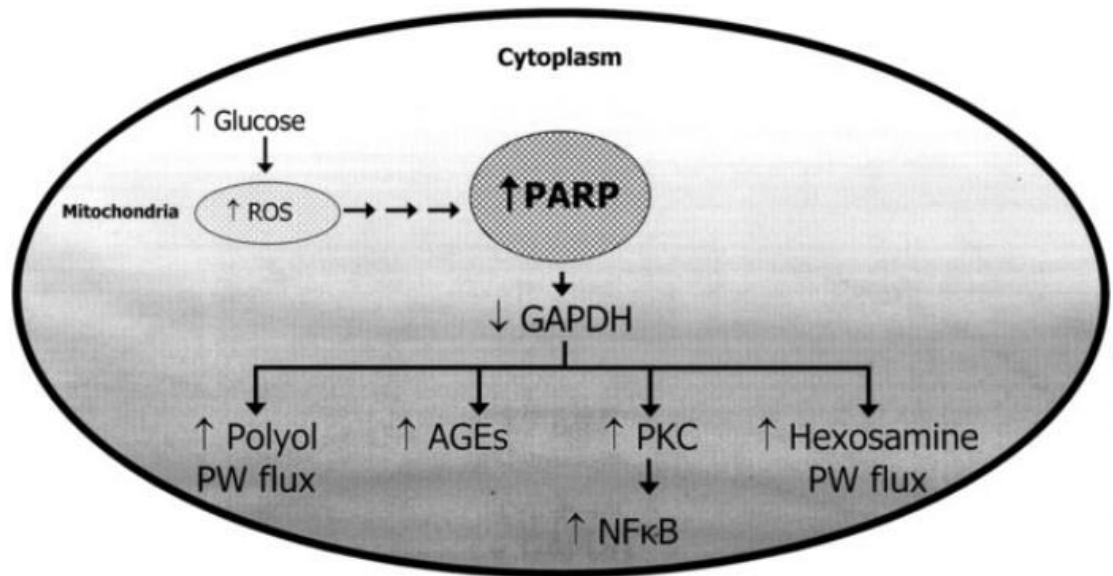
Normalde PARP çekirdekte bulunur ve inaktif formda beklemektedir. DNA hasarı olduğunda aktifleşir ve fonksiyonunu gerçekleştirir (Şekil 8). İntrasellüler glukoz artışı mitokondride serbest radikalleri üretir. Bu serbest radikaller DNA ipliğinin kırılmasını indükler böylece PARP etkinleşir. Hipergliseminin yol açtığı süreçler UCP-1 veya MnSOD tarafından engellenebilirler (395). PARP aktive olduğunda NAD yapısını iki bileşenli komponentlerine ayırır. (Nikotinik asit ve ADP-riboz) PARP, daha sonra GAPDH ve diğer nukleer proteinler üzerinde biriken ADP-riboz un polimerlerini yapar. Her ne kadar GAPDH enziminin yalnızca sitoplazmada bulunduğu düşünülüyorsa da, aslında normalde nukleus ve sitosol arasında içeri girip çıkmaktadır. DNA tamirinde kritik bir rol oynamaktadır (396,397).



Şekil 8: ROS, PARP enzim aktivasyonuna neden olur. PARP, GAPDH'ı modifiye eder.

Hiperglisemi kaynaklı hücresel hasar mekanizmasının bileşenlerini özetleyen bir şema şekil 9' da sunulmuştur. Diyabetik komplikasyonların hedef hücrelerinde hücre içi hiperglisemi geliştiğinde mitokondride ROS üretiminde artış olur. ROS, nukleer DNA ipliğinin kırılmasına neden olur. Bu da nukleer PARP enziminin aktive olmasına yol açar. Aktive PARP, GAPDH enzimini modifiye ederek aktivitesini azaltır. GAPDH aktivitesinin angellenmesi glikolitik yolun aşağı basamaklarının engellenmesine ve tüm glukozun ilk 5 basamakta poliols,

heksozaminidaz, PKC yolağı ve ardısıra NF-kB sinyal yolu, AGEs yolaklarına sevk edilmesine bu yolakların aşırı aktivasyonuna ve metabolitlerinin açığa çıkmasına yol açar.



Şekil 9: Bütünsel bakışla, hiperglisemi nedenli hücre hasarı

ROS; protein, karbonhidrat, lipid ve nükleik asitler dâhil olmak üzere birçok organik molekülle rahatlıkla reaksiyona girip hücrede fonksiyon değişikliğine ve apoptoza yol açar (210). Serbest radikallerin aslında birçok fizyolojik rolleri de vardır: Anjiyogenez, hücre bölünmesi, sirkadyan ritim, immün cevap ve HIF (hipoxia inducible factor) sinyal oluşumundaki rolleri örnek olarak gösterilebilir (210). Hiperglisemi geçtikten sonra bu yolaklardaki aktivitenin normale dönmesi beklenir, fakat klinik ve deneysel gözlemler yolaklardaki aktivitenin normale dönmediğini göstermektedir. Hiperglisemi düzeldiği hâlde etkilerinin devam etmesi glisemik hafıza kavramıyla açıklanmaya çalışılmıştır. Hiperglisemik hafıza ve oksidatif stres teorisi şu şekilde bağdaştırılmıştır: Başlangıçtaki geçici hiperglisemi ve aşırı süperoksid üretimi ilgili genlerde epigenetik değişiklikler oluşturur. Epigenetik değişikliklerin etkisi de yıllarca devam eder (224,226). Ratlarda, mitokondriyi hedefleyen ubiquinon uygulaması ve genetik manipülasyonla SOD ekspresyonunun artırılması olumlu sonuçlar vermiştir (219,231,232).

2.2.2.7.6 Mitokondriyal Değişiklikler

Yüksek glukoz konsantrasyonu durumunda podositlerde apoptoz ile sonuçlanan yoğun, küçük, parçalanmış mitokondrilerin varlığı gözlenmiştir. T1D ve T2D hastalarının bazı organlarında mitokondri nitelik ve niceliğinde bozukluklar olduğu da bildirilmiştir (219).

2.2.2.8 Podositlerin Rolü

Podosit anormallikleri diabetik nefropatide en erken görülen değişikliklerdendir. Podosit sayısı diyabetin iki türünde de azalır. Podosit kaybı süregelen İAA ile ilişkilidir (235-237). Podositlerde; effasman, hipertrofi, GBM dekolmanı ve nicel azalma gözlenen diğer değişikliklerdir (233,234). Mezangial genişleme ve GBM kalınlaşması en yaygın olarak gözlenen DN lezyonlarıdır. T1D ve T2D hastalarından alınan örnekler kullanılarak yapılan dikkatli hücre analizleri gösterdi ki podosit sayısı proteinüri ile yüksek oranda korelasyona sahiptir ve diabetik nefropatide en iyi belirleyicilerden biri olarak ortaya çıkmaktadır (265). Podosit kaybı ve effasmanı hipergliseminin neden olduğu ROS oluşumundan, podosit apoptozu veya dekolmanını takiben oluşur (259). ROS serbestlenimi mitokondriyal ve plazma membranındaki NADPH oksidaz (NOX) kaynaklarından gerçekleşir (259). Dynamine related protein-1 (Drp1) teşvikiyle, ROCK1 aracılı hipergliseminin indüklediği mitokondriyal fizyon süreçte önemli rol oynar (266). Birçok kanıt podosit tahribinin DN gelişimi için kritik bir faktör olduğunu göstermektedir. Glomerüler podosit yoğunluğu, albüminüri ve DN progresyonu açısından en kritik belirleyicidir (267-269). Hayvan modellerinde %20 ve üzerinde podosit kaybı, albüminüri ve glomeruloskleroz ile bulgu veren irreversible glomerüler hasara yıl açar. Bunu tubulointerstisyel fibroz ve son dönem böbrek yetmezliği takip eder (260, 270,271). Nefrotik albüminüri miktarını belirleyen gendeki, monogenik mutasyonlar DBH gelişimini gösteren kardinal belirtidir, hemen hemen tamamen podositlere lokalize olan proteinlerde lokalizedir (272).

Hayvan deneyleri ikna edici biçimde kanıtlıyor ki sadece podositlerdeki anahtar sinyal yolları modifikasyonu, diabetik albüminüri gelişimini düzeltmek ya da kötüleştirmek için tek başına yeterli değildir (266,273,274). Podositler, replikasyon yapamayan ve yenilenemeyen terminal diferansiye hücrelerdir ve hastaları glomeruloskleroz ve kronik böbrek hastalığına götüren primer lezyon, podositlerin tahrip olmasıdır. Glomerüllerde DN durumunda podositlerin temel rol oynadığı spesifik lezyonlar gözlenir ancak mesangial hücrelerdeki, endotel hücreleri de podositlerdeki değişikliklerle ilişkililidir. Örneğin endotelial nitrik oksit

sentaz kusuru veya eksikliği podosit kaybına neden olur aynı zamanda ters yönde bir etkileşim podosit kaybı, kılcal damar oluşumunu indükleyen bir VEGF eksikliğine neden olur bu da kapiller kollapsa yol açar (275). Bazal membranın kalınlaşması ve kollajen atipik birikimi, podosit adezyon moleküllerinde değişikliklere neden olur (274). Podositlerde oluşacak kayıp ve yaralanma, hastalık gelişiminde geri döndürülemez. Podositler rejenere olmadığından, kalan podositler hücrede meydana gelen defisiti telafi etmek için farklı mekanizmalar kullanır (276-277). Tahrib olmamış podositler, kaybedilen podositlerce çıplak bırakılan bazal membranın üstünü örtmek için boyutlarını ve şeklini değiştirir. Küçük GTP bağlayıcı proteinlerin aktivasyonu (Rho, Rac ve CDC) (278) nefrin ekspresyonu kaybı, (279) diyabetik glomerüler örneklerde gözlemlenen aktin hücre iskeletinin yeniden düzenlenmesi bu teori ile uyumludur (71). Küçük GTP bağlayıcı protein aktivasyonunun bozulması, albuminüri ve glomerüloskleroz gelişmesi ve podosit effasmanı ile ilişkilidir (281,282). Porosit kaybı ve glomerüler genişleme, glomerülosklerozun ana karakteristik özelliklerdendir. Aşırı mTORC1 aktivasyonu podosit hipertrofisine aracılık eder. MTORC1 geninin azalmış aktivasyonu fare modellerinde diyabetik nefropatiye karşı koruma sağladığı gösterilmiştir. (75). Hipertrofi üzerindeki etkilere p70 S6 kinaz1 (S6K1) ve 4E bağlayıcı protein 1 (4EBP1) sebep olur. S6K1 gen delesyonu, diyabetik farelerde böbrek hipertrofisini önlemiştir (285). PTEN ve Akt2, mTOR yukarı akış yönündedir ve aynı zamanda ilaç tedavisi için potansiyel hedeflerdir mTOR komplet delesyonu glomerüler hastalığa neden oldu (286). mTOR sinyal yolu otofajiyi regüle eder, inhibisyonu hücre içi organellerin tahribini uyarır ve otofagozom oluşumunu sağlayan uyarıyı başlatır (287). Podositler içinde mTORC1 gen silinmesi reformasyon sürecini engelleyerek otofajinin regülasyonunu bozar ve hücrelerde otofagozom birikimine neden olur. Podositler vücuttaki en yüksek otofaji seviyelerine sahip hücrelerdendir (288). Agt5 gen kaybı ile Otofajinin podositlerdeki inhibisyonu glomerülün zedelenmelere karşı duyarlılığını ve hassasiyetini artırır. Buna dayanarak kesin bir şekilde denilebilir ki otofajinin downregülasyonu hastalık seyri açısından kötü bir adaptasyondur (288). AMPK sinyal yolu mTOR geni için önemli bir upstream regülatörüdür. Bir enerji sensörü görevi görür. Podositler AMPK negatif olarak NADPH oksidazı (NOX4) ve oksidatif stresi düzenler (253,289). AICAR ve Metformin gibi AMPK sinyalini aktive eden farmakolojik ajanlar, kemirgen modellerinde diyabetik nefropatiye karşı böbrekleri korur. Ne yazık ki, bu kimyasallar AMPK yolağının zayıf aktivatörleridir. Bu yolağın daha güçlü aktive edicilerini keşfetmek ve tanımlamak potansiyel DN hastaları için ödüllendirici olabilir. Podosit canlılığının sürdürülebilmesi için insulin etkisi hayati önem taşımaktadır. Ratlarda insülin eksikliği

oluşturulduğunda, ciddi albuminüri ve diyabetik glomerüler lezyonlar görülmüştür. İnsülin reseptörleri normal olan ratlarda, podositlerin rejenere olmadığını söyleyen çalışmalara karşı bir şekilde aktin hücre iskeletinin, insülin etkisiyle yeniden yapılandığı görülmüştür (238). Podositlerde NOD2 ile insülin rezistansı arasında da bir ilişki saptanmıştır; NOD2 delesyonu yapılan farelerde DN oluşmamıştır.

2.2.2.9 Endotel Hücre Disfonksiyonu

DN, diyabette mikrovasküler bir komplikasyon olarak sınıflandırılır. Fenestrasyonlu glomerüler endotelin bozulması, glikokaliks yapısının değişime uğraması, glomerüler perm-selektivitenin değişmesi ve sonuçta diyabetik nefropatinin meydana gelmesi. Tip 1 diyabetli hastalarda; DN, retinopati ile kuvvetli bir korelasyon gösterir. Bu mikrovasküler endotel hücrelerin metabolik hasarlara karşı oldukça duyarlı olduğunu gösterir (261). Metabolik hasara bağlı gelişen mikrovasküler endotel hücrelerinin kaybı anormal çok kırılğan küçük damarların anormal anjiyogenezi ile kompanse edilir. Buna muhtemelen VEGF, anjiyopoetinler, endotelinler ve nitrik oksit aracılık eder (262). Glomerüler filtrasyon bariyerini korumak için anjiyojenik faktörlerde sıkı bir denge şarttır. VEGF ekspresyonunda değişim, albuminüriye ve glomerüler değişikliklere neden olur (263,264). Endotelde disfonksiyon ve glomerüler, tubulointerstitial kapiller kaybın DN progresyonunda önemli rolü vardır. DN patogenezinde, erken safhalarda çeşitli negatif yüklü moleküllerin damar endotelindeki ekspresyonunun azaldığı bildirilmiştir (242,243). Deneysel olarak oluşturulan hipergliseminin, endotel yüzeylerde glikokaliks miktarını azalttığı bildirilmiştir (244).

2.2.2.10 VEGF-A

Podosit ve tübüllerde diğer dokulardakinin aksine, VEGF ekspresyonu hücre hayatı süresince devam eder. Podositler için canlılığı devam ettiren bir faktördür. Hücre sinyal sisteminde ve nefrin sentezinde rolü vardır. (eksikliğinde nefrin sentezi azalır) VEGF'ün podositlerden bol miktarda sentezlendiği, neoplastik doku ve retinadaki aksine yeni damar oluşumuna yol açmadığı, filtrasyon bariyerini koruduğu ve podosit canlılığının sürdürülmesine katkıda bulunduğu bildirilmiştir. Hayvan modellerinde VEGF-A'nın fazlalığı da azlığı da glomerüler hasar oluşturur. VEGF fonksiyon kazandırıcı mutasyonlarda vasküler endotel disfonksiyonu görülmemiş ancak, minimal değişiklik hastalığı benzeri podosit değişiklikleri görülmüştür (245,246).

2.2.2.11 Renin Anjiyotensin Aldosteron Sistemi (RAAS)

Hayvan çalışmalarından görüldüğü kadarıyla, böbreklerde de lokal renin-anjiyotensin sistemi vardır. Ayrıca AngII intrasellüler kompartmanlarda da tespit edilmiştir. Sistemik olarak uygulanan ACE inhibitörlerinin, lokal AngII üretimi üzerinde etkili olmadıkları görülmüştür. Peptidaz enzimleri, AngII proteininden AngIV olarak adlandırılan bir fragman koparır. AngIV, AT4 olarak adlandırılan bir reseptör üzerinden, profibrotik etkili plazminojen aktivatör inhibitor (PAI-1) sentezini artırır. Diyabetik rat hücrelerinde AngIV üretimi artmıştır (210). İn vitro şartlarda, yüksek glukoz maruziyet durumunda afferent arteriyolden (juxtaglomerular apparatus) renin salgılandığı gösterilmiştir. Glukoz ile renin sekresyonu arasındaki bağın, süksinat tarafından aktive edilen ve hücre metabolik durumunun algılayıcısı olarak bilineni GPR91 (G protein-coupled receptor) olduğu bildirilmiştir (247). Glukoz dışında birçok faktör de AngII salgılanmasına yol açmaktadır. Proteinlerin filtrasyon bariyerini geçişi ve mekanik gerilme podositlerden AngII sentezine yol açar (248). Mekanik gerilme ve lokal AngII üretimi ACE kontrolünde olmayabilir. T2D hastalarında kininaz olarak adlandırılan, AngII oluşturan ve ACE inhibitörleriyle aktivitesi engellenemeyen bir enzimin ekspresyonunun arttığı bildirilmiştir (210).

DN'nin karakteristik bulgularından olan abartılı efferent vazokonstriksiyon ve intraglomerüler basınç artışı, AngII etkilerinin bir göstergesi olarak kabul edilir. AngII etkilerine aracılık eden AT1 reseptörleri TGF- β salgılanmasına yol açar. TGF- β kronik böbrek hastalıklarında fibroz oluşumunu artıran çok önemli bir sitokindir. Bunlar dışında substrat olarak hem AngI hem de AngII enzimlerini kullanabilen, angiotensin-converting-enzyme-2 (ACE2) olarak adlandırılan ve klasik ACE ile benzerlik gösteren enzim saptanmıştır. ACE2 sayesinde vazodilatatör etkili moleküller (Anjiyotensin 1-7 vs.) oluşabilmektedir. Anjiyotensin 1-7/Ang II oranındaki artışın DN engellenmesinde olumlu etkileri olabileceği bildirilmiştir. TGF- β , ACE2 ekspresyonunu inhibe etmektedir. TGF- β inhibisyonu (SB431542, TGF- β RI inhibitörü) ACE2 seviyesini normalleştirmektedir. ACE2 aktivatörü yoluyla komplikasyonları önleme fikri henüz spekülatif düzeydedir (249-251).

2.2.2.12 ACE ve Kinin Sistemi

ACE aynı zamanda bradikininin inaktif moleküllere dönüştürür. Bradikinin molekülünün diyabetik lezyonları modifiye ettiği hipotezi hayvan modelinde test edilmiştir. Buna göre bradikinin B2 reseptörü olmayan farelerde, doğal farelere göre daha ağır diyabet lezyonları oluşmuş ve dolayısıyla ACE inhibisyonunun olumlu etkilerinin kısmen, bradikinin yıkımının engellenmesiyle ortaya çıktığı şeklinde yorumlanmıştır (252). RAAS inhibisyonu sadece sistemik ve glomerüler basıncı azaltmak yoluyla değil, aynı zamanda antifibrotik ve antiinflamatuvar etkileri sayesinde faydalı olmaktadır. Hiperglisemi nedeni ile indüklenen ROS artışı böbrek tübüllerinde AngII sentezini indükler. AngII podositlerde nefrin ekspresyonunu düşürür ve podosit ayaksı çıkıntılarının yapısını bozar. Podositler ATI ve ATII reseptörlerini eksprese etmekte ve hiperglisemik şartlarda AngII üretebilmektedir. AngII enziminin inflamasyonu tetiklediğine dair çok sayıda bulgu vardır; MCP-1, (Monocyte chemoattractant protein-1) NF-kB artışı, RANTES gen aktivasyonu bunlardan bazılarıdır (210). Aldosteron, diabetic nefropatide olumsuz etkiler gösteren bir hormondur. Bu durum hem rat çalışmalarında hem de klinik olarak aldosteron reseptör blokerleri olan spirinolakton ve eplerenon ile yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (210).

2.2.2.13 Fibroz Süreci

Fibroz, hasar iyileşme mekanizmalarındaki dengenin ekstraselüler matriks birikimi lehine bozulması sonucunda dokularda kollajen, fibronektin birikimi ve organ yetmezliği ile karakterize bir süreçtir. Fibroz süreci böbrekteki diğer fibrotik hastalıklara benzer, DN'ye özgü bir fibrotik süreç yoktur. Kısaca multifonksiyonel, profibrotik bir sitokin olan TGF- β , fibroz sürecinde merkezi role sahiptir. Böbrekte bulunan glomerüler hücreler, tübüler hücreler, makrofajlar/lenfositler ve fibroblastlar/miyofibroblastlar ekstraselüler matriks (ECM) birikimine katkıda bulunurlar. Fibroz sürecindeki kayda değer bir olay, epitel, endotel ve podosit hücrelerinin mezenkimal hücre fenotipine dönüşebilmeleridir. Tüm bu olaylar sonucunda glomerülosklero, interstisyel yoğun fibroz, tübüler atrofi ve parankim kaybıyla böbrek yetmezliği oluşur (223).

2.2.2.14 TGF- β

TGF- β , glomerüler hipertrofi ve skleroza yol açan mediyatörlerin bulunduğu ortak noktadır ve hemen hepsi glukoz dâhil TGF- β 'yi aktive ederler (210). Profibrotik faktörleri artırıp antifibrotik faktörleri azaltıcı etkisi belirgindir. Hücre hipertrofisine yol açar. ACE inhibitörleri, TGF- β düzeyini düşürmektedir. Bazı hayvan modellerinde anti-TGF- β tedavisi, çoğu diyabetik nefropati bulgularını engellediği hâlde albüminüriyi engelleyememiştir. Bu bulgu “Prosklerotik ve hipertrofik etkiler TGF- β etkisiyle gelişir fakat proteinüri, TGF- β 'dan ziyade, podositlerden salınan VEGF etkisiyle gelişir.” şeklinde yorumlanmıştır (253).

2.2.3 DN Tamı

DN, idrar albumin atılımı (İAA) ve GFR dikkate alındığında, klinik olarak üç değişik biçimde ortaya çıkabilir (254,255).

- 1) İAA artmış, GFR stabil seyreden grup
- 2) İAA artmış, GFR azalan grup
- 3) İAA normal, GFR azalan grup

DN, “tipik” olarak, albuminüri evresini izleyen GFR düşüşü şeklinde olur. Fakat T1D ve T2D hastalarının yaklaşık %25’inde tipik seyir görülmez, bu hastalar “atipik” biçimde karşımıza çıkarlar. Normal İAA ve azalmış GFR. Olayı “atipik” yapan ikinci şey, GFR düşüşüne eşlik eden glomerüler lezyon olmaması veya minimal olmasıdır. “Atipik tablo” yönünden, T1D ve T2D hastaların arasında bir fark gözlenmektedir. T1D hastalarında, “düşük GFR, normoalbuminüri” durumunda bile glomerüllerde diyabetik hasar görülmektedir fakat T2D hastalarında glomerüler lezyonlar değil, tübülointerstisyel lezyonlar tabloya hâkimdir (256). “Tipik” olarak adlandırılan DN bulguları, klinik ve patolojik korelasyonlar çoğunlukla T1D hastalarından elde edilen bulgulara dayanır. Yapı-fonksiyon ilişkisi T2D hastalığında daha az çalışılmıştır (211). Histopatolojik bulgulara karşılık gelen klinik bulgular, T1D ve T2D hastalarında her zaman paralellik göstermemektedir. Örneğin; mikroalbuminürisi olan 34 T2D hastanın histopatolojik incelemesinde sadece üçte bir hastada Tip 1 diyabette görülen tipik bulgular görülmüştür. Hastaların üçte birinde ışık mikroskopisi normal, geri kalanlarda (%40) "atipik hasar" biçimleri (Diyabetik glomerüler hasar az veya hiç yok, ama buna karşılık ağır

tübülointerstisyel lezyona eşlik eden arteriolar hyalinosis veya global glomerüloskleroz) görülmüştür (257).

Diabetik nefropatiden şüphelenildiği takdirde yapılması gerekenler; İAA, GFR, arteriyel kan basıncı ölçümleri ve retinopati muayenesidir. Alternatif tanıların dışlanmış olması ve diyabetik retinopati varlığı tanıyı doğrular. Diyabetik retinopati T1D hastalarının tamamında, T2D hastalarının yaklaşık %60'ında saptanır. Mikroalbuminüri evresinden sonra, arteriyel hipertansiyon sık izlenen bir bulgu hâline gelir. Atipik durumlarda histopatolojik incelemeler gerekebilir (223). Yaygın kabul gören sınıflamaya göre İAA üç kategoriye ayrılmıştır:

1.Normal → İAA <30 mg/gün

2.Mikroalbuminüri → İAA 30-300 mg/gün arasında

3.Makroalbuminüri → İAA >300 mg/gün

İdrar albumin atılımının 30-300 mg/24 saat olacak şekilde artması mikroalbuminüri olarak bilinmektedir. DN tanısı koyduracak bir bulgu değildir. Fakat persistan mikroalbuminüri DN gelişimini tahmin etmede oldukça güçlü bir parametredir. Glisemik kontrolün iyileşmesiyle albumin atılımı da düzelebilmektedir. Diyabetik bir hastada hipertansiyon, obezite, ağır egzersiz ve kalp yetmezliği gibi klinik durumlarda da albümin atılımı artabilmektedir.

Ardışık olarak bakılan üç steril idrar örneğinin ikisinde albümin tespit edilmesi, persistan albüminüri olarak tanımlanmaktadır. Kolaylık açısından, sabah erken saatte bakılan spot idrar albümin ve kreatinin değerlerinin tayin edilmesi yeterli görülmektedir. Spot idrar örneğinde albumin/kreatinin oranının 30-300 mg-albumin/mg-kreatinin olması mikroalbuminüri olarak tanımlanmaktadır (223).

2.2.3.1 DN Biyokimyasal Markerlar

Kreatinin

Kreatinin kas kreatin fosfatının bir yıkım ürünüdür. Genellikle vücut tarafından kas kitlesine bağlı olarak oldukça sabit bir hızda sürekli üretilir [430]. Kreatinin böbrek fonksiyonunu değerlendirmede yaygın olarak kullanılır. Amerikan Ulusal Böbrek hastalığı eğitim programı, glomerüler filtrasyon oranını, serum kreatinin konsantrasyonunu ölçerek hesaplamayı öneriyor [432]. Kreatinin klirens testi böbrek hastalıklarının ilerleyişini izlemek

için kullanılır. Böbrek yetmezliği tanısı genellikle serum kreatinin "normal" aralığın üst sınırının üzerinde düşünülür. Kronik böbrek yetmezliği ve üremide, glomerül ve hem de tübüllerde kreatinin atılımında azalma olur [433].

Üre

Üre, protein ve amino asit katabolizmasının son ürünü olan majör azottur. Karaciğer tarafından üretilir ve tüm hücre içi ve hücre sıvı boyunca dağılır. Böbreklerde üre glomeruller tarafından filtre edilir ve kısmen tekrar su ile beraber emilir [431]. Böbrek fonksiyonunu tahmin etmek için en sık belirlenen klinik endeksler serumda üre konsantrasyonuna bağlıdır. Akut böbrek yetmezliği ve böbrek hastalığının diferansiyel tanısında kan üre azot – kreatinin oranının artan [434] üre klirensi, glomerüler filtrasyon oranının kötü bir göstergesidir ve üretim hızı çeşitli böbrek dışı faktörler; diyet ve üre döngüsü enzimlerine de bağlıdır. Artmış kan üre azot (BUN) böbrek hastalığı veya böbrek yetmezliği, böbrek taşı, konjestif kalp yetmezliği, dehidratasyon, ateş, şok ve sindirim sisteminde kanama ile idrar yolu tıkanıklığı ile ilişkilidir. BUN seviyesinin normalden yüksek değerleri (İnsanda 100 mg/DL) şiddetli böbrek hasarının göstergesidir. Düşük seviyelerde BUN ise travma, cerrahi, opioid, beslenme ve anabolik steroid gibi damar dışına sıvı kaçışlarında görülür [435].

2.2.3.2 GFR azalması

DN tablosu yerleştikten sonra GFR azalması kaçınılmaz bir süreçtir. Buna karşılık başlangıç safhasında, T1D hastalarının yaklaşık üçte birinde GFR artışı tespit edilmektedir. T2D başlangıç safhası çoğunlukla belirlenemediğinden başlangıç safhasındaki GFR artışı belirgin olmayabilir. GFR yükselmesi sadece başlangıç aşamasında görülen bir durum değildir. Metabolik kontrolün bozulduğu dönemlerde de görülür ve yoğun insülin tedavisiyle günler-haftalar içinde normale döner (211).

