

T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLER ENSTİTÜSÜ
BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

DİYABET OLUŞTURULAN RATLARDA SERUM APELİN VE
CHEMERİN DÜZEYLERİ

YÜKSEKLİSANS TEZİ

Hakkan UFAT

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. P. Sema TEMİZER OZAN

ELAZIĞ

2015

ONAY SAYFASI

Prof. Dr. Mustafa KAPLAN

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Bu tez yüksek lisans tezi standartlarına uygun bulunmuştur.

Prof. Dr. P. Sema TEMİZER OZAN

Biyokimya Anabilim Dalı Başkanı

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

Prof. Dr. P. Sema TEMİZER OZAN

Danışman

Yüksek Lisans Tezi Jüri Üyeleri

İmza

Prof. Dr. P. Sema Temizer Ozan 
Prof. Dr. Necati Ögdenir 
Prof. Dr. Abdurrahman YUCE 

TEŞEKKÜR

Yükseklisans eğitimim boyunca ve tez çalışmalarım sırasında her türlü desteği ve yardımı esirgemeyen değerli hocam Prof. Dr. P. Sema TEMİZER OZAN'a teşekkürü bir borç bilirim.

Ayrıca tez çalışmalarım sırasında yardımı esirgemeyen değerli Prof. Dr. Mine ERİŞİR'e, Prof. Dr. Engin ŞAHNA'ya, Yrd. Doç. Dr. Selçuk İLHAN'a, Yrd. Doç. Dr. Gonca OZAN'a, Yrd. Doç. Dr. Tuncay KULOĞLU'na, Uzm. Dr. Murat ÖZGÜLER'e ve Dr. Ertuğrul ERTUĞRUL' a, Merkez Laboratuvarında görevli tüm personele ve F.Ü. Deneysel Araştırmalar Biriminde (FÜDAM) tezimin deneysel çalışmalarını gerçekleştirmemde bana yardımcı olan personele teşekkür ederim.

Çalışmam sırasında benden manevi desteğini esirgemeyen değerli aileme teşekkürlerimi sunarım.

Bu tez çalışmasını VF.12.03 no'lu proje ile destekleyen Fırat Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projelendirme (FÜBAP) çalışanlarına teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

BAŞLIK SAYFASI	i
ONAY SAYFASI	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
İÇİNDEKİLER.....	iv
TABLolar LİSTESİ.....	vii
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	viii
GRAFİKLER LİSTESİ.....	ix
KISALTMALAR LİSTESİ	x
1. ÖZET.....	1
2. ABSTRACT	3
3. GİRİŞ	4
3.1. Diabetes Mellitus	4
3.1.1. Diabetes Mellitus Epidemiyoloji ve Sınıflandırması	4
3.1.1.1. Tip 2 Diabetes Mellitus (NIDDM).....	7
3.1.1.1.1. Tip 2 Diabetes Mellitus Patogenezi.....	8
3.1.1.1.1.1. Beta Hücre Fonksiyon Bozukluğu.....	9
3.1.1.1.1.1.1. İnsülin Salgısında Kantitatif Bozukluklar.....	9
3.1.1.1.1.1.2. İnsülin Salgısında Kalitatif Bozukluklar.....	9
3.1.1.1.1.1.3. Proinsülin Salgılanmasında Anomaliler	10
3.1.1.1.1.2. İnsülin Direnci.....	11
3.1.1.1.1.2.1. Preklinik Diabet Dönemi	14
3.1.1.1.1.2.2. Glukoz İntoleransı Dönemi.....	14
3.1.1.1.1.2.3. Erken Klinik Diabet Dönemi.....	14
3.1.1.1.1.3. Hepatik Glukoz Üretiminde Artış	15
3.2. Bozulmuş Açlık Glukozu ve Bozulmuş Glukoz Toleransı	16
3.2.1. Diabetes Mellitus Tanı Kriterleri	17
3.3. Yağ Doku; Adipokinler ile İnsülin ve Tip 2 Diyabet İlişkisi	19
3.3.1.1. Adiponektin.....	19
3.3.1.2. Leptin.....	19
3.3.2.1. Resistin	19
3.3.2.2. Tümör Nekroz Faktörü (TNF)	19

3.3.2.3. İnterlökin-6	19
3.3.3. Adipokinler ve Tip 2 Diyabet	20
3.4. Yağ Dokusu ve Adipokinler	21
3.4.3. Yağ Hücresinin 3 Ana Görevi	23
3.4.4. Apelin	25
3.4.4.1. Apelin-36	25
3.4.4.2. Apelinin Yapısı ve Lokalizasyonu	26
3.4.4.3. Apelin Reseptörü (APJ).....	27
3.4.4.4. Apelinin Etkileri ve Fizyolojik Roller.....	27
3.4.4.5. Apelinin Kardiyoprotektif Özellikleri.....	30
3.4.4.6. Apelin Obezite ve Adipoinsüler Aks.....	32
3.4.4.7. Apelinin Sıvı Elektrolit Dengesine Etkisi.....	35
3.4.5. Chemerin	35
3.4.6. Amaç	42
4. MATERYAL-METOT	43
4.1. Deney Protokolü	43
5. GEREÇ VE YÖNTEM	45
5.1. Streptozotosin Hazırlanması.....	45
5.2. Örneklerin Alınması ve Hazırlanması.....	45
5.3. Yöntemler	46
5.3.1. Serum Apelin Düzeylerinin Ölçümü.....	46
5.3.2. Serum Chemerin Düzeylerinin Ölçümü	46
5.3.3. Serum C-Peptit Düzeylerinin Ölçümü	46
5.3.4. Serum İnsülin Düzeylerinin Ölçümü.....	47
5.3.5. HbA1c Düzeylerinin Ölçümü	47
5.3.6. Diğer Biyokimyasal Parametrelerin Ölçümü.....	47
5.4. İstatistiksel Analizler.....	48
6. BULGULAR.....	49
6.1. Ağırlık Değerleri.....	49
6.2. Glukoz Değerleri.....	49
6.2.1. Glukoz ve Glukoz1 Değerleri.....	50
6.3. HDL Değerleri	50

6.4. LDL Değerleri.....	51
6.5. Trigliserit Değerleri.....	51
6.6. Kolesterol Değerleri.....	51
6.7. Ürik Asit Değerleri.....	52
6.8. Apelin Değerleri.....	52
6.9. Chemerin Değerleri.....	53
6.10. İnsülin Değerleri	53
6.11. C-Peptit Değerleri	53
6.12. HbA1C Değerleri	54
6.13. Genel Parametrelerin Değerleri	55
6.14. Grafikler	56
6.14.1. Kontrol ve Diyabetik Ratların Ağırlık Düzeyleri.....	56
6.14.2. Kontrol ve Diyabetik Ratların Glukoz Düzeyleri	56
6.14.3. Kontrol ve Diyabetik Ratların Trigliserid Düzeyleri	57
6.14.4. Kontrol ve Diyabetik Ratların Total Kolesterol Düzeyleri.....	57
6.14.5. Kontrol ve Diyabetik Ratların LDL-K Düzeyleri	58
6.14.7. Kontrol ve Diyabetik Ratların Ürik Asit Düzeyleri	59
6.14.9. Kontrol ve Diyabetik Ratların Apelin Düzeyleri	60
6.14.10. Kontrol ve Diyabetik Ratların Chemerin Düzeyleri.....	60
6.14.11. Kontrol ve Diyabetik Ratların C-Peptit Düzeyleri.....	61
6.14.12. Kontrol ve Diyabetik Ratların HbA1C Düzeyleri.....	61
6.15. Alınan Dokuların Histopatolojik Olarak İncelenmesi.....	62
7. TARTIŞMA.....	64
8. KAYNAKLAR.....	68
9. ÖZGEÇMİŞ	74

TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 1. ADA 2003'e Göre DM Tanı Kriterleri Tablosu	18
Tablo 2. Apelin ve Apelin Reseptörünün Karakteristik Özellikleri.....	28
Tablo 3. Apelin ve APJ'nin dokulardaki dağılımı	29
Tablo 4. Apelinin Etkileri ve Fizyolojik Rollerini.....	33
Tablo 5. Standart Rat Yemi	45
Tablo 6. Kontrol ve Diyabetik Ratlarda Ortalama Ağırlık Değerleri	49
Tablo 7. Kontrol ve Diyabetik Ratlarda Ortalama Glukoz Değerleri	49
Tablo 8. Kontrol ve Diyabetik Ratlarda Ortalama Glukoz1 Değerleri	50
Tablo 9. Kontrol ve Diyabetik Ratlarda Ortalama Glukoz ve Glukoz1 Değerleri	50
Tablo 10. Kontrol ve Diyabetik Ratlarda Ortalama HDL Değerleri.....	51
Tablo 11. Kontrol ve Diyabetik Ratlarda Ortalama LDL Değerleri	51
Tablo 12. Kontrol ve Diyabetik Ratlarda Ortalama Triglisli Değerleri	51
Tablo 13. Kontrol ve Diyabetik Ratlarda Ortalama Kolesterol Değerleri	52
Tablo 14. Kontrol ve Diyabetik Ratlarda Ortalama Ürik Asit Değerleri.....	52
Tablo 15. Kontrol ve Diyabetik Ratlarda Ortalama Apelin Değerleri	52
Tablo 16. Kontrol ve Diyabetik Ratlarda Ortalama Chemerin Değerleri	53
Tablo 17. Kontrol ve Diyabetik Ratlarda İnsülin Değerleri	53
Tablo 18. Kontrol ve Diyabetik Ratlarda Ortalama C-Peptit Değerleri.....	54
Tablo 19. Kontrol ve Diyabetik Ratlarda Ortalama HbA1C Değerleri.....	54
Tablo 20. Kontrol ve Diyabetik Ratların Serum Parametreleri	55

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1.	Adipoz doku tarafından sekrete edilen adipokinler ve sitokinler.....	20
Şekil 2.	Beyaz yağ dokusunun fonksiyonları.....	22
Şekil 3.	Aminoasit zinciri. (a) apelin -13 (b) p[Glu] Apelin -13 (c) Apelin -17 (d) Apelin-36. Turuncu renk tüm peptiddeki aynı aminoasitleri gösterirken sarı renk ise prepropeptid zincirden farklı olan aminoasitleri göstermektedir	26
Şekil 4.	a) İnsan umbilikal ven endotel hücrelerinde immünohistokimyasal olarak APJ benzeri immünreaktivite (APJ-LI) b) İnsan umbilikal ven endotel hücrelerinde immünohistokimyasal olarak apelin benzeri immünreaktivite (Apelin-LI). Apelin ve APJ'nin dokulardaki dağılımı	28
Şekil 5.	Chemerinin serin proteazlarıyla aktif formuna dönüştürülmesi.....	36
Şekil 6.	Chemerin ve CMKLR1'in yağ dokusundaki rolleri	40
Şekil 7.	Diabet oluşturulan rat damarlarının histopatolojik olarak incelenmesi.....	62
Şekil 8.	Diyabet grubundan alınan örneklerinin ışık mikroskopisinde histopatolojik olarak incelenmesinde damar yapısındaki konjesyon görünümü	62
Şekil 9.	Diyabet grubunda, aort damar yapısının histopatolojik olarak görünümü	63

GRAFİKLER LİSTESİ

Grafik 1. Ağırlık değerleri	56
Grafik 2. Serum Glukoz Düzeyleri	56
Grafik 3. Serum Trigliserid Düzeyleri	57
Grafik 4. Serum Kolesterol Düzeyleri.....	57
Grafik 5. Serum LDL Düzeyleri	58
Grafik 6. Serum Ürik Asit Düzeyleri	59
Grafik 7. Serum İnsülin Düzeyleri.....	59
Grafik 8. Serum Apelin Düzeyleri	60
Grafik 9. Serum Chemerin Düzeyleri	60
Grafik 10. Serum C-Peptit Düzeyleri.....	61
Grafik 11. Serum HbA1C Düzeyleri.....	61

KISALTMALAR LİSTESİ

ACE	: Anjiyotensin Dönüştürücü Enzim
ADA	: American Diabetes Association
AKS	: Akut ve Kronik Stres
AMPK	: Adenozin Monofosfat Aktive Protein Kinaz
Apelin-LI	: Apelin Benzeri İmmünreaktivite
APJ	: Apelin Reseptörü (anjiyotensin reseptör like 1)
APJ-LI	: Apelin Reseptörü Benzeri immünreaktivite
ASP	: Asilotion-stimüle Edici Protein
AT₁	: Anjiyotensin II Tip 1
AT₁	: Anjiyotensi Tip 1
ATP III	: Erişkin Tedavi Paneli III
BMI	: Beden Kütle İndeksi
CETP	: Kolesterol Ester Transfer Proteini
CRP	: C-Reaktif Protein
DC	: Myeloid Dendrit Hücre
DM	: Diabetes Mellitus
EGIR	: İnsülin Direnci Avrupa Çalışma Grubu
ELISA	: Enzim Bağlı Immuno Sorbant Ölçüm
HbA1c	: Glikozile Hemoglobin
HDL-K	: Yüksek Dansiteli Lipoprotein Kolesterol
HOMA-IR	: Homeostasis Model Assessment İnsülin Resistansı
HOMA-β	: Homeostasis Model Assessment Beta Hücre Fonksiyonu
ICAM-1	: Hücreler Arası Adezyon Molekül-1
IDDM	: İnsüline Bağımlı Diabetes Mellitus
IDF	: Uluslararası Diyabet Federasyonu
IFG	: Bozulmuş Açlık Glukozu
IGT	: Bozulmuş Glukoz Toleransı
IKK	: Kinaz Kompleksinin Katalitik Alt Birimi
IL-4	: İnterlökin-4
IL-6	: İnterlökin-6

IRS	: İnsülin Reseptör substrat	
IRS	: İnsülin Reseptör Substratı	
IκB	: İnhibitör κB	
kDa	: Kilo Dalton	
LDL-K	: Düşük Dansiteli Lipoprotein Kolesterol	
LPL	: Plazma Lipoprotein Lipaz	
mRNA	: Mesajcı ribonükleik asit	
NCEP	: Ulusal Kolesterol Eğitim Programı	
NDDG	: National Diabetes Data Group	
NDDG	: National Diabetes Data Grup	
NF-κB	: Nükleer faktör kappa B	
NIDDM	: İnsüline Bağımlı Olmayan Diabetes Mellitus	
NO	: Nitrik Oksit	
NOS	: Nitrik Oksit Sentaz	
OGTT	: Oral Glukoz Tolerans Testi	
PAI-1	: Plazminojen Aktivatörinhibitör-1	
PDC	: Plazmasitoid Dendritik Hücre	
PPAR-γ	: Peroksizom Proliferasyonunu Aktive Edici Reseptör	Gamma
RBP	: Retinol Bağlayıcı Protein	
RELM	: Resistin Like Molekül	
RIA	: Rodioimmun Assay	
s(VCAM-1)	: Solubül Vasküler Hücre Adezyon Molekül-1	
SD-LDL	: Küçük Yoğun LDL	
T- kol	: Total Kolesterol	
TG	: Trigliserid	
TNF-α	: Tümör Nekrozis Faktör-alfa	
TURDEP	: Türkiye diabet epidemiyoloji çalışması	
TZD	: Tiazolidindion	
UCP-1	: Uncoupling Protein-1	
VLDL-K	: Çok Düşük Dansiteli Lipoprotein Kolesterol	
WHO	: Dünya Sağlık Örgütü	

1. ÖZET

Diyabet, insülin hormon sekresyonunun ve/veya insülin etkisinin mutlak veya göreceli azlığı sonucu karbonhidrat, protein ve yağ metabolizmasında bozukluklara yol açan, oluşturduğu komplikasyonlar nedeniyle organ ve işlev kayıplarına sebep olup yaşam süresi ve kalitesini etkileyen kronik hiperglisemik bir grup metabolizma hastalığıdır.

Bu çalışmada Streptozotosin ile diyabet oluşturulan ratlarda glukoz metabolizması ile ilişkisi olduğu düşünülen **Apelin** ve **Chemerin** düzeyleri tespit edilerek bunların diyabet ile ilişkisini saptamak amacıyla adipokinlerin insülin direnci ve beta-hücre fonksiyonları arasında her hangi bir ilginin olup olmadığı araştırıldı. Bu çalışmada 5 haftalık 250 ± 20 gr ağırlığında Sprague Dawley cinsi 37 erkek ratlar kullanıldı. Kontrol (n=7) grubu olan ratlara standart beslenme uygulandı, Diyabet grubuna (n=30) 65mg/kg intraperitoneal tek doz Streptozotosin uygulanması takiben 3'üncü gün sonra kuyruk veninden alınan kan glukoz düzeylerinin 200 mg/dl olmasının tespiti ile ratlar diyabetik kabul edildikten sonra 1. grup 7.gün, 2. grup 14. gün ve 3. grup 21. gün sonu anestezisi altında dekapitasyon gerçekleştirilerek serum örnekleri ve aort dokusu alınarak, örnekler çalışmamız için gerekli işlemlerden sonra incelendi.

Kontrol grubuna göre diyabet oluşturan gruplarda serum Apelin, Chemerin, İnsülin, C-peptid, HbA1-C, LDL ve Ürik Asit parametrelerinde anlamlı olmayan değişiklikler saptandı.

Kontrol grubu ile diyabet ve diyabet gruplarının da kendi aralarında anlamlı ($p>0.05$) bir fark bulunmamasına rağmen diyabet oluşturulan gruplar arasında rakamsal olarak serum Apelin, Chemerin, İnsülin, C-peptid, HbA1-C,

LDL ve Ürik Asit düzeylerinin günlere bağı olarak artığı tespit edilmiş. Elde edilen diğ er verilere bakıldığında ise serum Glukoz, Glukoz1, HDL, Trigliserit, Kolesterol, HbA1C düzeylerinde ise anlamlı ($p<0.05$) bir fark olduğı görülmüştür.

Sonuç olarak diyabetle apelin ve chemerin düzeylerinin rakamsal olarak arttığını ancak istatistiksel olarakda arttığını da söylemek için konu ile ilgili daha fazla çalışmalar yapılmasının uygun olacağını söyleyebiliriz.

Anahtar Kelimeler: Diyabet, Apelin, Chemerin, Rat

2. ABSTRACT

SERUM APELIN AND CHEMERIN LEVELS IN DIABETES GENERATED RATS

Diabetes is a chronic hyperglycemic metabolic disease leading carbohydrate, protein, lipid metabolism disorders, effecting life span and quality causing organ and function disorders due to absolute or relative decrease of insuline secretion or its effect.

In this study, impacted on glucose metabolism, apelin and chemerin levels of diabet generated rats having been detected, their relations by each one and insuline resistance of adipokins and β cell function was investigated in order to know whether they have relations or not.

Five weeks old Sprague Dawley rats were divided into three groups. Control group (n=7) were exerted standart diet, diabetes group (n= 10) were acceded diabetic by taking blood from tail ven three days after a single dose of interitoneal Streptozotosin aplicant (65mg/kg). First group were decapitated at the seventh day, second group at the fourteenth day last group at the twenty first day. Taken samples were examined according to process of the study.

Whereas there was not statistical significance among control group and others, it has been detectes numerically increase in the serum apelin, chemerin, insuline, c- peptid, HbA1-c, LDL and uric acid levels between diabet generated rats. On the other hand glucose, glucose 1, HDL, trigliserid, cholesterol, HbA1-c levels were found out to have significant difference ($p < 0,05$) as we examined obtained data.

As a result we are able to say Apelin and Chemerin levels numerically increased with diabetes, yet more studies must carry out and better outcomes need to have in order to say there are statistical increase.

Key Words: Diabetes, Apelin, Chemerin, Rat

3. GİRİŞ

3.1. Diabetes Mellitus

Günümüz yaşam koşullarına bağlı olarak çok yaygın bir şekilde rastlanan Diabetes Mellitus, insülin sekresyonu, insülinin etkisi veya her ikisindeki bozukluklardan kaynaklanan, hiperglisemi ile karakterize, karbonhidrat, lipid ve protein metabolizması bozuklukları ile seyreden kronik, metabolik bir hastalıktır(1).

Yaşamı tehdit eden akut diabet komplikasyonları ketoasidoz veya non-ketotik hiperosmolar sendromdur.

Kronik komplikasyonları ise retinopati, nefropati, periferik ve otonom nöropatiyi içerir. Doku proteinleri ve diğer makromoleküllerin glikozilasyonu, poliol bileşiklerinin aşırı üretimi ise kronik hiperglisemide doku hasarına neden olmaktadır.

3.1.1. Diabetes Mellitus Epidemiyoloji ve Sınıflandırması

Hastalığın tanınması, tedavi programlarının belirlenmesi, erken teşhisi, toplumun sağlık politikalarının düzenlenmesi, hastalığın epidemiyolojik özelliklerinin bilinmesi gerekir(1).

Diabet sinsi seyirli bir hastalık olduğundan prevalansının saptanması da güçtür. Tüm toplumlarda görülmesine karşılık diabet prevalansı ırka bağlı farklılıklar göstermektedir. Hastalık başlangıçta asemptomatik seyrettiğinden, gelişmiş ülkelerde bile bilinen diabetlilerin bilinmeyen diabetlilere oranı 2/1 dir.

Dünya Sağlık Örgütü (WHO)'nın yaptığı çalışmalara göre 21. yüzyılın başlarında 300 milyona ulaşacağı kaçınılmazdır (2, 3).

Amerika’da 20-74 yaş grubunda diabet prevalansının %6,6, bilinmeyen diabet olgularının oranının ise yaklaşık %50 civarında olduğu bilinmektedir(4). Ülkemizde 1997-1998 yıllarında yapılan Türkiye Diabet Epidemiyoloji Çalışması (TURDEP)’ na göre 20-80 yaş grubunda diabet sıklığı %7,2 ‘dir (5).

Tip 2 Diabetes Mellitus genel olarak orta yaş grubunun ve yaşlıların hastalığıdır. Ancak son yıllarda genç erişkin ve adolesan yaş gruplarında da sıklığı artmaktadır (6, 7).

