

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

**DENEYSEL DİYABETİK SIÇAN BÖBREK DOKUSUNDA  
ADROPİN VE BETATROFİN ÜZERİNE VİTAMİN D’NİN  
ETKİLERİ**

**UZMANLIK TEZİ  
Dr. Selçuk DEMİRCAN**

**TEZ DANIŞMANI  
Prof. Dr. Emir DÖNDER**

**ELAZIĞ  
2018**

## DEKANLIK ONAYI

Prof. Dr. Ahmet KAZEZ

DEKAN

Bu tez Uzmanlık Tezi standartlarına uygun bulunmuştur.

Prof. Dr. Orhan Kürşat POYRAZOĞLU

**İç Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanı**

Tez tarafımdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Emir DÖNDER \_\_\_\_\_ Danışman

### Uzmanlık Sınavı Jüri Üyeleri

.....  
.....  
.....  
.....  
.....

## TEŞEKKÜR

İç Hastalıkları ihtisasına başladığım andan itibaren ihtisas süreci boyunca her konuda sabır ve içtenlikle desteğini gördüğüm, bilgi ve tecrübelerini esirgemeyen, büyük emeği olan Atatürk Üniversitesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı emekli Prof. Dr. Mehmet GÜNDOĞDU'na, Fırat Üniversitesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Orhan Kürşat POYRAZOĞLU'na ve saygıdeğer hocam Prof. Dr. Emir DÖNDER'e teşekkürü borç bilirim.

Fırat Üniversitesi Tıp Fakóltesi Histoloji Anabilim Dalında Dr. Öğr. Üyesi Tuncay KULOĐLU'na tüm tez çalışmalarını boyunca olan yardım ve desteğinden dolayı teşekkürlerimi sunarım.

## ÖZET

Diabetes Mellitus (DM) hiperglisemi ile karakterize olan heterojen bir metabolizma bozukluğudur. DM; karbonhidrat, lipid ve protein metabolizmasındaki bozukluklar ile hızlanmış aterosklerozla birlikte, mikrovasküler ve makrovasküler komplikasyonlarla seyreden kronik metabolik bir hastalıktır. Bu çalışmada; streptozotosin (STZ) ile oluşturulan deneysel diyabet modelinde sıçan böbrek dokusunda adropin, betatrofin ve apoptozis üzerine vitamin D'nin etkileri incelemek amacıyla yapılmıştır.

Sekiz-on haftalık 41 adet Wistar albino cinsi erkek sıçanlar her grupta 7 hayvan olacak şekilde 5 gruba ayrıldı. Kontrol grubuna herhangi bir uygulama yapılmadı. Buffer grubuna tek doz 0.1 M sodyum Buffer'ı ip uygulandı. Vitamin D grubuna günlük 200 IU/gün oral yolla Vitamin D uygulandı. Diyabet grubuna 50mg/kg tek doz STZ 0.1 M sodyum Buffer'ında çözülürerek ip uygulandı. Glukoz düzeyi 250mg/dl üzerinde olanlar diyabetik kabul edildi. Diyabet+Vitamin D grubu 50mg/kg tek doz STZ 0.1 M sodyum Buffer çözülürerek ip uygulandı. Diyabet oluşturulduktan sonra Vitamin D 200IU/gün oral yolla uygulandı. Deney sonunda tüm gruptaki sıçanlar dekapite edildi ve hızla böbrek dokuları çıkarılarak immünohistokimya ile TUNEL boyama yapıldı. Ayrıca tüm gruplara ait serum örneklerinden de total antioksidan status (TAS) ve total oksidan status (TOS) düzeyleri incelendi.

Yapılan biyokimyasal ve histolojik incelemelerde serum TOS, TAS düzeyi ile TUNEL pozitifliği, adropin ve betatrofin immünreaktivitesi; Kontrol, Tampon ve Vitamin D gruplarında benzerdi. Kontrol grubuyla kıyaslandığında Diyabetik grupta TOS düzeyi ve TUNEL pozitifliği anlamlı olarak artarken TAS düzeyi, adropin ve betatrofin immünreaktivitesi belirgin olarak azalmıştı. Diyabetik grup ile kıyaslandığında ise Diyabet+Vitamin D grubunda TOS düzeyi ve TUNEL pozitifliği anlamlı olarak azalırken TAS düzeyi, adropin ve betatrofin immünreaktivitesi belirgin olarak artmıştı.

Sonuç olarak, diyabetin komplikasyonlarını önlemek amacıyla vitamin D ilişkili tedavi yaklaşımlarının denenmesinin ve adropin ile betatrofin'in diyabetik nefropati patogenezinde yer alabileceğinden daha ileri araştırmaların yapılması gerektiği kanaatine varılmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Rat, diabetes mellitus, böbrek, adropin, betatrofin

## ABSTRACT

### **THE EFFECTS OF VITAMIN D ON ADROPINE AND BETATROFINE IN EXPERIMENTAL DIABETIC RAT KIDNEY**

Diabetes Mellitus (DM) is a heterogeneous disorder of metabolism characterized by hyperglycaemia. DM; is a chronic metabolic disease with microvascular and macrovascular complications, with accelerated atherosclerosis and along disorders of carbohydrate, lipid and protein metabolism. In this study; the effects of vitamin D on adropine, betatrophine and apoptosis in rat kidney tissue were investigated in streptozotocin (STZ) induced experimental diabetes model.

42 male Wistar albino rats aged 8-10 weeks were divided into 5 groups as 7 animals in each group. The control group had no application. A single dose of 0.1 M sodium citrate buffer was applied to the citrate buffer group. Vitamin D was administered 200IU / day orally to Vitamin D group. For the diabetes group, 50 mg / kg single dose STZ was injected ip which was dissolved in 0.1 M sodium citrate buffer. Rats with a glucose level above 250 mg/dl were considered diabetic. To Diabetes+Vitamin D group, 50 mg / kg single dose STZ which was dissolved in 0.1 M sodium citrate buffer was injected ip. Vitamin D was administered orally 200 IU / day after the formation of diabetes. At the end of the experiment, the rats in all groups were decapitated and kidney tissues were rapidly removed and TUNEL stained with immunohistochemistry. Total antioxidant status (TAS) and total oxidant status (TOS) levels were also investigated in serum samples from all groups.

In biochemical and histological examinations, Serum TOS, TAS level and TUNEL positivity, adropine and betatrophine immunoreactivity were similar in the control, buffer and vitamin D groups. When compared with the control group, TOS level and TUNEL positivity increased significantly in diabetic group, whereas TAS level, adropin and betatrophine immunoreactivity decreased significantly. Compared with diabetic group, in Diabet+Vitamin D group TAS level, adropin and betatrophine immunoreactivity were significantly increased while TOS level and TUNEL positivity decreased significantly.

As a result, it has been concluded that further studies should be performed to try vitamin D-related treatment approaches to prevent complications of diabetes and to investigate the adropine and betatrophine in the pathogenesis of diabetic nephropathy.

**Key words:** Rat, diabetes mellitus, kidney, adropine, betatrophine



## İÇİNDEKİLER

<b>BAŞLIK SAYFASI</b>	<b>i</b>
<b>ONAY SAYFASI</b>	<b>ii</b>
<b>TEŞEKKÜR</b>	<b>iii</b>
<b>ÖZET</b>	<b>iv</b>
<b>ABSTRACT</b>	<b>v</b>
<b>İÇİNDEKİLER</b>	<b>vii</b>
<b>TABLO LİSTESİ</b>	<b>xi</b>
<b>ŞEKİL LİSTESİ</b>	<b>xii</b>
<b>KISALTMALAR LİSTESİ</b>	<b>xiii</b>
<b>1. GİRİŞ</b>	<b>1</b>
1.1. Diabetes Mellitus	1
1.1.1. Diyabetes Mellitus’da Sınıflama	1
1.1.1.1. Gestasyonel Diyabetes Mellitus	2
1.1.1.2. Diabetes Mellitus’da Etiyolojik Sınıflama	2
1.2. Epidemiyoloji	5
1.3. Diabetes Mellitus’da Tanı	6
1.3.1. OGTT (Oral Glukoz Tolerans Testi)	7
1.3.2. OGTT Endikasyonları	7
1.3.3. Hemoglobın A1c	8
1.3.4. Gestasyonel Diabetes Mellitus’da Tanı	9
1.3.4.1. Gestasyonel Dm’da İki Aşamalı Tanı Yaklaşımı	9
1.3.5. Prediyabetes Mellitus	9
1.4. Patogenez	10
1.4.1. Tip 1 Diyabetes Mellitus Patogenez	10
1.4.1.1. Çevresel Faktörler	11
1.4.1.2. Tip 1 Diyabetes Mellitus’da Genetik	12
1.4.2. Tip 2 Diyabetes Mellitus Patogenez	14
1.4.2.1. İnsülin Direnci	15
1.4.2.1.1. İnsülin Direnci Mekanizmaları	16
1.4.2.1.2. İnsülin Direnci Nedenleri	17
1.4.2.1.3. İnsülin Direnci Belirtileri Ve İnsülin Etki Alanları	19

1.4.2.1.3.1. Kas Dokusu	19
1.4.2.1.3.2. Yağ Dokusu	20
1.4.2.1.3.3. Karaciğer	21
1.4.2.1.3.4. Endotel	21
1.4.2.1.3.5. Beyin	22
1.4.2.1.3.6. Pankreas	23
1.4.2.1.3.7. Hipofiz	23
1.4.2.1.3.8. Böbrek	23
1.4.2.1.3.9. Gonadlar	23
1.4.2.1.3.10. Kemik	23
1.4.2.2. Hepatik Glukoz Üretiminde Artış	24
1.5. Diyabetin Komplikasyonları	25
1.5.1. Diyabetin Akut Komplikasyonları	25
1.5.1.1. Diyabetik Ketoasidoz	25
1.5.1.2. Hiperozmolar Hiperglisemik Durum	26
1.5.1.3. Laktik Asidoz	27
1.5.1.3.1. Laktik asidozun sınıflaması ve nedenleri	27
1.5.1.4. Hipoglisemi	28
1.5.2. Diyabetes Mellitus'un Kronik Komplikasyonları	28
1.5.2.1. Diyabetik Retinopati	29
1.5.2.2. Diyabetik Nöropati	30
1.5.2.3. Diyabetik Nefropati	30
1.5.2.3.1. Fizyopatoloji	31
1.5.2.3.2. Epidemiyoloji	33
1.5.2.3.3. Diyabetik Nefropatinin Prevalansı	34
1.5.2.3.4. Patoloji	35
1.5.2.3.5. Patogenez	36
1.5.2.3.5.1. Glomerüler hiperfiltrasyon	36
1.5.2.3.5.2. Hiperglisemi ve AGE'ler	36
1.5.2.3.5.3. Sitokinler	37
1.5.2.3.5.4. Nefrin ekspresyonu:	38
1.5.2.3.5.5. Hipertansiyon	38

1.5.2.3.6. Diyabetik nefropatide klinik görünüm	38
1.5.2.3.6.1. Albüminüri	38
1.5.2.3.6.2. Normal Veya Normalden Artmış Albüminüride Progressif Hastalık Gelişimi	39
1.5.2.3.6.3. Hematüri	39
1.5.2.3.7. Etyoloji	40
1.5.2.3.8. Risk Faktörleri	42
1.5.2.3.8.1. Genetik yatkınlık	42
1.5.2.3.8.2. Yaş	42
1.5.2.3.8.3. Kan Basıncı	42
1.5.2.3.8.4. Glomerül Filtrasyon Hızı	43
1.5.2.3.8.5. Glisemik Kontrol	43
1.5.2.3.8.6. Irk	44
1.5.2.3.8.7. Obezite	44
1.5.2.3.8.8. Sigara	44
1.5.2.3.8.9. Oral kontraseptifler	44
1.2. Adropin	44
1.3. Betatrofin	48
1.3.1. Diabetes Mellitus’da Betatrofinin Rolü	50
1.4. Vitamin D	51
<b>2. GEREÇ VE YÖNTEM</b>	<b>55</b>
2.1. Deney Hayvanları ve Beslenmeleri	55
2.2. Diyabet İndüksiyonu	55
2.3. Deney Gruplarının Oluşturulması	56
2.4. Örneklerin Alınması	56
2.5. Biyokimyasal Çalışma	57
2.5.1. Kan glikoz düzeyleri	57
2.5.2. Total Antioksidan (TAS) ve Total Oksidan Seviye (TOS) Ölçümleri	57
2.5.2.1. TAS Ölçümü	57
2.5.2.2. TOS Ölçümü	57
2.6. Histolojik Çalışma	58
2.7. İmmünohistokimya	58

2.8. TUNEL Metodu	59
2.9. İstatistiksel Analiz	60
<b>3. BULGULAR</b>	<b>61</b>
3.1. Klinik Bulgular	61
3.2. Biyokimyasal Bulgular	61
3.2.1. Kan-glikoz miktarları	61
3.3. TAS ve TOS Düzeyleri	62
3.3.1 TAS Düzeyleri	62
3.3.2. TOS Düzeyleri	63
3.4. TUNEL Bulgular	64
3.5. İmmünohistokimyasal Bulgular	68
3.5.1. ADROPİN İmmünreaktivitesi	68
3.5.2. BETATROFİN İmmünreaktivitesi	71
<b>4. TARTIŞMA</b>	<b>75</b>
<b>5. KAYNAKLAR</b>	<b>80</b>
<b>7. ÖZGEÇMİŞ</b>	<b>99</b>

## TABLO LİSTESİ

<b>Tablo 1.</b> Diabetes Mellitus ve diğler glukoz metabolizma bozuklukları tanı kriterleri	6
<b>Tablo 2.</b> GDM Tanı Kriterleri	9
<b>Tablo 3.</b> İnsülin direnci genetik nedenleri	18
<b>Tablo 4.</b> Deney Hayvanlarına Verilen Sıçan Yeminin Terkibi	55
<b>Tablo 5.</b> Histolojik takip serileri	58
<b>Tablo 6.</b> TUNEL Boyama Prosedürü.	60



## ŞEKİL LİSTESİ

<b>Şekil 1.</b>	Deney hayvanlarının başlangıç ve final vücut ağırlıkları	61
<b>Şekil 2.</b>	Deney hayvanlarının başlangıç ve final kan-glikoz miktarları	62
<b>Şekil 3.</b>	Serum TAS düzeyleri	63
<b>Şekil 4.</b>	Serum TOS düzeyleri	64
<b>Şekil 5.</b>	Kontrol grubuna ait böbrek dokusunda TUNEL pozitif hücreler	65
<b>Şekil 6.</b>	Buffer grubuna ait böbrek dokusunda TUNEL pozitif hücreler	65
<b>Şekil 7.</b>	Vit D grubuna ait böbrek dokusunda TUNEL pozitif hücreler	66
<b>Şekil 8.</b>	DM grubuna ait böbrek dokusunda TUNEL pozitif hücreler	66
<b>Şekil 9.</b>	DM+Vit D grubuna ait böbrek dokusunda TUNEL pozitif hücreler	67
<b>Şekil 10.</b>	Apoptotik İndeks	67
<b>Şekil 11.</b>	Kontrol grubuna ait böbrek dokusunda Adropin immünreaktivitesi	68
<b>Şekil 12.</b>	Buffer grubuna ait böbrek dokusunda Adropin immünreaktivitesi	69
<b>Şekil 13.</b>	Vit D grubuna ait böbrek dokusunda Adropin immünreaktivitesi	69
<b>Şekil 14.</b>	DM grubuna ait böbrek dokusunda Adropin immünreaktivitesi	70
<b>Şekil 15.</b>	DM+Vit D grubuna ait böbrek dokusunda Adropin immünreaktivitesi	70
<b>Şekil 16.</b>	Adropin Histoskoru	71
<b>Şekil 17.</b>	Kontrol grubuna ait böbrek dokusunda Betatrofin immünreaktivitesi	72
<b>Şekil 18.</b>	Buffer grubuna ait böbrek dokusunda Betatrofin immünreaktivitesi	72
<b>Şekil 19.</b>	Vit D grubuna ait böbrek dokusunda Betatrofin immünreaktivitesi	73
<b>Şekil 20.</b>	DM grubuna ait böbrek dokusunda Betatrofin immünreaktivitesi	73
<b>Şekil 21.</b>	DM+Vit D grubuna ait böbrek dokusunda Betatrofin immünreaktivitesi	74
<b>Şekil 22.</b>	Betatrofin Histoskoru	74

## KISALTMALAR LİSTESİ

<b>ACE</b>	: Angiotensin konverting enzim
<b>ADA</b>	: Amerikan Diyabet Derneği
<b>BAG</b>	: Bozulmuş açlık glukozu
<b>BGT</b>	: Bozulmuş glukoz torenası
<b>BMP-7</b>	: Böbrek kemik morfojenik protein-7'in
<b>DAB</b>	: Diaminobenzidine
<b>DCCT</b>	: Diabetes Control and Complications Trial
<b>DKA</b>	: Diyabetik ketoasidoz
<b>DM</b>	: Diyabetes Mellitus
<b>ENHO</b>	: Enerji dengesi ile ilişkili gen
<b>FÜDAM</b>	: Fırat Üniversitesi Deneysel Araştırma Merkezi
<b>GAD</b>	: Asit dekarboksilaz
<b>GDM</b>	: Gestasyonel diabetes mellitus
<b>HHD</b>	: Hiperozmolar Hiperglisemik Durum
<b>HHNC</b>	: Hiperosmolar hiperglisemik nonketotik koma
<b>HHS</b>	: Hiperosmolar hiperglisemik durum
<b>HMGA1</b>	:Yüksek mobilite grubu A1
<b>ICA</b>	: Adacık hücre antikorları
<b>IDF</b>	: Uluslararası Diyabet Federasyonu
<b>IFABP-2</b>	: İntestinal yağ asidi bağlayan protein
<b>NF-kappaB</b>	: Nükleer transkripsiyon faktörü kappa B
<b>NO</b>	: Nitrik oksit
<b>OGTT</b>	: Oral Glukoz Tolerans Testi
<b>PAI-1</b>	: Plazminojen aktivatör inhibitörü 1
<b>PCOS</b>	: Polikistik Over Sendromlu
<b>SDBY</b>	: Son dönem böbrek yetmezliği
<b>SHBG</b>	: Seks hormonu bağlayıcı globülin
<b>T1DM</b>	: Tip 1 diyabetes mellituslu

- TGF $\beta$**  : Transforming growth faktör- $\beta$
- TND** : Türk Nefroloji Derneği
- TNF- $\alpha$**  : TUMÖR nekrozis faktör- alfa
- TURDEP** : Türkiye Diyabet Epidemiyoloji Çalışması”
- UKPDS** : United Kingdom Prospective Diabetes Study
- VDR** : VİTAMİN D reseptörü
- VEGF** : Vasküler endotelial büyüme faktörü
- VLDL** : Çok düşük yoğunluklu lipoprotein
- WHO** : Dünya Sağlık Örgütü



# 1. GİRİŞ

## 1.1. Diabetes Mellitus

Diyabetes Mellitus (DM), insülin eksikliği ya da insülin etkisindeki problemlere bağlı insanda karbonhidrat, yağ ve proteinlerin yeterli düzeyde kullanılmadığı, vasküler ve nöropatik komplikasyonlar ile karakterize kronik bir hastalıktır. Diyabetes Mellitusdaki temel metabolik bozukluk hiperglisemidir (1). DM, genetik ve çevresel faktörlerin kompleks etkileşimi sonucu ortaya çıkar. DM'un nedenine bağlı olarak insülin sekresyonundan azalma, glikoz kullanımında bozulma ve glukoz üretiminde artış olabilir. DM'daki metabolik düzensizlik birçok organda fizyopatolojik değişikliklere neden olur. DM dünyada ve ülkemizde son dönem böbrek yetmezliği, travmaya bağlı olmayan ekstremitte amputasyonlarının ve körlüğün en sık nedenidir (2, 3).

### 1.1.1. Diyabetes Mellitus'da Sınıflama

Günümüzde uzman komiteleri son yapılan araştırmalar ve gelişmeleri göz önüne alarak diyabetes mellitus sınıflamasında eski 'İnsüline Bağımlı Diyabetes Mellitus' ve 'İnsüline Bağımlı Olmayan Diyabetes Mellitus' ifadelerinde değişiklik önermiş olup, eski terimlerin yerine Tip 1 Diyabetes Mellitus (Tip 1 DM) ve Tip 2 Diyabetes Mellitus (Tip 2 DM) terimlerini kullanmışlardır (4, 5).

Diabetes mellitus artık hastalığın başlama yaşı ve tedavi şekli gibi eski kriterlerden ziyade, hiperglisemiye yol açan nedene göre sınıflandırılır (1) . Diyabetes Mellitus'un iki büyük sınıfı; tip 1 DM ve tip 2 DM olup her ikisinde patolojik ilerleme sürecinde glukoz dengesi bozulmuştur (3).

Diyabetes mellitus sınıflamasında dört klinik tip vardır. Bunlardan ilk üçü primer (tip 1 diyabet, tip 2 diyabet ve Gestasyonel Diyabetes Mellitus), diğerleri ise sekonder diyabet formları (spesifik diyabet tipleri) olarak bilinmektedir. Tip 1 ve tip 2 diyabet, klinik başlangıç şekilleri ve ilerlemeleri ile heterojen hastalıklardır. Geleneksel olarak tip 1 diyabetin, çocuk ve gençlerde akut hiperglisemi veya diyabetik ketoasidoz ile başladığı, buna karşılık tip 2 diyabetin erişkinlerde hafif ve nispeten yavaş seyir gösterdiği kabul edilmektedir (1). Tip 1 diyabet tam veya tama yakın insülin eksikliği sonucu oluşurken tip 2 diyabette ise çeşitli derecelerde insülin direnci, bozulmuş insülin sekresyonu ve artmış glukoz üretimi ile karakterizedir (3).

Tip 2 diyabet hem yaygınlığı hemde yol açtığı akut ve kronik komplikasyonları nedeniyle tüm dünyada en önemli mortalite ve morbidite nedenlerinden biri olup, tüm diyabetiklerin ortalama %85'ini oluşturmaktadır (5). Tip 2 DM gelişmesinden önce bozulmuş açlık glukozu (BAG), bozulmuş glukoz toleransı (BGT) ve her ikisinin beraber olduğu bozulmuş açlık glukozu+bozulmuş glukoz torensı (BAG+BGT) denen glukoz dengesi bozukluğu dönemleri vardır (1).

#### **1.1.1.1. Gestasyonel Diyabetes Mellitus**

Gestasyonel diabetes mellitus (GDM), hamilelik esnasında ortaya çıkan bir karbohidrat intoleransı olarak tanımlanmaktadır (6). Gebelikte artmış insülin direncini ve insülin hassasiyetini fizyolojik olarak dengeleyen mekanizmalardaki bozukluğa bağlı olarak gelişir. GDM prevalansı popülasyonun özelliklerine ve tanı kriterlerine bağlı olarak birçok çalışmada %1-14 arasında değiştiği bildirilmiştir (7). Türkiye'de, Carpenter ve Coustan'ın tanı ölçütlerini kullanan bir çalışmada GDM prevalansı %4.48 olarak bildirilmiştir (8). GDM'li hastaların büyük çoğunluğunda, postpartum dönemde glukoz toleransı normale döner. Ancak, diyabetojenik bir dönem olan hamilelik GDM ile komplike hale gelirse, anne uzun sürede tip 2 diabetes mellitus (DM) gelişimi için yüksek risk grubunda olur. Postpartum dönemde GDM hastalarında tip 2 DM gelişme oranı, etnik kökene ve takip süresine göre değişmekte olup, post partum takip süresinde uzaması ile oranının artırması ilginçtir (9, 10).

#### **1.1.1.2. Diabetes Mellitus'da Etiyolojik Sınıflama**

1. Tip 1 Diyabetes Mellitus
  - A. İmmun aracılı
  - B. İdiopatik
2. Tip 2 Diyabetes Mellitus (insülin direnci zemininde ilerleyici insülin sekresyon defekti ile karakterizedir)
3. Gestasyonel Diyabetes Mellitus (GDM)

Gebelik esnasında ortaya çıkan ve genellikle doğum ile düzelen diyabet
4. Diğer Spesifik Diyabet Tipleri

**A. beta hücre fonksiyonlarının genetik defekti (monogenik diyabet formları)**

- 20. Kromozom, HNF-4 $\alpha$  (MODY1)
- 7. Kromozom, Glukokinaz (MODY2)
- 12. Kromozom, HNF-1 $\alpha$  (MODY3)
- 13. Kromozom, IPF-1 (MODY4)
- 17. Kromozom, HNF-1 $\beta$  (MODY5)
- 2. Kromozom, NeuroD1 (MODY6)
- 2. Kromozom, KLF11 (MODY7)
- 9. Kromozom, CEL (MODY8)
- 7. Kromozom, PAX4 (MODY9)
- 11. Kromozom, INS (MODY10)
- 8. Kromozom, BLK (MODY11)
- Mitokondriyal DNA
- 11. Kromozom, Neonatal DM (Kir6.2, ABCC8, KCNJ11 mutasyonu)
- Diğerleri

**B. İnsülin etkisindeki genetik defektler**

- Leprechaunizm
- Lipoatrofik diyabet
- Rabson-Mendenhall sendromu
- Tip A insülin direnci
- Diğerleri

**C. Pankreasın ekzokrin doku hastalıkları**

- Fibrokalkülöz pankreatopati
- Hemokromatoz
- Kistik fibroz
- Neoplazi
- Pankreatit
- Travma/pankreatektomi
- Diğerleri

#### **D. Endokrinopatiler**

- Akromegali
- Aldosteronoma
- Cushing sendromu
- Feokromositoma
- Glukagonoma
- Hipertiroidi
- Somatostatinoma
- Diğerleri

#### **E. İlaç veya kimyasal ajanlar**

- Atipik anti-psikotikler
- Anti-viral ilaçlar
- b-adrenerjik agonistler
- Diazoksid
- Fenitoin
- Glukokortikoidler
- a –İnterferon
- Nikotik asit
- Pentamidin
- Proteaz inhibitörleri
- Tiyazid grubu diüretikler
- Tiroid hormonu
- Vacor
- Statinler
- Diğerleri (Transplant rejeksiyonunu önlemek için kullanılan ilaçlar)

#### **F. İmmun aracılıklı nadir diyabet formları**

- Anti insülin-reseptör antikoları
- “Stiff-man” sendromu
- Diğerleri

#### **G. Diyabetle ilişkili genetik sendromlar**

- Alström sendromu

- Down sendromu
- Friedreich tipi ataksi
- Huntington korea
- Klinefelter sendromu
- Laurence-Moon-Biedl sendromu
- Miyotonik distrofi
- Porfiria
- Prader-Willi sendromu
- Turner sendromu
- Wolfram (DIDMOAD) sendromu
- Diğerleri

## **H. İnfeksiyonlar**

- Konjenital rubella
- Sitomegalovirus
- Koksaki B
- Diğerleri (adenovirus, kabakulak) (1)

## **1.2. Epidemiyoloji**

Diabetes mellitusun tanınması, tedavi seçeneklerinin belirlenmesi, erken dönemde tanı konulabilmesi ve sağlık politikalarının oluşturulabilmesi için hastalığın epidemiyolojisinin bilinmesi önemlidir (10).

Diyabetes mellitus dünyada en önemli kronik hastalıklardan biri olup, DM'un dünyadaki prevalansı ve insidansı coğrafyaya göre farklılık göstermektedir. Bunda etnik grup ve ırk önemli etmenlerdir. Japonya dünyada en düşük insidansa sahip iken İskandinav ülkeleri ise en yüksek insidansa sahiptir (11). Papua Yeni Gine'deki kabilelerde, Eskimolar ve Çin'de %1 olan prevalans Avustralya yerlilerinde, Naurulularda veya Arizona'daki Pima Kızılderililerinde prevalans %20-45'dir (12). Pima Kızılderililer dünya üzerindeki en yüksek diyabet prevalansa sahiptirler (13-15). 2000 yılında yapılan bir çalışmada dünyada 141.9 milyon Tip 2 DM' lu hasta olduğu bildirilmiştir, bu yaklaşık olarak dünya nüfusunun %3.8'ini oluşturmaktadır. Toplumlarda sağlıksız ve düzensiz beslenme, obezite, sedanter yaşam prevalanslarındaki artma, yaşlanma ve kentleşme ile diyabetli hasta sayısı hızla

artmaktadır. Bu artış nedeniyle Uluslararası Diyabet Federasyonu, 2025’te dünyada Tip 2 DM’ lu hasta sayısının tahminen 334 milyona yükseleceğini bildirmiştir (12). Ülkemizde 1997-1998 yılları arasında yapılan “Türkiye Diyabet Epidemiyoloji Çalışması” (TURDEP)’e göre 20-80 yaş grubu arasında diyabet sıklığı %7.2, bozulmuş glukoz toleransı ise %6.7 bulunmuş, hem diyabet hem de bozulmuş glukoz toleransının kırsal kesime göre şehirlerde daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Ülkemizde 2010 yılında yapılmış olan TURDEP-II çalışmasında diyabet sıklığının %13.7’ye ulaştığı ve son 12 yılda diyabet oranının %90 arttığı saptanmıştır (13).

Ülkemizde Onat ve arkadaşları tarafından 1990 yılında yapılan TEKHARF çalışmasında diyabet prevalansı erkeklerde %8.1, kadınlarda ise %8.9 olarak bulunmuştur. Bu çalışma 2001 yılında güncellenmiş ve prevalansın geçen on yılda her yıl ortalama %6.7 oranında arttığı görülmüştür (14).

### 1.3. Diabetes Mellitus’da Tanı

Son yıllarda diyabet ve glukoz metabolizmasının diğer bozukluklarının tanı ve sınıflamasında önemli değişiklikler yapılmıştır. Önce 1997 yılında, Amerikan Diyabet Derneği (ADA) yeni tanı ve sınıflama kriterlerini yayımlamış ve hemen ardından 1999’da Dünya Sağlık Örgütü (WHO) bu kriterleri küçük revizyonlarla kabul etmiştir (1).

Daha sonra 2003 yılında, bozulmuş açlık glukozu (BAG) tanısı için ADA tarafından küçük bir revizyon yapılmıştır. Buna karşılık WHO ve Uluslararası Diyabet Federasyonu (IDF) tarafından 2006 yılında yayımlanan raporda 1999 kriterlerinin korunması benimsenmiştir (1).

**Tablo 1.** Diabetes Mellitus ve diğer glukoz metabolizma bozuklukları tanı kriterleri (1):

	Aşkar Diyabet	İzole BAG (mg/dl)	İzole BGT (mg/dl)	BAG+BGT (mg/dl)	DM riski yüksek (mg/dl)
<b>APG (8 saat açlıkta)</b>	≥126	100-125	<100	100-125	-
<b>OGTT 2. Saat PG (75gr glukoz)</b>	≥200	<140	140-199	140-199	-
<b>Rasgele PG</b>	≥200mg/dl ve Diyabet septomları	-	-	-	-
<b>HgA1C</b>	≥%6.5	-	-	-	%5.7-%6.4

Diyabet tanısı dört yöntemden herhangi birisi ile konulabilir. Çok ağır diyabet semptomlarının bulunmadığı durumlar dışında, tanının daha sonraki bir gün, tercihen

aynı (veya farklı bir) yöntemle doğrulanması gerekir. Eğer başlangıçta iki farklı test yapılmış ve test sonuçları uyumsuz ise sonucu eşik değerin üstünde çıkan test ile tekrarlanmalı ve sonuç yine diyagnostik ise diyabet tanısı konulmalıdır (1).

Tanıda 75 g glukoz ile standart OGTT yapılması, açlık kan şekere göre daha sensitif ve spesifik olsada, standart OGTT aynı kişide günden güne değişkenliğinin yüksek, emeğin fazla ve maliyetinin daha yüksek olması rutin kullanımını zorlaştırmaktadır. Diğer taraftan, açlık kan şekerinin daha kolay uygulanması ve ucuz olması kullanımını artırmaktadır. Tip 1 diyabette ise hastalığın aşikar klinik başlangıcından dolayı OGTT kullanıma gerek kalmamaktadır (1).

### **1.3.1. Oral Glukoz Tolerans Testi (OGTT)**

Oral Glukoz Tolerans Testi, diyabet tanısındaki en duyarlı testtir. Ancak OGTT'nin standardize edilmemesi ve hastalar hazırlanmadan uygulanması yanlış sonuçlara neden olabilmektedir. OGTT'den önce hastaya en az üç gün karbonhidrat kısıtlaması yapılamamalıdır (en az 150 gr/gün). Test mümkünse sabah erken saatlerde yapılmalı ve hasta test günü 10 ile 12 saat açlık ile gelmelidir. OGTT esnasında kahve, sigara içilmemeli ve glukoz toleransına etkili ilaçlar (oral hipoglisemikler, dilantin, beta blokerler, tiyazid grubu diüretikler, nikotik asid türevleri) en az bir hafta önce kesilmelidir. OGTT yapılırken yakın zamanda geçirilmiş infeksiyon, ağır stresler, travma, büyük cerrahi girişimler, akut kardiyovasküler veya serebrovasküler olay hikayesi olmamalıdır. OGTT'nin tamamen sağlıklı kişilere göre yapılan test olduğu akıldan çıkarılmamalıdır (1).

OGTT uygulamalarında glukoz dozu endikasyona göre değişmektedir. Gestasyonel diyabet taramasında, 50 gr glukoz uygulaması yapılırken; DM tanısı için 75 gr glukoz ile OGTT yapılır (1).

### **1.3.2. OGTT Endikasyonları:**

1. Taramalar sırasında, anormal veya sınırda glukoz değerlerinin varlığı (100>AKŞ<126)
2. Gestasyonel diyabet tanısı koymak
3. Obeziteye eşlik eden diyabet veya glukoz tolerans bozukluğunun gösterilmesi (Sendrom X)

4. Otozomal dominant geçişli bir diyabet tipi olan ‘MODY tip’ diyabetli aile bireyleri
5. Genç yaşta açıklanamayan n6ropati, retinopati, ateroskleroz, koroner damar hastalığı veya periferik damar hastalığı olanlar
6. Travma, cerrahi girişim, miyokard infarktüsü gibi stresli akut durumlarda hiperglisemi veya glukozüri saptanan kişilerde, akut durum geçtikten sonra glukoz metabolizmasını değerlendirmek için
7. Makrozomik bebek (>4000) doğuran ve k6tu obstetrik hikayesi olan kadınlr
8. Polikistik Over Sendromlu (PCOS) kadınlr (polikistik over sendromu obeziteden bağımsız olarak insülin direnci nedenidir ve bunların yaklaşık %30’unda BGT ve %7-16’sında da aşıkar tip 2 DM meydana gelebilmektedir).
9. Reaktif hipoglisemik yakınmaları olan kişiler.

### **1.3.3. Hemoglobin A1c**

Glikozile hemoglobinin 6lümleri, 1980’lerden itibaren diyabetli hastalarda kan şekeri kontrolünü değerlendirmede ve son zamanlarda diyabet ve diyabet öncesi durumların tanısında kullanılmaktadır. Hemoglobin A1c (HbA1c), hemoglobinin nonenzimatik glikozilasyonu ile oluşur ve bunun oranı, eritrositlerin ömrü boyunca (≈120 gün) hemoglobin A molekülünün glukozu maruziyetini yansıtır. Bu nedenle, HbA1c’nin önceki 3 ila 4 ay boyunca ortalama plazma kan şekeri seviyeleri ile öngörülebilir (fakat doğrusal değildir) bir ilişkisi vardır, ancak daha yakın zamanda (4 hafta önce) maruziyet glikozilasyon yüzdesine daha fazla katkıda bulunur. HbA1c ve ortalama glukoz düzeyleri arasındaki ilişki başlangıçta Diyabet Kontrol ve Komplikasyonlar Denemesinden elde edilen verilere ve bunların sonuçlarının DCCT (Diabetes Control and Complications Trial=DCCT) alışmasında kullanılan ve altın standart olarak kabul edilen HPLC (yüksek performanslı likid kromatografi) yöntemine göre kalibre edilmesi oldukça önemlidir. HbA1c sonuçları, eritrosit sağ kalımını (örneğin; hemolitik anemi) değiştiren veya spesifik bir analiz ile etkileşime neden olan durumlardan etkilenebilir. Bu durumlarda, geçen 2 ila 3 hafta boyunca ortalama glukoz seviyelerini yansıtan fruktozamin (glikozile serum proteinleri) veya glisinlenmiş albüminin 6lümü kan şekeri düzeylerinin doğru bir şekilde değerlendirilmesini sağlayabilir (1).

