



T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI

TİP 2 DİYABET GELİŞTİRİLMİŞ SIÇANLARDA
25(OH)D VİTAMİNİ TAKVİYESİNİN ADİPOKİNLER VE
İLERİ GLİKASYON SON ÜRÜNLERİ ÜZERİNE ETKİSİ

DOKTORA TEZİ

ÇİĞDEM TOPRAK

DANIŞMAN

Prof. Dr. BAŞAR SIRMAGÜL

2020

ÖZET

Tip 2 Diyabet geliştirimiş sıçanlarda 25(OH)D takviyesinin adipokinler ve ileri glikasyon son ürünleri üzerine etkisi

Amaç: Çalışmamızda, yüksek yağlı diyet (HFD) uygulanmış sıçanlarda, düşük doz Streptozotosin (STZ) ile Tip 2 Diyabet (T2DM) modeli oluşturulmuş, 25(OH)D takviyesinin kan glukoz, insülin, insülin direnci (İD), lipid profili, adipokinler ve adipositokinler üzerindeki etkileri incelenmiş ayrıca koroner ve renal arterlerde ileri glikasyon son ürünleri (AGE) oluşumu açısından değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Kapsam: Vitamin D eksikliğinin, artmış insülin rezistansı, hemoglobinA1c (HbA1c) ve AGE oluşumu ile ilişkilendirildiğine dair çalışmaların mevcut olması ve adipokin aracılı vasküler komplikasyonların bildirilmiş olması nedeniyle Vitamin D takviyesinin diyabet tedavisinde olası rolü ve sitokinlerle ilişkisini çalışmayı planladık.

Yöntem: Sıçanlar T2DM indüklenmeden önce 4 hafta süresince HFD ile beslenmiş ardından düşük doz STZ ile diyabet indüklenmiştir. Süre sonunda; kan glukoz, insülin seviyesi, yüksek dansiteli lipoprotein (HDL), total kolesterol (TK), trigliserit (TG) seviyeleri, karaciğer dokusunda total antioksidan kapasite (TAS), total oksidan kapasite (TOS), oksidatif stres indeks (OSI), serum adiponektin ve apelin seviyeleri, böbrek dokusunda, tümör nekroz faktör- α (TNF- α), interlökin-6 (IL-6) seviyeleri ile koroner ve renal arterlerde AGE formasyonları belirlenmiştir.

Bulgular: T2DM grubunda, Vitamin D takviyesi ile kan glukoz seviyesinde anlamlı bir azalma ve insulin seviyesinde anlamlı bir artış gözlenmiştir. TK seviyeleri, HFD grubunda Vitamin D takviyesiyle anlamlı derecede azalmıştır. HDL seviyeleri, yalnızca T2DM grubunda Vitamin D takviyesiyle anlamlı derecede artmıştır. TG seviyelerinde, Vitamin D'nin olumlu bir etkisi bulunamamıştır. Ayrıca artan insulin direnci (HOMA-IR) düzeyleri, Vitamin D takviyesi ile düzelmemiştir. Adiponektin seviyeleri, kontrol grubuna göre tüm gruplarda azalmış ve T2DM grubunda Vitamin D'nin adiponektin seviyesi üzerine arttırıcı etkisi gözlenmiştir. Apelin seviyelerinde Vitamin D'nin etkisi

olmamıştır. Böbrek sitokin düzeylerinde, T2DM grubunda Vitamin D'nin bu sitokinlerin düzeyini azaltıcı etkisi gözlenmiştir. OSI açısından ise, Vitamin D, T2DM grubunda etkisiz iken, HFD grubunda azaltıcı bir etkisi gözlenmiştir.

Tedavi grubu ile diyabetik grup karşılaştırmasında, T2DM modeli açısından, HFD grubunun, pre-T2DM dönemini yansıtmaması açısından değerlendirmesinin uygun olacağını düşünmekteyiz

Sonuç: Bulgularımızın ışığında, Vitamin D takviyesinin T2DM ve buna zemin hazırlayan metabolik sendrom tablosunda, kan glukozu, insulini ve sitokinler aracılı olumlu katkılarının olacağını düşünmekteyiz.

Anahtar kelimeler: Tip 2 diyabet, Obezite, Adipokin, İleri glikasyon son ürünleri, 25(OH)D vitamini

SUMMARY

Effect of 25(OH)D supplementation on adipokines and advanced glycation end products in type 2 diabetic rat model

Aim: In our study, high-fat diet (HFD) applied rats and Type 2 Diabetes (T2DM) model rats were created with low dose Streptozotocin (STZ), the effects of 25 (OH) D supplements on blood glucose, insulin, insulin resistance (ID), lipid profile, adipokines and adipocytokines were investigated and we aimed to evaluate advanced glycation end products (AGE) in coronary and renal arteries.

Content: Vitamin D deficiency is associated with increased insulin resistance, HbA1c and AGE formation and adipokine-mediated vascular complications have been reported. In our study we aimed to investigate the possible role of Vitamin D supplementation in the treatment of diabetes and its relationship with cytokines.

Method: Rats were fed with HFD for 4 weeks and then diabetes was induced with low dose STZ. At the end of the period; blood glucose, insulin level, high density lipoprotein (HDL), total cholesterol (TK), triglyceride (TG) levels, tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukin-6 (IL-6) levels in kidney tissue, serum adiponectin and apelin levels, total antioxidant capacity (TAS), total oxidant capacity (TOS), oxidative stress index (OSI) in liver tissue and AGE formations in coronary and renal arteries were determined.

Results: In the T2DM group, a significant decrease in blood glucose level and a significant increase in insulin level were observed with Vitamin D supplementation. Increased insulin resistance (HOMA-IR) levels, Vitamin D supplementation didn't improved. TK levels decreased significantly with Vitamin D supplementation in the HFD group. HDL levels increased significantly with Vitamin D supplementation only in the T2DM group. Vitamin D no positive effect was found on TG levels. Adiponectin levels decreased in all groups compared to the control group and an enhancing effect of Vitamin D on adiponectin level was observed in the T2DM group. Vitamin D had no effect on apelin levels. In kidney cytokine levels, Vitamin D decreased the level of these cytokines in the T2DM group. When OSI was evaluated, Vitamin D had a

reducing effect in the HFD group. In terms of the T2DM model, we think that the HFD group is important in terms of reflecting the pre-T2DM period and we believe that it is important in the comparison of treatment groups in this respect.

Conclusions: In the light of our findings, we think that Vitamin D supplementation will have positive effects on blood glucose, insulin and cytokines in T2DM and the metabolic syndrome table that prepares the ground for this.

Keywords: Type 2 diabetes, Obesity, Adipokine, Advanced glycation end products, 25 (OH) Vitamin D

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	iii
SUMMARY.....	v
TABLO DİZİNİ.....	xi
ŞEKİL DİZİNİ.....	xii
SİMGE ve KISALTMALAR DİZİNİ.....	xiv
1. GİRİŞ ve AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	2
2.1. Diabetes Mellitus.....	2
2.1.1. <i>Diabetes Mellitus Akut ve Kronik Komplikasyonları</i>	2
2.1.2. <i>Diabetes Epidemiyolojisi</i>	3
2.2. Diyabetin klinik sınıflaması.....	5
2.2.1. <i>Tip 1 Diabetes Mellitus</i>	5
2.2.2. <i>Tip 2 Diabetes Mellitus</i>	6
2.2.3. <i>Tip 2 Diabetes Mellitus Etiyolojik Sınıflandırılması</i>	7
2.2.4. <i>Tip 2 Diabetes Mellitus Patogenezi</i>	8
2.2.4.1. <i>Beta hücre fonksiyon bozukluğu</i>	9
2.2.4.2. <i>Tip 2 Diyabet Patogenezinde İnsülin Direnci</i>	9
2.2.4.2.1. <i>Preklinik Diyabet Dönemi</i>	10
2.2.4.2.2. <i>Glukoz İntoleransı Dönemi</i>	11
2.2.4.2.3. <i>Erken Klinik Diyabet Dönemi</i>	11
2.2.4.2.4. <i>Klinik Diyabet Dönemi</i>	11
2.2.4.3. <i>Hepatik Glukoz Üretiminde Artış</i>	12
2.2.5. <i>Bozulmuş Açlık Glukozu ve Bozulmuş Glukoz Toleransı</i>	12
2.2.6. <i>Tip 2 Diabetes Mellitus ve İnflamasyon</i>	12
2.2.7. <i>Tip 2 Diabetes Mellitus ve Oksidatif Stres</i>	14
2.2.7.1. <i>Glukozun Oto-oksidasyonu ve Süperoksit Üretimi</i>	15

2.2.7.2. <i>Proteinlerin Glikasyonu ve AGE üretimi</i>	15
2.2.7.3. <i>Poliyol yol</i>	16
2.3. <i>Tip 2 Diyabet Modelleri</i>	17
2.3.1. <i>HFD-STZ-T2DM tarihçesi</i>	18
2.4. <i>Adipokinler</i>	19
2.4.1. <i>Tip 2 Diyabet Patogeneğinde Lipotoksisite</i>	20
2.4.2. <i>İnsülin Direnci, Obezite, IL-6, TNF-α, Adiponektin, Apelin İlişkisi</i> ..	21
2.4.2.1. <i>İnterlökin-6</i>	22
2.4.2.2. <i>Tümör Nekroz Faktör-α</i>	23
2.4.2.3. <i>Adiponektin</i>	24
2.4.2.4. <i>Apelin</i>	26
2.4.2.4.1. <i>Apelin ve besin alımı üzerine etkileri</i>	27
2.5. <i>İleri Glikasyon Son Ürünleri</i>	28
2.5.1. <i>AGE Oluşum Mekanizması</i>	29
2.6. <i>Vitamin D</i>	30
2.6.1. <i>Vitamin D Metabolizması</i>	30
2.6.2. <i>Tip 2 Diyabet ve D Vitamini</i>	32
2.6.2.1. <i>Pankreatik β-hücre fonksiyonu</i>	32
3. <i>GEREÇ ve YÖNTEMLER</i>	34
3.1. <i>Gereç</i>	34
3.1.1. <i>Deneyde kullanılan hayvanlar</i>	34
3.1.2. <i>Deneylerde kullanılan kimyasal madde ve çözeltiler</i>	34
3.1.3. <i>Deneylerde kullanılan cihazlar</i>	35

3.2. Yöntem	36
3.2.1. Deneylerde kullanılan çözeltiler ve konsantrasyonları.....	36
3.2.2. Deneylerde kullanılan hayvan grupları.....	36
3.2.3. Deneyssel T2DM ve Obezite modelinin oluşturulması.....	40
3.2.4. Açlık serum glukoz ve insülin düzeyleri değerlendirilmesi	41
3.2.5. Lipid profili düzeyleri değerlendirilmesi.....	41
3.2.6. Sıçanların Vitamin D düzeylerinin değerlendirilmesi.....	41
3.2.7. Sitokinlerin değerlendirilmesi.....	41
3.2.8. Adipokin düzeylerinin değerlendirilmesi.....	41
3.2.9. Oksidatif stres profilinin değerlendirilmesi.....	42
3.2.10. Arterlerdeki immunohistokimyasal analizler.....	42
3.2.11. ELISA yöntemi protokolü.....	42
3.2.12. Histokimya yöntemi protokolü.....	42
3.2.13. İmmunohistokimyasal yöntem.....	43
3.2.14. Mikroskopik değerlendirme.....	44
3.2.15. İstatistiksel analizler.....	45
4. BULGULAR.....	46
4.1. Vücut ağırlıklarının değerlendirilmesi.....	46
4.2. Kalp ağırlıklarının değerlendirilmesi.....	47
4.3. Kalp ağırlık/Vücut ağırlık oranlarının değerlendirilmesi.....	48
4.4. Kan glukoz seviyelerinin değerlendirilmesi.....	49
4.5. İnsülin seviyelerinin değerlendirilmesi.....	50
4.6. HOMA-IR seviyelerinin değerlendirilmesi.....	51
4.7. Total kolesterol seviyelerinin değerlendirilmesi.....	52
4.8. HDL seviyelerinin değerlendirilmesi.....	53
4.9. Trigliserit düzeylerinin değerlendirilmesi.....	54
5.0. Vitamin D düzeylerinin değerlendirilmesi.....	55

5.1. Böbrek TNF- α düzeylerinin değerlendirilmesi.....	56
5.2. Böbrek IL-6 düzeylerinin değerlendirilmesi.....	57
5.3. Adiponektin seviyelerinin değerlendirilmesi.....	58
5.4. Apelin seviyelerinin değerlendirilmesi.....	59
5.5. Total Oksidan Kapasite seviyelerinin değerlendirilmesi.....	60
5.6. Total Antioksidan Kapasite seviyelerinin değerlendirilmesi.....	61
5.7. Oksidatif Stres İndeksi Değerlendirilmesi.....	62
5.8. Histokimyasal Bulgular.....	63
5.8.1. Böbrek dokusuna ait bulgular.....	63
5.8.2. Kalp dokusuna ait bulgular.....	64
5.8.3. Karaciğer dokusuna ait bulgular.....	65
5.8.4. Koroner arter dokusuna ait bulgular.....	66
5.8.5. Renal arter dokusuna ait bulgular.....	67
5.9. İmmunohistokimyasal Bulgular.....	68
5.9.1. Böbrek dokusuna ait bulgular.....	68
5. TARTIŞMA.....	69
6. SONUÇ ve ÖNERİLER.....	78
KAYNAKLAR DİZİNİ.....	79
ÖZGEÇMİŞ.....	93

TABLO DİZİNİ

Tablo 2.1. Dünyada Diabetes Mellitus epidemiyolojisi.....	3
Tablo 2.2. DSÖ tarafından yapılan glisemi bozukluklarının etiyolojik ve klinik açıdan sınıflaması.....	4
Tablo 2.3. Tip 2 Diabetes Mellitus Etiyolojik Sınıflandırılması.....	7
Tablo 2.4. Diyabetik komplikasyonlarda inflamatuvar bileşenler.....	13
Tablo 2.5. Adipokinlerin sınıflandırılması.....	19
Tablo 3.1. Deneylerde kullanılan hayvan grupları.....	36
Tablo 3.2. Yüksek yağlı diyet yemi ve normal yem formülasyonu.....	37
Tablo 3.3. Hematoksilen-Eozin boyama yöntemlerinin basamakları ve süreleri.....	43

ŞEKİL DİZİNİ

Şekil 2.1. Diabetes Mellitus mikrovasküler makrovasküler komplikasyonları.....	2
Şekil 2.2. Tip 1 diyabetin farklı dönemleri.....	6
Şekil 2.3 Tip 2 Diabetes Mellitus patogenezinde hiperglisemi patofizyolojisi.....	8
Şekil 2.4. Beta hücre fonksiyonunun progresif azalması.....	9
Şekil 2.5. İntrasellüler insülin sinyal yolları.....	10
Şekil 2.6. Hipergliseminin oksidatif stres ve inflamasyon üzerine etkisi.....	13
Şekil 2.7. Oksidatif stres yolları ve diyabet.....	16
Şekil 2.8. Visseral yağ dokusunun MetS gelişimindeki moleküler etkileri.....	19
Şekil 2.9. Obezite ile insülin direnci ve Tip 2 diyabet arasındaki ilişki.....	20
Şekil 2.10. Viseral yağ dokusunda artış, kanda serbest yağ asidi diyabet gelişimi.....	21
Şekil 2.11. Obezitede yağ dokusu inflamasyonu.....	22
Şekil 2.12. İnflamasyon hipotezi.....	23
Şekil 2.13. Obezitede SYA ve TNF- α 'nın insülin direnci ve diyabet gelişimi ile ilişkisi.....	24
Şekil 2.14. İnsülin direnci, TNF- α ve Adiponektin ilişkisi.....	26
Şekil 2.15. Apelin sitokininin önemli etkileri.....	28
Şekil 2.16. AGE oluşumu.....	29
Şekil 2.17. AGE-RAGE Etkileşimi.....	30
Şekil 2.18. Vitamin D metabolizması.....	31
Şekil 3.1. Deney aşamaları.....	37
Şekil 3.2. Deney gruplarındaki sıçanların görüntüleri.....	39
Şekil 3.3. Hücre dışı matriks yeniden modelleme ve insülin direnci arasındaki ilişki.....	40

Şekil 4.1. 1.hafta ve 14.hafta vücut ağırlıkları değişimi.....	46
Şekil 4.2. 14. hafta tüm grupların kalp ağırlıklarının gösterilmesi.....	47
Şekil 4.3. 14. hafta tüm grupların Kalp Ağırlığı/Vücut Ağırlığı seviyelerinin gösterilmesi.....	48
Şekil 4.4. 14. Hafta tüm grupların kan glukoz seviyelerinin gösterilmesi.....	49
Şekil 4.5. 14. hafta tüm grupların insülin seviyelerinin gösterilmesi.....	50
Şekil 4.6. 14. hafta tüm grupların HOMA-IR seviyelerinin gösterilmesi.....	51
Şekil 4.7. 14. hafta tüm grupların total kolesterol seviyelerinin gösterilmesi.....	52
Şekil 4.8. 14. Hafta tüm grupların HDL seviyelerinin gösterilmesi.....	53
Şekil 4.9. 14. hafta tüm grupların Trigliserit seviyelerinin gösterilmesi.....	54
Şekil 5.0. 14. hafta tüm grupların Vitamin D seviyelerinin gösterilmesi.....	55
Şekil 5.1. 14. hafta tüm grupların böbrek TNF- α seviyelerinin gösterilmesi.....	56
Şekil 5.2. 14. hafta tüm grupların böbrek IL-6 seviyelerinin gösterilmesi.....	57
Şekil 5.3. 14. hafta tüm grupların adiponektin seviyelerinin gösterilmesi.....	58
Şekil 5.4. 14. hafta tüm grupların apelin seviyelerinin gösterilmesi.....	59
Şekil 5.5. 14. hafta tüm grupların TOS seviyelerinin gösterilmesi.....	60
Şekil 5.6. 14. hafta tüm grupların TAS seviyelerinin gösterilmesi.....	61
Şekil 5.7. 14. hafta tüm grupların OSI seviyelerinin gösterilmesi.....	62
Şekil 5.8. Sıçan gruplarına ait histolojik böbrek kesitleri.....	63
Şekil 5.9. Sıçan gruplarına ait histolojik kalp kesitleri.....	64
Şekil 6.0. Sıçan gruplarına ait histolojik karaciğer kesitleri.....	65
Şekil 6.1. Sıçan gruplarının koroner arter dallarına ait histolojik kesitler.....	66
Şekil 6.2. Sıçan gruplarının renal arterlerine ait histolojik kesitler.....	67
Şekil 6.3. Sıçan gruplarının böbreklerine ait anti-CML ile immunohistokimyasal olarak boyanan histolojik kesitler.....	68

SİMGE ve KISALTMALAR DİZİNİ

- AGE** İleri Glikasyon Son Ürünleri
- Akt** Protein kinaz B
- AMPK** 5' AMP ile aktive olan protein kinaz
- APJ** Apelin reseptör
- ATP** Adenozin Trifosfat
- BAG** Bozulmuş açlık glukozu
- BGT** Bozulmuş glukoz toleransı
- CCL2** CC-kemokin ligand-2
- CCL5** CC-kemokin ligand-5
- CCR5** CC-kemokin reseptör tip-5
- CML** Karboksimetillizin
- CRP** C-Reaktif Protein
- CTGF** Bağ dokusu büyüme faktörü
- CX3CL1** Kemokin ligand-1
- DBP** D vitamini bağlayıcı protein
- DSÖ** Dünya Sağlık Örgütü
- ECM** Hücre dışı matriks
- ELISA** Enzime bağlı immunosorban yöntem
- eNOS** Endotelial nitrik oksit sentaz
- GLUT-4** Glukoz taşıyıcı tip 4
- HbA1c** Hemoglobin-A1c
- HDL** Yüksek dansiteli lipoprotein
- H-E** Hematoksilen Eozin
- HFD** Yüksek yağlı diyet
- HOMA-IR** İnsülin direnci testi
- ICAM-1** İntrasellüler adezyon molekül-1
- IDF** Uluslararası Diyabet Federasyonu
- IDDM** İnsüline bağımlı Diabetes Mellitus

IFG Bozulmuş açlık toleransı
IL-1 İnterlökin-1
IL-6 İnterlökin-6
IL-18 İnterlökin-18
INS İnsülin geni
IRS İnsülin reseptör substrat
ID İnsülin direnci
İHK İmmunohistokimya
KVH Kardiyovasküler hastalık
LDL Düşük dansiteli lipoprotein
LV Sol ventrikül
LVH Sol ventrikül hipertrofisi
MAPK Mitojen aktive protein kinaz
MetS Metabolik sendrom
MMP Matriks metalloproteinaz
mRNA messenger RNA
NADPH Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat
NF-κB Nükleer faktör kappa-B
NIDDM İnsüline bağımlı olmayan Diabetes Mellitus
NO Nitrik oksit
OGTT Oral Glukoz Tolerans Test
OSI Oksidatif stres indeksi
PAI-1 Plazminojen aktivatör inhibitör-1
PARP Poli-ADP riboz polimeraz
PI3-K Fosfoinozitol 3-Kinaz
PBS Fosfat tamponlu salin
PGRN Progranulin
PKC Protein kinaz C
PTH Parathormon
PVN Paraventriküler nukleus

RAGE Reseptör AGE
RAS Renin-Anjiyotensin Sistem
RBP-4 Retinol Bağlayıcı Protein-4
ROT Reaktif Oksijen Türleri
RNT Reaktif Nitrojen Türleri
SAA Serum Amiloid A
SIRT1 Sirtuin 1
SON Supraoptik nukleus
sRAGE Çözünür RAGE
STZ Streptozotosin
SYA Serbest yağ asitleri
TAS Total antioksidan kapasite
TG Trigliserit
TGF- β Dönüştürücü büyüme faktörü- β
TK Total kolesterol
TLR-2 Toll benzeri reseptör-2
TLR-4 Toll benzeri reseptör-4
TNF- α Tümör nekroz faktör- α
TNFR Tümör nekroz faktör- α reseptör
TOS Total oksidan kapasite
T1DM Tip 1 Diabetes Mellitus
T2DM Tip 2 Diabetes Mellitus
VCAM-1 Vasküler hücre adezyon molekülü-1
VDR Vitamin D reseptör
Vitd Vitamin D
VKİ Vücut Kitle İndeksi
8-OHdG 8-hidroksideoksiguanozin

WOS-COPS West of Scotland Coronary Prevention Çalışması

β Beta

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Diabetes mellitus ve obezite, en önemli morbidite ve mortalite nedenleri arasında yer almaktadırlar. Günümüzde, küresel diyabet prevalansı %8.3 (415 milyon) olarak kaydedilmiş ve bu rakamın obezite ve hareketsiz yaşam nedeniyle 2035 yılında %10.1 (592 milyon) ulaşabileceği öngörülmektedir (Türkiye Diyabet Programı, 2015, Uluslararası Diyabet Liderler Zirvesi, 2013). Sedanter yaşam biçimi ve obezite artışı sürdükçe, bu sorunun daha da genç yaşlardan itibaren karşımıza çıkacağı ve yakın gelecekte çocukluk çağı T2DM vakalarının önemli rakamlara ulaşabileceği tahmin edilmektedir (Wild, Roglic, Green, Sicree, King, 2004; Balkan, Eschwege, 2003; Zimmet, Williams, 2002). Obez hastalarda, T2DM oluşmasının moleküler mekanizmaları oldukça karmaşık olup henüz net olarak ortaya koyulamamıştır (İmamoğlu, Ş., Ersoy, C., 2009). Salgıladığı adipokinlerin miktarındaki değişikliklere bağlı olarak, yağ dokusunun bu hastalıkların patogeneğinde rol oynadığını belirtilmektedir. Obezlerde diyabet gelişimde kortizol, serbest yağ asitleri (SYA), TNF- α , IL-6, rezistin, adiponektin, visfatin, apelin, ghrelin, vs. birçok faktörün rolü olabileceği ileri sürülmektedir (Zavalza- Gómez, Anaya-Prado, Rincón-Sánchez, Mora-Martínez, 2008; Kwon, Pessin, 2013). Bütün bu faktörlerin diyabet gelişimindeki ortak etkileri insülin direnci ile ilgilidir. İnsülin direnci, obezitede sık rastlanan bir durum olmakla birlikte, yağ dokusunun artık bir endokrin organ ve obezitenin de ateroskleroz gibi inflamatuvar bir hastalık olduğu bildirilmiştir (Oto, Kepez, 2005; Gimble, 2003). Glikoz intoleransı ve T2DM gelişmesinde, D vitamininin pankreatik β -hücre fonksiyonunu iyileştirdiği, insülin direncini azalttığı ve sistemik inflamasyon üzerinde olumlu etkisi olduğu savunulmaktadır (Hu, Meigs, Li, Rifai, Manson, 2004).

Bu bilgilerden hareketle, çalışmamızda T2DM ve obezite modeli oluşturulmuş sıçanlarda, 25(OH)D takviyesinin kan glukoz, insülin seviyesi, HOMA-IR, kardiyak hipertrofi, lipid profili (TK, HDL, TG) , böbrek TNF- α , IL-6 gibi inflamatuvar sitokinler, serum apelin, adiponektin seviyeleri, karaciğer oksidatif stres profili (TOS, TAS, OSI) ve koroner, renal arterlerde AGE oluşumu üzerine etkisinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

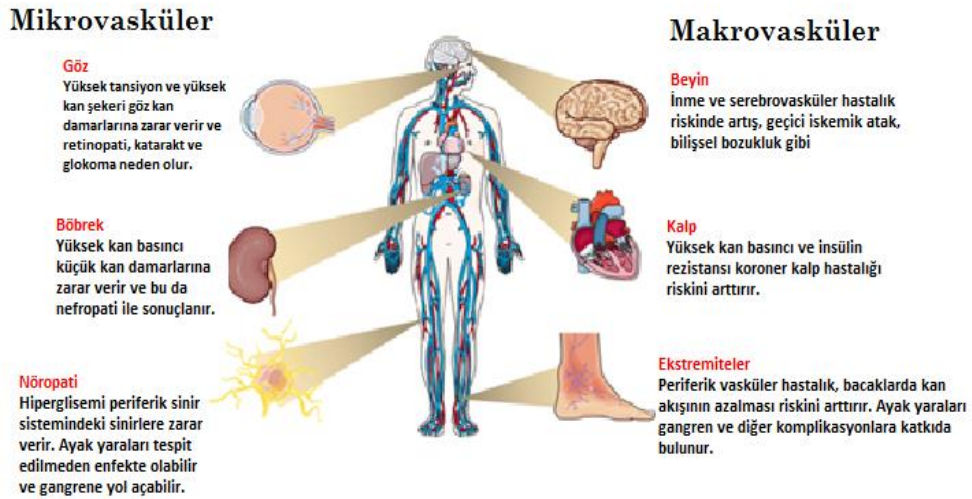
2. GENEL BİLGİLER

2.1. Diabetes Mellitus

Diabetes Mellitus çağdaş toplumu ilgilendiren önemli bir sağlık sorunudur. İnsülin sekresyonunun yetersizliği, etkisizliği ya da insülin molekülündeki yapısal defektler sonucu gelişen, hiperglisemi ve glukagon yüksekliği ile karakterize, karbonhidrat, protein ve lipid metabolizmalarının bozukluğu ile seyreden, akut metabolik ve kronik dejeneratif komplikasyonlarla seyreden bir tablo olarak tanımlamaktadır (Özdemir, Hoccoğlu, 2009).

2.1.1. Diabetes Mellitus Akut ve Kronik Komplikasyonları

Diyabetin akut gelişen komplikasyonlarını, ketoasidoz veya non-ketotik hiperosmolar sendrom oluşturmakta, kronik gelişen komplikasyonlarını ise; retinopati, nefropati, periferik ve otonom nöropati oluşturmaktadır (Şekil 2.1.). Kronik hiperglisemideki doku hasarına yol açan mekanizmalar; doku proteinleri ve diğer makromoleküllerin glikozilasyonu ve poliyol bileşiklerinin aşırı oluşumu şeklindedir (İmamoğlu, 2009).



Şekil 2.1. Diabetes Mellitusta gelişen mikrovasküler ve makrovasküler komplikasyonlar (Jiang,2017)

2.1.2. Diyabet Epidemiyolojisi

Diyabet gelişmekte olan ülkelerde %5 oranında, gelişmiş ülkelerde ise %10 oranında görülmektedir. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) 2000 yılı verileri, diyabetik hasta sayısını 171 milyon, Uluslararası Diyabet Federasyonu (IDF) 2013 yılı verileri ise diyabetik hasta sayısını 382 milyon olarak belirtmiştir (Tablo 2.1). Günümüzde ise global diyabet prevalansı %8.3 (415 milyon) olarak kaydedilmiş ve bu rakamın obezite ve hareketsiz yaşam nedeniyle 2035 yılında %10.1 (592 milyon) ulaşabileceği tahmin edilmektedir (Uluslararası Diyabet Liderler Zirvesi, 2013).

Bozulmuş glukoz toleransı (BGT) Tip 2 diyabet ve kardiyovasküler hastalıklar için önemli bir risk faktörü olup, prevalansı da diyabet ile aynı oranda artmaktadır. 2013 yılı verilerine göre; dünyada BGT'li kişi sayısı 316 milyon iken bu rakamın 2035 yılında 471 milyona ulaşacağı tahmin edilmektedir. 2013 verileri; dünya nüfusunun %8.3'ünde diyabet ve %6.9'unda BGT olduğunu belirtmiştir (Tablo 2.1) (Uluslararası Diyabet Liderler Zirvesi, 2013).

Tablo 2.1. Dünyada Diabetes Mellitus epidemiyolojisi (Türkiye Diyabet Programı, 2013)

GENEL BAKIŞ	2013	2035
Toplam dünya nüfusu (milyar)	7.2	8.7
Yetişkin nüfus (20-79 yaş; milyar)	4.6	5.9
DİYABET		
Global <u>prevalans</u> (%)	8.3	10.1
Karşılaştırmalı <u>prevalans</u>	8.3	8.8
Diyabetli sayısı (20-79 yaş; milyon)	382	592
BGT		
Global <u>prevalans</u> (%)	6.9	8.0
Karşılaştırmalı <u>prevalans</u>	6.9	7.3
Diyabetli sayısı (20-79 yaş; milyon)	316	471

Tablo 2.2. DSÖ tarafından yapılan glisemi bozukluklarının etiyolojik ve klinik sınıflaması (Türkiye Diyabet Vakfı, 2011)

<p>1.Tip 1 Diyabet *İmmun nedenli, Tip 1a *İdiyopatik, Tip 1b</p>
<p>2.Tip 2 Diyabet *Periferik insülin direnci *İnsülin yetmezliği</p>
<p>3.Diğer tipler *Pankreas β hücresinin otozomal dominant genetik hasarları 1.Gençliğin erişkin başlangıçlı diyabeti 2.İnsülin geni (INS) 3.ATP duyarlı potasyum kanalı (KCNJ11 ve ABCC8) *Pankreatik β hücresinin diğer genetik hasarları 1.Otozomal resesif genetik hasarları 2.Mitokondriyal DNA 3.Ketozis meyilli diyabet *İnsülin etkisinde genetik hasarlar 1.İnsülin reseptör mutasyonları 2.Lipoatrofik diyabet *Neonatal diyabet 1.Geçici 2.Kalıcı *Ekzokrin pankreas hastalıkları 1.Pankreatit 2.Travma, pankreatektomi 3.Neoplazi 4.Kistik fibrozis 5.Hemokromatozis 6.Fibrokalkuloz pankreatopati *Endokrinopatiler 1.Akromegali 2.Cushing sendromu 3.Glukogonoma 4.Feokromasitoma 5.Hipertiroidi 6.Somatostatinoma 7.Aldosteronoma *İlaç ve kimyasal maddelere bağlı diyabet 1.8 hücre toksisitesi:Vacor, pentamidin, siklosporin 2.8 hücre otoimmunitesi:α interferon 3.8 hücre fonksiyon kusuru: Tiyazid ve loop diüretikleri, diazoksit, α agonistler, β blokörler, fenitoin, opiatlar 4.İnsülin direnci:glukokortikoidler, progesteron, nikotinik asit, tiroid hormonu, β blokörler, atipik antipsikotikler,antiretroviral proteaz inhibitörleri *İnfeksiyonlar 1.Konjenital rubella 2.Diğer virüsler:sitomegalovirüs, koksakivirüs B, adenovirüs, kabakulak *İmmun aracılı diyabetin nadir formları 1.Stiff-man sendromu 2.İmmun disregülasyon poliendokrinopati enteropati X-linked (IPEX) 3.Otoimmün poliendokrinopati sendromu Tip 1 4.Anti-insülin reseptör antikörleri 5.Ataksi telenjiyektazi sendromu 6.POEMS sendromu (polinöropati, organomegali, endokrinopati, M spike, cilt anomalileri)</p>
<p>4.Gestasyonel Diabetes Mellitus</p>

2.2. Diyabetin Klinik Sınıflaması

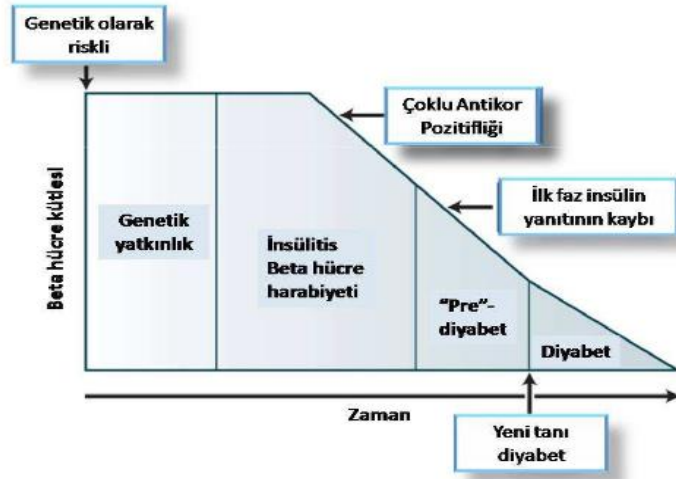
1979 yılında Ulusal Diyabet Veri Grubu tarafından diyabetin ilk sınıflandırılması ve 1985 yılında ise DSÖ tarafından ayrıntılı sınıflandırılması yapılmıştır. DSÖ'nün yapmış olduğu sınıflama kliniksel olup, diyabeti insüline bağımlı (IDDM) ve insüline bağımlı olmayan (NIDDM) olarak terminolojik olarak isimlendirmiştir. Fakat, her iki grup diyabet heterojen olduğundan DSÖ sınıflamasının genel uygulanabilirliğinin sınırlı olduğu gözlenmiştir. 1998 DSÖ Klinik Sınıflama esaslarına göre; ideal sınıflama; diyabet evrelemesi ve etiyolojik gruplamasını içermelidir ve bu yeni DSÖ sınıflamasına göre; 'insülin bağımlı diyabet' ve 'insüline bağımlı olmayan diyabet' tanımlaması tercih edilmemekte, bunun yerine 'Tip 1 Diyabet' ve 'Tip 2 Diyabet' tanımlarının kullanımı tercih edilmektedir (Tablo 2.4) (Diyabet Tanı ve Tedavi Rehberi, 2019).