2.2.3.3 Histopatolojik Sınıflandırma

Glomerül lezyonlarının Klasifikasyonu

Klass I: Glomerüler Basal Membranı Kalınlaşması

Biyopsi örneğinde patoloji yok veya hafif ya da non spesifik değişiklikler var ancak sınıf II-IV arasındaki kriterleri karşılamıyorsa, EM ile doğrudan ölçümlerde glomerüler bazal membranı (GBM) ortalama olarak 9 yaş ve üzerindeki erkeklerde 430 nm den daha yüksek veya daha kalın, kadınlarda ise 395 nm den daha kalın ise class I olarak değerlendirilir (325). GBM kalınlığı, normalde yetişkin erkekler için 520 nm kadınlar için 471 nm'dir (326).

GBM kalınlaşması Class-I (327-329) ve Class-II DN (113) için karakteristik erken dönem değişikliğidir ve hastalık süresi ile birlikte artar (330). GBM kalınlaşması, Tip IV ve VI kollajen tipleri, laminin ve fibronektin gibi normal ekstraselüler matriks komponentlerinin artan birikimi ve depolanımı sonucu oluşur (331,332).

Sözkonusu proteinlerin artan üretimi, yıkımlarının azalması veya her iki nedenle basal membran ve mesangiumda birikim meydana gelir. Normoalbuminürik T1D hastalarında GBM kalınlaşması halihazırda mevcut olabilir (329,330).

GBM kalınlaşması geçmişte "prediyabetik" lezyon olarak tanımlanmıştır. Yapılan bir araştırmada proteinüri ve izole GBM kalınlaşması olan fakat belirgin diabeti olmayan kişilerde biyopsi sırasında diabet; kan testinde %20 pozitif iken %44 altı ay içinde, %70 de biyopsi yapıldıktan 2 yıl sonra diyabet teşhisi konmuştur (333). Uzun süreli glukoz kontrolü ve idrar albumin atılımının, (İAA) GBM kalınlaşması ile güçlü bir korelasyonu vardır (334).

Klass II: Mesangial Genişleme

Hafif mesangial genişleme (klass IIa)

Şiddetli mesangial genişleme (klass IIb)

Klass-II, hafif veya şiddetli mezangial genişlemesi olan ve klass III ve IV kriterlerini karşılamayan hastaları kapsar. Başlarda bu evre için "Diffüz diyabetik glomerüloskleroz" terimi kullanıldı. Mezangial genişleme, mezangiumdaki extrasellüler materyaldeki artışı tanımlar. Mesangial aralığın (interspace) genişliği en az iki glomerüler lobülde iki mesangiyal hücre çekirdeğini aşar. Hafif ve ciddi mesangial genişleme arasındaki fark genişlemiş mesangial alanın kapiller lümen alanı ortalamasına göre daha büyük veya daha az olmasına

bağlıdır. Yapılan biyopside şiddetli mesangial genişleme total mesangiumun %25'inden fazla görülürse biyopside Klass-IIb olarak sınıflandırılır. Mesangial genişleme toplam mezangiyumun %25'inden daha az ise biyopsi sonucu Klass-IIa olarak değerlendirilir. Mezangium içerisindeki hücrel ve matriks bileşenlerinin genişlemesi Tip 1 ve Tip 2 Diabetik Nefropatinin esas özelliklerini oluşturmaktadır (322,237). T1D hastalarında, hastalık başlangıcından sonra birkaç yıl içinde gözlenebilir (329). Mezangium genişlediğinde, glomerüler kılcal damarları kısıtlar ve üzerinde baskı, gerilme ve deformasyon yaparak kılcal filtrasyon yüzeyini azaltır.

Class III: Nodüler Glomeruloskleroz

(Kimmelstiel-Wilson lezyonları).

En az bir Kimmelstiel-Wilson lezyonu var ve buna ek biyopsi örneğinde %50 veya daha az global glomerüloskleroz var ise Klass-III DN olarak değerlendirilir. Kimmelstiel-Wilson lezyonları T1D ve T2D hastalığının ikisinde de bulunur. Fokal, lobüler tarzda oval mesangial lezyonlardır.

Asellüler, hyalin/matrix çekirdeği, periferinde seyrek, hilal (crescent) şeklindeki mesangial çekirdeklerce çevrelenmiş bir yapı arzeder (341). Nodüler sklerotik lezyonlar spesifik değildir, klinik olarak hipertansiyon, sigara içimi, hiperkolesterolemi ve ekstrarenal vasküler hastalıklar ile ilişkili olabilir. Diabetik nefropatide nodüler sklerotik lezyonlar gelişmeye başlarken ilk aşamada iki önemli olay gerçekleşir. Mezangial bölgede mesangiolisis ve glomerul basal menbrandan endotel hücrelerinin ayrılması gibi litik değişiklikler gerçekleşir. (346) Kimmelstiel-Wilson lezyonlarında parçalanmış kırmızı kan hücreleri, mikrovasküler hasarın bu lezyonların patogeneze katkıda bulunduğunu gösterir. Endotel hücrelerinin ayrılması mesangial bölge ve GBM arasındaki bağlantıları bozar. Bu süreç, Kimmelstiel-Wilson lezyonunun genişlemesinden önce gelmektedir (346). Bu lezyonlar kollajen fibriller içeren mesangial matriks küçük lipid parçacıkları ve hücrel artıklardan oluşur (348). Tamamen gelişmiş bir Kimmelstiel-Wilson lezyonu özellikle merkez alanda mesangial hücreleri azaltarak glomerüler nodülün normal yapısını tahrip eder (346).

Kimmelstiel-Wilson'un konumunun analizinde kullanılan grafi temelli bir yöntemde (1992) lezyonların, hiperfiltrasyonun bu lezyonların gelişiminin ana nedeni olma olasılığını dışlayan bir tarzda, nodüllerin periferik veya intralobular mesangiuma karşılık gelen atnalı biçimli bir alanda dağıldığı bulguları (349). En az bir Kimmelstiel-Wilson lezyonunun varlığı, daha uzun süre diyabet süresi ve daha az elverişsiz klinik parametreler ile doğru

orantılıdır (319,350). T2D hastası 36 kişinin incelenmesi, Kimmelstiel-Wilson lezyonlu hastaların sadece mesangial lezyonu olan hastalara göre daha ağır retinopati ve daha yüksek serum kreatinin konsantrasyonlarına sahip olduğu gözlemlenmiştir (319). Bir çalışmada Tip 2 diyabetli hastalarda, en az bir Kimmelstiel-Wilson lezyonunun bulunması, nispeten daha uzun bir diyabet süresi, kötü prognoz ve daha sık diyabetik retinopati bulguları ile pozitif korelasyonu gözlemlenmiştir (350). Kimmelstiel-Wilson lezyonları genellikle mesangial genişleme ile kombine halde bulunur.

Klass IV: İleri Diabetik Glomerüloskleroz

Klass-IV, ileri derece DN olarak tanımlanır. Sklerozun DN ile ilişkili olduğuna yönelik klinik veya patolojik kanıt varsa biyopside %50'nin üzerinde global glomerüloskleroz klass-4 olarak değerlendirilir.

Diabetik nefropatide glomerüloskleroz, mesangial alanda kolajen Tip I, III, IV ve fibronektin gibi hücre dışı matriks proteinlerinin aşırı birikimine yol açan çok faktörlü mekanizmaların son noktasıdır. Mesangial genişleme aşamaları ve Kimmelstiel-Wilson nodülleri, glomeruloskleroz ile sonuçlanır (352). Böbrek yüzeyinde dikey sütun şeklinde sklerotik lezyonların kümelenmesi interlobüler arterler ile ilişkili vasküler faktörlerin glomeruloskleroza katkıda bulunduğunu gösterir (353). Tubulointerstisyel lezyonlar, vasküler lezyonlar, diyabetik olmayan glomerüler lezyonlar ve tübüler lezyonlar görülür.

Non-atrofik tübüllerdeki tübüler bazal membran kalınlaşması, klass-II glomerüler diyabetik lezyonlarda belirgindir. Klass III ve IV de daha belirgin hale gelir. Histopatolojik olarak en iyi PAS veya gümüş boyalarla görülebilir. İntersitisyel fibroz ve tübüler atrofi (IFTA) Tip 1 Diabette glomerüler değişiklikleri takip eder ve nihai olarak SDBY tablosuna ilerler (339). IFTA, toplam intersitisyum ve tübüler biopsi alanının yüzde 100 toplamı ele alınarak değerlendirilir.

Yapılan biopside;

Skor 0: Alınan örnekte IFTA'nın görülmediği anlamına gelir.

Skor 1: IFTA'nın % 25'inden az olduğunu,

Skor 2: Biopsinin en az %25'inde IFTA var ancak %50'yi aşmamıştır.

Skor 3: En az %50 IFTA mevcut olduğunu tanımlar.

İntersitisyumda mononükleer hücrelerin varlığı Diabetik nefropatide çok yaygın ve tanımlayıcı bir bulgudur. İnflammatuar intersitisyel infiltratlar, T lenfositler ve makrofajlardan

oluşur (354). İntersitisyel infiltrasyon hücreleri yoksa, score 0 sadece atrofik tübüller çevresinde var ise score-1 ve inflamatuvar infiltratif hücreler aynı zamanda atrofik tübüllerden başka alanlarda da mevcutsa score-2 olarak değerlendirilir.

Vasküler Lezyonlar

Stout ve diğerlerine göre efferent arterioldeki hyalinozis DN için nispeten spesifiktir ancak afferent arteriolar hyalinozis başka birçok durumda görülür (355). Kronik siklosporin nefropatisi, DN (358) dışındaki nedenlerin meydana getirdiği arteriolar hyalinozise tipik bir örnektir (356). Tracy ve arkadaşları koroner kalp hastalıklı genç hastaların böbreklerinde arteriolar hyalinozis varlığını da rapor ettiler (357). Efferent arteriolar hyalinozis, DN'nin hipertansif nefropatiden ayırt edilmesine yardımcı olan önemli bir lezyondur (358). Ancak, çoğu araştırma arteriolar hyalinozisi efferent ve afferent arterioller arasında ayırım yapmadan klinik parametrelerle ilişkilendirir. Yani klinik çalışmalarda arteriolar hyalinozis üriner albumin atılımı ve hastalığın progresyonu ile açık bir korelasyon gösterir (359,360).

Arteriyolar hyalinoz yoksa score-0,

Hyalinoz bir arteriolde mevcut ise score-1

Tüm biyopside birden fazla arteriolde hyalinoz izlenirse score-2'dir (354).

Vasküler lezyonların şiddeti glomerüler hasarın şiddeti ile koreledir (354). Bir grup araştırmacı yaptıkları çalışmada "matrix to media ratio" olarak tanımladıkları oranı kullanarak arteriosklerozun rolünü çalıştılar. Mikroalbuminüri olan hastalarda bu oranın artışının, DN'nin erken safhalarında arteriolar matriks birikiminin gerçekleştiğinin göstergesi olarak rapor ettiler (361).

Biyopside:

Score 0: Hiçbir intimal kalınlaşma mevcut değil,

Score 1: İntimal kalınlaşma medial kalınlaşmadan daha az

Score 3: İntimal kalınlaşma medial kalınlaşmadan daha fazladır.

İzole veya anlamlı medial kalınlık eş zamanlı hipertansiyon ile ilişkili olabilir.

1994 yılında tanımlı "insudatif lezyonlar "olarak kabul edilen, plazma proteinleri ve lipidleri muhtemelen böbrek arteriollerinin lümenine glomerüler kılcal damarlara, bowman kapsülü veya proksimal kıvrılmış tübüllere emen intramural birikimleri tanımlandı (255). Stout et al. Bowman kapsülündeki insudatif lezyonlara kapsüler drop lezyonlar denir. Gerçekte ve

afferent ve efferent arteriollerdeki hiyalinizasyona karşılık gelir. Glomerüller kılcal damarlarda bu lezyonlar fibrin kapak lezyonları olarak adlandırıldı ancak isimlendirmenin aksine fibrin içermez. Hyalinosis terimi bu lezyon için daha doğru bir terimdir. Kapsül drops lezyonları parietal epitel ile glomerulusun bowman kapsülü arasında bulunur (320). Kapsüler damlalar DN ileri evrelerinde yaygındır (362) ve hastalığın progresyonu ile koreledir. (154) Kapsüler damlalar DN için spesifiktir fakat tamamen patognomonik değildir (358). Kapsüler drop lezyonlar, diyabetsiz nefropatilerin biyopsilerinde sadece %5,3 oranında görülür, bu da biyopside görülen kapsüler dropun DN'yi diğer glomerüloskleroz nedenlerinden ayırt etmede kullanılabileceğini gösterir (355). Son olarak, glomerülo-tubuler kavşaklarda bulunan anormal fokal adhezyonlarda artış vardır. Bunlara "Tip lezyonları" denir. Ayrıca atrofik tübüller ve atubüler glomeruller görülür. Bu lezyonlar tipik olarak nefropatinin ileri evrelerinde vardır ve aşikar proteinüri ile ilişkilidir (339).

2.3 ADİPOKİNLER

Adipoz doku hücreleri olan adipositokinler, birçok protein yapıda madde sekrete eder. Bunlar yağ dokusunun durumu hakkında beyin ve diğer organlara bilgi sinyalleri taşır. Bu adipokinler yakın ve uzak organlar üzerinde parakrin, otokrin ve endokrin etkilerde bulunur. Adipositokinlerin disregulasyonu metabolik hastalıklar ve kardiyovasküler problemler üzerinde nedensel bir rol oynar.

Bazı adipokinler anti-inflammatuar rol oynarken (Omentin, Apelin, Adiponektin) bazıları da pro-inflammatuar etkilidir ve kardiyovasküler fonksiyon üzerinde negatif etkileri vardır. (Leptin, Visfatin, AFABP) Enerji homeostasisinde, glukoz ve yağ metabolizmasında, termogenezin kontrolünde, endokrin ve immün sistem işlevlerinde, kardiyovasküler sistem üzerinde gerçekleştirdikleri etkiler ve üstlendikleri roller vardır.

Parakrin yolla veya endoteli etkileyerek vasküler damarlar üzerine direkt etkileyerek kardiyovasküler sistemde etkiler yaratırlar. Plazma ve doku adipokin miktarı, vücut adipoz doku kitlesi ile orantılıdır (398).

Yukarda değinildiği gibi adipokinler, pro-inflammatuar ve anti-inflammatuar adipokinler olarak ikiye ayrılabilir.

Perivasküler adipoz dokudan salınan adipokinler genelde parakrin etkilere sahiptir. Perivasküler adipoz doku (PVAD), kan damarları düz kas hücrelerinin proliferasyonu ve

migrasyonunda da rol alır. Bu süreç bazı adipokinlerin gösterdiği olası parakrin etkilerden biridir (399,400). Vasokonstriksiyona cevap olarak, PVAD adipositleri, adipokin serbestleyerek bitişikteki kan damarları düz kas hücreleri üzerinde anti-kontraktıl etkide bulunurlar.

Visceral obez hastalarda, yüksek plazma renin aktivitesi ile renin-anjiyotensin-aldosteron-sistem up-regulasyonu ve yüksek aldosteron miktarları rapor edilmiştir (402). Kilo kaybını takiben bu hormon düzeyleri normale döner. RAAS sisteminin, anjiotensinojen gibi bazı komponentleri adipoz doku kaynaklıdır (402).

Renin-anjiyotensin-aldosteron sisteminin; ACE inhibitörleri, ARB ve spironolakton ile bloke edilmesi hipertansiyonun ve kongestive kalp yetmezliğinin tedavisinde temel yaklaşımlardan biridir.

Bazı çalışmalar adipositlerde bulunan mineralokortikoid reseptörlerinin, inflammatuar sitokinlerin ifade edilmesini teşvik ettiğini ve mineralokortikoid ve glukokortikoidlerin pro-adipojenik etkisini kolaylaştırdığını ortaya koydu (403). Bu reseptörlerin deneysel çalışmalarda inhibe edilmesi ile proinflammatuar faktörlerin ekspresyonunu azalttığı ve adiponektinin, kalp ve adipoz dokuda, ifadesinde artışa yol açtığı görüldü (403). Adipoz doku, aldosteron ve glukokortikoid salınımına yol açan ancak henüz tanımlanmayan bir çeşit mineralokortikoid salıcı faktör salgılar. Bu iki hormon adiposit üzerindeki reseptörler aracılığıyla etki meydana getirir. Adipogenez ve potansiyel makrofaj infiltrasyonu da proinflammatuar etki gösteren adipokinlerin etkisinin oluşumunda önemli faktörlerdir (403).

Subkutan adipoz dokunun (SCAT) daha yoğun olduğu obezite, visceral adipoz dokunun (VAD) öne çıktığı obeziteye göre kardiyovasküler risk oluşturmaya daha eğilimlidir. Subkutan adipoz doku (SCAT); insülin sensitivitesinin gelişmesi, lipid parametreleri ve sitokin profililine yönelik Visceral adipoz dokunun (VAD) ön planda olduğu obeziteye göre daha fazla ilişkili bulunmuştur. Bozulmuş vücut yağ dağılımının şiddetli durumları olan konjenital ve kazanılmış lipodistrofi formları, periferik yağ dokusunun kaybı veya gelişim eksikliği ayrıca yağ dokusunun abdominal olarak biriktiği durumlarda bu tanıyı almış hastalar, genç yaşta ateroskleroz ve KVVH gelişimine daha eğilimlidirler. Bu hastalarda insülin direnci, diyabet, hiperlipidemi, hepatosteatoz, hipertansiyon, kardiyak hipertrofi; nisbeten daha erken bir yaşta görülür ve adiponektin ve leptin düzeyleri çok düşüktür (404). Bu tür bireylerde Leptin verilmesi; metabolik kontrolün gelişmesi, gıda alımında azalma, glukoz, serbest yağ asidi,

trigliserid düzeyinde azalmaya yol açmıştır (405). Hepatosteatoz neredeyse kaybolmuş, KC ve kas dokusu insülin sensitivitesi önemli düzeyde gelişim göstermiştir (401).

Yağ dokusu ağırlıklı olarak adipositlerden oluşsa da (Toplam hücre sayısının %50'lik kısmı) (404) lenfositler dahil olmak üzere yağ dokusundaki diğer hücre tipleri, makrofajlar, fibroblastlar ve vasküler hücreler gibi işlevsel durumunun kontrolünde önemli rol oynamakta olan hücreler de geri kalanı oluşturur. Obez kişiler zayıf olanlara kıyasla yağ dokusunda daha fazla makrofaja sahiptirler. Yüksek düzeyde proinflatuar adipokinler (rezistin, IL-6, TNF- α) ve buna karşılık düşük düzeyde adiponektin ve apelin seviyelerine sahiptirler (406).

Zayıf insanlar küçük hacimde adipositlere, obez bireyler ise lipid birikiminden dolayı büyük hacimli adipositlere sahiptirler. Adipositlerin büyüklüğü onların metabolizma hızlarını etkiler. Büyük adipositler düşük insülin duyarlılığına sahiptirler. Adipoz dokunun yüksek makrofaj oranı da insülin direnci ile ilişkilidir.

Çoğu proinflatuar adipokinler insülin direncinin gelişimi ile yakından ilişkilidir ve bunun kalp kası da dahil olmak üzere çeşitli organlar üzerinde geniş etkileri vardır (407). Obezite ve insülin rezistansı karaciğerde lipidogenezin yükselmesine yol açar. Adipositlerde ise lipolizin yükselmesine neden olur.

2.3.1 Adiponektin

Adiponektin, bir adiposit spesifik faktördür. İlk defa 1995 yılında keşfedildi ve son iki dekatta çok sayıda çalışma adiponektinin obezite, diabetes, inflamasyon, ateroskleroz ve KKH'daki fizyolojik fonksiyonlarını aydınlatıcı belgeler sundu. Adiponektin, karaciğerde glukoz üretimini supprime eder, iskelet kasında yağ asidi oksidasyonunu artırır. Bu durumlar vücut enerji homeostasisi için yararlı metabolik etkiler ortaya çıkarır. Metabolik etkilerinin ötesinde adiponektin, apoptozisden koruyucu bir etkinlik gösterir. Reseptör bağımlı mekanizma ile çeşitli hücrelerde inflamasyonu geriletir (Anti-inflatuar etki). Adiponektin bir yağ dokusu türevi hormon olarak, adipoz doku ve diğer organlar arasındaki iletişimde de önemli bir mesajcı rolünü yerine getirir.

Değinildiği gibi adiponektin, bir yağ asidi türevi hormondur. Adipoz doku ve metabolizma ilişkili diğer organlar arasındaki iletişimde mesajcı rolü üstlendiğinden ilgi çeken bir hormon olmuştur. Metabolizma Topluluğu tarafından, adipokin etkinliğinin moleküler mekanizmasını belirlemek için bu molekül üzerindeki çalışmalara son iki dekatta yoğun çaba

sarfedilmiştir. Adiponektin, karaciğeri, kalbi, pankreatik- β hücrelerini, böbrekleri, potansiyel kasları ve çeşitli dokularda diğer hücre tiplerini hedef alır.

Adiponektin, glikoz üretiminde rol oynayan genleri inhibe ederek hepatik glukoneogenezisi güçlü bir şekilde bastırır. Anahtar metabolik dokulardaki yerel etkisiyle, insülin duyarlılığını artırır ve bu nedenle vücut enerji homeostazisi üzerinde geliştirici rolü vardır. Çeşitli hücrelerdeki patolojik olaylara karşı güçlü protektif etkide bulunur. Hücre ölümünü supprime eder, inflamasyonu inhibe eder ve hücre sağ kalımını artırır.

Adiponektin reseptörlerinin belirlenmesi adiponektin işlevlerini tanımlama çabalarını kolaylaştırmıştır. Hem adiponektinin ve hem de reseptörlerinin kristal yapıları çözülmüş ve bu durum moleküler mekanizmaların daha iyi anlaşılmasına yönelik bütüncül bir görüş açısı sunmuştur. Adiponektin mimetiklerinin yapısal rehberli tasarımını da mümkün kılan diyabet, ateroskleroz ve kardiyovasküler hastalıklar üzerinde potansiyel olarak güçlü etkileri olan bunun da ötesinde adiponektinin araştırılmasında ortaya çıkan temel hücresel mekanizmaların aydınlatılması aynı zamanda adipoz dokunun önemli bir endokrin organ şeklinde de hizmet ettiği konseptinin oluşturulmasına yardımcı oldu (Scherer, 2006; Deng ve Scherer 2010).

Adiponektinin Keşfi

Adiponektin ile ilgili ilk rapor 1995 yılında yayınlandı (Scherer et. al. 1995). O zaman 30 kDa ağırlığında adiposit complement ilişkili protein, (Acrp30) adiposit-spesifik genler içinde zenginleştirilmiş bir subtractive cDNA kütüphanesinden teşhis edildi (Scherer ve diğerleri, 1995). Fare adiponektini; bir N-terminal sinyal sekansı olan 247 amino asitli polipeptid kodlar ardından bir aşırı değişken bölge, bir kollajen etkili 22 G-X-Y tekrarı ve bir globüler alandan oluşur. Protein seviyesinde, adiponektinin C-terminali globüler alanı, komplement faktör C1q alt birimlerine çarpıcı benzerlikler gösterir bu nedenle orijinal adı Acrp30 olarak seçilmiştir. Adiponektinin özellikle yağ dokusunda expresse edildiği ve doku ve doku kültüründe adipositleri tamamen diferensiye ettiği keşfedildi (Scherer et al. 1995).

Adiponektin, türe özgü aşırı değişken bölgesine karşı yükseltilmiş bir antikor kullanmak suretiyle fare serumu içinde kolaylıkla saptanabilir. Bu antikor insan, tavşan veya buzağı kökenli adiponektin ile çapraz reaksiyona girmez, dahası 3T3-L1 adipositlerinin insülin ile inkübasyonu 60 dakika içinde adiponektinin serbest bırakılmasının artmasına yol açar. Bu durum insülinin veziküllerde regüle edilen adiponektini tetikleyebileceğini gösteriyor.

İki boyut fraksiyon analizi ve kimyasal çapraz bağlama ölçümleri, doğal adiponektinin çoklu kompleksler halinde bulunduğunu gösteriyor. Alt birimlerin birbirleriyle nasıl kompleksler oluşturduğuna bağlı olarak adiponektinin biyokimyasal özellikleri farklı şekilde etkilenebilir. Benzer şekilde, Spiegelman ve arkadaşları fare adiponektinini bir mRNA diferansiyel görüntü analizinden tespit ettiler.

Adiponektin transkripsiyonu ve translasyonunun kuvvetli bir şekilde adiposit farklılaşması ile indüklendiği kesin bir şekilde ortaya kondu (Hu ve ark., 1996). Ayrıca adiponektin için mRNA seviyeleri obez fare yağ yastıklarında, kontrol gurubuna göre dramatik olarak bastırılmıştır. Buna karşılık, aP2, gibi başka bir adiposit-spesifik gen, bu koşullar altında etkilenmez. Bu erken çalışmalarda çok sayıda kanıt gösteriyor ki, adiponektinin vücut enerji homeostasisinin düzenlenmesinde rolü vardır. 1996'da iki Japon grup insan homologunu farklı yaklaşımlar kullanarak rapor ettiler (Maeda ve ark. 1996).

Bir insan yağ dokusundan alınan cDNA kütüphanesi inşa ettiler. Adiponektini, en bol transkripte olan gen olarak tespit ettiler. En bol transkript olan adipoz doku geni olarak adlandırdılar. Adipose most abundant gene transcript 1 (apM1) (Maeda ve diğerleri, 1996). Benzer şekilde kemirgenlerdeki bulgulara göre (Northern blotting) adiponektin, insan yağ dokusunda oldukça zengin halde bulunur.

Diğer bir çalışmada, (Nakano ve ark.1996) jelatin bazlı afinite kromatografisi ile adiponektin insan plazmasından izole edildi ve protein dizilimi tesbit edildi. Scherer ve diğerlerinin kemirgenlerdeki bulguları ile tutarlı sonuçlara ulaşıldı (1995). Nakano ve diğerleri, adiponektinin farklı molekül ağırlıkları olan çoklu kompleksler olarak var olduğunu gösterdiler (1996).

Biyokimyasal Özellikleri

Fare adiponektini 247 amino asidi içerir ve bunlar Jel elektroforezi ile 30 kDa'da göçeder (Scherer ve arkadaşları 1995). Hiper değişken bölgeye karşı poliklonal antikorlar, N-bağlı karbonhidrat modifikasyonu olan küçük bir üst bantlı, ana bant tanır. Adiponektin, plazmada mg/L seviyelerinde bulunur ve ng/ml seviyelerinde seyir gösteren konvansiyonel hormonlarla (İnsülin ve leptin) karşılaştırıldığında seviyesi fazladır (Pajvani ve diğerleri, 2003).

Adiponektin seviyeleri güçlü bir seksüel dimorfizm gösterir. Kadınlarda ortalama olarak erkeklerde görülen düzeylerin iki katıdır. Erken perinatal dönemde testosteronun etkisi

ile bu farklılığın meydana geldiği düşünülüyor (Combs ve ark. 2003). Adiponektinin doğal yapısı, denatürasyon ve redüksiyon koşulları altında sodyum dodesilsülfat-poliakrilamid jel elektroforezinde (SDS-PAGE) basit bir görünüme kadar indirgenmiştir.

Hız çökeltme santrifüjü ile adiponektinin hexamer ve yüksek moleküler ağırlıklı bir form olmak üzere iki kompleksten oluştuğu bulgalandı (Pajvani ve diğerleri, 2003.) Daha sonra boyut fraksiyonlamaya yönelik daha rafine bir yaklaşımla, doğal adiponektinin üç kompleksten oluştuğu tanımlanmıştır. Bu gözlemler yapılan değişik çalışmalarda daha da ayrıntılandırıldı (Waki ve diğerleri, 2003; Schraw ve ark., 2008). Her ne kadar farklı komplekslerin isimlendirilmesi ve terminolojisinde ayrı yayınlarda farklılıklar arzetsse de genel bulgular tamamen tutarlıdır.

Adiponektinin Yapısı

1998 yılında Shapiro ve Scherer, adiponektinin yüksek çözünürlüklü yapısını çözdü "Hiper değişken bölgenin ve kollajen bölgenin kristalleşmesindeki zorluk sebebi ile C-terminali globuler alanı seçtik, daha fazla karakterizasyon için adiponektinin tersiyer yapısı, TNF ailesi ile şaşırtıcı benzerlikler ortaya koymaktadır "(Shapiro ve Scherer, 1998).

