



T.C.

KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

**SERUM TOTAL SAFRA ASİDİ VE GLP-1 SEVİYESİNİN
GLUKOZ TOLERANSI İLE OLAN İLİŞKİSİ**

DR. ERCAN TEKİN

TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN

Prof. Dr. Osman ÇAĞLAYAN

KIRIKKALE-2024



T.C.

KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

**SERUM TOTAL SAFRA ASİDİ VE GLP-1 SEVİYESİNİN
GLUKOZ TOLERANSI İLE OLAN İLİŞKİSİ**

DR. ERCAN TEKİN

TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN

Prof. Dr. Osman ÇAĞLAYAN

KIRIKKALE-2024

KABUL ve ONAY

Ercan TEKİN tarafından hazırlanan “SERUM TOTAL SAFRA ASİDİ VE GLP-1 SEVİYESİNİN GLUKOZ TOLERANSI İLE OLAN İLİŞKİSİ” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ ile Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalında TIPTA UZMANLIK TEZİ olarak kabul edilmiştir. Tez Savunma Tarihi: 04/03/2024

Başkan (Danışman): Prof. Dr. Osman ÇAĞLAYAN

Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Kırıkkale Üniversitesi

Üye: Prof. Dr. Murat KAÇMAZ

Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Kırıkkale Üniversitesi

Üye: Prof. Dr. Hatice AKTAŞ

İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Kırıkkale Üniversitesi

ETİK BEYAN

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Serum Total Safra Asiti ve GLP-1 Seviyesinin glukoz toleransı ile olan ilişkisi,
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	

DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ	Agustos 2022	01	Türkçe ☒ İngilizce ☐ Diğer ☐
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU (2 Adet)	Agustos 2022	01	Türkçe ☒ İngilizce ☐ Diğer ☐
	OLGU RAPOR FORMU	Agustos 2022	01	Türkçe ☒ İngilizce ☐ Diğer ☐
	BAŞVURU FORMU	Agustos 2022	01	Türkçe ☒ İngilizce ☐ Diğer ☐
DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	Belge Adı	Açıklama		
	SİGORTA	☐		
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	☒		
	BIYOLOJİK MATERYEL TRANSFER FORMU	☐		
	İLAN	☐		
	YILLIK BİLDİRİM	☐		
	SONUÇ RAPORU	☐		
	GÜVENLİLİK BİLDİRİMLERİ	☐		
	DİĞER:	☐		
KARAR BİLGİLERİ	Karar No: 07/03	Tarih: 12.09.2022		
	Yukarıda bilgileri verilen başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın/çalışmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve uygun bulunmuş olup araştırmanın/çalışmanın başvuru dosyasında belirtilen merkezlerde gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına toplantıya katılan etik kurul üye tam sayısının salt çoğunluğu ile karar verilmiştir. İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik kapsamında yer alan araştırmalar/çalışmalar için Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu'ndan izin alınması gerekmektedir.			

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU	
ETİK KURULUN ÇALIŞMA ESASI	İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik, İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu
BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI:	Prof. Dr. Osman ÇAĞLAYAN

Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet	Araştırma ile ilişki	Katılım	İmza
Prof.Dr. Osman ÇAĞLAYAN	Tıbbi Biyokimya	Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi	E ☒ K ☐	E ☒ H ☐	E ☒ H ☒	
Prof.Dr. Meral SAYGUN	Halk Sağlığı	Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi	E ☐ K ☒	E ☐ H ☒	E ☐ H ☒	
Prof.Dr. H. Ebru OLGUN	Periodontoloji	Kırıkkale Üniversitesi Diş Hekimliği Fak.	E ☐ K ☒	E ☐ H ☒	E ☐ H ☒	
Prof. Dr. Hacer Fulya GÜLERMAN	Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları	Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi	E ☐ K ☒	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Prof. Dr. Aydanur EKİCİ	Göğüs Hastalıkları	Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi	E ☐ K ☒	E ☐ H ☒	E ☒ H ☒	

Etik Kurul Başkanının
Unvanı/Adı/Soyadı: Prof. Dr. Osman ÇAĞLAYAN
İmza:

Not: Etik kurul başkanı, imzasının yer almadığı her sayfaya imza atmalıdır.

ÖZET

Amaç: Araştırmamızda Gestasyonel Diyabetes Mellitus (GDM) tanılı gebelerde Glukagon Benzeri Peptid-1 (GLP-1) ve Total Safra Asidi (TSA) konsantrasyonlarının Glukoz Toleransı ile olan ilişkisini ortaya koymak amaçlanmaktadır.

Gereç – Yöntem: Araştırmamız vaka kontrol çalışması olarak Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Polikliniğine başvuran 18-45 yaş aralığındaki ve 24-28. haftalarda Oral Glukoz Tolerans Testi (OGTT) yapılan gebe kadınların dahil edilmesi şeklinde tasarlandı. Çalışma 20 (yirmi) GDM tanısı alan ve 20 (yirmi) sağlıklı gebe olmak üzere toplam 40 (kırk) vakadan oluşturuldu. Serum glukoz ölçümleri enzimatik heksokinaz metotla, total safra asidi ölçümleri ise kolorimetrik metotla kit aplikasyonu sonrası otoanalizörde gerçekleştirildi. GLP-1 düzeyleri Human GLP-1 ELISA kiti ile manuel olarak analiz edildi.

Bulgular: Araştırmaya katılan gebelerden kontrol grubunda olanların yaş ortalaması ($27,95 \pm 3,82$) GDM grubunda olanların yaş ortalamasından ($30,25 \pm 4,91$) istatistiksel olarak farklı değildi. VKİ açısından ise kontrol grubunun ortalamasının ($27,01 \pm 2,92$ kg/m²) GDM grubunun ortalamasından ($29,58 \pm 4,31$ kg/m²) istatistiksel olarak farklı olduğu saptanmıştır. Korelasyon analizi sonrası çok güçlü ve anlamlı korelasyon sadece kontrol grubu GLP-1 açlık ve GLP-1 1. saat ($r=0,76$ $p=0,00$) arasında mevcuttu. Güçlü ve anlamlı korelasyon ise kontrol grubunda TSA açlık ile TSA 1.saat ($r=0,55$ $p=0,01$) arasında ve GDM grubunda TSA açlık ile TSA 1.saat ($r=0,65$ $p=0,00$) arasında mevcuttu. Grup içi karşılaştırmalarda hem kontrol grubunda hem de GDM grubunda GLP-1 açlık-GLP-1 1. saat ve TSA açlık-TSA 1. saat arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı. Gruplar arası karşılaştırmada VKİ ($p=0,043$), GLP-1 açlık ($p=0,014$) ve GLP-1 1. saat ($p=0,004$) arasında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilirken yaş, TSA açlık ve TSA 1. saat arasında anlamlı fark tespit edilmedi.

Sonuç: Çalışmamızda GLP-1 konsantrasyonlarının GDM’li grupta kontrol gruba göre daha yüksek ve anlamlı farklı olduğu tespit edilirken TSA konsantrasyonlarının karşılaştırmasında gruplar arasında anlamlı fark tespit edilmemiştir. GDM’li hastalarda oluşan insülin direncine tepki olarak GLP-1 konsantrasyonlarında artışın, azalan insülinotropik etkinin telafi edilmesi yönünde olduğunu göstermektedir. Gruplar arası TSA konsantrasyonlarının anlamlı farklı olmamasına rağmen referans aralığının üst kısmında bulunması glukoz toleransı açısından olası etkinin TSA alt gruplarından kaynaklandığını düşündürmektedir. Ayrıca TSA ile GLP-1 arasında korelasyonun bulunmaması da birbirlerinden bağımsız olarak veya TSA alt gruplar ile ilişkili olarak etkili olabileceklerini göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Diyabetes Mellitus (DM), Gestasyonel Diyabetes Mellitus (GDM), Glukagon Benzeri Peptid-1 (GLP-1), Total Safra Asidi (TSA), Glukoz Toleransı.



ABSTRACT

Aim: Our research aims to reveal the relationship between Glukagon Like Peptid-1 (GLP-1) and Total Bile Acid (TBA) concentrations and Glucose Tolerance in pregnant women diagnosed with Gestational Diabetes Mellitus (GDM).

Material and Method: Our research was designed as a case-control study to include pregnant women between the ages of 18-45 who applied to Kırıkkale University Faculty of Medicine Hospital Gynecology and Obstetrics Polyclinic and underwent Oral glucose tolerance test (OGTT) at 24-28 weeks. The study consisted of a total of 40 (forty) cases, 20 (twenty) diagnosed with GDM and 20 (twenty) healthy pregnant women. Serum glucose measurements were performed by the enzymatic hexokinase method, and total bile acid measurements were performed by the colorimetric method in the autoanalyzer after kit application. GLP-1 levels were analyzed manually with the Human GLP-1 ELISA kit.

Results: Among the pregnant women participating in the study, the average age of the control group (27.95 ± 3.82) was not statistically different from the average age of the GDM group (30.25 ± 4.91). In terms of Body Mass Index (BMI), it was determined that the average of the control group ($27.01 \pm 2.92 \text{ kg/m}^2$) was statistically different from the average of the GDM group ($29.58 \pm 4.31 \text{ kg/m}^2$). After correlation analysis, a very strong and significant correlation was found only between GLP-1 fasting and GLP-1 1st hour ($r=0.76$ $p=0.00$) in the control group. A strong and significant correlation existed between TBA fasting and TBA 1st hour in the control group ($r=0.55$ $p=0.01$) and between TBA fasting and TBA 1st hour in the GDM group ($r=0.65$ $p=0.00$). In intra-group comparisons, no statistically significant difference was found between GLP-1 fasting-GLP-1 1st hour and TBA fasting-TBA 1st hour in both the control group and the GDM group. In the comparison between groups, a statistically significant difference was detected between BMI ($p=0.043$), GLP-1 fasting ($p=0.014$) and GLP-1 1st hour ($p=0.004$), while no significant difference was detected between age, TBA fasting and TBA 1st hour.

Conclusion: In our study, GLP-1 concentrations were found to be higher and significantly different in the GDM group than in the control group, while no significant difference was detected between the groups in the comparison of TBA concentrations. It shows that the increase in GLP-1 concentrations in response to insulin resistance in patients with GDM is to compensate for the decreased insulintropic effect. Although TBA concentrations were not significantly different between groups, the fact that they were found at the upper end of the reference range suggests that the possible effect in terms of glucose tolerance is due to TBA subgroups. Additionally, the lack of correlation between TBA and GLP-1 indicates that they may be effective independently of each other or in association with TBA subgroups.

Key Words: Diabetes Mellitus (DM), Gestational Diabetes Mellitus (GDM), Glucagon Like Peptide-1 (GLP-1), Total Bile Acid (TBA), Glucose Tolerance.



TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimi sürecinde öğrencisi olmaktan gurur duyduğum, tez danışmanım olmasından dolayı da mutlu olduğum, eğitimim ve daha birçok konuda üzerimde sayısız emeği olan, bitmeyen eğitim sevgisi ve sabrıyla önümüzdeki birçok engeli aşmamızı sağlayan, konulara yaklaşımıyla kendisine hayran bıraktıran çok kıymetli sayın Prof. Dr. Osman ÇAĞLAYAN hocama,

Sadece uzmanlık eğitimi sırasında hocam olmasının yanı sıra hayatımın önceki dönemlerinde de arkadaşım olsaydı dediğim, yürüttüğü çalışmalara beni de dahil ederek birçok konuda bilgi sahibi olmamı sağlayan, bilgiyi ve eğlenceyi bir arada sunan çok değerli Prof. Dr. Üçler KISA hocama,

Başta Prof. Dr. Murat KAÇMAZ hocam olmak üzere bu süreçte üzerimde emeği olan diğer tüm hocalarıma, kendileriyle tanışmış ve çalışmış olmaktan dolayı şanslı olduğum Dr. Burak GÜRBÜZ ve Dr. Fatma Betül GÖKSÜN'e, laboratuvardaki tüm mesai arkadaşlarıma, asistanlık boyunca neşemiz olan kıymetli dostum Dr. İbrahim ŞENOCAK'a

Bugünlere gelmemi sağlayan, hayatlarını çocuklarına adayan, canımdan kıymetli annem Adile TEKİN ile babam Mehmet Nazif TEKİN'e, hayattaki ilk arkadaşlarım olan abim Dr. Erhan TEKİN ve kardeşim Dt. Erdal Tekin'e, tüm ailemizin neşesi olan yeğenim İnci TEKİN'e

Kendisini tanıdığım günden bu yana hayatıma renk katan, zor zamanlarda en büyük destekçim olan, varlığını ve sevgisini her zaman hissettiğim, çok sevdiğim eşim Zübeyde TEKİN'e

Sonsuz sevgi, saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Ercan TEKİN

Kırıkkale-2024



İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET	V
ABSTRACT	VII
TEŞEKKÜR	IX
İÇİNDEKİLER	XI
ÇİZELGELER DİZİNİ	XIII
ŞEKİLLER DİZİNİ	XIII
KISALTMALAR DİZİNİ	XV
1. GİRİŞ AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. DİYABETES MELLİTUS.....	3
2.1.1. Tanım.....	3
2.1.2. Prevalans	3
2.1.3. Tanı.....	4
2.1.4. Diyabetes Mellitus Sınıflaması.....	5
2.2. GESTASYONEL DİYABETES MELLİTUS.....	7
2.2.1 Tarihçe.....	7
2.2.2. Tanım ve Sınıflandırma	7
2.2.3. Prevalans	8
2.2.4. Etyoloji ve Patofizyoloji.....	8
2.2.5. Risk Faktörleri	10
2.2.6. Tarama ve Tanı.....	12
2.2.7. Maternal ve Fetal Komplikasyonlar	13
2.3. GLUKAGON BENZERİ PEPTİD-1	14
2.3.1. GLP-1'in Keşfi.....	14
2.3.2 GLP-1'in Sentezi.....	15
2.3.3. GLP-1'in Salgılanması.....	16
2.3.4. GLP-1'in Eliminasyonu	21

2.3.5 GLP-1 reseptörü (GLP-1R)	22
2.3.6 GLP-1 ve İnsülin	23
2.3.7 GLP-1'in Etkileri	24
2.4. TOTAL SAFRA ASİDİ.....	29
2.4.1 Tanım.....	29
2.4.2 Safra Asidi Metabolizması	29
2.4.3 Enterohepatik Dolaşım	31
2.4.4 Safra Asidi Sentezinin Düzenlenmesi	32
2.4.5. Nükleer Reseptörler	35
2.4.6. G Proteine Bağlı Reseptörler	40
2.4.7. Safra Asidi Etkileri	42
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	47
4. BULGULAR.....	49
5. TARTIŞMA.....	51
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	59
KAYNAKLAR	60

ÇİZELGELER DİZİNİ

	Sayfa
Tablo 2.1. IDF Diyabetes Mellitus tanı kriterleri	4
Tablo 2.2. Diyabetes Mellitus'un diğer spesifik tipleri	6
Tablo 2.3. GDM için risk faktörleri	12
Tablo 3.1. Kitlerin performans bilgileri	48
Tablo 4.1. Tanımlayıcı, grup içi ve gruplar arası istatistikler	50

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 2.1. Proglukagonun dokuya özgü posttranslasyonel işlenmesi.	15
Şekil 2.2. Safra asidi sentez yolları	31
Şekil 2.3. Kolesterol sentezinde SREBP yolu.	33
Şekil 2.4. Safra asidi hemostazının düzenlenmesinde FXR rolü.	37



KISALTMALAR DİZİNİ

ABC	: ATP Bağlayan Kaset
ACOG	: Amerikan Jinekoloji ve Obstetrik Derneği
ADA	: Amerikan Diyabet Birliği
APG	: Açlık Plazma Glukoz
BAG	: Bozulmuş Açlık Glukozu
BGT	: Bozulmuş Glukoz Toleransı
CA	: Kolik Asit
CAR	: Kurucu Androstan Reseptörü
CCK	: Kolesistokin
CDCA	: Kenodeoksikolik Asit
DCA	: Deoksikolik Asit
DIO2	: İyodotironin Deiyodinaz Tip 2
DIP	: Gebelikte Diyabet
DM	: Diyabet Mellitus
DPP-4	: Dipeptidilpeptidaz-4
DSÖ	: Dünya Sağlık Örgütü
ERK1/2	: Hücre Dışı Sinyalle Düzenlenen Kinaz 1/2
FFA	: Serbest Yağ Asidi
FGF15	: Fibroblast Büyüme Faktörü 15
FGFR4	: Fibroblast Büyüme Faktör Reseptörü 4
FIGO	: Uluslararası Jinekoloji ve Obstetrik Federasyonu
FXR	: Farnesoid X Reseptörü
Gcg	: Preproglukagon
GCT	: Glukoz Provokasyon Testi
GDM	: Gestasyonel Diyabetes Mellitus
GIP	: Gastrik İnhibitör Peptit
GLP-1	: Glukagon Benzeri Peptid-1
GLP-1R	: GLP-1 Reseptörü
GPCR	: G Proteinine Bağlı Reseptörler
GRPP	: Glisentinle İlişkili Pankreatik Polipeptit

HbA1c	: Hemoglobin A1c
HIP	: Gebelikte Hiperglisemi
HNF4α	: Hepatosit Nükleer Faktör 4 α
hPL	: İnsan Plasental Laktojen
IADPSG	: Uluslararası Gebelik ve Diyabet Çalışma Grupları Birliği
IDF	: Uluslararası Diyabet Federasyonu
IRS-1	: İnsülin Reseptör Substratı-1
LCA	: Litokolik Asit
LGA	: Gebelik Haftasına Göre İri Bebek
LRH-1	: Karaciğer Reseptör Homoloğu 1
LXRα	: Karaciğer X Reseptörü Alfa
MAPK	: Mitojenle Aktifleşen Protein Kinaz
MCA	: Murikolik Asit
MODY	: Gençlerin Erişkin Başlangıçlı Diyabeti
MPGF	: Majör Proglukagon Fragmanı
MA	: Moleküler Ağırlık
NF-κB	: Nükleer Faktör Kappa B
NGT	: Normal Glukoz Toleransı
NIH	: Ulusal Sağlık Enstitüleri
NTCP	: Sodyum-Taurokolat Kotransport Polipeptidi
NTS	: Nukleus Traktus Solitarii
OGTT	: Oral Glukoz Tolerans Testi
OSTa/β	: Organik Çözünen Taşıyıcı α ve β Dimer
PC	: Prohormon Konvertaz
PC1 (PCSK1)	: Prohormon konvertaz 1
PC2 (PCSK2)	: Prohormon konvertaz 2
Pdx1	: Pankreatik Duedonal Homeobox Gen-1
PEPCK	: Fosfoenolpiruvat Karboksikinaz
PI3K	: Fosfatidilinositol 3-Kinaz
PKA	: Protein Kinaz A
PKB	: Protein Kinaz B
PPARα	: Peroksizom Proliferatörleri ile Aktive Olan Reseptör α
PRL	: Prolaktin
PXR	: Pregnan X Reseptörü
PYY	: Peptid YY

RYGB	: Roux en Y Gastrik Bypass
S1P	: Sfingozin-1-Fosfat
S1P2	: Sfingozin-1-Fosfat Reseptörü 2
SGA	: Gebelik Yaşına Göre Küçük Bebek
SHP	: Small Heterodimer Partner
SphK1	: Sfingozin Kinaz 1
SphK2	: Sfingozin Kinaz 2
SREBP	: Sterol Düzenleyici Eleman Bağlayıcı Protein
T2DM	: Tip 2 Diyabetes Mellitus
TGR5	: Takeda G-Protein Reseptörü-5
TLCA	: Taurolitokolik Asit
TSA	: Total Safra Asidi
TUDCA	: Tauroursodeoksikolik Asit
UDCA	: Ursodeoksikolik Asit
VDR	: D Vitamini Reseptörü



1. GİRİŞ AMAÇ

Diyabetes Mellitus (DM) insülin sentezinde veya etkisindeki patolojik durumlar sonucu ortaya çıkan karbonhidrat metabolizması bozukluğudur (1). Gestasyonel diyabetes mellitus (GDM) ise gebelik öncesi olmayan gebelik esnasında oluşan ve gebeliğin ikinci veya üçüncü trimesterinde tanı alan diyabet tipidir (2). Toplumdaki tip 2 diyabet prevalansı ile GDM prevalansı doğru orantılı olarak değişmektedir (3). Uluslararası Diyabet Federasyonu (IDF) verilerine göre 2021 yılındaki gebeliklerin yaklaşık %17'sinde hiperglisemi tespit edildiği ve bunların yaklaşık %80'inin GDM olduğu belirtilmiştir (1).

GDM'li gebelerde hücrelere insülin aracılı glukoz alımında %54 oranında azalma görülmektedir. İnsülin direnci nedeniyle oluşan bu durum özellikle gebeliğin geç döneminde kan glukoz seviyelerinde artışa neden olur (4). Gebeliğe bağlı endokrin değişikliklerin de gelişen insülin direncine önemli katkıları olmaktadır (5). GDM gelişimi gebelerde morbidite ve mortalite riskini artırır. Aynı zamanda annede oluşan yüksek glukoz seviyelerinin fetüs üzerinde de birçok olumsuz etkisi bulunmaktadır (6).

Glukagon benzeri peptid-1 (GLP-1), pankreasın α hücrelerinde, bağırsak enteroendokrin L hücrelerinde (büyük oranda ileum ve kolonda) ve beyin sapında nukleus traktus solitarii'de (NTS) preproglukagon'dan (Gcg) sentezlenir (7). GLP-1'in karbonhidrat metabolizması, lipid metabolizması ve gıda alımı gibi birçok metabolik sürece etkisi bulunmaktadır. Enteral beslenme sonrası sağlıklı insanlarda GLP-1 seviyeleri yükselmekte ve buna bağlı glukozun indüklediği insülin salgılanmasında artış görülmektedir (8).

Kolesterol katabolizması sonucu oluşan safra asitleri miseller oluşturarak safra kesesinde depolanır (9). Besin sindirimi ve emilimini kolaylaştırmak için bağırsağa salgılanır. Çoğu ileumdan geri emilir ve karaciğere tekrar taşınır. Safra asitlerinin enerji metabolizması, lipid metabolizması, obezite, steatoz, karaciğer ve bağırsak iltihabı ile insülin duyarlılığı üzerine etkileri mevcuttur (10). Diyabetik hastalarda safra asidi düzeylerinin arttığı ve insülin tedavisiyle azaldığı gösterilmiştir (11).

GDM gelişiminde birçok faktörün rol aldığı ve sonuç olarak insülin direnci gelişimi sonrası yüksek glukoz düzeylerinin ortaya çıktığı bilinmektedir. Hem GLP-1 hem de safra asitlerinin karbonhidrat metabolizması üzerine etkileri bulunmaktadır. GLP-1 düzeylerindeki artışın enteral beslenme sonrası hızlı ve yüksek olması ve ayrıca safra asidinin de besin alımı sonrası erken artışı karbonhidrat metabolizması üzerindeki etkilerinin ilişkili olabileceğini düşündürmektedir (12-15). Çalışmamızda, GDM'li gebelerde GLP-1 ve total safra asidi (TSA) düzeylerinin karbonhidrat metabolizmasıyla olan ilişkisini ortaya koymak amaçlanmaktadır.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. DİYABETES MELLİTUS

2.1.1. Tanım

Genel olarak kısaca diyabet olarak söylenen diabetes mellitus, karbonhidrat metabolizması bozukluğu sonucu uzun süre (kronik) yüksek kan glukozu (hiperglisemi) ile seyreden duruma denir.

Pankreasta sentezlenen insülin hormonu plazmadaki glukozun hücre içine girmesini sağlar. İnsülin sentezinde veya etkisinde (periferik direnç) oluşan yetersizlik hiperglisemiye/diyabetes mellitus'a neden olur. Bu durumun uzun süre kontrol altına alınmadan seyretmesi ile sinir hasarı (nöropati), böbrek hasarı (nefropati), göz hasarı (retinopati), damar hasarı (anjiopati) gelişebilir (1).

2.1.2. Prevalans

Ülkemizde 1997-1998 yıllarında 20 yaş üstü 24.788 kişiyi kapsayan Türkiye Diyabet Epidemiyoloji Çalışması (TURDEP-I) tip 2 diyabet prevalansını %7,2 olarak, bozulmuş glukoz toleransı (BGT) prevalansını ise %6,7 olarak belirtmektedir. Ayrıca diyabet riskinin ailede diyabet öyküsü, obezite, hipertansiyon, yaşlanma, gelir düzeyi, eğitimsizlik ve alışkanlıklar ile ilişkili olduğunu belirtmektedir (16). Bu çalışmadan yaklaşık 12 yıl sonra yapılan Türkiye Diyabet, Hipertansiyon, Obezite ve Endokrinolojik Hastalıklar Prevalans Çalışmasında (TURDEP-II) 26.499 (16.696 kadın, 9.327 erkek; 15.783 kentsel, 10.441 kırsal) birey incelenmiştir. Çalışmada tanı için açlık plazma glukoz (APG) ve oral glukoz tolerans testi (OGTT) kullanarak diyabet prevalansı %16,5 bulunmuştur. Bu oran 6,5 milyon kişinin diyabet hastası olduğunu göstermektedir. Ayrıca TURDEP-II, TURDEP-I'e göre standardize edildiğinde, Türk erişkin toplumunda diyabet prevalansının %13,7'ye (kadın: %14,6, erkek: %12,4) ulaştığı görülmüştür (17).

Uluslararası Diyabet Federasyonu'nun (IDF) 2021 yılında yayınladığı Diyabet Atlasında 2021'de 20-79 yaş arası kişilerde dünya geneli diyabet prevalansının %10,5

(yaklaşık 537 milyon kişi) olduğu belirtilerek, 2030'da %11,3 (yaklaşık 643 milyon) ve 2045'te ise %12,2 olacağı (yaklaşık 783 milyon) tahmin edilmektedir. Bu durum diyabetli hasta artış oranının nüfus artış oranından daha büyük olacağını göstermektedir. Diyabet prevalansının cinsiyetler arasında benzer ve 75-79 yaş arasında en yüksek olduğu belirtilmektedir (1).

2.1.3. Tanı

Diyabet ve prediabetik durumların tanısı için dünyada yaygın olarak kullanılan IDF, Amerikan Diyabet Birliği (ADA) ve Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) kriterlerinden IDF tanı kriterleri Tablo 2.1'de gösterilmiştir. DSÖ, Hemogloblin A1c'nin (HbA1c) diyabet tanı kriteri olarak kullanılmasını kabul ederken prediabet için kullanılmasını önermemektedir (18). ADA ise prediabet tanısı için HbA1c değerlerini %5,7-6,4 (39-47 mmol/mol) olarak kabul etmektedir. Ayrıca bozulmuş açlık glukozu (BAG) için açlık plazma glukozunun (APG) 100-125 mg/dL (5,6-6,9 mmol/L) aralığını önermektedir (2).

Tablo 2.1. IDF Diyabetes Mellitus tanı kriterleri

Diyabet	Açlık plazma glukozu	≥126 mg/dL (7,0 mmol/L)
	veya	
	2. saat plazma glukozu (75g OGTT)	≥200 mg/dL (11,1 mmol/L)
	veya	
	HbA1c	≥%6,5 (48 mmol/mol)
	veya	
Bozulmuş Glukoz Toleransı (BGT)	Rastgele plazma glukozu (Hiperglisemi semptomları varsa)	≥200 mg/dL (11,1 mmol/L)
	Açlık plazma glukozu	<126 mg/dL (<7,0 mmol/L)
	ve	
Bozulmuş Açlık Glukozu (BAG)	2. saat plazma glukozu (75g OGTT)	140-199 mg/dL (≥7,8 ile <11,1 mmol/L)
	Açlık plazma glukozu	110-125 mg/dL (6,1- 6,9 mmol/L)
	ve ölçülürse	
	2. saat plazma glukozu (75g OGTT)	<140 mg/dL (<7,8 mmol/L)

Açlık, en az 8 saatlik kalori alınmaması olarak tanımlanmaktadır. HbA1c testi, National Glycohemoglobin Standardization Program (NGSP) sertifikalı ve Diabetes Control and Complications Trial (DCCT) testine göre standardize edilmiş bir yöntem kullanılarak yapılmalıdır. İki saatlik postprandiyal plazma glukoz testi, suda çözülmüş 75 g glukoz içeren bir glukoz yükü kullanılarak gerçekleştirilmelidir. Hiperglisemi semptomlarının yokluğunda, diyabet tanısı için en az iki kere test yapılmalı ve sonuçların anormal olması gereklidir.

2.1.4. Diyabetes Mellitus Sınıflaması

2.1.4.1. Tip 1 DM

Pankreas beta hücrelerinde otoimmün kaynaklı hasar sonrası insülin üretiminin çok az olması ya da hiç olmaması sonucu ortaya çıkar. Kan glukoz seviyesini normal aralıkta tutmak için günlük insülin enjeksiyonu gerekmektedir. Genel olarak erken yaşlarda ortaya çıksa da her yaşta görülebilir. Hastalarda tipik semptomlardan olan kilo kaybı, aşırı susama (polidipsi) ve sık idrara çıkma (poliüri) bulunmayabilir. Bu da tanının erken konulmasını geciktirebilir. Akut komplikasyonlarından olan diyabetik ketoasidoz (DKA) ile hastaneye başvuruca tanı alınabilir (1, 2).

2.1.4.2. Tip 2 DM

Başlangıcında insülin bağımlı olmayan veya yetişkin başlangıçlı diyabet olarak da bilinir. Tüm diyabetlerin %90-95'ini kapsayarak dünyadaki en yaygın diyabet tipidir. Hücrelerin insüline verdikleri yanıtın azalması (insülin direnci) insülin sentezinde artışa yol açar. Genellikle pankreas beta hücrelerinin artan insülin ihtiyacını karşılayamaması göreceli insülin eksiliğine sebep olur. Hastalar hayatları boyunca insülin tedavisine ihtiyaç duymadan yaşayabildikleri gibi tedaviye insülinin eklemesi de gerekebilir (2).

2.1.4.3. Gestasyonel DM

Önceleri gebelikte başlayan veya ilk kez gebelik sürecinde tespit edilen glukoz intoleransı olarak tanımlanmıştır. Glukoz intoleransının gebelik öncesi dönemde olabileceğine dikkat edilmemiştir. Bu durum GDM tespitini ve sınıflandırmasını kolaylaştırdığı gibi kısıtlamaları da kapsıyordu. 2008-2009 yıllarında birçok obstetrik ve diyabet kuruluşun katıldığı Uluslararası Gebelik ve Diyabet Çalışma Grupları Birliği (IADPSG) gebelik öncesi diyabet hastası olduğu tespit edilenleri GDM tanısı dışında bırakmıştır (19). GDM, gebelik öncesi diyabeti olmayan kadınlarda gebeliğin ikinci veya üçüncü trimesterinde tespit edilen diyabet olarak tanımlanmıştır (2).

2.1.4.4. Diğer spesifik tipler

DSÖ tarafından 2019 yılında yayınlanan Diabetes Mellitus'un sınıflandırılması adlı raporda, monogenik diyabet ve eskiden 'ikincil diyabet' olarak adlandırılan diyabet tiplerini de içeren sınıflandırma 'diğer spesifik diyabet türleri' olarak listelenmektedir

(20). Monogenik diyabet prevalansı %1,5-2 arasındadır ve bu prevalans düşüklüğü genellikle tip 1 veya tip 2 diyabet olarak yanlış tanı koyulmasından kaynaklı olabilir. Bazı monogenik diyabet formlarında tedavi spesifik genetik bozukluğa yönelik olduğundan monogenik formların kesin tanısı önemlidir (21). Birçok nedeni içeren bu grup Tablo 2.2’de gösterilmiştir.

Tablo 2.2. Diyabetes Mellitus’un diğer spesifik tipleri

A. β Hücre Fonksiyonunun Genetik Kusurları	D. Endokrinopatiler	F. Enfeksiyonlar
1. Kromozom 12, HNF-1a (MODY3)	1. Akromegali	1. Konjenital kızamıkçık
2. Kromozom 7, glucokinase (MODY2)	2. Cushing sendromu	2. Sitomegalovirüs
3. Kromozom 20, HNF-4a (MODY1)	3. Glukagonoma	3. Diğerleri
4. Kromozom 13, insulin promoter factor-1 (IPF-1; MODY4)	4. Feokromasitoma	G. İmmün Aracılı Diyabetin Yaygın Olmayan Formları
5. Kromozom 17, HNF-1b (MODY5)	5. Hipertiroidizm	1. “Stiff-man” Sendromu
6. Kromozom 2, NeuroD1 (MODY6)	6. Somatostatinoma	2. Anti-insülin reseptör antikorları
7. Mitokondriyal DNA	7. Aldosteronoma	3. Diğerleri
8. Diğerleri	8. Diğerleri	H. Bazen Diyabetle İlişkili Diğer Genetik Sendromlar
B. İnsülin Etkisinde Genetik Kusurlar	E. İlaç veya Kimyasal Kaynaklı	1. Down sendromu
1. Tip A insülin direnci	1. Vacor	2. Klinefelter sendromu
2. Leprekonizm	2. Pentamidin	3. Turner sendromu
3. Rabson-Mendenhall sendromu	3. Nikotinik asit	4. Wolfram sendromu
4. Lipoatrofik diyabet	4. Glukokortikoidler	5. Friedreich ataksisi
5. Diğerleri	5. Tiroid hormonu	6. Huntington koresi
C. Ekzokrin Pankreas Hastalıkları	6. Diazoksit	7. Laurence-Moon-Biedl sendromu
1. Pankreatit	7. β- adrenerejik agonistler	8. Miyotonik distrofi
2. Travma/pankreatektomi	8. Tiazidler	9. Porfiri
3. Neoplazi	9. Dilantin	10. Prader-Willi sendromu
4. Kistik fibrozis	10. Interferon Gamma	11. Diğerleri
5. Hemokromatoz	11. Diğerleri	
6. Fibrokalkülöz pankreatopati		
7. Diğerleri		

2.2. GESTASYONEL DİYABETES MELLİTUS

2.2.1 Tarihçe

Gebelikteki diyabetten ilk kez bahseden 1824 yılında Heinrich Bennewitz olmuştur. Yayınında gebeliği sırasında aşırı susama ve glukozürisi olan bir vakayı anlatmıştır (22). Brocard ise 1898'de yaptığı çalışmada 50 g glukoz alımından 2 saat sonra gebe olmayan kadınların %11'inde glukozüri gelişirken gebe kadınların %50'sinde glukozüri geliştiğini tespit etmiştir. Böylece gebeliğin şeker karşı toleransı azalttığını ortaya koymuştur. Ayrıca glukozürinin birbirini izleyen gebeliklerde tekrarladığını belirtmiştir (23). Gestasyonel diyabet ile ilgili araştırmalar 1940'larda başlamıştır. 1949'da Dr. Priscilla White, diyabet ve hamileliğin sınıflandırılmasında kullanılan "White Sınıflandırması"nı önermiştir. Gebelik öncesi diyabeti olan hastaları, GDM'li hastalardan ayırmak için daha sonra revize edilmiştir. Diyabetin başlangıç yaşına, süresine ve ilişkili komplikasyonların varlığına göre orijinal sınıflandırmaya alfabetik sınıflar eklenmiştir (24). 1954 yılında, durumun geçici doğasını vurgulayan "meta gebelik diyabeti" terimi ortaya çıkmıştır. 1964'te O'Sullivan ve Mahan, gebelik diyabeti için tanı kriterleri önermişlerdir (25). Gestasyonel diyabet, 1979 yılında resmi olarak diyabetin kendine özgü bir türü ve ilk kez "gebelikte görülen değişken şiddetteki karbonhidrat intoleransı" olarak tanımlanmıştır (26).

2.2.2. Tanım ve Sınıflandırma

Gestasyonel diyabetes mellitus gebelik sürecinde başlayan ve gebelik öncesinde olmayan herhangi bir derecedeki glukoz intoleransıdır. Gebelik öncesi tespit edilen veya gebelik öncesi var olup gebelikte tespit edilen diyabet dışında, gebelik ilerledikçe plasenta tarafından üretilen hormonlara bağlı olarak insülin etkisinde azalma (insülin direnci) ve insülin salgılama kapasitesindeki yetersizlik kadınlarda GDM'nin ortaya çıkmasına neden olur (27). Başlarda ilk kez gebelik sırasında tespit edilen glukoz yüksekliği, glukoz intoleransı olarak kabul edilmiştir (28). Bu durum GDM tespitini kolaylaştırırsa da gebelik öncesi diyabet taraması yaygın olmadığından daha önceki hiperglisemi durumlarını da kapsamaktadır.

