

T.C.
YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**DENEYSEL DİYABET OLUŞTURULAN RATLARDA SERUM
SİTOKİN VE VİTAMİN DÜZEYLERİNİN İNCELENMESİ**

Kimyager Mete YAZAR
BİYOKİMYA ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ

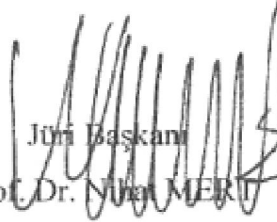
DANIŞMAN
Doç. Dr. Yeter DEĞER

VAN- 2008

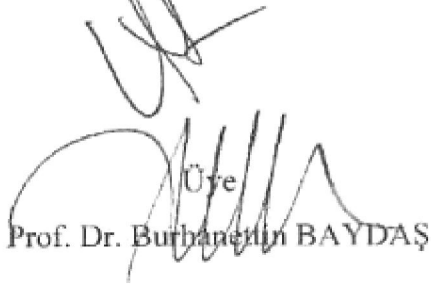
T.C.
YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**DENEYSEL DİYABET OLUŞTURULAN RATLARDA SERUM SİTOKİN VE
VİTAMİN DÜZEYLERİNİN İNCELENMESİ**

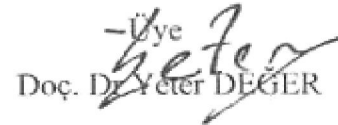
Kimyager Mete YAZAR
BİYOKİMYA ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ


Jüri Başkanı
Prof. Dr. Nilhan MERİT

Üye
Prof. Dr. Ayşegül BİLDİK


Üye
Prof. Dr. Burhanettin BAYDAŞ

Üye
Prof. Dr. Fatmagül YUR


-Üye
Doç. Dr. Yeter DEĞER

TEZ KABUL TARİHİ
20.11.2008

TEŞEKKÜR

Doktora çalışmalarım esnasında bana yardımcı olan, tezin oluşturulmasında büyük katkıları bulunan Danışman Hocam Sayın Doç. Dr. Yeter DEĞER'e; biyokimyayı sevdirecek, tercih etmeme neden olan ve her zaman desteğini esirgemeyen Sayın Prof. Dr. Nihat MERT'e; gerek yüksek lisans, gerekse doktora çalışmalarımı bana yardımcı olan, anlayış gösteren, ilgi ve desteğini esirgemeyen, tezin oluşturulmasında büyük katkıları bulunan, uzun süre danışmanlığımı yapmış olan Sayın Prof. Dr. Fatmagül YUR'a; Y.Y.Ü Tıp Fakültesi'ndeki analizlerde bana yardımcı olan Tıp Fak. Mikrobiyoloji A.B.D.'ından Sayın Doç. Dr. Hüseyin GÜDÜCÜOĞLU'na; vitamin analizlerinin yapılmasında büyük katkıları bulunan Sayın Yrd. Doç. Dr. İbrahim H. YÖRÜK'e; araştırmanın canlı materyalini sağlamamda ve analizlerde bana yardımcı olan Sayın Yrd. Doç. Dr. Gökhan OTO'ya; istatistiksel analizlerin hazırlanmasında katkıları bulunan Araş. Gör. Sayın Ecevit EYDURAN'a; mali destek sağlayan Y.Y.Ü. Bilimsel Araştırma Projeleri Başkanlığına; hayatımın her aşamasında beni teşvik edip sabır gösteren aileme ve eşime teşekkürü bir borç bilirim.

İÇİNDEKİLER

Kabul ve Onay.....	II
Teşekkür.....	III
İçindekiler.....	IV
Simgeler ve Kısaltmalar.....	VI
Şekiller.....	VII
Çizelgeler	VIII
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Pankreas	3
2.2. İnsülin.....	4
2.3. Diabetes Mellitus.....	7
2.3.1 Diabetes Mellitus'un tarihçesi.....	7
2.3.2 Diabetes Mellitus'un tanı ve sınıflandırılma kriterleri.....	8
2.3.3. Diabetes Mellitus'un teşhisi.....	13
2.3.4. Bozulmuş Glikoz toleransı.....	14
2.3.5. Deneysel diyabet	15
2.4. Sitokinler.....	16
2.4.1. Sitokinlerin tanımı.....	16
2.4.2. Sitokinlerin genel özellikleri.....	17
2.4.3. Sitokinlerin sınıflandırılması.....	19
2.4.4. Sitokinler ve Diabetes Mellitus.....	30
2.5. Vitaminler.....	33
2.5.1. Vitamin A (Retinol).....	33
2.5.2. Vitamin D ₃ (Kolekalsiferol).....	37
2.5.3. Vitamin E (α-Tokoferol).....	39
2.5.4. Vitaminler ve Diabetes Mellitus.....	41
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	43
3.1. Gereç	43
3.1.1. Hayvan materyali.....	43
3.1.2. Kullanılan alet ve malzemeler	43
3.1.3. Kimyasal maddeler	43

3.2. Yöntem	44
3.2.1. Diyabet oluşturma.....	44
3.2.2. Kan örneklerinin alınması.....	44
3.2.2. Serum sitokin düzeylerinin ELISA yöntemi ile analizi.....	45
3.2.3. Vitamin A, E, D ekstraksiyonları ve HPLC analizleri.....	49
3.3. İstatistiksel Analiz.....	50
4. BULGULAR.....	51
5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	54
ÖZET.....	62
SUMMARY.....	63
KAYNAKLAR.....	64
ÖZGEÇMİŞ.....	73

SİMGELER VE KISALTMALAR

ADA	: Amerikan Diyabet Birliği
α -MSH	: Alfa- melanosit uyarıcı hormon
AsCoA	: Asetil koenzim A
ASH	: Antijen sunan hücreler
cAMP	: Siklik adenozin monofosfat
CRF	: Kortikotrop salgılatıcı faktör
CSF	: Koloni uyarıcı faktör
DM	: Diabetes Mellitus
GDM	: Gestasyonel diabetes mellitus
ICAM	: İntersellüler adezyon molekülü
IDDM	: İnsüline bağımlı Diabetes Mellitus
IGT	: Bozulmuş glikoz toleransı
IFN- γ	: İnterferon gama
IL1	: İnterlökin 1
IL2	: İnterlökin 2
IL6	: İnterlökin 6
IL10	: İnterlökin 10
GAD65	: Glutamik asit dekarboksilaz otoantikorları
LDL	: Düşük yoğunluklu lipoprotein
LPS	: Lipopolisakkarit
μ g	: Mikrogram
mg	: Miligram
ml	: Mililitre
M	: Molar
ng	: Nanogram
NGF	: Sinir büyüme faktörü
NO	: Nitrik oksit
OGTT	: Oral glikoz tolerans testi
OPD	: Ortofenilen diamino benzidin
pg	: Pikogram
PTH	: Paratiroid hormon
RBP	: Retinol bağlayıcı protein
SDT	: Standart dilüent tamponu
SOD	: Süperoksit dismutaz
STZ	: Streptozotosin
TGF- β	: Transforming growth faktör beta
TMB	: Tetrametil benzidin
TNF- α	: Tümör nekrozitan faktör alfa
WHO	: Dünya Sağlık Örgütü

ŞEKİLLER

Şekil 1. Pankreas Langerhans adacıkları α ve β hücreleri.....	4
Şekil 2. Proinsülin ve insülinin yapısı.....	5
Şekil 3. İnsülinin reseptöre bağlanması.....	6
Şekil 4. STZ kimyasal yapısı.....	16
Şekil 5. Sitokinlerin farklı hücre tiplerine etkileri	18
Şekil 6. Sitokinlerin etki tarzları	19
Şekil 7. IL-1 α ve IL-1 β 'nın üç boyutlu gösterimi.....	22
Şekil 8. IL-2 yapısı.....	24
Şekil 9. IL-2 üç boyutlu gösterimi.....	25
Şekil 10. IL-6 aminoasit dizilişi.....	26
Şekil 11. IL-6 Üç boyutlu yapısal gösterimi.....	27
Şekil 12. IL-6 üreten hücreler ve IL-6'nın biyolojik etkileri.....	28
Şekil 13. İnsan IL-10 proteininin yapısı.....	29
Şekil 14. İnsan IL-10 sitokininin 3 boyutlu gösterimi.....	30
Şekil 15. Th1 ve Th2 hücreleri arasındaki dengenin tip I diyabet oluşumuna veya önlenmesine etkisi.....	31
Şekil 16. Tip I ve Tip II diyabet oluşumunda β hücre yıkımında rol oynayan bazı sitokinlerin ileri sürülen etki tarzları.....	33
Şekil 17. Retinol, retinal ve retinoik asit moleküllerinin kimyasal yapısı.....	34
Şekil 18. β karotenin bölünme ve indirgenme basamakları.....	35
Şekil 19. Vitamin D ₂ ve vitamin D ₃ oluşumu, vitamin D ₃ 'ün 1,25 dihidroksikolekalsiferol'e dönüşümü.....	38
Şekil 20. α -tokoferol ve α -tokotrienol yapıları.....	40
Şekil 21. Kontrol ve diabetik gruplarda saptanan serum sitokin konsantrasyonlarının grafiksel gösterimi.....	52
Şekil 22. Kontrol ve diabetik gruplarda saptanan serum vitamin konsantrasyonlarının grafiksel gösterimi.....	53

ÇİZELGELER

Çizelge 1. Diyabet tanısı için ADA ve WHO kriterleri.....	13
Çizelge 2. Gestasyonel Diabetes Mellitus tanı kriterleri	14
Çizelge 3. Bozulmuş glikoz toleransı ADA ve WHO tanı kriterleri.....	15
Çizelge 4. Bazı sitokinler ve özellikleri.....	21
Çizelge 5. Sağlıklı ratlar ile diyabet oluşturulan ratlarda saptanan serum sitokin ve vitamin düzeyleri.....	51

1. GİRİŞ

Diabetes Mellitus, insülin salgılanması, etki mekanizması veya her ikisinde meydana gelen bozukluk neticesinde karbohidrat, yağ ve protein metabolizması bozukluklarına neden olan, hiperglisemi ile karakterize metabolik hastalıklar grubunu temsil eder. Kronik hiperglisemi, başta göz, böbrek, kalp gibi organlar olmak üzere damar ve sinirlerde de hasara neden olarak, yaşam kalitesi ve süresini olumsuz yönde etkiler (Anonymous, 2007).

Tip I diyabet bütün yaş gruplarında görülmekle beraber en sık görüldüğü yaş grubu 7-15 yaşlarıdır. Ülkemizde görülme sıklığındaki artışın yanı sıra görülme yaşının da giderek 5 yaş altına indiği bildirilmektedir (Abacı ve ark., 2007).

Tüm diyabet vakalarının %80'ini oluşturan tip II diyabet'in toplumumuzdaki sıklığının % 2-5 civarında olduğu tahmin edilmektedir. Özellikle yaşam tarzı büyük ölçüde değişikliğe uğramış ülkemiz gibi endüstrileşmekte ve gelişmekte olan ülkelerde tip II diyabetin insidans ve prevalansı artmaktadır (Bağrıaçık, 1997).

Sitokinler, aktive olmuş lenfositler ve makrofajlar başta olmak üzere birçok hücreden sentezlenen, hücrelerin özelliklerini veya fonksiyonlarını etkileyen, düşük molekül ağırlıklı küçük proteinler veya glikoproteinlerdir. Hücre gelişmesi, çoğalması, aktivasyonu, yangı, bağışıklık, doku tamiri ve morfogenezis gibi önemli biyolojik faaliyetleri düzenlerler. Antijen için spesifik olmamakla birlikte oluşmaları ve hedef hücreleri etkilemeleri için antijenik stimülasyona ihtiyaç duyarlar. Genellikle kısa mesafelere, kısa süreliğine, çok düşük konsantrasyonlarda ve spesifik membran proteinine bağlanarak etki ederler (Walsh, 2004).

Vitaminler, canlı organizmada büyüme, gelişme ve sağlık durumunun devam ettirilebilmesi için vücudun eser miktarlarda gerek duyduğu organik bileşiklerdir. Vitaminler organizma için önem taşıyan bu etkilerini metabolizmada pek çok biyokimyasal ve fizyolojik olaya doğrudan veya dolaylı olarak katılmak suretiyle gösterirler. Ayrıca vitaminlerin, hastalıkların profilaksisi, akut hastalıkların tedavisi,

kanser ve koroner hastalıkların korunması vb. fonksiyonların yürütülmesinde görev aldıkları bildirilmektedir (Mert ve ark., 1999).

Diyabete neden olan komplikasyonların incelenmesi ve tedavi yaklaşımlarının belirlenmesinde deneysel diyabet modelleri önemli bir yer tutmaktadır. Bazı sitokin ve vitaminlerin Diabetes Mellitus patogeneğinde ve tedavisinde kritik roller üstlendiğini gösteren çeşitli çalışmalar mevcuttur. Ancak bu çalışmalar yetersiz olup hastalığın teşhis ve patogeneğinde yeni stratejiler geliştirilmesinin faydalı olacağı düşünülmektedir. Bu çalışmada streptozotosin ile deneysel diyabet oluşturulan ratlarda serum IL-1 β , IL-2, IL-6 ve IL-10 sitokinleri ile vitamin A (retinol), vitamin E (α -tokoferol) ve vitamin D₃ (kolekalsiferol) düzeylerinin araştırılması amaçlandı.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Pankreas

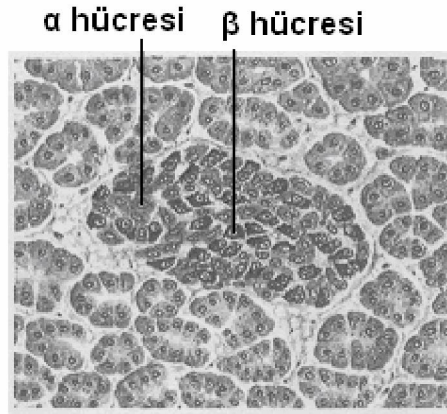
Pankreas, karnın arka duvarında ve midenin arka yüzünde, duodenum ile dalak arasında yer alır. 12-15 cm uzunluğunda transvers olarak uzanan, yumuşak, gri-pembe renkli ve çok sayıda lobdan oluşan pankreas retroperitoneal bir bezdir. Pankreas; *caput pancreatis*, *collum pancreatis*, *corpus pancreatis* ve *cauda pancreatis* olmak üzere dört kısımdan oluşur ve ağırlığı 70-100 gr'dır. Pankreasın endokrin ve ekzokrin salgıları vardır. Endokrin salgısı insülin, glukagon ve somatostatin olup doğrudan kana verilir. Ekzokrin salgısı ise amilaz, lipaz ve tripsin olup duodenumun ikinci parçasına açılır. Bu salgılar karbonhidrat, yağ ve proteinlerin sindirilmesinde rol oynar (Cumhur, 2001).