### 1.3.4. Gestasyonel Diabetes Mellitus'da Tanı

Gestasyonel diyabet (GDM; gebelik diyabeti)'nin araştırılmasında iki aşamalı tanı yaklaşımı kullanılmaktadır. Günümüzde 'iki aşamalı' tanı yaklaşımının yanı sıra 'tek aşamalı' tanı yaklaşımı da giderek artmaktadır (1).

**Tablo 2.** GDM Tanı Kriterleri

	APG	1.s PG	2.s PG	3.s PG
<b>İki aşamalı test</b>				
<b>Birinci Aşama 50 gr glukoz</b>	-	≥140	-	-
<b>İkinci aşama 100 gr glukoz ile OGTT</b>	≥95	≥180	≥155	≥140
<b>Tek Aşamalı Test</b>				
<b>IADPSG 75 gr glukoz</b>	≥92	≥180	≥153	-

#### 1.3.4.1. Gestasyonel Dm'da İki Aşamalı Tanı Yaklaşımı

1) 50 gram glukozlu tarama testi: Gebeliğin 24.-28. haftalarında 50 g glukoz içirildikten sonraki 1. saatte PG düzeyi  $\geq 140$  mg/dl ise diyabet açısından şüphelidir, ileri test (100 g veya 75 g glukozlu OGTT) yapılması gerekir.

2) OGTT: 50 g glukozlu tarama testi pozitif olan gebelerde tanıyı kesinleştirmek için 100 g glukozlu 3 saatlik OGTT (en az 2 patolojik değerle tanı konulur) veya alternatif olarak 75 g glukoz ile 2 saatlik OGTT (en az bir patolojik değerle tanı konulur) yapılabilir (1).

### 1.3.5. Prediyabetes Mellitus

Önceden 'Sınırdaki diyabet' ya da 'Latent Diyabet' olarak adlandırılan BGT ve BAG, artık 'Prediyabet' olarak kabul edilmektedir. Her ikisi de diyabet ve kardiyovasküler hastalık için önemli risk faktörleridir (1).

'İzole BAG' için Açlık plazma glukozu 100-125 mg/dl ve 2.st plazma glukozu  $< 140$  mg/dl, 'İzole BGT' için 2.st plazma glukozu 140-199 mg/dl ve açlık plazma glukozu  $< 100$  mg/dl olmasıdır. 'Kombine BAG+BGT' ise hem açlık plazma glukozu 100-125 mg/dl, hem de 2.st plazma glukozu 140-199 mg/dl arasındadır. Kombine BAG+BGT, glukoz metabolizmasının daha ileri bozukluğudur. HgA1c %5.7-6.4 arasında olanlar diyabet açısından yüksek risklidir. Ülkemizde yapılan TURDEP-II çalışmasında, HgA1c %5.7-6.4 arasında olduğu glukoz metabolizması

bozukluğu, izole BAG ve izole BGT'den daha ileri ve Kombine BAG+BGT'e yakın ciddiyette glikoz metabolizma bozukluğu olduğunu ortaya koymuştur (1, 4, 16).

## **1.4. Patogenez**

### **1.4.1. Tip 1 Diyabetes Mellitus Patogenez**

Tip 1 DM, sonucunda beta hücrelerinin yıkıldığı ve insülin eksikliğinin oluştuğu genetik, çevresel ve immünolojik faktörlerin etkileşimi ile meydana gelen metabolik bir hastalıktır. Tip 1 DM otoimmün beta hücre yıkımı ile meydana gelir ve otoimmünitenin kanıtları vardır. Tip 1 DM'lu bazı hastalarda ise otoimmünitenin immünolojik belirteçleri yoktur ve bunlarda bilinmeyen nonimmün mekanizmalar ile insülin eksikliği meydana geldiği düşünülmektedir. Genetik olarak yatkın kişilerde doğumda beta hücre kitlesi normaldir, ancak aylar-yıllar süren otoimmün yıkımdan sonra beta hücrelerini kaybederler. Bu otoimmün süreç enfeksiyon yada çevresel faktörlerle tetiklenir. Bu olay sonrası, aşikar diyabet gelişiminden önce immünolojik belirteçler tesbit edilebilir. Bu süreç ile beta hücre kitlesi azalmaya başlar ve insülin sekresyonu giderek bozular. Beta hücre yıkım hızı bireyler arasında farklılık gösterir. Bazılarında süreç hızlı ilerleyebilirken bazılarında çok yavaş bir seyir gösterebilir. Beta hücrelerinin %80-90'ı tahrip olmadan diyabetes mellitus ortaya çıkmaz. Bu noktada rezidüel fonsiyonel beta hücre kitleleri vardır, ancak glukoz toleransının sağlayamaz. Bu glukoz intoleransı döneminin aşikar diyabet dönemine geçişini tetikleyen olaylar sıklıkla puberte veya enfeksiyon gibi insülin ihtiyacının arttığı durumlardır. Tip1 diyabetin ilk olarak ortaya çıkmasından sonra orta düzey insülin ile (nadiren insülin ihtiyacının olmadığı) glisemik kontrolün sağlandığı bir 'balayı' dönemi olabilir. Sonrasında otoimmün olay devam ettiğinden hasta kısa sürede tamamen insüline bağımlı hale gelir (2, 3).

Tip 1 DM'daki otoimmün olayda pankreas adacıklarında yer alan diğer adacık hücreleri (alfa hücreleri, delta hücreler ve PP hücreleri) beta hücreleri ile fonsiyonel ve embriolojik olarak benzer olmalarına ve hücre zarlarında çok sayıda aynı proteine sahip olsalarda bu otoimmün olaydan korunurlar. Beta hücrelerinin tümü tahrip olduktan sonra inflamatuvar olay durur, adacıklar atrofiye uğrar ve immünolojik belirteçler kaybolur (2, 3).

Otoimmün olayda hedef olan adacık molekülleri; insülin, glutamik asit dekarboksilaz (GAD), ICA-512/IA-2 (tirozin kinaz homoloğu) ve phogrin (insülin sekresyon granül proteini). Bunlardan beta hücrelerine spesifik olan sadece insülin dir. Burada beta hücrelerinin nasıl spesifik olarak yıkıldığı ile ilgili bazı teoriler vardır. Bu teorilere göre otoimmün olay doğrudan beta hücre molekülünde başlayıp, beta hücreleri tahrip ettikten sonra diğer adacık moleküllerine yayılır ve bir dizi sekonder otoantijenler ortaya çıkarır. Tip1 diabetes mellitus gelişen kişilerin beta hücreleri normal insandakinden farklı değildir, öyleki tek yumurta ikizlerinden transplante edilen beta hücreleri de önceki otoimmün olayların tekrar etmesi ile yeniden yıkılırlar (2, 3).

İmmunolojik Belirteçler: adacık hücre antikorları (ICA) GAD, insülin ve ICA-512/IA-2 gibi adacık hücre moleküllerine karşı meydana gelir ve tip 1 diyabetes mellitus'da otoimmün sürecin bir belirteci olarak fonksiyon görürler. ICA testi tip 1 diyabet gelişme riski yüksek olan diyabetik olmayan kişilerin çoğunda (%75), yeni tip 2 diyabet tanısı konulanların %5-10'da ve Gestasyonel Diyabetes Mellitus tanısı alanların ise %5'den azında pozitifdir (2, 3).

#### **1.4.1.1. Çevresel Faktörler**

Ekstragenetik faktörlerde Tip 1DM patogenezi ne katkıda bulunabilir. Beta hücrelerinin immünolojik olarak aracılık ettiği tahribat için potansiyel tetikleyiciler arasında virüsler (Enterovirüs (10), kabakulak, kızamıkçık, ve coxsackievirus B4), toksik kimyasallar, bebeklikte inek sütüne maruz kalma (17) ve sitotoksinler bulunur.

Faktörlerin kombinasyonları söz konusu olabilir. Lempainen ve arkadaşları, enterovirüs enfeksiyonu belirtilerinin, 3 aylıktan önce inek sütü ile temas eden çocuklar arasında tip 1 DM'ye bağlı otoimmünitenin ortaya çıkmasıyla ilişkili olduğunu bulmuşlardır. Bu sonuçlar, iki faktör arasında bir etkileşim olduğunu ve bu faktörleri izole olarak inceleyen çalışmalarda elde edilen çelişkili bulguların muhtemel bir açıklamasını ortaya koymuşlardır (18).

Bir meta-analizde, anne yaşı arttıkça çocukluk çağı tip 1 DM riskinde zayıf fakat anlamlı bir doğrusal artış bulunmuştur (19). Mevcut kanıtlar preeklampsi ile komplike olan gebelikten sonra çocukluk dönemi tip 1 DM riskinde önemli bir artışı desteklemiştir.

Simpson ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada; ne D vitamini alımının ne de çocukluk çağı boyunca 25-hidroksivitamin D düzeylerinin, adacık otoimmünesi veya tip 1 DM'ye ilerlemeyle ilişkili olmadığı sonucuna varılmıştır (20).

Erken üst solunum yolu enfeksiyonu tip 1 diyabet için de bir risk faktörü olabilir. Genetik olarak diyabet riski taşıyan 148 çocuğa ait verilerin analizinde, yaşamın ilk yılında geçirilen üst solunum yolu enfeksiyonları tip 1 diyabet için risk artışı ile ilişkili bulunmuştur (15). Adacık otoimmünesini geliştiren tüm çocukların, yaşamın ilk yılında en az 2 üst solunum yolu enfeksiyonu ve adacık otoantikor serokonversiyonundan önce 6 ay içinde en az 1 enfeksiyon geçirdikleri tesbit edilmiştir. Yaşamın ilk 6 ayında solunum yolu enfeksiyonu olan çocuklar, adacık otoantikor serokonversiyonu (HR = 2.27) için en yüksek artmış risk oranına (HR) sahip olup, risk 6 ila 12 ay arasında solunum yolu enfeksiyonu olanlarda da artmıştır (HR = 1.32). Adacık otoantikor serokonversiyon hızı, yaşamın ilk yılında 5'ten fazla solunum yolu enfeksiyonu olan çocuklarda en yüksek bulunmuştur. Yaşamın ikinci yılındaki solunum yolu enfeksiyonları artmış risk ile ilişkili olmadığı bulunmuştur (20).

#### **1.4.1.2. Tip 1 Diyabetes Mellitus'da Genetik**

Tip 1 DM'un genetik yönü karmaşık olsa da, birden fazla gen söz konusu olsada, tip1 diyabetli bir kardeş ile göreceli risk artışı vardır (21). Dizigot ikizler tip 1 DM için %5-6 uyum oranına sahipken, (22) monozigotik ikizlerin %50'den fazlasında 40 yaşın üzerinde tip 1 DM tanısı konulur (23). Tip 1 DM'li bir ebeveynin çocuğu için risk, annenin veya babanın diyabetli olup olmamasına göre değişir. Annesi tip 1 diyabetli olan çocukların %2-3 oranında hastalık gelişme riski varken babada tip 1 diyabeti olanlarda %5-6 risk vardır. Her iki ebeveyn de diyabetik olduğunda, risk neredeyse %30'a yükselir. Ek olarak, tip 1 diyabetli ebeveynler çocukları için risk olup, hastalığın ebeveynlerde 11 yaşından önce ortaya çıkması, ebeveynde 11 yaşından sonra tip 1 diyabet ortaya çıkması durumundan biraz daha fazla risk artışına neden olmaktadır.

Tip 1 diyabete genetik faktörlerin katkısı, farklı etnik popülasyonlar arasında hastalığın görülme sıklığında önemli bir farklılığa neden olmaktadır. Tip 1 DM, Avrupa ülkelerinde yaygın iken, kuzey Avrupa'daki insanlar Akdeniz bölgelerinden daha sık etkilenmektedir (24). Hastalık Doğu Asyalılarda çok daha azdır (25).

Genom çapı ile ilişkili çalışmalar, tip 1 DM ile ilişkili birçok lokusu belirlemiştir ve birkaç nedensel ilişki kurulmuştur. Tip 1 DM ve diğer otoimmün hastalıklar ile en güçlü şekilde ilişkili genomik bölge; MHC II HLA DR ve DQ haplotiplerinin çeşitli lokasyonlarında yer alır (26).

Tip 1 DM'de risk artışı ile alakalı DR-DQ haplotipleri arasında bir hiyerarşi kurulmuştur. En duyarlı haplotipler aşağıdaki gibidir (26):

- DRB1\*0301 - DQA1\*0501 - DQB1\*0201 (odds ratio (OR) 3.64)
- DRB1\*0405 - DQA1\*0301 - DQB1\*0302 (OR 11.37)
- DRB1\*0401 - DQA1\*0301 - DQB1\*0302 (OR 8.39)
- DRB1\*0402 - DQA1\*0301 - DQB1\*0302 (OR 3.63)
- DRB1\*0404 - DQA1\*0301 - DQB1\*0302 (OR 1.59)
- DRB1\*0801 - DQB1\*0401 - DQB1\*0402 (OR 1.25)

Aşağıdaki haplotiplerin ise tip 1 DM'ye karşı koruma sağladığı düşünülmektedir. Bunlar aşağıdakileri içerir (30):

- DRB1\*1501 - DQA1\*0102 - DQB1\*0602 (OR 0.03)
- DRB1\*1401 - DQA1\*0101 - DQB1\*0503 (OR 0.02)
- DRB1\*0701 - DQA1\*0201 - DQB1\*0303 (OR 0.02)

Tip 1 DM'li küçük çocukların %90 ila %95'i HLA-DR3 DQB1 \* 0201, HLA-DR4 DQB1 \* 0302 veya her ikisini de taşır. Her iki haplotipi taşıyan bireyler (yani, DR3 / 4 heterozigotlar) en yüksek duyarlılığa sahiptir.

Bu yüksek riskli haplotipler öncelikle Avrupa kökenli insanlarda bulunur; Diğer etnik gruplarda daha az incelenmiştir. Afrikalı Amerikalılarda, DRB1 \* 07: 01 - DQA1 \* 03: 01-DQB1 \* 02: 01g haplotipi artmış riskle ilişkilidir (OR 3.96), ancak DRB1 \* 07: 01-DQA1 \* 02: 01 - DQB1 \* 02: 01g haplotip ise koruyucu görünmektedir (OR 0.34) (27).

Pre-proinsülin peptidini kodlayan insülin geni (INS), kromozom 11p15.5'te bir dizi ardışık tekrar (VNTR) polimorfizmine bitişiktir (28). Farklı VNTR allelleri, timusun INS transkripsiyonu üzerindeki etkileriyle tip 1 DM'ye karşı direnç veya duyarlılık geliştirebilir; örneğin koruyucu VNTR'ler, insüline özgü T hücrelerinin silinmesini hızlandıran daha yüksek INS ifadesi ile ilişkilidir (29).

Tip 1 DM mekanizmasında yer aldığı bildirilen diğer genler arasında CTLA4 (T-hücresi aktivasyonunda önemli), PTPN22 (LYP, T-hücresi kinaz sinyalinin

negatif bir regülatörü) ve IL2RA (CD25 için kodlar) yer alır, T hücre fonksiyonunun düzenlenmesi ile ilgilidirler. UBASH3A (STS2 olarak da bilinir), sadece tip 1 DM'nin değil aynı zamanda diğer otoimmün hastalıkların ve Down sendromunda risk artışında yer alabilir; lokus kromozom 21q22.3 üzerinde bulunur (30).

Ek olarak, genom çapında ilişkilendirme çalışmaları, aşağıdakileri de içeren çok sayıda genleri de beraberinde getirmiştir (31):

- SH2B3
- ERBB3
- CLEC16A
- IL18RAP
- PTPN2
- CCR5

#### **1.4.2. Tip 2 Diyabetes Mellitus Patogenezi**

Tip 2 DM fizyopatolojisinde 3 mekanizma önemlidir. Bunlar:

1. insülin sekresyonunda bozulma, aminoasitlerin etkisi
2. periferik insülin direnci
3. karaciğerde aşırı glukoz üretimi.

1. insülin sekresyonunda bozulma:

İnsülinin beta hücrelerinden sekresyonu, erken faz insülin sekresyonu ve pulsatil insülin sekresyonu denen fazlarda gerçekleşir. Bu fazlardaki bozulmalar diabet gelişiminde önemlidir.

Açlık kan şekeri düzeyi 80 mg/dl iken ilk on dakikada insülin boşalması meydana gelir ve sonrasında glukoz varlığı boyunca devam eden ve yavaş artış gösteren ikinci faz insülin sekresyonu olur. Açlık glukoz düzeyi 140 mg/dl'yi geçtiğinde beta hücreleri daha fazla insülin salgılayamaz ve açlık hiperglisemisi arttıkça insülin salgısında giderek daha da bozulur. İnsülin salgısında azalma olurken karaciğerde glukoz üretimi artmaya başlar ve açlık glisemisi giderek daha da yükselir (10, 15). Tip II diabet gelişiminde ilk saptanan bozukluk beta hücrelerinde insülin sekresyonunun bozulması olup erken dönem insülin sekresyonu kaybedilir ve genellikle klinik belirtiler ortaya çıkmadan tespit edilebilir (10).

Normal insanlarda pulsatil salgılanma 5-15 dakikalık aralarla oluşan pulsasyonlar şeklindedir. Pulsatil olarak salgılanan insülin hedef dokularda insülin

reseptörlerinin down regülasyonunu önleyerek insülin duyarlılığının devam etmesini sağlar. Pulsatil olmayan sürekli insülin salgılanması insülin reseptörlerinde down regülasyona neden olarak insülin direnci oluşturur (15).

Tip 2 DM'da obezite, özellikle santral obezite (bel/kalça oranı ile hesaplanır) çok siktir. Tip 2 DM'in erken dönemlerinde insülin direncine rağmen glukoz toleransı normal kalabilir, çünkü beta hücreleri insülin sekresyonunu artırarak kan şekerini kontrol eder. İnsülin direnci ve kompensatuar hiperinsülinemi ilerledikçe bir süre sonra hiperinsülinemik durum sürdürülemez ve postprandial glukoz düzeylerinde yükselme ile karakterize bozulmuş glukoz toleransı (BGT) ortaya çıkar. İnsülin sekresyonunda daha da bozulma ve karaciğerde glukoz üretiminde artış açlık hiperglisemisi ile aşikar diyabete neden olur.

Tip 2 diyabet gelişiminde aminoasitlerin etkilerine ait çalışmalarda; amino asit metabolizmasının, tip 2 diyabetin gelişiminde erken dönemde rol oynayabileceği düşünülmüştür. Yine bir çalışmada, tip 2 diyabet riskinin, 3 amino asitin (izolösin, fenilalanin ve tirozin) yüksek plazma konsantrasyonlarına sahip normoglisemik bireylerde en az 4 kat daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Bu amino asitlerin konsantrasyonları, diyabetin başlamasından 12 yıl öncesine kadar yüksek olduğu tesbit edilmiş (32).

Diyabetes mellitus'da reaktif oksijen ürünleri üzerine yapılan çalışmalarda, reaktif oksijen ürünlerinin üretiminin arttığı, anti-oksidan savunma mekanizmalarının yetersiz kaldığı ve sonuçta oluşan oksidatif stresin hastalığın patogenezinde önemli olduğu tesbit edilmiştir (33-36).

#### **1.4.2.1. İnsülin Direnci**

İnsülin direnci, endojen salgılanan veya ekzojen yolla verilen insülinin metabolik etkilerine karşı direnç durumudur. İnsülinin metabolik etkileri endojen olarak karaciğerde glukoz üretiminin baskılanması, periferde glukoz tutulumunun özellikle kaslarda glukoneogenezin ve yağ dokusunda lipolizin baskılanması olayıdır (37).

İnsülin karaciğerde glukoneogenezi ve glikojenolizi inhibe eder. Glukozu kas ve yağ dokusu gibi periferik dokulara götürüp burada ya glikojen olarak depolanmasını ya da enerji üretmek üzere parçalanmasını sağlar. İnsülinin karaciğer, kas ve yağ dokusundaki bu etkilerine karşı direnç oluştuğunda karaciğerde glukoz

supresyonu bozular. Kas ve yağ dokusunda da insülin aracılığı ile olan glukoz uptake'ı azalır. Bu durumda oluşan insülin direncini kırarak, normal fizyolojik yanıtın sürdürülmesi için insülin salgısı artırılarak metabolik durum kompanse edilir. Böylece hipergliseminin önlenmesi için beta hücreleri sürekli olarak insülin salgısını artırır ve sonuçta normal kan şekeri düzeyleri sağlanırken insülin düzeyleri normale göre 1,5–2,0 kat kadar yükselir (38).

İnsülin direnci, reseptöre bağlanmadan önce (prereseptör), reseptör ve reseptör sonrasındaki (postreseptör) mekanizmalarla oluşur. Reseptör öncesi bozukluk genelde genetik mutasyonlardan ve insülin reseptör dağılımındaki bir defektten kaynaklanırken, reseptör düzeyindeki bozukluk; reseptör sayısında, yapısında, bağlanma affinitesinde ve uyarı kapasitesindeki bozukluklardan kaynaklanır (10, 38).

Yüksek düzeydeki yağ asitleri ise karaciğerden glukoz çıkışını arttırarak ve kas hücrelerinin glukoz alımını azaltarak insülin direncine yol açar. 1988' de Reaven şişmanlık, diabet mellitus, hipertansiyon, hiperlipidemi ve aterosklerotik kalp hastalıklarının aynı metabolik bozukluktan kaynaklandığını ileri sürmüştür. Reaven, daha sonra insülin direnci, hiperinsülinemi, obezite, glukoz tolerans bozukluğu, hipertrigliseridemi, azalmış HDL-kolesterol konsantrasyonu, hipertansiyon ve koroner hastalıktan oluşan insülin direnci sendromunu (sendrom X) tarif etmiştir. Bu hastalık daha sonra metabolik sendrom ismi almıştır (38).

#### **1.4.2.1.1. İnsülin Direnci Mekanizmaları**

İnsülinin biyolojik etkisini gösterebilmesi için pankreas beta hücrelerinden sekrete edilmesi, portal dolaşım ile karaciğere gelmesi, karaciğer yoluyla sistemik dolaşıma katılması ve hedef dokulara ulaşarak doku hücre membranlarındaki spesifik reseptörlerine bağlanması gerekmektedir. Bu basamaklardan herhangi birinde veya birkaçında oluşan aksaklık insülin direnci ile sonuçlanır (38).

İnsülin direncine neden olan mekanizmalar başlıca 4 gruba ayrılır:

1. Prereseptör düzeydeki olaylar: Anormal insülin ve insülin antikorları, kan akım bozukluğu.
2. Reseptöre düzeyindeki olaylar: Azalmış reseptör sayısı ve affinitesi
3. Post-reseptör düzeydeki olaylar: Anormal sinyal iletimi ve fosforilasyonu
4. GLUT-4'ün azalması

İnsülin direnci bazı fizyolojik durumlarda (puberte, gebelik, yaşlılık, fiziksel inaktivite) ve ilaç alımlarında (kortikosteroidler, bazı oral kontraseptifler, diüretikler gibi) görülebilen bir durumdur. İnsülin direncine hemen her zaman kompensatuar hiperinsülinemi eşlik eder (38-40).

#### **1.4.2.1.2. İnsülin Direnci Nedenleri**

İnsülin direncine yol açan etkenler iki ana başlıkta incelenir:

a) Kalıtsal nedenler

b) Edinsel nedenler

##### **a- Kalıtsal nedenler:**

Tip 2 diyabette genetik penetrans yüksektir ve insülin duyarlılığının belirleyicileri arasında genetik faktörler önemlidir. Tek yumurta ikizlerinde yapılan çalışmalarda tip 2 diyabetin ortaya çıkışında %60-90 genetik faktörlerin sorumlu olduğu ortaya konmuştur. Bazı ailelerde insülin direncinin kuşaklar boyu iletilmesi insülin direncinde genetik faktörlerin önemini göstermiştir. Ancak bu veriler Tip 2 diyabet vakalarının tümünü açıklamada yeterli değildir (41-44). İnsülin reseptör geninde bugüne kadar 50'den fazla mutasyon tanımlanmış ancak bunların insülin direncindeki rolü gösterilememiştir ve hiçbiri Tip 2 diyabetli olguların tümünde patogenezi açıklamakta tek başına yeterli olmamıştır (41). IRS- 1 geni ile ilgili mutasyonların insülin direnci ve buna bağlı diyabetteki rolüne ait veriler ise çelişkilidir. Yapılan bazı çalışmalarda GLUT-4 geni ile ilişkili mutasyonların insülin direncinde bir rolü olmadığı düşünülmüştür. Genetik kökenli insülin direncinin sık rastlanan şekli glukojen sentetaz gen mutasyonudur. Glikojen sentetaz etkisindeki bozukluklar hem Tip 2 diyabetiklerde, hem de insülin direnci olan birinci derece akrabalarında gösterilmiştir. Finlilerde yapılan bir çalışmada, glukojen sentetaz geninin bir intron'undaki Xbal polimorfizminin Tip 2 diyabet ve insülin direnciyle ilişkili olduğu belirlenmiştir (36). A2 alleli taşıyıcılarında, A1 alleli taşıyıcılarına göre ailede daha güçlü bir diyabet öyküsü, daha sık hipertansiyon ve glukojen sentezinde daha ağır bir defekt olduğu saptanmıştır. Ancak bu polimorfizm başka ırklara mensup diyabetik hastalardaki insülin direnciyle ilişkilendirilememiştir. Bu nedenle, glukojen sentetaz genindeki mutasyonlarla insülin direnci arasındaki ilişkiyi araştırarak daha ileri çalışmalara ihtiyaç vardır. Tip 2 diyabetin sık görüldüğü Pima yerlilerinde yağ asidi bağlayan protein-2 (FABP-2) ile açlık insülin düzeyleri

arasında önemli bir ilişki olduğu ortaya konmuştur (41); ancak Pima yerlilerindeki bu bulgu beyaz ırkta gösterilememiştir. İnsülin direncinin ailesel geçiş özelliği Pima yerlileri, Meksika kökenli Amerikalılar ve Kafkas ırkına mensup bireylerin birinci derece yakınlarında yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (42). İnsülin direncinde rol oynayabileceği tespit edilmiş daha birçok gen defekti vardır, Ancak bu tür defektler teorik olarak Tip 2 diyabete yatkınlığın poligenik kalıtsal özelliğine katkıda bulunmasına rağmen etiyolojik önemi tam olarak ortaya konulamamıştır.

**Tablo 3.** İnsülin direnci genetik nedenleri

---

**1. Anormal beta hücre ürünleri (Hatalı insülin veya proinsülin yapımı)**

- a) Değişik yapıda insülin molekülleri
- b) Proinsülinin insüline dönüşümünde hatalar

**2. Hekzokinaz (Glukokinaz) gen defektleri**

- a) Enzimi kodlayan genlerde hata: GCK (7p; MODY 2)
- b) Hepatosit nükleer faktör (HNF) gen polimorfizmi
  - aa. HNF-4 alfa (20q; MODY-1)
  - bb. HNF-1 alfa (12q; MODY-3)

**3. İnsülin reseptör kompleksini kodlayan genlerde polimorfizm**

**4. Glukoz taşıyıcılarına ait moleküler biyolojik hatalar**

**5. Glukojen sentetaz geni mutasyonu**

**6. Glukagon reseptör geni mutasyonu**

**7. Lipid metabolizması bozukluğu ve obezite ile ilgili gen hataları**

- a) İntestinal yağ asidi bağlayan protein (IFABP-2) mutasyonu
- b) Beta-3 adrenerjik reseptör gen defekti
- c) Leptin ve reseptörü defektleri
- d) Nöropeptid Y
- e) Tümör nekrozis faktör- alfa (TNF- $\alpha$ )

**8. Mitokondriyal DNA hastalıkları**

---

**b. Edinsel nedenler:**

İnsülin direncinde rol oynayan birçok edinsel faktör vardır. Sanayileşme ve teknolojik yeniliklerin getirdiği sedanter yaşam tarzı, sağlıksız beslenme ve özellikle bunların zemininde gelişerek çağımızda adeta salgın haline gelen obezite insülin direncine yol açan en önemli edinsel faktörlerdir. Bu patolojik nedenlerin yanı sıra bazı fizyolojik süreçlerde de insülin direnci gelişebilir. İnsülin direnci ile ilişkili bu edinsel faktörler kısaca aşağıdaki gibi özetlenebilir (40).

**Fizyolojik Nedenler**

- 1- Puberte
- 2- Gebelik
- 3- Yaşlılık
- 4- Uzun süreli immobilizasyon

### **Metabolik Nedenler**

- 1- Tip 2 diyabet
- 2- Obezite
- 3- Hipoglisemi
- 4- Ciddi malnütrisyon

### **Endokrin Nedenler**

- 1- Tirotoksikozis
- 2- Cushing sendromu
- 3- Feokromasitoma
- 4- Akromegali

### **Diğer Nedenler**

- 1- Sedanter yaşam
- 2- İnfeksiyonlar
- 3- Cerrahi
- 4- Sepsis
- 5- Yanık
- 6- Travma
- 7- Kronik inflamasyon
- 8- İlaçlar (steroid, diüretik, oral kontraseptif, beta bloker)

#### **1.4.2.1.3. İnsülin Direnci Belirtileri Ve İnsülin Etki Alanları**

İnsülin, insülin eksikliği ve insülin direnci etkileri, ilgili dokuların ve organların fizyolojik fonksiyonlarında ve metabolik süreçlerinde insüline bağımlılığına göre değişir. Hücre içi glikoz taşınmasında insüline bağımlı olarak tanımlanan dokular temel olarak yağ dokusu ve kas dokusudur. Bununla birlikte, insülinin etkileri, insülin direnci ve ilişkili kompensatuvar hiperinsülineminin vücuttaki etki alanları ise yaygındır. Bu dokular ve üzerlerindeki etkileri aşağıda özetlenmiştir;

##### **1.4.2.1.3.1. Kas Dokusu**

Kas içine glukoz alımı esasen GLUT 4 reseptörü ile insüline bağımlı olarak gerçekleşir ve kas tüm vücutta insülin aracılı glukoz alımın yaklaşık % 60-70'ini yapar (42). Beslenme ile insülin, glikojen sentazı aktive ederek glikojen sentezini

sağlar. Kas hücrelerinde bazal durum esnasında enerji glikoza (veya glikojen) bağlı değildir. İnsülin protein katabolizmasını suprese ederken, insülin eksikliği ise glikoneogenez ile proteinlerin katabolize olmasına neden olur. İnsülin protein sentez yolundaki ara maddelerin fosforilasyonunda etkili olup açlıkta protein sentezi %50 oranında azalır (43). Deneysel çalışmalarda, protein sentezini destekleyen insülin dozu, proteolizi baskılamak için gerekli olan dozdan önemli ölçüde daha büyüktür. İnsülin direncinde kas dokusunda glikojen sentezide bozulur; bu etki büyük ölçüde, hücre içi glukoz translokasyonunun azalmasından kaynaklanır.

#### **1.4.2.1.3.2. Yağ Dokusu**

Postprandiyal yağ hücrelerinde intrasellüler glikoz taşınması, GLUT 4 reseptörü ile insüline bağımlı olarak meydana gelir. Yağ dokusu, tüm vücutta insülin aracılı hücre içine glukoz alımının yaklaşık %10'unu yapar (42). İnsülin, yağ hücrelerine glukoz alımını uyarır, lipogenezisi ve böylece kan dolaşımına serbest yağ asidi çıkmasını sağlar. Yağ hücrelerinde enerji bazal durumda glukoz bağımlı değildir. Vücutta enerji için, insülin yetersizliği durumunda yağ hücreleri yağ asidi oksidasyonu ile serbest yağ asitlerini diğer organların doğrudan kullanması için dolaşıma salar ve bunun sonucunda yağ asitleri kalpte veya karaciğerde keton cisimlerine dönüştürülürler. Keton cisimleri, uzun süreli açlık sırasında beyin için alternatif bir enerji kaynağı olur (44, 45).

İnsülin direncinde karaciğere, yağ dokusundan serbest yağ asit akışı artması ile karaciğerde çok düşük yoğunluklu lipoprotein (VLDL) üretimini artar (46). Ayrıca, lipoprotein lipaz aktivitesi insüline bağımlı olduğu ve insülin direnciyle bozulduğu için VLDL'den trigliseritlerin periferik alımı da azalır. Bu mekanizmalar, insülin direncinde görülen hipertrigliseridemiye katkıda sağlar (47). Yağ dokusu insülin direncinde serbest yağ asitlerini yanında sistemik etkileri olan bir dizi sitokin salgılar. Bunlar arasında IL-6, TNF-alfa, plazminojen aktivatör inhibitörü 1 (PAI-1), insülin direncinin artmasıyla da anjiyotensinojen ve leptin ve insülin direncini azaltan adiponektin yer alır. TNF $\alpha$  ve IL-6 insülin sinyalizasyonunu, lipolizi ve endotel fonksiyonunu bozar. IL-6 üretimi, stres durumlarında sempatik sinir sistemi aktivasyonu aracılığıyla da artırılır (48).

#### **1.4.2.1.3.3. Karaciğer**

Karaciğere glukoz alımı insüline bağımlı değilken, tüm vücut insülin aracılı glukoz kullanımının %30'unu oluşturur (42), karaciğerde anahtar metabolik süreçleri kolaylaştırmak için insülin gereklidir. Burada insülin hücre içi sinyalleme yoluyla, protein sentezi ve lipoprotein metabolizması düzenlenirken glikojen sentezini uyarır (45). Glukoneogenez ve keton üretimini inhibe eder. İnsülinin (ve büyüme hormonunun) mitojenik etkileri, insülin benzeri büyüme faktörünün hepatik üretimi yoluyla ve muhtemelen seks hormonu bağlayıcı globülin (SHBG)'nin karaciğerden üretiminin baskılanması yoluyla gerçekleşir (44).

İnsülin yetmezliğinde, açlık sırasında, bu süreçler eşit oranda etkilenirken, bu insülin direncinde durum farklıdır. İnsülinin metabolik etkilerine karşı direnç, artan glukoneojenez yoluyla (açlıkta olduğu gibi) glikoz çıkışının artmasına neden olur, ancak açlıktan farklı olarak, telafi edici hiperinsülinemi SHBG üretimini bastırır ve insülinin mitojenik etkilerini artırır. Lipoprotein metabolizmasındaki değişiklikler, insülin direncinin önemli hepatik etkilerinin göstergesidir; burada serbest yağ asitlerinin artması ve VLDL katabolizmasının azalması, hepatik trigliserit içeriğinin artması ve VLDL salgılanmasının artması meydana gelir (47). C-reaktif protein, fibrinojen ve PAI-1'nin hepatik sentezi, TNFalfa ve IL-6 gibi yağ hücresi türevi pro-inflamatuar sitokinlere yanıt olarak artar. İnsülin ayrıca faktör VII gen ekspresyonunu da artırabilir (48).

#### **1.4.2.1.3.4. Endotel**

İnsülinin etkileri, endotel fonksiyonlarında önemli rol oynar, (örneğin; nitrik oksit üretimi) insülin direnci ise endotelial disfonksiyon ile güçlü bir şekilde ilişkilidir. Vasküler endotelial hücrelerin fonksiyonları, kardiyovasküler fonksiyonların çoğu için önemlidir; endotelial disfonksiyon, aterosklerozun çok erken aşamalarında ve ilişkili klinik risk faktörlerinde görülür. Endotelial hücreler sadece kan damarlarının fiziksel olarak kaplamakla kalmaz, aynı zamanda damar tonusunu, trombosit fonksiyonunu, pıhtılaşmayı ve fibrinolizi etkileyen çeşitli faktörleri salgılar. Klinik sorunlar bu süreçlerin anormalliklerinde ortaya çıkar.