Gebelikte hiperglisemi (HIP), DSÖ ve Uluslararası Jinekoloji ve Obstetrik Federasyonu'na (FIGO) göre gebelik öncesi diyabet, gebelikte diyabet (DIP) veya

GDM olarak sınıflandırılır (29, 30). Gebelikten önce tespit edilmiş tip 1, tip 2 veya diğer spesifik tip diyabeti olan kadınlar gebelik öncesi diyabet olarak sınıflandırılır. Gebe değil iken DSÖ diyabet kriterlerine göre hiperglisemisi olanların ilk kez gebelik sırasında tespit edilmesi gebelikte diyabet (DIP) olarak sınıflandırılır. DIP en iyi ilk trimesterde saptanır. Gebelik süresince ortaya çıkan ve doğum sonrası devam etmesi beklenmeyen hiperglisemi ise GDM olarak sınıflandırılır (29). HIP vakalarının %90'a varacak kadar çoğunun GDM olduğu tahmin edilmektedir (31). Ayrıca kadınlarda diyabet iki gruba ayrılabilir. Bunlar gebelik öncesi diyabet tanılı (Pregestasyonel veya aşikâr diyabet) olanlar ve gebelik sırasında diyabet tanısı (Gestasyonel diyabet) alanlardır. Gebelik öncesi diyabet ve DIP, aşikâr diyabet olarak değerlendirilir. GDM tanılı kadınların yaklaşık yarısında doğum sonrası 5 ile 10 yıl arasında aşikâr diyabet gelişmektedir (32). GDM ise A1GDM, A2GDM ve A3GDM olarak sınıflandırılır. Glukoz seviyesinin kontrolü ilaç tedavisi verilmeden, sadece diyet ile sağlanıyorsa A1GDM sınıfı olarak adlandırılır. Kontrol edilmesi için ilaç tedavisi gerekiyorsa A2GDM sınıfı olarak adlandırılır. İlaç ya da diyetin uygulanmadığı veya kontrolsüz hastalar A3GDM sınıfı olarak adlandırılır (33).

2.2.3. Prevalans

2009 yılında yapılan bir çalışmada tüm gebeliklerin yaklaşık %7'sinde diyabetin olduğu ve bu diyabetli gebeliklerin de yaklaşık %86'sının GDM olduğu tahmin edilmektedir (34). 2021 yılında IADPSG'nin tanı kriterlerine göre standartlaştırılmış bir meta-analizde GDM prevalansı dünya geneli için %14,2 olarak belirtilmektedir (35). 2018 yılında yapılan bir çalışmada Türkiye'deki GDM prevalansı Carpenter-Coustan kriterlerine göre %16,2 olarak, National Diabetes Data Group (NDDG) kriterlerine göre ise 11,3 olarak bulunmuştur (36). 2021 yılında yayınlanan bir sistematik derlemede ise Türkiye için GDM prevalansın %7,7 olduğu rapor edilmiştir (37). GDM prevalansını, popülasyonun tip 2 diyabet prevalansı, tanı ve tarama kriterleri, ırk, yaş ve vücut yapısı etkilemektedir (34).

2.2.4. Etyoloji ve Patofizyoloji

Gebelik süresince tüm gebelerde insülin salgılanmasında artış görülür. Bu artışın GDM'li gebelerde daha düşük seviyeden başlaması özellikle insülin direncinin en yüksek olduğu gebeliğin geç döneminde artan glukoz seviyelerine neden olur. Dolayısıyla β hücre defektinin gebelik esnasında oluşmasından ziyade uzun süreli bir

durumdan kaynaklandığı düşünülmektedir (4, 38, 39). İnsülin ihtiyacı sadece gebelik döneminde olursa doğum sonrası glukoz seviyeleri normale döner. Ancak bazı hastalarda kronik olan bu durum sonradan hiperglisemi ve diyabet (genellikle T2DM) olarak ortaya çıkabilir (38).

Normal gebeliklere kıyasla GDM'li gebelerde insülin etkisiyle olan hücrelere glukoz alımı %54 oranında azalır (4). İnsülin reseptör sayısı genellikle değişmezken insülin reseptörünün azalan tirozin veya artan serin/treonin fosforilasyonuna bağlı olarak insülin sinyali azalır (40). Ayrıca insülin reseptör substratı-1 (IRS-1) ve fosfatidilinositol 3-kinaz (PI3K) dahil olmak üzere insülin sinyalleme sisteminin aşağı yönlü düzenleyicilerinin değişen ekspresyonu veya fosforilasyonu GDM'de tanımlanmıştır (4). Bu moleküler değişikliklerin çoğu hamileliğin ötesinde de devam etmektedir (41).

Gelişen insülin direncine endokrin değişiklikler de önemli bir katkı sağlamaktadır. Östrojenler, progesteron, kortizol, insan koryonik somatotropin (hCS) veya insan plasental laktojen (hPL), prolaktin (PRL) ve büyüme hormonu (GH) gibi hormonların insülin direncini indüklediği gösterilmiştir (5). Östrojenler, insülin konsantrasyonunu ve insülin bağlanmasını artırır. Buna karşın progesteron hem insülin bağlanmasını ve glukoz taşınmasını azaltarak hem de hepatik glukoneogenezin insülin baskılanmasını bozarak glukoz intoleransına neden olur. Yüksek glukokortikoid seviyeleri ise insülin reseptör fosforilasyonunu bozarak ve IRS-1'in hücre içi düzeyini azaltarak reseptör sonrası seviyede insülin direncini indükleyebilir. Ayrıca plazma glukagon konsantrasyonları gebeliğin son trimesterinde artar. GDM'li kadınlarda plazma glukagon düzeylerinin daha da yüksek olması insülin direncine katkıda bulunabilir.

İnsan plasental laktojen hormonu (hPL), hPL-A ve hPL-B genlerinin ürünüdür. Gebeliğin altıncı haftasından sonra anne ve fetus dolaşımına salgılanır. Büyüme hormonuna benzer şekilde hPL, insülin duyarlılığının azalmasına katkıda bulunur. Ek olarak laktojen hormonları (hPL, hGH, PRL) normal gebelik sırasında meydana gelen adacık kütlesi artışının düzenlenmesinde rol oynamaktadır.

Gestasyonel diyabetli kadınlarda hamilelik sırasında ve sonrasında plazma leptin konsantrasyonlarının arttığı gösterilmiştir (42). Gebelik sırasında plazma leptininin büyük kısmından plasenta sorumludur (43). GDM'de plasental leptin üretimi muhtemelen plasental insülin direncinin bir sonucu olarak artar ve bu da

hiperleptinemiye katkıda bulunur. Bunun aynı zamanda plasenta boyunca amino asit taşınmasını kolaylaştırdığı ve fetal makrozomiye katkıda bulunduğu düşünülmektedir (44).

GDM'de proinflamatuvar sitokinlerin dolaşımdaki konsantrasyonlarının ve aynı zamanda TNF- α , IL-1 β ve reseptörlerinin plasental gen ekspresyonunun arttığı belirtilmektedir. Özellikle plazma TNF- α düzeyi, insülin direnciyle güçlü bir şekilde ilişkilidir (45-47). Obezite, T2DM ve GDM, proinflamatuvar sitokinleri (TNF- α , IL-6 ve IL-1 β vb.) salgılayan yerleşik adipoz doku makrofajlarının artan sayısı ile ilişkilidir. Proinflamatuvar sitokinlerin hem insülin sinyalini bozduğu hem de beta hücrelerinden insülin salınımını engellediği keşfedilmiştir. Bu faktörler, insülin reseptörü tirozin kinaz aktivitesini azaltarak, IRS-1'in serin fosforilasyonunu artırarak veya IRS-1'i bozan STAT3-SOCS3 yoluyla insülin direncini indükler (40, 48).

Oksidatif stres, hücrelerdeki pro-oksidanlar ve antioksidanlar arasındaki dengesizliği tanımlar. Oksidatif stres, proteinlerin, lipidlerin ve DNA'nın yapısını bozarak hücresel hasara yol açabilir ve GDM dahil birçok hastalığın patogenezinde rol oynar (49). Hiperglisemik ortam oksidatif stres ile ilişki olup GDM'li kadınların serbest radikalleri aşırı ürettiği ve serbest radikal temizleme mekanizmalarının bozulduğu rapor edilmiştir (50). Plazma demir konsantrasyonları normal olan kadınlarda demir takviyesi GDM gelişimi ile ilişkilidir (51). Bu ilişkinin artan oksidatif stres kaynaklı olduğunu ileri sürülmektedir. Metiyoninin demetilasyonu ile oluşan protein yapısına girmeyen bir α -amino asit olan homosisteinin de oksidatif stres yoluyla GDM'ye katkıda bulunduğu düşünülmektedir. Beta hücrelerinin az miktarda homosisteine maruz kalması bile fonksiyon bozukluğuna ve insülin sekresyonunun bozulmasına neden olur (52). Bir meta-analizde, serum homosistein konsantrasyonu ile GDM arasındaki ilişki incelenmiş ve GDM'li kadınlarda GDM olmayanlara kıyasla anlamlı derecede yüksek homosistein konsantrasyonları bildirilmiştir (53). Folik asit, B2, B6 ve B12 dahil B vitaminleri homosistein homeostazisi için gereklidir. Bu durum bu mikro besinlerin eksiklikleri ile GDM arasında bir ilişki olabileceğini düşündürür (54).

2.2.5. Risk Faktörleri

GDM için tanımlanan risk faktörlerinin bazıları değiştirilebilir iken bazıları değiştirilemez risk faktörleridir. GDM açısından değiştirilebilir risk faktörleri kontrol

altına alınmalıdır. Bunun için yaşam tarzı değişikliği önemli bir adımdır. Egzersiz, diyet, sigaranın bırakılması gibi değişiklikler GDM gelişme riskini anlamlı ölçüde azaltmaktadır. GDM için daha önceki gebelikteki GDM öyküsü en güçlü risk faktörüdür ve nüks riskini %84'e kadar çıkarabilmektedir (55). GDM riski etnik kökene bağlı olarak da büyük ölçüde değişmektedir. Çok etnikli nüfusa sahip ülkelerde (Avustralya, ABD ve Kanada gibi) etnik kökenler arasında GDM prevalansında dikkate değer farklılıklar gözlemlenmiştir (56). Bu durum vücut yağlanması, yaşama tarzı (diyet ve fiziksel aktivite) ve genetik duyarlılık gibi birçok nedenden kaynaklanmaktadır. Ailede tip 2 diyabet öyküsü ve artan anne yaşı da GDM için önemli bir risk faktörüdür (57). Geniş prospektif bir çalışmada GDM prevalansı 40 yaş üstü kadınlarda %9,8 bulunurken 40 yaş altı kadınlarda %4,9 olarak bulunmuştur (58).

Gebelik öncesi fazla kilolu (VKİ 25-29,99 kg/m²) veya obez (VKİ $\geq$ 30 kg/m²) olunması GDM için yaygın risk faktörleridir. VKİ <30 kg/m² olan kadınlarla Sınıf I obezitesi (VKİ 30-34,99 kg/m²) ve sınıf II obezitesi (VKİ 35-39,99 kg/m²) olan kadınlar kıyaslandığında GDM riski Sınıf I'de yaklaşık 3, sınıf II' de ise yaklaşık 4 kat artmaktadır (59). Özellikle ilk trimesterde ve gebelikler arası yüksek kilo alımı da GDM riskinin artmasıyla ilişkilidir (60).

Annenin gebelik öncesi ve erken gebelik hipertansiyonu, gebeliğin erken döneminde düşük plazma D vitamini ve C vitamini düzeyleri GDM gelişme riskinin artmasıyla ilişkilidir (61-63). Ayrıca gebe kadınların ve ebeveynlerin sigara içmesi de artan GDM riski ile ilişkilidir (64). Erkek fetüs taşıyan kadınların GDM geliştirme riski daha yüksek gibi görünmektedir (65).

Çevresel ve psikososyal faktörler GDM gelişme riskinde artışa yol açabilmektedir. Örneğin, kalıcı organik kirleticilere, polibromlu difenil eterler ve perflorooktanoik asit gibi endokrin bozuculara daha fazla maruz kalma, artan GDM riskiyle ilişkilendirilmiştir (66, 67). Birinci ve ikinci trimesterdeki depresyonun, ileriye dönük olarak artan GDM riskiyle ilişkili olduğu görülmüştür.

GDM için diğer risk faktörleri arasında multiparite (68), ikiz gebelik (69), makrozomi (70), gebelik yaşına göre küçük (SGA) veya gebelik haftasına göre iri (LGA) bebek sahibi olmak (68), düşük sayısı (68), ölü doğum öyküsü (68), insülin direnciyle ilgili önceden var olan koşullar (polikistik over sendromu vb.) (71), sedanter yaşam (72), eğitim düzeyi (73), diyetler (düşük lifli ve yüksek glisemik yüklü) (74) ve

ilaçlar (glukokortikoidler ve antipsikotik ajanlar) (75) bulunmaktadır. GDM için risk faktörü olan durumlar Tablo 2.3.'de gösterilmiştir.

Gebelik sırasında ve öncesinde fiziksel aktivitenin GDM riskini azalttığı bildirilmektedir (76). Genel olarak, gözlemsel çalışmalardan elde edilen bulgular, gebelikten önce sağlıklı bir diyet uygulanması, vücut kitle indeksinin $<25 \text{ kg/m}^2$ tutulması, günde ≥ 30 dakika egzersiz yapılması ve sigara içmekten kaçınılmasıyla GDM vakalarının yaklaşık %45'inin önlenebileceğini göstermektedir (77).

Tablo 2.3. GDM için risk faktörleri

GDM öyküsü	İkiz gebelik
Etnik köken	Makrozomi
İleri anne yaşı	SGA veya LGA bebek sahibi olmak
Ailede Tip 2 diyabet öyküsü	Ölü doğum öyküsü
Obezite	Polikistik over sendromu
Gebelikte aşırı kilo alımı	Sedanter yaşam
Sigara	İlaçlar
Fetüsün cinsiyeti	Düşük lifli, yüksek glisemik yüklü diyetler
Çevresel ve psikososyal faktörler	Gebelikte Hipertansiyon
Multiparite	

2.2.6. Tarama ve Tanı

Gebelik öncesi risk faktörlerinin taranması ve gebelik planlayanların diyabet tanısı açısından test edilmesi önerilmektedir. Daha önceden tarama yapılmamış gebelerin ise doğumdan önceki ilk ziyarette standart tanı kriterleri ile diyabet açısından test edilmesi önerilmektedir. Diyabet tanısı almamış veya gebeliğin erken döneminde anormal glukoz metabolizması tespit edilenlere 24-28. haftalarda GDM taraması yapılmalıdır (78).

GDM tanısı genel olarak iki stratejiden biriyle gerçekleştirilebilir: Biri IADPSG kriterlerinden türetilen “tek adımlı” 75-g OGTT iken diğeri Carpenter-Coustan'ın eski O'Sullivan ve Mahan kriterlerine ilişkin yorumuna dayalı olarak 50 gramlık (açlıksız) tarama ve ardından 100 gramlık OGTT içeren "iki adımlı" yaklaşımdır (78).

1964 tarihinde O'Sullivan ve Mahan tarafından geliştirilen glukoz provokasyon testi (GCT) ve pozitif GCT'si olanlara 3 saatlik 100 g'lık bir OGTT uygulanması GDM tanısı için kullanılan ilk kriterler olmuştur (25). GDM tanısı ile ilgili mevcut verileri

değerlendirmek için 2013 yılında Ulusal Sağlık Enstitüleri (NIH) Konsensüs Geliştirme Konferansı düzenlendi. Panel, 50 g glukoz yüklemesi ile 1 saatlik tarama testi ve sonrasında taraması pozitif çıkanlar için 3 saatlik 100 g OGTT kullanan iki aşamalı bir tarama yaklaşımı önerdi (79). FIGO 2015 kılavuzu, belirli coğrafi bölgelerde ve etnik gruplarda farklı tanı süreçlerine ve glukoz eşiklerine izin veren daha esnek bir yaklaşım önermektedir (30).

IADPSG önerileri birçok kuruluş tarafından tanı kriterleri olarak kabul edilse de bazı tartışmalar mevcuttur. Tek adımlı yöntemde iki adımlı yöntemle göre GDM tanısı alan hasta sayısındaki artış ve iki adımlı yöntemde tanı için en az iki eşik değerin üstünde sonuç gerekirken tek aşamalı yöntemde tek yüksek değerin tanı için yeterli olması bu tartışmalardan bazılarıdır (80-83). Ayrıca iki adımlı yöntem uygulandığı zaman eşik değerlere göre değişmekle birlikte hastaların %30'luk bir kısmına ikinci bir test uygulanması gerekir. Bu da pozitif GCT sonrası dikkatli izlemi gerektirir.

ADA'nın IADPSG tanı kriterlerini önermesindeki amaç gebelik sonuçlarını optimize etmektir. Çünkü bu kriterler, annede GDM sonrası oluşabilecek diyabet gibi durumlardan ziyade gebelik esnasındaki sonuçlara dayanan tek kriterlerdir (84). NIH ve Amerikan Jinekoloji ve Obstetrik Derneği (ACOG), tüm kadınlar için ilk GCT taraması ve tarama pozitif çıkanlar için tanısız 100 g 3 saatlik OGTT uygulanmasını içeren iki adımlı bir test yaklaşımını önermeye devam etmektedir (79, 85). Ancak ACOG, GDM tanısı için iki yerine tek bir yüksek değerin kullanılabileceğini belirtmektedir. Ayrıca ACOG'un 2018 yönergeleri, artık bireysel uygulamaları ve kurumların kendi popülasyonlarına uygun olması halinde IADPSG'nin tek adımlı test yaklaşımını ve tanı kriterlerini kullanmayı tercih edebileceklerini kabul etmektedir (85).

2.2.7. Maternal ve Fetal Komplikasyonlar

GDM'de fetal hiperglisemi ve buna bağlı fetal hiperinsülinemi gelişmesi anabolizmayı artırır. Makrozomi ve LGA gelişimi, sezaryen, omuz distosisi, brakial pleksus yaralanması, klavikula kırığı ve perinatal asfiksi gibi fetal komplikasyonlara yol açabilir. Gebedeki hipergliseminin şiddetine göre komplikasyon riskinde artış olmaktadır (86-90). GDM, gebelerde ise doğum indüksiyonu ve sezaryen gibi müdahalelere, perineal laserasyonlara, uterus rüptürüne, preeklampsi, gebelik hipertansiyonu ve doğum sonrası tip 2 diyabet gelişmesi gibi komplikasyonlara neden

olabilir (89-92). Ayrıca GDM'li gebelerde morbidite ve mortalite GDM'li olmayan gebelere göre daha yüksek bulunmuştur. Tüm bu sebepler göz önüne alındığında GDM'li gebeliklerde tanı ve tarama testlerinin amacı erken tanıyla gebede serum glukoz düzeyini düzenlemek ve böylece maternal ve fetal komplikasyonları azaltmaktır.

2.3. GLUKAGON BENZERİ PEPTİD-1

2.3.1. GLP-1'in Keşfi

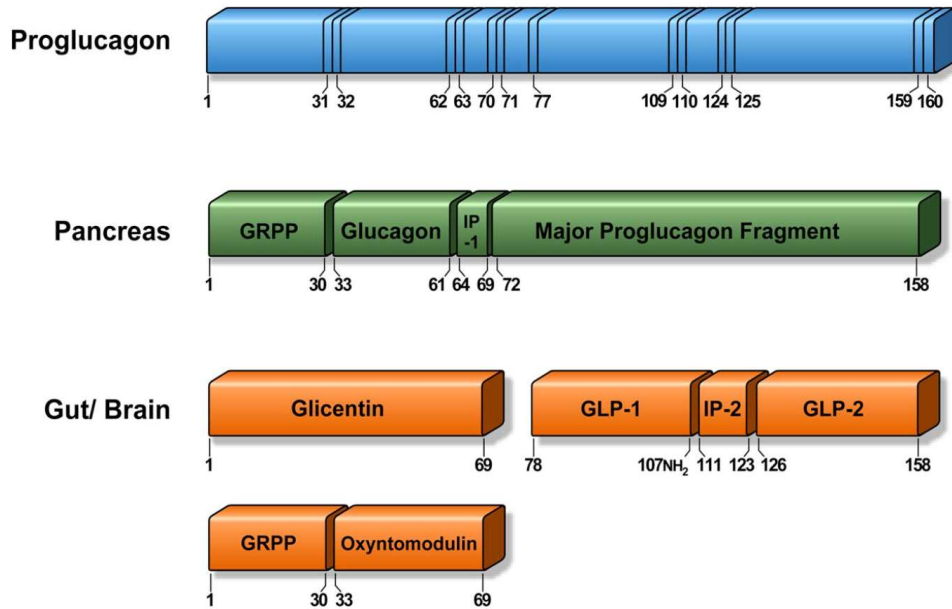
Ellis Samols ve Vincent Marks, 1966'da glukagon benzeri immünoreaktivitenin özellikle bağırsakta olmak üzere pankreas haricindeki dokularda da bulunduğunu, 1967'de ise pankreatektomili insanların dolaşımında da bulunduğunu tespit ettiler (93). İntraduodenal glukoz uygulaması sonrası dolaşımdaki glukagon benzeri immünoreaktivitenin arttığı 1968'de Roger Unger tarafından gösterilmiştir (94). İmmünohistokimyasal çalışmaların glukagon antikoru için pozitif boyanan bağırsak hücrelerinin glukagon üreten pankreas α hücrelerinden morfolojik olarak farklı olduğunu ortaya koymasından dolayı bağırsak hücreleri "L hücreleri" olarak adlandırıldı (95, 96).

Hayvan pankreas adacıkları ile yapılan çalışmalar glukagonun öncü bir molekülünün farklı fraksiyonlara bölünmesiyle GLP-1'in oluştuğunu düşündürdü (97). İmmünopresipitasyon analizi bu öncü molekülü 18.000 moleküler ağırlıklı (MA) proglukagon proteini olarak tanımlamıştır (98). Daha sonra pankreasta proglukagonunun, glukagon oluşturan yapı dışında 10.000 MA'lık ikinci bir proteinden oluştuğu gösterildi (98). Glukagon dışındaki bu yapı major proglukagon fragment (MPGF) olarak adlandırıldı. Bağırsakta ise proglukagondan glukagon dizisini kapsayan 69 amino asitlik bir peptid olan glisentini tespit edildi (99). Glisentinin C-terminal ucunda ise oksintik bezler üzerinde etkili oksintomodulin adı verilen 37 amino asitlik peptid (glukagona ek 8 amino asit) tespit edildi (100). Böylece, dokuya özgü olarak proglukagondan bağırsakta glisentini ve oksintomodulin oluşurken pankreasta glukagon ve glisentinin N-terminal fragmanı (Glisentine İlişkili Pankreatik Polipeptit, GRPP) oluşmaktadır (98). Daha sonra proglukagon dizisinde glukagonla ilişkili glukagon benzeri peptid-1 ve 2 (GLP-1 ve GLP-2) olarak adlandırılan iki peptit tanımlandı (101).

2.3.2 GLP-1'in Sentezi

Preproglukagon (Gcg) pankreasın α hücrelerinde, bağırsak enteroendokrin L hücrelerinde ve beyin sapının nukleus solitarii'sinde (NTS) sentezlenir (7). L hücrelerinin yoğunluğu proksimal ince bağırsakta düşüktür ve distale doğru gittikçe artar, en büyük yoğunluk ileum ve kolonda olur. Ayrıca L hücrelerinin çoğunluğu distal bağırsağın epitelyal tabakasında yer almaktadır. (102)

Proglukagon, prohormon konvertaz (PC) enzimlerinin seçici ekspresyonu ile molekül içindeki bölünme bölgelerine göre dokuya özgü moleküllere/hormonlara bölünür (Şekil 2.1). Bunlar arasında glisentin (aa 1-69), glisentinle ilişkili pankreatik polipeptit (GRPP; aa 1-30), glukagon (aa 33-61), oksintomodulin (OXM; aa 33-69), majör proglukagon fragmanı (MPGF; aa 72-158) ve glukagon benzeri peptit-1 (GLP-1; aa 72-107/108) ve 2 (GLP-2; aa 126-158) bulunmaktadır. Prohormon konvertaz 1 (PC1; diğer adıyla PCSK1 veya PC1/3), beyindeki ve bağırsaktaki Gcg+ hücrelerinde eksprese edilir. PC1, Gcg'den GLP-1, GLP-2, glisentin, oksintomodulin, GRPP ve intervening peptid-2'nin (IP2) oluşmasını sağlar. PC2 (PCSK2) ise pankreasta daha çok α -hücrelerinde eksprese edilir. PC2, Gcg'den glukagon, GRPP, MPGF ve küçük bir intervening peptid-1'in (IP1) oluşmasını sağlar (103, 104).



Şekil 2.1. Proglukagonun dokuya özgü posttranslasyonel işlenmesi (105).

Proglukagondan sentezlenen GLP-1'in çeşitli formlarının glukozun indüklediği insülin sekresyonunu artırma etkileri farklıdır. Bu formlar arasında (1-36amid, amidlenmiş GLP-1) veya GLP-1 (1-37, glisinle genişletilmiş GLP-1) ve iki "kesik" form olan GLP-1 (7-36amid) ve GLP-1 (7-37) bulunur (106). İnsanlarda, dolaşımdaki GLP-1'in tamamına yakını kesik formlardan oluşur. GLP-1 immünoreaktivitesinin yaklaşık %80'i GLP-1 (7-36amid)'den ve %20'si GLP-1 (7-37)'den kaynaklanır (106). İnsülin ve c-peptidin salgılanmasını uyarmada GLP-1 (7-36amid) ve GLP-1 (7-37) eşit insülinotropik etkinliğe sahipken GLP-1 (1-37)'de bu etki çok daha düşüktür (107-109).

2.3.3. GLP-1'in Salgılanması

GLP-1 salgılanmasını uyaran besinler arasında glukoz, fruktoz ve galaktoz monosakkaritleri ile metil- α -glukopiranosid, uzun zincirli yağ asitleri, proteinler ve bazı amino asitler yer alır (13, 14, 110-114). Sağlıklı insanlarda, karbonhidratların veya proteinlerin tüketilmesi, plazmada 30-60 dakikada zirveye ulaşan hızlı bir GLP-1 artışa neden olurken lipidlerin tüketilmesi, biraz daha geç fakat daha uzun süreli (>120 dakika) bir artışa neden olur (13, 14).

L hücrelerinin apikal yüzeyi bağırsak lümenine bakar ve burada lümendeki besinlerle doğrudan temas halindedir. Bununla tutarlı olarak, karbonhidratların veya lipidlerin ileum içine doğrudan uygulanması üzerine sağlıklı insanlarda GLP-1'in plazma seviyeleri hızla artar. Toplam C-terminalinde amidlenmiş GLP-1'in plazma seviyeleri, plazma insülin seviyeleri ile ilişkilidir ve dolayısıyla açlık sırasında düşüktür; ağızdan alınan bir öğüne yanıt olarak artar (115). Bağırsak GLP-1'inin büyük bir kısmı, karaciğere ulaşmadan distal bağırsağın kılcak damarlarında parçalanır. Karaciğere aktif GLP-1'in yaklaşık %25'i ulaşırken genel dolaşıma yalnızca %10-15'i ulaşır (116-118). İnsanlarda, "toplam" GLP-1'in (dipeptidilpeptidaz-4 (DPP-4) etkisiyle oluşan metabolitler dahil) açlık sistemik plazma konsantrasyonları tipik olarak 5-10 pmol/L aralığındadır ve bir öğüne yanıt olarak 40 pmol/L'ye kadar artabilir (115). "Sağlam", biyolojik olarak aktif GLP-1'in plazma sistemik konsantrasyonları çok daha düşüktür (açlık: <2 pmol/L, beslenme sonrası zirve konsantrasyonları 5-10 pmol/L) (119, 120). Ayrıca GLP-1 salgısının miktarı yemeğin boyutundan ve bileşiminden etkilenir (121).

GLP-1'in glukoz metabolizması üzerindeki etkisi temel olarak üç aşamanın gerçekleşmesi sonrası oluşur: ilk olarak besin alımı sonrası glukozun, L hücrelerinin yoğunlukta olduğu ileum bölgesine erken ulaşması, sonrasında β hücreleri üzerinde etkili olan GLP-1'in aşırı salgılanması, son olarak hepatik ve ardından periferik insülin duyarlılığının radikal biçimde iyileştirilmesidir (122).

GLP-1 salgısını analiz ederken dikkat edilmesi gereken noktalar arasında kan örneğinin alındığı yer (sistemik veya portal ven), besinin alım şekli (oral veya intragastrik infüzyon) ve ölçülen GLP-1 formu (toplam veya aktif) yer almaktadır (119).

2.3.3.1. Karbonhidratlar

Glukoz uyarısı sonrası L hücrelerinden GLP-1 salgılanması, adacıklardaki insülin salgısının uyarılmasına benzer. Enteroendokrin GLUTag hücrelerinde, glukoz ve fruktoz, ATP bağımlı K^+ kanallarının (KATP) kapanması ve ardından membran depolarizasyonu yoluyla GLP-1 salgılanmasını doza bağlı olarak artırır (112, 114). Glukozun indüklediği membran depolarizasyonu, voltaja bağlı Ca^{+2} (VDC) kanallarının açılmasını sağlar. Ortaya çıkan Ca^{+2} akışı daha sonra veziküler ekzositoz ile GLP-1'in dolaşıma salgılanmasını tetikler (123).

Glukoz aracılı membran depolarizasyonu sonrası GLP-1'in veziküler ekzositozu, β -hücrelerindeki benzer bir hücresel mekanizmayı içeren Ca^{+2} bağımlı bir şekilde düzenlenir (124, 125). Ağız yoluyla verildiğinde fruktozun, izokalorik glukoz yüküne kıyasla GLP-1 salgılatma gücü çok daha azdır (112). Bununla beraber, sukralozun birincil L hücre kültürlerinde GLP-1 salgılanması üzerinde hiçbir etkisi yoktur (126, 127) ve yapay tatlandırıcıların infüzyonu sağlıklı insan gönüllülerde glukozla uyarılan GLP-1 salgılanmasını etkilemez (128, 129).

2.3.3.2. Lipitler

L hücreleri, diğer enteroendokrin hücreler gibi, spesifik hücre yüzeyi reseptörleri aracılığıyla diyet lipitlerini ve proteinini algılar (130). Bu esas olarak L hücrelerinin bazolateral tarafında, yani metabolitlerin emilmesinden sonra meydana gelir (130). GLP-1 sekresyonunun yağ asidi indüksiyonu, in vitro olarak insan bağırsak NCI-H716 hücreleri kullanılarak (111, 113) ve lipitlerin duodenum veya ileum (131) içine doğrudan uygulanmasıyla in vivo olarak gösterilmiştir. Serbest yağ asitleri (FFA)

tarafından GLP-1 sekresyonunun indüksiyonu büyük ölçüde sitozolik Ca^{+2} konsantrasyonuna bağlıdır. FFA, hücre yüzeyindeki Ca^{+2} kanalları (büyük olasılıkla L tipi) yoluyla hücre içine Ca^{+2} akışını uyarak GLP-1 salgılanmasını artırır. STC-1, GLUTag veya NCI-H716 hücrelerine uzun zincirli yağ asitleri uygulanması, hücre içi Ca^{+2} miktarını güçlü bir şekilde artırmaktadır (111, 132). GLP-1 salgısının FFA tarafından düzenlenmesinde rol oynayan reseptörler arasında GPR120 (FFAR4) ve GPR40 (FFAR1) bulunur. Uzun zincirli yağ asitleri, esas olarak GPR40 aracılığıyla GLP-1 salgılanmasını uyarır (123, 133, 134). Bununla birlikte, L hücresi sadece serbest yağ asitlerine değil aynı zamanda 2-monoaçil gliserole de yanıt verir. 2-monoaçil gliserol de GPR119 aracılığıyla etki gösteren çok güçlü bir GLP-1 salgılatıcıdır (135, 136).

2.3.3.3. Protein ve amino asitler

GLP-1 salgısının protein ve amino asitler ile uyarımı insan NCI-H716 hücrelerinde ve insanlarda in vivo olarak gösterilmiştir (137). GLP-1 salgılanmasını uyaran amino asitler arasında glutamin, asparajin, fenilalanin ve glisin yer alır; glutamin ve glisin en güçlü olanlardır (110, 138). Glutaminin oral uygulanması sonrası zayıf, obez ve tip 2 diyabetli bireylerde dolaşımdaki GLP-1, GIP ve insülin konsantrasyonlarında artış tespit edilmiştir (139). İnsan NCI-H716 hücrelerinde, lösin, izolösin, valin, yağsız süt, kazein ve peynir altı suyunun da GLP-1 salgısını uyardığı gösterilmiştir (137). Ayrıca insanlarda da proteinlerin GLP-1 sekresyonunu uyardığı gösterilmiştir; peynir altı suyu, kazein, gluten veya morina balığı proteininin alımı üzerine benzer GLP-1 yanıtları vardır (140, 141).

GLP-1 sekresyonunun protein indüksiyonu, enerjinin %14, %25 veya %50'sinin proteinlerden geldiği izokalorik diyetlerin alımında gösterildiği gibi doza bağımlı görünmektedir (142). Sağlıklı insan gönüllülerde, %30 kcal protein (%40 karbonhidrat, %30 yağ) içeren bir diyet, %10 kcal protein (%60 karbonhidrat, %30 yağ) içeren bir diyete göre daha fazla GLP-1 salgılanmasına neden olur (143).

Protein stimülasyonu ile gerçekleşen GLP-1 sekresyonunun altında yatan moleküler mekanizmalar arasında Ca^{+2} /kalmodilin'e bağımlı protein kinaz II'nin (CaMK-II) aktivasyonu yer alır (144). Peptid aracılı GLP-1 salgılanmasının Ca^{+2} duyarlı bir süreç olduğunu, Ca^{+2} duyarlı reseptör (CaSR) ve peptid taşıyıcı-1 (PEPT1)

yoluyla L hücre sinyalinini içerdiğini destekleyen önemli kanıtlar vardır (145). Ancak fenilalanin gibi aromatik amino asitler de GPR142 ile etkileşime girer (146).

2.3.3.4. Nöral ve Endokrin Faktörler

Proksimal bağırsakta ortaya çıkan nöronal veya endokrin faktörlerin distal bölgedeki L hücrelerinden GLP-1 salgılanmasını etkilemesi proksimalden distale doğru koordine edici bir döngünün varlığını gösterir. Proksimal bağırsaktaki L hücreleri sayıca daha az olmasına rağmen besin alımını takiben GLP-1 salgısının hızlı indüksiyonu için yeterli görünmektedir (147, 148).

L hücreleri proglukagon türevi peptitleri (PGDP) birlikte salgıladığından, GLP-2 veya oksintomodulini uyaran faktörler aynı zamanda GLP-1'in doğal salgılatıcılarıdır. Bazı türlerde PGDP'nin bağırsaktan salınımını etkileyen nöronal/endokrin faktörler arasında gastrik inhibitör peptit (GIP), asetilkolin, gastrin salgılayan peptid (GRP), insülin, somatostatin ve ghrelin bulunur (149-151). Bununla birlikte, GLP-1 salgısının GIP ile uyarılması oldukça türe özgü görünmektedir. GIP ekspresyonu seviyeleri (K hücrelerinde) proksimal bağırsakta en yüksektir ve dolaşımdaki GIP seviyeleri, gıda alımı üzerine veya besinler doğrudan duodenuma verildiğinde hızla artar. GIP'in oldukça yüksek (suprafizyolojik) dozlarda bile sağlıklı ve tip-2 diyabetik insanlarda GLP-1 salgılanmasına yol açmadığı gösterilmiştir (152, 153).

İnsanlarda duodenal glukoz iletimine yanıt olarak GLP-1 salgılanması, iletim hızı duodenumun emme kapasitesini aşana kadar, yani emilmemiş glukoz jejunum ve ötesine ulaşana kadar güçlü bir şekilde uyarılmaz. Buna karşılık GIP sekresyonu, proksimal bağırsakta GIP üreten K hücrelerinin, GLP-1 üreten L hücrelerinden daha yüksek miktarda bulunmasına bağlı olarak çok daha düşük gastrik glukoz verilmesiyle uyarılır (154). Glukoz metabolizmasının düzenlenmesinde proksimal ve distal bağırsağın etkisini araştıran çalışmada, glukozun duodenumdan tamamen emilecek bir hızda (2 kcal/dak) doğrudan infüzyonu GIP sekresyonunu tetiklerken GLP-1 sekresyonunu tetiklememiştir. Ancak glukozun doğrudan ileuma infüzyonu sonrası GLP-1 sekresyonunda belirgin artış olmuştur. Ayrıca proksimal glukoz infüzyonu kadar olmasa da önemli miktarda GIP sekresyonu tespit edilmiştir (155). GLP-1 sekresyonunu uyarmak için proksimalden distal döngüye dahil edilen başka bir bağırsak peptidi kolesistokinin (CCK)'dir (156). Bununla birlikte, GLP-1

sekresyonunu uyarmak için gereken hem GIP hem de CCK konsantrasyonlarına normal olarak fizyolojik koşullar altında ulaşamaz (157).