Pankreasın yaklaşık % 98-99'u ekzokrin faaliyet yapan asiner kısmından meydana gelmiştir. Geriye kalan % 1-2'lik kısım ise yaklaşık sayısı 1-2 milyon arasında değişen Langerhans adacıklarından meydana gelmiş hormon üreten bölümdür (Aktümsek, 2001).

Pankreasta Langerhans adacıkları tarafından hormon etkinlikli en az dört polipeptid salgılanır. Bu hormonların ikisi insülin ve glukagon olup karbonhidrat, protein ve yağların ara metabolizmalarının düzenlenmesinde önemli işlevlere sahiptirler. Üçüncü hormon somatostatin adacık hücresi salgısının düzenlenmesinde rol oynar. Pankreatik polipeptid olan dördüncüsü olasılıkla birincil olarak gastrointestinal işlevle ilişkilidir. Glukagon, somatostatin ve olasılıkla pankreatik polipeptid, mide-barsak kanalı mukozasındaki hücrelerden de salgılanır.

Langerhans adacıkları pankreasın kuyruk kısmında baş ve gövdeye göre daha bol bulunmalarına karşın pankreasın her yerinde görülen hücre topluluklarıdır. İnsanda 1-2 milyon adacık bulunur. Her biri bol kan alır ve diğer herhangi bir endokrin organdan farklı olarak gastrointestinal kanalın tamamı için gözlendiği şekilde bu kanı hepatik portal vene boşaltır.

Adacıktaki hücreler morfoloji ve boyanma niteliklerine göre tiplere ayrılabilir. İnsanlarda en az dört farklı hücre tipi vardır: A, B, D ve F hücreleri. A, B ve D hücreleri α , β ve δ hücreleri olarak da adlandırılır. α hücreleri glukagon, β hücreleri insülin, δ hücreleri somatostatin ve F hücreleri pankreatik polipeptid salgılar. Adacıklardaki hücrelerin % 65-75'ini oluşturan ve en yaygın olan β hücreleri genellikle her adacığın merkezinde bulunur. Bunlar toplamın % 20' sini oluşturan α ve daha az olarak da δ ve F hücreleri tarafından sarılma eğilimi gösterir. İnsan pankreasının kuyruk, gövde ve başının ön ve üst kısmındaki adacıklar kenar şeridinde çok sayıda α hücresi ile eğer varsa birkaç tane F hücresi bulunurken sıçanda ve olasılıkla insanda pankreas başının arka kısmındaki adacıklar bağıl olarak çok sayıda F ve az sayıda α hücrelerine sahiptir. α hücrelerince zengin (glukagonca zengin) adacıklar embriyoner olarak dorsal pankreatik tomurcuktan, F hücrelerince zengin (pankreatik polipeptidce zengin) adacıklar ventral pankreatik tomurcuktan doğar. Tomurcuklar duodenumdan ayrı olarak gelişir (Ganong, 1999).

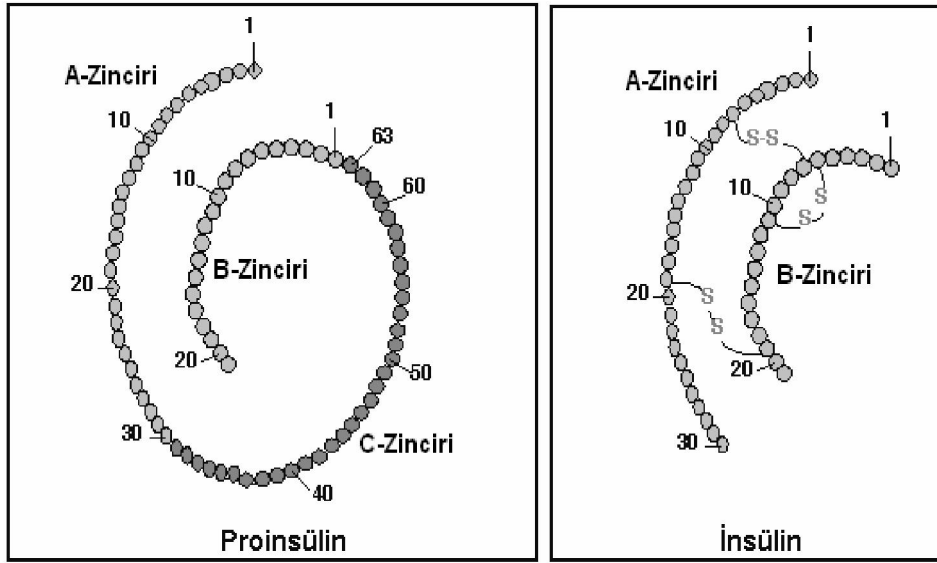


Şekil 1. Pankreas Langerhans adacıkları α ve β hücreleri (Keeton ve Gold, 2000).

2.2. İnsülin

İnsülin, kimyasal olarak saflaştırılıp kristalleştirilen ilk hormondur. İnsülin, küçük globüler bir hormondur. 21 amino asitli A ve 30 amino asitli B zinciri olmak üzere iki adet polipeptit zinciri, 2 adet disülfid köprüsü ile bağlanmıştır. İnsülinin biyolojik aktivitesi bu disülfid köprüleri tarafından gösterilir. İnsülin bir prohormon olarak sentezlenir. Granüllü endoplazmik retikulumda sentezlenen prohormon, sisterne bölümünde proinsülin haline gelir. Bu yapıda disülfid köprülerinin oluşumu için gerekli

olan yapıya sahiptir. Daha sonra golgi sistemine aktarılır. Golgi aygıtından sitozole geçerek plazma membranına doğru yol alırken aynı zamanda granül yapısında bulunan çinko ile altıgen kristaller oluşturur (Montgomery ve ark., 1996).



Şekil 2. Proinsülin ve insülinin yapısı (Garber, 2005).

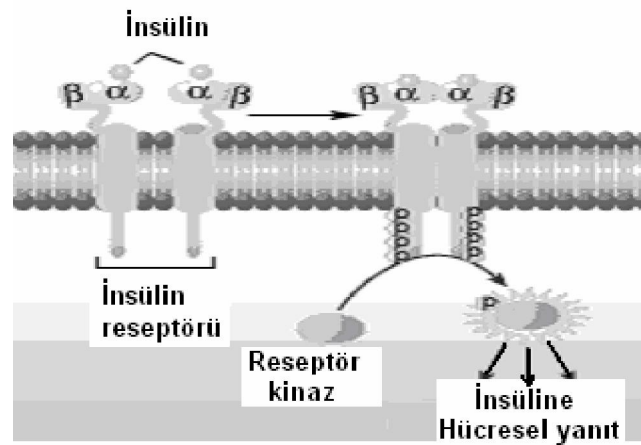
İnsülinin spesifik bir taşıyıcı molekülü yoktur ve yarı ömrü 5-10 dakika kadardır. Karaciğer, böbrek ve plasentada, ayrıca yıkımından sorumlu enzimlerin bulunduğu tüm dokularda yıkılır. İnsülinin disülfid köprüleri glutatyon-insülin transhidrogenaz enziminin katalitik etkisiyle yıkılır. Serbest kalan A ve B zincirleri ise insülinaz adlı bir proteazın etkisiyle hızla yıkılır (Montgomery ve ark., 1996).

İnsülinin bilinen en önemli özelliği organizmanın tek hipoglisemik etkili hormonu olmasıdır. İnsülin karbonhidrat metabolizması üzerine etkisini, kan glikoz seviyelerini düşürerek gösterir. İnsülin başta glikoz olmak üzere bazı şekerleri fosfor ile bağlayarak, hücre membranından taşınmasını kolaylaştırır. İnsülin, glikozun hücre içine alınmasını kolaylaştırdığı gibi, kullanılmasını da etkilemektedir. Bu etkisini glukokinaz, fosfofruktokinaz ve piruvat kinaz gibi glikoliz enzimlerini aktive ederek gösterir. Bu şekilde glikoz kullanımı artar ve dolayısı ile plazmaya kan akımı yavaşlamış olur. Glikoz, glikoz-6-fosfat halinde iken plazma membranını geçemez. İnsülin bu formun membranı geçişini sağlayarak kan glikoz seviyelerini düşürür. Ayrıca insülin kas ve karaciğerde glikojen yapımını uyararak glikoz seviyelerini düşürür. Glikozun diğer organik maddelerden sentezlenmesini (glukoneogenez) uyaran glukagon ve enzimlerin

sentezlenmesi, glukokortikoidlerin uyarıcı etkisini engelleyerek, glikoz seviyelerini kontrol altında tutarlar (Mert ve ark., 1999).

İnsülin lipojenik bir hormondur. Lipolitik hormonların (epinefrin, glukagon), cAMP düzeyleri ve lipaz aktivitesini azaltarak lipolizi engeller. Bu sayede serbest yağ asitlerinin miktarı azalır ve dolayısı ile karbonhidrat metabolizmasına katkıda bulunur. Glikozun adipoz dokuda yağ asidi ve trigliseridlere dönüşerek lipid depolarının artmasına yol açar. İnsülin noksanlığında lipoliz artar. Buna bağlı olarak karaciğerde serbest yağ asitlerinin miktarı artar, glukagon artar ve yağ asitlerinden oluşan AsCoA sitrik asit döngüsüne katılır. Diyabetlilerde ise AsCoA keton cisimlerine dönüşür (Mert ve ark., 1999).

İnsülinin protein metabolizması üzerinde de etkisi vardır. Protein sentezini uyarır ve yıkımını baskılar. İnsülin amino asitlerin hücre içine taşınmasını kolaylaştırır. Taşıyıcı membran proteinlerinin sentezini hızlandırır. Bu etkisini DNA ve RNA sentezini arttırmasına borçludur. Ayrıca kas ve karaciğerde K^+ alımını uyarır, buna karşılık Na^+ hücre dışına çıkarılmasını arttırır. Hedef hücrelerde immunglobulin benzeri, yaklaşık olarak 20000 kadar insülin reseptörü bulunur. Bunlar bir birilerine disülfid köprüleri ile bağlı alfa ve beta polipeptit zincirleridir (Koolman ve Roehm, 2005).



Şekil 3. İnsülinin reseptöre bağlanması (Koolman ve Roehm, 2005).

İnsülinin, reseptöre bağlanmasıyla plazma membranı düzeyinde oluşan yanıtla, glikoz, bazı iyonlar ve amino asitler hücre yüzeyindeki taşınma mekanizmaları harekete

geçer. İnsülin reseptörüyle birleştikten sonra hücre içinde DNA ve RNA sentezi, protein sentezi gibi olaylar meydana gelir (Koolman ve Roehm, 2005).

Pankreasta depolanan insülin her gün 40-50 ünite kadar salgılanır. Kan glikoz konsantrasyonu insülin salgılanmasını düzenleyen en önemli etkidir. Kan glikozu artınca insülin salgılanması artar. Tam tersi olarak azalırsa insülin salgılanması için % 80-100 mg arasındaki glikoz insülin salınımı için eşik değerdir (Mert ve ark., 1999).

2.3. Diabetes Mellitus

2.3.1. Diabetes Mellitus'un tarihçesi

İlk tarifine M.Ö. 1500 yılında Mısır Ebers papirüslerinde rastlanan Diabetes Mellitus, çok idrara çıkılan ve idrar yoluyla şeker kaybedilen bir hastalık olarak tanımlanmıştır (Hatemi, 1996). M.Ö 400 yılında eski Hint uygarlığının Vedalar çağında ise bu hastaların genelde çok idrara çıktıkları ve idrarına karıncaların toplandığı yazılmaktadır (Yenigün, 1995). Ayrıca M.S. 5-6. yüzyılda Susruta ve bazı Hintli doktorlar bu hastalığın iki formu olduğunu, ilk formunda hastaların zayıf olduklarını ve kısa süre sonra öldüklerini, öteki formunda ise hastaların kilolu olduklarını ve ilk gruptan daha uzun süre yaşadıklarını belirtmişlerdir. Bu da günümüzdeki tip I ve tip II diyabet sınıflamasına çok benzemektedir (Raju, 2003).

Büyük Türk İslam alimi İbn-i Sina da şeker hastalarının idrarlarını kaynatarak buharlaştırması sonucu kahverengi bir maddenin kaldığını bildirmektedir. “Diabetes” kelimesi ilk olarak MS 150 yılında Kapadokyalı Aretaeus tarafından kullanıldığı ileri sürülmektedir. Eski Yunancada “diabetes”, vücutta durmayan, geçip giden sıvılar anlamına gelmektedir. William Cullen ise 1750 yılında, Yunanca’da bal benzeri anlamına gelen “mellitus” kelimesini eklemiştir. 1815’te Chevreul kimyasal olarak idrarda glikoz olduğunu ortaya çıkarmıştır (Williams, 1999).

1889 yılında Mering ve Minkowski, pankreasını çıkardıkları köpekte benzer semptomları gözlemleyerek hastalığın pankreasla olan ilişkisini ortaya koymuşlardır (Hazlett, 1991). 1921 yılında insulinin pankreastan ekstre edilmesi sonucunda da bu ilişkinin şekli kesin olarak ortaya konmuştur. Ardından 1922’de insulinin daha da

saflaştırılmasıyla diyabetik bir hastaya uygulanıp hastalığın tedavi edilmesi sağlanmıştır (Banting, 1991).

Günümüzde sıklığı ve önemi giderek artmakta olan bu hastalıkta, ilerleyen teknoloji sayesinde diyabetlilerin yaşam süresi ve kalitesinin artırılması hedeflenmektedir.

2.3.2. Diabetes Mellitus'un tanı ve sınıflandırma kriterleri

Dünya Sağlık Örgütü'nün (WHO) Diabetes Mellitus'la ilgili çalışma grubu tarafından önerilen tanımlama, sınıflandırma ve tanı kriterleri American Diabetes Association (ADA) tarafından daha kapsamlı olarak ele alınıp incelenmiş ve kabul görmüştür. 2007 yılında ADA tarafından yapılan sınıflandırma aşağıda ayrıntılarıyla gösterilmiştir (Anonymous, 2007).