2.2.1. Tip 1 Diabetes Mellitus

Tip 1 Diabetes Mellitus, pankreas beta (β)-hücrelerinin T hücre aracılı otoimmün ya da otoimmün dışı nedenlere bağlı harabiyeti sonucu gelişen mutlak insülin yetmezliği ve hiperglisemi ile karakterize kronik metabolik bir hastalıktır. T1DM 30 yaşından öncesinde başlamakta, tüm diyabetli hastaların yaklaşık %5-10'unu oluşturmaktadır. Bu hastalarda görülen, polidipsi, poliüri, kilo kaybı gibi belirtiler şiddetli seyretmektedir (Devandra, Liu, Eisenbarth, 2004;). Anti-insülin antikorlar, 3 glutamik asit dekarboksilaz antikorlar, antitirozin fosfataz antikorlar, β -hücre yıkımının göstergesi olup, T1DM tanısında %85–90 oranında tespit edilebilmektedirler. β -hücre yıkımı infant ve çocuklarda fazla iken, yetişkinlerde daha yavaştır. Yetişkinlerde β -hücre fonksiyonlarının yıllarca korunmasından ketoasidoz yıllarca görülmeyebilir, hastalar sonunda insüline bağımlı hale gelir ve ketoasidoz riski artar (Abiru, Kawasaki, Eguch, 2002).

Tip 1 Diabetes Mellitus etiyolojisinde, genetik, çevresel ve otoimmün faktörler önemli bir role sahiptirler. Çevresel faktörlere maruziyet, T

hücrelerinin uyarılması ve farklılaşması, β -hücrelerinin haraplanması, otoimmün süreci oluşturmaktadır. Otoimmunitenin varlığına göre, Tip 1a ve Tip 1b olarak ikiye ayrılmaktadır. Olguların %90'ını Tip 1a oluşturur ve çok nadir görülen Tip 1b'de ise otoimmün belirleyiciler negatiftir, bilinen bir nedeni yoktur (Şekil 2.2). (Lebovitz, 2004; American Diabetes Association, 2010).



Şekil 2.2. Tip 1 diyabetin farklı dönemleri. Genetik yatkınlığı olan kişilerde klinik T1DM ortaya çıkmadan önceki aylar hatta yıllar içinde otoimmün destrüksiyona sekonder beta hücre kaybı gelişir. Klinik semptomlar sağlam β hücre oranı %20 düzeyine indikten sonra başlar. Preklinik dönemden klinik diyabet dönemine geçişte enfeksiyonlar, stres gibi insülin ihtiyacının arttığı durumlar sıklıkla gözlenmektedir (İmamoğlu vd.,2009).

2.2.2. Tip 2 Diabetes Mellitus

Tip 2 Diabetes Mellitus, insülin direnci ve Langerhans pankreatik adacık hücrelerinden yetersiz insülin sekresyonunun bir birleşiminin bir sonucu olarak ortalamanın üzerinde kan glukoz seviyeleri ile karakterizedir (Neelankal, Jiang, 2018). T2DM, yaygın olması ve sebep olduğu akut ve kronik komplikasyonlar sebebiyle en önemli mortalite ve morbidite nedenlerinden biridir. En sık rastlanan diyabet tipi olup, yaklaşık %90 oranında görülür ve bu olguların da %85'inin de obez olduğu belirtilmiştir. Genellikle 40 yaşından sonra ortaya çıkmaktadır ve β -hücre rezervi %10-20 düzeyine inene kadar belirti vermemektedir. Doymuş yağdan zengin beslenme, sedanter yaşam ve obezite, T2DM ile yakın ilişkisi bulunan önemli faktörlerdir (İmamoğlu vd.,2009).

Tip 2 diyabetli hastaların büyük çoğunluğu tanı aldıklarında komplikasyonlar uzun süre önce ortaya çıkmış olmaktadır. 2015 yılında 415 milyon diyabetlinin üçte birinde (93 milyondan fazla kişi) diyabetik retinopati gelişmiştir. Sedanter yaşam biçimi ve obezite artışı, bu sorunun daha da genç yaşlardan itibaren karşımıza çıkacağı ve yakın gelecekte çocukluk çağı Tip 2 diyabet vakalarının önemli rakamlara ulaşabileceği öngörülmektedir (Wild, Roglic, Green, Sicree, King, 2004; Balkan, Eschwege, 2003; Zimmet, Williams, 2002).

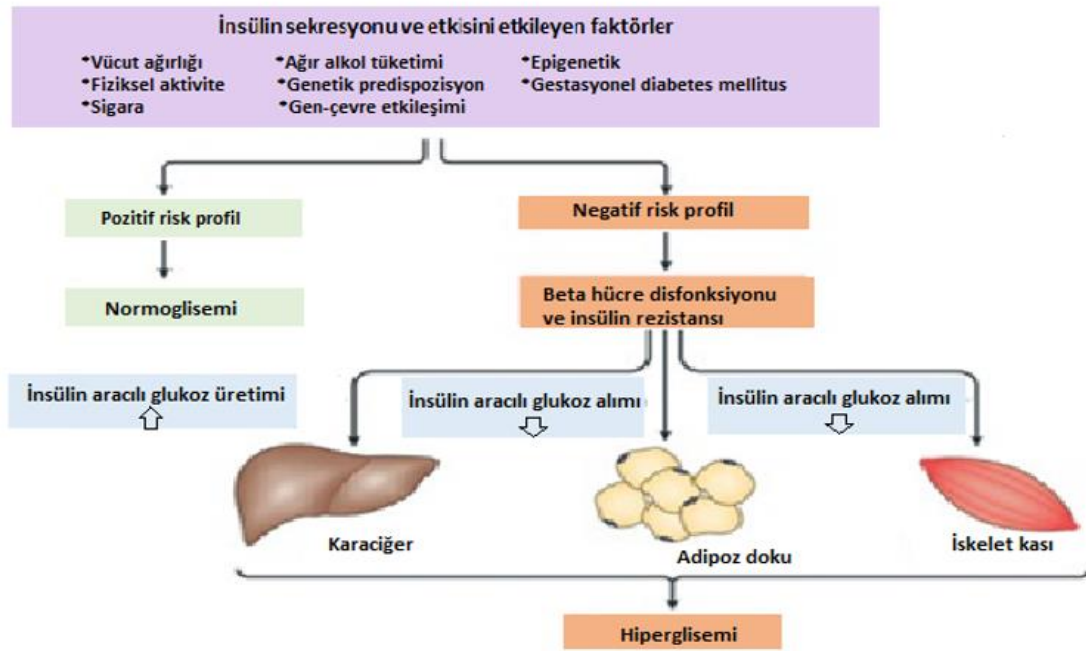
2.2.3. Tip 2 Diabetes Mellitus Etiyolojik Sınıflandırılması

Tablo 2.3. T2DM Etiyolojik Sınıflandırılması (American Diabetes Association, 2010)

Tip 2 Diabetes Mellitus Etiyolojik Sınıflandırılması	
1-İnsülin etkisine göre	
Glukoz klirensinde intrasellüler defektler	
İnsülin reseptör fonksiyonunda bozukluklar	
	-İnsülin reseptör antikolları
	-İnsülin reseptör mutasyonu (Kromozom 19p)
İnsülin yapısında bozukluk	
	-İnsülin gen mutasyonu
	-Proinsülinin insüline dönüşümünde bozukluk (Kromozom 11p)
İatrojenik	
	-Glukokortikoidler
	-Büyüme hormonu
	-Nikotinik asit
	-Diğerleri
2-İnsülin sekresyonuna göre	
Sinyal defekti: Glukokinaz mutasyonu (Kromozom 7p)	
Beta hücre kitlesinin yıkımı	
	-Otoimmün beta hücre yıkımı
	-Pankreatit
	-Diğer sebepler
3-Bilinmeyen Patogenez	
	-Malnütrisyon
	-Kistik fibrozis
	-Hemakromatozis
	-Talasemi
4-Sınıflandırılmayanlar	
İnsülin sekresyon ve etkisinde bilinmeyen nedenlerle azalma	

2.2.4. Tip 2 Diabetes Mellitus Patogenezi

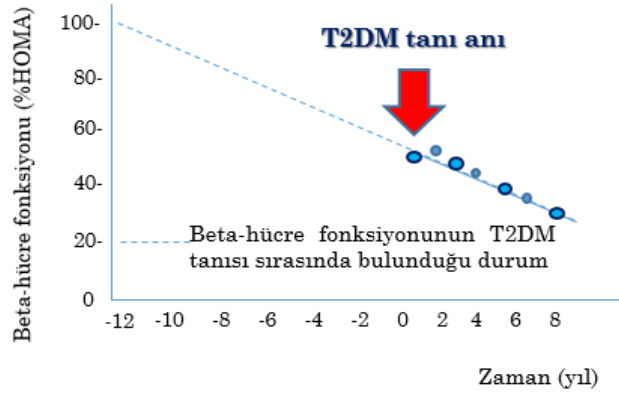
β hücre fonksiyon bozukluğu, insülin direnci ve hepatik glukoz üretimi artışı gibi metabolik bozukluklar T2DM patogenezinde rol oynamaktadır. İnsülin direnci ve/veya insülin eksikliği ön plandadır. Hem insülin direnci hem de bozulmuş insülin sekresyonu, Tip 2 diyabetin patogenezinde genetik olarak kontrol edilen faktörler olup, hangisinin primer rol oynadığı henüz net değildir (Baytekin, 2009). Son zamanlarda bunlara eklenen bir diğer görüşe göre, primer defektin hiperinsülinemi olduğu ve insülin direncinin hiperinsülinemiye bağlı olduğu hipotezidir. Hiperinsülineminin Tip 2 diyabette olduğu gibi, non-oksidatif glukoz kullanımını veya glikojen sentezini bozarak, insülin direncine yol açabileceği ileri sürülmektedir (Del Prato, 1994), (Şekil 2.3.).



Şekil 2.3. Tip 2 Diabetes Mellitus patogenezinde hiperglisemi patofizyolojisi (Zheng,2018)

2.2.4.1. Beta Hücre Fonksiyon Bozukluğu

Bozulmuş glukoz toleransına ve hafif Normoglisemik Hiperinsülinemik Döneme geçildiğinde hiperinsülinemi oluşur. Açlık glukoz düzeyinin 80 mg/dl'den 140 mg/dl'ye yükselmesi insülin düzeyinde sağlıklı bireylere göre 2-2,5 kat artma oluşturmaktadır. Açlık hiperglisemisi arttıkça insülin salgısı da azalmaya başlar ve insülin salgısındaki bu azalmayla birlikte hepatik glukoz üretimi artmaya başlar ve açlık glisemisinin yükselmesine katkıda bulunur. 250-300 mg/dl düzeyindeki açlık glisemi düzeyinde ise insülin salgısı önemli oranda azalır (Del Prato,1994, Şekil 2.4).

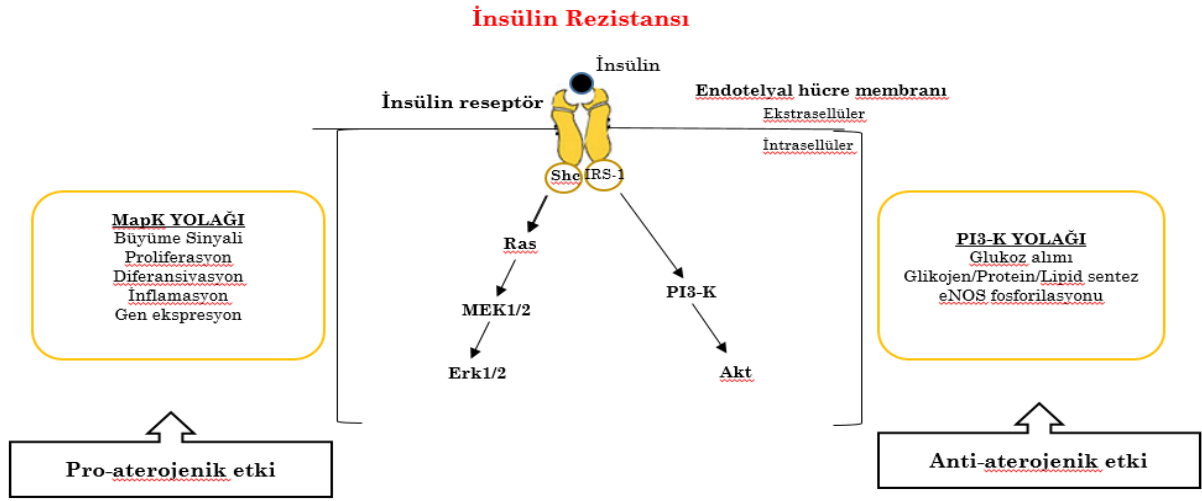


Şekil 2.4. Beta hücre fonksiyonunun progresif azalması, Tip 2 DM hastası tanı konduğu anda endojen insülin rezervlerinin yaklaşık %50'sini kaybetmiş durumdadır.

2.2.4.2. Tip 2 Diyabet Patogenezinde İnsülin Direnci

İnsülin direnci, ekzojen ve endojen insüline karşı normal biyolojik cevabın bozulması olarak tarif edilmektedir. İnsülin, karaciğerde glukoneogenezi ve glikojenolizi inhibe ederek hepatik glukoz üretimini baskılar ve glukozun kas ve yağ dokusuna alımını ve enerji kaynağı olarak depolanmasını sağlar. Hiperglisemiye kompanse etmek için, β hücresinden daha fazla insülin salınımı gerçekleşir. Fakat, β hücresi de fonksiyonlarını kaybetmeye başlayınca, insülin salınım eksikliği ve sonuçta diyabet gelişir. İnsülin direnci ile başlayan

preklinik ve BGT dönemi, insülin sekresyonunun azalması ve diyabetle sonuçlanır (İmamoğlu vd.,2009; Yki-Jaervien, 2003).



Şekil 2.5. İntrasellüler insülin sinyal yolları-İnsülinin reseptöre bağlanması PI3K ve MAPK yolları aktive olmaktadır. Bu sinyal yollarının aktivasyonu aracılığıyla insülin hem metabolik fonksiyonları düzenlemekte, hem de büyüme ve proliferasyonu uyarıcı etkiler sergilemektedir. Bu şekilde, doğrudan veya dolaylı olarak, insan vücudundaki hemen hemen bütün dokuların fonksiyonlarını etkileyebilmektedir. Tip 2 DM'da PI3-kinaz yolu seçici olarak yetersizdir. Hiperinsülinemi giderek şiddetlenir. Fosfatidilinozitol-3 kinaz (PI3K), Mitojen aktive protein kinaz (MAPK), Protein kinaz-B (Akt).

Tip 2 diyabette insülin direncinin oluşumu 4 dönemde incelenmektedir.

2.2.4.2.1. Preklinik diyabet dönemi (normoglisemik hiperinsülinemik dönem)

Preklinik diyabet dönemi birinci dönem olup, Tip 2 diyabet bu dönemde henüz klinik belirti vermez ve β hücre fonksiyonları kısmen normaldir. Var olan periferik insülin direnci normal duruma göre daha fazla insülin salınarak aşılmalı, açlık ve tokluk kan şekerleri normal sınırlar içerisinde tutulmaya çalışılır. Açlık ve tokluk insülin düzeyleri yüksek düzeydedir (Oto, Kepez, 2005; Gimble, 2003 & İmamoğlu vd.,2009).

2.2.4.2.2. Glukoz intoleransı dönemi (postprandiyal hiperglisemik hiperinsülinemik dönem)

Genetik yatkınlık ve kilolu olma gibi yüksek risk grubunda olan kişilerde periferik insülin direncini aşmak için pankreas β hücreleri üzerinde oluşan aşırı yük zamanla β hücrelerinde yorgunluğa ve insülin salgısında azalmaya sebep olunca glukoz intoleransı başlar ve bu durumda açlık glisemisi normal düzeyde olduğu halde, postprandiyal glisemi yükselir. Bu dönemde hiperinsülinemi devam etmekle birlikte periferdeki direnci aşabilecek düzeyde insülin salgılanamamaktadır. Bu dönemde tokluk insülin düzeyleri sağlıklı bireylere göre hala yüksek olsa bile birinci döneme göre bir hayli azalmış olarak gözlenmektedir (Oto, Kepez, 2005; Gimble, 2003 & İmamoğlu vd.,2009).

2.2.4.2.3. Erken klinik diyabet dönemi (hiperglisemik hiperinsülinemik dönem)

Normal glukoz toleransı saptanan prelinik birinci dönem ve postprandiyal glukoz intoleransı saptanan ikinci dönemde açlık hiperglisemisi gelişmediğinden bu iki dönemi kompanse periferik insülin direnci dönemi olarak adlandırmak uygun olacaktır. İnsülin direncinin giderek artması ile kompensasyon bozulmaya başlar ve karaciğerde glukoz yapımı artarak açlık plazma glisemisinin yükselmesine yol açar. Postprandiyal hiperglisemi yanında açlık glisemisinin henüz 140 mg/dl altında olduğu bu dönemde insülin salgısı daha fazla artmamaktadır (Oto, Kepez, 2005; Gimble, 2003 & İmamoğlu vd.,2009).

2.2.4.2.4. Klinik diyabet dönemi (hiperglisemik hipoinsülinemik dönem)

Açlık plazma glisemi düzeyi 140 mg/dl geçince insülin salgısı azalmaya başlar ve insülin direnci devam eder. İnsülin direncinin zirvede olduğu bu dönemde giderek artan hiperglisemi insülin salgısı artışı ile kompanse edilmediği gibi glukoz toksisitesi nedeni ile β hücreleri insülin salgısını daha da az salgılamaya başlar. Bu dönemdeki insülin direncinin ağırlaşmasında serbest yağ asitleri artışının da yani lipotoksitenin de payı vardır (Oto, Kepez, 2005; Gimble, 2003 & İmamoğlu vd.,2009).

2.2.4.3. Hepatik Glukoz Üretiminde Artış

Karaciğerde glukoz yapımı glikojenoliz veya glukoneogenez yoluylaadır. Hepatik glukoneogenezdeki artışın nedeni, kesin olarak bilinmemekle birlikte hiperglukagonemi, laktat, alanin, gliserol gibi glukoneojenik prekürsörlerin artışıyla ilişkili olduğu düşünülmektedir. Sonuçta açlık hiperglisemisi oluşur. Hatta açlık hiperglisemisinin tamamının karaciğer glukoz yapımındaki artışa bağlı olduğu kabul edilmektedir. Hepatik glukoneogenez artışının diyabetiklerde sekonder olay olduğu fakat glukoz toksisitesini daha da artırdığı düşünülmektedir (Yenigün, 2004).

2.2.5. Bozulmuş Açlık Glukozu ve Bozulmuş Glukoz Toleransı

Bozulmuş açlık glukozu ve bozulmuş glukoz toleransı, normal glukoz toleransı ile diyabet arasındaki ara metabolik bozukluklardır. Amerikan Diyabet Derneği (1997) ve DSÖ (1999) kılavuzlarında, bozulmuş açlık glukozu (BAG) ve BGT, bozulmuş karbonhidrat metabolizmasının bir basamağı olarak ele alınmıştır ve bu iki kavram daha sonra gelişecek diyabet ve kardiyovasküler hastalıklar için, risk faktörleri olarak kabul edilmektedirler (Baytekin, 2009). Bu iki bozukluk, insülin direnci, hiperinsülinemi, obezite, yüksek trigliserid ve/veya düşük HDL şeklinde dislipidemi ve hipertansiyonu kapsayan metabolik sendromla ilişkilidirler. Metabolik sendromda doğrudan T2DM patogenezi ile ilişkili olduğundan BAG ve BGT, T2DM için risk faktörüdür (Yenigün, 2004). Epidemiyolojik bir çalışmada, 35-70 yaşları arasındaki popülasyondaki normal kişilerin %25'inde, BGT'lilerin %59'unda, diyabetlilerin ise %88'inde insülin direnci saptanmıştır (Stumvoll, Gerich, 2001).

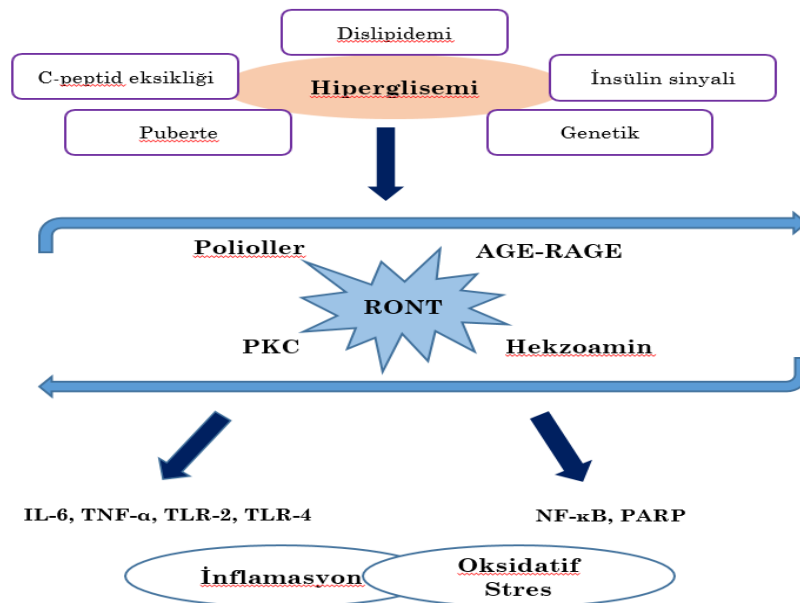
2.2.6. Tip 2 Diabetes Mellitus ve İnflamasyon

Diyabet, vasküler inflamasyon için tetikleyici olduğu kadar, inflamasyonun da diyabeti tetikleyebileceği öne sürülmüştür. T2DM gelişiminde, düşük düzeyli inflamasyonun önemli bir patolojik belirleyici olduğu yönünde bulgular mevcuttur. West of Scotland Coronary Prevention (WOS-COPS) çalışmasında; artmış C-reaktif protein (CRP) düzeylerinin, glukoz düzeyleri, vücut kitle

indeksi (VKİ), trigliserid ve statin kullanımından bağımsız olarak, T2DM oluşma riskini artırdığı belirtilmiştir (Freeman, 2002 ;Baytekin, 2009).

Tablo 2.4. Diyabetik komplikasyonlarda inflamatuvar bileşenler

Diyabetik komplikasyonlarda <u>inflamatuvar</u> bileşenler
<u>İnflamatuvar sitokinler</u> (IL-1, IL-6, IL-18)
<u>Adhezyon molekülleri</u> (ICAM-1, VCAM-1, E-Selektin)
<u>Kemokinler</u> (CCL-2, CX3CL1, CCL-5)
<u>Tool-like reseptörler</u> (TLR-2, TLR-4)
<u>Profibrotik sitokinler</u> (TGF-β, CTGF)



Şekil 2.6. Hipergliseminin oksidatif stres ve inflamasyon üzerine etkisi; RONT, DNA hasarına neden olur ve sonuç olarak NAD tüketimini indükleyen bir onarım enzimi olan poli-ADP riboz polimerazı (PARP) uyarır. Bu endotelial inflamasyon ve oksidatif stresle sonuçlanır. Disregülasyon ve proapoptotik sinyallerin başlatılması ile oluşan AGE'ler RAGE aracılığı ile proinflamatuvar kaskadı (IL-6, IL-1, TNF- α , TGF- β , VCAM-1) ve oksidatif stresi artırır.

Araştırmacılar, (Crook, Tutt, Pickup, 1993; Pickup, Mattock, Chusney, 1997) diyabetin akut faz inflamatuvar reaktanlarının artışı ile karakterize olan inflamatuvar bir hastalık olduğunu ortaya koymuşlardır. TNF- α , IL-6 ve CRP, insülin direnci ile ilişkilidir (Festa, D'Agostina, 2000; Baytekin, 2009). Diyabetli kişilerde sık gözlenen abdominal obezitede karın içi yağ dokusu, düşük seviyeli kronik inflamatuvar durumun belirleyicisidir ve buna bağlı olarak IL-6, TNF- α ve CRP düzeylerinin arttığı görülür. Bu kronik inflamasyon, insülin direnci ve obezite ile kardiyovasküler hastalıklar arasında ilişki olduğu görüşünü kanıtlamaktadır (Yudkin, Stehouwer, Emeis, Coppack, 1999). Ayrıca CRP'nin aterosklerotik süreçte sadece bir inflamasyon belirteci olmadığı, adezyon molekülleri ve doku faktörü yapımını uyarması, düşük dansiteli lipoprotein (LDL)'in fagositler tarafından fagosit edilmesini kolaylaştırması ve monosit göçünü tetiklemesi ile sürece doğrudan katıldığı bilinmektedir (Pascari, Willerson, Yeh, 2000; Baytekin, 2009).

2.2.7. Tip 2 Diabetes Mellitus ve Oksidatif Stres

Hücrede serbest radikal oluşumunda belli bir artış veya atılımında belli bir azalma varsa oksidatif stres oluşur . Oksidatif stres, ROT (reaktif oksijen türleri) ve/veya RNT (reaktif nitrojen türleri) gibi reaktif türlerin artması sonucu oluşur (Mandal, 2013). Yapılan deneysel ve klinik çalışmalar sonucunda, her iki tip diyabette de ROT'nde artış saptanmıştır (Matough, Budin, Hamid, Alwahaibi, Mohamed, 2012; Johansen, Harris, Rychly, Ergul, 2005).

Mitokondriden sızan ROT'nin uyarılması oksidatif stresin kaynağıdır ve bu olay T1DM'de pankreatik β hücrelerinin apoptozu ve T2DM'de insülin rezistansı ile ilişkilidir. Diyabet başlangıcı ve oksidatif stres arasındaki ilişki komplekstir. Oksidatif stres hiperglisemiye sebep olduğu gibi, hiperglisemi de oksidatif strese neden olabilir (West, 2000).

Serbest radikaller ve oksidatif stres, diyabetik komplikasyonlar (retinopati (Khan, Petropoulos, Ponirakis, Malik, 2017), nefropati (Tziomalos, Athyros, 2015), nöropati) ve artan koroner arter hastalıklarının (Davoudi, Sobrin, 2015) oluşumu ve patogeneğinde rol oynamaktadırlar. Fakat, oksidatif

stresin diyabetik komplikasyonlara sebep olma mekanizması tam olarak bilinmemektedir (Kowluru, Chan,2007). Pek çok çalışmada, hücre içi ve dışı glukoz konsantrasyonlarının artmasının oksidatif strese yol açtığı gösterilmiştir (Giugliano, Ceriello, Paolisso, 1995; West, 2000). Diyabette oksidatif stresin etiyolojisi pek çok değişik mekanizmadan kaynaklanır. Örneğin glukozun otooksidasyonu ile glikozillenmiş proteinler ve antioksidan enzimler oksijen radikallerini detoksifiye edemediklerinden oksijen radikal üretimi artar (Wolff, 1993; Giugliano, 1995). Ayrıca, diyabette oksijen radikallerinin üretiminden sorumlu bir mekanizma daha bulunmaktadır. Glukoz metabolizması sonucu artan, nikotinamid adenin dinükleotit fosfat (NADPH) düzeyi aracılığıyla yüksek glukoz düzeylerinin, sitokrom P450 benzeri aktiviteyi stimüle etmesidir (Jain, 1989).

Hiperglisemi Aracılı ROT üretimi başlıca üç mekanizma ile açıklanmaktadır.

2.2.7.1. Glukozun Oto-oksidasyonu ve Süperoksit Üretimi

Hücre içi glukoz oksidasyonu sonucu ortaya çıkan, NADH solunum zincirinde oksidatif fosforilasyon yolu ile ATP üretimi için gerekli enerjiyi sağlamak amacıyla kullanılır. Bu reaksiyon sırasında süperoksit radikali açığa çıkar ve yüksek glukoz konsantrasyonu varlığında bu yolla süperoksit radikal üretimi artar. Yapılan çalışmalar, diyabetteki patolojilerin birçoğunun artmış mitokondriyal ROT üretimi ile ilişkili olduğunu göstermektedir (Brownlee,2001; Green, Brand, Murphy, 2004)

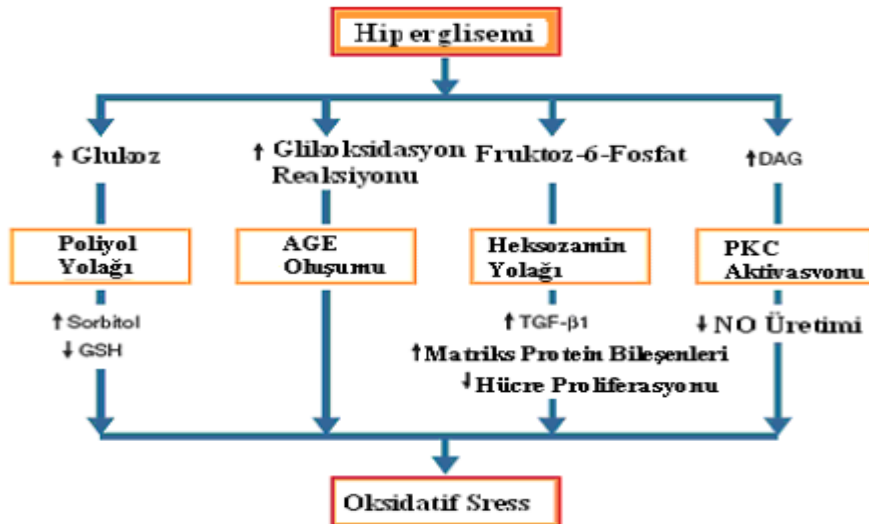
2.2.7.2. Proteinlerin Glikasyonu ve AGE Oluşumu

Glikasyona uğramış protein, moleküler oksijene bir elektron vererek serbest oksijen radikali oluşumuna neden olur (Gillery, Monboisse, Maquart, Borel, 1988). Araştırmalar AGE'lerin, reseptör aracılı mekanizma ile serbest radikal üretimini uyarmasının yanı sıra, artmış serbest radikallerin de hücre içi AGE oluşumunu arttırdığını göstermektedir (Giardino, Edelstein, Borwnlee, 1996). Yapılan çalışmalarda; AGE ve serbest radikallerin, protein kinaz C (PKC)'yi aktive ettiği gösterilmiştir. Aktive olan PKC'nin, vasküler kan akımını, damar permeabilitesini, hücre dışı matriks bileşenlerini

ve hücre büyümesini etkileyerek vasküler komplikasyonların patogeneğinde rol aldığı öne sürölmektedir (Way, Katai, King, 2001; Koya, King, 1998).

2.2.7.3. Poliyol Yolağı

Yüksek glukoz konsantrasyonu, poliyol yolu ile sorbitol üretimine neden olur. Bu yoldaki aldoz redüktaz enzim aktivitesi için Nikotinamid adenin dinökleotit fosfat (NADPH) kullanıldığından hücre içi NADPH tüketilir. Okside glutatyonun redükte forma çevrilebilmesi ve nitrik oksit (NO) sentezi için NADPH gereklidir. Bu nedenle sorbitol yolunun aktif olması ve sonuçta NADPH'nin yokluğu hücrenin antioksidan kapasitesinin sınırlanması anlamına gelmektedir (Maritim, Sanders, Watkins, 2003). Redükte glutatyonun ve vazodilatasyonda görev yapan NO sentezinin azalması diyabetin vasküler komplikasyonlarının ortaya çıkışında rol oynar (Das, Chainy, 2001). Sorbitolun kendisi bir doku toksini gibi hareket eder. Bu nedenle retinopati, nöropati, katarakt, nefropati ve kalp hastalığı patogeneğinde rolü olduğu düşünölmektedir (Bukan, 2004).



Şekil 2.7. Oksidatif stres yolakları ve diyabet, GSH:Glutatyon, DAG:Diaçilgliserol, AGE:İleri glikasyon son ürünleri, TGF-β1:Dönüştürücü büyüme faktörü-β1, NO:Nitrik oksid (Şakul, 2014).

2.3. Tip 2 Diyabet Modelleri

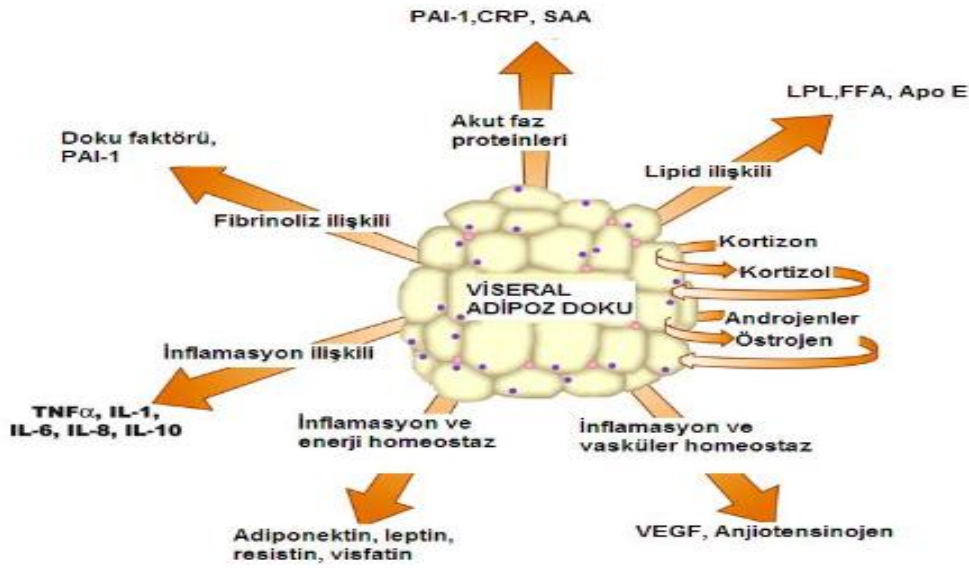
T2DM, lipid metabolizması, insülin direnci ve pankreatik β hücresindeki işlev bozukluğu ile karakterize bir metabolik bozukluktur (Podell, 2017). Obezite, T2DM gelişimi için en yaygın risk faktörüdür, artmış serum trigliserit, hipertansiyon ve insülin direncine yol açabilir (Ghasemi, Jeddi, 2017). Terapötik arenada birçok gelişme rağmen şu anda T2DM için etkili bir tedavi maalesef bulunmamaktadır. Bu yüzden yeni önleyici ve/veya terapötik stratejiler geliştirme ihtiyacı artmıştır (Srinivasan, Ramarao, 2007). Bu hastalığın karmaşıklığı nedeniyle, klinik öncesi hayvan modelleri, insanlardaki patogenezi yansıtmaları açısından önem arz etmektedir. Diyabetin indüksiyonu için kullanılan çoğu hayvan modelinde; pankreas β hücrelerini hedef alan toksik kimyasallar kullanılmaktadır. Alloxan (2,4,5,6-tetraoksipirimidin;5,6-dioksiurasil) (ALX) ilk olarak 1943'te kullanılmış, etki mekanizması, β -hücrelerinin parçalanmasına yol açan serbest radikaller üretmesidir. Fakat ALX, dar doz aralığına sahip kimyasal olması ve böbrek toksisitesine sebep olmasından dolayı nadiren kullanılmaktadır. Diyabeti indüklemek için en yaygın kullanılan kimyasal, ilk olarak 1963 yılında kullanılan STZ 'dir. STZ hem T1DM hem de T2DM indüklemek amacıyla kullanılmaktadır. Yüksek doz STZ T1DM benzer bir özellik olan insülin sekresyonunu ciddi şekilde bozar; ayrıca bu STZ dozu aynı zamanda keton oluşumuna ve kontrolsüz T1DM özelliği olan ketonüriye de yol açar (Szkudelski, 2001). Öte yandan, düşük dozlarda STZ insülin sekresyonunda hafif bozulmaya neden olur ve bu da T2DM ileri evrelerini yansıtır. Bununla birlikte, düşük doz STZ modeli, tipik olarak T2DM'da görülen insülin direnci eksenini oluşturmaz bu nedenle yapılan çalışmalar yüksek yağlı diyet ile beslenen hayvanların insülin direncini geliştirdiğini göstermiştir (Srinivasan, Viswanad, Asrat, Kaul, Ramanao, 2005). Bu nedenle, periferik insülin direncini oluşturmak için HFD, beraberinde pankreas β -hücrelerini kısmi dejenerasyonu için düşük doz STZ içeren model, T2DM modelini fenotipik ve patogenetik açıdan da taklit ettiği kabul görmüştür (Zhang, Lv, Li, Xu, Chen, 2008).