Asetilkolin ve gastrin salgılayan peptid dahil olmak üzere vagal ve enterik nöronlarda eksprese edilen nörotransmitterler GLP-1 sekresyonunu artırır, bu da proksimal olarak salgılanan bağırsak peptidlerinin suprafizyolojik plazma konsantrasyonlarına ihtiyaç duyulmadan bir proksimal-distal nöroendokrin döngü olasılığını destekler (158). Muskarinik reseptörler M1, M2 ve M3 dahil olmak üzere asetilkolin reseptörleri insan NCI-H716 hücrelerinde eksprese edilir (159). İnsan NCI-H716 hücrelerinde GLP-1 sekresyonu, seçici olmayan bir muskarinik agonisti olan betanekol tarafından uyarılırken, pirenzipin (M1 seçici antagonisti) veya galamin (M2 antagonisti) ile ön tedavi, GLP-1 sekresyonunun betanekol ile indüksiyonunu inhibe eder (159). Bu veriler, M1 ve M2 muskarinik reseptörlerinin insan L hücresi GLP-1 salgılanmasında rol oynadığını göstermektedir. Norepinefrin, α -adrenerjik reseptörler üzerindeki etkisiyle GLP-1 sekresyonunu inhibe ederken, GLP-1 sekresyonu izoproterenol tarafından uyarılır ve bu etki, β -adrenerjik reseptör antagonisti propanololün birlikte infüzyonu ile bloke edilebilir (160). Böylece bağırsak GLP-1 salgısının kolinerjik ve β -adrenerjik reseptör sinyalleme ile uyarıldığı ve α -adrenerjik reseptörlerin aktivasyonu ile inhibe edildiği gösterilmektedir. Nöroendokrin refleksler, L hücresi GLP-1 sekresyonunun doğrudan besin kaynaklı uyarılmasına ek olarak GLP-1 sekresyonuna sebep olabilir (161). Besinler daha sonra distal bağırsağa ulaştığında (L hücreleriyle doğrudan temas), dolaşıma ilave GLP-1 salgılanmasını tetikler.

GLP-1 sekresyonunu etkileyen diğer faktörler arasında, insan enteroendokrin L hücrelerinde GLP-1 ve Peptid YY (PYY) sekresyonunu uyaran nonanoik asit kullanılarak koku alma reseptörü OR51E1'in aktivasyonu yer alır (162). Ayrıca insan L hücre kültürlerinde ghrelin'nin GLP-1 salgılanmasını uyardığı tanımlanmıştır (151). Enteroendokrin L hücrelerine ek olarak, NTS'nin kaudal kısımlarındaki ayrı bir dizi tirozin hidroksilaz pozitif olmayan nöronlarda da üretilir ve bu arka beyin Gcg+ pozitif nöronları, endojen beyin GLP1'in birincil kaynağıdır (163, 164).

Leptinin periferik uygulanması veya mide balonunun şişirilmesi NTS'deki GLP-1 üreten nöronları akut olarak aktive eder (165, 166). Horizontal veya koronal beyin sapı dilimlerindeki elektrofizyolojik tüm hücre voltajı ve akım kelepçesi kayıtları, bu NTS Gcg+ nöronlarının leptin kaynaklı hızlı bir depolarizasyonunu ortaya

çıkarmış, böylece leptinin merkezi GLP-1 sekresyonunu doğrudan uyarma yeteneğini doğrulamıştır (167). Dikkat edilmesi gereken nokta, arka beyindeki Gcg+ nöronlarının GLP-1 reseptöründen yoksun olması ve dolayısıyla periferik olarak türetilen GLP-1 tarafından doğrudan aktive edilememesidir (167). Bağırsak L hücrelerinde GLP-1 salgılanmasını uyarsalar da PYY ve ghrelin'in elektrofizyolojik uygulaması izole NTS beyin dilimlerindeki bu nöronları uyarmaz (167). Bunun tersine, leptin, CCK ve epinefrin Gcg+ nöronlarını uyarır (167, 168). NTS'de GLP-1'i eksprese eden nöronlar aynı zamanda leptin reseptörünü de eksprese eder (167, 169).

Tüm bunlar dikkate alındığında NTS'deki GLP-1 üreten glutamaterjik nöronlar, birçok periferik sinyal tarafından aktive edilir ve beslenme davranışının düzenlenmesi üzerine etki gösterir. Aynı zamanda merkezi sinir sisteminin periferik olarak salgılanan GLP-1 tarafından aktive edilmediği ve bu nedenle periferik GLP-1 sisteminden farklı olduğu anlaşılmaktadır.

2.3.4. GLP-1'in Eliminasyonu

Doğal GLP-1'in türe bağlı olarak yaklaşık 1-2 dakika kadar çok kısa bir yarı ömrü vardır. Bu durum GLP-1'in dipeptidilpeptidaz-4 (DPP-4) enzimi tarafından parçalanması ve renal eliminasyonundan kaynaklanır (170). DPP-4, GLP-1(7-36amid) ve GLP-1(7-37)'i GLP-1 reseptörü için düşük afiniteli ligandlar olan GLP-1 (9-36amid) ve GLP-1 (9-37) oluşturmak için N-terminal dipeptit oluşacak şekilde ayırır (117). GLP-1(9-36) amid ve GLP-1(9-37), böbrekte yaygın olarak eksprese edilen nötr endopeptidaz 24.11 (neprilisin) tarafından daha da parçalanır (171, 172). Hem bu sağlam formlar hem de inaktive edilmiş GLP-1 metabolitleri böbrekler yoluyla dolaşımdan hızla temizlenir. GLP-1 yıkımı böbrek fonksiyonundan etkilenmezken, böbrek yetmezliği olan hastalarda hem GLP-1'in hem de inaktif metabolitlerinin temizlenmesi gecikir (173).

DPP-4, membrana bağlı bir hücre yüzeyi proteini ve dolaşımdaki çözünebilir bir protein olarak iki biçimde bulunur (174). DPP-4, bağırsakta enterosit fırça kenarında ve endotel hücrelerinde yüksek oranda eksprese edilir (118).

DPP-4 tarafından üretilen GLP-1 metabolitlerinin (GLP-1 (9-36amid) ve GLP-1 (9-37)) glukoz metabolizmasının düzenlenmesinde önemli bir role sahip olmadığı belirtilmektedir (175, 176). Bununla birlikte, obez insanlar üzerinde yapılan çalışmada, GLP-1(9-36amid)'in zayıf bir insülin salgılatıcı olduğunu öne sürülmüştür

(177). Başka bir çalışmada ise GLP-1(9-36amid)'in uygulanmasının, insanlarda insülin sekresyonunu etkilemeden glukoz kullanımını iyileştirdiği belirtilmiştir (178). Aslında kesik GLP-1'in (9-36amid) sağlıklı insanlarda glukoz klerensi veya insülin salgılanması üzerinde hiçbir etkisi olmadığına dair kanıt vardır (175). Hatta zayıf bir GLP-1R antagonisti gibi davranarak GLP-1'in (7-36amid) in vitro biyolojik etkilerini ortadan kaldırabildiğine değinilmektedir (179).

2.3.5 GLP-1 reseptörü (GLP-1R)

GLP-1, GLP-2, glukagon, GIP, sekretin ve büyüme hormonu salgılayan hormon (GHRH), B sınıfı ailesinin yapısal olarak benzer G proteinine bağlı reseptörlerine (GPCR'ler) bağlanarak biyolojik etkilerini gösteren peptitlerdir (180). Bu ailenin tüm reseptörleri, G α s yoluyla adenilat siklazın aktivasyonunu ve cAMP seviyelerini artmasını sağlayan yedi transmembran glikoproteindir (181). Her bir reseptör, endojen ligandına (GLP-1R, GLP-2R, GCGR, GIPR vb) göre kısaca adlandırılır. GLP-1R endoplazmik retikulumda sentezlendiğinde N-terminal hücre dışı alanında (ECD) sinyal peptidi olan kısa bir dizi içerir. Bu sinyal peptidi, reseptörün endoplazmik retikulum boyunca translokasyonuna ve hücre yüzeyine taşınmasına aracılık eder (180, 182). Sinyal peptidi bir peptidaz tarafından enzimatik olarak bölündükten sonra hücre dışı alanının başlangıcında N-terminal sarmalı ve iki antiparalel tabaka oluşturan dört β -ipliği bulunan GLP-1R oluşur (182). Bir sınıf B GPCR olarak GLP-1R, bir C-terminal hücre içi alan ve büyük bir N-terminal hücre dışı alan ile hücre içi halkalarla birbirine bağlanan yedi transmembran heliks (TMH) içerir (182).

İmmünohistokimyasal çalışmalar, pankreasta GLP-1R'nin varlığını, β hücrelerinde geniş ekspresyonunu, asiner hücrelerde daha az olduğunu ve kanal hücrelerinde ekspresyonunun olmadığını göstermektedir. GLP-1R, pankreasın β ve δ hücrelerinde ciddi bir şekilde eksprese edilirken, α hücrelerinin yaklaşık %10 kadar bir alt kümesinde GLP-1R'nin çok sınırlı ekspresyonunu bildirmektedir (183, 184). Pankreasta glukagon, GLP-1R ile fizyolojik olarak çapraz reaktiviteye sahiptir, ancak GLP-1'in glukagon reseptörüne afinitesi yoktur (185). Glukagonun GLP-1R ile etkileşimi, β hücrelerinde insülin salgılanması için önemlidir (185).

GLP-1R'nin ekspresyonu insan beyninde, böbreklerinde, midesinde ve kalbinde gösterilmiştir; karaciğerde, iskelet kasında veya yağ dokusunda GLP-1R

ekspresyonu yoktur (186). Ancak sonraki çalışmalar adipositlerde eksprese edilen GLP-1R'yi kesin olarak tanımladı (187, 188). İnsan beyninde, serebral korteks, hipotalamus, hipokampus, talamus, kaudat-putamen ve globus pallidumda GLP-1R mRNA ekspresyonu rapor edilmiştir (189). GLP-1R ayrıca böbrek ve akciğerin arter duvarlarında, sinoatriyal düğümdeki kalp miyositlerinde ve duodenumdaki Brunner bezinde de tespit edilmiştir (190). Kalp miyositlerinde, GLP-1R'nin ekspresyonu sinoatriyal düğümle sınırlıdır ve diğerkardiyomiyositlerde gözlenmez (190). Midenin parietal hücrelerinde, düz kas hücrelerinde ve bağırsağın miyenterik plexus nöronlarında düşük GLP-1R ekspresyonu tespit edilirken karaciğer ve tiroid bezinde ise ekspresyon tespit edilmemiştir (190).

2.3.6 GLP-1 ve İnsülin

GLP-1 tarafından glukoz bağımlı insülin salgılanmasının indüklenmesi, insanların izole edilmiş perfüze pankreaslarında, izole adacıklarda ve kültürlenmiş pankreas hücre hatlarında in vivo olarak gösterilmiştir (191). Hem GLP-1 (1-37) hem de GLP-1 (7-37) insülin sekresyonunu uyarırken, GLP-1 (7-37) daha düşük dozda etkilidir (108, 109). GLP-1 (7-37), insülin salgılanmasını uyarma konusunda glukagondan yaklaşık 100 kat daha etkilidir (192).

Beta hücrelerinde, GLP-1'in reseptörüne bağlanması, adenilat siklazin aktivasyonuna ve ardından cAMP'de bir artışa yol açar (108). GLP-1'in cAMP'de neden olduğu artış, PKA'nın aktivasyonuna ve doğrudan cAMP tarafından aktive edilen değişim proteinleri (Epac) yoluyla sinyalleşmenin artmasına yol açar (193-195). Beta hücrelerinde, Epac proteinleri endoplazmik retikulumdan Ca^{+2} salınımını uyarır, hücre içi Ca^{+2} havuzunu artırarak insülin sekresyonunu artırır (193). Siklik nükleotid fosfodiesteraz 3B'nin (PDE3B) aşırı ekspresyonu yoluyla artan cAMP hidrolizi, GLP-1'in indüklediği insülin sekresyonunu azaltır (196).

cAMP, Epac2'yi doğrudan bağlanma yoluyla aktive eder. VDC kanalları aracılığıyla β hücrelerine Ca^{+2} akışının arttığı yüksek glukoz koşullarında, Epac2, endoplazmik retikulumda Ca^{+2} iyon kanalı olan ryanodin reseptörlerini açar, hücre içi Ca^{+2} seviyelerini daha da artırır ve insülin ekzositozunu güçlendirir (194). Genel olarak kalsiyum kaynaklı kalsiyum salınımı (CICR) olarak adlandırılan bu süreç, GLP-1'in insülinotropik etkisinin büyük ölçüde ortamdaki glukoz konsantrasyonuna bağlı olmasını sağlar (194). İzole edilmiş perfüze sıçan pankreasında GLP-1, $<2,8$ mM

glukoz konsantrasyonlarında insülin salınımını uyarmakta başarısız olurken, >6,6 mM glukoz konsantrasyonlarında insülin salınımını güçlendirir (192).

GLP-1 ayrıca tip 1 diyabetli hastalarda da kan şekerini düşürür. Bunu mide boşalmasının yavaşlatılması ya da glukagon konsantrasyonunun azaltılması gibi mekanizmalar ile sağlayabilir. Böylece GLP-1'in glisemik etkilerinin tamamının β hücresi veya insülin etkisi üzerinden kaynaklanmadığı görülmektedir (197). Ek olarak bu duruma sıçanların vagal afferent nöronlarında GLP-1R'nin devre dışı bırakılmasının yemek sonrası portal kan şekeri seviyelerini yükseltmesi ve insülin seviyelerini azaltması da gösterilebilir (198).

GLP-1'in, PKA ve Epac2 yoluyla insülin salgılanmasını uyarmasına ek olarak GLP-1R agonizmi ile insülin sentezinde de etkili olması glukoz metabolizması üzerinde birçok rolünün olduğunu göstermektedir. GLP-1 uyarısının insülin gen ekspresyonuna yol açtığı ilk olarak Daniel Drucker tarafından sıçan insülinoma RIN1046-38 hücrelerinde tespit edilmiş olup birçok çalışmada bu durum doğrulanmıştır (108, 199-201). Ayrıca RIN 1046-38 hücrelerinde GLP-1 kaynaklı insülin mRNA'sındaki artış, GLUT1 ve heksokinaz1 ekspresyonu artışıyla birliktedir (200). Bununla birlikte GLP-1 aynı zamanda adacık insülinoma hücrelerinde proinsülin gen transkripsiyonunu da aktive eder (199). Özellikle, GLP-1 veya forskolin (adenilat siklaz aktivatörü) tarafından proinsülin ekspresyonunun uyarılması, galanin (cAMP sentezini baskılar) tarafından bloke edilebilir, bu da GLP-1'in insülin ekspresyonunu uyarmasının cAMP'ye bağımlı olduğunu düşündürür (201).

İnsülin sentezinin GLP-1 ile indüklenen uyarılması, pankreasın gelişiminde ve MODY tip-4 diyabette rol oynayan bir transkripsiyon faktörü olan pankreatik duodonal homeobox gen-1(Pdx1) tarafından başlatılır (195). GLP-1'in indüklediği PKA aktivasyonu, Pdx1 ekspresyonunu ve Pdx1'in çekirdeğe translokasyonunu artırır; burada Pdx1, insülin ekspresyonunu ve sentezini başlatmak için insülin promotörüne bağlanır (195). Kısacası GLP-1, birden fazla cAMP'ye bağımlı yolla insülinin hem sentezini hem de salgılanmasını uyarır.

2.3.7 GLP-1'in Etkileri

PGDP'lerin birçoğunun sistemik metabolizma üzerinde önemli ve iyi tanımlanmış etkileri vardır; bunlar arasında gıda alımı ve tokluğun modülasyonu (GLP-1, glukagon, oksintomodulin), sıvı homeostazisinin düzenlenmesi (su alımı ve

idrar atılımı) (GLP-1), termojenez (glukagon), lipid metabolizması (GLP-1, GLP-2, glukagon), gastrointestinal motilite (glukagon, GLP-1, GLP-2) ve mide boşalması (glukagon, GLP-1, GLP-2) yer alır.

2.3.7.1. Pankreas β hücre Proliferasyonu ve Apoptozise Etkileri

GLP-1 reseptörü agonistleri, akut olarak insülinotropik etkileriyle, kronik olarak β hücresi çoğalmasının uyarılmasına ve apoptozunun inhibisyonuna yol açarak β hücre kütlesinin korunmasıyla glisemik kontrolün iyileşmesini sağlar (202, 203). İlerleyen yaşla birlikte β -hücresi proliferatif mekanizmalarının GLP-1R agonizmine yanıt verme duyarlılığının azaldığı belirtilmektedir (204). GLP-1R'nin β hücrelerinin proliferasyonunu uyarmada ve apoptozunu engellemedeki etkileri için Pdx1 ekspresyonunun gerekli olduğu gösterilmektedir (202). İlaveten cAMP yanıt eleman bağlayıcı protein (CREB) aktivasyonunu içeren mekanizmalarla insülin reseptör substratı 2'nin (IRS-2) ekspresyonunu uyarak bu etkileri destekler (205).

Streptozotosinin indüklediği β hücre apoptozu, eksendin-4 (GLP-1 analogu) veya GLP-1'in (7-36 amid) uygulanmasıyla azalır ve eksendin-4 ile tedavi, streptozotosinin neden olduğu hiperglisemiyi azaltır (203, 206). Streptozotosinin neden olduğu β hücre apoptozu, GLP-1 reseptörü eksik olan farelerde hızlanır (203).

2.3.7.2. Glukagon Salgısına Etkisi

GLP-1, glukagon sekresyonunu baskılayarak kan şekerini düşürür. Tip 2 diyabetli hastalarda yapılan klempt çalışmaları, GLP-1'in glukagon sekresyonu inhibe etmesi, kan glukozunu düşürmek için GLP-1'in insülin salınımını uyarması kadar önemli olduğunu göstermektedir (207).

GLP-1'in glukagon salgısını baskılamasının altında yatan mekanizmalar karmaşıktır. İzole edilmiş perfüze domuz pankreasında GLP-1, glukagon salgısının güçlü bir baskılayıcısı olan somatostatin salgılanmasını doza bağlı olarak uyarır (208). Somatostatin, parakrin mekanizmalar yoluyla glukagon salgılanmasını inhibe eder (209). Glukagon salgısının GLP-1 tarafından baskılamasının tamamen somatostatin'e bağlı olmadığı sonucuyla tutarlı olarak, GLP-1'in glukagon salgılanması üzerindeki etkileri, forskolin kaynaklı cAMP artışı ile taklit edilebilir. Özellikle, PKA inhibitörü 8-Br-Rp-cAMPS, GLP-1'in glukagon salgılanması üzerindeki önleyici etkisini hafifletir; bu, GLP-1'in glukagon salgılanmasını baskılamasının PKA'ya bağlı

olduğunu gösterir (210). Özet olarak bu veriler, GLP-1'in, somatostatinin parakrin etkisine ek olarak N tipi Ca^{+2} kanal aktivitesinin PKA'ya bağımlı modülasyonu yoluyla α -hücresi glukagon salgılanmasını inhibe edebileceğini göstermektedir (210). GLP-1 ayrıca beta hücreleri üzerindeki insülinotropik etkisi yoluyla dolaylı olarak glukagon sekresyonunu da inhibe edebilir. Buna göre, GLP-1 hem δ hücrelerini somatostatin salgılaması için hem de β hücrelerini insülin, amilin, çinko ve GABA salgılaması için uyarır ve bunların tümü glukagon salınımını baskılar. IN-R1-G9 hücrelerinde (α hücresinden türetilen) insülin, fosfatidilinositol 3-kinazın aktivasyonu yoluyla glukagon salınımını inhibe eder (211). Ayrıca çinko, hiperglisemi koşulları altında insülin ile birlikte salgılanır (212). Çinko, α -hücreleri üzerinde parakrin tarzda etki ederek glukagon sekresyonunu inhibe eder (212).

Özellikle, GLP-1 fizyolojik koşullarda beta hücreleri üzerindeki uyarıcı etkisiyle glukagon salgılanmasını inhibe eder ancak tip 1 diyabette de glukagon salgılanmasını inhibe etmesi glukagon salgılanmasının GLP-1 üzerinden inhibe edilmesinde sadece β hücresi sekretomunun rol oynamadığını gösterir (197).

2.3.7.3. İştah ve Vücut Ağırlığının Düzenlenmesi

GLP-1R, hipotalamik çekirdekler, talamus, hipokampus, lateral septum ve subfornikal organ dahil olmak üzere beyin çeşitli alanlarında eksprese edilir. Hem iştahın azalmasını hem de tokluğun artmasını sağlayarak GLP-1 besin alımını azaltır ve böylece kilo kaybına yol açar (213-215). Mekanizması kesin olmamakla birlikte doğal GLP-1 veya analogunun uygulama yoluna bağlı olarak merkezi sinir sistemine doğrudan ya da dolaylı sinyal yolları üzerinden etki ettiği belirtilmektedir (216). İnsanlarda trunkal vagotomi sonrasında intravenöz GLP-1 infüzyonunun gıda alımı üzerindeki etkisinin kaybolması, GLP-1'in iştah üzerindeki etkilerinde vagal afferentlerin rol oynadığını göstermektedir (217). Vagus sinirinin nodoz ganglionunda GLP-1R ekspresyonu ve periferik GLP-1 uygulaması sonrası bu bölgede c-fos aktivasyonu gözlenir (218). Besin alımını düzenlemek için nodoz ganglionla iletilen sinyal, nukleus traktus solitarius'a ulaştıktan sonra hipotalamik veya vagal motor çekirdeklere iletilir (218).

Farelerde GLP-1'in intraserebroventriküler enjeksiyonu interskapular kahverengi yağ dokusunda termojenezini arttırmaktadır (219). Ayrıca GLP-1 diğer anoreksijenik sinyallerle de (leptin, ghrelin, glukagon vb.) etkileşime girebilmektedir.

Bu veriler doğrultusunda GLP-1 hem besin alımını azaltarak hem de enerji kullanımını artırarak vücut ağırlığının azalmasına katkıda bulunmaktadır.

2.3.7.4. Mide Salgısı ve Boşalması

GLP-1, gastrointestinal sistem üzerinde de etkiler gösterir. İntravenöz GLP-1 infüzyonu, sağlıklı insan deneklerde ve tip 2 diyabetli hastalarda mide boşalmasını doza bağlı bir şekilde yavaşlatır (220, 221). Afferent vagal sinir sisteminin GLP-1'in mide boşalma aktivitesinin düzenlenmesinde anahtar rol oynadığı düşünülmektedir (222). İlginçtir ki insanlarda sürekli intravenöz GLP-1 infüzyonu, GLP-1'in gastrik boşalma etkisinde hızlı bir azalmaya neden olmaktadır (223). GLP-1R ekspresyonu, in vivo artan GLP-1 seviyelerine kronik maruziyete yanıt olarak aşağı regüle edilmediğinden, mide boşalmasını yavaşlatma kapasitesindeki bu azalma, vagal sinir sistemi aktivitesinin azalmasından kaynaklanabilir (223, 224). GLP-1, β -hücreleri üzerindeki doğrudan ve vagal aracılı insülinotropik etkisine ek olarak, gastrik boşalmayı engelleyerek, glukozun emilme hızını yavaşlatarak yemek sonrası dolaşıma geçen glukoz konsantrasyonu da etkiler (225, 226). GLP-1R agonistleri ile tedaviyi takiben mide motilitesinin ve mide asidi salgısının inhibisyonu insanlarda gösterilmiştir (225, 227).

Vagal afferent GLP-1 reseptörünün devre dışı bırakılması mide boşalmasını hızlandırır (198) ve vagal afferent denervasyon veya eksendinin (9-39) periferik uygulanması merkezi veya periferik olarak uygulanan GLP-1'in mide boşalması üzerindeki etkisini bloke eder (222). Bu veriler, gastrik motilitenin GLP-1 aracılı inhibisyonunun, vagal afferentlerin yanı sıra periferik ve beyindeki GLP-1R bağımlılığını da içerdiğini göstermektedir (222).

2.3.7.5. Karaciğer, Beyaz Yağ Dokusu ve Lipid Metabolizması

Beyaz yağ dokusu ve karaciğerde GLP-1R ekspresyonunun olup olmadığının tartışmalı olmasından dolayı GLP-1'in bu dokularda doğrudan etkiye sahip olduğu da net değildir. Bu yüzden GLP-1'in bu dokulardaki bazı etkilerinin GLP-1R'den bağımsız mekanizmalar yoluyla düzenlendiği belirtilmektedir (228).

GLP-1R agonistlerinin, iştahı ve vücut ağırlığını azaltması, postprandiyal lipoprotein salgılanmasını azaltması, karaciğer yağlanması ve inflamasyonunu hafifletmesi karaciğeri metabolik hastalıkların olumsuz etkilerinden korumada katkı

sağlamaktadır. Ayrıca dolaylı yollar ile karaciğer glukoz alımını uyarırken hepatik glukoz üretimini ve lipogenezi inhibe etmektedir (228-230). Beyaz yağ dokusunda ise GLP-1'in makrofaj infiltrasyonunu azaltarak ve inflamatuvar yolları inhibe ederek antiinflamatuvar etkilerinin olduğu belirtilmektedir (231). Aynı zamanda yağ dokusunda artan lipolitik etkileri ve doza bağımlı olarak glukoz taşınmasını uyardığı gösterilmiştir (232).

Bağırsak L hücreleri tarafından GLP-1'in salgılanmasında glukozun yanı sıra yağ alımının da etkili olması ve bağırsak üzerine de etki etmesi GLP 1'in yağ emilimini düzenleyerek postprandiyal lipemiyi azalttığını düşündürmüştür (233). GLP-1'in bağırsak lipid emilimini azaltması sonrası dolaşımda postprandiyal şilomikron ve trigliserit düzeylerinin azaldığı gösterilmiştir (234). Ek olarak, bir hayvan çalışmasında GLP-1R sinyalinin artırılmasının veya DPP-4 inhibisyonunun bağırsakta triaçilgliserol, kolesterol ve ApoB-48 salgısını azalttığı belirtilmektedir (235). Ayrıca doza bağlı olarak GLP-1'in ex vivo insan birincil adipositlerinde lipolizi arttırdığı ve yağlanmayı azalttığı gösterilmiştir (236).

2.3.7.6. Obezite Cerrahisi Sonrası GLP-1'in Rolü

Tip 2 diyabetli veya obeziteli hastalarda bariatrik cerrahinin, ameliyat sonrası kilo kaybının görülmediği dönemde bile glukoz homeostazisini iyileştirdiği belirtilmektedir (237). Yaşam tarzı değişiklikleri ve ilaç tedavisi alan hastalarda kilo kaybı olsa dahi diyabet remisyonu görülmezken biliopankreatik diversiyon (BPD) veya Roux-en-Y gastrik bypass (RYGB) uygulanan hastaların %75'inden fazlasında diyabet remisyonu görülmektedir (238).

Mide boşalmasını kısıtlayan müdahaleler (örn. mide bandı) dışında biliopankreatik diversiyon, RYGB ve tüp mide ameliyatının tümü mide boşalmasının hızlanması ve besinlerin bağırsak L hücrelerine erken ulaşması nedeniyle postprandiyal GLP-1 sekresyonunda artış gerçekleşmektedir (239). Ayrıca RYGB'den sonra plazma safra asitleri ve PYY konsantrasyonları da artmaktadır (239).

Tip 2 diyabetli obez bireylerde, RYGB'nin neden olduğu beta hücre fonksiyonu ve glukoz toleransındaki iyileşmelerin eksendin-4(9-39) infüzyonu ile GLP-1R blokajı sonrası bozulması GLP-1'in bu etkilere aracılık ettiğini göstermektedir (240). Bu duruma ek olarak RYGB sonrası diyabet remisyonu olan hastalarda eksendin-4 (9-39)'ün insülin sekresyonunu azaltmasına rağmen postprandiyal glukoz kullanımını

anlamalı boyutta bozmaması karbonhidrat metabolizmasında üzerinde GLP-1'in dışında başka faktörlerin de rol oynadığını düşündürmektedir (241).

2.4. TOTAL SAFRA ASİDİ

2.4.1 Tanım

Steroid çekirdek iskeleti ve izopentanoik asit yan zincirden oluşan safra asitleri kolesterol katabolizmasının son ürünleridir (242). Kolesterolün günlük dönüşümünün büyük bir kısmı safra asitlerinin oluşumu ile sağlanır. Safra asidi sentezi, safra akışının oluşmasını ve fosfolipitlerin, kolesterolün, ilaçların ve toksik metabolitlerin safraya salgılanmasını sağlar. İnsan karaciğerlerinde sentezlenen başlıca birincil safra asitleri kolik asit (CA) ve kenodeoksikolik asit (CDCA) safraya salgılanmak üzere taurin veya glisin ile konjuge edilir. Besinlerin sindirimini ve emilimini kolaylaştırmak için bağırsak yoluna salgılanmak üzere safra tuzları, fosfolipitler ve kolesterol ile karışık miseller oluşturarak safra kesesinde depolanır. Safra asitlerinin çoğu ileumda yeniden emilir ve safra asidi sentezini engellemek için portal kan dolaşımı yoluyla karaciğere geri taşınır. Safra asitlerinin enterohepatik dolaşımı yalnızca besin emilimi ve ksenobiyotiklerin atılması için değil, aynı zamanda metabolik homeostazın sürdürülmesi için de önemli bir fizyolojik sistemdir.

Safra asitlerinin nükleer reseptör farnesoid X reseptörünün (FXR) endojen ligandları olduğunun anlaşılması, safra asitlerinin gen transkripsiyonunun düzenlenmesindeki etkilerine dair önemli bilgiler sağlamıştır (243-245). Ayrıca safra asitleri TGR5 (diğer adıyla GPBAR1) gibi G proteinine bağlı reseptörler (GPCR) için de ligandlardır. Safra asidiyle aktive edilen TGR5'in enerji metabolizmasını modülasyonunda, karaciğeri ve bağırsağı iltihaplanma ve steatozdan korumada ve insülin sekresyonunu iyileştirmede etkili olduğu düşünülmektedir (10, 246). Safra asidiyle aktifleşen başka bir GPCR olan sfingozin-1-fosfat reseptörü 2 (S1P2) de lipid metabolizmasında rol oynayabilir (247).

2.4.2 Safra Asidi Metabolizması

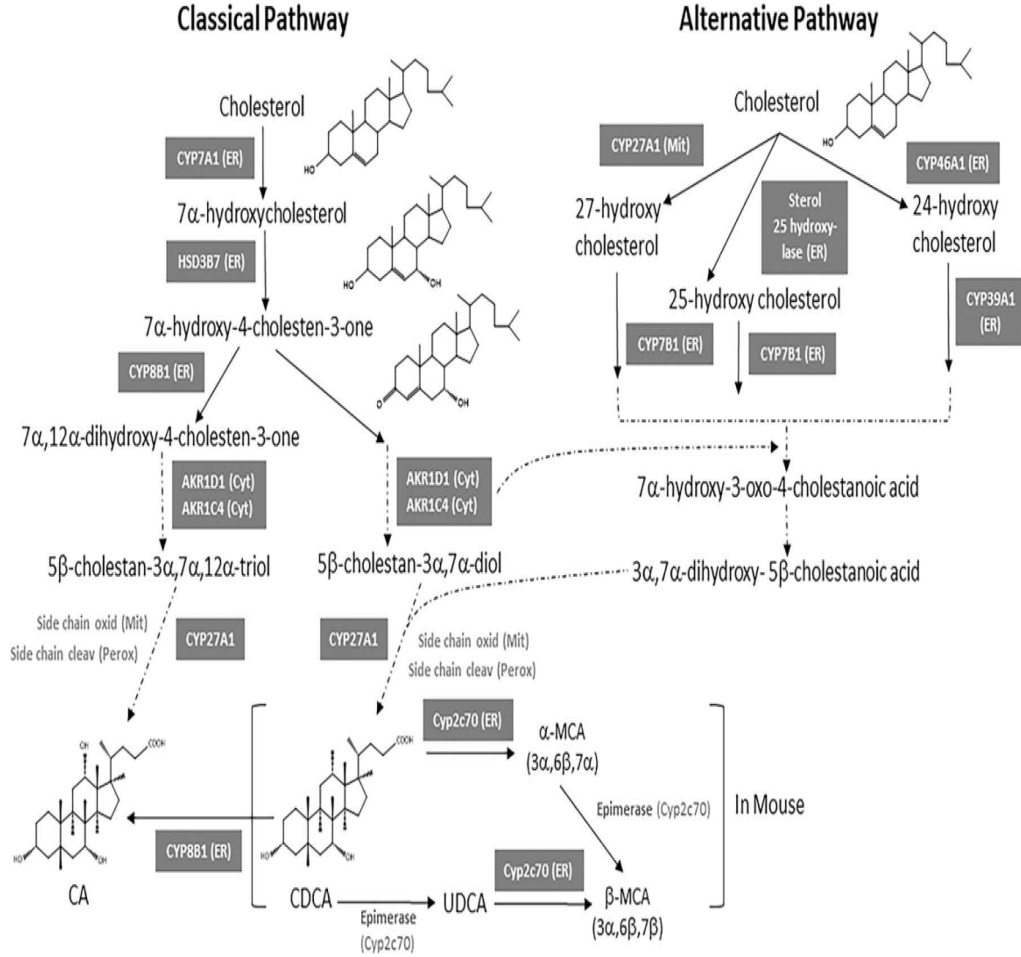
Kolesterolden türetilen safra asitleri (veya safra tuzları) C₂₄-5β-safra asitleridir (kolanoik asit). Steroid çekirdeği, dört kaynaşmış karbon halkasına (üç adet 6 karbonlu ve bir adet 5 karbonlu) sahiptir. Kolesterolün safra asitlerine dönüşümü sitozolde, endoplazmik retikulumda, mitokondride ve peroksizomlarda bulunan 17 farklı enzimi

içerir. Bu enzimler, steroid halkasının modifikasyonlarını ve kolesterolün yan zincirinden üç karbonun oksidatif bölünmesini katalize ederek C24 safra asitlerini oluşturur. Kolesterolde safra asidi oluşması hidroksilasyon, C5-C6'daki çift bağın doygunluğu, 3-hidroksil grubunun epimerizasyonu ve yan zincirden 3 karbonlu bir birimin oksidatif bölünmesi ile gerçekleşir. Tüm safra asitleri α -konfigürasyonuna sahip bir 3-hidroksil grubu bulundurmaktadır. Ayrıca bir 5β -hidrojen grubuna ve kaynaşmış A ve B halkasının düzlemi boyunca bir cis-konfigürasyonuna sahiptir. CA'da karboksil grubu ve üç hidroksil grubunun tamamının karbon iskeletinin bir tarafına bakması yüksek derecede hidrofobik yüze karşı hidrofilik bir yüz oluşturur. Dolayısıyla safra asitleri güçlü deterjan özelliklerine sahip amfipatik moleküllerdir.

Nötr (klasik yol) ve asidik (alternatif yol) olmak üzere iki ana safra asidi biyosentetik yolu vardır (Şekil 2.2). Nötr safra asidi yolunda, steroid halkası modifikasyonu yan zincir bölünmesinden önce gelirken, asidik yolda yan zincir bölünmesi steroid halkası modifikasyonlarından önce gelir. Klasik yol, safra asidi sentezinde hız sınırlayıcı tek enzim olan kolesterol 7α -hidroksilaz (CYP7A1) tarafından başlatılır ve insan karaciğerinde CA ve CDCA olmak üzere iki birincil safra asidini sentezler. CA'nın sentezi için bir mikrozomal sterol 12α -hidroksilaz (CYP8B1) gereklidir, 12α -hidroksilaz olmadan ürün CDCA'dır. Kemirgenlerde ilave olarak C6 hidroksilasyonu ile insanlardaki CDCA yerine murikolik asit (MCA) üretilir (248). Asidik yol, çoğu dokuda ve makrofajlarda yaygın olarak dağılan bir mitokondri sitokrom P450 enzimi olan sterol 27 -hidroksilaz'ın (CYP27A1) zincir oksidasyon etkisi ile başlatılır. Asidik yolun insan hepatositlerindeki toplam safra asidi sentezinin yaklaşık %9'una katkıda bulunabileceği rapor edilmiştir (249). Asidik yol, karaciğer hastalığı olan hastalarda ve yeni doğanlarda safra asidi sentezinde kantitatif olarak önemli olabilir.