Adiponektin yapısı, üç özdeş monomere ait trimer olarak asimetrik bir yapı gösterir. Birincil amino asitle bir homoloji olmamasına rağmen birçok yapısal özellik TNF ailesi üyeleri için kristal yapılara üstüste bindirilebilir. Adiponektin globüler alanının trimer yapısı, yapının tabanında bulunan su moleküllerini hariç tutan merkezi bir hidrofobik arayüz ile stabilize edilir. Kollajen kolu, trimer yapısının tabanından çıkması öngörülmüştür diğer yandan apex kısmı reseptör ile direkt olarak etkileşen hidrofilik ara yüzüdür.

Adiponektinin C1q ailesi ve TNF ailesi ile olan benzerliği, evrim sırasında ortak bir ilkel molekülden ortaya çıkmış olabileceklerini gösterir. Birden çok laboratuvarından yapılan çalışmalar, trimerik adiponektinin karaciğer glikoneogenezini baskılayarak glikozu düşürebileceğini göstermiştir (Pajvani ve ark. 2003). Ayrıca trimerik adiponektinin yarılanma ömrü komplekslerin yüksek sıralamasından çok daha kısadır. Bu bulgular hücre yüzeyine bağlı redüktazın adiponektin reseptörleri ile birleşik olmasına bağlı olabilir. MMW veya HMW adiponektin ilk olarak trimere indirgendi daha sonra alıcıya karşılık gelen biyolojik işlevi öte yandan HMW'nin buket şekli, adiponektin kompleksi oligomerize edici reseptörler için ek yeni arayüzler oluşturabilir. Adiponektinle yüzeyel etkileşen partnerlerini belirlemek için daha ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

Fizyolojik rolü

2001 yılında, ilk kez iki önemli makale adiponektinin fizyolojik rolünü ortaya çıkardı ve adiponektinin diyabet tedavisine yönelik potansiyel bir terapötik olarak vurgulandı (Berg ve diğerleri 2001; Yamauchi ve diğerleri 2001).

Bakteriyel olarak ekspresse edilen molekülde, posttranslasyonel modifikasyonun olmamasından dolayı meydana gelebilecek komplikasyonlardan kaçınmayı amaçlayarak, bir memeli sisteminden doğal adiponektin saflaştırıldı (Berg ve diğerleri, 2001).

Memelide üretilen adiponektin, üç kompleksi de barındırır ve etki olarak plazma adiponektini gibi davranır.

Adiponektinin fizyolojik rolünü öğrenmek için vahşi tip (WT) C 57/BL6 farelerine enjekte ettiler. Bu durum 2 saat içinde dolaşan adiponektinde 4 kat artışı tetikledi. Uygulamadan 4 saat sonra kan glukoz düzeylerinde bir düşüş gözlemlendi ve bu azalma, plazma insulin düzeyleri ile ilişkili değildi. Adiponektin hem TipII diyabetik farelerde (örn. Ob/ob fare) hem de tipik diyabetik farelerde glukoz düşürücü etkiler ortaya çıkarır.

NOD fare ve Streptozotosin ile tedavi edilen fare modellerinde elde edilen bulgular, adiponektinin insülin seviyelerinden bağımsız olarak glukoz üretimini inhibe ettiği ve glukoz asimilasyonunu uyardığını ortaya koydu. Bir in vitro "glukoz üretim testi" kullanarak, adiponektinin glukoneogenezi baskıladığı gözlemlendi ve daha sonra yapılan in vivo clomp analizi ile bu bulgu doğrulandı (Combs ve diğ. 2001). Subfizyolojik düzeyde insülin seviyesinde bile glukoz üretimini maksimal bir şekilde inhibe edebilir.

Farklı bir çalışmada Kadowaki ve arkadaşları tarafından, adiponektin düzeylerinin, genetiğe bağlı obezlerde b/ob veya diyete bağlı gelişen (yüksek yağlı diyet HFD) obez fare modellerinde düştüğü gösterildi (Yamauchi ve diğerleri, 2001). Adiponektin verilmesi db/db, HFD veya KKA Hayvan modellerinde insülin duyarlılığında bir iyileşme meydana getirdi. Mekanik olarak adiponektinin iskelet kaslarında β -oksidasyonu azalttığı ve karaciğerde lipid birikimini supprime ettiği bulgulandı.

Kadowaki ve arkadaşları, globüler ya da tam uzunlukta adiponektin moleküllerinin 5'AMP aktive edici protein kinazı uyarabildiğini (AMPK aktivitesi) göstermek için daha ileri bir çalışma yaptılar (Yamauchi ve diğerleri, 2002). Bütün dokularda bu koşul geçerli olmasa bile AMPK, adiponektinin fizyolojik rolü için gereklidir.

Toparlayacak olursak, adiponektinin tüm vücut insülin duyarlılığını arttırdığı, adipoz dokular arasında ve diğer metabolik organlar arasında iltişim kurmada önemli bir haberci olarak görev gördüğü doğrulanmış durumda.

Periferdeki güçlü etkilerinin yanı sıra adiponectin, merkezi etkiler de gösterir. Adiponektinin intravenöz yolla verilmesi, proteinin kan-beyin bariyerleri boyunca hareket etmesine neden olur ve beyin omurilik sıvısındaki adiponektin düzeylerini yükseltir (Qi ve diğerleri, 2004).

Öte yandan, intraserebro-ventricular adiponektin enjeksiyonu, vücut ağırlığının azalmasına ve hipotalamik kortikotropin releasing hormonun (CRH) up-regülasyonundan kaynaklanabilecek enerji harcamasında artışa yol açar. Dahası adiponektin insan serebrospinal sıvısında bulunur ve ağırlıklı olarak trimerik formda dağılım gösterir (Kusminski ve diğerleri 2007).

İnsanda klinik olarak ilgili koşullar altında beyindeki adiponektinin düzeyleri, karmaşık dağılımı ve fizyolojik etkileri incelemek için daha ileri çalışmalara gerek olduğu açıktır.

Özetlenecek olursa adiponektin, vücut enerji homeostazı ve metabolik regülasyon için kritik rol oynar. Başlıca hedef organlar karaciğer ve iskelet kasıdır. Adiponektin diğer bir çok organ üzerinde farklı bağlamlarda çeşitli etkiler yaratır. Adiponektin böbrek podositlerini hücre ölümünden korur. Böylelikle diyabetik koşullarda böbrek fonksiyonlarının korunmasında rol alır (Rutkowski ve ark., 2013). Endotel disfonksiyonunu inhibe eder ve ateroskleroza baskılar (Wang ve Scherer, 2008). İnflamasyonu önler, makrofaj ölümüne engel olur ve böylece kan damarlarında lezyon oluşumunu azaltır. Adiponektin beyinde de yer alır ve besin alımını düzenler ayrıca bu merkezi etki, enerji homeostazını korumak için periferik etkilerle koordine çalışır (Qi ve diğerleri, 2004).

Çalışmalar diabetin, hastaların üçte ikisinde kalp hastalığı gelişimine neden olduğunu gösteriyor. Kardiyak nedenler diabet hastasının ölümünde önde gelen nedendir. Bu nedenle adiponektin, diyabetik koşullar altında kalp fonksiyonlarının düzenlenmesinde rol alır. Walsh ve meslektaşları tarafından yapılan erken çalışmalar gösteriyor ki adiponektin eksikliği artmış kalp hipertrofisine yol açar (Shibata ve ark., 2004).

Moleküler seviyede adiponectin AMPK (5'Adenosine Monophosphate-Activated Protein Kinase)'ı uyarır ve kalpteki ERK (Extracellular Signal-regulated Kinase) aktivasyonunu bastırır. Adiponektinin, adenovirüsler tarafından aşırı üretilmesi kalp hipertrofisine ve kalp fonksiyonunun iyileştirilmesine yol açar.

İn-vitro adiponektin uygulaması doğrudan kardiyak hücre büyümesini azaltır. Bu kardiyomiyositlerde adiponektinin hücrel rolüne ışık tutar. Adiponektin düzeyi eksik fareler, WT kontrolleriyle karşılaştırıldığında daha yüksek enfarktüs boyutuna sahip oldukları gösterilmiştir. Benzer şekilde, adiponektinin aşırı ekspresyonu, I/R hasarına karşı önemli kardiyak koruma sağlar. Adiponektin uygulaması, AMPK ve siklooksijenaz-2 aktivitelerini uyarır. İki yolak ta apoptozis ve TNF-Alfa üretimini antagonize eder.

Bu bulgular adiponektinin, kalp hastalığına karşı önemli bir protektif rol oynadığını gösterir. Bununla birlikte, bu konuda daha ayrıntılı bir değerlendirme gereklidir. Son zamanlarda yapılan bir çalışma adiponektinin, P38 MAP kinaz sinyal yoluyla kardiyomiyositlerde MEF2'yi doğrudan uyarabileceğini ortaya koymaktadır (Dadsonetal 2015). Bu mekanizma sayesinde adiponektinin kardiyak basınç aşırı yüklemesi durumunda, miyokard hipertrofik gen ekspresyonuna katkıda bulunur. Aşırı adiponektin yüklenen transgenik mouse modellerinin yaşı ileri olanlarında anlamlı kardiyak hipertrofi tesbit edilmiştir (Holland ve ark., 2011). Adiponektinin AMPK müdahalesi olmadan, iNOS u inhibe ederek, ROS (Reactive oxygen species) üretimini baskıladığı ve kalbi I/R hasarına karşı koruduğu bulgulanmıştır.

Adiponektinin ayrıca endotel hücrelerinde, TNF-Alfa kaynaklı ICAM ekspresyonunu ve bunun sonucunda oluşan inflamasyonu inhibe eder (Wang ve diğerleri, 2014). Bu eylemler bir seramidaz aktivitesinin artmasını gerekli kılar, bu da AdipolRs'ların kaveolin-1 üzerinden etkisini kuvvetlendirir.

Sonuçlar ve perspektifler

Adiponektin birçok organda çok yönlü rol oynar ve bunu esas olarak iki reseptörü ile etkileşim yoluyla yapar. Karaciğerde adiponektin hepatik glikoneogenezi şiddetle bastırır, iskelet kasında besin kullanımını artırır. Adiponektinin kendine özgü özellikleri diyabet için terapötik stratejiler konusunda makul bir aday olmasını sağlar. Adiponektin de kaydedilen ilerleme, yağ dokusunun rolünün daha iyi anlaşılmasına büyük ölçüde yardımcı olmuştur.

Adipositlerden salınan birçok ilave adipokin, çeşitli koşullar altında adiposit durumu hakkında metabolik bilgiler ve dokular arası bilgi iletişimini sağlar. Yukarıdaki gelişmelere rağmen adipokin hakkında sorunlar devam etmekte ve sorular cevap beklemektedir. Doğal Adiponektin kompleksinin olağandışı büyüklüğü daha fazla incelemeyi gerektirmektedir. Adiponektin HMW (High molecular weight) formu lipid-çözünür bir faktör taşıyor olabilir.

Adiponektin, güçlü insülin sensitive edici işlev gösterir. Bu da yan etki olarak aşırı kalp hipertrofisine neden olur. Adiponektin, adipositlerdeki en bol mesaj taşıyan moleküldür, dolayısıyla üretimi arttırma yaklaşımları, toplanma ve salgıya odaklanmaya ihtiyaç duyabilir. Adiponektin sinyali yalnızca reseptörü değil aynı zamanda adiponektin sensitivitesini arttırmak için hedef olabilecek yardımcı moleküller içerir (Mao ve diğerleri 2006, Cheng ve ark 2009). Ancak adiponektin direnci, farklı seviyelerde ortaya çıkabilir.

Adiponektin rolünün açıklanması, bizi metabolik hastalığı hedeflemeye yönelik daha spesifik ve etkin araçların tanımlanmasına götürecektir. Adiponektin düz kas hücrelerinde çoğalmayı ve migrasyonu inhibe eden anti-aterosklerotik bir faktör olarak düşünülür. Makrofajların köpük hücrelerine dönüşümünü inhibe eder, reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretimini bastırır, Nitrik Oksit (NO) üretimini arttırır. Adiponektin obezite ile ilişkili hastalıkların gelişimine karşı koruyucu davranır. Bazı çalışmalar adiponektin düzeyleri ile CRP de dahil olmak üzere inflamatuvar markerlar arasında ters bir korelasyon gösterir. Adiponektin düzeyleri HDL ile pozitif TAG ve LDL ile de ters ilişkilidir.

Birçok çalışmada obezite bulunan bireylerin adiponektin seviyeleri zayıf kişilere ile kıyaslandığında daha düşük seviyelerde görülmüştür. Obezite ile kombine Tip 2 diabetes mellitus hastalarında ve sözel olarak dökümanite edilmiş koroner aterosklerozlu hastalarda adiponektin seviyeleri daha da düşüktür (413,414). Anjiyografik olarak doğrulanmış koroner ateroskleroz ve akut koroner sendrom da hipoadiponektinemi tesbit edilmiştir (415,416).

Bu ilişki kanıtlanmış koroner aterosklerozu olan hastalarda yapılan retrospektif çalışmalarda doğrulanmıştır ancak prospektif çalışmalarda sonuçlar çok tutarsızdır. Bazı meta-analizlere göre adiponektin seviyeleri ile kardiyovasküler hastalık riski arasında herhangi bir ilişki yoktur (417-419). Bu çalışmalar yukarda bahsettiğimiz çalışmaların tam tersini gösteriyor (420,421). Şu anda adiponektin, kardiyovasküler hastalık için bir prediktör olarak kabul edilemez. Bu olgunun açıklaması, adiponektin bireysel formlarının kardiyovasküler sistem üzerindeki farklı etkilerinden kaynaklanıyor olabilir.

Adiponektinin yapısı karmaşıktır, birkaç izoformdan oluşur. Düşük molekülü bir hexamer (LMW) ve yüksek moleküler ağırlıklı form (HMW) adipositler tarafından üretilir ve serum seviyeleri diğer adipokinlerden çarpıcı dercede daha yüksektir. Bütün adipokinlerin yarısını teşkil eder.

Adiponektinin çeşitli reseptörlere sahiptir; AdipoR1, AdipoR2 ve T-cadherin. AdipoR1, esas olarak iskelet kasında, AdipoR2 ağırlıklı olarak karaciğerde eksprese edilir.

AdipoR1 ve AdipoR2 reseptörlerinin, kalp kasında aldıkları rol henüz tam olarak anlaşılamamıştır. T-cadherin her yerde ifade edilir. En yüksek ifade; aort, karotid, iliak ve böbrek arterlerinde ve ayrıca adiponektin bağlandığı yüksek moleküler ağırlıklı form şeklinde kardiyomyosit sarkolemmasında ekspresse edilir (422). Araştırmalar gösteriyor ki koruyucu subtip HMW adiponektindir, belirtildiği gibi T-cadherin, sadece HMW adiponektini bağlar. Buna karşın, LMW adiponektin zararlı ve proinflamatuvar etkilere sahiptir ve muhtemelen insülin direncini artırır. Bu nedenle HMW oranını ölçmek toplam adiponektin tayini için uygundur (424). ANP izomerlerinin farklı işlevleri ve etkileri, klinik araştırmalardaki tutarsızlıkları açıklamakta yardımcı olabilir.

İndirgenmiş adiponektin seviyeleri, renin-anjiyotensin-aldosteron, endotel disfonksiyonu, bozulmuş böbrek basıncı natriürezisi ve sempatik sinir sistemi hiperaktivitesini içeren çeşitli mekanizmalar yoluyla hipertansiyon ile ilişkilidir. Hipoadiponektineminin obez kişilerde hipertansiyon ile ilişkili olması mantıklıdır ancak yapılan bir çalışmada, hipoadiponektineminin, zayıf kişilerde de hipertansiyon gelişmesine yol açabileceğini göstermiştir (425).

Yüksek dozda kandesartan tedavisi, Leptin/Adiponektin düzeylerinde (L/A oranı) önemli bir azalma ve dolaşımdaki adiponektin düzeylerinde artışa neden oldu (426). Bir başka çalışmada, AT1 blokerleri ve ayrıca ACE inhibitörleri ile yapılan bir tedavi sonrasında ANP seviyesinde yükselme olduğu gösterilmiştir (427). Adiponektinin kardiyovasküler etkileri ile beraber bazı diğer hastalıklar ve koşullarda da adiponektin düzeyleri ile pozitif korelasyon tarif edilmiştir. Kronik kalp yetmezliği olan hastalarda da artmış adiponektin düzeyleri gösterilmiştir (428,416). Bunun için birkaç açıklama öne sürülmüştür bu açıklamalardan biri adiponektine karşı direnç olasılığıdır (428).

Böbrek fonksiyon bozukluğu olan hastalarda adiponektin klerensi azalır ve plazma seviyeleri yükselir. Artan adiponektin seviyeleri dislipidemi ve diğer risk faktörleri tarafından tetiklenen endotel disfonksiyonunu azaltmada pozitif bir etkiye sahip olabilir (429).

2.3.2 Visfatin

Visfatin 2005 yılında keşfedilen bir adipokindir. Visceral fat adipokine. (visfatin) Obezitede, insülin direncinde ve Tip 2 diyabetlilerde düzeyi yükselir (408). İnsülin-mimetik etkileri ile kan glikozunu azaltır (409). Henüz anlaşılamamış mekanizmalar yoluyla visfatin

seviyeleri subkutanöz ve vicseral yağ miktarı ile korelasyon gösterir. Epikardiyal adipoz doku, paraaortik ve abdominal adipoz dokuda üretilir, bu yolla meydana gelen parakrin etkileri ile kardiyovasküler sistemi etkiledikleri muhtemeldir. ST segment yükselmesi olan akut miyokard infarktüsü (STEMI) ve efor anginalı 54 hastada ayrıca kardiyovasküler problemi olmayan kişilerde visfatin düzeylerini karşılaştıran bir çalışmada, egzersiz anjinası ve kardiyovasküler hastalığı olmayan kişilerde visfatin düzeyleri anlamlı olarak yüksek bulunmuştur.

STEMI geçiren hastalarda diğer gruplara kıyasla daha yüksek visfatin seviyesi gözlemlendi (410). 24 saatte peak seviyesine ulaştığı ve perkütan koroner girişim (PCI) den bir hafta sonra kontrol grubu ile aynı seviyelere düştüğü görülmüştür. Visfatin düzeyleri BNP, Troponin I, CK-MB ve toplam lökosit sayısı ile koreledir. ST elevasyonlu Myokard infarktüstten sonra birinci hafta visfatin konsantrasyonunun bu geçici artışı ve kardiyak enzimlerdeki artışla olan korelasyonu visfatin plazma seviyesinin myokardial hasar seviyesiyle orantılı olduğunu gösterir. Genel olarak visfatinin muhtemelen sadece diabetes mellitus, obezite, dislipidemi, hipertansiyon, böbrek yetmezliği patogenezinde değil aynı zamanda aterosklerozda (411) ayrıca artan klinik bulgular; metabolik sendrom ve (412) akut koroner sendromlu hastalarda inflamasyonun ve endotel disfonksiyonunun potansiyel bir markeri olarak rol oynadığını desteklemektedir (410).

2.3.3 Adipsin

Adipsin ilk keşfedilen adipokindir. (Cook et al,1987) Yağ dokusundan enfazla salgılanan proteinlerden biridir. Obez ve diyabetik hayvan modellerinde serum düzeylerinin düştüğü gözlemlenmiştir (Flier et al,1987). Adipsin, kompleman aktivasyonunun alternatif yolaklarında hız sınırlayıcı basamakları katalize ettiği için (Xu et al,2001) kompleman faktör D adını almıştır (Rosen et al 1989; White et al 1992). Bu keşiften bu yana iskemi ve reperfüzyon modellerinde (Stahl et al,2003) ve sepsiste (Dahlke et al,2011) kilit rol oynamaya başlamış adipokindir. Bu molekülün fonksiyonunda önemli nokta C5-C9 (menbran attack kompleksi) ve anflatoksin (C3a, C5a) içeren bazı sinyal moleküllerin oluşumunu sağlamasıdır (Ricking et al,2010). Buna rağmen enerji dengesindeki ve metabolizma üzerindeki rolü hala netleştirilmiş değildir.

Adipsin üretemeyen farelerde metabolik stres ve diyetle oluşturulan obezite durumunda, glukoz dengesinin bozulduğu görülmüştür. Bu bulguyla, düzgün insülin sekresyonu için pankreas- β hücrelerinde adipsinin olması gerektiği sonucuna ulaşılabilir. Adipsinin katalitik rolünün ürünü olan C3a, hiperglisemi durumunda insülin salınımını güçlü

bir şekilde uyarır. Bu veriler ışığında adipsin ile yağ hücreleri, obezite, insülin üreten pankreas- β hücreleri arasında güçlü bir ilişki olduğu açıktır (James C. Lo et al 2015).



3. MATERYAL ve METOT

Hayvan deneyi

Ratların Temini ve Bakımı

Bu araştırma için, Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi deney hayvanları yerel etik kurulundan etik onay alındı. Kontrol grubu (n=5) ve diyabet grubu (n=20) sıçanların ağırlık ortalamaları homojen ve 350 ± 25 gr olarak ölçüldü. Araştırmada kullanılan dişi Wistar-Albino sıçanlar, Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Araştırma Merkezinden (DÜSAM) temin edildi. Deney süresince sıçanlar sıcaklığın 21°C ve ortam neminin %55–60 olduğu, 12 saat ışık (08.00–20.00 saatleri) 12 saat karanlık uygulanan odalarda tutuldular ve adlibitum olarak beslendiler.

Grupların Oluşturulması

Deneye başlamadan önce bütün hayvanların ağırlıkları ve açlık kan şekerleri ölçüldü. Araştırmada kullanılan sıçanlar kontrol ve diyabet olarak 2 gruba ayrıldılar. Kontrol grubu 5 adet sıçandan oluştu. Bu gruba herhangi bir işlem uygulanmadı.

İkinci grubumuz olan diyabet grubunda başlangıçta 10 sıçan yer aldı. Sıçanlar deneye başlamadan bir gece önce aç bırakıldılar ve 0,1 M sitrat tamponu içerisinde (pH: 4,5) çözölmüş STZ her bir sıçana 80 mg/kg olarak tek doz uygulandı. Bu dozun uygulanmasının ardından ilk 24 saatte 5 hayvan öldü, STZ dozu 50 mg dozuna çekildi ve diğer 10 adet sıçana bu dozda uygulandı. Uygulamadan 48 saat sonra hayvanların açlık kan şekerleri kuyruk venlerinden alınan kandan glikometre ile ölçüldü ve açlık kan şekeri düzeyi 350 mg/dL ve üzerinde olan sıçanlar diyabet grubuna dahil edildiler. 50 mg STZ uygulamasını ardından hayvanlarda herhangi bir ölüm gerçekleşmedi, deney 5 kontrol ve 9 diabetik hayvan olmak üzere toplam 14 hayvan ile tamamlandı. Bütün grupların açlık kan şekerleri ve ağırlıkları deneye başlamadan önce, 48. saatte ve deney sonunda ölçüldü.

Kanların Alınması

STZ uygulamasından 2 ay sonra, kontrol ve diyabet grubundaki hayvanlardan ksilazin-ketamin anestezisi altında (ketamin hidroklorür: 75 mg/kg ve 5mg/kg ksilazin) intrakardiyak yöntemle kan dokusu alındı.

Kullanılan Çözelti ve Tamponlar

Ph 4,5 ve 0,1 M; Sitrat Tamponu Hazırlama Algoritması

- 1- 0,525 gr Sitrik asit dehidrat 25 ml distile su içerisinde çözöldü (A çözeltisi).
- 2- 0,8929 gr Trisodyum Sitrat 5,5 hydrate 25 ml distile su içerisinde çözöldü (B çözeltisi).
- 3- A çözeltisinden 14 ml
B çözeltisinden 11 ml alınarak
25 ml distile su ilave edildi ve
50 ml Ph 4,5 0,1M Sitrat Tamponu oluşturuldu.
- 4- MchloropHast pH indicator stripleri ile Ph doğrulandı

Streptozotosin Hazırlama ve Uygulama Protokolü

Diyabet oluşturacağımız ratlara iki adımda ve iki ayrı dozda STZ verdik.

50 mg/kg dozda verdiğimiz ratlarda STZ hazırlanım yöntemimiz şu şekilde gerçeleşti.

- 1- 25 ml sitrat tamponu alındı,
- 2- -20 derecede saklanan streptozotosinden 175 mg eklendi ve
7 mg/ml STZ içeren çözelti elde edildi.
- 3- Ratların ağırlıkları ölçöldü
- 4- Her birine 50 mg/kg doz çözelti, intraperitoneal yolla uygulandı.

(2,5 ml hacimli enjektörlere insölin enjektörü uçları takılarak)

Biyokimyasal Analiz

Plazma; adiponektin, adipsin, visfatin, glukoz, BUN, kreatinin düzeyleri; SANTEK MEDİKAL Laboratuvar Malzemeleri Ltd. Şirketi aracılığıyla temin ettiğimiz kitlerle, Dicle Üniversitesi Merkez Laboratuvarı olanakları kullanılarak ölçöldü.

İstatistiksel Analiz

Tanımlanan iki grup arasındaki değer farklılıkları, belirtici istatistikleri analiz edildi, DN ve adipokinler arasındaki ilişkide ayrıca diğer parametrelerin farklı kombinasyonlarda bağıntı durumu hipotezleri ortalamaları karşılaştırırken parametrik değerler sözkonusu olduğundan bağımsız iki örneklem t-testi kullanıldı. Verilerin tanımlayıcı istatistikleri ortaya kondu. Ayrıca kurulan bazı hipotezlerde çıkarımlar ve sonuçlara ulaşmak için basit doğrusal regression ve corelation analizine başvuruldu.

4. SONUÇLAR

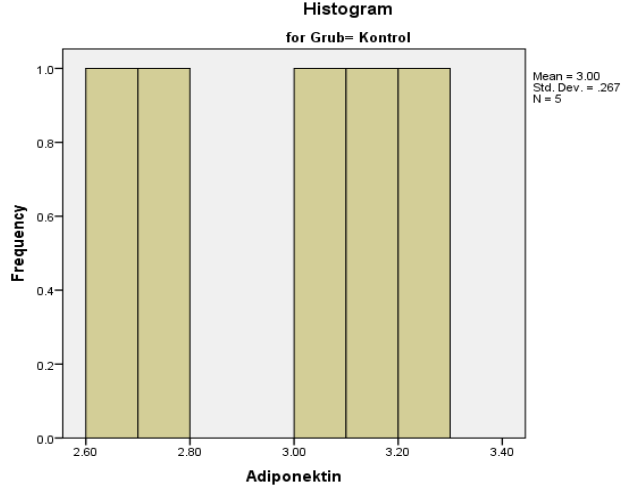
Biyokimya analizi sonucunda elde ettiğimiz, değişkenlere ait veriler aşağıda listelenmiştir.