Diabetes Mellitus'un tanımı

Diabetes Mellitus, insülinin salgılanması, etki mekanizması veya her ikisinde meydana gelen kusurlar neticesinde karbohidrat, yağ ve protein metabolizmasında bozuklukların meydana geldiği, hiperglisemi ile karakterize metabolik hastalıklar grubudur. Kronik hiperglisemi, başta göz, böbrek, kalp gibi organlar olmak üzere damar ve sinirlerde de hasara neden olarak, yaşam kalitesi ve süresini olumsuz yönde etkilemektedir. Karakteristik semptomları, poliüri polidipsi, kaşıntı, kilo kaybı olup bazı durumlarda iştah artışı ve bulanık görme de meydana gelebilmektedir. Bazen de belli belirsiz semptomlar, ya da semptom olmaksızın, rutin bakılan kan ve idrar incelemelerinde, kan ve idrar şekerinin yüksek olması ile de tanılabilmektedir. Çoğu durumda, tanı konulmadan, uzun süre önce ortaya çıkan hiperglisemi, organlarda hasara neden olabilmektedir. Bu nedenle Diabetes Mellitus'lu olgularda erken tanının yanı sıra uygun ve etkin tedavi önemlidir (Anonymous, 2007; Borodako, 2007).

Diabetes Mellitus'un Sınıflandırılması (ADA)

I. Tip-1 diyabet (insüline bağımlı diyabet, gençlikte/çocuklukta başlayan diyabet,

ketoza yakın diyabet)

A.Otoimmün

B.İdiopatik

II. Tip-2 diyabet (insüline bağımlı olmayan diyabet, erişkinlikte başlayan diyabet, ketoza rezistan diyabet)

III. Diğer spesifik tipler

A. β hücre fonksiyonunda genetik bozukluklar

- Kromozom 20, HNF-4 α (MODY1)
- Kromozom 7, glukokinaz (MODY2)
- Kromozom 12, HNF-1 α (MODY3)
- Kromozom 13, IPF-1 (MODY4)
- Kromozom 17, HNF-1 β (MODY5)
- Kromozom 2, NeruoD1 (MODY6)
- Mitokondriyal DNA 3243 mutasyon
- Diğerleri

B. İnsülin aktivasyonunda genetik harabiyet

- Tip A insülin rezistansı
- Leprechaunism
- Rabson-Mendenhall sendromu
- Lipoatrofik diyabet
- Diğerleri

C. Ekzokrin pankreas hastalıkları

- Pankreatit
- Travma/pankreotektomi
- Neoplazi
- Kistik fibroz
- Hemokromatoz
- Fibrokalkülöz pankreotopati
- Diğerleri

D. Endokrinopatiler

- Cushing sendromu
- Akromegali
- Feokromasitoma
- Aldostreonoma
- Glukagonoma
- Hipertirodizm
- Somatostatinoma
- Diğerleri

E. İlaç veya kimyasal madde alımı

- Nikotinic asit
- Glukokortikoid
- α -adrenerjik agonist
- β -adrenerjik agonist
- Tiroid hormonu
- Diazoksit
- Tiyazidler
- Dilantin
- Pentamidin
- Vacor
- İnterferon-Alfa Tedavi
- Diğerleri

F. İnfeksiyonlar

- Konjenital rubella
- Sitomegalovirus
- Diğerleri

G. Yaygın olmayan immün aracılıklı diyabet

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

H. Diğer genetik sendromlar

- Down sendromu
- Friedreich ataksisi
- Huntington koresi
- Klinefelter sendromu
- Laurence-Moon-Biedl sendromu
- Miyotonik distrofi
- Porfiriya
- Prader-Willi sendromu
- Turner sendromu
- Wolfram sendromu
- Diğerleri

IV. Gestasyonel diyabet (gebelik diyabeti) (Anonymous, 2007).

I. Tip I Diabetes Mellitus (Genellikle mutlak insülin yetersizliğine yol açan β hücre harabiyeti)

A) İmmün aracılıklı diyabet

Önceden insüline bağımlı Diabetes Mellitus (IDDM), tip I diyabet veya juvenil başlangıçlı diabet tanımlarını da ihtiva eden bu diabet formu, tüm diyabetlilerin % 5-10' unu oluşturur ve pankreastaki β hücrelerinin hücresel aracılıklı otoimmün harabiyeti sonucu gelişir. Adacık hücre otoantikorları, insülin otoantikorları, glutamik asit dekarboksilaz otoantikorları (GAD65) ve tirozin fosfataz IA-2 ile IA-2 β otoantikorları β hücre immün yıkım markırlarını oluştururlar. Açlık hiperglisemisi saptanan bireylerin %85-90'ında bu otoantikorlardan biri veya genellikle birden fazlası mevcuttur. Diyabetin bu formunda β hücre yıkım hızı oldukça değişkendir. Genellikle bebek ve çocuklarda hızlı iken erişkinlerde yavaştır. Özellikle çocuk ve ergenlik çağındaki hastalarda hastalığın ilk evresinde ketoasidoz meydana gelebilir. Diğer bireylerde ise fazla yüksek değerde olmayan açlık hiperglisemisi, infeksiyon ve diğer streslerin varlığında hızlı bir şekilde yüksek hiperglisemi ve/veya ketoasidoza dönüşebilir. Özellikle erişkinler olmak üzere yine bazı bireyler uzun yıllar ketoasidoza girmelerini önleyecek yeterlilikte β hücre fonksiyonlarını sürdürebilirler; fakat çoğu hasta sonunda hayatta kalabilmek için insüline bağımlı hale gelir ve ketoasidoz riski ile karşı karşıya kalır. Hastalığın bu son döneminde insülin sekresyonu ya çok azdır ya da yoktur. Bu durum düşük ya da saptanamayan plazma C-peptid düzeyleriyle gösterilir. İmmün aracılıklı diabet sıklıkla çocukluk ve ergenlik çağında ortaya çıkmasına karşın farklı yaş gruplarında da gözlenmiştir (Anonymous, 2007).

β hücrelerinin otoimmün yıkımı birçok genetik etkenin yanı sıra halen çok az aydınlatılmış çevresel faktörlerle de ilişkilidir. Bu tip diyabetli hastalar nadiren obez olsalar bile obezitenin varlığı bu tanı için bağlayıcı özellik taşımaz. Bunun yanında bu hastalar Graves hastalığı, Hashimoto tiroiditi, Addison hastalığı, vitiligo, çölyak, otoimmün hepatit, myastenia gravis ve pernisiyöz anemi gibi çeşitli otoimmün hastalıklara eğilimlidirler (Eisenbarth ve Jeffrey, 2008).

B) İdiopatik diyabet

Tip I diyabetin bazı formlarının nedeni bilinmemektedir. Bu hastaların bazılarında kalıcı insülinopeni ve ketoasidoza eğilim mevcuttur. Ancak otoimmuniteye ait kanıt yoktur. Tip I diyabetlilerin küçük bir kısmı bu gruba girer ve bunların çoğu Afrika ve Asya kökenlidir. Bu tip diyabete sahip olan bireyler değişen derecelerde insülin yetersizliğinin ortaya çıktığı farklı ketoasidoz atakları geçirirler. Diyabetin bu formu güçlü bir şekilde kalıtsaldır, β -hücre otoimmunitésinin immunolojik kanıtları yoktur. Bu hastalar belirli zamanlarda mutlak insülin tedavisine ihtiyaç duyarlar (Wang ve ark., 2008).

II. Tip II Diabetes Mellitus (İnsülin rezistansı ile beraber progresif insülin sekresyon defekti)

İnsüline bağımlı olmayan diyabet, tip II diyabet veya erişkin-başlangıçlı diyabet olarak isimlendirilen bu diyabet formu diyabetlilerin %90-95'ini içerir. Bu bireyler insülin rezistansı ve genellikle mutlakdan ziyade relatif insülin eksikliğine sahip bireylerden oluşur. En azından başlangıçta ve sıklıkla hayatları boyunca bu bireyler yaşamak için insülin tedavisine ihtiyaç duymazlar. Bu diyabet formunun birçok muhtemel farklı nedeni vardır. Spesifik etyolojileri bilinmese de, β hücrelerinin otoimmun yıkımı burada söz konusu değildir. Bu tip diyabeti olan bireyler sıklıkla obezdir. Obezitenin kendisi çeşitli derecelerde insülin direncine yol açar. Geleneksel kütle ölçüm kriterlerine göre obez bulunmayan hastalar genelde daha çok abdominal bölgede toplanmış olan artmış vücut yağ yüzdesine sahip olabilirler. Bu tip diyabette ketoasidoz spontan olarak ve nadiren görülür. Enfeksiyon gibi bir başka hastalığın yarattığı strese kaynaklanarak da oluşabilir. Tip II diyabette sıklıkla insülin aktivasyonuna karşı rezistans gelişir. Hasta yaşamının sürmesi için insülin tedavisi zorunlu değildir. Bu diyabet formu sıklıkla yıllarca tanısı konmadan ilerler. Çünkü başta hiperglisemi diyabetin belirgin semptomlarının ortaya çıkması için yeterli şiddette değildir. Buna karşın hastalarda mikrovasküler ve makrovasküler komplikasyonların görülme riski artmıştır. Tip II diyabeti olan hastalar normal veya yüksek insülin düzeylerine sahip olabilirler, β hücreleri normal fonksiyon gösteren bu bireylerde yüksek glikoz düzeyleri insülin düzeylerinde yükselmeye neden olabilir. Bu hastalarda

defektif insülin salınımı mevcuttur ve insülin rezistansını telafi etmede yetersiz kalınmaktadır. İnsülin rezidansı zayıflamayla ve/veya hipergliseminin farmakolojik tedavisi ile düzeltilebilir. Fakat normal hale dönüştürüldüğü nadirdir. Bu tip diyabetin gelişme riski yaş, obezite ve fiziksel inaktivite eksikliği ile artar. Önceden gestasyonel diyabet oluşmuş kadınlarda, hipertansiyon veya dislipidemili bireylerde daha çok görülür ve sıklığı farklı ırk/etnik gruplarda değişkendir. Genellikle genetik yatkınlıkla ilişkilidir ve bu yatkınlık tip I diyabetin otoimmün formundan daha fazladır. Bununla beraber bu diyabet formunun genetiği komplekstir ve tam olarak açıklanamamıştır (Kristi ve Cowell, 2008; Crandall ve ark., 2008).

2.3.3. Diabetes Mellitus' un teşhisi

Diyabet tanısı için ADA ve WHO kriterleri Çizelge 1.'de gösterilmiştir. ADA ve WHO kriterleri arasındaki tek fark diyabet tanısı için WHO kriterlerine göre açlık plazma glikozunun ≥ 140 mg/dL olması gerekirken ADA kriterlerine göre açlık plazma glikozu ≥ 126 mg/dL'nin üzerinde ise diyabet meydana gelir.

Çizelge 1. Diyabet tanısı için ADA ve WHO kriterleri (Anonymous 2007; Anonymous, 2006).

Diabetes Mellitus tanı kriterleri	
WHO kriterleri	ADA kriterleri
-Diabetes semptomları (poliüri, polidipsi, ve açıklanamayan ağırlık kaybı) ile birlikte rastgele plazma glikoz düzeyinin ≥ 200 mg/dL olması veya	-Diabetes semptomları (poliüri, polidipsi, ve açıklanamayan ağırlık kaybı) ile birlikte rastgele plazma glikoz düzeyinin ≥ 200 mg/dL olması veya,
-Açlık plazma glikozunun ≥ 140 mg/dL olması veya	-Açlık plazma glikozunun ≥ 126 mg/dL olması veya,
-Oral glikoz tolerans testi esnasında 2. saat değerinin ≥ 200 mg/dL olması	-Oral glikoz tolerans testi esnasında 2. saat değerinin ≥ 200 mg/dL olması

Gestasyonel Diabetes Mellitus teşhisinde ise açlık plazma glikozu 126 mg/dL veya üzerinde ise 100 g veya 75g glikoz ile üç saatlik Oral Glikoz Tolerans Testi (OGTT) yapılmalıdır.

İki veya daha fazla glikoz düzeyinin Çizelge 2.'deki kriterlere eşit veya daha yüksek bulunması ile Gestasyonel Diabetes Mellitus tanısı konulur (Anonymous 2007; Anonymous, 2006).

Çizelge 2. Gestasyonel Diabetes Mellitus tanı kriterleri (Cheng ve Caughey, 2008).

Gestasyonel Diabetes Mellitus (GDM) tanı kriterleri		
	mg/dl	mmol/l
100 g glikoz yüklemesi		
Açlık	95	5.3
1-saat	180	10.0
2-saat	155	8.6
3-saat	140	7.8
75 g glikoz yüklemesi		
Açlık	95	5.3
1-saat	180	10.0
2-saat	155	8.6

2.3.4 Bozulmuş Glikoz Toleransı

Bozulmuş glikoz toleransı (impaired glucose tolerance, IGT) tanısı açlık plazma glikozu 100-125 mg/dL arasında bulunan hastalarda OGTT ile konulmaktadır. Bu bireylerde OGTT 2. saat değerinin 140 mg/dL den yüksek, fakat 200 mg/dL den düşük olması bozulmuş glikoz toleransı olarak tanımlanmaktadır. Böyle hastaların yaklaşık % 30 unda 10 yıl içinde belirgin Diabetes Mellitus gelişme riski mevcuttur. Bozulmuş glikoz toleranslı hastalarda aterosklerotik kardiyovasküler hastalık gelişme riski yüksektir ve insülin direnci sendromunun bir komponenti olarak da ortaya çıkabilir (Wallander ve ark., 2008).

Bozulmuş glikoz toleransı tanısı için ADA ve WHO kriterleri Çizelge 3.'de gösterilmiştir.

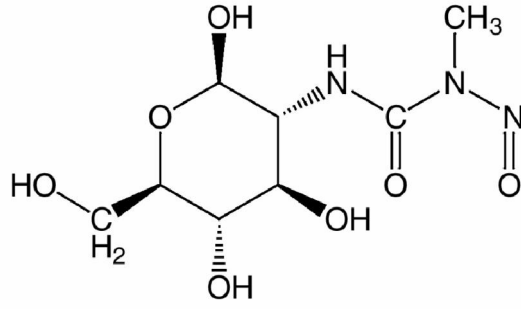
Çizelge 3. Bozulmuş glikoz toleransı ADA ve WHO tanı kriterleri (Anonymous, 2007; Anonymous, 2006).

