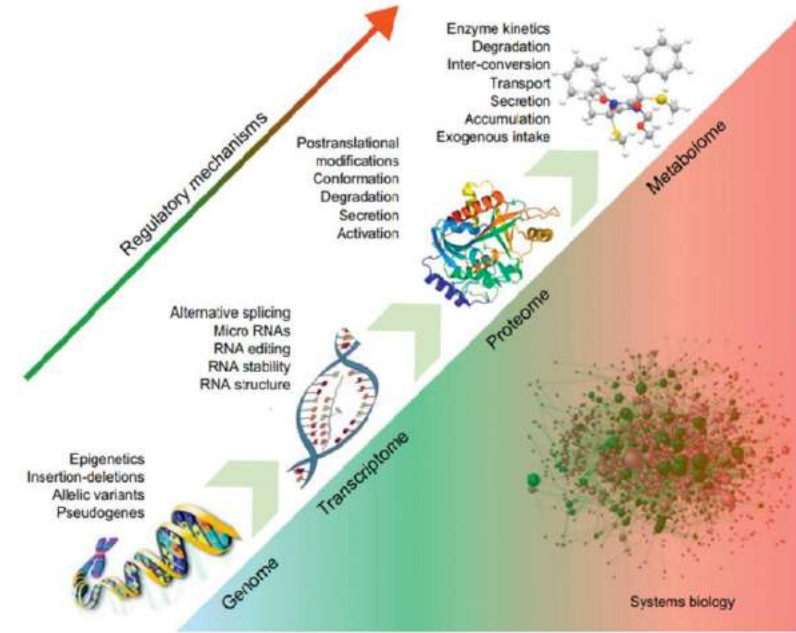


# Tip 2 Diyabet İçin Moleküler Biyobelirteçler (PROTEOMİKS)

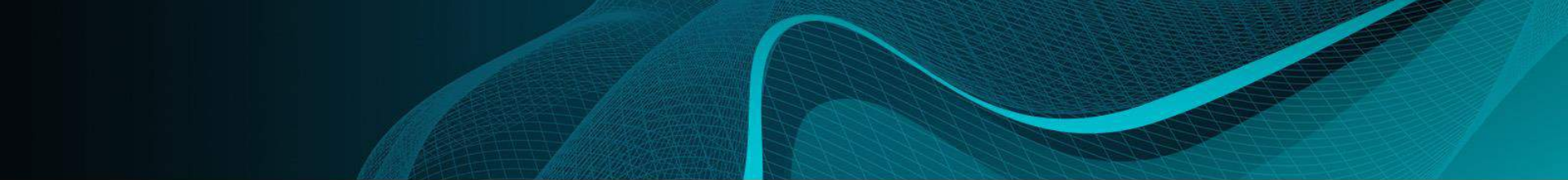
DR G. GONCA RK  
İK ATATÜRK EĞİTİM VE ARAŐTIRMA HASTANESİ

Genetik alt yapımız bir hastalığa yatkınlığımızı genom seviyesinde açıklamaya çalışsa da bunu transkriptomik, proteomik, metabolomik, hatta epigenetik gibi diğer alanlarla birlikte çalışarak hastalığı açıklamaya çalışmak daha doğru bir yaklaşım olacaktır.

Bu yaklaşımın amacı molekülerden sistem seviyesine gelerek bütünsel bir sistem çalışması yapmaktır.



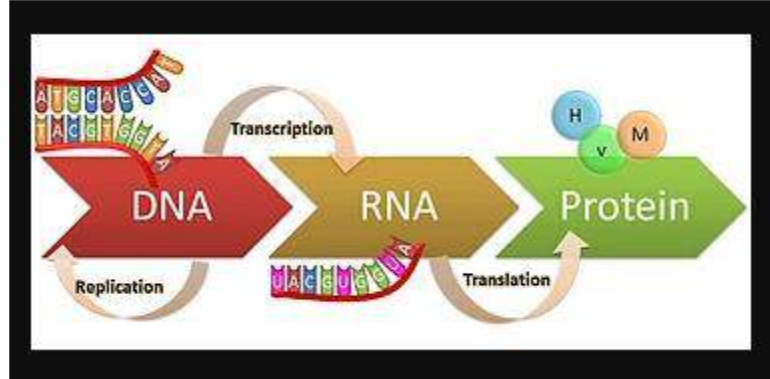
Genom çalışmalarından transkriptom, proteom ve metabolom bir araya gelerek sistem biyolojisini oluştururlar.

- 
- Proteomiks çalışması yapılabilmesi için o organizmanın genom çalışmasının tamamlanmış olması gerekir.
  - 2003 yılında insan genom taslağı tamamlandı (insan DNA'sının baz çifti dizilimi açığa çıkartılarak, dizi içerisinde yer alan genlerin yeri bulundu).

Hood, L., & Rowen, L. (2013). The human genome project: big science transforms biology and medicine. *Genome medicine*, 5(9), 79.

# PROTEOMİKS

- Protein sözcüğünün sonuna eklenen ~omik eki Yunancadaki ~ome son ekinden türemiştir ve eklendiği kelimeye tümlük, bütünlük anlamı kazandırmaktadır.
- “Proteom” belli bir yer ve zamandaki bir organizma veya sistemde üretilen veya modifiye edilen tüm proteinleri ifade etmektedir.
- Proteomiks ise herhangi bir organizmada; zaman, mekân, doku veya organizma düzeyinde proteinlerin yapı, fonksiyon ve etkileşimlerini inceleyen bilim dalına denir.

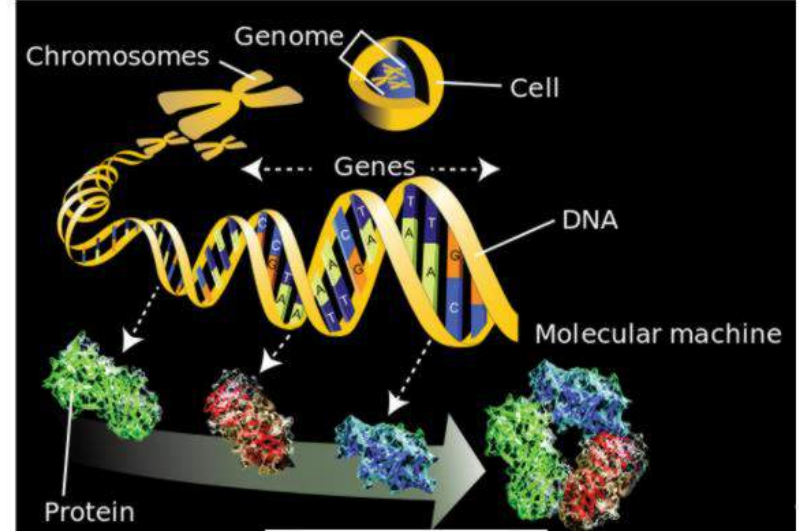


# Genomiks vs Proteomiks

Genomiks, DNA'dan protein oluşumuna kadar devam eden süreci incelerken,

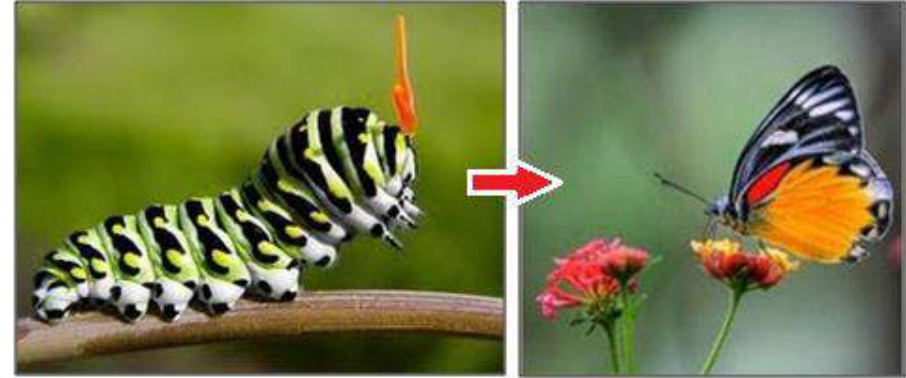
Proteomiks translasyon basamağını ve sonrasında sentezlenen proteinlerin kimyasal modifikasyonlarını "post-translasyonel modifikasyonlar"(PTM) incelemektedir.

Bu modifikasyonlar protein ömrünü, lokalizasyonunu, protein etkileşimlerini ve aktivitesini etkileyen çok önemli görevlere sahiptirler.



Proteom dokulara ve hücrelere, hücre döngüsünün evrelerine, iç-dış uyarılara ve çevre koşullarına ve benzeri durumlara göre farklılık gösteren dinamik bir yapıdır

Genetiği değişmeyen bir organizmanın farklı zaman ve mekanda farklı bir görüntüye sahip olmasını proteomdaki zaman ve mekana bağlı değişime bağlamak mümkündür



*Şekil-1:*

*Genom aynı, proteom farklı*

*(<http://www.populerbilgi.com/resimler/tirtil/pages/tirti-1-011.html> ve <http://www.mailce.com/kelebek-nesli-detehlikede.html> adreslerinden alınarak düzenlenmiştir.)*



translating  
the code of life

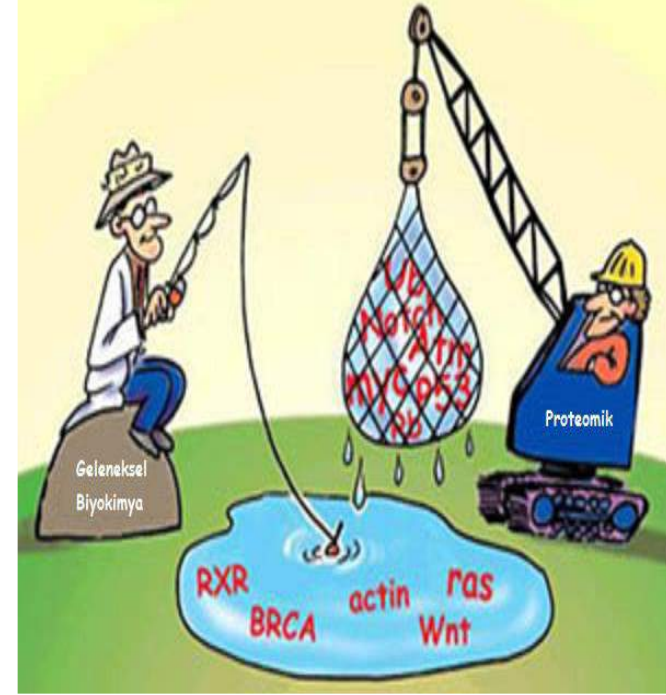


Proteomiks çalışmalarının uluslararası işbirliği ile geliştirilebilmesi ve İnsan Proteom Projesi'nin hayata geçirilebilmesi amacıyla, 2001 yılında İnsan Proteom Organizasyonu (HUPO) kurulmuştur.

HUPO'nun birincil hedefi, insan genomunda protein kodladığı tahmin edilen yaklaşık 20.300 genin her biri için en az bir protein ürününün tanımlanması, ve translasyon sonrası modifikasyon, tek amino asit polimorfizmleri ve alternatif uç birleştirme gibi mekanizmalar sonucu ortaya çıkan izoform örneklerinin belirlenmesi olarak tanımlanmaktadır

# Proteomiks Çalışmalarında Kullanılan Teknikler

- İki yönlü jel elektroforezi gibi elektroforetik yöntemler.
- İki yönlü sıvı kromatografi gibi kromatografik yöntemler.
- Matrix Assisted Laser Desorption Ionization- Time Of Flight (MALDI-TOF) gibi kütle spektrometrik yöntemler.
- Yüksek verimli teknoloji: Mikroarray yöntemi
- Nükleer Manyetik Rezonans tekniği (NMR)





Proteomik değerlendirme için hem in vitro hem de in vivo hücre sıvıları veya dokuları kullanılabilir.

- Serum
- Plazma (eritrosit membran, lökosit)
- İdrar
- Asidik sıvı veya plevral sıvı
- Tükrük
- Bronş sıvısı, Vitröz sıvı
- Prostatik akıntı
- Doku (kalp, böbrek, KC, kas, yağ dokusu, pankreas adacık ve  $\beta$ - hücreleri)

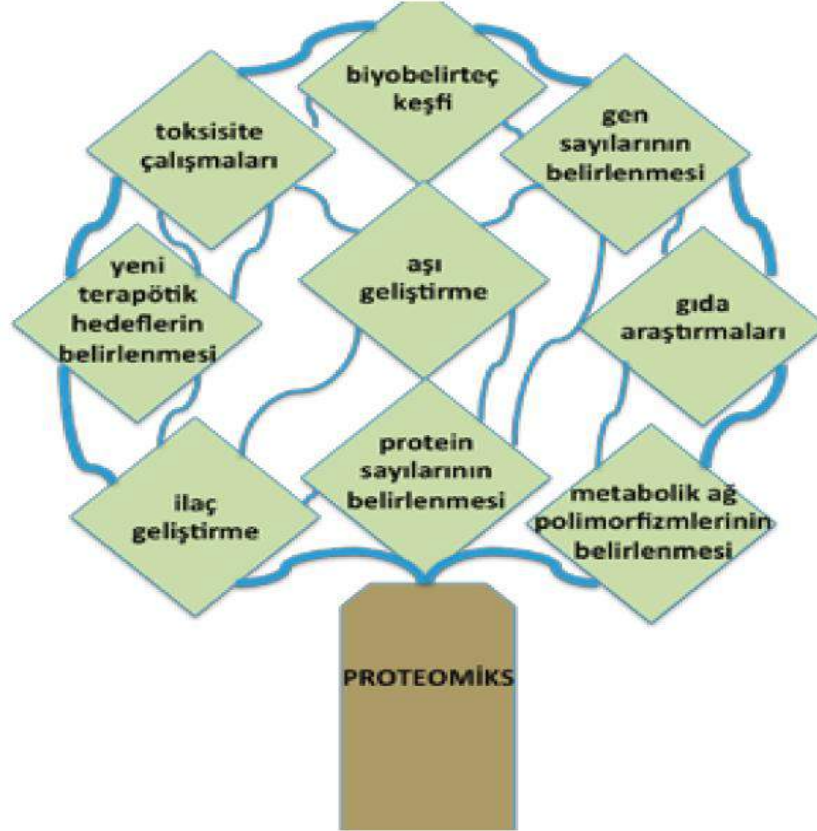
Post-transyonel deęişikliklere yönelik proteomiks incelemeler:

- Glikasyon
- Oksidasyon
- Fosforilasyon
- Nitrasyon

# Proteomiks çalışmalarının amacı

- Çalışmalarda araştırmamanın sorusu ve amacına göre proteomiks çalışmanın yapısı belirlenmektedir
- Bir biyolojik süreçte ne zaman, nerede, ne kadar miktarda hangi proteinin ifade edildiğine,
- Deneysel etken sonucu (örneğin ilaç uygulanan bir hücrenin) kontrol grubuna göre hangi proteinin ifadesinin artıp azaldığına,
- Proteinde meydana gelen post translasyonel modifikasyonlarına (protein sentezlendikten sonra nasıl bir değişime uğradığı),
- Bir proteinin diğer proteinle nasıl bir etkileşim içerisinde olduğu,
- Enfeksiyonel hastalıklara karşı geliştirilen antikörlerin karakterizasyonu gibi

# Proteomiks uygulama alanları



# İdeal bir biyobelirteç nasıl olmalıdır ?

- Belirli bir hastalık için özgün olması,
- Bu hastalığın erken tanısını mümkün kılması,
- Hastalık gelişimi ile miktarında değişim meydana gelmesi,
- İlaç tedavisine cevabın takip edilebilmesine olanak tanınması,
- Kolayca elde edilebilecek biyolojik materyalde çalışılabilmesi,
- Duyarlı, spesifik, tekrarlanabilir, ve kolay uygulanabilir bir metod ile belirlenebilmesi

İstenen duyarlılık ve özgünlüğün artık tek bir biyobelirteç yerine, hastalıkların farklı yönlerini yansıtabilecek “biyobelirteç panelleri” ile sağlanmaktadır.

