



**T.C.  
GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ**

**İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**TİP 2 DİABETES MELLİTUS'LU HASTALARDA  
NEFROPATİ İLE İLİŞKİLİ miRNA DEĞİŞİKLİKLERİNİN  
DEĞERLENDİRİLMESİ**

**Dr. Gökhan KAYA  
TIPTA UZMANLIK TEZİ OLARAK HAZIRLANMIŞTIR**

**GAZİANTEP  
2023**



**T.C.  
GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ**

**İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**TİP 2 DİABETES MELLİTUS'LU HASTALARDA  
NEFROPATİ İLE İLİŞKİLİ miRNA DEĞİŞİKLİKLERİNİN  
DEĞERLENDİRİLMESİ**

**UZMANLIK TEZİ**

**Dr. Gökhan KAYA**

**TEZ DANIŞMANI**

**Doç. Dr. Hamit YILDIZ**

**GAZİANTEP**

**2023**

**ONAY SAYFASI**

**T.C.  
GAZIANTEP ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**TIP 2 DİABETES MELLİTUS'LU HASTALARDA  
NEFROPATİ İLE İLİŞKİLİ miRNA DEĞİŞİKLİKLERİNİN  
DEĞERLENDİRİLMESİ**

Dr.Gökhan KAYA

10.05.2023

Tıp Fakültesi Dekanlığı Onayı

Prof. Dr. Şevki Hakan EREN

Tıp Fakültesi Dekanı

Bu tez çalışmasının “Tıpta Uzmanlık” derecesine uygun ve yeterli bir çalışma olduğunu onaylıyorum.

Prof. Dr. Özlem USALAN

Anabilim Dalı Başkanı

Bu tez tarafımdan okunmuş ve her yönü ile “Tıpta Uzmanlık” tezi olarak uygun ve yeterli bulunmuştur.

Doç. Dr. Hamit YILDIZ

Tez Danışmanı

**TEZ JÜRİSİ:**

1. Prof.Dr.Özlem USALAN
2. Doç.Dr.Hamit YILDIZ
3. Dr.Öğretim Üyesi Özlem Nuray SEVER
4. Prof.Dr. Vahap OKAN
5. Prof.Dr.Zeynel Abidin ÖZTÜRK

## TEŞEKKÜR

Tez çalıőmamda desteğini esirgemeyen her fırsatta bilgilerini tecrübelerini mesleki bilgilerini benimle paylaşan güler yüzlü Türkiye'nin genç hocalarından tez danışmanım Doç. Dr. Hamit Yıldız'a sonsuz teőekkürlerimi sunarım.

Eğitimim süresince bizden bilgi, tecrübe ve yardımlarını esirgemeyerek gelişmemizde büyük emekleri bulunan, bu zorlu süreçte yer yer yaşadığımız sorunlarla özveriyle ilgilenen, meslek sevgisi ile bizlere örnek olan tüm değerli hocalarıma ve Anabilim Dalı başkanımız Prof.Dr. Özlem USALAN'a teşekkür ederim.

Ayrıca uzmanlık eğitimim boyunca ve tez sürecinde yardımını esirgemeyen her konuda desteğini aldığım başta değerli abim Abdurrahman KAYA'ya ve kardeşlerime, sevgisini hiçbir zaman eksik etmeyen annem Fatma KAYA, babam Mehmet KAYA'ya teşekkür ederim.

**Dr.Gökhan KAYA**

**Gaziantep, 2023**

## ÖZET

**KAYA G., Tip 2 Diabetes Mellitus'lu Hastalarda Nefropati ile İlişkili miRNA değişikliklerinin Değerlendirilmesi, Tek Merkez Deneyimi, Tıpta Uzmanlık Tezi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Gaziantep, 2023.**

Diyabetik nefropati, prevalansı ve mortalitesi artan diabetes mellitusun en ciddi mikrovasküler komplikasyonlarından biridir. Günümüzde böbrek fonksiyonu, albümin atılım hızı ve glomerüler filtrasyon hızı hesaplanarak değerlendirilmektedir. Diyabetik nefropatinin erken teşhisi, böbrek fonksiyonlarını iyileştirmede ve ilaçlarla hastalığın ilerlememesini geciktirmede önemli bir role sahiptir. Böbrekle ilişkili yapısal değişiklikleri karakterize edebilen biyobelirteçlere ihtiyaç duyulmaktadır. Son yıllarda birçok hastalığın patogeneğinde ve tanısında kullanılan mikronalar tanımlanmıştır. Çalışmamızda retrospektif olarak sodyum glukoz kotransporter 2 inhibitörü olan dapagliflozin kullanan hastaların diyabetik nefropati ile ilişkili mikronalar üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Diyabetik nefropati tanısı alan ve dapagliflozin kullanan 47 hastanın tedaviden sonraki 60.günde tedavi öncesine göre miRNA 21, miRNA 141 ve miRNA 377 düzeylerinde istatistiksel anlamlılıkta azalma tespit edilmiştir ( $p<0.05$ ).İncelenen mikRNA düzeyleri ile serum glukoz, hbA1C değeri, mikroalbüminri ve mikrototal protein düzeyleri arasında istatistiksel bir anlamlı fark saptanmadı.

**Anahtar kelimeler:** Diyabetik nefropati, Polimeraz zincir reaksiyonu, mikroRNA

**Destekleyen Kuruluşlar:** Bu tez, Gaziantep Üniversitesi BİLİMSEL ARAŞTIRMALAR PROJELERİ tarafından TF.UT.22.77 proje numarası ile desteklemiştir.

## ABSTRACT

**KAYA G., Investigation of the Relationship between Microalbuminuria Level and MicroRNA in Patients with Type 2 Diabetes Mellitus, Thesis in Medicine, Department of Internal Medicine, Gaziantep, 2023.** Diabetic nephropathy is one of the most serious microvascular complications of diabetes mellitus with increasing prevalence and mortality. Currently, kidney function is evaluated by calculating albumin excretion rate and glomerular filtration rate. Early diagnosis of diabetic nephropathy has an important role in improving kidney function and delaying the progression of the disease with drugs. There is a need for biomarkers that can characterize the structural changes associated with the kidney. In recent years, microRNAs used in the pathogenesis and diagnosis of many diseases have been defined. In our study, the effect of patients using dapagliflozin, a sodium glucose cotransporter 2 inhibitor, on diabetic nephropathy-associated microRNAs was investigated retrospectively. In 47 patients diagnosed with diabetic nephropathy and using dapagliflozin, a statistically significant decrease was found in miRNA 21, miRNA 141 and miRNA 377 levels on the 60th day after treatment compared to pre-treatment ( $p < 0.05$ ). There was no statistically significant difference between the microRNA levels examined and serum glucose, HbA1C value, microalbuminuria and micrototal protein levels.

**Keywords:** Diabetic nephropathy, Polymerase chain reaction, microRNA

**Supporting Organizations:** This thesis was supported by Gaziantep University SCIENTIFIC RESEARCH PROJELERI with the project number TF.UT.22.77.

# İÇİNDEKİLER

<b>ONAY SAYFASI</b> .....	iv
<b>TEŞEKKÜR</b> .....	v
<b>ÖZET</b> .....	vi
<b>ABSTRACT</b> .....	vii
<b>ŞEKİLLER</b> .....	x
<b>KISALTMALAR</b> .....	xii
<b>1. GİRİŞ VE AMAÇ</b> .....	1
<b>2.GENEL BİLGİLER</b> .....	2
<b>2.1. Diabetes Mellitus</b> .....	<b>2</b>
2.1.1. Tanım ve Epidemiyoloji .....	2
2.1.2. Patogenez .....	3
2.1.3. Sınıflandırma .....	6
2.1.3.1. Tip 1 Diabetes Mellitus.....	8
2.1.3.2. Tip 2 Diabetes Mellitus.....	8
2.1.3.3. Gestasyonel Diabetes Mellitus.....	8
2.1.4. Tanı Kriterleri .....	9
2.1.5. Komplikasyonlar.....	10
2.1.5.1. Makrovasküler Komplikasyonlar.....	10
2.1.5.2. Mikrovasküler Komplikasyonlar .....	11
2.1.5.2.1. Diyabetik Nefropati .....	12
2.1.6. Tedavi .....	14
2.1.6.1. İnsülin Tedavisi.....	14
2.1.6.2. İnsülin Dışı Tedavide Kullanılan İlaçlar .....	17
2.1.6.2.1. Biguanidler.....	17
2.1.6.2.2. Tiyazolidinedionlar(TZD).....	17
2.1.6.2.3. Meglitinidler (Glinidler) .....	18
2.1.6.2.4. Alfa-Glikozidaz İnhibitörleri .....	18
2.1.6.2.5. Glukagon-Benzeri Peptid-1 Reseptör Agonistleri (GLP-1).....	18
2.1.6.2.6. Dipeptidil Peptidaz-4 İnhibitörleri (DPP4-İ) .....	19

2.1.6.2.7. Sodyum Glukoz Kotransporter-2 İnhibitörleri.....	19
(SGLT-2i) .....	19
<b>2.2. MikroRNA Sentez Süreci Tipleri ve Hastalıklar Arasındaki İlişkisi.....</b>	<b>24</b>
2.2.1. Diabetes Mellitus ile İlişkili miRNA'lar.....	26
2.2.1.1. Diyabetik Nefropati ile İlişkili miRNA'lar .....	27
<b>3. MATERYAL ve YÖNTEM .....</b>	<b>31</b>
<b>3.1. Materyal.....</b>	<b>31</b>
3.1.1. Kullanılan Kimyasallar; .....	31
3.1.2. Kullanılan Cihazlar ve Laboratuvar Araçları;.....	31
<b>3.2. Yöntem.....</b>	<b>32</b>
3.2.1. Çalışma Grubu .....	32
3.2.2. Çalışma Örneklerinin Elde Edilmesi .....	32
3.2.3. miRNA İzolasyonu .....	33
3.2.4. cDNA Eldesi .....	34
3.2.5. Real Time PCR ile miRNA Analizi.....	36
3.2.6. İstatiksel Analiz .....	37
<b>4. BULGULAR .....</b>	<b>38</b>
<b>5. TARTIŞMA .....</b>	<b>42</b>
<b>6. SONUÇ.....</b>	<b>46</b>
<b>7. KAYNAKLAR .....</b>	<b>47</b>

## ŞEKİLLER

Sayfa

<b>Şekil 1:</b> Diyabet Gelişiminde Etkili Faktörler.....	<b>5</b>
<b>Şekil 2:</b> Sodyum-Glukoz Kotransporter-1,2 (Sgl-1, Sgl-2) İlişkili Böbrek GlukozEmilimi.....	<b>20</b>
<b>Şekil 3:</b> SGLT-2 İnhibitörlerinin Farklı Mekanizmalar Aracılı Kardiyoprotektif Etkisi.....	<b>22</b>
<b>Şekil 4:</b> miRNA Sentez Süreci ve İşlevi.....	<b>25</b>
<b>Şekil 5:</b> Hücrelerdeki İnsülin Sekresyonu ve miRNA'lar Arasındaki ilişki.....	<b>27</b>



## TABLULAR

	Sayfa
<b>Tablo 2.1.</b> IDF Diyabet Atlası Küresel 2017- 2045 yılı Tahminleri.....	2
<b>Tablo 2.2.</b> Diabetes Mellitus'un Etiyolojik Sınıflandırma .....	7
<b>Tablo 2.3.</b> Diabetes Mellitus ve Glukoz Metabolizmasının Diğer Bozukluklarında Tanı Kriterleri.....	10
<b>Tablo 2.4.</b> Diyabetik Nefropatinin Glomerüler Lezyonlara Göre Hiyerarşik Sınıflandırılması.....	14
<b>Tablo 2.5.</b> İnsülin Tipleri ve Etki Süreleri.....	16
<b>Tablo 2.6.</b> SGLT-2 İnhibitörlerinin Yapısal Farklılıkları, Dozajı ve Atılım Mekanizması.....	23
<b>Tablo 2.7.</b> Diyabetik Nefropati'de Rol Oynayan miRNA'lar.....	29
<b>Tablo 3.1.</b> cDNA eldesi için bileşenlerin hacimler.....	35
<b>Tablo 3.2.</b> PCR cihazı cDNA ısı protokolü.....	35
<b>Tablo 3.3.</b> Çalışma protokolü mix eldesi.....	36
<b>Tablo 3.4.</b> Real Time PCR ısı protokolü.....	36
<b>Tablo 3.5.</b> hsa-RNU6-1, hsa_miR-21-3p, hsa-miR-141-3p ve hsa-miR-377-3p miRNA'larının primer dizileri.....	37
<b>Tablo 4.1.</b> Genel tanımlayıcı istatistiklerin ortalama ve medyan değerleri.....	38
<b>Tablo 4.2.</b> Dapagliflozin tedavisinin 0 ve 60.günlerinde tespit edilen laboratuvar bulguları.....	39
<b>Tablo 4.3.</b> miRNA'ların mikroalbüminüri ve mikro total protein düzeyi ile arasındaki korelasyonlar.....	40
<b>Tablo 4.4.</b> Dapagliflozin tedavisinin 0 ve 60.günlerinde tespit edilen miRNA düzeyleri ile glisemik parametreler arasındaki korelasyonlar.....	41
<b>Tablo 4.5.</b> Dapagliflozin tedavisinin 0 ve 60.günlerinde tespit edilen miRNA düzeylerindeki değişiklikler.....	41

## KISALTMALAR

**ADA:** American Diabetes Association

**AGI:** Alfa Glukozidaz İnhibitörleri

**AKS:** Akut Koroner Sendrom

**ALT:** Alanin Amino Transferaz

**APG:** Açlık Plazma Glukozu

**ASP:** Aspart

**ASKVH:** Aterosklerotik Kardiyovasküler Hastalık

**BAG:** Bozulmuş Açlık Glukozu

**BGT:** Bozulmuş Glukoz Toleransı

**BMI:** Vücut Kitle İndeksi

**BUN:** Kan Üre Azotu

**CKD-EPI:** Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration

**Ca:** Kalsiyum

**DEG:** Degludec

**Dicer-TRBP:** RNA bağlayıcı protein

**DKA:** Diyabetik Ketoasidoz

**DM:** Diabetes Mellitus

**DN:** Diyabetik Nefropati

**DNA:** Deoksiribo Nükleik Asit

**DPP-4i:** Dipeptidil Peptidaz-4 İnhibitorleri

**DSÖ:**Dünya Sağlık Örgütü

**ESC:** Avrupa Kardiyoloji Topluluğu

**EGFR:** Epidermal Büyüme Faktörü Reseptörü

**GIP:**Gastrik İnhibitor Polipeptid

**GFR:**Glomerüler Filtrasyon Hızı

**GLP-1:** Glukagon Benzeri Peptid-1

**HbA1c:**Glikozillenmiş Hemoglobin-A

**HDL:**Yüksek Dansiteli Lipoprotein

**HPLC:** Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografi

**IDF:** Uluslararası Diyabet Federasyonu

**KAH:** Koroner Arter Hastalığı

**KB:** Kan Basıncı

**KBH:** Kronik Böbrek Hastalığı

**KG:** Kilogram

**KVH:**Kardiyovasküler Hastalık

**LADA:** Latent Autoimmune Diabetes In Adult

**LDL:**Düşük Dansiteli Lipoprotein

**LİS:** Lispro

**mIU/L:** Milli-internationalUnits Per Liter

**Mİ:** Miyokard İnfarktüsü

**miRNA:** Mikro RNA

**mm/Hg:** Milimetre Civa

**mmol/l:** Milimol/Litre

**mTOR:** Rapamisin Protein Kompleksinin Memeli Hedefi

**MODY:** Maturity Onset Diabetes Of The Young

**mOsm/kg:** Miliosmol/Kilogram

**Na:** Sodyum

**Na\H:** Sodyum\Hidrojen

**Na-K ATPaz:** Sodyum Potasyum ATPaz

**NPA:** Nötral Protamin Aspart

**NPH:** Nötral Protamin Hagedorn

**NPL:** Nötral Protamin Lispro

**ph:** Power of Hydrogen

**P-KC:** Protein Kinaz C

**PPAR- $\gamma$ :** Peroxisome Proliferator Activated Receptor Gamma

**PPG:** Post Prandial Glisemi

**RAAS:** Renin Anjiyotensin Aldosteron Sistemi

**REG:** Regüler

**SGLT2:** Sodyum Glukoz Ko-Transporter 2

**SGLT2-İ:** Sodyum Glukoz Ko-Transporter 2 İnhibitörleri

**SU:** Sulfonilüre

**TGF- $\beta$** : Transforme Edici Büyüme Faktörü Beta

**T2DM**: Tip 2 Diabetes Mellitus

**TNF- $\alpha$** : TumorNecrosis Factor-Alpha

**TK**: Total Kolesterol

**TZD**:Tiazolidindion

**OGTT**: Oral Glukoz Tolerans Testi

**3' UTR**: 3' UntranslatedRegions



## 1. GİRİŞ

Diabetes mellitus (DM) pankreastaki insülin üretimindeki yetersizlik ya da periferik dokularda insülin hormonunun etkisindeki azalma ile kendini gösteren tüm dünyayı etkileyen kronik bir hastalıktır. Kan glukoz düzeyindeki kronik yükseklik retina, nöronlar, vasküler yapılar ve böbrek gibi organlarda kalıcı hasarlar bırakmaktadır (1).

Diyabetik nefropati (DN), hastalığın önemli ve yaşamı etkileyen en ciddi komplikasyonlarından biridir ve sıklığı gittikçe artmaktadır. Prevalansı yaklaşık olarak yüzde 8-10 oranındadır ve son dönem böbrek hastalığının en önemli nedenlerindedir (2,3).

DN tanımı için idrarda albümin atılımı önemli bir parametredir ve tanıya destek olarak sistatin C ve kreatinin gibi parametreler ile tanı desteklenebilir. Ancak son yıllarda böbreğin hasarını erken tespit etmede yeni belirteçler arayışına girilmiştir (4).

Son zamanlarda kronik hastalıklar diyabet, diğer metabolik hastalıklar, onkolojik hastalıklar ve kardiyovasküler hastalıklarda ilişkisi gösterilen popüler bir yöntem olan miRNA ile ilgili çalışmalar yapılmaktadır (5). Her ne kadar molekül hakkında çok fazla veri bulunmasa da bu küçük RNA moleküllerin yaklaşık 23 bp uzunluğunda transkripsiyon sonrası gen ekspresyonunda değişiklik yaptığı bilinmektedir. Son yıllarda miRNA ile ilgili bilgiler giderek artmaktadır (6).

Hücresel düzeyde apoptozis ve hücre farklılaşması ile ilişkili olan tanımlanmış çok sayıda miRNA mevcut olup, ekspresyonunda artma veya azalma ile ilişkili klinik durumlar çalışmalarla ortaya konmuştur (7).

miRNA'lar, miRNA genlerinin çoğu protein kodlayan genlerin intronlarında veya kodlama yapmayan RNA'ların intron veya ekzonlarında bulunurlar. miRNA'lar kültüre hücrelerden, serum/plazma, idrar, serebrospinal sıvı ve taze dokudan elde edilerek çeşitli tekniklerle, örneğin Northernblot, Southernblot, ters transkriptaz kantitatif polimeraz zincir reaksiyonu (RT-qPCR) ve mikrodizinci gibi yöntemlerle incelenebilir.

## 2.GENEL BİLGİLER

### 2.1. Diabetes Mellitus

#### 2.1.1. Tanım ve Epidemiyoloji

Diabetes mellitus, günümüz dünyasında değişen yaşam tarzları ve çevresel faktörlerin etkisiyle insan sağlığını negatif yönde etkileyen kronik bir hastalıktır. Uluslararası Diyabet Federasyonu (IDF)'nin yayınladığı bir rapora göre, 2017 yılında dünya genelinde 18 yaş ve üzeri 451 milyon diyabetli hasta olduğu tahmin edilmektedir. Bu rakamların 2045 yılına kadar 693 milyona çıkması tahmin edilmektedir (8). IDF Diyabet Atlası Küresel Tahminleri Tablo 1'de görülmektedir.