Nitrik oksit (NO), endotelin gevşemesine aracılık eden büyük arterlerdeki ana mediatördür. Ayrıca trombosit agregasyonunu, hücre yapışmasını ve düz kas hücresi proliferasyonunu inhibe eder. NO, endotelial enzim nitrik oksit sentaz (eNOS)

aktivitesi ve onun kofaktörleri tetrahidrobiopterin, flavin adenin dinükleotid ve flavin mononükleotid aracılığıyla L-arginin, moleküler oksijen ve NADPH'dan sentezlenir. İlginç bir şekilde, arginin insülin için güçlü bir sekretegogdur. Hem eNOS hem de insülinin hücre içi sinyalleşmesinde bir ortak son yolda vardır. İnsülin, biyosentetik enzim GTP siklohidrolazını uyararak tetrahidrobiopterin üretimini artırır ve eNOS'un serin ve treonin kalıntılarından eNOS'un, PIP-3 kinaz ve Akt (protein kinaz B) aracılığıyla kalsiyumdan bağımsız fosforilasyon ile uyarılmasını sağlayarak nitrik oksit üretimini artırır. İnsülin ayrıca, vazokonstriktör olan endotelinin salınımını artırırken; TNF $\alpha$ , eNOS ekspresyonunu azaltır ve Von Willebrand Factor salınımını ise indükler. İnsülin direncinde tetrahidrobiopterin seviyeleri azalır, eNOS stimülasyonundaki yollar down regüle edilir, insülin ve kolinerjik agonistlere vazodilatatör yanıtları bozulur. İnsülinin endotelial hücrelerde TNF $\alpha$  aracılı Akt defosforilasyonuna karşı koyma yeteneği de kaybolmuştur. İnsüline direnç halinde yükselen serbest yağ asitleri, aynı zamanda eNOS aktivitesini de inhibe ederek NO üretimini azaltır (49).

İnsülin direncine eşlik eden kompensatör hiperinsülinemi, PAI-1 gibi pıhtılaşma faktörlerinin artmasıyla ilişkilidir. Bu faktörlerin insülin dirençli durumlarda görülen artmış trombosit agregasyonuna katkıda bulunduğu düşünülmektedir. Endotelin 1 sekresyonu insülin ile uyarılır ve insüline dirençli durumlarda endotelin 1 serum düzeyi yükselir. Endotelin 1, güçlü bir vazokonstriktör olup PIP-3 kinaz yoluyla insülin sinyalleşmesinde inhibe eder ve NO ile yarışarak endotelial disfonksiyona neden olur. İnsülinin endotelial düz kas hücresi üzerindeki mitojenik etkileri muhtemelen ateroskleroza katkıda bulunur (49).

#### **1.4.2.1.3.5. Beyin**

Beyinde hücre içerisine glukoz alımı insüline bağımlı olmasa da, insülin reseptörleri beyinde yerleşmiştir; olfaktör bulbus, hipotalamus, hipokampus, retina ve koroid pleksusun damarlarında yoğunlaşmıştır (50). Striatum ve serebral korteks bölgeleri, örneğin medial temporal loblarda diğer yerleşim bölgeleridir. İnsülin; tokluk, iştah regülasyonu, koku alma, bellek ve kognisyonda rol alan bir nöropeptit olduğu düşünülmektedir (51). Kan yoluyla aktif olarak taşınabilir veya lokal olarak sentezlenebilir. İnsülin, diğer iştah düzenleyici nörotransmitterler ve peptitler aracılığıyla da etki gösterir. Leptin ve insülinin hipotalamusta ortak bir sinyal yolunu

paylaştığı görülmüştür. İnsülinin normal kognitif fonksiyonlardaki rolü ve amiloid prekürsör proteinin ve  $\beta$ -amiloidin regülasyonunda rolü olduğundan Alzheimer hastalığı ile bir bağlantısı olabileceği iddia edilmektedir (52).

#### **1.4.2.1.3.6. Pankreas**

Pankreas  $\beta$  hücreleri hem insülin hem de IGF-1 için reseptörleri vardır. İnsülin, pankreasda glikoz ile uyarılan kendi sekresyonunun düzenlenmesinde; glikoz duyarlılığı ve  $\beta$  hücrelerin büyümesi yoluyla rol oynayabilir (53).

#### **1.4.2.1.3.7. Hipofiz**

İnsülin reseptörleri, anterior hipofiz bezinde bulunur (54) ve gıda alımının düzenlenmesinde endorfin ile birlikte etki eder. İnsülin diğer hormonlarla uyumlu hareket eder. İnsülin, hipofiz bezinden büyüme hormonu üretimini uyarır ve böylece karaciğer tarafından IGF-1 üretimi teşvik edilir (55).

#### **1.4.2.1.3.8. Böbrek**

Böbrek glukoz transportunda insüline gerek duymaz. İnsülin reseptörleri proksimal tübüllerde bulunur; insülin, böbrek içinde mineral taşıma ve glukoneogenezin düzenlenmesinde etkilidir. İnsülin böbrek içinde parçalanır (56). In vivo olarak, insülinin fizyolojik konsantrasyonları idrardan sodyum atılımını azaltır (57).

#### **1.4.2.1.3.9. Gonadlar**

İnsülin reseptörleri overlerde bulunur ve steroidogenez üzerinde rol oynar (58). İnsülin ve IGF-1, granüloza hücreleri tarafından estrogen üretimini arttırılmasında FSH ile tekal stromal hücreler tarafından androjen üretimini arttırmak için de LH ile sinerjik olarak etki eder (59). Ayrıca, insülinin steroidogenez üzerinde LH ile sinerjistik olarak etki edebileceği sıçan testislerinde de bulunmuştur (60).

#### **1.4.2.1.3.10. Kemik**

İnsülin, kemikte anabolik etkilidir. İnsülin reseptörleri osteoblastlar ve osteoklastlarda bulunur. İnsülin osteoblastlar tarafından kemik oluşumunu uyarırken osteoklast fonksiyonunu baskıladığı da bildirilmiştir (61).

### 1.4.2.2. Hepatik Glukoz Üretiminde Artış

Diabetes mellitus patogenezinde üçüncü mekanizmadır. Karaciğerde glukoz yapımı glukojenoliz veya glukoneogenez yoluyla olur. Hepatik glukoneogenezde yanında; hiperglukagonemi ve laktat, alanin ve gliserol gibi glukoneojenik öncüllerin artışı meydana gelir. Sonuçta açlık hiperglisemisi oluşur. Açlık hiperglisemisinin tamamen karaciğer glukoz yapımındaki artışa bağlı olduğu da kabul edilmektedir. Hepatik glukoneogenez artışının diyabetiklerde primer defekt olduğunu gösteren pek az bulgu vardır. Bu faktörün sekonder olay olduğu ancak glukoz toksisitesini daha da artırdığı düşünülmektedir (10).

### 1.4.3. Tip 2 Diyabette Genetik

Tek nükleotid polimorfizmlerinin (SNP'ler) genom çapında ilişkilendirme çalışmaları, beta hücre fonksiyonu ve insülin direnci ile ilişkili bir dizi genetik varyantı tanımlamıştır. Bu SNP'lerden bazılarının tip 2 diyabet riskini artırdığı görülmüştür. Tip 2 diyabet için artmış riski gösteren 40'in üzerinde bağımsız lokus gösterilmiştir (62). En güçlü alt kümesi aşağıda sıralanmıştır (63):

- Bozulmuş beta-hücre yanıtı, bozulmuş insülin işleyişine ve insülin sekresyonunun azalmasına yol açar (TCF7L2)
- Erken glukoz uyarısının insülin salınımını azaltması (MTNR1B, FADS1, DGKB, GCK)
- Doymamış yağ asitlerinin metabolizmasında değişiklik (FSADS1)
- Yağ metabolizmasının düzensizliği (PPARG)
- Serum glikoz salınımının inhibisyonu (KCNJ11)
- Yağlanma artışı ve insülin direnci (FTO ve IGF2BP2)
- Beta-adacık hücreleri (HHEX) dahil olmak üzere pankreatik yapıların gelişiminin kontrolü
- İnsülin üretimini ve sekresyonunu etkileyen çinkonun beta-adacık hücrelerine taşınması (SLC30A8)
- Beta-adacık hücrelerinin sağkalımı ve işlevi (WFS1)

Tip 2 diyabet duyarlılığı, barsaktaki endokrin hücrelerden salınan ve pankreasdan insülin sekresyonunu uyaran inkretin hormonlar genetik varyantlardan etkilenir. Örneğin, azaltılmış beta-hücre fonksiyonu, gastrik inhibe

edici polipeptid (GIPR) reseptörünü kodlayan gende bir varyant ile ilişkilendirilmiştir (64).

Yüksek mobilite grubu A1 (HMGA1) proteini, insülin reseptör geninin (INSR) bir anahtar regülatörüdür (65). HMGA1 geninin fonksiyonel varyantları, diyabet riskinin artmasıyla ilişkilidir.

### **1.5. Diyabetin Komplikasyonları**

Diyabetes mellitusun komplikasyonları 2 ana gruba ayrılır (1);

1. diyabetin akut komplikasyonları
2. diyabetin kronik komplikasyonları

#### **1.5.1. Diyabetin Akut Komplikasyonları (1)**

- Diyabetik ketoasidoz (DKA)
- Hiperozmolar Hiperglisemik Durum (HHD)
- Laktik Asidoz (LA)
- Hipoglisemi

##### **1.5.1.1. Diyabetik Ketoasidoz**

Diyabetik ketoasidoz (DKA), diyabetin akut, hayatı tehdit eden bir komplikasyonudur. DKA temel olarak tip 1 diyabetli hastalarda görülsede, tip 2 diyabetli bazı hastalarda (erişkinlerde latent otoimmün diyabet-LADA) nadir değildir.

Diyabetik ketoasidoz, ara metabolizmada ortaya çıkan asit üretimindeki dengesizlik, hiperglisemi ve dehidratasyonun olduğu mutlak veya kısmi insülin eksikliği halindedir. En yaygın nedenleri; altta yatan enfeksiyon, insülin tedavisinin bozulması ve yeni diyabet başlangıcıdır.

Diyabetik ketoasidoz; intravenöz sıvı ve insülin ile acil tedavi gerektiren, kontrolsüz diyabetin ketoasidozla beraber akut klinik tablosudur.

Biyokimyasal olarak DKA; serum keton konsantrasyonunun 5 mEq/l'tnin üzerinde, kan glukozunun 250 mg/dl'nin üzerinde ve arteriyel pH'nin 7.3'nin altında ve serum bikarbonat düzeyinin 15 meq/l'ten düşük olduğu durumdur. Ketonemi ve ketonüri ile karakterizedir. Bu biyokimyasal değişiklikler sıklıkla artmış anyon gap, artmış serum osmolaritesi ve artmış serum ürik asit düzeyi ile beraberdir (66).

### 1.5.1.2 Hiperozmolar Hiperglisemik Durum

Hiperosmolar hiperglisemik durum (HHS), diabetes mellitus (DM) hastalarında ortaya çıkan iki ciddi metabolik bozuklukdan olup (67) yaşamı tehdit eden acil bir tablodur. DKA'dan daha az yaygın olmasına rağmen, %5-10'a kadar daha yüksek oranda bir ölüm oranına sahiptir. HHS daha önce hiperosmolar hiperglisemik nonketotik koma (HHNC) olarak adlandırılmıştır. Ancak, bu terminoloji değiştirilmiştir, çünkü koma tablosu HHS olan hastaların %20'sinden azında görülmektedir (68).

Hiperosmolar hiperglisemik durum, Tip2 diyabette sıklıkla sıvı alımının azalmasına neden olan durumlarda görülür. Buna örnek olarak; su içme algısı ve su içme kabiliyetini azalmış yaşlı bakımevinde kalan kişileri verebiliriz (69). HHS'E en sık eşlik eden patoloji enfeksiyon iken stroke (inme) ve miyokard infarktüsünde diğer nedenler arasındadır. HHS geliştikten sonra, bunu daha önceki bir hastalıktan ayırt etmek zor olabilir.

Hiperosmolar hiperglisemik durum; hiperglisemi, hiperosmolarite ve önemli ketoasidoz olmadan dehidratasyon ile karakterizedir. Çoğu hasta şiddetli dehidratasyon ve fokal veya global nörolojik defisitlerle başvurur (70). HHS ve DKA'nın klinik özellikleri vakaların üçte birinde örtüşebilmektedir.

Amerikan Diyabet Derneği tarafından yayınlanan ortak görüş bildirgesine göre, HHS'nin tanı özellikleri aşağıdaki gibidir (68, 71):

- Plazma glukoz düzeyi 600 mg / dL veya üstü
- 320 mOsm / kg veya daha yüksek serum osmolalitesi
- Ciddi sıvı kaybı, ortalama 9L'ye kadar
- Serum pH 7.30'dan büyük
- 15 mEq / L'den daha yüksek bikarbonat konsantrasyonu
- Az miktarda ketonüri ve ketonemi
- Bilinç değişiklikleri

Tedavide altta yatan bir hastalığın saptanması ve tedavisi önemlidir. Hava yolu açıklığı sağlanmalı, intravenöz kristalloid uygulanması, dehidratasyon ve değişmiş mental durum için standart bakım yapılmalıdır. HHS'li birçok hasta tek başına sıvılara yanıt verse de, DKA'da kullanılanlara benzer dozlarda IV insülin

hipergliseminin düzeltilmesini kolaylaştırır. Eş zamanlı güçlü sıvı replasmanı olmadan insülin verilmesi şok riskini artırır.

### **1.5.1.3. Laktik Asidoz**

Temel olarak; laktik asit, dokulardaki glukozun anaerobik yıkımının son ürünüdür. Laktat hücrelerde yapıp kan yolu ile karaciğere taşınır ve burada pirüvata oksitlenip sonrasında ise Cori döngüsü yoluyla glukozla dönüştürülür. Doku oksijenasyonunun azalması halinde enerji üretimi için anaerobik döngü ile hücrelerde laktik asit üretilir. Dirençli periferik oksijenizasyon bozukluğu durumlarında vücudun tamponlama kapasitesini aşan laktik asit oluşumu ve sonrasında laktik asidoz meydana gelir (72).

Laktik asit 2 optik izomerik formda, L-laktat ve D-laktatta bulunur.

İnsan metabolizmasında üretilen tek form L-laktat'dır. Aşırı olması doku hipoperfüzyonuna bağlı artmış anaerobik metabolizmayı gösterir.

D-laktat, bakteriyel metabolizmanın bir yan ürünüdür ve kısa bağırsak sendromlu veya gastrik bypass veya ince barsak rezeksiyonu öyküsü olan hastalarda birikebilir (72).

Laktik asidoz biyokimyasal olarak, kan laktat düzeyinin 5 mmol/l'ten üzeri ve arter kanı pH'sının 7.3'ün altında olması durumudur.

### **1.5.13.1. Laktik asidozun sınıflaması ve nedenleri**

#### **Hipoksik**

- İskemi; Şiddetli anemi, şok, kardiyak arrest
- Global hipoksi; Karbonmonoksit zehirlenmesi
- Solunum yetmezliği; şiddetli astım, asfiksi
- Bölgesel hipoperfüzyon; ekstremiteler ve mezenterik iskemik

#### **Non Hipoksik**

- Geçikmiş temizleme; renal yetmezlik ve karaciğer yetmezliği
- Pirüvat dehidrogenaz disfonksiyonu; sepsis, tiamin eksikliği, katekolamin fazlalığı, alkolik ve diyabetik ketoasidoz
- Uncoupling oksidatif fosforilasyon; siyanid, salisilat, metanol ve etilen glikol metabolitleri, anti retroviral ilaçlar, valproik asit, biguanidler, izoniazid

- Aerobik glikolizin hızlanması; artmış efor, sepsis, nöbet, artmış fruktoz yükü, maligniteler

#### **1.5.1.4. Hipoglisemi**

Hipoglisemi, plazma glukoz konsantrasyonunun, mental durum değişikliği ve/veya sempatik sinir sistemi aktivasyon belirtileri gibi semptom veya bulgulara neden olabilecek kadar azalması olarak tarif edilir. Bu durum tipik olarak glikoz homeostazında yer alan mekanizmalardaki anormalliklerden kaynaklanır. Diyabetli hastalarda hipogliseminin en yaygın nedeni insülin dozunu enjekte edip öğünün atlanması veya aşırı doz insülin enjekte edilmesidir.

Bir hastanın semptomatik hale geldiği glukoz düzeyi oldukça değişken olmakla beraber 50 mg / dL'den daha düşük bir plazma glikoz seviyesi genellikle eşik olarak kabul edilir. Hipoglisemi tanısında Whipple triad karakteristikdir. Bu triad; kan glukozu 50 mg/dl'nin altında, hipoglisemi semptomlarının olması ve semptomların glukoz verilmesinden sonra düzelmesidir (73).

#### **1.5.2. Diyabetes Mellitus'un Kronik Komplikasyonları**

Uzun süreli diabetes mellitus ile ilişkili majör klinik olay vasküler hastalıkların gelişmesidir. Bunlar mikrovasküler komplikasyonlar (retinopati, nöropati, nefropati) ve hızlanmış orta ve büyük damar aterosklerozudur. Diyabet böbrek yetmezliği, non travmatik alt bacak amputasyonları ve erişkinlerde yeni gelişen körlüklerin en sık nedenidir. Diyabet aynı zamanda koroner arter hastalıkları, kalp yetmezliği ve inmenin önemli nedenlerindedir. Mikrovasküler komplikasyonlar diyabetin süresi ve majör risk faktörü olarak hipergliseminin derecesi ile direkt olarak ilişkilidir. Diğer faktörler; genetik duyarlılık, sigara kullanımı ve hipertansiyon gibi eşlik eden patolojiler yer alır.

Diabetes mellitusun uzun dönemde oluşan komplikasyonlarının neden olduğu morbidite ve mortalite ise kapiller bazal membran kalınlaşmasıyla ilişkili mikrovasküler hastalık, hızlanmış arteriol sklerozu ile beraber görülen makrovasküler hastalık, somatik ve otonom sinir sisteminin ikisini de içeren nöropati, kas zayıflığı ile birlikte görülen nöromusküler disfonksiyon ve enfeksiyonlara direnç azalması ile karakterizedir. Bu kronik komplikasyonlar göz, böbrek, kalp, sinir ve kan damarlarını etkilerler (74).

Diyabet ve diyabete bağlı oluşan komplikasyonların reaktif oksijen turleri ile olan bağlantısında açıklanmaya çalışılmış ve bunun için yapılan çalışmalarda; enzimatik olmayan glikolizasyon, enerji metabolizması değişiklikleri sonucunda ortaya çıkan metabolik stres, sorbitol yolunun aktivasyonu, hipoksi ve iskemi-reperfüzyon sonucunda gerçekleşen doku hasarları ile serbest radikal oluşumunu arttığı ileri sürülmüştür (75).

Hiperglisemi ile oksidatif stres arasında ilişki olduğu in vivo çalışmalar ile gösterilmiş olup yapılan çalışmalarda; vasküler komplikasyonlara sahip diyabetik hastalarda, hem LDL'nin oksidasyonunda hem de nonenzimatik glikolizasyonda, hiperglisemiye bağlı artış olduğu bildirilmişdir. Diyabetik vakalarda, lipidlere ilave olarak protein oksidasyonu da artar. Özelikle kollajen, elastin ve miyelin kılıfındaki ekstrasellüler proteinlerin oksidasyonu sonucu; lens, damar, bazal membran gibi dokularda katarakt, mikroanjiyopati, ateroskleroz ve nefropati gibi diyabetik komplikasyonlar meydana gelir (76).

Yapılan çalışmalarda diyabetik hastalarda veya deneysel olarak diyabet oluşturulan ratlarda serbest oksijen radikallerinin ve lipid peroksidasyonunun önemli derecede arttığı ve oksidatif stresin diyabet etiyolojisinde ve progresyonunda önemli rolü olduğu belirlenmiştir (34).

Diyabet komplikasyonlarının gelişmesinde hipergliseminin rolü DCCT (Diabetes Controls and Complications Trials) alışması ile 1993'de ortaya konulmuştur. Glikoz yüksekliği ile oluşan bu komplikasyonların gelişiminde 4 önemli mekanizma vardır, bunlar; artmış poliyol yolağı, artmış hücre içi ileri glikolizasyon son ürünleri oluşumu, protein kinaz C aktivasyonu ve artmış heksosamin yolağıdır.

### **1.5.2.1.Diyabetik Retinopati**

Diyabetik mikroanjiopati, retinanın prekapiller arteriolleri, kapilleri ve venüllerini tutar. Diyabetik retinopati kan glukozunun kronik yüksekliği nedeniyle oluşan bir vasküler hasardır (77). Diyabetik retinopati, tüm dünyada erişkinlerde körlüğe yol açan önemli nedenlerden olup kamu kaynaklarını önemli oranda etkiler. Diyabetik retinopatideki patolojik değişikliklerin; metabolik süreçler, enzimler ve büyüme faktörleri de dahil olmak üzere çeşitli yollardaki değişikliklerden kaynaklandığı ve hastanın DNA'sında taşıdığı genetik polimorfizmler ile ilişkili

olduğu iyi bilinmektedir (78). Diyabetik retinopati; Tip 1 diyabetes mellituslu hastaların hemen hemen tamamında ve tip 2 diabetes mellituslu hastaların yaklaşık %60'ında görülür (79).

### **1.5.2.2. Diyabetik Nöropati**

Diyabetes mellitus'un sık kronik komplikasyonlarından olup diyabetli hastaların yaklaşık olarak %50'ni etkilemektedir (80). Diyabetik nöropatiler çeşitli belirtilere neden olur, bunlar; duyuşsal kayıp, ağrı ve ayak ülserleri olup amputasyonlar gibi irreversibl komplikasyonlara yol açar. Nöropatili hastaların yaklaşık 1/3'ü spontan ağrı, parestezi ve allodini gibi semptomlar yaşarlar ve bunlar ağrılı diyabetik nöropati olarak adlandırılır (81). Diyabetin global prevalansı ve şiddetli komplikasyonlarına rağmen diyabetik nöropatinin fizyopatolojik mekanizması açığa kavuşturulamamıştır. Glukoz seviyelerinin sıkı kontrolü, ağrı yönetiminde önemli semptomatik seçenekler olmasına rağmen, ilerleyici nöropatiyi kesin olarak durdurabilen veya tersine çevirebilen tedavi hala mevcut değildir (82). Diyabetik nöropati birkaç farklı formda ortaya çıkar; duyuşsal, motor, fokal/multifokal ve otonomik nöropatiler. Bunlardan en sık görüleni diyabetik distal simetrik polinöropati olup, diyabetik nöropatilerin %75'ini yapmaktadır (83).

### **1.5.2.3. Diyabetik Nefropati**

Diyabetik nefropati klinik bir sendrom olup aşağıdaki bileşenlerle karakterizedir (1);

- Persistan albuminüri (>300mg/gün); en az iki defa 3-6 ay ara ile tekrar edilmeli

- Glomerül filtrasyon hızında progressif azalma

- Kan basıncında yükselme

Diyabetik hastalarda proteinüri ilk olarak 18. yüzyılın sonlarında tespit edildi. 1930'lu yıllarda Kimmelstiel ve Wilson, proteinüri ve hipertansiyon ile beraber olan diyabette klasik böbrek lezyonu olan nodüler glomerüloskleroz'u tanımladılar. 1950'li yıllarda böbrek hastalığı açık olarak diyabetin sık görülen bir komplikasyonu olarak tanımlanmıştır.

Güncel olarak diyabetik nefropati birleşik devletlerde kronik böbrek hastalığının önemli bir nedeni olarak kabul edilmiştir. Aynı zamanda diyabetli hastalarda mortalite ve morbitideye neden olan uzun dönem komplikasyonlarından en önemlilerinden biridir. Diyabet birleşik devletlerde tüm son dönem böbrek hastalıkları nedenlerinin %30-40'dan sorumludur (84). Ülkemizde Türk Nefroloji Derneği (TND) 2009 verilerine göre diyaliz tedavisi alan hastalar arasında DM %35 ile SDBY nedenleri arasında birinci sırada yer almaktadır (85). İlk kez renal replasman tedavisine başlanan hastaların üçte birinde tanı diyabetik nefropatidir. Bununla birlikte son dönem böbrek yetmezliği (SDBY) nedeniyle ilk defa diyalize giren hastaların yaklaşık %50'sinde etioloji DM'dir (86).

Diyabetik nefropati genellikle rutin bir idrar analizinden sonra veya diyabet izleminde mikroalbuminüri testlerinde ortaya çıkar ve beraberinde hastalarda uzun süreli diyabetes mellitusa ait fiziksel bulgularda olabilir.

Mevcut kanıtlar erken tedavi, diyabetik böbrek hastalığı ve diyabetik nefropatinin başlamasını önleyebileceğini ve geciktirebileceğini göstermiştir. Bu hem tip 1 hemde tip 2 diabetes mellitus'da gösterilmiştir (87). Düzenli ayaktan yapılan takipler diyabetik nefropatinin yönetiminde anahtar rol oynamaktadır.

Son zamanlarda azalan böbrek fonksiyonu ve proteinürinin olmadığı diyabetik nefropati, diyabetik nefropatinin atipik prezentasyonu olup yeni bir tanımlamadır. Ayrıca mikroproteinürinin hemen her zaman diyabetik nefropati öncü belirtisi olmadığı belirtilmiştir (88). Bunun yanında diyabetik nefropatili hastaların büyük bir kısmı mikroproteinüri ile ortaya çıkar, hastalık ilerledikçe daha da kötüleşir ve hemen her zaman hipertansiyon ile beraberdir.

#### **1.5.2.3.1 Fizyopatoloji**

Diyabetik nefropatili hastalarının glomerüllerinde 4 major histolojik değişiklik meydana gelir (89). Bunlar;

a. Mezangial ekspansiyon; direkt olarak hiperglisemi ile ilişkilidir, matriks proteinlerinin üretiminin artması veya matriks protein glikolizasyonu aracılığıyla meydana gelir.

b. Glomerül bazal membranında kalınlaşma

c. Podosit hasarı

d. İntraglomerüler basınç artışı (glomerülü besleyen damarların hyalinizasyonu ile oluşur) ile meydana gelen glomerüler sklerozis'dir.

Bu farklı histolojik patternlerin prognoz açısından farklılıkları yoktur.

Diyabetik nefropatide anahtar değişiklik ekstraselüler matriksdeki artışıdır. Diyabetik nefropatide en erken morfolojik anomali glomerül bazal membranında kalınlaşma ve ekstraselüler matriksinin toplanmasından kaynaklanan mezangial genişlemedir ve mikroskopide en sık katı kaba dallanma olarak gözlenir. Büyük aselüler birikim glomerüler püskül içerisinde olur ve Kimmelstiel-Wilson Nodülleri/lezyonları olarak bilinir.

İmmunfloresan mikroskopide lineer patterndeki kalınlaşma glomerül bazal membranı boyunca, büyük ihtimalle kan damarlarının eksudasyonu sonucu olarak ortaya çıkan; albümin, fibrin ve diğer plazma proteinlerinden oluşur. Ancak bu birikim immunopatojenik veya tanı koydurucu değildir ve bir immünolojik patolojiyi belirtmez. Renal vasküler yapıda ise tipik olarak ateroskleroz kanıtları görülür, bu genellikle eşlik eden hiperlipidemi ve hipertansif arteriolosklerozdan kaynaklanır.

Elektron mikroskopi, yapıyı etkileyen patolojileri çok daha ileri değerlendirmeyi sağlar. İlerleyen hastalıkta glomerüler püskülün büyük bir kısmı matriks artmasıyla oluşan lezyon ile işgal edilmiştir ve kapiller duvar bazal membranı ise normalden çok daha kalınlaşmıştır. Glomerulopatinin şiddeti periferal bazal membranın kalınlaşması ve glomerüler mesangiumda matriksin yoğun artması ile değerlendirilebilir.

Glomerül ve böbreklerin boyutları başlangıçta tipik olarak normal veya artmıştır, bu kronik böbrek yetmezliğinin diğer nedenlerinden (böbrek boyutları azalır; polikistik böbrek hastalığı ve böbrek amiloidozu hariç) diyabetik nefropatinin ayırt edilmesi sağlar.

Böbrek hemodinamiklerinin değişiklikleri açısından aşikar diyabetik nefropatili hastalarda (dipstikde pozitif proteinüri ve azalmış glomerüler filtrasyon hızı) genellikle sistemik hipertansiyon gelişir. Hipertansiyonun mikrovasküler yapıda ve damarlardaki bozucu etkisi nedeniyle diyabetik nefropatinin progresyonunu olumsuz etkiler.

Kanıtlar, obezite, metabolik sendrom ve diyabet ile ilişkili hipertansiyonun diyabetik nefropatinin patogeneğinde önemli bir rol oynayabileceğininde düşündürmüştür (90).

Santral obezite başlangıçta sodyumun böbrek tübüllerinden reabsorbsiyonunu artırılması, sempatik sinir sistemi ve renin-anjiyotensin-aldosteron sistem aktivasyonu ve böbreklerin fiziksel olarak sıkıştırılması gibi birçok mekanizma yoluyla renal natriürezin hipertansiyona kaymasına neden olarak hipertansiyonu tetikler (91). Hipertansiyon, intraglomerüler kılcal basıncın artması ve metabolik anormalliklerle (örn. Dislipidemi, hiperglisemi) böbrek hasarını hızlandırır.

Obeziteye bağlı oluşan glomerüler hiperfiltrasyon, renal vazodilatasyon, glomerüler filtrasyon hızında ve intraglomerüler kapiler basıncında artma, kan basıncı artmış diyabetik nefropati ile benzerdir (92).

Artmış sistolik kan basıncı; proteinüride artma ve glomerüler filtrasyon hızındaki azalma ile son aşama böbrek hastalığına yol açarak tabloyu daha da ağırlaştırır (92).

#### **1.5.2.3.2. Epidemiyoloji**

1950'den beri diyabetik nefropati diyabetin sık bir komplikasyonu olarak bilinmektedir, 20 yıldan uzun süren diyabetli hastaların %50'inden fazlasında görülebilmektedir.

Birleşik devletlerde diyabetik nefropati tip 1 diabetli hastalarda 10 yıldan önce nadiren gelişmekte iken yeni tip 2 diyabet tanısı konulan hastaların yaklaşık olarak %3'de aşikar nefropati vardır.

Yine birleşik devletlerde diyabetik nefropati gelişme riski, 30 yıldan daha uzun süre diyabetli normoalbuminürik hastalarda düşüktür bulunmuş, 20-25 yıldan sonra proteinürisi olmayan hastalarda aşikar renal hastalık gelişme riski yaklaşık olarak yılda %1 olarak hesaplanmıştır (93).

Avrupa ülkeleri arasında ise çarpıcı epidemiyolojik farklılıklar vardır. Bazı Avrupa ülkelerinde, özellikle Almanya'da, böbrek replasman tedavisi için başvuran hastaların oranı ABD'den bildirilen rakamları aşmaktadır. Heidelberg'de (güneybatı Almanya), 1995'te renal replasman tedavisi için başvuran hastaların %59'u diyabet ve bunların %90'ında tip 2 DM'ye sahipmiş. Danimarka ve Avustralya gibi tip 2 DM'de düşük insidansı olan ülkelerde bile, tip 2 DM'den son dönem böbrek

hastalığına ilerlemede (ESRD) artış kaydedilmiştir. Asya'dan kesin insidans ve yaygınlık henüz mevcut değildir. Hollanda'da yapılan bir çalışmada diyabetik nefropatinin yeterince tanısı olmadığı ileri sürülmüştür. Otopsilerden elde edilen renal doku örneklerinden Klessens ve arkadaşları, tip 1 veya tip 2 diyabetli 168 hastanın 106'sında diyabetik nefropati ile ilişkili histopatolojik değişiklikler bulunmuş. Bununla birlikte, 106 hastanın 20'inde yaşamları boyunca diyabetik nefropatinin klinik bulguları ortaya çıkmamıştır (93).

Çin'den Fan ve Wang tarafından yapılan retrospektif bir çalışmada, böbrek hasarı olan tip 2 diyabet hastalarında, diyabetik olmayan böbrek hastalığı (NDRD) prevalansında yüksek olduğunu göstermişler. Araştırmacılar, böbrek biyopsisi yapılan tip 2 diyabetli 88 hastadan NDRD insidansının %72.73, diyabetik nefropati oranı %20.46 ve NDRD ile komplike olan diyabetik nefropati ise %6.82 olduğu bulunmuştur. Membranöz nefropati, immünoglobulin A (IgA) nefropatisi ve fokal segmental glomerüloskleroz en sık saptanan NDRD'lerdir (94).

- Diyabetik nefropatide cinsiyet dağılımında kadın ve erkekler eşit oranda etkilenmektedir. Diyabetik nefropatide yaş dağılımı ise nefropati nadiren 10 yıllık tip 1 DM'den önce gelişir. Pik insidansı genellikle 10-20 yıllık diyabet hastası olan kişilerde saptanır. Son dönem böbrek hastalığına ulaşan hastaların yaşı yaklaşık 60'dır. Genel olarak, diyabetik böbrek hastalığı insidansı, tip 2 diyabet hastalarında daha yüksektir. Diyabetik böbrek hastalığının gelişmesinde yaşın rolü belirsizdir. Tip 2 diyabetli Pima Kızılderililerinde, daha genç yaşta diyabetin başlaması, son dönem böbrek hastalığına ilerleme riski bunlarda daha yüksek olduğu bulunmuştur (95).

#### **1.5.2.3.3. Diyabetik Nefropatinin Prevalansı**

Diyabetik nefropatinin şiddeti ve insidansı özellikle siyahlarda (sıklık beyazlarda 3-6 kat daha fazla), meksikalı amerikalılarda ve tip 2 DM'li Pima Kızılderililerinde yüksek bulunmuştur. Bu genetik olarak farklı popülasyonlardaki yükseklik diyet, hiperglisemi, hipertansiyon ve obezitenin kötü kontrolü gibi sosyoekonomik faktörlerin diyabetik nefropatinin gelişiminde birincil role sahip olduğunu düşündürmüştür. Ayrıca bu topluluklarda aile kümelenmesinin de olabileceğini göstermiştir.

20 yaşına gelindiğinde diyabetli tüm Pima yerlilerinin yarısında diyabetik nefropati gelişmiş ve bu kişilerin %15'i ESRD'ye ilerlemiştir.

#### 1.5.2.3.4. Patoloji

Patolojik anormallikler uzun süreden beri diyabetes mellituslu hastalarda mikroalbuminürinin başlangıcından önce tesbit edilmiştir. Diyabetik nefropatide glomerülde dört ana histolojik değişiklik vardır: mezanjiyal genişleme, glomerüler bazal membran kalınlaşması, podosit hasarı ve glomerüler skleroz (95).

Nodüler bir görünüme (Kimmelstiel-Wilson lezyonu) sahip olan son anomali sıklıkla glomerüler arteriollerdeki hiyalin depolanma ile ilişkilidir (fibrin, albümin, immünoglobulinler gibi plazma proteinlerinin) (95, 96). Farklı histolojik paternlerin prognozları benzerdir (97).

Mezanjiyal genişleme ve glomerüloskleroz, her zaman beraber olarak gelişmez, bu altta yatan patolojilerin kısmen farklı olabileceğinin bir göstergesidir:

**Böbrek Patolojisi Derneği sınıflandırması:** Tip 1 ve tip 2 diyabetik nefropatide Böbrek Patoloji Derneği'nin araştırma komitesi tarafından geliştirilmiş bir sınıflandırma olup (96) burada dört sınıf glomerüler lezyon tanımlanmıştır:

Sınıf I: İzole glomerüler bazal membran kalınlaşması. Normalde bazal membranlar, 9 yaşından büyük erkeklerde 430 nm'den ve kadınlarda 395 nm'den kalındır. Bu sınıfta mezanjiyal genişleme, mezanjiyal matriks artışı veya glomerüllerin %50'sinden fazlasını tutan global glomerüloskleroza ait bir kanıt yoktur.