Map 3.1 Estimated total number of adults (20–79 years) with diabetes in 2019

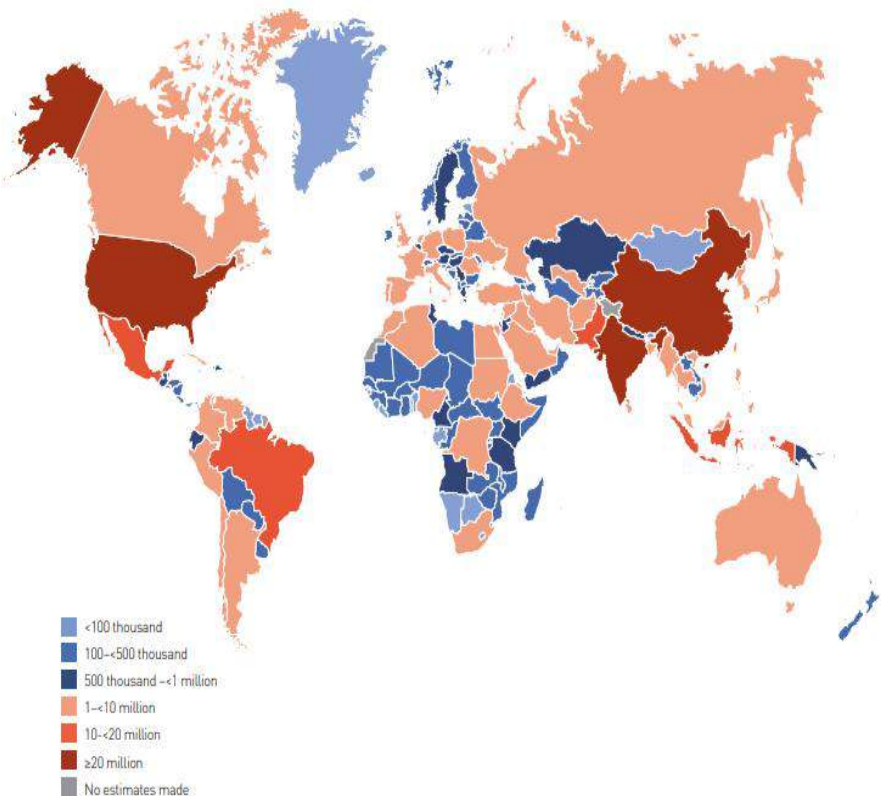


Table 3.1 Global diabetes estimates and projections

At a glance	2019	2030	2045
Total world population	7.7 billion	8.6 billion	9.5 billion
Adult population (20–79 years)	5.0 billion	5.7 billion	6.4 billion
<b>Diabetes (20–79 years)</b>			
Global Prevalence	9.3%	10.2%	10.9%
Number of people with diabetes	463.0 million	578.4 million	700.2 million
Number of deaths due to diabetes	4.2 million	-	-
Total health expenditures for diabetes <sup>i</sup>	USD 760.3 billion	USD 824.7 billion	USD 845.0 billion
<b>Hyperglycaemia in pregnancy (20–49 years)</b>			
Proportion of live births affected	15.8%	14.0% <sup>ii</sup>	13.3% <sup>ii</sup>
Number of live births affected	20.4 million	18.3 million	18.0 million
<b>Impaired glucose tolerance (20–79 years)</b>			
Global prevalence	7.5%	8.0%	8.6%
Number of people with impaired glucose tolerance	373.9 million	453.8 million	548.4 million
<b>Type 1 diabetes (0–19 years)</b>			
Number of children and adolescents with type 1 diabetes	1,110,100	-	-
Number of newly diagnosed cases each year	128,900	-	-

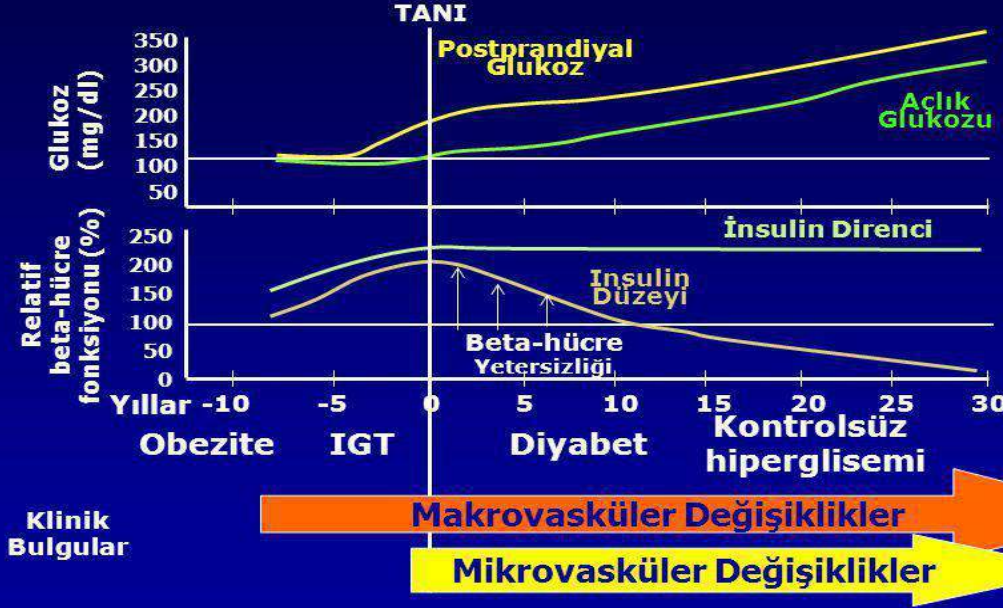
<sup>i</sup> Health expenditures for people with diabetes are assumed to be on average two-fold higher than people without diabetes.

<sup>ii</sup> Age-adjusted prevalence.

If current trends continue,  
**700 million adults**  
**will have diabetes by 2045.**

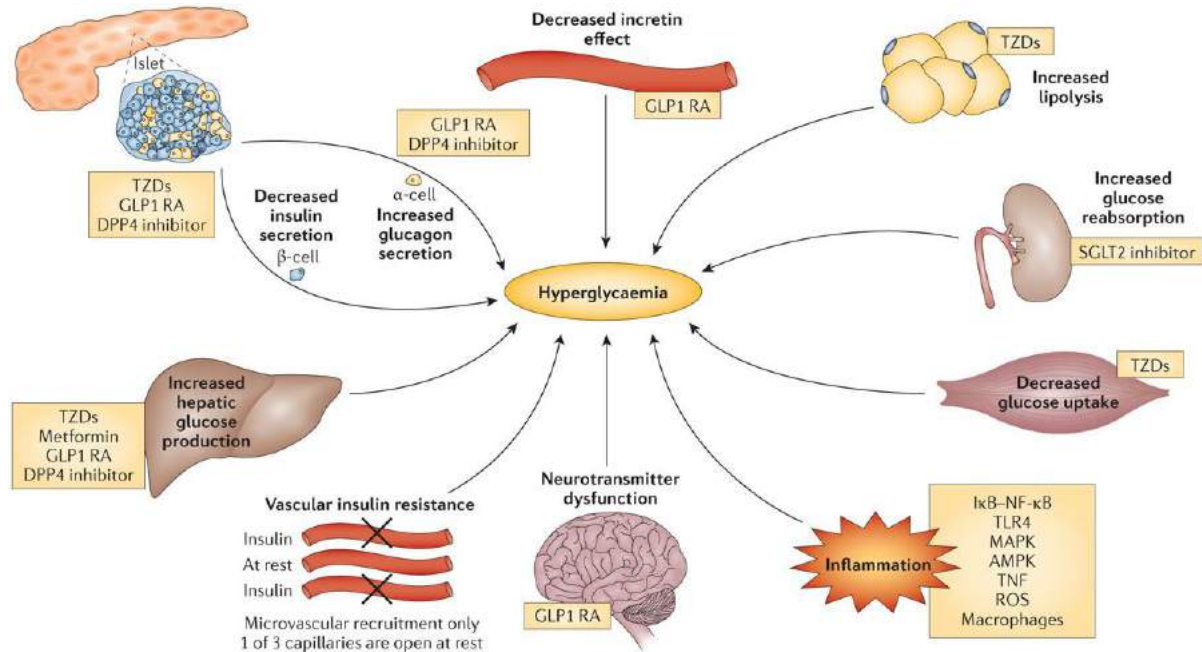
The largest increases will take place where economies are moving from low- to middle-income status.

# Tip 2 Diyabetin Doğal Seyri



Adapted from *Type 2 Diabetes BASICS*. Minneapolis, MN: International Diabetes Center; 2000.

Komplikasyonların T2DM tanısından önce başlaması nedeni ile yüksek riskli grupların erken dönemde belirlenmesi önemlidir



Nature Reviews | Disease Primers

DeFronzo, R. A. *et al.* (2015) Type 2 diabetes mellitus  
*Nat. Rev. Dis. Primers* doi:10.1038/nrdp.2015.19

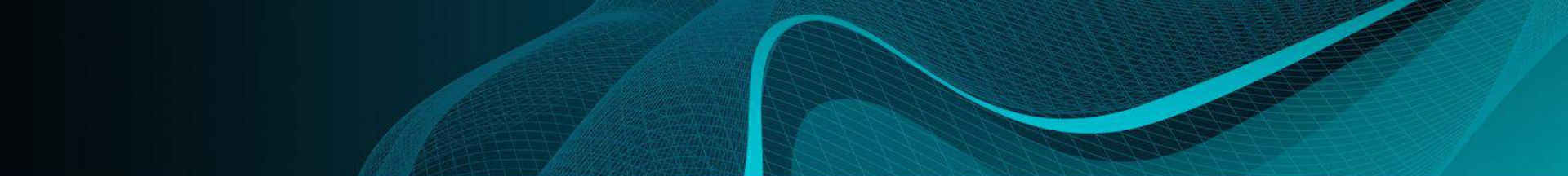
# Diyabette Proteomiks Kullanım Alanları

Erken tanı, diyabet gelişimini öngörme

Diyabetin takibi ve tedavisi

Komplikasyonların gelişimi için risk belirleme

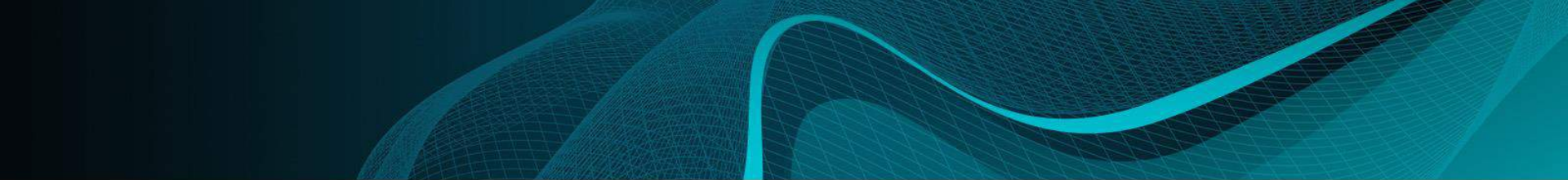




Erken tanı, diyabet  
gelişimini  
öngörme

- KC glukoneogenez kaynağı olması nedeni ile T2DM patogenezinde santral rol oynamakta
- Hiperinsülinemiden kaynaklanan end-organ hasarında hedefdir
- KC hasarını gösteren biyobelirteçler T2DM tanısı konmadan önce disglisemili hastalarda artmıştır.
- ALT ,
- GTT ,
- Ferritin,
- PAI 1 (plasminogen activator inhibitor 1),
- Doku plasminogen aktivator (tPA) antigen,
- C-reaktif protein (CRP),
- Trigliserit

Sattar N, et al. Diabetes 2007;56:984 –91.

- 
- 6000 hastada 64 aday protein'den 6 biyobelirteç 5 yıl içinde T2DM gelişimini tahmin etmiştir.
  - Adiponektin,
  - CRP,
  - Ferritin heavy chain 1,
  - İnterleukin-2 receptorA (IL-2RA),
  - İnsulin
  - Glukoz
- 
- Kolberg JA, et al. Development of a type 2 diabetes risk model from a panel of serum biomarkers rom the Inter99 cohort. Diabetes Care 2009;32:1207–12.

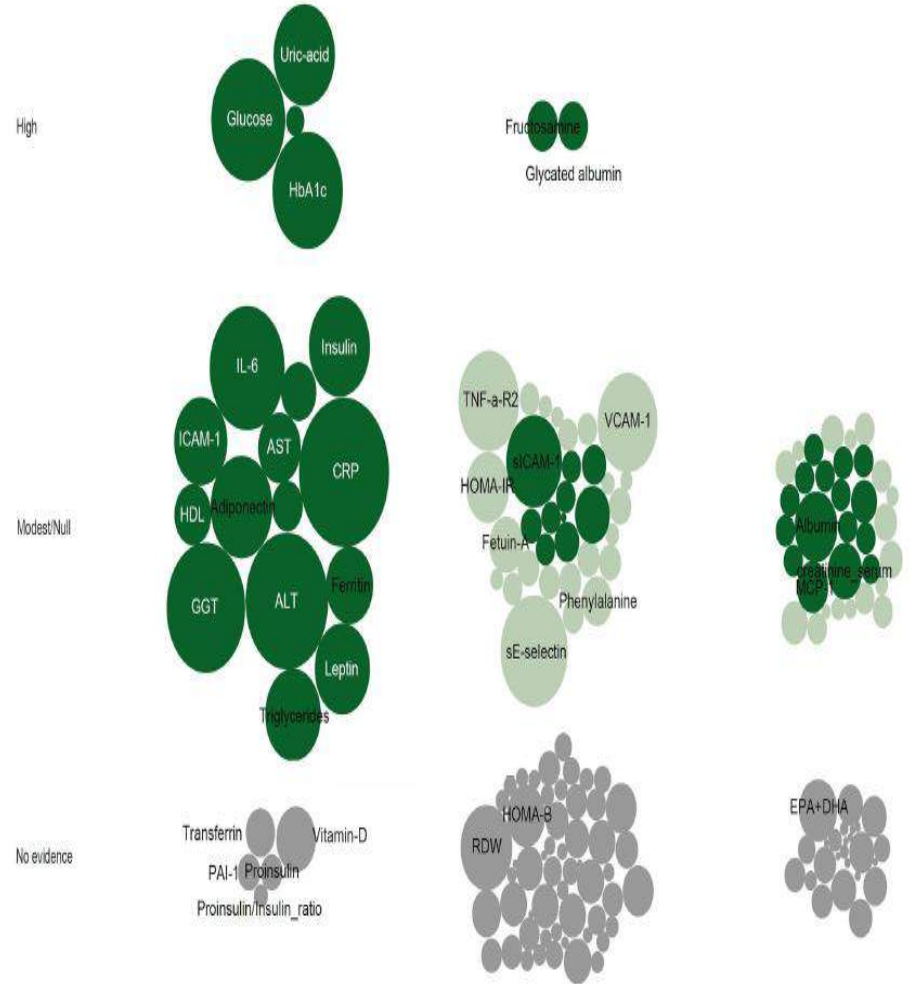


## Observational and Prediction Evidence for Biomarker-Type 2 Diabetes Relation

T2DM öngörmede etkili değil (transferrin, vitamin D, PAI-1, proinsulin and proinsulin/insulin oranı).