2.3.1. HFD-STZ-T2DM Tarihçesi

T2DM modeli, insülin direnci oluşturan HFD ve β -hücre disfonksiyonu başlamasına sebep olan düşük doz STZ enjeksiyonu kombinasyonu ile elde edilmektedir. HFD beslenmesi , hiperinsülinemi, obezite ve insülin direnci gelişimine sebep olur fakat hiperglisemi veya diyabet değildir, bu nedenle diyabeti indüklemek için düşük doz STZ gereklidir. Bu model ilk olarak Reed ve arkadaşları tarafından gösterilmiş HFD ile beslenme yüksek insülin seviyeleri fakat normal kan glukoz konsantrasyonları sergilemiş ve model insan T2DM'da insülin direncinin ayırt edici özelliklerini taşımaktadır. Araştırmacılar, STZ, HFD uygulandıktan sonra uygulandıysa, pankreas β -hücrelerinin insülin sekresyonununun tamamen ödün vermeden fonksiyonel kapasitesinin biraz azaltılacağını göstermişlerdir. Modellerinde sıçanlar kuyruk veni yoluyla STZ (50mg/kg) uygulanmış, 3 gün sonra, kan glukoz ve lipit düzeyleri ölçülmüş ve antihiperglisemik ilaçlara yanıtları değerlendirilmiştir (Reed, 2000). Bu model daha sonra, Srinivasan ve ark. tarafından daha düşük doz STZ (35mg/kg) intraperitoneal olarak uygulanması şeklinde değiştirilmiştir (Srinivasan, 2007).

2.4. ADİPOKİNLER

Adipoz doku, fizyolojik metabolik süreçleri modüle etmek için adipokinler olarak adlandırılan metabolik olarak birden fazla önemli proteini salgılayan aktif bir endokrin organ olarak fonksiyon görmektedir. Adipoz doku adipositler, bağışıklık hücreleri, endotelial hücreler ve fibroblastlar gibi çeşitli hücre tiplerini içermektedir (Yalçın, 2018, Şekil 2.8).

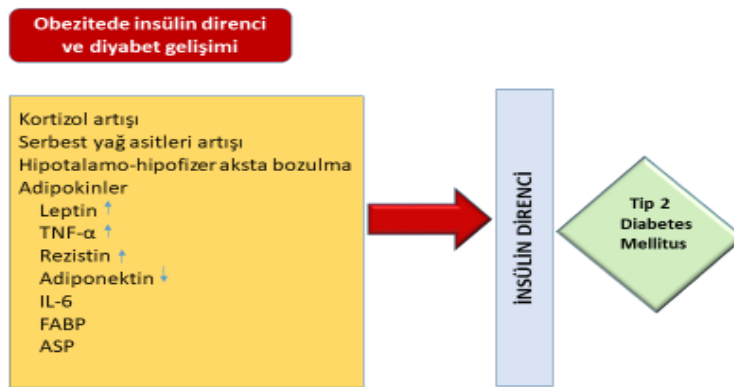


Şekil 2.8. Visseral yağ dokusunun MetS gelişimindeki moleküler etkileri (Turgeon, Carl, Maki, Mandelsohn, Wise, 2006)

Tablo 2.5. Adipokinlerin sınıflandırılması

ADİPOKİNLER
<u>İnsülin hassasiyeti ile ilişkili adipokinler</u> <u>Leptin, Adiponektin, Omentin</u>
<u>İnsülin direnci ile ilgili adipokinler</u> <u>Rezistin, IL-6, TNF-α, Visfatin, RBP-4, Vaspin, SAA, PAI-1</u>
<u>İnflamatuar cevap ile ilgili adipokinler</u> <u>CCL-2, CCR-5, Chemerin, Vaspin</u>

Hem adipoz doku tarafından üretilip salgılanan gerçek adipokinler (adiponektin, leptin), hem de yağ dokusundaki stromal hücrelerden de salgılanabilen adipositokinler (rezistin, IL-6), santral veya visseral obezite ile bağlantılı İD ve kardiyovasküler komplikasyonlarda önemli bir rol oynar (Zavalza- Gómez, Anaya-Prado, Rincón-Sánchez, Mora-Martínez, 2008; Kwon, Pessin, 2013). Ayrıca bazı adipokinlerin üretimi obezite, T2DM ve metabolik sendromdan (MetS) etkilenir. Son araştırmalar; leptin, rezistin ve adiponektini içeren İD birkaç yeni potansiyel mediyatörleri üzerinde odaklanmıştır (Antuna-Puente, Feve, Fellahi, Bastard, 2008; Kwon vd., 2013).



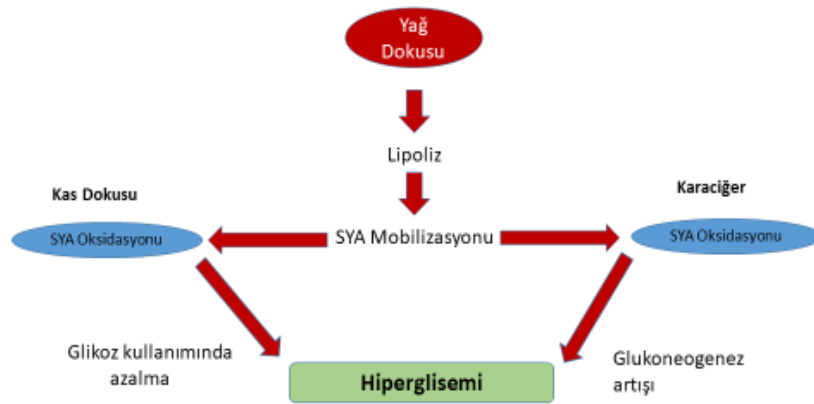
Şekil 2.9. Obezite ile insülin direnci ve Tip 2 diyabet arasındaki ilişki-Obezite ile Tip 2 Diabetes Mellitus bağlantısının temelinde çok çeşitli faktörler söz konusudur. Bunlar arasında kortizol, serbest yağ asitleri, TNF- α , IL-6, rezistin, adiponektin, yağ asidi bağlayıcı proteinler, apelin, visfatin, ghrelin yer almaktadır. Bütün bu faktörlerin diyabet gelişimindeki ortak etkileri insülin direnciyle ilgilidir.

2.4.1. Tip 2 Diyabet Patogenezinde Lipotoksiste

Obezitede plazma serbest yağ asitleri düzeyindeki artışlar, iskelet kası ve karaciğerde insülin direncini doza bağımlı olarak arttırmaktadır. Tip 2 diyabet gelişme olasılığı, hafif obez bireylerde 2, 1.derece ve 2.derecede obez kişilerde 5 ve ileri derecede obez kişilerde için 10 kat daha fazla olarak belirtilmiştir (İmamoğlu vd., 2009). Yapılan çalışmalarda, obezite ile Tip 2 diyabet arasındaki ilişki gösterilmiş, intrabdominal adipoz dokunun yüksek lipolitik aktivitesi olduğu, insülin etkisine dirençli olduğundan lipoprotein lipaz

aktivitesinin az olduğu ve bunun sonucu portal dolaşım içine serbest yağ asitlerinin geçmesinde bir artış olduğu saptanmıştır.

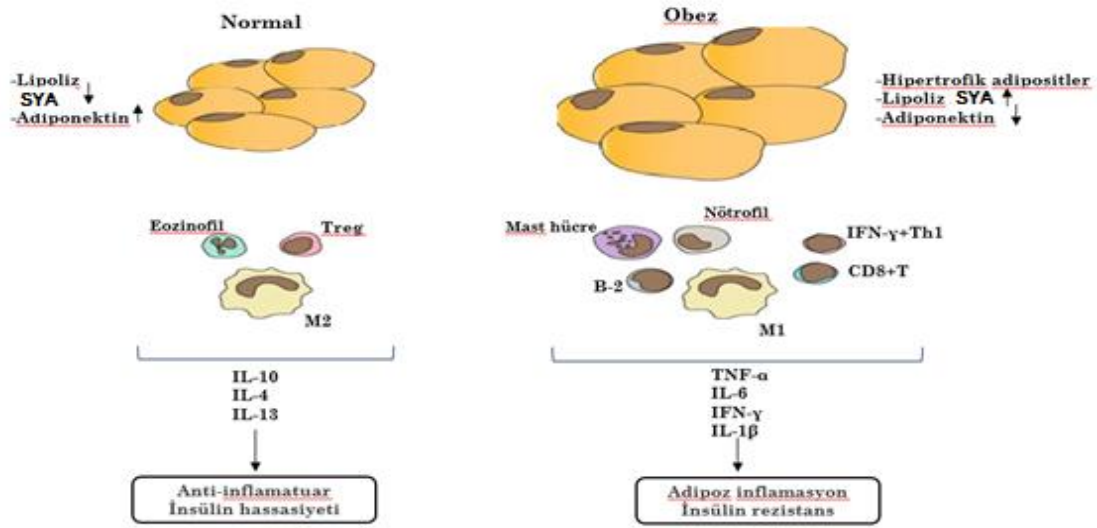
Artmış yağ asitleri glukoz alım, glikojen sentez ve glikoz inhibisyonuna yol açmaktadır. Karaciğere gelen SYA' nin oksidasyon hızı ve trigliseritlerin hepatik sentezi artar. Serbest yağ asitleri, glikoneogeneze anahtar rol oynayan pirüvat karboksilaz ve fosfoenolpiruvat karboksilaz enzim aktivitelerini uyarmaktadır. Ayrıca glukoz-6-fosfataz uyarısı ile karaciğerden glukoz çıkışı artmaktadır. Sonuçta hepatik glukoz üretimi ve çıkışı belirgin artmaktadır. Yüksek SYA düzeyleri, aynı zamanda insülinin karaciğer tarafından glukoz açığa çıkarılmasını baskılama özelliğini inhibe eder. Artan yağ transportu yoluyla, kaslarda sekonder olarak yağ depolanmasına yol açar. Bunun sonucunda da insülin tarafından uyarılan periferik glukoz alımı ve glikojen sentezi bozulur.



şekil 2.10. Viseral yağ dokusunda artış, kanda serbest yağ asiti ve diyabet gelişimi (İmamoğlu,2009)

2.4.2. İnsülin Direnci, Obezite, IL-6, TNF- α , Adiponektin, Apelin İlişkisi

Diabetes mellitus ve obezite, sıklığı günümüzde giderek artan, oluşturduğu morbidite ve mortalite nedeniyle en başta gelen sağlık sorunları arasında yer almaktadır. Obez hastalarda, Tip2DM oluşmasının moleküler mekanizmaları oldukça karmaşıktır ve bunların çoğu da henüz net olarak ortaya konulamamıştır. Obezlerde diyabet gelişimde kortizol, serbest yağ asitleri, TNF- α , IL-6, rezistin, adiponektin, visfatin, apelin, ghrelin, vs birçok faktörün rolü olabileceği ileri sürülmektedir. Bütün bu faktörlerin diyabet gelişimindeki ortak etkileri insülin direnci ile alakalıdır.

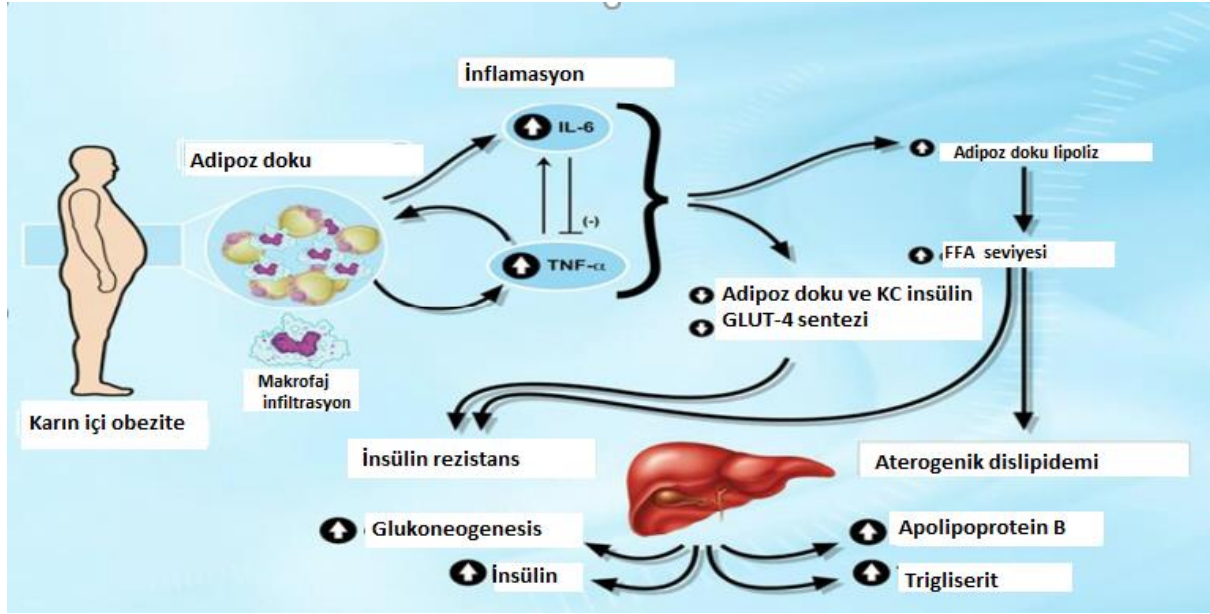


Şekil 2.11. Obezitede yağ dokusu inflamasyonu (Samad, Ruf, 2013)

2.4.2.1. İnterlökin-6

İnterlökin-6, fibroblastlar, endotelial hücreler, monositler gibi çeşitli hücrelerden salınan ve obezite ile artan, adipoz doku tarafından üretilen bir sitokindir. Yapılan çalışmada, akut inflamatuvar sürecin yokluğunda, dolaşımdaki IL-6'nın yaklaşık %15-30'u adipoz doku kökenlidir (Antura-Puente vd.,2008). Obez bireylerde yağ kütlesinin azaltılması, IL-6 düzeyini de azaltmaktadır. Adipositlerde aşırı IL-6 üretimi, insülin duyarlılığının azalması ile ilişkilidir ve bu etkiyi adiponektin sekresyonunu azaltarak sağladığı

düşünülmektedir. Bununla birlikte karaciğerde insülin sinyalizasyonunun bozulmasına neden olarak insülin direnci patogenezinde rol oynadığı düşünülmektedir (Yalçın, Rakıcıoğlu, 2018).

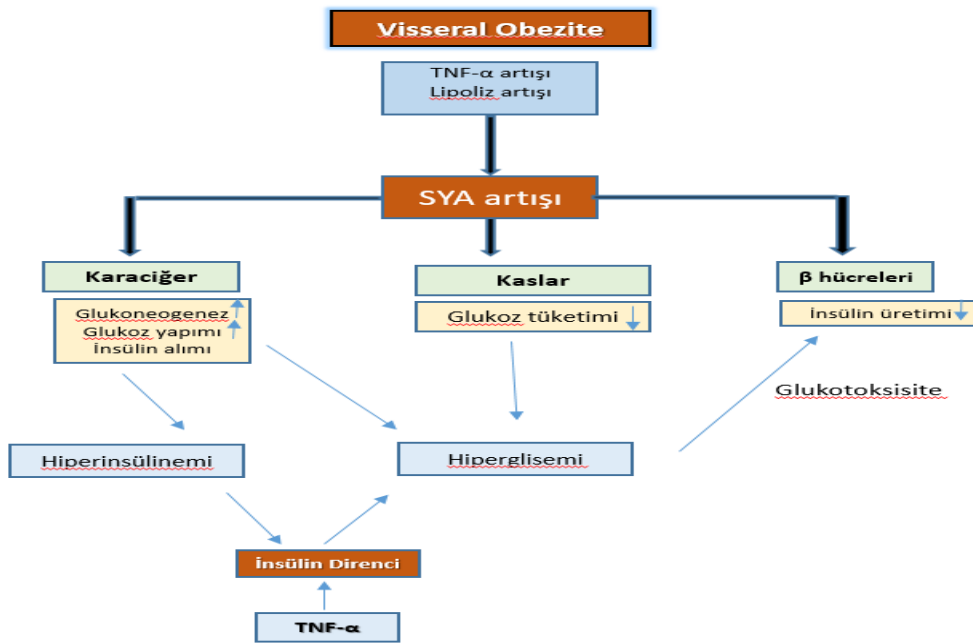


Şekil 2.12 'İnflamasyon hipotezi' Obeziteye bağlı kronik inflamasyonun patofizyolojisi "İnflamasyon hipotezi", aynı zamanda obezitenin, yağ dokusunda makrofajların geçişini sağlayarak inflamatuvar moleküller ürettiği, insüline duyarlı dokular ve β hücrelerinde patolojik değişiklikler yaptığı ve bu sayede kronik inflamasyona neden olduğunu ileri sürmektedir. İkinci bir durum ise, kronik makro besin alımının obezitede pro-inflamatuvar süreci tetiklemesidir. Aşırı miktarda glukoz, doymuş serbest yağ asidi ve lipid içeren diyetle beslenmenin kemokin ve sitokin üretimini indükleyerek inflamasyon gelişimine neden olduğu bildirilmiştir (IL-6:interlökin-6, SYA:serbest yağ asidi, GLUT-4:glukoz taşıyıcı tip-4) (Yalçın vd, 2018; Esser,Legrand-Poels, Piette, 2014)

2.4.2.2. Tümör nekroz faktör- α

Tümör nekroz faktör- α , çok sayıda hücreden ama esas olarak makrofaj ve lenfositler tarafından üretilen proinflamatuvar bir sitokindir. Pro-inflamatuvar bir sitokin olan TNF- α , glikoz ve lipid metabolizmasını etkilemekte; insülinin etkisini ve pankreas hücre fonksiyonunu inhibe ederek T2DM ile ilişkili sistemik insülin direncinde, önemli rol oynamaktadır. Obezite, deneysel diyabet ve obezite modellerinin yağ dokusunda TNF- α ekspresyonunun artmış olduğunu kanıtlayan pek çok bilimsel çalışma mevcuttur. Yapılan bir çalışmada, obez ve diyabetik sıçanlarda TNF-salınımının anlamlı şekilde yüksek olduğu belirtilmiştir; bununla birlikte ortamdaki TNF-reseptör sayısının

artırılmasıyla, TNF-düzeyinin düştüğü ve bu yolla insülin direncinde de azalma gözlemlendiğini rapor edilmiştir (Hotamisligil, Shargill, Spiegelman, 1993). Sonraki yıllarda yapılan araştırmaların verileri de, insanlarda da TNF- α 'nın adipoz dokudan salındığını ve ağırlık kaybı ile TNF-salınımının azaldığını göstermektedir (Kern, 1995; Dandona, 1998). Glukoz toleransı olan obez kadınlarda yağ dokusunda TNFR60 ve TNFR80 (TNF reseptör) mRNA ekspresyonlarının artmış olduğu gözlenmiştir (Hube, Birgel, Lee, Hauner, 1999).



Şekil 2.13. Obezitede SYA ve TNF- α 'nın insülin direnci ve diyabet gelişimi ile ilişkisi (TNF- α :Tümör nekroz faktör- α , SYA:Serbest yağ asidi) (Hotamisligil, Shargill, Spiegelman, 1993)

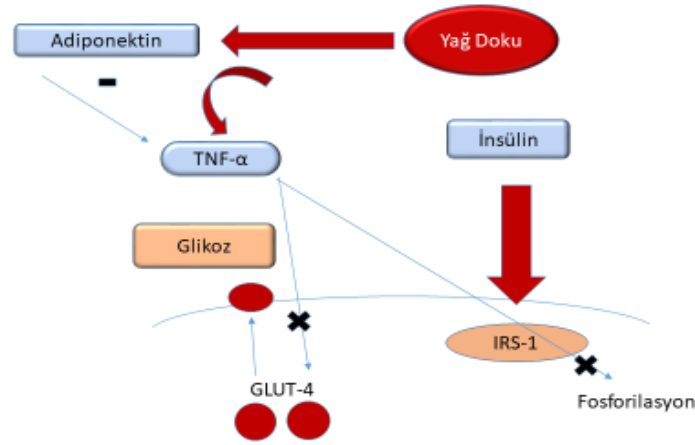
2.4.2.3. Adiponektin

Adiponektin, adipoz dokuda çok fazla eksprese edilen bir proteindir. İnsan ve hayvanlarda insüline duyarlı dokularda glikoz ve lipid metabolizması modülasyonunda rol oynadığı kabul edilmektedir. Adipogenez sırasında upregüle, İD durumunda downregüle edilir. Adiponektin ve insülin hassasiyeti arasındaki ilişki, endojen hepatik glikoz üretimi ile değil, glikoz kullanımının düşük insülin regülasyonu ile ilgilidir. Leptin gibi, adiponektin de AMPK (5'

AMP ile aktive olan protein kinaz) aktivasyonu yoluyla insülin hassasiyetini artırır. Adiponektin, iki temel glukoneogenez enziminin messenger RNA (mRNA) ifadesi yoluyla hepatik glikoz üretimini de etkiler; fosfoenolpiruvat karboksikinaz ve glikoz-6-fosfataz. Yüksek moleküler ağırlıklı adiponektinin en çok insülin duyarlılaştırıcı olabildiği görülmektedir (Zavalza-Gómez vd., 2008; Antura-Puente vd.,2008).

Obezitede, hiperandrojenizm ve kortizol hipersekresyonu bulunmaktadır. Bu durum karaciğer ve kaslarda insülin sensitivitesinin azalmasına katkıda bulunur. Bu enzim, özellikle visseral yağ dokusunda yüksektir, kortizondan kortizol oluşumunu arttırır, kas dokusunda glikojen sentetaz enzim aktivitesini azaltır, lipolizi arttırır ve pankreastan insülin salgılanmasını azaltır (Bjomtrop, Rosmond, 2000).

Obezlerde, plazma SYA düzeyi artmıştır. SYA artışı sonucu karaciğerde gluoneogenez ve glukoz yapımı artar, insülin ekstraksiyonunu azalır, kas dokusunda glukoz kullanımı azalır ve pankreasın β hücrelerinden insülin salgılanması azalır (Lam, Werve, Giacca, 2003). Obezitede yağ dokusunda TNF- α mRNA ekspresyonunun 3 kat arttığı ve TNF- α mRNA ve VKİ vücut yağ oranı arasında anlamlı korelasyon gösterilmiştir. TNF- α , lipoprotein lipaz etkisini bloke eder ve lipolizi uyarır. Lipoliz ile ortaya çıkan serbest yağ asitleri karaciğere ulaşarak hem glikoneogeneze katılarak hiperglisemiye, hem de hepatik lipaz aktivitesindeki artış ile hipertrigliseridemiye yol açmaktadır. TNF- α 'nın insülin direncine katkıları, IRS-1 (İnsülin reseptör substrat) serin fosforilasyonunu artırması, IRS-1 fosforilasyonunu azaltması, tirozin kinaz aktivitesini inhibe etmesi, IRS-1 ve PI3-kinaz arasındaki ilişkinin bozulması sebebiyle GLUT-4 (glukoz taşıyıcı tip-4) ekspresyonunu azaltması ile açıklanmaktadır.



Şekil 2.14. İnsülin direnci, TNF- α ve Adiponektin ilişkisi (TNF- α :Tümör nekroz faktör- α , IRS: İnsülin reseptör substrat-1) (İmamoğlu, 2009)

2.4.2.4. Apelin

Apelin ve APJ (Apelin reseptör), tüm vücutta eksprese edilmekte ve santral sinir sistemi ve kardiyovasküler sistem üzerine fonksiyonel etkiler göstermektedirler. APJ, Anjiotensin II Tip 1 reseptör ile homoloji gösterir. Her iki reseptörde kalp ve damarlarda baskındır. RAS (Renin-Anjiyotensin Sistem) ve Apelin-APJ system, diyabet anormalliklerinde ve vasküler endotelyumda önemli hedeftir. Apelinin kardiyovasküler sistemde önemli etkileri vardır. Bu etkiyi APJ aracılığıyla, eNOS (endotelyal nitrik oksit sentaz) aktivitesini arttırır ve koroner arterlerde dahil kan damarlarında dilatasyona sebep olur, LV (sol ventrikül) geri dönüşü azaltır ve kalbe oksijen sağlanımını düzeltirler (Japp, Cruden, Barnes, 2010). Na^+/H^+ ve $\text{Na}^+/\text{Ca}^{+2}$ değişimi etkisini arttırarak, sarkoplazmik retikulum kalsiyum bağımlı ryanodin kanallarını açar ve kardiyomiyosit sitoplazmasına Ca^{+2} akışını arttırır ve pozitif inotropik etki yaratmaktadır (Szokodi, 2002). Yağ hücrelerinde, apelin ekspresyonu ile açlık kuvvetli bir şekilde inhibe edilmekte ve tekrar beslenmeden sonra insüline benzer şekilde artmaktadır. Bu bilgiler göstermektedir ki, insülin kullanımı adipositlerdeki apelin gen ekspresyonu üzerine doğrudan kontrol sağlamaktadır. Obez hastalarda, hem plazma apelin hem de insülin seviyeleri oldukça yüksektir. Apelinin insülinle regülasyonu, kan konsantrasyonlarını

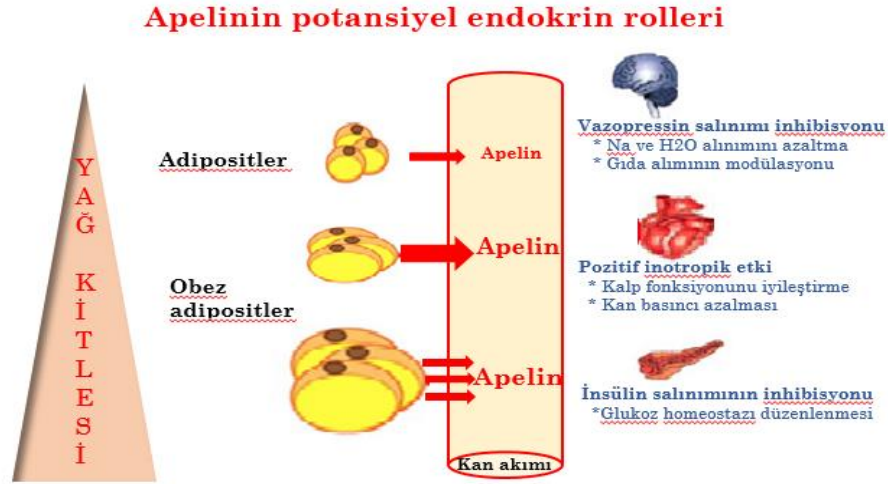
etkileyebilir. Apelin, NO-aracılığıyla vazodilatasyon sağlar, arteriyel kan basıncını azaltır ve vazopressini inhibe ederek diüretik etki gösterir (Beltowski, 2006).

2.4.2.4.1. Apelin ve besin alımı üzerine etkileri

APJ, merkezi sinir sisteminin birçok bölgesinde eksprese edilmektedir. Sıçanların hipotalamusunda beslenme davranışını kontrol eden alanların apelin için en yoğun hedef bölge olabileceği ortaya konmuştur. SON (Supraoptik nukleus) ve özellikle PVN (Paraventriküler nukleus)'de apelin ve APJ ekspresyonunun oldukça yoğun olması apelinin gıda alımı üzerine etkili olabileceğini akla getirmektedir (Reaux, Gallatz, Palkovits, Llorens-Cortes, 2002; Brailoiu, 2002).

Apelin seviyesinin beslenme alışkanlığına bağlı olarak değiştiği, yüksek yağlı diyetle beslenen sıçanlarda, apelin mRNA seviyesinin arttığı gösterilmiştir. Obez insan ve deney hayvanlarında, plazma apelin düzeyinin yüksek olduğu ve adipoz dokudaki apelin gen ekspresyonunun insülin ve TNF- α aracılığıyla artış gösterdiği ileri sürülmüştür. Obezlerde artan vücut yağ içeriği ve hiperinsülinemiye paralel olarak plazma apelin düzeyinin arttığı bilinmektedir (Boucher, 2005; Paternain, 2012; Lee, George, O'Dowd, 2006).

T2DM olan bireylerin, plazma apelin seviyesinin düşük olduğu gözlenmiştir. Apelinin açlık kan şekeri, insülin direnci ve HbA1c düzeyleri ile negatif korelasyon, insülin duyarlılığı ile pozitif korelasyon gösterdiği bilinmektedir. Farelerde apelinin İV enjeksiyonunun, iskelet kasında glukoz kullanımını arttırarak kan şekerini güçlü bir şekilde düşürdüğü gösterilmiştir. Apelinin bu yönüyle insülin rezistansının takibinde ümit verici bir ajan olabileceği düşünülmektedir (Foresta, Bordon, Rossato, Mioni, Veldhuis, 1997; Zhang, 2010; Dray,2008).



Şekil 2.15. Apelin sitokininin önemli etkileri (Castan-Laurell, 2005)

2.5. İLERİ GLİKASYON SON ÜRÜNLERİ

İleri glikasyon son ürünleri, indirgenmiş şekerlerin enzimatik olmayan glikasyonları sonucu oluşan geri dönüşümsüz ürünler olarak bilinmektedir. AGE'ler, hücrenin yapısını, fonksiyonunu değiştirirler ve sitokinler ile büyüme faktörlerinin sentez ve salınımına sebep olurlar.

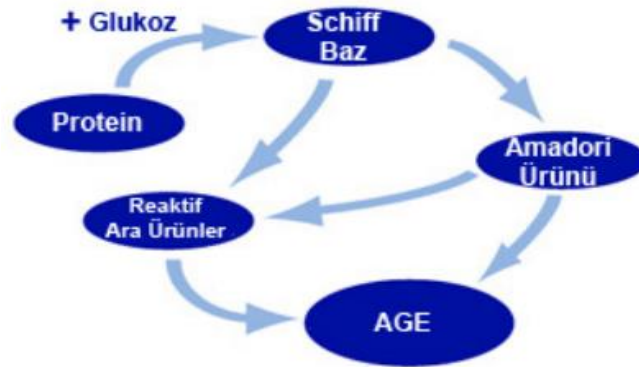
Diyabette hiperglisemik ortamda, aşırı miktarda oluşan AGE'ler matriks moleküllerinin modifikasyonu sonucu matriks ile hücre arasındaki sinyalleşmeyi bozarak ve hücre içindeki bazı proteinleri etkileyerek hücrede disfonksiyona yol açmaları ayrıca reseptörlerine (RAGE) bağlanarak bu reseptörleri aktive etmeleri sonucu inflamatuvar sitokinlerin ve büyüme faktörlerinin üretiminin artması ve sonuçta da vasküler patolojilerin ortaya çıkması ile zararlı etkilerini göstermektedirler. Bu etkiler, damar duvarında bazal membran kalınlaşması, vasküler permeabilite artışı, endotelial disfonksiyon, artmış vasküler LDL, plak destabilizasyonunda artma, neointimal proliferasyon, protrombotik durumda artış, kan akışında azalma gibi vasküler bozukluklardan oluşmaktadır. Oksidatif stresin oluşumu ile de vazokonstriksiyon, inflamasyon ve protrombotik gen ekspresyonunu

yönlendirirler. Böylece ileri glikasyon son ürünleri, diyabetin mikrovasküler ve makrovasküler komplikasyonlarının gelişimine katkı sağlarlar.

AGE'ler karbonhidratların karbonil grubu ve amino asitlerin serbest amino gruplarının bir araya gelmesi ile Maillard reaksiyonu sonucunda oluşan ürünlerdir (Zieman, Kass, 2004).

2.5.1. AGE Oluşum Mekanizması

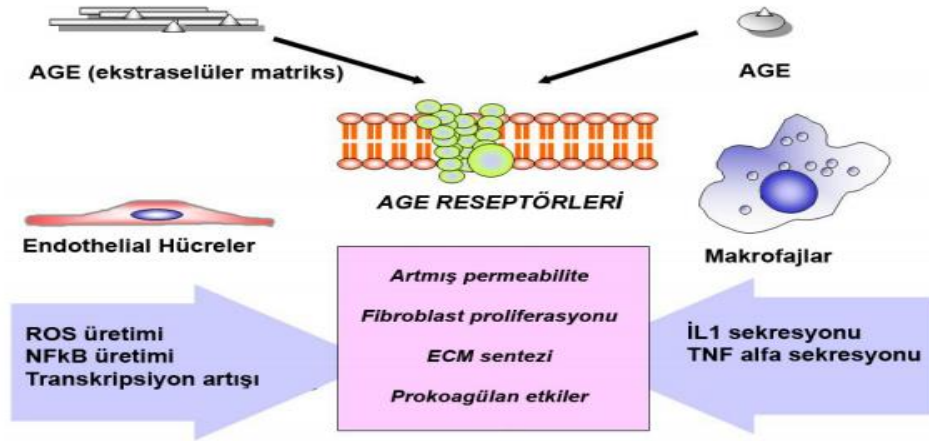
Glikasyon tepkimesinin ilk basamağı; indirgeyici bir şekerin karbonil grubu ile proteinlerdeki yan zincir olan ϵ - amino grubunun reaksiyonudur. Tepkimede su çıkması ile "Schiff bazı" ara ürünü oluşur. Bu ara ürünün oluşması kandaki glikoz konsantrasyonuna bağlıdır. Daha sonra bu glikatlanmış protein yapıları Amadori ürünlerine dönüşür AGE'ler, indirgeyici şekerlerin amino asit proteinler, lipitler ve nükleik asit ile enzimatik olmayan tepkimelerinden oluşan heterojen bir molekül grubudur (Demirel, Yıldiran, 2018).



Şekil 2.16. AGE oluşumu (Gugliucci,1994)

AGE'lerin RAGE ile etkileşimi, oksijen radikalleri, nükleer faktör kappa- β , proinflatuar sitokinler ve hücre adezyon moleküllerinin oluşmasına neden olur ve kardiyovasküler hastalıkların (KVH) patofizyolojisinde yer alır. AGE-RAGE aracılı KVH, ateroskleroz, koroner arter hastalığı, karotid arter hastalığı, hipertansiyon, periferik vasküler hastalıklar, kalp yetmezliği, kardiyomiyopati ve mikroanjiyopati içerir. AGE-RAGE aracılı KVH'nin tedavisi

için AGE'lerde ve RAGE'de azalma ve sRAGE'de yükselme ile ilgili terapötik müdahaleler bildirilmiştir. Çözünür RAGE (sRAGE) seviyelerini artırmak için statinler, ACE inhibitörleri, Rosiglitazon ve D vitamini kullanılmıştır (Zieman vd 2004; Prasad, Tiwari, 2017).



Şekil 2.17. AGE-RAGE etkileşimi (Gugliucci, Bendaya,1996)

2.6. VİTAMİN D

Vitamin D, güneş ışığı ile temas sonucu deride üretilen, yağda çözünen, sekosteroid yapıda bir prohormondur. Vücutta çeşitli metabolik değişikliklerle kalsitriol olarak bilinen, kalsiyum ve fosfor metabolizmasında önemli rol oynayan bir hormona dönüşmektedir.