İlk kez 1979 yılında National Diabetes Data Group (NDDG) ve daha sonra da 1985 yılında WHO tarafından diabetin geniş bir klasifikasyonu yapılmıştır. WHO' nun yaptığı sınıflama kliniksel olup aynı zamanda diabeti terminolojik olarak insüline bağımlı (IDDM) ve insüline bağımlı olmayan (NIDDM) olarak da adlandırmıştır. Her iki grup diabet heterojen olduğundan WHO sınıflamasının genel uygulanabilirliği sınırlıdır. Diabetes Mellitus için WHO tarafından önerilen sınıflandırma aşağıdaki gibidir (8);

A- Primer DM

1- İnsüline Bağımlı DM (Tip 1 DM)

2- İnsüline Bağımlı olmayan DM (Tip 2 DM)

a- Metabolik Sendrom

b- MODY (Gençlerin Erişkin Tip Diabeti)

c- LADA (Erişkinin Latent Otoimmün Diabeti)

d- Malnutrisyonla ilişkili DM

· Fibrokalküloz pankreatopati

· Protein yetersizliğine bağlı DM

B- Sekonder DM

C- Gestasyonel DM

D- Bozulmuş Glukoz Toleransı

E- Sınıflandırılmayanlar

ADA (American Diabetes Association) tarafından önerilen sınıflandırma ise aşağıdaki gibidir (9) ;

I) Tip 1 Diabetes Mellitus (IDDM)

A- İmmünolojik

B- İdiyopatik

II) Tip 2 Diabetes Mellitus (NIDDM) İnsülin direnci veya insülin sekresyon defekti ön plandadır.

III) Diğer Spesifik Tipler

A- Hücre fonksiyonunda genetik bozukluk:

Kromozom 20 HNF-4 Alfa (MODY 1), Kromozom 7 glukokinaz (MODY 2), Kromozom 12 HNF-1 Alfa (MODY 3), Kromozom 13 IPF-1(MODY 4), Kromozom 17 HNF 1 (MODY 5), Kromozom 2 Neuro D1 (MODY 6), Mitokondriyal DNA 3243 mutasyonu

B-İnsülin etkisinde genetik bozukluk Tip A insülin direnci, Leprechaunizm Lipoatrofik diabet

C- Egzokrin pankreas hastalıkları Pankreatit, Travma / Pankrektomi, Neoplazm, Kistik fibrozis, Hemakromatozis

D- Endokrinopati Akromegali, Cushing sendromu, Glukagonoma, Feokromasitoma, Hipertiroidizm Somatostatinoma, Aldesteronoma

E- İlaç yada kimyasallara bağlı Vacor, Pentadimin, Nikotinik asit, Glukokortikoidler, Tiroid hormonu, Tiazidler, Beta-adrenerjik agonistler

F- Enfeksiyonlar Konjenital Rubella, Sitomegalovirüs

G- İmmün diabetin bilinmeyen formları Stiff-mann sendromu, Anti-insülin antikoru

H- Diabetle bazen birlikteliği olan genetik sendromlar Down Sendromu, Klinefelter Sendromu, Turner Sendromu, Wolfram Sendromu, Friedreich Ataksi i, Huntington Koresi, Laurence-Moon-Biedl Sendromu, Porfiria

IV) Gestasyonel Diabetes Mellitus

3.1.1.1. Tip 2 Diabetes Mellitus (NIDDM)

Tip 2 diabet'in yaygınlığı ve neden olduğu akut ve kronik komplikasyonlardan dolayı günümüzün en önemli mortalite ve morbidite nedenlerinden biridir. Tüm diabetiklerin ortalama %85' ini Tip 2 diabetiklerdir..

Uzun sürebilen asemptomatik bir dönem çoğunlukla mevcuttur (1).

Tip 2 Diabetes Mellitus' un Etiyolojik Sınıflandırması (10);

A- İnsülinin Etkisine Göre

- 1-** Glukoz klirensinde intrasellüler defektler
- 2-** İnsülin reseptör fonksiyonunda bozukluklar
 - İnsülin reseptör antikoru
 - İnsülin reseptör mutasyonu (kromozom 19 p)
- 3-** İnsülin yapısında bozukluk
 - İnsülin gen mutasyonu (kromozom 11 p)
 - Proinsülinin insüline dönüşümünde bozukluk
- 4- İatrojenik**
 - Glukokortikoidler
 - Büyüme hormonu
 - Nikotinik asit
 - Diğerleri

B- İnsülin Sekresyonuna Göre

- 1-** Sinyal defekti: Glukokinaz mutasyonu (kromozom 7p)
- 2-** Beta hücre kitlesinin yıkımı

- Otoimmün beta hücre yıkımı
- Pankreatit
- Diğer sebepler

3.1.1.1.1. Tip 2 Diabetes Mellitus Patogenezi

Beta hücre fonksiyon bozukluğu, insülin direnci ve hepatik glukoz üretimi artışı gibi üç ana metabolik bozukluk Tip 2 diabet patogenezinde rol oynar (11). Primer defekt olarak insülin direnci ve /veya insülin eksikliği ön plandadır (12, 13).

Tip 2 diabette beta hücre fonksiyon bozukluğu veya insülin direnci olmasında yaş, etnik farklılıklar (14), obezite ve diabetin heterojenitesinin kısmen de olsa belirleyici olduğu ileri sürülmektedir (15). Hem insülin direnci hem de bozulmuş insülin sekresyonu tip 2 diabetin patogenezinde genetik olarak kontrol edilen faktörler olup, bunlardan hangisinin primer ağırlıkta rol oynadığı bilinmemektedir. Aile öyküsü hemen hepsinde olmasına karşın hastalık henüz tek bir genetik zemine oturtulamamış ve tip 2 diabetin çoğu formları genetik yapı ile ilişkilendirilmiştir. Son yıllarda bunlara eklenen dördüncü bir görüş ise primer defektin hiperinsülinemi olduğu ve insülin direncinin hiperinsülinemiye bağlı olarak oluştuğu hipotezidir. Hiperinsülineminin non-oksidatif glukoz kullanımını veya glikojen sentezini bozarak tıpkı tip 2 diabette olduğu gibi insülin direncine yol açabileceği ileri sürülmektedir (16).

Tip 2 diabet patogenezinde yer alan bu 3 ana metabolik bozukluk başlıklar halinde daha detaylı olarak aşağıda açıklanmaktadır.

3.1.1.1.1.1. Beta Hücre Fonksiyon Bozukluğu

Normal glukoz toleransından bozulmuş glukoz toleransına ve hafif NIDDM'e geçildiğinde hiperinsülinemi oluşur. Açlık glukoz düzeyi 80 mg/dl'den 140 mg/dl'ye yükseldiğinde insülin düzeyi normal sağlıklı bireylere göre 2-2,5 kat artar. Açlık hiperglisemisi arttıkça insülin salgısı da kademeli olarak azalmaya başlar.  ns lin salgısındaki bu azalmaya karşılık hepatik glukoz üretimi artmaya başlar ve açlık glisemisinin yükselmesine katkıda bulunur. 250-300 mg/dl arasındaki açlık glisemi düzeyinde ise insülin salgısı önemli oranda azalır (17).

3.1.1.1.1.1.1.  ns lin Salgısında Kantitatif Bozukluklar

Prelinik dönemde varolan insülin direnci, normale göre daha fazla insülin salgılanarak aşılmaya çalışılır, normal glukoz toleransı ancak bu şekilde sürdürülebilir.

3.1.1.1.1.1.2.  ns lin Salgısında Kalitatif Bozukluklar

 ns lin salgısının azalması yanında hedef dokuda insülinin etkisini potansiyalize eden insülinin salgı niteliğinde de belirgin değişiklikler oluşur. Bunlar:

a) Birinci Faz  ns lin Salgısında Bozulma:

 ntraven z glukoz verilmesini izleyen ilk 10 dakikada insülin salgısında hızlı artış olur ve 2-4 dakika arasında bu artış pik yapar. 6. dakikadan itibaren hızını kaybeder. Birinci faz insülin salgılanması adı verilen bu 10 dakikalık dönemden sonra insülin salgısı giderek azalmakta olup bu sürece de ikinci faz insülin salgılanması adı verilir. Birinci faz insülin salgılanması insülinin hedef bölgelerdeki etkisini potansiyalize eder. Birinci faz insülin salgısının kaybolması ile glukagonun hepatik glukoneogenezi arttırıcı etkisi belirginleşir (18).

b) Pulsatil insülin salgılanmasında bozukluk:

Normalde her 5-15 dakikada bir periyodik olarak salgılanan insülin hedef dokularda insülin reseptörlerinin down regülasyonunu önleyerek insülin duyarlılığının normal sınırlarda kalmasını sağlar. Pulsatil olmayan sürekli insülin salgılanması ise reseptörlerde down regülasyona yol açarak insülin direncine sebep olur. Tip 2 diabetli ve obez hastalarda bu defektler kilo verilmesi ve metabolik kontrol ile büyük oranda düzelmekle beraber tamamen normale dönmez.

3.1.1.1.1.3. Proinsülin Salgılanmasında Anomaliler

Proinsülin insülinin ancak %5'i kadar biyolojik aktiviteye sahip olup insülin immünoreaktivitesinin normal bireylerde %2-4'ünü, tip 2 diabette ise %8-10'unu oluşturur. Proinsülinin %70'ini 32-33 split (kırılmış) proinsülin oluşturur. Proinsülin ve kırılmış proinsülinlerin klirensi yavaş olduğundan ve de ölçümde kullanılan RIA (Radioİmmun Assay) yöntemleri insülinin yanında proinsülini de (sağlam ve kırılmış) ölçtüğünden insülin düzeyleri olduğundan yüksek çıkar. İnsülin direnci ve kronik hiperglisemi, beta hücrelerinin sürekli uyarılması ile proinsülin sentezini artırarak 32-33 kırılmış proinsülin/insülin oranının artmasına neden olur. Tip 2 diabette açlık total immünoreaktif insülin artışı ortaya çıkar; bu da normal insülin düzeyleri üzerine eklenmiş olan artmış proinsülin düzeyi sonucu olarak hiperinsülinemi gösterir. Ancak bu hiperinsülinemi gerçek olmayıp, artmış proinsülin/insülin göz önüne alındığında aslında insüloopeni söz konusudur (19, 20, 21).

3.1.1.1.2. İnsülin Direnci

İnsülin pankreastaki langerhans adacıklarının beta-hücreleri tarafından üretilen, dokular tarafından yakıtların kullanımını düzenleyen ve enerji homeostazisini sürdüren polipeptit yapıda bir hormondur. Metabolik etkileri anaboliktir. Glikojen, triaçilgliserol ve protein sentezini uyarır. Birçok membran enzimini aktive ve inaktive edebilir, birçok protein ve mRNA'nın sentez veya yıkım hızını değiştirebilir, hücre büyüme ve farklılaşmasını etkileyebilir (1).

İnsülinin glukoz metabolizması üzerine etkileri özellikle karaciğer, kas ve yağ dokusu olmak üzere üç dokuda belirgindir. Karaciğerde glukoneogenez ve glikojen yıkımını inhibe ederek, glukoz üretimini azaltır. Kas ve karaciğerde glikojen sentezini arttırır. Kas ve yağ dokusunda, hücre membranlarındaki glukoz taşıyıcılarını arttırarak glukoz alımını çoğaltır. İnsülin verilmesinden birkaç dakika sonra, yağ dokusundan yağ asidi salınmasında belirgin düşme görülür. İnsülin, yağ dokusunda hormon duyarlı lipazın aktivitesini inhibe ederek dolaşımdaki yağ asitlerini azaltır. Çoğu dokuda aminoasitlerin hücre içine girişini ve protein sentezini uyarır. İnsülin karaciğer, kas ve yağ dokusu gibi birçok dokuda, hücre membranlarında bulunan yüksek afiniteli özgün reseptörlerine bağlanır. İnsülin reseptörü, tek bir polipeptit olarak sentezlenir, glikozillenir ve alfa-beta subünitlerine ayrılır. Bunlar daha sonra disülfid bağlarıyla bağlı bir tetramer oluşturmak üzere bir araya gelirler. Her beta subunitinin hidrofobik bölümü plazma membranı içinde yer alır. Hücre dışında bulunan alfa subuniti insülin bağlanma bölgesi içerir. Beta subunitinin sitozolik bölümü, bir tirozin kinazdır ve insülin ile aktive olur. İnsülinin kendi reseptörünün alfa subünitlerine bağlanması, konumsal değişikliklere neden olur. Bu değişiklikler, beta

subünitlerine iletilir ve beta subünitindeki özgün bir tirozin biriminin hızlı otofosforilasyonuna neden olur. Reseptör tirozin kinazın, insülinin hücre içi etkileriyle bağlantısını sağlayan birçok aracı molekül vardır (22).

İnsülin aktivitesinin bir kısmının, hedef proteinlerin serin veya treonin birimlerinin fosforilasyonu veya defosforilasyonu ile olduğu bilinmektedir. Bu nedenle reseptör tirozin kinaz aktivitesiyle insülin reseptör substratı (IRS-1, IRS-2) adı verilen bir peptidin tirozinlerinin fosforile edildiği düşünülmektedir. IRS-1 geni silinmiş farelerde glukoz homeostazının bozulduğu, glukoz intoleransın geliştiği gösterilmiştir. Belirgin diabet oluşmaması, kaybolan IRS-1 yerine, kısmen IRS-2 tarafından tutulmasıyla açıklanmıştır. Birçok dokuda insülin varlığında glukoz taşınımı artmaktadır. İnsülin glukoz taşıyıcılarının (glukoz transport molekülleri, GLUT) hücre içi vezikül havuzundan hücre yüzeyine devamlı hareketini sağlamaktadır. Çizgili kas ve yağ dokusunda insülin GLUT-4 yardımıyla transloke olur. İnsülin bağlandıktan sonra, hormon reseptör kompleksi hücre içine alınır. Hücre içinde, insülin lizozomlarda yıkılır. Reseptörler de yıkılabilir, fakat çoğu hücre yüzeyine geri döner. Yüksek insülin düzeyleri reseptör yıkımını artırır, böylece yüzey reseptörlerinin sayısı azaltılır (down regülasyon). İnsülinin bağlanması çok geniş etkilere yol açar. En erken yanıt, glukozun hücre içine girişinin artmasıdır. Bu olay, membran reseptörüne bağlandıktan sonra saniyeler içinde olmaktadır. İnsülinin neden olduğu fosforilasyonla ilişkili enzimatik aktivite değişiklikleri ise dakikalar ve saatler içinde meydana gelir. İnsülin başta karaciğer, böbrek ve çizgili kaslar olmak üzere yağ dokusu, monosit, eritrosit, granülosit ve plasentada yıkılır. Pankreastan salındıktan sonra yaklaşık %50'si hepatositlerde yıkılır. Böbreklerde glomerüllerden süzülür

ve proksimal tubulusta reabsorbsiyona uğrar, tubulus hücrelerinde kısmen yıkılır (22).

İnsülin direnci, belli bir konsantrasyondaki insüline subnormal bir biyolojik yanıt alınması veya glukoz homeostazisinde insülinin beklenen etkisinin bozulması ve insüline verilen yanıtta eksiklik olarak tanımlanabilir (23).

Metabolik açıdan insülin direnci, insülinin hücre düzeyindeki metabolik olaylara etkisinin azalması veya insüline karşı hücre düzeyindeki duyarlılığın azalması olarak tarif edilebilir. Klinik açıdan ise kişinin günlük metabolik işlevlerini fizyolojik olarak sürdürebilmesi için pankreastan salgılanan insülin miktarını aşan düzeyde insülin üretmek ya da kullanmak zorunda kalmasıdır (24).

Normalde insülin karaciğerde glukoneogenezi ve glikojenolizi inhibe ederek hepatik glukoz üretimini baskılar. Ayrıca glukozu kas ve yağ dokusu gibi periferik dokulara taşıyarak burada glikojen depolanmasını ya da enerji üretmek üzere okside olmasını sağlar. İnsülin direncinde insülinin karaciğer, kas ve yağ dokusundaki bu etkilerine karşı direnç oluşarak hepatik glukoz supresyonu bozulur. Kas ve yağ dokusunda da insülin aracılığı ile olan glukoz kullanımı azalır (22).

İnsülin direnci toplumda sık rastlanan bir fenomendir. Tip 2 diabetes mellitus ve obezitede sık görülmekle birlikte obez olmayan ve normal glukoz toleranslı bireylerde de yaklaşık %25 oranında insülin direnci tespit edilmiştir (25). İnsüline karşı duyarlılık normal glukoz toleranslı sağlıklı bireylerde bile geniş bir aralıkta dalgalanmakta ve insülin direncinin prevalansı tam olarak bilinmemektedir (23). Tip 2 diabetes mellitus'ta insülin direncinin gelişimi 4 dönemde incelenir (1).

3.1.1.1.2.1. Preklinik Diabet Dönemi

Tip 2 diabetin henüz klinik belirti vermediği bu döneminde beta hücre fonksiyonları nispeten normaldir, fakat mevcut olan periferik insülin direnci normale göre daha fazla insülin salınarak aşılmaya çalışılır ve bu şekilde açlık ve postprandiyal kan şekerleri normal sınırlar içerisinde tutulur. Açlık ve postprandiyal insülin düzeyleri ise yüksek bulunur.

3.1.1.1.2.2. Glukoz İntoleransı Dönemi

Diabet açısından genetik yüklülük ve şişmanlık gibi yüksek risk grubunda olan bireylerde periferik insülin direncini aşmak için pankreas beta hücreleri üzerinde oluşan aşırı yük zamanla beta hücre bitkinliğine ve insülin salgısında azalmaya neden olunca glukoz intolerans başlar ve bu durumda açlık glisemisi normal olduğu halde postprandiyal hiperglisemi gelişir. Bu dönemde genellikle hiperinsülinemi devam etmekle birlikte periferdeki direnci aşabilecek düzeyde insülin salınamamaktadır.

3.1.1.1.2.3. Erken Klinik Diabet Dönemi

Normal glukoz toleransı saptanan preklinik birinci dönem ve postprandiyal glukoz intoleransı saptanan ikinci dönemde açlık hiperglisemisi gelişmediğinden bu iki dönem kompanse periferik insülin direnci dönemidir. İnsülin direncinin giderek artması ile kompensasyon bozulmaya başlar ve bu esnada karaciğerde glukoz yapımı artarak açlık plazma glisemisinin yükselmesine yol açar. Postprandiyal hiperglisemi yanında açlık glisemisinin henüz 140 mg/dl'in altında olduğu bu dönemde insülin salgısı daha fazla artmamaktadır.

3.1.1.1.2.4. Klinik Diabet Dönemi

Açlık plazma glisemisi 140 mg/dl'i geçince insülin salgısı azalmaya başlar. Fakat yine de insülin direnci devam eder. İnsülin direncinin zirvede olduğu bu dönemde giderek artan hiperglisemi insülin salgı artışı ile kompanse edilmediği gibi glukoz toksisitesi nedeniyle beta hücreleri insülin salgısını daha az salgılamaya başlar.

İnsülin direnci hücresel olarak da preresseptör, reseptör ve postreseptör olmak üzere üç düzeyde sınıflandırılmaktadır. İnsülin direncinin oluşmasında reseptör ve özellikle postreseptör düzeyindeki defektler daha önemli olup, preresseptör düzeyindeki defektler daha az rol oynar. İnsülin direnci anatomo-patolojik olarak da iskelet kasında, yağ dokusunda ve karaciğerde olmak üzere sınıflandırılmaktadır.

3.1.1.1.3. Hepatik Glukoz Üretiminde Artış

Diabetes mellitus patogeneğinde üçüncü ana metabolik bozukluktur. Karaciğerde glukoz yapımı glikojenoliz veya glukoneogenez yoluyla. Hepatik glukoneogenezdeki artışın nedeni henüz kesin olarak bilinmemekle birlikte hiperglukagonemi ve laktat, alanin ve gliserol gibi glukoneojenik prekürsörlerin artışıyla ilişkilendirilmiştir. Sonuçta açlık hiperglisemisi oluşur (17). Hatta açlık hiperglisemisinin tamamının karaciğer glukoz yapımındaki artışa bağlı olduğu kabul edilmektedir. Hepatik glukoneogenez artışının diabetiklerde primer defekt olduğunu gösteren pek az bulgu vardır. Bu faktörün sekonder olay olduğu ancak glukoz toksisitesini daha da artırdığı düşünülmektedir (1).

3.2. Bozulmuş Açlık Glukozu ve Bozulmuş Glukoz Toleransı

Bu iki bozukluğun normal glukoz toleransı ile diabet arasındaki ara metabolik bozukluklar olduğu gösterilmiştir. 1985 WHO'nun örgütünün değerlendirmesine göre bozulmuş glukoz toleransı (IGT), glukoz intoleransının bir sınıfı olarak kabul edilmiştir (26). ADA 1997(10) ve WHO 1999 (27) yılı kılavuzlarında IFG ve IGT bozulmuş karbonhidrat metabolizmasının bir basamağı olarak ele alınmıştır. Bu iki kavram daha sonra gelişecek diabet ve kardiyovasküler hastalıklar için risk faktörleri olarak kabul edilmektedirler. Her ikisinin birlikte bulunması daha kuvvetli bir risk faktörüdür (28).

Açlık plazma glukozu 100-126mg/dl arasında bulunan bozulmuş açlık glukozuna sahip olan hastalar (IFG) genellikle IGT şekline dönüşür. Bozulmuş glukoz toleransını tanımlayabilmek için OGTT(Oral Glukoz Tolerans Testi) yapmak gereklidir. OGTT'de 2. saat plazma glukoz düzeyi 140-200 mg/dl (ADA 2003'e göre) tespit edilen vakalarda glukoz toleransı bozukluğu söz konusudur. Bu grup hastalarda klinik diabet henüz ortaya çıkmamıştır. Üstelik çoğu, günlük yaşamlarında öglisemiktirler. Ancak IGT'de karaciğerden glukoz çıkışını engelleyerek açlık hiperglisemisi olmayacak kadar insülin etkisi mevcut olduğundan postprandiyal hiperglisemi IGT için daha duyarlı bir göstergedir. IFG ve IGT metabolik sendromun majör elemanları arasında yer almakla beraber, patofizyolojik yönden birbirlerinden ayrılmaktadırlar. Bozulmuş açlık glukozundan, artmış hepatik glukoz outputu ve erken faz insülin salgılanmasındaki bozukluk sorumludur. Halbuki IGT, periferik insülin direncine bağlanmaktadır. Bu nedenle, prevalans çalışmalarında birlikte bulunmalarının sınırlı olduğu dikkati çekmektedir. Bütün prevalans çalışmalarında IFG'li kişilerin

sadece yarısında IGT bulunurken, IGT'li vakaların %20-30'unda IFG tespit edilmiştir. Bugün için IFG ve IGT, glukoz homeostazı ile diabet arasında yer alan bir metabolik durum yani prediabet olarak ele alınmaktadır (29, 30, 31). IFG veya IGT bulunan vakalarda HbA1c değerleri normal veya normalin biraz üzerinde bulunur. Ancak yine de bu değerlerdeki hiperglisemi bile diğer metabolik veya kardiyovasküler anormalliklerle açıkça ilişkilidir (29). IFG ve IGT, insülin rezistansı, hiperinsülinemi, obezite (özellikle abdominal veya visceral obezite), yüksek trigliserid ve/veya düşük HDL şeklinde dislipidemi ve hipertansiyonu içeren metabolik sendrom ile ilişkilidirler. Metabolik sendromda direkt olarak tip 2 DM patogenezi ile ilgili olduğundan IFG ve IGT, tip 2 DM için risk faktörüdür (1). Yapılan epidemiyolojik bir çalışmada, 35-70 yaşları arasındaki popülasyondaki normal kişilerin %25'inde, IGT'lilerin %59'unda, diabetlilerin ise %88'inde insülin direnci saptanmıştır (23, 31). Şu andaki ortak fikir, her yıl IFG ve IGT'li kişilerin %2-5'inin diabetes mellitusa ilerlediğidir. Bu oran 10 yıl içinde yaklaşık %30'u bulacağı aşıkardır (32, 33).

