



T.C.
ADYAMAN ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

CHEMERİN GEN POLİMORFİZMİ İLE TİP 2 DİYABETES MELLİTUS
ARASINDAKİ İLİŞKİNİN İNCELENMESİ

UZMANLIK TEZİ
Dr. ORHAN ÖZNAS

DANIŞMAN

Yrd. Doç.Dr. SERDAR OLT

ADYAMAN 2017



T.C.
ADYAMAN ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

CHEMERİN GEN POLİMORFİZMİ İLE TİP 2 DİYABETES MELLİTUS
ARASINDAKİ İLİŞKİNİN İNCELENMESİ

UZMANLIK TEZİ
Dr. ORHAN ÖZNAS

DANIŞMAN

Yrd. Doç.Dr. SERDAR OLT

BU ÇALIŞMA ADYAMAN ÜNİVERSİTESİ BİLİMSEL ARAŞTIRMA
PROJELERİ KOORDİNASYON BİRİMİNİ' NİN 21.07.2016 TARİH
TIPFLTP/2016-001 NOLU KARARI İLE DESTEKLENMİŞTİR.

ADYAMAN 2017

ONAY SAYFASI

Yrd. Doç. Dr. Serdar OLT danışmanlığında Dr. Orhan ÖZNAS tarafından yapılan “Chemerin gen polimorfizmi ile tip-2 diyabetes mellitus arasındaki ilişkinin incelenmesi.” başlıklı tez çalışması gün.../ay.../yıl... tarihinde yapılan tez savunma sınavı sonrası yapılan değerlendirme sonucu jürimiz tarafından İç Hastalıkları Anabilim/Bilim Dalı’nda TIPTA UZMANLIK TEZİ olarak kabul edilmiştir.

BAŞKAN

ÜYE

ÜYE

Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.gün.../ay..../yıl.

Prof. Dr.....

Adıyaman Üniversitesi

Tıp Fakültesi Dekanı

TEŞEKKÜR

Projemizi maddi yönden destekleyen Adıyaman Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri birimine teşekkür ederim.



İÇİNDEKİLER

ONAY SAYFASI.....	III
TEŞEKKÜR	IV
SİMGELER ve KISALTMALAR.....	VII
ŞEKİLLER ve RESİMLER DİZİNİ	IX
TABLolar DİZİNİ	X
ÖZET.....	XI
ABSTRACT	XIII
1. GİRİŞ ve AMAÇ.....	1
2.GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. DİABETES MELLİTUS	3
2.1.1. Tanım.....	3
2.1.2. Tarihçe.....	3
2.1.3. Epidemiyoloji	4
2.1.4. Risk Faktörleri.....	6
2.1.5. Tanı Kriterleri.....	7
2.1.6. Sınıflandırma	9
2.1.7. Tip 1 Diabetes Mellitus	12
2.1.8. Tip 2 Diabetes Mellitus	13
2.1.9. Gestasyonel Diabetes Mellitus	17
2.1.10. Sekonder Diabetes Mellitus.....	18
2.2. YAĞ DOKUSU ve ADİPOKİNLER	18
2.2.1. Chemerinin genel özellikleri	19
3. GEREÇ VE YÖNTEM	22
3.1. ÇALIŞMAYA ALINAN HASTALAR.....	22
3.4. KULLANILAN YÖNTEMLER	23
3.4.1. ELISA İçin Gerekli Olan Malzemeler ve Cihazlar	23
3.4.2. ELISA Protokolü.....	23
3.4.3. Kandan DNA İzolasyonu	25
3.4.4. Chemerin Gen Varyasyon Genotiplemeesi	26
3.4.5. HBA1C Düzeylerinin Ölçümü	27

3.4.6. Diğer Biyokimyasal Parametrelerin Ölçümü	28
3.5. İSTATİSTİKSEL ANALİZLER	28
3.6. ETİK KURUL ONAYI	28
4. BULGULAR	29
4.1.CHEMERİN GEN VARYASYON GENOTİPLEME SONUÇLARI	32
4.2. JEL ELEKTROFOREZİNDE ANALİZ EDİLEMİYEN ÖRNEKLERİN SEKANS İLE DOĞRULANMASI.....	33
4.3. CHEMERİN PROTEİN SEVİYESİNİN ELISA YÖNTEMİ ile GÖSTERİLMESİ	36
5. TARTIŞMA.....	37
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	44
7. KAYNAKLAR.....	45
8. EKLER.....	54

SİMGELER ve KISALTMALAR

ADA	American Diabetes Association
ALT	Alanin Transaminaz
APG	Açlık plazma glikozu
AST	Aspartat Transaminaz
ATP	Adenozin Trifosfat
BAG	Bozulmuş Açlık Glukozu
BGT	Bozulmuş Glukoz Toleransı
BMI	Vücut kitle indeksi
CMKLR1	Kemokin-Benzeri Reseptör 1
ELISA	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
DM	Diyabetes Mellitus
DNA	Deoksiribo Nükleik Asit
DPP-IV	Dipeptyl peptidaz-4 inhibitörü
DSÖ	Dünya Sağlık Örgütü
GDM	GestasyonelDiyabet Mellitus
GIP	Glukoz Bağımlı İnsülinotropik Polipeptid
GLP	Glukagon Benzeri Peptid
GLUT	Glukoz Taşıyıcı Tip protein
GLUT-4	Glucose transporter type-4
HbA1c	Glikozile Hemoglobin
HDL-K	Yüksek Dansiteli Lipoprotein Kolesterol
HLA	Human Leucocyte Antigen
HOMA-IR	Homeostasis Model Assessment İnsülin Resistans
HT	Hipertansiyon
IFN- γ	İnterferon- γ
IKK- β	İnhibitör Kappa Kinaz Beta
İL-6	İnterlökin-6
IR	İnsülin Rezistansı
IRS	İnsülin Reseptör Substrat
LDL-K	Düşük Dansiteli Lipoprotein Kolesterol
MAP	Mitojen Aktiviteli Protein
MetS	Metabolik Sendrom
NK	Naturel killer
OGTT	Oral Glukoz Tolerans Testi
PCOS	Polikistik Over Sendromu
PCR	Polymerase Chain Reaction
PPAR- α	Peroksizom-Proliferatör-Aktif-Reseptör α
PT	Protrombin Time
SD	Standart Sapma
TG	Trigliserit
TNF-alfa	Tümör Nekrozis Faktör-alfa

TSH	Tiroid Stimulan Hormon
T-ARMS-PCR	Tetra-Amplifikasyon Refrakter Mutasyon Sistemi Polimeraz Zincir Reaksiyonu
TEKHARF	Türk Erişkinlerinde Kalp Hastalığı Risk Faktörleri
TURDEP	Türkiye Diyabet Epidemiyolojisi Çalışması
UDCA	Ursodeoksikolik Asid
USG	Ultrasonografi
VLDL-K	Çok Düşük Dansiteli Lipoprotein Kolesterolü



ŞEKİLLER ve RESİMLER DİZİNİ

Şekil 1. Standart Hazırlanması.....	24
Şekil 2. Cinsiyete göre gruplar arası dağılım.....	30
Şekil 3. Tip 2 DM ve kontrol grubunda chemerin protein seviyeleri.....	36
Resim 1. Örnek jel görüntüsü.....	32
Resim 2. H-9 sanger sekans sonuç kromotogramı.....	34
Resim 3. H-10 Sanger sekans sonuç kromotogramı.....	34
Resim 4. SK-26 Sanger sekans sonuç kromotogramı.....	35
Resim 5. SK-27 Sanger sekans sonuç kromotogramı.....	35



TABLULAR DİZİNİ

Tablo 1. Diyabetes mellitus tanı kriterleri (American Diabetes Association, 2014).....	8
Tablo 2. Diyabetes mellitus ve glukoz metabolizmasının diğer bozukluklarında tanı kriterleri(**).....	8
Tablo 3. Dünya Sağlık Örgütü' nün Diyabetes mellitus (DM) sınıflaması (1985 yılı).....	10
Tablo 4. Türk Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği tarafından kabul edilen sınıflama.....	11
Tablo 5. Polimeraz Zincir Reaksiyonu İçeriği (PZR).....	26
Tablo 6. Primer Dizileri.....	27
Tablo 7. Tetra-Amplifikasyon Refrakter mutasyon sistemi polimeraz zincir reaksiyonu Koşulları (ARMS-PZR).....	27
Tablo 8. Tip 2 DM tanılı hasta grubu için kan parametreleri.....	29
Tablo 9. Tip 2 DM hasta ve kontrol tanılı hasta grubu için cinsiyet karşılaştırılması.....	30
Tablo 10. Tip 2 DM tanılı hasta ve kontrol grubu arasında karşılaştırmalar.....	31
Tablo 11. Tip 2 DM tanılı hasta grubunda Nöropati, Retinopati, Nefropati sıklığı ve cinsiyete göre karşılaştırılması.....	32
Tablo 12. Chemerin geni rs17173608 polimorfizmi genotip farklılıklarının hasta ve kontrol gruplarında gösterilmesi.....	33
Tablo 13. Tip 2 DM tanılı hasta grubu ve kontrol grubunda serum chemerin düzeylerinin karşılaştırılması.....	36

ÖZET

Giriş ve Amaç: Adipokin ailesinin son yıllarda keşfedilen en yeni üyelerinden bir tanesi chemerindir. Yapılan çalışmalarda chemerinin obezite, insulin direnci, metabolik sendrom, polikistik over sendromu (PCOS) ve tip 2 diyabetes mellitus gelişiminde önemli rollerinin olduğu saptanmıştır. Bu çalışmada Chemerin rs17173608 gen polimorfizmi ile serum chemerin protein seviyesinin Tip 2 Diyabetes Mellitus (DM) gelişimindeki rolünün araştırılması amaçlanmıştır.

Gereç ve yöntem: Bu çalışma Temmuz 2016 - Mayıs 2017 tarihleri arasında yapılmış olup, çalışmaya Adıyaman Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Kliniğinde takip edilen, Tip 2 DM tanılı 100 hasta ile DM saptanmayan 50 sağlıklı gönüllü dahil edildi. Kan örneklerinden Deoksiribo Nükleik Asit (DNA) izolasyonu, Adıyaman Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı Laboratuvarında Invitrogen K1820-02 Genomic DNA Mini Kit (250 çalışma) ile yapıldı. Chemerin gen Polimorfizminin tespiti, İstanbul Teknik Üniversitesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümünde Tetra-Amplifikasyon Refrakter (T-ARMS-PCR) mutasyon sistemi polimeraz zincir reaksiyonu ile belirlendi. T-ARMS-PCR sonunda örnekler jel elektroforezi kullanılarak yürütüldü. Bazı örnekler dizi analiz ile valide edildi. Ayrıca, serum Chemerin protein seviyeleri ELISA yöntemi ile Adıyaman Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarında Enzyme-Linked Immunosorbent Assay Kit For Chemerin (CHEM) (Cloud-clone corp. marka) kullanılarak EZ Read 400 Biochrom marka cihazda ölçüldü.

Bulgular: Tip 2 DM' li hastaların yaş ortalaması 55.03 ± 8.99 , diyabet yılı ortalaması 8.3 ± 5.5 yıl, Vücut kitle indeksi ortalaması $30.4 \pm 6.3 \text{ kg/m}^2$, HbA1C ortalaması 8.7 ± 2.3 olarak saptandı. Hastaların %71' i kadın, %29' u erkekti. Kontrol grubunun yaş ortalaması 41.12 ± 14.44 , %70 kadın, %30 erkekti. Tip 2 DM tanılı hasta grubunda serum chemerin düzeylerinin ortalaması 33.27 ± 27.96 saptanırken kontrol grubunda 22.73 ± 10.42 olarak saptandı. İstatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ($P = 0.108$). Yapılan genotip analizinde hastaların %18'inde TT genotipi saptanırken, % 81'inde TG genotipi saptandı. Hiçbir hastada GG genotipi saptanmadı. Sağlıklı kontrol grubu genotip dağılımında ise % 12 oranında TT genotipi ve % 88 oranında TG genotipi saptandı. Tip 2 DM grubuna benzer şekilde GG genotipi kontrol grubunda da saptanmadı. Hasta ve kontrol grupları istatistiksel olarak karşılaştırıldığında genotip açısından anlamlı bir fark saptanmadı ($P=0.249$). Öte yandan T allel frekansı DM grubunda % 59.09 ve G allel frekansı %40.91 olarak saptandı. Kontrol grubunda ise T ve G allel frekansları sırasıyla %56 ve %44 olarak saptandı. T allel ve

G allel açısından DM ve sağlıklı kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ($P = 0.54$).

Sonuç: Sonuç olarak, Güneydoğu Anadolu Bölgesi Adıyaman ilinde tip 2 DM hasta ve kontrol gruplarında serum chemerin düzeylerine ve chemerin rs17173608 gen polimorfizmine ilk kez bakıldı. Çalışmamızda serum chemerin düzeyleri tip 2 DM hasta grubu ve kontrol grubu arasında karşılaştırıldı ve gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmedi ($P = 0.108$). Genotip analizi sonucunda Tip 2 DM grubu ve sağlıklı kontrol grubu arasında Chemerin gen polimorfizminin farklı olmadığı görüldü ($P = 0.249$) ve yine bulgularımıza göre Chemerin gen polimorfizminin Tip 2 DM gelişimini arttırmadığı söylenebilir.

Anahtar kelimeler: Chemerin, gen polimorfizmi, tip 2 diyabetes mellitus, rs17173608

ABSTRACT

Introduction and Objective: Chemerin is one of the newest member of adipokines family. In the scientific studies chemerin was found to be associated with obesity, insulin resistance, metabolic syndrome, polycystic ovary syndrome and type 2 diabetes mellitus. In this present study, we aimed to investigate the role of Chemerin rs17173608 gene polymorphism and serum chemerin protein level in the development of Type 2 Diabetes Mellitus (DM).

Materials and methods: This prospective case-control study was conducted between July 2016 and May 2017 and included 100 patients with Type 2 DM and 50 healthy volunteers who were not diagnosed with DM as seen in the Internal Medicine Department of Adıyaman University Medical Faculty. DNA isolation from blood samples was performed with Invitrogen K1820-02 Genomic DNA Mini Kit (250 studies) at Adıyaman University Medical Faculty Medical Genetics Laboratory. Chemerin gene polymorphism was detected by Tetra-Amplification Refractor (T-ARMS-PCR) mutation system polymerase chain reaction in Molecular Biology and Genetics Department of İstanbul Technical University. At the end of T-ARMS-PCR, samples were run using gel electrophoresis. Some samples were validated by sequence analysis. In addition, serum Chemerin protein levels were measured in the EZ Read 400 Biochrom device using the Enzyme-Linked Immunosorbent Assay Kit For Chemerin (CHEM) (Cloud-clone corp. Brand) in the Institute of Medical Biology, Adıyaman University Medical School by ELISA method.

Results: The mean age of the diabetic patients was 55.03 ± 8.99 , The mean diabetes duration of diabetic patients was 8.3 ± 5.5 . Body mass index averaged 30.4 ± 6.3 . The mean HbA1C was 8.7 ± 2.3 . 71% of the patients were female, 29% were male. The mean age of the control group was 41.12 ± 14.44 . 70% of the control group were female, 30% were male. In the patient group with type 2 DM, the mean serum chemerin level was 33.27 ± 27.96 and 22.73 ± 10.42 in the control group. There was no statistically significant difference according to the serum chemerin values ($P = 0.108$). In the genotype analysis, 18% of patients had TT genotype and 81% of TG genotype was detected. GG genotype was not detected in any patient. Genotype distribution of healthy control group was 12% TT genotype and 88% TG genotype. Similar to the type 2 DM group, the GG genotype was not detected in the control group. Patients and control groups were compared in terms of TT and TG genotypes and there was no significant difference between groups ($P = 0.249$). On the other hand, in the DM group the T allele frequency was 59.09% and the G allele frequency was 40.91%. In the control group, T and G allele frequencies were calculated as 56% and 44% respectively. There was no statistically

significant difference between DM and healthy control group for T allele and G allele (P = 0.54).

Conclusion: As a result, serum chemerin levels and chemerin rs17173608 gene polymorphism were studied in type 2 DM patients and healthy control groups in Adiyaman province of Southeastern Anatolia Region for the first time. In this present study, serum chemerin levels were not statistically different between the groups (P = 0.108). Genotype analysis revealed no difference in Chemerin gene polymorphism between Type 2 DM group and healthy control group (P = 0.249). Finally, according to our findings, it can be said that Chemerin gene polymorphism does not increase the risk of Type 2 DM development.

Keywords: Chemerin, gene polymorphism, type 2 diabetes mellitus, rs17173608

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Diyabetes mellitus (DM) karbonhidrat, yağ ve protein metabolizmasını olumsuz yönde etkileyen ve kan şekerinin anormal düzeyde yüksek seyretmesiyle karakterize kronik bir hastalıktır. Hastaların erken ve geç dönemde ortaya çıkan komplikasyonlar nedeniyle yaşam kalitesi ve sağ kalımı doğrudan etkilenmektedir. Son 20 yılda dünya üzerinde olduğu gibi ülkemizde de DM prevalansında ciddi bir artış görülmektedir (1). Özellikle obezite, sedanter yaşam ve sanayileşmenin yaygın olduğu kentsel kesimlerde ve gelişmiş toplumlarda Tip 2 DM' nin oranı oldukça yüksektir. Enerji metabolizmasındaki dengesizlik neticesinde vücuttaki yağ kitlesinin yağsız vücut kitlesine oranının arttığı obezite durumu Tip 2 DM için önemli bir risk faktörü olup bu hastaların çoğunluğu obezdir. Hızlı sosyoekonomik gelişme, ortalama yaşam süresinde artma ve hazır gıda tüketiminin artması obezite zeminini pekiştirmiştir. Yapılan araştırmalarda Dünyada 150 milyon kişinin DM' ye yakalandığı ve önümüzdeki 10 yıl içerisinde bu sayının 380 milyona ulaşacağı tahmin edilmektedir (2). Bu veriler ışığında Pandemik bir sorun haline gelmiş olan DM için erken tanı ve önleme çalışmaları önem kazanmıştır.

Yakın zamana kadar sadece enerji depolanması ve koruyucu bariyer fonksiyonları olduğu düşünülen yağ dokusunun, yapılan araştırmalar neticesinde hormon salgılayan, aktif bir endokrin organ olduğu gösterilmiştir. Yağ dokusu, adipokin adı verilen, bu gün için sayıları 20 kadar olan ve her geçen gün yenisi eklenen medyatörler vasıtasıyla birçok metabolik olayda rol oynamaktadır (3). Bu medyatörler vasıtasıyla beslenme, iştah, enerji dengesi, insülin ve glukoz metabolizması, lipid metabolizması, kan basıncının düzenlenmesi, vasküler yeniden şekillenme, koagülasyon, inflamasyon, savunma gibi vücudun birçok fizyolojik işleminde rol oynamaktadırlar. Adipokinler santral olarak iştah ve enerji tüketimini regüle ederken periferde insülin duyarlılığı, oksidatif kapasite ve lipid alımını etkiler. Bu peptidlerden bazıları TNF-alfa, IL-6, resistin, leptin, adiponektin, vaspin, chemerin, visfatin ve omentindir. Günümüzde bilim adamları bu moleküllerle giderek artan bir oranda ilgilenmektedirler. Adipokinlerin öncelikle obeziteyle ve obezite ile alakalı patolojik süreçlerle ilişkisi tanımlanmıştır.