**Tablo 2.1.** IDF Diyabet Atlası Küresel 2017- 2045 yılı Tahminleri (9)

	2017	2045
Toplam Dünya Nüfusu	7,5 milyar	9,5 milyar
Erişkin Nüfus (20-79 yaş)	4,84 milyar	6,37 milyar
<b>DM Tahminleri</b>		
Prevalans (20-79 yaş) (%)	8,8 (7,2-11,3)	9,9 (7,5-12,7)
DM tanılı vaka sayısı	424,9 milyon	628,6 milyon
DM'ye bağlı ölüm sayısı	4,0 (3,2-5,0) milyon	-
DM'ye bağlı sağlık harcamaları	727 milyar dolar	776 milyar dolar
<b>Gebelikte Hiperglisemi (20-49 yaş)</b>		
Etkilenen canlı doğumların oranı	16,2	-
Etkilenen canlı doğumların sayısı	21,3 milyon	-
<b>Bozulmuş Glukoz Toleransı Tahminleri</b>		
Prevalans (20-79 yaş)	7,3 (4,8-11,9)	8,3 (5,6-13,9)
BGT tanılı vaka sayısı (20-79 yaş)	352,1 milyon	531,6 milyon
<b>T1DM (0-19 yaş)</b>		
T1DM'li çocuk ve yetişkin sayısı	1,106,500	-
Yıllık insidans	132,600	-

**DM:** Diabetes mellitus, **T1DM:** Tip 1 diabetes mellitus.

DM pankreas organındaki beta hücrelerinin harabiyeti sebebi ile insülin hormon sekresyonunun azalması veya insülin hormonun periferik organ ve dokulardaki duyarlılığının azalması ile ortaya çıkmaktadır (10).

Glukozun hücre içine girişinin engellenmesi sonucu ortaya çıkan hiperglisemik durum, glukotoksisite süreci sonucunda damarlar göz, böbrek ve sinir sistemi dahil birçok organ etkilenmektedir.

### **2.1.2. Patogenez**

Diyabetin bildiğimiz üzere farklı tipleri mevcuttur. Diyabetin tip 1, tip 2, gestasyonel diyabet ve aşağıda anlattığımız farklı mekanizmalar içeren diğer özel tipleri mevcuttur. Bunlar arasında ekzokrin pankreas ile ilişkili (pankreatit, hemokromatozis, kistik fibrozis vb), ilaçlar ve kimyasal madde ile ilişkili (diazoksit, pentamidin, glukokortikoidler, nikotinik asit, tiyazidler, antipsikotikler, fare zehri vb), geçirilen enfeksiyonlar (konjenital rubella, CMV vb) ve endokrin bozukluklar ile ilişkili durumlar (aldosteronoma, glukagonoma, cushing sendromu, akromegali vb) mevcuttur. Ayrıca immün diyabetin nadir görülen stiffman sendromu, anti-insulin antikörleri gibi patolojiler ile beta hücre disfonksiyonu ve insülin işlev bozukluğu ile ilgili genlerde oluşan defekt ile meydana gelen diyabet tipleri de mevcuttur.

Tip 1 diabetesmellitusta ana neden doğrudan insülin hormon eksikliğidir. Pankreas beta hücrelerinin sıklıkla otoimmün nadiren de immün aracılı olmayan harabiyetine bağlı gelişir (11). Diyabetin büyük çoğunluğunu oluşturan tip 2 formunun oluşmasında ise birçok faktörün etkili olduğu bilinmekle beraber aşağıda anlatıldığı üzere belli başlı 3 patolojik yolağı bilinmektedir. Bunlar;

-Hepatositlerde üretilen karbonhidrat üretiminde (glukoz) artış

-İnsülin sensivitesinde azalış ya da rezistansında artış

-Pankreas hücrelerindeki hasar sebebi ile gelişen mutlak insülin eksikliği ve hormon sekresyonundaki bozukluk ile gelişen insülin yetmezliği bu durumu oluşturan ana sebeplerdir. (12).

Yetişkinlerde görülen diyabetin büyük kısmını oluşturan tip 2 diyabetin ortaya çıkmasında bir dizi patofizyolojik olaylar mevcuttur. Tip 2 diabetes mellitusun patogeneğinde insülin hormonundaki mutlak eksiklikten daha çok insüline periferik dokulardaki rezistansı ve insülin hormonunun salgılanmasının farklı mekanizmalar ile bozulması rol oynamaktadır. Genetik polimorfizm tip 2 diabetes mellitusun patogeneğinde oldukça önemlidir. Bunun yanında gen düzeyindeki farklı bozuklukların her birisi ayrı ayrı insülin sekresyonu ve rezistansı ile yakından ilişkilidir. Akrabalarında tip 2 diabetes mellitus hastası olan kişiler olması akrabalarında diyabet hastası olmayanlara göre hastalığın ortaya çıkma olasılığını 6-10 kat arttırmaktadır (13,14).

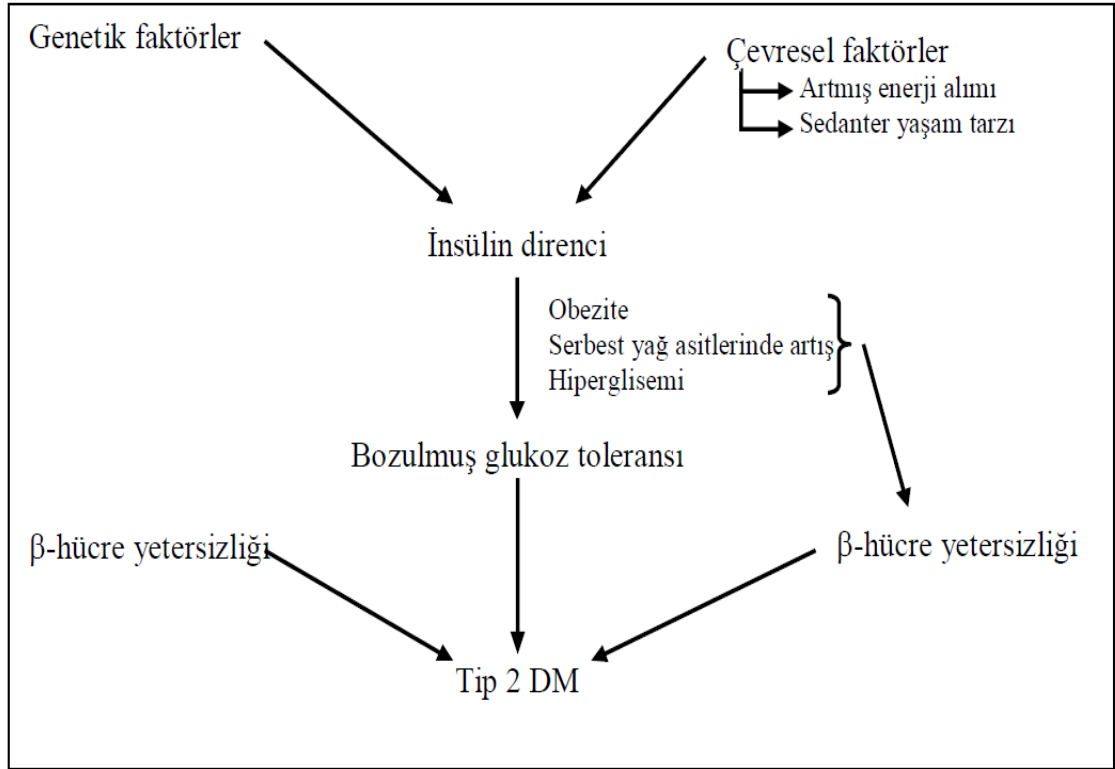
İnsüline duyarlı reseptörlerdeki bozukluk hormon-reseptör kompleksi arasında gelişen post reseptör aracılı bir bozukluk dolayısıyla ile hormon işlevini yerine getirememekte ve çevre organ dokularda glukozun intrasellüler bölgeye girişi yapılamamakta ve bir şekilde insülin rezistansı gelişmektedir. Tip 2 diabetes mellitus çoğunlukla, insülin rezistansı öne çıkmaktadır ancak hastalığın daha ileri seviyelerinde gittikçe hormon salgılanması da yetersiz kalmakta ve hastalığın oluşmasında farklı bir mekanizma da etkili olmaktadır (11).

Genç yaşta ortaya çıkan yetişkin tip diyabet (MODY), tek gende otozomal kalıtım gösteren diyabet hastalıkları ise gençlik çağlarında hormon sekresyonunda bozukluk ve artmış glukoz ile kendinin gösteren özel diyabet çeşitleridir. Mitokondriyal hasarlar, insülin üretilmesinde ve salgılanmasında rol oynayan gen hasarları, reseptör düzeyinde olan defektler, kistik fibrozis, kronik pankreas iltihabı gibi pankreas hormon salgılanmasında harabiyete neden olan hastalıklar, insülini nötralize eden hormonların fazla salgılayan endokrin bozukluklar büyüme hormonu fazlalığı (akromegali), cushing sendromu gibi hastalıklar, bazı enfeksiyonlar da pankreas organında oluşturduğu zarardan ötürü nadirde olsa diyabetin alt tipleri gelişmesinde rol oynayan diğer önemli etmenlerdir (15).

Pankreas beta hücrelerinde sentezlenen hormonlar ile ilgili olan tek gen düzeyindeki hasarlar ilgili hastalıklar arasında mitokondriyal diyabet ve genç başlangıçlı yetişkin benzeri diyabet (MODY) vardır. Genç yaşlarda genellikle de yirmi beş otuz yaş öncesi ortaya çıkan şiddetli kan glukoz düzeyi yüksekliği olmayan, insülin hormonunun

vücutta etki mekanizmasında hasar yoktur veya minimal hasar vardır ancak belirgin bir şekilde salgılanmasında defekt vardır. Otozomal baskın karakterde hastalık aktarılır ve ailesel geçiş vardır aile fertlerinde diyabet ile ilgili bir öykü geçmişi bulunmaktadır. Otoantikör pozitifliği beklenmemektedir (16).

Mitokondri düzeyindeki genetik hasarla oluşan mitokondriyal diyabette ise genlerde point mutasyon mevcuttur. Tip 2 diyabet ile kalsiyum yüksekliği, kas hastalıkları, tiroid fonksiyon bozukluğu, GH noksanlığı, işitme problemleri birlikte görülebilmektedir. İnsülin işlevinde rol oynayan gen hasarlarında reseptörlerin yanı sıra kadınlarda ses kalınlaşması, tüylenme, yumurtalıklar da kist oluşması ve akontozisnigrikans birlikteliği olabilir (16).



**Şekil 2.1.** Diyabet Gelişiminde Etkili Faktörler (13)

Tip 2 diabetes mellitus genlerin önemli bir yer olduğu bilinmekte hatta bazı genler diyabetin diğer altta yatan nedenlerinden bağımsız şekilde tip 2 diabetes mellitus hastalığının oluşmasında etkilidir. Bunlardan bazıları KCNJ11, TCF7L2, SLC30A8,

JAZF1, WFS1 vb. şeklindeki genetik varyantlardır ki aralarından pankreas beta hücrelerini harabiyeti ile ilişkili olanlar da mevcuttur (17,18).

Genetik düzeyde daha detaylı açıklayacak olursak karaciğerde yağ ve karbonhidratın genetik yazılımında önemli liver X (LXR) reseptörleri önemli işleve sahiptir. Bu reseptörler hücre de çekirdek üzerinden etkileyen reseptörlerdir (19). LXR'lerin periferik doku ve organlarda şeker uptakeini artırarak insülin sensitivitesi artırdığı kan bazal şeker düzeyini düşürdüğü bazı yapılan çalışmalarda gözlemlenmiştir. Bu LXR'ler glukoz düzeyindeki yoğunlukla alakalı olarak glukoz konsantrasyonu düşük olduğunda hücre sitoplazmasına doğru yoğunlaşma başlıyor yüksek olduğunda ise LXR'ler çekirdekte yoğunlaşıyor ve reseptörlerin işlevi glukoz yoğunluğu ile ilişkilendirilmiştir (20,21).

### **2.1.3. Sınıflandırma**

Diabetes mellitus insülin eksikliği insülin defekti ve diğer patogenetik etmenlerinde etkilediği şekilde aşağıdaki tablo.2 de görüldüğü üzere farklı tiplere ayrılmaktadır (22).

Tip 1 diabetesmellitusta ana kusur pankreas beta hücrelerinin harabiyeti sonucu insülin hormonu eksikliğinden kaynaklanmaktadır. Tip 2 diabetesmellitus ise insülin hormonunun dokulardaki duyarlılığının azalması direnç gelişmesi sonucu insülin hormonun yeteri kadar işlevsel olmadığından kaynaklanmaktadır (24).

Gebeliğin ikinci üçüncü trimester aralığında tanı almış öncesinde diyabet hastalığı olmayan diğer önemli bir grup ise gestasyonel diyabetir (25).

**Tablo 2.2.** Diabetes Mellitus'un Etiyolojik Sınıflandırması (23)

<b>--Tip 1 Diyabetes Mellitus</b>	
İmmün aracılı diyabet	
İdiyopatik	
<b>--Tip 2 Diyabetes Mellitus</b>	
<b>--Gestasyonel Diyabet</b>	
Gebeliğin 2-3. trimesterinde tanı almış, gebelik öncesinde açıkâr diyabeti olup olmadığı bilinmeyen hastalar	
<b>--Diğer Spesifik Diyabet Tipleri</b>	
<b>--Beta hücre disfonksiyonuna neden olan genetik defektler</b>	<b>--Elzolkrin pankreas hastalıkları</b>
Kromozom 12, HNF-1-alfa (MODY3)	Pankreatit
Kromozom 7, glukokinaz (MODY2)	Travma/pankreatektomi
Kromozom 20, HNF-4-alfa (MODY1)	Neoplazi
Kromozom 13, insülin promoter faktör-1 (IPF-1; MODY4)	Kistik fibrozis
Kromozom 17, HNF-1-beta (MODY5)	Hemokromatozis
Kromozom 2, NöroD1 (MODY6)	Fibrokalkülöz pankreatopati
Mitokondriyal DNA	Diğer
Diğer	
<b>--İnsülin işlev bozukluğuna neden olan genetik defektler</b>	<b>--Endokrinopatiler</b>
Tip A insülin direnci	Akromegali
Leprechaunizm	Cushing Sendromu
Rabson-Mendenhall Sendromu	Glukagonoma
Lipotrofik diyabet	Feokromasitoma
Diğer	Hipertiroidizm
	Somatostatinoma
	Aldosteronoma
	Diğer
<b>--İlaç veya kimyasal ilişkili diyabet</b>	<b>--İmmün diyabetlerin nadir tipleri</b>
Vacör (Fare zehri)	Stiff man sendromu
Pentamidin	Anti-insülin reseptör antikorları
Nikotinik asit	Diğer
Glukokortikoidler	
Tiroid hormonu	<b>--Diyabet ilişkili diğer genetik sendromlar</b>
Diazoksit	Down sendromu
Beta-adrenejik agonistleri	Klinefelter sendromu
Tiyazidler	Turner sendromu
Atipik antipsikotikler	Wolfram sendromu
Dilantin	Friederich ataksisi
Alfa interferon	Huntington köresi
Diğer	Laurence-Moon-Biedl sendromu
<b>--Enfeksiyonlar</b>	Miyotonik distrofi
Konjenital rubella	Porfini
Sitomegalovirüs	Prader-Willi sendromu
Diğer	Diğer

### **2.1.3.1. Tip 1 Diabetes Mellitus**

Pankreatik beta hücrelerinin harap olması sonucu oluşan insülin üretimindeki eksiklik sonucu ortaya çıkar. Beta hücrelerinin genellikle immün aracılı ve az da olsa non immün yıkımı sonucu insülin eksikliği oluşur. Tip 1 A immün, tip 1 B non immün şeklinde sınıflandırılmaktadır (26).

Tip 1 diabetesmellitusta etkili antikorlar GAD, ICA, IA-2, IAA vb. gibi birçok antikor hastalığın gelişiminde etkilidir. Anlaşıldığı üzere genetik ve çevresel birçok faktör hastalığın gelişiminde etkin rol oynamaktadır (27).

Tip 1 diabetesmellitusta tedavi insülin eksikliği sonucu oluşan hormon rezervininin dışarıdan insülin uygulanarak telafi edilmeye çalışılmasıdır.

### **2.1.3.2. Tip 2 Diabetes Mellitus**

Eskiden insülin bağımsız diyabet, yetişkin diyabet veya tip 2 diyabet olarak da isimlendirilen tip 2 diabetesmellitus en çok görülen diyabet türüdür (1).

Obezite ve fiziksel olarak inaktif yaşam süren kişiler hastalık açısından daha çok risk altındadırlar. Temelinde genetik yatkınlık bulunan kişiler obezite çevresel ve fiziksel faktörlerin etkisiyle hastalık daha da çok tetiklenmekte periferik dokularda gittikçe artan insülin direnci ve insülin salınımında azalma ile karakterize diyabet hastalığını ortaya çıkarmaktadır (28).

Tip 2 diabetesmellitus ile birlikte santral obezite, lipid yüksekliği ve tansiyon yüksekliği sık olarak birlikte bulunmaktadır. Aynı zamanda tip 2 diabetesmellitusta kardiyak ve vasküler patoloji görülme sıklığı artmaktadır (29).

### **2.1.3.3. Gestasyonel Diabetes Mellitus**

Gebelik öncesinde tanısı olmayan gebelik sırasında başlayan ve gebelik bittikten sonra düzelmeye başlayan anormal glukoz toleransı gestasyonel diabetesmellitus olarak adlandırılır.

Gebelikte gelişen diyabet birçok yeni doğan hastalığı ve sonrasında bebekte ortaya çıkabilecek hastalıkla ilişkilidir. Gestasyonel diyabet yenidoğan hipoglisemisi, yeni

doğan respiratuvardistress sendromu, fetal makrozomi, yeni doğan ölümleri, fetal anomaliler, bilirubin yüksekliği, preeklamsi gibi birçok durumda etkisini göstermektedir. Aynı zamanda yenidoğan bebeğin ileriki zamanda hipertansiyon, diabetesmellitus ve diğer bazı hastalıklar için risk faktörü oluşturmaktadır (30).

#### **2.1.4. Tanı Kriterleri**

Diyabet tanısı aşağıda anlatılan yöntemlerden birisi ile konulabilmektedir ancak tanının doğruluğunu netleştirmek için aynı yöntemin tekrarı ya da başka bir yöntem ile doğrulanması gerekmektedir. OGTT diğer yöntemlere göre daha duyarlı olmasına rağmen daha pahalı ve testin uygulanmasındaki güçlüklerden dolayı diğer yöntemler klinikte daha çok kullanılmaktadır ancak prediyabet ve diyabet testinde diğer yöntemlere göre daha duyarlıdır. Diyabet tanı kriterleri Tablo 3'de görölmektedir (33,34).

Plazma açlık glukozunun (PAG) gece en az 8 saat açlık sonrası ölçölmesi eğer 126 mg/dl ve üzerinde ise diyabet tanısı konulmaktadır. Diğer tanı metodu 75 gram glukoz yüklemesi yaptıktan 2 saat sonra eğer plazma glukozu 200 mg/dl üzerinde ise diyabet tanısı almaktadır (75gr OGTT TESTİ). DM semptomları noktüri, susama hissi, ellerde ayaklarda yanma sık sık su içme isteğinde artış ve herhangi bir zamanda ölçölen plazma glukozunun 200mg/dl üzerinde olması diyabet tanısı koydurur (31). Kabul görmüş diğer bir tanı yöntemi ise hbA1c'nin standartize ölçümü sonrası hbA1c %6.5 (48mmol/mol) ve üzeri diyabet tanısı koymakta yeterlidir (32).