Bozulmuş glikoz toleransı ADA ve WHO tanı kriterleri	
WHO kriterleri	ADA kriterleri
-Açlık kan glikozunun 100-140 mg/dL arasında olması	-Açlık kan glikozunun 100-125 mg/dL arasında olması
ve	Ve
-Oral glikoz tolerans testinde 2.saat değerinin 140 mg/dL den yüksek, fakat 200 mg/dL den düşük olması	-Oral glikoz tolerans testinde 2.saat değerinin 140 mg/dL den yüksek, fakat 200 mg/dL den düşük olması

2.3.5. Deneysel diyabet

Çeşitli hastalıkların patogenezinin anlaşılması, hastalıktan korunmanın ve tedavi olanaklarının incelenebilmesi için deneysel hayvan modellerinin kullanımı yaygındır. Bu modellerden bazıları insandaki hastalığa patolojik özellikleri bakımından benzerse de o hastalığı tam olarak temsil ettiği kesin olarak söylenemez. Deneysel diyabet oluşturulması amacıyla cerrahi, kimyasal, viral, genetik vb. modeller kullanılmaktadır. Bu yöntemlerden en çok kullanılanları kimyasal ajanlar kullanılarak oluşturulan diyabet modelleridir. Laboratuvar hayvanları üzerinde deneysel diyabet oluşturabilmek için yaygın olarak streptozotosin (STZ) ya da alloxan kullanılır (Öntürk ve Özbek, 2007).

STZ ve alloxan pankreatik β hücrelerine olan spesifik toksisiteleri nedeniyle diyabetojenik ajan olarak kabul edilirler. Fakat STZ daha spesifik β -hücre sitotoksitesine sahip olduğundan laboratuvar çalışmalarında daha çok tercih edilir (Öztürk, 1996).



Şekil 4. STZ kimyasal yapısı (Ashby ve Hilton, 1993).

Streptozotosin, N-(Methylnitrosocarbamoyl)- α -D-glikozamin yapısındadır. Açık sarı renkte, suda ve alkolde çözünen bir maddedir. Önceleri antibiyotik olarak kullanılırken STZ'nin kanserojen etkisi ortaya çıkarılmıştır. Günümüzde STZ'den deneysel diyabet oluşturma amacıyla faydalanılmaktadır. STZ, GLUT-2 glikoz transporter yoluyla β hücrelerine seçici etki gösterir ve burada nitrik oksit, alkilasyon veya DNA fragmantasyonu vasıtasıyla DNA hasarı meydana gelir. Yetişkin sıçanlarda belirli oranda STZ uygulamasının insüline bağımlı diyabete, yeni doğmuş sıçanlara STZ uygulamasının ise insüliniden bağımsız diyabete neden olduğu bildirilmiştir (Öntürk ve Özbek, 2007).

2.4. Sitokinler

2.4.1. Sitokinlerin tanımı

Sitokinler, aktive olmuş lenfositler ve makrofajlar başta olmak üzere birçok hücreden sentezlenen, hücrelerin özelliklerini veya fonksiyonlarını etkileyen, düşük molekül ağırlıklı (genellikle 8-25 kDa) küçük proteinler veya glikoproteinlerdir. Sitokin kelimesi, “hücre” anlamına gelen sito- ile özellikle peptid hormonları olmak üzere hormonları adlandırmada kullanılan “kinin” sözcüklerin birleşmesinden oluşmuştur. Hücre gelişmesi, çoğalması, aktivasyonu, yangı, bağışıklık, doku tamiri ve morfogenez gibi önemli biyolojik faaliyetleri düzenlerler. Antijen için spesifik olmamakla birlikte oluşmaları ve hedef hücreleri etkilemeleri için antijenik stimülasyona ihtiyaç duyarlar. Genellikle kısa mesafelere, kısa süreliğine, çok düşük

konsantrasyonlarda ve spesifik membran proteinine bağlanarak etki ederler. 100'ün üzerinde sitokin tanımlanmıştır (Walsh, 2004).

2.4.2. Sitokinlerin genel özellikleri

Sitokinler çok geniş bir protein grubu olmakla birlikte bu moleküllerin ortak birçok özellikleri vardır.

1) Sitokinler naturel ve spesifik immunitenin efektör fazında üretilirler ve bağışıklık ve inflamatuvar yanıtların oluşmasını ve düzenlenmesini sağlarlar. Doğal bağışıklıkta lipopolisakkarid gibi mikrobik ürünler, mononükleer fagositleri direkt olarak uyatarak kendi sitokinlerini salgılatırlar. T hücrelerinden türeyen sitokinler yabancı antijenlerin özel olarak tanınmasına yanıt sonucu meydana gelirler.

2) Sitokin salınımı kısa, kendini sınırlayan bir olgudur. Genel olarak sitokinler öncül moleküller olarak depolanmazlar ve sentezleri yeni gen transkripsiyonu ile başlatılır. Bu transkripsiyonel aktivasyon genellikle geçici olup, sitokinleri kodlayan mRNA'lar stabil değildir. Bu nedenle sitokin salınımı geçicidir ve bir kez sentezlendiğinde, sitokinler hızla salınırlar.

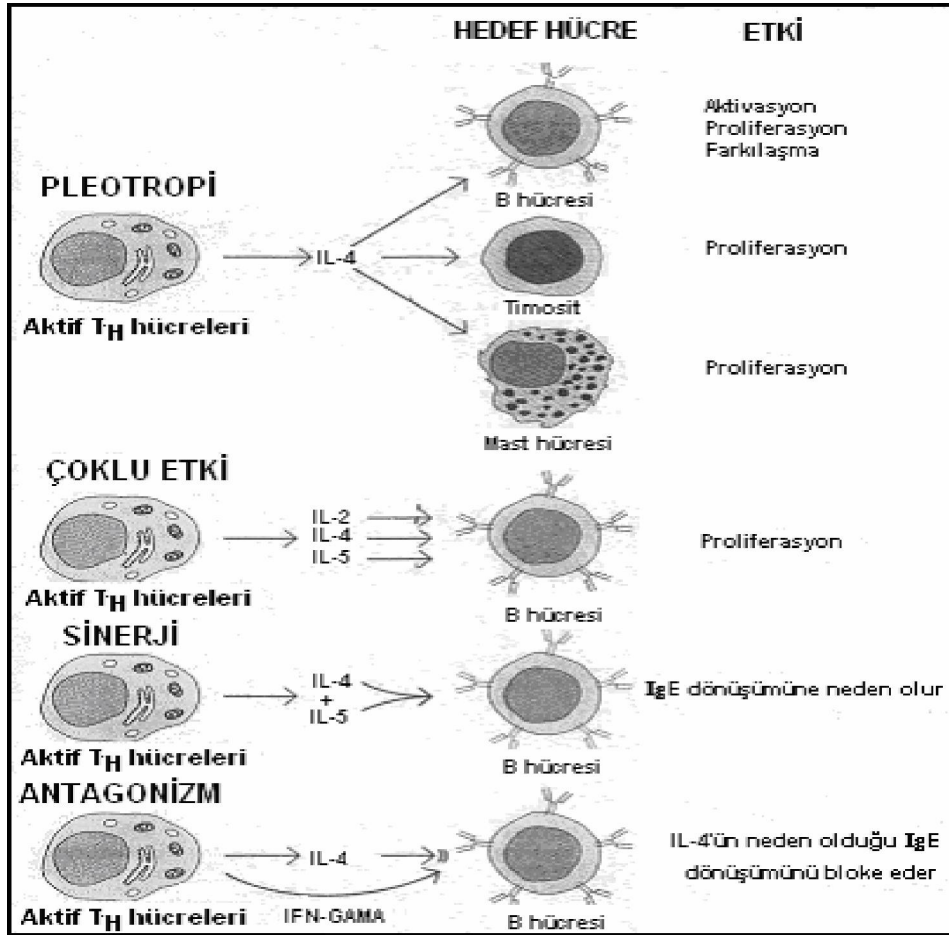
3) Sitokinler çeşitli hücreler tarafından üretilir. Yani bu moleküllere toptan sitokin demek ve lenfokin ya da monokin gibi sellüler kökenlerini belirtmemek daha uygundur.

4) Sitokinlerin aynı hedef hücrede farklı bir çok etkileri vardır. Bazı etkiler aynı anda meydana gelirken, bazı etkiler farklı zaman aralıklarıyla oluşabilir (dakikalar, saatler, günler).

5) Sitokin etkinliği genellikle gerektiğinden fazladır.

6) Sitokinler, diğer polipeptid hormonlarda olduğu gibi hedef hücrenin yüzeyindeki özel membran reseptörlerine bağlanarak etkilerini başlatırlar. Bu reseptörler transmembran proteinler olup, ekstrasellüler domainleri vardır. Özel olarak sitokinleri ve büyüme faktörlerini tanıyıp bağlarlar (Güner ve ark., 1997; De Haan, 1996; Kılıçturgay, 2003).

7) Sitokinler birçok farklı hücre tiplerine etki ederler. Bu özelliğe *pleiotropizm* denir. Sitokinler diğer sitokinlerin sentezini de etkiler; şöyle ki, ikinci, üçüncü sitokin, birinci sitokinin biyolojik etkisine ortam hazırlayabilir. Ayrıca sitokinler genellikle diğer sitokinlerin fonksiyonlarını da etkilerler. İki sitokin birbirini antagonize edebilir veya additif etki gösterebilir. Ya da bazı durumlarda sinerjik etki gösterebilirler.



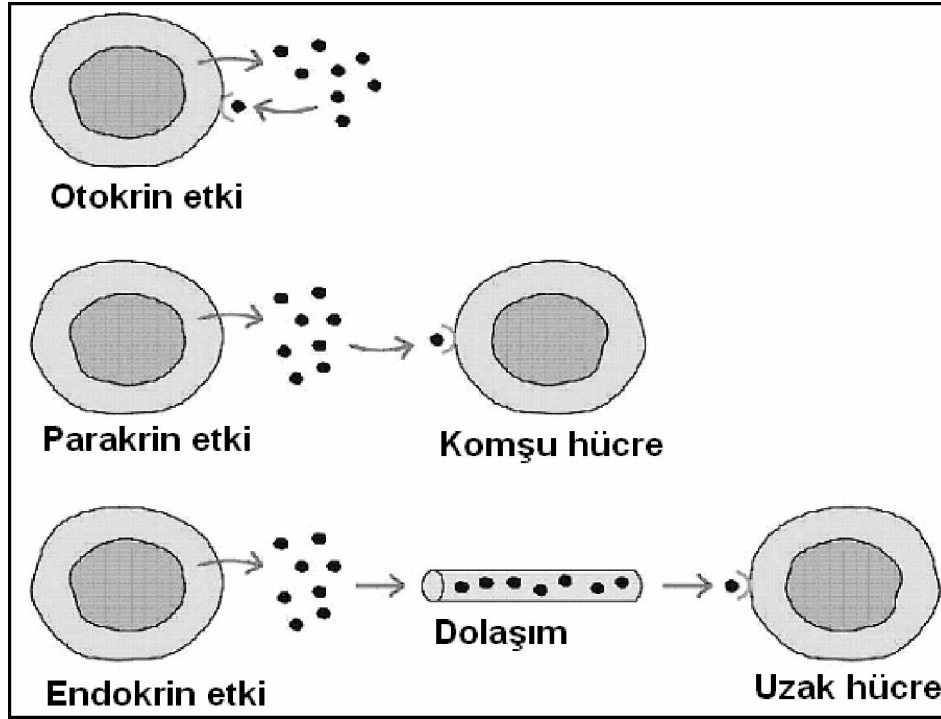
Şekil 5. Sitokinlerin farklı hücre tiplerine etkileri (De Haan, 1996; Goldsby ve ark., 2000).

8) Sitokin reseptörleri, ligandlarına karşı aşırı affinite gösterirler. Dissosiasyon katsayıları (K_d) 10⁻¹⁰ -10⁻¹² M arasındadır. Biyolojik etki oluşturabilmek için çok küçük miktarlarda sitokin yeterlidir.

9) Birçok sitokin reseptörünün ekspresyonu özel sinyaller tarafından üretilir.

10) Sitokinlere verilen hücresel yanıtların çoğu yeni mRNA ve protein sentezini gerektirmektedir.

11) Sitokinler hem otokrin (yani salgılandığı hücreye), hem de parakrin (yani komşu hücreye) etkilidirler. Bazen de kan dolaşımıyla taşınıp uzak hücrelere ulaşarak endokrin özellikler (Şekil 6.) gösterebilmektedirler.



Şekil 6. Sitokinlerin etki tarzları (Goldsby ve ark., 2000).

12) Birçok hedef hücre için sitokinler hücre bölünmesini düzenlerler yani büyüme faktörü gibi etki ederler (Güner ve ark., 1997; Goldsby ve ark., 2000).

2.4.3. Sitokinlerin sınıflandırılması

Temel etkilerine göre sitokinler 4 gruba ayrılırlar (Güner ve ark., 1997; Kılıçturgay, 2003).

1) Doğal bağışıklıkta etkili olan sitokinler.

- Tip I interferonlar (IFN)
- Tümör nekrotizis faktör (TNF)
- İnterlökin-1 (IL-1)
- İnterlökin-6 (IL-6)

- Kemokinler

2) Lenfosit aktivasyonu, gelişmesi ve farklılaşmasında etkili olan sitokinler.

- İnterlökin-2 (IL-2) (T-hücresi büyüme faktörü)
- İnterlökin-4 (IL-4) (IgE sentez regülatörü)
- Transforming büyüme faktörü- β (TGF- β)

3) İnflamatuvar hücreleri aktive eden sitokinler.

Bu grup sitokinler antijenle uyarılmış CD_4^+ ve CD_8^+ T lenfositler tarafından uyarılırlar ve inflamatuvar lökositleri aktive ederler. Bu hücrelerin T hücresi regülasyonuna girmesini sağlarlar.

- İnterferon γ (IFN- γ) (Mononükleer fagositlerin birincil aktivatörü)
- Lenfotoksin (LT) (Nötrofil aktivatörü)
- İnterlökin 10 (IL-10) (Mononükleer fagositlerin negatif regülatörü)
- İnterlökin-5 (IL-5) (Eosinofil aktivatörü)
- İnterlökin-12 (IL-12) (Naturel Killer (NK) ve T hücre stimülatörü)

4) Hematopoezi stimüle eden sitokinler.

Bunlar immatür lökositlerin büyüme ve farklılaşmasını sağlayan sitokinler olarak adlandırılırlar.