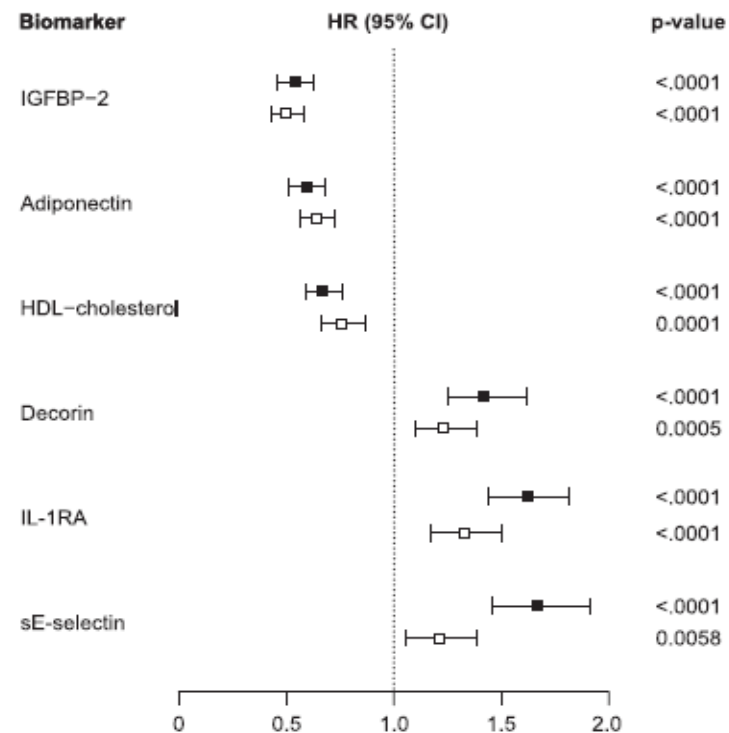
T2DM ile ilişkisi kuvvetli, ancak T2DM öngörmede orta-yüksek etkili (AKŞ veya 2. st glukoz, HbA1c, fruktosamine ve glikozillenmiş albümin).

Ürik asit T2DM ile ilişkisi ve öngörmede en fazla etkili.



## A Panel of 6 Biomarkers Significantly Improves the Prediction of Type 2 Diabetes in the MONICA/KORA Study Population (Monitoring of Trends and Determinants in Cardiovascular Diseases/ Cooperative Health Research in the Region of Augsburg)

Thorand B. *Et al. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 2021, Vol. 106, No. 4, e1647–e1659



**Figure 1.** Black squares: Monitoring of Trends and Determinants in Cardiovascular Diseases/Cooperative Health Research in the Region of Augsburg (MONICA/KORA) case-cohort study. White squares: KORA S4 cohort study. Hazard ratios (HRs) are adjusted for the adapted German Diabetes Risk Score variables (age, sex, body mass index, survey, hypertension, physical activity, smoking status, coffee consumption, red meat consumption, whole-grain bread/muesli consumption, parental history of diabetes). The biomarkers are sorted by size of HR estimates in the MONICA/KORA case-cohort study.

## GDRS (Alman Diyabet Risk Skorlaması)

Yaş

Cinsiyet

BMI

Hipertansiyon

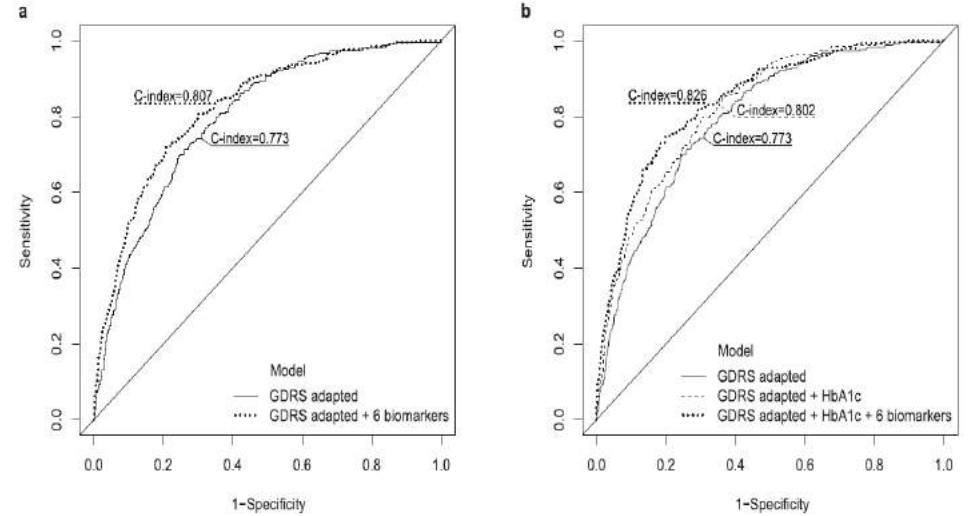
Fizik aktivite

Kırmızı et tüketimi

Tam tahıllı ekmek/müsli

Ailede diyabet öyküsü

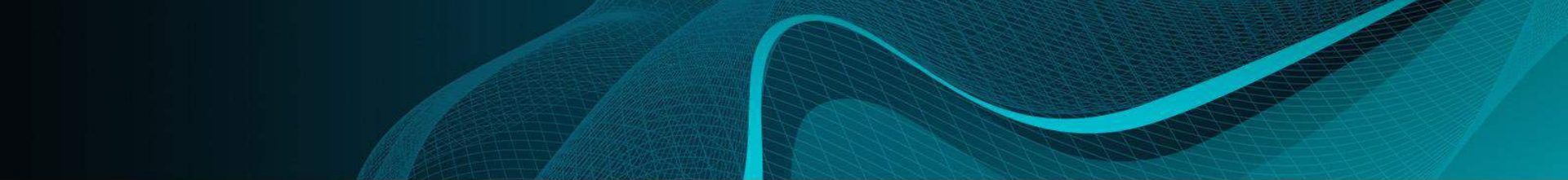
Sigara içimi



**Figure 2.** The adapted German Diabetes Risk Score ( $GDRS_{adapted}$ ) model includes the covariates age, sex, body mass index, survey, hypertension, physical activity, smoking status, coffee consumption, red meat consumption, whole-grain bread/muesli consumption, and parental history of diabetes.

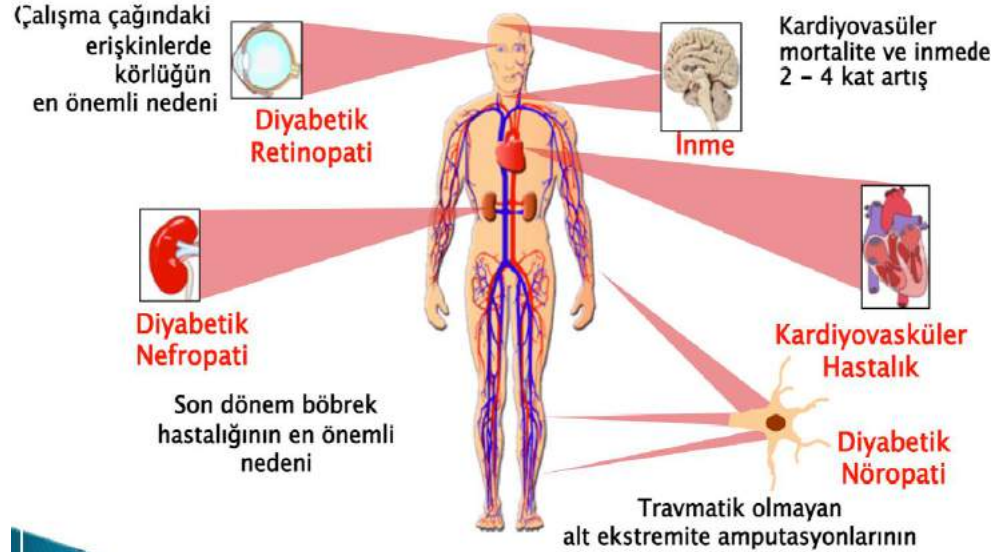
- 1999-2016 yılları arasında
- 47 aday biyobelirteçten 6'sı GDRS klinik risk skorlamasından daha üstün bir şekilde T2DM gelişimini tahmin ettirmiştir.
- IL-1RA,
- IGFBP-2,
- sE-selectin,
- Adiponektin,
- HDL kolesterol,
- Decorin



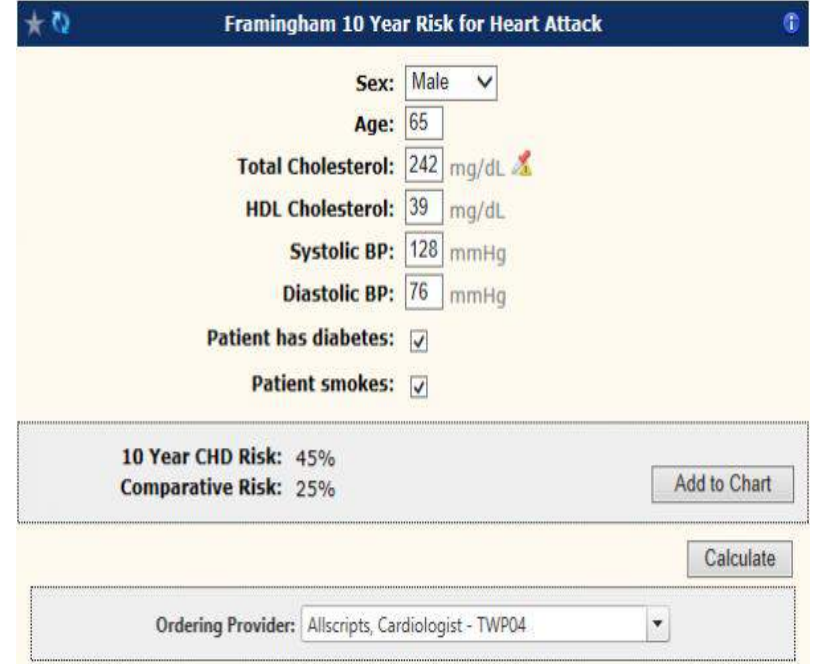
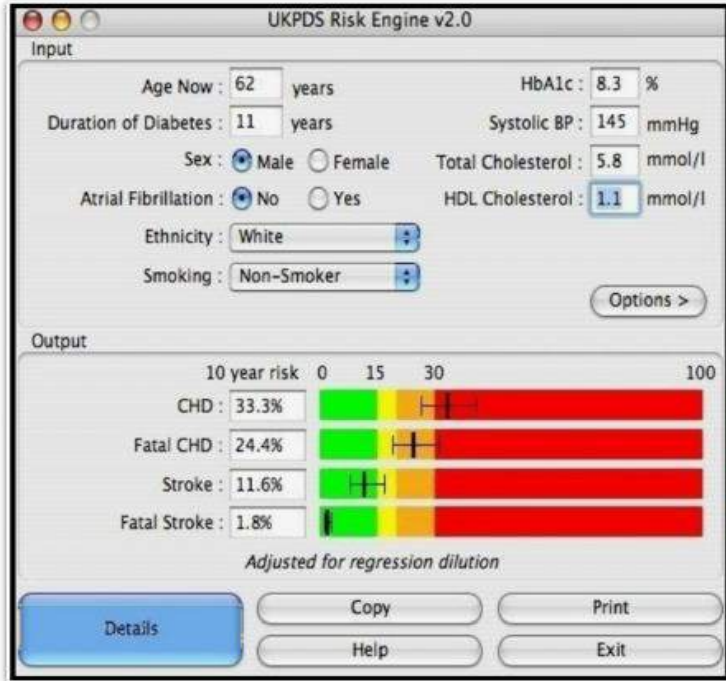


Kardiyak  
biyobelirteçler

# Diyabet: Komplikasyonların Önemi



Rawshani A, Rawshani A, Gudbjornsdottir S. Mortality and cardiovascular disease in type 1 and type 2 diabetes. *N Engl J Med*.2017;377:300-301.



Framingham risk skoru ve UKPDS (United Kingdom Prospective Diabetes Study) gibi doğrulanmış modeller, T2DM'li bireylerde KV riskin hesaplanmasında sınırlı etkinlik göstermiştir.

Patogenez	Biyobelirteçler	Prediyaabet ve T2DM'li hastalarda KV risk ile ilişki
Kardiyak biyomekanik stres	NPs (atrial NP, NT-proANP, brain NP, NT-proBNP)	Yeni başlangıçlı KAH ve MACE için bağımsız prediktör KY için bağımsız prediktörler AF ve ani ölüm için bağımsız prediktörler Mikro ve makrovasküler komplikasyonlar Kötü kardiyak remodeling için prediktör
Kardiyak miyosit nekrozu	hs-Tn I/T (high-sensitive troponin)	MACE için bağımsız prediktör KV ölüm ve KY için prediktör T2DM'un yol açtığı KMP için prediktör Renal sonuçlar için prediktör
	H-FABP (Heart-type fatty acid-binding protein)	Uzun-dönem mortalite ve renfarkt için prediktör Prematür ölüm için prediktör Asemptomatik kardiyak iskemi için prediktör
İnflamasyon	sST2 (soluble suppressor tumorigenicity-2)	KV hastalık ve ve KV mortalite için prediktör KY ve KY-ilişkili sonuçlar için prediktör KV risk ve mortalite için prediktör
	GDF-15 (growth/differential factor-15)	KV risk ve mortalitenin öngörülmesi Yeni başlangıçlı T2DM'in öngörülmesi AKS/MI'da MACE'lerin öngörülmesi KY ve KY-ilişkili sonuçların öngörülmesi T2DM'in yol açtığı KMP'nin öngörülmesi

Patogenez	Biyobelirteçler	Prediabetes ve T2DM'li hastalarda KV risk ile ilişki
Fibroziz	Galektin	T2DM'in yol açtığı KMP'nin öngörülmesi MACE ve tüm nedenlere bağlı mortalitenin öngörülmesi
Miyokardiyal hipertrofi	Kardiyotrofin-1	T2DM'in yol açtığı KMP'nin öngörülmesi
Ekstrasellüler matriks remodeling	Ekstrasellüler matriks biyobelirteçler	HFpEF, KY-ilişkili sonuçlar, MACE'nin öngörülmesi

Berezin A, Diabetes Ther (2020) 11:1271–1291

## Protein biomarkers for the prediction of cardiovascular disease in type 2 diabetes

The SURrogate markers for Micro- and Macro-vascular hard endpoints for Innovative diabetes Tools (SUMMIT) konsorsiyumu

1,123 KVH ve 1,187 T2DM kontrol vakası, 5 yıl takipte 42 aday KV biyobelirteçten 6 tanesi riski öngördürmüştür:

N-terminal pro-B-type natriuretic peptide,  
High-sensitivity troponin T,  
IL-6,  
IL-15,  
Apolipoprotein C-III,  
Soluble receptor for AGE.

Framingham skorlaması ile birlikte eGFR, insülin tedavisi ve HbA1c riskin belirlenmesine katkıda bulunacaktır.