Adipokin ailesinin son yıllarda keşfedilen en yeni üyelerinden bir tanesi chemerindir. Yağ dokusundan salgılanan bu adipokin kemokin-benzeri reseptör 1 (CMKLR1) veya ChemR23 adıyla da bilinen reseptör eksprese eden hücreler üzerinde etkili olup bilinen iki farklı reseptörü daha bulunmaktadır (4,5). Chemerin, ilk kez enflamatuar süreçlerde chemR23 eksprese eden makrofajlarda ve dentritik hücrelerde kemotaktik peptid olarak keşfedilmiştir. Pleiotropik işlevlere sahip olduğu görülen chemerin adipokinlerin farklılaşmasını sağladığı ve bu sayede glikoz alımında görev aldığı için adipokin olarak sınıflandırılmıştır. Chemerin, inflamasyon ve koagülasyon sırasında serin proteazlar tarafından aktive olup inflamasyon bölgesine makrofajların ve dendritik hücrelerin kemotaksisini uyarır. Ayrıca chemerin' in direkt olarak hem pro-hem de anti-inflamatuvar etkisinin olduğu gösterilmiştir (6,7). Yapılan çalışmalarda obezite, insülin direnci, metabolik sendrom, polikistik over sendromu (PCOS) ve tip 2 diyabetes mellitus gelişiminde önemli rollerinin olduğu saptanmıştır.

Diabetes Mellitus klinik bulgularının belirgin olmadığı prediyabetik süreç olarak adlandırılan evrelerde bile diyabete bağlı komplikasyon riski ve diyabete gidiş riski artmıştır. Uzun dönemde görülen diyabetin kronik komplikasyonlarının da bu safhada ortaya çıkan değişikliklerle ilişkili olduğu ileri sürülmektedir. Bu yüzden hastalığın erken dönemde tanısı veya çeşitli tetkiklerle, genetik belirteçlerle öngörülmesi, önleme çalışmalarına fayda sağlayacaktır. Risk grubundaki hastalarda sıkı glisemi kontrolü, kan basıncı ve lipidlerin de hedef düzeylere düşürülmesi gibi çabalarla oluşabilecek bu komplikasyonlar azaltılabilecektir.

Çalışmamızın amacı DM' nin kişiye ve topluma yükünü azaltmak, yaşam kalitesini artırmak ve sağ kalım oranını artırmak için hastalığın olabildiğince erken dönemde tanınmasını kolaylaştırmak ve uygun şekilde tedavi koşullarına imkan sağlamaktır. Bu amaç doğrultusunda çalışmamızda, artmış insülin direncinin Tip 2 diyabetes mellitus oluşumu üzerine etkisi ile adipoz doku hormon ve sitokinlerinin insülin direnci ile olan pozitif ilişkisine dayanarak, chemerin gen polimorfizmi ve chemerin protein ekspresyon seviyesinin tip 2 diyabetes mellitus ile arasındaki ilişkinin incelenmesi amaçlanmıştır.

2.GENEL BİLGİLER

2.1. DİABETES MELLİTUS

2.1.1. Tanım

Multisistemik bir metabolizma hastalığı olan DM, pankreasta salgılanan insülin miktarının yetersizliği, hiç olmaması veya salgılanan insülinin etkisiz olmasıdır. Hastalık temel olarak hiperglisemi ile seyretmesine rağmen akut ve kronik süreçte karbonhidrat metabolizması yanında protein ve yağ metabolizmasında da bozukluklara yol açarak bireylerin yaşam kalitesi ve yaşam süresini doğrudan etkilemektedir (8).

2.1.2. Tarihçe

18. yüzyılda William Cullen tarafından eklenen ve Latince olan Mellitus da bal" anlamına gelmektedir. Dolayısıyla tarihsel aşamalardan günümüze kadar gelen bu sözcükler "Aşırı, bol miktarda ve bal gibi tatlı ya da şekerli idrar yapma" anlamını simgeleştirmişlerdir (9, 10).

Bu yazılı belgelerin Antik Mısır'ın daha eski dönemlerine ait tıbbi bilgilerin derlemesi olması nedeniyle, bahsedilen bu bilgilerin daha eski zamanlara tarihlendiği düşünülmektedir (9). MÖ 4. yüzyılda Hintli Hekimlerin gözlemleri sonucunda, bu hastaların idrarlarına çeşitli sinek veya karıncaların üşüşmeleri ile idrarın tatlı, şekerli olduğu fark edilmiş ve hastalığın tanımına yeni bir boyut getirilmiştir (9). Hastalık hakkında ayrıntılı bilgiler de verilmiştir. Hastaların çok su içen, çok idrara çıkan, hızlı bir şekilde kilo kaybeden kimseler oldukları belirtilmiştir. Ayrıca hastaların kuruyarak ve ağızları kokarak öldüklerinden bahsedilmiştir. Bununla birlikte bu ortak özelliklere rağmen bazı hastaların şişman bazılarının da oldukça zayıf olduklarından bahsedilmiştir (11).

Ünlü İslam alimi olan İbni Sina da 900' lü yıllarda hastalığı günümüzdeki tanımına yakın şekilde tarif etmiş, bu hastaların idrarlarının buharlaştırılması sonucunda geride kalan tatlı ve koyu renkli bir kalıntıdan bahsederek idrarla atılan şekere dikkat çekmiştir (11). 1815 yılında Chevreul, idrarla atılan bu şekerin glukoz olduğunu bildirmiştir.

Thomas Cawley tarafından bir otopsi sonucunda pankreasın büzülmüş şeklini ve içerisindeki taşları farketmiş ve bu organın Diabetes Mellitus ile ilişkisi olabileceğini düşünmüştür (12). Bu hipotez 1889 yılında, Minkowski'nin deneysel çalışmaları ile ispatlanmıştır. Kısa bir süre sonra da pankreastan salgılanan insülin hormonunun patogenezdaki rolü anlaşılmıştır (13). Bu gelişmeler hastalığın tedavisine yönelik adımların atılmasını sağlamıştır. 1921 yılında tedavide kullanılacak insülinin ilk formu üretilmiştir (14). Bununla birlikte hastalığın mekanizmasına yönelik olarak oral antidiyabetik ilaçların üretimi için de yoğun çalışmalar sürdürülmüştür. Günümüze kadar süren bu araştırmalar neticesinde sırasıyla sülfonilüre, biguanid, alfa-glikozidaz inhibitörleri, Tiazolidindionlar, GLP-1 analogları ve DPP-IV inhibitörleri tedavide yerini almışlardır. 1964 yılında Amerika Birleşik Devletleri ve Çin' den bazı araştırmacılar birbirinde bağımsız olarak insülin molekülünün sentezini gerçekleştirmişler ve zaman içerisinde bu çalışmaların geliştirilmesiyle 1972 yılında saf insülin sentezlenerek DM tedavisinde yeni bir dönem başlamıştır (15).

2.1.3. Epidemiyoloji

Yaşam kalitesi ve sağkalım açısından oldukça önemli olan ve Dünyadaki en yaygın hastalıkların başında gelen Diabetes Mellitusun sıklığı her geçen gün artmaktadır. Her yıl yaklaşık dünyada 7 milyon kişide hastalık tespit edilmektedir (16). Bu nedenle küresel anlamda ciddi bir tehdit oluşturmaktadır. Dünyadaki tüm ölümlerin %5' inden, 35-65 yaş aralığındaki ölümlerin ise %10' undan sorumlu tutulmaktadır. Hastaların yaklaşık üçte biri hastalığından habersiz olup zamanında teşhis konulamamaktadır. Gelişmiş ülkelerde ölüm nedenleri arasında dördüncü sırada olan DM' nin bu toplumlarda daha yaygın görülmesi ile kentleşme, batılı tarzda beslenme ve obezite arasında ilişki kurulmaktadır. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) verilerine göre günümüzde Dünya üzerinde 180 milyona yakın DM hastası olduğu ve bu sayının 2025 yılında 380 milyona ulaşacağı tahmin edilmektedir (2). 2000 yılında Dünya üzerinde, DM prevalansı %2.8 olarak bildirilmiştir. Bu oranın 2030 yılında %4.4 olacağı tahmin edilmektedir (17). DM prevalansındaki bu artışta Tip 2 DM hastalarının ağırlığı belirgin olup Tip 2 DM epidemisi gündeme gelmiştir. Bu durum ise genetik özelliklerin yanında özellikle gelişmiş ülkelerde 65 yaş

üzerindeki nüfusun artması ile birlikte, sedanter hayat, beslenme alışkanlığı ve obeziteye bağlanmaktadır. DM insidans ve prevalansının değerlendirilmesinde kriter olarak kan şekerinin ≥ 126 mg/dl (7.0 mmol/L) olması esas alınmaktadır (18).

Dünya üzerinde yapılan DM araştırmalarından elde edilen veriler ölkemizdeki değerlerle benzerlik göstermektedir. Türkiye' de DM açısından verilerin toplanması ilk olarak 1960 yıllarına uzanmaktadır. Türk Diyabet Cemiyeti tarafından yürütölen araştırmada öncelikli olarak glikozüri sıklığı taranmıştır. 18 yaş üzerindeki bireylerde glikozüri prevalansı %1.5-2 civarında iken ilerleyen yıllarda bu oranın arttığı gösterilmiştir.

1999-2000 yıllarında ölkemizde popölasyona dayalı ilk Diyabet araştırması olan Diyabetik Epidemiyoloji alışması (TURDEP) kapsamında elde edilen veriler ışığında 20-80 yaş aralığında DM sıklığı %7.2 olarak tespit edilmiştir. Bununla birlikte bozulmuş glikoz toleransı %6.7 ve bilinmeyen/yeni tespit edilen DM oranının %30 civarında olduğu gösterilmiştir (19). Yapılan bu geniş çaplı araştırmaya göre ölkemizde DM tanısı konmuş 2.6 milyon hasta ve bozulmuş glikoz toleransı tanısı konmuş 2.4 milyon hastanın oluşturduğu 5 milyon kişilik bir grubun yaşam kalitesi ve sağkalım açısından risk altında olduğu bildirilmiştir (19). 60 yaş üzerinde erkeklerde biraz daha sık olmak üzere genel olarak her iki cinste de benzer sıklıkta görölmektedir. Bu benzerlik ölkemizde 2000 yılında yapılan TEKHARF (Türk Erişkinlerinde Kalp Hastalığı Risk Faktörleri) isimli geniş kapsamlı bir araştırma ile de doğrulanmıştır (20).

DM prevalansının belirlenmesi amacıyla ölkemizde yapılan araştırmalarda da ilginç sonuçlar elde edilmiştir. Temel Sağlık Hizmetleri Genel Müdürlüğü Gıda Güvenliği Daire Başkanlığı Toplum Beslenmesi şubesi tarafından 2004 yılında yapılan geniş kapsamlı bir araştırmada farklı illerde hem bireylerin kendi ifadelerine göre hem de kan testi ile yapılan değerlendirmelerde farklı sonuçlar elde edilmiştir. Bireylerin ifadesine göre %5.6 olan DM prevalansı kan testleri ile %13 civarında tespit edilmiştir (21). Bu çelişkili değerler, DM' nin oldukça sinsi seyirli bir hastalık olması ve hastaların durumlarında habersiz olmalarıyla ilişkilidir. Bu yüzden sağlık kayıtlarının çok iyi tutulduğu gelişmiş ölkelerde bile prevalansın doğru şekilde saptanması güçtür. Bu veriler daha önceden verilen TURDEP 1 verilerinden oldukça yüksek olup, DM prevalansının tüm dünyada olduğu gibi ölkemizde de belirgin

şekilde artış gösterdiğine işaret etmektedir (19). Ülkemizde DM prevalansının artışı gösteren bir diğer önemli araştırma da TURDEP-II çalışmasıdır. T.C. Sağlık Bakanlığı ve İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi işbirliği ile yakın zamanda gerçekleştirilen TURDEP-II çalışması ile ülkemizde erişkin bireylerde DM prevalansının 2010 yılı itibarıyla, %13.7 olduğu (6.5 milyon birey), tanısı yeni konmuş olanların %45, bilinen diyabetli hastaların ise %55 oranında olduğu bildirilmiştir. Araştırmada, DM tanısı konmuş olan hastaların %64.5' inde kan şekerinin kontrolünün yetersiz olduğu bildirilmiştir (22). Dünya üzerinde olduğu gibi, ülkemizde de DM prevalansı bölgesel farklılıklar göstermektedir. Güney bölgelerimizde yeni tanı konmuş DM prevalansının, Kuzey ve Batı bölgelerimize göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir (22). Cinsiyet açısından bakıldığında kadınlardaki sıklık TURDEP-I de de daha yüksek çıkmıştır.

2.1.4. Risk Faktörleri

Diyabetes Mellitus açısından değiştirilebilen ve değiştirilemeyen risk faktörleri söz konusudur (22).

Değiştirilemeyen faktörler

- Ailede diyabet öyküsü: Birinci derece yakınarda tespit edilmiş DM varlığı
- Cinsiyet: Kadınlarda DM prevalansı bir miktar daha yüksektir.
- Bilinen bozulmuş glikoz tolerans öyküsü
- Daha önceden açlık kan şeker seviyesinin yüksek tespit edilmiş olması
- Yaş: 45 yaşın üzerinde olan bireyler
- Gestasyonel DM veya iri (4 kg'dan ağır) bebek doğumu yapan bireyler
- Polikistik Over Sendromu (PCOS)
- Kardiyovasküler hastalık öyküsü

Değiştirilebilen faktörler

- Obezite: Beden kütle indeksinin 25 kg/m²' nin üzerinde olması veya yaşa göre belirlenmiş vücut ağırlığının %20 fazlası ağırlıkta olmak Yaş: 45 yaş üzeri bireyler
- Sedanter yaşam şekli

- Dislipidemi: Trigliserid seviyesi ≥ 250 mg/dl ve/veya HDL kolesterol seviyesi ≤ 35 mg/dl olan bireyler
- Hipertansiyon: Sistolik kan basıncının ≥ 140 mmHg ve Diyastolik kan basıncının ≥ 90 mmHg olması.
- Sigara kullanımı
- Alkol kullanımı
- Ağır stres

2.1.5. Tanı Kriterleri

Diyabetes Mellitus tanı kriterleri 1997–2003 yıllarında Amerikan Diyabet Birliği (ADA) ve 1999 yılında DSÖ tarafından ele alınmıştır. Zaman içerisinde çeşitli düzenlemeler yapılarak güncel tanı kriterleri oluşturulmuştur. 2003 yılında yapılan düzenlemeler uzun süre değiştirilmeden esas alınmıştır. Buna göre Diabet tanısı için kan glukoz ölçümü ve Oral Glukoz Tolerans Testi (OGTT) en sık kullanılan tanı testleri olarak kullanılmıştır (23). 2010 yılında Amerikan Diyabet Birliği tarafından bu iki testle birlikte HbA1c değerinin de DM tanısında kriter olarak ele alınması gerektiği belirtilmiştir. 2014 yılında Amerikan Diyabet Birliği tarafından düzenlenen DM Tanı kriterleri yaygın olarak kullanılmaktadır (24). Tablo 1 de belirtilen tanı kriterlerinden herhangi bir tanesi DM tanısı konulması için yeterlidir. Açlık kan glukoz seviyesi ile DM tanısı konmuş ise OGTT yapılmasına gerek yoktur. Ancak asemptomatik hastalarda ve açlık kan glukoz seviyesi sınırdaki değerleri yansıtıyorsa tanı için OGTT yapılması uygun olacaktır. Kan glukoz seviyesinin akut yükselmesine neden olabilen stres, miyokard infarktüsü, enfeksiyon ve travma gibi durumlarda kan glukoz seviyesi DM tanısı için yeterli değildir. Bu nedenle belirtilen bu geçici tablonun düzelmesinden sonra DM tanısı için tekrar değerlendirme yapılması gerekir (25).

TEMED diabet klavuzuna göre diabet ve glukoz metabolizmasının diğer bozuklukları için güncel tanı kriterleri tablo 2’de gösterilmiştir (26).

Tablo 1: Diabetes Mellitus Tanı Kriterleri (ADA, 2014)

1. HbA1C \geq %6,5 (Standardize edilmiş laboratuvarlarda)
2. Sekiz saat açlık sonrasında plazma glukoz seviyesi (APG) \geq 126 mg/dL (7.0mmol/L)
3. En son yenilen yemek zamanına bakılmaksızın, günün herhangi bir zamanında ölçülen plazma glukoz seviyesi (PG) \geq 200 mg/dL (11,1mmol/L) ve DM semptomların olması
4. Glukoz yüklemesinden 2 saat sonrası plazma glikozunun \geq 200 mg/dL (11,1 mmol/L) (DSÖ'nün önerisine göre test, 75 g kuru glukoz içeren çözelti kullanılarak yapılmalıdır)

Tablo 2: Diabetes mellitus ve glukoz metabolizmasının diğer bozukluklarında tanı kriterleri(**)

	Aşkar DM	İzole BAG(**)	İzole BGT	BAG + BGT	DM Riski Yüksek
APG (\geq 8 st açlıkta)	\geq 126 mg/dl	100-125 mg/dl	< 100 mg/dl	100-125 mg/dl	-
OGTT 2.st PG (75 g glukoz)	\geq 200 mg/dl	< 140 mg/dl	140-199 mg/dl	140-199 mg/dl	-
Rastgele PG	\geq 200 mg/dl + Diyabet semptomları	-	-	-	-
A1C(***)	\geq %6.5 (\geq 48 mmol/mol)	-	-	-	%5.7-6.4 (39-46 mmol/mol)

(*) Glisemi venöz plazmada glukoz oksidaz yöntemi ile 'mg/dl' olarak ölçülür. 'Aşık DM' tanısı için dört tanı kriterinden herhangi birisi yeterli iken 'İzole BAG', 'İzole BGT' ve 'BAG + BGT' için her iki kriterin bulunması şarttır. (**) 2006 yılı DSÖ/IDF Raporunda normal APG kesim noktasının 110 mg/dl ve BAG 110-125 mg/dl olarak korunması benimsenmiştir. (***) Standardize metotlarla ölçülmelidir.

DM: Diabetes mellitus, APG: Açlık plazma glukozu, 2.st PG: 2. saat plazma glukozu, OGTT: Oral glukoz tolerans testi, A1C: Glikozillenmiş hemoglobin A1c, BAG: Bozulmuş açlık glukozu (impaired fasting glucose), BGT: Bozulmuş glukoz toleransı (impaired glucose tolerance), DSÖ: Dünya Sağlık Örgütü, IDF: Uluslararası Diyabet Federasyonu.

Tablo 1 de gösterilen değerler DM tanısı konulması için kabul edilmiş sınırlar olmasına rağmen bazen bu sınırlara yakın değerlerin de değerlendirilmesi önem arz etmektedir çünkü açlık glukoz miktarı normalin üzerinde olmasına rağmen, DM tanı kriteri için yeterli olmasa bile DM' ye gidişin habercisi olan veya mikrovasküler komplikasyonlarla seyreden "prediyabet" olarak adlandırılan bir durum söz konusudur. Prediyabet grubunda bozulmuş açlık glukozu (IFG) ve bozulmuş glukoz toleransı (IGT) olarak adlandırılan iki durum mevcuttur. Plazma glukozuna göre; APG 100-125 mg/dl bozulmuş açlık glukozu (IFG), OGTT 2. saat plazma glukozu 140-199 mg/dl bozulmuş glukoz toleransı (IGT) olarak tanımlanır (27).