Grub	Adiponektin	Visfatin	Adipsin	BUN	Creatinin	Glukoz
1.00	3.29	65.00	9.94	21.26	1.30	140.00
1.00	2.75	62.16	11.27	16.75	.65	130.00
1.00	2.69	61.92	6.63	14.32	.70	115.00
1.00	3.08	61.64	5.85	18.66	.90	125.00
1.00	3.19	57.11	5.76	13.17	.40	120.00
2.00	4.06	113.51	9.75	45.72	2.75	440.00
2.00	4.13	85.55	7.99	55.35	3.24	435.00
2.00	5.44	138.91	9.05	38.92	2.94	455.00
2.00	5.62	108.00	7.51	60.58	3.19	390.00
2.00	5.02	96.57	11.62	59.48	2.37	455.00
2.00	4.86	133.41	9.53	48.15	3.45	430.00
2.00	3.87	123.06	11.62	54.28	2.28	425.00
2.00	4.00	96.57	8.52	60.12	2.95	460.00
2.00	4.86	82.16	3.78	55.47	3.75	410.00

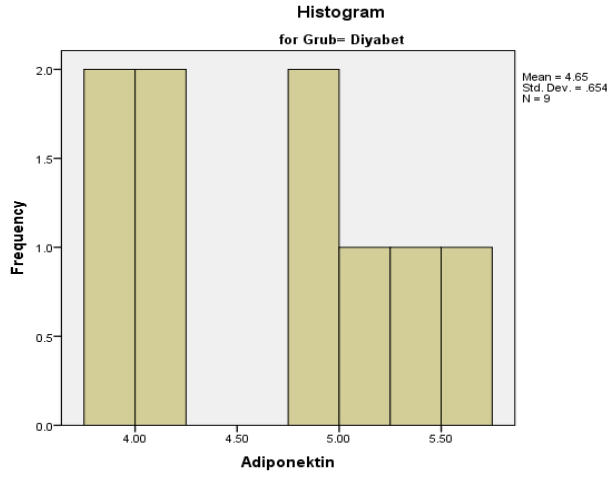
Grub 1: Kontrol grubu, Grub 2: Diyabet grubunu ifade etmektedir

Mean±S.E.M St. Deviation	Plasma Adiponectin mg/L	Plasma Visfatin ng/L	Plasma Adipsin ng/ml	Plasma Creatinin mg/dl	Plasma Glucosis mg/dl
Control	3.00±0.12 0.26	61.57±1.27 2.83	7.89±1.14 2.54	0.79±0.15 0.33	126±4.30 9.61
Diabetic	4.65±0.22 0.65	108.63±6.75 20.27	8.82±0.79 2.37	2.99±0.159 0.47	433±7.63 22.91

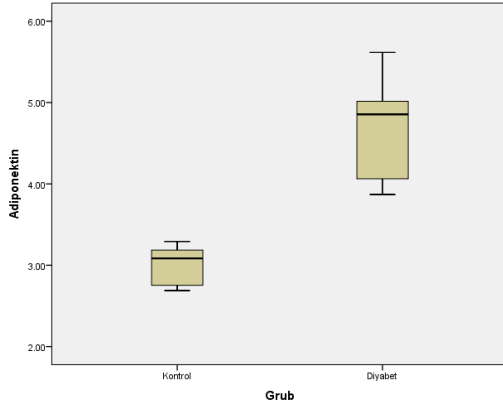
Tablo1: Parametre plasma değerlerinin Ortalama±Ortalama standart hatası (Mean±S.E.M) ve Standart deviasyon değerleri olarak ifadesi



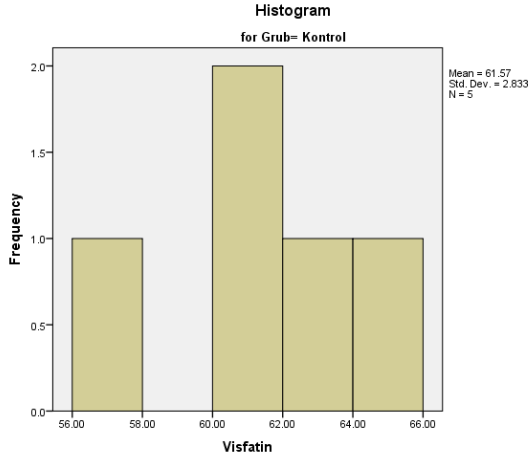
Grafik 1. Kontrol grubu plazma adiponektin düzeyi



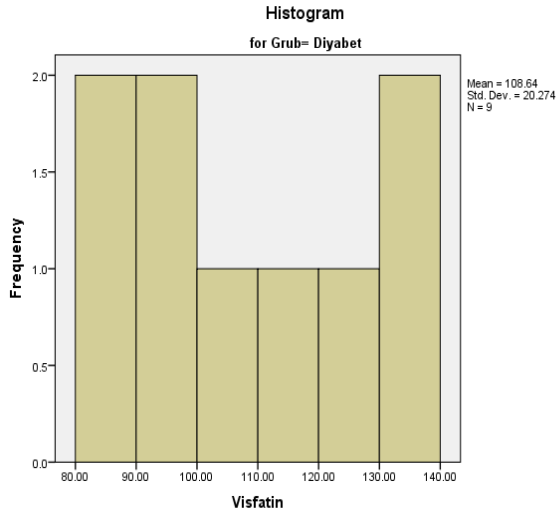
Grafik 2. Diyabet grubu plazma adiponektin düzeyi



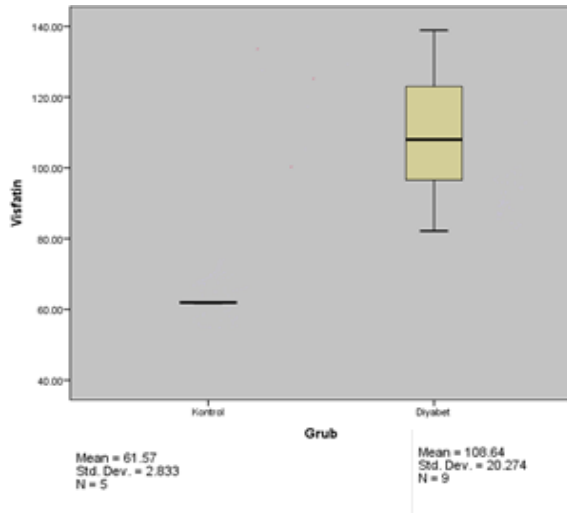
Grafik 3. Kontrol ve diyabet grubu plazma adiponektin değerleri



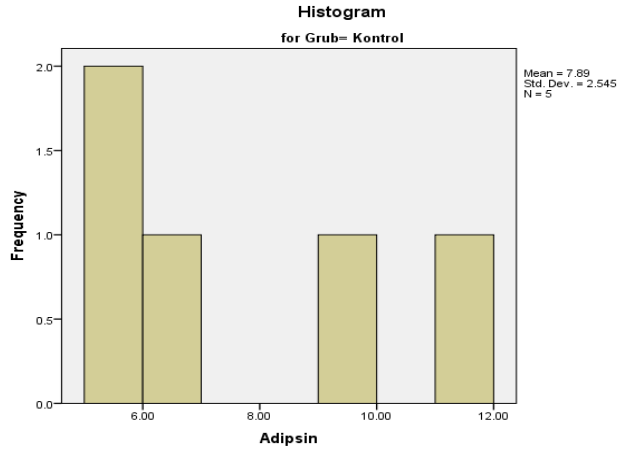
Grafik 4. Kontrol grubu plazma visfatin düzeyi



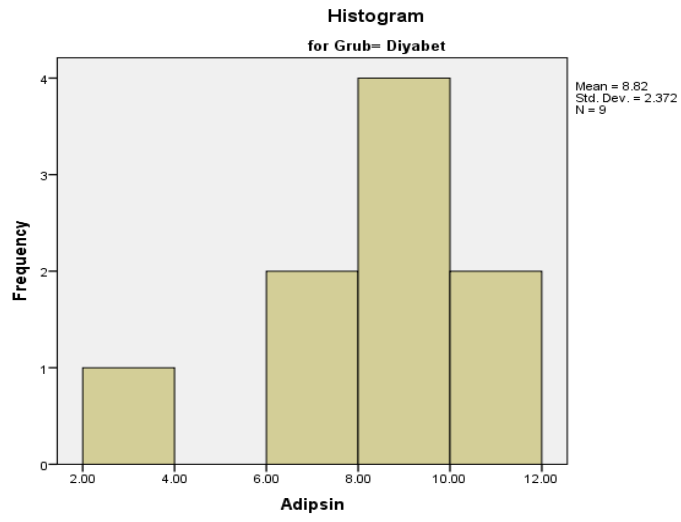
Grafik 5. Diyabet grubu plazma visfatin düzeyi



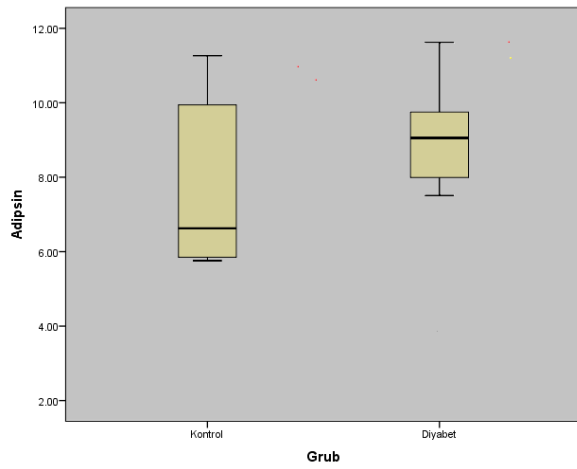
Grafik 6. Kontrol ve diyabet grubu Plazma visfatin değerleri



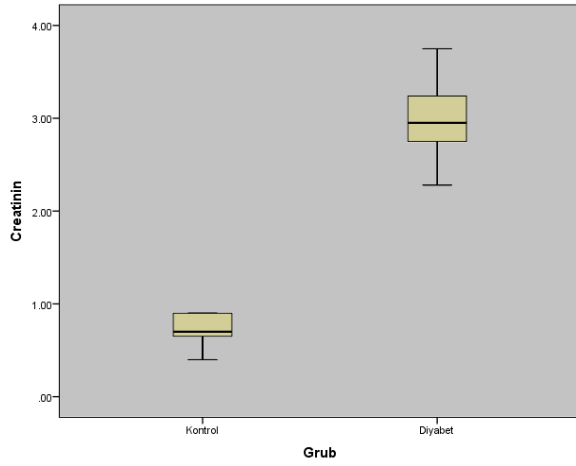
Grafik 7. Kontrol grubu adipsin plazma düzeyi



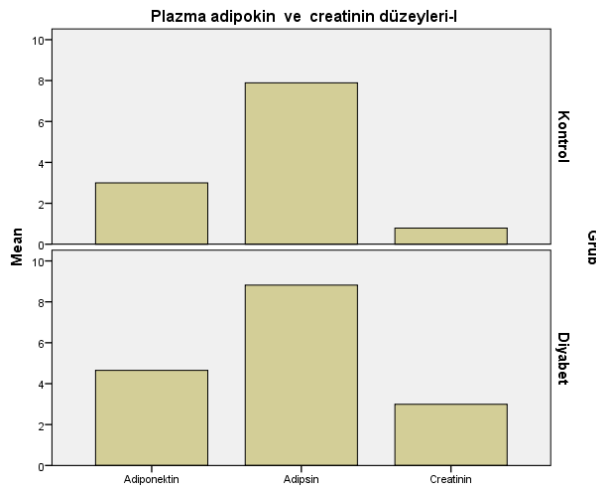
Grafik 8. Diyabet grubu plazma adipsin düzeyi



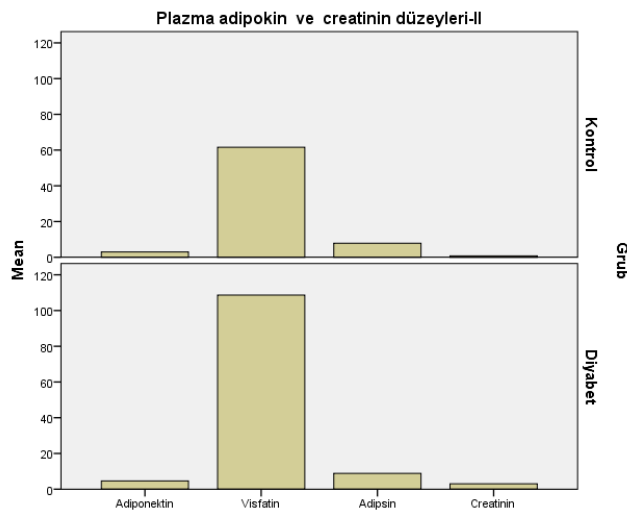
Grafik 9. Kontrol ve diyabet grubu plazma adipsin değerleri



Grafik 10. Kontrol-diyabet grubu plazma kreatinin düzeyleri

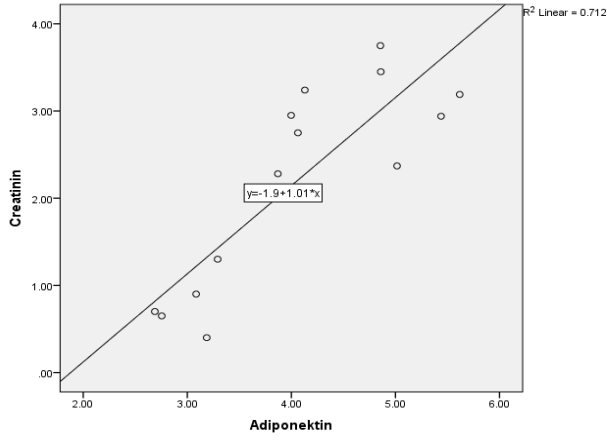


Grafik 11.Çoklu karşılaştırma

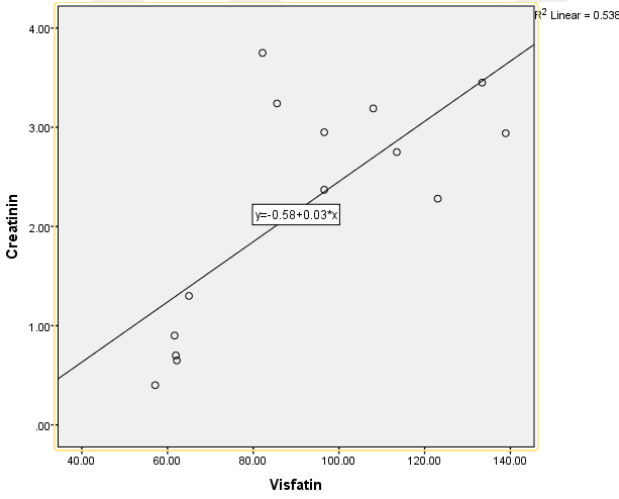


Grafik 12.Çoklu karşılaştırma

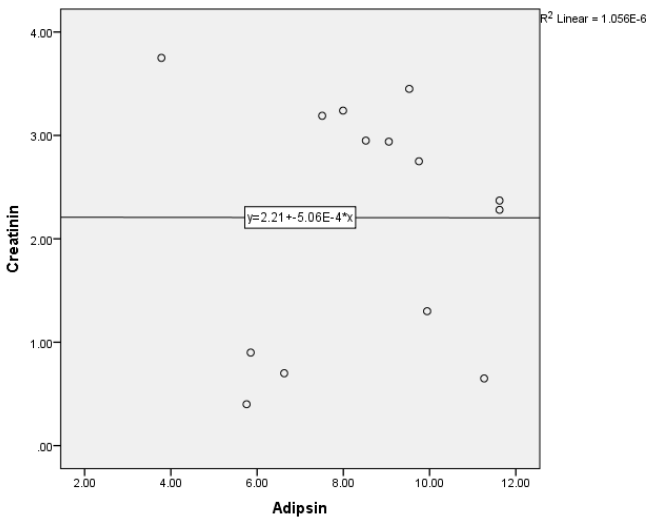
Yaptığımız pearson korelasyon analizinde veriler arasında mevcut olan ilişkiler aşağıda grafi edilmiştir.



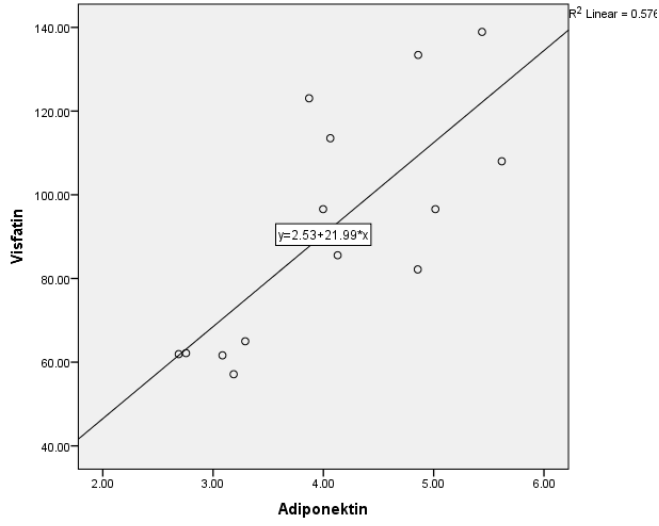
Grafik 13. Adiponektin-Kreatinin korelasyon grafiği



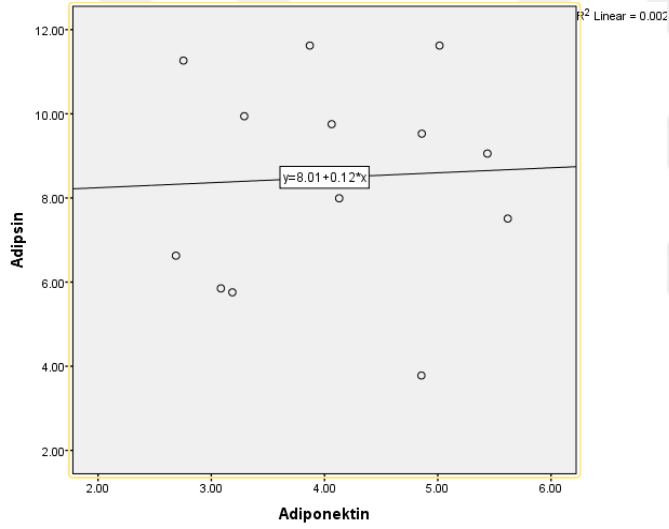
Grafik 14.Visfatin-Kreatinin korelasyon grafiği



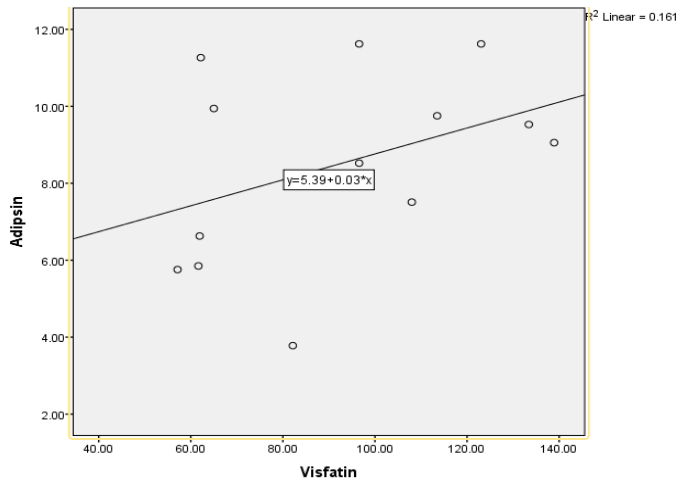
Grafik 15. Adipsin-Kreatinin korelasyon grafiği



Grafik 16. Adiponektin-Visfatin korelasyon grafiği



Grafik 17. Adiponektin-Adipsin korelasyon grafiği



Grafik 18. Visfatin-Adipsin korelasyon grafiği

5. TARTIŞMA

Yaptığımız çalışmada istatistiksel analize başlarken ölçülen her değişken için, o değişkenin kontrol grubu ortalaması, test değeri olarak baz alınarak yaptığımız istatistiksel power analizinde adiponektin için %100, visfatin için %100 ve adipsin için düşük düzeyde istatistiksel power değeri hesapladık.

Biyokimya çalışması sonucunda elde ettiğimiz bütün veriler normal dağılım varsayımını karşılıyor. Bu nedenle ortalamaların karşılaştırılmasında iki grup içeren ve ölçüm ifade eden parametrik veriler için geçerli olan bağımsız iki örneklem T-Testini kullandık.

Adiponektin ortalamasının, kontrol ve diyabet grupları arasında nasıl değiştiğini test etmek için yaptığımız Independent samples T-Test analizinde; [t=-6.630129, df=11.452056, P=0.000031] sonucuna ulaştık. Elde edilen P değerinin, 0.001 değerinden düşük olması nedeniyle alternatif hipotezin geçerli olduğunu yani, kontrol grubu ve diyabetik grup adiponektin değerleri arasında ileri düzeyde anlamlı farkın olduğunu belirledik.

Visfatin için uyguladığımız bağımsız iki örneklem T-Testinde [t: 6.845898 df: 8.550939 P:0.000096] sonucuna ulaştık, bu sonuca göre kontrol grubu ve diyabet grubu arasında visfatin ortalamaları arasında da ileri düzeyde anlamlı fark vardır.

Adipsin için yaptığımız parametrik two-samples T-Testi sonucuna göre [t:-0.68, df: 12.0, P: 0.5] sonucunu elde ettik. Bu nedenle sözkonusu değişken için null hipotezinin geçerli olduğu, kontrol ve diyabet grupları arasında adipsin plazma değerlerinde anlamlı farklılığın olmadığı sonucuna ulaştık. Burada tartışmanın başında aktardığımız gibi adipsinin istatistiksel power değerinin düşük olduğu gerçeğini de göz ardı etmemek gerekir.

Plasma kreatinin düzeyleri ile serum adipokinlerinin ilişkisini analiz etmek için uyguladığımız basit doğrusal regresyon analizinde adiponektin ve kreatinin arasında nedensel ilişkinin olup olmadığına baktık.

Regressionun ANOVA sonucunda, [F: 29.640684 df: 1:12 P: 0.000149] test kalıbı elde edildi. Regression analizi sonucu elde edilen P değeri 0.001 den küçük olduğundan plazma adiponektin değeri, plazma kreatinin değerini ileri derecede önemli bir şekilde etkilemektedir sonucuna vardık. Bu analizde R square değeri %71 dir.

Plazma kreatinin düzeyi bağımlı değişken (Dependent variable) alındığında adiponektin, visfatin, adipsin düzeylerinin, plazma kreatin düzeyinin değişimi üzerinde etkileri ve önemlilik derecesi nedir sorusuna yönelik çoklu regression analizinde elde ettiğimiz regression modeli, kreatininin değerinin değişimini (R square) %75 oranında açıklamaktadır.

Çoklu corelation katsayısı R (Reliability)=%86 olarak hesaplanmıştır. Bu ilişki önemli düzeydedir. Bu ilişki ANOVA tablosunda regression önemliliğini açıklama yeteneği [F: 10.211014 Df: 3:10 ve P: 0.002178] dir.

P değeri, 0.01 den düşük olduğundan bu üç değişkenin plazma kreatinin düzeyini çok anlamlı bir önemde ve etkide açıklama yeteneğine sahip olduğu sonucu elde edilmiştir.

Regressin coefficient tablosu incelendiğinde serum adiponektin değeri için P= 0.019415 elde edilmiştir. Bu da bize adiponektinin plazma kreatininini üzerinde çok önemli düzeyde etkili olduğunu gösterirken (majör faktör), diğer değişkenlerin bu konuda önemli bir etkiye sahip olmadığı sonucuna ulaşılmıştır (P>0.05).

Plazma adipokinleri ve kreatinin korelasyon analiz tablosu, Pearson corelation sonuçları göz önüne alındığında adiponektin ve kreatinin arasında ileri düzeyde önemli pozitif ilişkinin olduğu (P<0.001) ayrıca adiponektin ve visfatin arasında da önemli derecede pozitif bir korelasyonun olduğu görülüyor (P<0,01).

Visfatin ve kreatinin arasında da pozitif yönde çok anlamlı bir korelasyonun olduğu (p<0.01) ancak adipsin ile diğer adipokinler ve kreatinin arasında anlamlı bir ilişkinin olmadığını analiz tabloları açık bir şekilde ortaya koyuyor.

Hiperglisemik ortamda çalışmamızda bahsedilen söz konusu metabolik yolların tetiklediği inflamasyon, nefropati gelişiminin, BUN ve kreatinin yükselmesinin temel nedenidir. bu yollar ve bunlara ek olarak devreye giren faktörler inflamasyonu geliştirirken vücut bunu kompanse etmek ve dengelemek için anti-inflamatuvar olayları devreye sokar ve karşıt tepki geliştirir. Adipositler hem inflamatuvar hem de antiinflamatuvar olaylarda salgılarıyla rol alan hücreler olduğundan iki yönde de katkıları ve rolleri söz konusu olmalıdır.

Hiperglisemi sonucunda sürekli yüksek glukoza maruz kalan dokularda meydana gelen ileri glikasyon ürünleri, serbest oksijen radikalleri, PKC, poliol ve heksozaminidaz adını verdiğimiz metabolik yolların aktivasyonları sonucunda gelişen, büyüyen ve biriken inflamasyon, fibrotik olaylara ve kapiller damarlarda değişikliklere, oklüzyonlara yol açar. Dokularda ve özellikle diyaframsız kapillere sahip böbrek glomeruler sisteminde bu

yolakların hepsi çeşitli ikinci mesajcı sistemleri kullanarak; VEGF, TGF-B, PAI-1, Nf-KB, NADPH oksidaz gibi medyatörlerin ve enzimlerin sentezini ve ekspresyonunu arttırırlar. Serbest oksijen radikalleri direk etki ederek damar endotelinde prostasiklin ve eNOS üretimini baskılayarak kapiller ve glomeruler yumakta konstrüksiyon, oklüzyon ve fibrotik birikim ve değişikliklere yol açar. Bu damarsal değişiklikler vücudun tüm kapiller sisteminde meydana gelirken, özel kılcal damar yapısı nedeniyle böbrekte belirgin ve daha yoğun bir şekilde dışa vurur ve hasara yol açar. Bu hasar plazmada kendini kreatinin ve BUN yüksekliği ile gösterir.

Böbreklerde meydana gelen bu inflamatuvar süreçler ve medyatörlere karşı vücut antiinflamatuvar birtakım medyatörler salgılar ve dengeleyici tepkiler geliştirir. Adipositler değinildiği gibi hem pro-inflamatuvar hem de anti-inflamatuvar hormonlar sentezleyerek vücutta gelişen inflamatuvar süreçlerde aktif rol alır.

Hipergliseminin sebep olduğu dört metabolik yolak, çeşitli yollarla inflamatuvar medyatörlerin ekspresyonunu arttırıcı etki gösterir ve sinerjik bir etki ile hasar meydana getirirler. Buna karşı vücutta inflamasyona karşı antiinflamatuvar reaksiyonlar gelişir ve adipositler adiponektin gibi antiinflamatuvar adipokinlerle bu olaylara cevap verir. Adiponektinin diyabetik grupta kontrol grubuna oranla ileri derecede anlamlı bir şekilde yüksek olmasının temel nedeni budur. Adipositlerin inflamasyona karşı güçlü bir şekilde antiinflamatuvar adipokin salgılayarak cevap verdiğini gösterir.

İnflamatuvar adipokinlerden visfatinin anlamlı derecede yüksek oluşu inflamatuvar olaylarda da adipositlerin rolü olduğu gözönünde bulundurulduğunda, adipositlerin inflamasyonda çift taraflı hareket ettiğini gösterir. Ancak adiponektinin kontrol ve diyabet grubunda ileri derecede anlamlı bir fark göstermesi tahrip ve yıkıma karşı adipositlerin antiinflamatuvar mekanizmasının daha güçlü bir şekilde devreye girdiğini gösterir.

Adipokinlerin nefropati sürecinde özel rolü ve adiponektin gibi antiinflamatuvar adipokinlerin nefropati tedavisi üzerinde nasıl ne ne kadar katkı sağlayacağı, bir terapötik ajan olarak kullanılıp kullanılamayacağı başka bir çalışmanın konusu olabilir. Nefropatinin gelişim süreci ve tedavi yaklaşımlarını analiz etmede çalışmamız yapılacak bütüncül ve geniş metaanaliz çalışmalarına katkı sağlayacak niteliktedir. Nefropatinin tam tanımlanması eksik yönlerinin tamamlanması için yapılacak çok sayıda çalışmanın birikimi ve bu birikime bütüncül ve analitik yaklaşımlarla çözümlemelere gidilmesini gerektirir. Bu birikimsel çalışma yapısı içerisinde çalışmamız diğer çalışmalar katkı sağlayacak ve bazı bilgilere ulaşmada destek mahiyetinde yer tutacaktır.