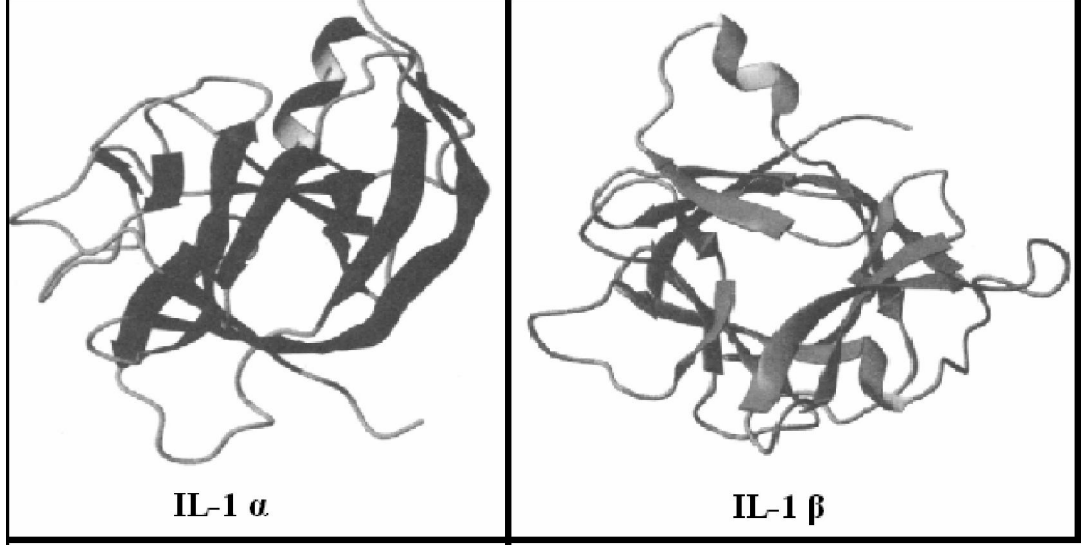
- c-kit-ligand
- İnterlökin-3 (Koloni stimüle eden faktör)
- Granulosit-makrofaj koloni simulatör faktör (GM-CSF)
- Monosit-makrofaj koloni uyaran faktör (M-CSF)
- Granulosit koloni stimülatör faktör (G-CSF)
- İnterlökin-7 (IL-7)
- İnterlökin-9 (IL-9)
- İnterlökin-11 (IL-11)

Çizelge 4. Bazı sitokinler ve özellikleri (Kılıçturgay, 2003).

<i>Sitokin</i>	<i>Mol.Ağ. (kD)</i>	<i>Kaynağı</i>	<i>Aktivitesi</i>
IL-1 α , β	17.5	Makrofaj, T/B lenfositleri, APC	İmmüniteyi artırma, T/B lenfosit farklılaşması
IL-2	15.5	TH1 ve büyük granüllü lenfositler	T/B ve NK lenfositlerin gelişme faktörü
IL-3	14-28	T lenfositler, makrofajlar	Hematopoietik gelişme faktörü
IL-4	20	TH2 lenfositler	T/B lenfosit gelişme faktörü
IL-5	18	TH2 lenfositler	B lenfosit ve eozinofil stimülasyonu
IL-6	22	TH2 lenfositler	Inflamasyon
IL-7	25	Stromal hücre	Lenfosit gelişme faktörü
IL-8	8.8	Makrofajlar, T lenfositler	Nötrofil ve T lenfosit kemotaksisi
IL-9	39	T lenfositler	T lenfosit proliferasyonu
IL-10	19	TH2 lenfositler	Sitokin sentez inhibitörü
IL-11	24	Fibroblast	Hematopoietik etkili
IL-12	75	Makrofajlar	Hematopoietik etkili
IL-13	10	Aktif T lenfositleri	Hematopoietik etkili
G-CSF	18-22	Monosit, fibroblastlar	Miyeloid gelişme faktörü
M-CSF	70-90	Monosit, fibroblastlar	Makrofaj gelişme faktörü
GM-CSF	14-35	TH1,TH2 lenfositler, monositler	Monomiyelotik gelişme faktörü
IFN- α	18-20	Lökositler	Antiviral etki
IFN- β	25	Fibroblastlar	Antiviral etki
IFN- γ	20-25	TH1 lenfositler, NK	İmmünomodülatör
TNF- α	17	TH lenfositler	Inflamasyon, tümörisidal
TNF- β	18	TH1 lenfositler	Tümörisidal
TGF- β	25	T lenfositler, makrofajlar	İmmünosüpresyon

A. İnterlökin-1

İnterlökin-1 (IL-1), IL-1 α ve IL-1 β olmak üzere iki farklı proteinden meydana gelir. IL-1 α ve IL-1 β yaklaşık 17 kDa ağırlığında, yapısal olarak %26 oranında benzerlikleri olan moleküllerdir (Tokgöz, 1997).



Şekil 7. IL-1 α ve IL-1 β 'nın üç boyutlu gösterimi (Mire-Sulius ve Thorpe, 1998).

IL-1 α ve IL-1 β 'nın antijenik yapıları farklı olmalarına karşın, biyolojik aktiviteleri ve etkinlikleri benzer özelliktedir. Monositler hem IL-1 α hem de IL-1 β sentezlemelerine rağmen daha çok IL-1 β yaparlar. Buna karşılık keratinositler daha çok IL-1 α sentezini sağlarlar.

İnterlökin-1, organizmada hemen hemen bütün hücreler tarafından yapılmakla beraber daha çok makrofajlar, keratinositler, endotel hücreleri, düz kas hücreleri, dendritik hücreler, fibroblastlar ve nötrofillerde de üretilir. Bazı hücrelerde IL-1 devamlı olarak sentezlenebilirse de mikroorganizmalar, LPS, muramil dipeptid gibi maddelerle uyarıdan sonra daha fazla IL-1 üretilmektedir. T lenfositlerini uyaran ajanlar aynı zamanda makrofajları da uyarak IL-1 oluşmasına neden olabilirler. Makrofajların uyarılması iki şekilde meydana gelebilir:

1- Antijen sunan hücreler (ASH) üzerinde bulunan ve HLA klas II molekülü ile sunulan antijen, CD4 hücreleri tarafından tanınır. Bu esnada makrofajlar tarafından IL-1 salgılanır.

2- Antijenle karşılaşan T hücreleri, tümör nekrozis faktör (TNF), koloni uyarıcı faktör (CSF) ve interferon γ gibi çeşitli sitokinler salgırlar. Bunlar da makrofajları uyarak IL-1 salgılanmasına neden olabilir.

Amniyotik sıvı, deri ve beyin gibi dokularda herhangi bir uyarı olmadan da IL-1 salgılanabilir. Steroidler ve PGE_2 IL-1 oluşumunu engellerken, lipooksijenaz yolunda oluşan maddeler IL-1 salınımını uyarıcı etki gösterirler. IL-1'in etkili olabilmesi için hücre düzeyinde bulunan reseptörlere bağlanması gerekir. Reseptöre bağlandıktan sonra hücre içinde meydana gelen olayların gelişimi tam olarak bilinmemektedir. Bazı maddeler reseptör düzeyinde veya postreseptör düzeyinde IL-1 ile antagonist etki gösterirler. Bunlar arasında alfa melanosit uyarıcı hormon (α -MSH), transforming growth faktör beta (TGF β) ve kortikosteroidler sayılabilir (Baykal ve ark., 1998).

Biyolojik etkileri:

IL-1 düşük yoğunlukta olduğunda $CD4^+$ T hücresinde çoğalma, B hücresinde gelişme ve farklılaşma etkisi gösterir.

IL-1, T hücrelerinden IL-2 salgılanmasını ve bu hücrelerin yüzeyinde IL-2 reseptörlerinin sayısını arttırarak T hücrelerinin çoğalmasını sağlar.

IL-1 eğer yüksek dozda salgılanır ise kan dolaşımına girer, endokrin etki gösterir. Bu etki TNF gibi ateş, akut faz protein sentezine ve kaşeksiye yol açar. IL-1 ve TNF hipotalamusa etki ederek ateş, hepatositlere etki ederek de akut faz proteinlerin yapılmasına neden olmaktadır. IL-1 hipotalamusa etkisinde, kortikotrop salgılatıcı faktörün (CRF) salınmasına neden olur, bu da adrenal kortekse etki ederek steroidlerin salınımını sağlar ve steroidler de IL-1 ve TNF'ün salınımını inhibe eder. Böylece IL-1'in negatif feed-back etkisi ortaya çıkar.

IL-1, antijen sunan hücrelerin kapasitesini arttırır. IL-1 de TNF gibi koagülasyonu ve damar endoteline lökosit yapışmasını arttırır.

Hem IL-1, hem de TNF osteoklastik aktiviteyi uyarak kemik turnover'nın artmasına neden olurken aynı zamanda osteoblastlardan alkalen fosfatazın salınımını arttırmırlar. IL-1 fibroblast ve sinovial hücrelerin proliferasyonunu arttırıcı etki gösterir.

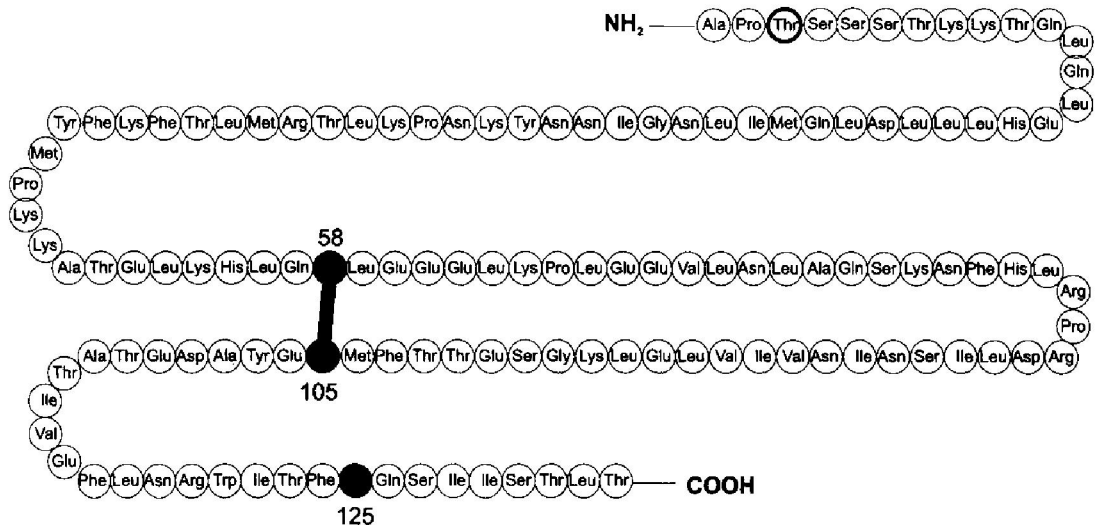
İnterlökin 1 hücreler üzerinde daha çok koruyucu etkiye sahiptir. Bu etki kemik üzerinde daha belirgindir. IL-1, kemik iliği hematopoetik hücrelerine etki ederek hızlı proliferatif kapasite gösteren kolonilerin oluşmasına neden olurken aynı zamanda kemik iliği stromal hücrelerine etki ederek koloni stimüle edici faktörlerin yapılmasına neden olmaktadır.

Hem IL-1, hem de TNF radyoprotektif etki göstermektedirler. IL-1 epitel hücrelerinin proliferasyonunu, tip IV kollajen ve interferon beta yapımını arttırır ve bu etkisi ile de antiviral etki gösterir.

IL-1'in diğer bir önemli etkisi de Pankreas Langerhans adacıklarındaki insülin üreten β hücrelerinde toksisite meydana getirmesidir. Bu da IL-1'in tip I diyabet oluşumunda etkili olduğunu desteklemektedir (Baykal ve ark., 1998).

B. İnterlökin-2

IL-2, T hücresi büyüme faktörü olarak da adlandırılır. IL-2 insanlarda 133 amino asitten oluşmuştur ve 14-17 kD'luk ağırlığa sahip bir glikoproteindir.



Şekil 8. IL-2 yapısı (Mire-Sulius ve Thorpe, 1998).

IL-2 tek bir gen tarafından kodlanır. Bu genin insanda, 4 nolu kromozom üzerinde bulunduğu saptanmıştır. IL-2 kristalografisi bu molekülün 6 α helikal bölge içermesine karşı β yapısal bölgelerin bulunmadığını göstermiştir.



Şekil 9. IL-2 üç boyutlu gösterimi (Mire-Sulius ve Thorpe, 1998).

$CD4^+$ T hücreleri başta olmak üzere $CD8^+$ T hücrelerinden salgılanır. İnterlökin-2, IL-2 reseptörlerine bağlanarak etki eder. İnterlökin-2 reseptörü iki polipeptit zincirinden oluşmuştur. Alfa zinciri 75 kD, beta zinciri 55 kD ağırlığındadır. Beta zinciri interlökin-2'ye karşı düşük aktivite gösterir ve beta zincirine yapışan interlökin-2 hücreyi aktive edemez. Alfa zinciri ise IL-2'ye orta derecede affinite gösterir. Normal istirahat halindeki hücre yüzeyinde 500 ile 5.000 arasında alfa polipeptid zinciri bulunurken beta zinciri istirahat halindeki hücrede bulunmaz. Hücre aktive olduktan sonra beta polipeptid zinciri hücre yüzeyinde görülmeye başlar, alfa zincirlerinin sayısında da artma görülür. Böylece alfa ve beta zincirleri birleşerek yüksek affiniteli IL-2 reseptörünü meydana getirir (Reddy ve ark., 2001).

Biyolojik Etkileri:

İnterlökin 2, T hücre proliferasyonunu sağlamasına karşın bu etki istirahat halinde bulunan T hücresinde görülmez. T hücresinin IL-2'ye cevap vermesi için önce bir antijen veya mitojenle uyarılması gereklidir. Bu şekilde T hücresi G_0 fazından G_1 fazına girer. Bu sırada yüzeyinde IL-2 reseptörü meydana gelir. Hücre aynı zamanda IL-2 salgılar. IL-2, T lenfositlerinin hücre siklusunun G_1 fazından S fazına ilerlemesini sağlar. IL-2 hücreye otokrin olarak etki ederek hücrenin proliferasyonuna neden olur. IL-2 aynı zamanda T lenfositlerin sitolitik aktivitelerini de stimüle eder, T hücre

hareketliliğini artırarak IFN- γ , IL-4, TNF gibi diğer bazı sitokinlerin sekresyonunu çoğaltıcı etki gösterir (Reddy ve ark., 2001).

IL-2, NK hücrelerinin büyümesini uyarır ve onların sitolitik fonksiyonlarını artırır. Bunu lenfokinle aktive edilmiş öldürücü hücreler (LAK) üreterek yapar. IL-2, diğer sitokinlerle sinerjik etkiyle NK hücreleri tarafından IFN- γ salgısını artırır.