**Table 3** Biomarkers selected by forward selection and a simple logistic regression model adjusted for all covariates and biomarkers selected at least once by forward selection

Normalised biomarker	Percentage of outer folds in which retained	Effect in model including all biomarkers selected in at least one outer training fold	
		OR per SD (95% CI)	Wald <i>p</i> value
NT-proBNP	100	1.69 (1.47, 1.95)	<0.001
apoCIII	100	0.79 (0.70, 0.88)	<0.001
hsTnT	100	1.29 (1.11, 1.51)	0.001
IL-6	100	1.13 (1.02, 1.25)	0.021
sRAGE	100	0.84 (0.76, 0.94)	0.001
IL-15	100	1.15 (1.01, 1.31)	0.032
Factor VII	26		
Osteopontin	18		
TNF- $\beta$	8		
Fetuin A	2		
Stem cell factor	2		

CI, confidence interval

## Identifying Novel Biomarkers for Cardiovascular Events or Death in People With Dysglycemia

Outcome Reduction With Initial Glargine Intervention trial (ORIGIN)

Biyobanka serum örneklerinden 8401 vakada >6 yıl takipte 237 biyobelirteç değerlendiriliyor.

- (1) MI, inme, KV ölüm
- (2) KY hastaneye yatış veya revaskularizasyon
- (3) Tüm nedenlere bağlı ölüm

Growth differentiation factor 15, Trefoil factor 3, Alfa-2-macroglobulin, macrophage derived chemokine, YKL-40, insulin-like growth factor-binding protein 2, Kromogranin-A MI, inme, KV ölüm ile ilişkili iken,

**(NT-proBNP, angiotensin 2, and glutathione S transferase  $\alpha$ )** Son 3 tanesi tüm sonuçlar ile ilişkilendirilmiştir.

Table 3. Independent Biomarkers of Outcomes in All 8401 Participants

Risk Factor	CV Composite, HR (95% CI)*	Expanded CV Composite, HR (95% CI)*	Death, HR (95% CI)*
<b>Clinical Factors</b>			
Previous CV event	1.45 (1.28–1.65)	1.70 (1.54–1.87)	1.18 (1.04–1.33)
Albuminuria	1.07 (0.95–1.21)	1.07 (0.98–1.17)	0.97 (0.86–1.10)
Men	1.45 (1.26–1.66)	1.57 (1.41–1.75)	1.23 (1.07–1.41)
Men $\geq 55$ y, women $\geq 65$ y	1.14 (0.98–1.33)	1.14 (1.01–1.28)	1.37 (1.16–1.62)
LDL/HDL	1.10 (1.05–1.17)	1.09 (1.05–1.14)	1.09 (1.03–1.16)
Current smoking	1.45 (1.25–1.68)	1.32 (1.18–1.48)	1.55 (1.33–1.81)
Previous diabetes mellitus	1.13 (0.98–1.31)	1.05 (0.94–1.17)	1.24 (1.06–1.45)
Hypertension	1.18 (1.03–1.37)	1.32 (1.18–1.46)	1.10 (0.95–1.28)
<b>Identified biomarkers</b>			
NT-proBNP	1.29 (1.22–1.35)	1.23 (1.18–1.28)	1.22 (1.16–1.29)
Trefoil factor 3	1.22 (1.14–1.30)	NA	1.26 (1.18–1.34)
Growth/differentiation factor 15	1.19 (1.11–1.28)†	1.18 (1.12–1.24)	1.29 (1.20–1.38)
Apolipoprotein B	1.19 (1.12–1.26)	1.13 (1.08–1.18)†	1.13 (1.07–1.20)†
Angiotensin-2	1.17 (1.11–1.24)	1.19 (1.13–1.24)	1.19 (1.12–1.26)
Osteoprotegerin	1.18 (1.11–1.26)	1.17 (1.10–1.24)‡	1.21 (1.12–1.31)‡
$\alpha$ -2-macroglobulin	1.15 (1.08–1.22)	NA	1.20 (1.13–1.28)
Hepatocyte growth factor receptor	0.89 (0.85–0.95)†	0.91 (0.88–0.95)†	0.88 (0.83–0.93)†
Glutathione S transferase $\alpha$	0.86 (0.81–0.91)	0.92 (0.88–0.96)	0.84 (0.79–0.89)
Chromogranin A	0.85 (0.80–0.91)†	0.87 (0.83–0.91)†	0.86 (0.80–0.92)†
IGF binding protein 4	NA	1.11 (1.05–1.17)†	NA
Tenascin-C	NA	NA	1.14 (1.07–1.21)†
Selenoprotein P	NA	NA	0.86 (0.82–0.91)†
Macrophage-derived chemokine	NA	NA	0.84 (0.80–0.89)
YKL-40	NA	NA	1.11 (1.05–1.18)
IGF binding protein 2	NA	NA	1.08 (1.01–1.16)

Results are based on forward selection in the entire database. CV indicates cardiovascular; HDL, high-density lipoprotein; HR, hazard ratio; IGF, insulin-like growth factor; LDL, low-density lipoprotein; NA, not applicable; and NT-proBNP, N-terminal pro-B-type natriuretic peptide.

\*HRs are shown for categorical risk factors or per 1 SD higher level of a continuous or ordinal risk factor.

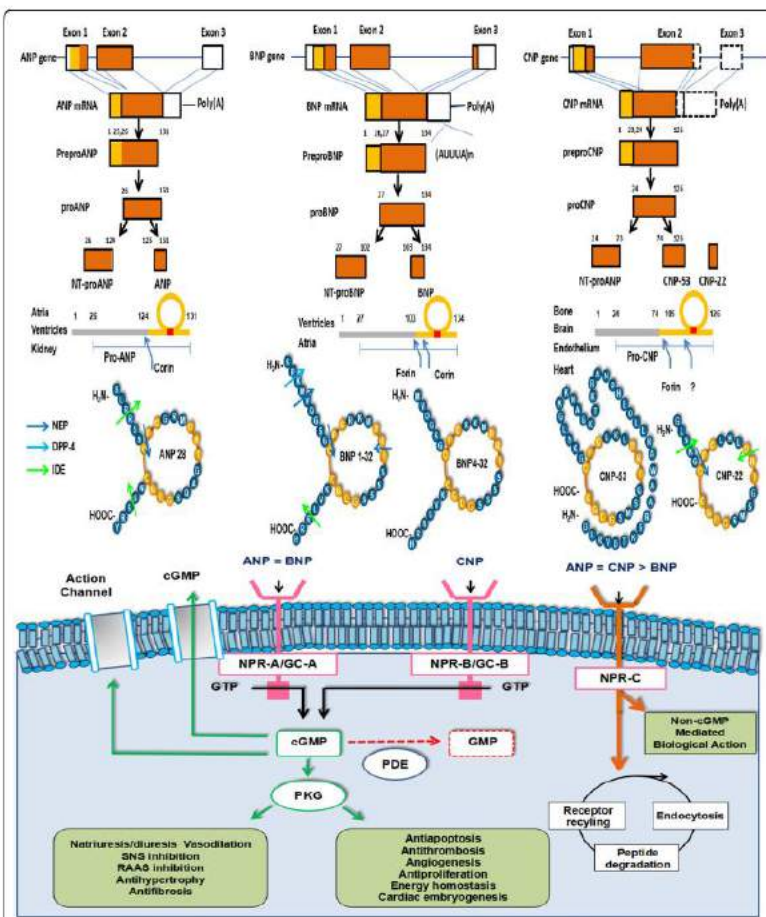
†Variables were not identified in the model building group.

‡Because the relationship between these variables and death varied by duration of follow-up (ie, there as an interaction with time), the HR for 5 years of follow-up is shown.

# Natriüretik peptidler

- Natriürez ve vazodilatasyonu kolaylaştırır
- Elektrolit ve su retansiyonu, vasküler geçirgenlik, kardiyak kontraktilite, kan basıncı değişiklikleri üzerinde sistemik homeostatik etkileri var
- Renin-angiotensin-aldosteron ve sempato-adrenal sistemin fizyolojik antagonisti
- Miyokardiyak gerilme ve sıvı yüklenmesine yanıt olarak sentezlenir ve salgılanır,
- İskemi , hipoksi, inflamasyon, hormonlar (katekolaminler, aldosteron, renin), büyüme faktörleri (TGF-beta, VEGF) NP üretimi, toplanması ve sekresyonu üzerinde etkileri vardır.





**Fig. 1** Synthesis, metabolism and function of natriuretic peptides. Abbreviations: ANP: atrial natriuretic peptide; BNP: B-type natriuretic peptide; cGMP: cyclic guanosine monophosphate; CNP: C-type natriuretic peptide; DPP-4: dipeptidyl peptidase-4; GC: guanylate cyclase; GTP: guanosine triphosphate; IDE: insulin degrading enzyme; NEP: neutral endopeptidase; NPR: natriuretic peptide receptor; NT-proANP: N-terminal proANP; NT-proBNP: N-terminal proBNP; NT-proCNP: N-terminal proCNP; PDE: phosphodiesterase; PKG: protein kinase; RAAS: renin-angiotensin-aldosterone system; SNS: sympathetic nervous system

Miyokard, atriyal (ANP),  
Beyin (BNP),  
Damar, kemik, beyin (C-tip NP)

Hipovolemi ve kan basıncını düşürürler  
Sempatik aktivitenin inhibisyonu  
Kardiyak hipertrofi ve fibrozisi azaltır  
Pulmoner hipertansiyonu azaltır  
İskelet kasında oksidasyonun uyarılması,  
SC adipoz dokuda lipolitik etki  
BNP ile ilgili hipoglisemik etki

# NP ölçülmesi önerilen durumlar

- Kalp yetmezliği (KY) tanısı
- Daha yüksek KV riske sahip hastaların sınıflandırılması
- KY başlangıç riskinin belirlenmesi
- KY dekompanzasyonu nedeni ile kısa süreli hastaneye tekrar başvurunun tahmin edilmesi
  
- Yaş ve renal yetersizlik ile düzeyler yüksek çıkabilir
- Obezitede ise düşük çıkabilir.

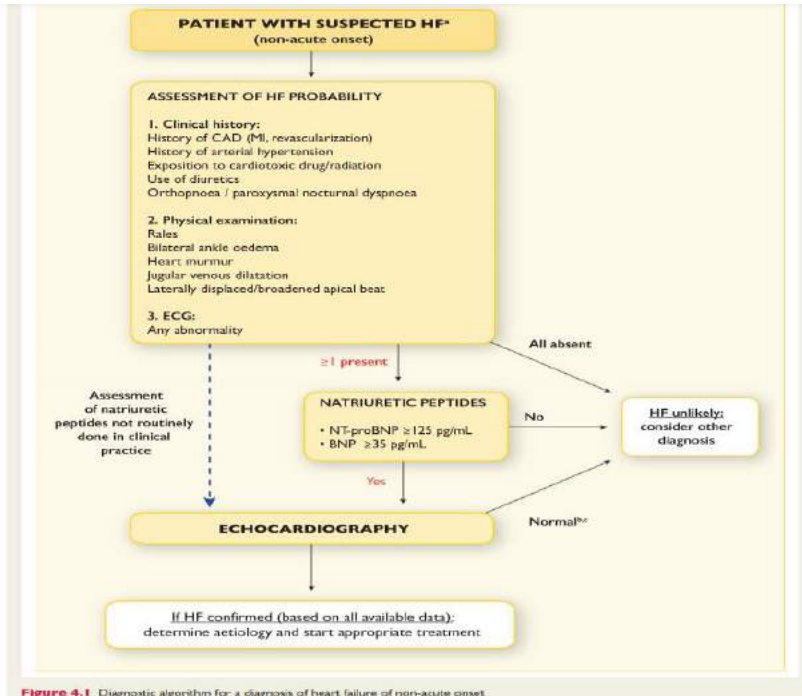


Figure 4.1 Diagnostic algorithm for a diagnosis of heart failure of non-acute onset

Akut olmayan durumda üst sınır değerler:  
B-type natriuretic peptide (BNP): 35 pg/mL  
N-terminal pro-BNP (NT-proBNP):125 pg/mL;

Akut durumlarda ise daha yüksek değerler kullanılmalıdır  
BNP: 100 pg/mL,  
NT-proBNP: 300 pg/ mL

KY dışlanmasında kullanılacak bir test

- Prediyabet ve T2DM'li HFrEF olup GLP-1 analogu (liraglutid) ve SGLT2 inhibitor (empagliflozin, dapagliflozin) ile tedavi altında iken KV sonuçlarda olumlu sonuçlar gözlenen hastalarda NTproBNP düzeylerinde azalma gözlenmiştir.

Nomoto H, et al. Plos One 2015;10(8):e0135854.

Verma S, et al. Circulation. 2019;140(21):1693–702.

Jensen J, et al. (Empire HF). Trials. 2019;20(1): 374.

- Aksine KY olmayan prediyabet/T2DM'li hastalarda glukoz homeostazında düzelme ve azalmış KV riske rağmen, serum NTproBNP düzeyleri değişmemiştir.

Ferrannini E, et al. Diabetes Care. 2017;40(6):771–6.

- Natriüretik peptidler diyabetli hastalarda riski mükemmel bir şekilde ortaya koyarken, KV tedavi planlanırken kararların alınmasında kesin bir şekilde etkili olmamışlardır.

Troughton RW et al. Effect of B-type natriuretic peptide-guided treatment of chronic heart failure on total mortality and hospitalization: an individual patient meta-analysis. Eur Heart J 2014;35: 1559 – 67.

- Kronik KY'de etiolojiye bakılmaksızın tanı konulması ve prognozun belirlenmesinde serum BNP veya N-terminal pro-B-tip natriuretikpeptid (NT-proBNP) kullanımı önerilmektedir.
- Acil durumlarda natriuretik peptid biyobelirteçler KY tanısının dışlanmasında yararlıdır.
- Yüksek düzeyler tüm nedenlere bağlı ve KV mortalite, morbiditede artmış risk ile birlikte dir.
- Aynı zamanda kardiyak troponin ölçülmesi akut KY'de prognozu belirlemede yardımcıdır.
- Taburculuk öncesi ve hastanede yatış esnasındaki NP düzeyindeki değişiklikler ölüm veya tekrar hastaneye KY nedeni ile başvuru riskinin önemli belirleyicileridir.

- Miyokardiyal fibrozis biyobelirteçleri (soluble ST2 receptor, galectin-3) hastaneye yatış ve ölüm riskini öngördürmekle birlikte, klinik kullanımdaki yerleri tam belirlenmemiştir.
- BNP ve NT-proBNP düzeyleri tedavi ile azalmakla ve klinik ile orantılı seyretmekle birlikte, biyobelirteç kılavuzluğunda tedavinin yönlendirilmesi hakkındaki veriler tam yeterli değildir.

# High sensitivity cardiac troponin (hsTn)

- Kardiyak troponinler AMI tanısı ve takibinde 1990'dan beri kullanılmakta
- High sensitivity cardiac troponin (hsTn) ise belirgin miyokardiyal hasarı ve bilinen KVH olmayan bireyleri tespit edebilir.
- *hsTn yüksekliğine yol açan mekanizmalar:*
  - Lipotoksisite, miyokardiyal steatoziz miyokardiyal strese yol açarak
  - Düşük dereceli inflamasyon, subklinik ateroskleroz
  - Oksidatif stres, endoplasmik retikulum ve mitokondriyal stres,
  - Prediyabet ve diyabetteki mikro- ve makro-vaskulopatiler
  - Endotel disfonksiyonu
  - Klinik olarak sessiz koroner plaklarda ruptür ve mikroembolizasyon



## • High-Sensitivity Cardiac Troponin Concentration and Risk of First-Ever Cardiovascular Outcomes in 154,052 Participants

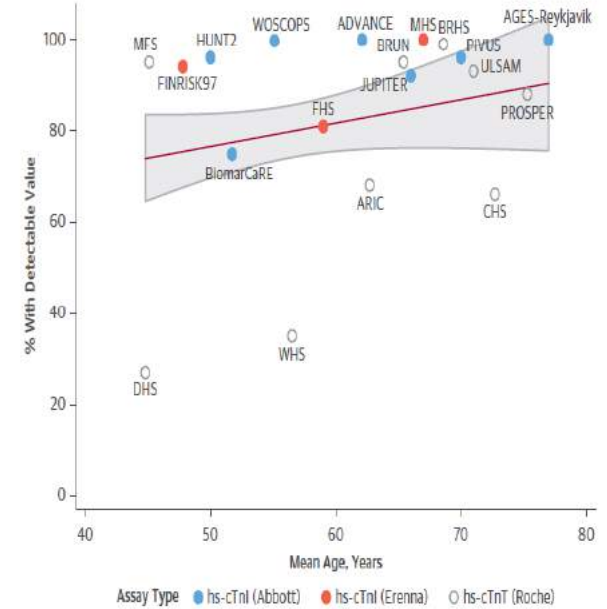
- 28 prospektif çalışma
- Önceden KVH olmayan 154,052 kişi
- Primer önleme çalışmalarından elde edilmiş KVH sonuçlar ile kardiyak troponin düzeyleri arasındaki ilişki değerlendiriliyor.