3.2.1. Diabetes Mellitus Tanı Kriterleri

Diabetes Mellitus tanı kriterleri 1997–2003 yıllarında ADA, 1999 yılında WHO tarafından düzenlenmiştir.

Diabet tanısı için kan glukoz ölçümü ve Oral Glukoz Tolerans Testi (OGTT) en sık kullanılan tanı testleridir. Fruktozamin ve HbA1C değerleri tanı testi olarak yer almamıştır (34).

ADA' nın 1997 ve WHO' nun 1999 raporlarındaki kriterlerine göre;

1. Günün herhangi bir saatinde, kişinin aç olup olmamasına bakılmaksızın ölçülen plazma glukoz düzeyi ≥ 200 mg/dL (11.1mmol/L) ve beraberinde poliüri,

polidipsi, glikozüri, ketonüri ve açıklanamayan kilo kaybı gibi diabet semptomlarının bulunması,

2. En az 8 saatlik tam açlık sonrası, açlık plazma glukoz düzeyinin ≥ 126 mg/dL (7 mmol/L) olması,

3. 75 gramlık OGTT testinin 2. saat kan glukoz düzeyinin ≥ 200 mg/dL (11.1mmol/L) olması.

Yukarıda belirtilen kriterlerden herhangi biri DM tanısı için yeterli bulunmaktadır (34, 35). Yapılan çalışmalarda OGTT'nin 2. saat glukoz değerinin kardiyovasküler mortalite riskini gösterdiği, buna karşılık açlık kan glukozunun böyle bir prediktif değerinin olmadığı ileri sürülmüştür (21). Bu nedenle 2003 yılında ADA açlık kan glukozu için üst sınırı 100 mg/dl olarak kabul etmiştir. Böylece bozulmuş açlık glukozunun bozulmuş glukoz toleransına yakın bir riski yansıtması hedeflenmiştir (36). ADA 2003'e göre DM tanı kriterleri Tablo 1'de gösterilmiştir (37).

Tablo 1. ADA 2003'e Göre DM Tanı Kriterleri Tablosu

	Açlık plazma glukozu	OGTT 2.saat glukozu
Normal	<100 mg/dl	<140 mg/dl
IFG	100–125 mg/dl	-
IGT	-	140–199 mg/dl
DM	≥ 126 mg/dl	≥ 200 mg/dl

Diabet bulguları (poliüri, polidipsi, açıklanamayan kilo kaybı) ile beraber herhangi bir zamanda alınan kan şekerinin ≥ 200 olması ile de tanı konabilir. DM tanısı için açlık kan şekeri tek başına tanı kriterlerini sağlıyorsa OGTT yapılması gerekmez. Eğer hastada semptomlar yok veya hafif var ise ve glisemi tanı sınırını zorluyor ise OGTT gerekebilir.

3.3. Yağ Doku; Adipokinler ile İnsülin ve Tip 2 Diyabet İlişkisi

Yağ dokusunun arttığı veya azaldığı durumlar patolojik olup hiperlipidemi, insülin direnci, tip 2 diyabet ve kardiyovasküler hastalıklar gibi pek çok metabolik hastalık ile doğrudan ilişkilidir. Yağ dokusunun, salgıladığı adipokinlerin miktarındaki değişiklikler sonucunda bu hastalıkların patogenezinde rol oynadığı düşünülmektedir (38, 39). Adipokinler ile insülin arasında kesinliği bilinen ilişki aşağıdaki gibi sıralanmıştır.

3.3.1. İnsülin Hassasiyetine Neden Olan Adipokinler

3.3.1.1. Adiponektin

Yapılan klinik çalışmalarda adiponektin düzeyinin obezite, tip 2 diyabet ve koroner arter hastalarında düşük olduğu tespit edilmiştir(40).

3.3.1.2. Leptin

Leptin iskelet kasındaki, karaciğerdeki ve pankreasın beta hücrelerindeki hücre içi lipid düzeyini insülin hassasiyeti geliştirerek düşürür.

3.3.2. İnsülin Direncine Neden Olan Adipokinler

3.3.2.1. Resistin

Yağ dokusundan salınarak obez ve insüline dirençli farelerde insülin hassasiyetini düzenlemektedir (41).

3.3.2.2. Tümör Nekroz Faktörü (TNF)

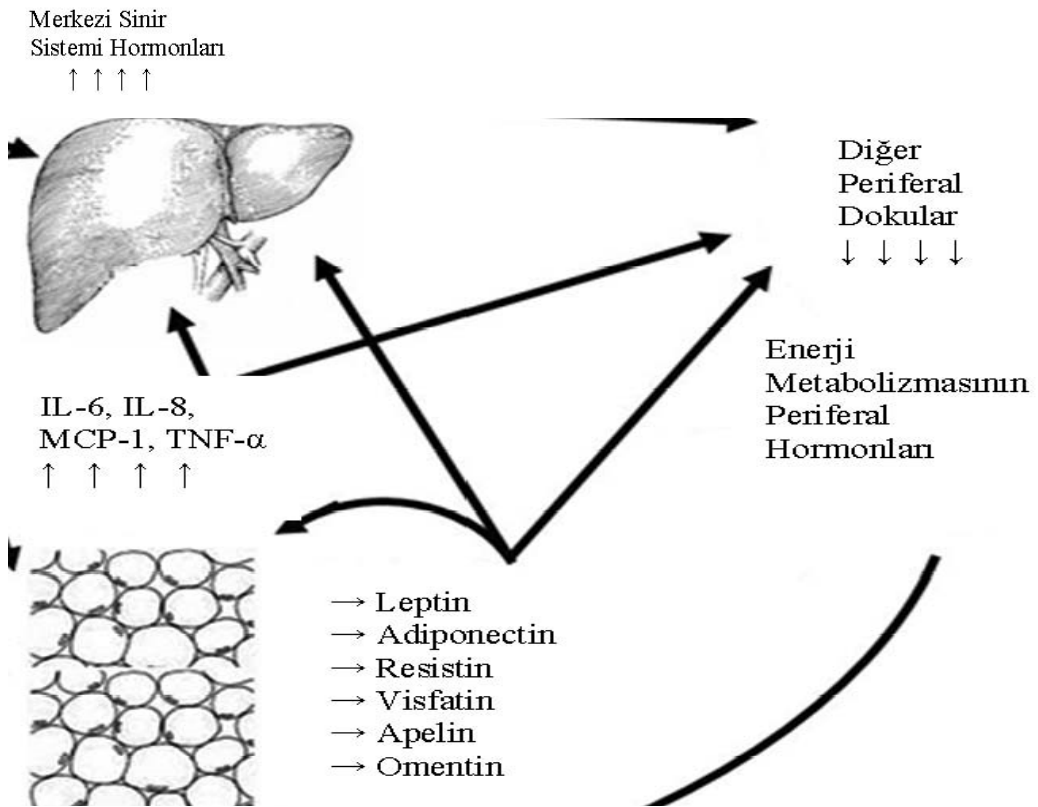
İnsülinin yağ ve kas dokusu üzerindeki etkisini inhibe eder (42).

3.3.2.3. İnterlökin-6

Visseral yağ dokusundaki IL-6 konsantrasyonu deri altı yağ dokusundaki IL-6 konsantrasyonundan yüksektir (43).

3.3.3. Adipokinler ve Tip 2 Diyabet

Diyabet şimdiye kadar inflamatuvar bir hastalıktan çok metabolik bir hastalık olarak değerlendirilmiştir. Yağ dokusundan salınan adipokin ve sitokinlerin insülin direncine yol açtığı anlaşıldığından sonra diyabet inflamatuvar bir hastalık olarak kabul görmüştür. Yüksek glukoz seviyesi pro-inflamasyonu artırır. Sitokinler, insülin reseptörünün fosforilasyon bölgesini etkileyerek insülin hassasiyetini azaltır. Diyabette leptin seviyesi genelde artarken, adiponektin seviyesi ise düşer. Ayrıca adiponektinin trimer ve multimer formlarının oranı da insülin hassasiyeti için önem taşır (44).



Şekil 1. Adipoz doku tarafından sekrete edilen adipokinler ve sitokinler

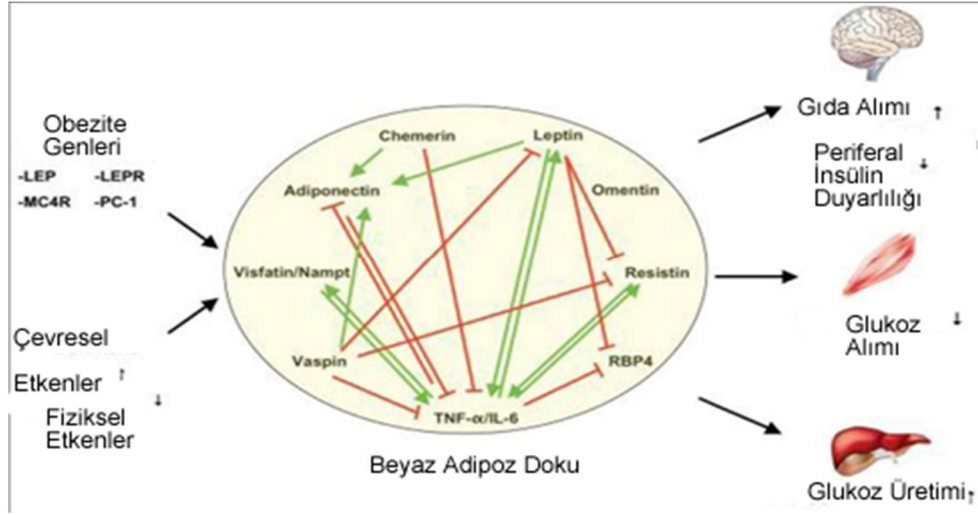
Adipoz doku tarafından sekrete edilen adipokinler ve sitokinler, enerji metabolizmasında ilgili hormonları ve suda eriyebilir proteinleri üreten diğer periferik organların kondisyonunu ve aktivitesini etkiler (45).

3.4. Yağ Dokusu ve Adipokinler

Son zamanlarda yapılan çalışmalar yağ dokusunun sadece bir enerji deposu değil aynı zamanda aktif endokrin organ olduğunu göstermiştir. Beyaz yağ dokusu, ihtiyaç fazlası enerjiyi trigliserid halinde yağ hücresinde depolar ve ihtiyaç duyulduğunda da hızla dolaşıma verebilir. Yağ dokusu vücutta en büyük enerji deposudur ve enerjinin yağ hücresinde depolanması ve salgılanması hormonal sinyallerle (insülin, katekolaminler, glukokortikoidler v.b.) kontrol edilir. Yağ dokusu endokrin fonksiyonunu salgıladığı adipokinler aracılığıyla gerçekleştirmektedir. Adipokinlerin sayıları gün geçtikçe yenileri keşfedilerek artış göstermektedir. Bunlar resistin, adiponektin, leptin, RBP4, son keşfedilenlerden visfatin, apelin, vaspın, hepcidin, chemerin, lipocalin 2, adipsin, omentin; inflamasyonla ilişkili TNF- α , IL-1 Beta, IL-6, IL-8, IL-10, IL-4, TGF- β , IL-17D, IL-18, transforming büyüme faktörü- α (TGF- α), Monosit kemoattractan protein (MCP-1), prostaglandin I₂ (PG I₂) , prostaglandin F₂ α (PG F₂ α), Nerve growth faktör (NGF); akut faz reaksiyonlarında yer alan plazminojen aktivatör inhibitör-1 (PAI-1), haptoglobin, serum amiloid A, α 1-asit glikoprotein ve anjiyotensinojen, asilation-stimüle edici protein (ASP), insülin benzeri büyüme faktörü (IGFI) gibi çok sayıda proteindir (46). Beyaz yağ dokusunun fonksiyonları Şekil 2’de gösterilmiştir (47).

Yağ dokusu hücre sayısı ve büyüklüğü bakımından yaşam boyu, enerji ihtiyacı ve tüketimine bağlı, sürekli hacim değişkenliği gösteren bir dokudur. Yağ hücresi enerji depolama ve salgılama sürecinde bu fonksiyonlar için çok karışık sistemler tarafından idare edilir. Yağ hücresi ekstrasellüler sıvıya sitokin, hormon salgılayan bir hücredir ve bu salgı ürünleri ile endokrin, parakrin ve otokrin yolla

diğer hücrelerle haberleşir. Yağ hücresi enerji depolamaya ve salgılamaya adapte olmuştur. Enerji lipid damlacıkları halinde trigliserid olarak depolanır ve bu damlacıklar hücrenin yaklaşık %90'dan fazlasını oluşturup, geri kalanını ise diğer hücre organelleri oluşturur.



Şekil 2. Beyaz yağ dokusunun fonksiyonları

Yağ dokusu kahverengi yağ dokusu ve beyaz yağ dokusu olmak üzere 2'ye ayrılabilir. Kahverengi yağ hücreleri çok sayıda "uncoupling protein-1 (UCP-1)"i içeren mitokondrileri, erişkinde çok az bulunması ve termoregülasyonda görev alması ile beyaz yağdan ayrı incelenir. Beyaz yağ dokusu, viseral yağ (karın boşluğunda iç organlar etrafında yerleşmiş olan yağ, omental yağ) ve subkutan yağ olmak üzere iki kısımda incelenir. Viseral yağ total vücut yağının %10 kadarını oluşturur ve yaşlanma ile bu oran %20'lere kadar artabilir. Subkutan ve viseral yağ arasında hücre büyüklüğü, membran reseptörleri, kana yağ asidi salgılama ve yağ depolama bakımından farklılıklar vardır. Örneğin; viseral yağ dokusundan interlökin-6 (IL-6) salgılanması subkutan yağ dokusuna göre 2-3 kez daha fazladır. Viseral yağ dokusunun kanlanması portal sisteme drene olur ve salgılanan yağ asitleri karaciğere gider. Karaciğerde glukoneogenezele diğer enerji kaynaklarına dönüştürüldüğü gibi lipoproteinlere dönüştürülerek tekrar kana verilir, böylece karaciğer, kas ve yağ hücrelerinde insüline bağlı lipojenik etki azaltılmış olur. Yağ dokusu ve yağ hücreleri kan

damarları ile yakın ilişkilidir ve iyi gelişmiş bir kapiller ağına sahiptir. Yağ dokusu kapillerleri iskelet kası kapillerlerine göre daha geçirgen ve lipoprotein-lipaz (LPL) bakımından zengindir. Yağ dokusu hücreleri kendi aralarında, kapiller endotel ve damar düz kas hücreleri ile sürekli iletişim halindedir (47).

Fibroblastlar fetal dönemin 15. haftasından sonra mitozla çoğalarak preadipositlere dönüşürler. Yaşamın ilk 2 yılında preadipositlerden yağ hücreleri oluşur, büyüklük ve sayı olarak en çok bu yıllarda değişime uğrarlar. Puberteye kadar yağ hücre sayısı çoğalarak artmaya devam eder. Puberteden itibaren yağ hücresinde mitoz görülmez, hücreler sayıca artmaz, sabit kalır, sadece hücre büyüklüğü değişir. Bu nedenle puberte öncesi obezite hiperplastik (hücre sayısında ve büyüklüğünde artış), puberte sonrası hipertrofik (sadece hücre çapı ve hacminde büyüme)'tir. Yağ hücrelerinin çapı 20-200 µm arası büyüklüklerde olabilmektedir. Böylece hücre çapı olarak 20 kat kadar büyüme gösterebilirken, hacim olarak büyüme 1000 kata ulaşabilmektedir (48).

3.4.3. Yağ Hücresinin 3 Ana Görevi

1. Metabolizma fazlası enerjiyi, trigliseridlere çevirerek depolamak
2. İhtiyaç durumunda depo trigliseridleri yağ asidine dönüştürerek kana vermek
3. Sinirsel ve endokrin yolla metabolik kontrolü sağlamaktır.

Yağ dokusu vücutta en büyük enerji kaynağıdır ve bu enerji, açlıkta ve ihtiyaç duyulduğunda hızla dolaşıma yağ asitleri şeklinde geçebilecek olan trigliserid halinde depolanmıştır. Yağ hücrelerinden enerjinin (yağ asitlerinin) ve salgıladığı hormon ve sitokinlerin dolaşıma geçişi hormonal sinyallerle kontrol edilir. Yağ hücresine insülin, adrenalin, noradrenalin ve kortizon gibi maddeler etki ederek onun fonksiyonunu düzenlerler. Yağ hücresi ve karaciğer hücrelerinde

glukoz ve yağ asitlerinden trigliserid sentezi (lipogenez) ve depolanması insülin tarafından stimüle edilir. İnsülin, yağ hücresinde, yağ hücre membranı LPL aktivitesini ve hücre içerisine yağ asidi girişini artırır. Yağ hücresinde trigliseridlerin yıkımı (lipoliz) adrenalinin ve noradrenalinin hormona duyarlı lipaz enzimini aktive etmesiyle olur ve yağ asitlerinin dolaşıma geçmesi sağlanır. Bu nedenle egzersizde ve stres halinde zaman zaman plazma serbest yağ asidi miktarı 5-8 kat artar. Yağ asitlerinin kana geçmesini sağlayan diğer maddeler arasında büyüme hormonu (GH), kortizol, tiroksin sayılabilir. Sonuç olarak yağ dokusu ve salgıladığı maddeler ile ilgili yağ dokusunun bir endokrin organ gibi sitokin üretimi ile sempatik sistem uyarıcısı gibi çalıştığı, yağ dokusunda leptin, TNF- α ve IL-6 üretiminin noradrenalin ve adrenalin tarafından düzenlendiği söylenebilir. Yağ dokusundan salgılanan sitokin ve hormonların çoğu kan glukoz homeostazisinde görev alırlar (48).

Leptin, adiponektin ve resistin sadece yağ dokusundan salgılanır. Yağ hücresinden salgılanan TNF- α ve IL-6, lenfositler ve makrofajlardan da salgılanır. Chemerin öncelikle karaciğer ve yağ dokusundan, vaspin, visfatin ve RBP4 yağ dokusundan salgılanır (47).

Obezlerde leptin, resistin, TNF- α ve IL-6 plazma düzeyleri artarken, adiponektin düzeyleri azalmaktadır. Resistin, TNF- α hücrelerde glukozu karşı toleransı bozarken leptin ve adiponektin hipoglisemi oluşturmaktadır. Leptin, TNF- α , IL-6, ASP, IGF-1, PG, aguti protein gibi yağ hücresinden salgılanan maddelerin yağ hücresi membranında da reseptörleri vardır (48).

3.4.4. Apelin

1998 yılında Totemato ve arkadaşları tarafından tanımlanmıştır. Apelin, ilk olarak sığır midesinden izole edildi. Vücudun çeşitli bölümlerinde endotelial hücrelerinden üretilen bu peptid, adipoz dokunun önemli bir üyesidir. Apelin reseptörü (APJ) ise 7-transmembran reseptörlü Gi-proteine bağlı endojen bir ligand olarak tanımlandı (49).

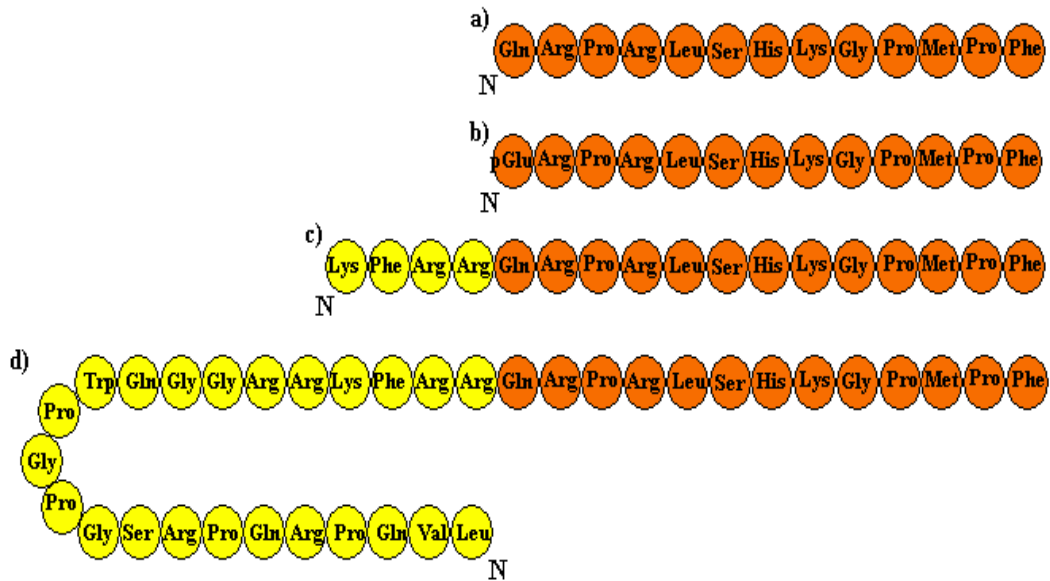
3.4.4.1. Apelin-36

Apelin bir adipositokin olmakla beraber aynı zamanda bir nöropeptid ve kardiyovasküler (KVS) peptididir. Apelin 1998 yılında 7-transmembran G-protein süper ailesinin bir üyesi olarak bulunmuştur. G proteini bağlı bir reseptör olan APJ geninin endojen bir ligandıdır (49,50). Apelin 77 aminoasitten pre-pro-peptid olarak sentezlenmektedir. 13, 17 ve 36 gibi farklı aminoasit sayılarından oluşan apelin formları vardır. Fizyolojik olarak aktif formunun Apelin-36 olduğu düşünülmektedir (51). Adiposit farklılaşmasında ekspresyonu artar. Gastrik hücre proliferasyonu ve kolesistokinin (CCK) salınımını sağlar. Kan basıncını düşürür. Apelin ve APJ tüm vücutta eksprese edilmekte, santral sinir sistemi ve kardiyovasküler sistem üzerine fonksiyonel etkiler göstermektedir (51,52). KVS’de anjiogenik rolü vardır. Apelin endotel-bağımlı, nitrik oksit-aracılığıyla vazodilatasyon sağlar ve arteriyel kan basıncını azaltır. Vazopressini inhibe ederek diüretik etki gösterir. Ayrıca apelin, güçlü ve uzun etkili pozitif inotropik aktivite gösterir (53). Obez bireylerde hiperinsülinemi ile birlikte apelin artışı gözlenmiştir (54,55). Buna göre, plazma apelin seviyeleri obezitede insülin direnci ve hiperinsülinemi ile bağlantılı olarak artmaktadır (53,56). Yağ hücrelerinde apelin ekspresyonu açlık ile kuvvetlice inhibe edilmekte ve tekrar

beslenmeden sonra insüline benzer şekilde artmaktadır. Bu bilgiler göstermektedir ki insülin kullanımı adipositlerdeki apelin gen ekspresyonu üzerine direk kontrol sağlamaktadır. Obez hastalarda hem plazma apelin hem de insülin seviyeleri oldukça yüksektir (57).