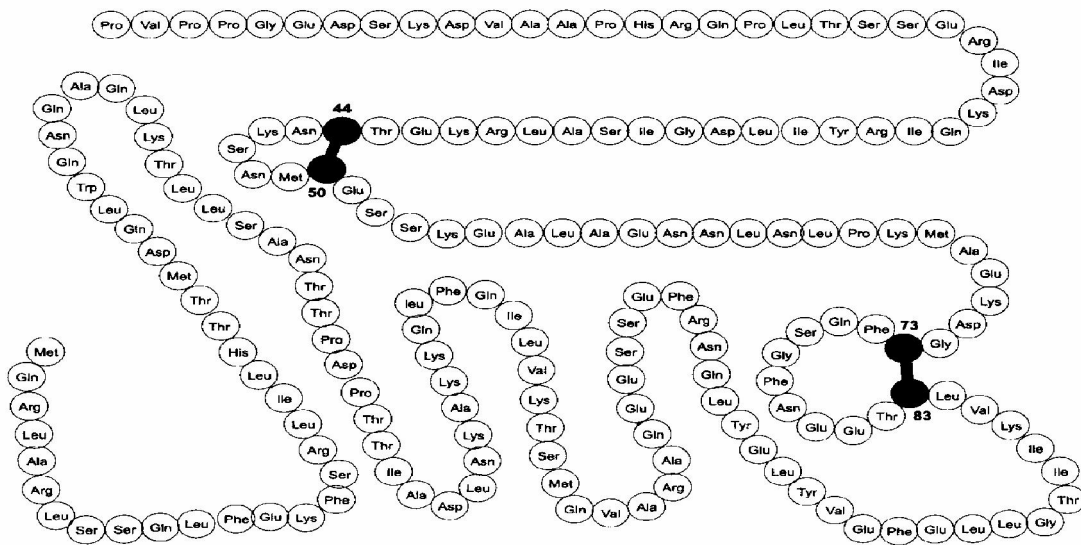
IL-2 insan B lenfositlerine etki ederek hem büyüme faktörü olarak hem de antikor sentezi uyaranı olarak etki gösterir.

IL-2'nin kan monositlerinin sitolitik fonksiyonlarını artırıp bu hücrelerde proliferasyon ve farklılaşmaya neden olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur. (Panelli, 2001).

T-hücre büyüme ve farklılaşmasındaki rolü nedeniyle diyabet oluşumuyla ilişkili olabileceği üzerinde durulmaktadır (Encinas, 1999).

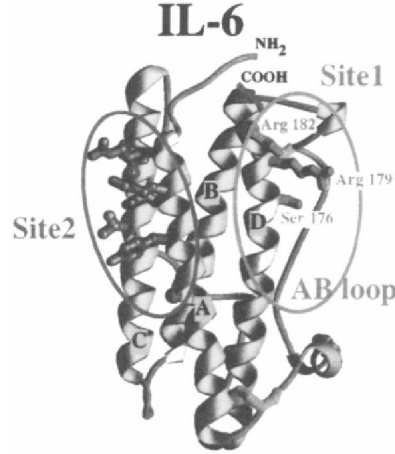
C. İnterlökin-6 (IL-6)

IL-6, 19-30 kDa molekül ağırlığına sahip bir glikoproteindir. İnsan IL-6'sı 28 aminoasit sinyal peptit olup 212 aminoasit içermektedir.



Şekil 10. IL-6 aminoasit dizilişi (Mire-Sulius ve Thorpe, 1998).

IL-6 yapısı ile ilgili çalışmalar bu sitokinin IL-11, LIF ve GM-CSF ile homolog olduğunu göstermiştir (Bazan, 1991). IL-6, antiparalel 4 α -heliks yapı içerir. A ve B heliks yapıları büyük bir AB döngüsüyle bağlanmıştır. C ve D heliksleri ise CD döngüsüyle bağlanmıştır (Savino, 1994).

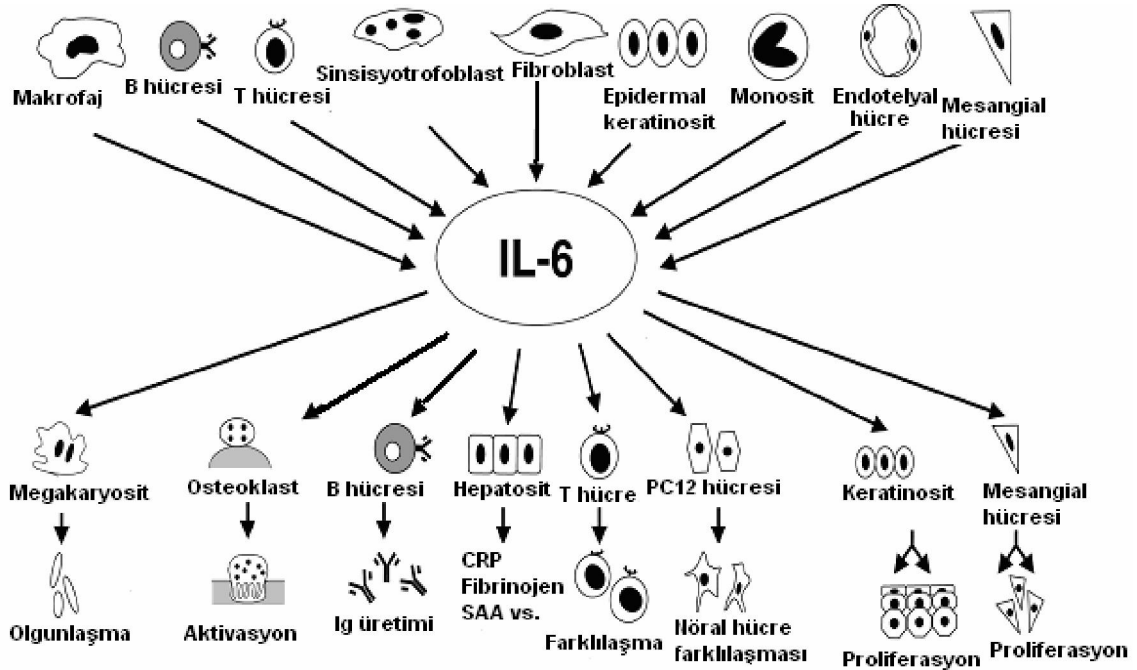


Şekil 11. IL-6 üç boyutlu yapısal gösterimi (Savino, 1994).

İnterleukin 6 makrofajlar, fibroblastlar, endotel hücreler, aktive olmuş T helper hücreleri, B hücreleri, monositler, keratinositler, granülositler, mast hücreleri ve tümör hücreleri tarafından üretilir (Dominique ve ark., 1993).

Biyolojik Etkileri:

Pleotropik bir sitokin olan IL-6 geniş bir biyolojik aktiviteye sahiptir. Hedef hücreye bağlı olarak büyümeyi uyaran, büyümeyi inhibe eden ve farklılaşmayı sağlayan etki gösterir. IL-6, IL-1 ve TNF- α ile sinerjist etkide bulunarak T hücrelerinin aktivasyon, büyüme ve farklılaşmasında rol oynar. Sitokinler arası zengin iletişim ağı IL-6 üretimini düzenler. IL-6 karaciğerde akut faz cevabın primer indükleyicilerinden biridir. IL-6 reseptörleri dinlenme durumundaki T lenfositlerde bulunurken istirahat halindeki B lenfositlerinde bulunmaz. Bu özellik IL-6'nın B lenfositlerin son evresine etkili olduğunu göstermektedir. B hücre aktivasyonu neticesinde de immünoglobulin üretimi gerçekleşir. IL-3 ile sinerjist etki göstererek hematopoetik kök hücrelerine de etki eder (Ogawa, 1993).



Şekil 12. IL-6 üreten hücreler ve IL-6'nın biyolojik etkileri. (Naka ve ark., 2002).

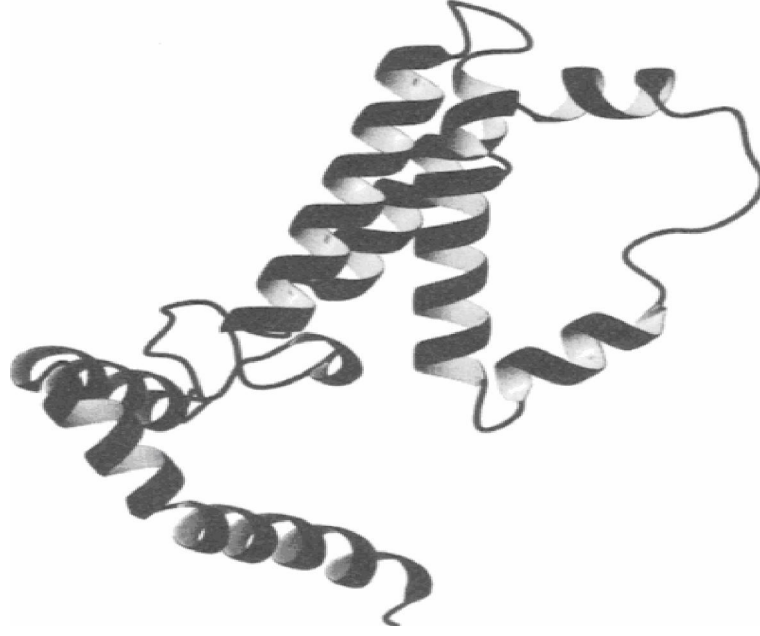
IL-6 bunların yanında makrofaj, megakaryosit ve osteoklastlarda farklılaşmaya yol açarken böbrek mesangial hücreleri için büyüme faktörü etkisi gösterir (Hori ve ark., 1989).

Glioblastlar ya da astrositlerin IL-1 ile uyarılmaları sonucu, IL-6 m-RNA'sının ekspresyonunun indüklendiği saptanmıştır. Bu da IL-6'nın sinir hücreleri üzerinde etkili olabileceği sonucunu doğurmaktadır (Diab ve Zhu, 1997).

IL-6'nın immunoregulator etkilerinden dolayı iskelet kas hücrelerine, adipositlere, hepatositlere, pankreatik hücrelere ve nöroendokrin hücrelere direkt veya indirekt etki göstererek glikoz homeostazisi üzerinde rol oynadığı ileri sürülmüştür (Kristiansen ve Mandrup-Poulsen, 2005).

D. İnterlökin-10

IL-10 molekül ağırlığı 18kD olan, 160 amino asitten oluşan bir sitokindir. % 60 oranında α -heliks yapıdadır.



Şekil 14. İnsan IL-10 sitokini üç boyutlu gösterimi (Mire-Sulius ve Thorpe, 1998).

IL-10 monositler üzerindeki intersellüler adezyon molekülünün (ICAM-1) belirginleşmesini inhibe eder. B lenfosit farklılaşmasına neden olur ve uyarılmış B lenfositler büyük miktarda IgG, IgA ve IgM salgılar. Morfolojik olarak plazma hücresine benzeyen uyarılmış B lenfositleri anti CD40'ın farklılaşmasına neden olurlar. TGF β ile sinerjist etkilidir ve IgA dönüşümünde rol oynar. IL-10 ve diğer TH₂ sitokinleri kronik GVH reaksiyonunda artarlar. IL-10 hücrel immünitenin inhibisyonunu gerektiren durumlarda tedavi amaçlı kullanılabilir. IL-10 genel proinflamatuvar sitokinleri ve APC fonksiyonunu inhibe ederken, B hücrelerinin plazmositlere dönüşümüne neden olmaktadır. IL-10, IL-4 ve IL-13 ile birlikte fibrinojen biyosentezini baskılayarak koruyucu bir vasküler etki sağlar (Baykal ve ark., 1998; Mys'liwska ve ark, 2005).

2.4.4. Sitokinler ve Diabetes Mellitus

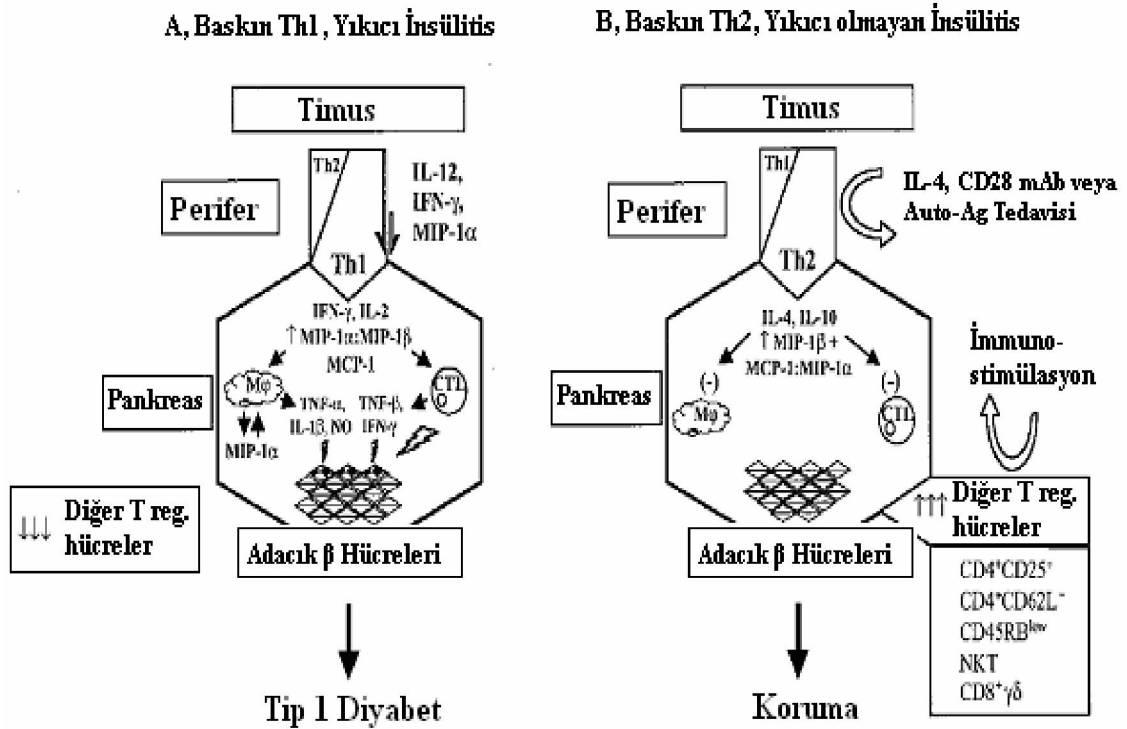
Sitokinlerin başta tip I diyabet olmak üzere Diabetes Mellitus patojenezinde kritik roller üstlendiğini gösteren birçok çalışma mevcuttur (Altınova ve ark., 2006; Rabinovitch ve ark., 1996; Rapoport ve ark., 1998).