**Tablo 2.3.** Diabetes Mellitus ve Glukoz Metabolizmasının Diğer Bozukluklarında Tanı Kriterleri

*	Aşkar DM	İzole BAG	İzole BGT	BAG + BGT	DM Riski Yüksek
APG (≥8 saat açlıkta)	≥126 mg/dl	100-125 mg/dl	<100 mg/dl	100-125 mg/dl	-
OGTT 2.st PG (75 g glukoz)	≥200 mg/dl	<140 mg/dl	140-199 mg/dl	140-199 mg/dl	-
Rastgele PG ≥200 mg/dl + Diyabet	≥200 mg/dl + Diyabet semptomları	-	-	-	-
A1C(**)	≥%6,5 (≥48mmol/mol)	-	-	-	%5,7-6,4 (39-47 mmol/mol)

\* Glisemi venöz plazmada glukoz oksidaz yöntemi ile “mg/dl” olarak ölçülür. Aşkar DM’ tanısı için dört tanı kriterinden herhangi birisi yeterli iken ‘İzole BAG’, ‘İzole BGT’ ve ‘BAG + BGT’ için her iki kriterin bulunması şarttır.

\*\* Standardize metotlarla ölçülmelidir.

DM: Diabetes Mellitus, APG: Açlık Plazma Glukozu, 2.St PG: Plazma Glukozu, OGTT: Oral Glukoz Tolerans Testi, A1C: Glikozillenmiş Hemogloblin A1c, BAG: Bozulmuş Açlık Glukozu (İmpairedFastingGlucose), BGT: Bozulmuş Glukoz Toleransı (İmpairedGlucoseTolerance)

### 2.1.5. Komplikasyonlar

Diyabet daha çok komplikasyonlarla insan sağlığını etkileyen multi faktöriyel bir hastalıktır. Etkilenen damarın çapına göre mikro veya makrovasküler komplikasyonlar olarak tanımlanmaktadır.

#### 2.1.5.1. Makrovasküler Komplikasyonlar

Hastalığın en önemli komplikasyonlarından birisi aynı zamanda diyabete bağlı ölümlerin en büyük kısmını oluşturan kardiyovasküler hastalıklar üzerindeki patognomonik etkisidir. Akut koroner sendrom, stabil angina, anstabilangina, miyokard enfarktüsü gibi hayatı tehdit edici kardiyovasküler hastalıkların

patogenezinde önemli rol oynamaktadır. Kardiyovasküler hastalıklarda rutin diyabet kontrolünün önemi de çalışmalarda vurgulanmaktadır (35).

Diyabetik hastalarda yine çok ciddi hem psikolojik hem fonksiyon kaybı oluşturan komplikasyonlardan biri de diyabetik ayakdır. Patogenezinde periferik damar hastalığı ve nöropatinin de olduğu multifaktöriyel bir durumdur. Tip 2 diyabetlilerde kardiyovasküler hastalık riski diyabetik olmayanlara göre 3-5 kat daha yüksektir (36-38).

Diyabetli hastalarda serebrovasküler hastalıkların hem sıklığı hem sıklığı artmıştır hem de hastalığın seyriindeki gidişatı kötüleştirmektedir. Diyabetin plateletler üzerindeki patojenik etkisi normal popülasyona göre adezyon ve tromboz eğilimini artırarak iskemik serebrovasküler hastalarının sıklığında da artış olmaktadır (39).

#### **2.1.5.2. Mikrovasküler Komplikasyonlar**

Diabetes mellitusun komplikasyonlarından önemli olanlarından birisi de yaşamı tehdit eden, diyabete bağlı nefropatidir. Son dönem böbrek yetmezliğinde diyabetin patojenik rolü yüksektir. Renal replasman tedavisi olan hastaların büyük kısmını diyabetli hastalar oluşturmaktadır (36,37).

Nefropatinin önlenmesinde sıkı glisemik kontrolün önemi yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (40). Günümüz dünyasında insan sağlığını etkileyen önemli durumlardan birisi ise körlüktür. Mikro komplikasyonlar arasında diyabetin en sık görülen komplikasyonudur. Diyabet hastalığı retinopatiyi gözdeki vasküler ve nöronal hücreler üzerinden etkilemektedir (41,42).

Diyabetik retinopatinin önlenmesinde diyabetin her yönüyle tedavi edilmesi glisemik kontrol tansiyonun regüle edilmesi, dislipidemi tedavi edilmesi gibi her yönüyle kontrol altına alınıp tedavisi yapılmalıdır (43).

Nöropati diyabetin yine önemli mortalite ve morbiditeye sebep olan kardiyovasküler hastalıklara göre daha az görülen ancak çok ciddi sonuçlar doğuran komplikasyonlarından birisidir. HbA1c düzeyi diyabetin hangi cinsiyette görüldüğü

ve ne kadar süredir diyabetin olduğu önemlidir. Nöropati duyu ve motor sinirlerinde etkilenebildiği bir komplikasyondur (44,45).

### **2.1.5.2.1. Diyabetik Nefropati**

Diyabet tanısı olan kişide diyabetik nefropati tanımı için üç aydan fazla GFR hızı 60ml/dk/1.73m<sup>2</sup> dan düşük olması ya da üç ay süre albüminüri (24 saatte 30 mg üzerinde atılım olması) saptanması gereklidir.

Retinal hasar gelişen bireylerde diyabetin kaç yıl olmasından bağımsız olarak nefropati açısından dikkat etmek gerekir çünkü retinopati gelişen hastalarda büyük ihtimalle nefropatinin hasarları yerleşmiştir (46).

Diyabete bağlı renal hasar dünya genelinde renal replasman ihtiyacı olan böbrek yetmezliğinin son aşamasına sebep olmaktadır. Renal replasman tedavisi alanların yüzde 15-40 oranında ki en sık neden diyabetik nefropatidir. Yine diyabete bağlı ölümlerin asıl alta yatan nedeni diyabetik nefropatidir (47).

Renal hasara sebep olan birçok faktör vardır. Tek başına plazma glukozunun düzensiz seyretmesi değil hastalık süresi, tipi eşlik eden hastalıklar (obezite, yüksek tansiyon, hiperlipidemi), düzensiz ve proteinden zengin beslenme, tütün kullanımı gibi faktörler de nefropatinin gelişimine katkıda bulunmaktadır. Renal hasara sebep olan asıl etmen plazma glukozunun yüksek seyretmesi dışında farklı yollarda patogenezin oluşmasına katkıda bulunmaktadır. Bunlardan P-KC (Protein Kinaz C) aracılı tepkimeler, glikolizasyonun son ürünleri (AGE), oksidatif etkisi sonucu ortaya çıkan radikal aracılı tepkimeler, polyol tepkimeleri ve heksosamin, sorbitol aracılı olaylar üzerinden glomerüler hasar oluşur. Diğer bir mekanizma ise yüksek tansiyon ve yukarıdaki nefropati patogeneze katkıda bulunan yollardan ötürü salgılanan mediyatörler nedeni ile renal arteriyoller arasında basınç farklılıkları olur. Efferentarteriyol basıncı afferent arteriyol en düşük olursa glomerüle gelen kan akımı artar ve intraglomerüler basınç artar, yanıt olarak ise kapillerin aralığı genişler, mezengial hücrelerin matriksi büyür ve bazal membran çapı artar. Endotel hücrelerinde defekt olur, böbreklere makrofaj istilasısı olur ve sklerotik süreç başlamış olur. Endotelin, tromboksan A2, prostoglandin, nitroz oksit, anjiyotensin 2 gibi renal arteriyollerde çap değişimi yaparak glomerüllere gelen kanı düzenler ve nefropatiyle

yakından ilişkilidir (47-50). Diyabetik nefropatide genel olarak patolojinin glomerüllerde fibrotik sklerotik olaylar sonucu genişlemesi ile ilgili olsa da ileriki zamanlarda glomerüller dışında tübül hasarı ve arteriyollerde fibrillerin patolojik birikmesi sonucu hyalinozis denilen hasar gelişir (51).

Diyabetik nefropati 5 evrede ele alınmaktadır (47,48,52).

**1-Glomerüler Hiperfiltrasyon evresi (GFR:90ml/dk/1.73m<sup>2</sup> ve üzeri):** Bu aşamada belirgin değişiklik olmasa da böbreklerin hipertrofisi, glomerüler bazal membran (GBM) çap artışı gözlenir. Böbreklerin filtrasyon hızında yüzde 40 varan artış olabilir.

**2-Sessiz evre:** Bu kısımda hala albüminin idrara geçişinde artma yaşanmamıştır. GFR hızı hala artmış olarak devam etmektedir ve zamanla azalma devam ederek eski seviyesine gelir. GBM da küçük bir çap artışı, mezengial dokuda belirli olmayan bir genişleme gözlenir.

**3-Mikroalbumiri evresi (60-30 ml/dk/1.73):** Bu aşamada böbreklerden süzülüp atılan albümin oranı artmıştır (30mg/gün üzeri). Kalıcı renal hasar açısından yüksek risk taşımaktadır. Düzenli ve sık şeker ölçümü, yakın tansiyon takibi yapılması, diyetle dikkat edilmesi, renin anjiyotensin sistem blokajı yapan ajanlar bu evrede protein atılımını azaltmada rol oynar.

**4-Aşık nefropati evresi (GFR 15-30 ml/dk/1.73):** Bu kısımda filtrasyon hızı düşmüş protein atılımında artma gerçekleşmiştir (300mg/gün üzeri albümin atılımı). Glomerüler fibroz ve sklerotik hasarlar oluşmuş ve hipertansiyon gelişmiştir.

**5-SDBH evresi (GFR:15ml/dk/1.73 ve altı):** Hastada renal yetmezlik belirtileri aşık ortaya çıkmıştır üre, kreatinin yüksekliği, hipertansiyon, elektrolit imbalansı, volüm yükü gelişmiştir. Hastanın renal replasman tedavi ihtiyacı doğabilir. Diyabetik nefropatinin patolojik bulgularının ayırımında Amerikan Nefroloji Derneği tarafından glomerüler lezyonlar ile interstisyel ve vasküler lezyonlara göre 2 ayrı sınıflama yapmıştır. Bu sınıflama Tablo 4 de gösterilmektedir.

**Tablo 2.4.** Diyabetik Nefropatinin Glomerüler Lezyonlara Göre Hiyerarşik Sınıflandırılması (53)

<b>Sınıf</b>	<b>Tanım ve Kriterler</b>
<b>1</b>	Işık mikroskopisinde hafif veya non-spesifik değişiklikler, elektron mikroskopisinde glomerular bazal membran(GBM) kalınlaşmasının gösterilmesi; Kadında GBM>395 nm, Erkeklerde GBM>430 nm
<b>2a</b>	Mezengiumun>%25'inde izlenen hafif mezengial genişleme, Mesengial proliferasyon alanı <kapiller boşluk alanı
<b>2b</b>	Mezengiumun>%25'inde izlenen ağır mezengial genişleme, Mesengial proliferasyon alanı <kapiller boşluk alanı
<b>3</b>	En az bir nodüler skleroz alanı (Kimmelstiel-Wilson)
<b>4</b>	Glomerüllerin> %50'sinde ileri diyabetik skleroz

### **2.1.6. Tedavi**

Diyabet tedavisinde kan glukoz miktarının olabildiğince normal seviyelerde tutarak hastalığın oluşturduğu mikro ve makro komplikasyonlardan en az düzeyde etkilenmesi hedeflenmektedir. Şeker takibinin yanında tansiyon ve lipid düzeyi ve kilonun da kontrolde tutulması gerekmektedir. Oral ilaç tedavisi, fiziksel aktivite, yaşam kalitesi artırmak, beslenme, insülin tedavisi gibi diyabetin tedavisinde etkili birçok faktör vardır (54,55).

Farmakolojik tedaviyi insülin ve insülin dışı antihiperglisemik ilaçlar olarak 2 gruba ayrılmaktadır.

#### **2.1.6.1. İnsülin Tedavisi**

Tip 1 diabetes mellitus ve gestasyonel diyabet tedavisinde insülin tedavisi kullanılmaktadır.

Tip 2 diyabet hastalarında (oral antidiyabetik ilaçlar, yaşam ve beslenme değişikliği ile glukoz toleransının sağlanamadığı durumlarda, gebelik, cerrahi, akut ve kronik komplikasyon gelişiminde insüline ihtiyaç duyulabilir. Doğal insülin salınımı kan glukoz oranına göre pankreas organından dolaşıma salınmaktadır. Diyabet hastalığında fizyoloji bozulduğundan periferik yollarla uygulanan insülin hormonun pankreastan salgılanan insülin ile aynı düzende ve ritim de olmasını sağlamak zordur. Uygulanacak insülinin bu dinamikte benzer ritimde olması gerekmektedir (54,55).

İnsandan salgılanan insülin hormonuna benzer nitelikte çeşitli insülinler bulunmaktadır. İnsan kan bazal insülin hormon seviyesini ayarlayan uzun etki süresine sahip insülinler (degludek, detemir, glargin.) ve hızlı etkili, kısa ve orta etki süreli insülinler ile karışım insülinleridir.

-Hızlı etkili insülinler: insülin glulisin, insülin lispro, insülin aspart

-Kısa etkili: Regüler insülin

-Orta etkili: Nötral protamin Hagedorn(NPH)

Fizyolojik insülin homonunu taklit eden günümüzde geliştirilen farklı etki süreleri ve yapıları olan insülin tipleri mevcuttur. İnsülinlerin detayları Tablo 5'de ayrıntılı bir şekilde verilmektedir (56).

**Tablo 2.5.** İnsülin Tipleri ve Etki Süreleri

ÜNSÜLİN	ETKİ BAŞLANGICI	PİK ETKİSİ	ETKİ SÜRESİ
<b>KISA/HIZLI ETKİLİ</b>			
Regüler U 100	30-60 dk	2-4 st	5-8 st
Lispro U100 & U200	<15 dk	30-90 dk	3-5 st
Lispro U200 (**)	<15 dk	30-90 dk	3-5 st
Biyobenzer İnsülin Lispro U100 (**)	<15 dk	30-90 dk	3-5 st
Aspart	<15 dk	1-3 st	3-5 st
Glusilin	15-30 dk	30-60 dk	4 st
Regüler İnhaler (**)	<5 dk	20-40 dk	3 st
Çok Hızlı Etkili Aspart (**)	4 dk	30-90 dk	3-5 st
<b>ORTA ETKİLİ</b>			
Regüler U500 (**)	30 dk	2-4 st	<24 st
NPH	1-2 st	4-10 st	>14 st
<b>UZUN ETKİLİ</b>			
Detemir	3-4 st	6-8 st (piksiz)	20-24 st
Glargin U100	90 dk	Piksiz	24 st
BiyobenzerÜnsülin	90 dk	Piksiz	24 st
Degludec U100 & U200	30-60 dk	Piksiz	>30 st
<b>KARIŞIM</b>			
NPH/Reg 70/30	30 dk	2-4 st	14-24 st
NPA/Asp 70/30	6-12 dk	1-4 st	18-24 st
NPL/Lis 75/25	15-30 dk	30-150 dk	14-24 st
NPL/Lis 50/50, NPA/Asp 50/50			
NPA/Asp 30/70	10-20 dk	1,6-3,2 st	14-24 st
Deg/Asp 70/30	14-72 dk	2-3 st	>24 st

\*Pik etki , etki süresi hastaya özgü nedenler ve doza bağlıdır, doz fazla olursa etki zamanı artar.

\*\*Türkiye’de ruhsat alamayan ilaçlar.

İnsülin etkisini genel olarak glukoz kullanımının artırılması ve yeni glukoz yapımını baskılayarak yapmaktadır. Kas dokusu, yağ dokusunda ve diğer dokularda glukoz kullanımını artırır. Glukojen yapımını artırır ve yıkımını baskılar. Glukoneogenezi baskılayarak kan glukoz seviyesinde düzeni korumaya çalışır (57-58).

İnsülin kullanımı kontrol edilemeyen kan glukoz düzeyinde etkili olmasına rağmen enjeksiyon yapılan yerdeki lipid dokusunda artış, kilo alımı ve kan şekeri düşüklüğü gibi istenmeyen yan etkileri de olmaktadır. Dolayısıyla insülin uyumunu zorlaştırmaktadır (59).

### **2.1.6.2. İnsülin Dışı Tedavide Kullanılan İlaçlar**

Bu grupta olan ilaçlar oral antidiyabetikler ve insülin olmayan enjektabl ilaçlardır. İnsülin salgılatıcılar, biguanidler, tiazolidinedionlar, insülin-mimetikler, a-glukozidaz inhibitörleri ve SGLT-2 inhibitörleri şeklinde sınıflandırılmaktadır (60).

#### **2.1.6.2.1. Biguanidler**

Tip 2 diyabet hastalarında tolere edilirse öncelikli kullanılan ilaç biguanid sınıfından metformindir. Metformin etkisini karaciğer düzeyinde glukoz yapımını azaltarak ve periferik organ ve dokularda insülin duyarlılığını yükselterek gösterir. Metforminin kilo üzerinde etkisi yoktur ve hipoglisemi riskini yükseltmez.

#### **2.1.6.2.2. Tiyazolidinedionlar(TZD)**

İnsülin hassasiyetini artıran diğer oral antidiyabetik ilaç tiyazolidinedionlar grubundan piaglitazondur. Lipid dokuda PPAR-gama (peroksizom proliferatör reseptör gama) üzerinden etki ederek visseral lipid dokusundan subkutanöz dokuya trigliserid geçişi olur. Böylece genel etkisini lipid doku üzerinde metabolik etki göstererek adipoz dokuda lipid dağılımını değiştirerek yapar. Diğer bir etki mekanizması ise insülin direncinde rol oynayan TNF-alfa ve interlökin-6 gibi sitokinlerin düzeyini azaltarak ve adiponektinde artış sağlayarak insülin hassasiyetini yükseltmesidir (61). Tiyazolidinedion grubu ilaçlar vücutta sıvı yüklenmesi, periferik ödem, kırık riskinde artış ve osteoporoz gibi etkilere sahiptir. Ödem etkisinden dolayı kalp yetmezliğinde kullanılmamalıdır (62).

Oral antidiyabetik ilaçlardan bir tanesi sülfonilüreler ise pankreastan insülin hormonu salgısını arttırarak etki gösteren oral antidiyabetiklerdir. Yan etkileri ise insülin dolaylı etkisini düşünürsek kan şekeri düşüklüğü ve kilo artışı yapmasıdır (63).

### **2.1.6.2.3.Meglitinidler (Glinidler)**

Glinidler de sülfonilüreler gibi pankreastan insülin salgılatmaktadır. Ancak sülfonilürelerden farklı reseptörler kullanarak bu etkiyi göstermektedir. Sülfonilüre sınıfına göre hipoglisemi yapma olasılığı daha az olduğundan yaşlılarda daha çok tercih edilir (64).

### **2.1.6.2.4.Alfa-Glikozidaz İnhibitörleri**

Alfa glukozidaz inhibe edici ilaçlar bağırsaktan alfa-glukozidaz enzimini inhibe ederek karbonhidratların parçalanmasını ve emilimini yavaşlatarak etki gösterirler. Daha çok yemek sonrası kan şekeri kontrolünde etkili olan bu ilaçlar kilo üzerinde etkisi olmaması, daha çok lokal yoldan bağırsaklardaki emilim üzerinde etkisinden dolayı sistemik etkisinin az olması ve hipoglisemi yapmasındaki olasılığının az olması avantajlarındandır. Alfa glukozidaz inhibitörleri ülkemizde (akarboz) kalp damar hastalıkları riskini azalttığı bilinmektedir. İlacın yan etkileri de genellikle intestinal sistem üzerinde şişkinlik karın ağrısı ve gazdır. Bu nedenle düşük doz başlanıp kişinin ilaç toleransına göre doz arttırımı yapılmalıdır. İlacın kullanılmaması gereken durumlar ise intestinal emilim bozukluğu, inflamatuvar bağırsak hastalıkları ve ülser gibi intestinal bozukluklar oluşturmaktadır (65,66).

### **2.1.6.2.5.Glukagon-Benzeri Peptid-1 Reseptör Agonistleri(GLP-1)**

Buna karşılık bağırsakta üretilen inkretin benzeri özellik taşıyan inkretinmimetik ilaçlar inkretinlerin parçalanmasını durdurarak etki gösterirler (67). Bu ilaçlardan GLP-1 grubunda liraglutid, liksesenatid ve eksanatid bulunmaktadır. Enjeksiyon yoluyla kullanılırlar. Bu ilaçların kilo verdirmede etkisi vardır ve hipoglisemi riski düşüktür (68).