Genel popülasyonda, normal sınırlar içerisindeki yüksek troponin konsantrasyonu artmış KV risk ile birlikte.

Peter Willeit, Naveed Sattar, et. al.

J A C C VOL . 7 0 , NO. 5 , 2 0 1 7 : 5 5 8 – 6 8

FIGURE 2 Detectable Cardiac Troponin Concentrations



The percentage of participants with detectable cardiac troponin concentrations was categorized by mean age and assay type per included study. The red line and gray area represent the line of best fit and 95% confidence interval, respectively, with individual studies being weighted according to their number of participants. ADVANCE = Atherosclerotic Disease, Vascular Function and Genetic Epidemiology Study; AGES-Reykjavik = Age, Gene/Environment Susceptibility-Reykjavik Study; ARIC = Atherosclerosis Risk in Communities Study; BiomarCaRE = Biomarkers for Cardiovascular Risk Assessment in Europe; BRHS = British Regional Heart Study; BRUN = Bruneck Study; CHS = Cardiovascular Health Study; DHS = Dallas Heart Study; FHS = Framingham Heart Study; FINRISK97 = FINRISK 1997 Survey; hs-cTnT = high-sensitivity cardiac troponin T; HUNT2 = Nord-Trøndelag Health Study 2; JUPITER = Justification for the Use of Statins in Prevention: An Intervention Trial Evaluating Rosuvastatin Trial; MFS = MIDSPAN Family Study; MHS = Minnesota Heart Study; PIVUS = Prospective Investigation of the Vasculature in Uppsala Seniors Study; PROSPER = Pravastatin in Elderly Individuals at Risk of Vascular Disease Study; ULSAM = Uppsala Longitudinal Study of Adult Men; WHS = Women's Health Study; WOSCOPS = West of Scotland Coronary Prevention Study.

Kardiyak troponin deęerlerinin popölasyonun  
1/3 üst kısmında yer alan değerlerinde:

Herhangibir KVH risk için 43%  
KAH için 59%,  
Fatal KVH sonuçlar için 67%,  
İnme için 35% artmış risk söz konusudur

Peter Willeit, Naveed Sattar, et. al.

J A C C V O L . 7 0 , N O . 5 , 2 0 1 7 : 5 5 8 – 6 8

#### CENTRAL ILLUSTRATION Troponin and Risk of CVD Outcomes

##### Study Data

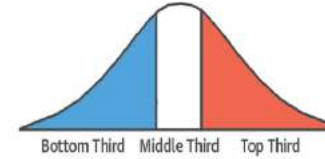
154,052 participants without CVD  
recruited by 28 prospective studies

##### Cardiac Troponin Concentration

Detectable in 80% with high-sensitivity assays

##### Risk of a First-ever CVD Event

Relative risk comparing top vs. bottom third



CVD	+43%
Fatal CVD	+67%
CHD	+59%
Stroke	+35%

Willeit, P. et al. J Am Coll Cardiol. 2017;70(5):558-68.

In assessing the association of cardiac troponin concentration and CVD outcomes, we identified 28 relevant studies. Thirds of cardiac troponin concentration were defined within each study separately. Study-specific relative risks for first-ever CVD outcomes were pooled by using a random effects meta-analysis, demonstrating that high cardiac troponin levels in the normal range are associated with increased CVD event risk. The distribution graph is illustrative and cardiac troponin distributions were not normally distributed. CHD = coronary heart disease; CVD = cardiovascular disease.

## High-sensitivity troponin I and incident coronary events, stroke, heart failure hospitalization, and mortality in the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study

KVH olmayan 54–74 yaş (n=8121).  
Ort. Takip süresi 15 yıl

hsTn I KVH, iskemik inme, ASKH, KY nedenli hastaneye yatış, global KVH ve tüm nedenlere bağlı mortalite ile güçlü ve pozitif olarak ilişkilidir.

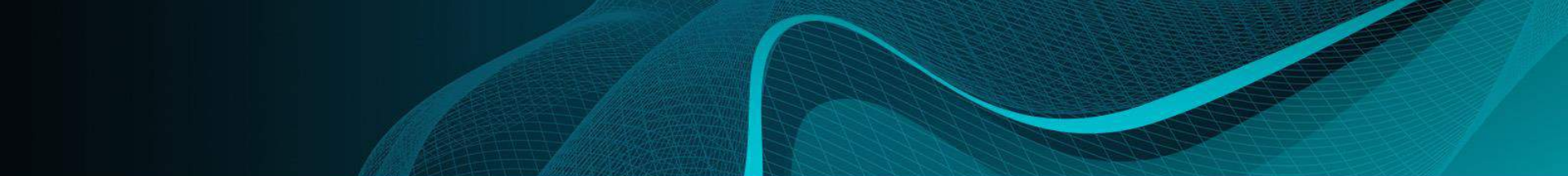
Yüksek hs-TnI düzeyleri genel popülasyonda geleneksel risk faktörlerinden bağımsız olarak artmış global KVH insidansı ile birlikte dir.

Association of incident events with hs-TnI by quintiles

		hs-TnI, ng/L					P trend for linearity
		Quintile 1 [0–1.3]	Quintile 2 [1.4–1.9]	Quintile 3 [2.0–2.5]	Quintile 4 [2.6–3.7]	Quintile 5 [3.8–2575.4]	
CHD	n/N	70/1726	93/1744	124/1514	142/1541	224/1596	<0.001
	Model 1	Reference	1.19 (0.87–1.63)	1.79 (1.33–2.41)	1.83 (1.36–2.46)	2.87 (2.17–3.81)	<0.0001
	Model 2	Reference	1.13 (0.82–1.55)	1.57 (1.16–2.13)	1.51 (1.12–2.04)	2.20 (1.64–2.95)	<0.0001
Ischemic stroke	n/N	34/1726	68/1744	52/1514	90/1541	145/1596	<0.001
	Model 1	Reference	1.89 (1.25–2.86)	1.62 (1.05–2.50)	2.51 (1.68–3.77)	4.03 (2.73–5.94)	<0.0001
	Model 2	Reference	1.73 (1.14–2.63)	1.39 (0.90–2.16)	1.99 (1.32–3.00)	2.99 (2.01–4.46)	<0.0001
ASCVD	n/N	102/1726	152/1744	170/1514	214/1541	340/1596	<0.001
	Model 1	Reference	1.37 (1.07–1.77)	1.73 (1.35–2.22)	1.97 (1.54–2.51)	3.13 (2.48–3.95)	<0.0001
	Model 2	Reference	1.28 (0.99–1.65)	1.51 (1.17–1.94)	1.60 (1.25–2.05)	2.36 (1.86–3.00)	<0.0001
HF	n/N	87/1726	127/1744	163/1514	216/1541	427/1596	<0.001
	Model 1	Reference	1.41 (1.07–1.85)	2.06 (1.59–2.69)	2.49 (1.93–3.22)	5.38 (4.23–6.84)	<0.0001
	Model 2	Reference	1.36 (1.03–1.79)	1.84 (1.41–2.40)	2.12 (1.64–2.75)	4.20 (3.28–5.37)	<0.0001
Global CVD	n/N	164/1726	246/1744	282/1514	359/1541	581/1596	<0.001
	Model 1	Reference	1.43 (1.17–1.74)	1.86 (1.53–2.26)	2.19 (1.81–2.65)	3.78 (3.16–4.54)	<0.0001
	Model 2	Reference	1.36 (1.11–1.66)	1.67 (1.37–2.03)	1.86 (1.53–2.25)	3.01 (2.50–3.63)	<0.0001
Death	n/N	257/1726	316/1744	331/1514	451/1541	628/1596	<0.001
	Model 1	Reference	1.06 (0.90–1.25)	1.22 (1.04–1.44)	1.41 (1.20–1.65)	1.98 (1.69–2.30)	<0.0001
	Model 2	Reference	1.07 (0.90–1.26)	1.18 (1.00–1.39)	1.34 (1.14–1.57)	1.83 (1.56–2.14)	<0.0001

Data are presented as hazard ratio (95% confidence interval). Model 1 was adjusted by age, sex, and race; model 2 was model 1 plus total cholesterol, HDL-C, SBP, use of antihypertensive medication, current smoking, and diabetes status. P trend was calculated for linear increase in log relative hazard with increasing quintiles. hs-TnI was measured with a chemiluminescent immunoassay (Architect Stat Troponin-I, Abbott, Abbott Park, IL).

Abbreviations: ASCVD: atherosclerotic cardiovascular disease; CHD, coronary heart disease; CVD, cardiovascular disease; HDL-C, high-density lipoprotein cholesterol; HF, heart failure hospitalization; hs-TnI, high-sensitivity cardiac troponin I; SBP, systolic blood pressure.



Troponin ölçümlerinin yaygın ve ekonomik olması , KV olayları yüksek duyarlılık ve özgüllük ile tahmin edebilmesi nedeni ile hs-cTnT/Is düzeyleri prediyabetik ve diyabetik hastalarda risk sınıflaması için ümit vermektedir.

NPs ve hs-cTnT klinik sonuçları tahmin etmede halen en önemli belirteçlerdir, diğer biyobelirteçlerin gelecekte daha büyük çalışmalarda dikkatlice araştırılması gereklidir



# Renal biyobelirteçler

- Diyabetik nefropati (DN) dünyada kronik böbrek yetersizliği ve son dönem böbrek yetersizliğinin (SDBH) en sık rastlanan nedenidir.
- Renal fonksiyonlar indirek olarak glomerüler hasarı gösteren:
  - Glomerular filtrasyon hızı (GFR),
  - Kreatinin klirensi, serum kreatinin,
  - Proteinuri ile takip edilmektedir.
- Ancak GFR ve kreatinindeki değişiklikler erken dönemde ortaya çıkarken proteinüri genellikle hastalığın geç döneminde gözlenmektedir.



Üriner proteomun % 30'u glomerular plasma filtrasyonu, % 70'i urogenital sistemden kaynaklanmaktadır.

Üriner biyobelirteçlerin DN erken dönemde kullanılması hastalığın erken döneminde ortaya çıkan tubuler lezyonların tespiti ve tedavisinde çok önemlidir.

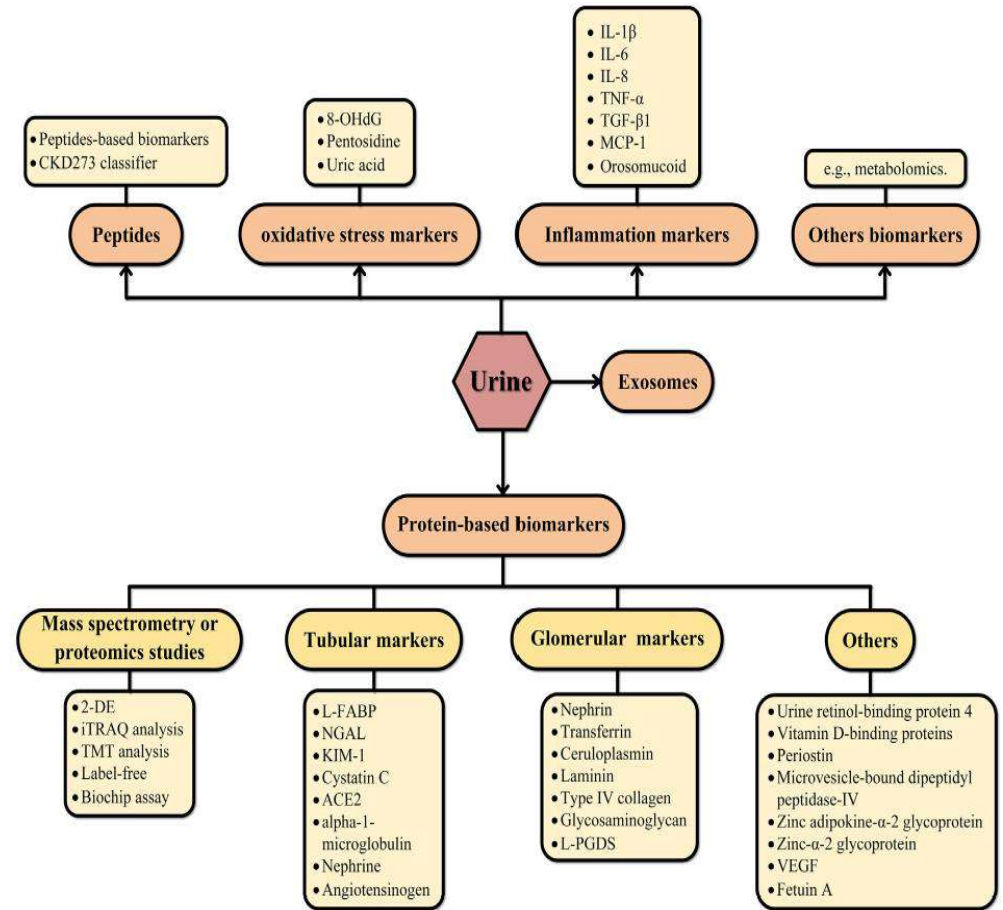


Fig. 1. Summary of the urine biomarkers for diabetic nephropathy.

## Tubuler hasarı gösteren biyobelirteçler

- Urinary liver fatty acid binding protein (L-FABP),
- Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL),
- N-acetyl- $\beta$ -D-glucosaminidase (NAG),
- Urinary/renal damage molecule-1 (KIM-1)
- Tubulointerstitial kalıcı hasarın oranını erken dönemde yansıtırlar ve hastalığın prognozunu gösterirler



- **L-FABP** proximal renal tubuler hücrelerde yer alır
- Glomerüler hasar veya proteinüri ortaya çıkmadan önce idrarda yüksek oranda atılmaktadır.
- **NGAL** akut böbrek hasarını erken dönemde duyarlı ve kesin bir şekilde gösterir
- İdrarda yüksek NGAL düzeyleri T2DM, mikro ve makroalbuminüri ve azalmış GFR ile ilişkilidir
-

# Diğer proteinler

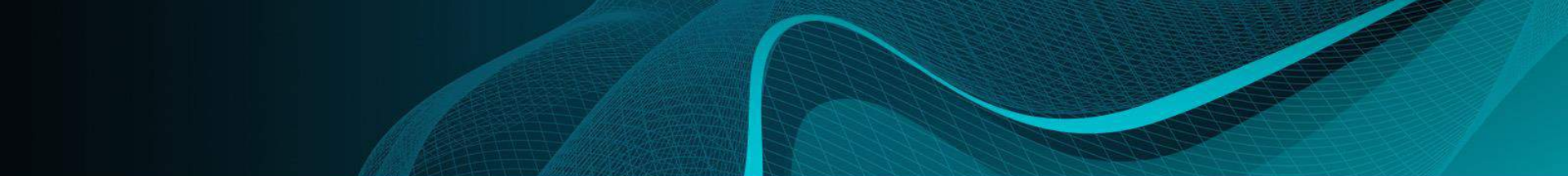
- Cystatin C (CST3), , tubuler hasarı gösterir, diyabetin erken döneminde pre-diyabetik nefropatide artar.
- Angiotensin-converting enzyme-2 (ACE2),
- Angiotensinogen
- Üriner alpha-1-microglobulin

# Glomerüler hasarı gösteren biyobelirteçler

- **Nefrin** glomeruler podosit proteinidir, non-invaziv erken dönemde ortaya çıkar.
- **Transferrin (TF)** glomerüler bariyerden kolaylıkla geçer, mikroalbuminürili ve vasküler komplikasyonları olan T2DM'li hastalarda artar.
- **Laminin** glomeruler bazal membranın bir parçasıdır, normal albuminürili hastalarda idrarda artmış olarak bulunabilir.
- **Seruloplazmin, glikozaminoglukanlar** DN erken dönemde artan diğer glomerüler biyobelirteçlerdir,
- Rutin klinik kullanıma girmemişlerdir.