Genetik ve çevresel faktörler, pankreasın adacık hücrelerine karşı otoimmün sürecin başlamasında tetikleyici unsurlar olarak gösterilmektedirler. Otoimmün süreç ile

birlikte pankreasın adacık hücrelerinde süregelen ve yavaş progresyonlu yıkım ile birlikte insülin sekresyonu azalmaktadır. Ancak, hücrel immün yanıtın tip I diyabet oluşumundaki rolü tartışmalıdır (Abacı ve ark., 2007).

Sitokin sekresyon profillerine göre aktive $CD4^+$ T hücreleri T helper (Th) 1 ve Th2 alt kategorilerine ayrılmıştır. Günümüzde insan ve hayvanlar üzerinde yapılan çalışmalarda otoimmün diyabetin immün sistemde Th1 tip sitokinler ile Th2 tip sitokinler arasındaki dengesizlikle ilişkili olduğu görüşü savunulmaktadır. (Fidan ve ark., 2005; Bilgiç ve ark., 2008).

Th1 sitokinlerinin (IFN- γ , IL-2, TNF- β) hücrel immün yanıt oluşumunda, imflamasyonda ve tip I diyabet ile diğer bazı otoimmün hastalıkların meydana gelmesinde etki gösterdiği ileri sürülürken Th2 sitokinlerinin (IL-4, IL-10) humoral immün yanıt oluşumunda ve imflamatuvar Th1 hücre oluşumunun azaltılarak düzenlenmesinde etki gösterdikleri, bunun sonucu olarak da tip I diyabet oluşumunu engelleyici rol oynadıkları düşünülmektedir (Santamaria, 2003).



Şekil 15. Th1 ve Th2 hücreleri arasındaki dengenin tip I diyabet oluşumuna veya önlenmesine etkisi (Santamaria, 2003).

IL-1 pleotropik etki gösteren, inflamatuvar işlemlerin neden olduğu otoimmün hastalık da dahil olmak üzere birçok biyolojik yanıt ile ilişkili olduğu düşünülen multifonksiyonel bir sitokindir. IL-1 pankreatik adacıkların yıkıcı inflamasyonunda önemli rol oynar. IFN- γ ve TNF- α ile birlikte β hücrelerine direkt olarak sitotoksik etki gösterir. Bu da NO gibi apoptosisin sitotoksik faktörleri mediatörlerinin salınımına neden olmalarından kaynaklanabilir. IL-1 indüklenebilir NO sentaz (iNOS) ekspresyonunu stimüle eder ve IFN- γ adacıkların böyle bir etkiye karşı hassasiyetini artırır (Heitmeier ve ark., 1997).

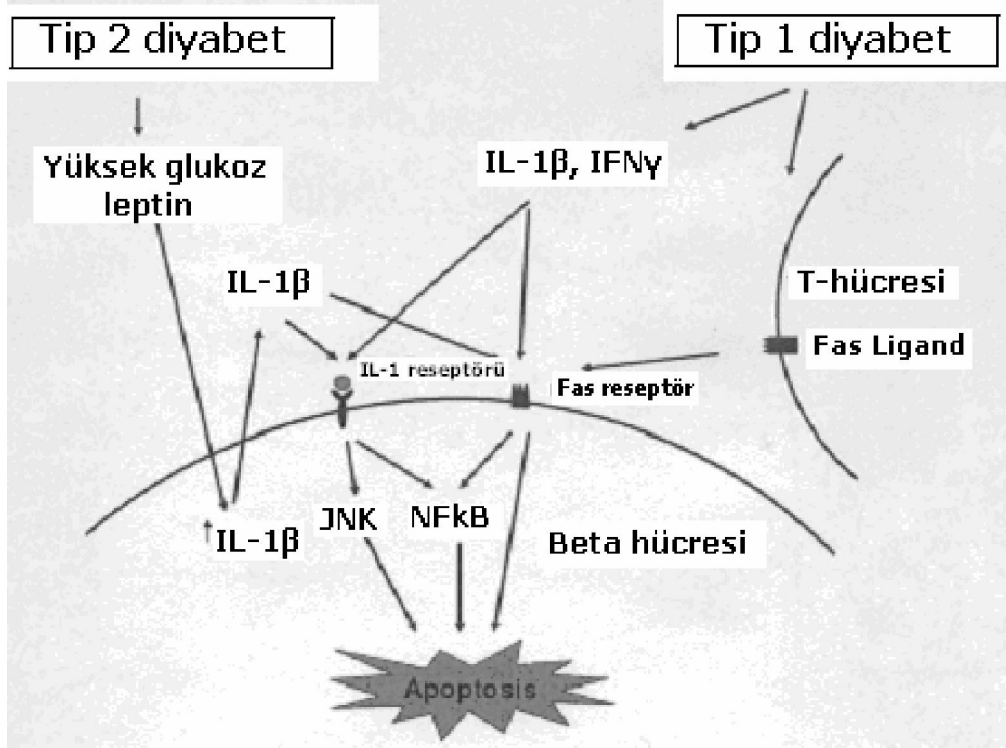
IL-2; B hücresi, NK hücresi ve T hücresi aktivasyonunu, ayrıca T hücresi gelişimini de sağlayan bir çok biyolojik yanıtla ilişkili proinflamatuvar bir sitokindir. İnsanlarda tip I diyabete yatkınlığın IL-2'nin reseptörlerinden biri olan IL2RA reseptörünün gen kodlanmasındaki kalıtsal polimorfizmden kaynaklandığı ileri sürülürken, IL-2 aktivitesindeki hangi varyasyonların, adacıklara özgü T hücrelerinin kontrolünü nasıl etkilediği ile ilgili çok az bilgi mevcuttur (Liston ve ark., 2007).

Hem tip I DM'un hem de komplikasyonlarının gelişiminde inflamasyonun önemli yeri olduğu bilinmektedir. TNF- α ve IL-6 mononükleer hücrelerden salınan proinflamatuvar sitokinlerdir. TNF- α 'nın endotel hücresi morfoloji ve davranışındaki değişiklikleri indüklediği, sitokin sentezi ve ekstrasellüler matriks proteinlerini stimüle ettiği yönünde çalışmalar rapor edilmiştir. IL-6'nın ise her iki tip diabetin gelişimindeki olaylara katkıda bulunduğu, pankreatik beta hücreleri üzerinden glikoz dengesi ve metabolizmasına etkileri olduğu yönünde bulgular mevcuttur. Öte yandan hem TNF- α hem de IL-6'nın tip I diyabet patogenezinde rolü olduğu, ayrıca bu iki sitokinin diabetik mikrovasküler komplikasyonlarla ilişkili olabileceği bildirilmektedir (Altınova ve ark., 2006).

IL-10'un immunoregülatör bir sitokin olduğunun bilinmesine karşın tip I diyabet patojenezindeki rolü tam olarak anlaşılamamıştır. Yapılan bir çalışmada 9-10 haftalık isülitis başlangıcı olan bebeklere rekombinant IL-10 veya sistemik IL-10 gen tedavisi uygulandığında tip I diyabete karşı koruyucu özellik taşıdığı gösterilmiştir (Nitta ve ark., 1998).

Son zamanlarda sitokinlerin tip II diyabet oluşumunda da etki gösterdiği öne

sürülen çalışmalar mevcuttur (Spranger ve ark., 2003). Burada yüksek glikoz ve leptin düzeylerinin IL-1 β uyarımını tetikleyerek β hücre apoptozisine neden olduğu ileri sürülmektedir (Donath ve ark., 2005).



Şekil 16. Tip I ve tip II diyabet oluşumunda β hücre yıkımında rol oynayan bazı sitokinlerin ileri sürülen etki tarzları (Donath ve ark., 2007).

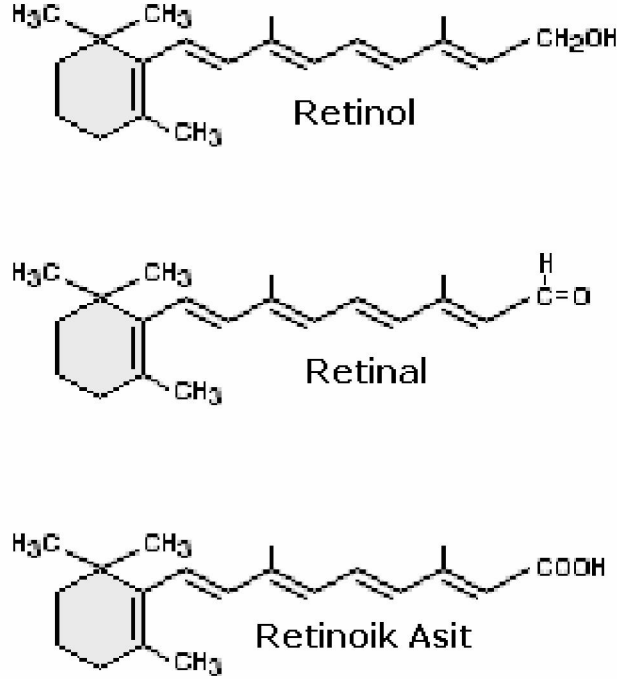
2.5. Vitaminler

Vitaminler özel hücresel fonksiyonların yerine getirilmesinde vücudun eser miktarlarda gerek duyduğu organik bileşiklerdir. Vitaminler çözünürlüklerine göre; yağda ve suda çözünen vitaminler olmak üzere iki grupta toplanırlar (Champe ve Harvey, 1997).

2.5.1. Vitamin A (Retinol)

Vitamin A siklohekzenil halkası taşıyan bir poliizopren bileşiğidir. A vitamininin serbest şekli, yani retinol, balık karaciğeri yağı, tereyağı ve yumurta sarısında bol miktarda bulunur. Retinol molekülünün ucundaki alkol grubu vücutta

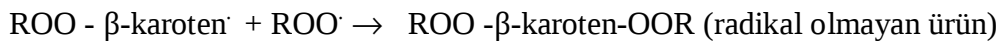
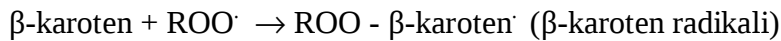
okside olarak aldehide (retinal) veya karboksilik grup ile yer değiştirerek retinoik asit haline dönüşebilmektedir (Köksal, 2001). Bu gruplar farklı biyolojik fonksiyonlar gösterebilirler.



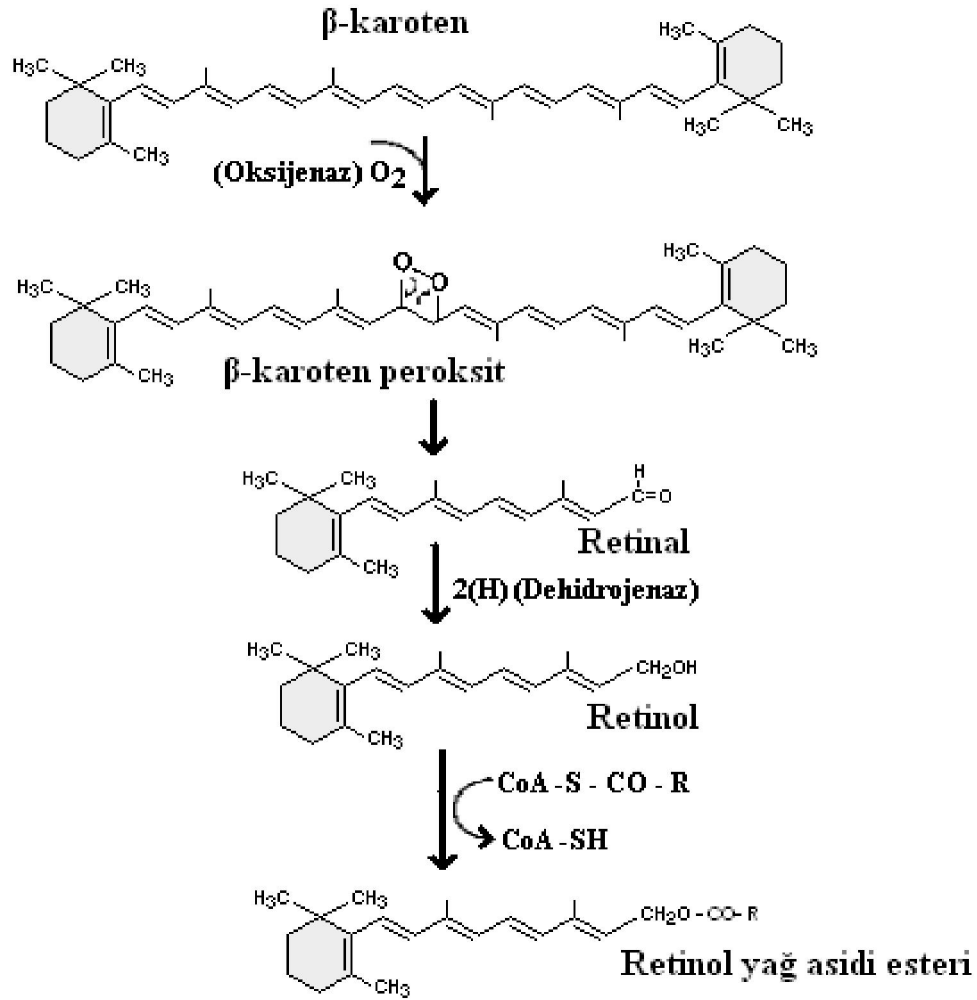
Şekil 17. Retinol, retinal ve retinoik asit moleküllerinin kimyasal yapısı (Bates, 1995).

β -karoten (ve bir dereceye kadar diğer karotenler) A vitamininin provitaminidir. Karotenler, havuç ve yeşil bitkilerde bulunur. β -Karoten, oksijenaz enzimiyle 2 retinal molekülüne bölünür, sonra retinole indirgenir. β -Karoten dışındaki alfa ve gama karotenoidlerden ancak bir molekül retinol yapabilmektedir. Birkaç karotenoid pigment ise retinola dönüştürülememektedir. Bu reaksiyon fare, koyun ve keçide barsak mukozasında olur, insanda ise karaciğerde gerçekleşir. Oluşan retinol, yağ asitleriyle esterleşerek, retinol esteri halinde karaciğerde depo edilir (Tüzün, 1993).

Karotenoidlerin yapısındaki konjuge çift bağlar antioksidan aktiviteden sorumludur. Son derece güçlü bir singlet O₂ temizleyicisi olan β -karoten ayrıca hidroksil, peroksil ve alkoksil radikalleriyle de doğrudan reaksiyon vererek lipid peroksidasyonunun zincir reaksiyonunu önleyebilir (Di Mascio, 1991).