Safra asitlerinin çoğunun karboksil grubu amino grubuyla konjuge (amidasyon). Çoğu glisin veya taurin amino asitlerine konjuge edilir ve çözünürlüklerini arttırmak için fizyolojik pH'da sodyum tuzları oluşturur. Glisinin taurin konjugatlarına oranı yaklaşık 3'e 1'dir. Safra asitlerinin konjugasyonu, fizyolojik pH'da iyonizasyonu ve çözünürlüğü artırır, Ca^{+2} çökmesini önler, pasif Emilimi en aza indirir ve pankreas karboksipeptidazları tarafından bölünmeye karşı dirençlidir. Distal bağırsakta, konjuge CA ve CDCA ilk önce dekonjuge edilir ve ardından bakteriyel 7α -dehidroksilaz, CA ve CDCA'yı sırasıyla deoksikolik asit (DCA) ve

litokolik asit (LCA)'ye dönüştürür. DCA ve LCA ikincil safra asitleridir (hasarlı safra asitleri). Çoğu LCA dışkıyla atılır ve az miktarda LCA karaciğere gelir ve sülfatlama yoluyla hızla konjuge edilir ve safraya atılır. Sülfatlama, insanlarda hidrofobik safra asitlerinin önemli bir detoksifikasyon yoludur (250).



Şekil 2.2. Safra asidi sentez yolları (251)

2.4.3 Enterohepatik Dolaşım

Safra asitleri karaciğerde sentezlendikten sonra safra kanalikülleri ile safra kanalına devam eder ve safra kesesinde depolanır. Besin alımından sonra bağırsaktan salgılanan kolesistokin, safra kesesinin kasılmasını uyarak ve oddi sfinkterinin gevşemesini sağlayarak safranın duodenuma boşaltılmasını sağlar. Bağırsak yolundan geçerken az miktarda konjuge olmayan safra asitleri pasif difüzyonla üst bağırsakta emilir. Asıl önemli emilimin gerçekleştiği yer terminal ileumda Na⁺ bağımlı safra asidi taşıyıcı protein tarafından gerçekleştirilir. Safra asitlerinin çoğu (%95) terminal

ileumun fırçasmsı kenar membranında yeniden emilir, enterosit boyunca bazolateral membrana aktarılır ve portal kan dolaşımına geçer. Karaciğer sinüzoidlerine ulaştıktan sonra hepatositlere alınır. Kalın bağırsağa ise safra asitlerinin yaklaşık %5'i geçmektedir. Kalın bağırsağa geçen safra asitlerinin sekonder safra asitlerine (DCA ve LCA) dönüşümü burada bulunan bakteriler tarafından gerçekleştirilir. DCA kolonda yeniden emildikten sonra CA ve CDCA ile birlikte karaciğere geri döndürülür. Safra asitlerinin enterohepatik dolaşımı insanlarda çok verimlidir. Küçük miktarlarda safra asitleri sistemik dolaşıma karışabilir, böbrekteki renal tübüllerden geçerken yeniden emilebilir ve daha sonra sistemik dolaşım yoluyla karaciğere geri döndürülebilir. Safra kanalında salgılanan bazı safra asitleri kolanjiyositlerde (safra kanalı epitel hücreleri) yeniden emilir ve hepatositlere (kolanjiyohepatik şant) geri döndürülür. Yaklaşık 3 g olan safra asidi havuzu günde 4 ila 12 kez geri döndürülür. Dışkıda kaybedilen safra asitleri (0,2-0,5 g/gün), safra asidi havuzunu sabit tutmak için karaciğerde yeni sentez yoluyla yenilenir (252, 253).

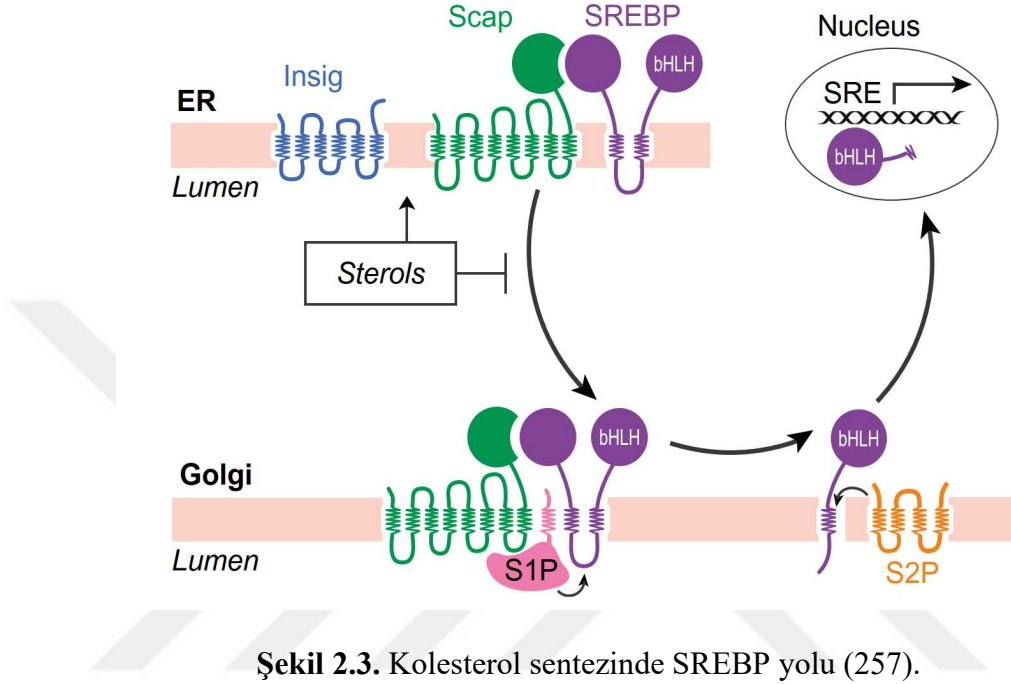
2.4.4 Safra Asidi Sentezinin Düzenlenmesi

Karaciğer metabolizması postprandiyal dönemde oldukça aktiftir ve safra asidi sentezinin indüksiyonu ile besin alımı arasında fizyolojik bir bağlantı bulunmaktadır. Bu durum besin emilimi ve metabolik hemeostazın düzenlenmesine katkı sağlar.

CYP7A1, kolesterolden fakir endoplazmik retikulumda bulunan ve yalnızca kolesterolü substrat olarak kullanan spesifik bir hidroksilazdır. Kolesterolün 7 α pozisyonuna bir hidroksil grubu ekler ve kolesterol miktarı (K_m etkisi), CYP7A1'in spesifik aktivitesini düzenler. Tercihen yeni sentezlenen kolesterolü substrat olarak kullanması hepatositlerdeki safra asidi biyosentezi ile yeni kolesterol sentezi arasında bağlantı oluşturur. Safra asidi sentezlenmesi hepatik kolesterol/oksisterol seviyelerini azaltır. Buna bağlı olarak yeni kolesterol sentezi CYP7A1 enzimine substrat sağlanması için uyarılır.

Hücre içi oksisterol seviyelerinin azalmasından sonra temel sarmal ilmek sarmal lösin fermuar proteini (basic helix-loop-helix-leucine zipper protein) endoplazmik retikulum membranında bulunan insülin indükleyici gen 1 (INSIG1) ve insülin indükleyici gen 2'den (INSIG2) ayrılır. Sterol düzenleyici eleman bağlayıcı protein-2 (SREBP-2) öncüsü olan bu proteine stereoide duyarlı bir SREBP bölünme aktive edici proteini (SCAP) golgi aparatına kadar eşlik eder. Burada iki oksisterol

duyarlı proteaz S1P ve S2P, N-terminal 68 kDa transkripsiyon faktörünü parçalayıp serbest bırakır. Bu faktör çekirdeğe girer ve kolesterol sentezindeki tüm enzimleri ve LDL reseptörünü kodlayan genlerin promotörlerindeki sterol düzenleyici elemana (SRE) bağlanır (Şekil 2.3). Hücre içi oksisterol seviyeleri yüksek olduğunda, SREBP-2 endoplazmik retikulumda tutulur ve kolesterol sentezi inhibe edilir (254-256).



Lipogenezdeki tüm genleri indükleyen SREBP-1a ve SREBP-1c, SREBP-1 geni tarafından kopyalanır (258). SREBP-1c gen transkripsiyonunun insülin ve karaciğer X reseptörü α (LXR α) tarafından indüklenmesi sonrası lipogenezdeki tüm genler indüklenir (259).

CYP7A1 ekspresyonunun glukagon/cAMP ve açlık tarafından indüklenmesinin glukoneogenezde peroksizom proliferatör ile aktiveleştirilen reseptör gama koaktivatör 1-alfa (PGC-1 α) ve fosfoenolpiruvat karboksikinas (PEPCK) indüksiyonuna paralel olduğu belirtilmektedir (260, 261). Bağırsakta besin emilimi için ileri besleme sinyali olarak açlık sırasında CYP7A1 ekspresyonunun ve safra asidi sentezinin yukarı doğru düzenlendiği öne sürülmektedir. Buna karşın, safra asidi sentez hızını yansıtan serum 7 α -hidroksi-4-kolesten-3-on (C4) seviyeleri açlık sırasında azalır ve yemek sonrası dönemde artar. Bu da safra asidi sentezinin açlık sırasında inhibe edildiğini ve yemek sonrası dönemde indüklendiğini düşündürmektedir (262). Ayrıca primer insan hepatositlerinde CYP7A1 gen

ekspresyonunu insülin ve glukozun indüklediği, glukagonun ise baskıladığı gösterilmiştir (263-265). İnsülin ve glukozun safra asidi sentezini indüklemesi safra asidi havuzunun genişlemesine ve dolaşımdaki safra asitlerinin yükselmesine yol açmaktadır (11). Fizyolojik konsantrasyonlarda CYP7A1'i uyaran insülin, insüline dirençli durumda yüksek konsantrasyonlarda CYP7A1'i inhibe eden ikili işlevlere sahip olabilir (263). İnsülin sinyali, CYP7A1 gen transkripsiyonunu inhibe etmek için AKT/protein kinaz B'yi (PKB) ve muhtemelen ayrıca mitojenle aktifleşen protein kinaz (MAPK)/hücre dışı sinyalle düzenlenen kinaz 1/2 (ERK1/2) yolunu aktive eder. İnsülinin, hepatosit nükleer faktör 4 α (HNF4 α) ile etkileşime girerek CYP7A1 ekspresyonunu inhibe edebilen SREBP-1c'yi indüklediği bilinmektedir. Glukoz, CYP7A1 gen promotörünün histon asetilasyon durumunu artırarak epigenetik bir mekanizma yoluyla CYP7A1'i indükler (11). Ek olarak insan hepatositlerinde glukagon ve cAMP, PKA'nın aktivasyonu sonrası HNF4 α 'nın fosforile edilmesi ve DNA bağlanma aktivitesini ortadan kaldırılması ile CYP7A1 ekspresyonunu güçlü bir şekilde inhibe eder (265).

Diyabetik hastalarda safra asidi havuzu ve fekal safra asitleri yükselir, insülin tedavisiyle azalır (266). Hem tip I hem de tip II diyabetli fare modellerinde safra asidi havuzu boyutları artar, ancak CYP7A1 geninin açlıktan yeniden beslenmeye kadar olan düzenlemesi kaybolur (11). Diyabetik farelerde CYP7A1 gen promotörü hiperasetillenmiştir, dolayısıyla bu fareler daha yüksek bazal CYP7A1 aktivitesine, safra asidi sentez hızına ve daha büyük safra asidi havuzuna sahiptir.

Gastrik bypass geçirmemiş aşırı kilolu ve ciddi obez hastalara göre gastrik bypass geçirmiş hastalarda serum safra asitlerinin daha yüksek olduğu ve serum glukagon benzeri peptid-1 (GLP-1) ile pozitif korelasyon gösterdiği gösterilmiştir (267). Gastrik bypass hastalarında, safra asidi geri bildiriminin azalmasına bağlı olarak safra asidi sentezinin artması glukoz toleransının iyileşmesine neden olur. Bu durumla tutarlı olarak dolaşımdaki safra asitlerinin azaltılmasının diyetle ilgili obezite ve diyabeti kötüleştirdiği, safra asidi havuz boyutunun arttırılmasının ise glukoz homeostazisini iyileştirdiği gösterilmiştir (268). Başka bir çalışmada normal glukoz toleransı (NGT) olan hastalarda oral glukoz yüklemesinden sonra insan serumunda en çok yükselen metabolitlerin safra asitleri olduğunu ancak bozulmuş glukoz toleransı olan hastalarda bu yanıtın köreldiği belirtilmiştir (269).

2.4.5. Nükleer Reseptörler

Nükleer reseptörler, embriyogenez, hücre proliferasyonu, farklılaşması, gelişimi ve metabolizmada önemli rol oynayan ligand ile aktive edilen transkripsiyon faktörleridir (244, 270). İnsan genomunda 48 nükleer reseptör geni bulunmaktadır. Nükleer reseptörler, tip I endokrin reseptörler (endocrine receptors), tip II benimsenen yetim reseptörler (adopted orphan receptors) ve tip III yetim reseptörler (orphan receptors) olarak sınıflandırılır (270).

Safra asitleri farnesoid X reseptörü (FXR), pregnan X reseptörü (PXR) ve D vitamini reseptörü (VDR) olmak üzere üç nükleer reseptörü doğrudan aktive eder (271-275). FXR hem serbest hem de konjuge safra asitleri tarafından aktive edilir. FXR'nin en etkili ligandı hidrofobik safra asidi CDCA olup sonrasında LCA, DCA ve CA gelir. Hidrofilik safra asitlerinden UDCA ve MCA ise FXR'yi aktive etmez.

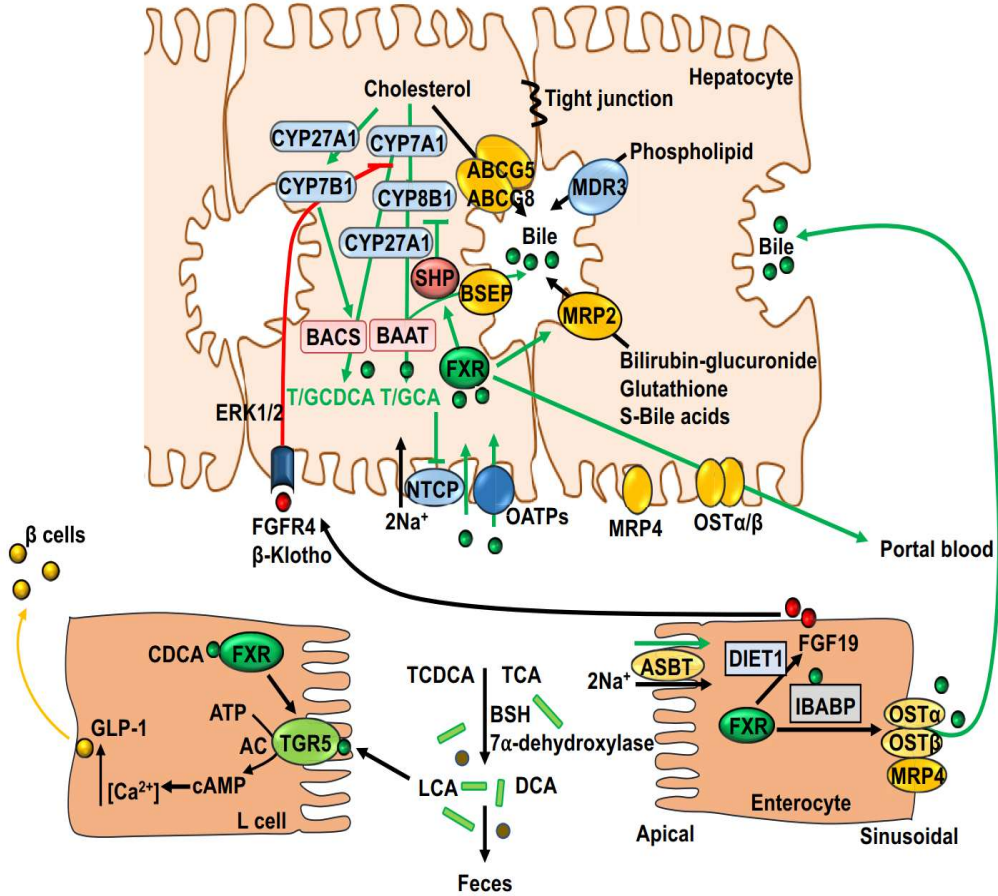
LCA ve onun metaboliti 3-keto-LCA hem VDR hem de PXR için en etkili safra asidi ligandlarıdır. Karaciğerde ve bağırsakta yüksek düzeyde eksprese edilen PXR faz I ilaç metabolize eden P450 enzimlerini, faz II ilaç konjugasyon enzimlerini ve faz III ilaç taşıyıcılarını aktive eder. Böylece safra asitleri, ilaçların ve toksik bileşiklerin detoksifikasyonunda daha önemli roller oynar (275-277). PXR'in, CYP7A1 gen transkripsiyonunu inhibe ettiği bilinmektedir. Bunu CYP7A1 geninin HNF4 α ve PGC-1 α transaktivasyonunu inhibe ederek yapar (278, 279). Litojenik diyetle ilgili gelişen safra taşı hastalığına karşı PXR'si olmayan fareler daha duyarlıdır. Ayrıca PXR'si olmayan farelerde safra asidi havuzu azalmıştır (280). Safra asidi havuzu boyutunun azalması, litojenik diyetin (%1 kolesterol ve %0,5 CA içeren), FXR'nin aktivasyonu ve fibroblast büyüme faktörü 15'in (FGF15) uyarılması ile CYP7A1 ekspresyonunu azaltmasına bağlıdır. VDR ise HNF4 α ile etkileşime girerek CYP7A1 gen transkripsiyonunu inhibe eder (281). Bunu koaktivatörler için rekabet ederek ve CYP7A1 gen transkripsiyonunu inhibe etmek için korepresörleri görevlendirerek yapmaktadır. FXR, PXR ve VDR safra asitlerini, lipoproteinleri, ilaçları, glukozu ve enerji metabolizmasını koordineli olarak düzenleyebilir (10, 245). Safra asitlerinin ayrıca safra asidi metabolizmasının düzenlenmesinde yer alan çeşitli hücre sinyal yollarını aktive ettiği de gösterilmiştir (282).

2.4.5.1 Farnesoid X Reseptörü (FXR)

FXR, safra asitlerinin sentezi, salgısı, bağırsaktan emilimi ve hepatik alımının düzenlenmesinde görev yapmaktadır (283-288). FXR, esas olarak gen promotöründeki bir baz aralığına sahip ters bir tekrara bağlanarak hedef gen transkripsiyonunu aktive eder. CYP7A1'in FXR aracılı inhibisyonuna FXR nakavt farelerde safra asidi sentezi ve CYP7A1 ekspresyonunda artış olması dikkat çekmiştir (287).

FXR, inhibitör etkisini negatif nükleer reseptör small heterodimer partner (SHP) indüksiyonu ile CYP7A1 ve CYP8B1'in transaktivatörlerinin, HNF4 α ve karaciğer reseptör homologu 1 (LRH-1) tarafından inhibe edilmesi ile gerçekleştirir. Ek olarak FXR, safra asidi-CoA sentetazın (BACS) ve safra asidi-CoA: amino asit N-asetiltransferazın (BAAT) gen transkripsiyonunu indükleyerek safra asidi amidasyonunu da düzenler (289). FXR, hepatositlerin kanaliküler membranında yer alan bir safra tuzu eksport pompasını (BSEP, ABCB11) indükler. Safra tuzu eksport pompası, hepatositlerden yaklaşık 1000 kat daha yüksek bir safra asidi konsantrasyonu olmasına rağmen konjuge safra asitlerini salgılayan temel safra asidi akış pompasıdır. FXR, fosfatidilkolin salgılayan çoklu ilaç direnci proteini 2/3'ü (MDR2/3, ABCB4) ve glukuronidlenmiş ve sülfatlanmış safra asitlerini, organik anyonları ve ilaçları dışarı akıtan çoklu ilaç direnci ilişkili protein 2'yi (MRP2, ABCC2) indükler (290). Ayrıca FXR, ABCG5 ifadesini indükler. ABC-yarım taşıyıcılar, ABCG5 ve ABCG8 heterodimerleri kolesterolün safra yoluyla atılımından sorumludur. Safra kesesinde safra asitlerinin, fosfatidilkolin ve kolesterol ile karışık miseller oluşturması safra asitlerinin yüksek konsantrasyonlarda (mmol/L) depolanmasını sağlar ve kolesterolün safra kesesinde çökmesini önler. Terminal ileumda enterositlerin fırçası kenar membranında yer alan apikal sodyum bağımlı safra tuzu taşıyıcı (ASBT) aracılığıyla konjuge safra asitleri emilir. Enterositlerin içinde safra asitlerini FXR tarafından yüksek oranda indüklenen ileum safra asidi bağlayıcı protein bağlar (291). Daha sonra enterositlerin bazolateral membranında yer alan organik çözünen taşıyıcı α ve β dimer (OSTa/ β) tarafından portal dolaşıma atılır (292, 293). OSTa/ β bağırsaktaki ana safra asidi akış taşıyıcısı olmasının yanı sıra sinüzoidal membranda ikincil safra asidi akış taşıyıcısı olarak da görev yapar (294). Portal kan yoluyla hepatositlere ulaşan safra asitlerini sinüzoidal sodyum-taurokolat kotransport polipeptidi (NTCP) ve organik anyon taşıyan polipeptit 1 (OATP1) aracılığıyla hepatositlere alır. FXR OSTa/ β gen transkripsiyonunu indüklerken NTCP gen transkripsiyonunu inhibe eder (295, 296).

Tüm bu etkiler dikkate alındığında FXR, safra asidi sentezinden safra asidinin tekrardan hepatositlere alımına kadar olan süreçleri düzenleyerek safra asitlerinin enterohepatik dolaşımında kritik bir rol oynar (Şekil 2.4). Bu nedenle FXR hedef genlerinin hatalı düzenlenmesi, safra asitlerinin enterohepatik dolaşımını bozulmasına ve kolestatik karaciğer hastalıklarının oluşmasına katkıda bulunur (297-300). FXR, PXR ve kurucu androstan reseptörü (CAR), safra asitlerinin detoksifikasyonunda ve kolestaza karşı korumada tamamlayıcı bir rol oynayabilir (301).



Şekil 2.4. Safra asidi homeostazının düzenlenmesinde FXR rolü (302).

• **FXR/SHP/LRH-1 yolu:** SHP, DNA bağlama alanı olmayan atipik bir reseptördür. FXR, safra asidi ile aktive olduktan sonra negatif bir nükleer reseptör SHP'yi indükleyerek CYP7A1 ve CYP8B1 gen transkripsiyonunu inhibe eder (303, 304). SHP ise CYP7A1 gen transkripsiyonunun inhibe edilmesini LRH-1'in transaktif edici aktivitesini inhibe ederek gerçekleştirir (303, 304). Ayrıca SHP, CYP7A1 ve CYP8B1 transkripsiyonunun inhibisyonunu HNF4α ile etkileşime girerek ve HNF4α'nın peroksizom PGC-1α ile etkileşimini bloke ederek gerçekleştirir (305, 306).

SHP nakavt farelerde CYP7A1 ekspresyonu ve safra asidi sentezinin indüklenmesi, SHP ve CYP7A1 mRNA ekspresyon seviyesi arasında ters bir korelasyonun olduğunu ve bunun FXR/SHP mekanizması ile oluştuğunu göstermektedir. SHP nakavt farelere safra asidi verilmesinin ardından CYP7A1 ekspresyonunun ve safra asidi sentezinin inhibe olması safra asidi sentezinin düzenlenmesinde CYP7A1 inhibisyonu için yedek yolların olabileceğini düşündürür (307, 308). FXR/SHP yolunun safra asidi feedback inhibisyonundaki fizyolojik önemi tam olarak anlaşılmış değildir.

• **FXR/FGF19/FGFR4 yolu:** Başka bir FXR mekanizması olan FXR/FGF19/FGFR4 yolu FXR agonisti olan GW4064'ün bağırsak hormonu olan FGF15'i indüklediği gözlemine dayanmaktadır. FGF15, CYP7A1 mRNA ekspresyonunun inhibe edilmesini hepatik fibroblast büyüme faktör reseptörü 4 (FGFR4) sinyalini aktive ederek gerçekleştirir (309). Fare bağırsağında FGF15'in (insan FGF19'unun bir fare ortologu) FXR tarafından indüklendiği ve fare karaciğerindeki CYP7A1 mRNA ekspresyon seviyeleriyle ters orantılı olduğu gösterilmiştir (310). Portal dolaşım yoluyla karaciğere ulaşan FGF15/19 hem hepatik fibroblast büyüme faktörü reseptörü 4 (FGFR4) ve ERK/MAPK sinyaliyle hem de proto-onkogen tirozin-protein kinaz'a (SRC) bağımlı FXR aktivasyonu yoluyla CYP7A1 ekspresyonunu inhibe eder (311). Fgfr4^{-/-} veya Fgf15^{-/-} farelerinde safra asidi havuzu, dışkıda safra asidi salgısı ve CYP7A1 ekspresyonu artmıştır (312). FGFR4'ün aşırı ekspresyonu, CYP7A1 ekspresyonunu baskılar ve vahşi tip farelerde safra asidi havuzu boyutunu azaltır (313). Bu sonuçlar, safra asidi sentezinin safra asidi inhibisyonuna aracılık etmede FGF15/FGFR4 sinyallemesinin önerilen rolü ile tutarlıdır. Hepatositlerde CYP7A1'i inhibe eden FGFR4 sinyalini aktive edilmesi için bağırsak kaynaklı FGF15 enterohepatik bir sinyal olarak işlev görür (310). Ayrıca GW4064, bağırsak FXR nakavt farelerinde CYP7A1 ekspresyonunu baskılamazken karaciğer FXR nakavt farelerinde baskılar (314). Ek olarak CYP8B1 ekspresyonunun FXR aracılı baskılanması da bağırsak FXR'sinden daha çok karaciğer FXR'sine bağımlıdır. Buradaki farklılık ise FGF15'in, CYP7A1'i baskılaması ancak CYP8B1 ekspresyonunu baskılamamasıdır. FGFR4 sinyallemesinin FGF19 aktivasyonu, membrana bağlı bir glukozidaz β -Klotho gerektirir (Şekil 4).

İnsan serum FGF19 seviyeleri, yemek sonrası serum safra asitleri ve 7 α -hidroksi-4-kolesten-3-on zirvelerinden yaklaşık 90 ila 120 dakika sonra iki ana zirveye

sahip günlük bir ritim sergiler (315). Bu durum safra asitlerinin yemek sonrası karaciğerde safra asidi sentezini inhibe etmek için FGF19'un bağırsaktan kan dolaşımına salgılanması ile ilişkilidir. GW4064 ve safra asitleri insan hepatositlerinde FGF19 sentezini ve salgılanmasını indükleyebilir (316).

CDCA ve GW4064'ün, birincil insan hepatositlerinde CYP7A1 mRNA ekspresyonunu inhibe ettiği ve FGF19 mRNA ekspresyonunu, FGF19 protein salgılanmasını ve FGFR4'ün tirozin fosforilasyonunu hızla indüklediği gösterilmiştir. Karaciğer hepatositlerinden FGF19 salgılanarak hepatositlerdeki FGFR4 sinyalini bir otokrin veya parakrin mekanizmasıyla aktive ettiğini düşündürmektedir. SHP ekspresyonunun siRNA tarafından devre dışı bırakılması, birincil insan hepatositlerinde CYP7A1 mRNA ekspresyonunun FGF19 inhibisyonunu etkilemez; bu, FGF19 sinyallemede SHP'nin gerekli olmayabileceğini düşündürür (316). Ayrıca FGF19 indüksiyonunun en az 24 saat sürdürüldüğü, ancak SHP mRNA'nın CDCA ve GW4064 tarafından indüksiyonunun geçici olduğu, 1 ila 3 saatte maksimuma ulaştığı ve 6 saatlik tedaviden sonra bazal seviyelere düştüğü de belirtilmektedir (316). Tüm bu veriler, FGF19 sinyallemede SHP ve CYP7A1 ekspresyon seviyeleri arasında bir korelasyon olmadığını göstermektedir. Song ve arkadaşlarının çalışması, FGF19/FGFR4 sinyallemesinin insan primer hepatositlerindeki esas olarak MAPK/ERK1/2 sinyalleme yolunu aktive ettiğini ve fosforile ettiğini göstermektedir (316).

Ekstrahepatik kolestaz koşulları altında karaciğerin FGF19'u eksprese ettiği ve bunun karaciğeri safra tuzu toksisitesinden korumak için adaptasyon olduğu belirtilmiştir (317). Kolestatik hastalarda serum FGF19 seviyeleri, kolestatik olmayan hastalara ve safra asitlerini boşaltmak için biliyer stent takılan kolestatik hastalara göre daha yüksekti. FGF19 mRNA, karaciğer örneklerinin çoğunda, geniş bir ekspresyon seviyesi aralığıyla tespit edilebildi; bu düzeyler, kolestatik grupta, boşaltılmış ve kolestatik olmayan gruba göre çok daha yüksekti. CYP7A1 mRNA ekspresyon seviyeleri kolestatik grupta kontrol ve boşaltılmış gruplara göre daha düşüktü. Bu veriler, kolestatik karaciğerde biriken safra asitlerinin, kolestatik karaciğer hasarına adaptif bir yanıt olarak FGF19 ekspresyonunu indükleyebileceğini göstermektedir (317).

2.4.6. G Proteine Bağlı Reseptörler

2.4.6.1. G Proteinini Safra Asidi Reseptörü-1 (GPBAR1/TGR5)

TGR5, Gas proteinine bağlı safra asidiyle aktifleşen bir membran reseptörü olarak tanımlanmıştır (318, 319). Safra kesesi, karaciğer, dalak, bağırsak, pankreas, böbrek, iskelet kası, adipositler ve makrofajlar dahil birçok dokuda TGR5 eksprese edilir. Hepatositlerde eksprese edilmese de Kupffer hücrelerinde (karaciğerde yerleşik makrofajlar), karaciğer sinüzoidal endotel hücrelerinde ve safra kesesi epitel hücrelerinde tespit edilmiştir (320-322). TGR5'e konjuge ve serbest safra asitleri TLCA>LCA>DCA>CDCA>CA sırasıyla bağlanır ve aktive eder. TGR5 sinyali, PKA'yı aktive eden ve gen ekspresyonunu hedef alan cAMP'yi uyarır. TGR5 sinyali kahverengi yağ dokusunda ATP'nin cAMP'ye dönüşümünü uyararak iyodotironin deiyodinaz tip 2'yi (DIO2) aktive eder. DIO2, tiroksini (T4), mitokondriyal oksijen tüketimini ve enerji metabolizmasını uyardığı bilinen T3 hormonuna dönüştürür (323).

TGR5 nakavt fareler, yüksek yağlı bir diyetle beslendiklerinde safra asidi havuzu azalmış ve yağ birikimi olmuştur (324). Ayrıca Tgr5^{+/+} fareler ile Tgr5^{-/-} fareler arasında gelişim sırasında ve safra asidi içeriğinde hiçbir fizyolojik farklılık bulunmasa da yüksek yağlı CA diyetin (litojenik diyet) neden olduğu safra taşı oluşumu Tgr5^{+/+} farelerde görülürken Tgr5^{-/-} farelerde görülmemektedir (325). Bu farelerde safra asidi feedback'i bozulmuştur ve CYP7A1'in artışı, Tgr5'i olmayan farelerde safra taşı oluşumunu önleyebilir. Safra taşı olan insanlarda yapılan bir çalışma, TGR5 mRNA ve proteininin tüm hastalarda eksprese edildiğini ve safra taşı hastalarında TGR5 mRNA'nın (protein ekspresyon seviyelerinin değil) arttığını bildirmektedir (320).

Karaciğer ve bağırsakta TGR5/cAMP sinyali, nükleer faktör kappa B (NF-κB) aracılı inflammatuar sitokin üretimini inhibe ederek antiinflammatuar fonksiyon ile bağırsak bariyer bütünlüğünü korur ve koliti önler (326, 327). TGR5'in aktivasyonu, makrofajlar tarafından proinflammatuar sitokin üretimini inhibe eder ve ateroskleroza inhibe eder (328). Safra asidiyle aktifleşen TGR5 sinyali, yağlı karaciğer hastalığı, inflammatuar barsak hastalıkları, ateroskleroz ve diyabet gibi inflammatuar hastalıklara karşı korunmada kritik bir rol oynayabilir.

TGR5'in kistik fibröz transmembran regülatör (CFTR) ve apikal sodyum bağımlı safra tuzu taşıyıcısı (ASBT) ile birlikte lokalize olması, TGR5'in safra asidi alımı ve klorür sekresyonu ile bağlantısının olduğunu düşündürmektedir.

Safra asitleri ve TGR5'in enteroendokrin hücre dizisi STC-1'de GLP-1 salgılanmasını uyardığı rapor edilmiştir. TGR5 mRNA ekspresyonunun siRNA tarafından yıkılması, GLP-1 sekresyonunu azaltmıştır; bu, safra asitlerinin, TGR5'e bağımlı cAMP üretimi yoluyla GLP-1 sekresyonunu indüklediğini düşündürmektedir (329). GLP-1, pankreasta insülin ve glukagon salgısının, diyabette glukoz homeostazisinin ve iştahın düzenlenmesinde kritik bir rol oynar. TGR5'in spesifik bir TGR5 agonisti olan 6 α -etil-23(S)-metil-CA (6-EMCA, INT-777) tarafından aktivasyonu, enteroendokrin L hücrelerinden GLP-1 salgılanmasını uyarır, hücre içi kalsiyum mobilizasyonunu artırır ve insülin duyarlılığını geliştirir (330).

2.4.6.2 Sfingosin-1-Fosfat Reseptörü 2

Safra asidiyle aktiveleşen S1P reseptörü 2 (S1P2), hepatositlerde eksprese edilen bir G α i sınıfı GPCR olarak tanımlanmıştır (247). Sfingozin 1-fosfat, bir membran lipidi olan sfingozinin sfingozin kinaz 1 (SphK1) ve sfingozin kinaz 2 (SphK2) tarafından fosforile edilmesi ile oluşur.

Sitozolda bulunan SphK1, hücre dışı sinyal sonrası membrandan türetilen sfingozini S1P'ye dönüştürmek için membrana transloke ve aktive edilir. Çekirdekte bulunan ve sitozol ile çekirdek arasında mekik görevi gören SphK2 ise p-ERK1/2 tarafından fosforilasyon ile aktive edilir. S1P birçok farklı GPCR'yi aktive ederken safra asitleri hepatositlerde yalnızca S1P2'yi aktive eder. S1P2 sinyalinin konjuge safra asitleri (TCA, TDCA, TUDCA, GCA ve GDCA) ile aktivasyonu hepatositlerinde ERK1/2 ve AKT sinyalini aktive eder (247). Safra asidiyle aktiveleşen S1P2 sinyalinin, ERK1/2'yi fosforile ve aktive etmesi sonrası CYP7A1 ve safra asidi sentezi inhibe edilir (331).

SHP'nin kararsız olduğu ve ubiquitin-proteazom bozunma yoluyla hızla parçalandığı ancak S1P2/ERK1/2/AKT yolunun SHP'yi fosforile edip stabilize edebileceği belirtilmektedir. Bu durumda S1P, CYP7A1 ve safra asidi sentezini inhibe edebilir (332). Ayrıca S1P/SHP yolu, peroksizom proliferatör ile etkinleştirilen reseptör α (PPAR α) aracılı yağ asidi oksidasyonunun aktivasyonunu ve SREBP-1c aracılı yağ asidi sentezini inhibe edebilir.

S1P2/AKT yolunun hepatik glukoz ve lipid metabolizmasını düzenleyebildiği ve glikojen sentaz kinaz 3β (GSK3β) inhibisyonu ile glikojen sentazın aktivasyonuna neden olabileceğine değinilmiştir. Böylece S1P2 sinyali, glikojenezi uyararak serum glukozunu azaltabilir. İlâveten çekirdek dışında bulunan FoxO1'in AKT ile fosforile edilmesi glukoneojenezin inhibe olması ile sonuçlanır (333).