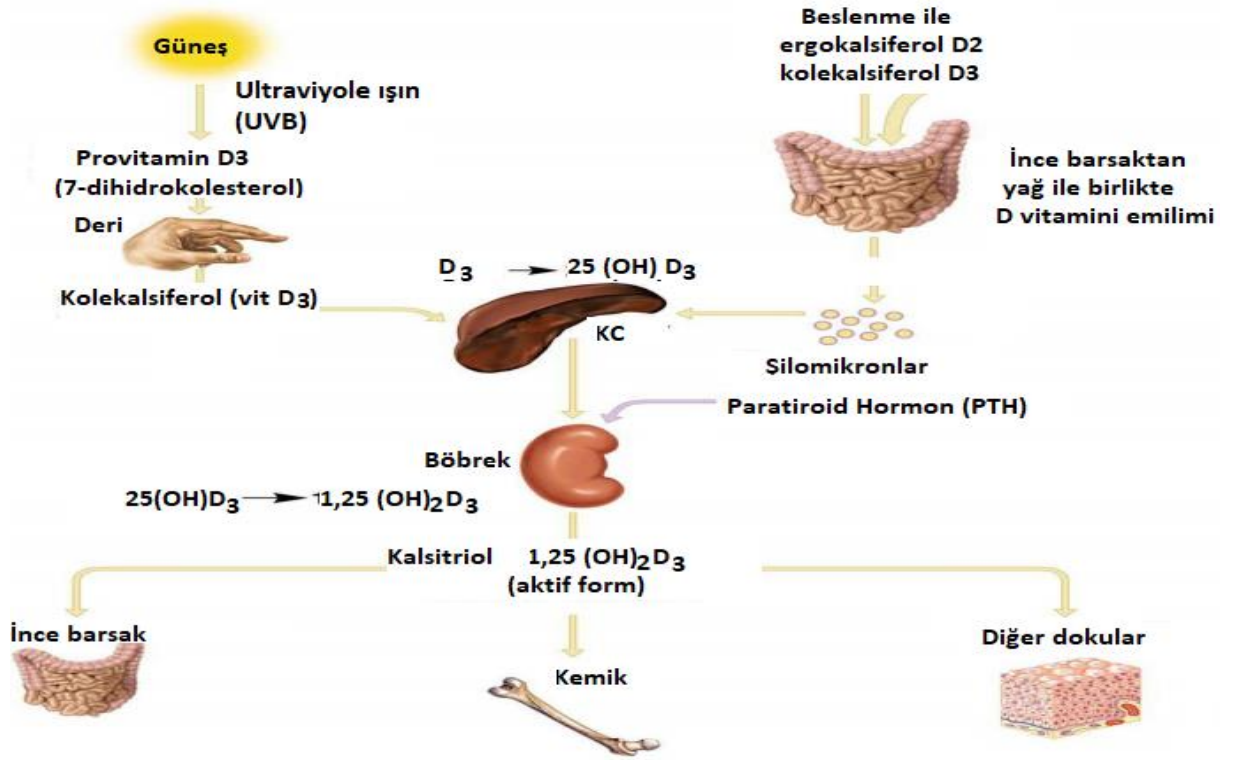
Hipovitaminozis D tüm dünyada yaygın olup, diyabetik hastalarda da D vitamini düzeyleri düşük bulunmuştur. Vitamin D eksikliği T1DM ve T2DM için risk faktörüdür ve 25(OH)D kan seviyesi T2DM prevalansı ve insülin rezistansı ile ters orantılıdır (Scragg, Sowers, Bell, 2004).

2.6.1. Vitamin D Metabolizması

D vitaminin 2 formu vardır:

-Vitamin D2 (ergokalsiferol)

-Vitamin D3 (kolekalsiferol)



Şekil 2.18. Vitamin D metabolizması www.tıplopedi.com

Vitamin D3 sentezinde birinci basamak, güneş veya ultraviyole ışınlarının etkisiyle, ciltte bulunan provitamin D'nin vitamin D3'e (kolekalsiferol) dönüşmesidir. Daha sonra D vitamini bağlayan proteinlere (DBP) bağlanarak hedef organlara taşınmaktadırlar. İntestinal emilim D vitaminin başka bir kaynağıdır. D vitamini, gıdalardan; vitamin D2 (ergokalsiferol) ile zenginleştirilmiş süt, yağlı balık ve daha az derecede yumurtada bulunur. Diyetle alınan D vitamini, enterositlerden absorbe edildikten sonra şilomikronlar içinde taşınır. Şilomikronlar portal dolaşım aracılığıyla karaciğere ulaşır. Burada 25-hidroksilaz enzimi tarafından hidroksilasyona uğrar ve 25-hidroksivitamin D (25OHD) oluşur. Böbreklerin proksimal tübüllerindeki mitokondrilerde, 25OHD'nin 1,25-dihidroksivitamin D (1,25OHD)'ye ileri hidroksilasyonu gerçekleşir. 1,25OHD, D vitaminin fizyolojik olarak aktif formudur. D vitamini ve 1,25 OH D'nin sentezi, kalsiyum dengesi ile yakın ilişki içindedir ve parathormon (PTH), serum kalsiyum ve fosfor düzeyleri ile düzenlenir. Hipokalsemi gelişirse, serum PTH konsantrasyonu

artar ve kalsiyumun böbrekte tübüler geri Emilimi arttığı gibi alpha-1-hidroksilaz aktivitesinde artış da görülür. 1,25OHD üretimi artar ve intestinal kalsiyum Emilimi artar.

2.6.2. Tip 2 Diyabet ve D Vitamini

Glikoz intoleransı ve Tip 2 diyabetin gelişmesinde, D vitamininin pankreatik β -hücre fonksiyonunu iyileştirdiği, insülin direncini azalttığı ve sistemik inflamasyon üzerinde olumlu etkisi olduğu savunulmaktadır (Hu, Meigs, Li, Rifai, Manson, 2004).

2.6.2.1. Pankreatik β -hücre fonksiyonu

Pankreatik β hücre fonksiyonunda D vitamininin rolünü destekleyen birçok kanıt bulunmaktadır. D vitamininin yalnızca glukoz artışına bağlı insülin cevabını etkilediği bazal insülinemi üzerinde bir etkisinin olmadığı görülmektedir (Bourlon, Billaudel, Faure, 1999; Zeitz vd, 2003).

D vitamininin insülin sentez ve salınımındaki rolü, dolaşımda olan aktif formunun (1,25(OH)₂D₃) β -hücresindeki D vitamini reseptörüne bağlanmasıyla ve D vitamini aktivasyonunun β -hücrelerinden eksprese edilen 1 α -OHaz enzimi ile olduğu düşünülmektedir (Pittas, Lau, Hu, Dawson, 2007). Alternatif olarak; D vitamininin hücre dışı kalsiyum ve β -hücrelerine kalsiyum akışını düzenlenmesindeki rolü ile insülin sekresyonunu etkilediği düşünülmektedir (Sooy, 1999). Bu nedenle Ca akışındaki bozukluklar β -hücresi salınım fonksiyonunda olumsuz sonuçlara neden olabilmektedir. D vitamini yetersizliğinin hücre dışı ve hücre içi β -hücre kalsiyum havuzları arasındaki dengeyi bozabileceğini, bunun da özellikle glukoz alımına cevap olarak gelişen normal insülin salınımını etkileyebileceği düşünülmektedir (Pittas vd, 2007).

Özetle; D vitamini glikoz metabolizmasını etkileyebilecek potansiyel mekanizmalar, 25 (OH) D serumun genomik olmayan hızlı bir etkisinin veya yavaş genomik etkisinin bir sonucu olabilir.

1-İnsülin salınımının uyarılması, pankreas beta hücrelerinde 1 α -OHaz enzimi ekspresyonu artması kadar, D vitamini reseptörünün (VDR) artmış ekspresyonu,

2-1.25 (OH) 2D - VDR kompleksinin doku seviyesinde insülin alıcısının D vitamini yanıt elemanına bağlanması ve glikoz taşınması için insülin yanıtını arttırması;

3- İnsülin direncine aracılık ettiğine inanılan proinflamatuvar sitokin salınımının baskılanması;

4-İkinci hipotez, düşük serum 25 (OH) D ile artmış CRP seviyeleri arasındaki ilişki (Krul-Poel, 2014).

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. GEREÇ

3.1.1. Deneyde kullanılan hayvanlar

Deneylerde yaklaşık 180-225 gr. ağırlığında, 56 adet erkek Wistar albino sıçanlar kullanılmıştır. Sıçanlar 12 saat karanlık 12 saat aydınlık döngüsünde, 24±1 °C sıcaklıktaki iyi havalandırılan odalarda barındırılmıştır.

Kontrol grubu hayvanları normal yem (Tablo 3.2), diğer gruplar ise (T2DM grubu, T2DM+Vitd grubu, HFD grubu, HFD+Vitd grubu) %35 gr yağ (%60 Kcal) içeren yüksek yağlı diyet yemi (Tablo 3.2) ve çeşme suyu ile beslenmeleri sağlanmıştır. Tez çalışması süresince gerçekleştirilen tüm deneyler, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Etik Komisyonu'ndan onay alındıktan sonra yapılmıştır.

3.1.2. Deneylerde kullanılan kimyasal madde ve çözeltiler

Yüksek Yağlı Diyet Yemi	Arden Araştırma&Deney/Ankara
Ketamin	Pfizer
Ksilazin	Alfasan
Kolekalsiferol	Central Drug House
Streptozotosin	Sigma-Aldrich
Adiponektin ELİSA kit	Shangai YL Biotech Co.,Ltd.
Apelin ELİSA kit	Shangai YL Biotech Co.,Ltd.
İnsülin ELİSA kit	Shangai YL Biotech Co.,Ltd.
TAK ELİSA kit	Realassay
TOK ELİSA kit	Realassay
25 (OH) Vitamin D kit	Beckman Coulter
TK ölçüm kiti	Realassay
HDL ölçüm kiti	Realassay

TG ölçüm kiti	Realassay
Anti-CML antibody	abcam
Fosfat solüsyonu	Sigma-Aldrich
Biotinylated Anti-Polyvalent	Thermofisher Scientific

3.1.3. Deneylerde kullanılan cihazlar

Homojenizatör	Genbiotek
Santrifüj	NF-800R
ELISA Mikroplaka yıkayıcı	Biotech
Biyokimya cihazı	Mindray BS300
Vitamin D ölçüm cihazı	Beckman Coulter
Mikropipet	Eppendorf
Görüntüleme sistemi	Olympus Bx51

3.2. Yöntem

3.2.1. Deneylerde kullanılan çözeltiler ve konsantrasyonları

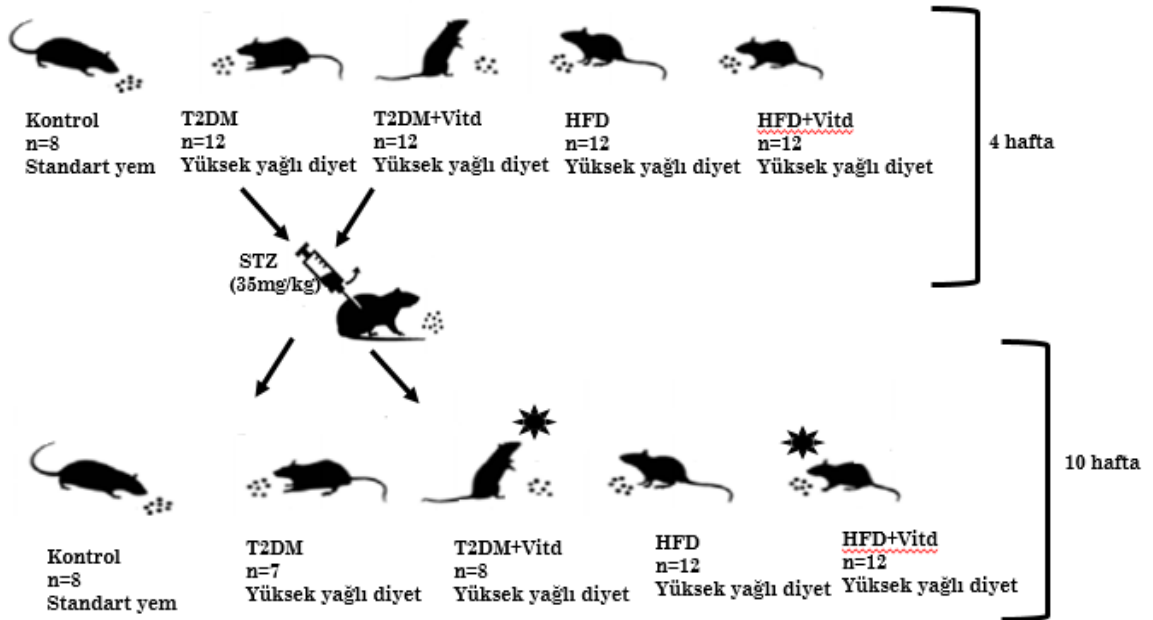
Streptozotosin çözeltisi: 35 mg/kg streptozosin (STZ) 0,1 M sitrat buffer içinde çözündürülerek hayvanlara intraperitoneal yoldan uygulanmıştır (pH=4.5).

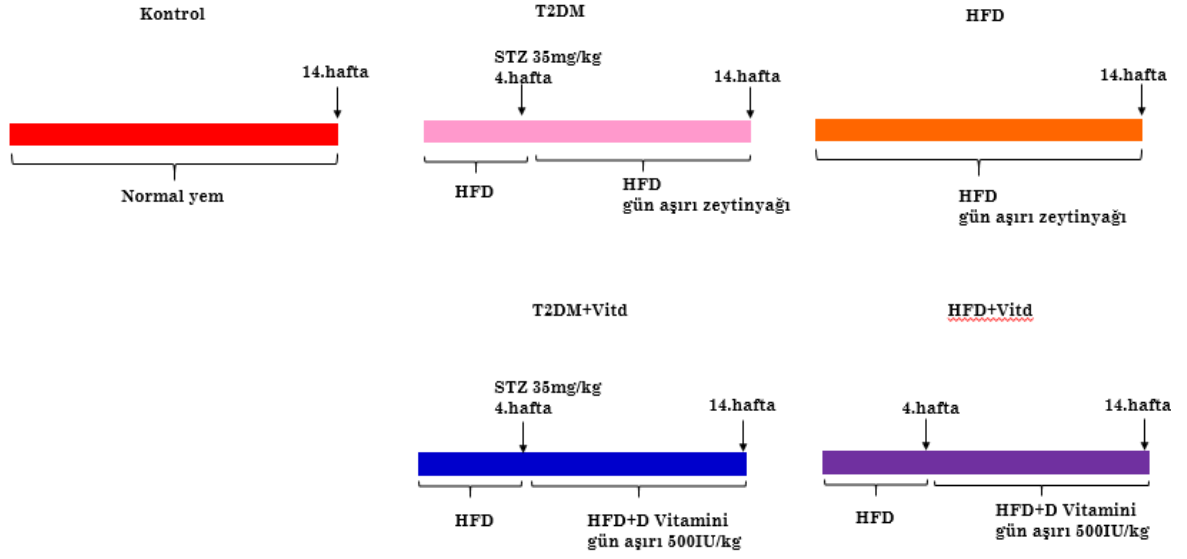
Kolekalsiferol çözeltisi: 500 IU 12,5 µg/kg Kolekalsiferol 0,3 ml zeytinyağında çözündürülerek hayvanlara oral yoldan verilmiştir.

3.2.2. Deneylerde kullanılan hayvan grupları

Toplamda 56 adet Wistar albino erkek sıçan (180-225g.) kullanılmış ve 5 gruba ayrılmıştır. Fakat, T2DM grubundaki hayvanlardan 5 tanesi ve T2DM+Vitd grubundaki hayvanlardan 4 tanesi, diyabet indüksiyonu yapıldıktan sonraki 14-98. günlerde (2.hafta-14.hafta arası) kaybedilmiştir.

Tablo 3.1. Deneylerde kullanılan hayvan grupları





Şekil 3.1. Deney aşamaları

Tablo 3.2. Yüksek Yağlı Diyet Yemi ve Normal Yem Formülasyonu

YÜKSEK YAĞLI DİYET YEM İÇERİĞİ	Gr (%)
Protein	26,2
Karbonhidrat	26,3
Yağ	34,9
Maltodekstrin	125
Sükroz	68,8
Selüloz	50
Kazein, 30 Mesh	200
Mineral karışım	10
Dikalsiyum fosfat	13
Kalsiyum karbonat	5,5
Potasyum sitrat	16,5
Vitamin karışım	10
Kolin Bitartrat	2

NORMAL DİYET YEM İÇERİĞİ	Gr (%)
Protein	19
Karbonhidrat	4,5
Yağ	4
NDF	15
Ham kül	8
Lizin	1,05
Metiyonin	0,37
Sistin	0,35
Dikalsiyum fosfat	0,75
Kalsiyum karbonat	1
Potasyum sitrat	16,5
Vitamin karışım	10
Kolin Bitartrat	2

Kontrol grubu normal diyet (n=8), 14 hafta boyunca normal diyet uygulanmış (hayvanlar arasında yaş farkı olmaması açısından ve damarlarda ileri glikasyon son ürünleri oluşumu yaşla birlikte arttığı için, kontrol ve deney grubu eşit süre yaşatılmıştır), ardından Ketamin 80mg/kg, Ksilazin 10mg/kg anestezisi uygulanmış, koroner, renal arterler izole edilmiş, kan, karaciğer, böbrek örnekleri alınmıştır. Kan örnekleri santrifüj tüpüne alınarak 10.000 rpm de 10 dk süresince santrifüj edilmiş, elde edilen serum örnekleri -70 °C de kullanılıncaya kadar saklanmıştır.

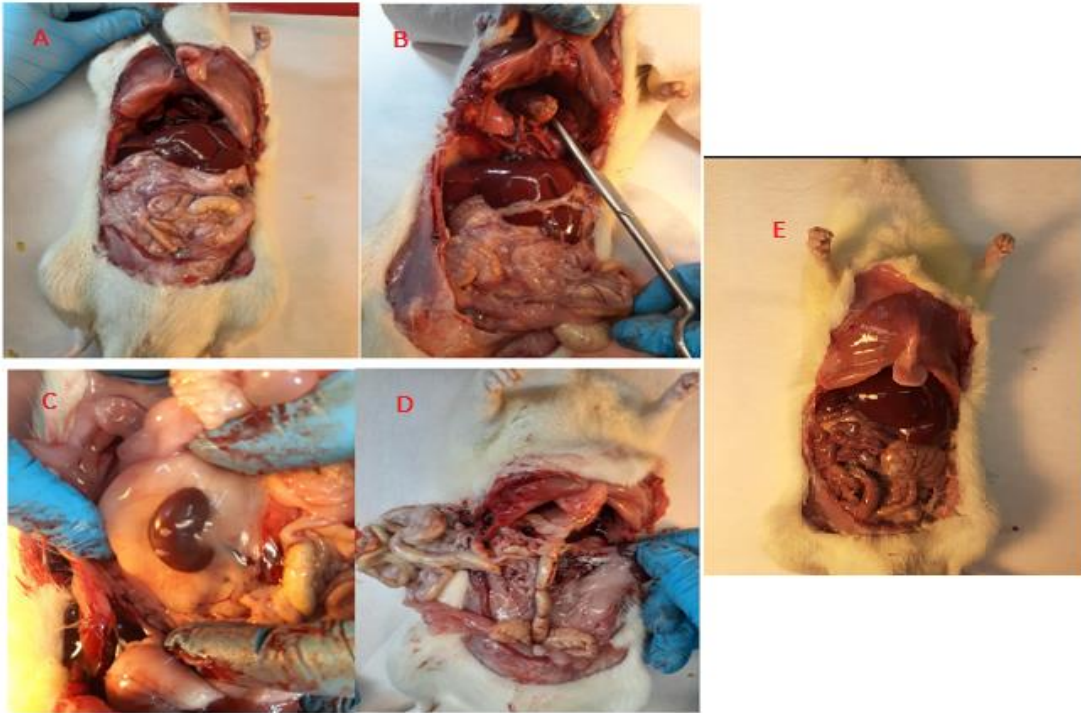
Yüksek yağlı diyet grubu (n=12), 14 hafta süresince uygulanmış, (hayvanlar arasında yaş farkı olmaması açısından ve damarlarda ileri glikasyon son ürünleri oluşumu yaşla birlikte arttığı için, kontrol ve deney grubu eşit süre yaşatılmıştır), ardından Ketamin 80mg/kg, Ksilazin 10mg/kg anestezisi uygulanmış, koroner, renal arterler izole edilecek, kan, karaciğer, böbrek örnekleri alınmıştır. Kan örnekleri santrifüj tüpüne alınarak 10.000 rpm de 10 dk süresince santrifüje edilmiş, elde edilen serum örnekleri -70 °C de kullanılıncaya kadar saklanmıştır.

Yüksek yağlı diyet +Vitamin D grubu (n=12), 4 hafta süresince yüksek yağlı diet uygulanmış, takip eden 10 hafta süresince yüksek yağlı diet ve gün aşırı, 500 IU 12.5 µg/kg Kolekalsiferol 0.3 ml zeytinyağında çözülerek oral olarak gün aşırı uygulanmıştır (4 hafta Yüksek Yağlı Diet+10 hafta Yüksek Yağlı Diet ve Vitamin D). Ketamin 80mg/kg, Ksilazin 10mg/kg anestezisi uygulanmış, koroner, renal arterler izole edilecek, kan, karaciğer, böbrek örnekleri alınmıştır. Kan örnekleri santrifüj tüpüne alınarak 10.000 rpm de 10 dk süresince santrifüje edilmiş, elde edilen serum örnekleri -70 °C de kullanılıncaya kadar saklanmıştır

Yüksek yağlı diyet grubu + STZ (n=7), 4 hafta süresince yüksek yağlı diet uygulanmış, ardından STZ (35mg/kg) dozunda intraperitoneal uygulanmış ve diyabet modeli olduğu konfirme edildikten sonra 10 hafta süresince yüksek yağlı diet uygulanmaya devam edilmiştir. Ketamin 80mg/kg, Ksilazin 10mg/kg anestezisi uygulanmış, koroner, renal arterler izole edilmiş, kan, karaciğer, böbrek örnekleri alınmıştır. Kan örnekleri santrifüj tüpüne alınarak 10.000 rpm

de 10 dk süresince santrifüje edilmiş, elde edilen serum örnekleri -70 °C de kullanılıncaya kadar saklanmıştır.

Yüksek yağlı diyet +STZ+Vitamin D grubu (n=8), 4 hafta süresince yüksek yağlı diet uygulanmış, ardından STZ (35mg/kg) dozunda intraperitoneal uygulanmış ve diyabet modeli olduğu konfirme edildikten sonra 10 hafta süresince yüksek yağlı diet ve gün aşırı 500 IU 12.5 µg/kg Kolekalsiferol 0.3 ml zeytinyağında çözülerek oral olarak uygulanmıştır (4 hafta Yüksek Yağlı Diet+STZ+10 hafta Yüksek Yağlı Diet ve Vitamin D). Ketamin 80mg/kg, Ksilazin 10mg/kg anestezisi uygulanmış, koroner, renal arterler izole edilmiş, kan, karaciğer, böbrek örnekleri alınmıştır. Kan örnekleri santrifüj tüpüne alınarak 10.000 rpm de 10 dk süresince santrifüje edilmiş, elde edilen serum örnekleri -70 °C de kullanılıncaya kadar saklanmıştır.

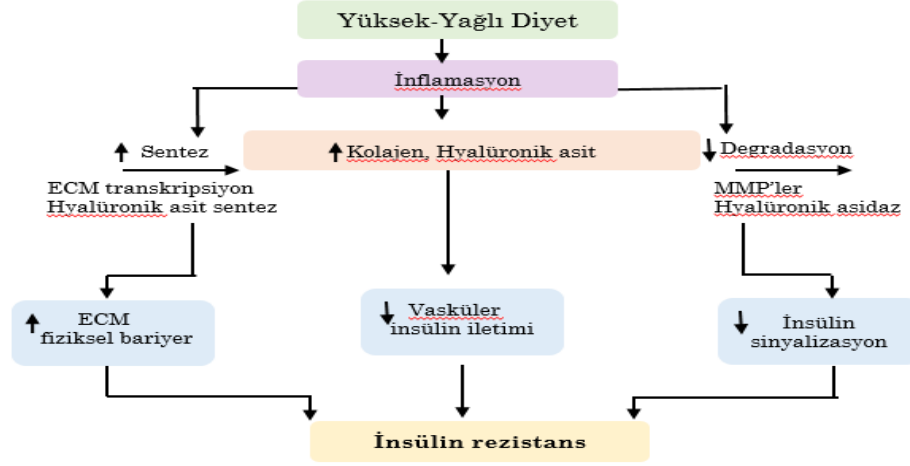


Şekil 3.2. Deney gruplarındaki sıçanların görüntüleri

A: HFD+Vitd, B: T2DM, C: HFD, D: T2DM+Vitd, E: Kontrol

3.2.3. Deneysel T2DM ve Obezite Modelinin Oluşturulması

Sıçanlarda T2DM ve Obezite modeli oluşturmak için, hayvanlar %35 gr yağ-%60 Kcal içeren Yüksek yağlı Diet (HFD) ile 4 hafta süresince beslenmiştir.



Şekil 3.3. Hücre dışı matrisi (ECM) yeniden modelleme ve insülin direnci arasındaki bağlantı (Williams, Kang, Wasserman, 2015).

Yağ oranı yüksek bir diyet kronik inflamasyon oluşturur. Bu inflamatuvar cevap, ECM sentezinin artmasına ve ECM degradasyonunun azalmasına neden olarak ECM'nin birikmesi ve yeniden şekillenmesiyle sonuçlanır. Artan ECM seviyeleri, insülin ve glukoz taşınması için artan fiziksel engelle, vasküler insülin iletiminin azalmasına ve insülin sinyalinin azalmasına neden olur. Bu faktörlerin hepsinin kombinasyonu daha sonra insülin direnciyle sonuçlanır (Williams, Kang, Wasserman, 2015).

Ardından 4.haftanın sonunda STZ, 0,1 M sitrat buffer içinde çözündürülmüş ve tek doz (35mg/kg) olarak intraperitoneal uygulanmıştır. Pankreas β hücrelerini hasarlayıp, insüline bağımlı ve de insülinden bağımsız diyabete neden olmaktadır. Kan glukoz seviyesi 48 saat sonra ölçülmüş (kuyruk kanı alınarak) ve 250mg/dl ve üzerindeki değerler T2DM olarak kabul edilmiştir. Hayvanlar %35 gr yağ-%60 Kcal içeren HFD ile 10 hafta süresince beslenmeye devam edilmiştir. Düzenli (72 saatte bir) kan glukoz seviyesi (kuyruk kanı alınarak) takibi yapılmıştır. Vitamin D takviyesi uygulanacak olan gruplarda (HFD grubu ve HFD+T2DM grubu) Kolekalsiferol 300 IU/kg olarak hayvanlara

göre hesaplanmış ve 10 hafta boyunca gün aşırı, Kolekalsiferol takviyesi oral yoldan hayvanlara uygulanmıştır.

3.2.4. Açlık Serum Glukoz ve İnsülin Düzeyleri Değerlendirilmesi

Serum glukoz seviyesi biyokimyasal kolorimetrik yöntem ile ve insülin seviyeleri ELISA yöntemi ile ölçülmüş (sıçan insülin ELISA kiti kullanılarak) ve HOMA-IR indeks hesaplanmıştır.

$$\text{HOMA-IR} = \text{Açlık plazma insülin (FPI)} (\mu\text{IU/l}) \times \text{Açlık plazma glukoz (FPG)} (\text{mmol/l}) / 22.5$$

3.2.5. Lipid Profili Düzeyleri Değerlendirilmesi

Total kolesterol, Trigliserit ve HDL düzeyleri biyokimyasal kolorimetrik yöntemle belirlenmiştir.

16 haftalık sıçanların TK değeri: 78.83±3,14 mg/dl

16 haftalık sıçanların TG değeri: 38,43±4,23 mg/dl

16 haftalık sıçanların HDL değeri: 43.33±1,92 mg/dl (Ihedioha, Noel-Uneke, 2011)

3.2.6. Sıçanların Vitamin D Düzeylerinin Değerlendirilmesi

Sıçanların Vitamin D düzeyleri Kemiluminesans İmmunoassay yöntemi ile belirlenmiştir.

3.2.7. Sitokinlerin Değerlendirilmesi

Renal örnekler soğuk %0.9 NaCl solüsyonunda homojenize edilmiş 15.000x g 10 dakika 4°C de santrifüj edilmiştir. Çözünmez pelletler atılmış ve supernatantlar kullanılmıştır. TNF-α ve IL-6 düzeyleri ELISA yöntemiyle belirlenmiştir. Yapılan çalışmalarda, bu sitokinlerin kronik böbrek yetmezliği sürecinde rol oynadıkları savunulmuştur.

3.2.8. Adipokin Düzeylerinin Değerlendirilmesi

Adiponektin, Apelin seviyeleri ELISA yöntemiyle belirlenmiştir.

3.2.9. Oksidatif Stres Profilinin Değerlendirilmesi

Karaciğer örnekleri soğuk %0.9 NaCl solüsyonunda homojenize edilmiş 15.000x g 10 dakika 4°C de santrifüj edilmiştir. Çözünmez pelletler atılmış ve supernatantlar kullanılmıştır. Total Antioksidan Kapasite (TAK) ve Total Oksidan Kapasite seviyeleri (TOK) ELISA yöntemiyle belirlenmiştir.

3.2.10. Arterlerdeki İmmunohistokimyasal Analizler

Koroner, Renal arterler izole edilmiş ve bu damarlardaki AGE (Karboksimetillizin) dağılımları immunboyama ile gösterilmiştir.

3.2.11. ELISA Yöntemi Protokolü

ELISA immün komplekslerle ilişkili olarak enzimatik reaksiyonun ölçümü esasına dayanmaktadır. Tablet bilinen antijen ile kaplanır. Süpheli kan serumu ilave edilir. Konjugat ilave edilir(Anti-antikordur). Substrat konulur. Her basamaktan sonra uygun süre inkubasyonu takiben, yıkama işlemi yapılır

3.2.12. Histokimyasal Yöntem Protokolü

Deney süresi sonunda kontrol ve deney gruplarına ait renal arter, koroner arter, böbrek, karaciğer ve kalp dokuları çıkartılarak 24 saat süreyle % 10'luk tamponlu formaldehit ile fikse edildi. Fiksasyon işleminin ardından artan derecelerdeki etilalkol serisinde tutulan dokular, ksilol ile şeffaflandırma işleminden sonra parafin bloklar haline getirildi. Her bloktan 3-4 µm kalınlığında kesitler alındı. Kesitler 65°C'de 1 saat tutulduktan sonra ışık mikroskopunda inceleme için Hematoksilen ve Eozin (H-E) tekniği ile boyandı. Boyama yönteminin uygulama süreleri ve basamakları Tablo 1'de gösterilmiştir.

Tablo 3.3. Hematoksilen ve Eozin (H-E) boyama yönteminin basamakları ve uygulama süreleri.

Kimyasal madde	Uygulama süresi
Ksilol I	10 dakika
Ksilol II	10 dakika
% 100 alkol	5 dakika
% 95 alkol	2 dakika
% 90 alkol	2 dakika
% 80 alkol	2 dakika
% 70 alkol	2 dakika
Distile su	5 dakika
Hematoksilen	8 dakika
Çeşme suyunda yıkama	5 dakika
Eozin	5 dakika
% 70 alkol	2 dakika
% 80 alkol	2 dakika
% 90 alkol	2 dakika
% 96 alkol	2 dakika
% 100 alkol	5 dakika
Ksilol I	5 dakika
Ksilol II	5 dakika
Entellan ile lamaların kapatılması	

3.2.13. İmmünohistokimyasal Yöntem

Kontrol ve deney gruplarına ait böbrek dokusu bloklarından poli L-lizini lamlara 3-4 µm kalınlığında kesitler alınarak immünohistokimyasal boyamaları yapıldı. Çalışmada yüksek yağlı diyet, tip 2 diyabet ve D vitamininin ileri glikasyon son ürünü olan karboksimetil lizin proteini üzerindeki etkisini belirleyebilmek için Abcam- Fare monoklonal primer antikoru (Cat: ab125145) ile indirekt immünohistokimyasal yöntem kullanılarak boyama yapıldı. Sekonder kit olarak kullanıma hazır Thermo Biotinli Keçi Anti-Polyvalent (Cat: TP-060-BN, Thermo Fisher Scientific Fremont, CA 94539, USA) ve Thermo kullanıma hazır AEC Substrat sistemi (Cat: TA-125-HA, Thermo Fisher Scientific Fremont, CA 94539, USA) kullanıldı. Kesitler 37°C'deki etüvde bir gece tutulduktan sonra deparafinizasyonu kolaylaştırmak amacıyla etüv ısısı 65°C'ye çıkarılarak 1 saat daha bekletildi. Lamlar deparafinizasyonu tamamlamak için 2 kez 15'er dakika ksilolde bırakıldıktan sonra sırasıyla dereceleri azalan alkol serisinden

geçirilerek distile suya kadar getirildi. Kesitler doku içerisinde formaldehitin kapattığı reseptör bölgelerinin açığa çıkarılmasını sağlamak amacıyla yüksek ısı altında 1 M sitrat tamponunda (pH=6.0) (Cat: AP- 9003- 500, Lot: 9003LT13610, Lab Vision, Fremont, USA) tutuldu. Oda ısısında 20 dakika soğutulduktan sonra 10 dakika süreyle hidrojen peroksit (Cat: K48386109 701, Merck, Germany) uygulandı ve endojen peroksidaz aktivitesi bloke edildi. Daha sonra, lamalar 3 kez 3'er dakika PBS (Phosphate Buffer Saline) (pH: 7.4) ile yıkandıktan sonra özgün olmayan bağlanmaların engellenmesi amacıyla 5 dakika Bloklama solüsyonu (Cat: TA-125-UB, Thermo Fisher Scientific Fremont, CA 94539, USA) uygulandı. Bloklama aşamasının ardından kesitler yıkanmadan Anti-Carboxymethyl Lysine (ab125145) primer antikoru ile 1 gece +4°C'de bekletildi. Lamalar bu sürenin sonunda oda ısısında 3 kez 3'er dakika PBS ile yıkandıktan sonra 10 dakika biyotinli sekonder antikor (Cat: TP-125-BN, Thermo Fisher Scientific Fremont, CA 94539, USA) uygulanarak primer antikora bağlanması sağlandı. Tekrar PBS ile yıkandıktan sonra dokular enzimin biyotine bağlanması amacıyla 10 dakika streptavidin peroksidaz enzim kompleksi (TS-125-HR, Thermo Fisher Scientific Fremont, CA 94539, USA) ile inkübe edildi. Lamalar tekrar PBS ile yıkandıktan sonra kromojen olan AEC (3-Amino-9-Ethylcarbazole) (Cat:TA-125-HA, Thermo Fisher Scientific Fremont, CA 94539, USA) uygulanarak gözle görülebilen immünoreaksiyonun açığa çıkması sağlandı. Zemin boyamasında Mayer'in Hematoksileni kullanıldı ve camlar su bazlı kapatıcı ile kapatıldı. Kesitler Olympus BX51 (Olympus, Japan) bilgisayar destekli görüntüleme sisteminde değerlendirildi ve fotoğraflandı.