Sınıf II: Hafif (sınıf IIa) veya şiddetli (sınıf IIb) mezangiyal genişleme vardır. Kapiller lümenin ortalama alanından daha büyük olan genişleme alanı toplam mesangiumun %25'inden fazla ise lezyon ciddi kabul edilir.

Sınıf III: En az bir adet Kimmelstiel-Wilson lezyonu (nodüler interkapiller glomerüloskleroz) biyopside gözlemlenir ve %50'den daha az global glomerüloskleroz vardır.

Sınıf IV: İleri diyabetik skleroz. Diyabetik nefropatiye bağlanan, %50'den fazla global glomerüloskleroz vardır.

**Nodüler glomerülosklerozun diğer nedenleri:** diyabetik nefropati dışında nodüler glomerüloskleroz nedenleri (97):

- Amiloidoz ve monoklonal immünoglobulin birikimi hastalıkları (MIDD) gibi disproteinemiler, çoğunlukla kappa hafif zincir birikim hastalığı.

- Organize glomerüler depozisyon hastalıkları, fibriler ve immünotactoid glomerülonefrit, fibronektin glomerulopati ve kolajen III glomerulopati.
- Siyanotik konjenital kalp hastalığı, Takayasu arteriti renal arter stenozu veya kistik fibroz gibi kronik hipoksik veya iskemik durumlar.
- Kronik membranoproliferatif glomerülonefrit (tip I)
- Sıklıkla sigara, hipertansiyon ve metabolik sendromla ilişkili, ancak açık diyabetes mellitus olmadan gelişen idiopatik nodüler glomerüloskleroz (97).

#### **1.5.2.3.5. Patogenez**

Diyabetik nefropatide patolojik mekanizmalara yol açan farklı patojenik süreçlerin olduğu görülmüştür. Örneğin, glomerüloskleroz; böbrek vazodilatasyonu ile indüklenebilen intraglomerüler hipertansiyon veya glomerülleri besleyen damarların hyalin daralması ile indüklenen iskemik hasardan kaynaklanabilir (98). Patogenezde etkili mekanizmalar;

##### **1.5.2.3.5.1. Glomerüler hiperfiltrasyon**

Diyabetik nefropatide glomerüler hipertansiyon ve hiperfiltrasyona renin-anjiyotensin sisteminin bloke edilmesinin belirgin yararlarının görülmesi ile buradaki kanıtlar güçlenmiştir. Anjiyotensin II'nin profibrotik etkilerini antagonize edilmesinin patogenezde renin angiotensin blokajının önemli olduğunu göstermiştir (99). Diyabetik nefropatide altta yatan profibrotik elementlerin etkisini destekleyen bulgu, diyabetik nefropatinin bir hayvan modelindeki verilerle sağlanmıştır (100). Prediyabetik sıçanlarda geçici renin-anjiyotensin sistem blokajı (yedi hafta boyunca) proteinüriyi azaltmış ve glomerüler yapıyı iyileştirmiştir.

##### **1.5.2.3.5.2. Hiperglisemi ve AGE'ler**

Hiperglisemi; matriks üretiminin artışı veya matriks proteinlerinin glikolizasyon ile mezangiyal genişleme ve mesangiyal hasarı doğrudan indükleyebilir. İn vitro çalışmalar, hipergliseminin mezangiyal hücre matriks üretimini (101, 102) ve mezangiyal hücre apoptozunu uyardığını göstermiştir (103, 104). Mesangiyal hücrelerde genişlemeye mezangiyal hücre glikoz konsantrasyonundaki artışın kısmen aracılık ettiği görülmüştür, çünkü mezangial fonksiyonda benzer işlemler glikoz taşıyıcılarının aşırı ekspresyonu yoluyla normal

bir glikoz ortamında da yapılabilir ve böylece glikozun hücrelere girişide artırılır (102).

Doku proteinlerinin glikolizasyonu diyabetik nefropati ve diğer mikrovasküler komplikasyonların gelişimine katkıda bulunur. Kronik hiperglisemide, fazla glikozun bir kısmı dolaşımdaki veya doku proteinleri üzerindeki serbest aminoasitlerle birleşir. Bu enzimatik olmayan süreç ilk olarak geri dönüşümlü erken glikolizasyon ürünlerini ve sonra geri dönüşü olmayan ileri glikolizasyonun son ürünlerini (AGE'ler) oluşturur.

Dolaşımdaki AGE seviyeleri, özellikle böbrek yetmezliği olan diyabetik hastalarda artar, çünkü AGE'ler normalde idrarla atılır (105). Sonuçtaki net etki, AGE'lerin doku birikimi, kısmen de kollajenle çapraz bağlanmasıdır, bu da böbrek ve mikrovasküler komplikasyonlara katkıda sağlar (106).

Hipergliseminin diyabetik nefropati gelişimini desteklediği diğer önemli mekanizmalar arasında; protein kinaz C'nin aktivasyonu (107) ve heparanaz ekspresyonunun artmasıdır. Hücre yüzeyindeki heparan sülfatın azalması glomerüler bazal membranın albümine olan geçirgenliğinin artmasına katkı sağlar (108, 109).

#### **1.5.2.3.5.3. Sitokinler**

Sitokinler, profibrotik elemanlar, inflamasyonun ve vasküler büyüme faktörlerinin (vasküler endotelial büyüme faktörü, VEGF) aktivasyonu, diyabetik nefropatide matriks birikiminde rol oynayabilir (109).

Hiperglisemi, VEGF ekspresyonunu uyarır (diyabette endotel hasarının bir aracı) (110, 111). Diyabetik nefropatide VEGF'nin potansiyel patojenik rolü, VEGF blokajının deneysel diyabetik nefropati modelinde albuminüriyi geliştirdiği gözlenmesi ile desteklenmiştir (112).

Aktive edilmiş protein C'nin hiperglisemi ile azalması, diyabetik nefropatide yapısal lezyona katkı sağlar ve farelerde streptozotosin ile olan diyabet modelinde proteinüri meydana gelir (113). İnsanlarda diyabetik nefropatide aktive protein C'nin rolü henüz bilinmemektedir.

Hiperglisemi, transforme edici büyüme faktörü-beta (TGF- $\beta$ ) ekspresyonunu artırır ve matriks proteinlerini spesifik olarak stimüle eder (110, 114). Ek olarak, diyabet, böbrek kemik morfojenik protein-7'in (BMP-7) ekspresyonunun azalması ile ilişkili olup ve TGF- $\beta$ 'nın profibrojenik etkilerine zıt yönde etki eder (115).

Bazı genetik faktörlerin etkilerine TGF- $\beta$  kısmen aracılık eder (115). TGF- $\beta$ , diyabetik nefropatide görülen hücrel hipertrofiye ve artmış kollajen sentezine katkı sağlar (116).

#### **1.5.2.3.5.4. Nefrin ekspresyonu:**

Nefrinin renal ekspresyonu diyabetik nefropatide bozulabilir. Nefrindeki konjenital mutasyonlar (podositler tarafından eksprese edilen bir transmembran proteindir) fin tipi şiddetli konjenital nefrotik sendroma neden olur (117).

#### **1.5.2.3.5.5. Hipertansiyon**

Diyabet, metabolik sendrom ve obezite ile beraber olan hipertansiyonun diyabetik nefropatinin patogeneğinde önemli rol oynayabileceği düşünülmüştür.

Santral obezitede sodyumun böbreklerde emiliminin artması ve sempatik sinir sistemi aktivasyonu, renin anjiotensin aldosteron sistemi ve böbreklere fiziksel kompresyon gibi birçok faktörler aracılığı ile böbrek basıncının natriüretik etkisindeki kayma ve böbrek tubullerinde sodyum emiliminin artması ile hipertansiyon indüklenir. Hipertansiyon intraglomerüler kapiller basınçta artma ve metabolik anomalilerle böbrek hasarını hızlandırıcı olarak etki eder.

Benzer şekilde obezite ile ilişkili glomerüler hiperfiltrasyon, renal vazodilatasyon, glomerüler filtrasyon hızında ve intraglomerüler basınçta artma ve kan basıncındaki artma diyabetik nefropatinde karakteristikleridir. Artmış sistemik kan basıncı proteinüride artma ve glomerüler filtrasyon hızında azalmaya sonuçta son dönem böbrek yetmezliğine gidişi hızlandırır.

#### **1.5.2.3.6. Diyabetik nefropatide klinik görünüm**

Diyabetik nefropatide en önde gelen klinik belirtiler; albüminüri, hematüri (daha sıklıkla) ve hastaların çoğunda görülen, uygun tedavi ile ilerlemesi yavaşlayabilen kronik böbrek hastalığıdır.

##### **1.5.2.3.6.1 Albüminüri**

Fonksiyonel olarak 3 basamak değişiklikler meydana gelir; ilki hastalığın erken döneminde oluşan hiperfiltrasyon (öncelikle tip diabette), ikincisi hafif artmış albüminüri (mikroalbüminüri, 30-300mg/gün idrarda albümin) ve üçüncüsü de şiddetli artmış albüminüri (makroalbüminüri, >300mg/gün idrarda albümin).

Mikroalbuminüri şiddetli albuminüri gelişmesinin habercisidir ve gelecekte nefropati gelişimi açısından yüksek risk olduğunun bir göstergesidir. Makroalbuminüriyi (etkili tedavi olmadan) GFR'de ilerleyici bir azalma takip eder ve zamanla son dönem böbrek yetmezliği meydana gelir (118).

#### **1.5.2.3.6.2. Normal Veya Normalden Artmış Albuminüride Progressif Hastalık Gelişimi**

Bilinmeyen nedenlerden dolayı, tip 1 veya tip 2 diyabette görülen diyabetik nefropatide albuminürinin derecesi mutlaka hastalık progresyonu ile ilişkili değildir (119, 120). Bu, orta derecede artmış albuminüri başlangıcından ortalama 12 yıl takip edilen Joslin Böbrek Çalışması'ndan tip 1 diyabetli 79 hastadan oluşan bir raporda gösterilmiştir (119). Hastaların 23 ileri böbrek hastalığına ilerlemiştir (GFR 60 mL / dak'dan daha az) . Bu hastalar arasında 11'inde ya orta derecede artmış albuminüri ya da normal albuminüriye gerileme olmuş. Diğer 12 hastada ise öncesinde GFR'deki düşüşün olmadığı proteinüri gelişmiş. GFR kayıp hızı, normal albuminüriye gerileme olan hastalarda, orta derecede artmış albuminüri yada ciddi şekilde artmış albuminüri gelişenlerle karşılaştırıldığında daha düşük oranda olduğu bulunmuştur (121). Ciddi derecede artmış albuminürisi olan hastalar en yüksek GFR kayıp hızına sahip olduğu bulunmuş olup (121) ve son dönem böbrek hastalığı gelişen altı hasta ise ciddi artmış albuminüriye ilerlemiştir (119).

Non-albuminürik diyabetik nefropatide ilerleyici GFR azalmasından sorumlu faktör (ler) bilinmemektedir. Olası bir neden intrarenal vasküler hastalıktır. Bununla birlikte, tip 2 diyabetli ve GFR'i 60 mL / dk'ın altında hastalarda yapılan bir çalışmada, renal dupleks taramada intrarenal vasküler direnç, proteinürisi olan ve olmayan hastalarda benzer derecede yüksek görülmüştür (120).

#### **1.5.2.3.6.3. Hematüri**

Diyabetik nefropatide idrar çökeltisi genellikle hafif bulgulara sahiptir, ancak glomerülonefrit olmayan membranöz nefropati gibi bozukluklarda da mikroskopik hematüri oluşabilir. Bu diyabetik nefropati ile birlikte veya tek başına nondiyabetik böbrek hastalığının olması açısından önemli bir bulgudur.

Diyabetik nefropatili hastalarda hematürinin prevalansı ve diyabetik nefropati veya eşlik eden böbreği tutan bir hastalığa bağlı olup olmadığı bir kaç çalışmada

değerlendirilmiştir (122, 123). Diabetes mellituslu 154 hastadan Japonya'da alınan bir raporda glomerüler hematüri 26 hastada (%17) görülmüş; bunlardan 10'unda IgA nefropatisi var iken ve bunlardan birinde membranöz nefropati saptanmıştır (122). Hematürisi olan diğer 15 hasta hematürisi olmayan 128 hasta ile karşılaştırılmış; diffüz glomerüler lezyonlar ve interstisyel lezyonlara bağlı gelişen böbrek yetmezliklerinde daha yüksek serum kreatinin konsantrasyonu ve böbrek biyopsisinde daha ağır diyabetik nefropati görülmüştür.

Diyabetik nefropatili hastalarda eritrosit silendirleride tanımlanmıştır (123). Bu bulgunun klinik önemi, 6 ila 18 yıldır hematüri, eritrosit silendirleri ve bilinen diyabeti olan 8 hasta üzerinde yapılan bir çalışmada değerlendirilmiştir (123). İmmünofloresan ve elektron mikroskop da dahil olmak üzere böbrek biyopsisinde üç hastada glomerülonefrit (ikisinde postinfeksiyöz ve bir IgA nefropatisi) saptanmış iken diğer 5 hastada sadece diyabetik nefropati saptanmıştır.

#### **1.5.2.3.7. Etyoloji**

Diyabetik nefropatinin kesin nedeni bilinmemektedir, fakat kabul edilen mekanizmalar hiperglisemi (hiperfiltrasyon ve böbrek hasarına neden olur), ileri glikolizasyon ürünleri ve sitokinlerin aktivasyonudur. Günümüzde birçok araştırmacı hem tip 1 hem de tip 2 diyabete katkı sağlayan örtüşen fizyopatolojik olaylardan dolayı diyabeti otoimmün bir hastalık olarak düşünülmüş ve son araştırmalarda doğuştan gelen bağışıklığın (Toll-like reseptörler) ve regülatuar T hücrelerinin (Treg) önemli rolünü vurgulanmıştır (124).

Glisemik kontrol; glukozun karaciğere alınması, glukoneogenez, sonrasında dokuya alım veya kullanım arasındaki dengeyi yansıtır. Bu denge pankreas beta hücrelerinden insülin üretimi ile düzenlenir. İnsülin; karaciğer, iskelet kası ve yağ dokusu üzerindeki etkisiyle serum glukozunu düzenler. İnsülin direnci durumunda, insülin karaciğerdeki glukoneogenezi suprese edemeyip hiperglisemiye neden olabilir. Yağ dokusu ve iskelet dokusunda insülin direnci lipolize ve hiperglisemiye ek olarak hiperlipidemiye neden olması glukozun kullanılmasında azalmaya bağlıdır.

Kanıtlar, insülin direnci varlığında pankreasın insülin üretimini artırmaya çalıştığını bu da beta hücrelerinde strese yol açıp sonuçta beta hücrelerinin tükenmesine neden olduğunu göstermektedir. Yüksek kan şekeri düzeyleri ve sature yağ asidlerinin yükselmesi; inflamatuvar mediatörlerin salınımı ve nükleer

transkripsiyon faktörü kappa B (NF-kappaB)'nin aktivasyonunun olduğu doğuştan immün sistemin aktivasyonu ile orta derece bir inflamasyon yapar. Buradaki inflamatuvar mediatörler İnterlökin 1 beta (IL-1beta) ve tümör nekroze edici faktör alfa (TNF-alfa) otoimmün bir insülitis ile sistemik insülin direncinde beta hücrelerinde hasarı artırır. Hiperglisemi, yüksek serum serbest yağ asidi düzeyleri ve IL-1 $\beta$  apoptotik beta hücre ölümü ile sonuçlanan glukotoksisite, lipotoksisite ve IL-1 toksisitesine yol açar. Hiperglisemi aynı zamanda diyabetik böbrek hastalığı ve diyabetin diğer vasküler hastalıklarına katkı sağlayan protein kinaz C'i aktive edebilir (125).

Hiperglisemi aynı zamanda glomerülde transforming growth faktör- $\beta$  (TGF $\beta$ ) ekspresyonunu artırır ve bu sitokin ile spesifik olarak uyarılan matris proteinleri artar. TGF $\beta$  ve vasküler endotelial growth faktör (VEGF) kollagen sentezinde artma ve selüler hipertrofiye katkı sağlayabilir ve diyabetik nefropatili kişilerde görülen vasküler değişiklikleri indükleyebilir (126).

Diyabetik nefropatide ailesel veya hatta genetik faktörler de rol oynar. Bazı etnik gruplar, özellikle Afrikalı Amerikalılar, Hispanik kökenli olanlar ve Amerikan Kızılderilileri, diyabetin komplikasyonu olarak özellikle böbrek hastalığına meyillidirler.

Bazı kanıtlarda diyabetik nefropatide, nefropati gelişimine predispoze eden veya seyri hızlandıran angiotensin konverting enzim (ACE) genlerinde polimorfizm giderek arttığı görülmüştür. Fakat kesin genetik belirteçler tesbit edilememiştir. Son zamanlarda, diyabetik nefropatinin patogenezinde epigenetik modifikasyonun rolü vurgulanmıştır (127).

Bherwani ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada, azalmış serum folik asit düzeyleri ile diyabetik nefropati arasında bir ilişki olduğu öne sürülmüştür. Diyabetes mellituslu 100 hastada yapılan çalışmada; 50 hastada diyabetik nefropati mevcut iken ve 50'inde nefropatisi yoktu, çok değişkenli lojistik regresyon analizinde, folik asit düzeylerinin azalmasının diyabetik nefropati riskini %19.9 oranında artırdığını görülmüştür (128).

#### **1.5.2.3.8. Risk Faktörleri**

Klinik olarak belirgin diyabetik nefropatisi olan veya olmayan hastalarda yapılan çalışmalarla böbrek tutulum riskinin artmasıyla ilişkili bir dizi faktör belirlenmiştir (95, 129).

##### **1.5.2.3.8.1. Genetik yatkınlık**

Genetik yatkınlık diyabetik nefropatinin hem sıklığı hem de şiddetinin önemli bir belirleyicisi olabilir (130, 131). Diyabetik nefropatisi olan anne-baba veya diyabetik bir kardeşi olan hastalarda diyabetik nefropati gelişme riski belirgin olarak artmaktadır; Bu gözlemler hem tip 1 hem de tip 2 diyabette yapılmıştır (132).

##### **1.5.2.3.8.2. Yaş**

Diyabetik nefropati ve son dönem böbrek yetmezliği gelişmesi üzerine diyabetin başlangıç yaşının etkisi belirsizdir. Örnek olarak, tip 2 diyabetli hastalar arasında, artan diyabet süresi ile birlikte artan yaş, Avustralya'da albuminüri gelişme riski ile ilişkili bulunmuştur (129). Buna karşılık, tip 2 diyabetli 1856 adet Pima Yerlilerinin popülasyonuna dayalı bir çalışmada, 20 yaşından önce diyabet gelişen hastaların, son dönem böbrek hastalığı gelişme riski daha yüksek bulunmuştur (risk altındaki 1000 hasta yılda 25'e karşı 5) (133).

Tip 1 diyabet için, 5 yaşından önce teşhis edilen hastalarda ESRD gelişme riski çok düşüktür; daha ileri yaşlarda, ESRD'ye ilerlemenin yaşla ilişkisi ise belirsizdir (134).

##### **1.5.2.3.8.3. Kan Basıncı**

Diyabetik nefropati gelişiminde en önemli risk faktörü olup ve hastalığın ilerlemesi ile ilişkilidir. Tip 1 diyabette mikroalbuminüri gelişene kadar tansiyon normaldir. Ancak bazı çalışmalar nefropati gelişen hastaların normo albuminürik dönemde daha yüksek kan basıncına sahip olduklarını gösterilmiştir. Tip 2 diyabette ise çoğu hastada tanı esnasında hipertansiyon mevcuttur ve bunlarda nefropati riski daha yüksektir. Bu nedenle tip 1 diyabette hipertansiyon varlığı, gelişen nefropatinin özelliğidir. Tip 2 diyabette ise nefropatiyi başlatan ya da artıran faktör olabilir (135). United Kingdom Prospective Diabetes Study (UKPDS) sonuçlarına göre sıkı kan basıncı kontrolü (144/82 mmHg) sıkı olmayan kontrole göre (154/87 mmHg) mikroalbuminüri riskini %29 azaltmıştır (136).

#### **1.5.2.3.8.4. Glomerül Filtrasyon Hızı**

5 yıldan daha kısa süreli tip1 diabetli hastaların yaklaşık olarak yarısında GFR normalin %25-50'i oranında artış gösterir.

Glomerüler hiperfiltrasyonlu hastalarda diyabetik böbrek hastalığı riski artmıştır. Bu özellikle başlangıç GFR 150 ml/dk üzerinde olan aşikar diyabetik nefropatili hastalar için doğrudur (137).

Tip 1 diyabetiklerde glomerüler hiperfiltrasyon tipik olarak glomerüler hipertrofi ve artmış renal boyutu ile ilişkilidir (137). Bu hemodinamik ve yapısal değişiklikler ile diyabetik nefropatinin gelişimi arasındaki ilişki, hem intraglomerüler hipertansiyon (hiperfiltrasyonu tahrik eder) hem de glomerüler hipertrofi (aynı zamanda duvar stresini de arttıran) ile ilişkili olabilir. Bu değişiklikleri tersine çevirmeyi amaçlayan tedavi hastalığın başlangıcında plazma glukoz konsantrasyonunun agresif kontrolü (137), diyetle protein kısıtlaması ve antihipertansif tedavi ile böbrek hastalığının ilerlemesini yavaşlatabilir.

Tip 2 diyabet bulguları biraz farklıdır. Tip 2 diyabetik hastaların %45'den fazlasında başlangıçta aynı yaştaki diyabeti olmayan ve obez gruptakilerden GFR 2 standart değerden daha yüksek bulunmuş (85, 89). Fakat hiperfiltrasyon derecesi tip 2 diyabetik hastalarda (ortalama 117-133ml/dk) tip 1 diabette görülen değerlerden daha düşüktür. Tip 2 diyabetikler yaşlı ve arteriolosklerotik vasküler hastalık olasılığı daha yüksek olduğundan hem glomerüler filtrasyon hemde glomerül boyutlarında kısıtlı artış olacaktır (138).

Diyabetik nefropatinin patogenezinde intraglomerüler hipertansiyonun önemi, sistemik hipertansiyonun neden diyabetik nefropatinin gelişimi için önemli bir risk faktörü olduğunu açıklayabilir (139). Deney hayvanlarında yapılan çalışmalarda, diyabetik durumun bozulmuş böbrek otheregölasyonu ile ilişkili olduğunu düşündürmüştür. Sonuç olarak, sistemik basıncın yükselmesine beklenen afferent arterioler vazokonstriksiyonu oluşmaz bu da diyabetik nefropati mekanimasında önemli bir fizyopatolojik olaydır (140).

#### **1.5.2.3.8.5. Glisemik Kontrol:**

Diyabetik nefropati kötü glisemik kontrol (yüksek HbA1c seviyeleri) olan hastalarda gelişmesi daha olasıdır.

#### **1.5.2.3.8.6. Irk**

Diyabetik nefropati insidansı ve şiddeti siyahılarda (Kafkasyalılara göre 3-6 kat), Meksikalı-Amerikalılarda ve tip 2 diyabetli Pima yerlilerinde artmıştır (140). Farklı genetik yapısı olan bu popülasyonlardaki gözlemler; diyet, hipergliseminin kötü kontrolü, hipertansiyon ve obezite gibi sosyoekonomik faktörlerin birincil bir rolü olduğunu düşündürmektedir (141).

Pima yerlileri, Kafkasyalılardan daha büyük glomerüllere sahiptir, bu da spesifik bir genetik özelliği temsil edebilecek bir bulgudur (142). Yukarıda tarif edilen mekanizma ile glomerüler boyuttaki bu artış, diyabet kaynaklı glomerüler hasara karşı gelişmiş duyarlılığa yol açabilir. Bu artmış riskin bir göstergesi, 3 yıldan daha az bilinen bir hastalığı olan diyabetik Pima yerlilerinin, glomerüler disfonksiyona (glomerüler boyut seçiciliğinin bozulması ile artmış albümin atılımı) ilişkin kanıtlara sahip olduğu gözlemlenmesidir (143).

#### **1.5.2.3.8.7. Obezite**

Yüksek vücut kitle indeksi (VKİ) diyabetli hastalarda artmış kronik böbrek hastalığı riski ile ilişkili bulunmuştur (144). Ayrıca diyet ve kilo kaybı, diyabetli hastalarda albüminüriyi azaltabilir ve böbrek fonksiyonunu düzeltebilir (145).

#### **1.5.2.3.8.8. Sigara**

Sigara içimi diyabetli hastalarda çeşitli yan etkilerle ilişkilidir. Bunlar; albüminüride artış, son dönem böbrek hastalığı riskinin ve diyaliz başladığında sağ kalımın azalmasıdır (146). Bu etkilerin bazıları kötü glisemik kontrol ile ilişkili olabilir.

#### **1.5.2.3.8.9. Oral kontraseptifler**

İlk rapor oral kontraseptif kullanımı ile diyabetik nefropati riski arasında bir bağlantı olduğunu öne sürmüştür (147).

### **1.2. Adropin**

İlk olarak Kumar ve arkadaşları tarafından 2008 yılında karaciğer ve beyin dokusunda immunohistokimyasal yöntemler ile tesbit edilmiş bir proteindir. Adropin; 76 amino asitten oluşup ve moleküler ağırlığı 4999.9 kDa'dur. İnsan ve faredeki amino asid sekansları %100 benzerdir (148, 149). Adropinin yarı ömrü

henüz tesbit edilememiştir (150). Kandaki adropin konsantrasyonu  $3.1 \pm 1.3$  (158), 3-4.5 ng/ml (4) ve 10ng/ml civarında (151) olmak üzere çeşitli çalışmalarda farklı değerler bildirilmiştir. İnsan sütündeki adropin konsantrasyonu 9-14.5 ng/ml, insan idrarında, serum konsantrasyonundan 4 kat daha yüksek bulunmuştur (152).

Adropin enerji dengesinin sürdürülmesinde, enerji dengesi ile ilişkili gen (ENHO) tarafından kodlanır ve alınan besin miktarı ile regüle edilir. Adropinin beslenme durumunda düzenlenmesinin kanıtları fare deneylerinde Kumar ve arkadaşları tarafından bulunmuş olup, bu deneyde yağsız C57BL/6J farelerin yüksek yağlı diyet ile beslenmesi sonrasında kontrol grubuna göre adropini çok hızlı ekprese ettikleri görülmüştür (148). Dolaşımdaki adropin miktarı metabolik stres, insülin direnci ve glukoz intoleransında ise azaldığı tesbit edilmiştir (148-150).

Adropin üzerine yapılan sonraki çalışmalarda karaciğer sinüsoidal hücrelerinde, damar iç yüzlerinde, böbrek, pia mater, nöroglial hücreler ve beyin nöronlarında adropin immun reaktivitesi raporlanmış (153). Adropin immun reaktivitesi ayrıca; böbrek dokusunda glomerül, peritubuler intertisyel hücreler ve peri tubuler kapillerlerde; kalp dokusunda endokardium, miyokardium ve perikardium'da ve pankreas seröz asini'de tesbit edilmiştir (153,154).

Adropin üzerine yapılan çalışmalarda;

İlk yapılan çalışma olan Kumar ve ark'nın (148) hayvan deneyinde, karbonhidrat içeriği yüksek-yağ içeriği düşük besinlerle beslenen fareler ile yağ içeriği yüksek-karbonhidrat içeriği düşük besinlerle beslenen farelerin serum adropin düzeyleri arasında ciddi düzeyde anlamlı fark bulunmuştur. Yağ içeriği yüksek beslenme durumlarında kanda serum adropin düzeyinin artmış olduğu, Ayrıca aynı çalışmada yağ içeriği yüksek olan besinlerle beslenen farelerin karaciğer dokusunda adropin hormonunu kodlayan ENHO gen düzeyinde aşırı artış olduğunu göstermişlerdir. ENHO gen düzeyinde aşırı artış olması adropin hormonunun karaciğerde lipogenez metabolizmasında rolü olabileceği sonucuna varılmıştır. Ayrıca farelerde transgenik olarak aşırı üretilen adropin molekülünün hücresel düzeyde karaciğer ve yağ dokusunda lipogenezde rol oynayan diğer genlerin düşük düzeyde olmalarına neden olduğu gösterilmiştir. Başka bir çalışmada adropin hormonunun eksikliğinin, yağ dokusunda artma ve insülin direnciyle ilişkili olduğu

ve sonuçta adropin molekülünün glukoz metabolizması, insülin direnci, dislipidemi ve metabolik sendromla ilişkili olabileceği sonucuna varılmıştır (150).

Adropin üzerine Lian ve ark'nın (155) yapmış oldukları çalışmada; 56 tane kalp yetmezlikli hasta ve 20 tane sağlıklı insan kontrol grubunun adropin düzeylerini karşılaştırmıştır. Kalp yetmeliği olan hastalar New York Kalp Cemiyeti fonksiyonel sınıflamasına göre 4 sınıfa ayrılmış olup çalışma sonunda adropin düzeyinin kalp yetmezliği şiddetinin artmasıyla orantılı olarak yükseldiği bulunmuştur. Sağlıklı insan kontrol grubunda ise adropin düzeyi en düşük seviyede olduğu tesbit edilmiştir. Böylece adropin düzeyi ile sol ventrikül ejeksiyon fraksiyonu arasında negatif korelasyon olduğu sonucuna varılmıştır. Sonuçta Lian ve ark'ı dolaşımdaki yüksek adropin düzeyinin kalp yetmezliğinin patogenezinde rol oynadığını ileri sürmüşlerdir.

Bir başka çalışmada ise Lovren ve ark. (156) 2010'da adropinin entotelyal hücredeki koruyucu potansiyelini göstermişlerdir. Adropin vasküler endotelyal büyüme faktörü reseptörü-2 (VEGFR-2) ve onun ileri sinyal yolları olan fosfatidil inozitol-3 kinaz/serin, treonin kinaz(PI3K/Akt) ve sinyal düzenleyen kinazlar 1/2 (ERK 1/2)'i aktive ettiği, böylece adropin eNOS'un ekspresyonunu modüle ettiğini tesbit etmişlerdir. Adropin aynı zamanda endotelyal hücrelerin proliferasyonunu, migrasyonunu ve kapiller benzeri yapıların oluşumunu artırır. Son zamanlarda adropinin endotelyal permeabiliteyi azalttığıda saptanmıştır (156).

Adropin; ateroskleroz oluşumu ve kardiyovasküler hastalıklarda koruyucu düzenleyici olarak hareket edebileceği üzerine çalışmalar yapılmıştır (157). Kardiyovasküler hastalıklar için önemli risk faktörü olan homosistein ile adropin serum düzeyi arasında ve aterosklerozun şiddeti ile serum adropin düzeyleri arasında ters orantı olduğu görülmüştür (158). Akut myokardiyal enfarktüsden sonraki ilk 1-24 saat arasında adropin yükselirken (159); endotelyal disfonksiyon ile ilişkili psödoeksfoliasyon, koroner yavaş akım fenomeni, koroner arter bypass greft sonrası safen ven greft oklüzyonu ve pediatrik obstrüktif uyku apnesinde adropin düzeyi düşük saptanmıştır.

Lian ve ark. (155) plazma adropin düzeyini hipertansiyonun bağımsız bir göstergesi olarak tanımlarken diğer çalışmalarda bu ilişki gösterilememiştir.

Ateroskleroz; obezite ve Diyabetes Mellitus seyrinde sık olarak oluşan, kalp krizi ya da stroklara yol açan çok önemli kardiyovasküler bir patolojidir. Ateroskleroz gelişimi endotelial disfonksiyon, vasküler inflamasyon, trombüs formasyonu, monositlerin infiltrasyonu ve makrofajlara diferansiyasyonu ve lezyondaki makrofajların köpük hücrelerine dönüşmesi gibi çok faktörlü ve kompleks bir süreçtir (156). Zhao ve ark. (158) yürüttüğü çalışmalar adropinin eNOS biyoaktivitesini ve endotelial fonksiyonları düzenleyebileceğini göstermiştir. Adropin, eNOS aktivasyonu ile NO salınımını artırmaktadır. Bu yüzden adropin endoteliumu doğrudan etkileyebilen eNOS'u up-regüle ederek endotelium için koruyucu bir rol oynayabilir. Endotelial disfonksiyon aterosklerozun gelişiminde ve ilerlemesinde önemli bir rol oynadığı için adropinin olumlu metabolik profilinin yanı sıra endotelial disfonksiyonla karakterize edilen hastalıkları sınırlandırmak için yeni bir hedef olabileceği de öngörülmüştür (158). Adropin düzeylerinin endotelial disfonksiyona sahip gruplarda daha düşük olduğu saptanmıştır. Bütün bu bulgular adropinin endotelial fonksiyonların noninvaziv değerlendirilmesi için yeni ve etkili bir belirleyici olabileceğini göstermiştir.

Bir başka çalışmada ise koroner arter hastalığı şüphesi olan 392 hastaya koroner anjiyografi yapılmış. Bu hastalar tip 2 DM ve nondiyabetik olarak gruplandırılmış ve serum adropin düzeyleri ölçülmüş. Çalışma sonucunda diyabetik hastaların serum adropin düzeyleri nondiyabetik hastalara göre daha düşük olduğu ve diyabetiklerde koroner anjiyografide aterosklerozun daha şiddetli olduğu gösterilmiştir. Bununla ilgili olarak düşük adropin düzeyinin koroner aterosklerozun yeni bir belirteci olabileceği dahi ileri sürülmüştür (160).

Wenchao ve Chen (161) tarafından yapılan diyabetik nefropati ile serum adropin konsantrasyonu arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışmada; tip 2 diabetes Mellitus tanılı 245 ve sağlıklı 81 bireyden oluşmuş olup, sonrasında Tip 2 Diyabetli hastalar idrar albüminine göre normoalbuminüri, mikroalbuminüri ve makroalbuminüri alt gruplarına ayrılmıştır. Diyabetik grupta kontrol grubuna göre serum adropin düzeyinin önemli oranda düşük olduğu gösterilmiştir.

Makroalbuminüri tip 2 diyabetli hastalarda adropinin serum konsantrasyonunun çok daha düşük olduğu, ek olarak mikroalbuminüri hastaların serum adropin konsantrasyonu normoalbuminüri hastalarda daha düşük olduğu

saptanmıştır. Çalışma sonuçlarının değerlendirilmesinde serum adropinin Tip 2 diyabet ve diyabetik nefropati gelişiminde riskinde azalma ile korele olduğu, serum adropininin vücut kitle indeksi (BMI), kan üre nitrojen, kreatinin ve albuminüri ile negatif korelasyon gösterdiğini ve glomerüler filtrasyon oranı ile pozitif korelasyon gösterdiği tesbit edilmiştir. Sonuçta; serum adropin konsantrasyonu böbrek fonksiyonu ile negatif ilişkili olduğu ve adropinin diyabetik nefropati gelişiminde rol oynayabileceği kanısına varılmıştır (161).