2.4.7. Safra Asidi Etkileri

2.4.7.1 Enflamasyonda Safra Asitleri

Hidrofobik safra asitleri karaciğer, bağırsak ve diğer dokularda hasar oluşturan güçlü inflamatuvar ajanlar iken hidrofilik safra asitleri antiinflamatuardır. Hidrofilik safra asitleri hepatositleri apoptozdan korurken, hidrofobik safra asitlerinin hepatositlerde apoptozu indüklediği bilinmektedir. Hidrofilik safra asitleri hücre içi cAMP'yi artırır ve hepatositleri apoptozdan korumak için MAPK ve PI3K yollarını aktive ederler (334-336).

FXR ve TGR5 sinyali, hem NF-κB nükleer translokasyonunu inhibe ederek hem de proinflamatuvar sitokinlerin NF-κB'ye bağımlı indüksiyonunu antagonize ederek makrofajlar, bağırsak ve hepatositlerdeki inflamasyonu baskılar (326, 337, 338). Ancak proinflamatuvar sitokinler de FXR sinyalini değiştirerek FXR'in hedef gen ekspresyonunu inhibe edebilir (339). Bu durum TNFα ve IL-1β sinyallemesinin aktivasyonu ile olabilir. FXR ile NF-κB alt birimleri p65 ve p50'nin fiziksel olarak etkileşime girmesi FXR aktivitesini bloke edebilir.

Kupffer hücrelerinden proinflamatuvar sitokin (TNFα ve IL-1β) salınımı safra asitleri tarafından aktive edilebilmektedir (340). Bu sitokinler, JNK/c-Jun yolunu aktive etmek için sinüzoidden hepatositlere geçebilir. JNK/c-Jun yolunun aktive edilmesi HNF4α'yı fosforile ederek CYP7A1 kromatinine bağlanmasını azaltır ve CYP7A1 ve CYP8B1 geninin transkripsiyonunun inhibe edilmesiyle sonuçlanır (341, 342). Kupffer hücrelerinden salgılanan TGFβ1, hepatik stellate hücrelerinde Toll benzeri reseptör 4'ü aktive eder. Bu hücreler aynı zamanda hepatositlerde TGFβ1 reseptörünü ve Smad sinyal yolunu aktive etmek için TGFβ1 salgılar. Safra asitleri hepatositlerde TGFβ1 ekspresyonunu uyarır ve hepatik stellate hücrelerde latent TGFβ1'i aktive eder. Smad3, CYP7A1 gen transkripsiyonunun HNF4α aktivasyonunu inhibe etmek için histon deasetilazı ve bir baskılayıcı mSin3A'yı görevlendirir (343). TGFβ1 ve safra asitleri, HNF4α ile etkileşime giren ve CYP7A1'in HNF4α

transaktivasyonunu inhibe eden bir tümör baskılayıcı p53'ü fosforile etmek için Ras/MAPK/JNK yolunu aktive eder (344, 345).

Başka bir sitokin olan hepatosit büyüme faktörünün (HGF), birincil insan hepatositlerinde safra asidi sentezini inhibe ettiği gösterilmiştir (346). Hepatik stellate hücrelerden salgılanan HGF, bir tirozin reseptör kinaz cMet'i aktive eder ve CYP7A1 ekspresyonunu hızla inhibe eder. HGF, SHP mRNA ve protein ekspresyonunu ile c-Jun'u indükler. Ayrıca ERK1/2, JNK ve c-Jun'un fosforilasyonunu artırır. Bu da c-Jun ve SHP'nin güçlenmesine yol açar ancak koaktivatörler PGC-1 α ve cAMP yanıt elemanı bağlama proteini bağlayıcı proteininin (CBP) CYP7A1 kromatinine bağlanmasını engeller ve CYP7A1 gen transkripsiyonunun inhibe olmasına neden olur.

2.4.7.2 Lipid metabolizması

Lipid metabolizmasının düzenlenmesinde FXR'nin rol oynadığı FXR'si olmayan farelerde safra asitlerinin, kolesterolün, trigliseritlerin ve proaterojenik serum lipoprotein profillerinin artışı ile gösterilmiştir (287). FXR'nin, lipoprotein lipaz aktivatörü olan insan apolipoprotein C-II'nin ekspresyonunu indüklediği gösterilmiştir (347). FXR ayrıca ApoA-V, ApoC-III, ApoE, PPAR α ve sindekan-1 dahil olmak üzere lipoprotein ve trigliserit metabolizmasında rol oynayan diğer birkaç geni de düzenler (348, 349). Bu durum FXR'nin adenovirüs aracılı transdüksiyon veya GW4064 ile aşırı ekspresyonunun vahşi tipte ve diyabetik farelerde serum trigliserit seviyelerini azalttığına bulunmasıyla da desteklenir (350). FXR/SHP yolu, farelerde serum trigliseritlerinin ve VLDL üretiminin azalmasını SREBP-1c'yi ve diğer lipojenik genleri inhibe ederek gerçekleştirir (351).

Ters kolesterol taşıma sisteminin çok önemli bir parçasını oluşturan safra asitleri, kolesterolü periferik dokulardan safra asitlerine dönüştürmek üzere karaciğere taşıyan ters kolesterol taşıma sisteminin %50'sinden fazlasına katkıda bulunur. Ters kolesterol taşınması, makrofajlarda kolesterol ve oksisterol birikiminin önlenmesinde ve ateroskleroza karşı korunmada kritik bir rol oynar (352-356). Vahşi tipte ve LDL reseptörü eksikliği olan farelerde CYP7A1'in transgenik aşırı ekspresyonu yüksek yağlı diyetin neden olduğu ateroskleroza, obezite ve insülin direncini önler (357-359). Yeni kolesterol sentezini uyaran safra asidi sentezi bağırsaktan kolesterol emilimini

arttırmadan safra kolesterol sekresyonunu artırır. Böylece kolesterol homeostazisinin korunmasını sağlar (360).

2.4.7.3 Glukoz metabolizması

Hepatik glukoz metabolizmasının düzenlenmesinde FXR'nin etkili olduğu gösterilmiştir. FXR aktivasyonu sonrası SHP tarafından HNF4 α ve FoxO1'in inhibisyonu yoluyla PEPCK ve Glukoz-6-Fosfataz'ın inhibe edilmesi, safra asidi sentezi ve glukoneogenezin koordineli olarak düzenlendiğini göstermektedir (260, 361, 362). Diyabetik farelerde GW4064 veya 6-etil-CDCA (spesifik FXR agonisti) tarafından FXR'nin aktivasyonu, glukoneojenezi inhibe eder (350, 363-365). Fakat başka bir çalışmada ise GW4064 tarafından FXR'in aktivasyonunun hepatositlerde PEPCK'yi uyardığı ifade edilmektedir (366). Ayrıca FXR'nin safra asidi tarafından aktivasyonunun ardından insülin/AKT yolunu uyarması glikojen sentaz kinaz 3 β 'nin fosforilasyon ile inaktive edilmesine ve glikojen sentezinin uyarılmasına neden olur (357). Böylece FXR, glukoneogenezin inhibe ederken glukoz toleransını ve insülin duyarlılığını iyileştirmek için glikolizi ve glikojenezi uyarır.

FXR ekspresyonu, yüksek konsantrasyonlardaki insülin tarafından inhibe edilirken glukoz tarafından artırılır (367). Aynı zamanda FXR pankreas β hücrelerinde glukozun indüklediği insülin transkripsiyonunu ve sekresyonunu uyarır (368). Yüksek glukoz konsantrasyonlarında, FXR, AKT fosforilasyonu ve pankreas β hücrelerinin plazma zarındaki glukoz taşıyıcı-2'nin (GLUT2) ve hepatositlerdeki glukoz taşıyıcı-4'ün (GLUT4) translokasyonu yoluyla insülin sekresyonunu uyarır.

Hayvan çalışmaları FXR'nin serum glukozu ve insülin direncinin düzenlenmesinde rol oynadığını bildirmektedir (350, 364). FXR'si olmayan farelerde serum glukoz ve serbest yağ asitlerinde artış, ciddi karaciğer yağlanması, bozulmuş glukoz ve insülin toleransı gelişmektedir (364). Ayrıca FXR eksikliği yağ dokusu kütlesini azaltır ve serum leptin konsantrasyonlarını düşürür.

GW4064, obez ob/ob farelerde insülin direncini iyileştirmesinin yanı sıra diyabetik db/db farelerde de FXR aktivasyonu ile serum glukozunu düşürür (350, 369). Bu duruma zıt olarak başka bir çalışma, obez ve diyabetik farelerde FXR kaybının vücut ağırlığını azalttığını ve periferik insülin duyarlılığını iyileştirdiğini bildirmektedir (370). Ek olarak, yüksek yağlı diyetle beslenen farelere GW4064'ün

verilmesinin, diyetle bağılı obezite, yağlı karaciğer ve hipertrigliseridemiye duyarlılığın artmasına neden olduğu belirtilmektedir (268).

6 α -etil-23(S)-metil-CA (INT-777/seçici TGR5 agonisti) tarafından TGR5 aktivasyonu, enteroendokrin hücrelerde GLP-1 salınımını uyarır. Bu uyarı hücre içi ATP/ADP oranının artması ve kalsiyum mobilizasyonu kaynaklı olabilir. TGR5 aktivasyonunun, obez farelerde bağırsakta GLP-1 salgılanmasını uyardığı, karaciğer ve pankreas fonksiyonunu iyileştirdiği ve glukoz toleransını arttırdığı gösterilmiştir (330).

2.4.7.4 Enerji metabolizması

Safra asitleri, glukoz ve lipit metabolizmasını kontrol ederek enerji metabolizması üzerinde etkili olabilmektedir. FGF19'un, yağ asidi oksidasyonunda artışla metabolik hızı arttırabildiği ve yağlanmanın azalması ile kilo kaybına neden olduğu belirtilmektedir. Ayrıca leptinin genetik yokluğu ya da kahverengi yağ dokusunun genetik ablasyonu sonrası obez olan farelerde gelişen diyabeti tersine çevirmektedir. Bu durumlar FXR'nin enerji metabolizmasındaki rolünü de göstermektedir (371, 372). FGF19, hepatik leptin reseptörünü indükler, asetil-CoA karboksilaz 2 ekspresyonunu azaltır ve yağ asidi oksidasyonunu arttırır. Farelerde FXR eksikliğinin stressiz koşullar altında metabolik hızı değiştirmemesi fakat açlık ve soğuğa karşı torpor duyarlılığını arttırması FXR'nin adaftif termogenezin düzenlenmesindeki rolünü gösterir (373).

FGF-19 hepatositlerde lipojenik genlerin önemli bir transkripsiyonel aktivatörü SREBP-1c'nin insülin kaynaklı ekspresyonunu baskılayarak yağ asidi sentezini engellemektedir. Bunu STAT3'ün (SREBP-1c ekspresyon inhibitörü) aktivitesini arttırarak ve peroksizom proliferatörüyle aktifleştirilen reseptör- γ koaktivatör-1 β 'nın (PGC-1 β) (SREBP-1c aktivitesinin bir aktivatörü) ekspresyonunu azaltarak yapmaktadır. FGF-19 ayrıca başka bir mekanizmayla lipojenik enzim ekspresyonunu inhibe eden bir transkripsiyonel baskılayıcı olan small heterodimer partner (SHP) ekspresyonunu da arttırmaktadır (374). SHP'den yoksun farelerin, diyetle bağılı obeziteye karşı direnç gösterdiği, PGC-1 α 'nın bazal ekspresyonunun ve enerji harcamasının arttığı tespit edilmiştir. SHP, PGC-1 α promotörünün transaktivasyonu inhibe eder ve kahverengi adipositlerde SHP ekspresyonunun akut

inhibisyonu, bazal PGC-1 α ekspresyonunu arttırır. Buna göre SHP'nin kahverengi yağ dokusunda enerji üretiminin negatif düzenleyicisi olduğu görülmektedir (375).

Safra asitlerinin kahverengi yağ dokusunda enerji tüketimini arttırmak için diğer etkisi DIO2'nin TGR5'e bağımlı cAMP aktivasyonu ile gerçekleşir. DIO2-/- farelerde safra asitleri enerji üretimini arttıramaz. Tgr5 geni nakavt farelerde yüksek yağlı diyetle bağılı aşırı kilo artışı ve yağ birikimine ek olarak safra asidi havuzu boyutu %25 azalmaktadır (324). Ancak yetişkin insanlarda kahverengi yağ dokusunun azlığı ve insan kas hücrelerinde TGR5 enerji metabolizmasını düzenlese bile düzeylerinin düşük olmasından dolayı TGR5'in insandaki enerji metabolizmasındaki rolü tam olarak açıklanmamıştır (318).



3. MATERYAL VE YÖNTEM

Vaka kontrol gruplu araştırmamız 12.09.2022 tarihli 07/03 karar numaralı etik kurul izni ile Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Polikliniğine başvuran 18-45 yaş aralığındaki ve 24-28. haftalarda OGTT yapılan gebe kadınların dahil edilmesi şeklinde tasarlandı. Araştırmamıza katılan gebelerin bilgilendirilmiş gönüllü onam formları alındı. Çalışma grubu dahil edilme ve dışlama kriterlerine göre 20 (yirmi) GDM tanısı alan ve 20 (yirmi) sağlıklı gebe olmak üzere toplam 40 (kırk) vakadan oluşturuldu.

Araştırmamızda dışlama kriterleri, gebelik öncesi ya da gebelik esnasında tip 1 veya tip 2 tanısı alanlar, safra kesesi taşı ya da safra kesesi ameliyatı olanlar, safra asidi metabolizmasını etkileyen ilaç kullananlar, glukoz metabolizmasını etkileyen ilaç kullananlar, kronik karaciğer hastalığı ve kronik böbrek yetmezliği olanlar şeklinde belirlenmiştir.

Araştırmaya katılan gebelerin demografik bilgileri, sağlık özgeçmişleri ve soy geçmişleri sorgulanarak, boy uzunlukları ve vücut ağırlıkları ise ölçülerek kayıt edilmiştir.

Gebelerden OGTT öncesi en az üç gün kesintisiz diyet (günde en az 150 g karbonhidrat) ve test süresince fiziksel aktivite kısıtlanması istenmektedir. En az 8 saatlik açlık sonrası ve 75 gr glukoz yüklemesi sonrası 1. ve 2. saatlerdeki glukoz değerleri ölçüldü. IADPSG (2010) kriterlerine göre açlık kan şekeri 92 mg/dL, 1. Saat 180 mg/dL, 2.saat 153 mg/dL cut-off değerlerinden en az birinde yükseklik tespit edilenlere GDM tanısı koyuldu.

Gebelerde rutin olarak istenen OGTT için alınan numunelerden glukoz ölçümü sonrası kalan serum, GLP-1 ve total safra asidi ölçümünde kullanılmak üzere endorff tüplerine alikotlanarak -80 °C’de saklandı. Serum glukoz ve total safra asidi ölçümleri Roche Diagnostics firmasının cobas 8000 modüler analizör serisinin cobas c702 otoanalizörü (Japonya, 2018) ile gerçekleştirildi. Serum glukoz ölçümleri enzimatik heksokinaz metoduyla (cobas, ref: 05168791), total safra asidi ölçümleri kolorimetrik

metotla Elabscience (cat no: E-BC-K181) marka kit otoanalizöre aplike edilerek gerçekleştirildi. GLP-1 düzeyleri Human GLP-1 ELISA kiti (Reed Biotech, cat no: RE2747H) ile manuel olarak analiz edildi. ELISA çalışmasında plakları yıkamada BioTek marka ELx50 model (USA, 2008) mikropate strip yıkama cihazı, okumada ise Awareness Techonolgy firmasının Chemwell (USA, 2015) cihazı kullanıldı.

Tablo 3.1. Kitlerin performans bilgileri

	TSA	GLP-1
Ölçüm aralığı	0-180 μ mol/L	1,57-100 pg/mL
Recovery oranı	%100 $\pm$ 20	%96 $\pm$ 6
İntra-CV	$\leq$ %5	$\leq$ %6,23
İnter-CV	$\leq$ %10	$\leq$ %5,12

İstatiksel Analiz

İstatistiksel analizler Statistical Package for the Social Sciences software version 20.0 (SPSS, IBM Inc., USA) programı kullanılarak yapıldı. Tanımlayıcı istatistikler; frekans (n), yüzde oranları (%), ortalama $\pm$ standart sapma ($\bar{x}\pm SS$), ortanca (min-maks), olarak belirtildi. Normal dağılım gösteren veriler için ortalama $\pm$ standart sapma değerleri yazılırken normal dağılım göstermeyen veriler için ortanca (min-max) değerleri yazıldı. Normallik analizi için Kolmogorov-Smirnov ve Shapiro-Wilk testleri, histogram grafikleri, kurtosis ve skewness değerleri kullanıldı. Bağımsız iki grup karşılaştırmalarında ortalamaların karşılaştırıldığı Student's t-testi normal dağılım gösteren değerler için kullanılırken, medyan değerlerin karşılaştırıldığı Mann-Whitney U testi normal dağılım göstermeyen veriler için kullanıldı. Bağımlı iki grup karşılaştırmalarında normal dağılım gösteren değerler için Eş-Yapma t-testi (Paired t-test) kullanılırken, normal dağılım göstermeyen veriler için Wilcoxon işaretli sıralar testi (Wilcoxon Signed Rank Test) kullanıldı. Parametreler arasındaki lineer ilişkilerin incelenmesinde ise normal dağılımlılarda pearson ve normal olmayan dağılımlılarda spearman korelasyon testleri kullanıldı. Korelasyon gücü r değerine göre zayıf ($r=0.00-0.24$), orta ($r=0.25-0.49$), güçlü ($r=0.50-0.74$) ve çok güçlü ($r=0.75-1.00$) olarak sınıflandırıldı. Sonuçlar %95 güven aralığında %5 hata payı dikkate alınarak $p<0.05$ olanlar anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

Çalışmamız 20 sağlıklı gebe (kontrol grubu) ve 20 GDM'li gebe olacak şekilde toplam 40 vakadan oluşmaktadır. Kontrol grubunun ortalama yaş değeri $27,95 \pm 3,82$ iken GDM grubunun ortalama yaş değeri $30,25 \pm 4,91$ idi. VKİ açısından kontrol grubunun ortalaması $27,01 \pm 2,92 \text{ kg/m}^2$ iken GDM grubunun ortalaması $29,58 \pm 4,31 \text{ kg/m}^2$ olarak tespit edildi (Tablo 4.1).

Yapılan normallik analizi testleri sonucu sadece GDM grubunda TSA açlık ve GLP-1 açlık parametrelerinin normal dağılıma uymadığı görüldü. Geri kalan tüm parametreler normal dağılıma sahipti.

GDM tanılı ve sağlıklı gebelerin ayrımında OGTT sırasındaki glukoz değerlerinin kullanılmasından dolayı glukoz değerleri gruplar arasında fark oluşturacağından glukoz konsantrasyonlarının karşılaştırılmasına metin olarak değinilmemiştir.

Çok güçlü ve anlamlı korelasyon sadece kontrol grubu GLP-1 açlık ve GLP-1 1. saat ($r=0,76$ $p=0,000$) arasında mevcuttu. Güçlü ve anlamlı korelasyon ise hem kontrol grubunda TSA açlık ile TSA 1.saat ($r=0,55$ $p=0,010$) arasında hem de GDM grubunda TSA açlık ile TSA 1.saat ($r=0,65$ $p=0,000$) arasında mevcuttu.

Grup içi TSA açlık ve GLP-1 açlık parametrelerinin bulunduğu karşılaştırmalarda Wilcoxon işaretli sıralar testi, bu parametrelerin olmadığı karşılaştırmalarda Paired T-Test kullanıldı. Kontrol grubunda TSA açlık-TSA 1. saat ($p=0,911$) ve GLP-1 açlık-GLP-1 1. saat ($p=0,823$) arasında istatiksel olarak anlamlı fark bulunmadı. GDM grubunda TSA açlık-TSA 1. saat ($p=0,062$) ve GLP-1 açlık-GLP-1 1. saat ($p=0,490$) arasında istatiksel olarak anlamlı fark bulunmadı (Tablo 4.1).

Gruplar arası yaş, VKİ, TSA 1. saat ve GLP-1 1. saat parametrelerinin karşılaştırılmasında independent t-testi kullanıldı. VKİ ($p=0,043$), ve GLP-1 1. saat ($p=0,004$) arasında istatiksel olarak anlamlı fark tespit edilirken yaş ($p=0,106$) ve TSA 1. saat ($p=0,595$) arasında anlamlı fark tespit edilmedi. Gruplar arası TSA açlık ve GLP-1 açlık parametrelerinin karşılaştırılmasında ise Mann-Whitney Testi

kullanılmıştır. Kontrol ve GDM grupları arasında GLP-1 açlık değerlerinin karşılaştırılmasında anlamlı fark bulunmaktadır ($p=0,014$). Ancak TSA açlık değerleri karşılaştırılmasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamaktadır ($p=0,379$) (Tablo 4.1).

Tablo 4.1. Tanımlayıcı, grup içi ve gruplar arası istatistikler (n:20)

			Grup İçi		Gruplar Arası
	Kontrol	GDM	Kontrol	GDM	p
	Ortalama $\pm$ SS Ortanca (min-maks)	Ortalama $\pm$ SS Ortanca (min-maks)	p	p	
Yaş	27,95 $\pm$ 3,82 28,00 (20,0-36,0)	30,25 $\pm$ 4,91 31,50 (22,0-38,0)	-	-	0,106
VKİ (kg/m ²)	27,01 $\pm$ 2,92 27,45 (22,40-33,30)	29,58 $\pm$ 4,31 29,05 (23,10-38,30)	-	-	0,043
GLU açlık (mg/dL)	74,70 $\pm$ 5,38 76,00 (63,0-81,0)	91,30 $\pm$ 9,80 93,00 (70,0-111,0)	0,000 ³	0,000 ³	0,000
GLU 1. saat (mg/dL)	103,85 $\pm$ 18,47 103,50 (69,0-141,0)	157,00 $\pm$ 28,55 162,50 (111,00-200,0)	0,001 ⁴	0,002 ⁴	0,000
GLU 2. saat (mg/dL)	85,80 $\pm$ 11,00 86,00 (66,0-110,0)	129,70 $\pm$ 45,05 126,00 (61,00-247,0)	0,002 ⁵	0,008 ⁵	0,000
TSA açlık¹ (μ mol/L)	2,97 $\pm$ 1,73 2,70 (0,40-6,10)	2,64 $\pm$ 1,90 2,10 (0,9-8,0)	0,911	0,062	0,379 ⁶
TSA 1. saat (μ mol/L)	2,93 $\pm$ 1,36 ² 2,70 (1,30-6,30)	3,21 $\pm$ 1,85 ² 2,70 (0,60-7,90)			0,595
GLP-1 açlık¹ (pg/mL)	39,61 $\pm$ 7,85 39,65 (25,70-56,50)	46,45 $\pm$ 8,15 45,15 (34,50-72,6)	0,823	0,490	0,014⁶
GLP-1 1. saat (pg/mL)	39,67 $\pm$ 7,76 ² 39,40 (22,90-52,10)	48,00 $\pm$ 9,34 ² 48,85 (32,40-66,40)			0,004

1 Ortanca (Min-Max). Diğerleri Ortalama $\pm$ SS olarak verilmiştir.

2 Açlık değerlerinden farksız. ($p>0,05$)

3 GLU açlık ile GLU 1. saat karşılaştırması

4 GLU açlık ile GLU 2. saat karşılaştırması

5 GLU 1. saat ile GLU 2. saat karşılaştırması

6 Mann-Whitney Test. Diğerleri Student-t Testi sonuçlarıdır.

5. TARTIŞMA

GDM ilk kez gebelikte tespit edilen gebelik öncesi olmayan ve gebelik sonrası düzelen glukoz intoleransı olarak tanımlanır. Bu çalışmada GDM tanısı alan gebelerin NGT olan gebelerle kıyaslandığında açlık ve 1. saat GLP-1 ve TSA seviyelerinin GDM’de gelişen glukoz intoleransı ile ilişkili olabileceği hipotezini test ettik.

Karbonhidrat alımı sonrası GLP-1 salgılanması erkenden artar, birinci saatte tepe noktasına ulaştıktan sonra birkaç saat içinde taban seviyesine kadar düşer (12-14). Bu monofazik paternin yanı sıra ikinci bir yükselişin (bifazik patern) olduğunu öne süren çalışmalar da mevcuttur (376). Ayrıca safra asitlerinin de salgılanmasının erken olmasından (15) dolayı çalışmamızda GLP-1 ile TSA’nın açlık ve birinci saat seviyelerinin ölçümünü gerçekleştirdik.

Salgılanan GLP-1’in büyük kısmının dolaşımda DPP-4 tarafından hızlı bir şekilde parçalanması nedeniyle aktif GLP-1 plazma konsantrasyonları oldukça düşüktür (170). Plazma konsantrasyonlarının besin miktarı ve birleşiminden etkilenmesi de söz konusudur (13, 14, 142, 377, 378). Bunlara ek olarak GLP-1 birçok sistem üzerinden etki gösterdiğinden aktif GLP-1 ölçümü yerine toplam GLP-1 ölçülmesi gerektiği öne sürülmektedir (105, 377, 379, 380). Biz de çalışmamızda total GLP-1 ölçümü gerçekleştirdik.

GDM’li gebelerde GLP-1 konsantrasyonlarını araştıran çalışmaları incelediğimizde farklı sonuçların bildirildiğini gözlemledik. Bu durumun sebepleri arasında kullanılan kitlerin farklılıkları, GDM tanısı için kullanılan kriterlerin farklılıkları, çalışma planının OGTT ya da MMTT ile yapılması, çalışmaların farklı etnik kökenli vakaları kapsaması ve çalışmaların farklı fenotiplere sahip kadınlardan oluşması sayılabilir (381-386). Bu çalışmalar arasında MMTT kullanan iki araştırmada NGT’li gebelere göre GDM tanılı gebelerde GLP-1 konsantrasyonları açısından anlamlı fark bulamamışlardır (384, 387). Ancak çalışmalardan biri postprandiyal GLP-1 yanıtlarının diyabetten ziyade gebelik durumunda düştüğünü belirtmiştir (384). Ayrıca OGTT kullanan dört çalışmada OGTT sırasında NGT’li

gebelere göre GDM'li gebelerde GLP-1 konsantrasyonları açısından anlamlı fark bulamamışlardır (383, 388-390). Bu çalışmaların sonuçları incelendiğinde ikisinde açlıkta artmış GLP-1 konsantrasyonları gözlemlenmiştir (383, 388). Birinde ise ilk 30 dakikada GLP-1 konsantrasyonlarının azaldığı belirtilmiştir (389). Diğer çalışmada ise açlıkta GLP-1 yanıtlarında NGT'li ve GDM'li gebeler arasında fark bulunmamıştır (390). OGTT kullanan iki çalışmada ise diğerlerinden farklı olarak 50 g ve 100 g OGTT'i kullanılmıştır. 50 g oral glukoz testi sırasında glukagon benzeri immünoreaktivitenin GDM'li gebelerde NGT gebelere göre daha düşük olduğunu bulmuşlardır (391). Diğer çalışmada ise GDM'li gebelerin NGT'li gebelere göre 3 saatlik 100 g OGTT'i sırasında sadece 180. dakikada anlamlı düşük GLP-1 düzeylerine sahip oldukları tespit edilmiştir (385). Fritsche ve arkadaşları benzer VKİ'e sahip grupların olduğu çalışmada GDM'li kadınlarda NGT'li gebelere göre OGTT sırasında GLP-1 salgısının arttığını saptamıştır (392). Biz de çalışmamızda GLP-1 açlık ile GLP-1 1. saat konsantrasyonlarının GDM'li gebelerde kontrol gebelere göre anlamlı yüksek olduğunu tespit ettik. Bu çalışmadan farklı olarak bizim çalışmamızda grupların VKİ'leri arasında anlamlı farklılık mevcuttu. Çalışmamızda GLP-1 konsantrasyonları kontrol grubu göre GDM'li gebelerde anlamlı olarak yüksek bulunsa da grup içi açlık ve 1. saat GLP-1 konsantrasyonları arasında anlamlı bir fark gözlenmemiştir. Başka çalışmalarda da gözlemlenen bu durum glukoz intoleransı olan kişilerde erken GLP-1 yanıtının olduğunu göstermektedir (383, 388). Ayrıca kontrol grubunda açlık ve 1. saat GLP-1 konsantrasyonları arasında korelasyon mevcut iken GDM grubunda bu durum söz konusu değildir. Yukarıda bahsedilen çalışmalara bakıldığında GDM'li gebelerde gelişen glukoz toleransına tepki olarak GLP-1 konsantrasyonlarında farklı sonuçlar bildirilmektedir. Çalışmamızda her ne kadar GLP-1 yanıtında erken bir yükselme olsa da GDM'de ortaya çıkan insülin direnci ile başa çıkmada yetersiz kaldığı görülmektedir.

GDM'nin ortaya çıkmasında birçok faktörün rol oynadığı bilinmektedir. Bunlar arasında inkretinler de bulunmaktadır. En ayrıntılı araştırılan inkretinlerin başında GL-1 ve GIP gelmektedir. Barsak L hücrelerinden besin alımına bağlı olarak salınan GLP-1 glukoz bağımlı insülinotropik etki göstermektedir. Ancak GLP-1'in salgılanmasından inkretin etki göstermesine kadar olan süreç birçok değişkenden etkilenmektedir. Örneğin MMTT kullanarak yapılan bir çalışmada GLP-1 yanıtının NGT'li kontrollere kıyasla tip 2 diyabetli hastalarda önemli ölçüde azaldığı tespit

edilmiş ve çoklu regresyon analiz sonucunda diyabetin, cinsiyetin ve VKİ'nin GLP-1 yanıtının önemli belirleyicileri olduğu belirtilmiştir (393). Prediyabet ve tip2 diyabetli hastaların NGT ile karşılaştırıldığı bir çalışmada OGTT'de GLP-1 yanıtının bozulduğunu ve kadınlarda bu durumun daha belirgin olduğunu belirtmişlerdir. Ayrıca normal kilolu bireylere kıyasla fazla kilolu ve obez bireylerde bozulmuş GLP-1 yanıtının olduğunu da göstermişlerdir (394). Aktif GLP-1 düzeylerinin ölçüldüğü başka bir çalışmada ise obez kişiler ile normal kilolu kişiler karşılaştırıldığında obez kişilerde GLP-1 düzeylerinin önemli ölçüde daha düşük olduğu bulunmuştur. Ek olarak normal kilolu kişilerle karşılaştırıldığında obez kişilerde DPP4 seviyelerinin anlamlı derecede yüksek olduğunu ve DPP4 düzeylerinin insülin direnciyle pozitif, aktif GLP-1 ile negatif ilişkili olduğunu da gözlemlemişlerdir (395). Yine bir başka çalışmada DPP4 konsantrasyonunun ve DPP4 konsantrasyon/aktivite oranının vücut kitle indeksi ile korele olduğunu ve normal bireylere göre obezlerde arttığını göstermişlerdir (396). Bu durumun obez deneklerde yağ dokusunda DPPIV ekspresyonunun artmasından ya da dolaşımdaki DPPIV proteininin daha az aktiviteye sahip olmasından kaynaklanabileceğini ve daha yüksek protein ekspresyonu ile telafi edilmeye çalışıldığını belirtmişlerdir.

GLP-1 konsantrasyonuna bir başka etken olarak, alınan besinin içeriği ve besinin sıvı ya da katı olması gösterilebilir (377). Farklı protein yüzdesi bulunan izokalorik diyetlerin GLP-1 salgılanmasında değişiklik oluşturduğu ve açlık serbest yağ asidi konsantrasyonlarının GLP-1 salgılanmasıyla ilişkili olduğu ileri sürülmüştür (397, 398). Klinik çalışmaların sistematik incelemesini içeren bir çalışmada sıvı yemek ve OGTT'den sonra GLP-1 seviyelerinin arttığı ancak katı yemek testinden sonra ise azaldığı belirtilmektedir (377). Besinlerin bağırsağa erken ulaşması plazma glukoz seviyesinde erken yükselmelere neden olur. Her ne kadar intavenöz glukoz verilmesi oral glukoz alımını gibi inkretin etki oluşturmaya da GLP-1 artışının plazma glukoz yüksekliğine bağlı olabileceği de söylenmektedir. Sağlıklı kontroller ile kronik pankreatit artı diyabeti ve tip 2 diyabeti olan vakaların oluşturduğu grubun karşılaştırıldığı bir çalışmada izoglisemik intravenöz glukoz yüklemesinden sonra kronik pankreatitli artı diyabeti ve tip 2 diyabeti olanlarda toplam GLP-1 seviyesinin arttığı tespit edilmiştir (399). İzoglisemik intravenöz glukoz yüklemesinden sonra insülin ve C-peptit düzeylerinin benzer olması ve bundan dolayı beta hücre kütlelerinde farklılık olmamasına rağmen GLP-1 salgılanmasının yüksek plazma glukoz değeri ile

ileri beslemeli olarak arttığını göstermektedir (399). Ayrıca GDM'li gebelerde GLP-1 artışı bulan başka bir çalışmada ise korelasyon analizi sonuçlarına göre insülin salgılanmasına GLP-1 katkısı olduğuna ancak hiperglisemiye kontrol etmek için yetersizliğine değinmişlerdir. Hipergliseminin inkretin direnci sonrasında olduğuna ve bu direnci ortadan kaldırmak için GLP-1 seviyesinin arttığına değinmişlerdir (399).

GLP-1'in insülinotropik etkisinin azalması glukoz intoleransın ortaya çıkmasına yol açmaktadır. Tip 2 diyabet hastalarının GLP-1 stimülasyonuna verdikleri tepkileri kapsayan çalışmada erken faz insülin tepkisinin hem tek başına glukozu hem de glukoz artı GLP-1'e yanıt olarak büyük ölçüde azaldığı gösterilmiştir (400). Müdahale sonrası glukoz homeostazisinin geçici bozulmasını içeren bir çalışmada GLP-1'e karşı bozulmuş insülin salgı yanıtlarını inkretin hormonlarının insülinotropik potansiyelinin azalmasına bağlamışlardır (401). Tamamen sağlıklı deneklerin glukoz homeostazisini bozmak amaçlı 12 günlük müdahaleyi içeren başka bir çalışma da GLP-1'e verilen insülin tepkilerinde bozulma olduğunu göstermiştir. Inkretin hormonlarına karşı beta hücre duyarlılığının azalması diyabet gelişmesine neden olmaktan ziyade insülin direnci veya glukoz intoleransının bir sonucu olarak ortaya çıkmaktadır (402).

GLP-1 salgılanmasına etki eden diğer mekanizmalar arasında genetik farklılıklar ve GLP-1R ekspresyonundaki değişiklikler de yer almaktadır. Diyabetli kişilerde TCF7L2 mRNA ve protein seviyelerinin zıt şekilde düzenlendiği ve TCF7L2 geninin, L-bağırsak hücrelerinde glukagon benzeri peptid-1'i (GLP-1) kodlayan öncü olan pro-glukagon ekspresyonunun düzenlenmesi yoluyla glukoz homeostazisinde rol oynadığı gösterilmiştir (403, 404). Sağlıklı kontrollerle karşılaştırıldığında T2DM'li hastaların pankreas kesitlerinde hem TCF7L2 protein ekspresyonunun hem de glukagon benzeri peptit 1 (GLP-1R) reseptörlerinin ekspresyonunun azalmış olduğu gösterilmiştir (404). Tip 2 diyabet ve GDM ile ilişkili TCF7L2 geninin varyantlarını içeren bir çalışmada rs12255372 risk alelinin GDM ile ilişkili olduğunu ancak rs7903146 risk alelinin ilişkili olmadığı belirtilmiştir (405). Diyabette inkretin hormonlarının insülinotropik etkisinde azalmanın gösterilmesine rağmen altta yatan mekanizmalar tam olarak aydınlatılmış değildir. Glukagon benzeri peptit 1 reseptörlerinin (GLP-1R) ekspresyonunun ve TCF7L2 protein seviyesinin azalması bu durumun oluşmasındaki sebeplerden biri olabilir.

GLP-1 salgılanmasında oral glukoz veya karışık yemek alımı sonrası bozulma olmadığını belirten bir çalışmada yüksek glukagon seviyelerinin düşük GLP-1

konsantrasyonlarıyla ilişkili olduğu bulunmuştur (398). Bu da GLP-1 konsantrasyonlarındaki kusurların hiperglukagonemi gibi diğer hormonal ve metabolik değişikliklere ikincil olabileceğini öne sürdürmüştür.