## CKD273 (Liquid biopsy)

- Üriner 273 peptidden oluşan bir biyobelirteçtir,
- Böbrekte kollajen fragmanları (fibrozis ile ilgili olduğu düşünülen) , inflamasyon ile ilişkili proteinlerden oluşur,
- KBY'de oluşan moleküler değişiklikleri yansıtır.
- KBY'de hızlı ilerleme olduğunda progresyonu erken dönemde, mikroalbuminüri ortaya çıkmadan, GFR ve UAKR'dan önce gösterir.

- 
- **Early detection of diabetic kidney disease by urinary proteomics and subsequent intervention with spironolactone to delay progression (PRIORITY): a prospective observational study and embedded randomised placebo-controlled trial**
  - 1775 T2DM ve normoalbuminürik hasta
  - Yüksek riskli hastalara spironolakton veriliyor
  - Proteomik sınıflandırıcı olan CKD273 2. 5 yıllık takip içerisinde klinik özelliklerden bağımsız olarak mikroalbuminüriye ilerleme ve renal fonksiyonlarda bozulma ile ilişkili olarak bulunuyor
  - Yüksek riskli hasta grubunda spironolactone albuminuriye ilerlemeyi engellemiyor

Lindhart M ET AL. Lancet Diabetes Endocrinol. 2020 Apr;8(4):301-312

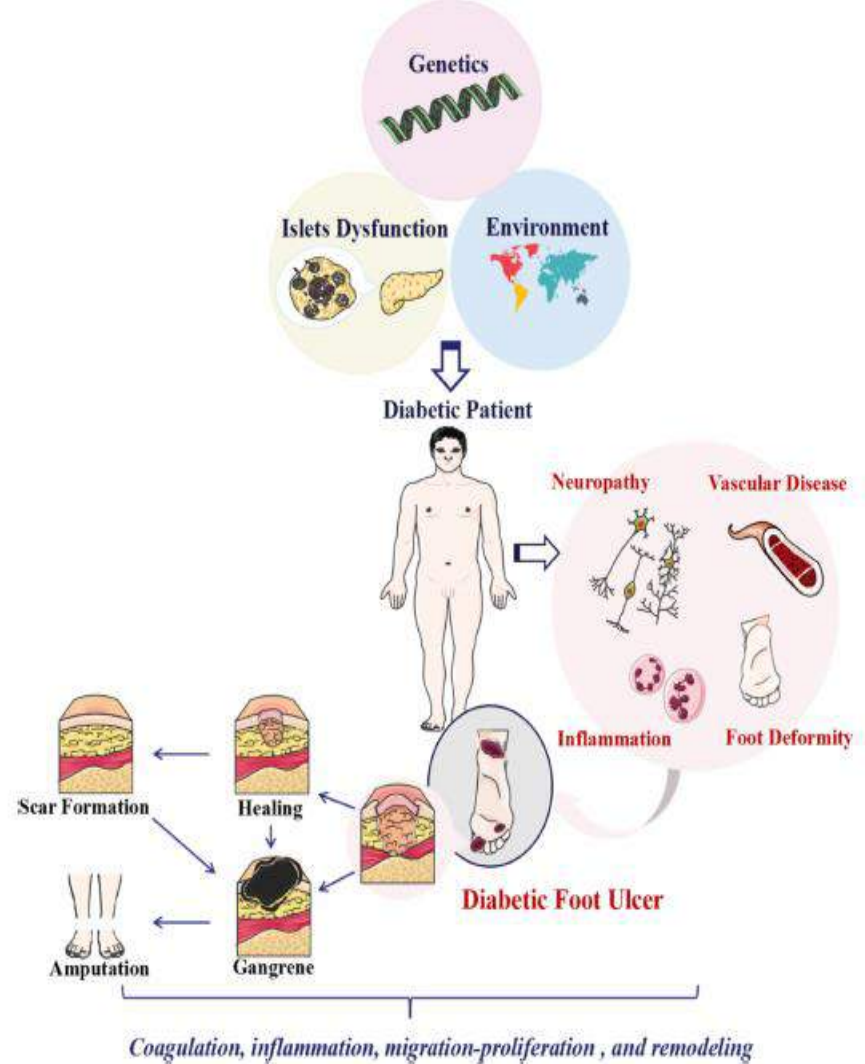
# Diyabetik ayak ülseri (DAÜ)

- Diyabetik hastaların % 15–25’de DAÜ gelişir
- DAÜ ve amputasyon temel morbidite ve mortalite nedeni
- Amputasyon yapılan hastaların % 85 öncesinde DAÜ mevcuttur
- Dünyada DAÜ prevalansı % 6.3 (95 % CI: 5.4–7.3 %), erkeklerde daha sık

# DAÜ 'de yara iyileşmesini etkileyen mekanizmalar

## Azalmış veya bozulmuş:

- Growth faktör, Angiogenik yanıt,
- Makrofaj fonksiyonu
- Kollagen ve lökosit toplanması
- Ekstracellular matrix depolanması,
- Granulasyon doku miktarı
- Fibroblast ve keratinositlerin migrasyon ve proliferasyonu
- Epidermal sinirlerin miktarı
- Kemik iyileşmesi
- Ekstracellular matrix (ECM) bileşenlerinin toplanması arasındaki denge
- MMP aracılıklı remodeling



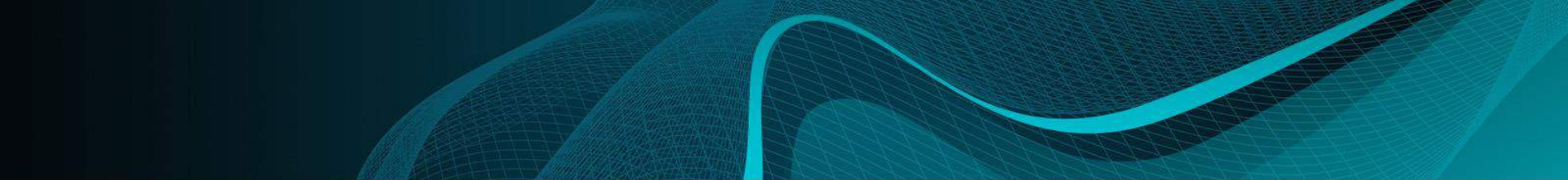
- Nötrofiller mikroorganizmaların yok edilmesinde ilk basamakta yer almaktadır.
- Granüler proteinler tarafından oluşturulan ekstrasellüler lifler ve aktivasyon ile salınan kromatin nötrofil ekstrasellüler traps (NETs) olarak adlandırılır.
- NETs oluşumu nötrofillerin ölümü anlamına gelir (NEToziz).
- NETs infeksiyöz ve inflamatuvar faktörlerin yol açtığı histon, DNA, nötrofil elastazdan oluşmaktadır.
- Yüksek glukoz seviyeleri NETozize yol açar.



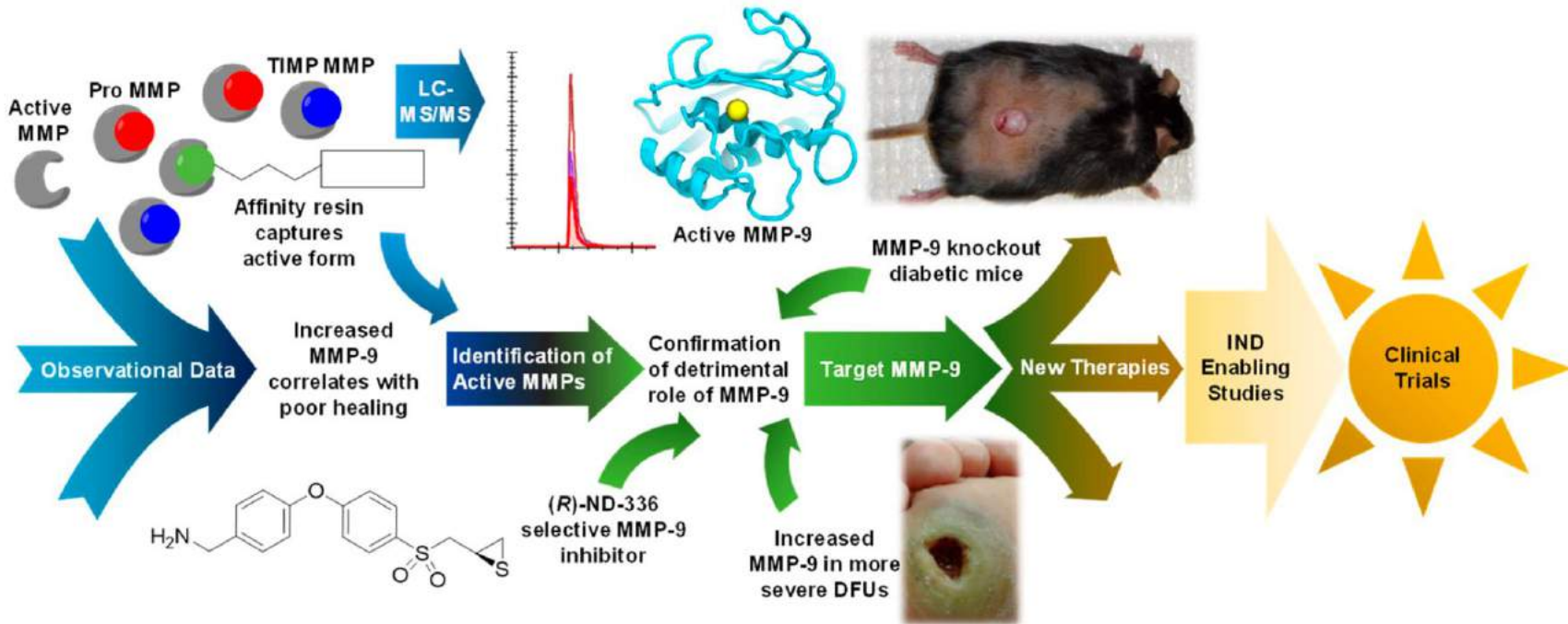
- NETs diyabetik komplikasyonların patogeneğinde rol oynar.
- NEToziz doğal bir savunma sistemi olmakla birlikte, yüksek miktarda veya disfonksiyonel NEToziz tromboz, inflamasyon, endotel disfonksiyonuna yol açabilir.
- Proteomiks ile NET bileşenlerinin (elastase, neutrophil gelatinase-associated lipocalin, protease 3, ve protein) iyileşmeyen diyabetik ayak ülserlerinde artmış olduğu gösterilmiştir.

- **Extensive serum biomarker analysis before and after treatment in healing of diabetic foot ulcers using a cytokine antibody array**
- Makrofaj-derived chemokine (MDC),
- Th2-type CC chemokine
- Activation-regulated chemokine (TARC),
- Clusterin
- Syndecan 4,
- Tedavi olmuş DAÜ'de sağlıklı kontrol grubuna benzer şekilde yüksek bulunmuştur. DAÜ iyileşmesinde prognozu gösterme potansiyeli mevcuttur..

J. Wang, et al. Cytokine 133 (2020), 155173,

- 
- **Targeting MMP-9 in Diabetic Foot Ulcers**
  - Matrix metalloproteinazlar (MMPs) yara iyileşmesinde rol oynarlar
  - MMPs yara olan bölgeden hücre ve nekrotik dokunun uzaklaştırılmasını sağlayan jelatin ve kollajenlerin parçalanmasını sağlarlar.
  - MMP-9 zararlı rol oynar iken, MMP-8 yararlıdır.

Jones J et al. *Pharmaceuticals* **2019**, 12(2), 79



Selektif MMP inhibitörleri DAÜ tedavisinde kullanılmak üzere geliştirilmektedir

# Diyabetik retinopati (DR)

## Diyabetik retinopati (DR)'de

Retinol-binding protein 1 (RBP1),  
Nucleoside diphosphate linked moiety X type motif 10 (NUD10),  
Neuroglobin (NGB) artarken,

Hemoglobin subunit gamma 2 (HBG2),  
CD160 azalmıştır.

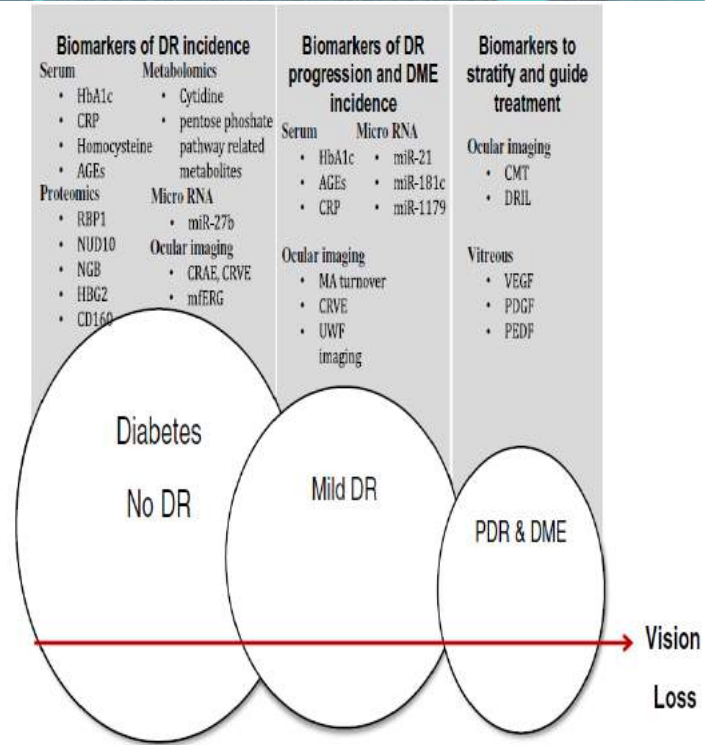


Fig. 1 Conceptual framework for biomarkers of diabetic retinopathy. DR diabetic retinopathy, DME diabetic macular edema, PDR proliferative diabetic retinopathy, HbA1c glycated hemoglobin, CRP C-reactive protein, AGEs advanced glycation end products, RBP-1 retinol-binding protein 1, NUD10 Nucleoside Diphosphate linked moiety X type motif 10, NGB neuroglobin, HBG2 hemoglobin subunit gamma 2, CRAE central retinal arteriolar equivalent, CRVE central retinal venular equivalent, mfERG multifocal electroretinogram, MA microaneurysm, UWF ultra wide field, CMT central macular thickness, DRIL disorganization of reinal inner layers, VEGF vascular endothelial growth factor, PDGF platelet-derived growth factor, PEDF pigment epithelium-derived factor

Biyobelirteçlerin keşfi ile DR patogenezi daha iyi anlaşılmıştır.