### **1.3. Betatrofin**

Son yıllarda tüm dünyada hızla artan Diyabetes Mellitus'un tedavisi için çok sayıda çalışmalar yapılmıştır. Bu çalışmalardan birinde 2008 yılında Arthur D. Melton ve arkadaşları fareler üzerinde yaptıkları çalışmada; insülin direncinde karaciğerden salınıp pankreastaki beta hücrelerinde replikasyona neden olan bir protein tanımlamışlardır. Betatrofin olarak adlandırılan bu protein ile Diyabetes Mellitus'da beta hücre kitlesinin artırılıp insülin salınımı artırılmasını amaçlayan regeneratif tedavide çok önemli bir gelişme sağlamıştır (162). Betatrofin için başka çalışmalarda farklı isimler kullanılmıştır. Betatrofin ilk olarak hepatosellüler karsinomla ilişkili protein TD26 adıyla tarif edilmiştir (163). Ayrıca Lipazin (164), RIFL ve anjiopietin-like proteini-17 isimleride verilmiştir. Betatrofin, angiopietin-like protein ailesindedir ve C19orf80 geni tarafından kodlanır. Farelerde karaciğer, beyaz yağ hücresi ve kahverengi yağ hücrelerinde eksprese edilirken, insan sadece karaciğerde eksprese edilir (165, 166). Farelerdeki betatrofin ekspresyonu nutrisyon (yüksek yağlı diyetle yanıt olarak ekspresyonu artar) ve sıcaklık (soğuk ortamlarda ekspresyonu artar) ile düzenlenir (167).

Diabet ve lipid metabolizmasında rol oynadığı bilinen yeni biyobelirteçlerden biri olan betatrofin; ANGPTL8 (168) RIFL ve lipazin isimlerini açlık / besleme regülasyonu ve lipoprotein lipaz (LPL) aktivitesi regülasyonundaki etkisi nedeniyle almıştır (169, 170). Farelerde yapılan ilk çalışmada, ANGPTL8 (betatrofin) içermeyen farelerin kan dolaşımında trigliserit (TG) düzeyinin düşük olduğunu gösterilmiştir (171). Bu protein daha önce Ren ve arkadaşları tarafından RIFL olarak adlandırmış olup beyaz ve kahverengi yağ dokularında ve aynı zamanda karaciğer dokularında eksprese edildiğini ve besin maddeleri ve hormonal faktörlerle düzenlendiğini göstermişlerdir (169). ANGPTL8-null farelerde TG seviyesinin, vahşi

tipte bulunan farelerdeki göre üçte biri düzeyde olduğunu göstermişlerdir. 3T3-L1 hücrelerinde RIFL düzeyini düşürmek, trigliserid konsantrasyonunda yaklaşık %35 azalma ile sonuçlanmıştır. 3T3-L1 hücrelerinin adipogenezinde ANGPTL8 ekspresyonu 100 katın üzerinde artmıştır. Dahası, ANGPTL8 ekspresyonu, vahşi tip farelere kıyasla ob/ob farelerinin (bir obezite fare modeli) beyaz yağ hücrelerinde yaklaşık sekiz kat artmış, bununla beraber farelerde hem beyaz yağ hücrelerinde hem de karaciğerinde uzamış açlık ve tokluk durumlarından sonra RIFL gen ekspresyonu, yaklaşık 100 ve 12 kat artmıştır (170). Birlikte ele alındığında, Ren ve ark. RIFL'nin adipogenesis ve lipit metabolizmasında rol oynadığını doğrulamıştır.

Aynı zamanda, ikinci bir araştırma grubu, ANGPTL8 veya lipazinin, Lipoprotein lipaz aktivitesini invitro inhibe edebildiğini de göstermiştir (170). Farelerde ANGPTL8'in aşırı eksprese edilmesi, plazma TG'de yaklaşık 5 kat artışa yol açar. Dahası, yüksek yağlı bir diyet sırasında karaciğerde ANGPTL8 ekspresyonu artmış ve açlıkta azalmıştır. Ayrıca, ANGPTL8'in soğuk sonrasında kahverengi yağ dokusunda ekspresyonu indüklendiğinden soğuk ile termo-modüle olduğunu da gösterilmiştir (168). ANGPTL8 seviyesi, yüksek yağlı beslenme ve soğuğa maruz kalma ile uyarılabilir. Ayrıca, ANGPTL8, lipoprotein lipaz aktivitesinin inhibisyonu yoluyla plazma TG seviyesini düzenlemede de rol oynar (162, 168).

Üçüncü kritik bir makale Quagliarini ve ark. (172) tarafından yayınlandı. 2012 yılında da Karaciğer ve yağ dokusunda özel zenginleşme ile benzer doku dağılımı gösterildi. ANGPTL8 ismi, ANGPTL8 için bir etkileşim ortağı olarak tanınan, asıl ANGPTL3 olan anjiopietin benzeri protein ailesine ait üyelere sekans benzerliğine dayanarak verildi. Quagliarini ve arkadaşları ANGPTL8'in aşırı ekspresyonunun, ANGPTL3 varlığında daha da artmış trigliserid düzeyine yol açtığını gösterdi (172). Bu, iki proteinin, trigliserid seviyesini kontrol etmek için sinerjik hareket ettiği gözlemlenildi. Gerçekten, ANGPTL8 proteininin fiziksel olarak ANGPTL3 ile etkileşme gösterdikleri doğrulandı, bu da plazma lipoprotein seviyesinin düzenlenmesinde etkili oldukları sonucuna varıldı. Ayrıca, vahşi tip farelerde aşırı eksprese eden ANGPTL3'ün trigliseridin artmasına yol açmazken, ANGPTL8'in aşırı ekspresyonu trigliserid artışına yol açmadığını da göstermişlerdir. Kolektif olarak, onların bulguları, ANGPTL8, ANGPTL3 ile etkileşimleri ile

trigliserid düzeylerinin düzenlenmesinde rol oynarlar ve bu kompleks, lipoprotein lipaz için bir inhibitör olarak etkiyebilir (172, 173).

Sonraki yayınlar, ANGPTL8'in, insülin reseptör antagonisti (S961) ile tedaviye yanıt olarak  $\beta$ -hücre proliferasyonunu etkilediğini gösterdi. Arthur D. Melton ve arkadaşları fare karaciğerinde ANGPTL8 "betatrofin" in aşırı ekspresyonu  $\beta$ -hücre proliferasyonunda 17 katlık bir artışa ve  $\beta$ -hücre kütlesinde 3 kat artışa neden olduğu bildirmiştir. Ayrıca, ANGPTL8'in dolaşıma bırakıldığını ve daha sonra  $\beta$ -hücre proliferasyonuna ve kitlesine yol açan tanımlanamayan bir reseptörden  $\beta$ -hücrelerine bağlandığını da gösterdiler (162). Jiao ve arkadaşları farelerde, böbrek kapsülü altında S961 ile tedavi edilen insan ve fare adacıklarının transplantasyonunun, daha sonra, transplante edilmiş fare adacıklarında ANGPTL8'nin seviyesinin artmasına ve beta-hücre proliferasyonunda bir artışa neden olduğu gösterilmiştir (173). Bununla birlikte, bu etki insana nakledilen adacıklarda ise gözlenmemiştir.

### **1.3.1. Diabetes Mellitus'da Betatrofinin Rolü**

Tip 2 Diabetes Mellitus, hiperglisemi ve insülin direncinin neden olduğu artan insülin ihtiyacını kompanse etmek için beta hücrelerinin cevabındaki yetmezliğin bir sonucu olarak gelişir (173). ANGPTL8'in beta hücresi proliferasyonunu artırabilen bir hormon olarak keşfi, bilimsel bir atılım olarak kabul edilmiştir (174). Beta-hücre proliferasyonu ve insülin üretiminin arttığı için insülin direnci durumları altında ANGPTL8'in arttığı gösterilmiştir. Ob / ob farelerinde ve db / db diyabetik fare modelinde ANGPTL8 artmıştır (162). Bu bulgular, özellikle de, ANGPTL8'in beta-hücre proliferasyonunu artırma yeteneği daha sonra sorgulanmıştır (175, 176). Benzer şekilde, birçok çalışmada, Tip 2 DM denekleri olan kişilerde ANGPTL8 düzeylerinin arttığını göstermiştir. Beta hücrelerinin artmış ANGPTL8 seviyesine yanıt vermediği Tip 2 DM'li kişilerde bir ANGPTL8 direnci durumundan da söz edilmiştir (177, 178).

Betatrofinin diyabetik nefropati ile ilişkisi üzerine yapılan çalışmada; 109 adet Tip2 DM ve 32 sağlıklı birey alınmış, tip2 DM hastalar kendi arasında normoalbuminürik, mikroalbuminürik ve makroalbuminürik olarak alt gruplara ayrılmıştır. Serum betatrofin düzeyi tip2 DM alt gruplarındaki hastalarda sağlıklı bireylere göre önemli oranda yüksek olduğu belirlenmiştir. Serum betatrofin

düzeyleyleri serum triglserid düzeyleyleri, vücut kitle indeksi, sistolik kan basıncı, diyabetin süresi, cinsiyet ile pozitif olarak korele olduğu saptanırken; serum yüksek dansiteli lipoprotein (HDL) konsantrasyonu, totak kolesterol düzeyley, glomerüler filtrasyon hızı (eGFR) ile zıt yönde korelasyon gösterdiği belirlenmiştir. Ek olarak diabetiik nefropatisi olanlarda yüksek olduğu görülmüştür. Sonuçta; değişik derecelerde albüminüri olan T2 DM hastalarında betatrofin anlamlı olarak artığı ve Betatrophinin, diyabetik nefropati gelişiminde rol oynayan yeni bir endokrin düzenleyici olabileceği kanısına varılmıştır (179).

Diyabetes Mellitusun bir komplikasyonu olan diyabetik nefropatide Chang-Chiang ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada tip 2 DM li farklı evrelerde albüminürisi olan hastalarda betatrofinin serum değerinin önemli bir oranda arttığını ve Betatrofinin diyabetik nefropati gelişimi ile ilişkili yeni bir endokrin düzenleyici olabileceğini söylemişlerdir (179).

#### **1.4. Vitamin D**

D vitamini kalsiyum ve fosfor metabolizmasını düzenleyen, yağda eriyen vitaminler arasında yer alan ve diğer vitaminlerden farklı olarakta vücutta üretilen hormon ve hormon öncülleri olan bir grup steroldür (180, 181). D vitamini; bitkilerden alınan ergokalsiferol (Vitamin D2) ve hayvansal gıdalardan alınan aynı zamanda insanların derisinde bulunan 7 dehidrokolesterolün güneş ışınlarına (ultraviole B) maruziyeti sonucu oluşın kolekalsiferol (Vitamin D3) olarak iki formdan oluşmaktadır (180-182). İnsanlar D vitamini gereksiniminin büyük bir bölümünü güneş ışınları aracılığıyla endojen yol ile karşılamaktadır. Karaciğer, balık, yumurta sarısı somon, uskumru, süt, brokoli, yeşil soğan D vitamini bakımından zengin besinlerdir (180-182). Diyetle D vitamini alındığında veya güneş ışığı maruziyeti sonrası deriden 7-dehidrokolesterol salındığında, bu formlar ilk olarak karaciğerde bulunan 25 hidroksilaz enzimi ile 25 hidroksivitamin D'ye (25 (OH)D) ardından da böbreklerde 1 alfa hidroksilaz enzimi ile D vitaminin aktif formu olan 1,25 dihidroksivitamin D3'e (1,25(OH)2D3) dönüşmektedir. 1,25(OH)2D sentezlenmesinde parathormon (PTH), kalsiyum (Ca) ve fosfor (P) düzeyleyleri de etkili olmaktadır (181).

1 $\alpha$  hidroksilaz enziminin en önemli regülatörü parathormon iken prolaktin, östrojen ve growth hormon 1,25 (OH)2D3 vitaminin üretimini artırır. 1,25 (OH)2D3

vitamini insanda günde 1 gr kadar üretilir ve plazmada 40-60 pg/ml düzeyinde olup plazma yarılanma düzeyi yaklaşık olarak 3-6 saattir. 25 (OH)D'nin yarı ömrü nispeten daha uzun olup yaklaşık olarak 2-3 haftadır (188). Bu nedenle 25(OH)D pratikte D vitamini düzeyini belirlemede kullanılır. Serum 25(OH)D düzeyi 20-30 ng/ml ise D vitamini yetmezliği, < 20 ng / ml D vitamini eksikliği, 150 ng/ml ise D vitamini intoksikasyonudur (183, 184).

D vitamininin ana taşıyıcı proteini olan DBP (D Vitamini Bağlayan Protein) karaciğerde üretilir. Dolaşımdaki total 25(OH)D %85-90 oranında DBP'e bağlanır (184, 185). DBP ile taşınmayan kısım %10-15 albümin ile, %1'den az olarak da serbest formda taşınır ve biyoaktif vitamin D olarak bilinir (185) DBP, D vitamininin bazı işlevlerini inhibe eder, çünkü bağlı fraksiyon hedef hücreler üzerine etki edemez (186). Ayrıca DBP, D vitamininin yarı ömrünün uzaması ve glomerüler filtrasyonunun azalmasını sağlar. Nefrotik sendrom hastalarında DBP kaybı nedeniyle 25(OH)D yarı ömrü azalmaktadır (184).

D vitamini etkisini, Vitamin D reseptörü (VDR) aracılığıyla gösterir (184). VDR retinoid X reseptörü ile heterodimer yaparak DNA-subunitine bağlanır ve çeşitli işlemlerden sonra gen ekspresyonu meydana gelir. D vitamini reseptörü keratinositler, merkezi sinir sistemi hücreleri, pankreas beta hücreleri, bağışıklık sistemi hücreleri, kalpteki miyositler, renal tübül ve bağırsak başta olmak üzere birçok dokuda eksprese edilir (187) 1,25(OH)2D ince bağırsak epitelinde VDR ile etkileşir, kalsiyum ve fosfor emilimini artırır (188).

Osteoblast üzerindeki VDR ile etkileşim sonucu osteoklasta dönüşüme (vitamin D3-osteoblast üzerindeki VDR reseptörü ile etkileşimi sonrasında osteoblast üzerindeki RANK ligandının üretimini uyarır, üretimi artan RANK ligandı olgun olmayan osteoklast üzerindeki RANK reseptörüne bağlanıp osteoklastların olgunlaşması sağlanır) yol açar (189). Osteoklastların fonksiyonu ise kemik matriksin çözünmesi ve dolaşıma kalsiyumun salınmasını sağlamaktır, bu yolla kalsiyum dengesi korunmaya çalışılır. Kemik matriksinin osteoklastlar tarafından çözünmesi kemik şekillenmesinin önemli bir basamağıdır. D vitamini eksikliğinde kemik mineralizasyon defekti vardır. İyonize kalsiyumun serum düzeylerinin azalması ile sekonder hiperparatiroidizm gelişir. PTH, fosforun idrar ile atılımını artırıp mineralizasyon kusurunu daha da artırır. D vitamini eksikliği olan

erişkinlerde, yeni oluşmuş kemiğin kollajen matriksinin kusurlu mineralizasyonu sonucu osteomalaziye yol açar (184).

D vitamininin immun sistem üzerindeki etkisi ise karmaşıktır. VDR immun sistem hücrelerinden, özellikle aktif T lenfositler ve dendritik hücrelerden oldukça fazla eksprese edilir; ayrıca monosit, makrofaj, sitotoksik natural killer (NK) hücreleri ve B lenfosit gibi hücrelerde de eksprese edilir (187, 190). Regülatör T hücrelerinin üretimini uyarır, T helper 1 ve T helper-17 üretimini azaltır, B hücre öncüllerinden plazma hücresi oluşmasını ve dendritik hücrelerin olgunlaşmasını önler (187, 190). Sonuçta proinflamatuvar sitokinlerin (IL-2, IL-3, TNF- $\alpha$ , IFN-  $\gamma$  gibi) oluşumunu azaltır ve antiinflamatuvar sitokinlerin (IL-4, IL-5, IL-10 ve TGF-  $\beta$  gibi) oluşumunu artırır (187, 190). D vitamini eksikliğinde ise tam tersi söz konusudur. D vitamininin immün sistem üzerine olan bu etkisi D vitamini eksikliği ve otoimmün hastalıklar arasındaki bağlantıyı açıklayabilir.

D vitamini kardiyovasküler sistemde ise damarlarda köpük hücre oluşumunu ve makrofajların kolesterol alımını inhibe ettiği, vasküler düz kas hücrelerinin proliferasyonunu azalttığı, lenfositlerden salınan sitokinlerin inhibisyonu ile endotel hücrelerinde adhezyon moleküllerinin üretimini baskıladığı ve bu sayede ateroskleroza karşı koruma sağladığı görülmüştür (181).

D Vitamini ile obezite arasında ilişki üzerine yapılan çalışmalarda obezler ile 25 (OH)D düzeyi arasında anlamlı negatif bir ilişki tesbit edilmiştir (191).

D vitamini ile Diabetes Mellitus arasında ilişki üzerine yapılan çok sayıdaki çalışmalar yapılmış bunlarda; Tip 2 diyabetli bireylerde D vitamini belirleyicisi olan 25(OH)D düzeyinin diyabetik olmayanlara göre daha düşük olduğu, plazmada D vitamini seviyesinin insülin direncini etkilediği ve bu düzeyin yeterli olmadığı durumlarda insülin duyarlılığı ve salınımının azaldığı ve promonosit hücrelerde insülin reseptörünü azalttığı belirtilmiştir (192). Başka bir çalışmada da Tip 2 diyabetli hastalarda vitamin D takviyesinin insülin direncini azalttığı görülmüştür (193).

Vitamin D<sub>3</sub>'ün yapılan çalışmalarda antioksidatif etkilere sahip olduğu gösterilmiştir (194). Bunun üzerine oksidatif stres ile vit D ve kalsiyum dengesi arasındaki değerlendirilmede ise; Oksidatif streste kalsiyum dengesi ve mitokondrial membran potansiyeli değişir. Bu değişiklik mitokondriumlarda ve DNA'da hasara

yol aarak hücreyi programlı ölüme yani apoptozise uğramasına yol aar. Hücre içi elektron dengesinin bozulması, oksidatif stres, mitokondrial defektler ve antioksidan sistemin yetersiz kalması apoptoz oluşumunu indükleyebilir (36).

Vitamin D'nin antioksidatif etkileri üzerine yapılan çalışmalardan; Lin ve arkadaşlarının çalışmalarında çinko ile serebral oksidatif stres oluşturulmuş ve vitamin D'nin antioksidan özellikleri iyi bilinen melatonin, beta östradiyol ve vitamin E ile karşılaştırmışlar. Vitamin D'nin diğer antioksidanlardan daha güçlü antioksidan olduğunu ve bununda lipit peroksidasyonunu ve otooksidasyonu azaltıcı etkileri ile ilişkili olduğunu göstermişlerdir (195).



## 2. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma Hayvan Deneyleri Etik Kurulu'nun 31.05.2017 tarih ve 129 Sayılı kararı ile etik yönden uygun bulunarak Fırat Üniversitesi Deneysel Araştırma Merkezi (FÜDAM) biriminde ve Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji laboratuvarında yapıldı.

### 2.1. Deney Hayvanları ve Beslenmeleri

Deneysel çalışmada kullanılan 41 adet 8-10 haftalık erişkin Wistar albino cinsi erkek sıçanlar, FÜDAM biriminden temin edildi. Hayvanlar FÜDAM hayvan laboratuvarında buldukları ortamın sıcaklığı 22–25°C arasında sabit tutularak 12 saat ışık (07: 00-19: 00) ve 12 saat (19: 00- 07: 00) karanlıkta takip edildi. Sıçanlar özel olarak yaptırılan kafeslerde beslendi ve her gün altları temizlendi. Tüm hayvanlara aynı standart sıçan yemi verilerek add libitum su ve yiyecek alımları sağlandı. Yemler; çelik kaplarda, su; cam biberonlarda normal çeşme suyu olarak verildi. Hayvan yemleri Elazığ Yem Sanayi A.Ş. Yem Fabrikası'nda hazırlandı. Yemlerin terkibi Tablo 4'de gösterildi.

**Tablo 4.** Deney Hayvanlarına Verilen Sıçan Yeminin Terkibi

Sıçan Yeminin Terkibi	%
Buğday	15
Mısır	10
Arpa	27
Kepek	8
Soya	29,4
Balık Unu	8
Tuz	0,6
Kavimix VM 23-Z*	0,2
Methionin	0,2
DCP **	1,6

\* 1 gramında: 4800 IU A, 960 IU D<sub>3</sub>, 12 mg E, 0,8 mg K<sub>3</sub>, 0,8 mg B<sub>1</sub>, 2,4 mg B<sub>2</sub>, 1,2 mg B<sub>6</sub>, 0,006 mg B<sub>12</sub> vitaminleri, 16 mg Nicotin amid, 3,2 mg Cal. D. Panth. 0,32 mg Folic acid, 0,02 mg D-Biotin, 50 mg Cholin Chloride, 20 mg Zinc Bacitracin, 32 mg Mn, 16 mg Fe, 24 mg Zn, 2 mg Cu, 0,8 mg I, 0,2 mg Co, 0,06 mg Se, 4 mg Antioksidan ve 200 mg Ca.\*\* %18 fosfor, %25 kalsiyum, %0,2 flor'dan oluşur

### 2.2. Diyabet İndüksiyonu

Çalışmanın bu kısmında kullanılacak 20 adet sıçanda diyabet oluşturmak için 26 gauge'lık insülin enjektörüyle 50 mg/kg dozunda STZ (Streptozosin, Zanosar, Pharmacia, France) intraperitoneal (i.p) olarak 0, 4 ml (0, 1 M) sodyum-Buffer'ında

(pH: 4, 5) çözdürülerek tek doz uygulandı. 72 saat sonra kuyruk veninden kan alınarak, glukometre cihazındaki ölçümü sonucu açlık kan glikozu > 250 mg/dl'yi geçen sıçanlar, diyabetik olarak kabul edildi. Kan şekeri ölçümü Glucostix (Myles, Ekhart, IN) ile yapıldı. Sıçanların açlık kan glikoz düzeylerini saptamak için kan örnekleri, 8-10 saatlik açlık sonrasında sabah 8-10 arasında alındı.

### **2.3. Deney Gruplarının Oluşturulması**

Ağırlıkları 200-220 gr arasında değişen 8-12 haftalık 41 adet Wistar Albino cinsi erkek sıçanlar 5 gruba ayrıldı;

**Grup I (Kontrol grubu)(n=7);** Deney süresi olan 8 hafta boyunca herhangi bir işlem yapılmadı. Deney başlangıcı ve sonunda açlık glikoz düzeyleri ölçülüp kaydedildi.

**Grup II (Buffer grubu) (n=7);** Tek doz 0.1 M sodyum Buffer'ı i.p uygulandı. Deney başlangıcı ve sonunda glikoz düzeyleri ölçülüp kaydedildi.

**Grup III (Vitamin D grubu) (n=7);** 8 Haftalık deney süresi boyunca her gün Vitamin D 200IU/gün oral yolla damlalık aracılığıyla uygulandı. Deney başlangıcı ve sonunda düzenli bir şekilde glikoz düzeyleri ölçülüp kaydedildi.

**Grup IV (Diyabetik grup) (n=10);** 50mg/kg olacak şekilde tek doz STZ 0.1 M sodyum Buffer'ında (Ph: 4.5) çözdürülerek i.p olarak uygulandı. 72 saat sonra kuyruk veninden kan glikoz düzeyi 250 mg/dl üzerinde olanlar diyabetik kabul edilip, deney başlangıcı ve sonunda glikoz düzeyleri ölçülüp kaydedildi.

**Grup V (Diyabet+Vitamin D grubu) (n=10);** 50mg/kg olacak şekilde tek doz STZ 0.1 M sodyum Buffer (Ph: 4.5) çözdürülerek i.p olarak uygulandı. 72 saat sonra kuyruk veninden kan glikoz düzeyi 250 mg/dl üzerinde olanlar diyabetik kabul edildi. Deneysel diyabet oluşturulduktan sonra deney süresi boyunca her gün Vitamin D 50IU/gün oral yolla damlalık aracılığıyla uygulandı. Deney başlangıcı ve sonunda glikoz düzeyleri ölçülüp kaydedildi.

### **2.4. Örneklerin Alınması**

Tüm gruplardaki sıçanlar deney sonunda tartıldıktan sonra, ketamin (75mg/kg)+xylazine (10mg/kg) i.p uygulanarak anestezi altında dekapite edildiler. Dekapitasyonun ardından sıçanların böbrek dokuları hızla çıkarıldı. Tüm gruplara ait böbrek dokuları histolojik çalışma için %10'luk formaldehit solüsyonunda tespit edildi.

## **2.5. Biyokimyasal Çalışma**

### **2.5.1. Kan glikoz düzeyleri**

Kan glikoz düzeyleri çalışma süresince glukometre (Glucostix (Myles, Ekhart, IN) ile ölçüldü. Bununla birlikte diğer biyokimyasal çalışmalar aydın s. (Suna Aydın, Sıçan Akciğer ve Karaciğerinde Formaldehit Maruziyetiyle Oluşan Oksidatif Hasar ve İrisin Hormon Değişimlerine Karşı Karnozinin Etkisinin Biyokimyasal, Histopatolojik ve İmmünohistokimyasal Olarak İncelenmesi, doktora tezi, Fırat üniversitesi, Sağlık bilimleri enstitüsü, Anatomi anabilim dalı, 2015) nın kullandığı moleküler teknikler modifiye edilerek aşağıdaki gibi yapılmıştır.

### **2.5.2. Total Antioksidan (TAS) ve Total Oksidan Seviye (TOS) Ölçümleri**

#### **2.5.2.1. TAS Ölçümü**

Serum TAS düzeyleri Olympus AU2700 otoanalizöründe Rel Assay Total Antioksidan Status Test Kiti (Mega Tıp San. ve Tic. Ltd. Şti., Gaziantep, Türkiye) kullanılarak ölçüldü (196).

Çalışma Prensibi: Örnekteki antioksidanlar, asetat tampon (0,4 mol/L, pH: 3.6) solüsyonunun içerisinde bulunan konsantre haldeki koyu mavi-yeşil renkli ABTS•+ (30 mmol/L) (2,2'-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)) radikalini indirgenmiş renksiz ABTS şekline çevirir. Yüksek pH'daki asetat tampon (0.4 mol/L, pH: 5.8) solüsyonu ile dilüe edildiğinde örneklerde bulunan antioksidanlar sayesinde ABTS molekülü indirgenir ve renk açılır. Örneklerde bulunan antioksidan maddelerin konsantrasyonu ile renkteki açılma arasında ters orantı vardır. Spektrofotometrik olarak saptanan absorbans değişikliği örnekteki antioksidan seviyesiyle ilişkilidir. Stabil antioksidan standart solüsyonu (Trolox equivalent) ile kalibrasyon yapılır. Vitamin E analogu olan Trolox ile reaksiyon hızı ayarlanır ve birimi Trolox equivalent/L'dir (196).

#### **2.5.2.2. TOS Ölçümü**

Serum TOS düzeyleri Olympus AU2700 otoanalizöründe Rel Assay Total Oksidan Status Test Kiti (Mega Tıp San. ve Tic. Ltd. Şti., Gaziantep, Türkiye) kullanılarak ölçüldü (197).

Çalışma Prensipleri: Örnekte bulunan oksidan ajanlar ferröz iyon şelatör kompleksini ferrik iyon okside ederler. Reaksiyon okside edici moleküller tarafından sürdürülür. Ferrik iyonu, asidik ortamda bulunan kromojen ile renkli bir kompleks yapar. Spektrofotometrik olarak ölçülen rengin yoğunluğu örneklerde bulunan oksidan maddelerin miktarı ile doğru orantılıdır. Bu ölçüm yöntemi hidrojen peroksit ile kalibre edilir ve sonuçlar litrede mikromolar hidrojen peroksit equivalent ( $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ Equiv./L}$ ) olarak ölçülür.

## 2.6. Histolojik Çalışma

Her gruptan alınan böbrek dokuları, %10'luk formaldehit solüsyonunda tespit edildikten sonra musluk suyunda yıkandı. Yıkanan dokular rutin histolojik takip serilerinden geçirildi (Tablo 5). Daha sonra dokular parafin bloklara gömüldü. Bu parafin bloklardan 4–6  $\mu\text{m}$  kalınlığında kesitler alındı.

**Tablo 5.** Histolojik takip serileri

Sıra	İşlem	Süresi
1	%70 Alkol	2 saat
2	%80 Alkol	1,5 saat
3	%96 Alkol I	30 dakika
4	%96 Alkol II	30 dakika
5	%100 Alkol I	30 dakika
6	%100 Alkol II	30 dakika
7	Alkol+Xylol	15 dakika
8	Xylol I	15 dakika
9	Xylol II	15 dakika
10	Yumuşak parafin+Xylol	45 dakika
11	Yumuşak parafin	1 saat
12	Yumuşak parafin+Sert parafin	1,5 saat
13	Sert parafin	3 saat
14	Gömme	

## 2.7. İmmünohistokimya

Parafin bloklardan 4–6  $\mu\text{m}$  kalınlığında alınan kesitler polilizinli lamlara alındı. Deparafinize edilen dokular dereceli alkol serilerinden geçirilip antijen retrieval için Buffer solüsyonunda pH: 6'da mikrodalga fırında (750W) 7+5 dakika kaynatıldı. Kaynatma sonrası oda ısısında yaklaşık 20 dakika soğutmak için bekletilen dokular PBS (Phosphate Buffered Saline, P4417, Sigma-Aldrich, USA) ile 3x5 dakika yıkandıktan sonra endojen peroksidaz aktivitesini önlemek için hidrojen peroksit blok solüsyonu ile 5 dakika inkübe edildi (Hydrogen Peroxide Block , TA-

125-HP, Lab Vision Corporation, USA). PBS ile 3x5 dakika yıkanana dokulara zemin boyasını engellemek için 5 dakika Ultra V Block (TA-125-UB, Lab Vision Corporation, USA) solüsyonu uygulandıktan sonra 1/200 oranında dilue edilen primer antikolar adropin ve betatrofin (anti-adropin antibody, ab122800, Abcam, Cambridge, UK ve betatrophin Polyclonal Antibody, PA5- 38043, Invitrogen, USA) ile 60 dakika nemli ortamda oda ısısında inkübe edildi. Dokular, primer antikor uygulanmasından sonra PBS ile 3x5 dakika yıkandıktan sonra sekonder antikor (biotinylated Goat Anti-Poliyvalent (anti-mouse / rabbit IgG), TP-125-BN, Lab Vision Corporation, USA) ile 30 dakika nemli ortamda oda ısısında inkübe edildi. Dokular, Sekonder antikor uygulanmasından sonra PBS ile 3x5 dakika yıkayıp Streptavidin Peroxidase (TS-125-HR, Lab Vision Corporation, USA) ile 30 dakika nemli ortamda oda ısısında inkübe edildikten sonra PBS içerisine alındı. Dokulara 3-amino-9-ethylcarbazole (AEC) Substrate+AEC Chromogen (AEC Substrate, TA-015 ve HAS, AEC Chromogen, TA-002-HAC, Lab Vision Corporation, USA) solüsyonu damlatılıp ışık mikroskopunda görüntü sinyali alındıktan sonra eş zamanlı olarak PBS ile yıkamaya alındı. Mayer's hematoksilen ile zıt boyaması yapılan dokular PBS ve distile sudan geçirilerek uygun kapatma solüsyonu (Large Volume Vision Mount, TA-125-UG, Lab Vision Corporation, USA) ile kapatıldı. Hazırlanan preparatlar Leica DM500 mikroskopunda incelenerek değerlendirildi ve fotoğraflandı (Leica DFC295).

Boyamada immünreaktivitenin yaygınlığı (0.1: <%25, 0.4: %26-50, 0.6: %51-75, 0.9: %76-100) ve şiddeti (0: yok, +0.5: çok az, +1: az, +2: orta, +3: şiddetli) esas alınarak histoskor oluşturuldu. Histoskor= yaygınlık x şiddet

## **2.8. TUNEL Metodu**

Parafin bloklardan 5-6 µm kalınlığında alınan kesitler polilizinli lamlara alındı. Üretici firmanın talimatları doğrultusunda ApopTag Plus Peroxidase In Situ Apoptosis Detection Kit (Chemicon, cat no: S7101, USA) kullanılarak apoptoza giden hücreler belirlendi.

Xylene ile deparafinize edilen dokular, dereceli alkol serilerinden geçirilerek phosphate buffered saline (PBS) ile yıkandı. 0.05%'lik proteinase K ile 10 dakika inkübe edilen dokular, endojen peroksidaz aktivitesini engellemek için %3 hydrogen peroxide ile 5 dakika inkübe edildi. PBS ile dokular yıkandıktan sonra, 6 dakika

Equilibration Buffer ile inkübe edilip, 37° C' de nemli ortamda çalışma solüsyonu (%70 µl Reaction Buffer+%30 TdT Enzyme) ile 60 dakika inkübe edildi. Stop/Wash Buffer da 10 dakika bekletilen dokular, Anti-Digoxigenin-Perosidaz ile 30 dakika muamele edildi. Diaminobenzidine (DAB) substratı ile apoptotik hücreler görüntülendi. Harris hematoksilen ile zıt boyası yapılan kesitler uygun kapatma solüsyonu ile kapatıldı. Hazırlanan preparatlar Leica DM500 mikroskopunda incelenerek değerlendirildi ve fotoğraflandı (Leica DFC295). TUNEL boyamanın değerlendirilmesinde Harris hematoksilen ile maviye boyanmış çekirdekler normal, kahverengi nükleer boyanma gösteren hücreler apoptotik olarak değerlendirildi. Kesitlerde 10'luk büyütmede rastgele seçilen alanlarda, normal ve apoptotik en az 500 hücre sayıldı. Apoptotik hücrelerin, toplam (normal+apoptotik) hücrelere oranlanması ile Apoptotik indeks (AI)'i hesaplanarak istatistiksel analizleri yapıldı.

Boyama metodu aşağıdaki tabloda ayrıntılı olarak verilmiştir (Tablo 6).

**Tablo 6.** TUNEL Boyama Prosedürü.

İşlem	Süre
60°C etüv	Bir
Xylol	3X1
% 100, %96, %80, %70 etil alkol	3'er
PBS	5
Kesitlerin çevreleri sınırlayıcı kalem ile çizilir.	.....
1: 500 d ilüsyondaki Protinaz K solüsyonu	20
PBS	3X5
Endojen peroksit blokağı (%3 H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> )	3
PBS	3X5
Equilibration tampon solüsyonu	10
Çalışma solüsyonu (%70 µl Reaction Buffer+%30 TdT Enzyme) 37°C'de	60 dakika
Stop/Wash Buffer (2ml) +Distile su (68ml) Oda sıcaklığında	10
Anti-Digoxigenin-Peroxidase	30
PBS	3X5
DAB Dilution Buffer+DAB Substrate	5-10
PBS	3X5
Distile su	5
Harris hematoksilen	1-5
Distile su	5
%80, %96 ve %100 etil alkol	1'er
Xylol	2X5
Kapatma medyumu kullanılarak lamel ile kapatma.	.....