2.1.6. Sınıflandırma

Hiperglisemi ile seyreden DM, altta yatan farklı patogenetik mekanizmalara göre sınıflandırılmaktadır. Etyolojik ve klinik farklılıklar da bu mekanizmalarla ilişkilidir. DM' nin bazı formlarında çeşitli nedenlerden dolayı temel olarak insülinin salınımındaki yetersizlik söz konusu iken diğer formlarında insülinin etkisindeki yetersizlik söz konusudur. DM' nin sınıflaması ilk defa ABD' de National Diabetes Data Group tarafından modifiye tanı kriterleri önerilerek yapılmıştır. DM, basit olarak insüline bağımlı olan Tip 1 DM ve insüline bağımlı olmayan Tip 2 DM olarak sınıflandırılmıştır. 1979 yılında yapılan bu sınıflamanın ardından DSÖ 1985 yılında daha geniş bir sınıflama yapmıştır (Tablo 3). Bu sınıflamaya göre idiyopatik veya immün aracılı olan Tip 1 DM, obez olan ve obez olmayan alt gruplardan oluşan Tip 2 DM ve Gestasyonel DM, bozulmuş glukoz toleransı ve bozulmuş açlık glukozu alt

gruplarından oluşan diğer spesifik DM tipleri olmak üzere 3 ana başlıkta sınıflandırma yapılmıştır (28).

Tablo 3. Dünya Sağlık Örgütü'nün DM sınıflaması (1985 yılı)

Tip 1 DM	İmmün aracılı	İdiyopatik	
Tip 2 DM	Non-obez	Obez	Mody
Diğer DM tipleri	Gestasyonel DM	Bozulmuş glikoz toleransı	Bozulmuş açlık glikozu

Amerikan Diyabet Birliği etyolojik açıdan sınıflandırma yapmanın önemini vurgulayarak yeni bir sınıflama yapmak ve bazı terimlerin yeniden düzenlenmesi için bir çalışma grubu oluşturmuştur. 1995 yılında yapılan ilk çalışmanın ardından 1997 yılında gözden geçirme ile insüline bağımlı olan veya olmayan terimleri kaldırılarak Tip 1 ve Tip 2 DM terminolojisinin kullanımı önerilmiştir. ADA çalışma grubunun son şeklini verdiği DM sınıflaması 1998 yılında DSÖ tarafından da değerlendirilmiş ve günümüzde yaygın olarak kullanılan halini almıştır. Buna göre dört alt grubu olan sınıflamada TipI DM, TipII DM, Gebelik Diyabeti ve Diğer diyabet tipleri yer almıştır. Bu sınıflama yapılırken sadece etyolojik nedenler ele alınmamış, klinik tanı kriterleri, DM evreleri de değerlendirilerek ideal bir sınıflama şekli ortaya konmuştur (28).

Bugün itibariyle küresel anlamda ADA ve ülkemizde Türk Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği tarafından kabul edilen sınıflamaya göre Tip I DM, Tip II DM ve Gestasyonel DM primer DM olarak, diğer spesifik tipler ise sekonder diyabet formları olarak ele alınmıştır (29). Ülkemizde yaygın olarak kullanılan bu sınıflama Tablo 4'de ayrıntılı olarak gösterilmektedir.

Tablo 4. Türk Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği tarafından kabul edilen sınıflama

I. Tip 1 diyabet (Genellikle mutlak insülin noksanlığına sebep olan b-hücre yıkımı vardır)	
A. İmmun aracılıklı B. İdiyopatik	
II. Tip 2 diyabet (İnsülin direnci zemininde ilerleyici insülin sekresyon defekti ile karakterizedir)	
III. Gestasyonel diabetes mellitus (GDM) Gebelik sırasında ortaya çıkan ve genellikle doğumla birlikte düzelen diyabet	
IV. Diğer spesifik diyabet tipleri	A. İlaç veya kimyasal ajanlar
A. b-hücre fonksiyonlarının genetik defekti (monogenik diyabet formları)	<ul style="list-style-type: none"> • Atipik anti-psikotikler • Anti-viral ilaçlar • β-adrenerjik agonistler • Diazoksid • Fenitoin • Glukokortikoidler • α-İnterferon • Nikotinik asit • Pentamidin • Proteaz inhibitörleri • Tiyazid grubu diüretikler • Tiroid hormonu • Vacor • Statinler • Diğerleri (Transplant rejeksiyonunu önlemek için kullanılan ilaçlar)
<ul style="list-style-type: none"> • 20. Kromozom, HNF-4a (MODY1) • 7. Kromozom, Glukokinaz (MODY2) • 12. Kromozom, HNF-1a (MODY3) • 13. Kromozom, IPF-1 (MODY4) • 17. Kromozom, HNF-1b (MODY5) • 2. Kromozom, NeuroD1 (MODY6) • 2. Kromozom, KLF11 (MODY7) • 9. Kromozom, CEL (MODY8) • 7. Kromozom, PAX4 (MODY9) • 11. Kromozom, INS (MODY10) • 8. Kromozom, BLK (MODY11) • Mitokondriyal DNA • 11. Kromozom, Neonatal DM (Kir6.2, ABCC8, KCNJ11 mutasyonu) • Diğerleri 	B. İmmun aracılıklı nadir diyabet formları
B. İnsülinin etkisindeki genetik defektler	<ul style="list-style-type: none"> • Anti insülin-reseptör antikorları • “Stiff-man” sendromu • Diğerleri
C. Pankreasın ekzokrin doku hastalıkları	C. G. Diyabetle ilişkili genetik sendromlar
<ul style="list-style-type: none"> • Fibrokalkülöz pankreatopati • Hemokromatoz • Kistik fibroz • Neoplazi • Pankreatit • Travma/pankreatektomi • Diğerleri 	<ul style="list-style-type: none"> • Alström sendromu • Down sendromu • Friedreich tipi ataksi • Huntington korea • Klinefelter sendromu • Laurence-Moon-Biedl sendromu • Miyotonik distrofi • Porfiria • Prader-Willi sendromu • Turner sendromu • Wolfram (DIDMOAD) sendromu • Diğerleri
D. Endokrinopatiler	D. H. İnfeksiyonlar
<ul style="list-style-type: none"> • Akromegali • Aldosteronoma • Cushing sendromu • Feokromositoma • Glukagonoma • Hipertiroidi • Somatostatinoma 	<ul style="list-style-type: none"> • Konjenital rubella • Sitomegalovirus • Koksaki B • Diğerleri (adenovirus, kabakulak)

• Diğerleri	
-------------	--

HNF-1a: Hepatosit nükleer faktör-1a, MODY1-11: Gençlerde görülen erişkin tipi diyabet formları 1-11 (maturity onset diabetes of the young 1-11), HNF-4a: Hepatosit nükleer faktör-4a, IPF-1: İnsülin promotör faktör-1, HNF-1b: Hepatosit nükleer faktör-1b, NeuroD1: Nörojenik diferansiyasyon 1, BLK: Beta lenfosit-spesifik kinaz, DNA: Deoksi-ribonükleik asit, HIV: İnsan immün eksiklik virusu, DIDMOAD sendromu: Diabetes insipidus, diabetes mellitus, optik atrofi ve sağırılık (deafness) ile seyreden sendrom (Wolfram sendromu), KLF11: Kruppel like factor 11, CEL: Carboxyl ester lipase (bile salt-dependent lipase), PAX4: Paired box4, ABCC8: ATP-binding cassette C8, KCNJ11: Potassium inwardly-rectifying channel J11, INS: İnsülin.

2.1.7. Tip 1 Diabetes Mellitus

Daha çok okul öncesi çocuk yaş grubu ve genç bireylerde görülen Tip 1 DM, çocukluk çağı kronik hastalıkları arasında ilk sıradadır. Genellikle otoimmün kaynaklı olan bu hastalık, Fagositik hücreler ve T hücreleri aracılığıyla pankreasta bulunan beta hücrelerinin yıkımına bağlı olarak insülinin mutlak yokluğu ve plazmada glukagonun artışı ile seyretmektedir. Beta hücreleri tüm insülojenik uyarılara tepkisizdir. Eski sınıflama sistemlerinde "İnsüline bağımlı DM" olarak isimlendirilmekteydi. Etiyoloji net olarak bilinmese de genetik geçişin (%10) ve çevresel faktörler birlikte etkilidirler. Özellikle genetik yatkınlığı olan ve uygun HLA yapısına sahip kişilerde viral infeksiyonlar, stres, toksinler ve diyet gibi çevresel faktörler tetikleyici rol oynamakta ve immün hasar meydana gelmektedir. Bu hasarlanma ile Adacık hücre antikorları gibi çeşitli otoantikorlarla immün yanıt meydana gelerek pankreas beta hücrelerinde yıkım başlamaktadır (30).

Hastalar genellikle zayıf veya normal kilodadırlar. Tip 1 DM, tüm DM olgularının yaklaşık %10' unu oluşturmaktadır. İmmün aracılı (Tip 1 A) ve idiopatik (Tip 1 B) olmak üzere iki alt grubu mevcuttur. Tip 1 DM genellikle immün aracılı grup için kullanılır. Daha sık görülen immün aracılı Tip 1 DM' da pankreasın β hücrelerine karşı çeşitli otoantikorlar tespit edilmiştir. İnsülin hormonunun kan seviyesi genel olarak bu hastalarda düşük olup, periferik dokularda insülin direncinden bahsedilmez.

Yaşamın sürdürebilmesi için mutlaka insüline ihtiyaç duyulan Tip 1 DM de hastalık genellikle 20 yaşından önce ortaya çıkmaktadır. Başlangıçta hafif klinik bulgularla seyreder. Ancak zaman içerisinde sağlam kalan pankreas beta hücre miktarının %20' lere kadar gerilemesi ile birlikte klinik belirginleşir. Poliüri, polidipsi ile meydana gelen dehidratasyon, bitkinlik yanında elektrolit imbalansı, kilo kaybı görülebilir. Hipoglisemi ve ketoasidoz koması gibi komplikasyonlar da ortaya çıkabilmektedir (30).

2.1.8. Tip 2 Diabetes Mellitus

Toplumda en yaygın görülen DM tipi olup kronik ve heterojen bir hastalıktır. Epidemiyolojik çalışmalar her yaş grubunda prevalansın arttığını göstermekte ve bu durumu gelişmiş toplumlardaki obeziteyle ilişkilendirmektedirler. Hastalığın kliniği genellikle sinsi seyrlidir. Başlangıç aşamasında belirtiler ya çok hafif ya da hiç görülmemektedir. Tip 2 DM' de hastalığın klinik belirtilerinden uzun süre önce hedef organların insüline duyarlılığında azalma başlamakta, ileri dönemlerde de insülin salınımında azalma meydana gelmektedir. Hiperglisemi de zamanla ilerleme göstermektedir. Bu yüzden hastalara tanı konduğunda genellikle çeşitli komplikasyonlar ortaya çıkmıştır. Genel olarak klinik bulgular dördüncü dekatta görülmeye başlar. Erken dönemde diyet ve oral antidiyabetik ajanlarla kan şekeri regülasyonu sağlanabilmekte ve insüline genellikle ihtiyaç duyulmamaktadır. Ancak zamanla pankreasın insülin salgılaması bozulmakta ve hastalar insülin tedavisine gereksinim duymaktadırlar. Eski sınıflandırma sistemlerinde "İnsüline bağımlı olmayan DM" veya "Erişkin Diyabeti" olarak tanımlanmıştır. Tip 2 DM, Beta hücre fonksiyon bozukluğuna bağlı insülin salınımındaki yetersizlik ve/veya hedef dokularda insülin duyarlılığının azalmasıyla karakterizedir. Otoimmün beta hücre yıkımı bu grupta görülmemektedir. Hastalarda insülin seviyesi normal veya artmış olmasına rağmen hiperglisemi gözlenmektedir. İnsülin salınımının defektli olduğu bu tabloda insülin direnci ön plana çıkmaktadır. İnsülin direnci ise obezitenin önlenmesi veya çeşitli farmakolojik ajanlarla hafifletilebilmesine rağmen tamamen ortadan kalkması mümkün değildir (31).

Tip 1 DM den farklı olarak hastaların çoğu aşırı kilolu ya da obezdirler. Obezite, hastalık bulgularının ortaya çıkmasını hızlandırmakta ve diyabetin seyrini kötü yönde etkilemektedir. Ancak bu grupta da özellikle ileri yaşlarda obez olmayan hastalar mevcuttur. Bu yüzden Tip 2 DM' de obez hastalarda insülin direnci ön planda iken obez olmayan hastalarda insülin sekresyonunda azalmadan bahsedilmektedir (32).

2.1.8.1. Etiyoloji

Etiyolojide ileri yaş, sedanter hayat, doymuş yağdan zengin diyet, hipertansiyon, stres, endokrinopatiler, glikokortikoid ve cinsiyet hormonu yapısındaki ilaçlar, gebelik ve genetik yatkınlık sorumlu tutulmaktadır (33). Genetik

yatkınlık sık görölmesine rağmen genetiği kompleks olup (poligenik) tam bir tanımlama yapılamamıştır. Genetik yatkınlık açısından bu hastaların taranması son derece önemlidir. Bir hastalığın genetik bağlantısının araştırılmasında iki temel yöntem takip edilmektedir. Bunlar aday gen yaklaşımı ve tüm genom taramasıdır. Araştırma konusu olan hastalıkla ilişkili olan sorumlu olası genlerin araştırıldığı yöntem aday gen yaklaşımı olup, bağımsız kişilerde, bir allel ile bir fenotip arasındaki ilişki değerlendirilmektedir. Tüm genom taraması yönteminde ise ortak bir fenotipi paylaşan aile bireylerinin aynı geni içeren kromozomal bölgeleri paylaşma esasına dayanır ve böylelikle genler genomik pozisyonlarına göre lokalize edilmektedir (33). Çünkü ailedeki genetik yoğunlukla birlikte hastalığın yeni nesillere aktarımı artmakta (yaklaşık 2.4 kat) ve daha erken yaşlarda ortaya çıkması söz konusudur (34). Birinci derece akrabalarda Tip 2 DM mevcut olan bireylerin %20 kadarında bozulmuş glukoz toleransı veya DM görölmekte olup ilerleyen yaşla birlikte bu oranın artacağı bildirilmiştir (35).

2.1.8.2. Patogenez

Sağlıklı bir bireyde kan şekerinin regölasyonu için pankreas beta hücrelerinde salınan insülin miktarının yeterli olması ve hedef dokuların salınan insüline karşı duyarlı olması gerekmektedir. Patofizyolojisi oldukça karmaşık olan Tip 2 DM de üç temel patofizyolojik fenomen hakimdir (36).

- Hedef organlarda insülin duyarlılığında azalma ile seyreden insülin direnci
- Pankreas beta hücre disfonksiyonuna bağlı insülin salınım yetersizliği
- Karaciğerin glikoz yapımındaki artış

Bahsedilen bu fenomenlerden hangisinin daha baskın olduğu belirlenememiş olsa da insülin direncinin ön planda olduğu düşünölmektedir (37). Hastaların çoğunda aile öyküsü olsa da kesinleşmiş bir genetik faktör belirtilmemiştir (33).

2.1.8.3. İnsülin Direnci

Tip 2 DM' de temel parametre olan insülin direnci, normal miktarlarda salınan insülinin yeterli biyolojik yanıtı oluşturamaması, glikoz kullanımını uyarma etkisinin azalması ve hedef hücrelerin insüline olan duyarlığı azalmasıyla karakterizedir. Bu yüzden klinikte normalden yüksek konsantrasyonlarda bulunan insülinle ilişkilidir

(38). İnsülinin hepatik glukoz üretimini baskılayıcı etkisi vardır, bu etkiyi karaciğerde glikoneogenezi ve glukojenolizi inhibe ederek göstermektedir. Bununla birlikte dolaşımdaki glukozun da periferik dokulara taşınarak glikojen şeklinde depolanmasını veya okside edilerek enerji üretilmesini sağlamaktadır. Karaciğer, kas veya yağ dokusu gibi hedef dokulardaki hücrelerin insülinin etkisine duyarsız olması halinde hepatik glukoz üretimi üzerindeki baskılayıcı etki ortadan kalkar, kas ve yağ dokusunda da insülin aracılığı ile olan glukoz kullanımı azalır. Bu durumda insülinin salınımı artırılarak oluşan duyarsızlık kompanze edilmeye çalışılmaktadır. Bu kompanzasyon pankreas beta hücrelerinin, hedef dokuların insülin duyarlılığındaki değişikliklerine adaptasyon yeteneği ile sağlanabilmektedir. Ancak Tip 2 DM hastalarında veya glukoz tolerans bozukluğunda bu adaptasyon yeteneği de ortadan kalkmakta ve beta hücrelerinin insülin sekresyonu artış göstermemektedir. Bununla birlikte Tip 1 DM' deki kadar olmasa da Tip 2 DM' de de progresif beta hücre hasarlanması görülmektedir. Bu nedenlerden dolayı beta hücre fonksiyon bozukluğu da Tip 2 DM patogeneziinde oldukça etkilidir (39).

Diabetes Mellitus açısından genetik yatkınlığı olan ve obezite gibi yüksek riskli hastalarda yukarıda bahsedilen insülin direncini kompanze etmek için insülinin aşırı salgılanması zamanla pankreas beta hücrelerinde yıpranmaya neden olmaktadır. Bu durumda salgılanan insülin miktarında azalma ile birlikte glikoz intoleransı gelişerek klinik bulgular ortaya çıkmaktadır.

İnsülinin glukoz metaboizmasında etkili olması için hedef hücrelerdeki belirli reseptörlere bağlanması gerekmektedir. Bu reseptörlerde bulunan tirozin kinaz enziminin aktivasyonu ile ikincil haberciler fosforilasyon-defosforilasyon aşamalarını tetikleyerek hücre içinde glukoz metabolizmasını uyarmaktadırlar. İnsülin direnci hücreler olarak prereseptör, reseptör ve postreseptör olmak üzere üç yerde görülür. Bunlar, İnsülin antikoru gibi Prereseptör inhibitörler, insülin reseptör otoantikoru ve hiperinsülinizme bağlı reseptörlerin down regülasyonu gibi reseptör inhibitörleri ve obezite, karaciğer hasarı ya da kas inaktivitesinde görülen hedef organların insüline zayıf cevabı veya glukokortikoidler, büyüme hormonu, progesteron, tiroksin, katekolaminler, insan koryonik somatomammotropini gibi hormonların fazlalığına bağlı postreseptör etkiler olarak sınıflandırılmıştır. Bu

aşamalardan özellikle post reseptör düzeyindeki defektler insülin direncinde önemli rol oynamaktadırlar.

2.1.8.4. Evreleri

Tip 2 DM' de bireylerin uzun süre asemptomatik olabileceği ve zaman içerisinde belirtilerin ortaya çıkabileceği ve klinik seyrin giderek ağırlaşabileceğine dair ilgili mekanizmalardan yukarıda bahsedilmiştir. Bu bilgiler ışığında hastalarda klinik bulguların ortaya çıkmasıyla ilişkili olan ve birbirini takip eden üç ayrı dönem mevcuttur.

Evre 1 (Preklinik dönem): Hastalığın başlangıç aşamasında pankreas beta hücrelerinin fonksiyonları normal veya normale yakındır. Periferik dokulardaki hedef hücrelerin insüline duyarlılığının azalması neticesinde beta hücreleri daha fazla insülin salgılayarak insülin direnci aşmaya çalışılmaktadır. Bu sayede normal glukoz toleransı sürdürülmekte ve oral glukoz tolerans testi de normal seviyede tutulmaktadır.