3.2.14. Mikroskopik değerlendirme

H-E ve immünohistokimyasal olarak boyanan doku kesitleri binoküler ışık mikroskobu altında organların histolojik yapılarındaki değişiklikler açısından deneyimli iki histolog tarafından değerlendirildi (Resveratrol Increases Nephric and Podocin Expression and Alleviates Renal Damage in Rats Fed a High-Fat Diet; Effects of red pitaya juice supplementation on cardiovascular and hepatic changes in high-carbohydrate, high-fat diet-induced metabolic syndrome rats; Induce Hyperlipidemia in Rats Using High Fat Diet Investigating Blood Lipid

and Histopathology). Grupları temsil eden mikroskopik görüntüler mikroskoba monte edilmiş dijital kamera ile elde edildi.

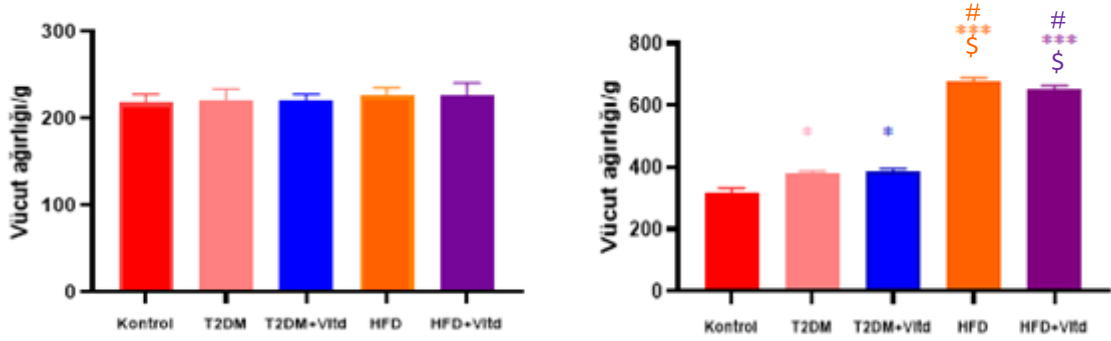
3.2.15. İstatistiksel Analizler

Verilerin analizinde SPSS paket programı kullanıldı. $p<0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Verilerin normal dağılıma uygunluğu Shapiro-Wilk testi ile araştırıldı. Normal dağılıma uygun veriler One-way ANOVA ardından Tukey's çoklu karşılaştırma testiyle incelendi. Normal dağılıma uygun olmayan verilerde ise Kruskal-Wallis testi kullanıldı. Veriler ortalama \pm SEM

4. BULGULAR

4.1. Vücut ağırlıklarının değerlendirilmesi

Deney başlangıcında sıçanların vücut ağırlıkları değerlendirildiğinde; Kontrol ($217,87 \pm 9,97$), T2DM ($220,71 \pm 12,92$), T2DM+Vitd ($220 \pm 7,55$), HFD ($225,62 \pm 9,46$) ve HFD+Vitd ($226,25 \pm 14,41$) grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiş ve sıçanların gruplara homojen olarak dağıldığı doğrulanmıştır (Şekil 4.1. $p=1,000$).



Şekil 4.1. 1.hafta ve 14.hafta vücut ağırlıkları değişimi

* $p<0,05$; *** $p<0,0001$ Kontrole göre,

$p<0,0001$;T2DM grubuna göre,

* $p<0,0001$;T2DM+Vitd grubuna göre,

Kontrol (n=8), T2DM (n=7), T2DM+Vitd (n=8), HFD (n=8), HFD+Vitd (n=8)

Veriler ortalama \pm SEM şeklinde verilmiştir.

Deney sonunda vücut ağırlıkları, Kontrol grubu ($315,62 \pm 16,76$) ile karşılaştırıldığında, T2DM ($379 \pm 8,25$, $p<0,05$), T2DM+Vitd ($386,14 \pm 9,52$, $p<0,05$), HFD ($675,25 \pm 12,72$, $p<0,0001$) ve HFD+Vitd ($650,37 \pm 12,57$, $p<0,0001$) grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlenmiştir.

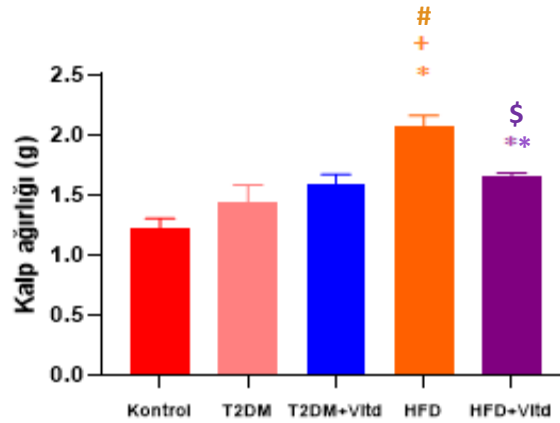
4.2. Kalp ağırlıklarının değerlendirilmesi

Deney sonunda (14.hafta) tüm grupların kalp ağırlıkları ölçülüp kaydedilmiştir. Tüm grupların kalp ağırlıkları, Kontrol grubu kalp ağırlığı ($1,22 \pm 0,88$) ile karşılaştırıldığında; HFD ($2,07 \pm 0,09$, $p < 0,0001$) ve HFD+Vitd ($1,65 \pm 0,03$, $p < 0,05$) grubunda istatiksel olarak anlamlı bir artış gözlenmiştir.

T2DM ($1,43 \pm 0,15$) ve HFD grubu kalp ağırlığı karşılaştırıldığında, HFD ($2,07 \pm 0,09$, $p < 0,0001$) grubunda istatiksel olarak anlamlı bir artış gözlenmiştir.

HFD ve HFD+Vitd grubu kalp ağırlığı karşılaştırıldığında, HFD+Vitd ($1,65 \pm 0,03$, $p < 0,05$) grubunda istatiksel olarak anlamlı bir azalma gözlenmiştir.

T2DM ve T2DM+Vitd ($1,59 \pm 0,08$) grupları arasında kalp ağırlıkları açısından istatiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmemiştir (Şekil 4.2., $p = 0,779$).



Şekil 4.2. Deney sonunda (14. Hafta) tüm grupların kalp ağırlıklarının gösterilmesi.

* $p < 0,0001$, ** $p < 0,05$:Kontrole göre,

+ $p < 0,0001$:T2DM grubuna göre,

$p < 0,05$:T2DM+Vitd grubuna göre,

\$ $p < 0,05$:HFD grubuna göre,

Kontrol(n=8),T2DM(n=7),T2DM+Vitd(n=8),HFD(n=12),HFD+Vitd(n=12),

Veriler ortalama \pm SEM şeklinde verilmiştir.

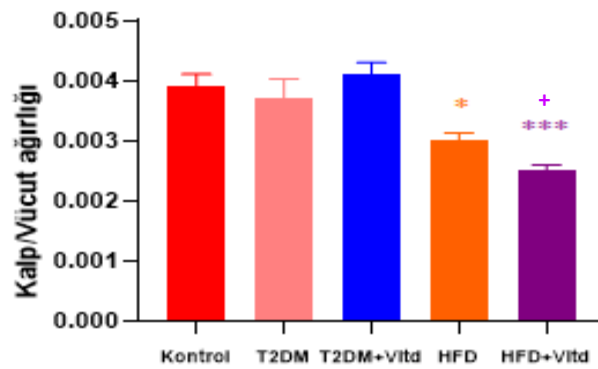
4.3. Kalp ağırlık/Vücut ağırlık oranlarının değerlendirilmesi

Deney sonunda (14.hafta) tüm grupların kalp ağırlıkları ve vücut ağırlıkları ölçülüp, kalp/vücut ağırlığı oranı belirlenmiştir. Tüm grupların kalp/vücut ağırlıkları, Kontrol grubu kalp/vücut ağırlığı ($0,00039 \pm 0,00021$) ile karşılaştırıldığında; HFD ($0,0030 \pm 0,00013$, $p < 0,05$) ve HFD+Vitd ($0,0025 \pm 0,00010$, $p < 0,0001$) grubunda istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlenmiştir.

HFD ve HFD+Vitd grubu kalp ağırlığı karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmemiştir ($p = 1,000$).

T2DM ($0,0037 \pm 0,00033$) ve T2DM+Vitd ($0,0041 \pm 0,00020$) grubu kalp ağırlıkları karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmemiştir (Şekil 4.3., $p = 1,000$).

T2DM+Vitd grubu ve HFD+Vitd grubu kalp ağırlıkları karşılaştırıldığında, HFD+Vitd grubunda istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gözlenmiştir ($p < 0,0001$).



Şekil 4.3. Deney sonunda (14. Hafta) tüm grupların KA/VA seviyelerinin gösterilmesi.

* $p < 0,05$, *** $p < 0,0001$: Kontrol grubuna göre,

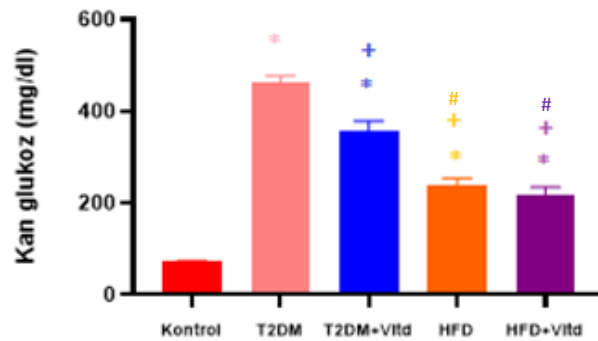
+ $p < 0,0001$: T2DM+Vitd grubuna göre,

Kontrol(n=8), T2DM(n=7), T2DM+Vitd(n=8), HFD(n=12), HFD+Vitd(n=12),

Veriler ortalama \pm SEM şeklinde verilmiştir.

4.4. Kan glukoz seviyelerinin değerlendirilmesi

Sıçanlara 4 hafta yüksek yağlı diyet uygulanmış, 4.haftanın (28.gün) sonunda Streptozotosin (35mg/kg) intraperitoneal uygulanıp, diyabet indüklendikten sonra 72.saatte, açlık kan glukoz düzeyleri ölçülüp **250 mg/dl** ve üzerindeki değerlere sahip hayvanlarda Tip 2 diyabet olduğu doğrulanmıştır. Deney sonunda (14.hafta) tüm grupların açlık kan glukoz seviyeleri Kontrol grubu ($72,14 \pm 1,43$) ile değerlendirildiğinde; T2DM ($460,57 \pm 15,77$, $p < 0,0001$), T2DM+Vitd ($357,42 \pm 42$, $p < 0,0001$), HFD ($239,16 \pm 14,19$, $p < 0,0001$) ve HFD+Vitd ($219 \pm 15,21$, $p < 0,0001$) gruplarında istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlenmiştir. T2DM ve T2DM+Vitd grubu karşılaştırıldığında kan glukoz seviyeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gözlenmiştir ($p < 0,0001$). HFD ve HFD+Vitd grubu kan glukoz seviyesi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (Şekil 4.4., $p = 0,896$). HFD ve HFD+Vitd grubu, T2DM grubu ile karşılaştırıldığında kan glukoz seviyeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gözlenmiştir ($p < 0,0001$). HFD ve HFD+Vitd grubu, T2DM+Vitd grubu ile karşılaştırıldığında kan glukoz seviyeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gözlenmiştir ($p < 0,0001$).



Şekil 4.4. 14. Hafta tüm grupların kan glukoz seviyelerinin gösterilmesi.

* $p < 0,0001$:Kontrole göre,

+ $p < 0,0001$:T2DM grubuna göre,

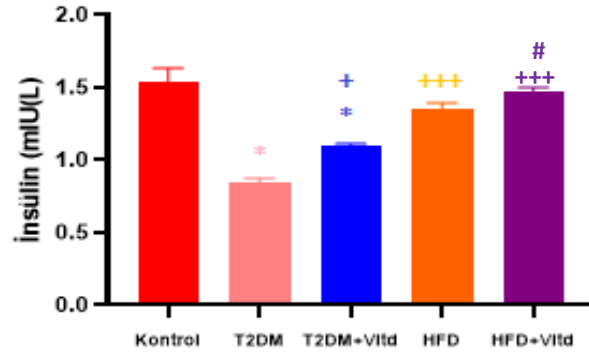
$p < 0,0001$:T2DM+Vitd grubuna göre,

Kontrol (n=8), T2DM (n=7), T2DM+Vitd (n=8), HFD (n=12), HFD+Vitd (n=12),

Veriler ortalama \pm SEM şeklinde verilmiştir.

4.5. İnsülin seviyelerinin değerlendirilmesi

Sıçanların açlık kan serumu insülin seviye tayinleri ELISA yöntemi ile spektrofotometrik olarak ölçülmüştür. Deney sonunda (14.hafta) tüm grupların serum insülin seviyeleri, Kontrol grubu ($1,53 \pm 0,10$) serum insülin seviyesi ile karşılaştırıldığında; T2DM ($0,84 \pm 0,03$, $p < 0,0001$), T2DM+Vitd ($1,09 \pm 0,02$, $p < 0,0001$) gruplarında istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gözlenmiştir. Kontrol grubu ($1,53 \pm 0,10$) serum insülin seviyesi ile karşılaştırıldığında; HFD ($1,35 \pm 0,04$, $p = 0,231$), HFD+Vitd ($1,47 \pm 0,03$, $p = 0,956$) gruplarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmemiştir. T2DM ve T2DM+Vitd grubu karşılaştırıldığında, T2DM+Vitd ($0,84 \pm 0,03$, $p < 0,05$) grubunda serum insülin seviyesi açısından istatistiksel olarak anlamlı bir artma gözlenmiştir. T2DM ve HFD ($1,35 \pm 0,04$, $p < 0,0001$) grubu ile HFD+Vitd grubu karşılaştırıldığında, HFD grubunda serum insülin seviyesi açısından istatistiksel olarak anlamlı bir artma gözlenmiştir. T2DM+Vitd ve HFD+Vitd grubu karşılaştırıldığında, HFD+Vitd grubu serum insülin seviyesi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir artma gözlenmiştir ($p < 0,01$). HFD ve HFD+Vitd grubu serum insülin seviyesi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (Şekil 4.5., $p = 0,634$).



Şekil 4.5. 14. Hafta tüm grupların serum glukoz seviyelerinin gösterilmesi.

* $p < 0,0001$: Kontrole göre

+ $p < 0,05$, +++ $p < 0,0001$: T2DM grubuna göre,

$p < 0,01$: T2DM+Vitd grubuna göre,

Kontrol (n=8), T2DM (n=7), T2DM+Vitd (n=8), HFD (n=12), HFD+Vitd (n=12),

Veriler ortalama \pm SEM şeklinde verilmiştir.

4.6. HOMA-IR seviyelerinin değerlendirilmesi

Deney sonunda (14.hafta) sıçanların açlık serum glukoz seviyeleri ve açlık serum insülin düzeyleri ölçüldükten sonra, HOMA-IR formülüne uygun olarak değerler hesaplanmıştır.

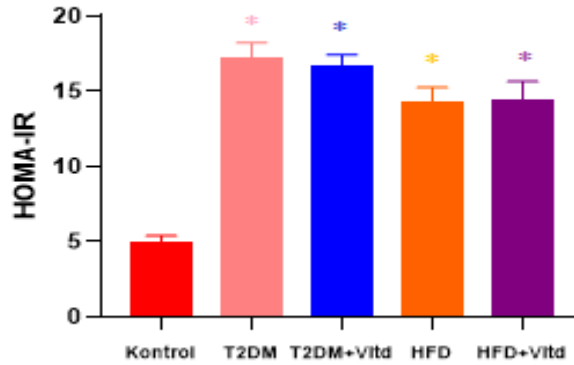
$$\text{HOMA-IR} = \text{Açlık serum insülin (mIU/L)} \times \text{serum glukoz (mg/dl)} / 22.5$$

Tüm grupların HOMA-IR seviyeleri, Kontrol grubu ($4,98 \pm 0,40$) HOMA-IR seviyesi ile karşılaştırıldığında; T2DM ($17,25 \pm 0,96$, $p < 0,0001$), T2DM+Vitd ($16,66 \pm 0,74$, $p < 0,0001$), HFD ($14,32 \pm 0,92$, $p < 0,0001$), HFD+Vitd ($14,43 \pm 1,21$, $p < 0,0001$) gruplarında istatistiksel olarak anlamlı bir artma gözlenmiştir.

T2DM ve T2DM+Vitd grubu karşılaştırıldığında, HOMA-IR seviyesi açısından anlamlı bir fark bulunamamıştır ($p = 0,987$).

HFD ve HFD+Vitd grubu karşılaştırıldığında, HOMA-IR seviyesi açısından anlamlı bir fark bulunamamıştır (Şekil 4.4, $p = 1,000$).

T2DM ve HFD grubu karşılaştırıldığında, HOMA-IR seviyesi açısından anlamlı bir fark bulunamamıştır ($p = 0,157$).



Şekil 4.6. 14. Hafta tüm grupların HOMA-IR seviyelerinin gösterilmesi.

* $p < 0,0001$:Kontrole göre,

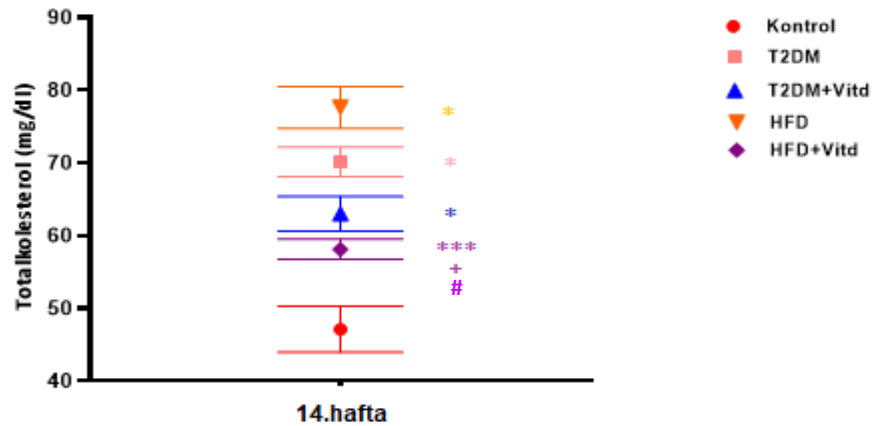
Kontrol (n=8), T2DM (n=7), T2DM+Vitd (n=8), HFD(n=12), HFD+Vitd(n=8),

Veriler ortalama±SEM şeklinde verilmiştir.

4.7.Total kolesterol seviyelerinin değerlendirilmesi

Deney sonunda (14.hafta) tüm grupların total kolesterol seviyeleri belirlenmiştir. Tüm grupların total kolesterol seviyeleri, Kontrol grubu ($47,12 \pm 3,18$) total kolesterol seviyesi ile karşılaştırıldığında, T2DM ($70,14 \pm 2,05$, $p < 0,0001$), T2DM+Vitd ($63 \pm 2,37$, $p < 0,001$), HFD ($77,62 \pm 2,86$, $p < 0,0001$), HFD+Vitd ($58,12 \pm 1,38$, $p < 0,05$) gruplarında istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlenmiştir.

HFD ve HFD+Vitd grupları arasında total kolesterol seviyeleri karşılaştırıldığında, HFD+Vitd ($p < 0,0001$) grubunda istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gözlenmiştir. T2DM ve T2DM+Vitd grupları arasında total kolesterol seviyeleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmemiştir (Şekil 4.7., $p = 0,311$). T2DM ve HFD+Vitd grupları arasında total kolesterol seviyeleri karşılaştırıldığında, HFD+Vitd grubunda anlamlı bir azalma gözlenmiştir ($p < 0,05$).



Şekil 4.7. 14. Hafta tüm grupların total kolesterol seviyelerinin gösterilmesi

* $p < 0,0001$, *** $p < 0,05$: Kontrol grubuna göre,

+ $p < 0,0001$: HFD grubuna göre,

$p < 0,05$: T2DM grubuna göre,

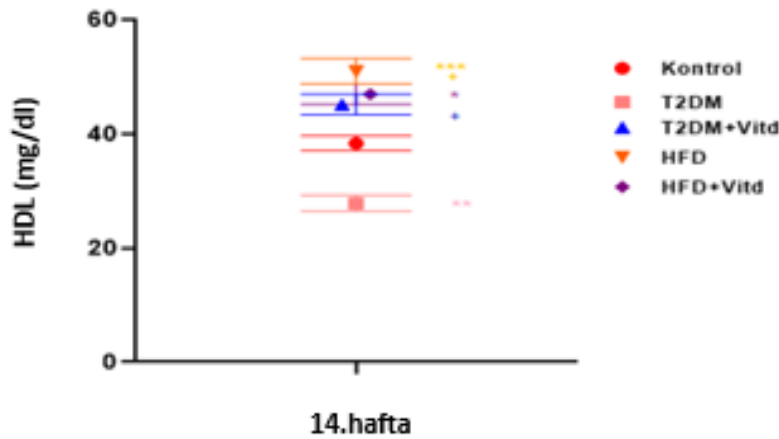
Kontrol (n=8), T2DM (n=7), T2DM+Vitd (n=8), HFD (n=8), HFD+Vitd (n=8),

Veriler ortalama \pm SEM şeklinde verilmiştir.

4.8. HDL seviyelerinin değerlendirilmesi

Deney sonunda (14.hafta) tüm grupların HDL seviyeleri belirlenmiştir. Tüm grupların HDL seviyeleri, Kontrol grubu ($38,37 \pm 1,29$) HDL seviyesi ile karşılaştırıldığında; T2DM ($27,85 \pm 1,38$, $p < 0,001$), HFD ($51 \pm 2,22$, $p < 0,0001$), HFD+Vitd ($47 \pm 1,79$, $p < 0,05$) gruplarında istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlenmiştir.

T2DM ve T2DM+Vitd ($45,14 \pm 1,79$) grupları arasında HDL seviyeleri karşılaştırıldığında, T2DM+Vitd ($p < 0,0001$) grubunda istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gözlenmiştir. T2DM ve HFD grupları karşılaştırıldığında, HFD grubu anlamlı olarak farklı bulunmuştur ($p < 0,0001$). T2DM ve HFD+Vitd grupları karşılaştırıldığında, HFD+Vitd grubunda istatistiksel bir artma gözlenmiştir ($p < 0,0001$). HFD ve HFD+Vitd ($47 \pm 1,79$) grupları arasında total kolesterol seviyeleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmemiştir (Şekil 4.8., $p = 1,000$).



Şekil 4.8. 14. Hafta tüm grupların HDL seviyelerinin gösterilmesi.

* $p < 0,05$; ** $p < 0,001$, *** $p < 0,0001$: Kontrol grubuna göre,

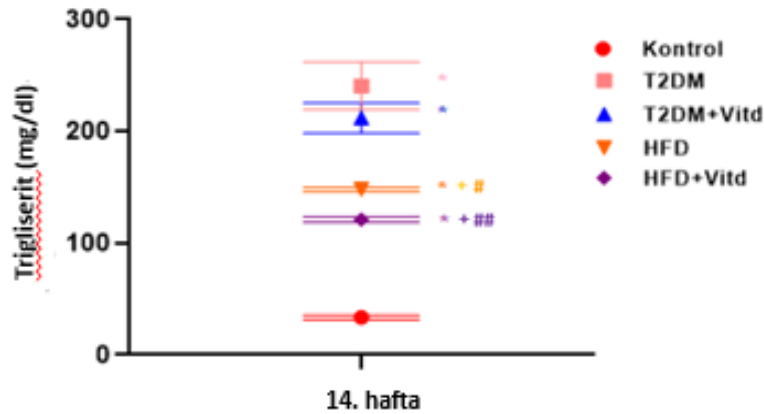
+ $p < 0,0001$: T2DM grubuna göre,

Kontrol(n=8), T2DM(n=7), T2DM+Vitd(n=8), HFD(n=12), HFD+Vitd(n=8),

Veriler ortalama \pm SEM şeklinde verilmiştir.

4.9. Trigliserit seviyelerinin değ erlendirilmesi

Deney sonunda (14.hafta) tüm grupların trigliserit seviyeleri belirlenmiştir. Tüm grupların trigliserit seviyeleri, Kontrol grubu ($33,50 \pm 1,88$) trigliserit seviyesi ile karşılaştırıldığında; T2DM ($240,71 \pm 21,13, p < 0,0001$) ve T2DM+Vitd ($211,85 \pm 13,45, p < 0,0001$), HFD ($148 \pm 1,91, p < 0,0001$), HFD+Vitd ($121,14 \pm 2,53, p < 0,0001$) grubunda istatiks l olarak anlamlı bir artış gözlenmiştir. T2DM ve HFD grupları arasında trigliserit seviyeleri karşılaştırıldığında, HFD ($p < 0,0001$) grubunda istatiks l olarak anlamlı bir azalma gözlenmiştir. T2DM ve T2DM+Vitd grupları arasında trigliserit seviyeleri karşılaştırıldığında istatiks l olarak anlamlı bir fark gözlenmemiştir ($p = 0,375$). HFD ve HFD+Vitd grupları arasında total kolesterol seviyeleri karşılaştırıldığında istatiks l olarak anlamlı bir fark gözlenmemiştir (şekil 4.9., $p = 0,447$). T2DM+Vitd grubu HFD ve HFD+Vitd grubu ile karşılaştırıldığında, HFD grubunda ($p < 0,05$) ve HFD+Vitd grubunda ($p < 0,0001$) istatiks l olarak anlamlı azalışlar gözlenmiştir.



şekil 4.9. 14. Hafta tüm grupların Trigliserit seviyelerinin gösterilmesi.

* $p < 0,0001$: Kontrol grubuna göre,

+ $p < 0,0001$: T2DM grubuna göre,

$p < 0,05$: T2DM+Vitd grubuna göre,

$p < 0,0001$: T2DM+Vitd grubuna göre,

Kontrol (n=8), T2DM (n=7), T2DM+Vitd (n=8), HFD (n=12), HFD+Vitd (n=8),

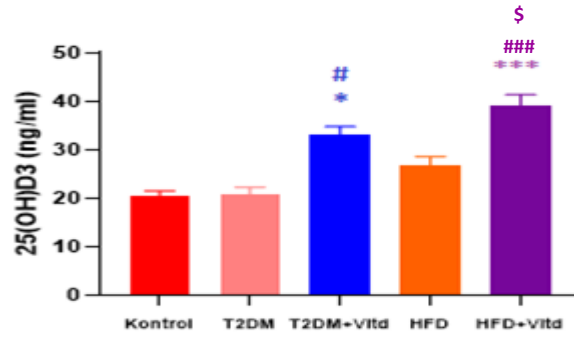
Veriler ortalama \pm SEM şeklinde verilmiştir.

5.0. Vitamin D düzeylerinin değerlendirilmesi

Deney sonunda (14.hafta) tüm grupların Vitamin D seviyeleri belirlenmiştir. Tüm grupların Vitamin D seviyeleri, Kontrol grubu ($20,48 \pm 0,99$) Vitamin D seviyesi ile karşılaştırıldığında; T2DM+Vitd ($33,03 \pm 1,75$, $p < 0,001$) ve HFD+Vitd ($38,98 \pm 2,39$, $p < 0,0001$) grubunda istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlenmiştir.

T2DM ($20,87 \pm 1,34$) ve T2DM+Vitd grubu karşılaştırıldığında, T2DM+Vitd ($p < 0,05$) grubunda istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlenmiştir.

HFD ($26,59 \pm 1,97$) ve HFD+Vitd grubu karşılaştırıldığında, HFD+Vitd ($p < 0,05$) grubunda istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlenmiştir (Şekil 5.0.).



Şekil 5.0. 14. Hafta tüm grupların Vitamin D seviyelerinin gösterilmesi.

* $p < 0,001$, *** $p < 0,0001$ Kontrol grubuna göre,

$p < 0,05$: T2DM grubuna göre,

$p < 0,0001$: T2DM grubuna göre,

\$ $p < 0,05$: HFD grubuna göre,

Kontrol (n=8), T2DM (n=7), T2DM+Vitd (n=8), HFD (n=12), HFD+Vitd (n=12),

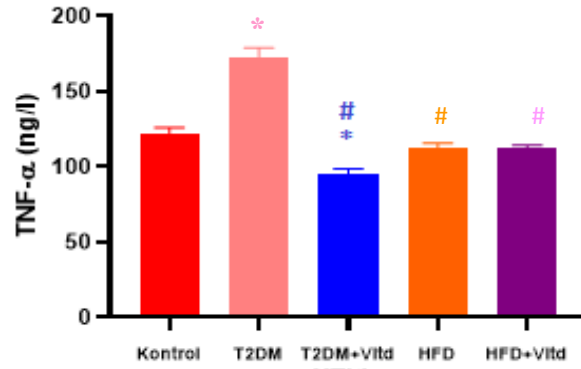
Veriler ortalama \pm SEM şeklinde verilmiştir.

5.1. Böbrek TNF- α seviyelerinin değerlendirilmesi

Deney sonunda (14.hafta) tüm grupların böbrek TNF- α seviyeleri ELISA yöntemi ile spektrofotometrik olarak ölçülmüştür. Tüm grupların TNF- α seviyeleri, Kontrol grubu ($122,17 \pm 3,70$) TNF- α seviyesi ile karşılaştırıldığında; T2DM ($172,95 \pm 5,90$) grubunda istatistiksel olarak anlamlı bir artma ve T2DM+Vitd ($94,50 \pm 3,93$, $p < 0,0001$) grubunda istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gözlenmiştir.

T2DM ($172,95 \pm 5,90$) ve T2DM+Vitd grubu karşılaştırıldığında T2DM+Vitd ($p < 0,0001$) grubunda istatistiksel olarak anlamlı azalma gözlenmiştir.

HFD ($111,81 \pm 3,56$) ve HFD+Vitd ($111,69 \pm 2,35$) grupları arasında TNF- α seviyeleri açısından karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmemiştir ($p = 1,000$).



Şekil 5.1. 14. Hafta tüm grupların TNF- α seviyelerinin gösterilmesi.

* $p < 0,0001$: Kontrol grubuna göre,

$p < 0,0001$: T2DM grubuna göre,

Kontrol (n=8), T2DM (n=7), T2DM+Vitd (n=8), HFD (n=12), HFD+Vitd (n=12),

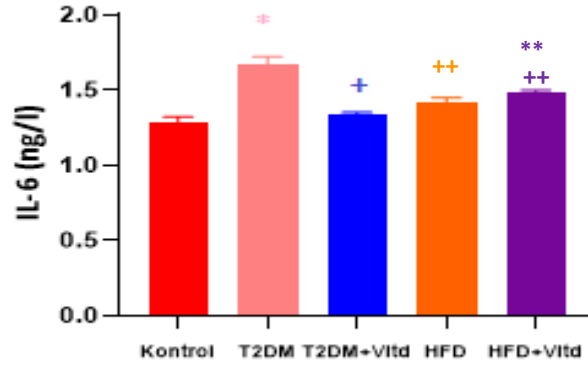
Veriler ortalama \pm SEM şeklinde verilmiştir.

5.2. Böbrek IL-6 seviyelerinin değerlendirilmesi

Deney sonunda (14.hafta) tüm grupların böbrek IL-6 seviyeleri ELISA yöntemi ile spektrofotometrik olarak ölçülmüştür. Tüm grupların IL-6 seviyeleri, Kontrol grubu ($1,28 \pm 0,04$) IL-6 seviyesi ile karşılaştırıldığında; T2DM ($1,67 \pm 0,05$, $p < 0,0001$) grubunda ve HFD+Vitd ($1,48 \pm 0,028$, $p < 0,05$) istatiksel olarak anlamlı bir artma gözlenmiştir.

T2DM ve T2DM+Vitd ($1,33 \pm 0,02$) grubu karşılaştırıldığında T2DM+Vitd ($p < 0,0001$) grubunda IL-6 seviyesi açısından istatiksel olarak anlamlı azalma gözlenmiştir. T2DM grubu ile karşılaştırıldığında, HFD ve HFD+Vitd grupları arasında ($p < 0,05$) anlamlı azalma gözlenmiştir.

HFD ($1,42 \pm 0,038$) ve HFD+Vitd grupları arasında IL-6 seviyeleri açısından karşılaştırıldığında istatiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmemiştir ($p = 1,000$).



Şekil 5.2. 14. Hafta tüm grupların IL-6 seviyelerinin gösterilmesi.

* $p < 0,0001$, ** $p < 0,05$: Kontrol grubuna göre,

+ $p < 0,0001$, ++ $p < 0,05$: T2DM grubuna göre

Kontrol (n=8), T2DM (n=7), T2DM+Vitd (n=8), HFD (n=12), HFD+Vitd (n=12),

Veriler ortalama \pm SEM şeklinde verilmiştir.

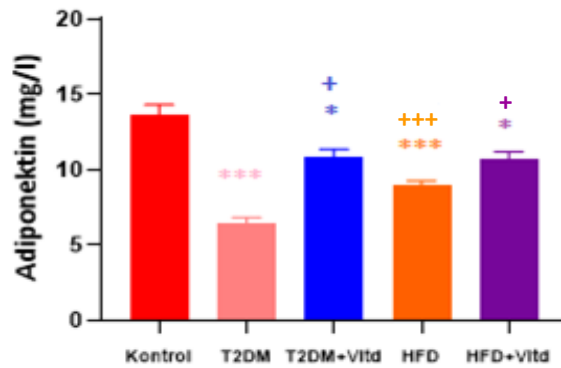
5.3. Adiponektin seviyelerinin değerlendirmesi

Deney sonunda (14.hafta) tüm grupların adiponektin seviyeleri belirlenmiştir. Tüm grupların adiponektin seviyeleri, Kontrol grubu ($13,62 \pm 0,68$) adiponektin seviyesi ile karşılaştırıldığında; T2DM ($6,44 \pm 0,39$, $p < 0,0001$) T2DM+Vitd ($10,80 \pm 0,56$, $p < 0,0001$), HFD ($8,91 \pm 0,34$, $p < 0,0001$) ve HFD+Vitd ($10,73 \pm 0,44$, $p < 0,05$) grubunda istatiksel olarak anlamlı bir azalma gözlenmiştir.

T2DM ($6,44 \pm 0,39$) ve T2DM+Vitd grubu karşılaştırıldığında, T2DM+Vitd ($p < 0,0001$) grubunda adiponektin seviyesinde istatiksel olarak anlamlı artma gözlenmiştir.

T2DM ve HFD ($8,91 \pm 0,34$, $p < 0,05$) ve HFD+Vitd ($p < 0,0001$) grubu karşılaştırıldığında, istatiksel olarak anlamlı artma gözlenmiştir.

HFD ve HFD+Vitd grubu arasında adiponektin seviyeleri açısından istatiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmemiştir ($p = 0,111$).



Şekil 5.3. 14. Hafta tüm grupların adiponektin seviyelerinin gösterilmesi.

* $p < 0,0001$, *** $p < 0,05$: Kontrol grubuna göre,

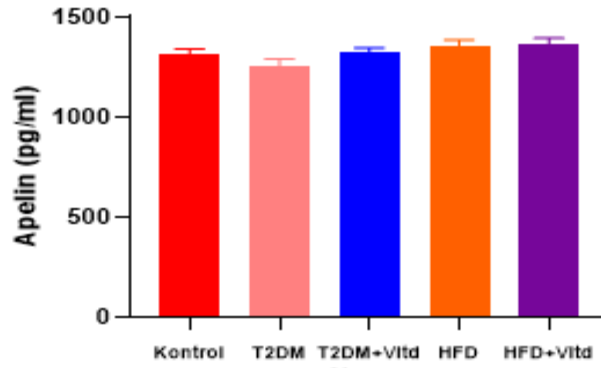
+ $p < 0,0001$, +++ $p < 0,05$: T2DM grubuna göre,

Kontrol (n=8), T2DM (n=7), T2DM+Vitd (n=8), HFD (n=12), HFD+Vitd (n=12),

Veriler ortalama \pm SEM şeklinde verilmiştir.