3.4.4.2. Apelinin Yapısı ve Lokalizasyonu

Hem apelin hem de apelin reseptörünü mRNA kodlamaktadır. Apelin; birçok bölgeden; genellikle DNA kontrolünde 77 prepropeptid olarak sentezlenir. Daha sonra apelin-12, apelin-13, apelin-17 ve apelin-36 gibi farklı sayıda aminoasitlere sahip fragmanlar oluşmaktadır (58). Apelinlerin biyolojik aktivitesini belirleyen kısım, apelinin enzimatik olarak yıkılmasını engelleyen N-terminopiroglutamat kısmıdır. N- terminal piroglutamat varlığı bir post-translasyonel modifikasyon örneğidir (58) (Şekil 3).



Şekil 3. Aminoasit zinciri. (a) apelin -13 (b) p[Glu] Apelin -13 (c) Apelin -17 (d) Apelin-36. Turuncu renk tüm peptiddeki aynı aminoasitleri gösterirken sarı renk ise prepropeptid zincirden farklı olan aminoasitleri göstermektedir (58).

Moleküler tekniklerle ve immünositokimyasal yöntemlerle, apelinin dokulardaki lokalizasyonu özel antibody kullanılarak tespit edilmiştir.

Böylelikle ratların santral sinir sistemi ve periferik dokularında apelin mRNA' sı bulunmuştur. Apelin ve reseptörünü; kodlayan mRNA beyin (özellikle serebellum bölgesinde), hipotalamus, vasküler endotelyum, kalp, karaciğer, akciğer, böbrek, testis, adipoz doku ve meme glandında yüksek miktarda saptanmıştır. Yapılan çalışmalarda apelin peptidinin periferik lokalizasyonuna insanda en fazla mide epitel hücrelerinde ve miyokard epitelinde rastlanmıştır (58,59).

3.4.4.3. Apelin Reseptörü (APJ)

İlk kez 1993 yılında keşfedilen apelin reseptörü ve apelin reseptörlerini kodlayan genler, ilk olarak homolog kloning metodu ile keşfedildi. Apelin reseptörleri anjiotensin tip 1 (AT₁) reseptörleri ile (transmembran bölgesinde %54) büyük benzerlikler göstermektedir. APJ bu nedenle anjiotensin reseptör like 1 olarak da tanımlanmaktadır (58). AT₁ reseptörü ve apelin reseptörü arasındaki sekans (gen dizilimi) homolojisi olsada, apelin-13 ve anjiotensin II arasında sınırlı bir homoloji vardır ve her iki reseptörün ve peptidin dağılımı hipotalamus ve vasküler yapıda benzerdir. Buna rağmen anjiotensin II apelin reseptörüne bağlanmamaktadır (60).

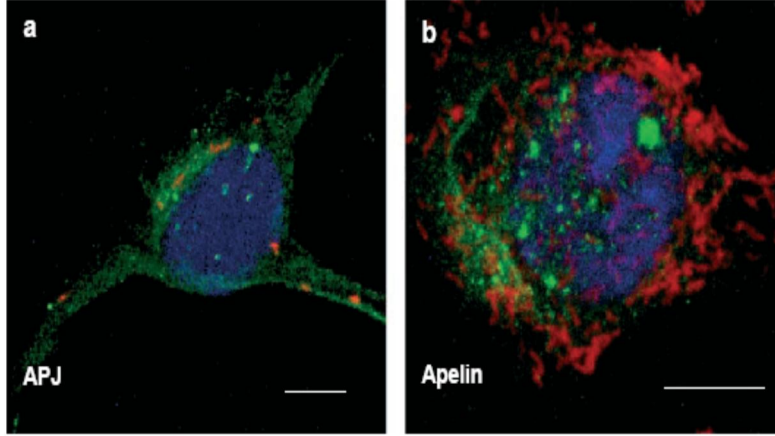
3.4.4.4. Apelinin Etkileri ve Fizyolojik Roller

Apelin ve APJ m-RNA çeşitli insan ve rat dokularında geniş olarak sentezlenmektedir ve santral sinir sistemi ile periferik dokularda fonksiyonel etkileri bulunmaktadır. Apelinin kardiyovasküler fonksiyon regülasyonunda, sıvı hemostazında, damar formasyonu ve hücre proliferasyonunda fonksiyonu olduğu gösterilmiştir. Birçok metabolik ve inflamatuvar yanıtlar adipokinlere cevap olarak oluşmaktadır. Yakın zamanda apelinin bir adipokin olduğu ve adipoz dokudaki apelin gen ekspresyonunun insülin ve TNF- α tarafından yükseldiği

tanımlanmıştır (58). Apelin ve Apelin Reseptörünün Karakteristik Özellikleri (58).

Tablo 2. Apelin ve Apelin Reseptörünün Karakteristik Özellikleri

	Apelin Reseptörü (APJ)	Apelin
Eşanlamlısı	Angiotensin reseptor-like 1	APJ endojen ligand
Moleküler sınıf	7-transmembranöz G protein-bağlı reseptör	Peptid ligand
Aminoasid sayısı	380	77 (prekürsör)
Moleküler ağırlık (Da)	42.660	8.569
mRNA boyutu (bp)	1143	234
Kromozom Lokusu	11q12.1	X25-26.3



Şekil 4. a) İnsan umbilikal ven endotel hücrelerinde immünositokimyasal olarak APJ benzeri immünreaktivite (APJ-LI) b) İnsan umbilikal ven endotel hücrelerinde immünositokimyasal olarak apelin benzeri immünreaktivite (Apelin-LI) (58). Apelin ve APJ'nin dokulardaki dağılımı (58).

Tablo 3. Apelin ve APJ'nin dokulardaki dağılımı

	APJ			Apelin		
	Rat	Fare	İnsan	Rat	Fare	İnsan
Beyin	++	+	+++	+	+++	++
Serebellum	+		+	+		+
Hipofiz bezi	+		+	+		++
Spinal kord	+++	++	+	++		++
Adrenal bez	+			+		
Tiroid bezi	++					
Dalak	–	+	+++	–	+	
Timus		+	+		–	
Kalp	++	+++	+	++	++	+
Endotel	++					
Akciğer	+++	++	++	+++	++	+
Mide	+		+	+		–
İnce barsak	+		++	+		–
Kalın Barsak	+		++	+		
Karaciğer	+	+		–	–	–
Pankreas	–		+	–		+
Böbrek	+	+	+	+	+	+
Testis	+	+	+	+	++	+
Prostat			+			+
Ovaryum	+	+	+	+	+	
Uterus	+	+	+	+	–	–
Plasenta	++		++			+++
Meme	+			++		
İskelet Kası	++	++	+	+	+	–
Adipoz Doku	++			+		
Kıkırdak	++					

3.4.4.5. Apelinin Kardiyoprotektif Özellikleri

Apelin ve APJ hem insanda hem de ratlarda kalp ve damar dokularında mRNA ile kodlanmakta ve eksprese edilmektedir. Apelin aynı zamanda insanda bulunan büyük damarların endotel hücrelerinde eksprese edilmektedir. Apelin ve reseptörünün kardiovasküler ekspresyonunun yüksek seviyede olması ve aynı zamanda dolaşım sisteminde anjiotensin ile yapısal benzerliğinden dolayı kan basıncı modülasyonundaki önemi gösterilmiştir (61). Kalp yetmezliğinde apelinin potansiyel teröpatik özelliklerini desteklemek için, apelin uygulanması sonucu ventriküler hipertrofiye neden olmadan kardiyak outputu arttırdığı gösterilmiştir (62).

Apelin düşük dozlarda arteryel basıncı çok fazla etkilemez. Ancak yüksek dozda apelin ile bifazik arteryel basınç cevabı oluşur. Bu bifazik etkisini barorefleksler aracılığı ile kalp hızını değiştirerek gerçekleştirir. Apelinin kardiovasküler sistemde farmakolojik dozlarda kardiyak kontraktileti artırıcı etkisi vardır. Endotel bağımlı vazodilatasyon etkisi ve (+) inotropik etkisi vardır. Apelinler vazodilatör ajanların salınımını uyarak vazodilatasyon etki gösterirler. Apelin siklik guanozin monofosfat üzerinden etki ederek nitrik oksit sentaz (NOS) salınımını uyarak bu etkisini oluşturmaktadır. Böylece NOS damarlardaki etkisi ile vazodilatasyon ve bunun sonucunda da kan basıncı düşmektedir. Ishida'nın ratlarla yapılan çalışmasında apelin reseptörü olmayan vasküler düz kasta, NOS aktivasyonunun olmadığı görülmüştür. Bu bize apelinin APJ üzerinden etki ettiğini gösterir. Endotel fonksiyonunun olmadığı hücrelerde APJ reseptörleri burada, direkt olarak vasküler düz kasta vazokontraksiyona neden olmaktadır (71). Apelin, kan damarlarının kontraktilesini module ederek kan basıncını

düşürmede etkili olmaktadır. Apelinin anestezise edilen ratlara 1 ve 2 mikrogram i.v. enjeksiyon uygulandıktan sonra; ortalama arterial kan basıncını yaklaşık 12 mmHg düşüklüğüne neden olurken, kalp hızını değıştirmediği gösterilmiştir (60).

Apelin yine farklı bir etki mekanizması ile de vazodilatasyon oluşturmaktadır. ACE(Anjiyotensin Dönüştürücü Enzim) bir karboksipeptidazdır. Apelinin C terminal fenil alanin kısmı, ACE için alternatif bir substrat olur. Bu karboksipeptidaz apelindeki C-terminal fenilalanin rezidülerini parçalar. Yani anjiotensinojen yerine apelin moleküllerini kullanır. Çünkü apelin reseptörünün, AT₁ reseptörüne benzer aminoasitleri vardır. Böylece aktif anjiotensin II oluşamaz ve bunun sonucunda vazodilatasyon ile kan basıncı düşer. Bu bilgilere dayanarak apelinin kardiyovasküler sistem üzerine 4 farklı etkisi olduğu bulunmuştur (58).

1. Endotel bağımlı vazodilatatör
2. Endotel bağımsız vazokonstrüksiyon
3. (+) inotropik etkisi
4. Kan basıncına etkisi (hipotansiyon)

Kalp yemezliğı ve atrial fibrilasyonu olan hastalarda apelin seviyelerlerinin azaldığı belirlenmiştir (63). Yine yapılan çalışmalarda ST çökmesi olan miyokard infarktüsü geçiren hastalardaki apelin seviyelerinin düşük olarak tespit edilmesi nedeniyle apelinin miyokard infarktüsünde yeni bir markır olarak kullanılabileceğı belirtilmiştir (64). Apelinin vazodilatasyon sağladığı ve sensivite hastalık durumlarını değıştirebildiği ile ilgili kanıt, apelin sistemini, kan basıncı regölasyonunda kullanılabilecek ilaçların hedefi haline getirmektedir. Kalp yetmezliğı sırasında kardiyak yükü azaltırken, kalbin kompliyansını ve kontraktıl

rezervini artırması, iskemik kalp hastalığı ve kalp yetmezliğinde apelinin cazip teröpatik özelliğini göstermektedir (59).

3.4.4.6. Apelin Obezite ve Adipoinsüler Aks

Apelin kan beyin bariyerini doygunluk transportu veya basit diffüzyonla geçebilir. Bu sayede iştah düzenleyen hipotalamik bölgelerde etkilidir. Hipotalamus, gastrik mukoza ve yağ hücrelerinde apelin reseptörlerinin ve apelinin bulunması apelin sisteminin iştah, sindirim metabolizmadaki rollerini düşündürmektedir. Apelin 13'ün intraserebroventriküler enjeksiyonu ile hem aç hem de tok ratlarda gıda alımını azaltmıştır. Diğer başka bir çalışmada da, apelin gece ratlara verildiğinde benzer sonuçları bildirmiştir, ama gündüz verilen apelin 12 ile beslenmenin stimüle edildiği gözlenmiştir. Bu apelin etkisinin sirkadiyan-bağımlı bir mekanizma olduğunu göstermektedir (65). Apelinin diğer yeni bir rolüde insülin regülasyonu ve obezite bağlantılı mekanizmalarda tanımlanmıştır. Hem insan hem de fare adipositleri çalışmasında, yeni bir adipokin olarak apelinin yağ hücrelerinden salındığı ve insülin ile up-regüle edildiği bildirilmiştir. Apelin sentezi adipositlerde insülin sekresyonu ile uyarılır. Plazma apelin seviyeleri obezitede, hiperinsülinemi ve insülin rezistansına bağlı olarak artmaktadır. O nedenle apelinin plazma konsantrasyonu obez kişilerde, zayıf olanlara göre daha yüksektir (53). İnsülin adipositlerden apelin gen ekspresyonunu direkt olarak kontrol ederek, apelin kan konsantrasyonunu belirlemektedir. Streptozotosin ile insülin eksikliği yapılan farelerde adipositlerden apelin ekspresyonu azalmaktadır. Apelin in vivo ve in vitroda glukoza hızlı insülin cevabını inhibe etmektedir (66). Özellikle son yıllarda tip 1 diyabetli çocuklarda yapılan bir çalışmada diğer

araştırmalardan farklı olarak insüliniden bağımsız olarak apelin seviyelerinin yükselmesi dikkat çekiciydi (67). Apelinin Etkileri ve Fizyolojik Roller (47).

Tablo 4. Apelinin Etkileri ve Fizyolojik Roller

Sistem	Etkileri
Kardiyak	• Potent pozitif inotrop • Kardiyomiyopatili hastalar ve hayvan modellerinde değişen peptid ve reseptör konsantrasyonu. • Olası kardiyoprotektif etkiler.
Vasküler	• Kan basıncı düşüklüğü (NO bağlantılı mekanizmanın kullanımı) • Angiotensin II' nin basınç etkisine karşıt rolü • Anjiogeneze mediatör
Hipotalamik-pitüiter-adrenal aks	• Apelin reseptörünün, adrenaletomi akut ve kronik strese hipotalamik paraventriküler nükleuslardaki artışı • Adrenokortikotropik hormon ve kortikosteronun plazma seviyelerini artırması
Pitüiter	• Hipotalamik nöronlardan vazopressin salınımını inhibisyonu • Luteinizing hormon (LH), follikül stimulating hormon (FSH) ve prolaktinin azalan plazma seviyeleri
Hipotalamus	• Su tüketimini artırır. • Apelin reseptörün hipertonic solüsyon tüketiminden ve su kaybından sonra hipotalamik nükleuslardaki artışı. • Vücut sıcaklığını artırır. • Ratların besin alımını değiştirir.
Gastrointestinal Sistem	• Gastrik hücre proliferasyonun ve kolesistokinin salınımının artışı
Adipoinsülin aks	• Adipositlerden salınma • Apelin konsantrasyonu obez kişilerde pozitif korelasyon gösterir ve obezite ile ilişkili hastalıklarda up-regüledir. • Hızlı insülin cevabını inhibe eder. (intravenöz glukoz enjeksiyonu sonucu oluşan)

Hiperinsülinemi ve vücut yağ içeriğinin artmasına paralel adiposit içerisindeki apelin mRNA konsantrasyonunda da artış tespit edilmiştir. Akut intravenöz olarak apelin enjekte edilen farelerde glukoz kullanımı iskelet kasında artmakta ve kan şekeri güçlü bir şekilde düşmektedir. Apelin obez ve insülin rezistanslı farelerde glukoz toleransını onarır ve glukoz kullanımını artırır. Apelin bu yönüyle insülin rezistansının yönetiminde ümit verici bir hedeftir (68).

Plazma apelin konsantrasyonlarının insülin ile ilişkili olması nedeniyle apelin ve insülin arasında fonksiyonları ve etki mekanizmaları ile ilgili birçok hipotez ortaya konmuştur. Normal ve insülin dirençli farelerdeki tüm vücudun glukoz kullanımında apelinin büyük oranda potansiyel bir rolü olduğu ve normal farelerde akut apelin i.v. enjeksiyonu sonucunda güçlü glukoz düşürücü etki gösterdikleri bilinmektedir. Apelin özellikle kaslarda NOS, AMPK(Adenozin Monofosfat Protein Kinaz)ve Akt (Akut ve Kronik Stres) bağımlı yollarla glukoz alımını stimüle etmektedir. Apelinin obez ve insülin dirençli farelerde, insülin duyarlı dokulardaki glukoz alımını artırması glukoz metabolizmasında rolü olduğunu açıkça göstermektedir. Çeşitli çalışmalarda AMPK'nın; NO sinyalizasyonunun artırıcı bir mediatörü olduğu ve AMPK'nın iskelet kaslarındaki yağ asidi ve glukoz metabolizmasının düzenlenmesinde önemli rol aldığı gösterilmiştir (68). Lie ve arkadaşları kalpte AMPK aracılı glukoz alımında NO yolağının rolünü tanımlamıştır. Burada ilk kez olarak apelinin iskelet kasında AMPK fosforilasyonunu, artırdığı gösterilmiştir. AMPK; apelinin glukoz metabolizması üzerine sistemik etkisini düzenlemesi için gerekli bir yolak olduğu düşünülmektedir. Apelin ayrıca insülin yolağına bir bağımlı mekanizma ile glukoz

alımını uyarır. Apelin bir insülin sinyalizasyonu olan PI3K/Akt seviyesinde bir etkileşim göstererek, Akt fosforilasyonunu etkilediği bilinmektedir (68).

3.4.4.7. Apelinin Sıvı Elektrolit Dengesine Etkisi

Apelin sıvı elektrolit dengesini düzenler. Santral sinir sisteminden salınan apelin vazopressini ve başka mediatörler yoluyla çevre dokuları ve böbreği etkilemektedir. Paraventriküler ve supraoptik nükleuslarda bulunan apelin reseptörleri sinyal yayarak bu etkilerini göstermektedir. Apelinin diüretik etkisi vardır. Apelin plazma antidiüretik hormon seviyelerini %47'ye kadar düşürmektedir (58).

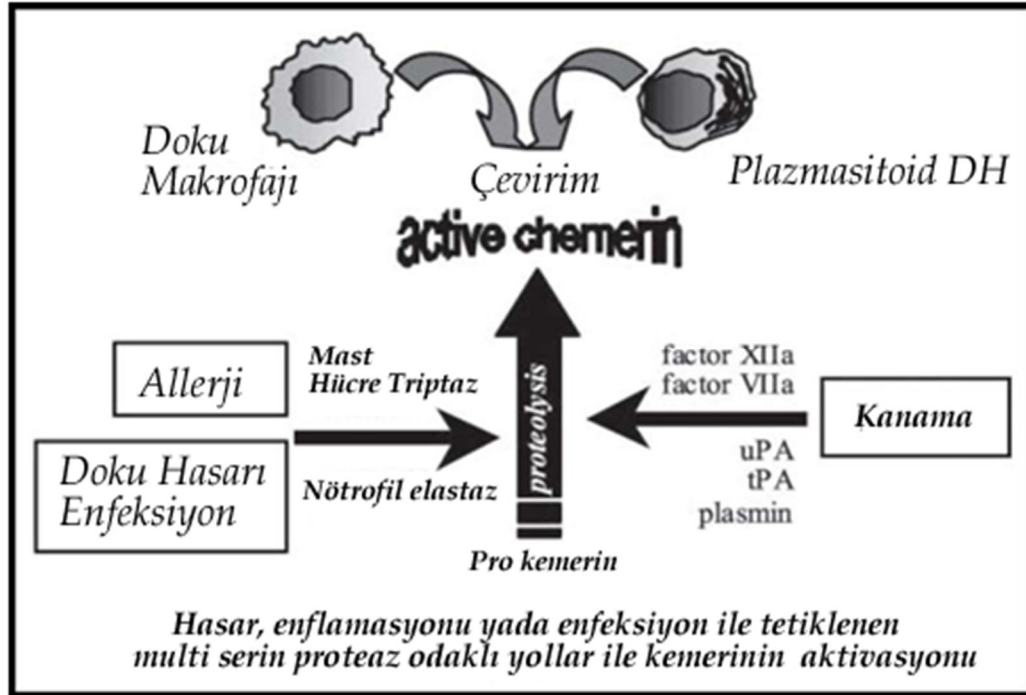
Sonuç olarak, apelin sisteminin birçok fizyolojik rolleri vardır, özellikle kardiovasküler sistem, hipotalamus ve adiposinsüler aks da, hem sirkülasyon hem de parakrin olarak apelinin bir nörotransmitter olarak davrandığına dair kanıtlar vardır. Apelin adipositokinler arasında benzersiz özellikleri olan, obezitede up regüle olan ve yararlı özellikler gösteren adipositokindir (59).

3.4.5. Chemerin

Chemerin yağ dokusundan salınan çok sayıda adipokinler arasında son keşfedilenlerdendir. Chemerin G proteini ile birleşen CMKLR1 reseptörü (Chem R23 veya DEZ olarak bilinen) için bir ligandır (60,70,71). Chemerin yağ dokusu, karaciğer, böbrek, pankreas, akciğer, over, hipofiz gibi çok sayıda dokudan eksprese edilir. CMKLR1 ise öncelikle nötrofiller, aktive makrofajlar ve dendritik hücreler gibi immün sistem hücrelerinde bulunmuştur (71).

Chemerin 18 kDa'luk tam uzunlukta inaktif bir pro-protein olan prochemerin olarak salınır ve extrasellüler olarak C-terminal ucundan, koagülasyon ve fibrinolitik kaskada ait plazmin, faktör XII a ve C1s, aktive

nötrofil granüllerinden salınan nötrofil elastaz ve cathepsin G ve mast hücrelerinden salınan triptaz gibi serin proteazların 5-10 aminoasit ayırmasıyla yarılmaya uğrayarak plazma, serum ve hemofiltratta bulunan 16 kDa'luk aktive kısa formu olan chemerine dönüştürülür (72, 73, 74). Chemerinin serin proteazlarınca aktif formuna dönüştürülmesi Şekil 5'de gösterilmiştir.