GLP-1 analog grubu ilaçların multipl endokrin neoplazi, ailede pankreas kanseri öyküsü, geçirilmiş pankreatit öyküsü ve hamilelik de kullanımı kontrendikedir (60).

#### **2.1.6.2.6.Dipeptidil Peptidaz-4 İnhibitörleri (DPP4-İ)**

Dipeptidil peptidaz 4 (DPP-IV) enzim inhibitörleri ise diğer bir oral antihyperglisemik ilaç grubudur. Bu ilaçlar dipeptidil peptidaz-4 enziminin etkisini baskılayarak inkretinlerin vücutta erken yıkılmasını engelleyip endojen inkretin sentezini arttırmaktadırlar. Bu grupta alogliptin, vildagliptin, sitagliptin ve saksagliptin gibi ilaçlar mevcuttur. Genellikle hastalar tarafından kullanımı kolaydır ve iyi tolere edilirler. Kilo verme üzerinde GLP-1 analogları gibi belirli bir etkiye sahip değildir ve hipoglisemi yapma özelliği az olması ise önemli bir avantajdır (69). Yan etkilerinde ise daha çok eklem ağrıları, idrar yolları enfeksiyonu, solunum yolu hastalıkları görülür. Daha az görülen yan etkisi ise pankreatit ve dermatolojik cilt bulgularıdır (70).

#### **2.1.6.2.7.Sodyum Glukoz Kotransporter-2 İnhibitörleri (SGLT-2i)**

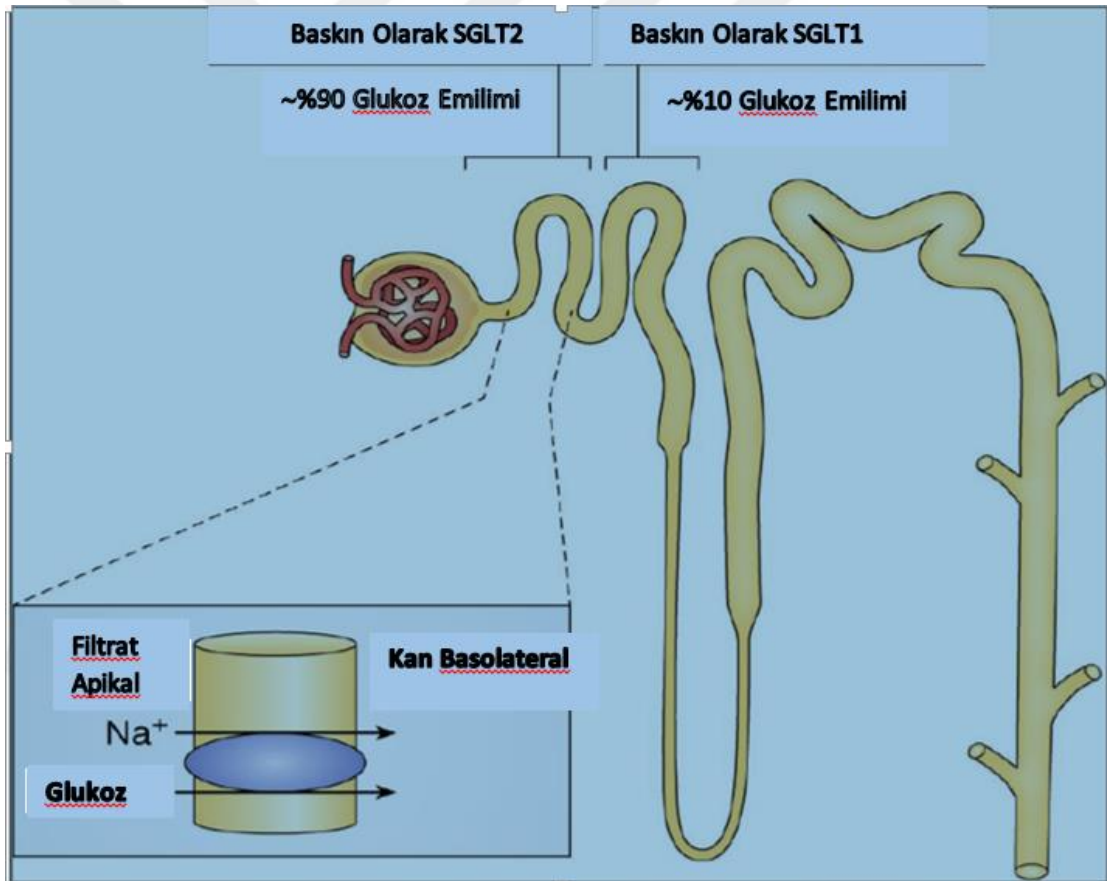
Sodyum glukoz kotransporter-2 (SGLT-2) inhibitörleri günümüzde yeni tedavi şekli ilaçlar olarak bilinse de keşfedilişi asırlara dayanmaktadır. İlk kez Belçika ve Fransa'lı bilim insanları tarafından keşfedilmiştir (71). Yine o zamanlarda Fransız asıllı bilim insanları tarafından phlorizin bulunmuştur. Yaklaşık yarım asır sonra başka bir bilim adamı FREIHERR Von Meringphlorizini kullandığı hayvan çalışmalarında kan glukoz düzeyini bir şekilde düşürdüğünü bulmuştur. Bir yıl kadar sonra da phlorizinin şeker hastalarında idrarla glukoz atılımını artırarak plazma glukoz düzeyini düşürdüğünü keşfetmiştir (71,72). SGLT-2 inhibitörlerinin bu etkisini birkaç yolla yapmaktadır.

Normal sağlıklı bir kişide böbreklerden süzülen glukozun yaklaşık yüzde yüzü emilir ve idrarda glukoz saptanamaz. Ancak kan glukoz ölçümü 180 mg/dl aştığında böbreklerden süzülen bir kısmı glukoz idrarla atılır ve bu değer glukozüri eşik değeri olarak bilinir. Diyabeti olan bireylerde ise kan glukoz düzeyi arttığı için bu eşik adaptasyon mekanizmasıyla yükseltilmeye çalışılır enerjide oluşan fazla kaybı engellemek için, dolaylı olarak ise kanda hyperglisemi oluşmasında katkı olur (73).

Diabetes mellitus tanılı bireylerde sodyum glukoz kotransporter-2 reseptörlerinde sentezin arttığı net bir şekilde tespit edilmese de renal glukoz

emiliminden sorumlu olduğu bilinmektedir. Kan glukoz düzeyinin yükseldiği zamanlarda SGLT-2 ile glukozun emilim oranında yaklaşık %25'ten fazla artış olmaktadır. SGLT-2 reseptörleri inhibe edilirse doğal olarak idrarla atılan yaklaşık 65-75 gram/gün civarı olur. Bu nedenle SGLT-2 inhibitörleri kan glukoz seviyesinde düzenleyici bir etkiye sahiptir (74,75).

Renal filtrasyonla böbreklerde elde edilen ultrafiltrat içindeki glukoz çoğunlukla proksimal tübüllerden geri emilse de distal tübüllerde SGLT-1 reseptör aracılı emilim de olmaktadır. SGLT -2 inhibitörleri ile proksimal tübüllerden emilemeyen glukoz distal tübüllere daha çok geleceği için var olan reseptörlerden daha çok emilir. Dolayısı ile SGLT-2 inhibisyonu ile ancak yüzde 35-50 civarı kadar şeker geri emilimi engellenebilir (76).



Şekil 2.2. Sodyum-Glukoz Kotransporter-1,2 (Sgl-1, Sgl-2) İlişkili Böbrek Glukoz Emilimi (77)

## **SGLT-2 in Renal, Kardiyak ve Lipid Profili Üzerindeki Olumlu Etkileri**

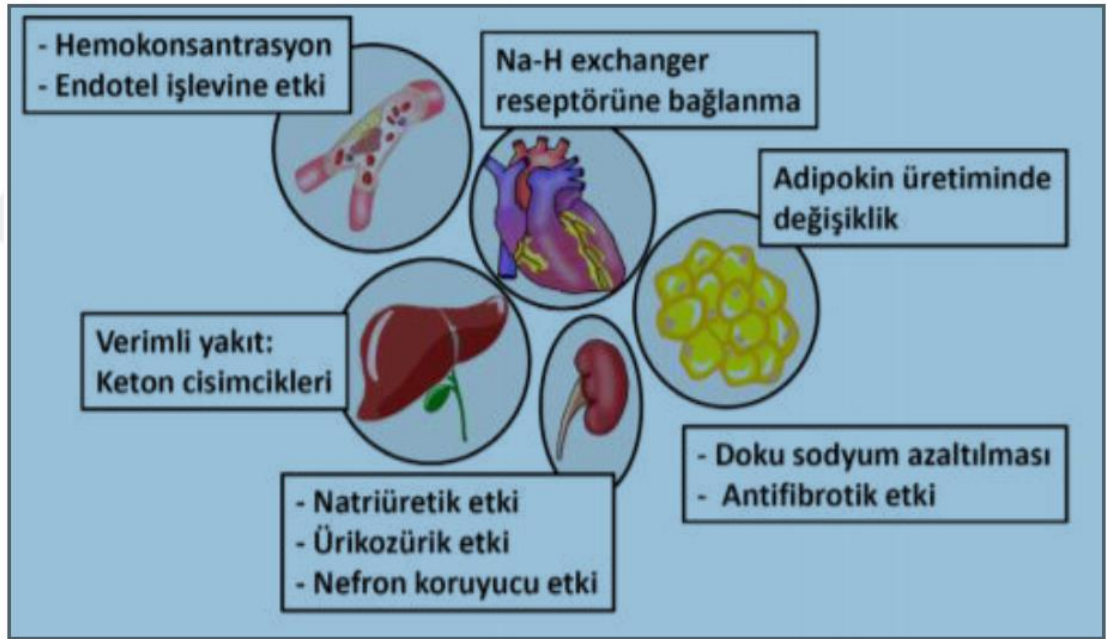
Bu sodyum-glukoz kotransporter-2 reseptör aracılı inhibisyon ile plazma glisemik etkisi dışında da vücutta birçok sistemik etkisi vardır. Ozmotik diürez yapması sebebi ile idrarda glukoz atılımı artırarak aynı zamanda idrarla enerji yani kalori kaybı da olmaktadır. SGLT-2 inhibitörleri ile vücuttan atılan şeker oranı arttıkça vücutta lipid aracılı enerji üretiminde de artma sağlanır. Aynı zamanda diürez ile ozmotik sıvı atılımını da artırarak kilo kaybı ve kan basıncını düşürücü etkisi vardır. Bu sebeple şeker hastalığı üzerinde multifaktöryel etki ederek regüle olmasına katkı sağlamaktadır (78).

Yukarı paragrafta anlatıldığı üzere ozmotik idrar atılımı volüm kaybında artış yaparak sistemik kan basıncında azalma olur. Sistemik kan basıncında azalma olduğundan glomerül içi basınç da düşer, aynı zamanda glomerül filtrasyon hızında bir miktar düşüş yaparak mikroalbumüride de azalma sağlar. Glomerüler filtrasyon hızında azalma genelde tedaviye başladıktan sonraki ilk birkaç haftada olur ve sonrasında ilerleme kaydetmez. Bu ilaçların intraglomerül basınç ve mikroalbuminüride azalma yapması glisemik etkisinden bağımsız renal koruyucu etkiler olarak kabul edilir. Diğer bir renal koruyucu etkisi ise tübüllerdeki glukozun reabsorbe olmasını engelleyerek tübüllerdeki fazla glukoz olmasını önler, glukotoksisiteyi azaltır ve diyabetik nefropatinin önlenmesinde etkili olur (79-80).

Proksimal tübüldeki sodyum ve glukoz reabsorbsiyonundaki inhibe edici özelliği sebebi ile natriürez etkili olup volüm kaybındaki artış ile kan basıncında azalma yaptığı bilinmektedir. Kan basıncının düşürülmesi ise kalp hastalıkları üzerinde doğrudan etkili olduğu bilinen bir gerçektir. Sistemik kan basıncındaki azalma ve diürez ile kalp yetmezliğinin önlenmesinde belirli bir etkisi bilinmektedir. Tedaviye başladıktan yaklaşık olarak 6 ay kadar süre sonra kalp yetmezliği üzerindeki faydaları gösterilmiştir (81).

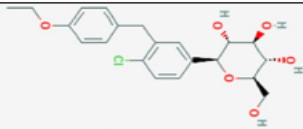
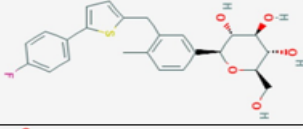
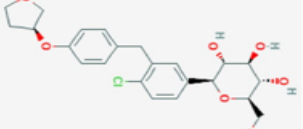
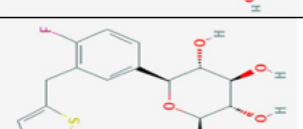
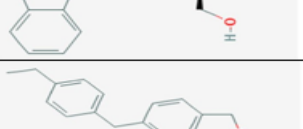
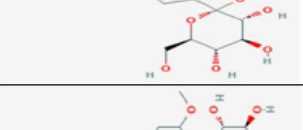

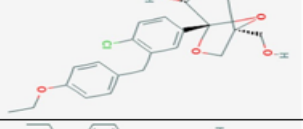
Lipid dağılımı üzerinde aterosjiniteyi azaltıcı yönde net pozitif etkisi vardır. High Density Lipoprotein (HDL) artırıcı ve trigliserid düzeyinde azalış yaparak etki göstermektedirler (83).

Tübüllerde ürik asit emiliminde görev alan UrateTransporter -1 (URAT-1) ile SGLT-2 koordineli işlev görür. Eğer SGLT-2 inhibisyonu yapılırsa doğal olarak URAT-1 reseptörleri de inaktive olur ve proksimal tübüllerde ürik asit reabsorbsiyonu azalarak renal ürik asit eksrasyonu artar ve ürikozirik etki ortaya çıkar. Ürik asit Urat Transporter-1 üzerinden laktik asit ve keton gibi anyon özellikli maddeler ile değişim şeklinde resorbe olur. Eğer bu reseptör inhibe olursa keton ve laktat emilimi de plazma da artmış olur ve ürik asit ise plazma düzeyi azalmaktadır (84).



**Şekil 2.3.** SGLT-2 İnhibitörlerinin Farklı Mekanizmalar Aracılı Kardiyoprotektif Etkisi (82)

**Tablo 2.6.** SGLT-2 İnhibitörlerinin Yapısal Farklılıkları, Dozajı ve Atılım Mekanizması (85).

<u>İlac</u>	<u>Üretici</u>	<u>Doz</u>	<u>Yapısı</u>	<u>Yarılanma Ömrü(saat)</u>	<u>Atılımı</u>
<u>Dapagliflozin</u>	AstraZeneca	5 ve 10 mg		12.2	75% idrar 21% feçes
<u>Kanagliflozin</u>	Janssen	100 ve 300 mg		11 - 13	52% feçes 33% idrar
<u>Empagliflozin</u>	Boehringer Ingelheim	10 ve 25 mg		12.4	54% idrar 41% feçes
<u>Ipragliflozin</u>	Astellas Pharma Kotobuki Pharmaceutical	25 ve 50 mg		10 - 13	68% idrar 32% feçes
<u>Tofogliflozin</u>	Apleway Deberza	20 mg		6.8	77% idrar 22% feçes
<u>Luseogliflozin</u>	Lusefi	2.5 ve 5 mg		10 - 12	Rapor edilmemiş
<u>Ertugliflozin</u>	Merck	n/a		11 - 17	50% idrar 41% feçes
<u>Sotagliflozin</u>	Sanofi	n/a		29	Rapor edilmemiş

Bunlardan üçü kanagliflozin, dapagliflozin ve empagliflozin Avrupa ve ABD klinik olarak ruhsatlandırılmıştır.

Ülkemizde ise dapagliflozin ve empagliflozin klinik kullanımı için ruhsat almıştır. Japonya da luseogliflozin, tofugliflozin, ipragliflozin klinik kullanımı vardır. Kombine SGLT-2/SGLT-1 inhibitörü olan sotigliflozin ve ertugliflozin üzerinde ise hala çalışmalar devam etmektedir.

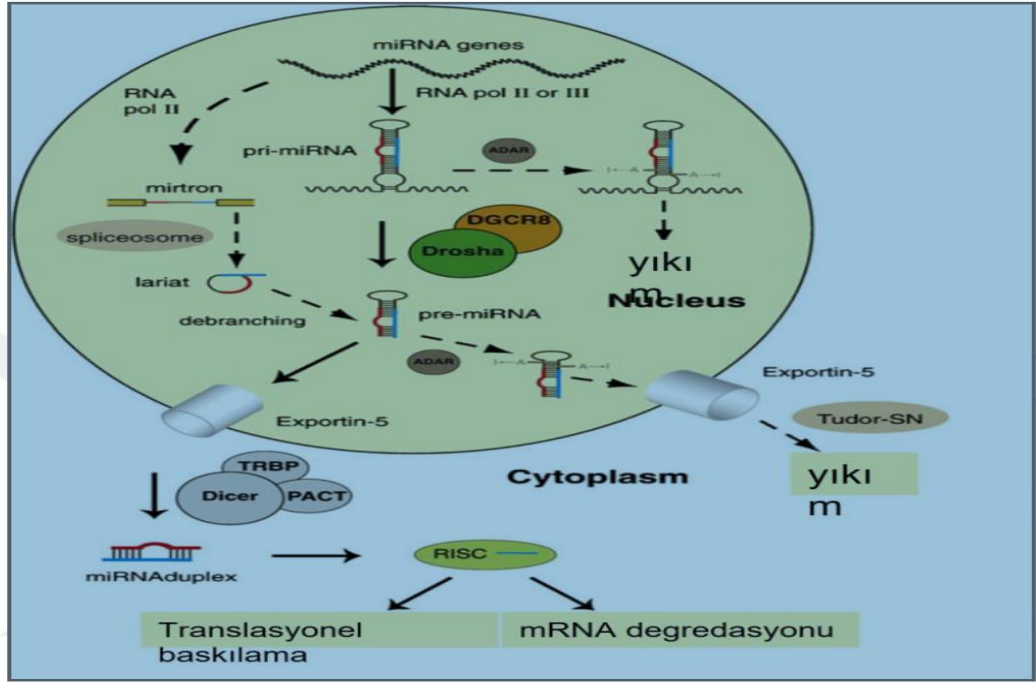
SGLT-2 inhibitörleri ile yapılan çalışmalarda böbrek üzerinde farklı mekanizmalar üzerinden protektif etkisi gözlenmiştir. Bu mekanizmalar böbrekteki fibrozisi, inflamasyonu baskılayarak ya da oksidatif etkiyi azaltarak yaptığı düşünülmektedir. Sodyum glukoz kotransporter-2 inhibitörleri ile yapılan bir çalışmada oksidatif etki parametrelerinin düştüğü saptanmıştır (86-88).

Amerikan Nefroloji Derneği'nin 2017 yılında yaptığı bir bildiri de beş altı haftalık dapaglifozin kullanan hastalarda MCP-1 ve IL-6'nın idrardaki seviyesini düşürdüğü bildirilmiştir (89).

## **2.2. MikroRNA Sentez Süreci Tipleri ve Hastalıklar Arasındaki İlişkisi**

Son yıllarda başka bir genetik düzeyde hastalıklarla ilişkisi saptanan (diyabet, diğer metabolik hastalıklar, onkolojik hastalıklar, tiroid hastalıkları vb.) miRNA ile ilgili çalışmalarda artış yaşanmaktadır (5). miRNA'lar boyutları diğer ana RNA moleküllerinden kısadır ve kodlama özelliği de bulunmamaktadır. İnsanlarda 1000'nin üstünde miRNA tanımlanmıştır. Vücutta her bölgede ve organda farklı oranlarda mevcuttur. Bu miRNA'lar ise yaklaşık olarak insan genomunun yarısının çalışmasını organize etmektedir (90). Bu küçük RNA parçacıkları haberci RNA üzerinde uyarıcı etki yaparak etki gösterir ya da mikromanın post transkripsiyonel farklı bir şekilde inhibe ederek vücutta etkilerini gösterirler (91).