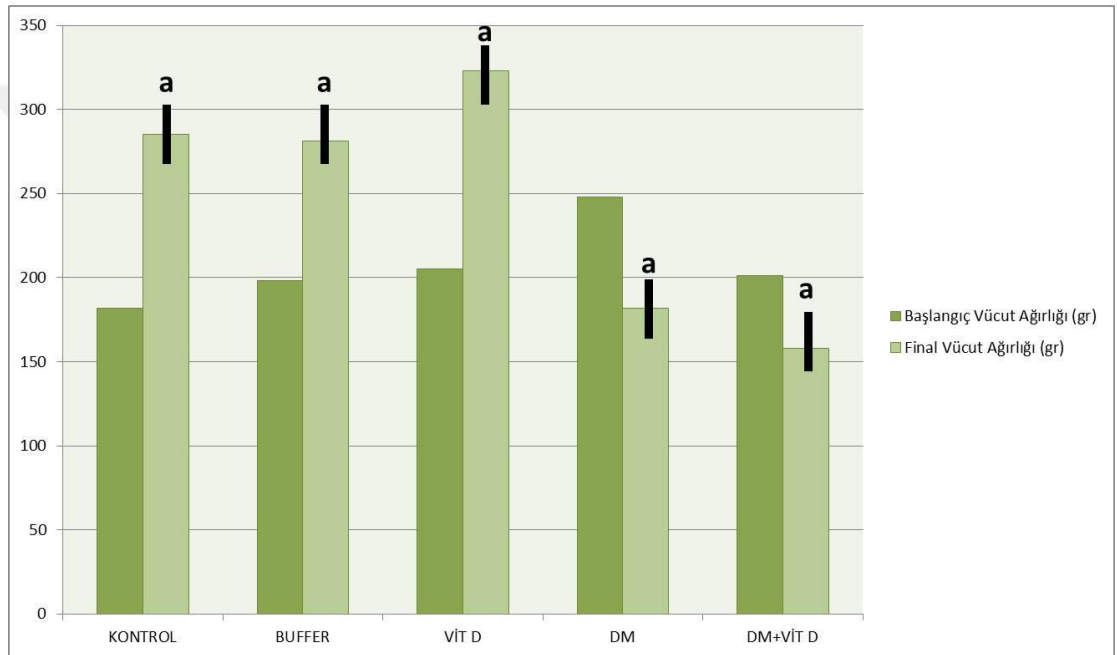
## 2.9. İstatistiksel Analiz

Elde edilen veriler ortalama  $\pm$  standart sapma olarak belirlendi. İstatistiksel analiz için SPSS version 22 programı kullanıldı. Gruplar arası değerlendirme One-way ANOVA ve Posthoc Tukey testi ile yapıldı.  $p < 0.05$  değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

### 3. BULGULAR

#### 3.1. Klinik Bulgular

Tüm gruplara ait sıçanların başlangıç ve final vücut ağırlıkları değerlendirildiğinde; Kontrol, Buffer ve Vitamin D gruplarındaki sıçanların vücut ağırlıkları başlangıca göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde artmış olarak izlendi ( $p<0.05$ ). Bununla birlikte, Diyabet ve Diyabet+Vitamin D gruplarındaki sıçanların vücut ağırlıkları başlangıca göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azalmış olarak izlendi ( $p<0.05$ ) (Şekil 1).



Değerler ortalama±standart sapma olarak verilmiştir.

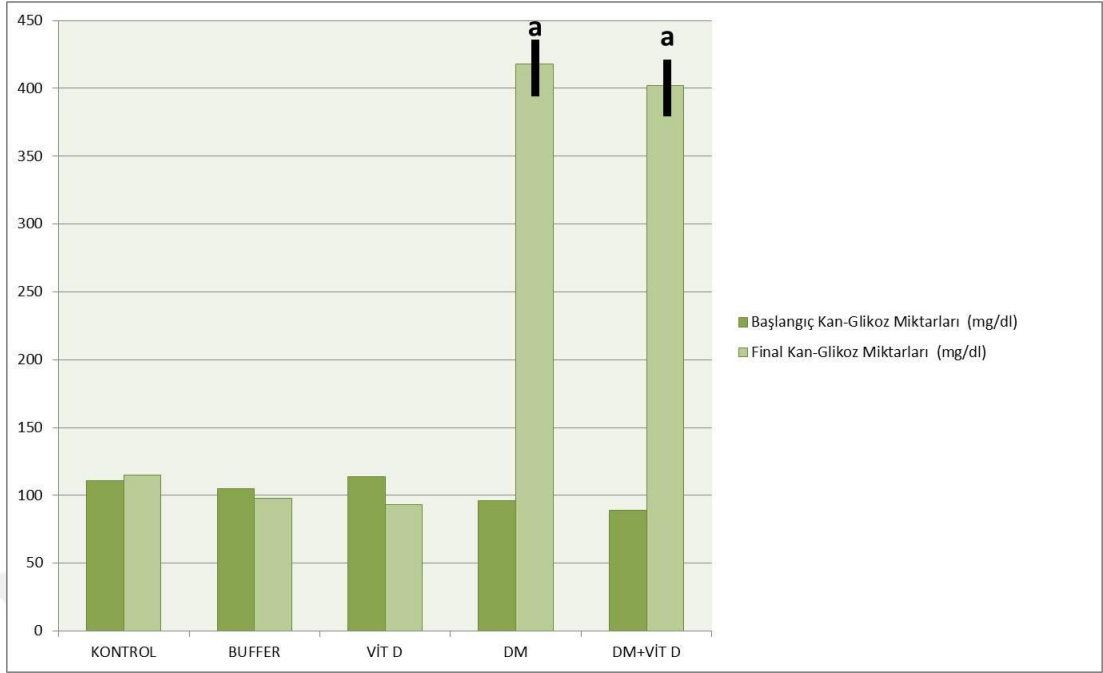
<sup>a</sup> Başlangıç vücut ağırlığına göre karşılaştırıldığında, ( $p<0.05$ ).

**Şekil 1.** Deney hayvanlarının başlangıç ve final vücut ağırlıkları (gr).

#### 3.2. Biyokimyasal Bulgular

##### 3.2.1. Kan-glikoz miktarları

Tüm gruplara ait sıçanların başlangıç ve final kan-glikoz miktarları değerlendirildiğinde; Kontrol, Buffer ve Vitamin D gruplarındaki sıçanların kan-glikoz miktarlarında başlangıca göre bir değişiklik gözlenmedi. Bununla birlikte, Diyabet ve Diyabet+Vitamin D gruplarındaki sıçanların kan-glikoz miktarları başlangıca göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde artmış olarak izlendi ( $p<0.05$ ) (Şekil 2).



Değerler ortalama±standart sapma olarak verilmiştir.

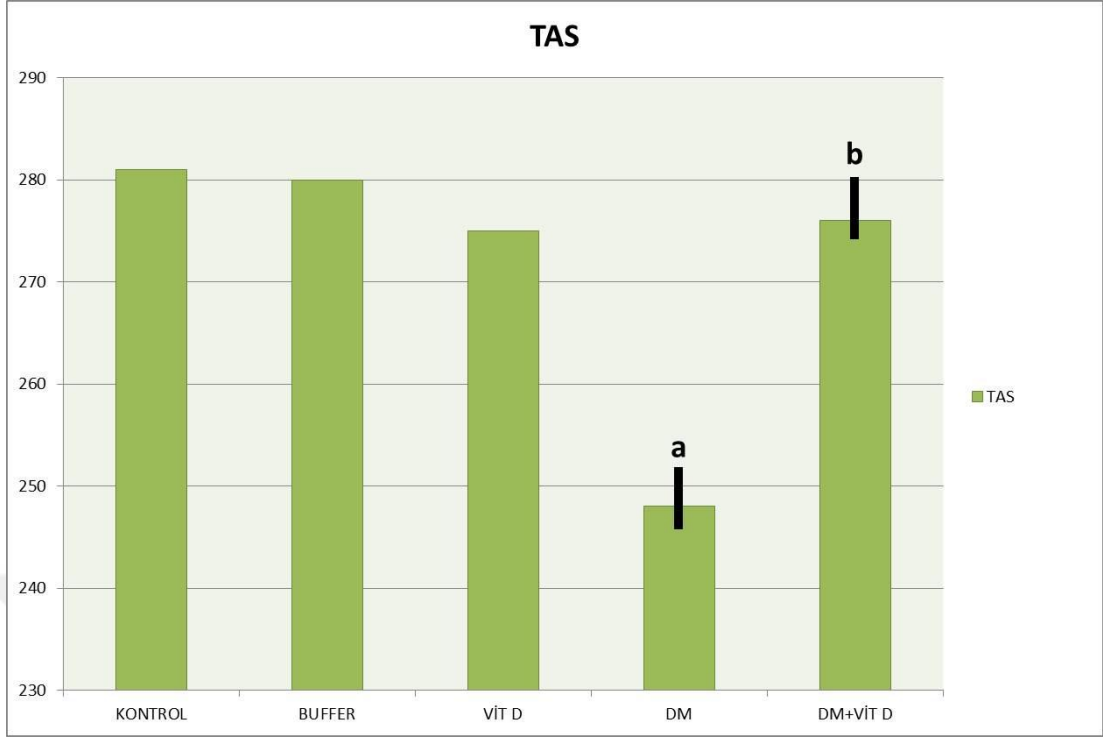
<sup>a</sup> Başlangıç vücut kan-glikoz değerlerine göre karşılaştırıldığında, ( $p<0.05$ ).

**Şekil 2.** Deney hayvanlarının başlangıç ve final kan-glikoz miktarları (mg/dl)

### 3.3. TAS ve TOS Düzeyleri

#### 3.3.1 TAS Düzeyleri

Tüm gruplara ait serum TAS düzeylerinin değerlendirilmesi için yapılan biyokimyasal çalışmada; TAS düzeyleri; Kontrol, Buffer ve Vitamin D gruplarında benzerdi. Kontrol grubuyla kıyaslandığında Diyabet grubunda TAS düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azalmış izlendi ( $p<0.05$ ). Diyabet grubu ile kıyaslandığında ise Diyabet+Vitamin D grubunda TAS düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde artmış gözlemlendi ( $p<0.05$ ) (Şekil 3).



Değerler ortalama±standart sapma olarak verilmiştir.

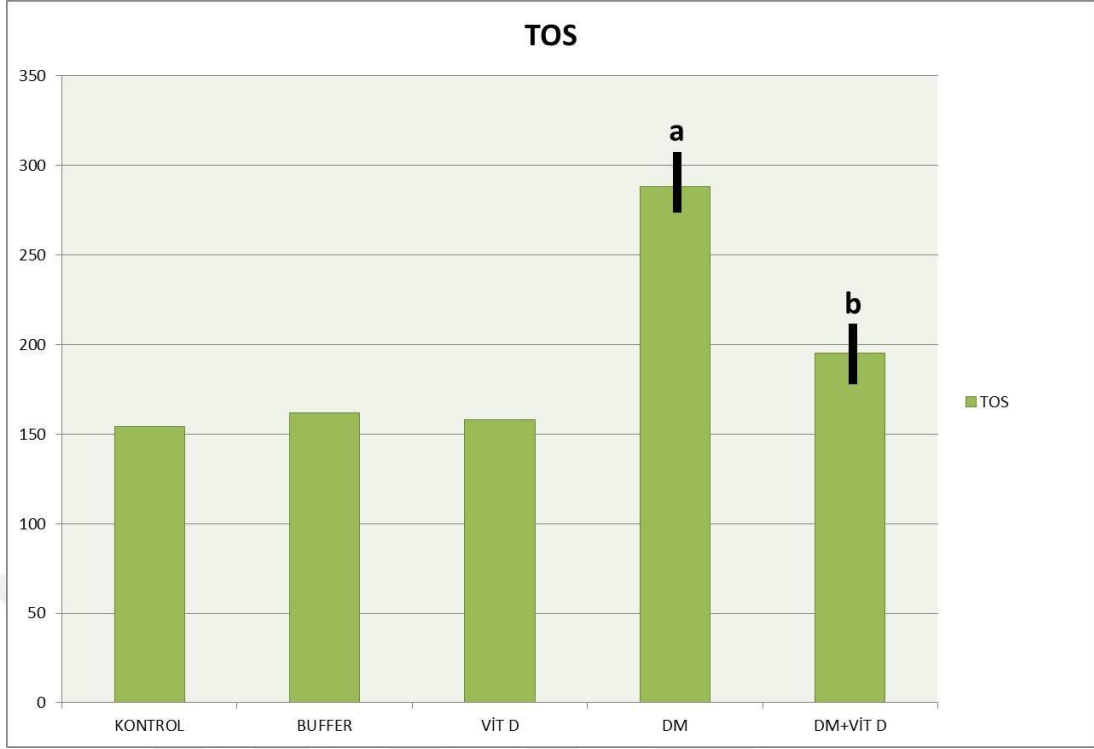
<sup>a</sup> Kontrol grubuna göre karşılaştırıldığında,

<sup>b</sup> Diyabet grubu ile karşılaştırıldığında, ( $p<0.05$ ).

### Şekil 3. Serum TAS düzeyleri

#### 3.3.2. TOS Düzeyleri

Tüm gruplara ait serum TOS düzeylerinin değerlendirilmesi için yapılan biyokimyasal çalışmada; TOS düzeyleri; Kontrol, Buffer ve Vitamin D gruplarında benzerdi. Kontrol grubuyla kıyaslandığında Diyabet grubunda TOS düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde artmış izlendi ( $p<0.05$ ). Diyabet grubu ile kıyaslandığında ise Diyabet+Vitamin D grubunda TOS düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azalmış gözlemlendi ( $p<0.05$ ) (Şekil 4).



Değerler ortalama±standart sapma olarak verilmiştir.

<sup>a</sup> Kontrol grubuna göre karşılaştırıldığında,

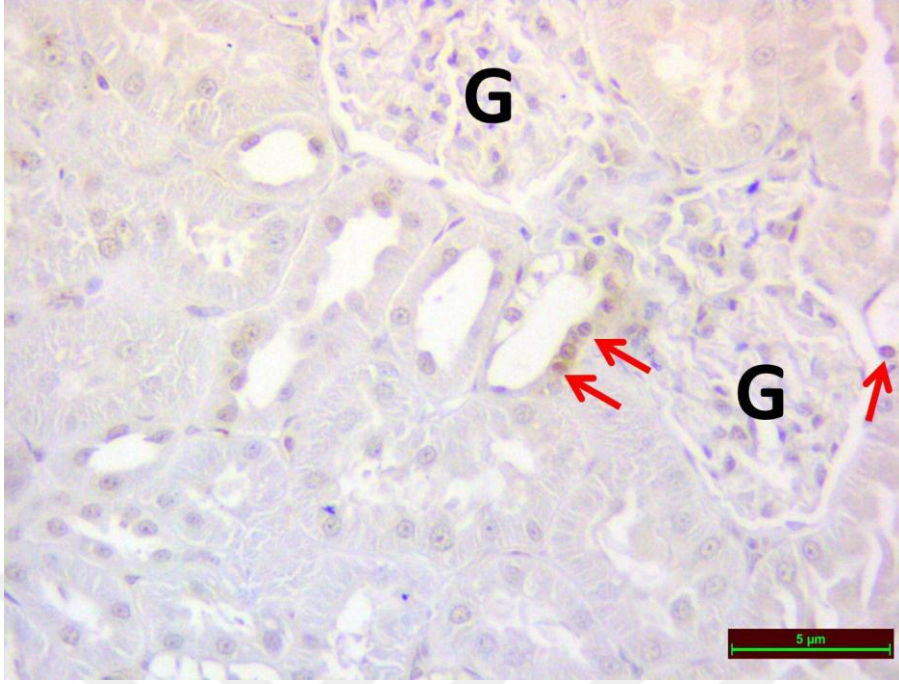
<sup>b</sup> Diyabet grubu ile karşılaştırıldığında, (p<0.05).

#### Şekil 4. Serum TOS düzeyleri

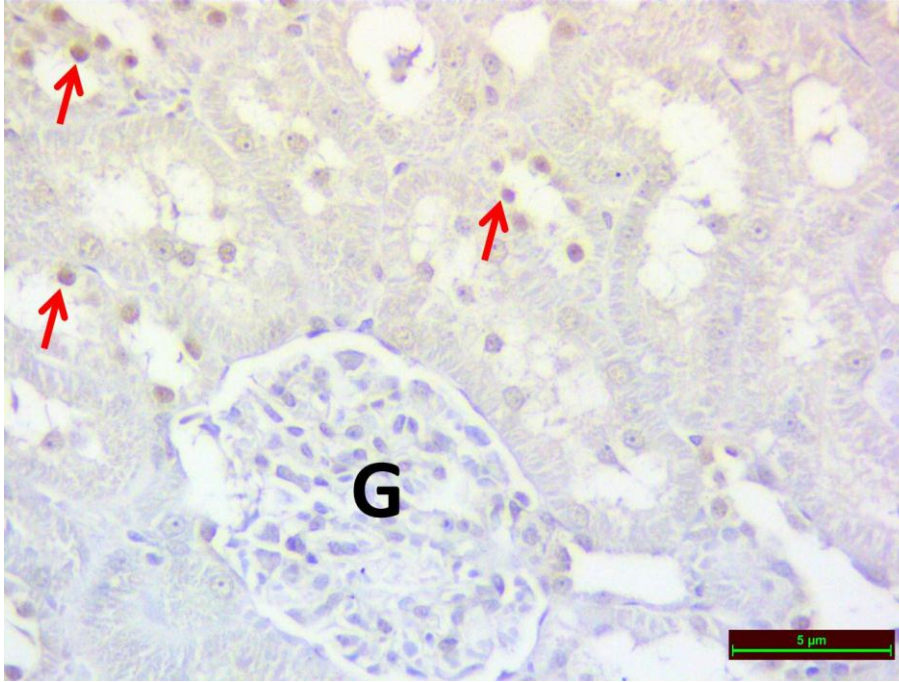
### 3.4. TUNEL Bulgular

Apoptotik hücrelerin belirlenmesi için yapılan TUNEL boyamanın ışık mikroskopi altında incelenmesi sonucu; TUNEL pozitifliği böbrek dokusunda tübül hücrelerde (kırmızı ok) gözlemlendi.

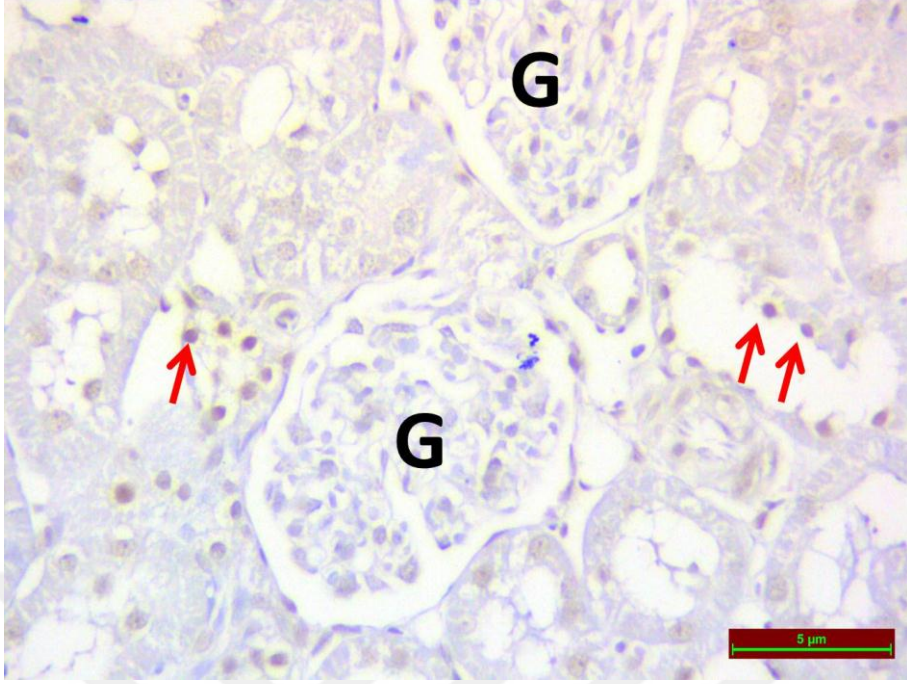
TUNEL pozitifliği; Kontrol (Şekil 5), Buffer (Şekil 6) ve Vitamin D (Şekil 7) gruplarında benzerdi. Kontrol grubuyla kıyaslandığında Diyabet (Şekil 8) grubunda TUNEL pozitifliği istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde artmış bulundu (p<0.05). Diyabet grubu ile kıyaslandığında ise TUNEL pozitifliği Diyabet+Vitamin D (Şekil 9) grubunda belirgin olarak azalmıştı (p<0.05). Apoptotik indeks (%) (Şekil 10).



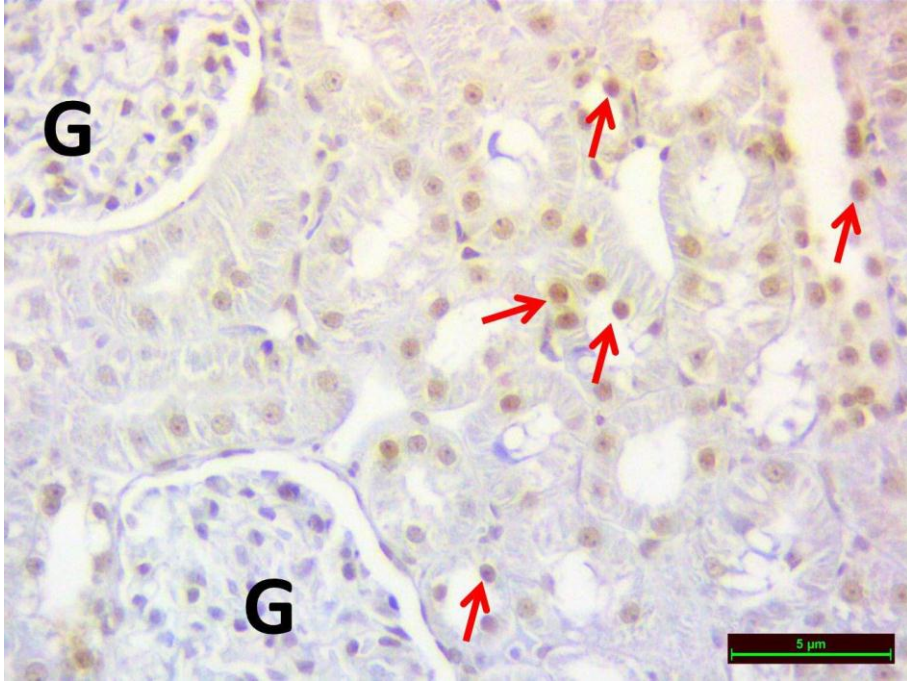
Şekil 5. Kontrol grubuna ait böbrek dokusunda TUNEL pozitif hücreler



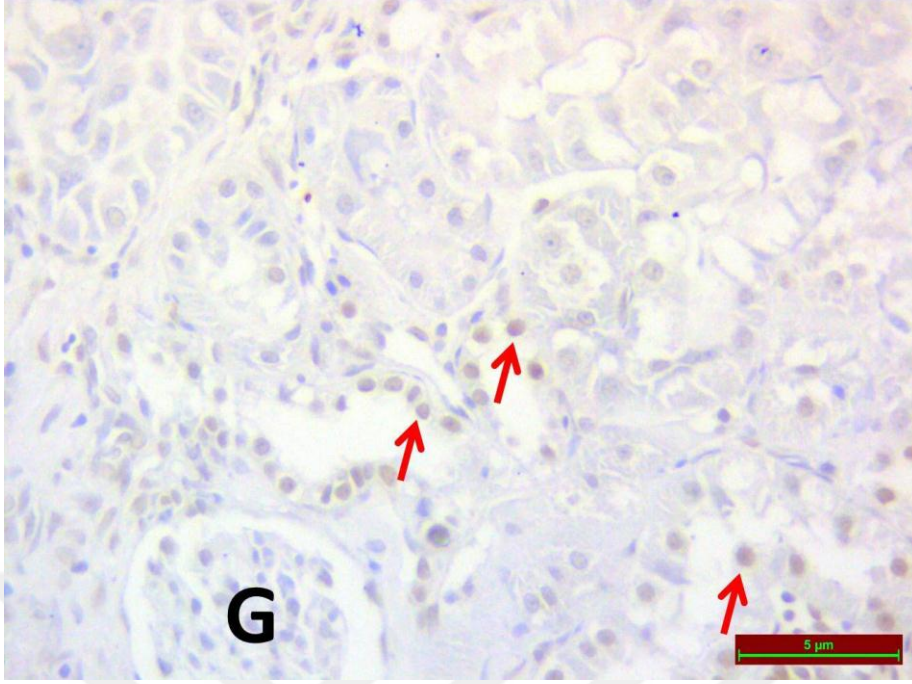
Şekil 6. Buffer grubuna ait böbrek dokusunda TUNEL pozitif hücreler



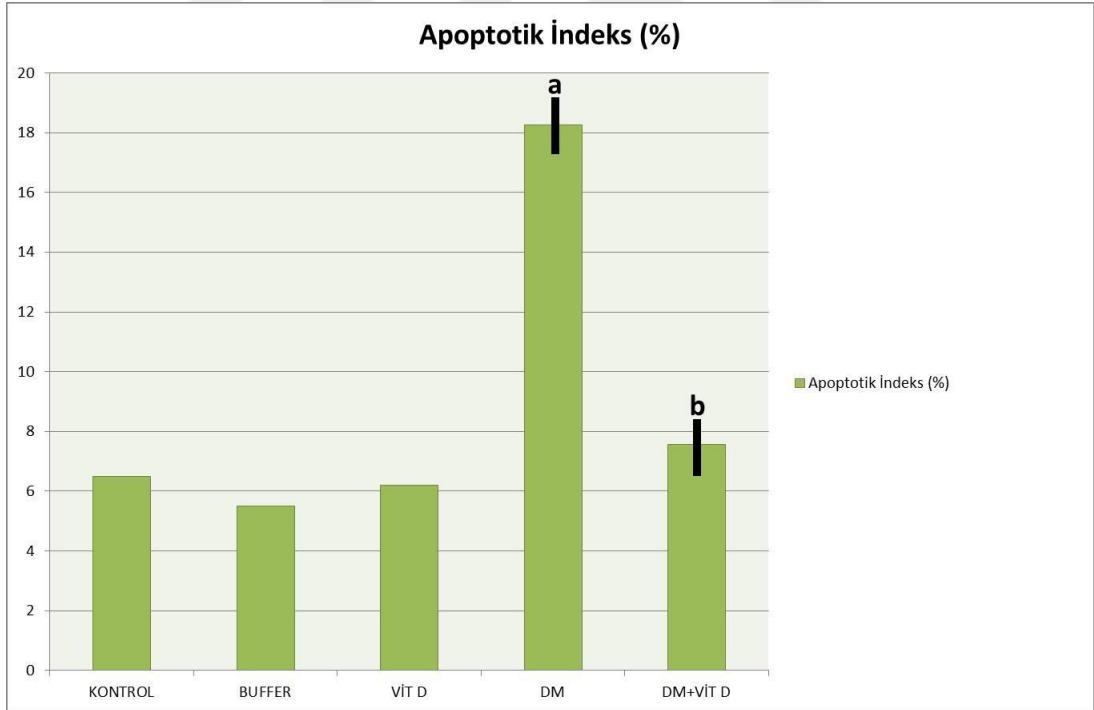
Şekil 7. Vit D grubuna ait böbrek dokusunda TUNEL pozitif hücreler



Şekil 8. DM grubuna ait böbrek dokusunda TUNEL pozitif hücreler



Şekil 9. DM+Vit D grubuna ait böbrek dokusunda TUNEL pozitif hücreler



Değerler ortalama±standart sapma olarak verilmiştir.

<sup>a</sup> Kontrol grubuna göre karşılaştırıldığında,

<sup>b</sup> Diyabet grubu ile karşılaştırıldığında, (p<0.05).

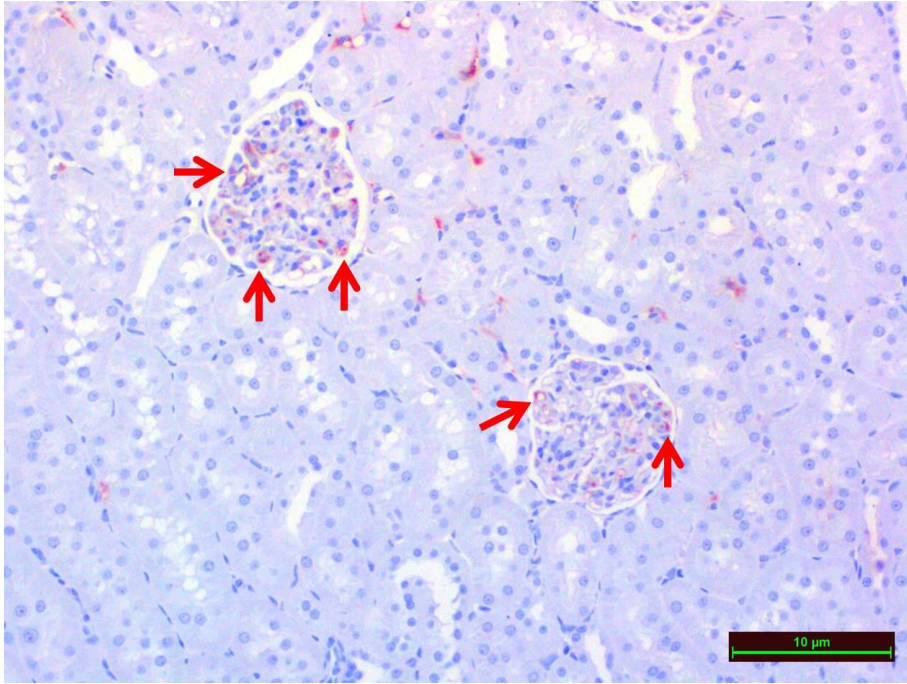
Şekil 10. Apoptotik İndeks

### 3.5. İmmünohistokimyasal Bulgular

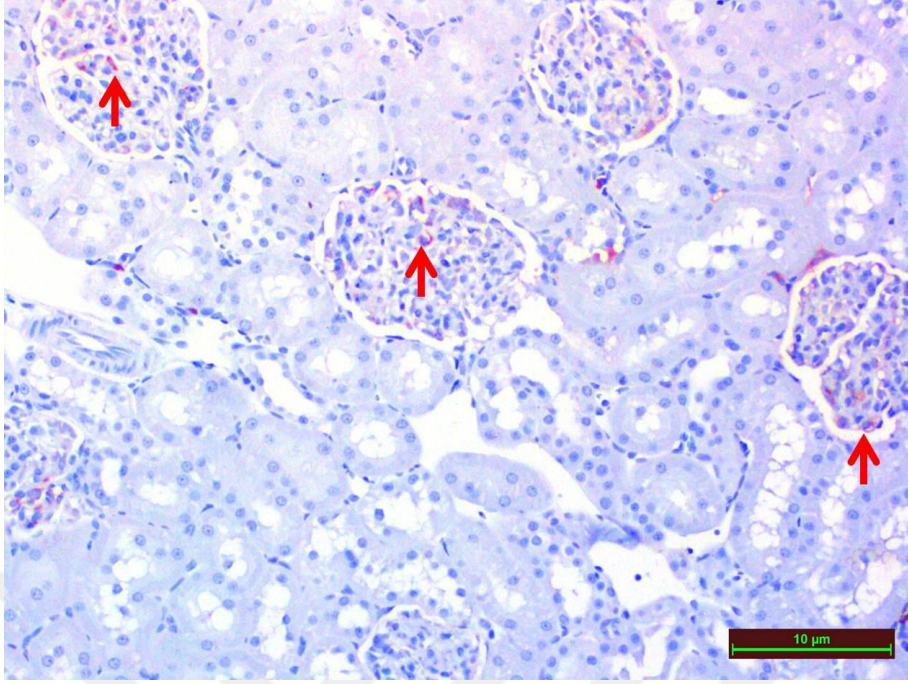
#### 3.5.1. Adropin İmmünreaktivitesi

Adropin immünreaktivitesi için yapılan immünohistokimyasal boyamanın ışık mikroskopi altında incelenmesi sonucu; Adropin immünreaktivitesi böbrek dokusunda Glomerüllerde (kırmızı ok) gözlemlendi.

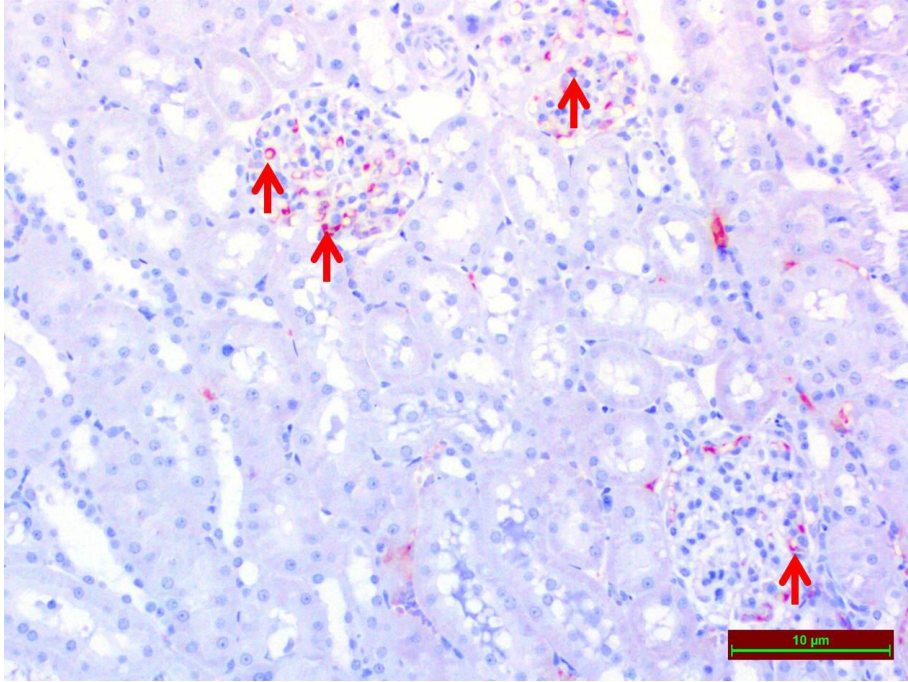
Böbrek dokusunda Adropin immünreaktivitesi; Kontrol (Şekil 11), Buffer (Şekil 12) ve Vitamin D (Şekil 13) gruplarında benzerdi. Kontrol grubuyla kıyaslandığında Diyabet (Şekil 14) grubunda Adropin immünreaktivitesi istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azalmış bulundu ( $p<0.05$ ). Diyabet grubu ile kıyaslandığında ise Diyabet+Vitamin D (Şekil 15) grubunda Adropin immünreaktivitesi istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde artmış bulundu ( $p<0.05$ ). Histoskor (Şekil 16).