6. REFERANSLAR

1-**American Diabetes Association**. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care* 2014; **37** Suppl 1: S81-S90 [PMID:24357215DOI:10.2337/dc14-S081]

2-**Craig ME**, Hattersley A, Donaghue KC. Definition, epidemiology and classification of diabetes in children and adolescents. *Pediatr Diabetes* 2009; **10** Suppl12:3-12 [PMID: 19754613 DOI: 10.1111/j.1399-5448.2009.00568.x]

3-**Galtier F**. Definition, epidemiology, risk factors. *Diabetes Metab* 2010; **36**: 628-651 [PMID: 21163426DOI:10.1016/j.diabet.2010.11.014]

4-**Thunander M**, Törn C, Petersson C, Ossiansson B, Fornander J, Landin-Olsson M. Levels of C-peptide, body mass index and age, and their usefulness in classification of diabetes in relation to autoimmunity, in adults with newly diagnosed diabetes in Kronoberg, Sweden. *Eur J Endocrinol* 2012; **166**: 1021-1029 [PMID:22436402 DOI: 10.1530/eje-11-0797]

5-**Stone MA**, Camosso-Stefinovic J, Wilkinson J, de Lusignan S, Hattersley AT, Khunti K. Incorrect and incomplete coding and classification of diabetes: a systematic review. *Diabet Med* 2010;**27**:491-497 [PMID: 20536944 DOI: 10.1111/j.1464-5491.2009.02920.x]

6-**Rosenbloom AL**, Silverstein JH, Amemiya S, Zeitler P, Klingensmith GJ. Type 2 diabetes in children and adolescents. *Pediatr Diabetes* 2009; **10** Suppl 12: 17-32 [PMID: 19754615 DOI: 10.1111/j.1399-5448.2009.00584.x]

7 -**Cakan N**, Kizilbash S, Kamat D. Changing spectrum of diabetes mellitus in children: challenges with initial classification. *Clin Pediatr (Phila)* 2012; **51**: 939-944 [PMID: 22496179 DOI: 10.1177/0009922812441666]

8-**Wilkin TJ**. The accelerator hypothesis: a review of the evidence for insulin resistance as the basis for type I as well as type II diabetes. *Int J Obes (Lond)* 2009; **33**: 716-726 [PMID: 19506563 DOI: 10.1038/ijo.2009.97]

9-**Canivell S**, Gomis R. Diagnosis and classification of autoimmune diabetes mellitus. *Autoimmun Rev* 2014; **13**: 403-407 [PMID:24424179 DOI: 10.1016/j.autrev.2014.01.020]

10-**Lamb MM**, Yin , Zerbe GO, Klingensmith GJ, Dabelea D, Fingerlin TE, Rewers M, Norris JM. Height growth velocity, islet autoimmunity and type 1 diabetes development: the Diabetes Autoimmunity Study in the Young. *Diabetologia* 2009; **52**:2064-2071 [PMID: 19547949 DOI: 10.1007/s00125-009-1428-2]

11-**Vehik K**, Hamman RF, Lezotte D, Norris JM, Klingensmith GJ, Dabelea D. Childhood growth and age at diagnosis with Type 1 diabetes in Colorado young people. *Diabet Med* 2009; **26**: 961-967 [PMID: 19900226 DOI: 10.1111/j.1464-5491.2009.02819.x]

12 **Ferrannini E**, Mari A, Nofrate V, Sosenko JM, Skyler JS; DPT-1 Study Group. Progression to diabetes in relatives of type 1 diabetic patients: mechanisms and mode of onset. *Diabetes* 2010; **59**: 679-685 [PMID: 20028949 DOI: 10.2337/db09-1378]

13-**Robertson RP**, Harmon J, Tran PO, Tanaka Y, Takahashi H. Glucose toxicity in beta-cells: type 2 diabetes, good radicals gone bad, and the glutathione connection. *Diabetes* 2003; **52**: 581-587 [PMID:12606496]

14-**Vincent AM**, Russell JW, Low P, Feldman EL. Oxidative stress in the pathogenesis of diabetic neuropathy. *Endocr Rev* 2004; **25**:612-628 [PMID: 15294884 DOI: 10.1210/er.2003-0019]

15 **Giugliano D**, Ceriello A, Paolisso G. Oxidative stress and diabetic vascular complications. *Diabetes Care* 1996;**19**:257-267 [PMID:8742574]

16-**Giacco F**, Brownlee M. Oxidative stress and diabetic complications. *Circ Res* 2010; **107**: 1058-1070 [PMID: 21030723 DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.110.223545]

17-**Elmarakby AA**, Sullivan JC. Relationship between oxidative stress and inflammatory cytokines in diabetic nephropathy. *Cardiovasc Ther* 2012; **30**: 49-59 [PMID: 20718759 DOI: 10.1111/j.1755-5922.2010.00218.x]

18-**Halban PA**, Polonsky KS, Bowden DW, Hawkins MA, Ling C, Mather KJ, Powers AC, Rhodes CJ, Sussel L, Weir GC. β -cell failure in type 2 diabetes: postulated mechanisms and prospects for prevention and treatment. *Diabetes Care* 2014; **37**: 17511758[PMID:24812433DOI:10.2337/dc14-0396]

19-**Johansen JS**, Harris AK, Rychly DJ, Ergul A. Oxidative stress and the use of antioxidants in diabetes: linking basic science to clinical practice. *Cardiovasc Diabetol* 2005; **4**: 5 [PMID: 15862133 DOI: 10.1186/1475-2840-4-5]

20-**Kaneto H**, Kajimoto Y, Miyagawa J, Matsuoka T, Fujitani Y, Umayahara Y, Hanafusa T, Matsuzawa Y, Yamasaki Y, Hori M. Beneficial effects of antioxidants in diabetes: possible protection of pancreatic beta-cells against glucose toxicity. *Diabetes* 1999; **48**: 2398-2406 [PMID: 10580429]

21-**Nebbio M**, Federici M, Rusciano D, Evangelista M, Pescosolido N. Oxidative stress in preretinitis subjects and antioxidants. *Diabetes Technol Ther* 2012; **14**: 257-263 [PMID: 22044044 DOI: 10.1089/dia.2011.0172]

22-**Kilic G**, Alvarez-Mercado AI, Zarrouki B, Opland D, Liew CW, Alonso LC, Myers MG, Jonas JC, Poirout V, Kulkarni RN, Mauvais-Jarvis F. The islet estrogen receptor- α is induced by hyperglycemia and protects against oxidative stress-induced insulin-deficient diabetes. *PLoS One* 2014; **9**: e87941 [PMID: 24498408 DOI: 10.1371/journal.pone.0087941]

23-**Maahs DM**, West NA, Lawrence JM, Mayer-Davis EJ. Epidemiology of type 1 diabetes. *Endocrinol Metab Clin North Am* 2010; **39**: 481-497 [PMID: 20723815 DOI: 10.1016/j.ecl.2010.05.011]

24-**Daneman D**. Type 1 diabetes. *Lancet* 2006; **367**: 847-858 [PMID: 16530579 DOI: 10.1016/S0140-6736(06)68341-4]

25-**Devendra D**, Liu E, Eisenbarth GS. Type 1 diabetes: recent developments. *BMJ* 2004; **328**: 750-754 [PMID: 15044291 DOI: 10.1136/bmj.328.7442.750]

26-**Dabelea D**, Mayer-Davis EJ, Saydah S, Imperatore G, Linder B, Divers J, Bell R, Badaru A, Talton JW, Crume T, Liese AD, Merchant AT, Lawrence JM, Reynolds K, Dolan L, Liu LL, Hamman RF. Prevalence of type 1 and type 2 diabetes among children and adolescents from 2001 to 2009. *JAMA* 2014; **311**: 1778-1786 [PMID: 24794371 DOI: 10.1001/jama.2014.3201]

27-**International Diabetes Federation**. IDF Diabetes Atlas. 6th ed. Brussels, Belgium: International Diabetes Federation, 2013

28 **Prime Group for JDRF**. JDRF: Type 1 Diabetes, 2011

29-**Chiang JL**, Kirkman MS, Laffel LM, Peters AL; Type 1 Diabetes Sourcebook Authors. Type 1 diabetes through the life span: a position statement of the American Diabetes Association. *Diabetes Care* 2014; **37**: 2034-2054 [PMID: 24935775 DOI: 10.2337/ dc14-1140]

30-**Pettitt DJ**, Talton J, Dabelea D, Divers J, Imperatore G, Lawrence JM, Liese AD, Linder B, Mayer-Davis EJ, Pihoker C, Saydah SH, Standiford DA, Hamman RF. Prevalence of diabetes in U.S. youth in 2009: the SEARCH for diabetes in youth study. *Diabetes Care* 2014; **37**: 402-408 [PMID: 24041677 DOI: 10.2337/dc13-1838]

31-**Lawrence JM**, Imperatore G, Dabelea D, Mayer-Davis EJ, Linder B, Saydah S, Klingensmith GJ, Dolan L, Standiford DA, Pihoker C, Pettitt DJ, Talton JW, Thomas J, Bell RA, D'Agostino RB.

Trends in incidence of type 1 diabetes among non-Hispanic white youth in the U.S., 2002-2009. *Diabetes* 2014; **63**: 3938-3945 [PMID: 24898146 DOI: 10.2337/db13-1891]

32-**Vermeulen I**, Weets I, Asanghanwa M, Ruige J, Van Gaal L, Mathieu C, Keymeulen B, Lampasona V, Wenzlau JM, Hutton JC, Pipeleers DG, Gorus FK. Contribution of antibodies against IA-2 β and zinc transporter 8 to classification of diabetes diagnosed under 40 years of age. *Diabetes Care* 2011; **34**: 1760-1765 [PMID:21715527 DOI: 10.2337/dc10-2268]

33-**Couper J**, Donaghue KC. Phases of diabetes in children and adolescents. *Pediatr Diabetes* 2009; **10** Suppl 12: 13-16 [PMID:19754614 DOI: 10.1111/j.1399-5448.2009.00574.x]

34-**Ginsberg-Fellner F**, Witt ME, Fedun B, Taub F, Dobersen MJ, McEvoy RC, Cooper LZ, Notkins AL, Rubinstein P. Diabetes mellitus and autoimmunity in patients with the congenital rubella syndrome. *Rev Infect Dis* 1985; **7** Suppl 1: S170-S176 [PMID:3890104]

35-**McIntosh ED**, Menser MA. A fifty-year follow-up of congenital rubella. *Lancet* 1992; **340**: 414-415 [PMID: 1353568]

36-**Stene LC**, Oikarinen S, Hyöty H, Barriga KJ, Norris JM, Klingensmith G, Hutton JC, Erlich HA, Eisenbarth GS, Rewers M. Enterovirus infection and progression from islet autoimmunity to type 1 diabetes: the Diabetes and Autoimmunity Study in the Young (DAISY). *Diabetes* 2010; **59**: 3174-3180 [PMID: 20858685 DOI:10.2337/db10-0866]

37-**Yeung WC**, Rawlinson WD, Craig ME. Enterovirus infection and type 1 diabetes mellitus: systematic review and meta-analysis of observational molecular studies. *BMJ* 2011; **342**: d35 [PMID:21292721 DOI: 10.1136/bmj.d35]

38-**Hyppönen E**, Läärä E, Reunanen A, Järvelin MR, Virtanen SM. Intake of vitamin D and risk of type 1 diabetes: a birth-cohort study. *Lancet* 2001; **358**: 1500-1503 [PMID: 11705562 DOI: 10.1016/S0140-6736(01)06580-1]

39-**Knip M**, Virtanen SM, Seppä K, Ilonen J, Savilahti E, Vaarala O, Reunanen A, Teramo K, Hämäläinen AM, Paronen J, Dosch HM, Hakulinen T, Akerblom HK. Dietary intervention in infancy and later signs of beta-cell autoimmunity. *N Engl J Med* 2010; **363**: 1900-1908 [PMID: 21067382 DOI: 10.1056/NEJMoa1004809]

40-**Forlenza GP**, Rewers M. The epidemic of type 1 diabetes: what is it telling us? *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes* 2011; **18**: 248-251 [PMID:21844707 DOI:10.1097/MED.0b013e32834872ce]

41-**Ferreira RC**, Guo H, Coulson RM, Smyth DJ, Pekalski ML, Burren OS, Cutler AJ, Doecke JD, Flint S, McKinney EF, Lyons PA, Smith KG, Achenbach P, Beyerlein A, Dunger DB, Clayton DG, Wicker LS, Todd JA, Bonifacio E, Wallace C, Ziegler AG. A type I interferon transcriptional signature precedes autoimmunity in children genetically at risk for type 1 diabetes. *Diabetes* 2014; **63**: 2538-2550 [PMID: 24561305 DOI: 10.2337/db13-1777]

42-**Kallionpää H**, Elo LL, Laajala E, Mykkänen J, Riccaño-Ponce I, Vaarma M, Laajala TD, Hyöty H, Ilonen J, Veijola R, Simell T, Wijmenga C, Knip M, Lähdesmäki H, Simell O, Laesmaa R. Innate immune activity is detected prior to seroconversion in children with HLA-conferred type 1 diabetes susceptibility. *Diabetes* 2014; **63**: 2402-2414 [PMID: 24550192 DOI: 10.2337/db13-1775]

43-**Richardson SJ**, Horwitz MS. Is type 1 diabetes “going viral”? *Diabetes* 2014; **63**: 2203-2205 [PMID: 24962917 DOI: 10.2337/db14-0510]

44-**Lombardo F**, Valenzise M, Wasniewska M, Messina MF, Ruggeri C, Arrigo T, De Luca F. Two-year prospective evaluation of the factors affecting honeymoon frequency and duration in children with insulin dependent diabetes mellitus: the key-role of age at diagnosis. *Diabetes Nutr Metab* 2002; **15**: 246-251 [PMID: 12416662]

45-**Abiru N**, Kawasaki E, Eguchi K. Current knowledge of Japanese type 1 diabetic syndrome. *Diabetes Metab Res Rev* 2002; **18**: 357-366 [PMID: 12397578 DOI: 10.1002/dmrr.323]

- 46-**Imagawa A**, Hanafusa T, Miyagawa J, Matsuzawa Y. A proposal of three distinct subtypes of type 1 diabetes mellitus based on clinical and pathological evidence. *Ann Med* 2000; **32**: 539-543 [PMID:11127931]
- 47-**Imagawa A**, Hanafusa T, Miyagawa J, Matsuzawa Y. A novel subtype of type 1 diabetes mellitus characterized by a rapid onset and an absence of diabetes-related antibodies. Osaka IDDM StudyGroup.*NEnglJMed*2000;**342**:301-307[PMID:10655528DOI:10.1056/NEJM200002033420501]
- 48-**Imagawa A**, Hanafusa T. Fulminant type 1 diabetes--an important subtype in East Asia. *Diabetes Metab Res Rev* 2011; **27**: 959-964[PMID: 22069293 DOI: 10.1002/dmrr.1236]
- 49-**Shibasaki S**, Imagawa A, Hanafusa T. Fulminant type 1 diabetes mellitus: a new class of type 1 diabetes. *Adv Exp Med Biol* 2012;**771**: 20-23 [PMID: 23393667]
- 50-**Imagawa A**, Hanafusa T. Fulminant type 1 diabetes mellitus. *EndocrJ* 2006; **53**: 577-584 [PMID: 16873987]
- 51-**Shimizu I**, Makino H, Imagawa A, Iwahashi H, Uchigata Y, Kanatsuka A, Kawasaki E, Kobayashi T, Shimada A, Maruyama T, Hanafusa T. Clinical and immunogenetic characteristics of fulminant type 1 diabetes associated with pregnancy. *J Clin Endocrinol Metab* 2006; **91**: 471-476 [PMID: 16278271 DOI: 10.1210/jc.2005-1943]
- 52-**Ginsberg H**, Kimmerling G, Olefsky JM, Reaven GM. Demonstration of insulin resistance in untreated adult onset diabetic subjects with fasting hyperglycemia. *J Clin Invest* 1975; **55**: 454-461 [PMID: 1117064 DOI: 10.1172/JCI107951]
- 53-**Olefsky J**, Farquhar JW, Reaven G. Relationship between fasting plasma insulin level and resistance to insulin-mediated glucose uptake in normal and diabetic subjects. *Diabetes* 1973; **22**: 507-513[PMID: 4719190]
- 54-**Kraemer FB**, Ginsberg HN, Gerald M, Reaven, MD: Demonstration of the central role of insulin resistance in type 2 diabetes and cardiovascular disease. *Diabetes Care* 2014; **37**: 1178-1181 [PMID:24757223 DOI: 10.2337/dc13-2668]
- 55-Type 2 diabetes in children and adolescents. American Diabetes Association. *Diabetes Care* 2000; **23**: 381-389 [PMID: 10868870]
- 56-**Reinehr T**. Type 2 diabetes mellitus in children and adolescents. *World J Diabetes* 2013; **4**: 270-281 [PMID: 24379917 DOI:10.4239/wjd.v4.i6.270]
- 57-**Druet C**, Tubiana-Rufi N, Chevenne D, Rigal O, Polak M, LevyMarchal C. Characterization of insulin secretion and resistance in type 2 diabetes of adolescents. *J Clin Endocrinol Metab* 2006; **91**:401-404 [PMID: 16291705 DOI: 10.1210/jc.2005-1672]
- 58-**Saadi H**, Nagelkerke N, Carruthers SG, Benedict S, Abdulkhalek S, Reed R, Lukic M, Nicholls MG. Association of TCF7L2 polymorphism with diabetes mellitus, metabolic syndrome, and markers of beta cell function and insulin resistance in a populationbased sample of Emirati subjects. *Diabetes Res Clin Pract* 2008; **80**:392-398 [PMID: 18282631 DOI: 10.1016/j.diabres.2008.01.008]
- 59-**Wei JN**, Sung FC, Li CY, Chang CH, Lin RS, Lin CC, Chiang CC, Chuang LM. Low birth weight and high birth weight infants are both at an increased risk to have type 2 diabetes among schoolchildren in taiwan. *Diabetes Care* 2003; **26**: 343-348 [PMID: 12547860]
- 60-**Ramachandran A**, Snehalatha C, Satyavani K, Sivasankari S, Vijay V. Type 2 diabetes in Asian-Indian urban children. *Diabetes Care*2003; **26**: 1022-1025 [PMID: 12663567]
- 61-**Sugihara S**, Sasaki N, Kohno H, Amemiya S, Tanaka T, Matsuura N; Committee for the Medical Treatment of Childhood-Onset Type 2 Diabetes Mellitus, The Japanese Society for

Pediatric Endocrinology. Survey of current medical treatments for childhood-onset type 2 diabetes mellitus in Japan. *Clin Pediatr Endocrinol* 2005; **14**: 65-75 [PMID: 24790313 DOI: 10.1297/cpe.14.65]

62-**Pozzilli P**, Di Mario U. Autoimmune diabetes not requiring insulin at diagnosis (latent autoimmune diabetes of the adult): definition, characterization, and potential prevention. *Diabetes Care* 2001; **24**:1460-1467 [PMID: 11473087]

63-**Hawa MI**, Buchan AP, Ola T, Wun CC, DeMicco DA, Bao W, Betteridge DJ, Durrington PN, Fuller JH, Neil HA, Colhoun H, Leslie RD, Hitman GA. LADA and CARDS: a prospective study of clinical outcome in established adult-onset autoimmune diabetes. *Diabetes Care* 2014; **37**: 1643-1649 [PMID: 24722498 DOI:10.2337/dc13-2383]

64-**Rolandsson O**, Palmer JP. Latent autoimmune diabetes in adults (LADA) is dead: long live autoimmune diabetes! *Diabetologia* 2010; **53**: 1250-1253 [PMID: 20336277 DOI: 10.1007/s00125-010-1713-0]

65-**Redondo MJ**. LADA: time for a new definition. *Diabetes* 2013; **62**:339-340 [PMID: 23349539 DOI: 10.2337/db12-1171]

66-**Leslie RD**, Kolb H, Schloot NC, Buzzetti R, Mauricio D, De Leiva A, Yderstraede K, Sarti C, Thivolet C, Hadden D, Hunter S, Scherthaner G, Scherbaum W, Williams R, Pozzilli P. Diabetes classification: grey zones, sound and smoke: Action LADA 1. *Diabetes Metab Res Rev* 2008; **24**: 511-519 [PMID: 18615859 DOI:10.1002/dmrr.877]

67-**Copps KD**, White MF. Regulation of insulin sensitivity by serine/threonine phosphorylation of insulin receptor substrate proteins IRS1 and IRS2. *Diabetologia* 2012; **55**: 2565-2582 [PMID: 22869320 DOI: 10.1007/s00125-012-2644-8]

68-**Boura-Halfon S**, Zick Y. Phosphorylation of IRS proteins, insulin action, and insulin resistance. *AmJPhysiolEndocrinolMetab* 2009; **296**:E581-E591 [PMID:18728222 DOI:10.1152/ajpendo.90437.2008]

69-**Tanti JF**, Jager J. Cellular mechanisms of insulin resistance: role of stress-regulated serine kinases and insulin receptor substrates (IRS) serine phosphorylation. *Curr Opin Pharmacol* 2009; **9**: 753-762 [PMID: 19683471 DOI: 10.1016/j.coph.2009.07.004]

70-**Cheng Z**, Tseng Y, White MF. Insulin signaling meets mitochondria in metabolism. *Trends Endocrinol Metab* 2010; **21**: 589-598 [PMID:20638297 DOI: 10.1016/j.tem.2010.06.005]

71-**White MF**. Insulin signaling in health and disease. *Science* 2003; **302**: 1710-1711 [PMID: 14657487 DOI: 10.1126/science.1092952]

72-**Farese RV**, Sajan MP, Standaert ML. Insulin-sensitive protein kinases (atypical protein kinase C and protein kinase B/Akt): actions and defects in obesity and type II diabetes. *Exp Biol Med* (Maywood) 2005; **230**: 593-605 [PMID: 16179727]

73-**Farese RV**, Sajan MP, Yang H, Li P, Mastorides S, Gower WR, Nimal S, Choi CS, Kim S, Shulman GI, Kahn CR, Braun U, Leitges M. Muscle-specific knockout of PKC-lambda impairs glucose transport and induces metabolic and diabetic syndromes. *J Clin Invest* 2007; **117**: 2289-2301 [PMID: 17641777 DOI: 10.1172/JCI31408]

74-**Morino K**, Neschen S, Bilz S, Sono S, Tsigotis D, Reznick RM, Moore I, Nagai Y, Samuel V, Sebastian D, White M, Philbrick W, Shulman GI. Muscle-specific IRS-1 Ser- & gt; Ala transgenic mice are protected from fat-induced insulin resistance in skeletal muscle. *Diabetes* 2008; **57**: 2644-2651 [PMID: 18633112 DOI: 10.2337/db06-0454]

75-**Copps KD**, Hancer NJ, Opare-Ado L, Qiu W, Walsh C, White MF. Irs1 serine 307 promotes insulin sensitivity in mice. *CellMetab* 2010; **11**:84-92 [PMID: 20074531 DOI: 10.1016/j.cmet.2009.11.003]

- 76-**Sargis RM**. The hijacking of cellular signaling and the diabetes epidemic: mechanisms of environmental disruption of insulin action and glucose homeostasis. *Diabetes Metab J* 2014; **38**: 13-24 [PMID:24627823 DOI: 10.4093/dmj.2014.38.1.13]
- 77-**Otero YF**, Stafford JM, McGuinness OP. Pathway-selective insulin resistance and metabolic disease: the importance of nutrient flux. *J Biol Chem* 2014; **289**: 20462-20469 [PMID: 24907277 DOI:10.1074/jbc.R114.576355]
- 78-**Ye J**. Mechanisms of insulin resistance in obesity. *Front Med* 2013; **7**:14-24 [PMID: 23471659 DOI: 10.1007/s11684-013-0262-6]
- 79-**Murphy R**, Ellard S, Hattersley AT. Clinical implications of a molecular genetic classification of monogenic beta-cell diabetes. *Nat Clin Pract Endocrinol Metab* 2008; **4**: 200-213 [PMID: 18301398 DOI: 10.1038/ncpendmet0778]
- 80-**Schwitzgebel VM**. Many faces of monogenic diabetes. *J Diabetes Investig* 2014; **5**: 121-133 [PMID: 24843749 DOI: 10.1111/jdi.12197]
- 81-**Kushner JA**, Ye J, Schubert M, Burks DJ, Dow MA, Flint CL, Dutta S, Wright CV, Montminy MR, White MF. Pdx1 restores beta cell function in Irs2 knockout mice. *J Clin Invest* 2002; **109**: 1193-1201 [PMID: 11994408 DOI: 10.1172/JCI14439]
- 82-**Gusarova V**, Alexa CA, Na E, Stevis PE, Xin Y, Bonner-Weir S, Cohen JC, Hobbs HH, Murphy AJ, Yancopoulos GD, Gromada J. ANGPTL8/betatrophin does not control pancreatic beta cell expansion. *Cell* 2014; **159**: 691-696 [PMID: 25417115 DOI:10.1016/j.cell.2014.09.027]
- 83-**Reardon W**, Ross RJ, Sweeney MG, Luxon LM, Pembrey ME, Harding AE, Trembath RC. Diabetes mellitus associated with a pathogenic point mutation in mitochondrial DNA. *Lancet* 1992; **340**:1376-1379 [PMID: 1360090]
- 84-**Chen N**, Unnikrishnan I R, Anjana RM, Mohan V, Itchumoni CS. The complex exocrine-endocrine relationship and secondary diabetes in exocrine pancreatic disorders. *J Clin Gastroenterol* 2011; **45**: 850-861 [PMID: 21897283 DOI: 10.1097/MCG.0b013e31822a2ae5]
- 85-**Pezzilli R**, Calculli L. Pancreatic steatosis: Is it related to either obesity or diabetes mellitus? *World J Diabetes* 2014; **5**: 415-419 [PMID: 25126389 DOI:10.4239/wjd.v5.i4.415]
- 86-**Larger E**, Philippe MF, Barbot-Trystram L, Radu A, Rotariu M, Nobécourt E, Boitard C. Pancreatic exocrine function in patients with diabetes. *Diabet Med* 2012; **29**: 1047-1054 [PMID: 22273174 DOI:10.1111/j.1464-5491.2012.03597.x]
- 87-**Huang Y**, Cai X, Chen P, Mai W, Tang H, Huang Y, Hu Y. Associations of prediabetes with all-cause and cardiovascular mortality: a meta-analysis. *Ann Med* 2014; **46**: 684-692 [PMID: 25230915 DOI: 10.3109/07853890.2014.955051]
- 88-**Sherwin R**, Jastreboff AM. Year in diabetes 2012: The diabetes tsunami. *J Clin Endocrinol etab* 2012; **97**: 4293-4301 [PMID:23185035 DOI: 10.1210/jc.2012-3487]
- 89-**Huang Y**, Cai X, Qiu M, Chen P, Tang H, Hu Y, Huang Y. Prediabetes and the risk of cancer: a meta-analysis. *Diabetologia* 2014; **57**: 2261-2269 [PMID: 25208757 DOI: 10.1007/s00125-014-3361-2]
- 90-**Buysschaert M**, Bergman M. Definition of prediabetes. *Med Clin North Am* 2011; **95**: 289-297, vii [PMID: 21281833 DOI: 10.1016/j.mcna.2010.11.002]
- 91-**American Diabetes Association**. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care* 2010; **33** Suppl 1: S62-S69 [PMID:20042775 DOI: 10.2337/dc10-S062]
- 92-**Center for Disease Control and Prevention**. National diabetes statistics report: Estimates of diabetes and its burden in the United States. Atlanta, GA: US Department of Health and Human Services, 2014

- 93-**Inoue K**, Matsumoto M, Akimoto K. The threshold for definition of impaired fasting glucose in a Japanese population. *Diabet Med* 2009; **26**: 1175-1178 [PMID: 19929998 DOI: 10.1111/j.1464-5491.2009.02850.x]
- 94-**Bernal-Lopez MR**. Et al. HbA(1c) in adults without known diabetes from southern Europe. Impact of the new diagnostic criteria in clinical practice. *Diabet Med* 2011; **28**: 1319-1322 [PMID: 21966956 DOI:10.1111/j.1464-5491.2011.03317.x]
- 95-**Bersoux S**, Cook CB, Wu Q, Burritt MF, Hernandez JS, Verona PM, Larson MH, LaRosa CS. Hemoglobin A1c testing alone does not sufficiently identify patients with prediabetes. *Am J Clin Pathol* 2011; **135**: 674-677 [PMID: 21502421 DOI: 10.1309/AJCPJBG0WYRAHN0R]
- 96-**Lipska KJ**, De Rekeneire N, Van Ness PH, Johnson KC, Kanaya A, Koster A, Strotmeyer ES, Goodpaster BH, Harris T, Gill TM, Inzucchi SE. Identifying dysglycemic states in older adults: implications of the emerging use of hemoglobin A1c. *J Clin Endocrinol Metab* 2010; **95**: 5289-5295 [PMID: 20861123 DOI:10.1210/jc.2010-1171]
- 97-**Grundy SM**. Pre-diabetes, metabolic syndrome, and cardiovascular risk. *J Am Coll Cardiol* 2012; **59**: 635-643 [PMID: 22322078 DOI:10.1016/j.jacc.2011.08.080]
- 98-**Tabák AG**, Herder C, Rathmann W, Brunner EJ, Kivimäki M. Prediabetes: a high-risk state for diabetes development. *Lancet* 2012; **379**: 2279-2290 [PMID: 22683128 DOI: 10.1016/S0140-6736(12)60283-9]
- 99-**Zhang X**, Gregg EW, Williamson DF, Barker LE, Thomas W, Bullard KM, Imperatore G, Williams DE, Albright AL. A1C level and future risk of diabetes: a systematic review. *Diabetes Care* 2010; **33**: 1665-1673 [PMID: 20587727 DOI: 10.2337/dc09-1939]
- 100-**International Expert Committee**. International Expert Committee report on the role of the A1C assay in the diagnosis of diabetes. *Diabetes Care* 2009; **32**: 1327-1334 [PMID: 19502545 DOI:10.2337/dc09-9033]
- 101-**American Diabetes Association**. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care* 2009; **32** Suppl 1: S62-S67 [PMID:19118289 DOI: 10.2337/dc09-S062]
- 102-**World Health Organization**. Use of glycated haemoglobin (HbA1c) in the diagnosis of diabetes mellitus: Abbreviated report of a WHO consultant. Available from: URL: http://www.who.int/diabetes/publications/report-hba1c_2011.pdf
- 103-**Sacks DB**, Arnold M, Bakris GL, Bruns DE, Horvath AR, Kirkman MS, Lernmark A, Metzger BE, Nathan DM. Guidelines and recommendations for laboratory analysis in the diagnosis and management of diabetes mellitus. *Clin Chem* 2011; **57**: e1-e47[PMID: 21617152 DOI: 10.1373/clinchem.2010.161596]
- 104-**Shaw JE**, d'Emden MC, Goodall I. Is Australia ready to use glycated haemoglobin for the diagnosis of diabetes? *Med J Aust* 2011; **195**: 7-8 [PMID: 21728932]
- 105-**Davidson MB**. Diagnosing diabetes with glucose criteria:worshipping a false God. *Diabetes Care* 2011; **34**: 524-526 [PMID:21270208 DOI: 10.2337/dc10-1689]
- 106-**Day A**. HbA1c and diagnosis of diabetes. The test has finally come of age. *Ann Clin Biochem* 2012; **49**: 7-8 [PMID: 22218489 DOI:10.1258/acb.2011.011255]
- 107-**Malkani S**, Mordes JP. Implications of using hemoglobin A1C for diagnosing diabetes mellitus. *Am J Med* 2011; **124**: 395-401 [PMID:21531226 DOI: 10.1016/j.amjmed.2010.11.025]
- 108-**Sacks DB**. A1C versus glucose testing: a comparison. *Diabetes Care* 2011; **34**: 518-523 [PMID: 21270207 DOI: 10.2337/dc10-1546]