Mikromna'lar genlerden, önce RNA polimeraz II tarafından prekürsör şeklinde üretilip (pri-miRNA) belli aşamalardan geçtikten sonra son yapısını kazanır. Bu prekürsormikroRNA şekil 4'de anlatıldığı üzere parçası bir RNaz III olan Drosha tarafından 5' ve 3' uçlardan kesilerek pre mikromna oluşur ve oluşan pre-miRNA protein aracılı yol ile çekirdekte sitoplazmaya geçer ve orada Dicer-TRBP (RNA bağlayıcı protein) ile birleşir ve üretilecek miRNA'nın boyutunun belirlenmesi sağlanır. Kesim işlemleri yapılarak mikroRNA'lar son halini alır. Oluşan mikroRNA'lar RISC kompleksi ile mesajcı RNA'yı parçalanmasına neden olarak protein sentezinin ilk aşaması olan translasyona engel olur (92).



**Şekil 2.4.** miRNA Sentez Süreci ve İşlevi

Birçok çalışmada farklı miRNA'ların hastalıklar üzerindeki etkisi araştırılmaya başlanmıştır. Bunlardan son zamanlarda araştırmaların yoğunlaştırıldığı mikroRNA'lardan miR-21 kalp hastalıklarında yüksek tansiyon ve malignite ile ilişkisi gösterilmiş ve hastalığın gidişatında ve tanısında yeni bir biyobelirteç olarak ortaya çıkmaktadır (93).

miRNA-9, hücrel ölüm programlanması, bölünmesi, hücrelerin anormal çoğalması ve metastazı ile ilişkili genom üzerinde etkisi mevcuttur. Anormal miRNA-9 salınımı bu yollar üzerinden onkogenik hastalıkların ortaya çıkmasında rolü olduğu gösterilmiştir (94).

Onkolojik hastalıklarla ilgili miRNA'lar 2'ye ayrılmaktadır. Kanserin gelişimine katkı sağlayan onkomiRNA'lar bunlar hücre bölünmesini uyararak onkogeneze katkı sağlar ve diğer kategori ise tümör süpresör miRNA'lardır. Bunlar ise apoptozis mekanizmasını devreye sokarak kanserin oluşmasında engelleyici faktör olarak rol oynamaktadır. Ancak bazı mikro RNA'lar farklı kanserlerde farklı özellikte olabilmektedir. Bir kısmında onkogenik rol alırken bir kısmında ts-miR özellikte

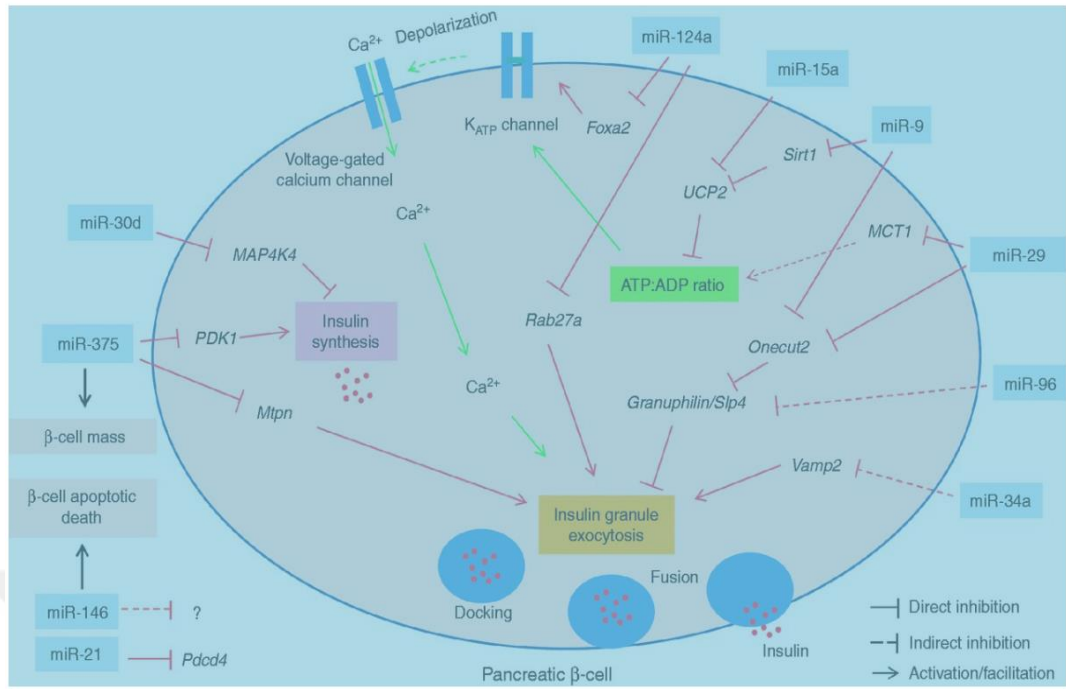
olabilmektedirler. Başka bir mirna ise hormonal yollarda değişiklik yaparak ergenlik çağında gecikmeye neden olan let 7 mi-RNA dır (95-96).

### **2.2.1. Diabetes Mellitus ile İlişkili miRNA'lar**

Şu ana kadar tanımlanan binlerce miRNA arasından metabolizma hastalıkları ve diyabet ile küçük bir kısım ilişkilendirilmiştir. Pankreas endokrin adacıklarından fazlaca üretilen miR-375 miyotrofin ile ilişkili insülin salgılanmasının düzenlenmesinde rol oynar. Mtpn ile ilişiği muhtemel diğer mikroRNA'lar ise let -7b ve miRNA-124a dır (97-99).

Gün geçtikçe daha çok miRNA ile tip 2 diabetesmellitus arasında bağıntılar ortaya çıkmaktadır. İnsülin salınımı üzerinde çalışma yapılmış mikroRNA'lardan bazıları miR-34a, miR-195, miR-9, mir-96, miR-375 ve miR-124a dır (100,101).

İnsülin plazma glukoz dağılımlında önemli rol oynar. Bunu reseptörlerine bağlanarak özellikle çevre dokularda karaciğer, kas, yağ dokusu gibi hücrelerin içine glukoz alımı ve kullanımında artış yaparak metabolizmasına katkı sağlar ve kan plazma glukozunda düzenleyici etkiye sahiptir. İnsülin üretimindeki eksiklik tip 1 ve tip 2 diabetesmellitus arasındaki temel faktördür. Bahsettiğimiz küçük moleküllu RNA parçacıkları ise birçok yolla bu duruma etki eder. MikroRNA'lar insülin sentez ve insülin granüllerinin salgılanması, endokrin adacıklarındaki hücrelerinin zarlarının ADP ve ATP oranını değiştirerek elektriksel olarak uyarılması, pankreas organında kitlesel yapıların oluşması gibi olaylara aracı moleküllerdir (102).



**Şekil 2.5.** Hücrelerdeki İnsülin Sekresyonu ve miRNA'lar Arasındaki ilişki (102)

Bu mikro RNA'lardan bazılarını aşağıda plazma glukozuna ve insülin salınımına nasıl etkiledikleri belirtilmektedir. miR-15a, UCP-2 ile yakından ilişkilidir. Glukoz ile hücrelerin aşırı uyarılması miRNA 15a düzeyini azaltarak UCP-2 artışı yapmaktadır ve doğrudan pankreas B hücreleri ile ilişkili ADP/ATP oranını artırarak ve insülin salgılanmasını baskılamaktadır (103). miR-375 fosfoinositid bağımlı kinaz-1 (PDK1) glukoz aracılı insülin ile alakalı genlerin sentezini ve protein üretimini azaltır (104). Pankreasın B-hücrelerinde üretimi yapılan bu mikroRNA tipi insülin granül salgısında düzenleyici faktör olan miyotrofini azaltarak karbonhidrat bağımlı insülin salınımı yavaşlatmaktadır (97). Aynı zamanda pankreas endokrin alfa ve beta hücrelerinin yapım aşamasında ve korunmasında önemli rol oynar (105). miR-30d insülin transkripsiyon faktörünü engelleyerek etki eden MAP4K'i (monokarboksilat taşıyıcı-1) etkileyerek pankreas dokusunda insülin eksprese edilmesini uyarır (106).

### 2.2.1.1. Diyabetik Nefropati ile İlişkili miRNA'lar

miR-21'in hücrede sentezinin azalması sonucu renal mezengial hücrelerindeki kollajenler ile ilişkili TGF-beta'nın birikmesine sebep olur ve transforme edici büyüme faktörünün sinyalizasyonunu baskılar ve renal fibrozis ile ilişkilidir (107,108).

miRNA-126'nin kandaki düzeyinin düşmesi ise mikrovasküler düzeyde hasar oluşturarak nefropatiye katkıda bulunur (109). miR-192'nin renal üretiminin artması sonucu bir dizi sinyal reseptör aracılı mekanizma ile Colla2'yi genetik düzeyde sentez artışı olur ve kollajenler böbrekte birikmesine sebep olur. Renal fibrosizin ileri derecede artması sonucunda ise TGF-beta'ya cevap olarak mikroRNA 192'nin ekspresyonunda düşme olur. Dolayısı ile GFR düşüşü ve fibrozisin artması ile miR-192'nin azalması arasında orantılı bir ilişki doğar (110,111). miRNA-29'da nefropati ile ilişkili başka bir belirteçtir ve sklerozis de önemli rol oynayan TGF-B üzerinden etki gösterir (112). miRNA-320c transforme edici büyüme faktör sinyalizasyonunda aracı rol oynayan TSP-I (trombospondin-I) artışı üzerinden nefropatiyi etkileyen önemli olan belirteçlerindendir ve nefropatide dolaşımdaki oranı fazla görülür (113).

Kanda bulunan miRNA dağılımı bazı hastalıklarda özgülüğü yüksektir. miRNA-208a'nın miyokard enfarktüsünde 100% özgülüğe sahiptir. miR-375'in hepatosellüler kanserde yüzde 100 duyarlılık ve yüzde 96 özgülükle tespit ettiği gösterilmiş, anlaşılması üzere miRNA'lar hastalıklarda biyobelirteç olarak önemli bir role sahiptir (114). Diabetes mellitus ile ilgili biyobelirteç özelliği olabilecek miRNA ile ilgili çalışmalarda yapılmıştır (115).

Tip 1 diyabeti olan çocuklarda yapılan çalışmada miR-27a, miR-27b, miR-148a, miR-24, miR-152, miR-29a, miR-25, miR-26a, vb. serum mikroRNA'larında yükselme gösterildiği, bunlardan miR-25a'nın ise hbA1c seviyesi ile pozitif korelasyon ilişkisi gösterdiği saptanmıştır (116).

Tip 2 diyabetin teşhisi ile alakalı miRNA'lar ile yapılan meta analizde 6 miRNA artışı saptanmış, 4 miRNA da ise azalma saptandığı gösterilmiştir. Artan mikroRNA'lar: miR-320a, miR-142-3p, miR-222, miR-29a, miR-27a ve miR-375dir. Azalan miRNA'lar ise: miR-197, miR-20b, miR-17 ve miR-652'dir (117). Serum miR-23a biyobelirteç olarak özellikle tip 2 diyabet hastalarının erken tespiti yönündeki çalışmalar mevcuttur (118).

Gestasyonel diyabette ise miR-29a, miR-222 ve miR-132 %60 oranında özgülük ve duyarlılık ile hastalığın tahmininde rol oynamaktadır (119).

**Tablo 2.7. Diyabetik Nefropati’de Rol Oynayan miRNA’lar (120)**

<u>miRNA’lar</u>	<u>Hedefler</u>	<u>Diyabetik nefropatide yer alan mekanizma</u>	<u>Model</u>
miRNA-29 miRNA-29b miRNA-29c	FBN1, ELN1, MMP2 ITGB1, Col1, Col4 SPRY1	*Mezengiyal hücrelerde kollajenin TGF- $\beta$ /SMAD3’e bağlı olarak artar. *Mikroalbuminüri, renal fibroz (TGF- $\beta$ ) ve inflamasyon (NF- $\kappa$ B). *Bu miRNA’ların normal veya aşırı ekspresyonu albuminüri ve ECM’yi azaltır.	TGF- $\beta$ /SMAD3 -bağımlı, IFN $\alpha$ , NF- $\kappa$ B (insan ve db/db fare)
miRNA-200a/b/c	ZEB1/2, TGF $\beta$ 2, $\beta$ -katenin, FOG	*Sıçan proksimal tübüler epitelyal hücrelerde (NRK52E), TGF- $\beta$ 1 ve TGF- $\beta$ 2’nin uzun süre ve yüksek düzeyde olması, epitelyal mezengiyal geçisi (EMT) ve fibrogenezi uyarır. *miRNA-200 ekspresyon artışı TGF- $\beta$ 1 ve TGF- $\beta$ 2 ekspresyonunu artırır. *Bu miRNA’nın artışı TGF- $\beta$ 2, proliferasyon, Col1, Col4’ü azaltır.	TGF- $\beta$ 1 ve $\beta$ 2, ECH- ilişkili protein1/ NFE2 ilişkili faktör 2 (STZ fare ve MMC’lerde artma)
miRNA-192	$\delta$ EF1 and SIP1	*Mezengiyal hücrelerde TGF- $\beta$ ekspresyonu artar. *Col1 $\alpha$ 1 and Col1 $\alpha$ 2 artışı, TGF- $\beta$ 1’i artırır.	TGF- $\beta$ 1, ZEB1/2, kollajen (STZ diyabetik farede C57’i uyarır. db/db tip 2 diyabetik fare)
miRNA-195	Sirtuin1(Sirt1), SiklinE1, BCL2	*B-hücreli lenfoma 2 (BCL2) protein düzeyi azalır. *Podosit hücrelerinde kaspaz-3 aktivasyonu artar.	B-cell, Kaspaz-8, kaspaz-3 (STZ ile uyarılmış tip 1 fare, podosit kültürü)

miRNA-124	INTEGRIN $\alpha$ 3 $\beta$ 1	* <u>Mekanik stres altında podosit adezyon hasarı olur.</u> * <u>İdrar podositik nefrin, podosit ve albumin atılımı artar.</u>	<u>Glomerüler bazal membran(GBM), podosit (Diyabetik sıçan)</u>
miRNA-1207-5p		* <u>TGF-<math>\beta</math>1, PAI-1 ve FN1 artar.</u>	<u>TGF-<math>\beta</math>1, podositler, (podosit ve mezengiyal hücre kültürü, diyabetik fare)</u>
miRNA-21	<u>Akt fosforilasyonu, SMAD7, TGF- <math>\beta</math>1, tissue inhibitors of metalloproteinase 3 (TIMP3)</u>	* <u>miRNA-21'in TGF-<math>\beta</math>1'yi artırması fibrozisin şiddeti ile pozitif korelasyon gösterir.</u> * <u>TIMP'lerin düzenlenir.</u> * <u>Akt fosforilasyonu.</u>	<u>[TGF-<math>\beta</math>1, renal hücreler (db/db fare, STZ-fare, plazmid ve renal biyopsi)</u>
miRNA-377	PAK1, <u>MnSOD</u>	* <u>P21 aktive edilmiş kinaz ve süperoksit dismutaz baskılanır.</u> * <u>FN ekspresyonu artar.</u>	<u>Böbrek (diyabetik fare)</u>
miRNA-93	VEGF-A	* <u>VEGF ekspresyonunun artması</u> * <u>Diyabetlilerde normal miR-93 ekspresyonu VEGF ekspresyonunun engeller.</u>	<u>Böbrek (Endotelial hücreler, db/db fare and renal hücre kültürü)</u>
miRNA-216a	<u>PTEN tümör supresyon gen, RNA- binding protein YB-1</u>	* <u>Col1<math>\alpha</math>2 ekspresyonu artar.</u> * <u>Hücre fizyolojisi ve biyokimya süreçlerini etkiler.</u> * <u>Hipertrofi</u>	<u>Mezengiyal hücreler, TGF-<math>\beta</math>1 (renal hücre kültürü ve diyabetik fare)</u>

### 3. MATERYAL ve YÖNTEM

#### 3.1. Materyal

##### 3.1.1. Kullanılan Kimyasallar;

- Total miRNA izolasyon kiti (PureLink)
- Komplementer DNA (cDNA) izolasyon kiti (ID3EAL)
- miRNA qPCRmaster mix (ID3EAL)
- Referans Gen Primerleri (ID3EAL)
- Hedef miRNA Primerleri (ID3EAL)
- ddH<sub>2</sub>O (DNase-RNase içermeyen H<sub>2</sub>O)

##### 3.1.2. Kullanılan Cihazlar ve Laboratuvar Araçları;

- Santrifüj ve Mikrosantrifüj (ThermoScientific)
- Real Time PCR Cihazı (Rotor-Gene Q)
- ThermalCycler (MiniAmpplus)
- Spektrofotometre (NanoDrop 2000)
- Vorteks Karıştırıcı
- Mikrosantrifüj tüpleri (1,5 ml, 2 ml)
- Mikropipet seti ve steril filtreli mikropipet uçları
- Derin Dondurucu (-80°C)

## 3.2. Yöntem

### 3.2.1. Çalışma Grubu

Mevcut çalışmada Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Genel Dahiliye Bilim Dalı'nda tip 2 diabetes mellitus tanısıyla takip edilen 435 hasta çalışma kapsamında incelenmiştir. Tip 2 diabetes mellitus nedeniyle yerel sağlık otoriteleri tarafından onaylanmış medikal tedavilerini rutin kullanan ve ek hastalığı olmayan hastalardan dapagliflozin tedavisi alan ve retrospektif veri incelemelerinde ilacı kullanmaya başladığı gün (0.gün) ve dapagliflozin tedavisinin ortalama 60. güne denk gelen dönemde kontrol muayenelerine elde edilmiş ve klinikte muhafaza edilmiş kan numuneleri bulunan 47 diyabetik nefropatili hasta çalışmaya alınmıştır.

Çalışmaya dahil edilme kriterleri 15-65 yaş arasında olmak, 2022 Amerikan Diyabet Cemiyeti tanı kriterlerine göre tip 2 diyabet tanısı olmak, tip 2 DM dışında sistemik ve metabolik bir hastalığının olmaması, glukokortikoid gibi glisemik parametreleri etkileyebilecek bir ilaç kullanmıyor olmak ve anjiyotensin dönüştürücü enzim inhibitörü veya anjiyotensin reseptör blokerleri gibi üriner albümin atılımını engelleyebilecek bir ilaç kullanmıyor olmaktır. En az 3 ay süreyle albüminüresi olan diyabetik hastalar diyabetik nefropati olarak kabul edildi. Daha önce gerekli izin ve etik kurul izinleri alınarak yapılan çalışmalardan -80°C'de muhafaza edilen kan numuneleri incelenmiştir. Çalışma kapsamında Gaziantep Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan 2022/315 nolu etik kurul izni alınmıştır.

Çalışma kapsamında 0.gün ve 60. gün verileri 2 grup şeklinde karşılaştırılmıştır. Olguların yaş, cinsiyet, mikro ile makro vasküler komplikasyon durumları, biyokimyasal parametreler, tam kan sayımı, hemoglobin A1c düzeyi, tam idrar analizi, idrarda mikrototal protein, idrarda kreatinin düzeyi ve idrarda mikroalbüminüri düzeyleri retrospektif olarak hasta dosyalarının taranmasıyla elde edilmiştir.

### 3.2.2. Çalışma Örneklerinin Elde Edilmesi

Kliniğimizde daha önceki çalışmalar kapsamında incelenen kan numuneleri hastalardan ortalama 3 mL Etilen Diamin Tetra Asetik Asit (EDTA)'li kan tüplerine alındıktan sonra, 4°C'de 1.000 x g'de 10 dakika süreyle santrifüj edilmiştir. Elde

edilen plazma, lökosit tabakasından dikkatle ayrıştırılarak başka bir mikro tüp içine transfer edilmiştir. Çökeltiye 1 mL Red Blood Cell LysisBuffer (RBL) ilave edilerek kırmızı kan hücreleri ortamdandan uzaklaştırıldı. 825 x g'de 5 dakika santrifüj edildikten sonra süpernatant atılıp, dolaşan miRNA'ları izole etmek için, plazma 1000 x g, 4°C'de 10 dakika tekrar santrifüj edildi. Son aşamada plazma toplanıp -80 °C'de muhafaza edilmiştir.