Tüm bu çalışmalar göz önüne alındığında popülasyonun genetik özellikleri, VKİ, beslenme şekilleri, diğer inkretin hormon düzeyleri ve DPP4 konsantrasyonları gibi değişkenler GLP-1'in konsantrasyonunda ve insülinotropik etkilerinde farklılara neden olmaktadır. Bizim çalışmamızda VKİ, gruplar arasında anlamlı farklı olsa da GLP-1 konsantrasyonları ile aralarında korelasyon bulunmamıştır. Gruplar arasındaki VKİ farklılığının GLP-1 konsantrasyonlarına etki etmediği, kontrol grubuna göre GDM'li gebelerde GLP-1 konsantrasyonunun artmış olması gebelikte gelişen insülin direncine karşı azalan insülinotropik etkinin telafi edilmesine bağlı olarak görünmektedir.

Gebelik esnasında tüm kadınlarda bir noktaya kadar insülin direnci oluşur ve bu durumun büyüyen fetus için glukozun transplasental geçişine yardımcı olduğu düşünülür. GDM'deki patolojik düzeydeki insülin direnci ile alakalı olarak ise hiperglisemi ortaya çıkar. Hipergliseminin, kolesterolden safra asidi sentezinde hız sınırlayıcı enzim olan CYP7A1'in artan ekspresyonuna sebep olduğuna dair çalışmalar mevcuttur (263). Ayrıca trimesterler boyunca CA konsantrasyonlarında önemli bir artış gözlemleyen bir çalışma, bu artışı CA sentezinin düzenlenmesinde yer alan FXR'nin inhibisyonundan kaynaklanabileceğini belirtmektedir (406). Başka bir çalışma da CA konsantrasyonunun arttığını ancak CDCA konsantrasyonlarının hamilelik boyunca değişmediğini ve bunun sonucunda CA:CDCA oranının artmasına bağlı olarak safra asidi havuzu toksisitesinin azaldığı belirtmektedir (406, 407). Gebelik süresince 14 safra asidini inceleyen Çin Kohortunda hem konjuge hem de konjuge olmayan safra asitlerinin konsantrasyonlarının özellikle 28 ile 31 haftalarlar arasında olmak üzere ikinci ve üçüncü trimesterler arasında değiştiğini belirtmişlerdir. Gebeliğin ilerlemesine bağlı olarak konjuge olmayan safra asitlerinden konjuge safra asitlerine (daha az hidroforik ve daha az toksik) geçiş görülmektedir (408).

Safra asitlerinin glukoz metabolizmasında, insülin sekresyonu ve insülin duyarlılığında önemli bir rol oynadığı ve safra asidi seviyelerindeki düzensizliğin glukoz intoleransına katkıda bulunan bir faktör olduğu düşünülmektedir (409-411). Bir çalışmada tip 2 diyabetli hastalarda safra asidi metabolizmasında önemli değişikliklerin olduğu gösterildiği gibi safra asidi sekestranlarının T2DM'li hastalarda

glisemik kontrolü iyileştirildiğini gösteren çalışmalar da mevcuttur (283, 412). Safra asitlerinin karbonhidrat metabolizmasındaki etkilerine aracılık eden farklı reseptörler vardır. Bunlardan biri TGR5 aktivasyonu ile barsakta GLP-1 salgılanmasını sağlar (329). Safra asidi-TGR5-GLP-1 yolu glukagon salgısını baskımlarken insülin salgısını uyarır (330). Bununla birlikte, L hücrelerinde FXR aktivasyonunun artması GLP-1 sekresyonunu azaltır ve glikolizi inhibe eder (413). Dolayısıyla safra asitleri her iki reseptör üzerinden GLP-1 ile ilişkili olarak glukoz metabolizması üzerine etki göstermektedir.

GDM'li gebelerde glukoz alımı sonrası GDCA'da artış olduğu ve GLP-1 üzerinden insülin salgılanmasını uyardığı gösterilmiştir. Ancak GDM'li gebelerde glukoz alımından sonra artan GDCA'nın GLP-1 aracılı insülin salgılanmasını teşvik etmede yetersiz kaldığı ve glisemik kontrolün sağlanmasında başarısız olduğu görülmektedir (414). Başka bir çalışmada GDM hastalarında GDCA seviyesinin önemli ölçüde azaldığı belirtilmiş olsa da bu azalmanın insülin duyarlılığıyla ters orantılı ve β hücresi kompanzasyonu ile pozitif korelasyonlu olduğuna değinilmektedir (415). Bu nedenle GDCA seviyeleri çalışmalar arasında farklılık gösterse de etki açısından benzerlik teşkil etmektedir. Ayrıca artan TSA düzeylerinin sağlıklı kişilerle karşılaştırıldığında hem tip 2 diyabetli hastalarda hem de GDM'li gebelerde insülin direnci ile pozitif ilişkili olduğu ve gebelik diyabeti riskini artırabileceği bulunmuştur (409, 416). Hatta, TSA düzeyleri referans aralığında olsalar bile TSA düzeylerinin üst sınıra yakın olması gebelerin artmış gebelik diyabeti riskine sahip olduklarını göstermiştir (416). Çalışmamızda kontrol ve GDM grubunun TSA konsantrasyonları karşılaştırıldığında anlamlı bir fark bulunmadı. Ancak TSA konsantrasyonları referans aralığının üst sınırına yakındı. Bu da GDM'li gebelerde TSA konsantrasyonlarının referans aralığında olabileceğini belirten çalışmalar ile tutarlıdır. Her ne kadar safra asidi alt grupları çalışmamız kapsamında olmasa da incelediğimiz çalışmalarda alt grup farklılıkları dikkat çekmektedir. Çalışmamızda TSA ile GLP-1 konsantrasyonları arasında korelasyon da mevcut değildi. Buna rağmen GLP-1 açlık ve 1. Saat konsantrasyonlarının iki grup arasında anlamlı farklı olması TSA alt grupların etkisini düşündürmektedir. Çalışmamız TSA alt gruplarını kapsaması da GLP-1 ile bu ilişkilerin araştırılması açısından yararlı fikirler sunmaktadır.

Gebeliğin intrahepatik kolestazı (ICP), genelde üçüncü trimesterde görülen yüksek serum safra asitlerine ek olarak kaşıntı ile karakterize ve doğum sonrası kendiliğinden düzelen gebelikle ilişkili bir hepatik hastalıktır. Literatür taraması yaptığımızda GDM sonrası artan ICP oranlarını belirten çalışmaların olduğu gibi ICP sonrası artan GDM oranlarının olduğunu belirten çalışmalar da mevcuttur. Bazı çalışmalarda insülin direnci olan hastalarda açlık ve tokluk safra asidinin arttığı, gestasyonel ve pregestasyonel diyabetli hastalarda ise şiddetli ICP oranlarının arttığı gösterilmiştir (417). Diğer taraftan sistematik bir inceleme ve meta-analizde ICP'li kadınların GDM geliştirme olasılığının daha yüksek olduğu gösterilmektedir (418). Benzer şekilde, 17.688 ICP vakası ve 1.386.771 kontrolün olduğu 10 uygun çalışmayı içeren bir meta-analiz, ICP'nin GDM riskini arttırdığını belirlemiştir (419). Bunlara ilaveten ICP'nin şiddeti arttıkça GDM insidansında artış olduğu da belirtilmektedir (420). Dikkat çekici başka bir durum ise akut ekstrahepatik kolestaz sonrası safra akışındaki değişiklikler, sadece glukoz toleransını ve insülin sekresyonunu bozmadığı, aynı zamanda hem açlık hem de tokluk durumlarında glukagon ve GLP-1 sekresyonunu da arttırdığıdır (421). Çalışmamızda karaciğer ile alakalı patolojik durumlar dışlama kriteri sayılarak çalışmaya dahil edilmedi. Bu yüzden ICP tanılı gebeler çalışmamızda bulunmamaktadır. OGTT sırasında alınan numuneler dışında ilerleyen dönemlerde de numune toplanmadı. GDM tanısı ICP tanısından genel olarak daha önce konulduğundan ilerleyen süreçte ICP gelişmesi halinde TSA konsantrasyonlarının GDM ile olan ilişkisi bizim çalışmamızın konusu olmamaktadır. Bunlara bağlı olarak çalışmamızda TSA konsantrasyonları ile GLP-1 konsantrasyonları arasında korelasyon bulunmaması her ikisinin glukoz intoleransı ile ilişkili olduğunu ancak birbirleriyle olabilecek ilişkinin TSA alt gruplarından kaynaklı olabileceğini düşündürmektedir.

Çalışmamızda GDM'li gebeler ile kontrol grubunun açlık ve 1. saat TSA konsantrasyonları arasında anlamlı bir farklılık tespit edilmedi. Ancak çalışmamız safra asidinin alt gruplarının ölçümünü kapsamamaktadır. İncelenen başka çalışmalarda total safra asidi düzeylerinde fark bulunmasa da safra asidinin alt gruplarında insülin direnci ile alakalı olarak GDM ile ilişki tespit edilmiştir. Çalışmalar içerisinde safra asidi alt gruplarından bazıları GDM ile pozitif ilişkili bulurken bazıları ise negatif ilişkili olarak bulunmuştur (410, 424). Gebelik boyunca değişen safra asidi profilini alt gruplar arasında ki değişim farklılıklarının insülin direnci ile ilişkili olduğu

anlaşılmaktadır. Ayrıca gebelik sırasında GDM tanısının ICP tanısından daha önce konulduğu göz önüne alındığında TSA ölçümlerinde daha sonradan gelişecek farkların bizim çalışmamızda tespit edilmemiş olması da söz konudur.



6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Sonuç olarak GDM normal gebelik sürecinde gelişen insülin direncinden farklı olarak glukoz intoleransı sonucu ortaya çıkan ve hem fetal hem de maternal komplikasyonlara yol açan bir durumdur. Yapılan çalışmalarda bu durumun gelişmesinde katkısı olduğu söylenen GLP-1 ile TSA seviyelerinin incelendiği bu çalışmada GLP-1 düzeyleri kontrol grubuna göre GDM'li gebelerde anlamlı yüksek bulunmuştur. GLP-1'deki artışın gelişen insülin direncine tepki olarak arttığı düşünülebilir. TSA'da ise iki grup arasında anlamlı fark tespit edilmediği ancak çalışmamızın TSA alt grupları kapsamamasından dolayı alt gruplardaki farklılıklardan kaynaklanan etkilenmenin glukoz toleransına neden olabileceği dikkate alınmalıdır. GLP-1 ile TSA arasında ilişki bulamadık ancak TSA alt grupları ile GLP-1 arasında ilişki olabilir.

BİLGİLENDİRME

Bu çalışma Kırıkkale Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje numarası 2022/103

KAYNAKLAR

1. Magliano DJ, Boyko EJ. IDF Diabetes Atlas. IDF DIABETES ATLAS. IDF Diabetes Atlas. 10th ed. Brussels: International Diabetes Federation© International Diabetes Federation, 2021.; 2021.
2. American Diabetes Association Professional Practice C. 2. Classification and Diagnosis of Diabetes: Standards of Medical Care in Diabetes-2022. Diabetes Care. 2022;45(Suppl 1):S17-S38.
3. Ben-Haroush A, Yogeve Y, Hod M. Epidemiology of gestational diabetes mellitus and its association with Type 2 diabetes. Diabet Med. 2004;21(2):103-13.
4. Catalano PM. Trying to understand gestational diabetes. Diabet Med. 2014;31(3):273-81.
5. Lain KY, Catalano PM. Metabolic changes in pregnancy. Clin Obstet Gynecol. 2007;50(4):938-48.
6. American Diabetes Association Professional Practice C. 15. Management of Diabetes in Pregnancy: Standards of Medical Care in Diabetes-2022. Diabetes Care. 2022;45(Suppl 1):S232-S43.
7. Sandoval DA, D'Alessio DA. Physiology of proglucagon peptides: role of glucagon and GLP-1 in health and disease. Physiol Rev. 2015;95(2):513-48.
8. Muller TD, Finan B, Bloom SR, D'Alessio D, Drucker DJ, Flatt PR, et al. Glucagon-like peptide 1 (GLP-1). Mol Metab. 2019;30:72-130.
9. Chiang JY. Bile acids: regulation of synthesis. J Lipid Res. 2009;50(10):1955-66.
10. Thomas C, Pellicciari R, Pruzanski M, Auwerx J, Schoonjans K. Targeting bile-acid signalling for metabolic diseases. Nat Rev Drug Discov. 2008;7(8):678-93.
11. Li T, Francl JM, Boehme S, Ochoa A, Zhang Y, Klaassen CD, et al. Glucose and insulin induction of bile acid synthesis: mechanisms and implication in diabetes and obesity. J Biol Chem. 2012;287(3):1861-73.
12. Ahren B, Holst JJ. The cephalic insulin response to meal ingestion in humans is dependent on both cholinergic and noncholinergic mechanisms and is important for postprandial glycemia. Diabetes. 2001;50(5):1030-8.
13. Elliott RM, Morgan LM, Tredger JA, Deacon S, Wright J, Marks V. Glucagon-like peptide-1 (7-36)amide and glucose-dependent insulinotropic polypeptide secretion in response to nutrient ingestion in man: acute post-prandial and 24-h secretion patterns. J Endocrinol. 1993;138(1):159-66.
14. Herrmann C, Goke R, Richter G, Fehmann HC, Arnold R, Goke B. Glucagon-like peptide-1 and glucose-dependent insulin-releasing polypeptide plasma levels in response to nutrients. Digestion. 1995;56(2):117-26.
15. Angelin B, Björkhem I, Einarsson K, Ewerth S. Hepatic uptake of bile acids in man. Fasting and postprandial concentrations of individual bile acids in portal venous and systemic blood serum. J Clin Invest. 1982;70(4):724-31.

16. Satman I, Yilmaz T, Sengul A, Salman S, Salman F, Uygur S, et al. Population-based study of diabetes and risk characteristics in Turkey: results of the turkish diabetes epidemiology study (TURDEP). *Diabetes Care*. 2002;25(9):1551-6.
17. Satman I, Omer B, Tutuncu Y, Kalaca S, Gedik S, Dinccag 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.
18. Organization WH. Definition and diagnosis of diabetes mellitus and intermediate hyperglycaemia: report of a WHO/IDF consultation. 2006.
19. International Association of D, Pregnancy Study Groups Consensus P, Metzger BE, Gabbe SG, Persson B, Buchanan TA, et al. International association of diabetes and pregnancy study groups recommendations on the diagnosis and classification of hyperglycemia in pregnancy. *Diabetes Care*. 2010;33(3):676-82.
20. World Health O. Classification of diabetes mellitus. Geneva: World Health Organization; 2019 2019.
21. Hattersley AT, Greeley SAW, Polak M, Rubio-Cabezas O, Njolstad PR, Mlynarski W, et al. ISPAD Clinical Practice Consensus Guidelines 2018: The diagnosis and management of monogenic diabetes in children and adolescents. *Pediatr Diabetes*. 2018;19 Suppl 27:47-63.
22. Bennewitz HG. De Diabete Mellito, gravidatatis symptomate. MD Thesis, University of Berlin. 1824.
23. Brocard M. "La" glycosurie de la grossesse: sa fréquence, sa nature, son mécanisme : introduction à l'étude de la nutrition dans l'état puerpéral: Georges Carré et C. Naud; 1898.
24. White P. Pregnancy complicating diabetes. *Am J Med*. 1949;7(5):609-16.
25. O'Sullivan JB, Mahan CM. Criteria for the Oral Glucose Tolerance Test in Pregnancy. *Diabetes*. 1964;13:278-85.
26. American Diabetes Association Workshop-Conference on gestational diabetes: summary and recommendations. *Diabetes Care*. 1980;3(3):499-501.
27. Kuhl C. Etiology and pathogenesis of gestational diabetes. *Diabetes Care*. 1998;21 Suppl 2:B19-26.
28. Alberti KG, Zimmet PZ. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus provisional report of a WHO consultation. *Diabet Med*. 1998;15(7):539-53.
29. Diagnostic criteria and classification of hyperglycaemia first detected in pregnancy: a World Health Organization Guideline. *Diabetes Res Clin Pract*. 2014;103(3):341-63.
30. Hod M, Kapur A, Sacks DA, Hadar E, Agarwal M, Di Renzo GC, et al. The International Federation of Gynecology and Obstetrics (FIGO) Initiative on gestational diabetes mellitus: A pragmatic guide for diagnosis, management, and care. *Int J Gynaecol Obstet*. 2015;131 Suppl 3:S173-211.
31. American Diabetes A. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care*. 2014;37 Suppl 1:S81-90.
32. Kim C, Newton KM, Knopp RH. Gestational diabetes and the incidence of type 2 diabetes: a systematic review. *Diabetes Care*. 2002;25(10):1862-8.
33. Li X, Li TT, Tian RX, Fei JJ, Wang XX, Yu HH, et al. Gestational diabetes mellitus: The optimal time of delivery. *World J Diabetes*. 2023;14(3):179-87.
34. Correa A, Bardenheier B, Elixhauser A, Geiss LS, Gregg E. Trends in prevalence of diabetes among delivery hospitalizations, United States, 1993-2009. *Matern Child Health J*. 2015;19(3):635-42.

35. Wang H, Li N, Chivese T, Werfalli M, Sun H, Yuen L, et al. IDF Diabetes Atlas: Estimation of Global and Regional Gestational Diabetes Mellitus Prevalence for 2021 by International Association of Diabetes in Pregnancy Study Group's Criteria. *Diabetes Res Clin Pract.* 2022;183:109050.
36. Aydin H, Celik O, Yazici D, Altunok C, Tarcin O, Deyneli O, et al. Prevalence and predictors of gestational diabetes mellitus: a nationwide multicentre prospective study. *Diabet Med.* 2019;36(2):221-7.
37. Karacam Z, Cellik D. The prevalence and risk factors of gestational diabetes mellitus in Turkey: a systematic review and meta-analysis. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2021;34(8):1331-41.
38. Homko C, Sivan E, Chen X, Reece EA, Boden G. Insulin secretion during and after pregnancy in patients with gestational diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001;86(2):568-73.
39. Buchanan TA. Pancreatic B-cell defects in gestational diabetes: implications for the pathogenesis and prevention of type 2 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001;86(3):989-93.
40. Barbour LA, McCurdy CE, Hernandez TL, Kirwan JP, Catalano PM, Friedman JE. Cellular mechanisms for insulin resistance in normal pregnancy and gestational diabetes. *Diabetes Care.* 2007;30 Suppl 2:S112-9.
41. Friedman JE, Kirwan JP, Jing M, Presley L, Catalano PM. Increased skeletal muscle tumor necrosis factor-alpha and impaired insulin signaling persist in obese women with gestational diabetes mellitus 1 year postpartum. *Diabetes.* 2008;57(3):606-13.
42. Honnorat D, Disse E, Millot L, Mathiotte E, Claret M, Charrie A, et al. Are third-trimester adipokines associated with higher metabolic risk among women with gestational diabetes? *Diabetes Metab.* 2015;41(5):393-400.
43. Masuzaki H, Ogawa Y, Sagawa N, Hosoda K, Matsumoto T, Mise H, et al. Nonadipose tissue production of leptin: leptin as a novel placenta-derived hormone in humans. *Nat Med.* 1997;3(9):1029-33.
44. Perez-Perez A, Maymo JL, Gambino YP, Guadix P, Duenas JL, Varone CL, et al. Activated translation signaling in placenta from pregnant women with gestational diabetes mellitus: possible role of leptin. *Horm Metab Res.* 2013;45(6):436-42.
45. Hotamisligil GS, Peraldi P, Budavari A, Ellis R, White MF, Spiegelman BM. IRS-1-mediated inhibition of insulin receptor tyrosine kinase activity in TNF-alpha- and obesity-induced insulin resistance. *Science.* 1996;271(5249):665-8.
46. Kirwan JP, Hauguel-De Mouzon S, Lepercq J, Challier JC, Huston-Presley L, Friedman JE, et al. TNF-alpha is a predictor of insulin resistance in human pregnancy. *Diabetes.* 2002;51(7):2207-13.
47. Radaelli T, Varastehpour A, Catalano P, Hauguel-de Mouzon S. Gestational diabetes induces placental genes for chronic stress and inflammatory pathways. *Diabetes.* 2003;52(12):2951-8.
48. Kim JH, Bachmann RA, Chen J. Interleukin-6 and insulin resistance. *Vitam Horm.* 2009;80:613-33.
49. Lappas M, Hiden U, Desoye G, Froehlich J, Hauguel-de Mouzon S, Jawerbaum A. The role of oxidative stress in the pathophysiology of gestational diabetes mellitus. *Antioxid Redox Signal.* 2011;15(12):3061-100.
50. Zhu C, Yang H, Geng Q, Ma Q, Long Y, Zhou C, et al. Association of oxidative stress biomarkers with gestational diabetes mellitus in pregnant women: a case-control study. *PLoS One.* 2015;10(4):e0126490.
51. Javadian P, Alimohamadi S, Gharedaghi MH, Hantoushzadeh S. Gestational diabetes mellitus and iron supplement; effects on pregnancy outcome. *Acta Med Iran.* 2014;52(5):385-9.

52. Patterson S, Flatt PR, Brennan L, Newsholme P, McClenaghan NH. Detrimental actions of metabolic syndrome risk factor, homocysteine, on pancreatic beta-cell glucose metabolism and insulin secretion. *J Endocrinol.* 2006;189(2):301-10.
53. Gong T, Wang J, Yang M, Shao Y, Liu J, Wu Q, et al. Serum homocysteine level and gestational diabetes mellitus: A meta-analysis. *J Diabetes Investig.* 2016;7(4):622-8.
54. Debreceeni B, Debreceeni L. The role of homocysteine-lowering B-vitamins in the primary prevention of cardiovascular disease. *Cardiovasc Ther.* 2014;32(3):130-8.
55. Kim C, Berger DK, Chamany S. Recurrence of gestational diabetes mellitus: a systematic review. *Diabetes Care.* 2007;30(5):1314-9.
56. Hedderson M, Ehrlich S, Sridhar S, Darbinian J, Moore S, Ferrara A. Racial/ethnic disparities in the prevalence of gestational diabetes mellitus by BMI. *Diabetes Care.* 2012;35(7):1492-8.
57. van Leeuwen M, Opmeer BC, Zweers EJ, van Ballegooie E, ter Brugge HG, de Valk HW, et al. Estimating the risk of gestational diabetes mellitus: a clinical prediction model based on patient characteristics and medical history. *BJOG.* 2010;117(1):69-75.
58. Solomon CG, Willett WC, Carey VJ, Rich-Edwards J, Hunter DJ, Colditz GA, et al. A prospective study of pregravid determinants of gestational diabetes mellitus. *JAMA.* 1997;278(13):1078-83.
59. Weiss JL, Malone FD, Emig D, Ball RH, Nyberg DA, Comstock CH, et al. Obesity, obstetric complications and cesarean delivery rate--a population-based screening study. *Am J Obstet Gynecol.* 2004;190(4):1091-7.
60. Hedderson MM, Gunderson EP, Ferrara A. Gestational weight gain and risk of gestational diabetes mellitus. *Obstet Gynecol.* 2010;115(3):597-604.
61. Hedderson MM, Ferrara A. High blood pressure before and during early pregnancy is associated with an increased risk of gestational diabetes mellitus. *Diabetes Care.* 2008;31(12):2362-7.
62. Zhang C, Williams MA, Sorensen TK, King IB, Kestin MM, Thompson ML, et al. Maternal plasma ascorbic Acid (vitamin C) and risk of gestational diabetes mellitus. *Epidemiology.* 2004;15(5):597-604.
63. Zhang C, Qiu C, Hu FB, David RM, van Dam RM, Bralley A, et al. Maternal plasma 25-hydroxyvitamin D concentrations and the risk for gestational diabetes mellitus. *PLoS One.* 2008;3(11):e3753.
64. Bao W, Michels KB, Tobias DK, Li S, Chavarro JE, Gaskins AJ, et al. Parental smoking during pregnancy and the risk of gestational diabetes in the daughter. *Int J Epidemiol.* 2016;45(1):160-9.
65. Retnakaran R, Kramer CK, Ye C, Kew S, Hanley AJ, Connelly PW, et al. Fetal sex and maternal risk of gestational diabetes mellitus: the impact of having a boy. *Diabetes Care.* 2015;38(5):844-51.
66. Smarr MM, Grantz KL, Zhang C, Sundaram R, Maisog JM, Barr DB, et al. Persistent organic pollutants and pregnancy complications. *Sci Total Environ.* 2016;551-552:285-91.
67. Zhang C, Sundaram R, Maisog J, Calafat AM, Barr DB, Buck Louis GM. A prospective study of prepregnancy serum concentrations of perfluorochemicals and the risk of gestational diabetes. *Fertil Steril.* 2015;103(1):184-9.
68. Cypryk K, Szymczak W, Czupryniak L, Sobczak M, Lewinski A. Gestational diabetes mellitus - an analysis of risk factors. *Endokrynol Pol.* 2008;59(5):393-7.
69. Rauh-Hain JA, Rana S, Tamez H, Wang A, Cohen B, Cohen A, et al. Risk for developing gestational diabetes in women with twin pregnancies. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2009;22(4):293-9.

70. Petry CJ. Gestational diabetes: risk factors and recent advances in its genetics and treatment. *Br J Nutr.* 2010;104(6):775-87.
71. Lo JC, Feigenbaum SL, Escobar GJ, Yang J, Crites YM, Ferrara A. Increased prevalence of gestational diabetes mellitus among women with diagnosed polycystic ovary syndrome: a population-based study. *Diabetes Care.* 2006;29(8):1915-7.
72. Chasan-Taber L, Schmidt MD, Pekow P, Sternfeld B, Manson JE, Solomon CG, et al. Physical activity and gestational diabetes mellitus among Hispanic women. *J Womens Health (Larchmt).* 2008;17(6):999-1008.
73. Satman I, Omer B, Tutuncu Y, Kalaca S, Gedik S, Dinccag 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.
74. Morisset AS, St-Yves A, Veillette J, Weisnagel SJ, Tchernof A, Robitaille J. Prevention of gestational diabetes mellitus: a review of studies on weight management. *Diabetes Metab Res Rev.* 2010;26(1):17-25.
75. Galbally M, Frayne J, Watson SJ, Morgan V, Snellen M. The association between gestational diabetes mellitus, antipsychotics and severe mental illness in pregnancy: A multicentre study. *Aust N Z J Obstet Gynaecol.* 2020;60(1):63-9.
76. Tobias DK, Zhang C, van Dam RM, Bowers K, Hu FB. Physical activity before and during pregnancy and risk of gestational diabetes mellitus: a meta-analysis. *Diabetes Care.* 2011;34(1):223-9.
77. Zhang C, Tobias DK, Chavarro JE, Bao W, Wang D, Ley SH, et al. Adherence to healthy lifestyle and risk of gestational diabetes mellitus: prospective cohort study. *BMJ.* 2014;349:g5450.
78. American Diabetes A. 2. Classification and Diagnosis of Diabetes: Standards of Medical Care in Diabetes-2020. *Diabetes Care.* 2020;43(Suppl 1):S14-S31.
79. Vandorsten JP, Dodson WC, Espeland MA, Grobman WA, Guise JM, Mercer BM, et al. NIH consensus development conference: diagnosing gestational diabetes mellitus. *NIH Consens State Sci Statements.* 2013;29(1):1-31.
80. Huhn EA, Massaro N, Streckeisen S, Manegold-Brauer G, Schoetzau A, Schulzke SM, et al. Fourfold increase in prevalence of gestational diabetes mellitus after adoption of the new International Association of Diabetes and Pregnancy Study Groups (IADPSG) criteria. *J Perinat Med.* 2017;45(3):359-66.
81. Rani PR, Begum J. Screening and Diagnosis of Gestational Diabetes Mellitus, Where Do We Stand. *J Clin Diagn Res.* 2016;10(4):QE01-4.
82. Ye W, Luo C, Huang J, Li C, Liu Z, Liu F. Gestational diabetes mellitus and adverse pregnancy outcomes: systematic review and meta-analysis. *BMJ.* 2022;377:e067946.
83. Trujillo J, Vigo A, Duncan BB, Falavigna M, Wendland EM, Campos MA, et al. Impact of the International Association of Diabetes and Pregnancy Study Groups criteria for gestational diabetes. *Diabetes Res Clin Pract.* 2015;108(2):288-95.
84. ElSayed NA, Aleppo G, Aroda VR, Bannuru RR, Brown FM, Bruemmer D, et al. 2. Classification and Diagnosis of Diabetes: Standards of Care in Diabetes-2023. *Diabetes Care.* 2023;46(Suppl 1):S19-S40.
85. ACOG Practice Bulletin No. 190: Gestational Diabetes Mellitus. *Obstet Gynecol.* 2018;131(2):e49-e64.
86. Langer O, Yogev Y, Most O, Xenakis EM. Gestational diabetes: the consequences of not treating. *Am J Obstet Gynecol.* 2005;192(4):989-97.
87. Jovanovic L, Pettitt DJ. Gestational diabetes mellitus. *JAMA.* 2001;286(20):2516-8.

88. Henriksen T. The macrosomic fetus: a challenge in current obstetrics. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2008;87(2):134-45.
89. Group HSCR, Metzger BE, Lowe LP, Dyer AR, Trimble ER, Chaovarindr U, et al. Hyperglycemia and adverse pregnancy outcomes. *N Engl J Med.* 2008;358(19):1991-2002.
90. Anderberg E, Kallen K, Berntorp K. The impact of gestational diabetes mellitus on pregnancy outcome comparing different cut-off criteria for abnormal glucose tolerance. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2010;89(12):1532-7.
91. Landon MB, Spong CY, Thom E, Carpenter MW, Ramin SM, Casey B, et al. A multicenter, randomized trial of treatment for mild gestational diabetes. *N Engl J Med.* 2009;361(14):1339-48.
92. Jastrow N, Roberge S, Gauthier RJ, Laroche L, Duperron L, Brassard N, et al. Effect of birth weight on adverse obstetric outcomes in vaginal birth after cesarean delivery. *Obstet Gynecol.* 2010;115(2 Pt 1):338-43.
93. Samols E, Marks V. [New conceptions on the functional significance of glucagon (pancreatic and extra-pancreatic)]. *Journ Annu Diabetol Hotel Dieu.* 1967;7:43-66.
94. Unger RH, Ohneda A, Valverde I, Eisentraut AM, Exton J. Characterization of the responses of circulating glucagon-like immunoreactivity to intraduodenal and intravenous administration of glucose. *J Clin Invest.* 1968;47(1):48-65.
95. Grimelius L, Capella C, Buffa R, Polak JM, Pearse AG, Solcia E. Cytochemical and ultrastructural differentiation of enteroglucagon and pancreatic-type glucagon cells of the gastrointestinal tract. *Virchows Arch B Cell Pathol.* 1976;20(3):217-28.
96. Buffa R, Capella C, Fontana P, Usellini L, Solcia E. Types of endocrine cells in the human colon and rectum. *Cell Tissue Res.* 1978;192(2):227-40.
97. Rigopoulou D, Valverde I, Marco J, Faloona G, Unger RH. Large glucagon immunoreactivity in extracts of pancreas. *J Biol Chem.* 1970;245(3):496-501.
98. Patzelt C, Tager HS, Carroll RJ, Steiner DF. Identification and processing of proglucagon in pancreatic islets. *Nature.* 1979;282(5736):260-6.
99. Holst JJ. Evidence that enteroglucagon (II) is identical with the C-terminal sequence (residues 33-69) of glicentin. *Biochem J.* 1982;207(3):381-8.
100. Bataille D, Tatemoto K, Gespach C, Jornvall H, Rosselin G, Mutt V. Isolation of glucagon-37 (bioactive enteroglucagon/oxyntomodulin) from porcine jejunum-ileum. Characterization of the peptide. *FEBS Lett.* 1982;146(1):79-86.
101. Bell GI, Santerre RF, Mullenbach GT. Hamster preproglucagon contains the sequence of glucagon and two related peptides. *Nature.* 1983;302(5910):716-8.
102. Eissele R, Goke R, Willemer S, Harthus HP, Vermeer H, Arnold R, et al. Glucagon-like peptide-1 cells in the gastrointestinal tract and pancreas of rat, pig and man. *Eur J Clin Invest.* 1992;22(4):283-91.
103. Rouille Y, Martin S, Steiner DF. Differential processing of proglucagon by the subtilisin-like prohormone convertases PC2 and PC3 to generate either glucagon or glucagon-like peptide. *J Biol Chem.* 1995;270(44):26488-96.
104. Tucker JD, Dhanvantari S, Brubaker PL. Proglucagon processing in islet and intestinal cell lines. *Regul Pept.* 1996;62(1):29-35.
105. Holst JJ. The physiology of glucagon-like peptide 1. *Physiol Rev.* 2007;87(4):1409-39.
106. Orskov C, Bersani M, Johnsen AH, Hojrup P, Holst JJ. Complete sequences of glucagon-like peptide-1 from human and pig small intestine. *J Biol Chem.* 1989;264(22):12826-9.

107. Holst JJ, Orskov C, Nielsen OV, Schwartz TW. Truncated glucagon-like peptide I, an insulin-releasing hormone from the distal gut. *FEBS Lett.* 1987;211(2):169-74.
108. Drucker DJ, Philippe J, Mojsov S, Chick WL, Habener JF. Glucagon-like peptide I stimulates insulin gene expression and increases cyclic AMP levels in a rat islet cell line. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1987;84(10):3434-8.
109. Mojsov S, Weir GC, Habener JF. Insulinotropin: glucagon-like peptide I (7-37) co-encoded in the glucagon gene is a potent stimulator of insulin release in the perfused rat pancreas. *J Clin Invest.* 1987;79(2):616-9.
110. Tolhurst G, Zheng Y, Parker HE, Habib AM, Reimann F, Gribble FM. Glutamine triggers and potentiates glucagon-like peptide-1 secretion by raising cytosolic Ca²⁺ and cAMP. *Endocrinology.* 2011;152(2):405-13.
111. Reimer RA, Darimont C, Gremlich S, Nicolas-Metral V, Ruegg UT, Mace K. A human cellular model for studying the regulation of glucagon-like peptide-1 secretion. *Endocrinology.* 2001;142(10):4522-8.
112. Kuhre RE, Gribble FM, Hartmann B, Reimann F, Windelov JA, Rehfeld JF, et al. Fructose stimulates GLP-1 but not GIP secretion in mice, rats, and humans. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2014;306(7):G622-30.
113. Hirasawa A, Tsumaya K, Awaji T, Katsuma S, Adachi T, Yamada M, et al. Free fatty acids regulate gut incretin glucagon-like peptide-1 secretion through GPR120. *Nat Med.* 2005;11(1):90-4.
114. Gribble FM, Williams L, Simpson AK, Reimann F. A novel glucose-sensing mechanism contributing to glucagon-like peptide-1 secretion from the GLUTag cell line. *Diabetes.* 2003;52(5):1147-54.
115. Orskov C, Wettergren A, Holst JJ. Secretion of the incretin hormones glucagon-like peptide-1 and gastric inhibitory polypeptide correlates with insulin secretion in normal man throughout the day. *Scand J Gastroenterol.* 1996;31(7):665-70.
116. Hjollund KR, Deacon CF, Holst JJ. Dipeptidyl peptidase-4 inhibition increases portal concentrations of intact glucagon-like peptide-1 (GLP-1) to a greater extent than peripheral concentrations in anaesthetised pigs. *Diabetologia.* 2011;54(8):2206-8.
117. Deacon CF, Johnsen AH, Holst JJ. Degradation of glucagon-like peptide-1 by human plasma in vitro yields an N-terminally truncated peptide that is a major endogenous metabolite in vivo. *J Clin Endocrinol Metab.* 1995;80(3):952-7.
118. Hansen L, Deacon CF, Orskov C, Holst JJ. Glucagon-like peptide-1-(7-36)amide is transformed to glucagon-like peptide-1-(9-36)amide by dipeptidyl peptidase IV in the capillaries supplying the L cells of the porcine intestine. *Endocrinology.* 1999;140(11):5356-63.
119. Kuhre RE, Wewer Albrechtsen NJ, Hartmann B, Deacon CF, Holst JJ. Measurement of the incretin hormones: glucagon-like peptide-1 and glucose-dependent insulinotropic peptide. *J Diabetes Complications.* 2015;29(3):445-50.
120. Holst JJ, Deacon CF. Glucagon-like peptide-1 mediates the therapeutic actions of DPP-IV inhibitors. *Diabetologia.* 2005;48(4):612-5.
121. Vilsboll T, Krarup T, Sonne J, Madsbad S, Volund A, Juul AG, et al. Incretin secretion in relation to meal size and body weight in healthy subjects and people with type 1 and type 2 diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab.* 2003;88(6):2706-13.
122. Holst JJ, Madsbad S, Bojsen-Moller KN, Svane MS, Jorgensen NB, Dirksen C, et al. Mechanisms in bariatric surgery: Gut hormones, diabetes resolution, and weight loss. *Surg Obes Relat Dis.* 2018;14(5):708-14.