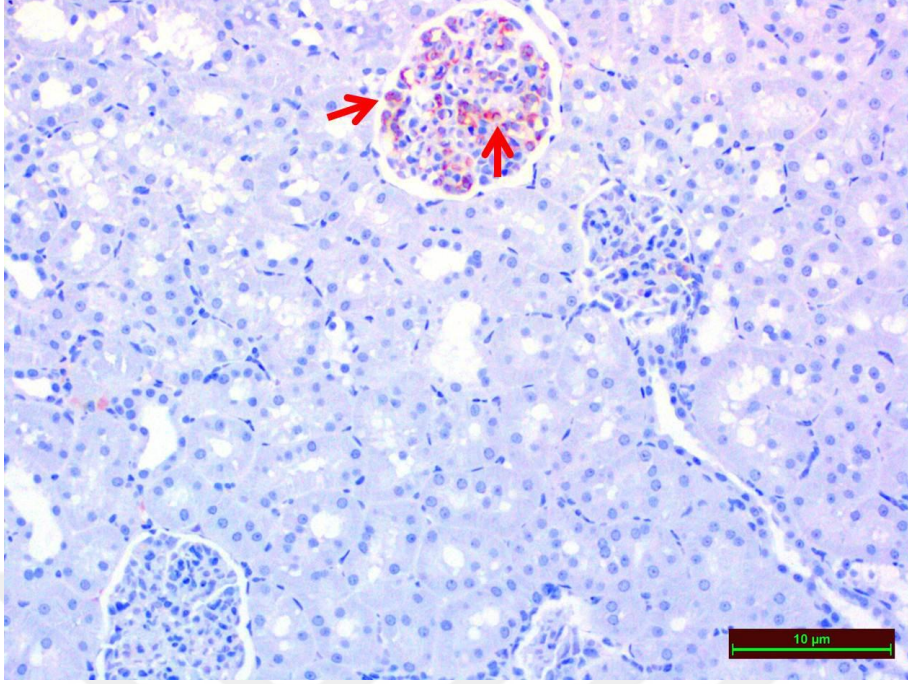
Şekil 11. Kontrol grubuna ait böbrek dokusunda Adropin immünreaktivitesi



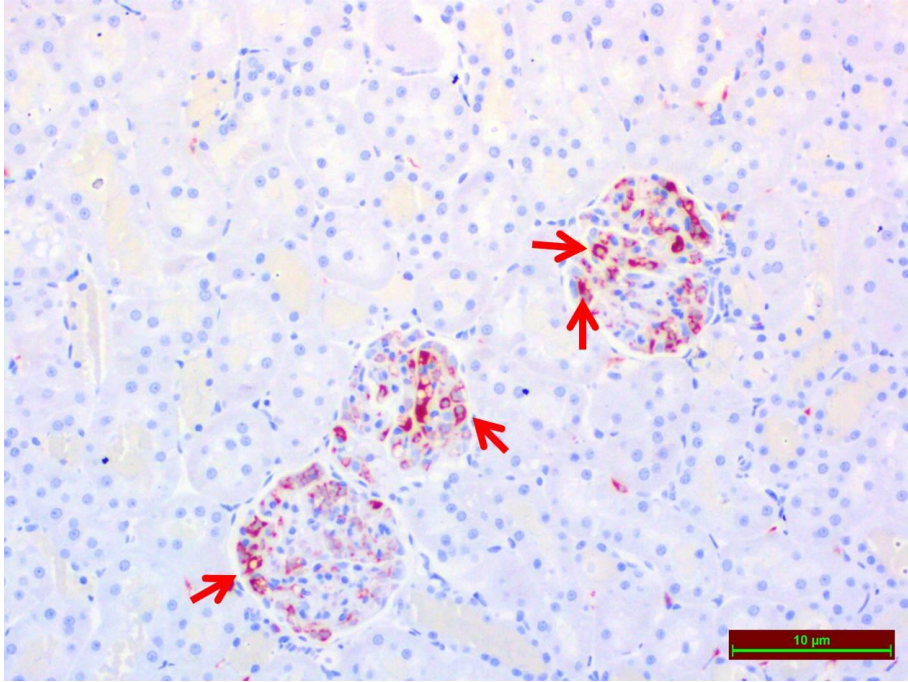
Şekil 12. Buffer grubuna ait böbrek dokusunda Adropin immünreaktivitesi



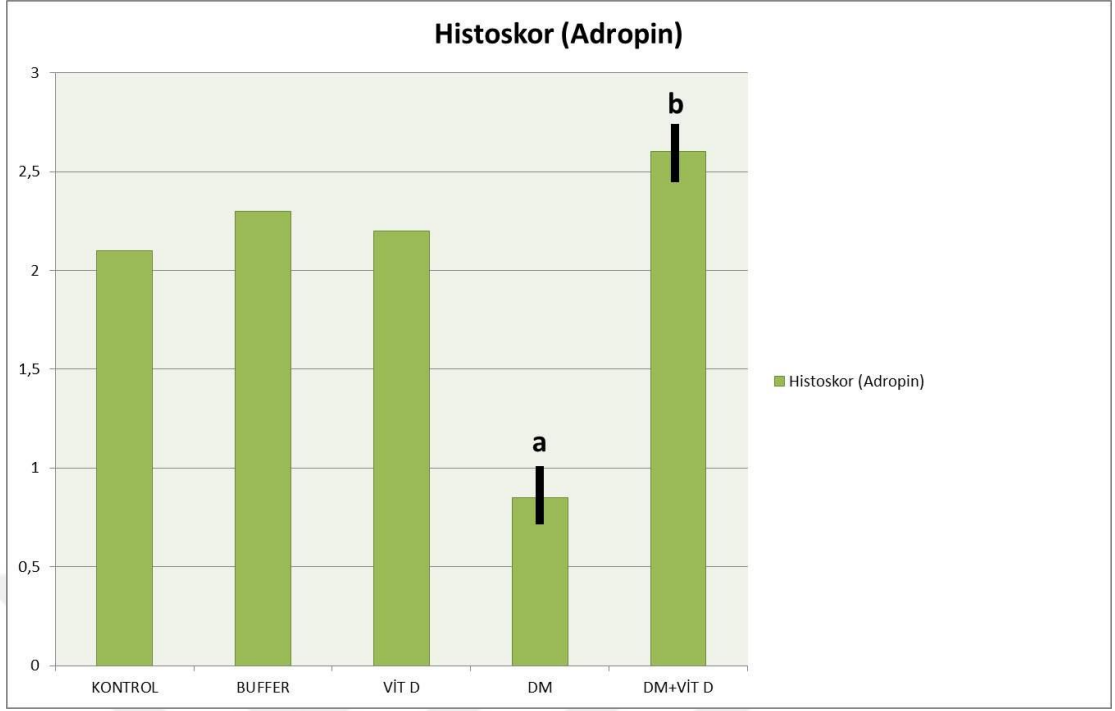
Şekil 13. Vit D grubuna ait böbrek dokusunda Adropin immünreaktivitesi



Şekil 14. DM grubuna ait böbrek dokusunda Adropin immünreaktivitesi



Şekil 15. DM+Vit D grubuna ait böbrek dokusunda Adropin immünreaktivitesi



Değerler ortalama±standart sapma olarak verilmiştir.

<sup>a</sup> Kontrol grubuna göre karşılaştırıldığında,

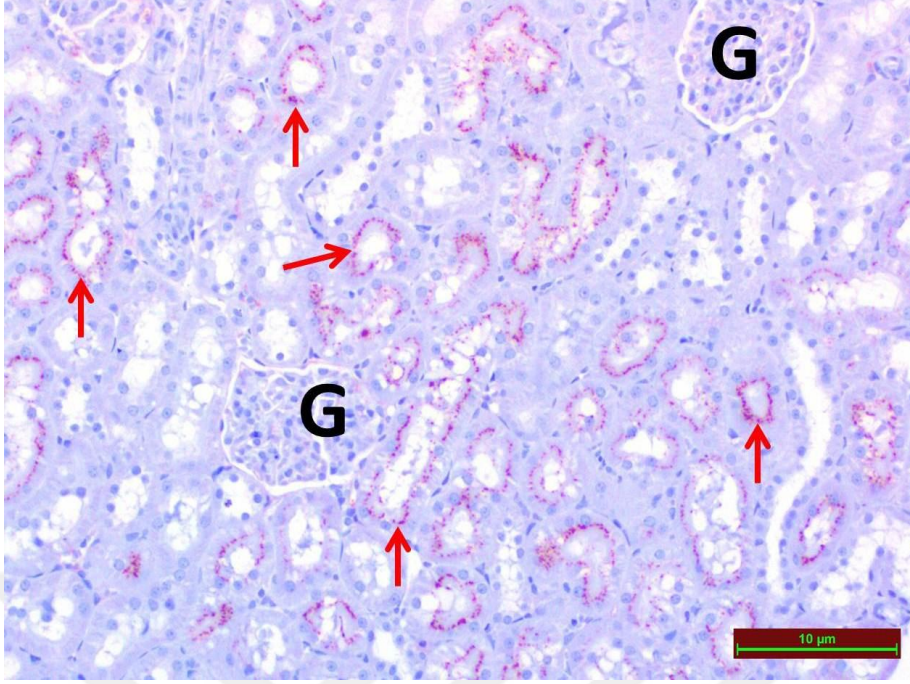
<sup>b</sup> Diyabet grubu ile karşılaştırıldığında, (p<0.05).

**Şekil 16.** Adropin Histoskoru

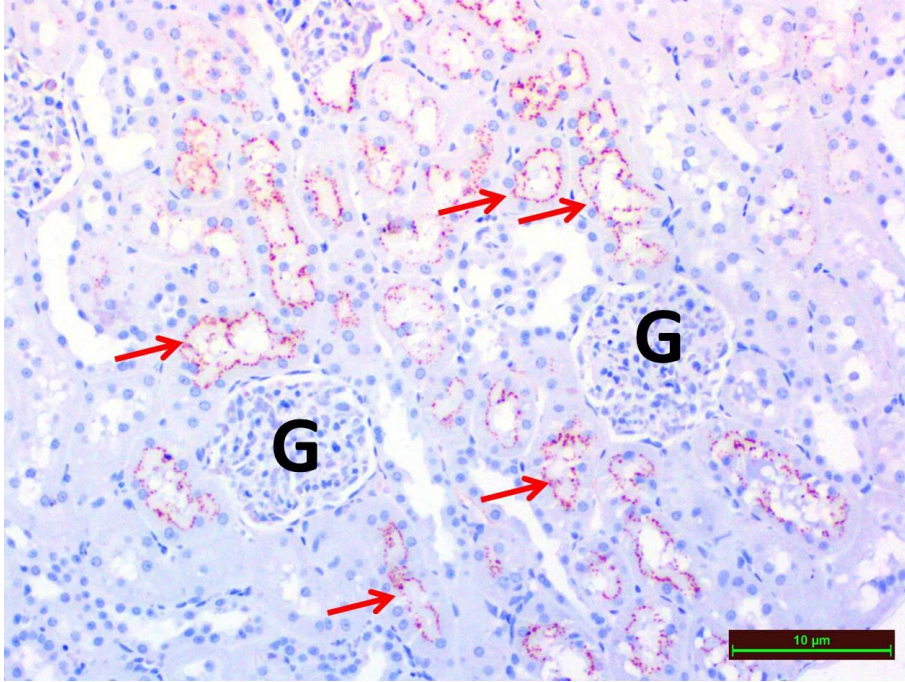
### 3.5.2. Betatrofin İmmünreaktivitesi

Betatrofin immünreaktivitesi için yapılan immünohistokimyasal boyamanın ışık mikroskopi altında incelenmesi sonucu; Betatrofin immünreaktivitesi böbrek dokusunda tübüllerin lümenine bakan kısmında (kırmızı ok) gözlemlendi. G (Glomerül)

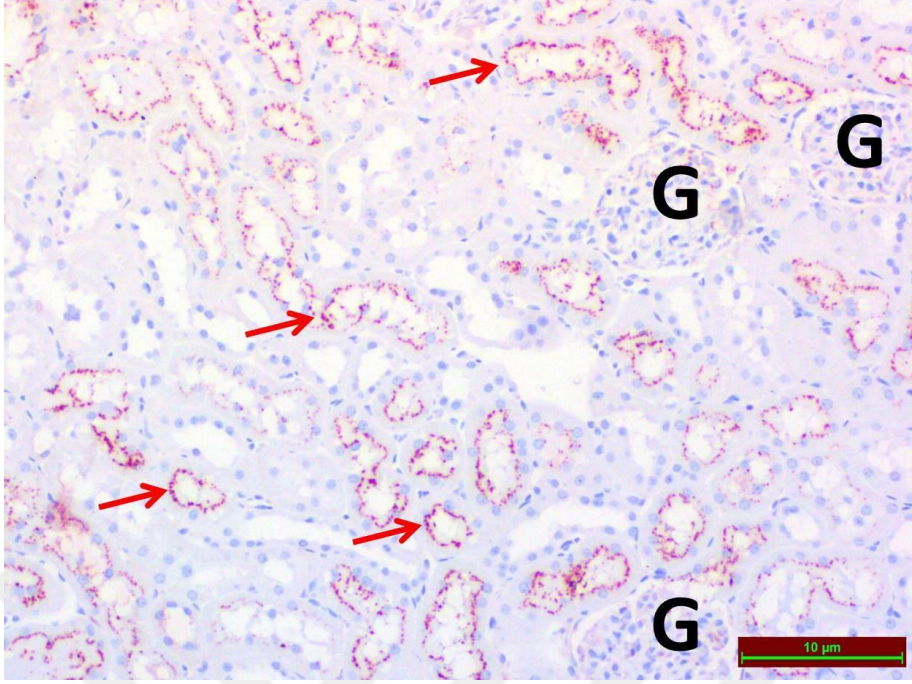
Böbrek dokusunda Betatrofin immünreaktivitesi; Kontrol (Şekil 17), Buffer (Şekil 18) ve Vitamin D (Şekil 19) gruplarında benzerdi. Kontrol grubuyla kıyaslandığında Diyabet (Şekil 20) grubunda Betatrofin immünreaktivitesi istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azalmış bulundu (p<0.05). Diyabet grubu ile kıyaslandığında ise Diyabet+Vitamin D (Şekil 21) grubunda Betatrofin immünreaktivitesi istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde artmış bulundu (p<0.05). Histoskor (Şekil 22).



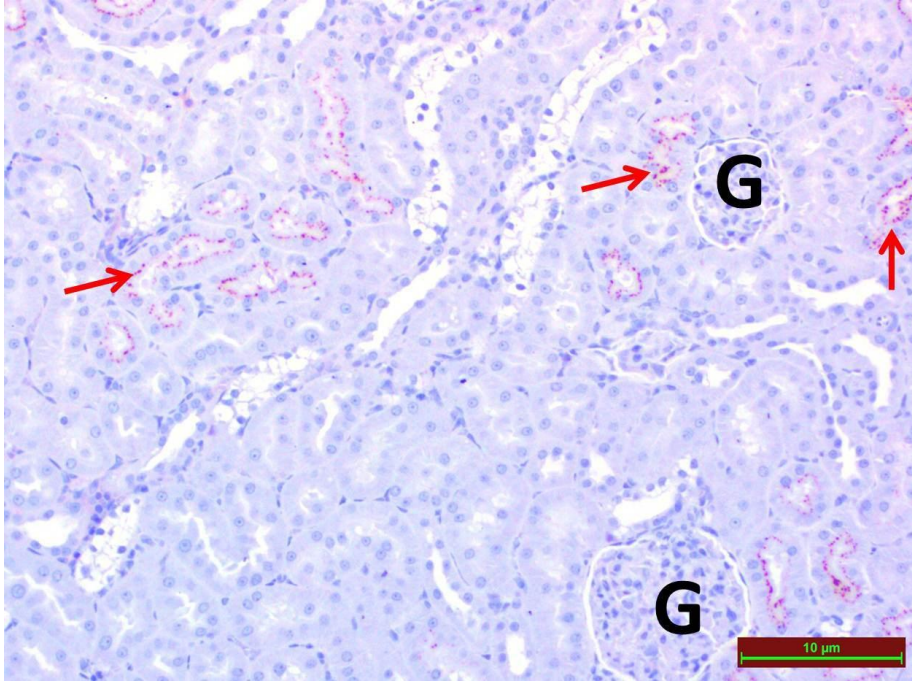
Şekil 17. Kontrol grubuna ait böbrek dokusunda Betatropin immünreaktivitesi



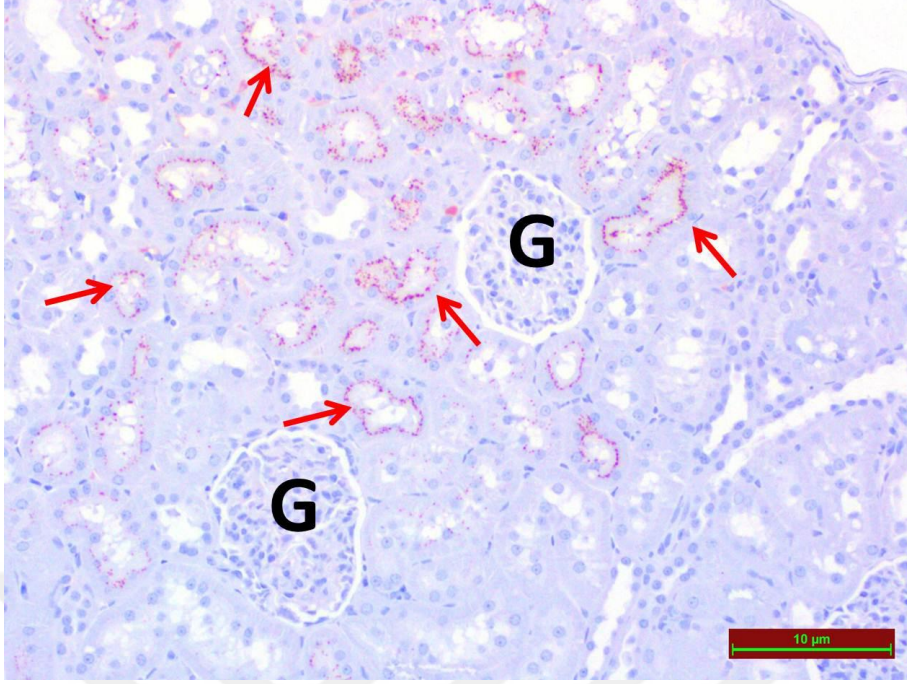
Şekil 18. Buffer grubuna ait böbrek dokusunda Betatropin immünreaktivitesi



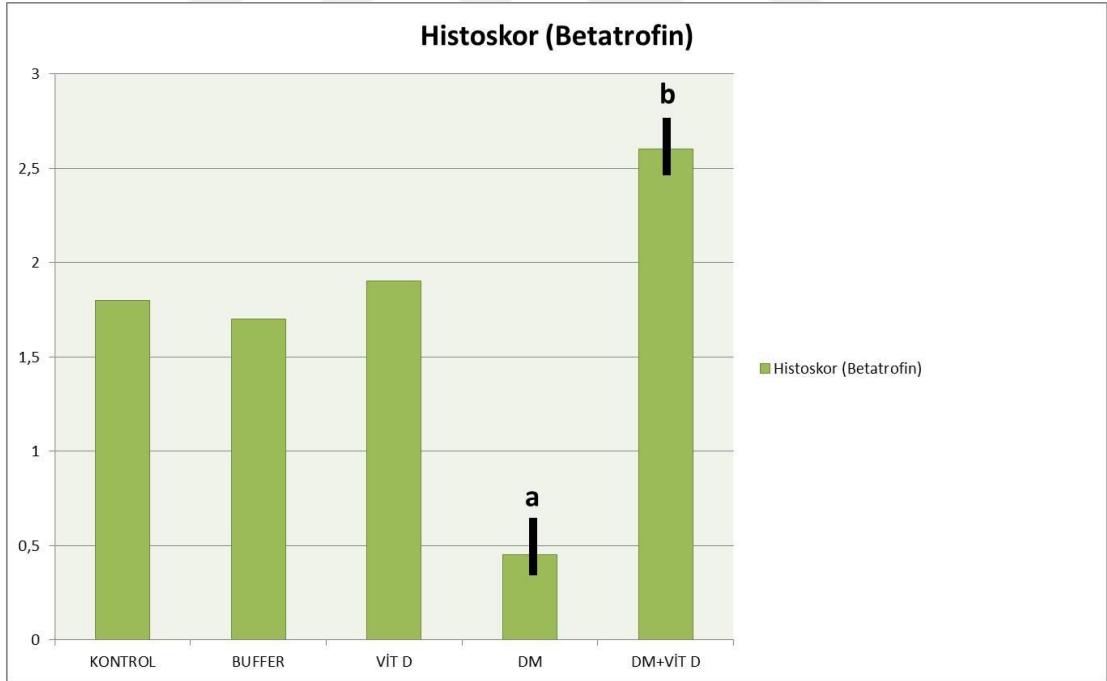
Şekil 19. Vit D grubuna ait böbrek dokusunda Betatropin immünreaktivitesi



Şekil 20. DM grubuna ait böbrek dokusunda Betatropin immünreaktivitesi



Şekil 21. DM+Vit D grubuna ait böbrek dokusunda Betatropin immünreaktivitesi



Değerler ortalama±standart sapma olarak verilmiştir.

<sup>a</sup> Kontrol grubuna göre karşılaştırıldığında,

<sup>b</sup> Diyabet grubu ile karşılaştırıldığında, (p<0.05).

Şekil 22. Betatropin Histoskoru

#### 4.TARTIŞMA

Diyabetes Mellitusun uzun dönemdeki oluşan komplikasyonlarının neden olduğu morbidite ve mortalite; kapiller bazal membran kalınlaşmasıyla ilişkili olan mikrovasküler hastalık, hızlanmış arteriol sklerozu ile birlikte görülen makrovasküler hastalık, somatik ve otonom sinir sisteminin ikisini de içeren nöropati, kas zayıflığı ile birlikte görülen nöromusküler disfonksiyon ve enfeksiyonlara direncin azalması ile karakterizedir. Böyle kronik komplikasyonlar göz, böbrek, kalp, sinir ve kan damarlarını etkilerler (74).

Diyabetes Mellitusun sık görülen mikrovasküler komplikasyonu diyabetik nefropati olduğu bilinmektedir. Diyabetik nefropati, diyabete bağlı mortalite ve morbiditenin önemli bir nedenidir. İlk kez renal replasman tedavisine başlanan hastaların üçte birinde tanı diyabetik nefropatidir. Bununla birlikte son dönem böbrek yetmezliği (SDBY) nedeniyle ilk defa diyalize giren hastaların yaklaşık %50'sinde etyoloji DM'dir (86).

Diyabet ve diyabete bağlı oluşan komplikasyonların reaktif oksijen türleri ile olan bağlantısını açıklamaya yönelik çalışmalarda; enzimatik olmayan glikolizasyon, enerji metabolizması değişiklikleri sonucunda ortaya çıkan metabolik stres, sorbitol yol aktivasyonu, hipoksi ve iskemi-reperfüzyon sonucunda gerçekleşen doku hasarlarının serbest radikal oluşumunu artırdığı ileri sürülmektedir (75).

Hiperglisemi ile oksidatif stres arasında ilişkili olduğu in vivo çalışmalar ile gösterilmiştir. Bununla birlikte bilim adamları yaptıkları çalışmalarında, vasküler komplikasyonlara sahip olan diyabetik hastalarda, hem LDL'nin oksidasyonunda hem de nonenzimatik glikolizasyonda, hiperglisemiye bağlı artışların olduğunu bildirmişlerdir.

Diyabetik vakalarda, lipidlere ilave olarak protein oksidasyonu da artmaktadır. Özellikle kollajen, elastin ve miyelin kılıfındaki ekstrasellüler proteinlerin oksidasyonu sonucu; lens, damar, bazal membran gibi dokularda katarakt, mikroanjyopati, ateroskleroz ve nefropati gibi diyabetik komplikasyonlar gelişmektedir (76).

Diyabetik hastalarda veya deneysel olarak diyabet oluşturulan ratlarda serbest oksijen radikallerinin ve lipid peroksidasyonunun önemli derecede artış gösterdiği ve

oksidatif stresin diyabet etiolojisinde ve progresyonunda önemli rolü olduğu bildirilmiştir (89).

Çalışmamızda, kontrol grubu ile kıyaslandığında DM grubuna ait böbrek dokularında apoptozis belirgin olarak artmış olup DM+Vit D grubunda ise apoptozis istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azalmıştı. DM grubunda artmış apoptozisin Oksidatif strese bağlı olabileceği için bakılan TOS düzeylerindedede anlamlı bir artış olduğu izlenmiştir. Bunula birlikte DM+Vit D grubunda apoptozisin azalmasıda Vit D nin antioksidan etkisine bağlı olabilir. Zira DM+Vit D grubunda TOS düzeylerindedede anlamlı bir azalma olduğu gözlenmiştir.

Oksidatif streste kalsiyum dengeleri ve mitokondrial membran potansiyeli değişir. Bu değişiklik mitokondriumlarda ve DNA'da hasara yol açarak hücreyi programlı ölüme yani apoptoze sürükler (35)

Hücre içi elektron dengesinin bozulması, Oksidatif stres, mitokondrial defektler ve antioksidan sistemin yetersiz kalması apoptoz oluşumunu indükleyebilmektedir (36).

Diabetes Mellitus reaktif oksijen türlerinin artmış üretimi, antioksidan savunma mekanizmalarının yetersizliği ve sonuçta artmış oksidatif stresle bağlantılıdır (33, 198)

Norman ve ark. (199) ile Reichel ve ark. (200) Vitamin D<sub>3</sub>, vitamin D'nin aktif metaboliti olup değişik biyolojik olaylarda önemli rol oynadığını rapor etmişlerdir.

Wiseman (194) yaptığı çalışmasında Vitamin D<sub>3</sub>'ün son yıllarda yapılan çalışmalarda antioksidatif etkilere sahip olduğu gösterilmiştir.

Lin ve ark. (195) yaptıkları çalışmalarında çinko ile serebral oksidatif stres oluşturmuş ve vitamin D'nin etkilerini antioksidan özellikleri iyi bilinen melatonin, beta östradiyol ve vitamin E ile karşılaştırmışlardır. Vitamin D'nin diğer antioksidanlardan daha güçlü antioksidan olduğunu ve bununla lipit peroksidasyonunu ve otooksidasyonu azaltıcı etkileri ile ilişkili olabileceğini göstermişlerdir.

DM'de enerji metabolizmasının değiştiği bilinmektedir (201, 202).

Çalışmamızda diyabetik nefropati patogenezinde rolü olabileceği amacıyla son yıllarda enerji metabolizmasıyla ilişkili keşfedilen hormonlardan olan adropin ve betatrofin immünreaktivitesi için immünohistokimyasal boyama yapılmıştır.

Adropin immünreaktivitesi; kontrol grubu ile kıyaslandığında DM grubuna ait böbrek dokularında belirgin olarak azalmış olup, DM+Vit D grubunda ise Adropin immünreaktivitesi istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde artmıştır.

Salgısal bir polipeptit yapısında olan adropinin karaciğer, beyin, pankreas, kalp, böbrek ve serebellum gibi birçok biyolojik dokudan üretildiği (153, 203) bununla birlikte glukoz ve lipid metabolizması ile ilişkil olduğu kanıtlanmıştır. Ayrıca adropin miktarının azalmasının, artmış yağ dokusu ve insülin direnci ile ilişkili olduğu da bildirilmiştir (148).

Adropin immün reaktivitesi; böbrek dokusunda glomerül, peritubuler intertisyel hücreler ve peritubuler kapillerlerde (154); kalp dokusunda endokardium, miyokardium ve perikardium'da ve pankreas seröz asini'de tesbit edilmiştir (153).

Lovren ve ark. (156) 2010'da adropinin endotelial hücredeki koruyucu potansiyelini göstermişlerdir. Adropin vasküler endotelial büyüme faktörü reseptörü-2 (VEGFR-2) ve onun ileri sinyal yolları olan fosfatidil inozitol-3 kinaz/serin, treonin kinaz (PI3K/Akt) ve sinyal düzenleyen kinazlar 1/2 (ERK 1/2)'i aktive ettiği, böylece adropin eNOS'un ekspresyonunu modüle ettiği tesbit etmişlerdir. Adropin aynı zamanda endotelial hücrelerin proliferasyonunu, migrasyonunu ve kapiller benzeri yapıların oluşumunu artırır. Son zamanlarda adropinin endotelial permeabiliteyi azalttığı saptanmıştır.

Çalışmamızdaki diyabetik grupta azalmış adropin immünreaktivitesi artan oksidatif hasara bağlı olabilir. Zira Hipergliseminin, oksidatif stresi tetiklediği ve endotel disfonksiyonuna yol açtığı gösterilmiştir. Bununla birlikte, DM+Vit D grubunda artan adropin miktarında Vit D nin antioksidan etkisine bağlı olarak endotelial disfonksiyonu azalttığı yönünde yorumlanabilir (204).

Adropin, eNOS aktivasyonu ile NO salınımını arttırmaktadır. Bu yüzden adropin endoteliumu doğrudan etkileyebilen eNOS'u up-regüle ederek endotelium için koruyucu bir rol oynayabilir (158).

Dolaşımdaki adropin miktarı metabolik stres, insülin direnci ve glukoz intoleransında ise azaldığı tesbit edilmiştir (148, 201, 205).

Glukoz hemostazının devamı için insülin direncini düzelttiğine inanılan adropinin aynı zamanda NO sekresyonunun artmasına ve iNOS aktivasyonu ile endotelial hasarın düzeltilmesinde rol oynayabileceği düşünülür (148).

Çalışmamızda enerji metabolizmasıyla ilişkili bir diğer peptid olan betatrofin immünreaktivitesinde bakılmıştır. Betatrofin immünreaktivitesi kontrol grubu ile kıyaslandığında DM grubuna ait böbrek dokularında belirgin olarak azalmış olup, DM+Vit D grubunda ise betatrofin immünreaktivitesi istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde artmıştı.

Betatrofin olarak adlandırılan bu protein ile Diyabetes Mellitus'da beta hücre kitlesinin artırılıp insülin salınımı artırılmasını amaçlayan regeneratif tedavide çok önemli bir gelişme sağlanmıştır (148).

Chen ve ark. (179) yaptıkları çalışmalarında tip 2 DM li farklı evrelerde albüminürisi olan hastalarda betatrofinin serum değerinin önemli bir oranda arttığını ve Betatrofinin diyabetik nefropati gelişimi ile ilişkili yeni bir endokrin düzenleyici olabileceğini söylemişlerdir.

Yapılan birçok çalışmada betatrofinin serum düzeyi obesite ve diyabette artış göstermiştir (177, 178, 206).

Çalışmamızdaki DM grubunda böbrek dokusunda azalan, DM+Vit D grubunda artan betatrofin seviyesi; DM'nin geç dönemde böbrek dokusunda tüketilmişliğin ve kullanımın neticesiyle düzeyinin düşmüş olabileceğini düşündürmektedir.

Yaptığımız immünohistokimyasal çalışmada betatrofin immünreaktivitesinin tübül hücrelerinin lümenine bakan yerlerinde olduğu izlenmiştir.

Diyabetik nefropati gelişimi sırasında glomerüller bazal membranda, tübüler bazal membranda ve Bowman kapsülünde kalınlaşmanın olduğu bilinmektedir. Diyabetik nefropati, geleneksel olarak primer glomerül hastalığı olarak kabul edilmişse de son dönemde fonksiyonun bozulma hızının en iyi tübülointerstisyel fibrozis ile ilişkili olduğu kabul edilmektedir (207).

Sonuç olarak; deneysel diyabetin böbrek dokusunda TOS ve apoptotik hücreleri arttırdığı, TAS, adropin ve betatrofin seviyelerini azalttığı, tedavi olarak verilen VitD nin TOS ve apoptotik hücreleri azaltıp, TAS, adropin ve betatrofin seviyelerini arttırdığı, diyabetin böbrek dokusunu etkilemesinin patofizyolojisindeki

rolünün aydınlatılabilmesi için gelecekte farklı deneysel diyabet süreleriyle yapılacak çalışmalara ihtiyaç olduğu kanaatine varılmıştır.



## 5. KAYNAKLAR

1. Glisemik Bozukluklarda Tanı, Sınıflama ve Tarama. TEMD Diyabetes Mellitus ve Komplikasyonlarının Tanı, Tedavi ve İzlem Kılavuzu. 9. Baskı, Türk Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği, 2017.
2. Crandall J and Shamon H. Diabetes Mellitus. Lee G, Andrew IS (editors). Goldman-Cecil Medicine. 25. Edition, Elsevier Saunders, Philadelphia, 2016:1527-1548.
3. Alvin C. Power. Diabetes Mellitus: Diagnosis, Classification, and Pathophysiology. Kasper DL, Hauser SL, Longo DL, Jameson JL. Loscalzo J.(editors). Harrison's Principles of Internal Medicine. 19. Edition, Mc Graw Hill Education, 2015: 2399-2407.
4. Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. Report of the Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes. Diabetes Care 2003; 26: 5-20.
5. Laakso M. Tip 2 diyabetin epidemiyolojisi ve tanısı. Goldstein BJ, Müler-Wieland D (editors). Textbook of Type 2 Diabetes. New York, Martin Dunitz Group 2003. Çeviri Ed: Akman AC. 1. Baskı. AND Yayıncılık, İstanbul: Düzey Matbaası, 2004: 1-12.
6. Lain KY, Catalano PM. Metabolic changes in pregnancy. Clin Obstet Gynecol 2007; 50: 938-948.
7. American Diabetes Association. Gestational diabetes mellitus (Position Statement) Diabetes Care 2004; 27: 88-90.
8. Karcaaltincaba D, Kandemir O, Yalvac S, Guvendag-Guven S, Haberal A. Prevalence of gestational diabetes mellitus and gestational impaired glucose tolerance in pregnant women evaluated by National Diabetes Data Group and Carpenter and Coustan criteria. Int J Gynaecol Obstet 2009; 106: 246-249.
9. Carpenter MW, Coustan DR. Criteria for screening tests for gestational diabetes. Am J Obstet Gynecol 1982; 144: 768-773.
10. Yenigün M. Her Yönüyle Diabetes Mellitus. 2. Baskı. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi, 2001: 51-61.

11. Watkins PJ, Drury PL, Howell SL. Diabetes and its management 5 th ed, Blackwell Co. P, 1996: 3-12.
12. Finch ZF, Zimmet PZ. Mortality from Diabetes. Alberti KGMM Krall LP. (eds). The Diabetes Annual/4 Amsterdam Elsevier, 1988: 52-62.
13. Satman I, Yılmaz MT, Baştar I, Şengül A, Sargın M, Salman F, et al. Diabetes epidemiology study in turkey: First step data result. Diabetes 1998; 47-49.
14. Onat A, Yıldırım B, Ceyhan K. Halkımızda diyabet ve glukoz intoleransı: koroner mortalite ve morbiditeye prospektif etkisi, prevalansında artma Türk Kardiyoloji Derneği Arşv, 2001; 29: 5-9.
15. 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: 157-177.
16. Satman I, Omer B, Tutuncu Y. Twelve-year trends in the prevalence and risk factors of diabetes and prediabetes in turkish adults. Eur J Epidemiol 2013; 28: 169-180.
17. Paronen J, Knip M, Savilahti E, Virtanen SM, Ilonen J, Akerblom HK, et al. Effect of cow's milk exposure and maternal type 1 diabetes on cellular and humoral immunization to dietary insulin in infants at genetic risk for type 1 diabetes. Finnish Trial to Reduce IDDM in the genetically at risk study group. Diabetes 2000; 49: 1657-1665.
18. Lempainen J, Tauriainen S, Vaarala O, Mäkelä M, Honkanen H, Marttila J, et al. Interaction of enterovirus infection and cow's milk-based formula nutrition in type 1 diabetes-associated autoimmunity. Diabetes Metab Res Rev 2012; 28: 177-185.
19. Cardwell CR, Stene LC, Joner G, Bulsara MK, Cinek O, Rosenbauer J, et al. Maternal age at birth and childhood type 1 diabetes: a pooled analysis of 30 observational studies. Diabetes 2010; 59: 486-494.
20. Melville N. Early upper-respiratory infections linked to type 1 diabetes. Medscape medical news. Respiratory infections in early life and the development of islet autoimmunity in children at increased type 1 diabetes risk: Evidence from the BABYDIET study. JAMA Pediatr 2013; 1: 600-607.

21. Davies JL, Kawaguchi Y, Bennett ST, Copeman JB, Cordell HJ, Pritchard LE, et al. A genome-wide search for human type 1 diabetes susceptibility genes. *Nature* 1994; 8: 130-136.
22. Steck AK, Barriga KJ, Emery LM, Fiallo-Scharer RV, Gottlieb PA, Rewers MJ. Secondary attack rate of type 1 diabetes in Colorado families. *Diabetes Care* 2005; 28: 296-300.
23. Redondo MJ, Jeffrey J, Fain PR, Eisenbarth GS, Orban T. Concordance for islet autoimmunity among monozygotic twins. *N Engl J Med* 2008; 359: 2849-2850.
24. Borchers AT, Uibo R, Gershwin ME. The geoepidemiology of type 1 diabetes. *Autoimmun Rev* 2010; 9: 355-365.
25. Diabetes epidemiology research international group. Geographic patterns of childhood insulin-dependent diabetes mellitus. Diabetes epidemiology research international group. *Diabetes* 1988; 37: 1113-1119.
26. Erlich H, Valdes AM, Noble J, Carlson JA, Varney M, Concannon P, et al. HLA DR-DQ haplotypes and genotypes and type 1 diabetes risk: analysis of the type 1 diabetes genetics consortium families. *Diabetes* 2008; 57: 1084-1092.
27. Noble JA, Johnson J, Lane JA, Valdes AM. Race-specific type 1 diabetes risk of HLA-DR7 haplotypes. *Tissue Antigens* 2011; 78: 348-351.
28. Rotwein P, Yokoyama S, Didier DK, Chirgwin JM. Genetic analysis of the hypervariable region flanking the human insulin gene. *Am J Hum Genet* 1986; 39: 291-299.
29. Pugliese A, Zeller M, Fernandez A, Zalberg LJ, Bartlett RJ, Ricordi C, et al. The insulin gene is transcribed in the human thymus and transcription levels correlated with allelic variation at the INS VNTR-IDD3 susceptibility locus for type 1 diabetes. *Nat Genet* 1997; 15: 293-297.
30. Polychronakos C, Li Q. Understanding type 1 diabetes through genetics: advances and prospects. *Nat Rev Genet* 2011; 12: 781-792.