Tek bir biyobelirteç farklı DR tiplerini yansıtamaz

Biyobelirteç panelleri (proteomiks, metabolomiks, genomiks ve görüntüleme) DR gelişimi veya ilerlemesini daha iyi tanımlayabilir

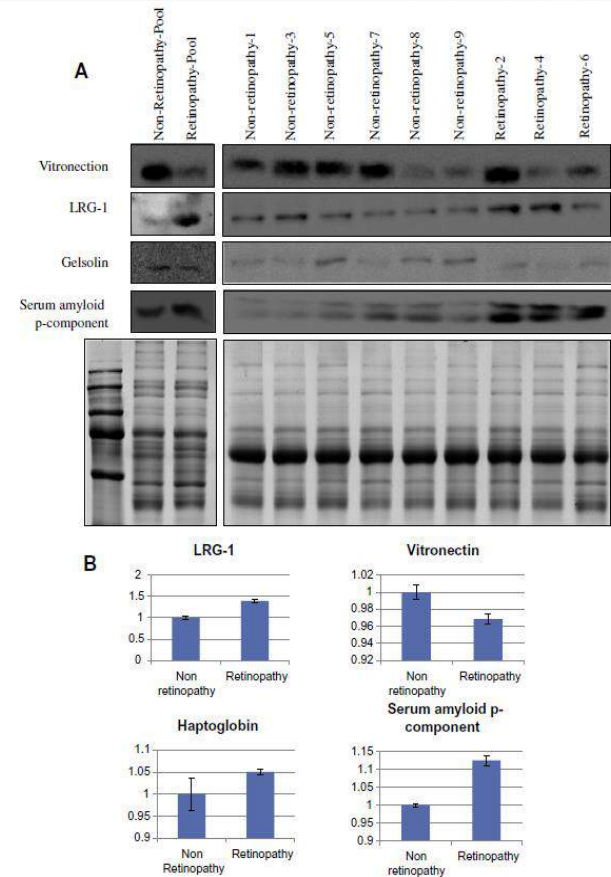
Biomarker	Direction	DM type	Outcome measure	O.R.	95 % CI
<b>Inflammation related</b>					
Retinol-binding protein 4 [23, 24]	Increased	2	PDR	–	–
Pentraxin-3 [19]	Increased	2	PDR	35.3	2.28–546.12
Homocysteine	Increased	1	Any DR	1.83	1.28–2.62
TNF- $\alpha$ [14]	Increased	1	PDR	1.02 <sup>c</sup>	1.01–1.04
C-reactive protein [12]	Increased	Any	Any DR	0.22 <sup>a</sup>	0.11–0.34
			PDR	0.50 <sup>a</sup>	0.30–0.70
Mannose-binding lectin [22]	Increased	2	NPDR	3.45	1.42–7.05
			VTDR	4.42	1.51–8.18
Anti-myeloperoxidase antibody [21]	Increased	2	Any DR	N.A.	N.A.
SI00A12 [20]	Increased	2	Any DR	1.42	1.04–2.53
sTNFR-1 [15]	Increased	1	Any DR	1.57	1.25–2.00
Serum amyloid A [15]	Increased	1	Any DR	1.10	1.00–1.22
Sgp130 [15]	Increased	1	Any DR	1.43	1.05–1.97
<b>Thrombosis related</b>					
ADAMTS13 activity [25]	increased	1	Any DR	1.03	1.003–1.06
D-dimer [25]	increased	1	Any DR	1.01	1.001–1.012
PAI-1 [26]	Increased	2	Any DR	1.012	1.00–1.024
<b>Endothelial dysfunction related</b>					
E-selectin [14]	Increased	1	PDR	1.02 <sup>c</sup>	1.01–1.03
sICAM-1 [14]	Increased	1	DME	1.01 <sup>c</sup>	1.00–1.03
sICAM-1 [15]	Increased	1	Any DR	1.42	1.07–1.89
Laminin [18]	Increased	Any	Any DR	5.4 <sup>d</sup>	1.32–22.13
<b>Angiogenesis related</b>					
Adiponectin [31]	Decreased	2	Any DR	–0.62 <sup>a</sup>	–0.80–0.44
Cystatin C [32]	increased	2	moderate DR	1.90	1.37–2.61
Fibroblast growth factor 21 [30]	Increased	2	Any DR	0.73	0.64 to 0.85
<b>Advanced glycation end products</b>					
CML [27]	Increased	2	PDR	24.5	–
Pentosidine [48]	Increased	1	Any DR	–	–
AGE-LDL-IC [29]	Increased	1	Developing PDR	1.47 <sup>b</sup>	1.19–1.81
			Progression to severe NPDR	1.45 <sup>b</sup>	1.17–1.80
			Progression to PDR	1.45 <sup>b</sup>	1.17–1.80
oxLDL-IC [29]	Increased	1	Progression to severe NPDR	1.38 <sup>b</sup>	1.13–1.69

DM diabetes mellitus, OR odds ratio, CI confidence interval, TNF tumor necrosis factor, sTNFR-1 soluble tumor necrosis factor receptor, sgp130 soluble glycoprotein 130, PAI-1 plasminogen-activating inhibitor 1, sICAM-1 soluble intercellular adhesion molecule 1, CML carboxymethyl-lysine, AGE-LDL-IC advanced glycation end product-low density lipoprotein-immunocomplex, oxLDL-IC oxidized low density lipoprotein-immunocomplex



## Diyabetik retinopati belirteçleri:

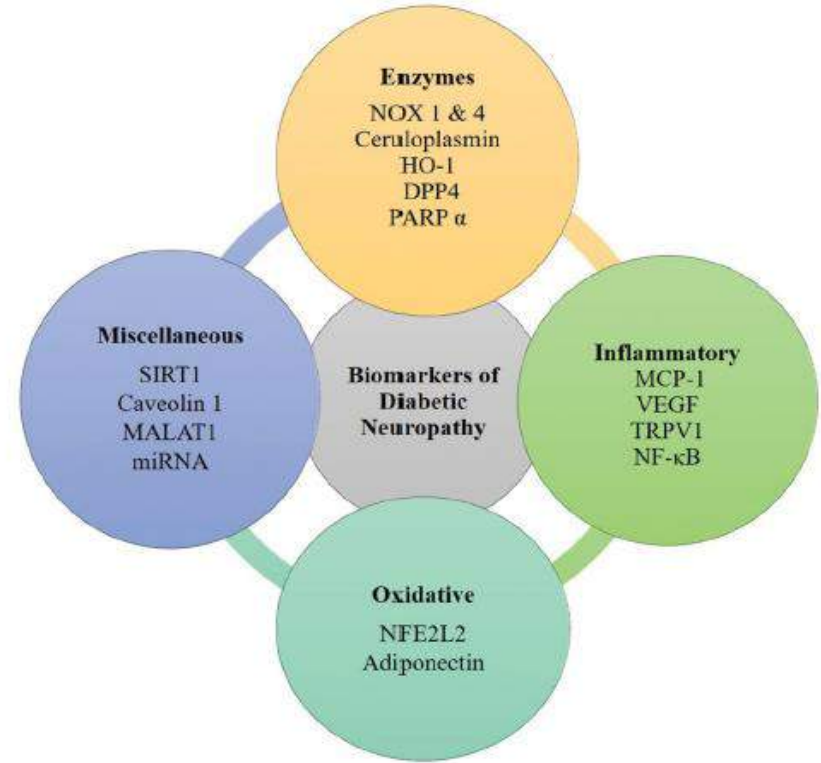
- inflamatuvar proteinler (leucine-rich alpha-2-glycoprotein),
- Transport proteinleri (afamin and vitamin D-binding protein),
- Yapısal proteinler (gelsolin, cytokeratin 8),  
Protein arginine N-methyltransferase 5



**Fig. 6.** Representative immunoblotting analysis of vitronectin, leucine-rich alpha-2-glycoprotein, gelsolin, and serum amyloid P-component, and ELISA analysis of leucine-rich alpha-2-glycoprotein, vitronectin, haptoglobin, and serum amyloid P-component for selected differentially expressed plasma proteins identified by proteomic analysis in diabetic patients with or without retinopathy. Plasma samples from 3 diabetic retinopathy patients and 6 diabetic non-retinopathy patients were either run individually or run in a pool. (A) 20 µg of the albumin and immunoglobulin-depleted plasma were loaded and resolved by SDS-PAGE followed by immunoblotting with vitronectin, leucine-rich alpha-2-glycoprotein, gelsolin, and serum amyloid P-component, or stained with colloidal coomassie blue G-250 as an internal loading control. (B) 50 µg of plasma samples were coated onto each well of a 96-well plate for ELISA analysis of leucine-rich alpha-2-glycoprotein, vitronectin, haptoglobin, and serum amyloid P-component and the absorbance measured at 450 nm using a Stat Fax 2100 microtiter plate reader.

# Diyabetik nöropati (DN)

İnflamasyon ve oksidatif stres ile ilişkili  
DN erken tanı konmasını sağlayan birçok  
biyobelirteç tanımlanmıştır



**Figure 4.** Classification of biomarkers involved in Diabetic Neuropathy. MCP-1: monocyte chemoattractant protein-1; VEGF: vascular endothelial growth factor; TRPV1: transient receptor potential vanilloid 1; NF- $\kappa$ B: nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells; NFE2L2: nuclear factor (erythroid-derived 2); NOX: nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidase; HO-1: haem oxygenase-1, DPP4: dipeptidyl peptidase-4, PARP  $\alpha$ : Poly ADP ribose polymerase  $\alpha$ ; SIRT1: sirtuin 1, MALAT 1: metastasis-associated lung adenocarcinoma transcript 1 and miRNA: microRNA.



**Table 2.** Novel biomarkers involved in *in vitro* and *in vivo* study of diabetic neuropathy from the year 2000 to 2020.

Sr. No.	Biomarker	Response	Reference
I	<b>Inflammatory biomarkers</b>		
1	Monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1)	Upregulation	(Angst <i>et al.</i> 2020, Mert <i>et al.</i> 2020)
2	Vascular endothelial growth factor (VEGF)	Downregulation	(Kallinikou <i>et al.</i> 2019, Sugimoto <i>et al.</i> 2019)
3	Transient receptor potential cation channel subfamily V member (TRPV1)	Upregulation	(Dull <i>et al.</i> 2019, Agarwal <i>et al.</i> 2020)
4	Nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells (NF- $\kappa$ B)	Upregulation	(Yang <i>et al.</i> 2019, Liu W, <i>et al.</i> 2020)
II	<b>Oxidative biomarkers</b>		
1	Nuclear factor (erythroid-derived 2) (NFE2L2)	Downregulation	(Gupte <i>et al.</i> 2013, Li <i>et al.</i> 2019)
2	Adiponectin	Upregulation	(Cha <i>et al.</i> 2018)
III	<b>Enzymes biomarkers</b>		
1	Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidase (NOX 1 & 4)	Upregulation	(Jha <i>et al.</i> 2014)
2	Ceruloplasmin	Upregulation	(Samokyszyn <i>et al.</i> 1989)
3	Haem oxygenase-1 (HO-1)	Downregulation	(Leng <i>et al.</i> 2020)
4	Dipeptidyl peptidase-4 (DPP4)	Upregulation	(Surendran <i>et al.</i> 2020)
5	Poly ADP ribose polymerase $\alpha$ (PARP $\alpha$ )	Upregulation	(Chen and Li 2020)
IV	<b>Miscellaneous biomarkers</b>		
1	Sirtuin 1 (SIRT1)	Downregulation	(Ostan <i>et al.</i> 2015, Oza and Kulkarni 2020)
2	Caveolin 1	Upregulated	(Jia <i>et al.</i> 2020)
3	Metastasis associated lung adenocarcinoma transcript 1 (MALAT1)	Upregulation	(Zhou <i>et al.</i> 2018)
4	microRNA (miRNA)	Dysregulation	(Xourgia <i>et al.</i> 2018, Chen <i>et al.</i> 2019)

Tanı amaçlı veya yeni ilaç geliştirilmesinde kullanılabilecek biyobelirteçler

# Gestasyonel diyabet (GDM)

## Proteomic-driven biomarker discovery in gestational diabetes mellitus:

Gestasyonel diyabetin erken dönemde tahmin edilebilmesi için biyobelirteçler geliştirilmiştir.

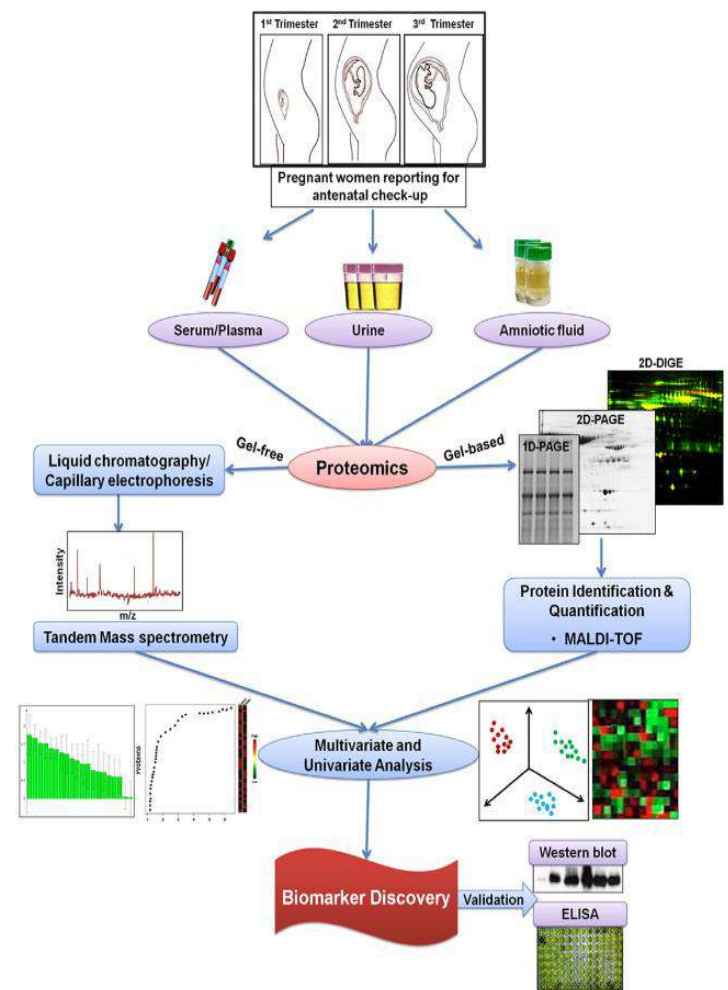


Fig. 1. Various proteomic approaches for identification of women 'at risk' of developing GDM are shown in this figure.

Clusterin isoform 1- fibrinogen alpha chain precursor artan glukoz intoleransı ile bağlantılı

Fibronectin SNA — maternal spesifik glikoprotein, hiperglisemi başlamadan önce GDM'nin erken belirteci, OGTT yerine tarama testi olabilir.

1. trimester transthyretin–retinol binding protein–retinol complex (TTR–RBP4–ROH) insülin ile tedavi edilen GDM'nin erken belirteci.

T. Ai, Biomed. Res. Int. 2015 (2015) 586309.

Nagalla, Indian J. Endocrinol.Metabol. 19 (2015) 155–159.

Various proteomics based biomarkers identified and functionally characterized in GDM.