5.4. Apelin seviyelerinin değerlendirilmesi

Deney sonunda (14.hafta) tüm grupların apelin seviyeleri ELISA yöntemi ile spektrofotometrik olarak ölçülmüştür. Kontrol grubu ($1360 \pm 29,60$) apelin seviyesi, T2DM ($1250 \pm 38,80$), T2DM+Vitd ($1320 \pm 24,22$), HFD ($1350 \pm 34,74$) ve HFD+Vitd ($1365 \pm 27,87$) karşılaştırıldığında; hiçbir grupta istatiksel olarak anlamlı bir değişiklik gözlenmemiştir (Şekil 5.3., $p=1,000$).



Şekil 5.4. 14. Hafta tüm grupların Apelin seviyelerinin gösterilmesi.

Kontrol (n=8), T2DM (n=7), T2DM+Vitd (n=8), HFD (n=12), HFD+Vitd (n=12), Veriler ortalama \pm SEM şeklinde verilmiştir.

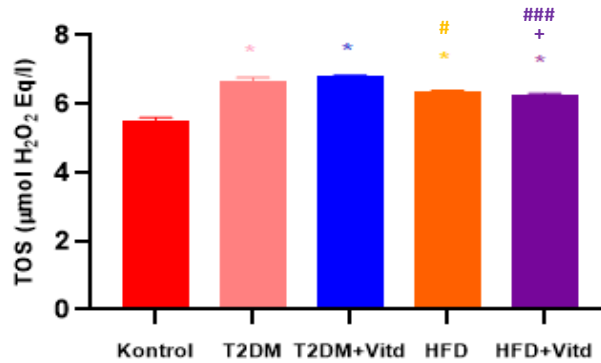
5.5. TOS seviyelerinin değerlendirmesi

Deney sonunda (14.hafta) tüm grupların Total Oksidan Seviyeleri belirlenmiştir. Tüm grupların TOS seviyeleri, Kontrol grubu($5,53\pm0,07$), TOS seviyesi ile karşılaştırıldığında; T2DM ($6,65\pm0,12, p<0,0001$), T2DM+Vitd ($6,82\pm0,02, p<0,0001$), HFD ($6,38\pm0,01, p<0,0001$), HFD+Vitd ($6,27\pm0,04, p<0,0001$) grubunda istatistiksel olarak anlamlı bir artma gözlenmiştir.

T2DM ve T2DM+Vitd grubu karşılaştırıldığında TOS seviyeleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmemiştir ($p=1,000$).

HFD ve HFD+Vitd grubu karşılaştırıldığında TOS seviyeleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmemiştir ($p=1,000$).

T2DM+Vitd grubu ile karşılaştırıldığında HFD ($p<0,001$) ve HFD+Vitd ($p<0,0001$) gruplarında istatistiksel olarak anlamlı azalma gözlenmiştir.



Şekil 5.5. 14. Hafta tüm grupların TOS seviyelerinin gösterilmesi.

* $p<0,0001$: Kontrol grubuna göre,

+ $p<0,05$: T2DM grubuna göre,

$p<0,05$; ### $p<0,0001$; T2DM+Vitd grubuna göre,

Kontrol ($n=8$), T2DM ($n=7$), T2DM+Vitd ($n=8$), HFD ($n=12$), HFD+Vitd ($n=12$),

Veriler ortalama \pm SEM şeklinde verilmiştir.

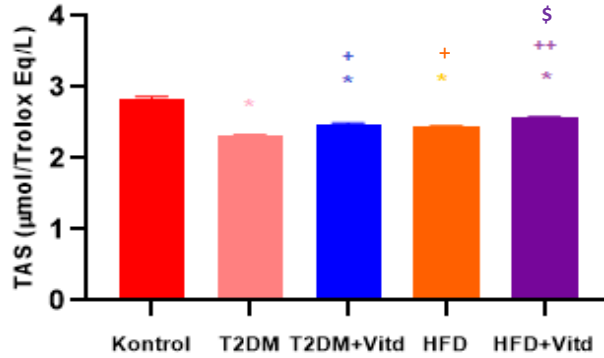
5.6. TAS seviyelerinin değerlendirmesi

Deney sonunda (14.hafta) tüm grupların Total Antioksidan Seviyeleri belirlenmiştir. Tüm grupların TAS seviyeleri, Kontrol grubu TAS ($2,83 \pm 0,04$) seviyesi ile karşılaştırıldığında; T2DM ($2,33 \pm 0,006$, $p < 0,0001$), T2DM+Vitd ($2,48 \pm 0,02$, $p < 0,0001$), HFD ($2,45 \pm 0,011$, $p < 0,0001$), HFD+Vitd ($2,58 \pm 0,015$, $p < 0,0001$) gruplarında istatistiksel olarak anlamlı azalma gözlenmiştir.

T2DM ve T2DM+Vitd grubu karşılaştırıldığında T2DM+Vitd grubunda TAS düzeyi açısından istatistiksel olarak anlamlı artma gözlenmiştir ($p < 0,05$).

HFD ve HFD+Vitd grubu karşılaştırıldığında HFD+Vitd grubunda TAS düzeyi açısından istatistiksel olarak anlamlı artma gözlenmiştir ($p < 0,05$).

T2DM ve HFD ($p < 0,05$) ile HFD+Vitd ($p < 0,0001$) grubu karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlı artma gözlenmiştir.



Şekil 5.6. 14. Hafta tüm grupların TAS seviyelerinin gösterilmesi.

* $p < 0,0001$: Kontrol grubuna göre,

+ $p < 0,05$, ++ $p < 0,0001$: T2DM grubuna göre,

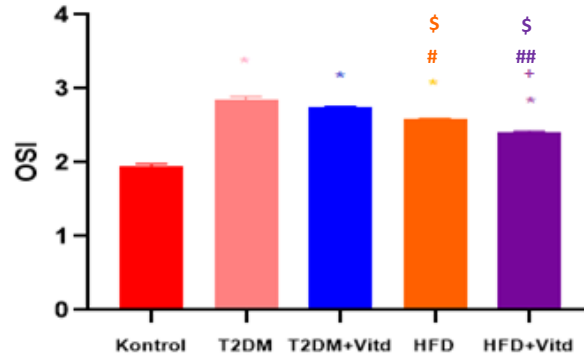
\$ $p < 0,05$: HFD grubuna göre,

Kontrol (n=8), T2DM (n=7), T2DM+Vitd (n=8), HFD (n=12), HFD+Vitd (n=12),

Veriler ortalama \pm SEM şeklinde verilmiştir.

5.7. OSI değerlendirmesi

Deney sonunda (14.hafta) tüm grupların Oksidatif Stres İndeksi hesaplanmıştır. Tüm grupların OSI seviyesi, Kontrol grubu ($1,95 \pm 0,03$) OSI seviyesi ile karşılaştırıldığında; T2DM ($2,85 \pm 0,04$, $p < 0,0001$), T2DM+Vitd ($2,74 \pm 0,02$, $p < 0,0001$), HFD ($2,59 \pm 0,009$, $p < 0,0001$), HFD+Vitd ($2,42 \pm 0,01$, $p < 0,0001$) gruplarında istatiksel olarak anlamlı bir artış gözlenmiştir. T2DM ve HFD ($p < 0,0001$) ile HFD+Vitd ($p < 0,0001$) karşılaştırıldığında anlamlı azalma gözlenmiştir. T2DM+Vitd ve HFD ($p < 0,05$) ile HFD+Vitd ($p < 0,0001$) grubu karşılaştırıldığında anlamlı azalma gözlenmiştir. HFD ve HFD+Vitd grubu karşılaştırıldığında, HFD+Vitd grubunda OSI seviyesi açısından anlamlı bir azalma bulunmuştur ($p < 0,05$). T2DM ve T2DM+Vitd grubu karşılaştırıldığında OSI seviyeleri açısından istatiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır ($p = 1,000$).



Şekil 5.7. 14. Hafta tüm grupların OSI seviyelerinin gösterilmesi.

* $p < 0,0001$: Kontrol grubuna göre,

\$ $p < 0,0001$: T2DM grubuna göre,

$p < 0,05$, ## $p < 0,0001$: T2DM+Vitd grubuna göre,

+ $p < 0,05$: HFD grubuna göre,

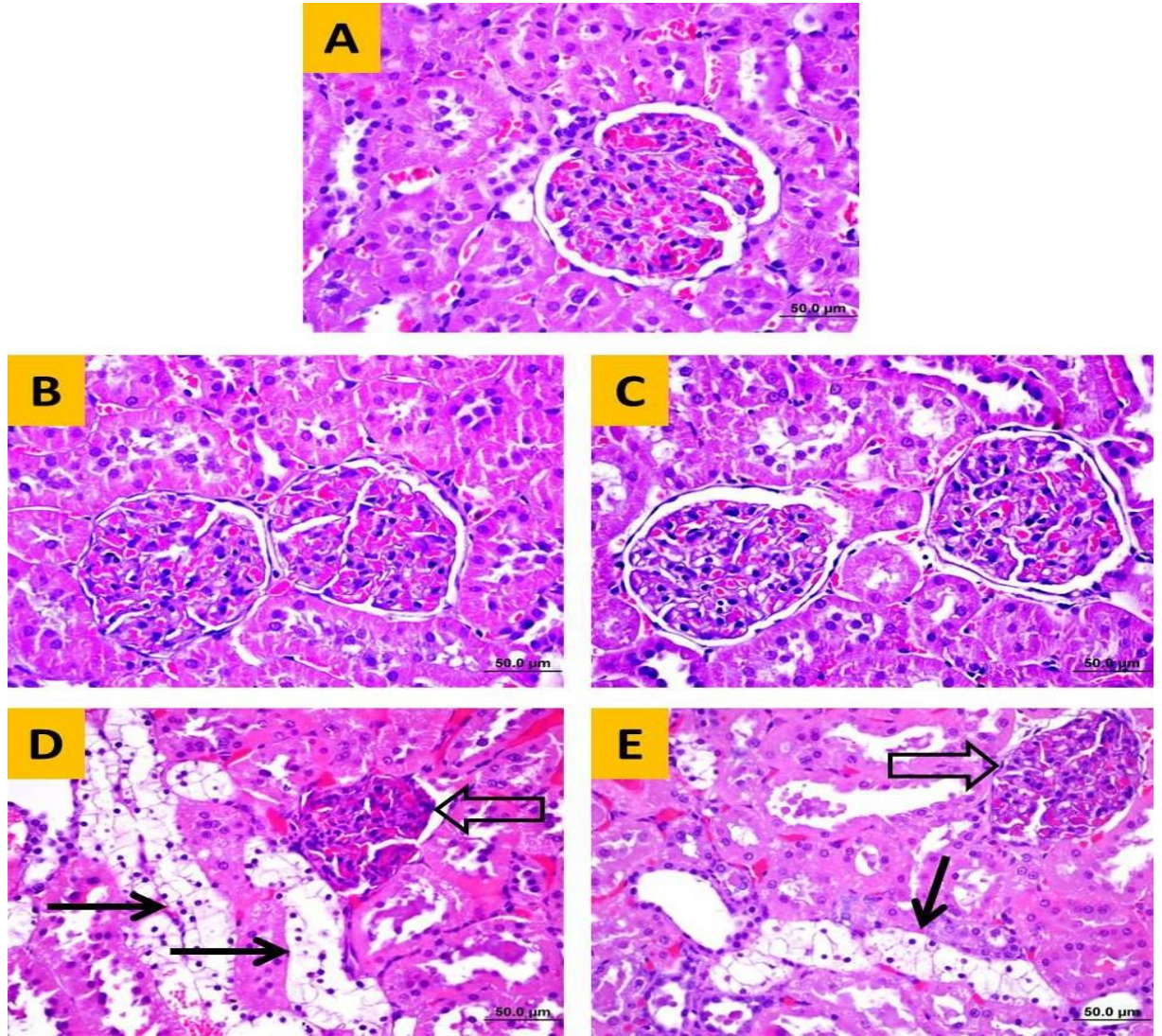
Kontrol (n=8), T2DM (n=7), T2DM+Vitd (n=8), HFD (n=12), HFD+Vitd (n=12),

Veriler ortalama \pm SEM şeklinde verilmiştir.

5.8. Histokimyasal Bulgular

5.8.1. Böbrek dokusuna ait bulgular

Boyama sonuçlarına göre kontrol, HFD, HFD+Vitd uygulanan gruplarda normal histolojik yapıda böbrek dokusu görülürken (Şekil 1A-C), T2DM ve T2DM+Vitd grubunda tübül yapılarında büyük oranda dejenerasyon, glomerüller kompaktlaşma ve Bowman kapsülü aralığında daralma göze çarpmıştır (Şekil 1D-E).

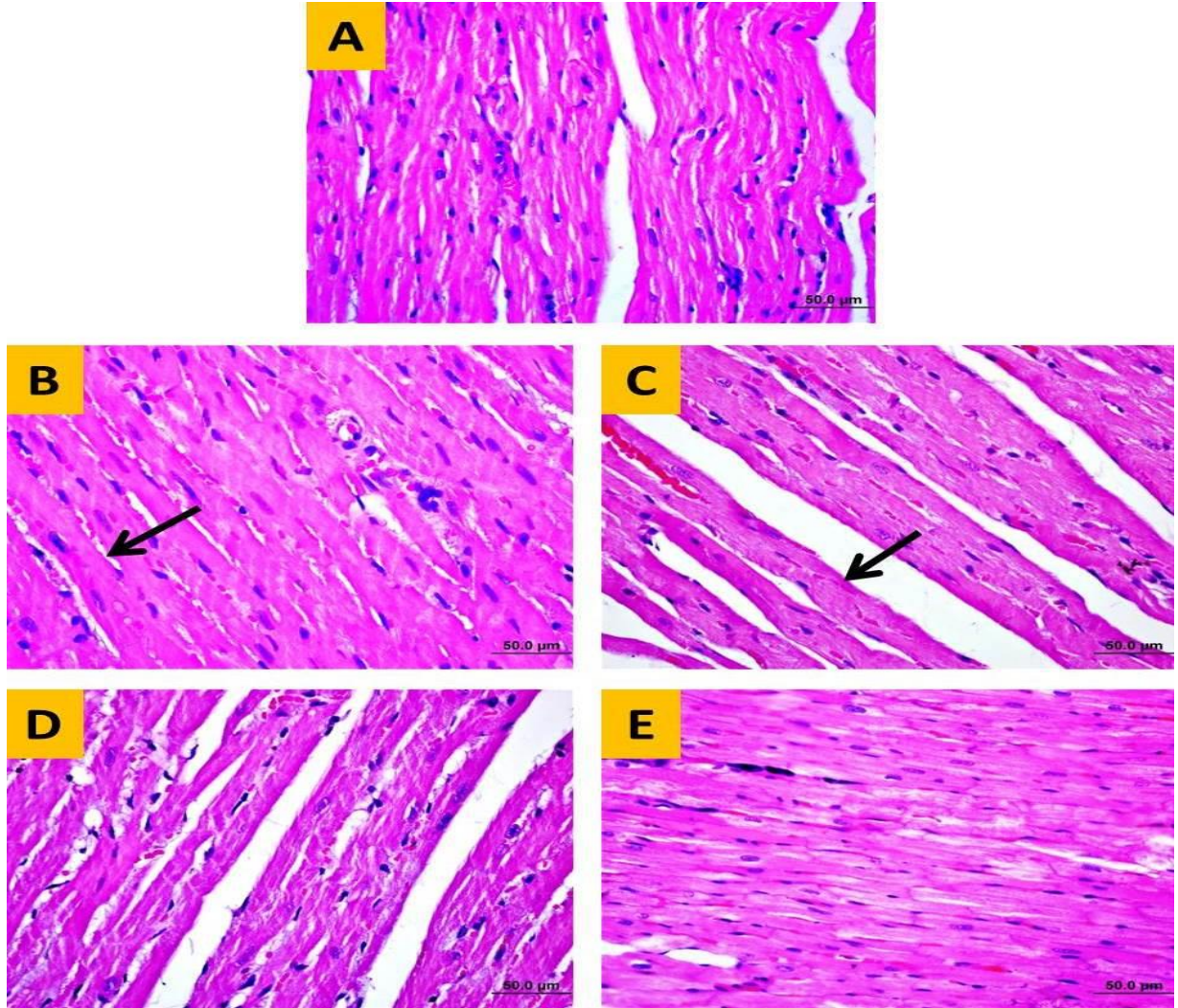


Şekil 5.8. Sıçan gruplarına ait histolojik böbrek kesitleri.

A: Kontrol grubu, B: HFD grubu ve C: HFD+VitD grubunda böbreklerin glomerül ve tübüler yapıları tipik histolojik görünümüne sahiptir. D: T2DM grubu ve E: T2DM+Vitd gruplarında ise glomerüllerin kompaktlaşarak küçüldüğü (*kalin ok*) ve bazı tübüllerin (*ince oklar*) dejenerasyona uğradıkları görülmektedir. Hematoksilen-Eozin, barlar: 50 µm.

5.8.2. Kalp Dokusuna Ait Bulgular

Kalp dokusuna ait hematoksilin ve eozin boyamaları incelendiğinde kontrol grubunda birbirine paralel seyreden, ökromatin nükleuslu sağlıklı miyofibriller gözlenmiştir (Şekil 2A). HFD ve HFD+Vitd grubunda hipertrofik miyofibriller belirlenmiştir (Şekil 2B-C). Ancak T2DM ve T2DM+Vitd grubunda, kontrol grubuna benzer kalınlıkta miyofibriller ve çekirdekler belirlenmiştir (Şekil 2D-E).

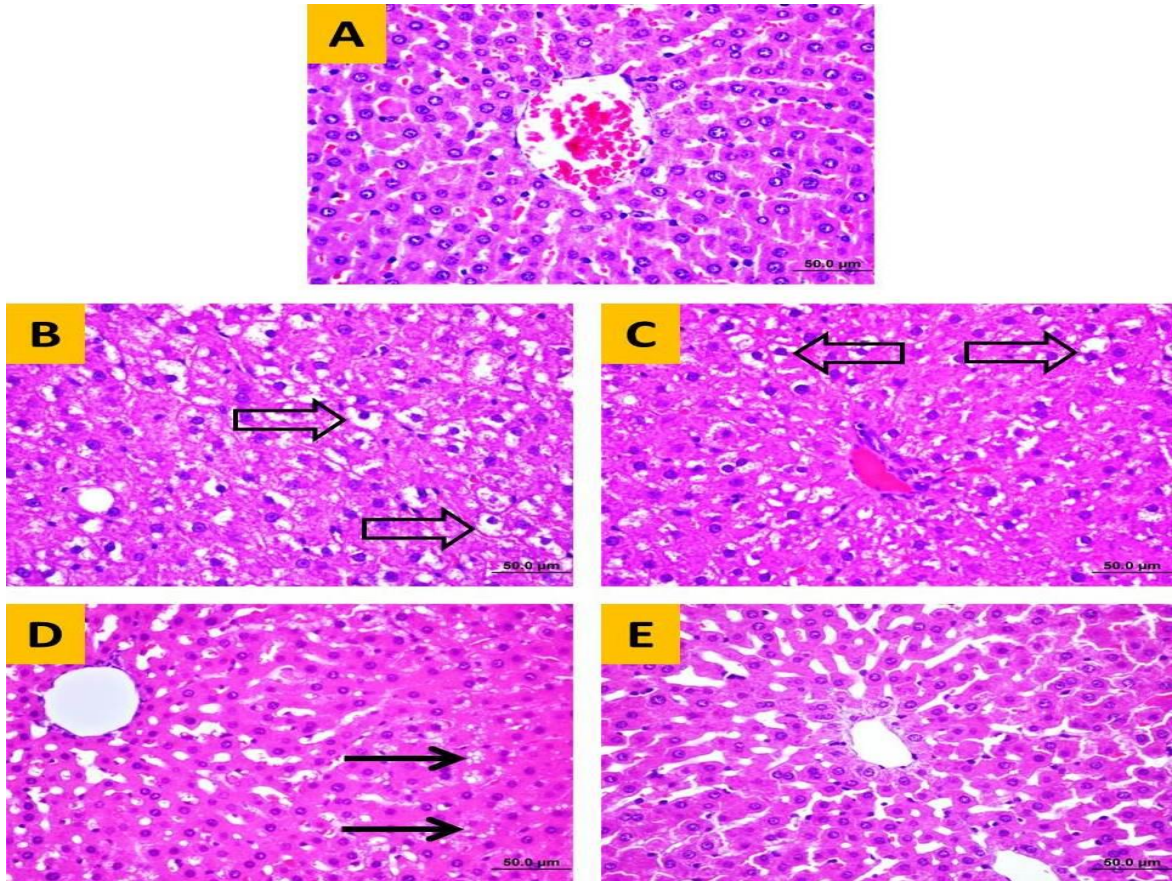


Şekil 5.9. Sıçan gruplarına ait histolojik kalp kesitleri.

A: Kontrol grubunda tipik kalp kası lifleri görülmektedir. B: HFD grubu ve C: HFD+Vitd grubunda kalp kası liflerinin kalınlaştığı dikkati çekmektedir (*oklar*). D: T2DM grubu ve E: T2DM+Vitd gruplarında kalp kası liflerinin kontrole yakın bir görünüm sergiledikleri görülmektedir. Hematoksilin-Eozin, barlar: 50 µm.

5.8.3. Karaciğer dokusuna ait bulgular

Boyama sonuçlarına göre kontrol grubunda normal histolojik yapıda karaciğer dokusu görülürken (Şekil 3A), sadece HFD grubunda belirgin mikroveziküler yağlanma, sitoplazmada vakuoler dejenerasyon ve heterokromatin, küçülmüş nükleus gözlenmiştir (Şekil 3B). HFD+Vitd uygulanan grupta sitoplazmik dejenerasyon ve mikroveziküler yağlanma gözlenmeye devam edilmiştir (Şekil 3C). T2DM grubunda karaciğer lobülüne ait zone 3'te az miktarda mikroveziküler yağlanma odakları gözlenmiştir (Şekil 3D). T2DM+Vitd grubunda ise herhangi bir dejenerasyon belirlenmemiştir (Şekil 6.0.)

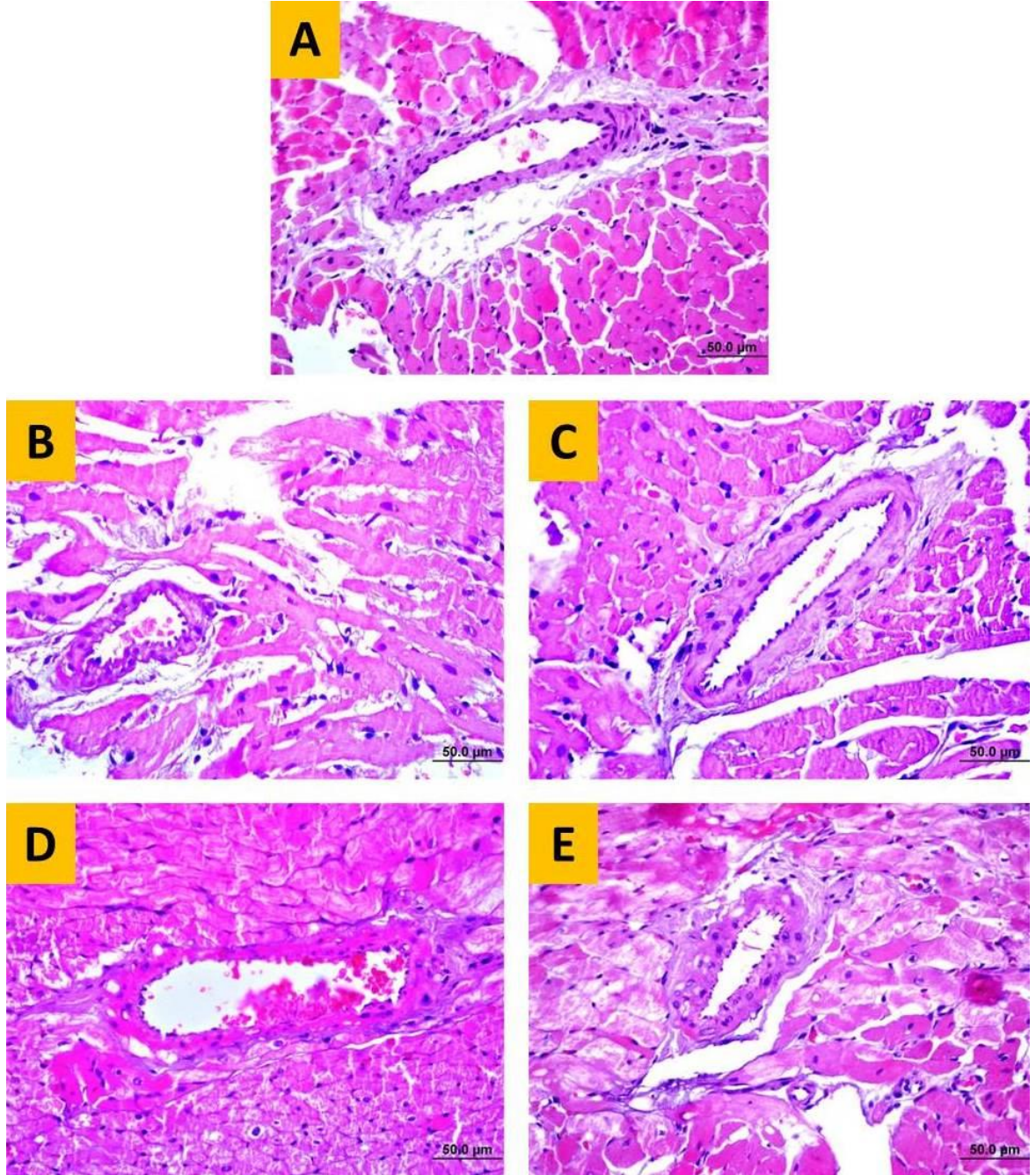


Şekil 6.0. Sıçan gruplarına ait histolojik karaciğer kesitleri.

A: Kontrol grubunda tipik karaciğer histolojisi görülmektedir. **B:** HFD grubu ve **C:** HFD+Vitd grubunda bazı karaciğer hücrelerinin sitoplazmalarındaki vakuolizasyon ve çekirdeklerindeki küçülme ve kromatin yoğunlaşması dikkati çekmektedir (*kalin oklar*). **D:** T2DM grubunda lobülün periferinde bulunan hepatositlerin sitoplazmalarında mikroveziküler yağlanma görülmektedir. **E:** T2DM+Vitd grubunda ise hepatositler kontrole yakın bir görünüm sergilemektedir. Hematoksilen-Eozin, barlar: 50 µm.

5.8.4. Koroner arter dokusuna ait bulgular

Kalp dokusunun miyokard tabakasına uzanmış koroner arter dallarına ait hematoksilin ve eozin boyamaları incelendiğinde gruplar arası herhangi bir fark gözlenmemiştir (Şekil 4A-E).

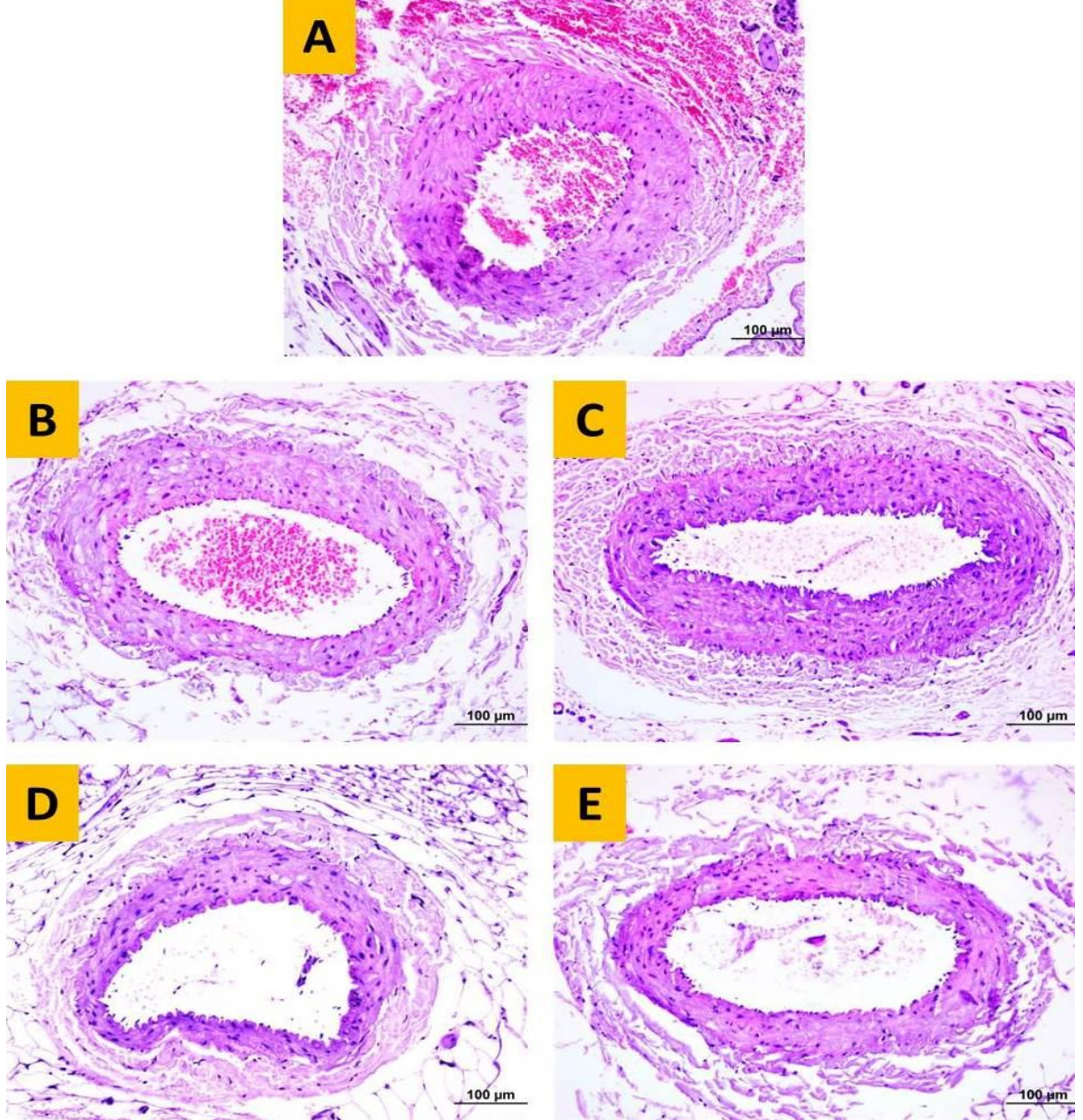


Şekil 6.1. Sıçan gruplarının koroner arter dallarına ait histolojik kesitler.

Damarlarda göze çarpan histolojik değişiklikler izlenmemektedir. **A:** Kontrol grubu, **B:** HFD grubu, **C:** HFD+VitD grubu, **D:** DM grubu ve **E:** DM+VitD grubu. Hematoksilin-Eozin, barlar: 50 µm.

5.8.5. Renal arter dokusuna ait bulgular

Renal artere ait hematoksilin ve eozin boyamaları incelendiğinde gruplar arası herhangi bir fark gözlenmemiştir (Şekil 5A-E).



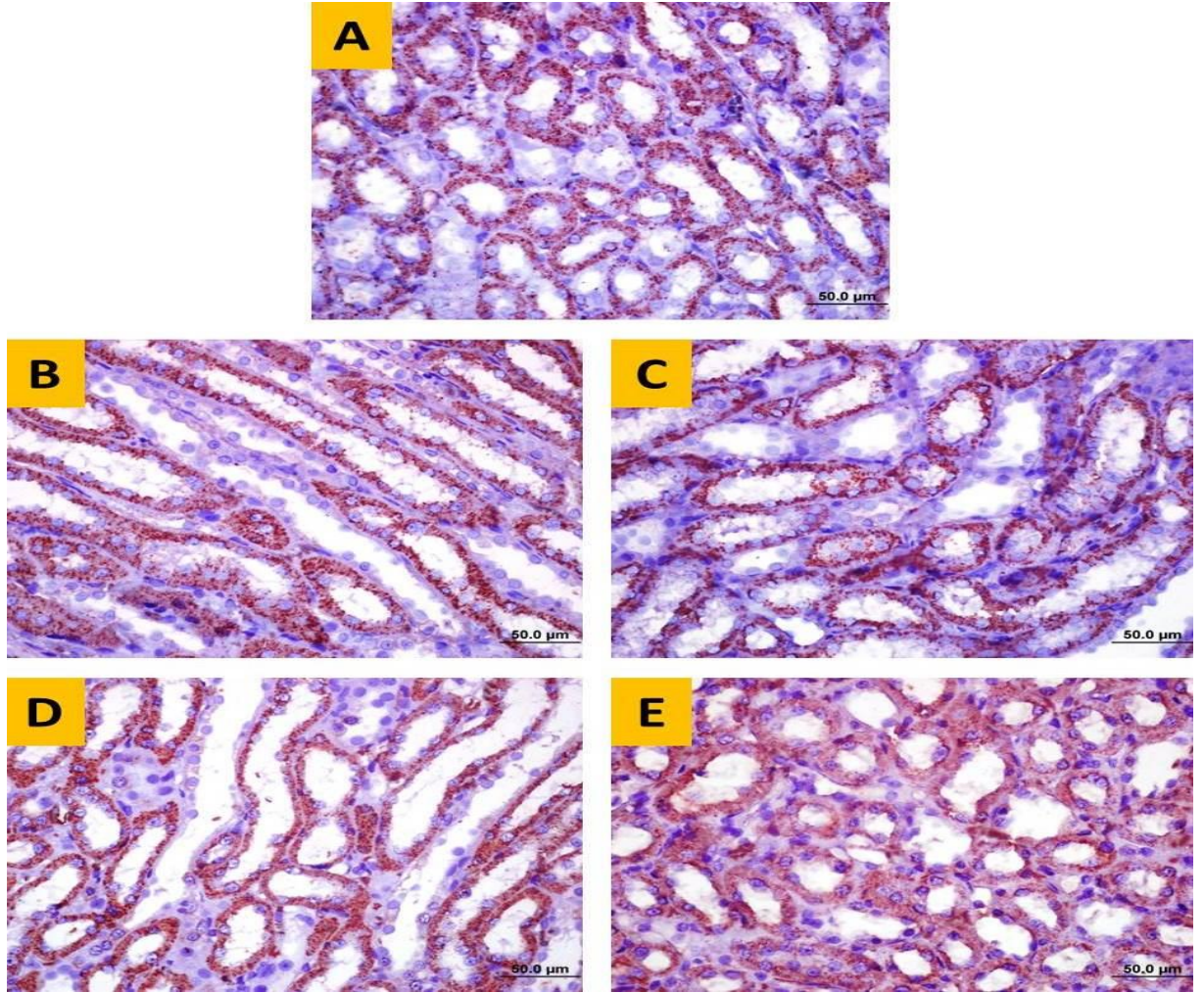
Şekil 6.2. Sıçan gruplarının renal arterlerine ait histolojik kesitler.

Damarlarda göze çarpan histolojik değişiklikler izlenmemektedir. **A:** Kontrol grubu, **B:** HFD grubu, **C:** HFD+Vitd grubu, **D:** T2DM grubu ve **E:** T2DM+Vitd grubu. Hematoksilin-Eozin, barlar: 50 µm.