10-**Cheng YJ**, Gregg EW, Geiss LS, Imperatore G, Williams DE, Zhang X, Albright AL, Cowie CC, Klein R, Saaddine JB. Association of A1C and fasting plasma glucose levels with diabetic retinopathy prevalence in the U.S. population: Implications for diabetes diagnostic thresholds. *Diabetes Care* 2009; **32**: 2027-2032 [PMID:19875604 DOI: 10.2337/dc09-0440]

110-**McDonald TJ**, Warren R. Diagnostic confusion? Repeat HbA1c for the diagnosis of diabetes. *Diabetes Care* 2014; **37**: e135-e136 [PMID:24855169 DOI: 10.2337/dc14-0055]

111-**Dagogo-Jack S**. Pitfalls in the use of HbA:(c) as a diagnostic test: the ethnic conundrum. *Nat Rev Endocrinol* 2010; **6**: 589-593 [PMID:20680035 DOI: 10.1038/nrendo.2010.126]

112-**Ma H**, Gao X, Lin HD, Hu Y, Li XM, Gao J, Zhao NQ. Glycated haemoglobin in diagnosis of diabetes mellitus and pre-diabetes among middle-aged and elderly population: Shanghai Changfeng study. *Biomed Environ Sci* 2013; **26**: 155-162 [PMID: 23425797 DOI: 10.3967/0895-3988.2013.03.001]

113-**Mukai N**, Doi Y, Ninomiya T, Hata J, Hirakawa Y, Fukuhara M, Iwase M, Kiyohara Y. Cut-off values of fasting and postload plasma glucose and HbA1c for predicting Type 2 diabetes in community-dwelling Japanese subjects: the Hisayama Study. *Diabet Med* 2012; **29**: 99-106 [PMID: 21726278 DOI: 10.1111/j.1464-5491.2011.03378.x]

114-**Tsugawa Y**, Takahashi O, Meigs JB, Davis RB, Imamura F, Fukui T, Taylor WC, Wee CC. New diabetes diagnostic threshold of hemoglobin A(1c) and the 3-year incidence of retinopathy. *Diabetes* 2012; **61**: 3280-3284 [PMID: 22891221 DOI: 10.2337/db12-0103]

115-**Lu ZX**, Walker KZ, O'Dea K, Sikaris KA, Shaw JE. A1C for screening and diagnosis of type 2 diabetes in routine clinical practice. *Diabetes Care* 2010; **33**: 817-819 [PMID: 20067965 DOI: 10.2337/dc09-1763]

116-**Jørgensen ME**, Bjerregaard P, Borch-Johnsen K, Witte D. New diagnostic criteria for diabetes: is the change from glucose to HbA1c possible in all populations? *J Clin Endocrinol Metab* 2010; **95**: WJD | www.wjgnet.com 862 June 25, 2015 | Volume 6 | Issue 6 | Kharroubi AT et al. Diabetes epidemic E333-E336 [PMID: 20739381 DOI: 10.1210/jc.2010-0710]

117-**Kramer CK**, Araneta MR, Barrett-Connor E. A1C and diabetes diagnosis: The Rancho Bernardo Study. *Diabetes Care* 2010; **33**: 101-103 [PMID: 19837792 DOI: 10.2337/dc09-1366]

118-**Rathmann W**, Kowall B, Tamayo T, Giani G, Holle R, Thorand B, Heier M, Huth C, Meisinger C. Hemoglobin A1c and glucose criteria identify different subjects as having type 2 diabetes in middle-aged and older populations: the KORA S4/F4 Study. *Ann Med* 2012; **44**: 170-177 [PMID: 21091229 DOI: 10.3109/07853890.2010.531759]

119-**Soulimane S**, Simon D, Shaw JE, Zimmet PZ, Vol S, Vistisen D, Magliano DJ, Borch-Johnsen K, Balkau B. Comparing incident diabetes as defined by fasting plasma glucose or by HbA(1c). The AusDiab, Inter99 and DESIR studies. *Diabet Med* 2011; **28**: 1311-1318 [PMID: 21824186 DOI: 10.1111/j.1464-5491.2011.03403.x]

120-**Kawada T**. Is there any ethnic difference in the prevalence of prediabetes? *Am J Clin Pathol* 2012; **137**: 500-501 [PMID:22338068 DOI: 10.1309/ajcponil38uyshrh]

121-**American Diabetes Association**. Standards of medical care in diabetes--2010. *Diabetes Care* 2010; **33** Suppl 1: S11-S61 [PMID:20042772 DOI: 10.2337/dc10-S011]

122-**Cavagnoli G**, Comerlato J, Comerlato C, Renz PB, Gross JL, Camargo JL. HbA(1c) measurement for the diagnosis of diabetes: is it enough? *Diabet Med* 2011; **28**: 31-35 [PMID: 21210540]

123-**Hayes L**, Hawthorne G, Unwin N. Undiagnosed diabetes in the over-60s: performance of the Association of Public Health Observatories (APHO) Diabetes Prevalence Model in a general

practice. *Diabet Med* 2012; **29**: 115-120 [PMID: 21781154 DOI:10.1111/j.1464-5491.2011.03389.x]

124-**Costa B**, Barrio F, Piñol JL, Cabré JJ, Mundet X, Sagarra R, Salas-Salvadó J, Solà-Morales O; DE-PLAN-CAT/PREDICE Research Group. Shifting from glucose diagnosis to the new HbA1c diagnosis reduces the capability of the Finnish Diabetes Risk Score (FINDRISC) to screen for glucose abnormalities within a real-life primary healthcare preventive strategy. *BMC Med* 2013; **11**: 45 [PMID: 23438147 DOI: 10.1186/1741-7015-11-45]

125-**Miranda JJ**, Bernabe-Ortiz A, Stanojevic S, Malaga G, Gilman RH, Smeeth L. A1C as a diagnostic criteria for diabetes in low- and middle-income settings: evidence from Peru. *PLoS One* 2011; **6**: e18069 [PMID: 21464957 DOI: 10.1371/journal.pone.0018069]

126-**Kharroubi AT**, Darwish HM, Abu Al-Halaweh AI, Khammash UM. Evaluation of glycated hemoglobin (HbA1c) for diagnosing type 2 diabetes and prediabetes among Palestinian Arab population. *PLoS One* 2014; **9**: e88123 [PMID: 24505401 DOI: 10.1371/journal.pone.0088123]

127-**HAPO Study Cooperative Research Group**, Metzger BE, Lowe LP, Dyer AR, Trimble ER, Chaovarindr U, Coustan DR, Hadden DR, McCance DR, Hod M, McIntyre HD, Oats JJ, Persson B, Rogers MS, Sacks DA. Hyperglycemia and adverse pregnancy outcomes. *N Engl J Med* 2008; **358**: 1991-2002 [PMID: 18463375 DOI: 10.1056/NEJMoa0707943]

128-**Metzger BE**, Gabbe SG, Persson B, Buchanan TA, Catalano PA, Damm P, Dyer AR, Leiva Ad, Hod M, Kitzmiller JL, Lowe LP, McIntyre HD, Oats JJ, Omori Y, Schmidt MI. International association of diabetes and pregnancy study groups recommendations on the diagnosis and classification of hyperglycemia in pregnancy. *Diabetes Care* 2010; **33**: 676-682 [PMID: 20190296 DOI: 10.2337/ dc09-1848]

129-Diagnostic criteria and classification of hyperglycaemia first detected in pregnancy: a World Health Organization Guideline. *Diabetes Res Clin Pract* 2014; **103**: 341-363 [PMID: 24847517]

130-**Roglic G**, Colagiuri S. Gestational diabetes mellitus: squaring the circle. *Diabetes Care* 2014; **37**: e143-e144 [PMID: 24855173 DOI: 10.2337/dc14-0344]

131-**Vandorsten JP** NIH consensus development conference: diagnosing gestational diabetes mellitus. *NIH Consens State Sci Statements* 2013; **29**: 1-31 [PMID: 23748438]

132-**Duran A**, the St. Carlos Gestational Diabetes Study. *Diabetes Care* 2014; **37**: 2442-2450 [PMID: 24947793 DOI: 10.2337/dc14-0179]

133-**Ethridge JK**, Catalano PM, Waters TP. Perinatal outcomes associated with the diagnosis of gestational diabetes made by the international association of the diabetes and pregnancy study groups criteria. *Obstet Gynecol* 2014; **124**: 571-578 [PMID: 25162258 DOI: 10.1097/AOG.0000000000000412]

134-**Colagiuri S**. Et al. Strategies for implementing the WHO diagnostic criteria and classification of hyperglycaemia first detected in pregnancy. *Diabetes Res Clin Pract* 2014; **103**: 364-372 [PMID: 24731475 DOI: 10.1016/j.diabres.2014.02.012]

135-**Trujillo J**, Vigo A, Reichelt A, Duncan BB, Schmidt MI. Fasting plasma glucose to avoid a full OGTT in the diagnosis of gestational diabetes. *Diabetes Res Clin Pract* 2014; **105**: 322-326 [PMID: 25037441 DOI: 10.1016/j.diabres.2014.06.001]

136-**Sacks DB**. Diagnosis of gestational diabetes mellitus: it is time for international consensus. *Clin Chem* 2014; **60**: 141-143 [PMID: 24061614 DOI: 10.1373/clinchem.2013.206920]

137-**Capula C**, Mazza T, Vero R, Costante G. HbA1c levels in patients with gestational diabetes mellitus: Relationship with pre-pregnancy BMI and pregnancy outcome. *J Endocrinol Invest* 2013; **36**: 1038-1045 [PMID: 23873403 DOI: 10.3275/9037]

138-**Rajput R**, Yogesh Yadav M, Nanda S. Utility of HbA1c for diagnosis of gestational diabetes mellitus. *Diabetes Res Clin Pract* 2012; **98**: 104-107 [PMID: 22456454 DOI: 10.1016/j.diabres.2012.02.018]

139-**Hughes RC**, Moore MP, Gullam JE, Mohamed K, Rowan J. An early pregnancy HbA1c $\geq 5.9\%$ (41 mmol/mol) is optimal for detecting diabetes and identifies women at increased risk of adverse pregnancy outcomes. *Diabetes Care* 2014; **37**: 2953-2959 [PMID: 25190675 DOI: 10.2337/dc14-1312]

140-**Granada C**, Forbes J, Sangi-Haghpeykar H, Davidson C. Can overt diabetes mellitus be predicted by an early A1C value in gestational diabetics? *J Reprod Med* 2014; **59**: 343-347 [PMID: 25098023]

141-**Starikov RS**, Inman K, Chien EK, Anderson BL, Rouse DJ, Lopes V, Coustan DR. Can hemoglobin A1c in early pregnancy predict adverse pregnancy outcomes in diabetic patients? *J Diabetes Complications* 2014; **28**: 203-207 [PMID: 24268941 DOI: 10.1016/j.jdiacomp.2013.10.004]

142-**Frayling TM**. A new era in finding Type 2 diabetes genes-the unusual suspects. *Diabet Med* 2007; **24**: 696-701 [PMID: 17561964 DOI: 10.1111/j.1464-5491.2007.02172.x]

143- **Owen KR**, McCarthy MI. Genetics of type 2 diabetes. *Curr Opin Genet Dev* 2007; **17**: 239-244 [PMID: 17466512 DOI: 10.1016/j.gde.2007.04.003]

144-**Brunetti A**, Chiefari E, Foti D. Recent advances in the molecular genetics of type 2 diabetes mellitus. *World J Diabetes* 2014; **5**: 128-140 [PMID: 24748926 DOI: 10.4239/wjd.v5.i2.128]

145-**Doria A**, Patti ME, Kahn CR. The emerging genetic architecture of type 2 diabetes. *Cell Metab* 2008; **8**: 186-200 [PMID: 18762020 DOI: 10.1016/j.cmet.2008.08.006]

146-**Ahlqvist E**, Ahluwalia TS, Groop L. Genetics of type 2 diabetes. *Clin Chem* 2011; **57**: 241-254 [PMID: 21119033 DOI: 10.1373/clinchem.2010.157016]

147-**Staiger H**, Machicao F, Fritsche A, Häring HU. Pathomechanisms of type 2 diabetes genes. *Endocr Rev* 2009; **30**: 557-585 [PMID: 19749172 DOI: 10.1210/er.2009-0017]

148-**Lyssenko V**, Jonsson A, Almgren P, Pulizzi N, Isomaa B, Tuomi T, Berglund G, Altshuler D, Nilsson P, Groop L. Clinical risk factors, DNA variants, and the development of type 2 diabetes. *N Engl J Med* 2008; **359**: 2220-2232 [PMID: 19020324 DOI: 10.1056/NEJMoa0801869]

149-**Groop L**, Forsblom C, Lehtovirta M, Tuomi T, Karanko S, Nissén M, Ehrnström BO, Forsén B, Isomaa B, Snickars B, Taskinen MR. Metabolic consequences of a family history of NIDDM (the Botnia study): evidence for sex-specific parental effects. *Diabetes* 1996; **45**: 1585-1593 [PMID: 8866565]

150-**Weijnen CF**, Rich SS, Meigs JB, Krolewski AS, Warram JH. Risk of diabetes in siblings of index cases with Type 2 diabetes: implications for genetic studies. *Diabet Med* 2002; **19**: 41-50 [PMID: 11869302]

151-**Post RE**, Mainous AG, King DE, Simpson KN. Dietary fiber for the treatment of type 2 diabetes mellitus: a meta-analysis. *J Am Board Fam Med* 2012; **25**: 16-23 [PMID: 22218620 DOI: 10.3122/jabfm.2012.01.110148]

152-**Zeggini E**. Et al. Replication of genome-wide association signals in UK samples reveals risk loci for type 2 diabetes. *Science* 2007; **316**: 1336-1341 [PMID: 17463249 DOI: 10.1126/science.1142364]

153-**Biagini Myers JM**, Wang N, LeMasters GK, Bernstein DI, Epstein TG, Lindsey MA, Ericksen MB, Chakraborty R, Ryan PH, Villareal MS, Burkle JW, Lockey JE, Reponen T, Khurana Hershey

GK. Genetic and environmental risk factors for childhood eczema development and allergic sensitization in the CCAAPS cohort. *J Invest Dermatol* 2010; **130**: 430-437 [PMID: 19759553 DOI: 10.1038/jid.2009.300]

154-**Scott LJ**, A genome-wide association study of type 2 diabetes in Finns detects multiple susceptibility variants. *Science* 2007; **316**: 1341-1345 [PMID: 17463248 DOI: 10.1126/science.1142382]

155-**Diabetes Genetics Initiative of Broad Institute of Harvard and MIT**, Lund University, and Novartis Institutes of BioMedical Research, Genome-wide association analysis identifies loci for type 2 diabetes and triglyceride levels. *Science* 2007; **316**: 1331-1336 [PMID: 17463246 DOI: 10.1126/science.1142358]

156-**Hwang JY** Genome-wide association meta-analysis identifies novel variants associated with fasting plasma glucose in East Asians. *Diabetes* 2015; **64**: 291-298 [PMID: 25187374 DOI: 10.2337/db14-0563]

157-**Ng MC**, Meta-analysis of genome-wide association studies in African Americans provides insights into the genetic architecture of type 2 diabetes. *PLoS Genet* 2014; **10**: e1004517 [PMID: 25102180 DOI: 10.1371/journal.pgen.1004517]

158-**Dupuis J**, New genetic loci implicated in fasting glucose homeostasis and their impact on type 2 diabetes risk. *Nat Genet* 2010; **42**: 105-116 [PMID: 20081858 DOI: 10.1038/ng.520]

159-**Horikawa Y**. Et al. Genetic variation in the gene encoding calpain-10 is associated with type 2 diabetes mellitus. *Nat Genet* 2000; **26**: 163-175 [PMID: 11017071 DOI: 10.1038/79876]

160-**Tsuchiya T** et al. Association of the calpain-10 gene with type 2 diabetes in Europeans: results of pooled and meta-analyses. *Mol Genet Metab* 2006; **89**: 174-184 [PMID: 16837224 DOI: 10.1016/j.ymgme.2006.05.013]

161-**Cauchi S**, Meyre D, Dina C, Choquet H, Samson C, Gallina S, Balkau B, Charpentier G, Pattou F, Stetsyuk V, Scharfmann R, Staels B, Frühbeck G, Froguel P. Transcription factor TCF7L2 genetic study in the French population: expression in human beta-cells and adipose tissue and strong association with type 2 diabetes. *Diabetes* 2006; **55**: 2903-2908 [PMID: 17003360 DOI: 10.2337/db06-0474]

162-**Zeggini E**, McCarthy MI. TCF7L2: the biggest story in diabetes genetics since HLA? *Diabetologia* 2007; **50**: 1-4 [PMID: 17096114 DOI: 10.1007/s00125-006-0507-x]

163-**Lyssenko V**, Lupi R, Marchetti P, Del Guerra S, Orho-Melander M, Almgren P, Sjögren M, Ling C, Eriksson KF, Lethagen AL, Mancarella R, Berglund G, Tuomi T, Nilsson P, Del Prato S, Groop L. Mechanisms by which common variants in the TCF7L2 gene increase risk of type 2 diabetes. *J Clin Invest* 2007; **117**: 2155-2163 [PMID: 17671651 DOI: 10.1172/JCI30706]

164-**Gloyn AL**, Braun M, Rorsman P. Type 2 diabetes susceptibility gene TCF7L2 and its role in beta-cell function. *Diabetes* 2009; **58**: 800-802 [PMID: 19336690 DOI: 10.2337/db09-0099]

165-**da Silva Xavier G**, Loder MK, McDonald A, Tarasov AI, Carzaniga R, Kronenberger K, Barg S, Rutter GA. TCF7L2 regulates late events in insulin secretion from pancreatic islet beta-cells. *Diabetes* 2009; **58**: 894-905 [PMID: 19168596 DOI: 10.2337/db08-1187]

166-**Villareal DT**, Robertson H, Bell GI, Patterson BW, Tran H, Wice B, Polonsky KS. TCF7L2 variant rs7903146 affects the risk of type 2 diabetes by modulating incretin action. *Diabetes* 2010; **59**: 479-485 [PMID: 19934000 DOI: 10.2337/db09-1169]

167-**Li X**, Li Y, Song B, Guo S, Chu S, Jia N, Niu W. Hematopoietically expressed homeobox gene three widely-evaluated polymorphisms and risk for diabetes: a meta-analysis. *PLoS One* 2012; **7**: e49917 [PMID: 23166797 DOI: 10.1371/journal.pone.0049917]

- 168-**Chimienti F**, Devergnas S, Pattou F, Schuit F, Garcia-Cuenca R, Vandewalle B, Kerr-Conte J, Van Lommel L, Grunwald D, Favier A, Seve M. In vivo expression and functional characterization of the zinc transporter ZnT8 in glucose-induced insulin secretion. *J Cell Sci* 2006; **119**: 4199-4206 [PMID: 16984975 DOI: 10.1242/jcs.03164]
- 169-**Flannick J**, Loss-of-function mutations in SLC30A8 protect against type 2 diabetes. *Nat Genet* 2014; **46**: 357-363 [PMID: 24584071 DOI: 10.1038/ng.2915]
- 170-**SIGMA Type 2 Diabetes Consortium**, Association of a low-frequency variant in HNF1A with type 2 diabetes in a Latino population. *JAMA* 2014; **311**: 2305-2314 [PMID: 24915262 DOI: 10.1001/jama.2014.6511]
- 171-**Saxena M**, Srivastava N, Banerjee M. Association of IL-6, TNF- α and IL-10 gene polymorphisms with type 2 diabetes mellitus. *Mol Biol Rep* 2013; **40**: 6271-6279 [PMID: 24057184 DOI: 10.1007/s11033-013-2739-4]
- 172-**Eiris N**, González-Lara L, Santos-Juanes J, Queiro R, Coto E, CotoSegura P. Genetic variation at IL12B, IL23R and IL23A is associated with psoriasis severity, psoriatic arthritis and type 2 diabetes mellitus. *J Dermatol Sci* 2014; **75**: 167-172 [PMID: 24957500 DOI: 10.1016/j.jdermsci.2014.05.010]
- 173-**Albert JS**, Yerges-Armstrong LM, Horenstein RB, Pollin TI, Sreenivasan UT, Chai S, Blaner WS, Snitker S, O'Connell JR, Gong DW, Breyer RJ, Ryan AS, McLenithan JC, Shuldiner AR, Sztalryd C, Damcott CM. Null mutation in hormone-sensitive lipase gene and risk of type 2 diabetes. *N Engl J Med* 2014; **370**: 2307-2315 [PMID: 24848981 DOI: 10.1056/NEJMoa1315496]
- 174-**Majithia AR**, Flannick J, Shahinian P, Guo M, Bray MA, Fontanillas P, Gabriel SB; GoT2D Consortium; NHGRI JHS/FHS Allelic Spectrum Project; SIGMA T2D Consortium; T2D-GENES Consortium, Rosen ED, Altshuler D. Rare variants in PPARG with decreased activity in adipocyte differentiation are associated with increased risk of type 2 diabetes. *Proc Natl Acad Sci USA* 2014; **111**:13127-13132 [PMID: 25157153 DOI: 10.1073/pnas.1410428111]
- 175-**Långberg EC**, Seed Ahmed M, Efendic S, Gu HF, Östenson CG. Genetic association of adrenergic receptor alpha 2A with obesity and type 2 diabetes. *Obesity* (Silver Spring) 2013; **21**: 1720-1725 [PMID: 23526671 DOI: 10.1002/oby.20162]
- 176-**Karamitri A**, Renault N, Clement N, Guillaume JL, Jockers R. Minireview: Toward the establishment of a link between melatonin and glucose homeostasis: association of melatonin MT2 receptor variants with type 2 diabetes. *Mol Endocrinol* 2013; **27**: 1217-1233 [PMID: 23798576 DOI: 10.1210/me.2013-1101]
- 177-**King DP**, Zhao Y, Sangoram AM, Wilsbacher LD, Tanaka M, Antoch MP, Steeves TD, Vitaterna MH, Kornhauser JM, Lowrey PL, Turek FW, Takahashi JS. Positional cloning of the mouse circadian clock gene. *Cell* 1997; **89**: 641-653 [PMID: 9160755]
- 178-**Turek FW**, Joshu C, Kohsaka A, Lin E, Ivanova G, McDearmon E, Laposky A, Losee-Olson S, Easton A, Jensen DR, Eckel RH, Takahashi JS, Bass J. Obesity and metabolic syndrome in circadian Clock mutant mice. *Science* 2005; **308**: 1043-1045 [PMID: 15845877 DOI: 10.1126/science.1108750]
- 179-**Bunger MK**, Wilsbacher LD, Moran SM, Clendenin C, Radcliffe LA, Hogenesch JB, Simon MC, Takahashi JS, Bradfield CA. Mop3 is an essential component of the master circadian pacemaker in mammals. *Cell* 2000; **103**: 1009-1017 [PMID: 11163178] WJD | www.wjgnet.com 865 June 25, 2015 | Volume 6 | Issue 6 | Kharroubi AT et al. Diabetes epidemic
- 180-**Banerjee M**, Vats P. Reactive metabolites and antioxidant gene polymorphisms in type 2 diabetes mellitus. *Indian J Hum Genet* 2014; **20**: 10-19 [PMID: 24959009 DOI: 10.4103/0971-6866.132747]

- 181-**Bener A**, Darwish S, Al-Hamaq AO, Yousafzai MT, Nasralla EA. The potential impact of family history of metabolic syndrome and risk of type 2 diabetes mellitus: In a highly endogamous population. *Indian J Endocrinol Metab* 2014; **18**: 202-209 [PMID: 24741517 DOI: 10.4103/2230-8210.129112]
- 182-**Nagamine K**, Peterson P, Scott HS, Kudoh J, Minoshima S, Heino M, Krohn KJ, Lalioti MD, Mullis PE, Antonarakis SE, Kawasaki K, Asakawa S, Ito F, Shimizu N. Positional cloning of the APECED gene. *Nat Genet* 1997; **17**: 393-398 [PMID: 9398839 DOI: 10.1038/ng1297-393]
- 183-**Bennett CL**, Christie J, Ramsdell F, Brunkow ME, Ferguson PJ, Whitesell L, Kelly TE, Saulsbury FT, Chance PF, Ochs HD. The immune dysregulation, polyendocrinopathy, enteropathy, X-linked syndrome (IPEX) is caused by mutations of FOXP3. *Nat Genet* 2001; **27**: 20-21 [PMID: 11137993 DOI: 10.1038/83713]
- 184-**Bordone L**, Motta MC, Picard F, Robinson A, Jhala US, Apfeld J, McDonagh T, Lemieux M, McBurney M, Szilvasi A, Easlson EJ, Lin SJ, Guarente L. Sirt1 regulates insulin secretion by repressing UCP2 in pancreatic beta cells. *PLoS Biol* 2006; **4**: e31 [PMID: 16366736 DOI: 10.1371/journal.pbio.0040031]
- 185-**Sun C**, Zhang F, Ge X, Yan T, Chen X, Shi X, Zhai Q. SIRT1 improves insulin sensitivity under insulin-resistant conditions by repressing PTP1B. *Cell Metab* 2007; **6**: 307-319 [PMID: 17908559 DOI: 10.1016/j.cmet.2007.08.014]
- 186-**Biason-Lauber A**. Et al. Identification of a SIRT1 mutation in a family with type 1 diabetes. *Cell Metab* 2013; **17**: 448-455 [PMID: 23473037 DOI: 10.1016/j.cmet.2013.02.001]
- 187-**Haller K**, Kisand K, Pisarev H, Salur L, Laisk T, Nemvalts V, Uibo R. Insulin gene VNTR, CTLA-4 +49A/G and HLA-DQB1 alleles distinguish latent autoimmune diabetes in adults from type 1 diabetes and from type 2 diabetes group. *Tissue Antigens* 2007; **69**: 121-127 [PMID: 17257313 DOI: 10.1111/j.1399-0039.2006.00745.x]
- 188-**Okruzsko A**, Szepietowska B, Wawrusiewicz-Kurylonek N, Górská M, Krętowski A, Szelachowska M. HLA-DR, HLA-DQB1 and PTPN22 gene polymorphism: association with age at onset for autoimmune diabetes. *Arch Med Sci* 2012; **8**: 874-878 [PMID: 23185198 DOI: 10.5114/aoms.2012.31619]
- 189-**Ahmadi S**, Rostamzadeh J, Khosravi D, Shariati P, Shakiba N. Association of CTLA-4 gene 49A/G polymorphism with the incidence of type 1 diabetes mellitus in the Iranian Kurdish population. *Pak J Biol Sci* 2013; **16**: 1929-1935 [PMID: 24517008]
- 190-**da Silva RC**, Cunha Tavares Nde A, Moura R, Coelho A, Guimarães RL, Araújo J, Crovella S, Brandão LA, Silva Jde A. DCSIGN polymorphisms are associated to type 1 diabetes mellitus. *Immunobiology* 2014; **219**: 859-865 [PMID: 25092567 DOI: 10.1016/j.imbio.2014.07.011]
- 191-**Burren OS**, Guo H, Wallace C. VSEAMS: a pipeline for variant set enrichment analysis using summary GWAS data identifies IKZF3, BATF and ESRRA as key transcription factors in type 1 diabetes. *Bioinformatics* 2014; **30**: 3342-3348 [PMID: 25170024 DOI: 10.1093/bioinformatics/btu571]
- 192-**Evangelou M**, Smyth DJ, Fortune MD, Burren OS, Walker NM, Guo H, Onengut-Gumuscu S, Chen WM, Concannon P, Rich SS, Todd JA, Wallace C. A method for gene-based pathway analysis using genomewide association study summary statistics reveals nine new type 1 diabetes associations. *Genet Epidemiol* 2014; **38**: 661-670 [PMID: 25371288 DOI: 10.1002/gepi.21853]
- 193-**Tomlinson MJ**, Pitsillides A, Pickin R, Mika M, Keene KL, Hou X, Mychaleckyj J, Chen WM, Concannon P, Onengut-Gumuscu S. Fine mapping and functional studies of risk variants for type 1 diabetes at chromosome 16p13.13. *Diabetes* 2014; **63**: 4360-4368 [PMID: 25008175 DOI: 10.2337/db13-1785]