Evre 2 (Bozulmuş glukoz toleransı dönemi): Pankreas beta hücreleri yoğun şekilde çalışma sonrasında bitkin düşerek insülin salgılamasında bir miktar azalma meydana gelmekte ancak halen yüksek seviyelerde tutulmaktadır. Bu dönemde OGTT değerleri bozulmuştur. Açlık kan şekeri normal seviyelerde tutulmasına rağmen OGTT' de ikinci saat değeri 140 mg/dL' nin üstüne çıkmaktadır. Hiperinsülinemi devam etmekle birlikte birinci evredeki gibi periferik direnci aşmaya yeterli düzeyde değildir. Poliüri ve polidipsi gibi klinik belirtiler bu evrede ortaya çıkar. Koroner arter hastalığı için risk faktörleri olan hipertansiyon, hipertrigliseridemi, HDL-kolesterol düşüklüğü bu evrede sık görülür, bu durum da makrovasküler komplikasyonlara yol açabilir

Evre 3 (Görünür diyabet dönemi): Klinik belirtilerin ve bazı komplikasyonları görüldüğü bu dönemde en etkili faktör pankreas beta hücre sayısında ve salgı fonksiyonunda azalmadır. Beta hücrelerinin fonksiyon bozukluğuna yol açan temel neden genetik olmasına rağmen, hiperglisemi ve artmış yağ asitlerinin toksik etkisi de sorumlu tutulmaktadır. Bu evrede karaciğer glukoz üretimi ve periferik insülin direnci de giderek artmıştır. Bu dönemin erken safhalarında salgılanan insülin yeterli olduğundan dolayı diyet ve oral antidiyabetik ajanlara iyi yanıt alınabilmektedir. Ancak zamanla insülin gereksinimi ortaya çıkmaktadır (40).

2.1.9. Gestasyonel Diabetes Mellitus

İlk kez gebelik esnasında tespit edilen değişik derecelerde glukoz intoleransıdır. Genellikle hafif ve asemptomatik seyreden hastalık gebeliğin 24.-28. haftaları arasında yapılan OGTT ile ortaya çıkar (41). Gestasyonel DM Gebelerin yaklaşık %7' sinde görölmektedir.

Hem anne hem de bebek açısından mortalite ve morbiditeyi artıran bir durumdur. Kalıcı Tip 2 DM gelişimi için ciddi risk faktörüdür (42). Bu açıdan gebeliğin sona ermesinden sonra en erken 6 hafta içerisinde hastanın yeniden değerlendirilmesi önemlidir. Genellikle glukoz regölasyonu doğumla birlikte normale dönmektedir.

Gestasyonel diabetes mellitusun tedavi edilmediği durumlarda anne, fetus, yenidoğan ve çocuk için çeşitli riskler taşıyabilmektedir. Gestasyonel DM' ilerde annede tip 2 DM gelişimine, fetal hayatta konjenital anomalilere, travmatik doğum riskine, bebek için makrozomi riskine neden olabilmektedir. Gebelerde diabetik komplikasyon %90 oranında gestasyonel DM durumlarında gözlenir (41). Gestasyonel DM' de tip 2 DM' ye dönme oranı farklı çalışmalarda değişik oranlarda gözlenmiştir. Çalışma grubunun özelliklerine göre gestasyonel DM' li hastalarda %30-50 oranında tip 2 DM gelişebileceği tespit edilmiştir (42).

Gestasyonel DM prevalansı %18 olarak tespit edilmiştir. Bazı etnik gruplarda özellikle Asyalı, Afrikalı, Latinler ve Amerikan yerlilerinde çok daha sık olarak gözlenmiştir. Gestasyonel DM hastalarının az bir bölümünde önceden tanı almamış tip 2 DM gözlenirken bu hastaların çoğunda glukoz intoleransının gebelik döneminde başladığı tespit edilmiştir (43).

Gestasyonel DM ve tip 2 DM hastalıklarının görülme sıklığı ve risk faktörleri birbirine benzerlik göstermektedir. İki hastalıkta da benzer şekilde insülin salınım bozukluğu ve insülin direnci geliştiği bildirilmiştir (44-46). Gebelikte insülin duyarlılığında da bir bozulma olduğu gebelik ilerledikçe tedrici olarak insülin direncinde artış tespit edilmiştir. Bu etkinin gebelikte artan yağ dokusundan ve plasental hormonların etkisiyle olduğu bildirilmiştir. Glukoz intoleransı genellikle gebeliğin ikinci yarısında başlayarak doğuma kadar ilerler doğum sonrası ise ortadan kaybolur (47).

Gestasyonel DM' de ileri yaş, birinci derece akrabalarda DM öyküsü, obezite, sigara kullanımı, makrozomik bebek öyküsü, abortuslar, geçmiş gebeliklerde glukoz intoleransı, ilk doğum öncesi vizitte glikozüri gözlenmesi, PCOS, esansiyel hipertansiyon ya da gebelik hipertansiyonu olması, TNF- α , çeşitli adiponektin, otoimmünite, genetik faktörler gibi nedenler ve risk faktörleri belirlenmiştir (48-51).

Gestasyonel DM bebekler açısından çeşitli riskler barındırmaktadır, bunlardan bazıları uzamış sarılık, konjenital malformasyon, respiratuvar distress sendromu, makrozomi, ventriküler hipertrofi, hipokalsemi, neonatal hipoglisemi, ölü doğum olarak bildirilmiştir. Anne için ise riskler hipertansif hastalıklar, preterm doğum, annenin doğum travması, artmış C/ S girişimi, tip 2 DM riski, preeklampsi (52).

2.1.10. Sekonder Diabetes Mellitus

İnsülin salınım yeri olan pankreasın etkilenebileceği pek çok sebeple oluşabilen kan şekerindeki yükseklikle karakterize durumdur. Endokrinopatiler, enfeksiyonlar, ilaçlar, çeşitli kimyasallar, pankreasın ekzokrin bez patolojileri, insülin üretim ve aktivitesindeki genetik patolojiler, beta hücre fonksiyonundaki genetik bozukluklar, pankreasın ekzokrin hastalıkları, immunopati nedenli diabet tabloları ve diyabetle ilişkili olabilecek çeşitli genetik sendromlar bu grup içerisinde sayılmaktadır (24).

2.2. YAĞ DOKUSU ve ADİPOKİNLER

Yakın zamana kadar sadece bir enerji deposu ve mekanik bir bariyer olduğu düşünülen yağ dokusunun aktif bir endokrin organ olduğu anlaşılmıştır (53). Yapı olarak lipid dolu adipositlerin birbirine gevşek şekilde bağlanması ile oluşmuştur. İçerisinde çeşitli yapısal hücreler (makrofaj, lökosit, fibroblast ve preadiposit gibi) bulundurulur. Yağ dokusunun temel iki komponenti vardır. Bunlar uniloküler lipid damlacıkları ihtiva eden ve ısı regülasyonundan sorumlu kahverengi yağ dokusu ve multiloküler lipid damlacıkları ihtiva eden enerji depolanmasından sorumlu beyaz yağ dokusudur. Kahverengi yağ dokusu yenidoğan döneminde en fazla miktarda bulunurken erişkin bireylerde oldukça azalmaktadır. Beyaz yağ dokusunun temel görevi adipokinlerin salgılanmasıdır. Beyaz yağ dokusunun Viseral ve deri altı yağ dokusu komponentleri bulunur. Viseral yağ dokusu vücut ağırlığının %15 kadarını oluşturmaktadır.

Yağ dokusunun miktar ve oranındaki değişikliklerin de hiperlipidemi, Tip 2 DM, Kardiyovasküler hastalıklar gibi çeşitli metabolik hastalıklarla ilişkili olduğu gösterilmiştir. Yağ dokusu ile bu metabolik hastalıkların gelişimi arasındaki ilişki yağ dokudan salgılanan adipokinlerle açıklanmaktadır (54). Enerjinin trigliserid şeklinde yağ hücrelerinde depolanması ve gerektiğinde yeniden dolaşıma salınması işlemleri hormonal sinyallerle kontrol edilmektedir. Özellikle insülin hormonunun bilinen bu etkisi yanında katekolaminler ve glukokortikoidler de etkilidir. Bu endokrin fonksiyonlar da yağ dokusundan salgılanan adipokinler aracılığıyla gerçekleşmektedir.

Adipokinler halen üzerinde araştırmalar yapılan ve yenileri keşfedilen oldukça geniş bir ailedir. Yağ dokusundan salgılanan sitokinler olarak da tanımlanmıştır. Adipokinlerin en eski üyesi leptin olup, resistin, adiponektin, RBP4 de bilinen 20 kadar adipokinlerden bazılarıdır. Bununla birlikte yakın zamanda keşfedilen ve üzerlerinde yoğun araştırmalar yapılan adipokinler arasında visfatin, apelin, vaspin, hepcidin, chemerin, lipocalin 2, adipsin, omentin sayılabilir (3).

2.2.1. Chemerinin genel özellikleri

Yağ dokusundan salınan adipokinlerden olup yakın zamanda keşfedilen Chemerin, yağ dokusu ve karaciğer başta olmak üzere pek çok dokuda eksprese edilmektedir. İnaktif bir protein olarak salınan prochemerin serin proteazları ile aktif forma dönüşmektedir. Bu dönüşümde etkili olan plazmin, faktör XIIa, C1s, nötrofil elastaz, katepsin G ve triptaz gibi serin proteazları, prochemerin' in C-terminal ucundan 5-10 aminoasit ayırması ile 18 kDa' luk tam uzunlukta inaktif bir pro-protein olan prochemerin yıkıma uğrar. Bu yıkımla birlikte 16 kDa' luk aktif kısa formu olan chemerin meydana gelir (56). Chemerin kimaz enziminin etkisiyle 154 aminoasitlik uzunlukta başka bir forma dönüştürülebilir ve bu form da inaktiftir (57). Prochemerin'in biyoaktivitesi daha düşüktür. Yağ dokusunda bu iki formdan hangisinin bulunduğu netlik kazanmamış olmasına rağmen, prochemerin' in yıkımına neden olan serin proteazlarından katepsin G ve Cs1' in yağ dokudan eksprese edildiği gösterilmiştir (58).

Chemerin yakın zamanda tanımlanmış bir adipokindir. Adipogenezis ve adiposit metabolizmasında görev almaktadır. Chemerin proteoliz ile aktive edilmesi gereken bir prekürsör olarak sentezlenmektedir. İnflamasyon, koagülasyon,

fibrinolizis ve kanser durumunda prochemerin aktif hale dönüşmektedir. Bu nedenle inflamatuvar durumlarda chemerin düzeyi yükselir ve kronik inflamatuvar hastalıklarda ChemR23 eksprese eden hücrelerinde toplanmaktadır. İmmünohistokimyasal yöntemlerle lupus eritematozusdaki deri lezyonlarındaki dermal kan damarlarının endotel tabakasında, sekonder lenfoid organların endotelial venüllerinde chemerin tespit edilmesi ile lökositlerin bu alanlara göç etmesini tetiklediği düşünülmektedir (64).

Şiddetli lupus nefritli hastaların böbrek dokularında ChemR23 eksprese eden pDC infiltrasyonu bildirilmiştir. Benzer şekilde bu hastalarda renal proksimal tübüllerin epitelyal hücrelerinde ve lenfatik endotel tabakasında da chemerin varlığı tespit edilirken normal böbrek dokusunda tespit edilmemiştir. Chemerin ayrıca psöriyaziste aktif lezyonlardaki ve komşu dokulardaki fibroblastlarda, mast hücrelerinde ve epitelyal hücrelerde tespit edilmiş olup, bu lezyonlarda nötrofillerin ve pDC lerin yoğun kümelenmesi chemerin'in kemotaktik etkisini düşündürmektedir (69).

Oral liken planusda dermal entotel tabakasında chemerin ekspresyonunun gözlenmesi ile birlikte eş zamanlı olarak NK hücrelerinin ve pDC hücrelerinin kümelenmiş olması chemerin'in inflamatuvar hastalıklarda bu iki hücre grubu ile iletişimini göstermektedir (70).

Deneyisel olarak LPS ve INF- γ ile uyarılan peritoneal makrofajların sitokin üretimini inhibe ettiği saptanmıştır.

Hava yollarında lipopolisakkarid birikimi ile seyreden akut akciğer hasarı modelinde chemerin ChemR23 üzerinden antiinflamatuvar etkinlik sergilemiştir. LPS ile birlikte chemerin'in verilmesi akciğerdeki nötrofillerin birikimini ve kemokinlerin ve sitokinlerin üretimini azaltmıştır (71). İnsanlardaki Respiratory Syncytial Virus (RSV) a karşılık gelen farelerdeki *Pnömoni virusu* ile enfekte edilen hayvanlarda ChemR23^{-/-} farelerde daha yüksek mortalite, akciğer fonksiyonlarında ciddi bozulma, nötrofilik infiltrasyonun artışı görülmüştür. Bu bulgular chemerin/ChemR23 sisteminin savunma hücreleri üzerindeki kemotaktik etkileri ile açıklanmıştır. Bu etkileri de kemik iliğinden köken alan lökositlerden bağımsız bir antiinflamatuvar özellikleri olduğunu göstermiştir. Her ne kadar kesinleşmiş bir etki mekanizması ortaya konmamış olsa da, chemerin ve reseptörlerinin viral pnömoni

fizyopatolojisinde önemli rol oynadığı belirgin olup, antiinflamatuvar özelliklerinden dolayı tedavi yaklaşımlarında dikkate alınması önerilmektedir. Diğer yandan chemerin ve ChemR23 'ün deneysel otoimmün ensefalomyelit patogenezinde rol oynadığı gösterilmiştir. ChemR23-/- farelerde beyindeki lökosit infiltrasyonu daha az olup klinik bulguların da daha hafif seyrettiği belirtilmiştir (61).

Sigara ile ilişkili KOAH modelinde chemerin/ChemR23 in etkinliği incelendiğinde farelerin bronkoalveolar lavaj sıvılarında chemerin' in seviyesinin artmış olduğu gösterilmiştir. ChemR23-/- farelerde sigara dumanına maruziyet sonrasında BAL sıvısındaki proinflamatuvar kemokin düzeylerinin, nötrofillerin, DC ve CD4+ T hücrelerinin akciğerde kümelenmesinin daha az olduğu belirtilmiştir (72). Bu bulgular chemerin/ChemR23 sisteminin sigara dumanına maruz kalan akciğer dokusunda doğal ve kazanılmış immün hücrelerinin birikimini sağladığını ve proinflamatuvar bir rol oynadığını düşünülmektedir.

Kardiyovasküler hastalıklardaki ilişkisine bakıldığında, serum chemerin seviyesinin aterosklerotik lezyonların derecesi ile korele olmamasına rağmen chemerin' in lokal üretiminin önemli olduğu düşünülmektedir. Chemerin' in bu etkisini aterosklerotik plakların gelişiminde ve ilerlemede sorumlu olan makrofajların toplanmasını sağlayarak gösterdiği öne sürülmektedir (75). Chemerin' in hipertansif hastaların renal dokularında yüksek miktarda eksprese edilmektedir. Plazma chemerin seviyesi kan basıncı yükselmesi ile ilişkisi gösterilmiştir. Bu nedenle kan basıncının regülasyonunda etkinliğinin ayrıntılı olarak ortaya konması gerekmektedir (76).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. ÇALIŞMAYA ALINAN HASTALAR

Temmuz 2016 ile Mayıs 2017 tarihleri arasında Adıyaman Üniversitesi Tıp Fakültesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Dahiliye Polikliniğine başvuran ve Tip 2 DM tanısı konan 100 hasta ile DM nedeniyle tetkik edilen fakat tetkikleri normal, DM saptanmayan 50 sağlıklı gönüllü çalışmaya dahil edildi.

Çalışmaya dahil edilme kriterleri

- 18 yaş üzeri bireyler.
- DM grubunun Tip 2 DM tanısı konmuş hastalar olması.
- Kontrol grubunda DM saptanmaması.

Çalışmadan dışlanma kriterleri

- DM grubunda Tip 2 DM dışındaki diyabetes mellitus türlerinin olması.
- Kontrol grubunda kronik bir hastalığın olması.
- 18 yaş altı bireyler.

3.2. ARAŞTIRMANIN TİPİ

Araştırma vaka-kontrol çalışmasıdır.

3.3. ÇALIŞMA YÖNTEMİ

Çalışmaya alınan hastaların boy, kilo, yaş, DM yılı, cinsiyet, HbA1c, TSH, açlık glukoz, üre, kreatinin, ürik asit, Kolesterol, Trigliserit, HDL, LDL, total protein, albümin, AST, ALT, Sodyum, Potasyum, Kalsiyum, Hemogram ve vitamin B12 verileri dökümanete edildi. Tip 2 DM hastalarına nöropati, retinopati ve nefropati gibi komplikasyonlar açısından elektromiyografi, fundoskopik bulgular ve 24 saatlik idrar mikroalbumin değerleri dökümanete edildi. Kan örneklerinden DNA izolasyonu, Adıyaman Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı Laboratuvarında Invitrogen K1820-02 Genomic DNA Mini Kit (250 çalışma) ile yapıldı. Chemerin gen Polimorfizminin tespiti, İstanbul Teknik Üniversitesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümünde Tetra-Amplifikasyon Refrakter (T-ARMS-PCR) mutasyon sistemi polimeraz zincir reaksiyonu ile belirlendi. T-ARMS-PCR sonunda örnekler jel elektroforezi kullanılarak yürütüldü. Bazı örnekler dizi analiz ile valide edildi. Bununla birlikte serum Chemerin protein seviyeleri ELISA yöntemi ile Adıyaman

Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarında Enzyme-Linked Immunosorbent Assay Kit For Chemerin (CHEM) (Cloud-clone corp. marka) kullanılarak EZ Read 400 Biochrom marka cihazda ölçüldü.

3.4. KULLANILAN YÖNTEMLER

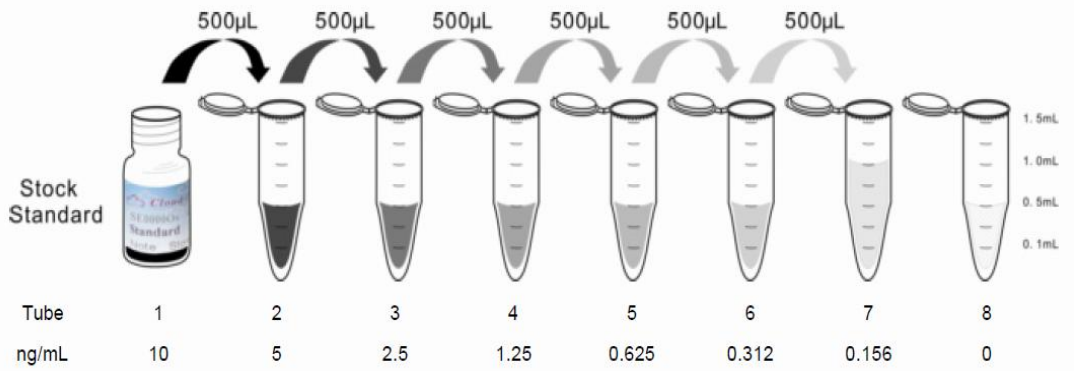
3.4.1. ELISA İçin Gerekli Olan Malzemeler ve Cihazlar

1. Ependorf 5810R marka çok amaçlı soğutmalı santrifüj.
2. Ependorf 5424R marka santrifüj.
3. Vorteks
4. Multi Therm Heat Shake
5. ELISA cihazı
6. Yüksek hassasiyetli ve tek kullanımlık ipeçleri olan tek veya çok kanallı pipetler.
7. Mikrosantrifüj Tüpleri.
8. Deiyonize veya damıtılmış su.
9. 0.01 mol / L (veya 1 x) Fosfat Tamponlu Tuz (PBS), pH 7.0-7.2.