Şekil 5. Chemerinin serin proteazlarıyla aktif formuna dönüştürülmesi

Tam uzunluktaki chemerin kısaltılmış formuna kıyasla düşük biyoaktiviteye sahiptir. Yağ dokusunda chemerinin hangi formunun bulunduğu açık değildir fakat chemerini aktive eden proteazlardan C1s ve cathepsin G de yağ dokusunda eksprese edilir (70,74,75). Bu gözlemler chemerinin obez kobaylarda proteolitik ayrılma ile bioaktif formuna dönüştüğü, zayıf kobaylarda ise chemerinin inaktif formu olan uzun formunda kaldığı hipotezine yönlendirmekte ve chemerinin biyoaktif regülasyonunun yağlanma ve inflamasyon gibi daha ileri süreçler için başlatıcı bir rolünün olabileceğini düşündürmektedir (76).

Yapılan bir çalışmada plazma ve serumdaki yaklaşık chemerin konsantrasyonu sırasıyla insanda 3.0 nM ve 4.4 nM, kobayda ise 0,6 / 0,5 nM olarak bulunmuştur. Beyaz yağ dokusu chemerin sinyalizasyonu için bir kaynak ve hedeftir. Chemerin salgılanan bir protein olup adipogenezis ve adiposit fonksiyonlarında düzenleyici role sahip olabileceği düşünülen bir adipokindir (76).

Goralski K.B. ve ark. yaptıkları çalışmada kobay chemerin mRNA' sının beyaz yağ dokusu, karaciğer ve plasentada yüksek miktarda ve overde orta miktarda eksprese edildiğini saptamışlardır. Chemerin mRNA seviyeleri diğer dokularda karaciğerdekinden %5 daha az bulunmuştur. CMKLR1 mRNA ekspresyonu beyaz yağ dokusunda en yüksek karaciğer, kalp ve plasentada orta seviyede gösterilmiş, diğer dokularda da çok düşük seviyede gösterilmiştir. Yapılan bu çalışmayla chemerin ve CMKLR'in epididim, perirenal, mezenterik, inguinal bölge beyaz yağ dokusu depolarında benzer seviyede ekspresyonunun olduğu belirtilmiştir. Karşılaştırmalı olarak kahverengi yağ dokusunda düşük seviyelerde chemerin ve CMKLR1 eksprese edilmesinin tespiti chemerin ve CMKLR1'in primer fonksiyonun kahverengi yağ dokusunun ısı regülasyonunun tersine, beyaz yağ dokusunda enerji depolanması olduğunu düşündürmüştür. Epididimal beyaz yağ dokusunda chemerin ve CMKLR1 ekspresyonu yağ hücresi stromal damarsal fraksiyona göre 2 kat fazla bulunmuştur. Yağ dokusundaki salınımı hücresel komponentlere oranlanacak olursa chemerinin yağ dokusundaki matür adipositlerden ağırlıklı olarak eksprese edildiği ve preadipositlerden değil de adipositlerden salındığı gösterilmiştir. Chemerinin tersine CMKLR1' in hem yağ hücresi hem yapısal damarsal hücrelerden eksprese ediliyor olması yağ

dokusunun iki komponentinin chemerin sinyalizasyonunda rolü olduğunu düşündürmektedir (76).

Chemerinin adipogeneziste rolünün olduğu yönünde Bozaoğlu K. ve ark. Yaptıkları çalışmada fibroblastların yağ hücresine farklılaşması esnasında, chemerin gen ekspresyonunu gözlemlemişlerdir. Chemerin gen ekspresyonun farklılaşmamış fibroblastlara kıyasla farklılaşmış yağ hücrelerinde, yaklaşık 20 kat artış gösterdiğini saptamışlardır. Tersine CMKLR1 gen ekspresyonunun ise farklılaşma esnasında yaklaşık 10 kat kadar azaldığı gösterilmiş ve chemerinin CMKLR1 gen ekspresyonu üzerine negatif feedback etki gösteriyor olabileceği kanaatine varılmıştır (77).

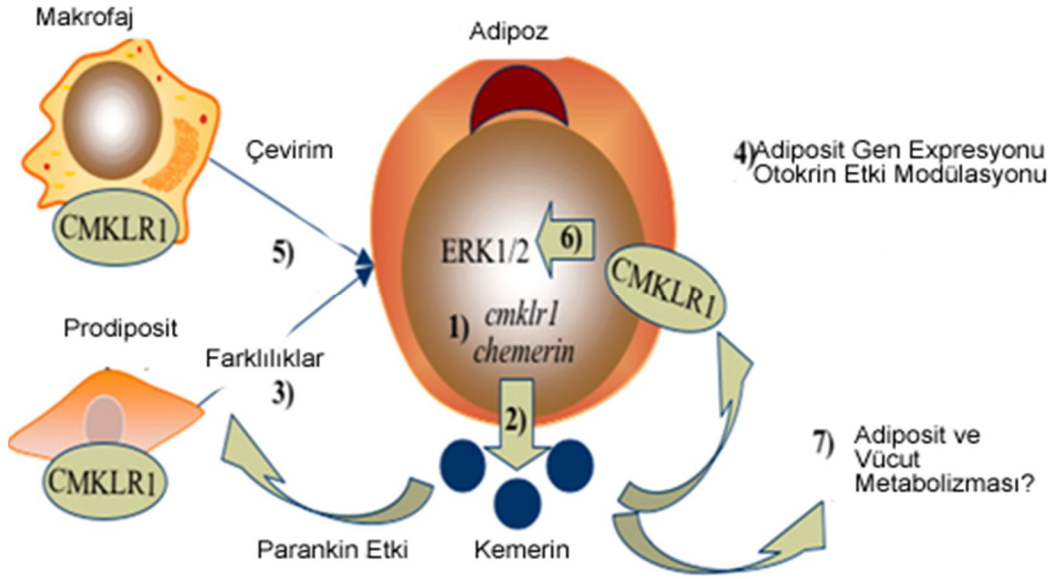
Beyaz yağ dokusunun chemerinin majör kaynaklarından biri olduğunu gösteren Takahashi M. ve ark. yaptıkları çalışmada, immünohistokimyasal yolla chemerin spesifik antibody kullanarak 3T3-L1 adipositlerin, kültür ortamına endojen chemerin salgıladığını ortaya koymuşlardır (78).

Chemerinin inflamasyon veya doku hasarında antijen sunan hücreler için kemotaktik olarak görev yaparak immun cevapta potansiyel bir role sahip olduğu düşünülmektedir. Chemerinin CMKLR1 eksprese eden dendritik hücreler ve makrofajların kemotaksisini stimüle ettiği ve bu hücrelerin inflamasyon sahasına yönlendirilmesinde sorumlu olduğu düşünülmektedir (67,71).

Goralski K.B. ve ark. da çalışmalarında CMKLR1 'in beyaz yağ dokusu stromal damarsal komponentinde yüksek oranda eksprese edildiğini ve adiposit hücre kültür ortamının insan CMKLR1 'ini aktive edip CMKLR1 eksprese eden hücrelerin göçünü stimüle ettiklerini ortaya koymuşlardır. Kobay makrofajlarının CMKLR1 eksprese etmesi ve bu hücrelerin beyaz yağ dokusunda toplanıyor

olması, chemerinin obezitenin gelişmesine katkıda bulunan inflamatuvar cevapta rolünün olabileceğini düşündürmüştür (76). ChemR23 ekspresyonunun büyük oranda monosit, myeloid dendritik hücre (DC) ve plasmasitoid DC' leri kapsayan MHC class II hücreleri tarafından ve az oranda CD3+ ve CD20+ hücreleri tarafından gerçekleştirildiği saptanmıştır. Araştırmalarda, çoğunlukla periferik kan mononükleer hücreleri ve saflaştırılmış natural killer hücrelerinde bulunan CD56+ hücrelerin, ChemR23 ekspresyonunu gerçekleştirdiği ve chemerinin picomolar konsantrasyonlarda, natural killer (NK) hücrelerin göçünü ilerlettiği görülmüştür. Periferik kandaki NK hücrelerin %90'ı CD56+ low'dır. Chemerin, dolaşımalsal CD56+low NK hücreleri için yeni bir kemotaktik faktör olarak gözükmemektedir (79).

Chemerinin sinyal yolları çok belirlenememesine rağmen CMKLR1 aktivasyonunun hücre içi Ca^{++} konsantrasyonunu ve p42 (ERK2), p44 (ERK1)MAPKs fosforilasyonunu arttırdığı bildirilmiştir (74). Bu etki adipogenez ve lipoliz yollarında gerekli olan ERK 1/2 sinyalizasyonu ile bağlantılı olarak yağ hücresi fonksiyonu ile ilişkili olabilir (80,81). Bundan faydalanarak Goralski K.B. ve ark. çalışmalarında ERK1/2 fosforilasyonunu yağ hücresinin chemerinle ilişkisini tanımlamak için kullanmışlardır. Bu çalışmada rat chemerini (0,2 nM) yağ hücresine uygulanmış ve ERK 1/2 fosforilasyonunu 4-5 kat arttırdığı gösterilmiştir (48). Chemerin ve CMKLR1'in yağ dokusundaki rolleri Şekil 6'te gösterilmiştir (76).



Şekil 6. Chemerin ve CMKLR1'in yağ dokusundaki rolleri

Chemerinin, bakterisidal peptid prekürsörlerini (cathelicidins), G protein aracılı reseptör üzerinden lökositler üzerine etki eden mediatörlerin prekürsörlerini (prokininojen, cathelicidin precursors) ve sistein proteaz inhibitörlerini (sistatinler) içeren cathelicidin/sistatin protein ailesine ait olduğu düşünülmektedir (79, 82). Artmış chemerin üretimi over kanseri asit sıvısında ve Romatoid Artritli hastaların sinovial sıvılarında bulunmuştur (71). Psöriasis'den ve Sistemik Lupus Eritematozis' den elde edilen cilt biyopsi örneklerinde de prochemerin bulunmuştur (82). Bu bulgular chemerinin inflamasyonda, otoimmün hastalıklarda ve tümör dokularında lökosit toplanmasında önemli bir aracı rolü üstlendiğini göstermektedir. Chemerinin sekonder lenfoid organlarda yer alan myeloid DC ve plasmositlerin kemotaksisinde rol oynadığı gösterilmiştir (79). Ayrıca chemerin yapısal olarak diğer dolaşım faktörleriyle cathelicidinler, sistatinler ve kininojen ile ilişkidir (52).

Chemerin kan basıncının düzenlenmesinde anahtar organ olan böbrekten yüksek miktarda eksprese edilir. Normal glukoz toleranslı olgularda plazma chemerin seviyelerinin kan basıncı ile güçlü ilişkisi olduğunun bulunması, chemerinin kan basıncı düzenlenmesinde rolü olabileceğini düşündürmüştür (77). Bütün bu gözlemler chemerinin kan basıncı düzenlenmesinde rolü olduğuna dair ileri çalışmalar gerektirmektedir.

Katekolaminler lipolizi beta adrenerjik reseptör, Gs protein ve adenilat siklaz kaskadı üzerinden aktive etmekte ve hücre içi cAMP konsantrasyonunun artması, cAMP bağımlı protein kinazın aktivasyonu ile hormon sensitif lipazın fosforilasyonuna ve aktivasyonuna yol açmaktadır. Son çalışmalar nanomolar konsantrasyonlarda chemerinin intracellüler cAMP konsantrasyonunu azalttığını göstermektedir. Böylelikle chemerinin intracellüler cAMP seviyelerini azaltarak katekolaminlerin lipolitik etkilerine karşı etki gösteriyor olabileceği ifade edilmiştir (71). Chemerinin bir adipokin olduğu ve yağ hücresinin farklılaşmasını düzenlediği ve serum chemerin seviyesinin BMI, serum trigliserid düzeyi ve kan basıncı (77) ile ilişkili olduğu ve 3T3-L1 adipositlerde lipolizi ve ERK1/2'ı stimüle ettiği son çalışmalarda tespit edilmiştir (78). Bunların sonucu olarak chemerinin metabolik sendromun patogeneğinde rol alabileceği düşünülmektedir. Takahashi M. ve ark. yaptıkları çalışmada chemerinin otokrin/parakrin faktör olduğu ve yağ hücresinde IRS-1 fosforilasyonu üzerinden insülin sinyalizasyonunu arttırdığı ve insülin bağımlı glukoz alımını stimüle ettiğini ortaya koymuşlardır. Chemerinin glukoz metabolizmasına olan etkilerini belirleyebilmek üzere daha ileri çalışmalara gereksinim vardır.

3.4.6. Amaç

Diyabet, insülin hormon sekresyonunun ve/veya insülin etkisinin mutlak veya göreceli azlığı sonucu karbonhidrat, protein ve yağ metabolizmasında bozukluklara sebep olan, oluşturduğu komplikasyonlar nedeniyle organ ve işlev kayıplarına yol açarak yaşam süresi ve kalitesini etkileyen kronik hiperglisemik bir grup metabolizma hastalığıdır. Bu çalışmada Streptozotosin ile diyabet oluşturulan ratlarda glukoz metabolizması üzerine etkisi olan **Apelin** ve **Chemerin** düzeyleri tespit edilerek bunların birbiri ile olan ilişkileri ve bu adipokinlerin insülin direnci ve beta-hücre fonksiyonları arasında her hangi bir ilginin olup olmadığının araştırılması amaçlandı.

4. MATERİYAL VE METOT

Deney hayvanlarının seçimi ve yapılan uygulamalar sırasında Fırat Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulu (20.01.2011/Toplantı Sayısı:2011\01; Karar No: 02) onayı alınarak; çalışma standart deneysel hayvan çalışmaları etik kurallarına uygun olarak yapıldı.

Çalışmada, 5 haftalık, 200 ± 20 gram ağırlığın da Sprague-Dawley cinsi 37 adet erkek rat kullanıldı. Kontrol grubu dışındaki tüm gruplara diyabet oluşturmak amacıyla Streptozotosin uygulandı.

Tüm ratlar beşerli kafeslere konuldu. Çalışmada gruplar ve uygulanan metotlar şu şekilde oluşturuldu:

4.1. Deney Protokolü

Grup 1: Kontrol ($n = 7$) grubu olan ratlar bir haftalık standart beslenme sonrasında, dekapitasyonu takiben alınan örnekler, biyokimyasal olarak incelendi.

Grup (DM 7) 2: Diyabet oluşturulacak ($n=10$) olan gruba 65mg/kg intraperitoneal tek doz Streptozotosin uygulandı (83). Streptozotosin uygulanmasından 3. gün sonra kuyruk veninden alınan kan glukoz düzeylerinin 200mg/dl olmasının tespiti ile ratlarda diyabetik olduğu kabul edilmiş ve diyabet kabul edilen ratlar 7. gün sonunda dekapitasyonu takiben alınan örnekler, biyokimyasal olarak incelendi.

Grup (DM 14) 3: Diyabet oluşturulacak ($n=10$) olan gruba 65mg/kg intraperitoneal tek doz Streptozotosin uygulandı (83). Streptozotosin uygulanmasından 3. gün sonra kuyruk veninden alınan kan glukoz düzeylerinin 200mg/dl olmasının tespiti ile ratlarda diyabet olduğu kabul edilmiş ve diyabetik

kabul edilen ratlar 14. gün sonunda dekapitasyonu takiben alınan örnekler, biyokimyasal olarak incelendi.

Grup (DM 21) 4: Diyabet oluşturulacak (n=10) olan gruba 65mg/kg intraperitoneal tek doz Streptozotosin uygulandı (83). Streptozotosin uygulanmasından 3. gün sonra kuyruk veninden alınan kan glukoz düzeylerinin 200mg/dl olmasının tespiti ile ratlarda diyabet olduğu kabul edilmiş ve diyabetik kabul edilen ratlar 21. gün sonunda dekapitasyonu takiben alınan örnekler, biyokimyasal olarak incelendi.

Diyabet oluşturulan ratlar ve kontrol grubunda serum apelin ve chemerin seviyeleri incelendi. Ayrıca, serum insülin, C peptid, HbA1-C, glukoz, trigliserid, total kolesterol, HDL, LDL ve ürik asit düzeyleri araştırıldı.

Kontrol grubu ve DM gruplardan aort duvarına ait örnekler elde edilerek %10 formolde tespit edildi. Daha sonra rutin patolojik işlemlerden geçirilerek elde edilen 400 kalınlığındaki kesitler Hematoksilen-Eozin boyası ile boyanarak ışık mikroskopide incelendi.

5. GEREÇ VE YÖNTEM

Tablo 5. Standart Rat Yemi

Yem Bilesimi	
Su (en çok)	% 12
Ham protein (en az)	% 24
Ham selüloz (en çok)	% 7
Ham kül (en çok)	% 8
HCl’de çözünmeyen kül (en çok)	% 2
NaCl (en çok)	% 1
Mineral Karması *	% 1,25
Vitamin Karması **	%1,25
Metabolik enerji	2650 kcal/kg

* Mineral Karması: Kalsiyum (% 1.0-2.8), Fosfor (% 0.9), Sodyum (%0.5-0.7), Mangan (10 mg/kg), Çinko(4 mg/kg).

** Vitamin Karması: Vitamin A (300 IU/kg), Vit. D₃ (1000 IU/kg), Vit. E (60 mg/kg), Vit. B₂ (4 mg/kg).

5.1. Streptozotosin Hazırlanması

Fosfat-Sitrat Tampon Hazırlanması:

A Solusyon(0.1 molar)= 2.1gr sitrik asit + 100ml serum fizyolojik

B Solusyon(0.2 molar)= 7.2gr disodyum hidrojen fosfat + 100ml serum fizyolojik

(Sigma Chemicals, St Louis, MO, USA), taze hazırlanmış

A solusyonu 50cc

B solusyonu 40cc

90 cc solusyonu HCl asitle pH=4.5 ayarlandı

5.2. Örneklerin Alınması ve Hazırlanması

Tüm grupların diyabet olduğu saptanması sonucu ratlar dekapite edilerek, plazma ve serum örnekleri analizler için uygun olacak şekilde EDTA’lı ve düz biyokimya tüplerine alındı. Alınan kanlar 3000 rpm’de 10 dakika santrifüj

edilerek (Heraeus Biofuge Stratos; Kendo Laboratory Products, Osterode-Germany) serum ve plazmaları ayrıldı. Çalışmada birçok parametreye bakılacağı için, elde edilen serum ve plazmalar küçük porsiyonlar halinde polipropilen tüplere konuldu analizler yapılana kadar -80°C’de saklandı.

5.3. Yöntemler

5.3.1. Serum Apelin Düzeylerinin Ölçümü

Serum apelin düzeyleri, rat apelin ELISA kiti (Eastbiophorm, katalog no: CK-E30246) kullanılarak (kit kullanım klavuzuna uygun olarak) ölçüldü. Absorbanslar GRIFOLS SN:053-140-120S DIAGNASTIC GRIFOLST S.A. ELISA okuyucusunda spektrofotometrik olarak 450 nm de okutuldu. Test sonuçları ng/mL olarak belirtildi. Ölçüm aralığı 30-9000 pg/mL olarak kabul edildi.

5.3.2. Serum Chemerin Düzeylerinin Ölçümü

Serum chemerin düzeyleri, rat chemerin ELISA kiti (Eastbiophorm, katalog no: CK-E90066) kullanılarak (kit kullanım klavuzuna uygun olarak) ölçüldü. Absorbanslar GRIFOLS SN:053-140-120S DIAGNASTIC GRIFOLST S.A.ELISA okuyucusunda spektrofotometrik olarak 450 nm de okutuldu. Test sonuçları ng/mL olarak belirtildi. Ölçüm aralığı 1-300pg/mL olarak kabul edildi.

5.3.3. Serum C-Peptit Düzeylerinin Ölçümü

Serum c-peptit düzeyleri, rat c-peptit ELISA kiti (Eastbiophorm, katalog no: CK-E30621) kullanılarak (kit kullanım klavuzuna uygun olarak) ölçüldü. Absorbanslar GRIFOLS SN:053-140-120S DIAGNASTIC GRIFOLST S.A.ELISA okuyucusunda spektrofotometrik olarak 450 nm de okutuldu. Test

sonuçları ng/mL olarak belirtildi. Ölçüm aralığı 10-30000pg/mL olarak kabul edildi.

5.3.4. Serum İnsülin Düzeylerinin Ölçümü

Serum insülin düzeyleri, rat insülin ELISA kiti (Eastbiophorm, katalog no: CK-E65237) kullanılarak, (kit kullanım klavuzuna uygun olarak) ölçüldü. Absorbanslar GRIFOLS SN:053-140-120S DIAGNASTIC GRIFOLST S.A.ELISA okuyucusunda spektrofotometrik olarak 450 nm’de okutuldu. Ölçüm aralığı 0.1-40mlu/L olarak kabul edildi.

5.3.5. HbA1c Düzeylerinin Ölçümü

HbA1-C düzeyleri EDTA’lı tüplere alınan tam kan örnekleri kullanılarak Olympus AU 2700 (Olympus Optical Co. Ltd, Tokyo-Japan) otoanalizöründe Olympus marka ticari kitler kullanılarak ölçüldü. Bu yöntemle göre normal % HbA1c değeri % 4,0 ile % 6,2 aralığı olarak kabul edildi.

5.3.6. Diğer Biyokimyasal Parametrelerin Ölçümü

Diğer biyokimyasal analizler olan serumda glukoz (diyabet kabul edilen glukoz düzeyleri), glukoz1 (dekapite sırasındaki glukoz düzeyi), trigliserit, total kolesterol, HDL-K, LDL-K ve ürik asit düzeyleri Advia1800 (Chemistry Sistem Seri So: CA 12390097) otoanalizöründe Olympus marka ticari kitler kullanılarak ölçüldü.

Açlık kan şekeri ve insülin değerleri, HOMA testi yardımıyla insülin direncinin saptanması amacıyla kullanıldı.

İnsülin Rezistansı Formülü ise şu şekilde:

$$\text{HOMA-IR} = \text{Açlık Glikoz (mmol/l)} \times \text{Açlık İnsülin (mU/l)} / 22,5$$

HOMA skoru $\geq 2,5$ olan hastalar insülin direnci pozitif (HOMA-IR[+])

Farklı Birimler ile Formül;

$$\text{HOMA-IR} = \text{Açlık Glikoz (mg/dL)} \times \text{Açlık İnsülin (uIU/mL)} / 405$$

HOMA skoru $\geq 2,5$ olan hastalar insülin direnci pozitif (HOMA-IR[+])

5.4. İstatistiksel Analizler

Çalışmada elde edilen veriler SPSS for Windows 21:00 paket programında analiz edilmiştir. Grupların karşılaştırılmasında varyans analizi ve alt grupların karşılaştırılmasında da Tukey analizi kullanılmıştır. $p < 0,005$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi

6. BULGULAR

6.1. Ağırlık Değerleri

Ratların ilk ağırlıkları ile dekapite sırasındaki ağırlıkları arasında kontrol grubuna göre diyabet oluşturulan (DM7, DM14, DM21) gruplarında istatistiksel olarak anlamlı ağırlık artışı tespit edildi ($p<0.05$) (Tablo 6).