- 194-**Todd JA**. Etiology of type 1 diabetes. *Immunity* 2010; **32**: 457-467 [PMID: 20412756 DOI: 10.1016/j.immuni.2010.04.001]
- 195-**Ziegler AG**, Nepom GT. Prediction and pathogenesis in type 1 diabetes. *Immunity* 2010; **32**: 468-478 [PMID: 20412757 DOI: 10.1016/j.immuni.2010.03.018]
- 196-**UK IBD Genetics Consortium** Genome-wide association study of ulcerative colitis identifies three new susceptibility loci, including the HNF4A region. *Nat Genet* 2009; **41**: 1330-1334 [PMID:19915572 DOI: 10.1038/ng.483]
- 197-**Winkler C**, Krumsiek J, Buettner F, Angermüller C, Giannopoulou EZ, Theis FJ, Ziegler AG, Bonifacio E. Feature ranking of type 1 diabetes susceptibility genes improves prediction of type 1 diabetes. *Diabetologia* 2014; **57**: 2521-2529 [PMID: 25186292 DOI: 10.1007/s00125-014-3362-1]
- 198-**Vionnet N**, Stoffel M, Takeda J, Yasuda K, Bell GI, Zouali H, Lesage S, Velho G, Iris F, Passa P. Nonsense mutation in the glucokinase gene causes early-onset non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Nature* 1992; **356**: 721-722 [PMID: 1570017 DOI: 10.1038/356721a0]
- 199-**Osbak KK**, Colclough K, Saint-Martin C, Beer NL, Bellanné- Chantelot C, Ellard S, Gloyn AL. Update on mutations in glucokinase (GCK), which cause maturity-onset diabetes of the young, permanent neonatal diabetes, and hyperinsulinemic hypoglycemia. *Hum Mutat* 2009; **30**: 1512-1526 [PMID: 19790256 DOI: 10.1002/humu.21110]
- 200-**Alkayyali S**, Lyssenko V. Genetics of diabetes complications. *Mamm Genome* 2014; **25**: 384-400 [PMID: 25169573 DOI:10.1007/s00335-014-9543-x]
- 201-**Fang H**, Luo X, Wang Y, Liu N, Fu C, Wang H, Fang Y, Shi W, Zhang Y, Zeng C, Wang X. Correlation between single nucleotide polymorphisms of the ACTA2 gene and coronary artery stenosis in patients with type 2 diabetes mellitus. *Exp Ther Med* 2014; **7**:970-976 [PMID: 24669260 DOI: 10.3892/etm.2014.1510]
- 202-**Yamada Y**, Nishida T, Ichihara S, Kato K, Fujimaki T, Oguri M, Horibe H, Yoshida T, Watanabe S, Satoh K, Aoyagi Y, Fukuda M, Sawabe M. Identification of chromosome 3q28 and ALPK1 as susceptibility loci for chronic kidney disease in Japanese individuals by a genome-wide association study. *J Med Genet* 2013; **50**: 410-418 [PMID: 23539754 DOI: 10.1136/jmedgenet-2013-101518]
- 203-**Shimokata S**, Oguri M, Fujimaki T, Horibe H, Kato K, Yamada Y. Association between polymorphisms of the α -kinase 1 gene and type 2 diabetes mellitus in community-dwelling individuals. *Biomed Rep* 2013; **1**: 940-944 [PMID: 24649057 DOI: 10.3892/br.2013.173]
- 204-**Omar AF**, Silva PS, Sun JK. Genetics of diabetic retinopathy. *Semin Ophthalmol* 2013; **28**: 337-346 [PMID: 24138043 DOI: 10.3109/08 820538.2013.825287]
- 205-**Gao BB**, Chen X, Timothy N, Aiello LP, Feener EP. Characterization of the vitreous proteome in diabetes without diabetic retinopathy and diabetes with proliferative diabetic retinopathy. *J Proteome Res* WJD | www.wjgnet.com 866 June 25, 2015 | Volume 6 | Issue 6 | Kharroubi AT et al. Diabetes epidemic 2008; **7**: 2516-2525 [PMID: 18433156 DOI: 10.1021/pr800112g]
- 206-**Fiorina P**. Role of podocyte B7-1 in diabetic nephropathy. *J Am Soc Nephrol* 2014; **25**: 1415-1429 [PMID: 24676639 DOI: 10.1681/ASN.2013050518]
- 207-**Pavkov ME**, Nelson RG, Knowler WC, Cheng Y, Krolewski AS, Niewczas MA. Elevation of circulating TNF receptors 1 and 2 increases the risk of end-stage renal disease in American Indians with type 2 diabetes. *Kidney Int* 2015; **87**: 812-819 [PMID: 25272234 DOI: 10.1038/ki.2014.330]
- 208-**Thraillkill K**, Bunn RC, Lumpkin C, Wahl E, Cockrell G, Morris L, Kahn CR, Fowlkes J, Nyman JS. Loss of insulin receptor in osteoprogenitor cells impairs structural strength of bone. *J Diabetes Res* 2014; **2014**: 703589 [PMID: 24963495 DOI:10.1155/2014/703589]

- 209-**Vernochet C**, Damilano F, Mourier A, Bezy O, Mori MA, Smyth G, Rosenzweig A, Larsson NG, Kahn CR. Adipose tissue mitochondrial dysfunction triggers a lipodystrophic syndrome with insulin resistance, hepatosteatosis, and cardiovascular complications *FASEB J* 2014; **28**: 4408-4419 [PMID: 25005176 DOI: 10.1096/fj.14-253971]
- 210-Chen S, Khoury C, Ziyadeh FN. Pathophysiology and pathogenesis of diabetic nephropathy. In: Alpern RJ, Moe OW, Caplan M, eds. Seldin and Giebisch's the Kidney. 5th ed. San Diego: Elsevier;2013.p.2605-32
- 211-Rossing P, Fioretto P, Feldt-Rasmussen B, Parving HH. Diabetic nephropathy. In: Skorecki K, Chertow GM, Marsden PA, Taal MW, Yu AS, eds. Brenner & Rector's the Kidney. 1 0th ed. Philadelphia: Elsevier; 201 5. p.1 283- 320
- 212-Selby JV, FitzSimmons SC, Newman JM, Katz PP, Sepe S, Showstack J. The natural history and epidemiology of diabetic nephropathy. Implications for prevention and control. *JAMA* 1 990;263(1 4):1 954-60.
- 213- Nordwall M, Bojestig M, Arnqvist HJ, Ludvigsson J. Declining incidence of severe etinopathy and persisting decrease of nephropathy in an unselected population of Type 1 diabetes the linkoping diabetes complications study. *Diabetologia* 2004;47(7):1 26672
- 214-Christensen PK, Larsen S, Horn T, Olsen S, Parving HH. Causes of albuminuria in patients with type 2 diabetes without diabetic retinopathy. *Kidney Int* 2000;58(4):1 71 9-31
- 215-Süleymanlar G, Altıparmak MR, Seyahi N. Türkiye 201 3 Yılı Ulusal Nefroloji, Diyaliz ve Transplantasyon Kayıt Sistemi Raporu. Ankara: Türk Nefroloji Derneği Yayınları;201 4. p.1 -61
- 216-Süleymanlar G, Utaş C, Arinsoy T, Ateş K, Altun B, Altıparmak MR, et al. A population based survey of Chronic REnal Disease In Turkey--the CREDIT study. *Nephrol Dial Transplant* 201 1 ;26(6):1 862-71
- 217-Quinn M, Angelico MC, Warram JH, Krolewski AS. Familial factors determine the development of diabetic nephropathy in patients with IDDM. *Diabetologia* 1 996;39:940-5.
- 218-Sami Alkayyali S, Lyssenk V. Genetics of diabetes complications. *Mamm Genome* 2014: 25:384-400
- 219-Badal SS, Danesh FR. New insights into molecular mechanisms of diabetic kidney disease. *Am J Kidney Dis* 63(2)(S2):S63-83
- 220-Noh H, Oh EY, Seo JY, et al. Histone deacetylase-2 is a key regulator of diabetes- and transforming growth factor-beta1-induced renal injury. *Am J Physiol Renal Physiol* 2009;297(3):F729-39
- 221-De Vriese AS, Stoenoiu MS, Elger M, Devuyt O, Vanholder R, Kriz W, et al. Diabetes-induced microvascular dysfunction in the hydronephrotic kidney: role of nitric oxide. *Kidney Int* 2001 ;60(1):202-1 0
- 222-Hayashi K, Epstein M, Loutzenhiser R, Forster H. Impaired myogenic responsiveness of the afferent arteriole in streptozotocin-induced diabetic rats: role of eicosanoid derangements. *J Am Soc Nephrol* 1 992;2(1 1):1 578-86
- 223-Wolf G, Sharma K. Pathogenesis, clinical manifestations, and natural history of diabetic nephropathy. In: Johnson RJ, Feehally J, Floege J, eds. *Comprehensive Clinical Nephrology*. 5th ed. Philadelphia: Elsevier; 201 5. p.354-71
- 224-Brownlee M, Aiello LP, Cooper ME, Vinik AI, Plutzky J, Boulton AJ. Complications of diabetes mellitus. In: Melmed S, Polonsky KS, Larsen PR, Kronenberg HM, eds. *Williams Textbook of Endocrinology*. 1 3th ed. Philadelphia: Elsevier; 201 6. p.1 484-581

- 225-Stolar M. Glycemic control and complications in type 2 diabetes mellitus. *Am J Med* 2010;123(3 Suppl):S3-11
- 226-Brownlee M. Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. *Nature* 2001;414:813-20
- 227-Mima A, Qi W, King GL. Implications of treatment that target protective mechanisms against diabetic nephropathy. *Seminars in Nephrology* 2012;32:5
- 228-Bolton WK, Catran DC, Williams ME, et al. Randomized trial of an inhibitor of formation of advanced glycation end products in diabetic nephropathy. *Am J Nephrol* 2004;24(1):32-40
- 229-Soulis-Liparota T, Cooper M, Papazoglou D, Clarke B, Jerums G. Retardation by aminoguanidine of development of albuminuria, mesangial expansion, and tissue fluorescence in streptozocin-induced diabetic rat. *Diabetes* 1991;40:1328-34.
- 230-Giacco F, Du X, D'Agati VD, Milne R, Sui G, Geoffrion M, et al. Knockdown of glyoxalase 1 mimics diabetic nephropathy in nondiabetic mice. *Diabetes* 2014;63(1):291-9
- 231-Chacko BK, Reily C, Srivastava A, et al. Prevention of diabetic kidney disease in *Ins2(1^{+/+})(Akita)* mice by the mitochondria-targeted therapy MitoQ. *Biochem J* 2010;432(1):9-19
- 232-Craven PA, Melhem MF, Phillips SL, DeRubertis FR. Overexpression of CuZn21 superoxide dismutase protects against early diabetic glomerular injury in transgenic mice. *Diabetes* 2001;50(9):2114-25
- 233-Brosius FC, Coward RJ. Podocytes, signalling pathways, and vascular factors in diabetic kidney disease. *Advances in Chronic Kidney Disease* 2014;21:304-10
- 234-Drapeau N, Lizotte F, Denhez B, Guay A, Kennedy CR, Ghera P. Expression of SHP-1 induced by hyperglycemia prevents insulin actions in podocytes. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2013;304:E1188-98
- 235-White KE, Bilous RW, Marshall SM, El Nahas M, Remuzzi G, Piras G, et al. Podocyte number in normotensive type 1 diabetic patients with albuminuria. *Diabetes* 2002;51(10):3083-9
- 236-Pagtalunan ME, Miller PL, Jumping-Eagle S, Nelson RG, Myers BD, Rennke HG, et al. Podocyte loss and progressive glomerular injury in type II diabetes. *J Clin Invest* 1997;99(2):342-8.
- 237-Meyer TW, Bennett PH, Nelson RG. Podocyte number predicts long-term urinary albumin excretion in Pima Indians with type II diabetes and microalbuminuria. *Diabetologia* 1999;42(11):1341-4
- 238-Welsh GI, Hale LJ, Eremina V. Insulin signaling to the glomerular podocyte is critical for normal kidney function. *Advances in Chronic Kidney Disease* 2014;21(3):304-10
- 239-Sharma K, Ramachandrarao S, Qiu G, et al. Adiponectin regulates albuminuria and podocyte function in mice. *J Clin Invest* 2008;118(5):1645-56
240. Jim B, Ghanta M, Qipo A, Fan Y, Chuang PY, et al. Dysregulated nephrin in diabetic nephropathy of type 2 diabetes: a cross sectional study. *PLoS ONE* 2012;7(5):e36041
- 241-Langham RG, Kelly DJ, Cox AJ, Thomson NM, Holthöfer H, Zaoui P, et al. Proteinuria and the expression of the podocyte slit diaphragm protein, nephrin, in diabetic nephropathy: effects of angiotensin converting enzyme inhibition. *Diabetologia* 2002;45: 1572-6
- 242-van den Born J, van Kraats AA, Bakker MA, et al. Reduction of heparan sulphate-associated anionic sites in the glomerular basement of rats with streptozotocin-induced diabetic

nephropathy. *Diabetologia* 1995;38:1169-75

243-Pietravalle P, Morano S, Christina G, et al. Charge selectivity of proteinuria in type 1 diabetes explored by Ig subclass clearance. *Diabetes* 1991;40:1685-90

244-Nieuwdorp M, van Haften TW, Gouverneur MC, et al. Loss of endothelial glycocalyx during acute hyperglycemia coincides with endothelial dysfunction and coagulation activation in vivo. *Diabetes* 2006;55:480-6

245-Eremina V, Sood M, Haigh J, et al. Glomerular-specific alterations of VEGF-A expression lead to distinct congenital and acquired renal diseases. *J Clin Invest* 2003;111(5):707-16

246-Tufro A, Veron D. VEGF and podocytes in diabetic nephropathy. *Semin Nephrol* 32:385-93.

247-Toma I, Kang JJ, Sipos A, et al. Succinate receptor GPR91 provides a direct link between high glucose levels and renin release in murine and rabbit kidney. *J Clin Invest* 2008;118:2526-34

248-Durvasula RV, Petermann AT, Hiromura K, et al. Activation of a local tissue angiotensin system in podocytes by mechanical strain. *Kidney Int* 2004;65(1):30-9

249-Gurley SB, Coffman TM. The renin-angiotensin system and diabetic nephropathy. *Semin Nephrol* 2007;27:144-52

250-Lo CS, Shi Y, Chang SY, Abdo S, Chenier I, Filep JG, et al. Overexpression of heterogeneous nuclear ribonucleoprotein F stimulates renal Ace-2 gene expression and prevents TGF- β 1-induced kidney injury in a mouse model of diabetes. *Diabetologia* 2015;58(10):2443-54

251-Mizuiru S, Ohashi Y. ACE and ACE2 in kidney disease. *World J Nephrol* 2015;4(1):74-82

252-Kakoki M, Takahashi N, Jennette JC, et al. Diabetic nephropathy is markedly enhanced in mice lacking the bradykinin B2 receptor. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004;101:13302-5

253-Ziyadeh FN, Hoffman BB, Han DC, IglesiasDe La Cruz MC, Hong SW, Isono M, et al. Long-term prevention of renal insufficiency, excess matrix gene expression, and glomerular mesangial matrix expansion by treatment with monoclonal antitransforming growth factor-beta antibody in db/db diabetic mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2000;97(14):8015-20

254-MacIsaac RJ, Ekinci EI, Jerums G. Markers of and risk factors for the development and progression of diabetic kidney disease. *Am J Kidney Dis* 63(2)(S2):S39-62

255-Perkins BA, Ficociello LH, Roshan B, Warram JH, Krolewski AS. In patients with type 1 diabetes and new-onset microalbuminuria the development of advanced chronic kidney disease may not require progression to proteinuria. *Kidney Int* 2010;77(1):57-64

256-Ekinci EI, Jerums G, Skene A, Crammer P, Power D, Cheong KY, et al. Renal structure in normoalbuminuric and albuminuric patients with type 2 diabetes and impaired renal function. *Diabetes Care* 2013;36(11):3620-6

257-Fiochetto P, Mauer M, Brocco E, Velussi M, Frigato F, Muollo B, et al. Patterns of renal injury in NIDDM patients with microalbuminuria. *Diabetologia* 1996;39(12):1569-76

258-Tervaert TW, Mooyaart AL, Amann K, Cohen AH, Cook HT, Drachenberg CB, et al. Pathologic classification of diabetic nephropathy. *J Am Soc Nephrol* 2010;21:556e63.<

259-Susztak K, Raff AC, Schiffer M, Bottinger EP. Glucose-induced reactive oxygen species cause apoptosis of podocytes and podocyte depletion at the onset of diabetic nephropathy. *Diabetes*. 2006;55(1):225-233

- 260-Rutkowski JM, et al. Adiponectin promotes functional recovery after podocyte ablation. *JAmSocNephrol*.2013;24(2):268–282
- 261-Siddiqi FS, Advani A. Endothelial-podocyte crosstalk: the missing link between endothelial dysfunction and albuminuria in diabetes. *Diabetes*. 2013; 62(11):3647–3655
- 262-Jeansson M, et al. Angiopoietin-1 is essential in mouse vasculature during development in response to injury. *J Clin Invest*. 2011;121(6):2278–2289
- 263-Eremina V, et al. VEGF inhibition and renal thrombotic microangiopathy. *N Engl J Med*. 2008; 358(11):1129–1136.
- 264-Bertuccio C, Veron D, Aggarwal PK, Holzman L, Tufro A. Vascular endothelial growth factor receptor 2 direct interaction with nephrin links VEGF-A signals to actin in kidney podocytes. *J Biol Chem*.2011;286(46):39933–39944
- 265-White KE, et al. Podocyte number in normotensive type 1 diabetic patients with albuminuria. *Diabetes*.2002;51(10):3083–3089
- 266-Wang W, et al. Mitochondrial fission triggered by hyperglycemia is mediated by ROCK1 activation in podocytes endothelial cells. *Cell Metab*. 2012;15(2):186–200
- 267-Meyer TW, Bennett PH, Nelson RG. Podocyte number predicts long-term urinary albumin excretion in Pima Indians with Type II diabetes and microalbuminuria. *Diabetologia*. 1999;42(11):1341–1344
- 268-Pagtalunan ME, et al. Podocyte loss and progressive glomerular injury in type II diabetes. *J Clin Invest*. 1997;99(2):342–348
- 269-Steffes MW, Schmidt D, McCrery R, Basgen JM. Glomerular cell number in normal subjects and in type1 diabetic patients. *Kidney Int*. 2001;59(6):2104–2113
- 270-Wharram BL, et al. Podocyte depletion causes glomerulosclerosis: diphtheria toxin-induced podocyte depletion in rats expressing human diphtheria toxin receptor transgene. *J Am Soc Nephrol*. 2005;16(10):2941–2952
- 271-Matsusaka T, et al. Genetic engineering of glomerular sclerosis in the mouse via control of onset and severity of podocyte-specific injury. *J Am SocNephrol*. 2005;16(4):1013–1023
- 272-D’Agati VD, Kaskel FJ, Falk RJ. Focal segmental glomerulosclerosis. *N Engl J Med*. 2011; 365(25):2398–2411.
- 273-Niranjan T, et al. The Notch pathway in podocytes plays a role in the development of glomerular disease. *Nat Med*. 2008;14(3):290–298
- 274-Kato H, et al. Wnt/beta-catenin pathway in podocytes integrates cell adhesion, differentiation, and survival. *J Biol Chem*. 2011;286(29):26003–26015
- 275-Eremina V, Quaggin SE. The role of VEGF-A in glomerular development and function. *Curr OpinNephrol Hypertens*. 2004;13(1):9–15
- 276-Romagnani P, Remuzzi G. Renal progenitors in non-diabetic and diabetic nephropathies. *TrendsEndocrinol Metab*. 2013;24(1):13–20
- 277-Smeets B, et al. Parietal epithelial cells participate in the formation of sclerotic lesions in focal segmental glomerulosclerosis. *J Am Soc Nephrol*. 2011; 22(7):1262–1274
- 278-Woroniecka KI, Park AS, Mohtat D, Thomas DB, Pullman JM, Susztak K. Transcriptome analysis of human diabetic kidney disease. *Diabetes*. 2011;60(9):2354–2369

- 279-Doublier S, et al. Nephron expression is reduced in human diabetic nephropathy: evidence for a distinct role for glycated albumin and angiotensin II. *Diabetes*. 2003;52(4):1023–1030
- 280-Garg P, Holzman LB. Podocytes: gaining a foothold. *Exp Cell Res*. 2012;318(9):955–963.
- 281-Blattner SM, et al. Divergent functions of the Rho GTPases Rac1 and Cdc42 in podocyte injury. *Kidney Int*. 2013;84(5):920–930
- 282-Gee HY, et al. ARHGDIA mutations cause nephrotic syndrome via defective Rho GTPase signaling. *J Clin Invest*. 2013;123(8):3243–3253
- 283-Inoki K, et al. mTORC1 activation in podocytes is a critical step in the development of diabetic nephropathy in mice. *J Clin Invest*. 2011;121(6):2181–2196
- 284-Godel M, et al. Role of mTOR in podocyte function and diabetic nephropathy in humans and mice. *J Clin Invest*. 2011;121(6):2197–2209
- 285-Fukuda A, et al. Growth-dependent podocyte failure causes glomerulosclerosis. *J Am Soc Nephrol*. 2012;23(8):1351–1363
- 286-Canaud G, et al. AKT2 is essential to maintain podocyte viability and function during chronic kidney disease. *Nat Med*. 2013;19(10):1288–1296
- 287-Huber TB, et al. Emerging role of autophagy in kidney function, diseases and aging. *Autophagy*. 2012;8(7):1009–1031
- 288-Hartleben B, et al. Autophagy influences glomerular disease susceptibility and maintains podocyte homeostasis in aging mice. *J Clin Invest*. 2010;120(4):1084–1096.
- 289-Eid AA, et al. AMP-activated protein kinase (AMPK) negatively regulates Nox4-dependent activation of p53 epithelial cell apoptosis in diabetes. *J Biol Chem*.
Apple-interchange-
- 290-Brownlee M (2005) The pathobiology of diabetic complications: a unifying mechanism. *Diabetes* 54:1615–1625
- 291-Inoguchi T, Sonta T, Tsubouchi H et al (2003) Protein kinase C-dependent increase in reactive oxygen species (ROS) production in vascular tissues of diabetes: role of vascular NAD(P)H oxidase. *J Am Soc Nephrol* 14:S227–S232
- 292-Rask-Madsen C, King GL (2007) Mechanisms of disease: endothelial dysfunction in insulin resistance and diabetes. *Nat Clin Pract Endocrinol Metab* 3:46–56
- 293-Hua H, Munk S, Goldberg H, Fantus IG, Whiteside CI (2003) High glucose-suppressed endothelin-1 Ca²⁺ signaling via NADPH oxidase and diacylglycerol-sensitive protein kinase C isozymes in mesangial cells. *J Biol Chem* 278:33951–33962
- 294-Meier M, King GL (2000) Protein kinase C activation and its pharmacological inhibition in vascular disease. *Vasc Med* 5:173–185
- 295-Idris I, Gray S, Donnelly R (2001) Protein kinase C activation: isozyme-specific effects on metabolism and cardiovascular complications in diabetes. *Diabetologia* 44:659–673
- 296-Li J, Gobe G (2006) Protein kinase C activation and its role in kidney disease. *Nephrology (Carlton)* 11:428–434
- 297-Engers R, Mrzyk S, Spriger E et al (2000) Protein kinase C in human renal cell carcinomas: role in invasion and differential isoenzyme expression. *Br J Cancer* 82:1063–1069
- 298-Lee M, Duan W, Tan S (2008) Protein kinase C isozymes as potential therapeutic targets in immune disorders. *Expert Opin Ther Targets* 12:535–552

- 299-Noh H, King GL (2007) The role of protein kinase C activation in diabetic nephropathy. *Kidney Int Suppl* 106:S49–S53
- 300-Heilig CW, Concepcion LA, Riser BL, Freytag SO, Zhu M, Cortes P (1995) Overexpression of glucose transporters in rat mesangial cells cultured in a normal glucose milieu mimics the diabetic phenotype. *J Clin Invest* 96:1802–1814
- 301-Schrijvers BF, de Vriese AS, Flyvbjerg A (2004) From hyperglycemia to diabetic kidney disease: the role of metabolic, hemodynamic, intracellular factors and growth factors/cytokines. *Endocr Rev* 25:971–1010
- 302-Whiteside CI, Dlugosz JA (2002) Mesangial cell protein kinase C isozyme activation in the diabetic milieu. *Am J Physiol Renal Physiol* 282:F975–F980
- 303-Langham R, Kelly DJ, Gow RM et al (2008) Increased renal gene transcription of protein kinase C-beta in human diabetic nephropathy: relationship to long-term glycaemic control. *Diabetologia* 51:668–674
- 304-Way K, Chou E, King GL (2000) Identification of PKC-isoformspecific biological actions using pharmacological approaches. *Trends Pharmacol Sci* 21:181–187
- 305-Rask-Madsen C, King GL (2008) Differential regulation of VEGF signaling by PKC- α and PKC- ϵ in endothelial cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 28:919–924
- 306-Tang S, Xiao V, Wei L, Whiteside CI, Kotra LP (2008) Protein kinase C isozymes and their selectivity towards ruboxistaurin. *Proteins* 72:447–460
- 307-Schernthaner G (2008) Kidney disease in diabetology: lessons from 2007. *Nephrol Dial Transplant* 23:1112–1115
- 308-Qian Y, Feldman E, Pennathur S, Kretzler M, Brosius FC 3rd (2008) From fibrosis to sclerosis: mechanisms of glomerulosclerosis in diabetic nephropathy. *Diabetes* 57:1439–1445
- 309-Jefferson JS, Shankland S, Pichler R (2008) Proteinuria in diabetic kidney disease: a mechanistic viewpoint. *Kidney Int* 74:22–36
- 310-Meier M, Menne J, Park JK, Haller H (2007) Nailing down PKC isoform specificity in diabetic nephropathy—two's company, three's a crowd. *Nephrol Dial Transplant* 22:2421–2425
- 311-Lee HB, Seo JY, Yu MR, Uh ST, Ha H (2007) Radical approach to diabetic nephropathy. *Kidney Int Suppl* 106:S67–S70
- 312-Forbes JM, Coughlan MT, Cooper ME (2008) Oxidative stress as a major culprit in kidney disease in diabetes. *Diabetes* 57:1446–1454
- 313-Thallas-Bonke V, Lindschau C, Rizkalla B et al (2004) Attenuation of extracellular matrix accumulation in diabetic nephropathy by the advanced glycation end product cross-link breaker ALT-711 via a protein kinase C- α -dependent pathway. *Diabetes* 53:2921–2930
- 314-Ha H, Lee HB (2003) Reactive oxygen species and matrix remodeling in diabetic kidney. *J Am Soc Nephrol* 14:S246–S249
- 315-Thallas-Bonke V, et. al. (2008) Inhibition of NADPH oxidase prevents advanced glycation end product-mediated damage in diabetic nephropathy through a protein kinase C- α -dependent pathway. *Diabetes* 57:460–469
- 316-Whiteside CI (2005) Cellular mechanisms and treatment of diabetes vascular complications converge on reactive oxygen species. *Curr Hypertens Rep* 7:148–154