### 3.2.3. miRNA İzolasyonu

miRNA ekstraksiyonu için PureLink® RNA Mini Kit kullanılarak üretici firmanın izolasyon protokolüne göre gerçekleştirildi. Her bir serum örneğinden elde edilen total miRNA'nın saflık tayini ve konsantrasyonu "NanoDrop 2000 Spectrophotometer" cihazı ile ölçüldü.

miRNA İzolasyon Protokolü;

- 1) Bir hacim serum örneğine (800 µl), 2-merkaptotanol ile hazırlanmış bir hacim (800 µl) liziz tamponu eklendi ve ardından aynı hacimde %96-100 etanol (800 µl) eklendi. Sonrasında iyice pipetaj yapıldı.
- 2) Bir döndürme kolonuna (Toplama Tüpü ile) 700 µl kadar numune aktarıldı.
- 3) Oda sıcaklığında 15 saniye boyunca 12.000 × g'de santrifüj edildi. Kolonun altında bulunan toplama tüpünde biriken sıvı boşaltıldı.
- 4) Tüm numune işlenene kadar 3. ve 4. adımlar tekrarlandı.
- 5) Döndürme tüpüne 700 µL yıkama tamponu I eklendi. Oda sıcaklığında 15 saniye boyunca 12.000 × g'de santrifüj edildi. Kolonun altında bulunan toplama tüpünde biriken sıvı boşaltıldı.
- 6) Döndürme tüpüne 500 µL yıkama tamponu II eklendi. Oda sıcaklığında 15 saniye boyunca 12.000 × g'de santrifüj edildi. Kolonun altında bulunan toplama tüpünde biriken sıvı boşaltıldı.

7) Tekrar döndürme tüpüne 500 µL yıkama tamponu II eklendi. Oda sıcaklığında 15 saniye boyunca 12.000 × g'de santrifüj edildi. Kolonun altında bulunan toplama tüpünde biriken sıvı boşaltıldı.

8) Döndürme tüpüne hiçbir şey ekmeden oda sıcaklığında 1 dakika boyunca 12.000×g'de santrifüj edildi. Toplama tüpü atıldı ve döndürme tüpü yeni bir 1,5 ml'lik santrifüj tüpüne yerleştirildi.

9) Döndürme tüpünün merkezine 20 µL RNase içermeyen su eklendi.

10) Oda sıcaklığında 1 dakika inkübe edildi.

11) Santrifüj tüpüne yerleştirilmiş döndürme tüpü oda sıcaklığında  $\geq 12.000 \times g$ 'de 2 dakika santrifüj edildi.

12) 1,5 ml'lik santrifüj tüpünün içerisinde miRNA elde edildi.

13) Elde edilen miRNA'lar -80 °C'de saklandı.

Bu çalışma 3 kez tekrarlandı.

#### **3.2.4. cDNA Eldesi**

Elde edilen miRNA'dan cDNA eldesi için ID3EAL cDNA Synthesis kiti içeriğinde yer alan bileşenler her bir örnek için Tablo 8'e göre son hacim 20 µl olacak şekilde hazırlandı.

**Tablo 3.1.** cDNA eldesi için bileşenlerin hacimleri

<b>Bileşenler</b>	<b>Hacim</b>
RNA	5 µl
ID3EAL RT Buffer(4x)	5 µl
ID3EAL ReverseTranscriptase (20x)	1 µl
ID3EAL RT Primer 1-plex 1 (20x)	1 µl
ID3EAL RT Primer 2-plex 1 (20x)	1 µl
ID3EAL RT Primer 3-plex 1 (20x)	1 µl
ID3EAL RT Primer 4-plex 1 (20x)	1 µl
ID3EAL RT Primer 5-plex 1 (20x)	1 µl
ID3EAL RT Primer 6-plex 1 (20x)	1 µl
ID3EAL RT Primer 7-plex 1 (20x)	1 µl
RNase-Free H2O	2 µl
<b>Toplam</b>	<b>20 µl</b>

Yapılan bu işlemlerin ardından ticari kit çalışma protokolüne uygun olarak termal cycler cihazında Tablo 9’da belirtilen ısı protokolü uygulanarak cDNA’lar elde edildi.

**Tablo 3.2.** PCR cihazı cDNA ısı protokolü

<b>Sıcaklık (°C)</b>	<b>Zaman</b>
42	30 dk
95	5 dk

PCR’den sonra hazır olan cDNA’lar -20°C’ye kaldırıldı.

### 3.2.5. Real Time PCR ile miRNA Analizi

Elde edilen cDNA'lar 1:10 oranında seyreltilmiştir. cDNA'ların referans gen açısından amplifikasyonunu sağlamak ve ilgili bölgeleri işaretlemek amacıyla ID3EAL miRNA qPCR System kiti üretici firmanın protokolü doğrultusunda Tablo 10'da belirtilen şekilde uygulanarak hazırlandı.

**Tablo 3.3.** Çalışma protokolü mix eldesi

Bileşenler	Hacim
ID3EAL qPCR Master Mix (2x)	10 µl
ID3EAL qPCR Primer (10x)	2 µl
RNaziçermeyensu	3 µl
Seyreltilmiş cDNA	5 µl
<b>Toplam hacim</b>	<b>20 µl</b>

Yukarıdaki tabloda gösterilen şekilde her miRNA primeri için 7 kez bu mix hazırlandı. Hazırlanan referans gen Real Time PCR mixleri ve hedef gen Real Time PCR mixleri uygun cDNA'lar ile Rotor-Gene Q (Qiagen) cihazına yüklendi. Tablo 11'de Real Time PCR ısı protokolü uygulanarak miRNA ekspresyon düzeyleri belirlendi.

**Tablo 3.4.** Real Time PCR ısı protokolü

Sıcaklık (°C)	Zaman
95	10 dk
40	5 dk
95	10 sn
60	30 sn

Bu döngü 40 kez tekrarlanır.

Serum örneklerinde ekspresyon değişimlerini araştırdığımız miRNA'lar ve primer dizileri Tablo 12'de yer almaktadır. Bu çalışmada referans gen olarak hsa\_RNU6-1 kullanılmıştır.

**Tablo 3.5.** hsa-RNU6-1, hsa\_miR-21-3p, hsa-miR-141-3p ve hsa-miR-377-3p miRNA'larının primer dizileri

hsa_RNU6-1 (housekeeping gen)	GTGCTCGCTTCGGCAGCACATATACTAAAATTGGAACG ATACAGAGAAGATTAGCATGGCCCCTGCGCAAGGATGA CACGCAAAT TCGTGAAGCGTTCCATATTTT
hsa_miR-21-3p	CAACACCAGUCGAUGGGCUGU
hsa-miR-141-3p	UAACACUGUCUGGUAAAGAUGG
hsa-miR-377-3p	AUCACACAAAGGCAACUUUUGU

### 3.2.6. İstatiksel Analiz

Bu çalışmada değişkenlerin normal dağılıma uygunluğu histogramlar, varyasyon katsayıları, çarpıklık, keskinlik, trendden çıkmış normallik grafiği ve Kolmogorov-Smirnov testi kullanılarak değerlendirilmiştir. Normal dağılmayan değişkenlerin 2 farklı zamanda karşılaştırılmasında Wilcoxon testi kullanılmıştır. Sayısal değişkenler arasındaki ilişkiler, Spearman rank korelasyon testi ile test edilmiştir. Analizlerde SPSS for Windows 22 programı kullanılmış p değerinin <0.05 olması istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

#### 4. BULGULAR

Çalışmaya dahil edilen 47 hastanın 25'İ (%53.2) erkek, 22'sİ (%46.8) kadındır (Tablo 13). Çalışmaya katılan 47 hastanın yaş ortalamaları  $54.09 \pm 8.48$  olup, medyan değeri 57'dir.

Çalışma hastalarının vücut kitle indeksi ortalaması  $25.74 \pm 0.40$  olup medyan değeri 25.6'dır. 47 hastanın sistolik kan basıncı ortalaması  $124.38 \pm 2.56$  olup medyan değeri 124'tür. Diyastolik kan basıncı ortalaması  $75.11 \pm 2.71$  olarak tespit edilmiş ve medyan değeri 75 saptanmıştır (Tablo 13).

Çalışma popülasyonunun HOMA indeks ortalaması  $3.81 \pm 0.9$  olarak saptanmış olup medyan değeri 3.82'dir. Hastaların diyabet süresi ortalaması  $2.60 \pm 1.01$  olup medyan değeri 2'dir.

**Tablo 4.1.** Genel tanımlayıcı istatistiklerin ortalama ve medyan değerleri

Tanımlayıcı özellikler	Tanımlayıcı istatistikler (n=47)		
	N/%	Ortalama $\pm$ SS	Medyan (Min-Max)
<b>Cinsiyet</b>			
Erkek	25/53.2		
Kadın	22/46.8		
<b>Yaş (yıl)</b>		$54.09 \pm 8.48$	57 (37-73)
<b>VKİ (kg/m<sup>2</sup>)</b>		$25.74 \pm 0.40$	25.6(25-26.7)
<b>Sistolik Kan Basıncı (mmHg)</b>		$124.38 \pm 2.56$	124(120-129)
<b>Diyastolik Kan Basıncı (mmHg)</b>		$75.11 \pm 2.71$	75(71-85)
<b>HOMA İndeksi</b>		$3.81 \pm 0.9$	3.82(3.62-3.96)
<b>DM Süresi (yıl)</b>		$2.60 \pm 1.01$	2(1-5)

**Tablo 4.2.:** Dapagliflozin tedavisinin 0 ve 60.günlerinde tespit edilen laboratuvar bulguları

	0.Gün		60.Gün		<i>p</i>
	Ortalama±SS	Medyan (Min- Max)	Ortalama±SS	Medyan (Min- Max)	
<b>Glukoz</b> (mg/dL)	224.42±105.63	2717(100- 534)	151.34±40.94	143(91- 248)	<0.01
<b>Kreatinin</b> (mg/dL)	0.67±0.15	0.66(0.46- 1.14)	0.75±0.14	0.76(0.48- 1.12)	<0.01
<b>Sodyum</b> (mmol/L)	137.8±4.05	139(128- 143)	138.63±2.51	139(132- 143)	0.041
<b>Potasyum</b> (mmol/L)	4.46±0.33	4.50(3.7- 5.10)	4.44±0.45	4.5(3.24- 5.40)	0.546
<b>HbA1c</b> (%)	9.85±1.83	10.20(6.8- 13.2)	7.84±1.37	7.4(6- 10.5)	<0.01
<b>HDL</b> (mg/dL)	47.70±9.02	51(32-67)	49.32±7.72	50(31-71)	0.843
<b>Total kolesterol</b> (mg/dL)	211.54±43.41	219(108- 323)	201.55±40.54	197(100- 285)	0.325
<b>LDL</b> (mg/dL)	141.34±33.36	145(53- 218)	129.17±27.50	130(55- 170)	0.007
<b>Trigliserit</b> (mg/dL)	207±100.2	191(57- 608)	191.42±83.53	176(72- 534)	0.143
<b>İdrar kreatinin</b>	110.64±50.13	111(21- 211)	86.53±41.62	87(18- 196)	0.033
<b>İdrar MTP</b> (mg/dL)	23.73±29.27	18(3-139)	14.69±22.97	9(1-141)	<0.001
<b>İdrarda Mikroalbümin</b> (mg/dL)	2.95±5.96	0.94(0.07- 38)	1.36±2.27	0.47(0.05- 9.60)	<0.001

**Tablo 4.3.** miRNA'ların mikroalbüminüri ve mikro total protein düzeyi ile arasındaki korelasyonlar

		Mikroalbüminüri (0.gün)	Mikroalbüminüri (60.gün)	Mikro total protein (0.gün)	Mikro total protein (60.gün)
miRNA-21 (0.gün)	r	0.083	-0.168	-0.017	-0.135
	p	0.58	0.26	0.91	0.365
miRNA-21(60.gün)	r	0.075	-0.008	0.003	-0.123
	p	0.618	0.956	0.983	0.409
miRNA-141 (0.gün)	r	0.040	0.053	0.002	0.058
	p	0.789	0.724	0.988	0.696
miRNA-141 (60.gün)	r	-0.393	-0.245	-0.184	-0.41
	p	0.006	0.097	0.217	0.345
miRNA-377 (0.gün)	r	0.040	0.092	0.146	0.075
	p	0.788	0.538	0.329	0.788
miRNA-377 (60.gün)	r	0.187	0.083	0.132	0.103
	p	0.208	0.579	0.378	0.491

**Tablo 4.4.** Dapagliflozin tedavisinin 0 ve 60.günlerinde tespit edilen miRNA düzeyleri ile glisemik parametreler arasındaki korelasyonlar

		Glukoz	Glukoz	HbA1c	HbA1c
		(0.gün)	(60.gün)	(0.gün)	(60.gün)
miRNA-21 (0.gün)	r	0.030	-0.017	-0.017	-0.389
	p	0.842	0.912	0.912	0.007
miRNA-21(60.gün)	r	0.180	-0.001	0.052	-0.182
	p	0.225	0.993	0.729	0.222
miRNA-141 (0.gün)	r	-0.044	-0.058	-0.124	-0.109
	p	0.768	0.700	0.407	0.467
miRNA-141 (60.gün)	r	0.246	-0.004	-0.106	-0.078
	p	0.095	0.980	0.476	0.604
miRNA-377 (0.gün)	r	0.800	0.141	0.234	0.146
	p	0.001	0.346	0.113	0.327
miRNA-377 (60.gün)	r	0.167	0.097	0.231	0.115
	p	0.261	0.517	0.118	0.442

**Tablo 4.5.** Dapagliflozin tedavisinin 0 ve 60.günlerinde tespit edilen miRNA düzeylerindeki değişiklikler

	0.gün		60.gün		p
	Ortalama±SS	Medyan (Min-Max)	Ortalama±SS	Medyan (Min-Max)	
<b>Mirna 21</b>	1.27±2.27	0.47(0.72-9.60)	0.88±0.23	0.82(0.61-1.33)	<0.01
<b>Mirna 141</b>	1.09±0.6	0.83(0.61-2.66)	0.31±0.30	0.25(0.01-0.99)	<0.01
<b>Mirna 377</b>	1.25±0.71	0.83(0.62-2.66)	0.89±0.47	0.69(0.30-1.97)	<0.01

## 6. TARTIŞMA

Mevcut çalışmada diyabetin önemli ve mortal seyredabilen bir komplikasyonu olan diyabetik nefropatili hastalarda dapagliflozin tedavisinin renal protektif etkinliğinin araştırılması amaçlanmıştır. SGLT2 inhibitörlerinin renal kaynaklı ölüm ve son dönem böbrek yetmezliğe gidişatı olumlu etkilediği bilinmektedir. Bu amaçla retrospektif olarak verilerine kliniğimizde ulaşılabilen ve kan numuneleri uygun koşullarda muhafaza edilmiş olan 47 adet diyabetik nefropatili hastanın serum örneklerinden literatürde diyabetik nefropati ile ilişkilendirilmiş mikromaların değişiklikleri incelenmiştir. Deneysel diyabetik nefropatili deney hayvanları çalışmalarında artış gösterdiği tespit edilmiş olan miRNA 21, miRNA 141 ve miRNA 377 düzeylerinin tedavi ile gösterdiği değişiklikler incelenmiştir. Tedavi sonrasına kıyasla öncesinde düzeyleri tespit edilen miRNA 21, miRNA 141 ve miRNA 377 düzeylerinin istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azaldığı tespit edilmiştir. Çalışmamızda istatistiksel olarak anlamlı düzeyde 0.gün miRNA 377 düzeyi ile 0.gün serum glukoz düzeyi arasında pozitif ve 0.gün miRNA 21 düzeyi ile 60.gün hbA1c düzeyi arasında negatif korelasyon saptanmıştır. Bilindiği kadarıyla mevcut retrospektif dapagliflozin çalışması, insanlarda yapılan miRNA 21, miRNA 141 ve miRNA 377 düzeylerinin karşılaştırıldığı ilk çalışma özelliğindedir.

Diyabetik nefropatinin patogenezi kapsamlı metabolik, hemodinamik, proinflamatuvar ve profibrotik faktörlerin birlikteliğiyle meydana gelmektedir. Bu faktörlerin varlığı nefronların glomerül, tübüller, interstisyum ve arteriyollerin yapısını olumsuz etkileyebilmektedir. Kompleks bir dizi molekül, reseptör, enzim ve transkripsiyon faktörlerinin sonucunda kompansatuvar hipertrofi, ekstrasellüler matriks artışı, glomerüloskleroz, vasküler hiyalinoz, interstisyel fibrozis ve tübüler atrofi glomerüler fonksiyonlarda bozulma ve son dönem böbrek yetmezliğine gidişatı hızlandırmaktadır. Metabolik faktörler hipergliseminin erken dönemlerinde glukotoksisiteye bağlı olarak başlar. Bunun yanında hiperglisemi, kollajen, lipitler ve ekstrasellüler matriks proteinleri gibi çeşitli doku bileşenlerinin glikasyonu yoluyla organ fonksiyon bozukluğu tetiklenir ve ileri glikasyon son ürünleri (AGE) ortaya çıkmaktadır. AGE birikiminin histolojik belirtileri arasında bazal membran kalınlaşma, mezengiyalatriks artışına neden olan azalmış protein degradasyonu ve

interstisyel hücre dışı hacimde artış yer almaktadır. Bunun yanında poliol yolu, heksozamin yolu, PKC yolu, hemodinamik faktörler, büyüme faktörleri ve proinflamatuvar-profibrotik faktörler diyabetik nefropatinin patogeneğinde suçlanmaktadır (121).

Tip 2 diabetes mellitus tanısı olan hastalarda yapılan büyük katılımlı SGLT2 inhibitörlerinin klinik çalışmalarda proksimal tübülden glukoz Emilimini azaltarak glukozüriyi arttırarak hem hbA1C hem de serum glukoz düzeylerini anlamlı düzeyde düşürdüğü gösterilmiştir. Antihiperglisemik bir tedavi ajanı olarak tasarlanan bu molekülleri kullanan diyabetli hastalarda kalp yetmezliği ve kronik böbrek hastalığına bağlı mortalitenin azaldığı da tespit edilmiştir (122,123). Bilimsel çalışmaların verileri tekrar incelenip subgrup analizleri yapıldığında hem diyabeti olan hem de olmayan kalp yetmezliği hastasında da mortaliteyi azalttıkları saptanmıştır. Tespit edilen bu kardiyorenalprotektif etkinin renal glukoz geri Emilimi haricinde mekanizmalardan kaynaklı olabileceği hipotezlerini desteklemektedir. Bu nedenle SGLT2 inhibitörlerinin doku düzeyinde antiinflamatuvar veya antioksidan etki göstererek protektif etkilerinin olabileceği hipotezini desteklemektedir.