Tablo 6.Kontrol ve Diyabetik Ratlarda Ortalama Ağırlık Değerleri

	Kontrol Ort±SD	DM_7 Ort±SD	DM_14 Ort±SD	DM_21 Ort±SD
AĞIRLIK(gr)	165,29±22,95 ^b	215,90±17,26 ^a	199,70±21,34 ^a	210,20±18,62 ^a

Aynı parametreler için farklı harfler anlamlı ($p<0,005$)

6.2. Glukoz Değerleri

Glukoz değerleri arasında kontrol grubuna göre diyabet oluşturulan(DM7, DM14, DM21) gruplarında istatistiksel olarak anlamlı glukoz artışı tespit edildi($p<0.05$).

Glukoz değerleri bakımından gruplar arası farklılık istatistiki olarak önemli bulunmuş ($p<0.05$) olup, kontrol grubu deneme gruplarından istatistiki olarak önemli düzeyde düşük glukoz değerine sahip olurken, deneme grupları arası farklar önemsiz bulunmuştur. Sayısal olarak farklılıklar vardır (Tablo 7).

Tablo 7. Kontrol ve Diyabetik Ratlarda Ortalama Glukoz Değerleri

	Kontrol Ort±SD	DM_7 Ort±SD	DM_14 Ort±SD	DM_21 Ort±SD
GLUKOZ (mg/dL)	114,29±11,7 ^b	358,50±168,51 ^a	353,10±144,35 ^a	317,60±195,94 ^a

Aynı parametreler için farklı harfler anlamlı ($p<0,005$)

Glukoz1 değerleri bakımından gruplar arası farklılık istatistiki olarak önemli ($p<0.05$) bulunmuş olup, kontrol grubu deneme gruplarından istatistiki olarak düzeyde düşük Glukoz1 değerine sahip olurken, deneme grupları arası

farklar önemsiz bulunmuştur. Sayısal olarak gruplar arası farklılık bulunmuştur (Tablo 8)

Tablo 8. Kontrol ve Diyabetik Ratlarda Ortalama Glukoz1 Değerleri

	Kontrol Ort±SD	DM_7 Ort±SD	DM_14 Ort±SD	DM_21 Ort±SD
GLUKOZ1 (mg/dL)	20,43±4,08 ^b	241,70±111,19 ^{ab}	315,50±81,88 ^a	285,60±132,20 ^a

Aynı parametreler için farklı harfler anlamlı (p<0,005)

6.2.1. Glukoz ve Glukoz1 Değerleri

-Stz uygulandıktan 3 gün sora ölçülen glukoz düzeyleri arasında kontrol grubuna göre anlamlı farklılık bulundu (p<0.05). (Tablo 9) Buna göre diyabet oluşumunun sağlandığı gösterildi.

-Kesim sonrası ölçülen glukoz1 düzeyleri karşılaştırıldığında gruplar arası farklar anlamlı bulundu.1. hafta sonunda artış kontrole göre anlamlı bulunmuştur (Tablo 9).

Tablo 9. Kontrol ve Diyabetik Ratlarda Ortalama Glukoz ve Glukoz1 Değerleri

	Kontrol Ort±SD	DM_7 Ort±SD	DM_14 Ort±SD	DM_21 Ort±SD
GLUKOZ (mg/dL)	114,29±11,37 ^b	358,50±168,51 ^a	353,10±144,35 ^a	317,60±195,94 ^a
GLUKOZ1 (mg/dL)	120,43±4,08 ^b	241,70±111,19 ^{ab}	315,50±81,88 ^a	285,60±132,20 ^a

Aynı parametreler için farklı harfler anlamlı (p<0,005)

6.3. HDL Değerleri

HDL değerleri bakımından gruplar arası farklılık istatistiki olarak önemli (p<0.05) bulunmuş olup, kontrol grubu deneme gruplarından istatistiki olarak önemli düzeyde yüksek HDL değerine sahip olurken, deneme grupları arası farklar önemli bulunmuştur (Tablo 10).

Tablo 10. Kontrol ve Diyabetik Ratlarda Ortalama HDL Değerleri

	Kontrol Ort±SD	DM_7 Ort±SD	DM_14 Ort±SD	DM_21 Ort±SD
HDL(mg/dL)	20,86±3,09 ^a	17,55±2,03 ^{ab}	14,40±2,47 ^b	18,17±3,63 ^a

Aynı parametreler için farklı harfler anlamlı (p<0,005)

6.4. LDL Değerleri

LDL değerleri bakımından gruplar arası farklılık istatistiki olarak önemsiz (p>0.05) bulunmuş olup (Tablo 11).

Tablo 11. Kontrol ve Diyabetik Ratlarda Ortalama LDL Değerleri

	Kontrol Ort±SD	DM_7 Ort±SD	DM_14 Ort±SD	DM_21 Ort±SD
LDL (mg/dL)	5,23±0,60	4,77±1,15	5,28±1,67	5,99±1,18

Aynı parametreler için harfler olmadığından anlamsız (p>0,005)

6.5. Triglicerit Değerleri

Triglicerit değerleri bakımından gruplar arası farklılık istatistiki olarak önemli (p<0.05) bulunmuş olup, kontrol grubu deneme gruplarından istatistiki olarak düzeyde düşük Triglicerit değerine sahip olurken, deneme grupları arası farklar önemsiz bulunmuştur (Tablo 12).

Tablo 12. Kontrol ve Diyabetik Ratlarda Ortalama Triglicerit Değerleri

	Kontrol Ort±SD	DM_7 Ort±SD	DM_14 Ort±SD	DM_21 Ort±SD
TRİGLSERİT (mg/dL)	69,00±1,35 ^b	115,60±43,94 ^{ab}	176,90±86,97 ^a	163,30±67,056 ^a

Aynı parametreler için farklı harfler anlamlı (p<0,005)

6.6. Kolesterol Değerleri

Kolesterol değerleri bakımından gruplar arası farklılık istatistiki olarak önemli (p<0.05) bulunmuş olup, kontrol grubu deneme gruplarından istatistiki

olarak düzeyde düşük Kolesterol değerine sahip olurken, deneme grupları arası farklar önemsiz bulunmuştur. (Tablo 13).

Tablo 13. Kontrol ve Diyabetik Ratlarda Ortalama Kolesterol Değerleri

	Kontrol Ort±SD	DM_7 Ort±SD	DM_14 Ort±SD	DM_21 Ort±SD
KOLESTEROL (mg/dL)	56,67±6,83 ^{ab}	50,80±7,69 ^b	53,30±11,73 ^{ab}	63,00±9,19 ^a

Aynı parametreler için farklı harfler anlamlı (p<0,005)

6.7. Ürik Asit Değerleri

Ürik asit değerleri bakımından gruplar arası farklılık istatistiki olarak önemsiz (p>0.05) bulunmuştur. (Tablo 14).

Tablo 14. Kontrol ve Diyabetik Ratlarda Ortalama Ürik Asit Değerleri

	Kontrol Ort±SD	DM_7 Ort±SD	DM_14 Ort±SD	DM_21 Ort±SD
ÜRİK ASİT (mg/dL)	0,84±0,13	0,86±0,19	0,91±0,20	1,01±0,99

Aynı parametreler için harfler olmadığından anlamsız (p>0,005)

6.8. Apelin Değerleri

Apelin değerleri bakımından gruplar arası farklılık istatistiki olarak önemsiz (p>0.05) bulunmuş olup, kontrol grubu deneme gruplarından istatistiki olarak düzeyde düşük Apelin değerine sahiptir. (Tablo15).

Tablo 15. Kontrol ve Diyabetik Ratlarda Ortalama Apelin Değerleri

	Kontrol Ort±SD	DM_7 Ort±SD	DM_14 Ort±SD	DM_21 Ort±SD
APELİN (pg/mL)	0,73±0,14	0,82±0,25	0,86±0,5	0,87±0,25

Aynı parametreler için harfler olmadığından anlamsız (p>0,005)

6.9. Chemerin Değerleri

Chemerin değerleri bakımından gruplar arası farklılık istatistiki olarak önemsiz ($p>0.05$) bulunmuş olup, kontrol grubu deneme gruplarından istatistiki olarak düzeyde düşük Chemerin değerine sahiptir. (Tablo16).

Tablo 16. Kontrol ve Diyabetik Ratlarda Ortalama Chemerin Değerleri

	Kontrol Ort±SD	DM_7 Ort±SD	DM_14 Ort±SD	DM_21 Ort±SD
CHEMERİN (pg/mL)	0,33±0,05	0,36±0,09	0,40±0,53	0,63±0,74

Aynı parametreler için harfler olmadığından anlamsız ($p>0,005$)

6.10. İnsülin Değerleri

İnsülin değerleri bakımından gruplar arası farklılık istatistiki olarak önemsiz ($p>0.05$) bulunmuş olupdur (Tablo 17).

Tablo 17. Kontrol ve Diyabetik Ratlarda Ortalama İnsülin Değerleri

	Kontrol Ort±SD	DM_7 Ort±SD	DM_14 Ort±SD	DM_21 Ort±SD
İNSÜLİN (mlu/L)	0,63±0,08	0,62±0,09	0,62±0,10	0,68±0,13

Aynı parametreler için harfler olmadığından anlamsız ($p>0,005$)

6.11. C-Peptit Değerleri

C-Peptit değerleri bakımından gruplar arası farklılık istatistiki olarak önemsiz ($p>0.05$) bulundu, deneme gruplarından istatistiki olarak düzeyde düşük C-Peptit değerine sahip ve C-Peptit düzeyi kontrol grubunda, diğer gruplara göre daha düşük bulunmuştur (Tablo 18).

Tablo 18. Kontrol ve Diyabetik Ratlarda Ortalama C-Peptit Değerleri

	Kontrol Ort±SD	DM_7 Ort±SD	DM_14 Ort±SD	DM_21 Ort±SD
C-PEPTİT (pg/mL)	0,43±0,06	0,50±0,09	0,51±0,18	0,54±0,44

Aynı parametreler için harfler olmadığından anlamsız ($p>0,005$)

6.12. HbA1C Değerleri

HbA1C değerleri bakımından gruplar arası farklılık istatistiki olarak önemli ($p<0.05$) bulunmuş olup, kontrol grubu deneme gruplarından istatistiki olarak düşük düzeyde HbA1C değerine sahip olurken, deneme grupları arası farklar önemsiz bulunmuştur. Sayısal olarak gruplar arası farklılık bulunmuştur (Tablo 19).

Tablo 19. Kontrol ve Diyabetik Ratlarda Ortalama HbA1C değerleri

	Kontrol Ort±SD	DM_7 Ort±SD	DM_14 Ort±SD	DM_21 Ort±SD
HbA1C(%) (pg/mL)	1,42±0,09 ^b	1,48±0,06 ^{ab}	1,57±0,07 ^a	1,56±0,12 ^a

Aynı parametreler için farklı harfler anlamlı ($p<0,005$)

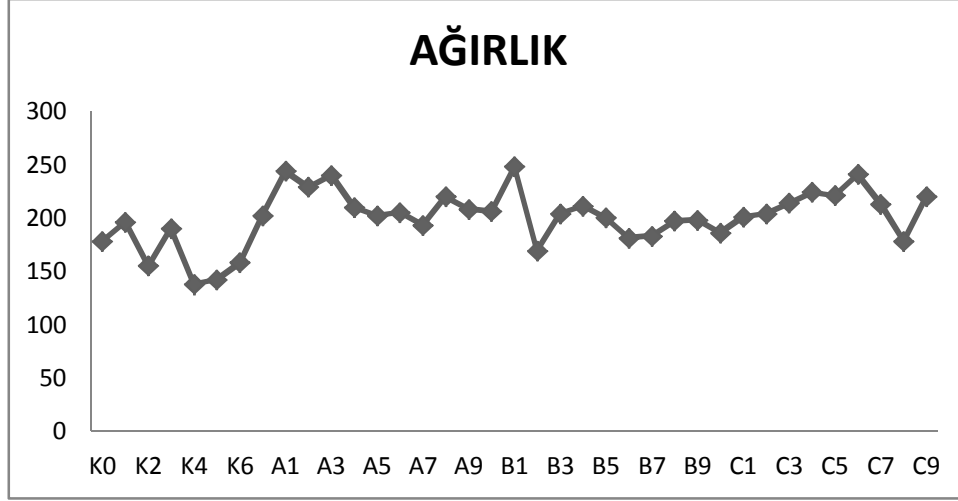
6.13. Genel Parametrelerin Değerleri

Tablo 20. Kontrol ve Diyabetik Ratlarda Ratların Serum Parametrelerini

	Kontrol Ort±SD	DM_7 Ort±SD	DM_14 Ort±SD	DM_21 Ort±SD	P
AĞIRLIK	165,29±22,95 ^b	215,90±17,26 ^a	199,70±21,34 ^a	210,20±18,62 ^a	0,000
GLUKOZ	114,29±11,37 ^b	358,50±168,51 ^a	353,10±144,35 ^a	317,60±195,94 ^a	0,012
HDL	20,86±3,09 ^a	17,55±2,03 ^{ab}	14,40±2,47 ^b	18,17±3,63 ^a	0,001
LDL	5,23±0,60	4,77±1,15	5,28±1,67	5,99±1,18	0,208
TRİGLSERİT	69,00±1,35 ^b	115,60±43,94 ^{ab}	176,90±86,97 ^a	163,30±67,056 ^a	0,005
KOLESTEROL	56,67±6,83 ^{ab}	50,80±7,69 ^b	53,30±11,73 ^{ab}	63,00±9,19 ^a	0,035
ÜRİK ASİT	0,84±0,13	0,86±0,19	0,91±0,20	1,01±0,99	0,133
APELİN	0,73±0,14	0,82±0,25	0,86±0,5	0,87±0,25	0,517
CHEMERİN	0,33±0,05	0,36±0,09	0,40±0,53	0,63±0,74	0,337
İNSÜLİN	0,63±0,08	0,62±0,09	0,62±0,10	0,68±0,13	0,576
C-PEPTİT	0,43±0,06	0,50±0,09	0,51±0,18	0,54±0,44	0,848
GLUKOZ1	120,43±4,08 ^b	241,70±111,19 ^{ab}	315,50±81,88 ^a	285,60±132,20 ^a	0,003
HbA1C	1,42±0,09 ^b	1,48±0,06 ^{ab}	1,57±0,07 ^a	1,56±0,12 ^a	0.00

6.14. Grafikler

6.14.1. Konrol ve Diyabetik Ratların Ağırlık Değerleri Grafiği



Grafik 1. Ağırlık değerleri

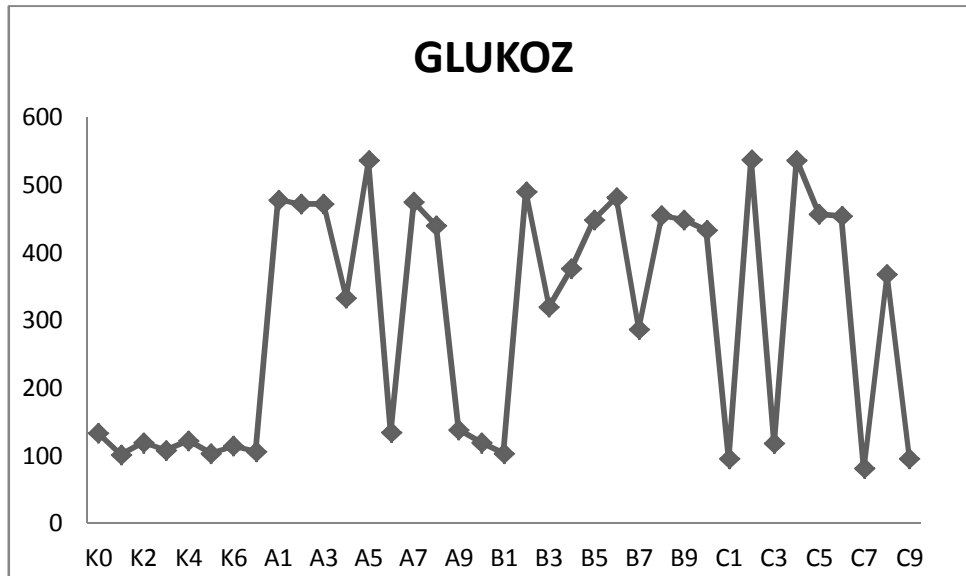
K₀-K₆: Kontrol Grubu(n=7)

A₀-A₉: 7. Gün Diyabet Grubu(n=10)

B₀-B₉: 14. Gün Diyabet Grubu(n=107)

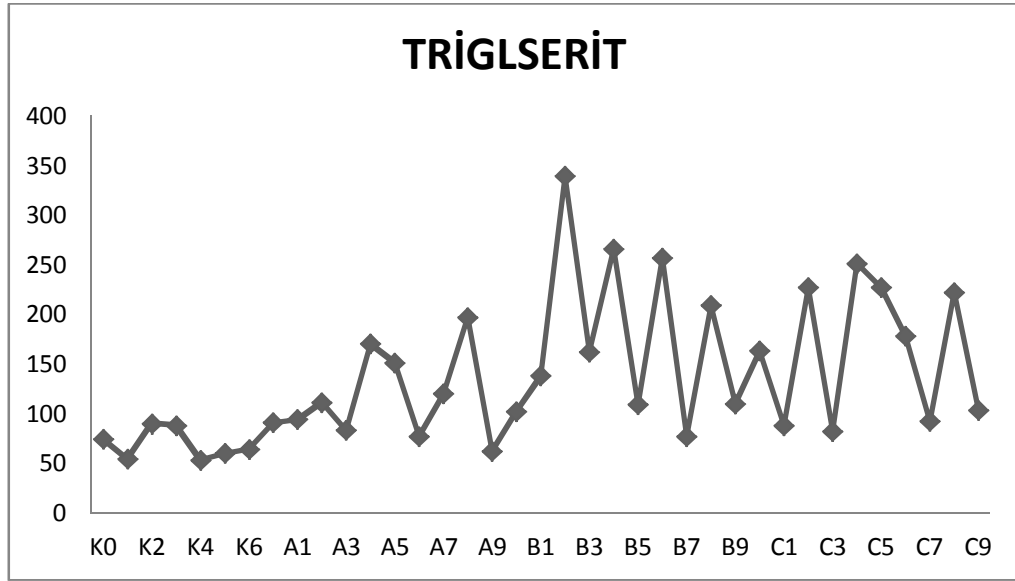
C₀-C₉: 21. Gün Diyabet Grubu(n=10)