- 317-Wang B, Komers R, Carew R et al. Suppression of microRNA-29 expression by TGF-beta1 promotes collagen expression and renal fibrosis. *J Am Soc Nephrol* 2012; 23: 252–265
- 318-Wang B, Koh P, Winbanks C et al. miR-200a prevents renal fibrogenesis through repression of TGF-beta2 expression. *Diabetes* 2011; 60: 280–287
- 319-Schwartz MM, Lewis EJ, Leonard-Martin T, Lewis JB, Batlle D: Renal pathology patterns in type II diabetes mellitus: Relationship with retinopathy. The Collaborative Study Group. *Nephrol Dial Transplant* 13: 2547–2552,1998
- 320-D’Agati V, Jennette JC, Silva F: Diabetic nephropathy. In: *Atlas of Nontumor Pathology: Non-Neoplastic Kidney Diseases*, 4th Ed., edited by King DW, Washington, DC, American Registry of Pathology, 2005, pp 457–479
- 321-Osterby R, Gall MA, Schmitz A, Nielsen FS, Nyberg G, Parving HH: Glomerular structure and function in proteinuric type 2 (non-insulin-dependent) diabetic patients. *Diabetologia* 36: 1064–1070, 1993
- 322-White KE, Bilous RW: Type 2 diabetic patients with nephropathy show structuralfunctional relationships that are similar to type 1 disease. *J Am Soc Nephrol* 11: 1667–1673, 2000
- 323-Solez K. et al. classification of renal allograft pathology: Updates and future directions. *Am J Transplant* 8: 753–760, 2008
- 324-Haas M: Postinfectious glomerulonephritis complicating diabetic nephropathy: A frequent association, but how clinically important? *Hum Pathol* 34: 1225–1227, 2003
- 325-Haas M: Alport syndrome and thin glomerular basement membrane nephropathy: A practical approach to diagnosis. *Arch Pathol Lab Med* 133: 224–232, 2009
- 326-Dische FE: Measurement of glomerular basement membrane thickness and its application to the diagnosis of thin-membrane nephropathy. *Arch Pathol Lab Med* 116: 43–49, 1992
- 327-Mauer SM, Steffes MW, Ellis EN, Sutherland DE, Brown DM, Goetz FC: Structural-functional relationships in diabetic nephropathy. *J Clin Invest* 74: 1143–1155, 1984
- 328-Osterby R, Gundersen HJ, Nyberg G, Aurell M: Advanced diabetic glomerulopathy. Quantitative structural characterization of nonoccluded glomeruli. *Diabetes* 36: 612–619, 1987
- 329-Drummond K, Mauer M: The early natural history of nephropathy in type 1 diabetes: II. Early renal structural changes in type 1 diabetes. *Diabetes* 51: 1580–1587, 2002
- 330-Perrin NE, Torbjornsdotter TB, Jaremko GA, Berg UB: The course of diabetic glomerulopathy in patients with type I diabetes: A 6-year follow-up with serial biopsies. *Kidney Int* 69: 699–705, 2006
- 331-Falk RJ, Scheinman JI, Mauer SM, Michael AF: Polyantigenic expansion of basement membrane constituents in diabetic nephropathy. *Diabetes* 32[Suppl 2]: 34–39,1983
- 332-Kim Y, Kleppel MM, Butkowski R, Mauer SM, Wieslander J, Michael AF: Differential expression of basement membrane collagen chains in diabetic nephropathy. *Am J Pathol* 138: 413–420, 1991
- 333-Mac-Moune LF, Szeto CC, Choi PC, Ho KK, Tang NL, Chow KM, Li PK, To KF: Isolate diffuse thickening of glomerular capillary basement membrane: A renal lesion in prediabetes? *Mod Pathol* 17: 1506–1512, 2004
- 334-Bangstad HJ, Osterby R, Dahl-Jorgensen K, Berg KJ, Hartmann A, Hanssen KF: Improvement of blood glucose control in IDDM patients retards the progression of morphological changes in early diabetic nephropathy. *Diabetologia* 37: 483–490, 1994

- 335-Jensen EB, Gundersen HJ, Osterby R: Determination of membrane thickness distribution from orthogonal intercepts. *J Microsc* 115: 19–33, 1979
- 336-Steffes MW, Barbosa J, Basgen JM, Sutherland DE, Najarian JS, Mauer SM: Quantitative glomerular morphology of the normal human kidney. *Lab Invest* 49: 82–86, 1983
- 337-Nasr SH, Markowitz GS, Valeri AM, Yu Z, Chen L, D’Agati VD: Thin basement membrane nephropathy cannot be diagnosed reliably in deparaffinized, formalin-fixed tissue. *Nephrol Dial Transplant* 22: 1228–1232, 2007
- 338-Caramori ML, Kim Y, Huang C, Fish AJ, Rich SS, Miller ME, Russell G, Mauer M: Cellular basis of diabetic nephropathy: 1. Study design and renal structural-functional relationships in patients with long-standing type 1 diabetes. *Diabetes* 51: 506–513, 2002
- 339-Najafian B, Kim Y, Crosson JT, Mauer M: Atubular glomeruli and glomerulotubular junction abnormalities in diabetic nephropathy. *J Am Soc Nephrol* 14: 908–917, 2003
- 340-Mauer SM, Sutherland DE, Steffes MW: Relationship of systemic blood pressure to nephropathology in insulin-dependent diabetes mellitus. *Kidney Int* 41: 736–740, 1992
- 341-Stout LC, Kumar S, Whorton EB: Focal mesangiolysis and the pathogenesis of the Kimmelstiel–Wilson nodule. *Hum Pathol* 24: 77–89, 1993
- 342-Kimmelstiel P, Wilson C: Intercapillary lesions of the glomeruli of the kidney. *Am J Pathol* 12: 83–96, 1936
- 343-Cameron JS: The discovery of diabetic nephropathy: From small print to centre stage. *J Nephrol* 19[Suppl 10]: S75–S87, 2006
- 344-Allen A: So-called intercapillary glomerulosclerosis: A lesion associated with diabetes mellitus. Morphogenesis and significance. *Arch Path* 32: 33–51, 1941
- 345-Markowitz GS, Lin J, Valeri AM, Avila C, Nasr SH, D’Agati VD: Idiopathic nodular glomerulosclerosis is a distinct clinicopathologic entity linked to hypertension and smoking. *Hum Pathol* 33: 826–835, 2002
- 346-Nishi S, Ueno M, Hisaki S, Iino N, Iguchi S, Oyama Y, Imai N, Arakawa M, Gejyo F: Ultrastructural characteristics of diabetic nephropathy. *Med Electron Microsc* 33: 65–73, 2000
- 347-Pauksakon P, Revelo MP, Ma LJ, Marcantoni C, Fogo AB: Microangiopathic injury and augmented PAI-1 in human diabetic nephropathy. *Kidney Int* 61: 2142–2148, 2002
- 348-Glick AD, Jacobson HR, Haralson MA: Mesangial deposition of type I collagen in human glomerulosclerosis. *Hum Pathol* 23:1373–1379, 1992
- 349-Sandison A, Newbold KM, Howie AJ: Evidence for unique distribution of Kimmelstiel–Wilson nodules in glomeruli. *Diabetes* 41: 952–955, 1992
- 350-Hong D, Zheng T, Jia-qing S, Jian W, Zhihong L, Lei-shi L: Nodular glomerular lesion: A later stage of diabetic nephropathy? *Diabetes Res Clin Pract* 78: 189–195, 2007
- 351-Mason RM, Wahab NA: Extracellular matrix metabolism in diabetic nephropathy. *J Am Soc Nephrol* 14: 1358–1373, 2003
- 352-Qian Y, Feldman E, Pennathur S, Kretzler M, Brosius FC III: From fibrosis to sclerosis: Mechanisms of glomerulosclerosis in diabetic nephropathy. *Diabetes* 57: 1439–1445, 2008
- 353-Horlyck A, Gundersen HJ, Osterby R: The cortical distribution pattern of diabetic

- glomerulopathy. *Diabetologia* 29: 146–150, 1986
- 354-Bohle A, Wehrmann M, Bogenschutz O, Batz C, Muller CA, Muller GA: The pathogenesis of chronic renal failure in diabetic nephropathy. Investigation of 488 cases of diabetic glomerulosclerosis. *Pathol Res Pract* 187: 251–259, 1991
- 355-Stout LC, Kumar S, Whorton EB: Insudative lesions—Their pathogenesis and association with glomerular obsolescence in diabetes: A dynamic hypothesis based on single views of advancing human diabetic nephropathy. *Hum Pathol* 25: 1213–1227, 1994
- 356-Bennett WM, DeMattos A, Meyer MM, Andoh T, Barry JM: Chronic cyclosporine nephropathy: the Achilles' heel of immunosuppressive therapy. *Kidney Int* 50: 1089–1100, 1996
- 357-Tracy RE, Strong JP, Newman WP III, Malcom GT, Oalman MC, Guzman MA: Renovasculopathies of nephrosclerosis in relation to atherosclerosis at ages 25 to 54 years. *Kidney Int* 49: 564–570, 1996
- 358-Alsaad KO, Herzenberg AM: Distinguishing diabetic nephropathy from other causes of glomerulosclerosis: An update. *J Clin Pathol* 60: 18–26, 2007
- 359-Fiochetto P, Steffes MW, Sutherland DE, Mauer M: Sequential renal biopsies in insulin-dependent diabetic patients: Structural factors associated with clinical progression. *Kidney Int* 48: 1929–1935, 1995
- 360-Ruggenenti P, Gambarà V, Perna A, Bertani T, Remuzzi G: The nephropathy of non-insulin-dependent diabetes: Predictors of outcome relative to diverse patterns of renal injury. *J Am Soc Nephrol* 9: 2336–2343, 1998
- 361-Osterby R, Asplund J, Bangstad HJ, Nyberg G, Rudberg S, Viberti GC, Walker JD: Neovascularization at the vascular pole region in diabetic glomerulopathy. *Nephrol Dial Transplant* 14: 348–352, 1999
- 362-Bloodworth JMB: Re-evaluation of diabetic glomerulosclerosis 50 years after discovery of insulin. *Hum Pathol* 9: 439–453, 1978
- 363-Takazakura E, Nakamoto Y, Hayakawa H, Kawai K, Muramoto S: Onset and progression of diabetic glomerulosclerosis: A prospective study based on serial renal biopsies. *Diabetes* 24:1–, 1975
- 364-Hanley AJ, Williams K, Stern MP, Haffner SM: Homeostasis model assessment of insulin resistance in relation to the incidence of cardiovascular disease: the San Antonio Heart Study. *Diabetes Care* 25:1177–1184, 2002
- 365-Lee AY, Chung SS: Contributions of polyol pathway to oxidative stress in diabetic cataract. *FASEB J* 13:23–30, 1999
- 366-Engerman RL, Kern TS, Larson ME: Nerve conduction and aldose reductase inhibition during 5 years of diabetes or galactosaemia in dogs. *Diabetologia* 37:141–144, 1994
- 367-Giardino I, Edelstein D, Brownlee M: Nonenzymatic glycosylation in vitro and in bovine endothelial cells alters basic fibroblast growth factor activity: a model for intracellular glycosylation in diabetes. *J Clin Invest* 94:110–117, 1994
- 368-Shinohara M, Thornalley PJ, Giardino I, Beisswenger P, Thorpe SR, Onorato J, Brownlee M: Overexpression of glyoxalase-I in bovine endothelial cells inhibits intracellular advanced glycation endproduct formation and prevents hyperglycemia-induced increases in macromolecular endocytosis. *J Clin Invest* 101:1142–1147, 1998
- 369-McLellan AC, Thornalley PJ, Benn J, Sonksen PH: Glyoxalase system in clinical diabetes

- mellitus and correlation with diabetic complications. *Clin Sci (Lond)* 87:21–29, 1994
- 370-Charonis AS, Reger LA, Dege JE, Kouzi-Koliakos K, Furcht LT, Wohlhueter RM, Tsilibary EC: Laminin alterations after in vitro nonenzymatic glycosylation. *Diabetes* 39:807–814, 1990
- 371-Li YM, Mitsuhashi T, Wojciechowicz D, Shimizu N, Li J, Stitt A, He C, Banerjee D, Vlassara H: Molecular identity and cellular distribution of advanced glycation endproduct receptors: relationship of p60 to OST-48 and p90 to 80K-H membrane proteins. *Proc Natl Acad Sci USA* 93:11047–11052, 1996
- 372-Neeper M, Schmidt AM, Brett J, Yan SD, Wang F, Pan YC, Elliston K, Stern D, Shaw A: Cloning and expression of a cell surface receptor for advanced glycosylation end products of proteins. *J Biol Chem* 267:14998–15004, 1992
- 373-Smedsrod B, Melkko J, Araki N, Sano H, Horiuchi S: Advanced glycation end products are eliminated by scavenger-receptor-mediated endocytosis in hepatic sinusoidal Kupffer and endothelial cells. *Biochem J* 322:567–573, 1997
- 374-Vlassara H, Li YM, Imani F, Wojciechowicz D, Yang Z, Liu FT, Cerami A: Identification of galectin-3 as a high-affinity binding protein for advanced glycation end products (AGE): a new member of the AGE-receptor complex. *Mol Med* 1:634–646, 1995
- 375-Abordo EA, Thornalley PJ: Synthesis and secretion of tumour necrosis factor-alpha by human monocytic THP-1 cells and chemotaxis induced by human serum albumin derivatives modified with methylglyoxal and glucose-derived advanced glycation endproducts. *Immunol Lett* 58:139–147, 1997
- 376-Doi T, Vlassara H, Kirstein M, Yamada Y, Striker GE, Striker LJ: Receptorspecific increase in extracellular matrix production in mouse mesangial cells by advanced glycosylation end products is mediated via plateletderived growth factor. *Proc Natl Acad Sci U S A* 89:2873–2877, 1992
- 377-Kirstein M, Aston C, Hintz R, Vlassara H: Receptor-specific induction of insulin-like growth factor I in human monocytes by advanced glycosylation end product-modified proteins. *J Clin Invest* 90:439–446, 1992
- 378-Schmidt AM, Hori O, Chen JX, Li JF, Crandall J, Zhang J, Cao R, Yan SD, Brett J, Stern D: Advanced glycation endproducts interacting with their endothelial receptor induce expression of vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1) in cultured human endothelial cells and in mice: a potential mechanism for the accelerated vasculopathy of diabetes. *J Clin Invest* 96:1395–1403, 1995
- 379-Skolnik EY, Yang Z, Makita Z, Radoff S, Kirstein M, Vlassara H: Human and rat mesangial cell receptors for glucose-modified proteins: potential role in kidney tissue remodelling and diabetic nephropathy. *J Exp Med* 174:931–939, 1991
- 380-Vlassara H, Brownlee M, Manogue KR, Dinarello CA, Pasagian A: Cachectin/TNF and IL-1 induced by glucose-modified proteins: role in normal tissue remodeling. *Science* 240:1546–1548, 1988
- 381-Hammes HP, Martin S, Federlin K, Geisen K, Brownlee M: Aminoguanidine treatment inhibits the development of experimental diabetic retinopathy. *Proc Natl Acad Sci U S A* 88:11555–11558, 1991 FR: Role for protein kinase C in the mediation of increased fibronectin accumulation by mesangial cells grown in high-glucose medium. *Diabetes* 42:118–126, 1993
- 382-Kolm-Litty V, Sauer U, Nerlich A, Lehmann R, Schleicher ED: High glucose-induced transforming growth factor beta1 production is mediated by the hexosamine pathway in porcine glomerular mesangial cells. *J Clin Invest* 101:160–169, 1998
- 383-Sayeski PP, Kudlow JE: Glucose metabolism to glucosamine is necessary for glucose stimulation of transforming growth factor-alpha gene transcription. *J Biol Chem* 271:15237–15243, 1996

- 384-Wells L, Hart G: O-GlcNAc turns twenty: functional implications for posttranslational modification of nuclear and cytosolic protein with a sugar. *FEBS Lett* 546:154–158, 2003
- 385-Du XL, Edelstein D, Rossetti L, Fantus IG, Goldberg H, Ziyadeh F, Wu J, Brownlee M: Hyperglycemia-induced mitochondrial superoxide overproduction activates the hexosamine pathway and induces plasminogen activator inhibitor-1 expression by increasing Sp1 glycosylation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 97:12222–12226, 2000
- 386-Clark RJ, McDonough PM, Swanson E, Trost SU, Suzuki M, Fukuda M, Dillmann WH: Diabetes and the accompanying hyperglycemia impairs cardiomyocyte calcium cycling through increased nuclear O-GlcNAcylation. *J Biol Chem* 278:44230–44237, 2003
- 387-Federici M, Menghini R, Mauriello A, Hribal ML, Ferrelli F, Lauro D, Sbraccia P, Spagnoli LG, Sesti G, Lauro R: Insulin-dependent activation of endothelial nitric oxide synthase is impaired by O-linked glycosylation modification of signaling proteins in human coronary endothelial cells. *Circulation* 106:466–472, 2002
- 388-Nishikawa T, Edelstein D, Du XL, Yamagishi S, Matsumura T, Kaneda Y, Yorek MA, Beebe D, Oates PJ, Hammes HP, Giardino I, Brownlee M: Normalizing mitochondrial superoxide production blocks three pathways of hyperglycaemic damage. *Nature* 404:787–790, 2000
- 389-Giugliano D, Ceriello A, Paolisso G: Oxidative stress and diabetic vascular complications. *Diabetes Care* 19:257–267, 1996
- 390-Wallace DC: Diseases of the mitochondrial DNA (Review). *Annu Rev Biochem* 61:1175–1212, 1992
- 391-Trumppower BL: The protonmotive Q cycle: energy transduction by coupling of proton translocation to electron transfer by the cytochrome bc₁ complex. *J Biol Chem* 265:11409–11412, 1990
- 392-Korshunov SS, Skulachev VP, Starkov AA: High protonic potential actuates a mechanism of production of reactive oxygen species in mitochondria. *FEBS Lett* 416:15–18, 1997
- 393-Du XL, Edelstein D, Dimmeler S, Ju Q, Sui C, Brownlee M: Hyperglycemia inhibits endothelial nitric oxide synthase activity by posttranslational modification at the Akt site. *J Clin Invest* 108:1341–1348, 2001
- 394-DeRubertis FR, Craven PA, Melhem MF, Salah EM: Attenuation of renal injury in *db/db* mice overexpressing superoxide dismutase: evidence for reduced superoxide–nitric oxide interaction. *Diabetes* 53:762–768, 2004
- 395-Du X, Matsumura T, Edelstein D, Rossetti L, Zsengeller Z, Szabo C, Brownlee M: Inhibition of GAPDH activity by poly(ADP-ribose) polymerase activates three major pathways of hyperglycemic damage in endothelial cells. *J Clin Invest* 112:1049–1057, 2003
- 396-Sawa A, Khan AA, Hester LD, Snyder SH: Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase: nuclear translocation participates in neuronal and nonneuronal cell death. *Proc Natl Acad Sci U S A* 94:11669–11674, 1997
- 397-Schmidt HD: Reversible nuclear translocation of glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase upon serum depletion. *Eur J Cell Biol* 80:419–427, 2001
- 398-Gualillo O, González-Juanatey JR, Lago F. The emerging role of adipokines as mediators of cardiovascular function: physiologic and clinical perspectives. *Trends Cardiovasc Med* 2007;17:275-83

- 399-Takaoka M, Nagata D, Kihara S, Shimomura I, Kimura Y, Tabata Y, Saito Y, Nagai R, Sata M. Periadventitial adipose tissue plays a critical role in vascular remodeling. *Circ Res* 2009;105:906-11
- 400-Szasz T, Bomfim GF, Webb RC. The influence of perivascular adipose tissue on vascular homeostasis. *Vasc Health Risk Manag* 2013;9:105-16
- 401-Haluzík M, Trachta P, Haluzíková D. Adipose tissue hormones. *Vnitr Lek* 2010;56(10):1028-34
- 402-Engeli S, Negrel R, Sharma AM. Physiology and pathophysiology of the adipose tissue renin-angiotensin system. *Hypertension* 2000;35(6):1270-7
- 403-Stiefel P, et. al. Role of the ReninAngiotensin system and aldosterone on cardiometabolic syndrome. *Int J Hypertens* 2011;2011:685238.doi:10.4061/2011/685238
- 404-Turer AT, Hill JA, Elmquist JK, Scherer PE. Adipose tissue biology and cardiomyopathy: translational implications. *Circ Res* 2012;111(12):1565-77
- 405-Oral EA, Simha V, Ruiz E, Andewelt A, Premkumar A, Snell P, Wagner AJ, DePaoli AM, Reitman ML, Taylor SI, Gorden P, Garg A. Leptin-replacement therapy for lipodystrophy. *N Engl J Med* 2002;346(8):570-8
- 406-Curat CA, Wegner V, Sengenès C, Miranville A, Tonus C, Busse R, Bouloumié A. Macrophages in human visceral adipose tissue: increased accumulation in obesity and a source of resistin and visfatin. *Diabetologia* 2006;49:744-7
- 407-Zhang L, Keung W, Samokhvalov V, Wang W, Lopaschuk GD. Role of fatty acid uptake and fatty acid beta-oxidation in mediating insulin resistance in heart and skeletal muscle. *Biochim Biophys Acta* 2010;1801:1-22.24. Wende AR, Abel ED. Lipotoxicity in the heart. *Biochim Biophys Acta*. 2010;1801:311-319
- 408-Chen MP, Chung FM, Chang DM, Tsai JC, Huang HF, Shin SJ, Lee YJ. Elevated plasma level of visfatin/pre-B cell colony-enhancing factor in patients with type 2 diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab* 2006;91(1):295-9
- 409-Chang YH, Chang DM, Lin KC, Shin SJ, Lee YJ. Visfatin in overweight/obesity, type 2 diabetes mellitus, insulin resistance, metabolic syndrome and cardiovascular diseases: a meta-analysis and systemic review. *Diabetes Metab Res Rev* 2011;27(6):515-27
- 410-Lu LF, Wang CP, Yu TH, Hung WC, Chiu CA, Chung FM, Tsai IT, Yang CY, Cheng YA, Lee YJ, Yeh LR. Interpretation of elevated plasma visfatin concentrations in patients with ST-elevation myocardial infarction. *Cytokine* 2012;57(1):74-80
- 411-Filippatos TD, Randeve HS, Derdemezis CS, Elisaf MS, Mikhailidis DP. Visfatin/PBEF and atherosclerosis-related diseases. *Curr Vasc Pharmacol* 2010;8:12-28
- 412-Romacho T, Sanchez-Ferrer CF, Peiro C, Sánchez-Ferrer CF, Peiró C. Visfatin/Nampt: an adipokine with cardiovascular impact. *Mediators Inflamm* 2013;2013:946427. doi: 10.1155/2013/946427
- 413-Weyer C, Funahashi T, Tanaka S, Hotta K, Matsuzawa Y, Pratley RE, Tataranni PA. Hypoadiponectinemia in obesity and type 2 diabetes: close association with insulin resistance and hyperinsulinemia. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86(5):1930-5
- 414-Hotta K, Funahashi T, Arita Y. Plasma concentrations of a novel, adipose-specific protein, adiponectin, in type 2 diabetic patients. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000;20(6):1595-9

- 415-Kumada M, Kihara S, Sumitsuji S. Association of hypoadiponectinemia with coronary artery disease in men. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003;23(1):85-9
- 416-Azizi Ghanbari A, Dörr R, Spitzer S, Stumpf J, Britz A, Amann-Zalan I, Lodwig V, Ulm B, Schnell O, Lohmann T. Adiponectin in coronary heart disease and newly diagnosed impaired glucose tolerance. *Diab Vasc Dis Res* 2013;10(5):452-8
- 417-Wu Z, Cheng Y, Aung LH, Li B. Association between adiponectin concentrations and cardiovascular disease in diabetic patients: a systematic review and meta-analysis. *PLoS One* 2013;8(11):e78485
- 418-Hao G, Li W, Guo R, Yang JG, Wang Y, Tian Y, Liu MY, Peng YG, Wang ZW. Serum total adiponectin level and the risk of cardiovascular disease in general population: a meta-analysis of 17 prospective studies. *Atherosclerosis* 2013;228(1):29-35
- 419-Kanhai DA, Kranendonk ME, Uiterwaal CS, van der Graaf Y, Kappelle LJ, Visseren FL. Adiponectin and incident coronary heart disease and stroke. A systematic review and meta-analysis of prospective studies. *Obes Rev* 2013;14(7):555-67
- 420-Zhang BC, Liu WJ, Che WL, Xu YW. Serum total adiponectin level and risk of cardiovascular disease in Han Chinese populations: a meta-analysis of 17 case-control studies. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2012;77:370-8
- 421-Zhang H, Mo X, Hao Y, Huang J, Lu X, Cao J, Gu D. Adiponectin levels and risk of coronary heart disease: a meta-analysis of prospective studies. *Am J Med Sci* 2013;345(6):455-61
- 422-Denzel MS, Scimia MC, Zumstein PM, Walsh K, Ruiz-Lozano P, Ranscht B. T-cadherin is critical for adiponectin-mediated cardioprotection in mice. *J Clin Invest* 2010;120(12):4342-52
- 423-Shehzad A, Iqbal W, Shehzad O, Lee YS. Adiponectin: regulation of its production and its role in human diseases. *Hormones (Athens)* 2012;11(1):8-20
- 424-El-Menyar A, Rizk N, Al Nabti AD, Hassira SA, Singh R, Abdel Rahman MO, Suwaidi JA. Total and high molecular weight adiponectin in patients with coronary artery disease. *J Cardiovasc Med (Hagerstown)* 2009;10(4):310-5
- 425-Chow WS. Et al. Hypoadiponectinemia as a predictor for the development of hypertension: a 5-year prospective study. *Hypertension* 2007;49(6):1455-61
- 426-Hass A, Oz H, Mashavi M, Shargorodsky M. Role of RAAS and adipokines in cardiovascular protection: effect of different doses of angiotensin II receptor blocker on adipokines level in hypertensive patients. *J Am Soc Hypertens* 2014;8(10):709-14
- 427-Furuhashi M, Ura N, Higashiura K, Murakami H, Tanaka M, Moniwa N, Yoshida D, Shimamoto K. Blockade of the renin-angiotensin system increases adiponectin concentrations in patients with essential hypertension. *Hypertension* 2003;42(1):76-81
- 428-Van Berendoncks AM, Garnier A, Beckers P, Hoymans VY, Possemiers N, Fortin D, Martinet W, Van Hoof V, Vrints CJ, Ventura-Clapier R, Conraads VM. Functional adiponectin resistance at the level of the skeletal muscle in mild to moderate chronic heart failure. *Circ Heart Fail* 2010;3(2):185-94
- 429-Yamada H, Sata M. The role of pericardial fat: The good, the bad and the ugly. *J Cardiol* 2015;65(1):2-4
- 430-Yuegang Z, Chengjun W, et al. Simultaneous Determination of Creatinine and Uric Acid in Human Urine by High Performance Liquid Chromatography. *Anal Sci.* 2008;24:1589–1592. [[PubMed](#)]
- 431-Corbett JV. 7th Ed. 2008. Laboratory tests and diagnostic procedures with nursing diagnoses; pp. 90–107.

432-Miller W, Myers G, Ashwood E, et al. Creatinine measurement: state of the art in accuracy and interlaboratory harmonization. Arch Pathol Lab Med. 2005;129(3):297–304. [\[PubMed\]](#)

433-Edmund L, David J. Kidney function tests. In: Carl AB, Edward R, David E, editors. Tietz Textbook of clinical chemistry and molecular diagnostics. 4th ed. New Delhi: Elsevier Inc; 2006. pp. 797–808.

434-Mitchell HR and Kline W. Core curriculum in nephrology, Renal Function Testing. Am J Kidney Dis. 2006;47:174–183. [\[PubMed\]](#) 435-Pagana, Kathleen D. Mosby's Manual of Diagnostic and Laboratory Tests. St. Louis Mosby, Inc., 1998 and Rebecca J.F Gale Encyclopedia of Medicine. 2002