MikroRNA'lar ortalama 22 nükleotitten oluşan kodlanmayan tek zincirli RNA molekülleridir (124). MiRNA'lar hedef mRNA'nın 3'-çevrilmemiş bölgesinin (3'-UTR) tabanı ile eksik eşleşerek hedef genlerin ekspresyonunu düzenlerler ve spesifik düzenlenme mRNA translasyonunun inhibisyonunu ve mRNA stabilitesinin sağlanmasını sağlamaktadır (125). Sensitif ve spesifik metodlarla izole edilmesi halinde birçok insan dokusunda ve biyolojik sıvısında kolaylıkla izole edilebilmektedirler. Son zamanlarda hakkında daha fazla veri toplanan miRNA'ların farklı metabolik durum ve hastalıklarda upregüle veya downregüle olabildiklerini göstermektedir (126,127). Diyabetik nefropatide meydana gelen renal doku fibrozisi ile ilişkili glomerüler bazal membran kalınlaşması ve mezengiyal genişleme ekstrasellüler matrikste birikimlerle ilişkili miRNA'lar tanımlanmıştır. Örneğin hiperglisemik mezengiyal hücrelerde miRNA 141 overekspresyonu inflamasyonu tetiklemekte ve hücre apoptozisine neden olduğu gösterilmiştir (128). Deney hayvanları ve invitro çalışmalarda diyabetik nefropatide upregüle olduğu gösterilmiş

mikroRNA'lar miRNA 21, miRNA 34a-5p, miRNA 141, miRNA 370, miRNA 503, miRNA 184 ve miRNA 377'dir (129).

miRNA 21, hücre proliferasyonu, inflamasyonu, anjiyogenezi ve immün yıkımı teşvik etmek için sıklıkla çalışılan multipotent bir mikroRNA'dır. Yakın tarihte yapılar da yapılan çalışmalar, miRNA 21'in renal dokularda upregüle olan ve renal fibrozis gelişimi ile ilişkili en önemli mikroRNA olduğunu göstermiştir (130). Çeşitli çalışmalar miRNA 21'in aşırı ekspresyonu sonucunda hiperglisemik durumlarda fibronektin ekspresyonu ve mezengiyal hücre hipertrofini indükleyen Akt aktivasyonu şeklinde mezengiyal hücrelerin proliferasyonunda inhibisyona neden olduğu gösterilmiştir (131,132). Böbrek hasarı geliştiği sürede glomerüler fibrozisin derecesi miRNA 21'in düzeyiyle korelasyon gösterilmiştir. miRNA 21'in overekspresyonu, smad3 ekspresyonu ve smad7 downregülasyonu vasıtasıyla THG-beta 1'in indüklediği epitelyal mezenkimal geçişi arttırmaktadır. Ayrıca miRNA 21 inhibitörleri sadece epitelyal mezenkimal geçişin ilerlemesini ve renal fibrozisi önlemekle kalmaz, aynı zamanda diyabetik nefropatide böbrek yapısı ve fonksiyonlarını da iyileştirmektedir (133,134). Sonuçta miRNA 21'in baskılanması diyabetik nefropatide renal fibrozisi doğrudan azaltmak için etkili bir tedavi hedefi olabilir. Çalışmamızda dapagliflozin kullanan hastalarda tedaviden 60 gün gibi kısa bir sürede miRNA 21'in düzeyleri istatistiksel anlamda azalmıştır. Bu mekanizma dapagliflozinin diyabetik nefropatinin önlenmesi veya progresyonunda önlenmesindeki faydasını moleküler düzeyde destekler veri niteliğindedir.

miRNA 141, kanser hücrelerinin gelişimi ve apoptozisi ile ilişkilendirilmiştir. Apoptozis ile ilişkisinin saptanmasından sonra bazı araştırmacılar tarafından diyabetik nefropati ve sağlıklı kontrol grubu oluşturularak miRNA 141 ile renal hasar gelişimi arasındaki ilişki irdelenmiştir. Çalışma sonuçları miRNA 141'in düzeyinde artışın renal patolojik hasar ile ilişkisini desteklemiştir. Diyabetik nefropati bir nevi inflamatuvar hastalık olarak değerlendirilmektedir. Çünkü inflamatuvar sitokinlerin önemli ölçüde upregüle düzeyleri diyabetik nefropati gelişimini indüklemektedir (135). Li ve arkadaşları, diyabetik nefropatili hastaların periferik kanında miRNA 141 ekspresyonunun önemli ölçüde arttığını deneylerle doğrulamış, diyabetik nefropatinin hücre modelinde miRNA 141'in aşırı ekspresyonu hücre inflamasyonunu

şiddetlendirmiş ve hücre apoptozunu ilerlettiğini tespit etmişlerdir (136). Ek olarak insülin reseptörü substratı 2 ile miRNA 141 arasında bir hedef ilişkisi bulunduğu düşünülmektedir. Bunun yanında birçok araştırmacı, miRNA 141'in diyabetik nefropati modelinin böbrek dokusunda yetersiz ifade edildiğini ve miRNA 141'in down regülasyonunun spesifik olarak TGF-beta 2'nin renal skar oluşumunu ilerlettiğini tespit etmişlerdir (137,138). Bu sonuçlar miRNA 141'in serum glukoz biyobelirteci olarak ve diyabetik nefropati ilişkili renal fibrozisin önlenmesinde kullanılabileceğini düşündürmektedir. Çalışmamız kapsamında tedavi sonrası düzeyinin artması dapagliflozin molekülünün nefropatinin ilerlemesini yavaşlatıcı etkisinin olabileceğini düşündürmektedir.

Dokularda oksidatif stresi dengeleyebilecek yeterli antioksidan maddelerin olmaması inflamasyon ve doku hasarına neden olabilmektedir. Diyabetik nefropati ile yapılan çalışmalarda doku düzeyinde oksidatif stres ve inflamasyon bulguları saptanmaktadır. Wang ve arkadaşlarının yaptığı araştırmada miRNA 377'nin diyabetik nefropatide upregüle olduğunu tespit etmişlerdir. miRNA 377'nin aşırı ekspresyonu Pak1, superoksit dismutaz 1 (SOD1) ve superoksit dismutaz 2 (SOD2) gibi önemli mezengiyal proteinlerin sentezini inhibe etmektedir (139). Ancak PAK1, SOD1 ve SOD2 proteinlerindeki azalma fibronektin birikiminde artışa neden olur ve miRNA 377 ekspresyonundaki artış mezengiyal hücrelerde oksidatif stresi arttırmaktadır. Bu nedenle miRNA 377 ekspresyonunun inhibisyonu diyabetik nefropati tedavisinde yeni bir yaklaşım olabilir. Duan ve arkadaşlarının çalışması uzun kodlayıcı olmayan RNA taurinupregüle gen 1'in (lncRNA TUG1) miRNA 377'yi toplayarak azaltan bir sünger gibi etki edebildiğini gösterdi. miRNA 377'nin down regülasyonu peroksizom proliferatörü ile aktive edilen reseptör (PPARc) inhibisyonunu zayıflatmaktadır. PPARc, mezengiyal hücre proliferasyonu, hücre döngüsü ve diyabetik ortamda ekstrasellüler matriks sentezi ile ilişkilidir. Genel olarak miRNA 377'nin diyabetik nefropati gelişiminde anahtar rol oynamaktadır ve diyabetik nefropatinin tedavisinde miRNA 377'nin baskılanması yeni bir yaklaşım olabilir. Çalışmamız kapsamında dapagliflozin tedavisinin 60.gününde miRNA düzeyinde baskılanma gerçekleşmiştir.

## 6. SONUÇ

Mevcut çalışmada en az 3 aydır mikroalbüminürisi devam eden ve diyabetik nefropati olarak kabul edilen dapagliflozin kullanan 47 hastanın tedavinin ilk gününde ve tedaviden sonraki 60.günde elde edilmiş venöz kan serum örneklerinde diyabetik nefropati ile ilişkilendirilmiş miRNA 21, miRNA 141 ve miRNA 377 düzeyleri karşılaştırılmıştır. Tedavinin 60.gününde hastaların venöz kan örneklerindeki araştırılan miRNA'ların tedavi öncesine göre istatistiksel anlamda azalma saptanmıştır. Çalışmamızın verileri kardiyorenalprotektif etkinliği gösterilen sodyum glukoz kotransporter 2 inhibitörlerinin glisemik kontrolün yanında oksidatif stresi azaltarak doku düzeyinde inflamasyonu baskılayabildiğini destekler niteliktedir.

Çalışma süresinin kısa olması, hasta sayısı ve antioksidan stres düzeyinin ölçülememesi gibi etkenlerden etkilenme olasılığı göz önüne alındığında daha kapsamlı, plasebo ile kıyaslanan randomize kontrollü çalışmalarla mevcut çalışmanın desteklenmesi gerekmektedir.

## 7. KAYNAKLAR

1. American Diabetes Association. Diagnosis and classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care*.2014; 37: 81-90.
2. Lim AKH. Diabetic nephropathy –Complications and treatment. *Int J Nephrol Renovasc Dis*. 2014;7:361-381.
3. Dorsey JL, Becker MH, Al. E. Glycemic targets: Standards of medical care in Diabetes-2018. *Diabetes Care*. 2018;41(1):55-64.
4. Simpson K, Wonnacott A, Fraser DJ, Bowen T. MicroRNAs in diabetic nephropathy: From Biomarkers to Therapy. *Curr Diab Rep*. 2016;16(3):1-7.
5. Jayaseelan VP, Arumugam P. Exosomal microRNAs as a promising theragnostic tool for essential hypertension. *Hypertens Res*. 2020;43(1):74-5.
6. Ozkan G, Ulusoy S, Geyik E, Erdem Y. Down-regulation of miRNA 145 and up-regulation of miRNA 4516 may be associated with primary hypertension. *J Clin Hypertens (Greenwich)* 2019;21(11):1724-31.
7. Sekar D. Comment on the potential role of microRNAs in hypertension. *J Hum Hypertens*. 2018;32(10):639-40.
8. Cho N, Shaw J, Karuranga S, Huang Y, da RochaFernandes J, Ohlrogge A ve ark. IDF Diabetes Atlas: Global estimates of diabetesprevalencefor 2017 andprojectionsfor 2045. *Diabetes ResClinPract*. 2018;138:271-81.
9. The International Diabetes Federation (IDF). *Diabetes atlas 8th edition*, 2017.
10. Balgetir F, Kocaman N. Streptozotosin ile Oluşturulmuş Diyabetik Sıçanların Beyin Dokusunda İrisin Üzerine Enalaprilin Etkileri. *Fırat Tıp Derg*. 2016;21(4);177-182.
11. Türkiye Endokrin ve Metabolizma Derneği, *Diabetes mellitus ve komplikasyonlarının tanı, tedavi ve izlem kılavuzu 2018*. Available at

01.05.2023. [https://file.temd.org.tr/Uploads/publications/guides/documents/20200625154506-2020tbl\\_kilavuz86bf012d90.pdf](https://file.temd.org.tr/Uploads/publications/guides/documents/20200625154506-2020tbl_kilavuz86bf012d90.pdf)

12. Goldstein JB, Müller-Vieland D. Tip 2 Diyabet (Çev. ed:Akman C), A. Martin Dunitz London and New York, 1. Baskı, 2004. Sayfa 128-132
13. Alice YYC, I. Fantus, G. Oral antihyperglycemic therapy for type 2 diabetes mellitus. Canadian Medical Association Journal. 2005; 2(172): 213-26.
14. Kayalar DA. Yeni tanı Tip 2 Diabetes mellitus hastalarında Rosiglitazonun adiponektin düzeyi ve insülin direnci üzerine etkisi [uzm. tezi]. İstanbul-2009.
15. Jameson JL, Kasper DL, Longo DL, Fauci AS, Hauser SL, Loscalzo J. Principles of Harrison's Internal Medicine, 20th Edition. McGraw Hill Education 2018
16. Aslan M. Diabetes Mellitusta Tanı ve Sınıflandırma. İliçin G, Biberoglu K, Süleymanlar G, Ünal S. İç Hastalıkları, 2. baskı. Güneş Kitabevi, 2003; 2: 2279-2295
17. Lyssenko V, Jonsson A, Almgren P, Pulizzi N, Isomaa B, Tuomi T, et al. Clinical risk factors, DNA variants, and the development of type 2 diabetes. N Engl J Med. 2008 Nov 20; 359 (21): 2220-32. PubMed PMID: 19020324
18. Lyssenko V. The transcription factor 7-like 2 gene and increased risk of type 2 diabetes: an update. Curr Opin Clin Nutr Metab Care. 2008 Jul; 11 (4): 385-92. PubMed PMID: 18541996.
19. Baranowski M. Biological role of liver X receptors. Journal of physiology and pharmacology : an official journal of the Polish Physiological Society. 2008; 59 Suppl 7: 31-55.
20. Helleboid-Chapman A, Helleboid S, Jakel H, et al. Glucose regulates LXR alpha subcellular localization and function in rat pancreatic beta-cells. Cell research. 2006; 16(7): 661-70.

21. Efanov AM, Sewing S, Bokvist K, Gromada J. Liver X receptor activation stimulates insulin secretion via modulation of glucose and lipid metabolism in pancreatic beta-cells. *Diabetes*. 2004;53 Suppl 3:75-8.
22. American Diabetes Association. Diagnosis And Classification Of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care* 2012; 35( Supplement 1): 64-71.
23. Diagnosis and classification of diabetesmellitus. *Diabetes Care*, 2013. 36 Suppl 1(Suppl 1): p.S67-74.
24. Powers AC. "Diabetes mellitus", Chapter 338 in Fauci AS, Braunwald E, Kasper DL, Hauser SL, Longo DL, Jameson, JL, Loscalzo J: *Harrison's Principles of Internal Medicine*, 17th edition. New York: McGraw-Hill (2008): 2275-2304.
25. Classification and Diagnosis of Diabetes: Standards of Medical Care in Diabetes-2018. *Diabetes Care*, 2018. 41(Suppl 1): p. S13-s27
26. Lee Goldman, A.I.S., *Goldman's Cecil Medicine 25th Edition International Edition Vol. 2*. 2016: Elsevier Saunders.
27. Meglio LA, Evans-Molina C, Oram RA. Type1 diabetes . *Lancet*. 2018 Jun 16;391(10138):2449-2462. doi: 10. 1016/S0140-6736(18)31320-5. PMID:29916386
28. Brunton S Pathophysiology of Type 2 Diabetes: The Evolution of Our Understanding. *J FamPract*. 2016 Apr;65(4 Suppl):supp\_az\_0416. PMID:27262256
29. De Fronzo RA, Ferrannini E. Insulinresistance. A multifaceted syndrome responsible for NIDDM, obesity, hypertension, dyslipidemia, and atherosclerotic cardiovascular disease. *Diabetes care* [Internet]. 1991 [cited 2022 Jan 12];14(3):173–94. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2044434/>

30. Dabelea, D., et al., Intrauterine exposure to diabetes conveys risks for type 2 diabetes and obesity: a study of discordantsiblings. *Diabetes*, 2000. 49(12): p. 2208-11.
31. Kurumu TSBHS. Türkiye Diyabet Programı 2015-2020, Ankara. Sağlık Bakanlığı Yayınları. 2014(816):13.
32. Gillett MJ. International expert committee report on the role of the A1c assay in the diagnosis of diabetes: *diabetescare* 2009; 32 (7): 1327–1334. *The Clinical Biochemist Reviews*. 2009;30(4):197.
33. Organization WH. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications: report of a WHO consultation. Part 1, Diagnosis and classification of diabetesmellitus. Geneva: World healthorganization; 1999.
34. TEMD. Diabetes Mellitus Ve Komplikasyonlarının Tanı, Tedavi Ve İzlem Kılavuzu. 12 ed. Ankara2019.
35. Bacci S, Villella M, Villella A, Langialonga T, Grilli M, Rauseo A, et al. Screening for silent myocardial ischaemia in type 2 diabetic patients with additional atherogenic risk factors: applicability and accuracy of the exercisestress test. *Europeanjournal of endocrinology*. 2002;147(5):649-54.
36. Parving HH. Diabetic nephropathy: prevention and treatment. *Kidney International* 2001; 60: 2041–55.
37. Remuzzi G, Schieppati A, Ruggenenti P. Clinicalpractice. Nephropathy in patientswithtype 2 diabetes. *N Engl J Med*. 2002 Apr 11; 346(15): 1145-51.
38. İlicin G, Biberöglü K, Süleymanlar G, Ünal S, İç Hastalıkları, Güneş Kitapevi, 2003, S:2311–2331.
39. Biberöglü İ, Süleyman Ü. Diyabetin Komplikasyonları, İliçin G (editör). Temel iç hastalıkları. Ankara: Güneş Kitapevi; 2003. 2321-232.
40. Yigit IP, Taskapan H. Diabetic nephropathy: diagnosis, prevention and treatment. *Medicine Science*. 2016;5(4):1068-73.

41. Antonetti DA, Klein R, Gardner TW. Diabetic retinopathy. N Engl J Med. 2012;366(13):1227-39.
42. Duh EJ, Sun JK, Stitt AW. Diabetic retinopathy: current understanding, mechanisms, and treatment strategies. JCI insight. 2017;2(14).
43. Kohner EM, Aldington SJ, Stratton IM, United Kingdom Prospective Diabetes Study; diabetic retinopathy at diagnosis of non-insulin-dependent diabetes mellitus and associated risk factors, ArchOphthalmol., 116, 297303, 1998.
44. Erbaş T, Dağdelen S. Diyabet ve Sinir Sistemi. İmamoğlu Ş (editör). Diabetes Mellitus 2009. 3.baskı. İstanbul: Deomed Medikal Yayıncılık; 2009. 361-94.
45. Boru UT, Alp R, Sargın H, Koçer, Sargın M, Lüleci A, Yayla A. Prevalence of peripheral neuropathy in type 2 diabetic patients attending a diabetes center in Turkey. Endocr J 2004;51: 563-82.
46. KDOQI Clinical Practice Guide linesand Clinical Practice Recommendations for Diabetes and Chronic Kidney Disease. Am J Kidney Dis, 2007. 49(2 Suppl 2): p. S12-154.
47. Diabetes a major risk factor for kidney disease. National Kidney Found. 2015. AValiable at: <https://www.kidney.org/atoz/content/diabetes>. (Accessed at 13.03.2023)
48. Diabetes Mellitus ve Komplikasyonlarının Tanı, Tedavi ve İzlem Kılavuzu, Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği, 2015. [www.turkendokrin.org](http://www.turkendokrin.org)
49. Kumar V, Çotran RS, Robbins S, Robbis I. Temel Patoloji; Pankreas, 2005:641-655.
50. Rivero, A., et al., Pathogenic perspectives for the role of inflammation in diabetic nephropathy. ClinSci (Lond), 2009. 116(6): p. 479-92.
51. Qi, C.,Mao X, Zhang Z, et al., Classification and Differential Diagnosis of Diabetic Nephropathy. J Diabetes Res, 2017. 2017: p. 8637138.