3.4.2. ELISA Protokolü

3.4.2.1. Standartın Hazırlanması

- 1) Bir adet standarda 1 ml standart diluent eklenir 10 dk oda ısısında bekletilir (köpük oluşmamasına dikka edilerek hafifçe çalkalanır).
- 2) Standart solüsyonu çözündükden sonra 8 adet ependorf tüp alınır ve numaralandırılır. Bu tüplerden 2, 3, 4, 5, 6, 7 ve 8. tüplere 500µl standart diluent eklenir. Sekizinci tüpün kapağı kapatılır. Hazırladığımız standart ilk tüpe alınır. (1 ml) Daha sonra 1. tüpten 500µl alınıp 2.tüpe konur pipetaj yapılır. Bu işleme 7.tüpe kadar devam edilerek seri dilüsyon yapılır.



Şekil 1. Standart Hazırlanması

3.4.2.2. Detection Reagent A ve B' nin Hazırlanması

- 1) Detection Reagent A alınır ASSAY Diluent A' nın içerisinde konur. (+4 °C ye konur)
- 2) Detection Reagent B alınır ASSAY Diluent B' nin içerisinde konur (+4 °C ye konur)

3.4.2.3. Wash Solution Hazırlanması

- 1) 290 ml distile su (ultra saf su) içerisinde 10 ml yıkama solüsyonuna eklenir.

3.4.2.4. Serum-Plazma Örneklerin Hazırlanması

- 1) 490µl PBS (Fosfat Tamponu) içerisinde 10µl serum örneği konularak örneklerin dilüe edilmesi sağlanır.
- 2) Standartlardan 100µl alınıp ELISA plate'e konur.
- 3) Örneklerden 100µl alınarak yüklenir. Plate yapışkanı kapatılır.
- 4) 1 saat 37 °C de inkübasyon yapılır.
- 5) Inkübasyon sonrası plate içerisindeki sıvı dökülür ve kağıt havlu yardımıyla kurulama yapılır .
- 6) Assay Diluent A içerisinde hazırlanan Detection Reagent A alınır ve bütün kuyucuklara 100 µl konur. Plate yapışkanı kapatılır 1 saat 37 °C de inkübe edilir.
- 7) Inkübasyon sonrasında plate içindeki sıvı dökülür.
- 8) 200µl wash solüsyonu ile 3 defa yıkanır ve kurutulur.
- 9) Assay Diluent B içerisinde hazırlanan Detection Reagent B bütün kuyucuklara 100µl eklenir. 30 dk. 37 °C de inkübe edilir.
- 10) 8. aşamadaki gibi 5 defa yıkama yapılır.
- 11) Yıkamadan sonra 90µl substrat solüsyonu eklenir yapışkanı kapatılır. 20-30 dk. inkübe edilir.

12) Her kuyucuğa 50µl stop solüsyonu eklenir ve hazırlanan plate ELISA cihazına 450nm dalga boyunda okutulur.

3.4.3. Kandan DNA İzolasyonu

3.4.3.1. Kullanılan Malzemeler

1. 0,5 µl -10µl, 10µl-100 µl ve 100µl-1000µl otomatik pipet ve steril pipet uçları
2. Invitrogen K1820-02 Genomic DNA Mini Kit (250 çalışma)
3. Nanodrop 2000c (absorbans ölçümlerinde kullanılmak üzere)
4. Ependorf 5424R marka santrifüj.
5. Vorteks
6. Multi ThermHeat Shake
7. PCR termal cycler

3.4.3.2. DNA İzolasyon Protokolü

Not: Çalışmadan önce bir sefere mahsus olarak WASH 1 ve 2 kutularının üzerinde yazan miktar kadar WASH 1 ve 2'ye ethanol (%96-100) kondu.

1. Kuru ısı bloğu veya su banyosu 55 dereceye ayarlandı.
2. Mikrosantrifüj tüpüne (1,5 veya 2 ml'lik)
 - 20 mikrolitre Proteinaz K,
 - 20 mikrolitre RNase A,
 - 200 mikrolitre kan örneği (kan örneklerini el ile yavaşça alt üst edildi),

Eklendi ve vorteks edilerek oda sıcaklığında 2 dk. inkübe (bekletiniz) edildi.

3. 200 mikrolitre Prelink Genomic Lysis/Binding Buffer ekleyip vortekslendi (vorteks işlemi sonunda karışımın renginin siyaha dönmesi gerekmektedir.)
4. Kuru ısı bloğu veya su banyosunda örnekler 55 derecede 10 dk inkübe edildi (örnekler tamamen siyaha dönecektir).
5. 200 mikrolitre %96-100 ethanol eklendi ve 5 sn vortekslendi.
6. Purelink Spin kolonlara (içerisinde filtrelili tüp olan kilit kapaklı örneklem tüp) ürünümüzün tamamını (640 ml) eklendi.
7. Oda sıcaklığına ayarlı santrifüj ile 10.000g (rpm) de 1 dk santrifüj edildi. (santrifüjde konulan örneklerin karşılarının dolu olmasına dikkat edildi.)
8. DNA'lar filtrede kaldığı için filtrelili kolon alınarak ikinci boş bir toplama tüpüne aktarıldı.

9. WASH 1'den ürün üzerine 500 mikrolitre eklendi.
10. İkinci kez 10.000g (rpm) de 1 dk'lıksantrifüjden sonra filtrelili üst kısmı yeni bir toplama tüpüne aktarıldı.
11. WASH 2'den ürün üzerine 500 mikrolitre eklendi.
12. Oda sıcaklığında maksimum devirde (20000g) de 3 dk santrifüj edildi.
13. Spin kolonu 1,5 ml' lik ependorfa alınarak 50 mikrolitre elution buffer ekleyip maksimum devirde 1 dk santrifüj edildi. Nano drop cihazında DNA konsantrasyonlarına bakıldı ve konsantrasyon 200 ng/mikrolitre olarak ayarlandı.
14. Elde edilen DNA -20 derecede muhafaza edildi.

3.4.4. Chemerin Gen Varyasyon Genotiplemesi

Kandan izole edilmiş 100 hasta ve 50 sağlıklı kontrol DNA' sı kullanılarak aşağıda verilen koşullara göre *RARRES2 (CHEMERIN)* geninde bulunan rs17173608 numaralı G/T varyasyonunun genotiplemesi için T-ARMS-PCR yöntemi gerçekleştirilmiştir (Tablo 5, Tablo 6). Genotipleme için aşağıda dizileri verilen F0, R0, F1 ve R1 primerleri kullanılmıştır (Tablo 7). DNA miktarları toplamda 200 ng/μl olacak şekilde ayarlanmıştır.

Tablo 5.PZR İçeriği

Primer F1	0.5 μl
Primer F0	0.75 μl
Primer R0	0.75 μl
Primer R1	0.75 μl
DNA	4 μl
dNTP	2 μl
10X Tampon (iPfu 10X Buffer)	2.5 μl
Polimeraz (iPfu)	0.5 μl
Steril Su	13.25 μl
Toplam	25 μl

Tablo 6.ARMS-PZR Koşulları

Aşama	Döngü	Sıcaklık	Zaman
Denatürasyon	1	94°C	2.0 dk
Denatürasyon	35	94°C	20 sn
Bağlanma		60°C	10 sn
Uzama		72°C	30 sn
Son Uzama	1	72°C	5 dk
Bekleme	1	12°C	∞

Tablo 7. Primer Dizileri

Primerler	5' - 3' diziler
Primer F1 (G aleli)	ATTGCTATAGTCCAGTGCCCTTCG
Primer R1 (T aleli)	CCAGTTCCTCTGTCCGGCTTAA
Primer F0	GTCAGACCCATGCAGTTTTCAAAC
Primer R0	GAGTTCCTCTCTCAAGCATCAGGG

ARMS-PZR sonunda örnekler jel elektroforezi kullanılarak % 2 lik agaroz jelde 110 V'da 35 dk yürütülmüştür. Hasta ve sağlıklı kontrollerin genotiplerine jel görüntülerine bakılarak karar verilmiştir. Hashemi M. ve arkadaşları tarafından yazılan makaledeki jel görüntüsü genotipleme için referans olarak kullanılmıştır (77) (Resim 1).

3.4.4.1. Dizi Analizi

Bazı PZR örneklerinde validasyon için dizi analiz yapıldı. Dizi analizi hizmet alımı kapsamında gerçekleştirildi.

3.4.5. HbA1C Düzeylerinin Ölçümü

3.4.5.1. HPLC ile HbA1c Ölçümü

Çalışmada Chromsystems (Chromsystems, Instruments and Chemicals, München –Germany) reaktifleri ile D-10 HPLC sistemi (Biorad, USA) kullanıldı.

5mL kan örneği borat içeren 1 ml hemoliz reaktifi ile karıştırıldıktan sonra labil HbA1c fraksiyonunun ayrılabilmesi için 20 dk 37 °C' de inkübe edildi. Analizden önce hemoliz olmuş örnekler, 5 dk 10.000 x g' de santrifüj edildi. Okumalar 417 nm dalga boyunda UV-visible dedektör kullanılarak yapıldı. Kromatogram da 1.75 dakikada elde edilen pik' in alanı (HbA1c) ile tüm piklerin alanları (Total Hb) hesaplandı ve $(HbA1c/Hb) \times 100$ denklemi ile % HbA1c degerleri bulundu.

3.4.6. Diğer Biyokimyasal Parametrelerin Ölçümü

Açlık Kan Glukozu, total kolesterol, HDL Kolesterol, LDL kolesterol, trigliserid, Total Protein, Albumin, AST, ALT, günlük mikroalbumin seviyeleri için ARCITEC C16000 (Abbot, USA) ile fotometrik yöntem kullanıldı. İyonlar için ise ARCITEC C16000 (Abbot, USA) ile iyon selektif elektrot yöntemi kullanıldı.

Hemogram ölçümü için cell-dyne ruby (Abbot, USA) ile empedans ve laser scanning ölçüm yöntemi kullanıldı.

3.5. İSTATİSTİKSEL ANALİZLER

Elde edilen veriler kodlandı Statistical Package for Social Sciences (SPSS) for Windows version 15.0 programı ile istatistiksel analizler yapıldı. Veriler değerlendirilirken sürekli değişkenler ortalama standart sapma ve frekans veriler ise sayı (%) ile ifade edildi. İstatistiksel analizlerde student t testi, Mann Whitney U, Ki Kare ve Pearson korelasyon testleri kullanıldı. İki grup arasındaki laboratuvar ölçümleri yönünden farkın önemliliği Two tailed Wilcoxon matched-pairs signed rank test kullanılarak tespit edildi. $P < 0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

3.6. ETİK KURUL ONAYI

Bu çalışmanın etik kurul onayı Adıyaman Üniversitesi Biyomedikal Araştırmalar Etik Kurulu'ndan alındı (20.01.2016 tarihinde, Toplantı sayısı 1, Karar sayısı 2016/1-17).

4. BULGULAR

Tip 2 DM tanılı hasta grubunda diyabet yılı ortalaması 8.3 ± 5.5 yıl, Vücut kitle indeksi ortalaması 30.4 ± 6.3 kg/m², HbA1C ortalaması $\%8.7 \pm 2.3$, Ürik asit ortalaması 4.7 ± 1.3 mg/dl, Total kolesterol ortalaması 190.9 ± 38.5 mg/dl, Trigliserid ortalaması 222.4 ± 153.8 mg/dl, HDL ortalaması 40.6 ± 10.3 mg/dl, LDL ortalaması 110.03 ± 28.3 mg/dl, Total protein ortalaması 0.7 ± 0.4 g/dl, Albümin ortalaması 3.8 ± 0.3 g/dl, AST ortalaması 23.5 ± 24.9 u/l, ALT ortalaması 24.4 ± 12.8 u/l, Sodyum ortalaması 137.4 ± 2.5 mmol/L, Potasyum ortalaması 4.6 ± 0.3 mmol/L, Kalsiyum ortalaması 9.1 ± 0.4 mg/dl, Günlük Mikroalbumin ortalaması 4.2 ± 12.2 mg/24 saat (Tablo 8).

Tablo 8. Tip 2 DM tanılı hasta grubu için kan parametreleri

	Tip 2 DM (Ortlama± Standart sapma)
Diyabet Yılı	8.3 ± 5.5 yıl
BMI	30.4 ± 6.3 kg/m ²
HbA1C	$8.7 \pm 2.3\%$
Ürik Asit	4.7 ± 1.3 mg/dl
Kolesterol	190.9 ± 38.5 mg/dl
Trigliserid	222.4 ± 153.8 mg/dl
HDL	40.6 ± 10.3 mg/dl
LDL	110.03 ± 28.3 mg/dl
Total Protein	0.7 ± 0.4 g/dl
Albümin	3.8 ± 0.3 g/dl
AST	23.5 ± 24.9 u/l
ALT	24.4 ± 12.8 u/l
Sodyum	137.4 ± 2.5 mmol/L
Potasyum	4.6 ± 0.3 mmol/L
Kalsiyum	9.1 ± 0.4 mg/dl
Günlük Mikroalbumin	4.2 ± 12.2 mg/24 saat

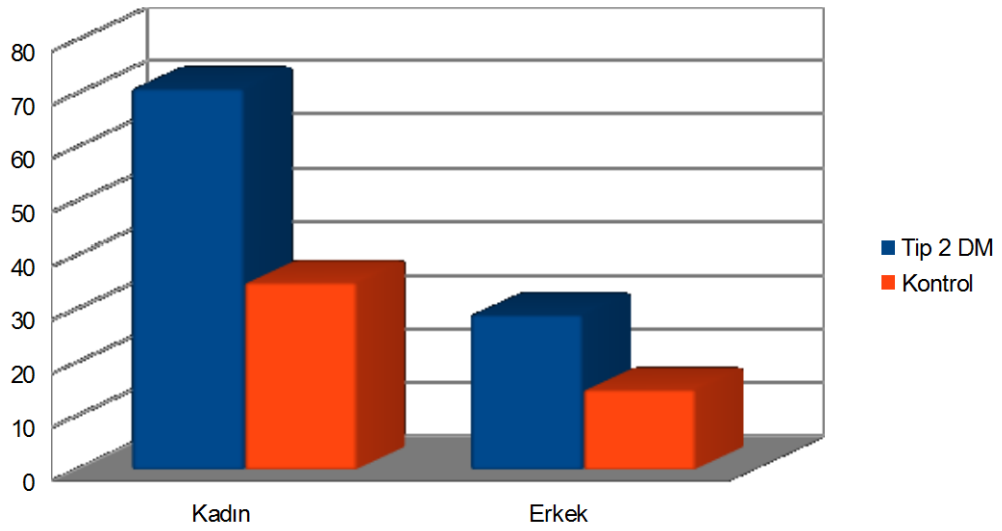
Tip 2 DM hastaların 71'i (%71) kadın, 29'u (%29) erkekti. Kontrol grubunun 35'i (%70)kadın, 15'i (%30) erkekti.(Tablo 9 ve Şekil 2)

Tablo 9. Tip 2 DM hasta ve sağlıklı kontrol gruplarının cinsiyet açısından karşılaştırılması*

		Tip 2 DM	Kontrol	p	OR (%95 CI)
Cinsiyet	Kadın	71 (%71)	35 (%70)	0.899	0.953 (0.453-2.004)
	Erkek	29 (%29)	15 (%30)		

*Ki-kare testi uygulandı

Yapılan istatistiksel incelemede gruplar arasında cinsiyet açısından anlamlı bir ilişki saptanmadı. ($p>0.05$) (Tablo 9)



Şekil 2. Cinsiyete göre gruplar arası dağılım

Tip 2 DM tanımlı hastaların glukoz değerleri ortalaması 187.13 ± 101.9 mg/dl, kreatinin değerleri ortalaması 0.76 ± 0.13 mg/dl, üre değerleri ortalaması 29.0 ± 9.2 mg/ml, TSH değerleri ortalaması 1.93 ± 4.9 uIU/mL, Hemoglobin değerleri ortalaması 13.5 ± 1.8 gr, Vitamin B12 değerleri ortalaması 234.9 ± 173.6 pg/ml idi. Kontrol grubunun glukoz değerleri ortalaması 91.5 ± 10.7 mg/dl, kreatinin değerleri ortalaması 0.71 ± 0.11 mg/dl, Üre değerleri ortalaması 27.6 ± 8.7 mg/ml, TSH değerleri ortalaması 1.31 ± 0.6 uIU/mL, Hemoglobin değerleri ortalaması 13.4 ± 1.7 gr, Vitamin B12 değerleri ortalaması 245.3 ± 233.4 pg/ml idi. Tip 2 DM tanımlı hasta grubuyla kontrol grubu arasında glukoz ($p < 0.001$) ve kreatinin ($p = 0.013$) arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar gözlemlendi. Ancak üre, TSH, Hemoglobin ve vitamin b12 arasında anlamlı bir fark gözlemlenmedi ($p > 0.05$) (Tablo 10).

Tablo 10. Tip 2 DM tanılı hasta ve kontrol grubu arasında karşılaştırmalar*

	Tip 2 DM	Kontrol	p
Açlık Glukoz	187.13 ± 101.9 mg/dl (n= 98)	91.5 ± 10.7 mg/dl (n= 50)	< 0.001**
Kreatinin	0.76 ± 0.13 mg/dl (n= 99)	0.71 ± 0.11 mg/dl (n= 50)	0.013*
Üre	29.0 ± 9.2 mg/ml (n= 97)	27.6 ± 8.7 mg/ml (n= 49)	0.397
TSH	1.93 ± 4.9 uIU/mL (n= 91)	1.31 ± 0.6 uIU/mL (n= 48)	0.384
Hemoglobin	13.5 ± 1.8 gr (n= 98)	13.4 ± 1.7 gr (n= 49)	0.704
Vitamin B12	234.9 ± 173.6 pg/ml (n= 94)	245.3 ± 233.4 pg/ml (n= 33)	0.788

*Independent Sample t Test uygulandı

Tip 2 DM tanılı hasta grubunda hastaların 38' inde nöropati, 18' inde retinopati, 3' ünde nefropati saptandı. Nöropati, nefropati, retinopati görülme oranları cinsiyete göre karşılaştırılmış olup anlamlı farklılık saptanmadı (Tablo 11).

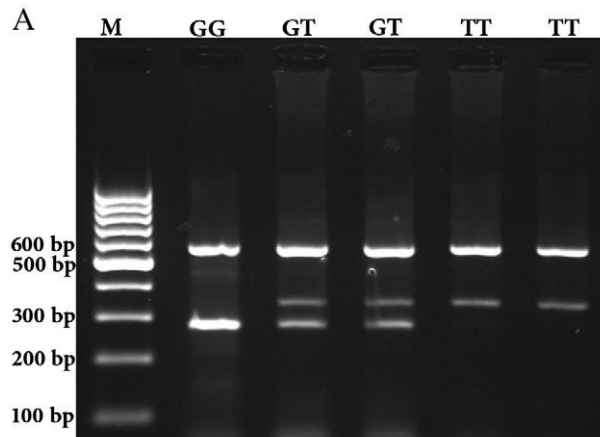
Tablo 11. Tip 2 DM tanılı hasta grubunda Nöropati, Retinopati, Nefropati sıklığı ve cinsiyete göre karşılaştırılması.*

Tip 2 DM					
		Kadın	Erkek	p	OR (%95 CI)
Nöropati	Var	31	7	0.075	0.411 (0.155-1.084)
	Yok	40	22		
Retinopati	Var	14	4	0.575	0.64 (0.191- 2.140)
	Yok	56	25		
Nefropati	Var	3	0	İstatistiksel analiz yeterliliği saptanmamıştır.	
	Yok	68	29		

*Ki-kare testi uygulandı.