31. Concannon P, Chen WM, Julier C, Morahan G, Akolkar B, Erlich HA, et al. Genome-wide scan for linkage to type 1 diabetes in 2,496 multiplex families from the Type 1 Diabetes Genetics Consortium. *Diabetes* 2009; 58: 1018-1022.
32. Corper AL, Stratmann T, Apostolopoulos V, Scott CA, Garcia KC, Kang AS, et al. A structural framework for deciphering the link between I-Ag7 and autoimmune diabetes. *Science* 2000; 288: 505-511.
33. Pfaffly JR. Diabetic complications, hyperglycemia and free radicals. *Diabetic complications. Neuroscience Research Communications* 1997; 21: 41-48.
34. Ak HD. Plasma lipid peroxidation, Vit. E, superoxide dismutase and glutathione peroxidase alterations in coronary atherosclerosis. *Tr J Med Sci* 1994; 26: 11-15.
35. Burçak G, Andican G. Oksidatif DNA hasarı ve yaşlanma. *Cerrahpasa Journal of Medicine* 2004; 35: 159-169.
36. Oren M, Rotter V. Introduction: p53 the first twenty years. *Cell Mol Life Sci* 1999; 55: 9-11.
37. Bonora E, Formentini G, Calcaterra F. HOMA- estimated insulin resistance is an independent predictor of cardiovascular disease in type 2 diabetic subjects: prospective data from the Verona Diabetes Complications Study. *Diabetes Care* 2002; 7: 1135-1141
38. Reaven GM. Banting lecture: role of insulin resistance in human disease. *Diabetes* 1988; 37: 1595-1607.
39. Karşıdağ K. İnsülin Direnç Mekanizmaları. *İnsülin Direnci ve Tip 2 Diyabet*. Haziran 2004; 1: 15-17.
40. Gürlek A. İnsülin Direncinde Genetik Faktörler. Çorakçı A. (ed). *Klinik Endokrinoloji*. İzmir: Meta Basım 2001; 5: 49-53.
41. Rahilliy O, Choi WH, Patel P. Detection of mutations in insulin receptor gene in NIDDM patients by analysis of single-stranded conformation polymorphisms. *Diabetes* 1991; 40: 777-782.

42. Gulli G, Ferrannini E, Stern M, Haffner S, DeFronzo RA. The metabolic profile of NIDDM is fully established in glucose tolerant offspring of two Mexican-American NIDDM parents. *Diabetes* 1992; 41: 1575-1586.
43. Giorgino F, Laviola L, Eriksson JW. Regional differences of insulin action in adipose tissue: insights from in vivo and in vitro studies. *Acta Physiol Scand* 2005; 183: 13-30.
44. Hunter SJ, Garvey WT. Insulin action and insulin resistance: diseases involving defects in insulin receptors, signal transduction, and the glucose transport effector system. *Am J Med* 1998; 105: 331-345.
45. Denton RM, Tavaré JM. Molecular basis of insulin action on intracellular metabolism. Alberti KGMM, Zimmet P, DeFronzo RA, Keen H (eds). *International Textbook of Diabetes Mellitus (2<sup>nd</sup>ed)* New York: John Wiley & Sons, 1997: 469-488.
46. Grundy SM. What is the contribution of obesity to the metabolic syndrome? *Endocrinol Metab Clin North Am* 2004; 33: 267-282.
47. Krauss RM, Siri PW. Metabolic abnormalities: triglyceride and low-density lipoprotein. *Endocrinol Metab Clin North Am* 2004; 33: 405-415.
48. Devaraj S, Rosenson RS, Jialal I. Metabolic syndrome: an appraisal of the pro-inflammatory and procoagulant status. *Endocrinol Metab Clin North Am* 2004; 33: 431-453.
49. Wheatcroft SB, Williams IL, Shah AM, Kearney MT. Pathophysiological implications of insulin resistance on vascular endothelial function. *Diabet Med* 2003; 20: 255-268.
50. Stockhorst U, de Fries D, Steingrueber HJ, Scherbaum WA. Insulin and the CNS: effects on food intake, memory, and endocrine parameters and the role of intranasal insulin administration to humans. *Physiol Behav* 2004; 83: 47-54.
51. Gerozissis K. Brain insulin and feeding: a bi-directional communication. *Eur J Pharmacol* 2004; 490: 59-70.
52. Watson GS, Craft S. The role of insulin resistance in the pathogenesis of Alzheimer's disease: implications for treatment. *CNS Drugs* 2003; 17: 27-45.
53. Kulkarni RN. The islet beta-cell. *Int J Biochem Cell Biol* 2004; 36: 365-371.

54. Unger JW, Betz M. Insulin receptors and signal transduction proteins in the hypothalamo-hypophyseal system: a review on morphological findings and functional implications. *Histol Histopathol* 1998; 13: 1215-1224.
55. Unger JW, Lange W. Insulin receptors in the pituitary gland: morphological evidence for influence on opioid peptide-synthesizing cells. *Cell Tissue Res* 1997; 288: 471-483.
56. Nagasaka Y, Kaneko T. Molecular biology of regulation of renal function-structure, function and distribution of the receptor-insulin, glucagon. *Nippon Rinsho* 1992; 50: 2921-2924.
57. Sechi LA, Bartoli E. Molecular mechanisms of insulin resistance in arterial hypertension. *Blood Pres Suppl* 1996; 1: 47-54.
58. Poretsky L, Kalin MF. The gonadotropic function of insulin. *Endocr Rev* 1987; 8: 132-141.
59. Samoto T, Maruo T, Katayama K, Barnea ER, Mochizuki M. Altered expression of insulin and insulin-like growth factor-1 receptors in follicular and stromal compartments of polycystic ovaries. *Endocr J* 1993; 40: 413-424.
60. Abele V, Pelletier G, Tremblay RR. Radioautographic localization and regulation of the insulin receptors in rat testis. *J Recept Res* 1986; 6: 461-473.
61. Thomas DM, Udagawa N, Hards DK. Insulin receptor expression in primary and cultured osteoclast-like cells. *Bone* 1998; 23: 181-186.
62. Wheeler E, Barroso I. Genome-wide association studies and type 2 diabetes. *Brief funct genomics* 2011; 10: 52-60.
63. Billings LK, Florez JC. The genetics of type 2 diabetes: what have we learned from GWAS? *Ann N. Y. Acad Sci* 2010; 1212: 59-77.
64. Saxena R, Hivert MF, Langenberg C, Tanaka T, Pankow JS, Vollenweider P, et al. Genetic variation in GIPR influences the glucose and insulin responses to an oral glucose challenge. *Nat genet* 2010; 42: 142-148.

65. Chiefari E, Tanyolac S, Paonessa F, Pullinger CR, Capula C, Iiritano S, et al. Functional variants of the HMGAI gene and type 2 diabetes mellitus. *JAMA* 2011; 305: 903-912.
66. Herrington WG, Nye HJ, Hammersley MS, Watkinson PJ. Are arterial and venous samples clinically equivalent for the estimation of pH, serum bicarbonate and potassium concentration in critically ill patients? *Diabet Med* 2012; 29: 32-35.
67. Pasquel FJ, Umpierrez GE. Hyperosmolar hyperglycemic state: a historic review of the clinical presentation, diagnosis, and treatment. *Diabetes Care* 2014; 37: 3124-3131.
68. Nugent BW. Hyperosmolar hyperglycemic state. *Emerg Med Clin North Am* 2005; 23: 629-648.
69. Bhansali A, Sukumar SP. Hyperosmolar hyperglycemic state. *World Clin Diabetol* 2016; 2: 1-10.
70. Kitabchi AE, Umpierrez GE, Murphy MB. Management of hyperglycemic crises in patients with diabetes. *Diabetes Care* 2001; 24: 131-153.
71. Kitabchi AE, Umpierrez GE, Murphy MB, Kreisberg RA. Hyperglycemic crises in adult patients with diabetes: a consensus statement from the American Diabetes Association. *Diabetes Care* 2006; 29: 2739-2748.
72. Stacpoole PW, Wright EC, Baumgartner TG, Bersin RM, Buchalter S, Curry SH, et al. Natural history and course of acquired lactic acidosis in adults. DCA-Lactic Acidosis Study Group. *Am J Med* 1994; 97: 47-54.
73. Slama G, Traynard PY, Desplanque N. The search for an optimized treatment of hypoglycemia. Carbohydrates in tablets, solution, or gel for the correction of insulin reactions. *Arch Intern Med* 1990; 150: 589-593.
74. Martínez-Sánchez G, Al-Dalain SM, Menendez S, Re L, Giuliani A, Candelario-Jalil E, et al. Therapeutic efficacy of ozone in patients with diabetic foot. *Eur J Pharmacol* 2005; 523: 151-161.
75. Boynes JW, Thorpe SR. Role of oxidative stress in diabetic complications: a new perspective on an old paradigm. *Diabetes* 1999; 48: 1-9.

76. Altan N, Dinçel A, Koca C. Diabetes mellitus ve oksidatif stres. *Türk Biyokimya Dergisi* 2006; 31: 51-56.
77. Forbes JM, Cooper ME: Mechanisms of diabetic complications. *Physiol Rev* 2013; 93: 137-188.
78. Klein BE. Overview of epidemiologic studies of diabetic retinopathy. *Ophthalmic Epidemiol* 14: 179-183.
79. Scanlon PH: The English national screening programme for sight-threatening diabetic retinopathy. *J Med Screen* 2008; 15: 1-4.
80. Sugimoto K, Murakawa Y, Sima AA. Diabetic neuropathy--a continuing enigma. *Diabetes Metab Res Rev* 2000; 16: 408-433.
81. Vinik AI, Park TS, Stansberry KB, Pittenger GL. Diabetic neuropathies. *Diabetologia* 2000; 43: 957-973.
82. Zochodne DW. Diabetic polyneuropathy: an update. *Curr Opin Neurol* 2008, 21: 527-533.
83. Greene DA, Arezzo JC, Brown MB. Effect of aldose reductase inhibition on nerve conduction and morphometry in diabetic neuropathy. *Zenarestat Study Group. Neurology* 1999; 53: 580-591.
84. Tang SC, Chan GC, Lai KN. Recent advances in managing and understanding diabetic nephropathy. *F1000Res* 2016; 5: 1-46.
85. Türk nefroloji Derneği: Böbrek Kayıt Sistemi verileri. [www.nefroloji.org.tr](http://www.nefroloji.org.tr). 2012; Erişim Tarihi: 15.02.2018
86. Altınparmak MR, Apaydın S. Diabetik nefropati. Yenigün M, Altuntaş Y. Her Yönüyle Diyabetes Mellitus. 2. Baskı. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi, 2001: 337- 402.
87. Jiang R, Law E, Zhou Z, Yang H, Wu EQ, Seifeldin R. Clinical Trajectories, Healthcare Resource Use, and Costs of Diabetic Nephropathy Among Patients with Type 2 Diabetes: A Latent Class Analysis. *Diabetes Ther* 2018; 29: 1-12.

88. Ekinci EI, Jerums G, Skene A, Crammer P, Power D, Cheong KY. Renal structure in normoalbuminuric and albuminuric patients with type 2 diabetes and impaired renal function. *Diabetes Care* 2013; 36: 3620-3626.
89. Piwkowska A. Role of protein kinase G and reactive oxygen species in the regulation of podocyte function in health and disease. *J Cell Physiol* 2017; 232: 691-697.
90. Haraldsson B, Nyström J. The glomerular endothelium: new insights on function and structure. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2012; 21: 258-263.
91. Hall JE, Henegar JR, Dwyer TM, Liu J, Da Silva AA, Kuo JJ. Is obesity a major cause of chronic kidney disease? *Adv Ren Replace Ther* 2004; 11: 41-54.
92. de Boer IH, Rue TC, Hall YN. Temporal trends in the prevalence of diabetic kidney disease in the United States. *JAMA* 2011; 305: 2532-2539.
93. Klessens CQ, Woutman TD, Veraar KA. An autopsy study suggests that diabetic nephropathy is underdiagnosed. *Kidney Int* 2016; 90: 149-156.
94. Fan JZ, Wang R. Non-diabetic renal diseases in patients with type 2 diabetes: a single center study. *Intern Med J* 2017; 14: 26-32.
95. Fioretto P, Steffes MW, Brown DM, Mauer SM. An overview of renal pathology in insulin-dependent diabetes mellitus in relationship to altered glomerular hemodynamics. *Am J Kidney Dis* 1992; 20: 549-558.
96. Tervaert TW, Mooyaart AL, Amann K. Pathologic classification of diabetic nephropathy. *J Am Soc Nephrol* 2010; 21: 556-563.
97. Nasr SH, D'Agati VD. Nodular glomerulosclerosis in the nondiabetic smoker. *J Am Soc Nephrol* 2007; 18: 2032-2036.
98. Fliser D, Wagner KK, Loos A. Chronic angiotensin II receptor blockade reduces intrarenal vascular resistance in patients with type 2 diabetes. *J Am Soc Nephrol* 2005; 16: 1135-1140.
99. Hilgers KF, Veelken R. Type 2 diabetic nephropathy: never too early to treat? *J Am Soc Nephrol* 2005; 16: 574-575.

100. Nagai Y, Yao L, Kobori H. Temporary angiotensin II blockade at the prediabetic stage attenuates the development of renal injury in type 2 diabetic rats. *J Am Soc Nephrol* 2005; 16: 703-711.
101. Harris RD, Steffes MW, Bilous RW. Global glomerular sclerosis and glomerular arteriolar hyalinosis in insulin dependent diabetes. *Kidney Int* 1991; 40: 107-114.
102. Heilig CW, Concepcion LA, Riser BL. Overexpression of glucose transporters in rat mesangial cells cultured in a normal glucose milieu mimics the diabetic phenotype. *J Clin Invest* 1995; 96: 1802-1814.
103. Mishra R, Emancipator SN, Kern T, Simonson MS. High glucose evokes an intrinsic proapoptotic signaling pathway in mesangial cells. *Kidney Int* 2005; 67: 82-93.
104. Makita Z, Radoff S, Rayfield EJ. Advanced glycosylation end products in patients with diabetic nephropathy. *N Engl J Med* 1991; 325: 836-842.
105. Singh AK, Mo W, Dunea G, Arruda JA. Effect of glycated proteins on the matrix of glomerular epithelial cells. *J Am Soc Nephrol* 1998; 9: 802-810.
106. Cooper ME. Pathogenesis, prevention, and treatment of diabetic nephropathy. *Lancet* 1998; 352: 213-219.
107. Maxhimer JB, Somenek M, Rao G. Heparanase-1 gene expression and regulation by high glucose in renal epithelial cells: a potential role in the pathogenesis of proteinuria in diabetic patients. *Diabetes* 2005; 54: 2172-2178.
108. van den Hoven MJ, Rops AL, Bakker MA. Increased expression of heparanase in overt diabetic nephropathy. *Kidney Int* 2006; 70: 2100-2108.
109. Wolf G, Ziyadeh FN. Molecular mechanisms of diabetic renal hypertrophy. *Kidney Int* 1999; 56: 393-399.
110. Hohenstein B, Hausknecht B, Boehmer K. Local VEGF activity but not VEGF expression is tightly regulated during diabetic nephropathy in man. *Kidney Int* 2006; 69: 1654-1660.

111. de Vriese AS, Tilton RG, Elger M. Antibodies against vascular endothelial growth factor improve early renal dysfunction in experimental diabetes. *J Am Soc Nephrol* 2001; 12: 993-1001.
112. Utimura R, Fujihara CK, Mattar AL. Mycophenolate mofetil prevents the development of glomerular injury in experimental diabetes. *Kidney Int* 2003; 63: 209-216.
113. Wang S, de Caestecker M, Kopp J. Renal bone morphogenetic protein-7 protects against diabetic nephropathy. *J Am Soc Nephrol* 2006; 17: 2504-2512.
114. Burns WC, Twigg SM, Forbes JM. Connective tissue growth factor plays an important role in advanced glycation end product-induced tubular epithelial-to-mesenchymal transition: implications for diabetic renal disease. *J Am Soc Nephrol* 2006; 17: 2484-2494.
115. Janssen B, Hohenadel D, Brinkkoetter P. Carnosine as a protective factor in diabetic nephropathy: association with a leucine repeat of the carnosinase gene CNBP1. *Diabetes* 2005; 54: 2320-2327.
116. Isaka Y, Akagi Y, Kaneda Y. Gene therapy by transforming growth factor beta receptor-IgG Fc chimera blocked glomerular hypertrophy in diabetic nephropathy. *J Am Soc Nephrol* 1997; 8: 639-645.
117. Welsh GI, Hale LJ, Eremina V. Insulin signaling to the glomerular podocyte is critical for normal kidney function. *Cell Metab* 2010; 12: 329-334.
118. de Boer IH, Rue TC, Cleary PA. Long-term renal outcomes of patients with type 1 diabetes mellitus and microalbuminuria: an analysis of the diabetes control and complications trial/epidemiology of diabetes interventions and complications cohort. *Arch Intern Med* 2011; 171: 412-420.
119. Perkins BA, Ficociello LH, Roshan B. In patients with type 1 diabetes and new-onset microalbuminuria the development of advanced chronic kidney disease may not require progression to proteinuria. *Kidney Int* 2010; 77: 57-61.
120. MacIsaac RJ, Panagiotopoulos S, McNeil KJ. Is nonalbuminuric renal insufficiency in type 2 diabetes related to an increase in intrarenal vascular disease? *Diabetes Care* 2006; 29: 1560-1565.

121. Perkins BA, Ficociello LH, Ostrander BE. Microalbuminuria and the risk for early progressive renal function decline in type 1 diabetes. *J Am Soc Nephrol* 2007; 18: 1353-1357.
122. Matsumura N, Hanatani M, Nishino T. The clinico-pathological significance of hematuria in diabetics. *Nihon Jinzo Gakkai Shi* 1994; 36: 1036-1041.
123. O'Neill WM, Wallin JD, Walker PD. Hematuria and red cell casts in typical diabetic nephropathy. *Am J Med* 1983; 74: 389-395.
124. Odegaard JI, Chawla A. Connecting type 1 and type 2 diabetes through innate immunity. *Cold Spring Harb Perspect Med* 2012 2: 1-18.
125. Ziyadeh FN. Mediators of diabetic renal disease: the case for tgf-Beta as the major mediator. *J Am Soc Nephrol* 2004; 15: 55-57.
126. Chiarelli F, Gaspari S, Marcovecchio ML. Role of growth factors in diabetic kidney disease. *Horm Metab Res* 2009; 41: 585-593.
127. Deshpande SD, Putta S, Wang M, Lai JY, Bitzer M, Nelson RG. Transforming growth factor- $\beta$ -induced cross talk between p53 and a microRNA in the pathogenesis of diabetic nephropathy. *Diabetes* 2013; 62: 3151-3162.
128. Bherwani S, Saumya AS, Ahirwar AK. The association of folic acid deficiency and diabetic nephropathy in patients with type 2 diabetes mellitus. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets* 2016;14: 48-52.
129. Krolewski AS. Genetics of diabetic nephropathy: evidence for major and minor gene effects. *Kidney Int* 1999; 55: 1582-1587.
130. Adler S. Diabetic nephropathy: Linking histology, cell biology, and genetics. *Kidney Int* 2004; 66: 2095-3001.
131. Trevisan R, Viberti G. Genetic factors in the development of diabetic nephropathy. *J Lab Clin Med* 1995; 126: 342-351.
132. Pettitt DJ, Saad MF, Bennett PH. Familial predisposition to renal disease in two generations of Pima Indians with type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus. *Diabetologia* 1990; 33: 438-444.

133. Svensson M, Nyström L, Schön S, Dahlquist G. Age at onset of childhood-onset type 1 diabetes and the development of end-stage renal disease: a nationwide population-based study. *Diabetes Care* 2006; 29: 538-542.
134. Rudberg S, Persson B, Dahlquist G. Increased glomerular filtration rate as a predictor of diabetic nephropathy-an 8-year prospective study. *Kidney Int* 1992; 41: 822-828.
135. Bilous R, Donnelly R. Diyabetik nefropati. Dinççağ N. (Ed) *Diyabet El Kitabı. İstanbul Tıp Kitabevleri* 2013; 119-128.
136. Uçan B, Delibaşı T. Diyabet ve Böbrek. *Türkiye Klinikleri* 2013: 50-57.
137. Vora JP, Dolben J, Dean JD. Renal hemodynamics in newly presenting non-insulin dependent diabetes mellitus. *Kidney Int* 1992; 41: 829-835.
138. Earle K, Viberti GC. Familial, hemodynamic and metabolic factors in the predisposition to diabetic kidney disease. *Kidney Int* 1994; 45: 434-437.
139. Hayashi K, Epstein M, Loutzenhiser R, Forster H. Impaired myogenic responsiveness of the afferent arteriole in streptozotocin-induced diabetic rats: role of eicosanoid derangements. *J Am Soc Nephrol* 1992; 2: 1578-1586.
140. Brancati FL, Whittle JC, Whelton PK. The excess incidence of diabetic end-stage renal disease among blacks. A population-based study of potential explanatory factors. *JAMA* 1992; 268: 3079-3084.
141. Kohler KA, McClellan WM, Ziemer DC. Risk factors for microalbuminuria in black americans with newly diagnosed type 2 diabetes. *Am J Kidney Dis* 2000; 36: 903-913.
142. Myers BD, Nelson RG, Williams GW. Glomerular function in Pima Indians with noninsulin-dependent diabetes mellitus of recent onset. *J Clin Invest* 1991; 88: 524-530.
143. Gelber RP, Kurth T, Kausz AT. Association between body mass index and CKD in apparently healthy men. *Am J Kidney Dis* 2005; 46: 871-880.
144. Morales E, Valero MA, León M. Beneficial effects of weight loss in overweight patients with chronic proteinuric nephropathies. *Am J Kidney Dis* 2003; 41: 319-327.

145. Saiki A, Nagayama D, Ohhira M. Effect of weight loss using formula diet on renal function in obese patients with diabetic nephropathy. *Int J Obes (Lond)* 2005; 29: 1115-1119.
146. Orth SR. Effects of smoking on systemic and intrarenal hemodynamics: influence on renal function. *J Am Soc Nephrol* 2004; 15: 58-63.
147. Ahmed SB, Hovind P, Parving HH. Oral contraceptives, angiotensin-dependent renal vasoconstriction, and risk of diabetic nephropathy. *Diabetes Care* 2005; 28: 1988-1996.
148. Kumar KG, Trevaskis JL, Lam DD, Suttan GM, Koza RA, Chouljenko VN, et al. Identification of adropin as a secreted factor linking dietary macronutrient intake with energy homeostasis and lipid metabolism. *Cell Metab* 2008; 8: 468-481.
149. Celik E, Yilmaz E, Celik O, Ulas M, Turkuoglu I, Karaer A, et al. Maternal and fetal adropin levels in gestational diabetes mellitus. *J Perinat Med* 2013; 41: 375-380.
150. Ganesh Kumar K, Zhang J, Gao S, Rossi J, McGuinness OP, Halem HH, et al. Adropin deficiency is associated with increased adiposity and insulin resistance. *Obesity (Silver Spring)* 2012; 20: 1394-1402.
151. Butler AA, Tam CS, Stanhope KL, Wolfe BM, Ali MR, O'Keeffe M, et al. Low circulating adropin concentrations with obesity and aging correlate with risk factors for metabolic disease and increase after gastric bypass surgery in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 2012; 97: 3783-3791.
152. Aydin S, Kuloglu T, Aydin S. Copeptin, adropin and irisin concentrations in breast milk and plasma of healthy women and those with gestational diabetes mellitus. *Peptides* 2013; 47: 66-70.
153. Aydin S, Kuloglu T, Aydin S, Eren MN, Yilmaz M, Kalayci M, et al. Expression of adropin in rat brain, cerebellum, kidneys, heart, liver, and pancreas in streptozotocin-induced diabetes. *Mol Cell Biochem* 2013; 380: 73-81.
154. Kuloglu T, Aydin S, Eren MN, Yilmaz M, Sahin I, Kalayci M, et al. Irisin: a potentially candidate marker for myocardial infarction. *Peptides* 2014; 55: 85-91.

155. Lian W, Gu X, Qin Y, Zheng X. Elevated plasma levels of adropin in heart failure patients. *Intern Med* 2011; 50: 1523-1527.
156. Lovren F, Pan Y, Quan A. Adropin is a novel regulator of endothelial function. *Circulation* 2010; 122: 185-192.
157. Wu L, Fang J, Chen L. Low serum adropin is associated with coronary atherosclerosis in type 2 diabetic and non-diabetic patients. *Clin Chem Lab Med* 2014; 52: 751–758.
158. Zhao LP, You T, Chan SP. Adropin is associated with hyperhomocysteine and coronary atherosclerosis. *Exp Ther Med* 2016; 11: 1065–1070.
159. Aydin S, Kuloglu T, Aydin S. Elevated adropin: a candidate diagnostic marker for myocardial infarction in conjunction with troponin-I. *Peptides* 2014; 58: 91-97.
160. Wu L, Fang J, Chen L, Zhao Z, Luo Y, Lin C, et al. Low serum adropin is associated with coronary atherosclerosis in type 2 diabetic and non-diabetic patients. *Clin Chem Lab Med* 2013; 9: 1-8.
161. Wenchao H, Li C. Association of serum adropin concentrations with diabetic nephropathy mediators inflamm 2016; 2016: 6038-6261.
162. Yi P, Park JS, Melton DA. Betatrophin: a hormone that controls pancreatic p cell proliferation. *Cell* 2013; 153: 747-758.
163. Report of a WHO study group. Diabetes Mellitus. *World Health Organ Tech Rep Ser* 1985; 727: 1-13.
164. Fenzl A, Itariu BK, Kosi L, Fritzer-Szekeres M, Kautzky-Willer A, Stulnig TM, Kiefer FW. Circulating betatrophin correlates with atherogenic lipid profiles but not with glucose and insulin levels in insulin-resistant individuals. *Diabetologia* 2014; 57: 1204-1208
165. Skog O, Korsgren S, Melhus A, Korsgren O. Revisiting the notion of type 1 diabetes being a T-cell-mediated autoimmune disease. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes* 2013; 20: 118-123.

166. Han C, Xia X, Liu A, Zhang X, Zhou M, Xiong C, et al. Circulating betatrophin Is increased in patients with overt and subclinical hypothyroidism. *Biomed Res Int* 2016; 2016: 1-6.
167. Erbag G, Eroglu M, Turkon H, Sen H, Binnetoglu E, Aylan N, Asik M. Relationship between betatrophin levels and metabolic parameters in patients with polycystic ovary syndrome. *Cell Mol Biol* 2016; 62: 20-24.
168. Fu Z, Yao F, Abou-Samra AB, Zhang R. Lipasin, thermoregulated in brown fat, is a novel but atypical member of the angiopoietin-like protein family. *Biochem Biophys Res Commun* 2013; 430: 1126-1131.
169. Ren G, Kim JY, Smas CM. Identification of RIFL, a novel adipocyte-enriched insulin target gene with a role in lipid metabolism. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2012; 303: 334-351.
170. Zhang R, Abou-Samra AB. Emerging roles of Lipasin as a critical lipid regulator. *Biochem Biophys Res Commun* 2013; 432: 401-405.
171. Tang T, Li L, Tang J, Li Y, Lin WY, Martin F, et al. A mouse knockout library for secreted and transmembrane proteins. *Nat Biotechnol* 2010; 28: 749-755.
172. Quagliarini F, Wang Y, Kozlitina J, Grishin NV, Hyde R, Boerwinkle E, et al. Atypical angiopoietin-like protein that regulates ANGPTL3. *Proc Natl Acad Sci USA* 2012; 109: 19751-19756.
173. Kassem SA, Ariel I, Thornton PS, Scheimberg I, Glaser B. Beta-cell proliferation and apoptosis in the developing normal human pancreas and in hyperinsulinism of infancy. *Diabetes* 2000; 49: 1325-1333.
174. Lickert H. Betatrophin fuels beta cell proliferation: first step toward regenerative therapy? *Cell Metab* 2013; 18: 5-6.
175. Gusarova V, Alexa CA, Na E, Stevis PE, Xin Y, Bonner-Weir S, et al. ANGPTL8/betatrophin does not control pancreatic beta cell expansion. *Cell* 2014; 159: 691-696.

176. Abu-Farha M, Abubaker J, Al-Khairi I, Cherian P, Noronha F, Hu FB, et al. Higher plasma betatrophin/ANGPTL8 level in Type 2 Diabetes subjects does not correlate with blood glucose or insulin resistance. *Sci Rep* 2015; 5: 1-8.
177. Espes D, Lau J, Carlsson PO. Increased circulating levels of betatrophin individuals with long- standing type 1 diabetes. *Diabetologia* 2013; 57: 50-53.
178. Fu Z, Berhane F, Fite A, Seyoum B, Abou- Samra AB, Zhang R. Elevated circulating lipasin/betatrophin in human type 2 diabetes and obesity. *Sci Rep* 2014; 4: 5013-5014.
179. Chen CC, Susanto H, Chuang WH, Liu TY, Wang CH. Higher serum betatrophin level in type 2 diabetes subjects is associated with urinary albumin excretion and renal function. *Diabetologia* 2016; 45: 74-82.
180. Fidan F, Alkan B M, Tosun A. Çağın Pandemisi: D vitamini eksikliği ve yetersizliği. *Türk Osteoporoz Dergisi* 2014; 20: 71-74.
181. Wacker M, Holick M. Vitamin D-effects on skeletal and extraskeletal health and the need for supplementation. *Nutrients* 2013; 5: 111-148.
182. Tellioglu A, Başaran S. Güncel bilgiler ışığında vitamin D. *Arşiv Kaynak Tarama Dergisi* 2013; 22: 259-271.
183. Chirstakos S, Ajibade DV, Dhavan P. Vitamin D metabolisma. *Endokrinology metab clin. North am.*2010; 39-43.
184. Bringhurst FR, Demay MB, Krane SM, Kronenberg HM. Kemik ve mineral metabolizması bozuklukları. *Harrison İç Hastalıkları Prensipleri* 17. Baskı. Akçay T (Çeviren), Biberoglu K. (Ed). İstanbul, Nobel Matbaacılık, 2013; 2365-2377.
185. Powe CE, Evans MK, Wenger J, Zonderman AB, Berg AH, Nalls M, et al. Vitamin D-binding protein and vitamin D status of black americans and white americans. *N Engl J Med* 2013; 369: 1991-2000.
186. Safadi FF, Thornton P, Magiera H, Hollis BW, Gentile M, Haddad JG, et al. Osteopathy and resistance to vitamin D toxicity in mice null for vitamin D binding protein. *J Clin Invest* 1999; 103: 239- 251.

187. Mouli VP, Ananthakrishnan AN. Review article: vitamin D and inflammatory bowel diseases. *Aliment Pharmacol Ther* 2014; 39: 125-136.
188. Christakos S. Recent advances in our understanding of 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> regulation of intestinal calcium absorption. *Arch Biochem Biophys* 2011; 523: 73-76.
189. Takeda S, Yoshizawa T, Nagai Y, Yamato H, Fukumoto S, Sekine K, et al. Stimulation of osteoclast formation by 1,25- dihydroxyvitamin D requires its binding to vitamin D receptor (VDR) in osteoblastic cells: studies using VDR knockout mice. *Endocrinology* 1999; 140: 1005-1008.
190. Kamen DL, Tangpricha V. Vitamin D and molecular actions on the immune system: modulation of innate and autoimmunity. *J Mol Med (Berl)* 2010; 88: 441-450.
191. Zhang L, Wang S, Che X, Li X. Vitamin D and lung cancer risk: a comprehensive review and meta-analysis. *Cell Physiol Biochem* 2015; 36: 299-305.
192. Badawi A, Sayegh S, Sadoun E, Al-Thani M, Arora P, Haddad PS. Relationship between insulin resistance and plasma vitamin D in adults. *Diabetes Metab Syndr Obes* 2014; 7: 297-303.
193. Zhou J, Chen H, Wang Z, Li Y, Li M, Xiang H. Effects of vitamin D supplementation on insulin resistance in patients with type 2 diabetes mellitus. *Zhonghua yi xue za zhi* 2014; 94: 3407-3410.
194. Wiseman H. Vitamin D is a membrane antioxidant: ability to inhibit iron-dependent lipid peroxidation in liposomes compared to cholesterol, ergosterol, and tamoxifen and relevance to anticancer action. *FEBS J* 1993; 326: 285-288.
195. Lin AM, Chen KB, Chao PL. Antioxidative effect of vitamin D<sub>3</sub> on zinc-induced oxidative stress in CNS. *Ann N Y Acad Sci* 2005; 1053: 319-329.
196. Erel O. A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation. *Clin Biochem* 2004; 37: 277-285.
197. Erel O. A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clin Biochem* 2005; 38: 1103-1111.

198. Van Dam PS, Bravenboer B. Oxidative stres and antioxidant treatment in diabetic neuropathy. *Neuroscience Research Communications* 1997; 21: 41-48.
199. Norman AW, Nemere I, Zhou LX, Bishop JE, Lowe KE, Maiyar AC et al. 1992. 1, 25(OH)<sub>2</sub>-Vitamin D<sub>3</sub>, a steroid hormone that produces biological effects via both genomic and nongenomic pathway. *J Steroid Biochem Mol Biol* 1992; 41: 231-240.
200. Reichel H, Koeffler HP, Norman AW. The role of the vitamin D endocrine system in health and disease. *N Engl J Med* 1989; 320: 980-991.
201. Karasu Ç, Arı N. Enerji Metabolizmasının Regülasyonu: Pankreasın rolü, gastroenteropankreatik hormonlar, yağ dokusu hormonları, nöropeptidler, diabetes mellitus, antidiyabetik ilaçlar, Diyabet/Diyabet Tedavisinde Yeni Ajanlar ve Potansiyel Hedefler. *Turkiye Klinikleri J Int Med Sci* 2005;1(35):1-61
202. Balgetir F, Kocaman N. Deneysel diyabetik ratların beyin dokusunda irisin immünreaktivitesi üzerine losartanın etkileri. *Fırat Tıp Derg/Firat Med J* 2016; 21(2): 63-66
203. Aydın S. Three new players in energy regulation: Preptin, adropin and irisin. *Peptides* 2014; 56: 94-110.
204. Giugliano D, Ceriello A, Paolisso G. Diabetes mellitus, hypertension and cardiovascular diseases: which role for oxidative stress? *Metabolism* 1995; 44: 363-368.
205. Celik E, Yilmaz E, Celik O, Ulas M, Turkuoglu I, Karaer A, et al. Maternal and fetal adropin levels in gestational diabetes mellitus. *J Perinat Med* 2013; 41: 375-380.
206. Abu Farha M, Sriraman D, Cherian P, et al. Circulating ANGPTL8/betatrophin is increased in obesity and reduced after exercise training. *PLoS One*. 2016; 11: 1-12.
207. Mevlüt Kurt, Ayşegül Atmaca, Alper Gürlek. Diyabetik nefropati. *Hacettepe Tıp Dergisi* 2004; 35: 12-17.

## 6. ÖZGEÇMİŞ

1976 yılında Elazığ doğumluyum. İlk, orta ve lise eğitimimi Elazığ'da tamamladım. 1994 yılında Elazığ Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde Tıp eğitimime başladım ve 2001 yılında tamamladım. 2014 yılında Erzurum Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi İç hastalıkları Anabilim Dalı'nda uzmanlık eğitimime başladım. 2016 yılında F.Ü. İç Hastalıkları Anabilim Dalı'nda eğitime devam ettim. Evli ve üç çocuk babasıyım.