6.14.2. Konrol ve Diyabetik Ratların Glukoz Düzeyleri



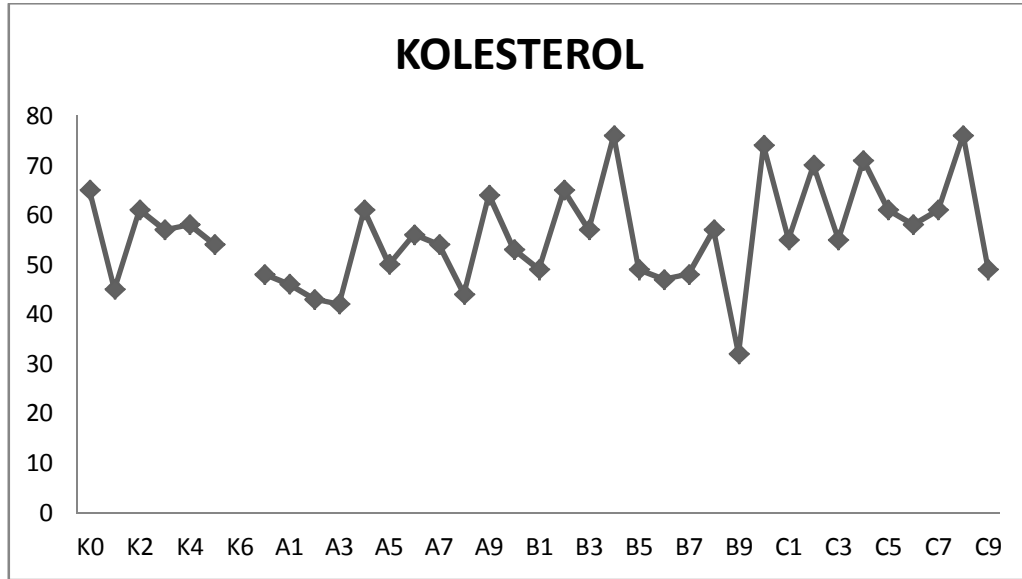
Grafik 2. Serum Glukoz Düzeyleri

6.14.3. Konrol ve Diyabetik Ratların Trigliserid Düzeyleri



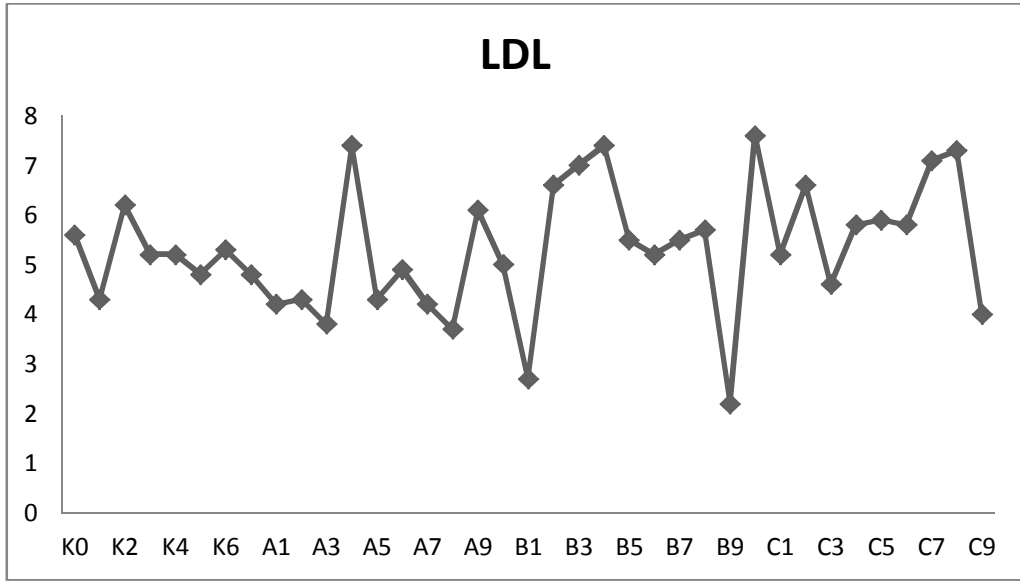
Grafık 3. Serum Trigliserid Düzeyleri

6.14.4. Konrol ve Diyabetik Ratların Total Kolesterol Düzeyleri



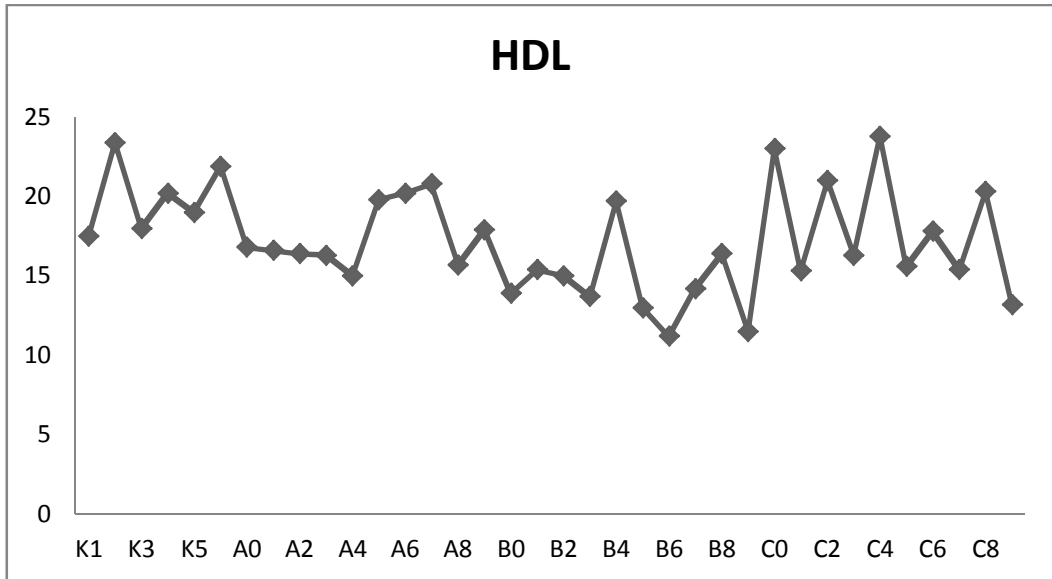
Grafık 4. Serum Kolesterol Düzeyleri

6.14.5. Konrol ve Diyabetik Ratların LDL-K Düzeyleri



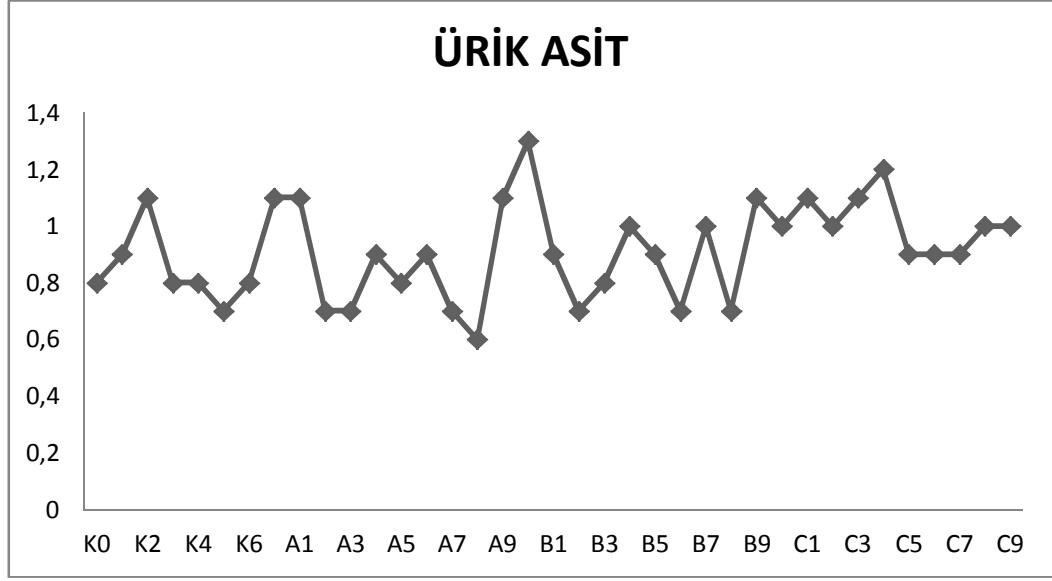
Grafik 5. Serum LDL Düzeyleri

6.14.6. Konrol ve Diyabetik Ratların HDL-K Düzeyleri



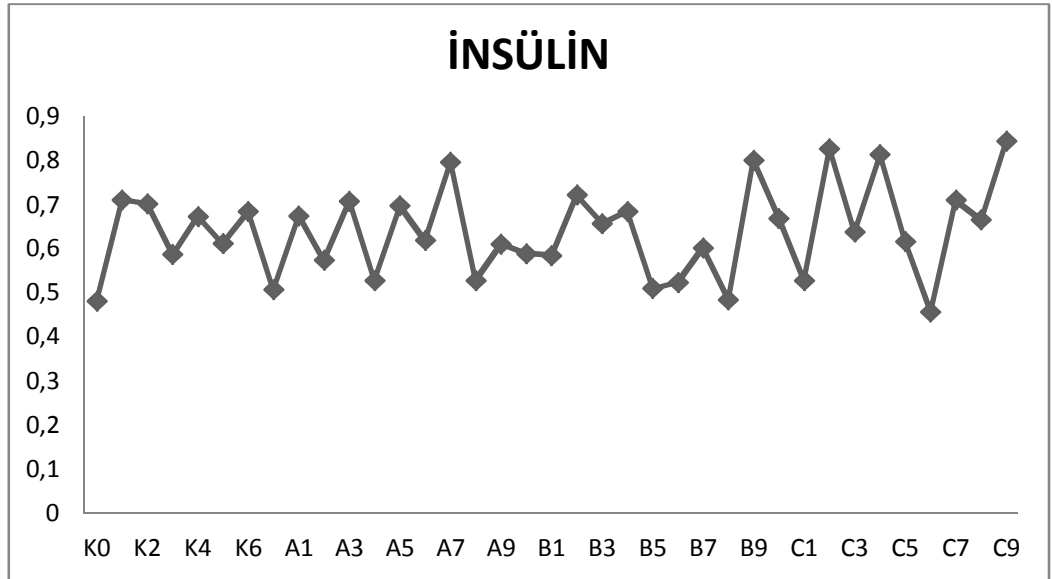
Grafik 6. Serum HDL Düzeyleri

6.14.7. Konrol ve Diyabetik Ratların Ürik Asit Düzeyleri



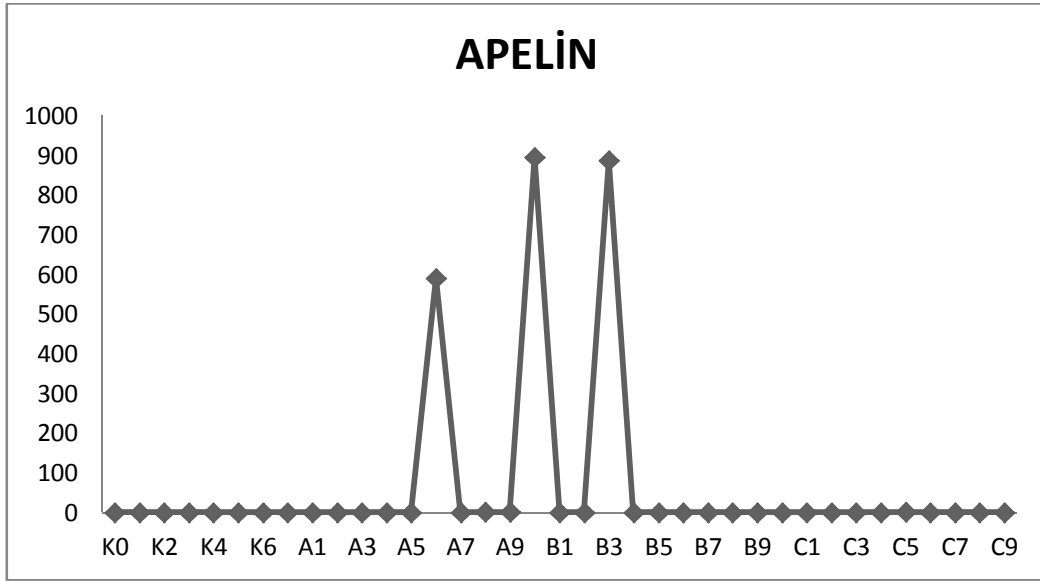
Grafık 6. Serum Ürik Asit Düzeyleri

6.14.8. Konrol ve Diyabetik Ratların İnsülin Düzeyleri



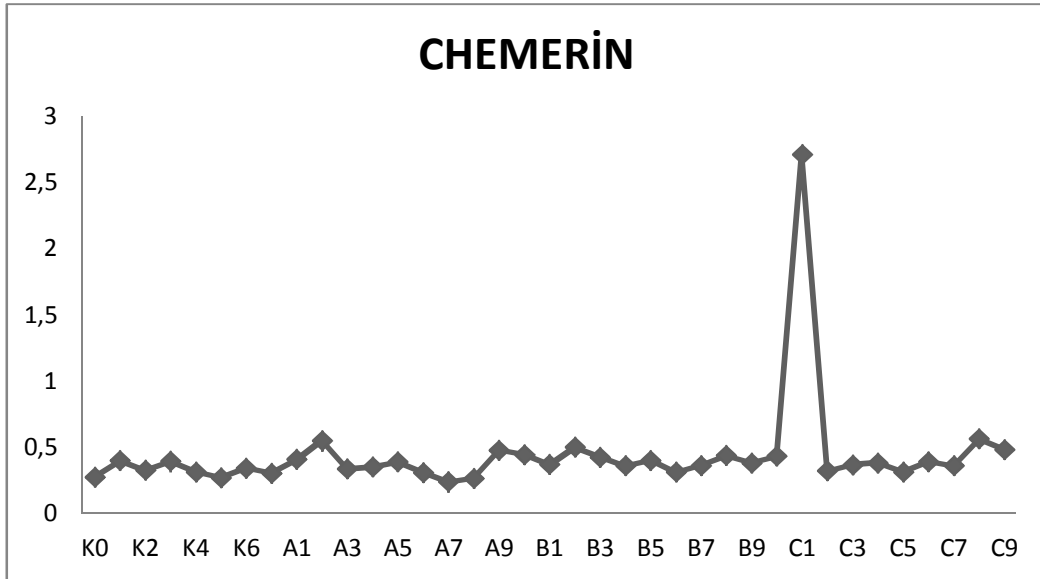
Grafık 7. Serum İnsülin Düzeyleri

6.14.9. Konrol ve Diyabetik Ratların Apelin Düzeyleri



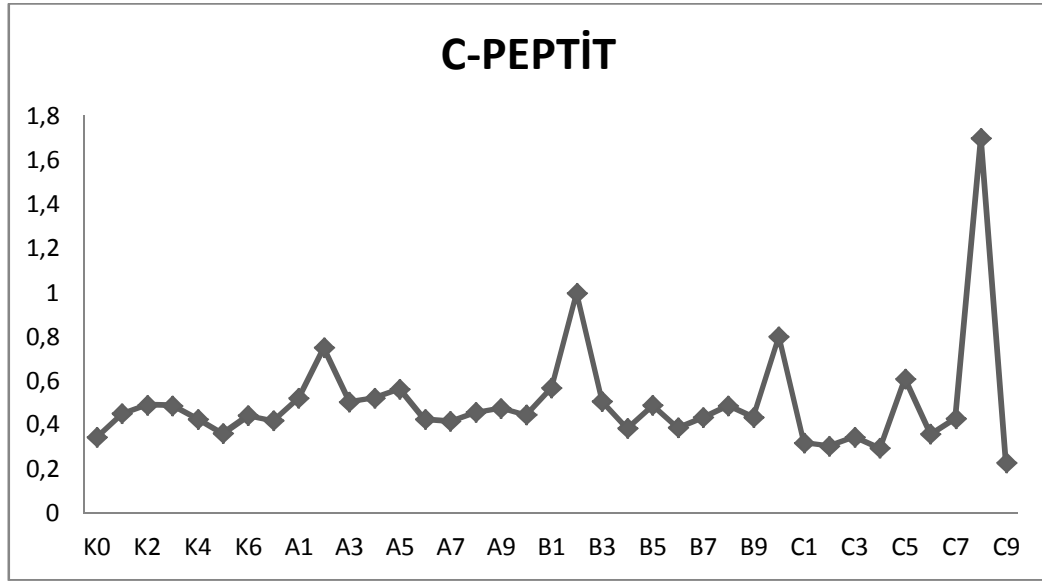
Grafık 8. Serum Apelin Düzeyleri

6.14.10. Konrol ve Diyabetik Ratların Chemerin Düzeyleri



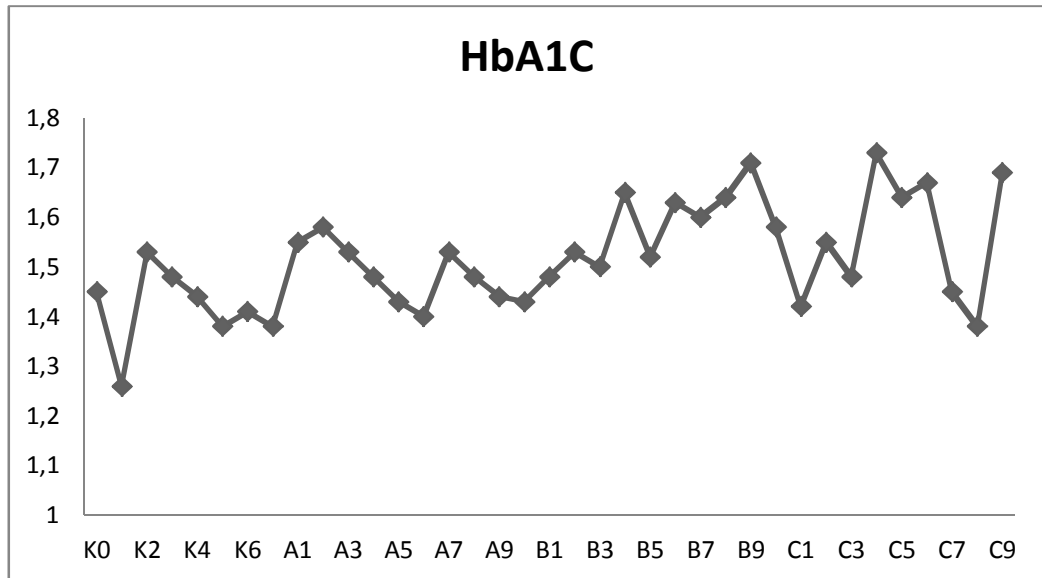
Grafık 9. Serum Chemerin Düzeyleri

6.14.11. Konrol ve Diyabetik Ratların C-Peptit Düzeyleri



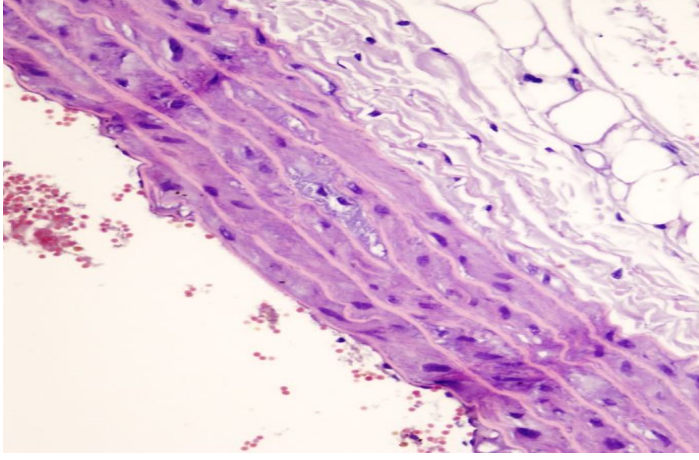
Grafk 10. Serum C-Peptit Düzeyleri

6.14.12. Konrol ve Diyabetik Ratların HbA1C Düzeyleri



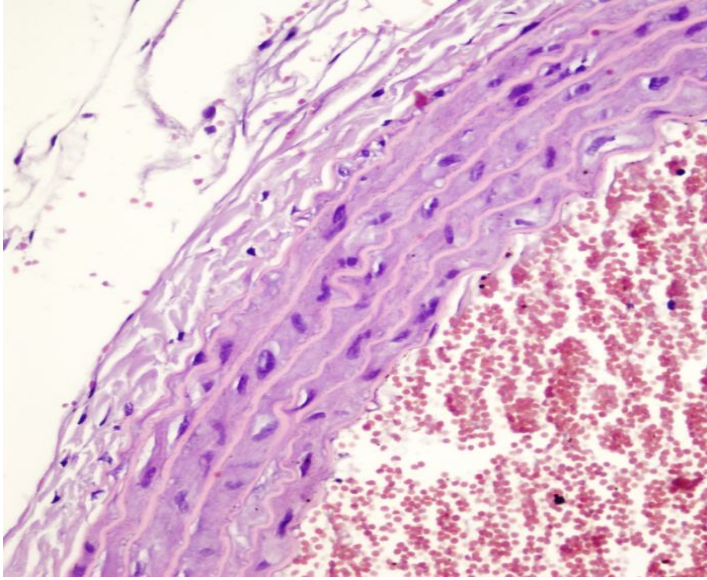
Grafk 11. Serum HbA1C Düzeyleri

6.15. Alınan Dokuların Histopatolojik Olarak İncelenmesi

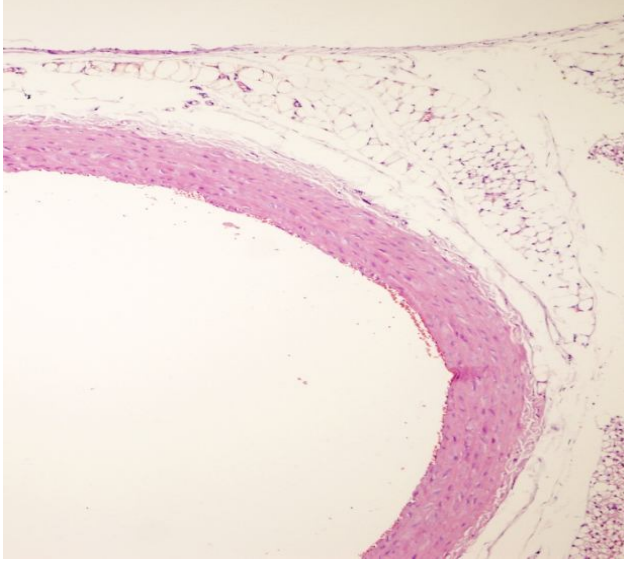


Şeki 7. Diabet oluşturulan rat damarlarının histopatolojik olarak incelenmesi

Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında Diabet oluşturulan ratların damarlarının histopatolojik olarak incelenmesinde; yer yer damar duvarlarını da ateke eden perivasküler lenfositik infiltrasyon, hafif miksoid dejenerasyon ve ödem görülmektedir.



Şekil 8. Diyabet grubundan alınan örneklerinin ışık mikroskopisinde histopatolojik olarak incelenmesi (Damar yapısındaki konjesyon görünümü x400).



Şekil 9. Diyabet grubunda, aort damar yapısının histopatolojik olarak görünümü (x100).

7. TARTIŞMA

Diabetes Mellitus (DM) insülin eksikliği veya insülin direnci ile oluşan, hiperglisemi ile karakterize kronik bir hastalıktır. Diyabetin mikrovasküler ve makrovasküler komplikasyonlarının gelişmesi, hastalığın tanısının konulmasından yıllar önce (1-12 yıl) başlamakta olduğuna dair yayınlar mevcuttur (82). Tai ES ve ark. ADA 2004 kriterlerin de IFG ile ilgili yapılan düzenlemeden sonra (IFG alt sınırının 100 mg/dL'ye indirilmesi) değişen IFG prevalansı, kardiyovasküler hastalık ve diyabet riskindeki değişikliği belirlemek için geniş hasta popülasyonunda çalışma yapmışlardır. Çalışmalarında açlık glukoz 100-126 mg/dL olan prediyabetik IFG grubundaki hastaların %63.5'de hipertansiyon, santral obezite, trigliserid yüksekliği saptamışlardır (84). Diğer bir çalışmada da obezite, dislipidemi, HT gibi kardiyovasküler risk faktörlerinin de sıklıkla eşlik ettiği prediyabetik dönemde kardiyovasküler mortalite ve morbiditenin arttığı bildirilmiştir (85).

Yağ dokusu, çeşitli adipokinleri sekrete eden, metabolik yanıt veren endokrin bir organdır. Yağ dokusunun arttığı veya azaldığı durumlar hiperlipidemi, insülin direnci, tip 2 diyabet ve KVH gibi hastalıklarla doğrudan ilişkilidir. Salgıladığı adipokinlerin miktarındaki değişikliklere bağlı olarak yağ dokusunun bu hastalıkların patogenezinde rol oynadığını belirten yayınlar mevcuttur (86, 87).

Yapılan bir çalışmada bu adipokinlerden yeni tanımlanmış olan apelinin serum düzeylerinin obezite, insülin direnci ve hiperinsülinemide arttığı bildirilmiştir (56). Ayrıca apelinin bir nöropeptid ve kardiyovasküler peptid olduğu kabul edilmektedir (49).

Apelin ile ilgili yapılan çalışmaların sonuçları farklılıklar göstermektedir. Örneğin Li ve ark. bizim bulgularımıza benzer şekilde diyabetik veya glukoz intoleranslı hastalarda serum apelin düzeylerinin arttığını ifade etmişlerdir (88). Yine benzer bir şekilde Şenol ve ark. da diyabetik hastalarda serum apelin düzeylerini yüksek bulmuşlardır (89).

Bizim bulgularımızdan farklı olarak Erdem ve ark. yeni tanı almış tip 2 diyabetiklerde serum apelin düzeylerini düşük bulmuşlardır (90). İlerleyen yıllarda bu bulguların yeni çalışmalarla ve daha yüksek olgu sayıları ile doğrulanmasına gereksinim vardır.

Taşçı ve ark. ise izole hiperkolestrolemisi olan hastalarda tedavi öncesi ve sonrası serum apelin düzeylerini değerlendirmişler, medikal tedaviye bağlı LDL-K hedeflenen değere düştüğünde serum apelin seviyelerinin arttığını bulmuşlardır (91). LDL-K düzeyinin hedeflenen değerlerde olması Kronik Arter Hastalığı (KAH) riskini azaltırken apelin düzeylerinin artmasının; apelinin kardiyoprotektif bir rolü de olabileceğini düşündürmektedir. Bu regülasyonla ilgili mekanizmalar henüz tam olarak bilinmediği için ileri çalışmalarla desteklenmesi gerektiğini düşünmekteyiz.