İmmünohistokimyasal Bulgular

5.9.1. Böbrek dokusuna ait bulgular

İmmünohistokimyasal olarak anti-Carboxymethyl Lysine ile boyanan böbrek kesitlerinde gruplar arasında belirgin değişiklikler gözlenmedi. Tüm gruplarda pozitif boyanma sadece kortikomedullar bileşke bölgesindeki tübüler hücrelerin sitoplazmalarında saptandı. Korteks ve medulla bölgelerinde immün boyanma görülmedi (Şekil 6A-E)



Şekil 6.3. Sıçan gruplarının böbreklerine ait anti-karboksimetil lizin ile immünohistokimyasal olarak boyanan histolojik kesitler.

Gruplara ait kesitlerde belirgin immünohistokimyasal farklar izlenmemektedir. İmmünoreaksiyon, tüm gruplarda kortikomedüller bölgedeki tübüler hücrelerin sitoplazmalarında belirgin olarak gözlemlendi. **A:** Kontrol grubu, **B:** HFD grubu, **C:** HFD+Vitd grubu, **D:** T2DM grubu ve **E:** T2DM+Vitd grubu. Barlar: 50 µm.

5. TARTIŞMA

Tip 2 Diyabet, sedanter yaşam, kilo alımı, ilerleyici insülin direncine bağlı olarak, yetersiz beta hücre yanıtı ile karakterize bir hastalıktır. Çalışmamızda T2DM modeli ve obezite modeli oluşturulmuş sıçanlarda, 25(OH)D vitamini takviyesinin kan glukoz seviyesi, insülin direnci, lipid profili, adiponektin ve apelin seviyeleri ve koroner, renal, karotis arterlerdeki AGE oluşumu üzerine etkileri araştırılmıştır.

T2DM ve Vitamin D arasında anlamlı ilişki olduğuna dair çok sayıda çalışma vardır. Yapılan bir çalışmada, T2DM modeli oluşturulmuş sıçanlara, Kolekalsiferol takviyesi uygulanmış ve kan glukoz seviyesinde önemli azalma gözlenmiştir (Anwar, Hussain, Khan, Ahmad, 2013). Başka bir araştırmada, T2DM modeli oluşturulduktan sonra, D vitamini analogu (Alfakalsidiol) kullanılmış, kan glukoz düzeylerinin anlamlı derecede azaldığı gözlenmiştir. Aynı çalışmada, Metformin ve Alfakalsidiol kombinasyonunun, Metforminin tek başına oluşturduğu antidiyabetik etkiden daha fazla azalma yaptığı gözlenmiş ve Vitamin D takviyesinin diyabet tedavisinde önemli bir adjuvan ajan olabileceği düşünülmüştür (Abdel-Rehim, 2019). T2DM oluşturulmuş sıçanlarda, 4 hafta boyunca D vitamini takviyesi yapılmış ve serum kolekalsiferoldeki artışın, diyabetik sıçanlarda hiperglisemi ve hipoinsülinemiye iyileştirebileceği gözlenmiştir (Derakhshanian, 2019). T2DM oluşturulmuş sıçanlarda Vitamin D takviyesi uygulanması, kan glukozu, ketoasidoz, proinflamatuvar sitokin (IL-6) ve insülin direnci indeksini %33 oranında azalttığı gözlenmiştir (Sadek, Shaheen, 2014). Vitamin D eksikliği bulunmayan T2DM modeli oluşturulmuş sıçanlarda, Vitamin D'nin plazma glukoz konsantrasyonlarını anlamlı derecede azalttığı bulunmuştur (de Souza, Vianna, 2005).

Çalışmamızda bu çalışmalarla uyumlu olarak, 25(OH)D vitamini takviyesinin, açlık kan glukoz seviyesi üzerine etkisi değerlendirilmiş, D vitamini alan T2DM ve HFD gruplarında, almayanlara oranla açlık kan glukoz seviyelerinde önemli bir azalma olduğu gözlenmiştir, T2DM grubumuzda

Vitamin D takviyesi %22, HFD grubumuzda ise %9 oranında bir azalma gözlenmiştir (Şekil 4.4).

Metaanaliz çalışmaları bulguları da, yapılan hayvan çalışmalarıyla paralellik göstermektedir. T2DM ve kontrol grubuna, Vitamin D takviyesi uygulanmış, D vitamini desteğinin diyabette kan glukozunda önemli bir azalmaya neden olduğunu gözlemlemişlerdir (Wenclewka, 2019 & Mirhosseini, Vatanperest, Mazidi, Kimball, 2018). Ayrıca, D vitamini takviyesinin serum FPG, HbA1c ve HOMA-IR indeksini önemli ölçüde azaltabildiği ve D vitaminin glisemik yanıtı kontrol etmeye ve insülin duyarlılığını geliştirmeye yardımcı olduğu bildirilmiştir (Mirhosseini, Rainsbury, Kimball, 2018). D vitamini antidiyabetik etkisi; hücre içi kalsiyum konsantrasyonunu ve insülin sekresyonunu arttırarak, proinsülinin insüline dönüşümünü kolaylaştıran, beta hücre kalsiyum bağımlı endopeptidazı aktive etmesi, insülin reseptörlerinin ekspresyonu ve/veya peroksizom proliferatör ile aktive edilmiş reseptör-delta (PPAR- δ) aktivasyonu ve lokal pankreatik renin-anjiyotensin aldosteronun sisteminin (RAAS) baskılanması ile açıklanabilmektedir (Abdel-Rehim, 2019).

Diyabetik hastalarda D vitamini düzeyleri düşük bulunmuştur (Scragg, Sowers, Bell, 2004). D vitamini eksikliğinin, hücre içi kalsiyum üzerindeki etkileri sayesinde insülin sekresyonunu ve duyarlılığını etkilediği ve hücre içi kalsiyumun sürekli yükselmesinin, insülin etkisi için gerekli olan hücre içi kalsiyum akışlarını inhibe edebileceği bildirilmiştir (Pittas, Lau, Hu, Dawson, 2007). Subakut ve kronik izlem yapılsaydı, T2DM ve HFD gruplarımızda Vitamin D düzeylerinin daha düşük gözlenebileceğini düşünmekteyiz (Şekil 5.0.) Bizim çalışma bulgularımıza göre, T2DM ve obezite modeli oluşturulmuş sıçanlarda, kontrol grubuna göre, 25(OH)D düzeyinde anlamlı bir azalma gözlenmemiş fakat vitamin D takviyesi uygulanmış olan grupta insülin düzeyinde anlamlı bir artma gözlenmiştir. Vitamin D'den fakir diyet ile beslenen hayvanların, pankreatik insülin sekresyonunda azalma ve glukoz intoleransının geliştiğini bildirmiş ve Vitamin D'nin endokrin pankreas için önemini işaret etmiştir (Bulangu, Boullion, Moor, 1984). Glikoz ve arginin ile 30 dakikalık perfüzyon sonrasında, D vitamini eksikliği olan sıçanların

pankreaslarında insülin sekresyonunda %48 azalma görülmüştür (Norman, Frankel, Heldt, Grodsky, 1980). İnsülin sekresyonunda bozulma olan D vitamini eksikliği olan tavşanlarda, D vitamini takviyesinin bu kusuru düzeltebileceği bildirilmiştir (Alvarez, Ashraf, 2010). Tip 2 diyabetik sıçanlarda sol ventrikül hipertrofisi (LVH) üzerinde D vitamininin etkisinin hedeflendiği bir çalışmada, Vitamin D takviyesi model gruba göre, insülin seviyesini anlamlı derecede arttırmış ve LVH'sini tersine çevirebilmiştir. Bu etkisinin, 1,25-(OH)₂D₃-reseptör ekspresyonu yoluyla insülin sekresyonunun uyarılmasını ve kan glukoz seviyesinin düşürülmesini kapsadığı bildirilmiştir (Fan, Zhang, Ren, Hong, Yan, 2015). Bizim kalp ağırlıkları bulgularımızda, Vitamin D takviyesi yapılan HFD grubunda, model gruba göre anlamlı bir azalma gözlemledik. Fakat aynı etkiyi, T2DM model grubu ve Vitamin D takviyesi yapılan grup arasında gözlemleyemedik (Şekil 4.2.).

Literatür bilgilerine göre; D vitamininin glikoz homeostazı üzerindeki potansiyel etkisi, spesifik D vitamini reseptörlerinin varlığı ile açıklanmıştır. Pankreas dokusunda bu reseptörlerin ve vitamin D-bağlayıcı proteinlerin (DBP) varlığı ve ayrıca VDR ve DBP genlerindeki glikoz toleransı ve insülin salgılanması ile bazı alelik varyasyonlar arasındaki ilişki bu hipotezi daha da desteklemiştir. Pankreatik β -hücreleri, Vitamin D reseptörü (VDR) eksprese eder, aynı zamanda 25 (OH) D₃ ile 1, 25-dihidroksivitamin D (1, 25 (OH) 2D₃) dönüşümünü katalize eden pivotal enzim 1 α -hidroksilazları da eksprese eder (Bland, 2004). D vitamininin yalnızca glukoz artışına bağlı insülin cevabını etkilediği bazal insülinemi üzerinde bir etkisinin olmadığı görülmektedir (Bourlon, Billaudel, Faure, 1999; Zeitz vd, 2003). Al-Sofiani ve ark., Tip 2 DM ve D vitamini eksikliği bulunan hastalara, D vitamini takviyesinin, serum D vitamini konsantrasyonlarını artırdığını ve β -hücresi aktivitesini arttırdığını bunun da D vitamininin insülin sekresyonunun ve duyarlılığının iyileştirilmesinde olası rolünün düşünüldüğünü belirtmişlerdir (Al-Sofiani, 2015).

Palomer ve arkadaşları, Tip 2 DM'deki D vitamini etki mekanizmasının sadece insülin sentezini ve salgılanmasını düzenleyen plazma kalsiyum

düzeylerinin düzenlenmesi yoluyla değil, aynı zamanda pankreatik hücre fonksiyonu üzerinde doğrudan bir etkiye de aracılık ettiği düşünülmektedir. Pankreatik β hücre fonksiyonunda D vitamininin rolünü destekleyen birçok kanıt bulunmaktadır. VDR genindeki genetik değişikliklerin en az dört farklı yolla Diabetes Mellitus'un gelişimine katkıda bulunabileceği önerilmektedir: Bunlar; kalsiyum metabolizmasında değişiklik, adiposit fonksiyonunun modülasyonu, insülin sekresyonunun modülasyonu ve sitokin ekspresyonunun modifikasyonu olarak bildirilmiştir (Palomer, Biance, Mauricio, 2008).

İnsülin direncine bağlı D vitamini değişikliklerine ilişkin veriler çelişkilidir. Deneysel veriler, D vitamininin glikoza bağlı insülin sekresyonu için önemli olduğunu, insülin direncini arttırdığını ve antiinflamatuvar etkiler oluşturduğunu göstermiştir. Epidemiyolojik çalışmaların çoğu, düşük D vitamini düzeyinin daha yüksek insülin direnci ve Tip 2 diyabet riski ile ilişkili olduğunu belgelemiştir (Upreti vd.,2018). Bununla birlikte, sağlıklı veya prediyabetik bireylerde randomize kontrollü çalışmaların çoğu da, insülin direnci veya diyabet insidansı arasında güçlü bir korelasyon gösterememiştir. Tip 2 diyabetli hastalarda, randomize kontrollü çalışmalarda, D vitamininin glisemik kontrol ve insülin direnci üzerindeki kısmi etkileri gösterilmiştir, fakat mevcut kanıtlar Tip 2 diyabetin önlenmesi veya tedavisi için D vitamini takviyesi önermek için yeterli bulunamamıştır (Pilz, 2013). Tip 2 diyabetli 60 hasta ve eşleştirilmiş 60 normal kontrol hastası araştırılmıştır. Bu çalışma, insüline dirençli tip 2 diyabetik ve normal kişilerde yaygın D vitamini eksikliğini göstermiştir. İnsülin direnci, D vitamini durumunu etkilememiştir (Al-Shoumer, Al-Asoosi, Ali, Nair, 2013).

D vitamininin, Sirtuin ve PPAR- γ seviyelerini arttırarak, insülin direncini azaltabileceği öngörülmüş, araştırmacılar bizim bulgularımızla uyumlu olarak, T2DM obez hastalarda, Vitamin D takviyesi yaparak, HbA1c seviyesinde önemli ölçüde azaldığını göstermişler fakat diğer glikoz indekslerindeki (FBS, insülin ve İD) değişiklikleri anlamlı olarak gözlemlememişlerdir (Safarpour, 2020).

D vitamini eksikliği hem T2DM'de hem de diyabetik olmayan kişilerde yaygındır. D vitamini eksikliği ile insülin direnci veya beta hücre fonksiyonu arasında bir ilişki bulunamamıştır (Fondjo,2017). Çalışmamızda da bu verilere uyumlu olarak, Vitamin D'nin insülin seviyesi ve açlık kan glukoz seviyeleri üzerine anlamlı etkileri saptanmış fakat insülin direnci üzerine anlamlı düzeyde bir etkisini gözlemlemedik.

Fakat Vitamin D'nin insülin direnci üzerine olumlu etkisinin bildirildiği çalışmalarda mevcuttur (Ulutaş, Taşkapan,Temel, 2013, Hu, Meigs, Li, Rifai, Manson, 2004& Scragg, Sowers, Bell, 2004). Hiperglisemi, hiperlipidemi ve inflamatuvar sitokinler diyabetteki oksidatif stresi artırıp, sirtuin 1 [SIRT1] seviyelerini azaltabileceği bildirilmiştir (Iyer, Panchal, Poudyal, Brown, 2009). SIRT1'in ekspresyonu ve aktivitesi, açlık, kalori kısıtlaması ve diyabet gibi bazı kronik hastalıklarda azalır. Buna göre, SIRT1 aktivasyonu glikoz indekslerini ve mitokondri fonksiyonunu iyileştirebileceği bildirilmiştir. Buna göre, SIRT1 aktivasyonu glikoz indekslerini ve mitokondri fonksiyonunu iyileştirebilir (Salminen, Kaarniranta, Kauppinen, 2013). Ek olarak, VD insan endoteli SIRT1 seviyesi artırabilir ve bu aktivite Hidrojen Peroksit tarafından aşağı regüle edilebilmektedir. VD'nin insülin duyarlılaştırıcı etkisinin muhtemelen SIRT1 ile ilişkili olduğu düşünülmektedir (Polidoro, 2013). İrisin bir miyokindir egzersizde enerji metabolizmasını düzenler ve insülin direncini artırır. Peroksizom Proliferatör-Aktif Reseptör koaktivatöre (PGC-la) cevap olarak salgılanır ve düşük irisin seviyeleri PGC-la'nın ekspresyonunu ve aktivasyonunu azaltır. Ayrıca, T2D hastaların serum irisin ve PGC-la düzeyleri düşüktür. Ayrı çalışmalara göre, Vitamin D'nin SIRT1 ve İrisini artırarak, insülin direncini azaltabileceği belirtilmiştir (Guilherme, Virbasius, Puri, Czech, 2008 & Binay, Paketçi, Güzel, Samancı, 2017). Düşük D vitamini düzeyi, bozulmuş glukoz metabolizması ile ilişkilendirilmiş ve VDR polimorfizminin GG genotipine sahip olanlarda insülin duyarlılığının azaldığı gösterilmiştir (Mayer, Seidlerova, 2018).

Araştırmalarda, düşük serum Vitamin D düzeyleri ile dislipidemi karşılaştırıldığında, lipid profilinin açıkça D vitamini durumunu yansıttığını ve yüksek 25(OH)D3 seviyelerinin HDL kolesterol üzerine olumlu arttırıcı etkilerinin olduğunu ve D vitamini seviyesinin, aterojenik dislipidemiyle ters ilişkili olduğunu ve D vitamininin, diyabetik hastaların, aterosklerotik profiline karşı bağımsız olarak koruyucu faktör olduğunu savunmuşlardır (Bellan,2014; Zittermann, 2009). Tip 2 diyabetli, 3788 hasta ile yapılan bir analizde, D vitamini eksikliği, düşük HDL düzeyi ile paralellik göstermiştir (Jiang, 2018). Başka bir meta-analiz çalışmasında, HDL düzeyinde, D vitamininin faydalı bir etkisi olduğunu destekler niteliktedir (Mirrhosseini, 2018). Bizim bulgularımızda, bu verilerle uyumlu olarak D vitamininin Tip 2 diyabette HDL üzerine olumlu etkisini desteklemektedir. Fakat, obezite modeli oluşturduğumuz grupta Vitamin D'nin HDL düzeyi arttırıcı etkisini gözlemleyemedik. Başka bir metaanaliz çalışmasında, D vitamininin T2D hastalarında TC, TG ve LDL serum düzeylerini düşürdüğünü, ancak serum HDL düzeylerini arttıramadığını göstermiştir (Jafari, Fallah, Barani, 2016). Yapılan bir çalışmada; D vitamini, İD ile bağlantılı bozulmuş metabolik parametreleri düzelttiği gözlenmiştir. D vitamininin oksidatif stresi azaltarak ve sonuçta metabolik parametreleri düzelterek, insulin direncine bağlı gelişen patolojileri düzeltebileceği görüşünü desteklemektedir (Wenclewka, 2019). Çalışmamızda, total kolesterol açısından bulgularımıza bakıldığında, kontrol grubu ve diğer gruplar arasında anlamlı artış gözlenmiş fakat bizim bu değerlerimiz, diğer çalışma verilerine göre normal aralık olarak bildirilmiştir. Bu verilerin, başka tür albino sıçanlar kullanılmasından (*Rattus norvegicus*) kaynaklı olabileceğini düşünmekteyiz (Ihedioha, 2013). T2DM grubunda anlamlı fark görülmemesine rağmen, HFD grubumuzda Vitamin D'nin total kolesterolü azaltıcı etkisini gözlemledik. Yapılan çalışmalarda, Alfakalsidiol, tek veya metformin ile kombine edildiğinde, kalsiyum ve fosfor seviyeleri üzerinde nötr bir etki ile glikoz homeostazı ve lipid profili parametrelerini önemli ölçüde iyileştirmiş ve D3 vitamini analoglarının, diyabetik sıçan modelinde glikoz parametrelerini ve lipid metabolizmasını düzenleyebileceği ve metformin ile kombinasyonunun ek koruyucu etkiler sağlayabileceği

belirtilmiştir (Abdel-Rehim, 2019). Bizim bulgularımızı destekler nitelikte olan bir başka çalışmada; visceral obeziteye sahip olan sıçanlarda Vitamin d takviyesi total kolesterol düzeyini düzeltmiştir (Chou, Pang, Lee, Fang, 2015).

Artan D vitamini seviyeleri ve VDR, TC, TG ve LDL-C ile negatif, HDL-C plazma seviyeleri ile pozitif korelasyon göstermiştir (Yosria, AlyAzza, AbdouMona, RashadMenatallah, 2016). Serum trigliseritlerde D vitamini aracılı azalma için olası mekanizmanın, D vitamininin bağırsak kalsiyum emilimini ve serum kalsiyumu arttırmasıdır. Bu kalsiyum daha sonra hepatik trigliserit oluşumunu ve salgılanmasını azaltarak serum trigliseritleri azaltabileceği savunulmuştur. Vitamin D'nin lipit profillerini iyileştirebileceği üç olası mekanizma bildirilmiştir: D vitamini kaynaklı PTH sekresyonunun baskılanması ve böylece lipolizde artış; D vitamini, hepatik trigliserit oluşumunu ve salgılanmasını azaltarak serum trigliserit düzeylerinde azalmaya yol açabileceği ve D vitamini, insülin sekresyonunu ve insülin duyarlılığını artırabileceği, böylece lipit metabolizmasını etkileyebileceği şeklindedir (Chaudhuri, 2013).

Çalışmamızda, serum trigliserit seviyeleri değerlendirilmiş fakat Vitamin D'nin olumlu bir etkisi gözlenmemiştir. D vitamininin lipid profili üzerine olumlu etkisinin gözlendiği araştırmalar, daha geniş çaplı ve çok fazla hasta sayıları ile gerçekleştirilmiş çalışmalar olup bu konuda denek sayısı, doz, süre gibi faktörlerin arttırıldığı deneysel çalışmalara ihtiyaç olduğu kanaatindeyiz.

Vitamin D'nin proinflamatuvar sitokinlerin yapımı ve etkilerini değiştirerek insülin duyarlılığını azaltıp sistemik inflamasyonu baskılayabileceği bildirilmiştir (Baeke, Takiishi, Korf, Gysemans, Mathieu, 2010). Diyabetli hastalarda sık görülen abdominal obezitedeki karın içi yağ dokusu, düşük seviyeli kronik inflamatuvar durumun önemli bir belirleyicisi olup buna bağlı olarak bu kişilerde IL-6, TNF- α ve CRP düzeylerinin arttığı gösterilmiş ve bu kronik inflamasyonun, insülin direnci ve obezite ile kardiyovasküler hastalıklar arasında ilişki olduğu gösterilmiştir (Yudkin, Stehouwer, Emeis, Coppack, 1999).

Yapılan bir çalışmada; obezite ile yükselmiş CRP düzeyi arasında belirgin bir ilişki saptanmış ve bunun da artmış yağ dokusu tarafından sentez edilen IL-6 düzeyi ile ilişkili olduğu öne sürülmüştür (Visser, Bouter, McQuillan, Wener, Harris, 1999). IL-6'nın serum konsantrasyonunun yüksek olması CRP seviyesini arttırabilir. BMI'in artışına paralel olarak artan CRP düzeyinin indirekt olarak IL-6 ve TNF- α gibi sitokinlerin serum konsantrasyonlarının artması ile ilişkili olabileceği belirtilmiştir (Das, Fanrs, 2001).

Çalışmamız bulguları; literatür bulguları ile uyumlu olarak, T2DM modeli oluşturulmuş sıçanlarda ve artmış proinflatuar sitokin düzeyleri tespit edilmiş fakat bu artış HFD grubunda gözlenlemedik. 25 (OH) D vitamini takviyesinin T2DM modelinde TNF- α ve IL-6 düzeyleri üzerine azaltıcı etkilerini bulduk.

Adiponektin atreoskleroz ve insülin direnci üzerine düzeltici etkilerinin bildirildiği çalışmalar mevcuttur (Maeda, 2002). Maymunlarda obezite ve yaşlılıkla ilişkili olarak insülin direnci gelişirken adiponektin seviyelerinde azalma gözlenmiştir (Hotta, 2001). Çalışmamızda, T2DM ve obezite modeli oluşturulmuş sıçanlarda, adiponektin seviyelerinin anlamlı düzeyde azaldığını, bu azalısın Vitamin d alan T2DM grupta anlamlı şekilde arttırdığını, vitamin d alan hfd grubunda ise anlamlı bir fark gözlenmemiştir. Bulgularımız la uyumlu olarak, Yüksek adiponektin seviyesi olan bireylerde, Tip 2 diyabet gelişme riskinin adiponektin seviyeleri düşük olan kişilerden daha az olduğunu bildirmişlerdir (Spranger, 2003). Higashiura K ve arkadaşlarına göre, İnsülin direnci ve yüksek duyarlıklı CRP arttıkça adiponektin seviyeleri azalmaktadır (Higashiura,2004). TNF- α ve IL-6'nın insülin direnciyle olan ilişkisini adiponektin üzerinden gerçekleştirdiği ileri sürülmüştür (Guerre-Millo, 2004). Çalışmamızda, TNF- α ve IL-6 düzeylerinin adiponektin düzeyi ile paralellik göstermesi, insülin direncini ile adiponektin arasındaki korelasyonu doğrulamaktadır.

Apelin anti-inflatuar ve anti-ateromatöz özellikli bir adipokindir (Leeper vd, 2009; Yao, Lv, Zhang, 2015). Apelin, AMPK bağlı olarak glikoz alımını artırır ve lipolizi baskılar. Apelin eksik fareler yüksek yağlı diyet (HFD) beslenmesini takiben İD gösterir. Bu apelinin glikoz homeostazisi ve insülin

hassasiyetini artırdığını göstermektedir. Apelin, obez kişilerde inflamatuvar cevaplara da katılır. Apelin düzeyi, TNF- α ile pozitif bağlantılıdır (Kwon,2013). Apelinin kardiyovasküler fizyopatolojik süreçlerle ilişkili olduğu bildirilmiştir. Hatta Apelinin terapötik uygulmasının, kardiyak fonksiyon, hiperglisemi, insülin direnci, dislipidemi, endotel fonksiyonu, inflamasyon ve glukoz metabolizması üzerine tip 2 diyabetik sıçanlarda olumlu etkileri gösterilmiştir (Falcao-Pres,2010). Çalışmalarda apelin ve T2DM arasındaki ilişki belirtilmiş olmasına rağmen, çalışmamızda T2DM ve HFD grupları arasında bir ilişki gözlenmemiştir.

Vitamin D takviyesi ile protein glikasyonunu önlemede önemli rol oynadığı gösterilmiştir (Iqbal, Alam, Naseel, 2016). Kalsitriol, RAGE ve fibroz üzerindeki diyabetik etkileri azalttığı gözlenmiştir (Lee, 2014). Araştırmacılar, diyabet ve kalp hastalıklarında, Vitamin'D nin AGE ilişkili hasarı kontrol etmede yararını ortaya koymuşlardır (Beltowski, 2006). Fakat çalışmamızda immunohistokimyasal yöntem ile koroner, karotis ve renal arterlerde AGE (CML) oluşumunu tespit edemedik. Deney süremiz AGE oluşumlarını damarlarda tespit edebilmek için yetersiz kalmıştır.

Diyabetik hastaların uzun süreli yüksek kan glukoz konsantrasyonlarına maruz kalmaları oksidatif stresi arttırabilir. Çalışmamızda, obezite modelinde OSI anlamlı derecede arttığını Vitamin D takviyesi ile HFD grubunda oksidatif stres indeksini azaltmıştır. Benzer çalışmalar, HFD grubunda Vitamin d takviyesinin sıçanlarda glutatyon peroksidaz, superoksid dismutaz ve malondialdehid seviyelerini azalttığını göstermiştir (Hajiluiani,Farhangi, Nameni, Shahabi,Abbasi, 2017).

Beta hücrelerindeki fonksiyon bozuklukları yüksek miktarda glukozu uzun süre maruziyet, artan serbest yağ asidi düzeyleri veya bu faktörlerin her ikisinin birlikte etkisiyle meydana gelebildiği ve Beta hücrelerinin katalaz, glutatyon peroksidaz, süperoksit dismutaz gibi antioksidan enzimleri az miktarda içerdiklerinden ROT ne daha duyarlı oldukları bildirilmiştir (Tiedge, Lortz, Drinkgern, Lenzen, 1997, Evans, Goldfine, Maddux, Grodsky, 2003). Bu nedenle, oksidatif stresin mitokondride hasar yapması ve insülin salınımını

belirgin olarak azalttığı savunulmuştur (Drews, Krippeit, Düfer, 2010). Çalışmamızda ise, Vitamin D takviyesi alan ve almayan T2DM grupları karşılaştırıldığında, anlamlı bir fark gözlenememiştir.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

T2DM modeli uygulanmasında, HFD ve STZ açısından pankreasta β -hücrelerini ne ölçüde yapısal ve fonksiyonel dejenerasyona uğrattığı farklı tekniklerle standardize edilebilirse salt kan glukozu ve insülin gibi parametrelerin yanında hastalığı modelleme açısından daha sonraki çalışmalarda sebep sonuç parametrelerini daha iyi değerlendirebileceği kanaatindeyiz.

Çalışmamızda, Vitamin D takviyesinin kan glukozu ve insülin seviyeleri üzerine iyileştirici etkilerinin olması, Vitamin D'nin T2DM'da uygulanan antihiperglisemik ilaçların etkilerini arttırabilecek önemli bir adjuvan takviye olabileceği düşüncemizi kuvvetlendirmiştir.

Daha sonra yapılacak olan çalışmalarda, ileri glikasyon ürünleri oluşumunun damarlarda gözlenebilmesi için oluşturulacak modellerde, 20 haftalık bir deney aşamasının daha anlamlı olabileceğini düşünmekteyiz.

Vitamin D'nin depresyon, kemik sağlığı, kanser, solunum enfeksiyonları faydasının yanında çalışmamız, pre-T2DM ve T2DM'da Vitamin D takviyesinin önemini vurgulamaktadır.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Abdel-Rehim, W., El-Tahan, R. El-Tarawy, M., Shehata, R., Kamel, M. (2019). The possible antidiabetic effects of vitamin D receptors agonist in rat model of type 2 diabetes, *Molecular and Cellular Biochemistry* (2019) 450:105–112
<https://doi.org/10.1007/s11010-018-3377-x>
- Abiru, N., Kawasaki, E., Eguch, K. (2002). Current knowledge of Japanese type 1 diabetic syndrome. *Diabetes Metab Res Rev*, 18:356-66.
- Adler, AI., Stevens, RJ., Manley, SE., Bilous, RW., Cull, CA., Holman, (2003). Development and progression of nephropathy in T2DM: the United Kingdom Prospective Diabetes Study. (UKPDS 64). *Kidney Int.* 63:225–232. doi: 10.1046/j.1523-1755.2003.00712.x PMID: 12472787.
- Al-Shoumer, KA., Al-Asoosi, AA., Ali AH., Nair, VS. (2013). Does insulin resistance in type 2 diabetes alter vitamin D status?, *Prim Care Diabetes* Dec;7(4):283-7. doi: 10.1016/j.pcd.2013.04.008. Epub 2013 May 17.
- Al-Sofiani, M., Jammah, A., Racz, R., Khawaja, R. Hasanato, H., El-Fawal, H. (2015). Effect of vitamin D supplementation on glucose control and inflammatory response in Type II Diabetes: a double blind, randomized clinical trial, *Int J Endocrinol Metab*, 13 (2015), pp. 1-14.
- Altan, N., Dinçel, A., Koca, C. (2006). Diabetes mellitus ve oksidatif stres. *Turkish Journal of Biochemistry*, 31 (2); 51–56.
- Altuntaş, Y., (2001). Tip 2 Diabetes Mellitus'un Patogenezi. Her Yönüyle Diabetes Mellitus. Doç. Dr. Mustafa Yenigün (ed). İstanbul Nobel Tıp Kitapları Ltd. Sti., 219-36.
- Alvarez, A., Ashraf, A. (2010). Role of vitamin D in insulin secretion and insulin sensitivity for glucose homeostasis, *Int J Endocrinol*, pp. 1-18. American Diabetes Association (2010). *Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus*, *Diabetes Care*;33:62-6
- Antuna-Puente, B., Fève, B., Fellahi, S., Bastard, J. (2008). Adipokines: the missing link between insulin resistance and obesity. *Diabetes and Metabolism*, 34(1), 2-11.
- Antunes, LC., Elkfury, JL., Jornada, MN., Foletto, KC., Bertoluci, MC. (2016). Validation of HOMA-IR in a model of insulin-resistance induced by a high-fat diet in Wistar rats. *Arch Endocrinol Metab.* 2016 Apr;60(2):138-42. doi: 10.1590/2359-3997000000169.
- Anwar, M., Hussain, M., Khan, M., Ahmad, T. (2013). Effect of cholecalciferol and levo carnitine on plasma glucose, plasma insulin and insulin resistance in type 2 diabetic rats, *V Pak Med Assoc*, Vol 63, No 3, March 2013.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam ediyor)

- Baeke, F., Takiishi, T., Korf, H., Gysemans, C., Mathieu, C. (2010). Vitamin D: modulator of the immune system, *Curr Opin Pharmacol.*, 10(4):482-96. doi: 10.1016/j.coph.2010.04.001. Epub 2010 Apr 27.
- Balkan, B., Eschwege, E. (2003). The diagnosis and classification of diabetes and impaired glucose regulation, In: Pick up JC, Williams G, eds. *Textbook of Diabetes*. 3rd ed. Vol. I. Massachusetts, Oxford, Victoria, Berlin, Turin: Blackwell Sci. Ch. 2.1-2.13.
- Baytekin, Ö. (2009). Bozulmuş Açlık Glukozu, Bozulmuş Glukoz Toleransı ve Tip 2 diabetes mellitus olgularında chemerin, vaspin ve hsCRP düzeyleri, *Uzmanlık Tezi, Taksim Eğitim ve Araştırma Hastanesi, İstanbul*.
- Bellan, M., Guzzaloni, G., Rinaldi, M., Merlotti, E., Ferrari, C., Tagliaferri, A. (2014). Altered glucose metabolism rather than naive type 2 diabetes mellitus (T2DM) is related to vitamin D status in severe obesity *Cardiovasc Diabetol*, 13 (2014), pp. 1-10
- Beltowski, J., (2006). Apelin and visfatin: Unique "beneficial" adipokines upregulated in obesity?. *Medical Science Monitor*, 12(6): s112-119.
- Bjorntrop, P., Rosmond, R. (2000). Obesity and cortisol. *Nutrition*, 16:924-36.
- Bland, R., Markovic, D., Hills, C., Hughes, S., Chan, S., Squires, P. (2004). Expression of 25-hydroxyvitamin D3-1 α -hydroxylase in pancreatic islets, *J Steroid Biochem Mol Biol*, 89 (2004), pp. 121-125.
- Boucher, J., Masri, B., Daviaud, D., Gesta, S., Guigne, C., Mazzucotelli, A., Castan-Laurell, I., Tack, I., Knibiehler, B., Carpenne, C., Audigier, Y., Saulnier-Blache, JS., Valet, P. (2005). Apelin, a newly identified adipokine up-regulated by insulin and obesity. *Endocrinology*, 146(4): 1764-1771.
- Bourlon, P.M., Billaudel, B., Faure, A., (1999). Influence of vitamin D3 deficiency and 1,25 dihydroxy vitamin D3 on de novo insulin biosynthesis in the islets of the rat endocrine pancreas. *J Endocrinol*, 160; 87–95.
- Brailoiu, GC., Dun, SL., Yang, J., Ohsawa, M., Chang, JK., Dun, NJ. (2002). Apelin-immunoreactivity in the rat hypothalamus and pituitary. *Neuroscience Letters*, 327(3): 193-197.
- Brownlee, M. (2001). Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. *Nature* 414(6865), 813-820.
- Bukan, N., Sancak, B., Bilgihan, A., Kosova, F., Buğdaycı, G., Altan, N. (2004). The effects of the sulfonylurea glyburide on glutathione peroxidase, superoxide dismutase and catalase activities in the heart tissue of streptozotocin-induced diabetic rat. *Methods and Findings in Experimental and Clinical Pharmacology* 26(7), 519-22.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam ediyor)