4.1.CHEMERIN GEN VARYASYON GENOTİPLEME SONUÇLARI

Chemerin geni rs17173608 polimorfizmi genotip farklılıklarının belirlenmesi amacıyla ARMS-PZR yöntemi kullanıldı. ARMS-PZR sonunda örnekler jel elektroforezi kullanılarak %2' lik agaroz jelde 110 V' da 35 dk yürütüldü. Hasta ve sağlıklı kontrollerin genotiplerine jel görüntülerine bakılarak karar verildi. Hashemi M. ve arkadaşları tarafından yazılan makaledeki jel görüntüsü genotipleme için referans olarak kullanıldı. (Hashemi M. ve ark., 2012, Gene 510)(Resim 1).



Resim 1.Örnek jel görüntüsü

Yapılan genotip analizinde hastaların %18' inde TT genotipi saptanırken, % 81' inde TG genotipi saptandı. Ancak GG genotipi hiçbir hastada saptanmadı. Kontrol grubu genotip dağılımında ise % 12 oranında TT genotipi ve % 88 oranında TG genotipi

saptandı. Hasta grubuna benzer şekilde GG genotipi kontrol grubunda da saptanmadı. Hasta ve kontrol grupları istatistiksel olarak karşılaştırıldığında genotip açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı (P = 0.249). Öte yandan T allel frekansı hasta grubunda % 59.09 ve G allel frekansı % 40.91 olarak hesaplandı. Kontrol grubunda ise T ve G allel frekansları sırasıyla %56 ve % 44 olarak hesaplandı. T ve G allel açısından gruplar arasında istatistiksel olarak bir farklılık saptanmadı (P = 0.54). Genotip analizleri ile ilgili detaylı bilgi Tablo 12 'de gösterilmiştir.

Tablo 12.Chemerin geni rs17173608 polimorfizmi genotip farklılıklarının hasta ve kontrol gruplarında gösterilmesi.

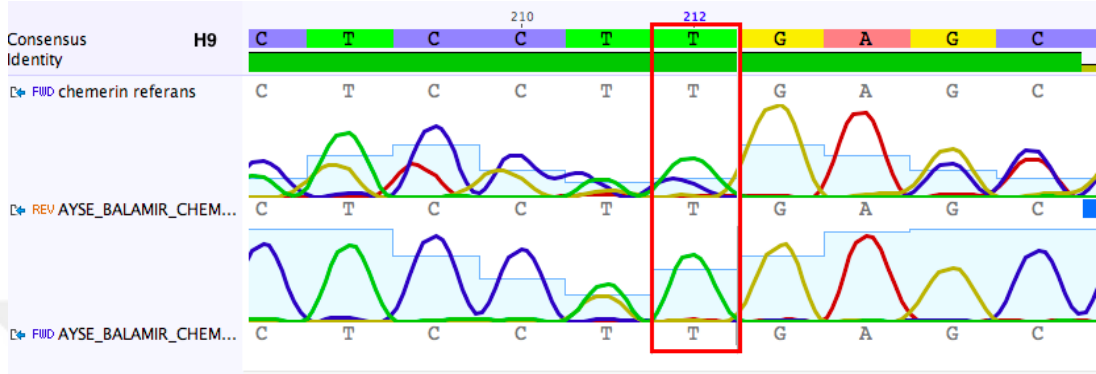
Genotip	Hasta n=100 (%)	Kontrol n=50 (%)	p	OR (%95 CI)
TT	18 (18)	6 (12)		1.00
TG	81 (81)	44 (88)	0,2495	1.97 (0.73-5.31)
GG	0 (0,0)	0 (0.0)		
Belirsiz	1			
Dominant				
TT	18 (18)	6 (12)		1.00
TG+GG	81 (81)	44 (88)	0,2495	1.97 (0.73-5.31)
Resesif				
TT+TG	99 (99)	50 (100)		1.00
GG	0 (0.0)	0 (0,0)	1.00	1.67 (0.03-85.55)
Allel				
T	117 (59.09)	56 (56)		1.00
G	81 (40.91)	44 (44)	0.545	1.18 (0.74-1.90)

4.2. JEL ELEKTROFOREZİNDE ANALİZ EDİLEMİYEN ÖRNEKLERİN SEKANS İLE DOĞRULANMASI

Sanger sekansa göndermek için 2 hasta (H-9 ve H-10) örneğinden ve 2 sağlıklı kontrol (SK-26 ve SK-27) örneğinden kurulan PZR sonrasında, sekans sonuçları Genius programı ile analiz edildi.

H-9 için;

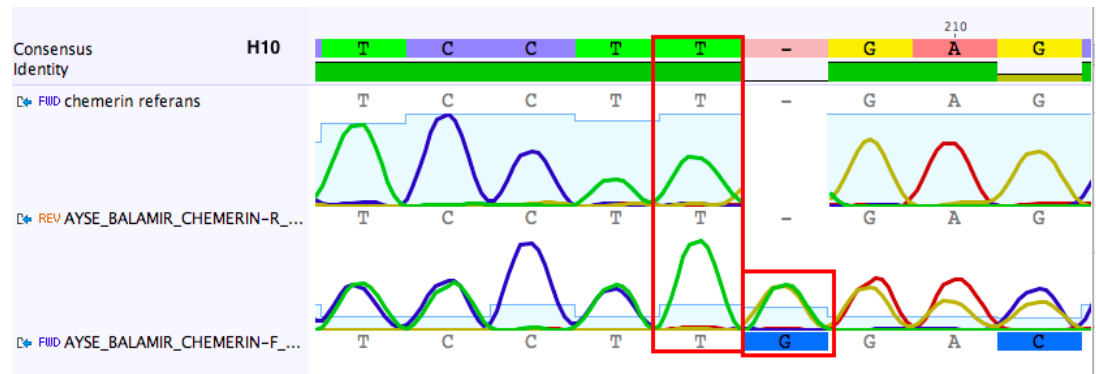
Jeldeki görüntüde referans makaleyi baz alınarak G/G homozigot olarak değerlendirilmişti. Sanger sekans sonuçları o bazın T olduğunu ve sonucun aslında T/T homozigot olduğunu gösterdi (Resim 2).



Resim 2. H-9 sanger sekans sonuç kromotogramı

H-10 için;

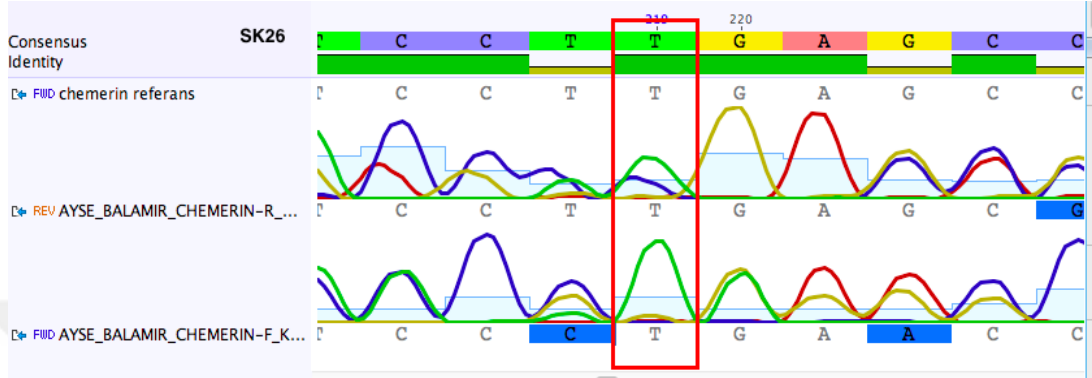
Jeldeki görüntüde referans makaleyi baz alınarak T/G heterozigot olarak değerlendirilmişti. Sanger sekans sonuçları o bazın T/G heterozigot olarak doğrulandı. Yalnız forward okuma yapılırken baz kayması yaşanmış ve kromotogramda T/G heterozigotluğu bir baz yanda görüldü (Resim 3).



Resim 3. H-10 Sanger sekans sonuç kromotogramı

SK-26 için;

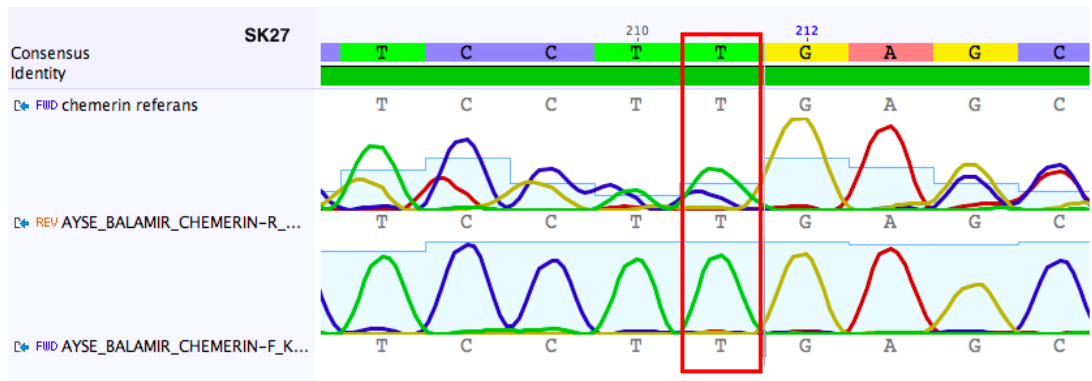
Jeldeki görüntüde referans makaleyi baz alınarak G/G homozigot olarak değerlendirilmişti. Sanger sekans sonuçları o bazın T olduğunu ve sonucun aslında T/T homozigot olduğunu gösterildi (Resim 4).



Resim 4. SK-26 Sanger sekans sonuç kromotogramı

SK-27 için;

Jeldeki görüntüde referans makaleyi baz alınarak T/G heterozigot olarak değerlendirilmişti. Fakat jel görüntüsünde bantlar çok net ayırt edilememekteydi. Sanger sekans sonuçları, sonucun aslında T/T homozigot olduğunu gösterdi (Resim 5).



Resim 5. SK-27 Sanger sekans sonuç kromotogramı

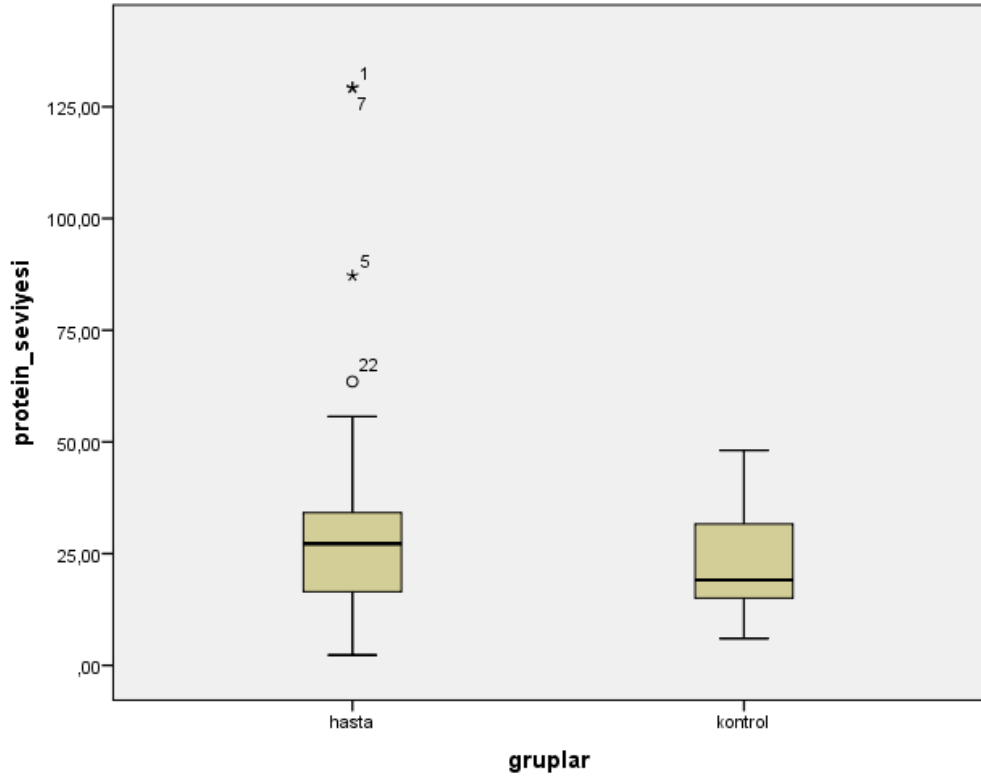
4.3. CHEMERİN PROTEİN SEVİYESİNİN ELISA YÖNTEMİ ile GÖSTERİLMESİ

Tip 2 DM tanılı hasta grubunda serum chemerin düzeylerinin ortalaması 27.2 ng/mL saptanırken kontrol grubunda 19.1 ng/mL olarak saptandı. İstatiksel olarak bir fark saptanmadı (P = 0.108) (Tablo 13, Şekil 3).

Tablo 13. Tip 2 DM tanılı hasta grubu ve kontrol grubunda serum chemerin düzeylerinin karşılaştırılması*

	Tip 2 DM Ortanca (en az- en fazla)	Kontrol Ortanca (en az- en fazla)	p
Serum Chemerin	27.2 (2.3-129.3)	19.1(6-48.1)	0.108

*Mann Whitney U testi uygulandı.



Şekil 3. Tip 2 DM ve kontrol grubunda chemerin protein seviyeleri

5. TARTIŞMA

Diyabetes Mellitus kronik seyirli bir hastalıktır. Genetik eğilimi olan bireylerde çeşitli çevresel etkenlere maruziyet ile kendini gösterir. Tedavisi için temel olarak açlık ve tokluk kan şekerinin ideal düzeylere getirilmesi gerekir. Gerekli müdahaleler uygulanmadığı takdirde birçok dokuda çeşitli komplikasyonlar gelişebilmektedir. Bunlar makrovasküler ve mikrovasküler komplikasyonlar olarak gelişebilir. Makrovasküler komplikasyonlar; periferik arter hastalığı, diyabetik ayak, inme, kardiyovasküler hastalıklar, Mikrovasküler komplikasyonlar; nöropati, retinopati, nefropati olarak özetlenebilir. Vasküler komplikasyonlar özellikle tip 2 DM' de tanı konulmadan yıllar önce başlayabilmektedir. Komplikasyonların getirdiği maddi ve manevi yük nedeniyle hastaların hayat kalitesi ve sosyal yaşamı olumsuz etkilenmektedir. Komplikasyonların önlenilebilir düzeyde olması erken dönemli teşhis ve sıkı glisemik kontrol ile mümkündür. Komplikasyon gelişiminde ve hastalık patogenezinde çeşitli mekanizmalar, inflamatuvar süreçler önem arz etmektedir (69, 78).

Son yıllarda insülin direnci, metabolik sendrom, hiperlipidemi, kardiyovasküler hastalıklar ve tip 2 DM' de adipokin ailesinin hem hastalık oluşum süreçleri hem de komplikasyonların ortaya çıkmasında bilim insanları tarafından artan düzeyde ilgi odağı olduğu ve bu alanda birçok kanıta dayalı çalışmanın literatüre kazandırıldığı görülmektedir. Yağ dokusu, adipokinlerin üretildiği bir endokrin organdır. Gimble ve ark' nın (79) ve Trayhurn ve ark' nın (80) yaptıkları çalışmalarda yağ dokusunun miktarı ile insülin direnci, metabolik sendrom, hiperlipidemi, kardiyovasküler hastalıklar ve tip 2 DM gibi rahatsızlıklarla ilişkisi olduğu saptandığı gibi yine yağ dokusunun değişik düzeylerde salgıladığı adipokin miktarları bu hastalıkların patogenezinde önemli rolünün olduğu bildirilmiştir. Goralski ve ark' nın yaptığı çalışmada yağ dokusunda salgılanan birçok adipokinin olduğu ve bunların çeşitli yollarla özellikle direkt ya da indirekt insülin hassasiyeti ve duyarlılığında etkili olduğu gösterilmiştir (81). Adipokinlerin ve işlevlerini diyabetes mellitus özelinde bilmek hastalık ve diyabet komplikasyonlarının oluşumunun önlenmesinde bize yardımcı olabilecektir.

Yağ dokusundan salınan adipokinlerden olup yakın zamanda keşfedilen Chemerin, yağ dokusu ve karaciğer başta olmak üzere pek çok dokuda eksprese

edilmektedir. İlk çalışmalarda sadece bir kemoatraktan molekül olarak tanımlanan chemerin' in otokrin ve parakrin etkileri olan bir adipokin olduğunun etki mekanizmaları incelenmeye başlamıştır. Chemerin, ChemR23 veya DEZ olarak bilinen ve G Proteini ile birleşen ve çeşitli immün sistem hücrelerinde tespit edilen CMKLR1 reseptörü için bir ligandır (55). Adipogenezis ve adiposit fonksiyonlarında düzenleyici role sahip olabileceği düşünülmektedir.

İnaktif bir protein olarak salınan prochemerin serin proteazları ile aktif forma dönüşmektedir (56). Yağ dokusu fazla olan ve obez bireylerde chemerin' in aktif forma daha sık dönüşürken, zayıf bireylerde inaktif formda kaldığına dair veriler elde edilmiştir (59).

Deneyisel araştırmalarla chemerin mRNA 'sının ekspresyonunun beyaz yağ dokusu, karaciğer ve plasentada yüksek miktarda, kahverengi yağ deposunda ise düşük miktarlarda olduğu gösterilmiştir. Bu yüzden chemerin ve CMKLR1' in asıl fonksiyonunun enerji depolanmasının kontrolü olduğu düşünülmektedir (60). Benzer şekilde, immünohistokimyasal olarak chemerin spesifik antikolar kullanılarak adipositlerin kültür ortamında endojen chemerin salgıladıkları gösterilmiş ve bu çalışma ile chemerin' in esas kaynaklarından birinin beyaz yağ dokusu olduğunu doğrulanmıştır (56).

Chemerin RARRES2 (retinoic acid receptor responder 2) geni tarafından kodlanmaktadır. Chemerin geni ayrıca TIG2 ve HP10433 isimleri ile de bilinmektedir. RARRES2 insanda kromozom 7q36.1 bölgesinde lokalizedir. Transkripsiyonel başlangıç bölgesinden 3357 baz çifti mesafededir. Altı ekzon ve beş introndan oluşmaktadır. Poly-A kuyruğu dışındaki matür transkript 741 nükleotid uzunluğundadır. İntronların üç tanesi kodlayıcı kısmı ayırırken bir ekzon 5'-translasyona uğramayan bölgede, diğeri 3'-translayona uğramayan bölgede yerleşmiştir. Açık okuma çerçevesini ayıran üç intronun yerleşimi sistatin katlantısını stabilize eden disülfid bağlarında korunmuş sisteinlere ve kodonlara komşudur. Farelerde chemerin gen promotorunun -61 ve -49 arasında bir DR-1-tip PPAR sorumlu element içerdiği gösterilmiştir (61). Chemerin geninde sterol düzenleyici element bağlayıcı protein 2 (SREBP2) transkripsiyon faktör için de bir bağlanma bölgesinin gösterilmiş olması, serbest yağ asitlerinin chemerin ekspresyonuna açıklık getirmektedir (62).