123. Tolhurst G, Reimann F, Gribble FM. Nutritional regulation of glucagon-like peptide-1 secretion. *J Physiol.* 2009;587(1):27-32.
124. Ezcurra M, Reimann F, Gribble FM, Emery E. Molecular mechanisms of incretin hormone secretion. *Curr Opin Pharmacol.* 2013;13(6):922-7.
125. Reimann F, Gribble FM. Mechanisms underlying glucose-dependent insulinotropic polypeptide and glucagon-like peptide-1 secretion. *J Diabetes Investig.* 2016;7 Suppl 1(Suppl 1):13-9.
126. Saltiel MY, Kuhre RE, Christiansen CB, Eliassen R, Conde-Frieboes KW, Rosenkilde MM, et al. Sweet Taste Receptor Activation in the Gut Is of Limited Importance for Glucose-Stimulated GLP-1 and GIP Secretion. *Nutrients.* 2017;9(4).
127. Reimann F, Habib AM, Tolhurst G, Parker HE, Rogers GJ, Gribble FM. Glucose sensing in L cells: a primary cell study. *Cell Metab.* 2008;8(6):532-9.
128. Maersk M, Belza A, Holst JJ, Fenger-Gron M, Pedersen SB, Astrup A, et al. Satiety scores and satiety hormone response after sucrose-sweetened soft drink compared with isocaloric semi-skimmed milk and with non-caloric soft drink: a controlled trial. *Eur J Clin Nutr.* 2012;66(4):523-9.
129. Ma J, Chang J, Checklin HL, Young RL, Jones KL, Horowitz M, et al. Effect of the artificial sweetener, sucralose, on small intestinal glucose absorption in healthy human subjects. *Br J Nutr.* 2010;104(6):803-6.
130. Husted AS, Trauelsen M, Rudenko O, Hjorth SA, Schwartz TW. GPCR-Mediated Signaling of Metabolites. *Cell Metab.* 2017;25(4):777-96.
131. Roberge JN, Brubaker PL. Regulation of intestinal proglucagon-derived peptide secretion by glucose-dependent insulinotropic peptide in a novel enteroendocrine loop. *Endocrinology.* 1993;133(1):233-40.
132. Sidhu SS, Thompson DG, Warhurst G, Case RM, Benson RS. Fatty acid-induced cholecystokinin secretion and changes in intracellular Ca²⁺ in two enteroendocrine cell lines, STC-1 and GLUTag. *J Physiol.* 2000;528 Pt 1(Pt 1):165-76.
133. Ekberg JH, Hauge M, Kristensen LV, Madsen AN, Engelstoft MS, Husted AS, et al. GPR119, a Major Enteroendocrine Sensor of Dietary Triglyceride Metabolites Coacting in Synergy With FFA1 (GPR40). *Endocrinology.* 2016;157(12):4561-9.
134. Edfalk S, Steneberg P, Edlund H. Gpr40 is expressed in enteroendocrine cells and mediates free fatty acid stimulation of incretin secretion. *Diabetes.* 2008;57(9):2280-7.
135. Mandoe MJ, Hansen KB, Hartmann B, Rehfeld JF, Holst JJ, Hansen HS. The 2-monoacylglycerol moiety of dietary fat appears to be responsible for the fat-induced release of GLP-1 in humans. *Am J Clin Nutr.* 2015;102(3):548-55.
136. Hansen HS, Rosenkilde MM, Holst JJ, Schwartz TW. GPR119 as a fat sensor. *Trends Pharmacol Sci.* 2012;33(7):374-81.
137. Chen Q, Reimer RA. Dairy protein and leucine alter GLP-1 release and mRNA of genes involved in intestinal lipid metabolism in vitro. *Nutrition.* 2009;25(3):340-9.
138. Gameiro A, Reimann F, Habib AM, O'Malley D, Williams L, Simpson AK, et al. The neurotransmitters glycine and GABA stimulate glucagon-like peptide-1 release from the GLUTag cell line. *J Physiol.* 2005;569(Pt 3):761-72.
139. Greenfield JR, Farooqi IS, Keogh JM, Henning E, Habib AM, Blackwood A, et al. Oral glutamine increases circulating glucagon-like peptide 1, glucagon, and insulin concentrations in lean, obese, and type 2 diabetic subjects. *Am J Clin Nutr.* 2009;89(1):106-13.

140. Calbet JA, Holst JJ. Gastric emptying, gastric secretion and enterogastrone response after administration of milk proteins or their peptide hydrolysates in humans. *Eur J Nutr.* 2004;43(3):127-39.
141. Nilsson M, Stenberg M, Frid AH, Holst JJ, Bjorck IM. Glycemia and insulinemia in healthy subjects after lactose-equivalent meals of milk and other food proteins: the role of plasma amino acids and incretins. *Am J Clin Nutr.* 2004;80(5):1246-53.
142. Belza A, Ritz C, Sorensen MQ, Holst JJ, Rehfeld JF, Astrup A. Contribution of gastroenteropancreatic appetite hormones to protein-induced satiety. *Am J Clin Nutr.* 2013;97(5):980-9.
143. Lejeune MP, Westerterp KR, Adam TC, Luscombe-Marsh ND, Westerterp-Plantenga MS. Ghrelin and glucagon-like peptide 1 concentrations, 24-h satiety, and energy and substrate metabolism during a high-protein diet and measured in a respiration chamber. *Am J Clin Nutr.* 2006;83(1):89-94.
144. Kato M, Nakanishi T, Tani T, Tsuda T. Low-molecular fraction of wheat protein hydrolysate stimulates glucagon-like peptide-1 secretion in an enteroendocrine L cell line and improves glucose tolerance in rats. *Nutr Res.* 2017;37:37-45.
145. Diakogiannaki E, Pais R, Tolhurst G, Parker HE, Horscroft J, Rauscher B, et al. Oligopeptides stimulate glucagon-like peptide-1 secretion in mice through proton-coupled uptake and the calcium-sensing receptor. *Diabetologia.* 2013;56(12):2688-96.
146. Rudenko O, Shang J, Munk A, Ekberg JP, Petersen N, Engelstoft MS, et al. The aromatic amino acid sensor GPR142 controls metabolism through balanced regulation of pancreatic and gut hormones. *Mol Metab.* 2019;19:49-64.
147. Theodorakis MJ, Carlson O, Michopoulos S, Doyle ME, Juhaszova M, Petraki K, et al. Human duodenal enteroendocrine cells: source of both incretin peptides, GLP-1 and GIP. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2006;290(3):E550-9.
148. Jorsal T, Rhee NA, Pedersen J, Wahlgren CD, Mortensen B, Jepsen SL, et al. Enteroendocrine K and L cells in healthy and type 2 diabetic individuals. *Diabetologia.* 2018;61(2):284-94.
149. Lim GE, Brubaker PL. Glucagon-like peptide 1 secretion by the L-cell: the view from within. *Diabetes.* 2006;55(Supplement_2):S70-S7.
150. Lim GE, Huang GJ, Flora N, LeRoith D, Rhodes CJ, Brubaker PL. Insulin regulates glucagon-like peptide-1 secretion from the enteroendocrine L cell. *Endocrinology.* 2009;150(2):580-91.
151. Gagnon J, Baggio LL, Drucker DJ, Brubaker PL. Ghrelin Is a Novel Regulator of GLP-1 Secretion. *Diabetes.* 2015;64(5):1513-21.
152. Mentis N, Vardarli I, Kothe LD, Holst JJ, Deacon CF, Theodorakis M, et al. GIP does not potentiate the antidiabetic effects of GLP-1 in hyperglycemic patients with type 2 diabetes. *Diabetes.* 2011;60(4):1270-6.
153. Nauck MA, Heimesaat MM, Orskov C, Holst JJ, Ebert R, Creutzfeldt W. Preserved incretin activity of glucagon-like peptide 1 [7-36 amide] but not of synthetic human gastric inhibitory polypeptide in patients with type-2 diabetes mellitus. *J Clin Invest.* 1993;91(1):301-7.
154. Schirra J, Katschinski M, Weidmann C, Schafer T, Wank U, Arnold R, et al. Gastric emptying and release of incretin hormones after glucose ingestion in humans. *J Clin Invest.* 1996;97(1):92-103.
155. Zhang X, Young RL, Bound M, Hu S, Jones KL, Horowitz M, et al. Comparative Effects of Proximal and Distal Small Intestinal Glucose Exposure on Glycemia, Incretin Hormone Secretion, and the Incretin Effect in Health and Type 2 Diabetes. *Diabetes Care.* 2019;42(4):520-8.

156. Beglinger S, Drewe J, Schirra J, Goke B, D'Amato M, Beglinger C. Role of fat hydrolysis in regulating glucagon-like Peptide-1 secretion. *J Clin Endocrinol Metab.* 2010;95(2):879-86.
157. Hansen L, Holst JJ. The effects of duodenal peptides on glucagon-like peptide-1 secretion from the ileum. A duodeno--ileal loop? *Regul Pept.* 2002;110(1):39-45.
158. Herrmann-Rinke C, Voge A, Hess M, Goke B. Regulation of glucagon-like peptide-1 secretion from rat ileum by neurotransmitters and peptides. *J Endocrinol.* 1995;147(1):25-31.
159. Anini Y, Brubaker PL. Muscarinic receptors control glucagon-like peptide 1 secretion by human endocrine L cells. *Endocrinology.* 2003;144(7):3244-50.
160. Hansen L, Lampert S, Mineo H, Holst JJ. Neural regulation of glucagon-like peptide-1 secretion in pigs. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2004;287(5):E939-47.
161. Steinert RE, Feinle-Bisset C, Asarian L, Horowitz M, Beglinger C, Geary N. Ghrelin, CCK, GLP-1, and PYY(3-36): Secretory Controls and Physiological Roles in Eating and Glycemia in Health, Obesity, and After RYGB. *Physiol Rev.* 2017;97(1):411-63.
162. Han YE, Kang CW, Oh JH, Park SH, Ku CR, Cho YH, et al. Olfactory Receptor OR51E1 Mediates GLP-1 Secretion in Human and Rodent Enteroendocrine L Cells. *J Endocr Soc.* 2018;2(11):1251-8.
163. Larsen PJ, Tang-Christensen M, Holst JJ, Orskov C. Distribution of glucagon-like peptide-1 and other preproglucagon-derived peptides in the rat hypothalamus and brainstem. *Neuroscience.* 1997;77(1):257-70.
164. Holt MK, Richards JE, Cook DR, Brierley DI, Williams DL, Reimann F, et al. Preproglucagon Neurons in the Nucleus of the Solitary Tract Are the Main Source of Brain GLP-1, Mediate Stress-Induced Hypophagia, and Limit Unusually Large Intakes of Food. *Diabetes.* 2019;68(1):21-33.
165. Elias CF, Kelly JF, Lee CE, Ahima RS, Drucker DJ, Saper CB, et al. Chemical characterization of leptin-activated neurons in the rat brain. *J Comp Neurol.* 2000;423(2):261-81.
166. Vrang N, Phifer CB, Corkern MM, Berthoud HR. Gastric distension induces c-Fos in medullary GLP-1/2-containing neurons. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2003;285(2):R470-8.
167. Hisadome K, Reimann F, Gribble FM, Trapp S. Leptin directly depolarizes preproglucagon neurons in the nucleus tractus solitarius: electrical properties of glucagon-like Peptide 1 neurons. *Diabetes.* 2010;59(8):1890-8.
168. Hisadome K, Reimann F, Gribble FM, Trapp S. CCK stimulation of GLP-1 neurons involves α 1-adrenoceptor-mediated increase in glutamatergic synaptic inputs. *Diabetes.* 2011;60(11):2701-9.
169. Garfield AS, Patterson C, Skora S, Gribble FM, Reimann F, Evans ML, et al. Neurochemical characterization of body weight-regulating leptin receptor neurons in the nucleus of the solitary tract. *Endocrinology.* 2012;153(10):4600-7.
170. Hui H, Farilla L, Merkel P, Perfetti R. The short half-life of glucagon-like peptide-1 in plasma does not reflect its long-lasting beneficial effects. *Eur J Endocrinol.* 2002;146(6):863-9.
171. Plamboeck A, Holst JJ, Carr RD, Deacon CF. Neutral endopeptidase 24.11 and dipeptidyl peptidase IV are both mediators of the degradation of glucagon-like peptide 1 in the anaesthetised pig. *Diabetologia.* 2005;48(9):1882-90.
172. Deacon CF. Circulation and degradation of GIP and GLP-1. *Horm Metab Res.* 2004;36(11-12):761-5.
173. Meier JJ, Nauck MA, Kranz D, Holst JJ, Deacon CF, Gaeckler D, et al. Secretion, degradation, and elimination of glucagon-like peptide 1 and gastric inhibitory polypeptide in patients with chronic renal insufficiency and healthy control subjects. *Diabetes.* 2004;53(3):654-62.

174. Drucker DJ. Dipeptidyl peptidase-4 inhibition and the treatment of type 2 diabetes: preclinical biology and mechanisms of action. *Diabetes Care*. 2007;30(6):1335-43.
175. Vahl TP, Paty BW, Fuller BD, Prigeon RL, D'Alessio DA. Effects of GLP-1-(7-36)NH₂, GLP-1-(7-37), and GLP-1-(9-36)NH₂ on intravenous glucose tolerance and glucose-induced insulin secretion in healthy humans. *J Clin Endocrinol Metab*. 2003;88(4):1772-9.
176. Zander M, Madsbad S, Deacon CF, Holst JJ. The metabolite generated by dipeptidyl-peptidase 4 metabolism of glucagon-like peptide-1 has no influence on plasma glucose levels in patients with type 2 diabetes. *Diabetologia*. 2006;49(2):369-74.
177. Elahi D, Egan JM, Shannon RP, Meneilly GS, Khatri A, Habener JF, et al. GLP-1 (9-36) amide, cleavage product of GLP-1 (7-36) amide, is a glucoregulatory peptide. *Obesity (Silver Spring)*. 2008;16(7):1501-9.
178. Meier JJ, Gethmann A, Nauck MA, Gotze O, Schmitz F, Deacon CF, et al. The glucagon-like peptide-1 metabolite GLP-1-(9-36) amide reduces postprandial glycemia independently of gastric emptying and insulin secretion in humans. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2006;290(6):E1118-23.
179. Knudsen LB, Pridal L. Glucagon-like peptide-1-(9-36) amide is a major metabolite of glucagon-like peptide-1-(7-36) amide after in vivo administration to dogs, and it acts as an antagonist on the pancreatic receptor. *Eur J Pharmacol*. 1996;318(2-3):429-35.
180. Mayo KE, Miller LJ, Bataille D, Dalle S, Goke B, Thorens B, et al. International Union of Pharmacology. XXXV. The glucagon receptor family. *Pharmacol Rev*. 2003;55(1):167-94.
181. Wootten D, Reynolds CA, Smith KJ, Mobarec JC, Koole C, Savage EE, et al. The Extracellular Surface of the GLP-1 Receptor Is a Molecular Trigger for Biased Agonism. *Cell*. 2016;165(7):1632-43.
182. Moon MJ, Park S, Kim DK, Cho EB, Hwang JI, Vaudry H, et al. Structural and molecular conservation of glucagon-like Peptide-1 and its receptor confers selective ligand-receptor interaction. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2012;3:141.
183. Waser B, Blank A, Karamitopoulou E, Perren A, Reubi JC. Glucagon-like-peptide-1 receptor expression in normal and diseased human thyroid and pancreas. *Mod Pathol*. 2015;28(3):391-402.
184. Richards P, Parker HE, Adriaenssens AE, Hodgson JM, Cork SC, Trapp S, et al. Identification and characterization of GLP-1 receptor-expressing cells using a new transgenic mouse model. *Diabetes*. 2014;63(4):1224-33.
185. Svendsen B, Larsen O, Gabe MBN, Christiansen CB, Rosenkilde MM, Drucker DJ, et al. Insulin Secretion Depends on Intra-islet Glucagon Signaling. *Cell Rep*. 2018;25(5):1127-34 e2.
186. Wei Y, Mojsov S. Tissue-specific expression of the human receptor for glucagon-like peptide-I: brain, heart and pancreatic forms have the same deduced amino acid sequences. *FEBS Lett*. 1995;358(3):219-24.
187. Chen J, Zhao H, Ma X, Zhang Y, Lu S, Wang Y, et al. GLP-1/GLP-1R Signaling in Regulation of Adipocyte Differentiation and Lipogenesis. *Cell Physiol Biochem*. 2017;42(3):1165-76.
188. Iacobellis G, Camarena V, Sant DW, Wang G. Human Epicardial Fat Expresses Glucagon-Like Peptide 1 and 2 Receptors Genes. *Horm Metab Res*. 2017;49(8):625-30.
189. Alvarez E, Martinez MD, Roncero I, Chowen JA, Garcia-Cuartero B, Gisbert JD, et al. The expression of GLP-1 receptor mRNA and protein allows the effect of GLP-1 on glucose metabolism in the human hypothalamus and brainstem. *J Neurochem*. 2005;92(4):798-806.

190. Pyke C, Heller RS, Kirk RK, Orskov C, Reedtz-Runge S, Kastrup P, et al. GLP-1 receptor localization in monkey and human tissue: novel distribution revealed with extensively validated monoclonal antibody. *Endocrinology*. 2014;155(4):1280-90.
191. Kreymann B, Williams G, Ghatel MA, Bloom SR. Glucagon-like peptide-1 7-36: a physiological incretin in man. *Lancet*. 1987;2(8571):1300-4.
192. Weir GC, Mojsov S, Hendrick GK, Habener JF. Glucagonlike peptide I (7-37) actions on endocrine pancreas. *Diabetes*. 1989;38(3):338-42.
193. Doyle ME, Egan JM. Mechanisms of action of glucagon-like peptide 1 in the pancreas. *Pharmacol Ther*. 2007;113(3):546-93.
194. Holz GG. Epac: A new cAMP-binding protein in support of glucagon-like peptide-1 receptor-mediated signal transduction in the pancreatic beta-cell. *Diabetes*. 2004;53(1):5-13.
195. Wang X, Zhou J, Doyle ME, Egan JM. Glucagon-like peptide-1 causes pancreatic duodenal homeobox-1 protein translocation from the cytoplasm to the nucleus of pancreatic beta-cells by a cyclic adenosine monophosphate/protein kinase A-dependent mechanism. *Endocrinology*. 2001;142(5):1820-7.
196. Harndahl L, Jing XJ, Ivarsson R, Degerman E, Ahren B, Manganiello VC, et al. Important role of phosphodiesterase 3B for the stimulatory action of cAMP on pancreatic beta-cell exocytosis and release of insulin. *J Biol Chem*. 2002;277(40):37446-55.
197. Creutzfeldt WO, Kleine N, Willms B, Orskov C, Holst JJ, Nauck MA. Glucagonostatic actions and reduction of fasting hyperglycemia by exogenous glucagon-like peptide I(7-36) amide in type I diabetic patients. *Diabetes Care*. 1996;19(6):580-6.
198. Krieger JP, Arnold M, Pettersen KG, Lossel P, Langhans W, Lee SJ. Knockdown of GLP-1 Receptors in Vagal Afferents Affects Normal Food Intake and Glycemia. *Diabetes*. 2016;65(1):34-43.
199. Fehmann HC, Habener JF. Insulinotropic hormone glucagon-like peptide-I(7-37) stimulation of proinsulin gene expression and proinsulin biosynthesis in insulinoma beta TC-1 cells. *Endocrinology*. 1992;130(1):159-66.
200. Wang Y, Egan JM, Raygada M, Nadiv O, Roth J, Montrose-Rafizadeh C. Glucagon-like peptide-1 affects gene transcription and messenger ribonucleic acid stability of components of the insulin secretory system in RIN 1046-38 cells. *Endocrinology*. 1995;136(11):4910-7.
201. Fehmann HC, Habener JF. Galanin inhibits proinsulin gene expression stimulated by the insulinotropic hormone glucagon-like peptide-I(7-37) in mouse insulinoma beta TC-1 cells. *Endocrinology*. 1992;130(5):2890-6.
202. Li Y, Cao X, Li LX, Brubaker PL, Edlund H, Drucker DJ. beta-Cell Pdx1 expression is essential for the glucoregulatory, proliferative, and cytoprotective actions of glucagon-like peptide-1. *Diabetes*. 2005;54(2):482-91.
203. Li Y, Hansotia T, Yusta B, Ris F, Halban PA, Drucker DJ. Glucagon-like peptide-1 receptor signaling modulates beta cell apoptosis. *J Biol Chem*. 2003;278(1):471-8.
204. Dai C, Hang Y, Shostak A, Poffenberger G, Hart N, Prasad N, et al. Age-dependent human beta cell proliferation induced by glucagon-like peptide 1 and calcineurin signaling. *J Clin Invest*. 2017;127(10):3835-44.
205. Jhala US, Canettieri G, Screaton RA, Kulkarni RN, Krajewski S, Reed J, et al. cAMP promotes pancreatic beta-cell survival via CREB-mediated induction of IRS2. *Genes Dev*. 2003;17(13):1575-80.
206. Sun L, Dai Y, Wang C, Chu Y, Su X, Yang J, et al. Novel Pentapeptide GLP-1 (32-36) Amide Inhibits beta-Cell Apoptosis In Vitro and Improves Glucose Disposal in Streptozotocin-Induced Diabetic Mice. *Chem Biol Drug Des*. 2015;86(6):1482-90.

207. Hare KJ, Vilsboll T, Asmar M, Deacon CF, Knop FK, Holst JJ. The glucagonostatic and insulinotropic effects of glucagon-like peptide 1 contribute equally to its glucose-lowering action. *Diabetes*. 2010;59(7):1765-70.
208. Orskov C, Holst JJ, Nielsen OV. Effect of truncated glucagon-like peptide-1 [proglucagon-(78-107) amide] on endocrine secretion from pig pancreas, antrum, and nonantral stomach. *Endocrinology*. 1988;123(4):2009-13.
209. Andersen DB, Holst JJ. Peptides in the regulation of glucagon secretion. *Peptides*. 2022;148:170683.
210. De Marinis YZ, Salehi A, Ward CE, Zhang Q, Abdulkader F, Bengtsson M, et al. GLP-1 inhibits and adrenaline stimulates glucagon release by differential modulation of N- and L-type Ca²⁺ channel-dependent exocytosis. *Cell Metab*. 2010;11(6):543-53.
211. Kaneko K, Shirotani T, Araki E, Matsumoto K, Taguchi T, Motoshima H, et al. Insulin inhibits glucagon secretion by the activation of PI3-kinase in In-R1-G9 cells. *Diabetes Res Clin Pract*. 1999;44(2):83-92.
212. Franklin I, Gromada J, Gjinoceci A, Theander S, Wollheim CB. Beta-cell secretory products activate alpha-cell ATP-dependent potassium channels to inhibit glucagon release. *Diabetes*. 2005;54(6):1808-15.
213. Gutzwiller JP, Goke B, Drewe J, Hildebrand P, Ketterer S, Handschin D, et al. Glucagon-like peptide-1: a potent regulator of food intake in humans. *Gut*. 1999;44(1):81-6.
214. Verdich C, Flint A, Gutzwiller JP, Naslund E, Beglinger C, Hellstrom PM, et al. A meta-analysis of the effect of glucagon-like peptide-1 (7-36) amide on ad libitum energy intake in humans. *J Clin Endocrinol Metab*. 2001;86(9):4382-9.
215. Barrera JG, Sandoval DA, D'Alessio DA, Seeley RJ. GLP-1 and energy balance: an integrated model of short-term and long-term control. *Nat Rev Endocrinol*. 2011;7(9):507-16.
216. Kanoski SE, Fortin SM, Arnold M, Grill HJ, Hayes MR. Peripheral and central GLP-1 receptor populations mediate the anorectic effects of peripherally administered GLP-1 receptor agonists, liraglutide and exendin-4. *Endocrinology*. 2011;152(8):3103-12.
217. Plamboeck A, Veedfald S, Deacon CF, Hartmann B, Wettergren A, Svendsen LB, et al. The effect of exogenous GLP-1 on food intake is lost in male truncally vagotomized subjects with pyloroplasty. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2013;304(12):G1117-27.
218. Holst JJ. Incretin hormones and the satiation signal. *Int J Obes (Lond)*. 2013;37(9):1161-8.
219. Lockie SH, Heppner KM, Chaudhary N, Chabenne JR, Morgan DA, Veyrat-Durebex C, et al. Direct control of brown adipose tissue thermogenesis by central nervous system glucagon-like peptide-1 receptor signaling. *Diabetes*. 2012;61(11):2753-62.
220. Nauck MA, Niedereichholz U, Ettler R, Holst JJ, Orskov C, Ritzel R, et al. Glucagon-like peptide 1 inhibition of gastric emptying outweighs its insulinotropic effects in healthy humans. *Am J Physiol*. 1997;273(5):E981-8.
221. Meier JJ, Gallwitz B, Salmen S, Goetze O, Holst JJ, Schmidt WE, et al. Normalization of glucose concentrations and deceleration of gastric emptying after solid meals during intravenous glucagon-like peptide 1 in patients with type 2 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab*. 2003;88(6):2719-25.
222. Imeryuz N, Yegen BC, Bozkurt A, Coskun T, Villanueva-Penacarrillo ML, Ulusoy NB. Glucagon-like peptide-1 inhibits gastric emptying via vagal afferent-mediated central mechanisms. *Am J Physiol*. 1997;273(4):G920-7.
223. Nauck MA, Kemmeries G, Holst JJ, Meier JJ. Rapid tachyphylaxis of the glucagon-like peptide 1-induced deceleration of gastric emptying in humans. *Diabetes*. 2011;60(5):1561-5.

224. Baggio LL, Kim JG, Drucker DJ. Chronic exposure to GLP-1R agonists promotes homologous GLP-1 receptor desensitization in vitro but does not attenuate GLP-1R-dependent glucose homeostasis in vivo. *Diabetes*. 2004;53 Suppl 3:S205-14.
225. Linnebjerg H, Park S, Kothare PA, Trautmann ME, Mace K, Fineman M, et al. Effect of exenatide on gastric emptying and relationship to postprandial glycemia in type 2 diabetes. *Regul Pept*. 2008;151(1-3):123-9.
226. Little TJ, Pilichiewicz AN, Russo A, Phillips L, Jones KL, Nauck MA, et al. Effects of intravenous glucagon-like peptide-1 on gastric emptying and intragastric distribution in healthy subjects: relationships with postprandial glycemic and insulinemic responses. *J Clin Endocrinol Metab*. 2006;91(5):1916-23.
227. Thazhath SS, Marathe CS, Wu T, Chang J, Khoo J, Kuo P, et al. The Glucagon-Like Peptide 1 Receptor Agonist Exenatide Inhibits Small Intestinal Motility, Flow, Transit, and Absorption of Glucose in Healthy Subjects and Patients With Type 2 Diabetes: A Randomized Controlled Trial. *Diabetes*. 2016;65(1):269-75.
228. Yabut JM, Drucker DJ. Glucagon-like Peptide-1 Receptor-based Therapeutics for Metabolic Liver Disease. *Endocr Rev*. 2023;44(1):14-32.
229. Armstrong MJ, Hull D, Guo K, Barton D, Hazlehurst JM, Gathercole LL, et al. Glucagon-like peptide 1 decreases lipotoxicity in non-alcoholic steatohepatitis. *J Hepatol*. 2016;64(2):399-408.
230. Burmeister MA, Ferre T, Ayala JE, King EM, Holt RM, Ayala JE. Acute activation of central GLP-1 receptors enhances hepatic insulin action and insulin secretion in high-fat-fed, insulin resistant mice. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2012;302(3):E334-43.
231. Lee YS, Park MS, Choung JS, Kim SS, Oh HH, Choi CS, et al. Glucagon-like peptide-1 inhibits adipose tissue macrophage infiltration and inflammation in an obese mouse model of diabetes. *Diabetologia*. 2012;55(9):2456-68.
232. Sancho V, Trigo MV, Martin-Duce A, Gonz Lez N, Acitores A, Arnes L, et al. Effect of GLP-1 on D-glucose transport, lipolysis and lipogenesis in adipocytes of obese subjects. *Int J Mol Med*. 2006;17(6):1133-7.
233. Yaribeygi H, Maleki M, Butler AE, Jamialahmadi T, Sahebkar A. The Impact of Incretin-Based Medications on Lipid Metabolism. *J Diabetes Res*. 2021;2021:1815178.
234. Lutz TA, Osto E. Glucagon-like peptide-1, glucagon-like peptide-2, and lipid metabolism. *Curr Opin Lipidol*. 2016;27(3):257-63.
235. Hsieh J, Longuet C, Baker CL, Qin B, Federico LM, Drucker DJ, et al. The glucagon-like peptide 1 receptor is essential for postprandial lipoprotein synthesis and secretion in hamsters and mice. *Diabetologia*. 2010;53(3):552-61.
236. Pereira MJ, Thombare K, Sarsenbayeva A, Kamble PG, Almby K, Lundqvist M, et al. Direct effects of glucagon on glucose uptake and lipolysis in human adipocytes. *Mol Cell Endocrinol*. 2020;503:110696.
237. Rubino F, R'Bibo S L, del Genio F, Mazumdar M, McGraw TE. Metabolic surgery: the role of the gastrointestinal tract in diabetes mellitus. *Nat Rev Endocrinol*. 2010;6(2):102-9.
238. Mingrone G, Panunzi S, De Gaetano A, Guidone C, Iaconelli A, Leccesi L, et al. Bariatric surgery versus conventional medical therapy for type 2 diabetes. *N Engl J Med*. 2012;366(17):1577-85.
239. Stefater MA, Wilson-Perez HE, Chambers AP, Sandoval DA, Seeley RJ. All bariatric surgeries are not created equal: insights from mechanistic comparisons. *Endocr Rev*. 2012;33(4):595-622.

240. Jorgensen NB, Dirksen C, Bojsen-Moller KN, Jacobsen SH, Worm D, Hansen DL, et al. Exaggerated glucagon-like peptide 1 response is important for improved beta-cell function and glucose tolerance after Roux-en-Y gastric bypass in patients with type 2 diabetes. *Diabetes*. 2013;62(9):3044-52.
241. Jimenez A, Casamitjana R, Viaplana-Masclans J, Lacy A, Vidal J. GLP-1 action and glucose tolerance in subjects with remission of type 2 diabetes after gastric bypass surgery. *Diabetes Care*. 2013;36(7):2062-9.
242. Hofmann AF, Hagey LR. Bile acids: chemistry, pathochemistry, biology, pathobiology, and therapeutics. *Cell Mol Life Sci*. 2008;65(16):2461-83.
243. Chawla A, Repa JJ, Evans RM, Mangelsdorf DJ. Nuclear receptors and lipid physiology: opening the X-files. *Science*. 2001;294(5548):1866-70.
244. Chiang JY. Bile acid regulation of gene expression: roles of nuclear hormone receptors. *Endocr Rev*. 2002;23(4):443-63.
245. Francis GA, Fayard E, Picard F, Auwerx J. Nuclear receptors and the control of metabolism. *Annu Rev Physiol*. 2003;65:261-311.
246. Keitel V, Stindt J, Häussinger D. Bile Acid-Activated Receptors: GPBAR1 (TGR5) and Other G Protein-Coupled Receptors. *Handb Exp Pharmacol*. 2019;256:19-49.
247. Studer E, Zhou X, Zhao R, Wang Y, Takabe K, Nagahashi M, et al. Conjugated bile acids activate the sphingosine-1-phosphate receptor 2 in primary rodent hepatocytes. *Hepatology*. 2012;55(1):267-76.
248. Hofmann AF, Hagey LR, Krasowski MD. Bile salts of vertebrates: structural variation and possible evolutionary significance. *J Lipid Res*. 2010;51(2):226-46.
249. Duane WC, Javitt NB. 27-hydroxycholesterol: production rates in normal human subjects. *J Lipid Res*. 1999;40(7):1194-9.
250. Alnouti Y. Bile Acid sulfation: a pathway of bile acid elimination and detoxification. *Toxicol Sci*. 2009;108(2):225-46.
251. Choudhuri S, Klaassen CD. Molecular Regulation of Bile Acid Homeostasis. *Drug Metab Dispos*. 2022;50(4):425-55.
252. Di Ciaula A, Garruti G, Lunardi Baccetto R, Molina-Molina E, Bonfrate L, Wang DQ, et al. Bile Acid Physiology. *Ann Hepatol*. 2017;16(Suppl. 1: s3-105.):s4-s14.
253. Chiang JY. Bile acid metabolism and signaling. *Compr Physiol*. 2013;3(3):1191-212.
254. Edwards PA, Tabor D, Kast HR, Venkateswaran A. Regulation of gene expression by SREBP and SCAP. *Biochim Biophys Acta*. 2000;1529(1-3):103-13.
255. Yabe D, Brown MS, Goldstein JL. Insig-2, a second endoplasmic reticulum protein that binds SCAP and blocks export of sterol regulatory element-binding proteins. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2002;99(20):12753-8.
256. Brown MS, Goldstein JL. The SREBP pathway: regulation of cholesterol metabolism by proteolysis of a membrane-bound transcription factor. *Cell*. 1997;89(3):331-40.
257. Radhakrishnan A, Sun L-P, Espenshade PJ, Goldstein JL, Brown MS. The SREBP pathway: Gene regulation through sterol sensing and gated protein trafficking. *Handbook of Cell Signaling*: Elsevier; 2010. p. 2505-10.
258. Foretz M, Pacot C, Dugail I, Lemarchand P, Guichard C, Le Liepvre X, et al. ADD1/SREBP-1c is required in the activation of hepatic lipogenic gene expression by glucose. *Mol Cell Biol*. 1999;19(5):3760-8.

259. DeBose-Boyd RA, Ou J, Goldstein JL, Brown MS. Expression of sterol regulatory element-binding protein 1c (SREBP-1c) mRNA in rat hepatoma cells requires endogenous LXR ligands. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2001;98(4):1477-82.
260. De Fabiani E, Mitro N, Gilardi F, Caruso D, Galli G, Crestani M. Coordinated control of cholesterol catabolism to bile acids and of gluconeogenesis via a novel mechanism of transcription regulation linked to the fasted-to-fed cycle. *J Biol Chem*. 2003;278(40):39124-32.
261. Shin DJ, Campos JA, Gil G, Osborne TF. PGC-1alpha activates CYP7A1 and bile acid biosynthesis. *J Biol Chem*. 2003;278(50):50047-52.
262. Lundasen T, Liao W, Angelin B, Rudling M. Leptin induces the hepatic high density lipoprotein receptor scavenger receptor B type I (SR-BI) but not cholesterol 7alpha-hydroxylase (Cyp7a1) in leptin-deficient (ob/ob) mice. *J Biol Chem*. 2003;278(44):43224-8.
263. Li T, Chanda D, Zhang Y, Choi HS, Chiang JY. Glucose stimulates cholesterol 7alpha-hydroxylase gene transcription in human hepatocytes. *J Lipid Res*. 2010;51(4):832-42.
264. Li T, Kong X, Owsley E, Ellis E, Strom S, Chiang JY. Insulin regulation of cholesterol 7alpha-hydroxylase expression in human hepatocytes: roles of forkhead box O1 and sterol regulatory element-binding protein 1c. *J Biol Chem*. 2006;281(39):28745-54.
265. Song KH, Chiang JY. Glucagon and cAMP inhibit cholesterol 7alpha-hydroxylase (CYP7A1) gene expression in human hepatocytes: discordant regulation of bile acid synthesis and gluconeogenesis. *Hepatology*. 2006;43(1):117-25.
266. Bennion LJ, Grundy SM. Effects of diabetes mellitus on cholesterol metabolism in man. *N Engl J Med*. 1977;296(24):1365-71.
267. Patti ME, Houten SM, Bianco AC, Bernier R, Larsen PR, Holst JJ, et al. Serum bile acids are higher in humans with prior gastric bypass: potential contribution to improved glucose and lipid metabolism. *Obesity (Silver Spring)*. 2009;17(9):1671-7.
268. Watanabe M, Horai Y, Houten SM, Morimoto K, Sugizaki T, Arita E, et al. Lowering bile acid pool size with a synthetic farnesoid X receptor (FXR) agonist induces obesity and diabetes through reduced energy expenditure. *J Biol Chem*. 2011;286(30):26913-20.
269. Shaham O, Wei R, Wang TJ, Ricciardi C, Lewis GD, Vasan RS, et al. Metabolic profiling of the human response to a glucose challenge reveals distinct axes of insulin sensitivity. *Mol Syst Biol*. 2008;4:214.
270. Mukherjee S, Mani S. Orphan nuclear receptors as targets for drug development. *Pharm Res*. 2010;27(8):1439-68.
271. Makishima M, Okamoto AY, Repa JJ, Tu H, Learned RM, Luk A, et al. Identification of a nuclear receptor for bile acids. *Science*. 1999;284(5418):1362-5.
272. Parks DJ, Blanchard SG, Bledsoe RK, Chandra G, Consler TG, Kliewer SA, et al. Bile acids: natural ligands for an orphan nuclear receptor. *Science*. 1999;284(5418):1365-8.
273. Makishima M, Lu TT, Xie W, Whitfield GK, Domoto H, Evans RM, et al. Vitamin D receptor as an intestinal bile acid sensor. *Science*. 2002;296(5571):1313-6.
274. Wang H, Chen J, Hollister K, Sowers LC, Forman BM. Endogenous bile acids are ligands for the nuclear receptor FXR/BAR. *Mol Cell*. 1999;3(5):543-53.
275. Xie W, Radominska-Pandya A, Shi Y, Simon CM, Nelson MC, Ong ES, et al. An essential role for nuclear receptors SXR/PXR in detoxification of cholestatic bile acids. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2001;98(6):3375-80.
276. Sonoda J, Xie W, Rosenfeld JM, Barwick JL, Guzelian PS, Evans RM. Regulation of a xenobiotic sulfonation cascade by nuclear pregnane X receptor (PXR). *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2002;99(21):13801-6.