52. Gedik VT, Çetinkalp Ş, Kabalak T, et al. Diabetes Mellitus. Erol Ç. İç Hastalıkları 1. baskı, Ankara: Nobel Tıp, 2008:143-172.
53. Tervaert, T.W., Amann A.L.M, Amann K, et al., Pathologic classification of diabetic nephropathy. J AmSocNephrol, 2010. 21(4): p. 556-63.
54. Bolinder J, Ljunggren O, Kullberg J, Johansson L, Wilding J, Langkilde AM, et al. Effects of dapagliflozin on body weight, total fatmass, and regional adipose tissue distribution in patients with type 2 diabetes mellitus with 80 inadequate glycemic control on metformin. J ClinEndocrinolMetab. 2012 Mar;97(3):1020-31. PubMed PMID: 22238392.
55. Cefalu WT, Leiter LA, Yoon KH, Arias P, Niskanen L, Xie J, et al. Efficacy and safety of canagliflozin versus glimepiride in patients with type 2 diabetes inadequately controlled with metformin (CANTATA-SU): 52 week results from a randomised, double-blind, phase 3 non-inferiority trial. Lancet. 2013 Sep 14;382(9896):941-50. PubMed PMID: 23850055.
56. TEMD Diabetes Mellitus ve Komplikasyonlarının Tanı, Tedavi ve İzlem Kılavuzu, 2018;88-96
57. Ramnanan CJ, Edgerton DS, Rivera N, Irimia-Dominguez J, Farmer B, Neal DW, et al. Molecular characterization of insulin-mediated suppression of hepatic glucose production in vivo. Diabetes. 2010;59(6):1302-11.
58. Mandarino LJ, Printz RL, Cusi KA, Kinchington P, O'Doherty RM, Osawa H, et al. Regulation of hexokinase II and glycogen synthase mRNA, protein, and activity in human muscle. The American journal of physiology. 1995;269(4 Pt 1):E701-8.
59. Intensive blood-glucose control with sulphonylurea or insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patients with type 2 diabetes (UKPDS 33). UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group. Lancet. 1998;352(9131):837-53.8-

60. TEMD 2020, Diyabetes Mellitus ve Komplikasyonlarının Tanı, Tedavi ve İzlem Kılavuzu. Available at 01.05.2023. [https://file.temd.org.tr/Uploads/publications/guides/documents20200625154506-2020tbl\\_kilavuz\\_86bf012d90.pdf](https://file.temd.org.tr/Uploads/publications/guides/documents20200625154506-2020tbl_kilavuz_86bf012d90.pdf)
61. Matthews DR, Cull CA, Stratton IM, Holman RR, Turner RC. UKPDS 26: Sulphonylurea failure in non-insulin-dependent diabetic patients over six years. UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group. *DiabetMed*. 1998 Apr;15(4):297-303. PubMed PMID: 9585394.
62. Yki-Järvinen H. Thiazolidinediones. *N Engl J Med*. 2004;351(11):1106-1118.
63. Koski RR. Practical review of oral antihyperglycemic agents for type 2 diabetes mellitus. *Diabetes Educ*. 2006;32(6):869-876.
64. Black C, Donnelly P, McIntyre L, Royle PL, Shepherd JP, Thomas S. Cochrane Database Syst Rev. Meglitinide analogues for type 2 diabetes mellitus. 2007;(2):CD004654.
65. Willson TM, Lambert MH, et al. Peroxisome proliferator-activated receptors: from gamma and metabolic disease. *Annu Rev Biochem* 2001;70:342-367.
66. Diabetes Canada Clinical Practice Guidelines Expert Committee; Lipscombe L, Booth G, Butalia S, et al. 2018 Clinical Practice Guidelines: Pharmacologic glycemic management of type 2 diabetes in adults. *Can J Diabetes* 2018;42:S88–S103
67. Drucker DJ, Nauck MA. The incretin system: glucagon-like peptide-1 receptor agonists and dipeptidyl peptidase-4 inhibitors in type 2 diabetes. *Lancet*. 2006;368(9548):1696-1705.
68. Sharma D, Verma S, Vaidya S, Kalia K, Tiwari V. Recent updates on GLP-1 agonists: Current advancements & challenges. *Biomed Pharmacother*. 2018 Dec;108:952-962. doi: 10.1016/j.biopha.2018.08.088. Epub 2018 Sep 27. PMID: 30372907

69. Gomez-Peralta F, Abreu C, Gomez-Rodriguez S, Barranco RJ, Umpierrez GE. Safety and Efficacy of DPP4 Inhibitor and Basal Insulin in Type 2 Diabetes: An Updated Review and Challenging Clinical Scenarios. *Diabetes Ther.* 2018 Oct;9(5):1775-1789. doi: 10. 1007/s13300-018-0488-z. Epub 2018 Aug 16. PMID: 30117055
70. Goossen K, Graber S. Longtermsafety of dipeptidyl peptidase-4 inhibitors in patients with type 2 diabetes mellitus: systematic review and meta-analysis. *Diabetes, obesity & metabolism.* 2012;14(12):1061-72
71. Wium-Andersen, I. K., Osler, M., Jørgensen, M. B., Rungby, J., &Wium-Andersen, M. K. (2019). Antidiabetic medication and risk of dementia in patients 84 withtype 2 diabetes: a nestedcase–controlstudy. *European journal of endocrinology*, 181(5), 499-507.
72. Ehrenkranz, J. R., Lewis, N. G., Ronald Kahn, C., &Roth, J. (2005). Phlorizin: a review. *Diabetes/metabolism research and reviews*, 21(1), 31-38.
73. De Fronzo RA, Norton L, Abdul-Ghani M. Renal, metabolic and cardiovascular considerations of SGLT2 inhibition. *Nature reviews Nephrology.* 2017;13(1):11-26.
74. DeFronzo, Ralph A., et al. "Characterization of renal glucose reabsorption in response to dapagliflozin in healthy subjects and subjects with type 2 diabetes." *Diabetes care* 36.10 (2013): 3169-3176.
75. Norton, Luke, et al. "Sodium-glucoseco-transporter (SGLT) and glucose transporter (GLUT) expression in the kidney of type 2 diabetic subjects." *Diabetes, Obesity and Metabolism* 19.9 (2017): 1322-1326.
76. Abdul-Ghani MA, DeFronzo RA, Norton L. Novel hypothesis to explain why SGLT2 inhibitors inhibit only 30-50% of filtered glucose load in humans. *Diabetes.* 2013;62(10):3324-8.

77. Perry RJ, Shulman GI. Sodium-glucose cotransporter-2 inhibitors: Understanding the mechanisms for the therapeutic promise and persisting risks. *J Biol Chem*. 2020;295(42):14379-90.
78. Ferrannini E, Baldi S, Frascerra S, Astiarraga B, Heise T, Bizzotto R, et al. Shift to Fatty Substrate Utilization in Response to Sodium-Glucose Cotransporter 2 Inhibition in Subjects Without Diabetes and Patients With Type 2 Diabetes. *Diabetes*. 2016;65(5):1190-5.
79. Tsimihodimos V, Filippatos TD, Filippas-Ntekouan S, Elisaf M. Renoprotective Effects of SGLT2 Inhibitors: Beyond Glucose Reabsorption Inhibition. *Current vascular pharmacology*. 2017;15(2):96-102.
80. Wanner C, Inzucchi SE, Lachin JM, Fitchett D, von Eynatten M, Mattheus M, et al. Empagliflozin and Progression of Kidney Disease in Type 2 Diabetes. *The New England journal of medicine*. 2016;375(4):323-34.
81. Ferdinand KC, Izzo JL, Lee J, et al. "Antihyperglycemic and blood pressure effects of empagliflozin in black patients with type 2 diabetes mellitus and hypertension." *Circulation* 139.18 (2019): 2098-2109.
82. Çavuşoğlu Y, Altay H, Cahn A, et al. "Sodium glucose co-transporter 2 inhibitors in heart failure therapy." *Türk Kardiyol Dern Ars* 48.3 (2020): 330-354.
83. Hayashi T, Fukui T, Nakanishi N, Yamamoto S, Tomoyasu M, Osamura A, et al. Dapagliflozin decreases small dense low-density lipoprotein-cholesterol and increases high-density lipoprotein 2-cholesterol in patients with type 2 diabetes: comparison with sitagliptin. *Cardiovascular diabetology*. 2017;16(1):8.
84. Qiu H, Novikov A, Vallon V. Ketosis and diabetic keto acidosis in response to SGLT2 inhibitors: Basic mechanisms and the therapeutic perspectives. *Diabetes Metab Res Rev*. 2017;33(5).

85. Dekkers, C.C.J., Gansevoort, R.T. & Heerspink, H.J.L. New Diabetes Therapies and Diabetic Kidney Disease Progression: the Role of SGLT-2 Inhibitors. *CurrDiabRep* 18, 27 (2018). <https://doi.org/10.1007/s11892-018-0992-6>
86. Ojima A, Matsui T, Nishino Y, Nakamura N, Yamagishi S. Empagliflozin an inhibitor of sodium-glucose cotransporter 2 exerts anti-inflammatory and antifibrotic effects on experimental diabetic nephropathy partly by suppressing AGEs-receptor axis. *HormMetabRes.* 2015;47:686–92. <https://doi.org/10.1055/s-0034-1395609>.
87. Panchapakesan U, Pegg K, Gross S, Komala MG, Mudaliar H, Forbes J, et al. Effects of SGLT2 inhibition in human kidney proximal tubular cells—renoprotection in diabetic nephropathy? *PLoSOne.* 2013;8:e54442
88. Salim HM, Fukuda D, Yagi S, Soeki T, Shimabukuro M, Sata M. Glycemic control with Ipragliflozin, a novel selective SGLT2 inhibitor, ameliorated endothelial dysfunction in Streptozotocin-induced diabetic mouse. *Front CardiovascMed.* 2016;3:43.
89. Dekkers CCJ, Petrykiv S, Laverman G, Cherney DZ, Gansevoort RT, Heerspink HJL. Effects of the SGLT-2 inhibitor dapagliflozin on glomerular and tubular injury markers. Oral abstract presentation at the American Society of Nephrology (ASN) kidney week 2017 annual meeting. 2017.
90. Bartel DP. MicroRNAs: target recognition and regulatory functions. *Cell.* 2009;136(2):215-33.
91. Calin GA, Sevignani C, Dumitru CD, Hyslop T, Noch E, Yendamuri S, et al. Human microRNA genes are frequently located at fragile sites and genomic regions involved in cancers. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.* 2004;101(9):2999-3004.

92. Huang Y., Shen X.J., Zou Q., Wang S.P, Tang S.M., Zhang G.Z. (2011) Biological functions of microRNAs: a review. *J PhysiolBiochem. Mar*;67(1):129-39.
93. Fleissner F, Jazbutyte V, Fiedler J, Gupta SK, Yin X, Xu Q, et al. Shortcommunication: asymmetric dimethylarginine impairs angiogenic progenitor cell function in patients with coronary artery disease through a microRNA-21-dependent mechanism. *Circulationresearch*. 2010;107(1):138-43
94. Khafaei, M., Rezaie, E., Mohammadi, A., ShahnaziGerdehsang, P., ve ark. (2019). miR-9: From function to the rapetic potential in cancer. *Journal of cellular physiology*, 234(9), 14651-14665
95. Stokols D, Altman I, Wiley J. HANDBOOK OF NEUROENDOCRINOLOGY.; 1987. doi:10.1016/C2009-0-04284-6
96. Fridrichova I, Zmetakova I. MicroRNAs Contribute to Breast Cancer Invasiveness. *Cells*. 2019;8(11):1361.
97. Poy MN, Eliasson L, Krutzfeldt J, Kuwajima S, Ma X, Macdonald PE, Pfeffer S, Tuschl T, Rajewsky N, Rorsman P et al. 2004 A pancreaticislet-specific microRNA regulates insulin secretion. *Nature* 432 226–230. (doi:10.1038/nature03076).
98. Xia HQ, Pan Y, Peng J, Lu GX. Over-expression of miR375 reduces glucose-induced insulin secretion in Nit1 cells. *Molecular biology reports*. 2011;38(5):3061–5. [PubMed: 20221699]
99. Krek, A., Grün, D., Poy, M. et al. Combinatorial microRNA target predictions. *NatGenet* 37, 495–500 (2005). <https://doi.org/10.1038/ng1536>
100. Chen, H., Lan, HY, Roukos, DH & Cho, WC Diabetes mellitusta mikroRNA'ların uygulanması. *J. Endokrinol.* 222 , R1–R10 (2014).

101. Agbu, P., Carthew, R.W. MicroRNA-mediated regulation of glucose and lipid metabolism. *Nat Rev Mol Cell Biol* 22, 425–438 (2021)
102. Rorsman P, Ashcroft FM. Pancreatic  $\beta$ -Cell Electrical Activity and Insulin Secretion: Of Mice and Men. *Physiol Rev*. 2018 Jan 1;98(1):117-214.
103. Bordone L, Motta MC, Picard F, Robinson A, Jhala US, Apfeld J, McDonagh T, Lemieux M, McBurney M, Szilvasi A et al. 2006 Sirt1 regulates insulin secretion by repressing UCP2 in pancreatic  $\beta$  cells. *PLoS Biology* 4 e31. (doi:10.1371/journal.pbio.0040031)
104. El Ouaamari A, Baroukh N, Martens GA, Lebrun P, Pipeleers D & van Obberghen E 2008 miR-375 targets 30-phosphoinositide-dependent protein kinase-1 and regulates glucose-induced biological responses in pancreatic  $\beta$ -cells. *Diabetes* 57 2708–2717. (doi:10.2337/db07-1614)
105. Kloosterman WP, Lagendijk AK, Ketting RF, Moulton JD & Plasterk RH 2007 Targeted inhibition of miRNA maturation with morpholinos reveals a role for miR-375 in pancreatic islet development. *PLoS Biology* 5 e203. (doi:10.1371/journal.pbio.0050203)
106. Zhao X, Mohan R, Ozcan S & Tang X 2012 MicroRNA-30d induces insulin transcription factor MafA and insulin production by targeting mitogen-activated protein kinase 4 (MAP4K4) in pancreatic  $\beta$ -cells. *Journal of Biological Chemistry* 287 31155–31164. (doi:10.1074/jbc.M112.362632)
107. Kato M, Putta S, Wang M, et al. TGF- $\beta$  activates Akt kinase through a microRNA-dependent amplifying circuit targeting PTEN. *Nat Cell Biol*. 2009;11(7):881-889.
108. McClelland AD, Herman-Edelstein M, Komers R, et al. miR-21 promotes renal fibrosis in diabetic nephropathy by targeting PTEN and SMAD7. *Clin Sci*. 2015;129(12):1237-1249.
109. Al-Kafaji G, Al-Mahroos G, Al-Muhtareh HA, Skrypnik C, Sabry MA, Ramadan AR. Decrease expression of circulating microRNA-126 in patients

with type 2 diabetic nephropathy: A potential blood-based biomarker. *Exp Ther Med*. 2016;12(2):815-822.

110. Kato M, Zhang J, Wang M, et al. MicroRNA-192 in diabetic kidney glomeruli and its function in TGF-beta-induced collagen expression via inhibition of E-box repressors. *Proc Natl Acad Sci*. 2007;104(9):3432-3437.
111. Krupa A, Jenkins R, Luo DD, Lewis A, Phillips A, Fraser D. Loss of microRNA-192 promotes fibrogenesis in diabetic nephropathy. *J Am Soc Nephrol*. 2010;21(3):438-447.
112. Wang G, Kwan BCH, Lai FMM, Chow KM, Li PKT, Szeto CC. Urinary miR-21, miR-29, and miR-93: Novel biomarkers of fibrosis. *Am J Nephrol*. 2012;36(5):412-418.
113. Delic D, Eisele C, Schmid R, et al. Urinary exosomal miRNA signature in type II diabetic nephropathy patients. *PLoS One* 2016; 11:
114. Li LM, Hu ZB, Zhou ZX, Chen X, Liu FY, Zhang JF, Shen HB, Zhang CY & Zen K 2010 Serum microRNA profiles serve as novel biomarkers for HBV infection and diagnosis of HBV-positive hepatocarcinoma. *Cancer Research* 70 9798–9807.
115. Guay C & Regazzi R 2013 Circulating microRNAs as novel biomarkers for diabetes mellitus. *Nature Reviews. Endocrinology* 9 513–521. (doi:10.1038/nrendo.2013.86),
116. Nielsen LB, Wang C, Sorensen K, et al. 2012 Circulating levels of microRNA from children with newly diagnosed type 1 diabetes and healthy controls: evidence that miR-25 associates to residual b-cell function and glycaemic control during disease progression. *Experimental Diabetes Research* 2012 896362. (doi:10.1155/2012/896362)
117. Villard A, Marchand L, Thivolet C, et al. Diagnostic value of cell-free circulating microRNAs for obesity and Type 2 diabetes: a meta-analysis. *J Mol Biomark Diagn* 2015; 6(6).

118. Yang Z, Chen H, Si H, et al. Serum miR-23a, a potential biomarker for diagnosis of pre-diabetes and type 2 diabetes. *ActaDiabetol* 2014;51(5): 823-31.
119. Zhao C, Dong J, Jiang T, Shi Z, Yu B, Zhu Y, Chen D, Xu J, Huo R, Dai J et al. 2011 Early second-trimester serum miRNA profiling predicts gestational diabetes mellitus. *PLoS ONE* 6 e23925. (doi:10.1371/journal.pone.0023925)
120. Sharma D, Bhattacharya P, Kalia K, Tiwari V. Diabetic nephropathy: New insights into established therapeutic paradigms and novel molecular targets. *Diabetes Res ClinPract.* 2017;128:91-108.
121. Sulaiman MK. Diabetic nephropathy: recent advances in pathophysiology and challenges in dietary management. *Diabetol Metab Syndr.* 2019 Jan 23;11:7. doi: 10.1186/s13098-019-0403-4. PMID: 30679960; PMCID: PMC6343294.
122. Wiviott SD, Raz I, Bonaca MP et al. DECLARE–TIMI 58 Investigators. Dapagliflozin and Cardiovascular Outcomes in Type 2 Diabetes. *N Engl J Med.* 2019 Jan 24;380(4):347-357. doi: 10.1056/NEJMoa1812389. Epub 2018 Nov 10. PMID: 30415602.
123. Zinman B, Wanner C, Lachin JM, et al. Empagliflozin, Cardiovascular Outcomes, and Mortality in Type 2 Diabetes. *N Engl J Med.* 2015 Nov 26;373(22):2117-28. doi: 10.1056/NEJMoa1504720. Epub 2015 Sep 17. PMID: 26378978.
124. D. P. Bartel, “MicroRNAs,” *Cell*, vol. 116, no. 2, pp. 281–297, 2004.
125. T. G. McDanel, “MicroRNA: mechanism of gene regulation and application to live stock,” *Journal of AnimalScience*, vol. 87, no. 14, pp. E21–E28, 2009.
126. T. Wang, H. Zhu, S. Yang, et al. “Let-7a-5p may participate in the pathogenesis of diabetic nephropathy through targeting HMGA2,” *Molecular Medicine Reports*, vol. 19, no. 5, pp. 4229–4237, 2019

127. S. Deshpande, M. Abdollahi, M. Wang, et al. "Reduced autophagy by a microRNA mediated signaling cascade in diabetes-induced renal glomerular hypertrophy," *Scientific Reports*, vol. 8, no. 1, p. 6954, 2018.
128. Y. Li, D. Huang, L. Zheng, et al. "Effect of microRNA-141 on the development of diabetic nephropathy through regulating AKT/AMPK signaling pathway by targeting insulin receptor substrate 2," *Journal of Cellular Biochemistry*, vol. 120, no. 5, pp. 8008–8015, 2018.
129. Tang J, Yao D, Yan H, Chen X, Wang L, Zhan H. The Role of MicroRNAs in the Pathogenesis of Diabetic Nephropathy. *Int J Endocrinol*. 2019 Dec 1;2019:8719060. doi: 10.1155/2019/8719060. PMID: 31885563; PMCID: PMC6914872.
130. S. R. Pfeffer, C. H. Yang, and L. M. Pfeffer, "The role of miR-21 in cancer," *Drug Development Research*, vol. 76, no. 6, pp. 270–277, 2015.
131. A. D. McClelland, M. Herman-Edelstein, R. Komers et al., "miR-21 promotes renal fibrosis in diabetic nephropathy by targeting PTEN and SMAD7," *Clinical Science*, vol. 129, no. 12, pp. 1237–1249, 2015.
132. Z. Zhang, H. Peng, J. Chen et al., "MicroRNA-21 protects from mesangial cell proliferation induced by diabetic nephropathy in db/db mice," *FEBS Letters*, vol. 583, no. 12, pp. 2009–2014, 2009.
133. X. Xu, A. J. Kriegel, Y. Liu et al., "Delayed ischemic preconditioning contributes to renal protection by upregulation of miR-21," *Kidney International*, vol. 82, no. 11, pp. 1167–1175, 2012.
134. J. Y. Wang, Y. B. Gao, N. Zhang et al., "miR-21 over expression enhances TGF- $\beta$ 1-induced epithelial-to-mesenchymal transition by target smad7 and aggravates renal damage in diabetic nephropathy," *Molecular and Cellular Endocrinology*, vol. 392, no. 1-2, pp. 163–172, 2014.

135. T. Sun, Y. Liu, L. Liu, et al. “MicroRNA-544 attenuates diabetic renal injury via suppressing glomerulosclerosis and inflammation by targeting FASN,” *Gene*, vol. 723, p. 143986, 2019.
136. Y. Li, D. Huang, L. Zheng, H. Et al. “Effect of microRNA-141 on the development of diabetic nephropathy through regulating AKT/AMPK signaling pathway by targeting insulin receptor substrate 2,” *Journal of Cellular Biochemistry*, vol. 120, no. 5, pp. 8008–8015, 2018.
137. B. Wang, P. Koh, C. Winbanks et al., “miR-200a prevents renal fibrogenesis through repression of TGF- $\beta$ 2 expression,” *Diabetes*, vol. 60, no. 1, pp. 280–287, 2011.
138. M. Xiong, L. Jiang, Y. Zhou et al., “The miR-200 family regulates TGF- $\beta$ 1-induced renal tubular epithelial to mesenchymal transition through Smad pathway by targeting ZEB1 and ZEB2 expression,” *American Journal of Physiology Renal Physiology*, vol. 302, no. 3, pp. F369–F379, 2012.
139. Q. Wang, Y. Wang, A. W. Minto et al., “MicroRNA-377 is upregulated and can lead to increased fibronectin production in diabetic nephropathy,” *3e FASEB Journal*, vol. 22, no. 12, pp. 4126–4135, 2008.