Chemerin' in immün yanıtta ve inflamasyonda etkin rol oynadıkları düşünülmektedir. Bu etkilerini ChemR23 olarak da bilinen CMKLR1 eksprese eden dendritik hücreler ve makrofajların kemotaksisini stimüle ederek gösterdikleri tahmin edilmektedir (62). Chemerin, major reseptörü olan ve biyolojik olarak tek aktif reseptör olan ChemR23 dışında GPR1 (G Proteinleri bağımlı reseptör ailesinden) ve CCLR2 (kemokin reseptör ailesinden) olmak üzere farklı iki reseptörlere daha yüksek afinite göstermesine rağmen bu iki reseptörde yeterli sinyal oluşturamamaktadır. Bu yüzden Chemerin, inflamatuvar etkilerini ChemR23 reseptörü üzerinden göstermektedir.

ChemR23 reseptörünün en sık beyaz adipoz dokuda ve endotelden eksprese edildiği gösterilmiştir. Bununla birlikte chemerin' in bu en aktif reseptörü insan vücudunda pek çok hücrede tespit edilmiştir. Bunlar, lökositler, monositler makrofajlar, dendritik hücreler, mikroglial hücreler, NK hücreler, B ve T lenfositler, granülositler, Langerhans hücreleri, trombositler, osteoblastlar, osteoklastlar, preadipositler, adipositler, kondrositler, iskelet kası hücreleri, vasküler düz kas hücreleri, endotel hücreler, ağız epitelyum hücreleridir. CCLR2 reseptörü makrofaj, PNL hücreler, pDC, mast hücreleri, astrositler, mikroglia, pulmoner epitel hücreleri, Pre-B hücrelerinde tespit edilmiştir. GPR1 reseptörü merkezi sinir sistemi hücrelerinde, iskelet kası hücrelerinde, deride ve adipoz dokuda tespit edilmiştir (63).

İlk olarak kemoatraktan bir molekül olarak tanımlanan Chemerin'in ChemR23 ekspresyonu ile lökosit kemotaksisine neden olduğu belirlenmiştir. Deneysel olarak insan ve farelerden elde edilen immatür myeloid dendritik hücreler (mDC), plazmasitoid dendritik hücreler (pDC) ve NK hücrelerinin chemerine yanıt olarak endotel tabakasından geçerek kemotaktik yanıt verdikleri gösterilmiştir (64). Bu hücrelerde aynı zamanda chemerin etkisiyle kalsiyum kanal mobilizasyonu ve Mitojen Aktiviteli Protein (MAP) kinaz aktivasyonu gözlenmiştir. Ancak bu hücrelerin matürasyonu ile ChemR23 down regülasyonuna bağlı olarak chemerine duyarlılıkları azalmaktadır. Chemerin, makrofajların yüzeylerinde bulunan çeşitli integrinler (Gi proteinler, PI3k, Akt, P38, VLA-4 ve VLA-5) vasıtasıyla makrofajların VCAM-1 ve fibronektine adezyonlarını tetiklemektedir. Sisteine benzer bir yapısı olmasına rağmen sistein proteazlarını inhibe etmemektedir (65).

İn vivo çalışmalarla chemerin' in proinflamatuvar ve antiinflamatuvar özellikleri gösterilmiştir. Endotel hücrelerinde TNF- α ve IL-6 gibi inflamatuvar sitokinlerin upregulasyonu ile ChemR23 ekspresyonunun sağlandığı ve chemerin' in anjiogenezisi desteklediği bildirilmiştir (66).

Protein yapısı ve ana reseptörü olan ChemR23 adipositlerden eksprese edilmektedir. Adipositlerin kemik iliği mezenkimal hücrelerinden farklılaşması esnasında ChemR23 upregulasyonu görülür. İnsan adipositleri ve in vivo ortamda fare yağ dokusunda TNF- α ve IL-1 β ile chemerin sentezi ve salınımını artırdığı bildirilmiştir. Matür adipozitlerde, glikoz ve lipid metabolizmasında chemerin anahtar rol oynamaktadır. Bu etkileri ile trigliseridlerin, leptin ve adiponektin gibi adipokinlerin metabolizması da düzenlenmektedir (67).

Chemerin insülin üzerinden de doza bağımlı olarak farklı etkiler göstermektedir. İn vivo ortamda düşük konsantrasyonda chemerin ile kısa süreli uyarılar oluşarak adipositlerdeki insülin aracılı glukoz alımında ve İnsülin Reseptör Substrat -1 (IRS-1) fosforilasyonunda artış gözlenirken daha yüksek konsantrasyonlardaki chemerin' in glukoz alımını azalttığı gösterilmiştir. Chemerin' in primer kas hücrelerinde de glikoz uptake' inin azalttığı ve deneysel ortamlarda da adipoz doku, karaciğer ve iskelet kasında glukoz alımını azaltarak glikoz intoleransına neden olduğu gösterilmiştir (68). Chemerin' in lipid ve glukoz metabolizması üzerindeki bu etkilerinin daha ayrıntılı olarak araştırılması önemlidir. Chemerin' in bakterisidal peptid prekürsörlerini içeren cathelicidin/sistatin protein ailesine ait olduğu düşünülmektedir. Bununla birlikte klinik olarak oral kavitede chemerin' in antimikrobiyal etkinliği gösterilmiştir. Bu etkinin chemerin' in bakteriler üzerinde doğrudan yıkıcı etkisiyle olabileceği gibi infeksiyon sahasına savunma hücrelerinin kemotaksisini hızlandırmak suretiyle de inflamasyonun sınırlanmasını sağlayabileceği belirtilmiştir. Benzer şekilde chemerin' in çeşitli cilt enfeksiyonlarında da güçlü antimikrobiyal etkinliği gösterilmiştir (64).

Obezite, genellikle kronik sistemik bir inflamatuvar durumla ilişkilendirilmektedir. Adipozitlerin büyümesiyle birlikte TNF- α ve IL-6 gibi sitokinleri daha fazla salgılamaları sonucunda bu sitokinlerin dolaşımdaki seviyeleri yükselmektedir. Adipoz doku içerisinde makrofaj gibi çeşitli lökositlerle ve immatür mDC, pDC, T hücreleri ve NK hücreleri ile bulundurulur. Makrofajlar tarafından

üretimleri desteklenen proinflamatuvar sitokinler insülin uyarımını inhibe ederek insülin direncine neden olmaktadır.

Chemerin obez bireylerin yağ dokusunda bulunan lökositlerin çoğu üzerinde kemotaktik etkisi olan bir adipokin olarak henüz bu rolü tam olarak belirlenmemiş olsa da obezite ve enflamasyon arasında bir bağ teşkil ediyor olabilir. Prochemerini aktive eden proteazlar adipoz dokuda belirlenmiş olmasına rağmen chemerin' in hangi formlarının yağ dokusunda baskın olduğunu ve obezitenin gelişmesi ile birlikte bu formların değişikliğe uğrayıp uğramadığı bilinmemektedir (73).

İnsan serumundaki chemerin ile çeşitli metabolik bozukluklar arasındaki ilişki araştırılmaktadır. Klinik ve deneysel çalışmalar sonucunda mekanizması kesin olarak bilinmemesine rağmen bazı bağlantılar tespit edilmiştir. Serum chemerin düzeyinin obez bireylerde ve tip 2 diyabetik hastalarda yüksek olduğu, bununla birlikte vücut kitle indeksi, açlık kan glukoz düzeyi, trigliseritler, ve total kolesterol düzeyi ile pozitif, HDL kolesterol ile negatif korelasyon gösterdiği bildirilmiştir (74). Serum chemerin konsantrasyonu TNF- α , IL-6 ve C- reaktif protein düzeyleri ile korelasyon göstermesi obezitedeki inflamatuvar temeli yansıtmaktadır (75).

Chemerinin yağ dokusunda enflamasyon, makrofajların bir araya gelmesi ve insülin duyarlılığını düzenlemede görevleri olduğu saptanmıştır. Lago ve ark' nın yaptığı çalışmada chemerin' in bu gibi inflamatuvar komponentler ile daha önceden enflamasyonla ilişkilendirilen obezite, tip 2 DM gibi hastalıkların gelişimi ve kronik seyirinde görev alabileceği üzerinde durulmuştur (82).

Ouwens ve ark' nın yaptığı çalışmada chemerinin insülin direnci ile pozitif korelasyon gösterdiği saptanmıştır (83). Chemerin obez olmayan, normoglisemik ve metabolik hastalığı olmayan sağlıklı bireylerde insülin direnci için bir markır olarak kullanılabilir.

Yapılan bir hayvan çalışmasında obez ve tip 2 DM' li ratların yağ dokusundaki chemerin ekspresyonu normoglisemik olan ratlara göre daha yüksek saptanmıştır. Başka bir çalışma da ise db/db kobaylarında araştırılan yağ dokularında chemerin ekspresyonunun anlamlı oranda azaldığı tespit edilmiştir, yine geçmiş çalışmalarda ise tip 2 DM ile kontrol grubu arasında plazma chemerin seviyeleri arasında anlamlı farklılık tespit edilememiştir (64, 84). Parolini ve ark' nın (64) ve Takashi ve ark' nın

(84) yaptığı bir çalışmada yağ dokusundaki chemerin ekspresyon düzeyleriyle serum chemerin konsantrasyonu arasında pozitif korelasyon gösterilmiştir.

Du ve ark' nın (85) ve Albanesive ark' nın (86) yaptıkları çalışmalarda serum chemerin seviyeleri ile inflamatuvar sitokinler, vücut kitle indeksi (BMI), metabolik sendrom arasında pozitif korelasyon tespit edilmiştir. Bundan başka bozulmuş glukoz toleransı olanlarda chemerin' in kan basıncı, açlık glukozu, serum insülini, kolesterol, TG, BMI, obezite ilişkili komplikasyonlar ile anlamlı birliktelik ve ilişki gösterilmiştir. Erişkin popülasyonda yapılan bir çalışmada chemerin ile trigliserid düzeyi arasında pozitif, HDL kolesterol düzeyi arasında negatif korelasyon tespit edilmiştir (59, 87- 88).

Dranse ve ark' nın yaptığı çalışmada chemerin'in ekspresyon yoluyla nükleer faktor kapa B bağımlı yolları tetikleyerek adipoz dokuda yeniden şekillenme ve inflamasyonu düzenlediği bildirilmiştir (89). Bundan başka Mehanna ve ark' nın Mısırlı 100 kontrol ve 100 metabolik sendromlu kadında yapılan bir araştırmada rs17173608 G allel taşıyıcılarında açlık glukoz, insülin ve HOMA-IR değerlerini belirgin olarak yüksek bulmuşlardır (90). Weigert ve ark' nın (91) ve Tomalka ve ark' nın (92) yaptığı bir çalışmada birçok immün ve inflamatuvar hastalıklarda (ülseratif kolit ve Crohn, multiple skleroz, psöriazis, romatoid artrit) chemerin seviyeleri yüksek gözlenmiştir. Bu durum chemerin' in sistemik inflamasyon ile ilişkili olduğunu düşündürmektedir. Çalışmamızda serum chemerin düzeyleri tip 2 DM hasta grubu ve kontrol grubu arasında karşılaştırıldı fakat gruplar arasında istatistiksel olarak farklılık tespit edilmedi ($p = 0.108$). Farklılık saptanmamasının nedeni hasta sayısının az olması ve sadece dar etnik bir yapı üzerinde yapılan bir araştırma olmasından kaynaklanabilir.

Genetik polimorfizm genelde tek baz çiftinin değişiminden kaynaklı dizilim farklılığıdır. Genetik araştırmaların güvenilirliği ve genotiplemedeki gelişmeler, araştırmacıların bu alandaki yöntemleri kullanılabilirliğini arttırmaktadır. Bu yöntemler genetik çeşitliliğin ve varyasyonların düzeyini spesifik olarak gösterebilmektedir. Kronik hastalıkların kişi özelindeki seyri ya da komplikasyon özellikleri ve süresi gibi farklılıklar genetik varyasyonların etkili olabileceğini düşündürmektedir.

Diabetes mellitusta çeşitli mekanizmaları açıklamak için birçok gen ekspresyonu ve gen polimorfizmi çalışılmıştır (78,83,93-94). Parolinive ark' nın yaptığı bir çalışmada tip 2 DM' li ratların visseral yağ dokusunda kontrol ratlarına göre chemerin ekspresyonun daha fazla olduğu göstermiştir (64). Çalışmamız bizim bildiğimiz kadarıyla chemerin rs17173608 gen polimorfizminin, Tip 2 DM 'de araştırılan ilk çalışmadır.

Chemerin rs17173608 gen polimorfizmi önceki çalışmalarda farklı popülasyonlarda çalışılmıştır. Mehanna ve ark' nın T-ARMS-PCR ile Mısırlı 100 kontrol ve 100 metabolik sendromlu kadında yapılan bir araştırmada metabolik sendrom ile chemerin rs17173608 polimorfizmi arasında anlamlı bir ilişki gösterilmiştir (90). G alel frekansı metabolik sendrom grubunda kontrol grubuna göre daha fazla bulunmuştur. Bunun yanında vücut kitle indeksi ve bel çevresi rs17173608 gen polimorfizmi G alleli olanlarda daha fazla olarak gözlemiştir. Yine Hashemi ve ark' nın yaptığı bir çalışmada 151 metabolik sendromu olan ve 149 metabolik sendromu olmayan grupta G alelinin T aleline göre metabolik sendrom açısından risk oluşturduğu gösterilmiştir (77).

Çalışmamızda önceki çalışmalardan farklı olarak serum chemerin düzey karşılaştırılmasının yanında tip 2 DM hasta grubunda chemerin rs17173608 genotip analizi yapılarak T/T ve T/G oranları sağlıklı kontrol grubu ile karşılaştırıldı. Bulgularda tip 2 DM grubunda görece T/T oranları literatürle uyumlu olarak daha fazla gözlenirken G/G genotipli katılımcı gözlenmedi ve Tip 2 DM grubunda G alel frekansı kontrole göre düşük olarak gözlendi. Fakat istatistiksel olarak anlamlılık saptanmadı ($P > 0.05$).

Çalışmamızda Tip 2 DM grubunda cinsiyete göre nöropati, retinopati ve nefropati sıklığı değerlendirildi. Hastaların 38' inde nöropati, 18' inde retinopati, 3' ünde nefropati saptandı. Ancak cinsiyet açısından istatistiksel olarak herhangi bir farklılık saptanmadı.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Sonuç olarak, Güneydoğu Anadolu Bölgesi Adıyaman ilinde tip 2 DM hasta ve kontrol gruplarında serum chemerin düzeylerine ve chemerin rs17173608 genpolimorfizmine ilk kez bakıldı. Çalışmamızda serum chemerin düzeyleri tip 2 DM hasta grubu ve kontrol grubu arasında karşılaştırıldı ve gruplar arası istatistiksel olarak farklılık tespit edilmedi ($P = 0.108$). Bunun yanında önceki çalışmalardan farklı olarak serum chemerin düzey karşılaştırılmasının yanında tip 2 DM hasta grubunda chemerin rs17173608 genotip analizi yapılarak T/T ve T/G oranları sağlıklılar ile karşılaştırıldı. Çalışmamızda Tip 2 DM grubunda kontrol grubuna göre T/T genotip oranları literatür ile uyumlu olarak daha fazla gözlenirken G/G genotipli katılımcı gözlenmedi ve Tip 2 DM grubunda G alel frekansı kontrole göre düşük olarak gözlendi. Fakat gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ($P > 0.05$). Bu sonuçlar ışığında chemerin gen polimorfizminin DM gelişimi açısından bir risk faktörü olmadığını söyleyebiliriz. İleride daha fazla sayıda ve farklı etnik yapıları içeren çalışmalar ile bu konu daha da aydınlatılmış olacaktır. Aynı zamanda ileride yağ dokusunun diğer hormonlarını içeren geniş çaplı genetik çalışmaların olası etiyoloji temelli tedavilerin gelişimine katkı sağlayabileceğini öngörmekteyiz.

7. KAYNAKLAR

1. Bongaerts BW, Mussig K, Wens J, Lang C, Schwarz P, Roden M, et al. Effectiveness of chronic care models for the management of type 2 diabetes mellitus in Europe: a systematic review and meta-analysis. *BMJ Open*. 2017;7(3):e013076.
2. Rehman K, Akash MSH. Mechanism of Generation of Oxidative Stress and Pathophysiology of Type 2 Diabetes Mellitus: How Are They Interlinked? *J Cell Biochem*. 2017;118(11):3577-3585.
3. Vegiopoulos A, Rohm M, Herzig S. Adipose tissue: between the extremes. *EMBO J*. 2017;14;36(14):1999-2017.
4. Zimny S, Pohl R, Rein-Fischboeck L, Haberl EM, Krautbauer S, Weiss TS, et al. Chemokine (CC-motif) receptor-like 2 mRNA is expressed in hepatic stellate cells and is positively associated with characteristics of non-alcoholic steatohepatitis in mice and men. *Exp Mol Pathol*. 2017;103(1):1-8.
5. Ozcan E, Saygun NI, Ilikci R, Karslioglu Y, Musabak U, Yesillik S. Evaluation of chemerin and its receptors, ChemR23 and CCRL2, in gingival tissues with healthy and periodontitis. *Odontology*. 2017;21(4):1113-1121.
6. Wan M, Godson C, Guiry PJ, Agerberth B, Haeggstrom JZ. Leukotriene B4/antimicrobial peptide LL-37 proinflammatory circuits are mediated by BLT1 and FPR2/ALX and are counterregulated by lipoxin A4 and resolvin E1. *FASEB J*. 2011;25(5):1697-705.
7. Cash JL, Hart R, Russ A, Dixon JP, Colledge WH, Doran J, et al. Synthetic chemerin-derived peptides suppress inflammation through ChemR23. *J Exp Med*. 2008;205(4):767-75.
8. Campbell JA, Bishu KG, Walker RJ, Egede LE. Trends of medical expenditures and quality of life in US adults with diabetes: the medical expenditure panel survey, 2002-2011. *Health Qual Life Outcomes*. 2017;15(1):70.
9. Hatemi H. Diabetes Mellitus'un Tarihçesi. *Aktüel Tıp Dergisi*. 1996;7:497-9.
10. Bağrıaçık N. Diabetes Mellitus: Tanımı, Tarihçesi, Sınıflaması ve Sıklığı, İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri, Diyabetes Mellitus Sempozyumu. 1997:9-18.