Technique used	Biological specimen used	Diagnostic criteria for GDM	Protein identified	Expression level	Function	References
2D-DIGE	Serum (human)	World Health Organization (WHO)	Fibronectin-SNA	↑	Cell adhesion, growth and differentiation	Nagalla et al. [57]
MALDI-TOF and nano-LC/ESI-MS/MS	Serum (human)	International Association of the Diabetes and Pregnancy Study Groups (IADPSG)	Clusterin Apolipoprotein CII Isoform 1 of fibrinogen alpha chain precursor	↓ ↓ ↓	Protect cells from oxidative stress Lipid metabolism Blood clotting process	Ai et al. [56]
SDS PAGE/MS	Serum (human)		Haptoglobin Protein SMG8 Apoptosis inducing factor-1			Wang et al. [51]
SELDI-TOF	Serum (human)	The American Congress of Obstetricians and Gynecologists (ACOG)	Apolipoprotein CIII	↑	Involved in lipid transport	Kim et al. [52]
HPLC/MALDI-TOF-MS	Serum (human)		ROH RBP4 TTR	↓ ↓ ↓	Involved in glucose metabolism and insulin resistance	Fruscalzo et al. [59]
HPLC/MS	Amniotic fluid (human)		Meta-tyrosine nitro-tyrosine 8-Hydroxy-deoxyguanosine	↑ ↑ ↑	Involved in nitrosative and oxidative stress	Escobar et al. [54]

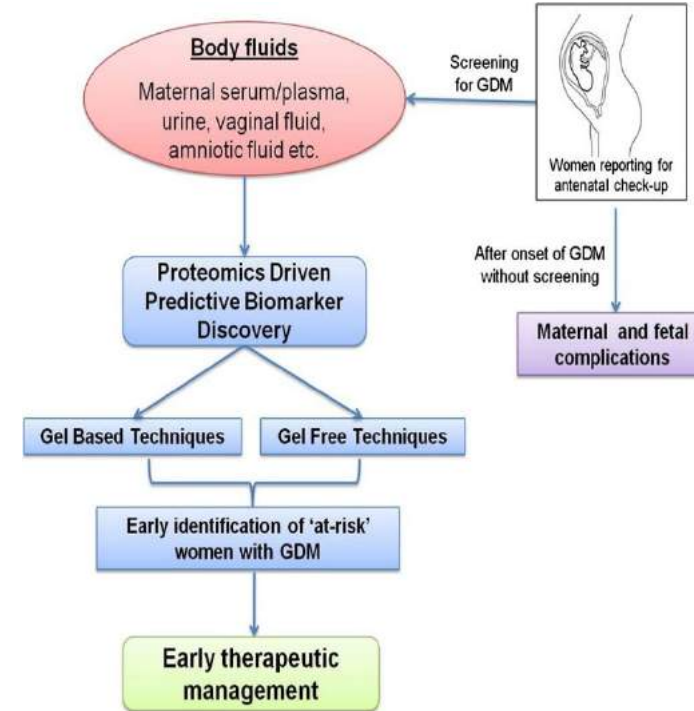
# Gestasyonel diyabet (GDM)

ELISA yöntemi ile:

- Adiponektin obez bayanlarda erken 2. trimestr'de ölçümü GDM öngörmede başarılı
- Serbest yağ asitleri
- Sex hormone binding globulin (SHBG)
- Plasental growth hormone
- 15. hafta öncesinde SHBG ve high sensitivity-complement reactive protein (hs-CRP) GDM'in erken belirleyicisi

R.A. Maitland. Diabet. Med. 31 (8) (Aug 2014) 963–970.

A.M. Maged, J. Matern. Fetal Neonatal Med. 27 (11) (2014) 1108–1112.



# Proteomiklerde zorluklar

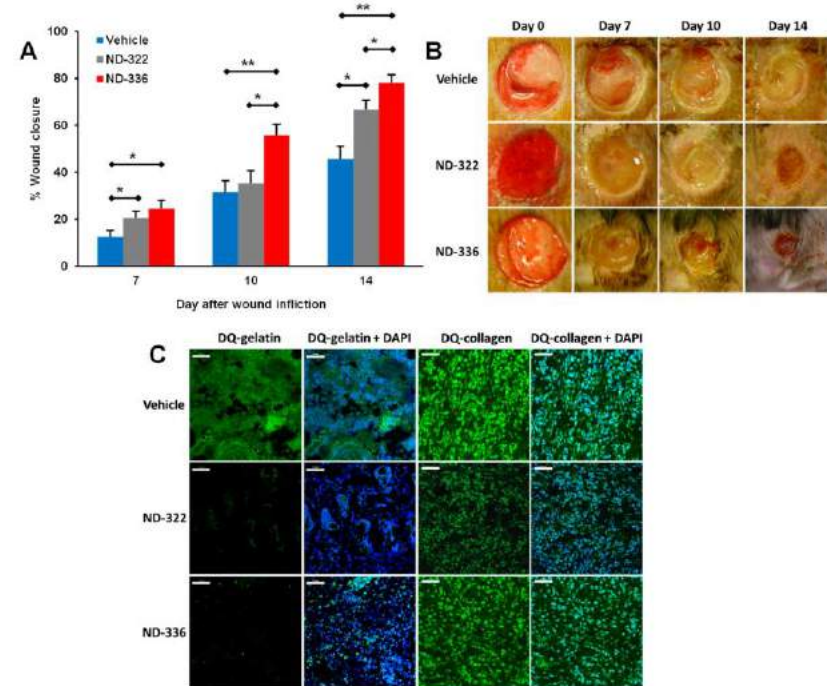
- Teknik nedenlerle ve protein etkileşimlerinin hücre içindeki dinamik yapısından dolayı tekrarlanabilirlikleri genellikle düşüktür.
- Farklı laboratuvarlar arasında aynı tip dokuda yapılan çalışmalardan farklı sonuçlar alınabildiği gibi, aynı laboratuvarlarda tekrar edilen yaklaşımların tutarlı sonuçlar vermediği de görülebilmektedir.
- Kullanılan bazı teknikler otomasyona yatkın değildir
- Metodolojilerin standardize edilmesi
- Ölçme yöntemlerinin iyileştirilmesi gereklidir.

# SONUÇ

- Diyabet tanısı ve takibi temel olarak glisemik göstergeler ile yapılmaktadır.
- Disgliseminin altında yatan mekanizmaları ortaya koyan biyobelirteçleri tanımlayan daha fazla çalışma yapılarak hedefe yönelik ve kişiye özgün tedaviler geliştirilmesi mümkündür.
- Geleneksel risk faktörleri ile karşılaştırıldığında, biyobelirteçler hastalık ile ilgili gelecekteki riskleri görmeye önemli bir imkan sağlamaktadır.
- “omics” dallarının birlikte kullanılması diyabet komplikasyonlarının başarılı bir şekilde engellenmesi ve diyabet tedavisinde daha iyi sonuçlar alınmasını sağlayacaktır.

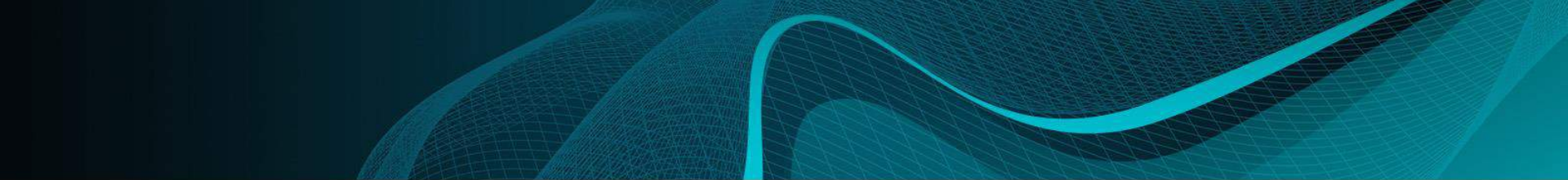
**TEŐEKKÜRLER**

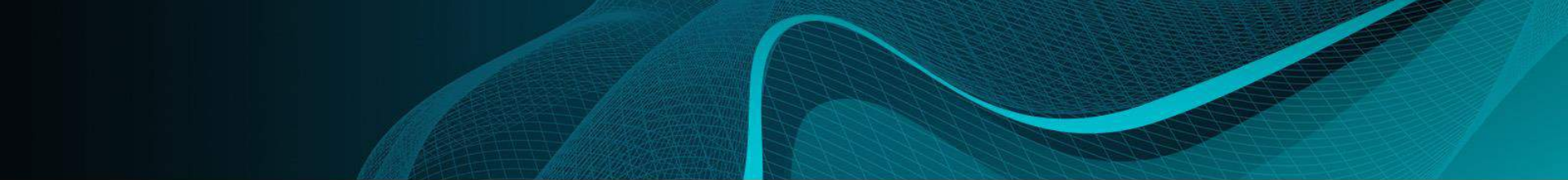
Selective MMP-9 inhibition accelerates diabetic wound healing. **(A)** Wound healing after treatment with 100 µg/wound/day of (*R,S*)-ND-336, (*R,S*)-ND-322, or vehicle. Mean ± standard error of the mean (SEM);  $n = 8$ /group on days 7, 10, and 14; \*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$  by Mann–Whitney  $U$  test. **(B)** Representative images of the wounds. **(C)** In-situ zymography of wounds with DQ-Gelatin and DQ-Collagen indicates that (*R,S*)-ND-336 inhibits MMP-9 but not MMP-8, while (*R,S*)-ND-322 inhibits MMP-9 and poorly inhibits MMP-8.



Selektif MMP-9 inhibisyonu (ND-336) diyabetik yara iyileşmesini hızlandırır.



- 
- Proteomiks diyabet ve komplikasyonları fizyopatolojisinin kompleks yapısını çözmek için kullanılabilir.
  - Proteomiks diğer “omics” dalları (genomiks, metabolomiks, transkriptomiks, lipomiks) ile birlikte tamamlayıcı olarak daha fazla bilgi verir.
  - “omics” dallarının birlikte kullanılması diyabet komplikasyonlarının başarılı bir şekilde engellenmesi ve diyabet tedavisinde daha iyi sonuçlar alınmasını sağlayacaktır.

- 
- T2DM'li hastalarda konvansiyonel risk faktörlerinin (HT, sigara, obezite, dislipidemi) mortalite hızı ve yaşam kalitesi üzerinde olumsuz etkileri vardır.
  - Remodelingi yansıtan kardiyak biyobelirteçler (biyomekanik stres, inflamasyon, nekroz/apoptoz, fibrozis, hipertrofi ve extraselluler matrix remodeling) klinik sonuçları (ölüm, MACEs, hastaneye başvuru, KY) tahmin etmede ek yarar sağlayabilir.

- T2DM'li kardiyak hastalığı olmayan NT-proBNP (>125 pg/ml) olan 300 hasta renin-angiotensin system (RAS) antagonisti ve betabloker ile 2 yıl süre ile takip ediliyor.
- Nörohumoral tedavinin primer koruyucu etkisi araştırılıyor.
- Primer sonlanım noktası hastaneye yatış/kardiyak hastalığa bağlı ölüm.
- NT-proBNP kullanılarak kardiyak olay geçirme riskine sahip hastaları belirlemede mükemmel bir belirteç
- (RAS) antagonisti ve betablokerlerin intensif tedavi grubunda maksimal tolere edilebilir doza titrasyonu diyabetik hastalarda kardiyak olayların primer önlenmesinde etkin ve güvenilirdir.
- Ancak NT-proBNP kullanılarak tedavinin yönlendirilmesi için daha çok çalışma gereklidir.

Huelsmann M, et al. PONTIAC (NT-proBNP Selected PreventiOn of cardiac eveNts in a populaTion of dIabetic patients without A history of Cardiac disease): a prospective randomized controlled trial. J Am Coll Cardiol 2013;62:1365–72.

- NP KV riske sahip prediyabetik ve diyabetik bireyleri ekonomik olarak belirlemede en önemli araçtır.
- En yüksek sensitivite ve spesifite KY semptomu olan hastalarda saptanmakla birlikte, asemptomatik bireylerde NP düzeylerinin öngördürücü kesinliği geleneksel KV risk faktörlerine göre üstündür.
- SGLT2 inhibitörleri ile tedavi edilen KY olan diyabetli hastalarda dolaşımdaki NP düzeylerinin seri ölçümleri riski öngörmede önemlidir.

**Table 1. Characteristics of promising markers for each stage of diabetic kidney disease**

Stage of Diabetic Kidney Disease	Protein	Description	Direction of Urinary Excretion <sup>a</sup>	Nephron Segment	Biological Processes	Validated	
Uncomplicated Diabetes	$\alpha_1$ -antitrypsin (SERPINA1)	40-kD serine protease inhibitor	↑ (9 of 9)	PT	Coagulation, inflammation	ELISA, SRM	
	Clusterin (CLU)	50-kD nuclear form	↑ (3 of 4)	PT	Complement activation,	ELISA	
		75-kD secretory form			inflammation, lipid metabolism		
	Type I collagen (COL1A1/ COL1A2)	>130-kD extracellular matrix protein	↓ (8 of 8)	NS	Extracellular matrix organization	None	
	Heparan sulfate proteoglycan (HSPG2)	469-kD basement membrane protein	↓ (2 of 2)	NS	Blood vessel development, extracellular matrix organization	None	
	Osteopontin (SPP1)	35-kD secreted phosphoprotein	↑ (1 of 1)	LoH, DCT*	Adhesion, tissue development	None	
Uromodulin (UMOD)	85-kD GPI-anchored glycoprotein	↓ (11 of 11)	LoH, DCT*	Tissue development	ELISA, SRM		
Incipient Diabetic Nephropathy	$\alpha_2$ -acid glycoprotein 1 (ORM1)	24-kD positive acute-phase reactant	↑ (5 of 5)	G	Inflammation, immune system, transport	ELISA, immunoturbidimetry	
	Cubilin (CUBN)	399-kD endocytic receptor	↑ (1 of 1)	PT*	Endocytosis, lipid metabolism	None	
	Haptoglobin (HP)	45-kD positive acute-phase reactant	↑ (2 of 4)	NS	Immune system response, inflammation	ELISA, SRM	
	Megalyn (LRP2)	522-kD endocytic receptor	↑ (1 of 1)	PT*	Endocytosis, tissue development	None	
	Mannan-binding lectin serine protease 2 (MASP2)	76-kD serine protease	↑ (1 of 2)	NS	Complement activation, immune system response	SRM	
	Transferrin (TF)	77-kD plasma carrier of iron	↑ (2 of 2)	G	Iron ion homeostasis, transport	SRM	
Overt Diabetic Nephropathy	$\alpha_2$ -HS-glycoprotein (AHSG)	39-kD plasma carrier	↑ (5 of 5)	G, PT	Endocytosis, inflammation, tissue development	None	
	$\beta_2$ -microglobulin (B2M)	14-kD MHC class I component	↑ (5 of 5)	G, PT	Ion homeostasis, immune system response	None	
	Hemopexin (HPX)	59-kD plasma carrier of heme	↑ (1 of 1)	G	Iron ion homeostasis, transport	None	
	Retinol-binding protein 4 (RBP4)	23-kD plasma carrier of retinol	↑ (5 of 6)	PT*	Immune system response, tissue development, transport	ELISA	
	Transthyretin (TTR)	55-kD homotetrameric plasma carrier of RBP4 and thyroxine		↓ (4 of 7)	PT	Extracellular matrix organization, transport	ELISA

The asterisk (\*) denotes high enrichment in and/or specificity to the kidney. ↑, increased urinary excretion in cases compared to controls; PT, proximal tubules; SRM, selected reaction monitoring; ↓, decreased urinary excretion in cases compared to controls; NS, not specific to the kidneys or a particular segment; LoH, loop of Henle; DCT, distal convoluted tubules; G, glomerulus.

<sup>a</sup>Fraction of studies that reported the specific direction of urinary excretion (in cases versus controls) out of all studies that identified differential excretion of the protein (shown in brackets).