277. Uppal H, Toma D, Saini SP, Ren S, Jones TJ, Xie W. Combined loss of orphan receptors PXR and CAR heightens sensitivity to toxic bile acids in mice. *Hepatology*. 2005;41(1):168-76.
278. Bhalla S, Ozalp C, Fang S, Xiang L, Kemper JK. Ligand-activated pregnane X receptor interferes with HNF-4 signaling by targeting a common coactivator PGC-1alpha. Functional implications in hepatic cholesterol and glucose metabolism. *J Biol Chem*. 2004;279(43):45139-47.
279. Li T, Chiang JY. Mechanism of rifampicin and pregnane X receptor inhibition of human cholesterol 7 alpha-hydroxylase gene transcription. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2005;288(1):G74-84.
280. He J, Nishida S, Xu M, Makishima M, Xie W. PXR prevents cholesterol gallstone disease by regulating biosynthesis and transport of bile salts. *Gastroenterology*. 2011;140(7):2095-106.
281. Han S, Chiang JY. Mechanism of vitamin D receptor inhibition of cholesterol 7alpha-hydroxylase gene transcription in human hepatocytes. *Drug Metab Dispos*. 2009;37(3):469-78.
282. Hylemon PB, Zhou H, Pandak WM, Ren S, Gil G, Dent P. Bile acids as regulatory molecules. *J Lipid Res*. 2009;50(8):1509-20.
283. Brufau G, Stellaard F, Prado K, Bloks VW, Jonkers E, Boverhof R, et al. Improved glycemic control with colesevelam treatment in patients with type 2 diabetes is not directly associated with changes in bile acid metabolism. *Hepatology*. 2010;52(4):1455-64.
284. Eloranta JJ, Kullak-Ublick GA. The role of FXR in disorders of bile acid homeostasis. *Physiology (Bethesda)*. 2008;23:286-95.
285. Lefebvre P, Cariou B, Lien F, Kuipers F, Staels B. Role of bile acids and bile acid receptors in metabolic regulation. *Physiol Rev*. 2009;89(1):147-91.
286. Modica S, Gadaleta RM, Moschetta A. Deciphering the nuclear bile acid receptor FXR paradigm. *Nucl Recept Signal*. 2010;8:e005.
287. Sinal CJ, Tohkin M, Miyata M, Ward JM, Lambert G, Gonzalez FJ. Targeted disruption of the nuclear receptor FXR/BAR impairs bile acid and lipid homeostasis. *Cell*. 2000;102(6):731-44.
288. Zhang Y, Edwards PA. FXR signaling in metabolic disease. *FEBS Lett*. 2008;582(1):10-8.
289. Pircher PC, Kitto JL, Petrowski ML, Tangirala RK, Bischoff ED, Schulman IG, et al. Farnesoid X receptor regulates bile acid-amino acid conjugation. *J Biol Chem*. 2003;278(30):27703-11.
290. Zollner G, Trauner M. Nuclear receptors as therapeutic targets in cholestatic liver diseases. *Br J Pharmacol*. 2009;156(1):7-27.
291. Tu H, Okamoto AY, Shan B. FXR, a bile acid receptor and biological sensor. *Trends Cardiovasc Med*. 2000;10(1):30-5.
292. Ballatori N, Christian WV, Lee JY, Dawson PA, Soroka CJ, Boyer JL, et al. OSTalpha-OSTbeta: a major basolateral bile acid and steroid transporter in human intestinal, renal, and biliary epithelia. *Hepatology*. 2005;42(6):1270-9.
293. Dawson PA, Hubbert M, Haywood J, Craddock AL, Zerangue N, Christian WV, et al. The heteromeric organic solute transporter alpha-beta, Ostalpha-Ostbeta, is an ileal basolateral bile acid transporter. *J Biol Chem*. 2005;280(8):6960-8.
294. Ballatori N, Fang F, Christian WV, Li N, Hammond CL. Ostalpha-Ostbeta is required for bile acid and conjugated steroid disposition in the intestine, kidney, and liver. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2008;295(1):G179-G86.

295. Frankenberg T, Rao A, Chen F, Haywood J, Shneider BL, Dawson PA. Regulation of the mouse organic solute transporter alpha-beta, Ostalpha-Ostbeta, by bile acids. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2006;290(5):G912-22.
296. Denson LA, Sturm E, Echevarria W, Zimmerman TL, Makishima M, Mangelsdorf DJ, et al. The orphan nuclear receptor, shp, mediates bile acid-induced inhibition of the rat bile acid transporter, ntcp. *Gastroenterology*. 2001;121(1):140-7.
297. Jansen PL, Sturm E. Genetic cholestasis, causes and consequences for hepatobiliary transport. *Liver Int*. 2003;23(5):315-22.
298. Kullak-Ublick GA, Meier PJ. Mechanisms of cholestasis. *Clin Liver Dis*. 2000;4(2):357-85.
299. Trauner M, Meier PJ, Boyer JL. Molecular pathogenesis of cholestasis. *N Engl J Med*. 1998;339(17):1217-27.
300. Xie Y, Blanc V, Kerr TA, Kennedy S, Luo J, Newberry EP, et al. Decreased expression of cholesterol 7alpha-hydroxylase and altered bile acid metabolism in Apobec-1-/- mice lead to increased gallstone susceptibility. *J Biol Chem*. 2009;284(25):16860-71.
301. Guo GL, Lambert G, Negishi M, Ward JM, Brewer HB, Jr., Kliewer SA, et al. Complementary roles of farnesoid X receptor, pregnane X receptor, and constitutive androstane receptor in protection against bile acid toxicity. *J Biol Chem*. 2003;278(46):45062-71.
302. Chiang JYL, Ferrell JM. Bile acid receptors FXR and TGR5 signaling in fatty liver diseases and therapy. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2020;318(3):G554-g73.
303. Goodwin B, Jones SA, Price RR, Watson MA, McKee DD, Moore LB, et al. A regulatory cascade of the nuclear receptors FXR, SHP-1, and LRH-1 represses bile acid biosynthesis. *Mol Cell*. 2000;6(3):517-26.
304. Lu TT, Makishima M, Repa JJ, Schoonjans K, Kerr TA, Auwerx J, et al. Molecular basis for feedback regulation of bile acid synthesis by nuclear receptors. *Mol Cell*. 2000;6(3):507-15.
305. del Castillo-Olivares A, Campos JA, Pandak WM, Gil G. The role of alpha1-fetoprotein transcription factor/LRH-1 in bile acid biosynthesis: a known nuclear receptor activator that can act as a suppressor of bile acid biosynthesis. *J Biol Chem*. 2004;279(16):16813-21.
306. Zhang M, Chiang JY. Transcriptional regulation of the human sterol 12alpha-hydroxylase gene (CYP8B1): roles of hepatocyte nuclear factor 4alpha in mediating bile acid repression. *J Biol Chem*. 2001;276(45):41690-9.
307. Wang L, Lee YK, Bundman D, Han Y, Thevananther S, Kim CS, et al. Redundant pathways for negative feedback regulation of bile acid production. *Dev Cell*. 2002;2(6):721-31.
308. Kerr TA, Saeki S, Schneider M, Schaefer K, Berdy S, Redder T, et al. Loss of nuclear receptor SHP impairs but does not eliminate negative feedback regulation of bile acid synthesis. *Dev Cell*. 2002;2(6):713-20.
309. Holt JA, Luo G, Billin AN, Bisi J, McNeill YY, Kozarsky KF, et al. Definition of a novel growth factor-dependent signal cascade for the suppression of bile acid biosynthesis. *Genes Dev*. 2003;17(13):1581-91.
310. Inagaki T, Choi M, Moschetta A, Peng L, Cummins CL, McDonald JG, et al. Fibroblast growth factor 15 functions as an enterohepatic signal to regulate bile acid homeostasis. *Cell Metab*. 2005;2(4):217-25.
311. Li T, Chiang JY. Bile acids as metabolic regulators. *Curr Opin Gastroenterol*. 2015;31(2):159-65.
312. Yu C, Wang F, Kan M, Jin C, Jones RB, Weinstein M, et al. Elevated cholesterol metabolism and bile acid synthesis in mice lacking membrane tyrosine kinase receptor FGFR4. *J Biol Chem*. 2000;275(20):15482-9.

313. Yu C, Wang F, Jin C, Huang X, McKeehan WL. Independent repression of bile acid synthesis and activation of c-Jun N-terminal kinase (JNK) by activated hepatocyte fibroblast growth factor receptor 4 (FGFR4) and bile acids. *J Biol Chem*. 2005;280(18):17707-14.
314. Kim I, Ahn SH, Inagaki T, Choi M, Ito S, Guo GL, et al. Differential regulation of bile acid homeostasis by the farnesoid X receptor in liver and intestine. *J Lipid Res*. 2007;48(12):2664-72.
315. Lundasen T, Galman C, Angelin B, Rudling M. Circulating intestinal fibroblast growth factor 19 has a pronounced diurnal variation and modulates hepatic bile acid synthesis in man. *J Intern Med*. 2006;260(6):530-6.
316. Song KH, Li T, Owsley E, Strom S, Chiang JY. Bile acids activate fibroblast growth factor 19 signaling in human hepatocytes to inhibit cholesterol 7 α -hydroxylase gene expression. *Hepatology*. 2009;49(1):297-305.
317. Schaap FG, van der Gaag NA, Gouma DJ, Jansen PL. High expression of the bile salt-homeostatic hormone fibroblast growth factor 19 in the liver of patients with extrahepatic cholestasis. *Hepatology*. 2009;49(4):1228-35.
318. Kawamata Y, Fujii R, Hosoya M, Harada M, Yoshida H, Miwa M, et al. A G protein-coupled receptor responsive to bile acids. *J Biol Chem*. 2003;278(11):9435-40.
319. Maruyama T, Miyamoto Y, Nakamura T, Tamai Y, Okada H, Sugiyama E, et al. Identification of membrane-type receptor for bile acids (M-BAR). *Biochem Biophys Res Commun*. 2002;298(5):714-9.
320. Keitel V, Cupisti K, Ullmer C, Knoefel WT, Kubitz R, Haussinger D. The membrane-bound bile acid receptor TGR5 is localized in the epithelium of human gallbladders. *Hepatology*. 2009;50(3):861-70.
321. Keitel V, Donner M, Winandy S, Kubitz R, Haussinger D. Expression and function of the bile acid receptor TGR5 in Kupffer cells. *Biochem Biophys Res Commun*. 2008;372(1):78-84.
322. Keitel V, Reinehr R, Gatsios P, Rupprecht C, Gorg B, Selbach O, et al. The G-protein coupled bile salt receptor TGR5 is expressed in liver sinusoidal endothelial cells. *Hepatology*. 2007;45(3):695-704.
323. Watanabe M, Houten SM, Matakai C, Christoffolete MA, Kim BW, Sato H, et al. Bile acids induce energy expenditure by promoting intracellular thyroid hormone activation. *Nature*. 2006;439(7075):484-9.
324. Maruyama T, Tanaka K, Suzuki J, Miyoshi H, Harada N, Nakamura T, et al. Targeted disruption of G protein-coupled bile acid receptor 1 (Gpbar1/M-Bar) in mice. *J Endocrinol*. 2006;191(1):197-205.
325. Vassileva G, Golovko A, Markowitz L, Abbondanzo SJ, Zeng M, Yang S, et al. Targeted deletion of Gpbar1 protects mice from cholesterol gallstone formation. *Biochem J*. 2006;398(3):423-30.
326. Cipriani S, Mencarelli A, Chini MG, Distrutti E, Renga B, Bifulco G, et al. The bile acid receptor GPBAR-1 (TGR5) modulates integrity of intestinal barrier and immune response to experimental colitis. *PLoS One*. 2011;6(10):e25637.
327. Wang YD, Chen WD, Yu D, Forman BM, Huang W. The G-protein-coupled bile acid receptor, Gpbar1 (TGR5), negatively regulates hepatic inflammatory response through antagonizing nuclear factor kappa light-chain enhancer of activated B cells (NF-kappaB) in mice. *Hepatology*. 2011;54(4):1421-32.
328. Pols TW, Nomura M, Harach T, Lo Sasso G, Oosterveer MH, Thomas C, et al. TGR5 activation inhibits atherosclerosis by reducing macrophage inflammation and lipid loading. *Cell Metab*. 2011;14(6):747-57.

329. Katsuma S, Hirasawa A, Tsujimoto G. Bile acids promote glucagon-like peptide-1 secretion through TGR5 in a murine enteroendocrine cell line STC-1. *Biochem Biophys Res Commun.* 2005;329(1):386-90.
330. Thomas C, Gioiello A, Noriega L, Strehle A, Oury J, Rizzo G, et al. TGR5-mediated bile acid sensing controls glucose homeostasis. *Cell Metab.* 2009;10(3):167-77.
331. Song MB, Yu XJ, Zhu GX, Chen JF, Zhao G, Huang L. Transfection of HGF gene enhances endothelial progenitor cell (EPC) function and improves EPC transplant efficiency for balloon-induced arterial injury in hypercholesterolemic rats. *Vascul Pharmacol.* 2009;51(2-3):205-13.
332. Miao J, Xiao Z, Kanamaluru D, Min G, Yau PM, Veenstra TD, et al. Bile acid signaling pathways increase stability of Small Heterodimer Partner (SHP) by inhibiting ubiquitin-proteasomal degradation. *Genes Dev.* 2009;23(8):986-96.
333. Puigserver P, Rhee J, Donovan J, Walkey CJ, Yoon JC, Oriente F, et al. Insulin-regulated hepatic gluconeogenesis through FOXO1-PGC-1alpha interaction. *Nature.* 2003;423(6939):550-5.
334. Amaral JD, Viana RJ, Ramalho RM, Steer CJ, Rodrigues CM. Bile acids: regulation of apoptosis by ursodeoxycholic acid. *J Lipid Res.* 2009;50(9):1721-34.
335. Qiao L, McKinstry R, Gupta S, Gilfor D, Windle JJ, Hylemon PB, et al. Cyclin kinase inhibitor p21 potentiates bile acid-induced apoptosis in hepatocytes that is dependent on p53. *Hepatology.* 2002;36(1):39-48.
336. Reinehr R, Becker S, Keitel V, Eberle A, Grether-Beck S, Haussinger D. Bile salt-induced apoptosis involves NADPH oxidase isoform activation. *Gastroenterology.* 2005;129(6):2009-31.
337. Fiorucci S, Cipriani S, Mencarelli A, Renga B, Distrutti E, Baldelli F. Counter-regulatory role of bile acid activated receptors in immunity and inflammation. *Curr Mol Med.* 2010;10(6):579-95.
338. Vavassori P, Mencarelli A, Renga B, Distrutti E, Fiorucci S. The bile acid receptor FXR is a modulator of intestinal innate immunity. *J Immunol.* 2009;183(10):6251-61.
339. Gadaleta RM, Oldenburg B, Willemsen EC, Spit M, Murzilli S, Salvatore L, et al. Activation of bile salt nuclear receptor FXR is repressed by pro-inflammatory cytokines activating NF- κ B signaling in the intestine. *Biochim Biophys Acta.* 2011;1812(8):851-8.
340. Miyake JH, Wang SL, Davis RA. Bile acid induction of cytokine expression by macrophages correlates with repression of hepatic cholesterol 7alpha-hydroxylase. *J Biol Chem.* 2000;275(29):21805-8.
341. Jahan A, Chiang JY. Cytokine regulation of human sterol 12alpha-hydroxylase (CYP8B1) gene. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2005;288(4):G685-95.
342. Li T, Jahan A, Chiang JY. Bile acids and cytokines inhibit the human cholesterol 7 alpha-hydroxylase gene via the JNK/c-jun pathway in human liver cells. *Hepatology.* 2006;43(6):1202-10.
343. Li T, Chiang JY. A novel role of transforming growth factor beta1 in transcriptional repression of human cholesterol 7alpha-hydroxylase gene. *Gastroenterology.* 2007;133(5):1660-9.
344. Maeda Y, Seidel SD, Wei G, Liu X, Sladek FM. Repression of hepatocyte nuclear factor 4alpha tumor suppressor p53: involvement of the ligand-binding domain and histone deacetylase activity. *Mol Endocrinol.* 2002;16(2):402-10.
345. Cordenonsi M, Montagner M, Adorno M, Zacchigna L, Martello G, Mamidi A, et al. Integration of TGF-beta and Ras/MAPK signaling through p53 phosphorylation. *Science.* 2007;315(5813):840-3.

346. Song KH, Ellis E, Strom S, Chiang JY. Hepatocyte growth factor signaling pathway inhibits cholesterol 7 α -hydroxylase and bile acid synthesis in human hepatocytes. *Hepatology*. 2007;46(6):1993-2002.
347. Kast HR, Nguyen CM, Sinal CJ, Jones SA, Laffitte BA, Reue K, et al. Farnesoid X-activated receptor induces apolipoprotein C-II transcription: a molecular mechanism linking plasma triglyceride levels to bile acids. *Mol Endocrinol*. 2001;15(10):1720-8.
348. Claudel T, Staels B, Kuipers F. The Farnesoid X receptor: a molecular link between bile acid and lipid and glucose metabolism. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2005;25(10):2020-30.
349. Houten SM, Watanabe M, Auwerx J. Endocrine functions of bile acids. *Embo j*. 2006;25(7):1419-25.
350. Zhang Y, Lee FY, Barrera G, Lee H, Vales C, Gonzalez FJ, et al. Activation of the nuclear receptor FXR improves hyperglycemia and hyperlipidemia in diabetic mice. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2006;103(4):1006-11.
351. Watanabe M, Houten SM, Wang L, Moschetta A, Mangelsdorf DJ, Heyman RA, et al. Bile acids lower triglyceride levels via a pathway involving FXR, SHP, and SREBP-1c. *J Clin Invest*. 2004;113(10):1408-18.
352. Groen AK, Oude Elferink RP, Verkade HJ, Kuipers F. The ins and outs of reverse cholesterol transport. *Ann Med*. 2004;36(2):135-45.
353. Lewis GF, Rader DJ. New insights into the regulation of HDL metabolism and reverse cholesterol transport. *Circ Res*. 2005;96(12):1221-32.
354. Weingärtner O, Laufs U, Böhm M, Lütjohann D. An alternative pathway of reverse cholesterol transport: the oxysterol 27-hydroxycholesterol. *Atherosclerosis*. 2010;209(1):39-41.
355. Zhang Y, Breevoort SR, Angdisen J, Fu M, Schmidt DR, Holmstrom SR, et al. Liver LXR α expression is crucial for whole body cholesterol homeostasis and reverse cholesterol transport in mice. *J Clin Invest*. 2012;122(5):1688-99.
356. Brufau G, Groen AK, Kuipers F. Reverse cholesterol transport revisited: contribution of biliary versus intestinal cholesterol excretion. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2011;31(8):1726-33.
357. Li T, Owsley E, Matozel M, Hsu P, Novak CM, Chiang JY. Transgenic expression of cholesterol 7 α -hydroxylase in the liver prevents high-fat diet-induced obesity and insulin resistance in mice. *Hepatology*. 2010;52(2):678-90.
358. Miyake JH, Duong-Polk XT, Taylor JM, Du EZ, Castellani LW, Lusis AJ, et al. Transgenic expression of cholesterol-7- α -hydroxylase prevents atherosclerosis in C57BL/6J mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2002;22(1):121-6.
359. Ratliff EP, Gutierrez A, Davis RA. Transgenic expression of CYP7A1 in LDL receptor-deficient mice blocks diet-induced hypercholesterolemia. *J Lipid Res*. 2006;47(7):1513-20.
360. Li T, Matozel M, Boehme S, Kong B, Nilsson LM, Guo G, et al. Overexpression of cholesterol 7 α -hydroxylase promotes hepatic bile acid synthesis and secretion and maintains cholesterol homeostasis. *Hepatology*. 2011;53(3):996-1006.
361. Yamagata K, Daitoku H, Shimamoto Y, Matsuzaki H, Hirota K, Ishida J, et al. Bile acids regulate gluconeogenic gene expression via small heterodimer partner-mediated repression of hepatocyte nuclear factor 4 and Foxo1. *J Biol Chem*. 2004;279(22):23158-65.
362. Kwong E, Li Y, Hylemon PB, Zhou H. Bile acids and sphingosine-1-phosphate receptor 2 in hepatic lipid metabolism. *Acta Pharm Sin B*. 2015;5(2):151-7.
363. Cipriani S, Mencarelli A, Palladino G, Fiorucci S. FXR activation reverses insulin resistance and lipid abnormalities and protects against liver steatosis in Zucker (fa/fa) obese rats. *J Lipid Res*. 2010;51(4):771-84.

364. Ma K, Saha PK, Chan L, Moore DD. Farnesoid X receptor is essential for normal glucose homeostasis. *J Clin Invest.* 2006;116(4):1102-9.
365. Ma Y, Huang Y, Yan L, Gao M, Liu D. Synthetic FXR agonist GW4064 prevents diet-induced hepatic steatosis and insulin resistance. *Pharm Res.* 2013;30(5):1447-57.
366. Stayrook KR, Bramlett KS, Savkur RS, Ficorilli J, Cook T, Christe ME, et al. Regulation of carbohydrate metabolism by the farnesoid X receptor. *Endocrinology.* 2005;146(3):984-91.
367. Duran-Sandoval D, Mautino G, Martin G, Percevault F, Barbier O, Fruchart JC, et al. Glucose regulates the expression of the farnesoid X receptor in liver. *Diabetes.* 2004;53(4):890-8.
368. Renga B, Mencarelli A, Vavassori P, Brancaleone V, Fiorucci S. The bile acid sensor FXR regulates insulin transcription and secretion. *Biochim Biophys Acta.* 2010;1802(3):363-72.
369. Cariou B, van Harmelen K, Duran-Sandoval D, van Dijk TH, Grefhorst A, Abdelkarim M, et al. The farnesoid X receptor modulates adiposity and peripheral insulin sensitivity in mice. *J Biol Chem.* 2006;281(16):11039-49.
370. Prawitt J, Abdelkarim M, Stroeve JH, Popescu I, Duez H, Velagapudi VR, et al. Farnesoid X receptor deficiency improves glucose homeostasis in mouse models of obesity. *Diabetes.* 2011;60(7):1861-71.
371. Fu L, John LM, Adams SH, Yu XX, Tomlinson E, Renz M, et al. Fibroblast growth factor 19 increases metabolic rate and reverses dietary and leptin-deficient diabetes. *Endocrinology.* 2004;145(6):2594-603.
372. Tomlinson E, Fu L, John L, Hultgren B, Huang X, Renz M, et al. Transgenic mice expressing human fibroblast growth factor-19 display increased metabolic rate and decreased adiposity. *Endocrinology.* 2002;143(5):1741-7.
373. Cariou B, Bouchaert E, Abdelkarim M, Dumont J, Caron S, Fruchart JC, et al. FXR-deficiency confers increased susceptibility to torpor. *FEBS Lett.* 2007;581(27):5191-8.
374. Bhatnagar S, Damron HA, Hillgartner FB. Fibroblast growth factor-19, a novel factor that inhibits hepatic fatty acid synthesis. *J Biol Chem.* 2009;284(15):10023-33.
375. Wang L, Liu J, Saha P, Huang J, Chan L, Spiegelman B, et al. The orphan nuclear receptor SHP regulates PGC-1alpha expression and energy production in brown adipocytes. *Cell Metab.* 2005;2(4):227-38.
376. Rask E, Olsson T, Soderberg S, Johnson O, Seckl J, Holst JJ, et al. Impaired incretin response after a mixed meal is associated with insulin resistance in nondiabetic men. *Diabetes Care.* 2001;24(9):1640-5.
377. Calanna S, Christensen M, Holst JJ, Laferrere B, Gluud LL, Vilsboll T, et al. Secretion of glucagon-like peptide-1 in patients with type 2 diabetes mellitus: systematic review and meta-analyses of clinical studies. *Diabetologia.* 2013;56(5):965-72.
378. Wadden D, Cahill F, Amini P, Randell E, Vasdev S, Yi Y, et al. Circulating glucagon-like peptide-1 increases in response to short-term overfeeding in men. *Nutr Metab (Lond).* 2013;10(1):33.
379. Smushkin G, Sathananthan A, Man CD, Zinsmeister AR, Camilleri M, Cobelli C, et al. Defects in GLP-1 response to an oral challenge do not play a significant role in the pathogenesis of prediabetes. *J Clin Endocrinol Metab.* 2012;97(2):589-98.
380. Deacon CF, Holst JJ. Immunoassays for the incretin hormones GIP and GLP-1. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* 2009;23(4):425-32.
381. Nikolic D, Al-Rasadi K, Al Busaidi N, Al-Waili K, Banerjee Y, Al-Hashmi K, et al. Incretins, Pregnancy, and Gestational Diabetes. *Curr Pharm Biotechnol.* 2016;17(7):597-602.

382. Mosavat M, Omar SZ, Jamalpour S, Tan PC. Serum Glucose-Dependent Insulinotropic Polypeptide (GIP) and Glucagon-Like Peptide-1 (GLP-1) in association with the Risk of Gestational Diabetes: A Prospective Case-Control Study. *J Diabetes Res*. 2020;2020:9072492.
383. Cypriak K, Vilsboll T, Nadel I, Smyczynska J, Holst JJ, Lewinski A. Normal secretion of the incretin hormones glucose-dependent insulinotropic polypeptide and glucagon-like peptide-1 during gestational diabetes mellitus. *Gynecol Endocrinol*. 2007;23(1):58-62.
384. Bonde L, Vilsboll T, Nielsen T, Bagger JJ, Svare JA, Holst JJ, et al. Reduced postprandial GLP-1 responses in women with gestational diabetes mellitus. *Diabetes Obes Metab*. 2013;15(8):713-20.
385. Lencioni C, Resi V, Romero F, Lupi R, Volpe L, Bertolotto A, et al. Glucagon-like peptide-1 secretion in women with gestational diabetes mellitus during and after pregnancy. *J Endocrinol Invest*. 2011;34(9):e287-90.
386. Sukumar N, Bagias C, Goljan I, Weldeselassie Y, Gharanei S, Tan BK, et al. Reduced GLP-1 secretion at 30 minutes after a 75-g oral glucose load is observed in gestational diabetes mellitus: a prospective cohort study. *Diabetes*. 2018;67(12):2650-6.
387. Krystynik O, Karasek D, Kahle M, Kubickova V, Macakova D, Cibickova L, et al. Non-altered incretin secretion in women with impaired fasting plasma glucose in the early stage of pregnancy: a case control study. *Diabetol Metab Syndr*. 2023;15(1):12.
388. Yu SH, Cho B, Lee Y, Kim E, Choi SH, Lim S, et al. Insulin secretion and incretin hormone concentration in women with previous gestational diabetes mellitus. *Diabetes Metab J*. 2011;35(1):58-64.
389. Forbes S, Moonan M, Robinson S, Anyaoku V, Patterson M, Murphy KG, et al. Impaired circulating glucagon-like peptide-1 response to oral glucose in women with previous gestational diabetes. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2005;62(1):51-5.
390. Meier JJ, Gallwitz B, Askenas M, Vollmer K, Deacon CF, Holst JJ, et al. Secretion of incretin hormones and the insulinotropic effect of gastric inhibitory polypeptide in women with a history of gestational diabetes. *Diabetologia*. 2005;48(9):1872-81.
391. Hornnes PJ, Kuhl C, Lauritsen KB. Gastrointestinal insulinotropic hormones in normal and gestational-diabetic pregnancy: response to oral glucose. *Diabetes*. 1981;30(6):504-9.
392. Fritsche L, Heni M, Eckstein SS, Hummel J, Schurmann A, Haring HU, et al. Incretin Hypersecretion in Gestational Diabetes Mellitus. *J Clin Endocrinol Metab*. 2022;107(6):e2425-e30.
393. Toft-Nielsen MB, Damholt MB, Madsbad S, Hilsted LM, Hughes TE, Michelsen BK, et al. Determinants of the impaired secretion of glucagon-like peptide-1 in type 2 diabetic patients. *J Clin Endocrinol Metab*. 2001;86(8):3717-23.
394. Faerch K, Torekov SS, Vistisen D, Johansen NB, Witte DR, Jonsson A, et al. GLP-1 Response to Oral Glucose Is Reduced in Prediabetes, Screen-Detected Type 2 Diabetes, and Obesity and Influenced by Sex: The ADDITION-PRO Study. *Diabetes*. 2015;64(7):2513-25.
395. Ahmed RH, Huri HZ, Muniandy S, Al-Hamodi Z, Al-Absi B, Alsalahi A, et al. Altered circulating concentrations of active glucagon-like peptide (GLP-1) and dipeptidyl peptidase 4 (DPP4) in obese subjects and their association with insulin resistance. *Clin Biochem*. 2017;50(13-14):746-9.
396. Stengel A, Goebel-Stengel M, Teuffel P, Hofmann T, Busse P, Kobelt P, et al. Obese patients have higher circulating protein levels of dipeptidyl peptidase IV. *Peptides*. 2014;61:75-82.
397. Sonne DP, van Nierop FS, Kulik W, Soeters MR, Vilsboll T, Knop FK. Postprandial Plasma Concentrations of Individual Bile Acids and FGF-19 in Patients With Type 2 Diabetes. *J Clin Endocrinol Metab*. 2016;101(8):3002-9.

398. Vollmer K, Holst JJ, Baller B, Ellrichmann M, Nauck MA, Schmidt WE, et al. Predictors of incretin concentrations in subjects with normal, impaired, and diabetic glucose tolerance. *Diabetes*. 2008;57(3):678-87.
399. Knop FK, Vilsboll T, Hojberg PV, Larsen S, Madsbad S, Volund A, et al. Reduced incretin effect in type 2 diabetes: cause or consequence of the diabetic state? *Diabetes*. 2007;56(8):1951-9.
400. Vilsboll T, Krarup T, Madsbad S, Holst JJ. Defective amplification of the late phase insulin response to glucose by GIP in obese Type II diabetic patients. *Diabetologia*. 2002;45(8):1111-9.
401. Kosinski M, Knop FK, Vedtofte L, Grycewicz J, Swierzevska P, Cypryk K, et al. Postpartum reversibility of impaired incretin effect in gestational diabetes mellitus. *Regul Pept*. 2013;186:104-7.
402. Hansen KB, Vilsboll T, Bagger JJ, Holst JJ, Knop FK. Impaired incretin-induced amplification of insulin secretion after glucose homeostatic dysregulation in healthy subjects. *J Clin Endocrinol Metab*. 2012;97(4):1363-70.
403. Yi F, Brubaker PL, Jin T. TCF-4 mediates cell type-specific regulation of proglucagon gene expression by beta-catenin and glycogen synthase kinase-3beta. *J Biol Chem*. 2005;280(2):1457-64.
404. Shu L, Matveyenko AV, Kerr-Conte J, Cho JH, McIntosh CH, Maedler K. Decreased TCF7L2 protein levels in type 2 diabetes mellitus correlate with downregulation of GIP- and GLP-1 receptors and impaired beta-cell function. *Hum Mol Genet*. 2009;18(13):2388-99.
405. Reyes-Lopez R, Perez-Luque E, Malacara JM. Metabolic, hormonal characteristics and genetic variants of TCF7L2 associated with development of gestational diabetes mellitus in Mexican women. *Diabetes Metab Res Rev*. 2014;30(8):701-6.
406. Gagnon M, Trottier J, Weisnagel SJ, Gagnon C, Carreau AM, Barbier O, et al. Bile acids during pregnancy: Trimester variations and associations with glucose homeostasis. *Health Sci Rep*. 2021;4(1):e243.
407. Perez MJ, Briz O. Bile-acid-induced cell injury and protection. *World J Gastroenterol*. 2009;15(14):1677-89.
408. Zhu B, Yin P, Ma Z, Ma Y, Zhang H, Kong H, et al. Characteristics of bile acids metabolism profile in the second and third trimesters of normal pregnancy. *Metabolism*. 2019;95:77-83.
409. Sun W, Zhang D, Wang Z, Sun J, Xu B, Chen Y, et al. Insulin Resistance is Associated With Total Bile Acid Level in Type 2 Diabetic and Nondiabetic Population: A Cross-Sectional Study. *Medicine (Baltimore)*. 2016;95(10):e2778.
410. Tomkin GH, Owens D. Obesity diabetes and the role of bile acids in metabolism. *J Transl Int Med*. 2016;4(2):73-80.
411. Ma H, Patti ME. Bile acids, obesity, and the metabolic syndrome. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*. 2014;28(4):573-83.
412. Goldfine AB. Modulating LDL cholesterol and glucose in patients with type 2 diabetes mellitus: targeting the bile acid pathway. *Curr Opin Cardiol*. 2008;23(5):502-11.
413. Trabelsi MS, Daoudi M, Prawitt J, Ducastel S, Touche V, Sayin SI, et al. Farnesoid X receptor inhibits glucagon-like peptide-1 production by enteroendocrine L cells. *Nat Commun*. 2015;6:7629.
414. van Nierop FS, Meessen ECE, Nelissen KGM, Achterbergh R, Lammers LA, Vaz FM, et al. Differential effects of a 40-hour fast and bile acid supplementation on human GLP-1 and FGF19 responses. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2019;317(3):E494-E502.

415. Zhu B, Ma Z, Zhu Y, Fang L, Zhang H, Kong H, et al. Reduced glycodeoxycholic acid levels are associated with negative clinical outcomes of gestational diabetes mellitus. *J Zhejiang Univ Sci B*. 2021;22(3):223-32.
416. Hou W, Meng X, Zhao W, Pan J, Tang J, Huang Y, et al. Elevated First-Trimester Total Bile Acid is Associated with the Risk of Subsequent Gestational Diabetes. *Sci Rep*. 2016;6:34070.
417. McGlone ER, Bloom SR. Bile acids and the metabolic syndrome. *Ann Clin Biochem*. 2019;56(3):326-37.
418. Arafa A, Dong JY. Association between intrahepatic cholestasis of pregnancy and risk of gestational diabetes and preeclampsia: a systematic review and meta-analysis. *Hypertens Pregnancy*. 2020;39(3):354-60.
419. Zhang L, Tang C, Ye C, Huang L, Wu Y. Intrahepatic cholestasis of pregnancy can increase the risk of metabolic disorders: A meta-analysis. *J Med Biochem*. 2022;41(4):549-58.
420. Liu C, Gao J, Liu J, Wang X, He J, Sun J, et al. Intrahepatic cholestasis of pregnancy is associated with an increased risk of gestational diabetes and preeclampsia. *Ann Transl Med*. 2020;8(23):1574.
421. Mezza T, Moffa S, Ferraro PM, Quero G, Capece U, Carfi A, et al. Bile Modulates Secretion of Incretins and Insulin: A Study of Human Extrahepatic Cholestasis. *J Clin Endocrinol Metab*. 2019;104(7):2685-94.