Biz de çalışmamızda rat serum apelin düzeylerini araştırdık. Kontrol grubunu diyabet gupleri ile karşılaştırdığımız da istatistiki olarak anlamsız fakat sayısal olarak verilerde artışın olduğunu tespit ettik. Kontrol grubuna göre apelin düzeyinin DM14 ve DM 21 gruplarında giderek arttığı görülmektedir. Bu verilere dayanarak diyabet oluşturulan ratlarda serum apelin değerlerinin diyabete bağlı olarak arttığını düşünmekteyiz.

Chemerin son yıllarda keşfedilen beyaz yağ dokusundan salınan, adipogenezis ve yağ hücresi fonksiyonlarında rolü olabileceği düşünülen bir adipokindir. Obeziteninde ateroskleroz gibi inflamatuvar bir hastalık olduğu işaret edilmektedir. Bu bilgiler ışığında chemerin yağ dokusunda inflamasyonu, makrofaj kümelenmesini ve insülin hassasiyetini düzenleyebileceği düşüncesi üzerinde daha fazla çalışmalar yapılacak bir konudur (92).

Bozaoğlu ve ark. obez ve tip 2 diabetik P.obesus kobaylarının adipoz dokularında chemerin ekspresyonunu zayıf normoglisemik P.obesus kobaylarına kıyasla anlamlı yüksek bulmalarına karşın, bunun aksine Takahashi M. ve ark. db/db kobaylarının epididimal yağ dokusunda chemerin ekspresyonunu belirgin olarak azalmış bulmuşlardır. Bu farklılığın kesin olmamakla birlikte kobay türlerinin farklı olmasına bağlı olabileceğini düşünmüşlerdir. Serum chemerin konsantrasyonunun azalmasının yağ dokusundaki ekspresyonunun azalması ile birlikte olması yağ dokusunun, serum chemerinin ana kaynağı olduğu düşünülmektedir (78, 79).

Bozoğlu ve ark. NGT, IGT ve tip 2 DM 'dan oluşan 3 grup kobayla yaptıkları deneysel çalışmada, kobay visceral yağ dokusundaki chemerin gen ekspresyonunu, tip 2 DM grubunda, NGT'e kıyasla anlamlı yüksek ($p=0,01$), CMKLR1 ekspresyonunu da NGT grubuna oranla IGT ($p<0,05$) ve tip 2 DM ($p<0,05$) grubunda yüksek bulmuşlardır ancak 35-65 yaş aralığında 142'si NGT ve 114'ü tip 2 DM olan 256 vakadan yaptıkları çalışmada ise plazma chemerin seviyelerinin NGT ve tip 2 DM 'lu iki grup arasında anlamlı farklılık olmadığını saptamışlardır (78).

Takahashi M. ve ark. çalışmalarında 3T3-L1 adipositleri rekombinan insan chemerini ile inkübe etmişler ve bazal durumda ve insülin stimülasyonundan sonra 2-deoksiglukoz alımını ölmüşlerdir. 100 ng/ml rekombinant insan chemerini ile inkübasyonun anlamlı olarak %41 oranında insülin uyarımlı glukoz alımını arttırdığını ve benzer sonuçların rekombinan kobay chemerini kullanıldığında da oluştuğunu göstermişlerdir. Chemerinle inkübasyon insülin uyarımlı IRS-1' in tirozin fosforilasyonunu artmıştır. Bu sonuçlarla chemerinin 3T3-L1 adipositlerde otokrin-parakrin yolda insülin duyarlılığını düzenleyebileceğini ortaya koymuşlardır (79).

Biz yaptığımız çalışmada tüm grupların rat serum chemerin değerlerinin karşılaştırılmasında kontrol grubu ile diabetik grup arasında anlamlı fark bulamadık ($p>0.05$). Fakat kontrol grubu rat serum chemerin düzeyleri ile diyabet grupları arasında sayısal olarak artışın olduğunu tespit ettik. Yağ dokusundan salınan bir adipokin olan chemerinin diabetik grupta yüksek olmasının visceral yağ dokusunun tip 2 DM gelişimindeki endokrin ve inflamatuvar rolüyle ilişkili olabileceğini düşünülmektedir.

Çalışmamıza ek olarak kontrol ve DM gruplarının aort yapısını inceledik, yapılan histopatolojik incelemede DM grubunun aort yapısının bozulduğu görülmüştür.

8. KAYNAKLAR

1. Yenigün M. Her Yönüyle Diabetes Mellitus. 2. Baskı. İstanbul Nobel Tıp Kitabevi 2004.
2. King H, Rewers M. WHO Ad Hoc Diabetes Reporting Group: Global estimates for prevalence of diabetes mellitus and impaired glucose tolerance in adults. Diabetes Care 1993; 16: 157-77.
3. King H, Aubert RF, Herman WH. Global burden of diabetes, 1995-2025: prevalence, numerical estimates and projections. Diabetes Care 1998; 21: 1414-31
4. Haris MI, Flegal KM, Cowie CC, Eberhardt MS, Golstein DE, Little RR, Wiedmeyer H-M, Byrd-Holt DD. Prevalence of diabetes, impaired fasting glucose and impaired glucose tolerance in U.S. Adults. The Third National Health and Nutrition Examination Survey. 1988-1994. Diabetes Care 1998; 21: 518-24.
5. Satman I, Yılmaz M, Baştar I, Şengül A, Sargın M, Salman F, Salman S, Karşıdağ K, Dinççağ N, Yıllar G, Tütüncü Y and TURDEP Group. Diabetes Epidemiology Study in Turkey: First step data result. Diabetes 1998;47(suppl.1) A: 384,1480.
6. Eastman RC, Cowie CC, Haris MI. Undiagnosed diabetes or impaired glucose tolerance and cardiovascular risk. Diabetes Care 1997; 20: 127-8.
7. Neufeld ND, Raffel LJ, Landon C, Ida Chen Y-D, Vadhem CM. Early presentation of type 2 diabetes in Mexican-American youth. Diabetes Care 1998; 21: 80-86.
8. Alberti KGM, Zimmet PZ. For the World Health Organization consultation, definition, diagnosis and classification of DM provisional report of WHO consultation. Diabetic Med. 1998;15;539-553
9. The Expert Committee on the diagnosis and classification of DM: Report of the Expert Committee on the diagnosis and classification of DM. Diabetes Care 2003; 26 (suppl.1):S5-
10. The Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus: Report of The Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. Diabetes Care 1997; 20(7): 1183-97.
11. Mitrakou A, Kelly D, Mookan M, Veneman T, Pangburn T, Reilly J, Greich J. Role of reduced suppression of glucose production and diminished early insulin release in impaired glucose tolerance. N Engl J Med 1992; 326: 22-29.
12. Efendic S, Ostenson C. Hormonal responses and future treatment of non-insulin dependent diabetes mellitus. J Intern Med 1993; 234:127-38.
13. De Fronzo RA, Bonadonna RC, Ferrannini E. Pathogenesis of NIDDM. A balanced overview. Diabetes Care 1992; 37: 667-98.
14. Porte D Jr. Banting lecture 1990. Beta cells in type II diabetes mellitus. Diabetes 1991; 40: 166-180.
15. Groop LC, Widen E, Ferrannini E. Insulin resistance and insulin deficiency in pathogenesis of type 2 diabetes. Errors of metabolism or of methods. Diabetologia 1993; 36: 1326-31.
16. Del Prato S, Leonetti E, Simonson DC, Sheehen P, Matsuda M, DeFronzo RA. Effect of sustained physiologic hyperinsulinemia and hyperglycemia on secretion and insulin sensitivity in man. Diabetologia 1994; 37: 1025-35.

17. DeFronzo RA, Ferrannini E, Simonsen DC. Fasting hyperglycemia in non-insulin dependent diabetes mellitus: Contributions of excessive hepatic glucose uptake. *Metabolism* 1989; 38: 387-95.
18. Polonsky KS. Lilly Lecture 1994. The beta cells in diabetes from molecular genetics to clinical research. *Diabetes* 1995; 44: 705-17.
19. Gumbiner B, Van Cauter E, Beltz WF. et al. Abnormalities of insulin pulsatility and glucose oscillations during meals in obese non-insulin-dependent diabetic patients: Effects of weight reduction. *J Clin. Endocrinol Metab.* 1996; 81: 2061-68.
20. Reaven GM, Chen YD, Hollenbeck CB, Sheu WH, Ostrega D, Polonsky KS. Plasma insulin, C-peptid and proinsulin concentrations in obese and non-obese individuals with varying degrees of glucose tolerance. *J Clin. Endocrinol Metab* 1993; 76: 44-48.
21. Wareham NJ, Day NE, Byrne CD, Hales CN, Williams R. Fasting proinsulin concentrations predict the development of type 2 diabetes. *Diabetes Care* 1999; 22: 262-70.
22. Kaya Alp SO. Rasyonel tedavi yönünden Tıbbi Farmakoloji. İnsülin, oral ve diğer antidiyabetik ilaçlar ve glukagon. 9. Baskı. Cilt 2. Feryal Matbaacılık Ankara 2000; 1252-72.
23. Reaven GM. Banting Lecture 1988. Role of insulin resistance in human disease. *Diabetes* 1988; 37: 1595-607.
24. Garvey WT, Birnbaum MJ. Cellular insulin action and insulin resistance. *Bailliere. s Clinical Endocrinology and Metabolism* 1993;7: 785-873.
25. Hollenbeck C, Reaven GM. Variations in insulin stimulated glucose uptake in healthy individuals with normal glucose tolerance. *J Clin Endocrinol Metab* 1987; 64: 1169-73.
26. World Health organisation. WHO Study Group. Diabetes Mellitus. Geneva. Tech Rep Ser. 1985; 727:1-113.
27. World Health Organization Consultation. Definition, Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus and its complications, Part 1: Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus and Classification of Diabetes mellitus. Report of a WHO Consultation. Geneva: World Health Organization, 1999.
28. The DECODE Study Group on behalf of the European Diabetes Epidemiology Group: Glucose Tolerance and Cardiovascular Mortality, Comparison of fasting and 2-Hour Diagnostic Criteria; *Arch Intern Med.* 2001; 161:397-404.
29. Unwin N, Shaw J, Zimmet P, Alberti KG: Impaired glucose tolerance and impaired fasting glycemia: the current status on definition and intervention. *Diabet Med* 2002 Sep; 19(9); 708-23.
30. Sherwin SR. Diabetes Mellitus. Cecil Textbook of Medicine. 22 nd Edition. 2004, Section 242: 1425-1452
31. Stumvoll M et al. Clinical features of insulin resistance and beta-cell dysfunction and relationship to type 2 diabetes. *Clin. Lab. Med.* 2001; 21: 31.
32. Fitz Gerald MG, Malins JM: Ten-year follow-up report on the Birmingham Diabetes Survey of 1961. *BMJ* 1976; 2:35-7

33. Jarrett RJ, Keen H, Fuller J, McCartney P. Worsening of diabetes in men with impaired glucose tolerance. *Diabetologia* 1979; 16: 25-30.
34. İslamoğlu Y, Koplay M, Sunay S, Açikel M. Obezite ve Metabolik Sendrom. *Tıp Araştırmaları Dergisi* 2008; 6: 168-17.
35. The DECODE Study Group. Glucose tolerance and mortality. *Lancet* 1999; 354:617-621
36. Kim SH, Reaven GM. The metabolic syndrome: one step forward, two steps back. *Diab Vasc Dis Res* 2004; 1: 68-75.
37. American Diabetes Association. *Diabetes Care* January 2003: 26.
38. Matsuda M, DeFronzo RA. Insulin sensitivity indices obtained from oral glucose tolerance testing. *Diabetes Care* 1999; 22: 1462-1470.
39. Shulman GI. Cellular mechanisms of insulin resistance. *J Clin Invest* 2000; 106:171-6.
40. Fantuzzi, G. Adipose tissue, adipokines, and inflammation. *J Allergy Clin Immunol* 2005; 115: 911-919.
41. Raji A, Gerhard-Herman MD, Warren M et al. Insulin resistance and vascular dysfunction in nondiabetic asian indians. *J Clin Endocrinol Metab*, 2004; 89: 3965-72.
42. Degawa-Yamauchi M, Bovenkerk JE, Juliar BE, et al. Serum resistin (FIZZ3) protein is increased in obese humans. *J Clin Endocrinol Metab*, 2003; 88: 5452-55.
43. Ryden M, Arvidsson E, Blomqvist L, et al. Targets for TNF-alpha-induced lipolysis in human adipocytes. *Biochem Biophys Res Commun*. 2004; 318: 168-75.
44. Pickup JC. Inflammation and activated innate immunity in the pathogenesis of type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2004;27(3):813-23.
45. Wellen KE, Hotamisligil GS. Inflammation, stress and diabetes. *J Clin Invest* 2005; 115: 1111-9.
46. Silverman GA et al. The serpins are an expanding superfamily of structurally similar but functionally diverse proteins. *J. Biol. Chem.* 2001; 276: 33292-33296.
47. Gettins PG: Serpin structure, mechanism, and function. *Chem Rev* 2002; 102: 4751-4804
48. Q LI, R Chen et al. A novel adipocytokine, visceral adipose tissue-derived serine protease inhibitor (vaspin) and obesity *The journal of international medical research* 2008; 36: 625-629.
49. Tatemoto K, Takayama K, Zou MX, et al: The novel peptide apelin lowers blood pressure via a nitric oxide-dependent mechanism, *Regul Pept*; 2001, 99: 87-92.
50. O'Dowd BF, Heiber M, Chan A, et al. A human gene that shows identity with the gene encoding the angiotensin receptor is located on chromosome 11. *Gene* 1993; 136(1-2): 355-60.
51. Tatemoto K, Hosoya M, Habata Y, et al. Isolation and Characterization of a Novel Endogenous Peptide Ligand for the Human APJ Receptor. *Biochem Biophys Res Commun*. 1998; 251: 471-476.

52. Lee DK, Cheng R, Nguyen T, et al. Characterization of apelin, the ligand for the APJ receptor. *J Neurochem* 2000; 74: 34-41.
53. Beltowski J: Apelin and visfatin: unique “beneficial” adipokines upregulated in obesity? *Med Sci Monit*; 2006, 12: RA 112-RA 119.
54. Baranova, A, Randhawa, M. Jarrar, M. and Younossi, Z.M., Adipokines and Melanocortins in the Hepatic Manifestation of Metabolic Syndrome: Nonalcoholic Fatty Liver Disease, *Expert Rev. Mol. Diagn.* 2007; 7(2): 195–205.
55. Llorens-Cortes C, Beaudet A. Apelin, a neuropeptide that counteracts vasopressin secretion. *Med Sci* 2005; 21(8-9): 741-6.
56. Kralisch S, Klein J, Bluher M, et al. Therapeutic perspectives of adipocytokines. *Expert Opin Pharmacother* 2005; 6(6): 863-72.
57. Medhurst AD, Jennings CA, Robbins MJ, et al. Pharmacological and immunohistochemical characterization of the APJ receptor and its endogenous ligand apelin. *J Neurochem* 2003; 308: 480-485.
58. Kleinz MJ, Davenport AP. Emerging roles of apelin in biology and medicine. *Pharmacol Ther* 2005; 107: 198-211.
59. Lee DK, George SR, O’Dowd BF. Unravelling the roles of the apelin system: prospective therapeutic applications in heart failure and obesity. *Trends Pharmacol Sci* 2006; 27: 190-194.
60. Lee DK, Cheng R, Nguyen T, Fan T, Kariyawasam AP, Liu Y, et al. Characterization of apelin, the ligand for the APJ receptor. *J Neurochem* 2000; 74: 34-41.
61. Katugampola, SD, Maguire JJ, Matthewson SR & Davenport AP. [(125)I]-(Pyr(1)) Apelin-13 is a novel radioligand for localizing the APJ orphan receptor in human and rat tissues with evidence for a vasoconstrictor role in man. *Br J Pharmacol* 2001; 132: 1255-1260.
62. Ashley EA, Powers J, Chen M, Kundu R, Finsterbach T, Caffarelli A, et al. The endogenous peptide apelin potently improves cardiac contractility and reduces cardiac loading in vivo. *Cardiovasc. Res* 2005; 65: 73-82.
63. Wang Z, Nakayama T. Inflammation, a link between obesity and cardiovascular disease. *Review Article* 2010; 2010: 1-7.
64. Kuklinska AM, Sobkowicz B, Sawicki R, Musial WJ, Waszkiewicz E, Bolinska S, Malyszko J. Apelin: a novel marker for the patients with first ST-elevation myocardial infarction. *Heart Vessels* 2010; 25: 363-367.
65. Sunter D, Hewson AK, Dickson SL. Intracerebroventricular injection of apelin-13 reduces food intake in the rat. *Neurosci Lett* 2003; 353: 1-4.
66. Sorhede WM, Magnusson C, Ahren B. The apj receptor is expressed in pancreatic islets and its ligand, apelin, inhibits insulin secretion in mice. *Regul Pept* 2005; 131: 12-17.
67. Meral C, Tascilar E, Karademir F, Tanju IA, Cekmez F, Ipcioglu OM, et al. Elevated plasma levels of apelin in children with type 1 diabetes mellitus. *J Pediatr Endocrinol Metab* 2010; 23: 497-502.
68. Dray C, Knauf C, Daviaud D, Waget A, Boucher J, Buléon M, et al. Apelin stimulates glucose utilization in normal and obese insulin-resistant mice *Cell Metab* 2008; 8: 437-45.

69. Nagpal S. Patel S. DiSepio D. et al. Tazarotene-induced gene 2 (TIG2), a novel retinoid-responsive gene in skin. *J. Invest. Dermatol.* 1997 109: 91-95.
70. Zabel BA. Silverio A. and Butcher EC. et al. Chemokine-Like Receptor 1 Expression and Chemerin-Directed Chemotaxis Distinguish Plasmacytoid from Myeloid Dendritic Cells in Human Blood *J. Immunol.* 2005; 174: 244-251.
71. Wittamer V. Franssen J.D. Vulcano M. et al. Specific Recruitment of Antigen-presenting cells by Chemerin, a Novel Processed Ligand from human inflammatory fluids *J. Exp. Med.* 2003; 198: 977-985.
72. Meder W. Wendland M., Busmann A. et al. Characterization of human circulating TIG2 as a ligand for the orphan receptor ChemR23. *FEBS Lett.* 2003; 555: 495-499
73. Zabel B. A. Allen S. J. Kulig P. et al. Chemerin activation by serine proteases of the coagulation, fibrinolytic and inflammatory cascades *J. Biol. Chem.* 2005; 280: 34661-34666
74. Wittamer V. Bondue B. et al. Neutrophil-Mediated Maturation of Chemerin: A Link between Innate and Adaptive Immunity, *J. Immunol.* 2005; 175: 487-493
75. Kershaw E. E. Flier, J.S. Adipose Tissue as an Endocrine Organ *J. Clin. Endocrinol Metab.* 2004; 89: 2548-2556
76. Goralski KB. McCarthy TC. et al. Chemerin, a novel adipokine that regulates adipogenesis and adipocyte metabolism *JBC* 2007; 38: 28175-28188
77. Bozaoglu K. Bolton K. et al. Chemerin is a novel adipokine associated with obesity and metabolic syndrome *Endocrinology* 2007 148: 4687-4694
78. Takahashi M. Takahashi Y. et al. Chemerin enhances insulin signaling and potentiates insulin-stimulated glucose uptake in 3T3-L1 adipocytes *FEBS Letters* 582(2008) 573-578
79. Parolini S. Santoro A. et al. The role of chemerin in the colocalization of NK and dendritic cell subsets into inflamed tissues. *Blood Journal* 2007; 109: 3625-3632
80. Prusty D. Park B.H. et al. Activation of MEK/ERK signaling promotes adipogenesis by enhancing peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPARgamma) and C/EBPalpha gene expression during the differentiation of 3T3-L1 preadipocytes. *J. Biol. Chem.* 2002; 277: 46226-46232
81. Greenberg A. S. Shen W.J. et al. Stimulation of lipolysis and hormone-sensitive lipase via the extracellular signal-regulated kinase pathway. *J. Biol. Chem.* 2001; 276: 45456-45461
82. U.S. Department of Health and Human Services National Institutes of Health: Insulin Resistance and Pre-diabetes. NIH Publication No. 09-4893 October 2008.
83. Stejskal D, Karpisek M, Hanulova Z, Svestak M. Chemerin is an independent marker of the metabolic syndrome in a caucasian population- a pilot study. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub.* 2008; 152:217-221.
84. Tai ES, Goh ES, Lee JJM et al. Lowering the criterion for impaired fasting glucose impact on disease prevalence and associated risk of diabetes and ischemic heart disease. *Diabetes Care* 2004 27: 1728-1734.
85. Oto A, Kepez A. İnsülin Direncinin Patofizyolojik Temelleri ve Kardiyovasküler Hastalıklarla İlişkisi. *Türk Kardiyoloji Seminerleri* 2005; 5: 2: 192-208.

86. Trayhurn P, Bing C, Wood IS. Adipose tissue and adipokines--energy regulation from the human perspective. *J Nutr* 2006; 136: 1935-9.
87. Gimble JM. Adipose tissue-derived therapeutics. *Expert Opin Biol Ther*, 2003; 3: 705-13.
88. Li L, Yang G, Li Q, Tang Y, Yang M, Yang H, Li K, Changes and relations of circulating visfatin, apelin, and resistin levels in normal, impaired glucose tolerance, and type 2 diabetic subjects, *Exp. Clin. Endocrinol. Diabetes*. 2006, 114, 544-548.
89. Şenol MG, Terekeci HM, İpçioğlu O, et al. Plasma apelin levels in diabetic patients with and without neuropathy. *Cent. Eur. J. Med.* 4(2), 2009, 241-244.
90. Erdem G, Dogru T, Tasci I, Sonmez A, Tapan S, Low plasma apelin levels in newly diagnosed type 2 diabetes mellitus, *Exp. Clin. Endocrinol. Diabetes*, 2008, 116, 289-292.
91. Tasci I, Erdem G, Ozgur G, et al. LDL-cholesterol lowering increases plasma apelin in isolated hypercholesterolemia. *Atherosclerosis* 2009, 204(1): 222-8.
92. Lago F, Dieguez C. et al. The emerging role of adipokines as mediators of inflammation and immune responses. *Science Direct*. 2007; 18: 313-325.

9. ÖZGEÇMİŞ

1982 yılında Elazığ'da doğdum. İlk, orta ve lise öğrenimimi Elazığ'da tamamladım. 2002 yılında Fırat Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümünde lisansa başlayıp, 2006 yılında mezun oldum. 2009 yılında Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Biyokimya Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans Eğitimime başladım.