- Bulangu, N., Bouillon, R., Moor, P. (1984). Influence of Vitamin D Status on Insulin Secretion and Glucose Tolerance in the Rabbit, *Endocrinology*, Volume 115, Issue 1, 191–197.
- Burtis, CA., Ashwood, ER. (2001). Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry 5th ed. Philadelphia: WB Saunders.
- Castan-Laurell, I., Boucher, J., Dray, C., Daviaud, D., Guigne, C., Valet, P. (2005). Apelin, a novel adipokine over-produced in obesity: Friend or foe?. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 245 7–9.
- Chaudhuri, J., Mridula, K. Anamika, A., Boddu, B., Misra, P., Lingaiah, A. (2013). Deficiency of 25-hydroxyvitamin D and dyslipidemia in Indian subjects *J Lipids*, pp. 1-7
- Chong, K.S., Gardner, R.S., Morton, J.J., Ashley, E.A., McDonagh, T.A. (2006). Plasma concentrations of the novel peptide apelin are decreased in patients with chronic heart failure. *Eur J Heart Fail*, 8, 355–360.
- Chou CL., Pang, CY., Lee, TJ., Fang, TC. (2015). Beneficial effects of calcitriol on hypertension, glucose intolerance, impairment of endothelium-dependent vascular relaxation, and visceral adiposity in fructose-fed hypertensive rats.
- Coşansu, G. (2015). Verilerle Türkiye ve Dünyada Diyabet, İstanbul Üniversitesi Diyabet Hemşireliği Derneği. www.tdhd.org
- Crook, MA., Tutt, P., Pickup, JC. (1993). Elevated serum sialic acid concentration in NIDDM and its relationship to blood pressure and retinopathy. *Diabetes care*;16:57-60
- Dandona, P., Weinstock, R., Thusu, K., Abdel-Rahman, E., Aljada, A., Wadden, T. (1998). Tumor necrosis factor- α in sera of obese patients: fall with weight loss. *Int J Clin Endocrinol Metab*; 83(8):2907-10
- Das, K., Chainy, GBN. (2001). Modulation of rat liver mitochondrial antioxidant defense system by thyroid hormone. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease* 1537(1), 1-13.
- Das, UN., Fanrs, MD. (2001). Is obesity inflammatory condition? *Nutrition*;17: 953-966.
- Davoudi, S., Sobrin, L. (2015). Novel Genetic Actors of Diabetes Associated Microvascular Complications: Retinopathy, Kidney Disease and Neuropathy. *Rev Diabet Stud*. 2015; 12(3- 4): 243-259.
- Del Prato, S., Leonetti, E., Simonson, DC., Sheehen, P., Matsuda, M., DeFronzo, RA. (1994). Effect of sustained physiologic hyperinsulinemia and hyperglycemia on secretion and insulin sensitivity in man. *Diabetologia*;37:1025-35.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam ediyor)

- Demirel, Y.,Yıldıran, H. (2018). İleri Glikasyon Son ürünleri ve Böbrek Hastalıkları. Gümüşhane Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi ,7(1):210-217.
- Derakhshanian, H., Djalali, M., Javanbakht, H., Alvandi, E., Eshraghian, M., Mirshafiey, A., Nadimi, H., Jahanabadi, S., Zarei, M., Djazayery, A. (2019). Vitamin D suppresses cellular pathways of diabetes complication in liver. [IranJBasic Med Sci.](#) 2019 Jun;22(6):690-694. doi: 10.22038/ijbms.2019.36054.8584.
- Derakhshanian, H., Djazayery, A., Javanbakht, MH., Eshraghian, MR., Mirshafiey, A., Jahanabadi, S., Ghadbeigi, S., Zarei, M., Alvandi, E., Djalali, M. (2019). Vitamin D downregulates key genes of diabetes complications in cardiomyocyte, J Cell Physiol. 2019 Nov;234(11):21352-21358. doi: 10.1002/jcp.28743. Epub 2019 Jun 7.
- de Souza Santos, R., Vianna, LM. (2005). Effect of cholecalciferol supplementation on blood glucose in an experimental model of type 2 diabetes mellitus in spontaneously hypertensive rats and Wistar rats. Clin Chim Acta 358:146–50.
- Devendra, D., Liu, E., Eisenbarth, GS. (2004). Type 1 diabetes:recent developments. British Medical Journal, 328:750-4.
- Diyabet Tanı ve Tedavi Rehberi (2019).
- Dray,C., Knauf, C., Daviaud, D., Waget, A., Boucher, J., Buleon, M., Cani, PD., Attane, C., Guigne, C., Carpenne, C., Burcelin, R., Castan-Laurell, I., Valet, P. (2008). Apelin Stimulates Glucose Utilization in Normal and Obese Insulin-Resistant Mice. Cell Metabolism, 8(5): 437-445.
- Drews G, Krippeit-Drews P, Düfer M. Oxidative stress and beta-cell dysfunction. Eur J Physiol. 2010; 460(4): 703–718. Pflugers Arch. 2010; 460(4): 703-718.
- Earthman,P., Beckman,M., Masodkar,K., Sibley,D.(2012).The link between obesity and low circulating 25-hydroxyvitamin D concentrations: considerations and implications, Int J Obes. 36(3):387-96. doi: 10.1038/ijo.2011.119.
- Fan, Y., Zhang, SX., Ren, M., Hong, LF., Yan, XN. (2015).Impact of 1, 25-(OH)2D3 on Left Ventricular Hypertrophy in Type 2 Diabetic Rats, Chin Med Sci J. 2015 Jun;30(2):114-20.
- Festa, A., D’Agostino, R.(2000). Chronic subclinical inflammation as part of the insulin resistance syndrome 102:42-7
- Fondjo, L., Owiredo, W. Sakyi, S., Edwin, L., Adotey-Kwofie, M., Antoh, E., Detoh, E. (2017). Vitamin D status and its association withinsulin resistance among type 2 diabetics: Acase -control study in Ghana, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0175388> April 19, 2017.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam ediyor)

- Foresta,C., Bordon, P., Rossato, M., Mioni, R., Veldhuis, JD. (1997). Specific linkages among luteinizing hormone, follicle-stimulating hormone, and testosterone release in the peripheral blood and human spermatic vein: Evidence for both positive (feed-forward) and negative (feedback) within-axis regulation. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 82(9): 3040-3046.
- Freeman, DJ., Norrie, J., Caslake, MJ., Gaw, A., Ford, I., Lowe, GD.(2002). C-reactive protein is an independent predictor of risk for the development of diabetes. *Diabetes*; 51:1596-600.
- Ghasemi, A., Jeddi, S. (2017). Anti-obesity and anti-diabetic effects of nitrate and nitrite,Nitric Oxidehttp://dx.doi.org/10.1016/j.niox.2017.08.003.
- Giardino, I., Edelstein, D., Brownlee, M. (1996). Bcl-2 expression or antioxidants prevent hyperglycemia-induced formation of intracellular advanced glycation end products in bovine endothelial cells. *The Journal of Clinical Investigation* 97(6), 1422-1428
- Gillery, P., Monboisse, JC., Maquart, FX., Borel, JP. (1988). Glycation of proteins as a source of superoxide. *Diabetes* 14(1), 1114- 1120.
- Gimble, JM. (2003). Adipose tissue-derived therapeutics. *Expert Opin Biol Ther*, 3: 705-713.
- Giugliano, D., Ceriello, A., Paolisso, G. (1995) Diabetes mellitus, hypertension and cardiovascular diseases: which role for oxidative stress? *Metabolism*, 44: 363–368.
- Green, K., Brand, MD., Murphy, MP. (2004). Prevention of mitochondrial oxidative damage as a therapeutic strategy in diabetes. *Diabetes* 53 (Supplement 1), 110-118.
- Goodarzi, M.O., Dumesic, D.A., Chazenbalk, G., Azziz, R. (2011). Polycystic Ovary Syndrome Etiology, Pathogenesis and Diagnosis*Nat RevEndocrinol* 7, 219-231.
- Guerre-Millo,M., Adipose tissue and adipokines: for better or worse. (2004). *Diabetes Metab.*;30(1):13-9.
- Gugliucci, A. (1994). Advanced glycation of rat liver histone octamers:an in vitro study. *Biochem Biophys Res Commun*. 1994;203:588-593.
- Gugliucci, A., Bendaya, M. (1996). Renal fate of circulating advanced glycated end products : evidence for reabsorbtion and catabolism of LMW-AGE peptides by renal proximal tubular cells. *Diabetologia* ;39:149-160

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam ediyor)

- Hajiluiani, G., Farhangi, M., Nameni, G., Shahabi, P., Abbasi, M. (2017). Oxidative stress-induced cognitive impairment in obesity can be reversed by vitamin D administration in rats, *Nutritional Neuroscience*, <https://doi.org/10.1080/1028415X.2017.1348436>
- Higashiura, K., Ura, N., Ohata, J., Togashi, N., Takagi, S., Saitoh, S., Murakami, H., Takagawa, Y., Shimamoto, K. (2004). Correlations of adiponectin level with insulin resistance and atherosclerosis in Japanese male populations, *Clin Endocrinol (Oxf)* ;61(6):753.
- Hotamisligil, GS., Shargill, NS., Spiegelman, BM. (1993). Adipose Expression of Tumor Necrosis Factor- α : Direct Role in Obesity-Linked Insulin Resistance. *Science* 1993; 259(5091):87-91.
- Hotta, K., Funahashi, T., Bodkin, N., Ortmeier, H., Arita, Y., Hansen, B., Matsuzawa, Y., Circulating concentrations of the adipocyte protein adiponectin are decreased in parallel with reduced insulin sensitivity during the progression to type 2 diabetes in rhesus monkeys, *Diabetes*. 2001 May;50(5):1126-33
- Hu, F.B., Meigs, J.B., Li, T.Y., Rifai, N., Manson, J.E. (2004). Inflammatory markers and risk of developing type 2 diabetes in women. *Diabetes*, 53; 693–700.
- Hube, F., Birgel, M., Lee, Y.M., Hauner, H. (1999). Expression pattern of tumour necrosis factor receptors in subcutaneous and omental human adipose tissue: role of obesity and non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Eur J Clin Invest*, 29(8), 672-678.
- Ihara, Y., Toyokuni, S., Uchida, K., Odaka, H., Tanaka, T., Ikeda, H., Hiani, H., Seino, Y., Yamada, Y. (1999). Hyperglycemia causes oxidative stress in pancreatic β cells of GK rats, a model of type 2 diabetes. *Diabetes* 48(4), 927-932.
- Ihedioha, J., Noel-Uneke, O., Ihedioha, T. (2011). Reference values for the serum lipid profile of albino rats (*Rattus norvegicus*) of varied ages and sexes, *Comparative Clinical Pathology* volume 22, s93–99.
- International Diabetes Federation. *Diabetes Atlas*. 6th edition. (2013) . <http://www.idf.org/diabetesatlas>.
- Iqbal, S., Alam, M., Naseer, I. (2016). Vitamin D prevents glycation of proteins: an in vitro study, *FEBS Lett.*, 590(16):2725-36. doi: 10.1002/1873-3468.12278.
- Ishii, H., Suzuki, H., Baba, T., Nakamura, K., Watanabe, T. (2001). Seasonal variation of glycemic control in type 2 diabetic patients (letter). *Diabetes Care*, 24; 1503.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam ediyor)

- Iyer, A., Panchal, S., Poudyal, H., Brown, L. (2009). Potential health benefits of Indian spices in the symptoms of the metabolic syndrome: a review.
- İmamoğlu, Ş., Ersoy, C., (2009). Diabetes Mellitus Multidisipliner Yaklaşımla Tanı, Tedavi ve İzlem.
- Jafari, T., Fallah, AA., Barani, A. (2016). Effects of vitamin D on serum lipid profile in patients with type 2 diabetes: A meta-analysis of randomized controlled trials, Clin Nutr. 2016 Dec;35(6):1259-1268. doi: 10.1016/j.clnu.2016.03.001. Epub 2016 Mar 15.
- Jain, SK. (1989). Hyperglycemia can cause membrane lipid peroxidation and osmotic fragility in human red blood cells. J Biol Chem., 264 (35): 21340–21345.
- Japp, A.G., Cruden, N.L., Barnes, G. (2010). Acute cardiovascular effects of apelin in humans: potential role in patients with chronic heart failure. Circulation, 121 1818–1827.
- Jiang, J., Dutta, S. (2017).Global health:Diabetes Mellitus: monitoring complications, doi: 10.2210/rcsb_pdb/GH/DM/monitoring/complications.
- Jiang, X., Peng, M., Chen, S., Wu, S., Zhang, W. (2018). Vitamin D deficiency is associated with dyslipidemia: A cross-sectional study in 3.788 subjects. Curr. Med. Res. Opin. 27, 1–10.
- Johansen, JS., Harris, AK., Rychly, DJ., Ergul, A. (2005). Oxidative stress and the use of antioxidants in diabetes: linking basic science to clinical practice. Cardiovasc Diabetol.; 4:5.
- Kern, PA., Saghizadeh, M., Ong, JM., Bosch, RJ., Deem, R., Simsolo, RB. (1995). The expression of tumor necrosis factor in human adipose tissue. Regulation by obesity, weight loss, and relationship to lipoprotein lipase. The J Clin Invest; 95(5):2111.
- Khan, A., Petropoulos, IN., Ponirakis, G., Malik, RA. (2017). Visual complications in diabetes mellitus: beyond retinopathy. Diabet Med., 34(4): 478-484.
- Kowluru, RA., Chan, PS. (2007). Oxidative stress and diabetic retinopathy. Exp Diabetes Res., 2007: 43603-43615.
- Koya, D., King, GL. (1998). Protein kinase C activation and the development of diabetic complications. Diabetes 47(6), 859-66.
- Kwon, H., Pessin, J. (2013). Adipokines mediate inflammation and insulin resistance, Frontiers in Endocrinology. 4, 1-13.
- Lam, TK., van de Werve, G., Giacca, A. (2003). Free fatty acids increase basal hepatic glucose production and induce hepatic insulin resistance at different sites. Am J Physiol Endocrinol Metab, 284:E281-90.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam ediyor)

- Lebovitz, HE. (2004). Diabetes Mellitus ve ilgili sorunların tedavisi. Ed: Salman İ4. Baskı. İstanbul: Sigma.
- Lee, DK., George, SR., O'Dowd, BF. (2006). Unravelling the roles of the apelin system: prospective therapeutic applications in heart failure and obesity. *Trends in Pharmacological Sciences*, 27(4):190-4.
- Lee, T., Kao, Y., Lee, T., Chang, C., Lien, G., Chen, J. (2014). Calcitriol modulates receptor for advanced glycation end products (RAGE) in diabetic hearts, *Int J Cardiol.*, 173(2):236-41. doi: 10.1016/j.ijcard.2014.02.041.
- Leeper, N., Tedesco, M., Kojima, Y. (2009). Apelin prevents aortic aneurysm formation by inhibiting macrophage inflammation. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.*, 296 (5)1329–1335.
- Maeda, N., Shimomura, I., Kishida, K., Nishizawa, H., Matsuda, M., Nagaretani, H., Furuyama, N., Kondo, H., Takahashi, M., Arita, Y., Komuro, R., Ouchi, N., Kihara, S., Tochino, Y., Okutomi, K., Horie, M., Takeda, S., Aoyama, T., Funahashi, T., Matsuzawa, Y. (2002). Diet-induced insulin resistance in mice lacking adiponectin/ACRP30. *Nat Med.*, 8(7):731- 7.
- Mandal LK, Choudhuri S, Dutta D, Mitra B, Kundu S, Chowdhury IH, Sen A, Chatterjee M, Bhattacharya B. Oxidative stress-associated neuroretinal dysfunction and nitrosative stress in diabetic retinopathy. *Can J Diabetes*. 2013; 37(6): 401-407.
- Maritim, AC., Sanders, RA., Watkins, JB. (2003). Diabetes, oxidative stress and antioxidants: Review. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology* 17(1), 4-38.
- Matough, FA., Budin, SB., Hamid, ZA., Alwahaibi, N., Mohamed, J. (2012). The role of oxidative stress and antioxidants in diabetic complications. *Sultan Qaboos Univ Med J*, 12(1): 5-18.
- Mayer, O., Seidlerová, J., Černá, V., Kučerová, A., Karnosová, P., Hronová, M., Wohlfahrt, P., Fuchsová, R., Filipovský, J., Cífková, R., Topolčan, O., Pešta, M. (2018). Serum Vitamin D Status, Vitamin D Receptor Polymorphism, and Glucose Homeostasis in Healthy Subjects. *Horm Metab Res*. 2018 Jan; 50(1):56-64. doi: 10.1055/s-0043-122144.
- Mirhosseini, N.; Rainsbury, J.; Kimball, S.M. (2018). Vitamin D Supplementation. Serum 25 (OH)D Concentrations and Cardiovascular Disease Risk Factors: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Front. Cardiovasc. Med.*, 5, 87.
- Mirhosseini, N., Vatanparast, H., Mazidi, M., Kimball, SM. (2018). Vitamin D Supplementation glycemic control and insulin resistance in prediabetics: A Meta analysis. *J Endocr. Soc*. 25;2(7):687-709. doi:10.1210./js.2017-00472. eCollection 2018 Jul 1.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam ediyor)

- Neelankal,J., Jiang,F. (2018). An overview of type 2 diabetes and importance of vitamin D3-vitamin D receptor interaction in pancreatic β -cells. J.DiabetesComplications.Apr;32(4):429-443. doi: 10.1016/j.jdiacomp.2017.12.002. Epub 2017 Dec 14
- Nicoletto, B., Krolikowski, T., Crispim, D., Canani, H. (2016). Serum and Urinary Progranulin in Diabetic Kidney Disease, PLOS ONE DOI:10.1371/journal.pone.0165177.
- Norman, Aw., Frankel, Jb., Heldt, Am., Grodsky, Gm. (1980). Vitamin d deficiency inhibits pancreatic secretion of insulin. science,15;209(4458):823-5.
- Oto, A., Kepez, A. (2005). İnsülin Direncinin Patofizyolojik Temelleri ve Kardiyovasküler Hastalıklarla İlişkisi. Türk Kardiyoloji Seminerleri, 5: 192-208.
- Owusu, J., Huffman, F., Li, T, Narayanan,V. (2019). *Current Developments in Nutrition*, Volume 3, Issue Supplement_1, June 2019, nzz049.FS12-08-19, <https://doi.org/10.1093/cdn/nzz049.FS12-08-19>.
- Özdemir, İ., Hocaoglu, Ç. (2009). Tip 2 diabetes mellitus ve yaşam kalitesi: Bir gözden geçirme. Göztepe Tıp Dergisi 24 (2):73-78.
- Palomer, X., Gonzolez,M., Bianco, F., Mauricio, D. (2008).Role of vitamin D in the pathogenesis of type 2 diabetes Mellitus, Diabetes Obes Metab, 10 , pp. 185-190.
- Pasceri, V., Willerson, JT., Yeh, ET. (2000). Direct proinflammatory effect of C-reactive protein on human endothelial cells. Circulation; 102:2165-8.
- Paternain, L., de la Garza, AL., Batlle, MA., Milagro, FI., Martinez, JA., Campion, J. (2012). Prenatal stress increases the obesogenic effects of a high-fat-sucrose diet in adult rats in a sex-specific manner. Stress,16(2):220-32.doi: 10.3109/10253890.2012.707708.
- Pickup, JC., Mattock, MB., Chusney, GD. (1997). NIDDM as a disease of the innate immune system: association of acute-phase reactans and interleukin-6 with metabolic syndrome X.Diabetologica, 40:1286-92 40-
- Pilz, S.,Kienreich, K., Rutters, F., de Jongh, R., van Ballegooijen, AJ., Grubler, M., Tomaschitz, A., Dekker, JM. (2013). Role of vitamin D in the development of insulin resistance and type 2 diabetes.Curr Diab Rep. 2013 Apr;13(2):261-70. doi: 10.1007/s11892-012-0358-4.
- Pittas, A., Lau, J., Hu, F., Dawson, B. (2007). Review: the role of vitamin D and calcium in type 2 diabetes. a systematic review and meta-analysis. J Clin Endocrinol Metab, 92 (6); 2017–2029.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam ediyor)

- Podell, B., Ackart, D., Richardson, M., DiLisio, J., Pulford, B., Basaraba, R. (2017). A model of type 2 diabetes in the guinea pig using sequential diet-induced glucose intolerance and streptozotocin treatment, *Dis. Model Mech.* 10 (2) 151–162, <http://dx.doi.org/10.1242/dmm.025593>.
- Polidoro, L., Properzi, G., Marampon, F., Gravina, G., Festuccia, C., Di Cesare, E. (2013). Vitamin D protects human endothelial cells from H₂O₂ oxidant injury through the Mek/Erk-Sirt1 axis activation. *J Cardiovasc Transl Res.*;6(2):221–31
- Prasad, K., Tiwari, S. (2017). Therapeutic Interventions for Advanced Glycation-End Products and its Receptor-Mediated Cardiovascular Disease., *Curr Pharm Des.*, 23(6):937-943. doi:10.2174/1381612822666161006143032.
- Reaux, A., Gallatz, K., Palkovits, M., Llorens-Cortes, C. (2002). Distribution of apelin-synthesizing neurons in the adult rat brain. *Neuroscience*; 113(3): 653-662.
- Reed, M., Meszaros, K., Entes, L., Claypool, M., Ankett, J., Gadbois, T., Reaven, G. (2000). A new rat model of type 2 diabetes: The fat-fed, streptozotocin-treated rat, *Metabolism*, 49;11,1390-1394.
- Sabry, R., El Wakeel, MA., El-Kassas, GM., Amer, AF., El Batal, WH., El-Zayat, SR., Abou-El-Asrar, M. (2018). Serum Apelin: A New Marker of Early Atherosclerosis in Children with Type 1 Diabetes Mellitus. *J Med Sci.*;6(4):613-617. doi: 10.3889/oamjms.2018.144.
- Sadek, K., Shaheen, H. (2014). Biochemical efficacy of vitamin D in ameliorating endocrine and metabolic disorders in diabetic rats, *Pharm Biol*, 2014; 52(5): 591–596.
- Safarpour, P., Daneshi-Maskooni, M., Vafa, M., Nourbakhsh, M., Janani, L., Maddah, M., Mohammadi, F., Sadeghi, H. (2020). Vitamin D supplementation improves SIRT1, Irisin, and glucose indices in overweight or obese type 2 diabetic patients: a double-blind randomized placebo-controlled clinical trial. *BMC Fam Pract.* 2020 Feb 7;21(1):26. doi: 10.1186/s12875-020-1096-3.
- Salminen, A., Kaarniranta, K., Kauppinen, A. (2013). Crosstalk between oxidative stress and SIRT1: impact on the aging process. *Int J Mol Sci.*;14(2):3834–59.
- Salum, E., Kals, J., Kampus, P., Salum, T., Zilmer, K., Aunapuu, M., Arend, A., Eha, J., Zilmer, M. (2013). Vitamin D reduces deposition of advanced glycation end-products in the aortic wall and systemic oxidative stress in diabetic rats. *Diabetes Res Clin Pract.*,100(2):243-9. doi: 10.1016/j.diabres.2013.03.008.
- Ruf, W. (2013). Inflammation, obesity, and thrombosis. *Blood*, 122(20), 3415-3422. doi:10.1182/blood-2013-03-008.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam ediyor)

- Sawicka, M., Janowska, J., Chudek, J. (2016). Potential beneficial effect of some adipokines positively correlated with the adipose tissue content on the cardiovascular system. *IntJ Cardiol.*, 222:581-589. doi: 10.1016/j.ijcard.2016.07.054. Epub 2016 Jul 7.
- Scragg, R., Sowers, M., Bell, C. (2004). Third National Health and Nutrition Examination Survey. Serum 25-hydroxyvitamin D, diabetes, and ethnicity in the Third National Health and Nutrition Examination Survey, *Diabetes Care*. Dec;27(12):2813-8.
- Shafaei, A., Marjani, A., Khoshnia, M. (2016). Serum Progranulin Levels in Type 2 Diabetic Patients with Metabolic Syndrome. *Rom J Intern Med.*;54(4):211-216. doi: 10.1515/rjim-2016-0034.
- Sooy, K., Schermerhorn, T., Noda, M., Surana, M., Rhoten, W.B., Meyer, M., Fleischer, N., Sharp, G., Christakos, S. (1999). CalbindinD (28k) controls [Ca(2)] and insulin release. Evidence obtained from calbindin-D(28k) knockout mice and cell lines. *J Biol Chem*, 274; 34343–34349.
- Spranger, J., Kroke, A., Möhlig, M., Bergmann, M., Ristow, M., Boeing, H., Pfeiffer, F. (2003). Adiponectin and protection against type 2 diabetes mellitus, *Lancet*;361(9353):226-8.
- Srinivasan, K., Viswanad, B., Asrat, L., Kaul, C., Ramarao, P. (2005). Combination of highfat diet-fed and low-dose streptozotocin-treated rat: a model for type 2 diabetes and pharmacological screening, *Pharmacol. Res.* 52, 313–320, <http://dx.doi.org/10.1016/j.phrs.2005.05.004>.
- Srinivasan, K., Ramarao, P. (2007). Animal models in type 2 diabetes research: an overview, *Indian J. Med. Res.* 125 (3) (2007) 451–472.
- Stumvoll, M., Gerich, J. (2001). Clinical features of insulin resistance and beta-cell dysfunction and relationship to type 2 diabetes. *Clin. Lab. Med.*;21:31.
- Stürmer, M., Šebeková, K., Fazeli, G., Bahner, U., Stäb, F., Heidland, A. (2015). 25-hydroxyvitamin d and advanced glycation endproducts in healthy and hypertensive subjects: are there interactions? *J Ren Nutr.* 2015 Mar;25(2):209-16. doi: 10.1053/j.jrn.2014.10.027.
- Szkudelski, T. (2001). The mechanism of alloxan and streptozotocin action in β cells of the rat pancreas, *Physiol. Res.* 50 (6), 537-546.
- Szokodi, I., Tavi, P., Földes, G. (2002). Apelin, the novel endogenous ligand of the orphan receptor APJ, regulates cardiac contractility. *Circ. Res.* 91, 434–440.
- Teegarden D, Donkin SS. (2009). Vitamin D: emerging new roles in insulin sensitivity, *Nutr Res Rev.*, 22(1):82-92. doi: 10.1017/S0954422409389301.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam ediyor)

- The Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus: Report of The Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. (1997). *Diabetes Care*; 20 (7): 1183-97.
- Tiedge M, Lortz S, Drinkgern J, Lenzen S. (1997). Relation between antioxidant enzyme gene expression and antioxidative defense status of insulin producing cells. *Diabetes*. ,46(11): 1733– 1742.
- Turgeon, JL., Carl, MC., Maki, PM., Mendelsohn, ME., Wise, PM. (2006). Complex actions of sex steroids in adipose tissue, the cardiovascular system, and brain: Insights from basic science and clinical studies. *Endocr Rev*;27(6):575-605. Epub 2006 Jun 9.
- Tziomalos,K.,Athiros,VG. (2015). Diabetic Nephropathy: New Risk Factors and Improvements in Diagnosis. *Rev Diabet Stud*. Spring-Summer;12(1-2):110-118.
- Uluslararası Diyabet Liderler Zirvesi (2013). Türkiye’de ve bölge ülkelerinde diyabet sorunu. www.diyabetcemiyeti.org
- Ulutas, O., Taskapan, H., Taskapan, C., Temel, I. (2013). Vitamin D deficiency, insulin resistance, serum adipokine, and leptin levels in peritoneal dialysis patients, *Int Urol Nephrol.*, 45(3):879-84. doi: 10.1007/s11255-012-0308-8.
- Upreti,V., Maitri, V.,Dhull, P., Handa, A., Prakash, KA., Behl, A. (2018). Effect of oral vitamin D supplementation on glycemic control in patients with type 2 diabetes mellitus with coexisting hypovitaminosis D: A parallel group placebo controlled randomized controlled pilot study. [Diabetes Metab Syndr](http://DiabetesMetabSyndr). 2018 Jul;12(4):509-512. doi: 10.1016/j.dsx.2018.03.008. Epub 2018 Mar 16
- Uzdoğan, E. (2013). Polikistik over sendromunun patogenezinde progranulin ve TNF- α ’nın rolü. Uzmanlık Tezi. Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Ankara.
- Wang, W., Zhang, J., Wang, H., Wang, X., Liu, S. (2019). Vitamin D deficiency enhances insulin resistance by promoting inflammation in type 2 diabetes, *Int J Clin Exp Pathol*. 2019 May 1;12(5):1859-1867. eCollection 2019.
- Way, KJ., Katai, N., King, GL. (2001). Protein kinase C and the development of diabetic vascular complications. *Diabetic Medicine* 18 (12), 945-959
- Wenclewska, S., Szymczak-Pajor, I., Drzewoski, J., Bunk, M., Sliwinska, A. (2019). Vitamin D Supplementation Reduces Both Oxidative DNA Damage and Insulin Resistance in the Elderly with Metabolic Disorders. *Int. J. Mol. Sci*. 2019, 20, 289.
- West, IC., (2000). Radicals and oxidative stress in diabetes. *Diabet Med.*, 17(3): 17171–17180

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam ediyor)

- Wild, S., Roglic, G., Green, A., Sicree, R., King, H. (2004). Global prevalance of diabetes:estimates for the year 2000 and projections for 2030. *Diabetes Care*;27:1047-53.
- Williams, R., (1997). Public health problems of diabetes mellitus and its cost to the community.In:Williams G,Pickup J,eds.Textbook of Type 2 diabetes. 2nd ed .Vol.I. Cambridge:Blackwell Sci;Ch.4.1-4.4.
- Wolff, SP. Diabetes mellitus and free radicals. Free radicals, transition metals and oxidative stress in the aetiology of diabetes mellitus and complications. *Br Med Bull.* ,49(3): 642-652.
- World Health Organization Consultion. Definition, Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus and its complications. (1999). Part 1: Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus and Classification of Diabetes mellitus. Report of a WHO Consultation. Geneva: World Health Organization.
- Qu, H., Deng, H., Hu, Z. (2013). Plasma progranulin concentrations are increased in patients with T2DM and obesity and correlated with insulin resistance. *Mediators Inflamm.* 360190. doi: 10.1155/2013/ 360190 PMID: 23476101.
- Visser, M., Bouter, LM., McQuillan, GM., Wener, MH., Harris, TB. (1999). Elevated C-reactive protein levels in overweight and obese adults. *JAMA*;282:2131-2135.
- Yalçın, T., Rakıcıoğlu, N. (2018). Diyetel etmenler, Tip 2 diyabet ve inflamasyon. *Sakarya Tıp Dergisi*, 8 (4):686-694.
- Yalçın, T. (2018). Tip 2 Diyabet ve İnflamasyonda Diyetel Etmenler, Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi, Beslenme ve Diyetetik Bölümü, Derleme
- Yao, Y.-C. Lv, Y., Zhang, M. (2015). Apelin-13 impedes foam cell formation by activating Class III PI3K/Beclin-1-mediated autophagic pathway. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 466 ((4)4) 637643.
- Yenigün, M. (2004). Her Yönüyle Diabetes Mellitus. 2. Baskı. İstanbul Nobel Tıp Kitabevi.
- Yki-Jaervien, H. (2003). Insulin resistance in type 2 diabetes. In :Pickup JC, Williams G, eds. Textbook of Diabetes, Oxford: Blackwell Science; Ch.22.p.22.1-22.19.
- Yokoyama, H., Araki, S., Haneda, M., Matsushima, M., Kawai, K., Hirao, K. (2012). Chronic kidney disease categories and renal-cardiovascular outcomes in T2DM without prevalent cardiovascular disease: a prospective cohort study (JDDM25). *Diabetologia*, 55:1911–1918. doi: 10.1007/s00125-012-2536- y PMID: 22476921.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam ediyor)

- Yosria, E., AlyAzza, S., AbdouMona, M., RashadMenatallah, M. (2016). Effect of exercise on serum vitamin D and tissuevitamin D receptors in experimentally induced type2 Diabetes Mellitus, *Journal of advanced research* (2016) 7, 671-679.
- Yoo, H., Hwang, S., Hong, H., Choi, HY., Yang, SJ., Choi. DS. (2013). Implication of progranulin and C1q/TNFRRelated Protein-3 (CTRP3) on inflammation and atherosclerosis in subjects with or without metabolic syndrome.doi: 10.1371/journal.pone.0055744 PMID: 23409033
- Youn, S., Bang, I., Klo¨ting, N., Park, W., Lee, N., Oh, E. (2009). Serum progranulin concentrations may be associated with macrophage infiltration into omental adipose tissue. *Diabetes*, 58:627636. doi: 10.2337/db08-1147 PMID: 19056610.
- Yudkin, JS., Stehouwer, CDA., Emeis, JJ., Coppack, SW. (1999). C-reactive protein in healthy subjects: associations with obesity, insulin resistance, and endothelial dysfunction. A potential role for cytokines originating from adipose tissue? *Arterioscler Thromb Vase Biol.*;1999;19:972-978.
- Zavalza-Gómez, B., Anaya-Prado, R., Rincón-Sánchez, R., Mora-Martínez, M. (2008). Adipokines and insulin resistance during pregnancy. *Diabetes Research and Clinical Practice*, 80(1), 8-15.
- Zeitz, U., Weber, K., Soegiarto, D., Wolf, E., Balling, R., Erben, R. (2003). Impaired insulin secretory capacity in mice lacking a functional vitamin D receptor. *FASEB J*, 17; 509–5.
- Zhang, M., Lv, X., Li, J., Xu, Z., Chen, L. (2008). The characterization of high-fat diet and multiple low-dose streptozotocin induced type 2 diabetes rat model, *Exp. Diabet. Res.* 2008 704045, <http://dx.doi.org/10.1155/2008/704045>.
- Zhang, Y. (2010). Low plasma apelin in newly diagnosed type 2 diabetes mellitus in Chinese people. *Endocrine Journal*, 57: S392-S392.
- Zheng, Y., Ley, SH., Hu, FB. (2018). Global aetiology and epidemiology of type 2 diabetes mellitus and its complications, *Nat Rev Endocrinol.* 2018 Feb;14(2):88-98. doi: 10.1038/nrendo.2017.151. Epub 2017 Dec 8.
- Zieman, S., Kass, D.A. (2004). Advanced Glycation End Product CrossLinking:Pathophysiologic Role and Therapeutic Target in Cardiovascular Disease. *Congestive Heart Failure*,10:144-151.
- Zimmet, P., Williams ,M., (2002). Diagnosis and classification of diabetes mellitus. In Wass JAM, Shalet SM, Gale E, Amiel S, eds. *Oxford Textbook of Endocrinology and Diabetes*. Oxford, New York: Oxford University Press; (s.1635-46).

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam ediyor)

Zittermann, A., Frisch, S., Berthold, HK. (2009) Vitamin D supplementation enhances the beneficial effects of weight loss on cardiovascular disease risk markers. Am J Clin Nutr 89:1321–1327

ÇİĞDEM TOPRAK

Kişisel Bilgiler :

Doğum Tarihi : 11.10. 1983
Doğum Yeri : Ankara
Uyruğu : T.C.
Medeni Hali : Bekar

Eğitim Durumu :

Yıl	Üniversite
Doktora	Eskişehir Osmangazi Üniversitesi
2014-2020	Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji A.D.
Yüksek Lisans	Eskişehir Osmangazi Üniversitesi
2011- 2014	Tıp Fakültesi, Tıbbi Farmakoloji A.D
Yüksek Lisans	Eskişehir Osmangazi Üniversitesi
2006- 2009	Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik A.D
Üniversite	Eskişehir Osmangazi Üniversitesi
2002-2006	Fen Fakültesi, Biyoloji bölümü

Yabancı Diller :

İngilizce

(İyi Seviyede)

Bilimsel Çalışmalar

BCL2, BCL6, IGH, TP53, and MYC protein expression and gene rearrangements as prognostic markers in diffuse large B-cell lymphoma: a study of 44 Turkish patients. Olga Meltem Akay, Beyhan Durak Aras, Serap Isiksoy, Cigdem Toprak, Fezan Sahin Mutlu, Sevilhan Artan, Ulku Oner, Zafer Gulbas

Exploring the relationship between the severity of oligozoospermia and the frequencies of sperm chromosome aneuploidies. B. Durak Aras, I. Aras, C. Can, C. Toprak, E. Dikoglu, G. Bademci, M. Ozdemir, O. Cilingir, S. Artan.

Functional Effects of Alagebrium (ALT-711)–Isolated Rat Carotid Artery
Cigdem Toprak, Basar Sirmagul, Semra Yigitaslan

Alagebrium and Complications of Diabetes Mellitus, Cigdem Toprak, Semra Yigitaslan