- 11.Bağrıaçık N, Yenigün M. Her yönüyle diabetes mellitus. Nobel Tıp Kitapevi, İstanbul. 2001;23:66-7.
- 12.Cawley T. A single case of diabetes, consisting entirely in the quality of the urine; with an inquiry into the different theories of that disease. Lond Medical Journal 1788;9:286-308.
- 13.von Mering F, Minkowski O. Untersuchungen uber den Diabetes Mellitus nach Extripation des Pankreas. Archive für Pathologie und Pharmacologie. 1890;26:371-87.
- 14.Banting F. The Internal Secretion of the Pancreas By FG Banting, MB, and CH Best, BA. The Journal of Laboratory and Clinical Medicine. 1922;7(5):465-80.
- 15.Ünal G. Tip 2 Diabetes Mellitus Tedavisinde Kök Hücrelerin Kullanımı, Bitirme Ödevi, Erciyes Üniv. Eczacılık Fak. Eczacılık Temel Bilimleri Anabilim Dalı, Kayseri. 2012.
- 16.Chen L, Magliano DJ, Zimmet PZ. The worldwide epidemiology of type 2 diabetes mellitus—present and future perspectives. Nature Reviews Endocrinology. 2012;8(4):228-36.
17. <http://www.who.int/features/factfiles/diabetes/en/> WHO, 10 facts about diabetes, April 2016. .
- 18.Onat A, Can G, Hergenç G. Serum C-reactive protein is an independent risk factor predicting cardiometabolic risk. Metabolism. 2008;57(2):207-14.
- 19.Satman I, Yılmaz T, Sengül A, Salman S, Salman F, Uygur S, et al. Population-based study of diabetes and risk characteristics in Turkey. Diabetes care. 2002;25(9):1551-6.
- 20.Onat A, Dursunoğlu D, Kahraman G, Ökçün B, Dönmez K, Keleş İ, et al. Türk erişkinlerinde ölüm ve koroner olaylar: TEKHARF çalışması kohortunun 5-yıllık takibi. Türk Kardiyol Dern Arş 1996a. 1996;24:8-15.
- 21.http://beslenme.gov.tr/content/files/yayinlar/kitaplar/diger_kitaplar/kalbimizi_koruyalism.pdf. 2004.
- 22.Satman I, Omer B, Tutuncu Y, Kalaca S, Gedik S, Dincçag N, et al. Twelve-year trends in the prevalence and risk factors of diabetes and prediabetes in Turkish adults. Eur J Epidemiol. 2013;28(2):169-80.

- 23.Orçun A, Küçükercan İ, Madenci ÖÇ, Kolcu N, Tekçe B. Diabetes Mellitus Tanı Kriterlerinin Karşılaştırılması. *Diabetes*. 2003;1(2):069-74.
- 24.Association AD. 2. Classification and diagnosis of diabetes. *Diabetes care*. 2015;38(Supplement 1):S8-S16.
- 25.Yılmaz MT, Kepekci Y. Diabetes Mellitus'un modern tedavisi. 2. Baskı.İstanbul, Ozlem grafik matbaacılık. 2004;7.
- 26.http://www.turkendokrin.org/files/DIYABET2017_web.pdf. 2017:16-17.
- 27.Association AD. Gestational diabetes mellitus. *Diabetes care*. 2003;26(suppl 1):s103-s5.
- 28.Burant C. Medical management of type 2 diabetes: American Diabetes Association; 2012.
- 29.http://www.turkendokrin.org/files/DIYABET2017_web.pdf. 2017:21-22.
- 30.Rother KI. Diabetes treatment—bridging the divide. *The New England journal of medicine*. 2007;356(15):1499.
- 31.Lamb R, Goldstein B. Modulating an oxidative-inflammatory cascade: potential new treatment strategy for improving glucose metabolism, insulin resistance, and vascular function. *International journal of clinical practice*. 2008;62(7):1087-95.
- 32.Hilton DJ, O'Rourke PK, Welborn TA, Reid CM. Diabetes detection in Australian general practice: a comparison of diagnostic criteria. *Medical journal of Australia*. 2002;176(3):104-7.
- 33.Del Prato S, Leonetti F, Simonson D, Sheehan P, Matsuda M, DeFronzo R. Effect of sustained physiologic hyperinsulinaemia and hyperglycaemia on insulin secretion and insulin sensitivity in man. *Diabetologia*. 1994;37(10):1025-35.
- 34.Porte D. β -cells in type II diabetes mellitus. *Diabetes*. 1991;40(2):166-80.
- 35.Groop L, Widen E, Ferrannini E. Insulin resistance and insulin deficiency in the pathogenesis of type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus: errors of metabolism or of methods? *Diabetologia*. 1993;36(12):1326-31.
- 36.Mitrakou A, Kelley D, Mookan M, Veneman T, Pangburn T, Reilly J, et al. Role of reduced suppression of glucose production and diminished early insulin release in impaired glucose tolerance. *New England Journal of Medicine*. 1992;326(1):22-9.

- 37.Efendic S, ÖSTENSON CG. Hormonal responses and future treatment of non-insulin-dependent diabetes mellitus (NIDDM). *Journal of internal medicine*. 1993;234(2):127-38.
- 38.SO K. Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji. 9. baskı. Ankara: Hacettepe-Taş Kitapçılık. 2000;3(45):581-612.
- 39.Reaven GM. Role of insulin resistance in human disease. *Diabetes*. 1988;37(12):1595-607.
- 40.Yenigün M. Her Yönüyle Diabetes Mellitus. 2. Baskı. İstanbul Nobel Tıp Kitabevi. 2004;7.
- 41.Association AD. Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes care*. 2008;31(Suppl 1):55-60.
- 42.Association AD. Standards of medical care in diabetes-2011. 2011.
- 43.Allen SR. Gestational Diabetes. *Treatments in endocrinology*. 2003;2(5):357-65.
- 44.Ryan EA, O'Sullivan MJ, Skyler JS. Insulin action during pregnancy: studies with the euglycemic clamp technique. *Diabetes*. 1985;34(4):380-9.
- 45.Catalano PM, Tyzbir ED, Wolfe RR, Calles J, Roman NM, Amini SB, et al. Carbohydrate metabolism during pregnancy in control subjects and women with gestational diabetes. *American Journal of Physiology-Endocrinology And Metabolism*. 1993;264(1):60-67.
- 46.Kühl C. Insulin secretion and insulin resistance in pregnancy and GDM: implications for diagnosis and management. *Diabetes*. 1991;40(Supplement 2):18-24.
- 47.Yogev Y, Ben-Haroush A, Hod M. Pathogenesis of gestational diabetes mellitus. In: Hod M, Jovanovic L, Di Renzo G, de Leiva A, Langer O, eds *Textbook of Diabetes and Pregnancy*. New York: Martin Dunitz; 2003:39-49.
- 48.Catalano P, Highman T, Huston L, Friedman J. Relationship between reproductive hormones/TNF alpha and longitudinal changes in insulin sensitivity during gestation. *Diabetes*. 1996;45(2S):175.
- 49.Chandran M, Phillips SA, Ciaraldi T, Henry RR. Adiponectin: more than just another fat cell hormone? *Diabetes care*. 2003;26(8):2442-50.
- 50.Hotamisligil G. The role of TNF α and TNF receptors in obesity and insulin resistance. *Journal of internal medicine*. 1999;245(6):621-5.

51. Harder T, Franke K, Kohlhoff R, Plagemann A. Maternal and paternal family history of diabetes in women with gestational diabetes or insulin-dependent diabetes mellitus type I. *Gynecologic and obstetric investigation*. 2001;51(3):160-4.
52. Jovanovic-Peterson L, Peterson CM, Reed GF, Metzger BE, Mills JL, Knopp RH, et al. Maternal postprandial glucose levels and infant birth weight: the Diabetes in Early Pregnancy Study. *American journal of obstetrics and gynecology*. 1991;164(1):103-11.
53. Luo L, Liu M. Adipose tissue in control of metabolism. *J Endocrinol*. 2016;231(3):77-99.
54. DeFronzo R. Insulin resistance, lipotoxicity, type 2 diabetes and atherosclerosis: the missing links. The Claude Bernard Lecture 2009. *Diabetologia*. 2010;53(7):1270-87.
55. Jiang Y, Liu P, Jiao W, Meng J, Feng J. Gax suppresses chemerin/CMKLR1-induced preadipocyte biofunctions through the inhibition of Akt/mTOR and ERK signaling pathways. *J Cell Physiol*. 2017.
56. Roh S-g, Song S-H, Choi K-C, Katoh K, Wittamer V, Parmentier M, et al. Chemerin—a new adipokine that modulates adipogenesis via its own receptor. *Biochemical and biophysical research communications*. 2007;362(4):1013-8.
57. Wittamer V, Franssen J-D, Vulcano M, Mirjolet J-F, Le Poul E, Migeotte I, et al. Specific recruitment of antigen-presenting cells by chemerin, a novel processed ligand from human inflammatory fluids. *Journal of Experimental Medicine*. 2003;198(7):977-85.
58. Zabel BA, Silverio AM, Butcher EC. Chemokine-like receptor 1 expression and chemerin-directed chemotaxis distinguish plasmacytoid from myeloid dendritic cells in human blood. *The Journal of Immunology*. 2005;174(1):244-51.
59. Bozaoglu K, Bolton K, McMillan J, Zimmet P, Jowett J, Collier G, et al. Chemerin is a novel adipokine associated with obesity and metabolic syndrome. *Endocrinology*. 2007;148(10):4687-94.
60. Sell H, Divoux A, Poitou C, Basdevant A, Bouillot J-L, Bedossa P, et al. Chemerin correlates with markers for fatty liver in morbidly obese patients and strongly decreases after weight loss induced by bariatric surgery. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2010;95(6):2892-6.

61. Luangsay S, Wittamer V, Bondue B, De Henau O, Rouger L, Brait M, et al. Mouse ChemR23 is expressed in dendritic cell subsets and macrophages, and mediates an anti-inflammatory activity of chemerin in a lung disease model. *The Journal of immunology*. 2009;183(10):6489-99.
62. Bondue B, Wittamer V, Parmentier M. Chemerin and its receptors in leukocyte trafficking, inflammation and metabolism. *Cytokine & growth factor reviews*. 2011;22(5):331-8.
63. Samson M, Edinger AL, Stordeur P, Rucker J, Verhasselt V, Sharron M, et al. ChemR23, a putative chemoattractant receptor, is expressed in monocyte-derived dendritic cells and macrophages and is a coreceptor for SIV and some primary HIV-1 strains. *European journal of immunology*. 1998;28(5):1689-700.
64. Parolini S, Santoro A, Marcenaro E, Luini W, Massardi L, Facchetti F, et al. The role of chemerin in the colocalization of NK and dendritic cell subsets into inflamed tissues. *Blood*. 2007;109(9):3625-32.
65. Hart R, Greaves DR. Chemerin contributes to inflammation by promoting macrophage adhesion to VCAM-1 and fibronectin through clustering of VLA-4 and VLA-5. *The Journal of Immunology*. 2010;185(6):3728-39.
66. Herenius MM, Oliveira AS, Wijbrandts CA, Gerlag DM, Tak PP, Lebre MC. Anti-TNF therapy reduces serum levels of chemerin in rheumatoid arthritis: a new mechanism by which anti-TNF might reduce inflammation. *PLoS One*. 2013;8(2):e57802.
67. Bondue B, De Henau O, Luangsay S, Devosse T, De Nadai P, Springael J-Y, et al. The chemerin/ChemR23 system does not affect the pro-inflammatory response of mouse and human macrophages ex vivo. *PloS one*. 2012;7(6):e40043.
68. Becker M, Rabe K, Lebherz C, Zugwurst J, Göke B, Parhofer KG, et al. Expression of human chemerin induces insulin resistance in the skeletal muscle but does not affect weight, lipid levels, and atherosclerosis in LDL receptor knockout mice on high-fat diet. *Diabetes*. 2010;59(11):2898-903.
69. De Palma G, Castellano G, Del Prete A, Sozzani S, Fiore N, Loverre A, Parmentier M, Gesualdo L, Grandaliano G, Schena FP, et al. The possible role of ChemR23/Chemerin axis in the recruitment of dendritic cells in lupus nephritis. 2011;79(11):1228-1235.

- 70.Skrzeczyńska-Moncznik J, Stefańska A, Zabel BA, Kapińska-Mrowiecka M, Butcher EC, Cichy J. Chemerin and the recruitment of NK cells to diseased skin. *Acta biochimica Polonica*. 2009;56(2):355-60.
- 71.Provoost S, De Grove KC, Fraser GL, Lannoy VJ, Tournoy KG, Brusselle GG, et al. Pro-and Anti-Inflammatory Role of ChemR23 Signaling in Pollutant-Induced Inflammatory Lung Responses. *The Journal of Immunology*. 2016;196(4):1882-90.
- 72.Demoor T, Bracke KR, Dupont LL, Plantinga M, Bondue B, Roy M-O, et al. The role of ChemR23 in the induction and resolution of cigarette smoke-induced inflammation. *The Journal of immunology*. 2011;186(9):5457-67.
- 73.Mariani F, Roncucci L. Chemerin/chemR23 axis in inflammation onset and resolution. *Inflammation Research*. 2015;64(2):85-95.
- 74.Li C, Yan L, Song J. Plasma level of chemerin in COPD patients and the relationship between chemerin and lipid metabolism. *Zhong nan da xue xue bao Yi xue ban= Journal of Central South University Medical sciences*. 2016;41(7):676.
- 75.Redondo M, Rodriguez L, Haymond M, Hampe CS, Smith E, Balasubramanyam A, et al. Serum adiposity-induced biomarkers in obese and lean children with recently diagnosed autoimmune type 1 diabetes. *Pediatric diabetes*. 2014;15(8):543-9.
- 76.Ferland DJ, Darios ES, Neubig RR, Sjögren B, Truong N, Torres R, et al. Chemerin-induced arterial contraction is G i-and calcium-dependent. *Vascular Pharmacology*. 2017;88:30-41.
- 77.Hashemi M, Rezaei H, Eskandari-Nasab E, Zakeri Z, Taheri M. Association between chemerin rs17173608 and vaspin rs2236242 gene polymorphisms and the metabolic syndrome, a preliminary report. *Gene*. 2012;510(2):113-7.
- 78.King GL. The role of inflammatory cytokines in diabetes and its complications. *Journal of periodontology*. 2008;79(8S):1527-34.
- 79.Gimble JM. Adipose tissue-derived therapeutics. *Expert Opin Biol Ther*. 2003;3:705-13.
- 80.Trayhurn P, Bing C, Wood IS. Adipose tissue and adipokines—energy regulation from the human perspective. *The Journal of nutrition*. 2006;136(7):1935S-9S.

81. Goralski KB, McCarthy TC, Hanniman EA, Zabel BA, Butcher EC, Parlee SD, et al. Chemerin, a novel adipokine that regulates adipogenesis and adipocyte metabolism. *Journal of Biological Chemistry*. 2007;282(38):28175-88.
82. Lago F, Dieguez C, Gómez-Reino J, Gualillo O. The emerging role of adipokines as mediators of inflammation and immune responses. *Cytokine & growth factor reviews*. 2007;18(3):313-25.
83. Ouwens DM, Bekaert M, Lapauw B, Van Nieuwenhove Y, Lehr S, Hartwig S, et al. Chemerin as biomarker for insulin sensitivity in males without typical characteristics of metabolic syndrome. *Archives of physiology and biochemistry*. 2012;118(3):135-8.
84. Takahashi M, Takahashi Y, Takahashi K, Zolotaryov FN, Hong KS, Kitazawa R, et al. Chemerin enhances insulin signaling and potentiates insulin-stimulated glucose uptake in 3T3-L1 adipocytes. *FEBS letters*. 2008;582(5):573-8.
85. Du X-Y, Zabel BA, Myles T, Allen SJ, Handel TM, Lee PP, et al. Regulation of chemerin bioactivity by plasma carboxypeptidase N, carboxypeptidase B (activated thrombin-activable fibrinolysis inhibitor), and platelets. *Journal of Biological Chemistry*. 2009;284(2):751-8.
86. Albanesi C, Scarponi C, Pallotta S, Daniele R, Bosisio D, Madonna S, et al. Chemerin expression marks early psoriatic skin lesions and correlates with plasmacytoid dendritic cell recruitment. *Journal of Experimental Medicine*. 2009;206(1):249-58.
87. Stejskal D, Karpisek M, Hanulova Z, Svestak M. Chemerin is an independent marker of the metabolic syndrome in a Caucasian population—a pilot study. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub*. 2008;152(2):217-21.
88. Fontana L, Eagon JC, Trujillo ME, Scherer PE, Klein S. Visceral fat adipokine secretion is associated with systemic inflammation in obese humans. *Diabetes*. 2007;56(4):1010-3.
89. Dranse HJ, Muruganandan S, Sinal CJ. Investigating novel mechanisms of chemerin signalling in mature adipocytes. *The FASEB Journal*. 2013;27(1 Supplement):669.1-.1.

- 90.Mehanna ET, Mesbah NM, Ghattas MH, Saleh SM, Abo-Elmatty DM. Association of chemerin Rs17173608 and vaspin Rs2236242 gene polymorphisms with metabolic syndrome in Egyptian women. *Endocrine research*. 2016;41(1):43-8.
- 91.Weigert J, Obermeier F, Neumeier M, Wanninger J, Filarsky M, Bauer S, et al. Circulating levels of chemerin and adiponectin are higher in ulcerative colitis and chemerin is elevated in Crohn's disease. *Inflammatory bowel diseases*. 2010;16(4):630-7.
- 92.Tomalka-Kochanowska J, Baranowska B, Wolinska-Witort E, Uchman D, Litwiniuk A, Martynska L, et al. Plasma chemerin levels in patients with multiple sclerosis. *Neuro Endocrinol Lett*. 2014;35(3):218-23.
- 93.Türker K. Tip 2 diyabetik hastalar ile diyabeti olmayan kardeşlerinde TCF7L2 ve PPAR-y genlerindeki genetik polimorfizmin PCR-RFLP metodu ile araştırılması. *Tıpta Uzmanlık Tezi*. Isparta:Süleyman Demirel Üniversitesi;2012.
- 94.Khaled Y, Rashed L. Serum chemerin levels and chemerin rs17173608 genotypes in the susceptibility of diabetic nephropathy in Egyptian diabetic patients. *Egyptian Journal of Obesity, Diabetes and Endocrinology*. 2016;2(1):18.

8.EKLER

T.C.
ADİYAMAN ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
Tıp Fakültesi Dekanlığı
Biyomedikal Araştırmalar Etik Kurul Başkanlığı

Karar Tarihi	Toplantı Sayısı	Karar Sayısı
20/01/2016	1	2016/ 1-17

Adıyaman Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı Öğretim Üyesi Yrd. Doç. Dr.Serdar OLT'un sorumluluğunda yapılması tasarlanan "Chemerin gen polimorfizmi ile tip 2 diyabetes mellitus arasındaki ilişkinin araştırılması"adlı proje için hazırlanmış olan ve 08/01/2016 tarihinde sunulan Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar İçin Başvuru Formu ile ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş, araştırmanın yürürlükte olan ilgili yasal düzenlemelere uyularak yürütülmesi ve sonuçlandırılması koşulu ile gerçekleştirilmesinde etik sakınca bulunmadığına ve Etik Kurul kararının başvuru sahibine iletilmesine toplantıya katılan Etik Kurul Üyeleri'nin oy birliği ile karar verilmiştir.

(İmza)

(Proje Araştırmacısı)
Prof. Dr. Haydar BAĞIŞ
Başkan

(İmza)

Prof. Dr. Mehmet TURĞUT
Üye

(İmza)

Yrd. Doç. Dr. Fatih ÜÇKARDEŞ
Üye

(İmza)

Doç. Dr. Musa ABEŞ
Üye

(Katılmadı)

Yrd. Doç. Dr. Hamit Sinan HATİPOĞLU
Üye

(İmza)

Doç. Dr. Tuncay ÇELİK
Üye

(İmza)

Yrd.Doç.Dr. Ali PARLAR
Üye

(İmza)

Avukat Sema Aksu ÖZEL
Üye

(Katılmadı)

Eczacı Gamze GÖK
Üye

Prof.Dr.Haydar BAĞIŞ
Başkan