Tabiatta iki yaygın şekliyle bulunan A vitamininin memeli dokularında ve deniz suyu balıklarında bulunan şekli A₁ vitamini veya retinol, tatlı su balıklarında bulunan şekli ise A₂ vitamini veya retinol₂ olarak adlandırılır. Her ikisi altı üyeli bir karbon halkası ve 11 karbonlu bir yan zincirden ibarettir. Ancak A₂ vitamininde, halkanın 3 ve 4 nolu karbon atomları arasında ek bir çift bağ bulunur (Keha ve Küfrevioğlu, 1997).



Şekil 18. β karotenin bölünme ve indirgenme basamakları (Bates, 1995).

Vitamin A'nın karaciğere taşınımı için, diyetle bulunan retinol esterleri ince barsak mukozasında hidroliz edilir ve retinol ile serbest yağ asitleri oluşur. Esterlerden ve β-karotenlerin kırılması ve indirgenmesi sonucu oluşan retinol, ince barsak mukoza hücresinde uzun zincirli yağ asitleriyle tekrar esterleştirilir ve lenfatik sisteme şilomikronların bir bileşeni olarak verilir. Şilomikronlardaki retinol esterleri karaciğer

tarafından alınır ve depolanır. Gerek duyulduğunda retinol karaciğerden salınır ve plazma retinol-bağlayıcı protein (RBP) tarafından karaciğer dışı dokulara taşınır. Retinol-RBP kompleksi çevre doku hücrelerinin yüzeyinde bulunan ve retinolün hücre içine girmesini sağlayan özel reseptörlere bağlanır. Dokuların çoğu, retinolü çekirdek bölgesine taşıyan hücresel retinol-bağlayıcı protein içerir. Retinol burada, bir bakıma steroid hormonlar gibi hareket eder (Bayşu ve Bayşu Sözbilir, 2008).

A vitamini, çomak ve koni hücrelerindeki görme pigmentlerinin bir bileşenidir. Retinadaki çomak hücrelerinin görme pigmenti olan rodopsin, opsin proteinine özel olarak bağlanmış olan 11-cis retinal'den oluşur. Rodopsin ışığa maruz kaldığında, görme pigmentinin renksizleşmesiyle sonuçlanan bir dizi fotokimyasal izomerizasyonlar olur ve all-trans retinal ile opsin salınır. Bu işlem bir sinir uyarısına sebep olur ve uyarı optik sinirle beyine taşınır. Rodopsinin rejenere olması, all-trans retinalin tekrar 11-cis retinale izomerizasyonunu gerektirir. Rodopsinden salındıktan sonra trans retinal, 11-cis retinale izomerleştirilir, bu da rodopsini oluşturmak üzere kendiliğinden opsinle birleşir, böylece döngü tamamlanır. Benzer reaksiyonlar, koni hücrelerinde renkli görmeden sorumludur (Dökmenci, 2000).

A vitamini eksikliğinde epitel hücrelerinin gelişmesi ve farklılaşması bozulur. Bazal hücreler proliferer olur, ama daha yüzeysel hücreler gelişemez. Deri kepeklenir ve kurur. Kıl follikülleri kabarık ve belirgin bir hal alır. El derinin üzerinde gezdirilirse kuru, pürüklü bir deri hissedilir. Benzer bozukluklar mukozalarda da görülür. Mukozanın üst tabakalarındaki kirpiksi ekler (ciliae) kalmadığı için özellikle bronş ağacındaki salgılar dışarı atılamaz, birikir ve mikroplarla enfekte olur. Sindirim kanalı mukozası atrofiye olur, emilim bozuklukları, ishaller görülür (Champe ve Harvey, 1997).

Gözde skleraları örten konjonktiva epiteli bozulur. Üst tabakalardaki hücreler yassılaşarak birbiri üzerine yığılır, canlılıklarını yitirir. Konjonktiva kurur, parlaklığı azalır. A vitamini eksikliği uzun sürerse kornea bozulabilir, yumuşayabilir (keratomalasi), üzerine enfeksiyon da eklenince korneada yaralar açılarak kornea delinebilir ve körlük ortaya çıkar. Kemiklerde A vitamini osteoklastik aktive için gereklidir. Eksikliğinde osteoklastik aktive durur. Kemiğin rezorpsiyonu azalır. Kemikler kalınlaşır; beyine, kemiklerden geçen sinirlere, optik sinire ve spinal sinirlere

basılar ortaya çıkabilir (Sencer, 1987).

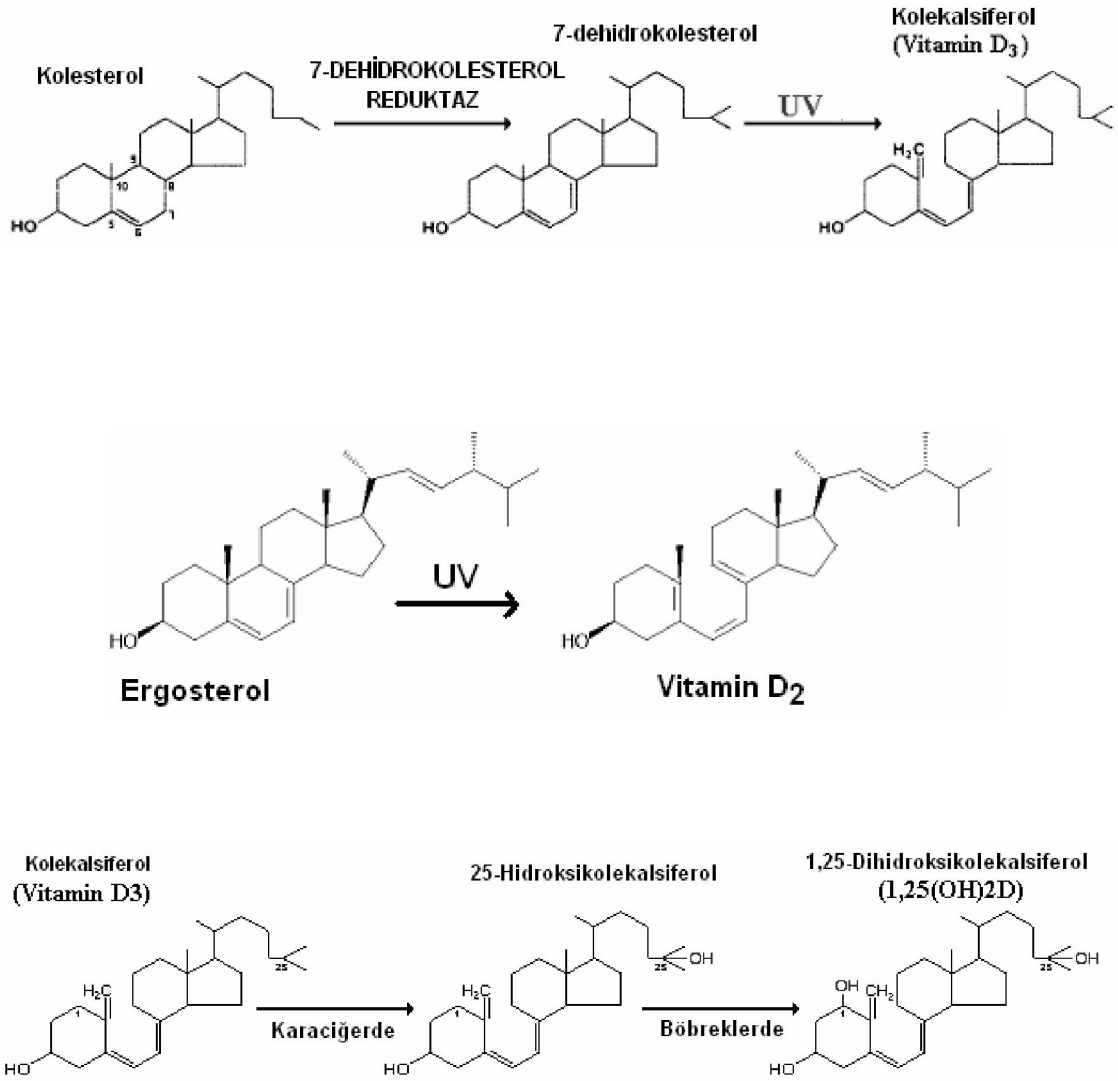
Retinol ve retinal, normal üreme için temeldirler. Erkeklerde spermatogenezi destekler ve kadınlarda fetüsün rezorpsiyonunu engellerler. Retinoik asit görme ve üreme fonksiyonunda etkisizdir ancak, büyüme ve epitel hücrelerinin farklılaşmasında etkindir. Bu nedenle doğumdan itibaren yalnızca retinoik asit şeklinde A vitamini verilen hayvanlar kör ve kısırdırlar (Champe ve Harvey, 1997).

2.5.2. Vitamin D₃ (Kolekalsiferol)

Yağda ve organik çözücülerde eriyen vitamin D, suda erimez. Sterollerden türeyen vitamin D'nin kolekalsiferol (vit D₃) ve ergokalsiferol (vit D₂) olmak üzere iki tipi vardır. Vitamin D₂'nin provitamini ergosterol, vitamin D₃'ün ise 7-dehidrokolesterol'dür. Vitamin D₂, bitki ve mayalarda, vitamin D₃ ise hayvansal dokularda bulunur. Hayvansal dokularda bulunan D₃ kolesterolden, bitkisel olan vitamin D₂ ise ergosterolden sentezlenmektedir.

7-dehidrokolesterol hayvanlarda kolayca sentezlenir. Bu maddenin vitamin D₃ haline dönüştürülmesi ultraviole ışık etkisi ile deri altında olmaktadır. Bitkilerde bulunan ergosterol de ultraviole ışığın etkisi ile bitkilerde vitamin D₂'ye dönüşür. Besinlerle alınan ergosterolün vitamin D olarak değeri yoktur. Ancak besinler alınmadan evvel ultraviole ışık etkisi ile vitamin D₂ şekline dönüşürse vitamin D etkisi gösterir ve bağırsaklardan emilimi de gerçekleşir. Bitkisel steroidlerden vitamin D₃'ün provitamini olan 7-dehidrokolesterol ise, insan ve hayvanların yiyeceklerinden sağlanır. Vitamin D₃ hayvansal dokularda bulunur ve deride ışığın etkisi ile 7-dehidrokolesterolinden sentezlenir. Vitamin D₃, karaciğer ve böbreklerde aktif formu olan 1,25-dihidroksi kolekalsiferol haline dönüşür (Kalaycıoğlu, 2000).

1,25-dihidroksi kolekalsiferolün fonksiyonu yeterli plazma kalsiyum düzeyini sürdürmektir. Bu fonksiyonlar; ince barsaktan kalsiyum emilimini arttırarak, böbrekten kalsiyum kaybını azaltarak ve gerek duyulduğunda kemik rezorpsiyonunu uyarak sağlanır (Montgomery ve ark., 1996).



Şekil 19. Vitamin D₂ ve vitamin D₃ oluşumu, vitamin D₃'ün 1,25-dihidroksikolekalsiferol'e dönüşümü (Anonim, 2008a).

1,25-dihidroksi kolekalsiferol, ince barsaktan kalsiyum ve fosfat emilimini uyarır. 1,25-dihidroksi kolekalsiferol ince barsak hücrelerinde sitozolik bir reseptöre bağlanır. Daha sonra 1,25-dihidroksi kolekalsiferol-reseptör kompleksi çekirdeğe hareket eder ve burada seçici olarak hücresel DNA ile etkileşir. Sonuçta, özel bir kalsiyum-bağlayıcı proteinin sentezi uyarılarak kalsiyum emilimi artırılır. Böylece 1,25-dihidroksi kolekalsiferolün etki mekanizması, steroid hormonların etki mekanizmasına benzerlik gösterir (Montgomery ve ark., 1996).

1,25-dihidroksi kolekalsiferol, protein sentezi ve PTH varlığına gerek duyulan bir işlem aracılığıyla kemikten kalsiyum ve fosfat salınmasını uyarır. Sonuç, plazma

fosfat ve kalsiyum düzeyinde artmadır. Bu nedenle kemikler, plazma kalsiyum düzeyinin sürdürülmesinde önemli bir kaynaktır (Champe ve Harvey, 1997).

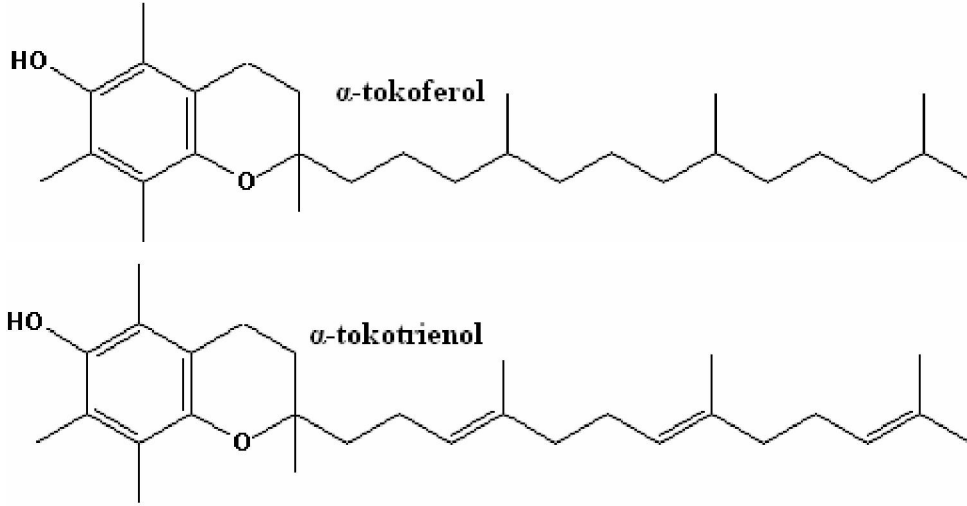
Bu etkilerinin yanında, 1,25-dihidroksi kolekalsiferolün T hücre aktivasyonunu inhibe ettiği (Thembreau, 1995) ve otoimmün hastalıkların patogenezi ile ilgili oldukları düşünülen IL-1, IL-2, IL-6, IL-12, TNF ve interferon- γ gibi bazı sitokinlerin sekresyonunu inhibe ettiği bildirilmektedir (Flores, 2005).

2.5.3. Vitamin E (α -Tokoferol)

İlk kez 1922 yılında Evans ve Bishop tarafından keşfedilmiş olan vitamin E, dişi farelerin üremeleri için gerekli bir mikrobesein olarak tanımlanmıştır. Doğal vitamin E tokoferol ve tokotrienollerin (α , β , δ , γ tokoferoller ve α , β , δ , γ tokotrienoller) karışımı olarak bulunur. Tokoferol ve tokotrienoller, 6-hidroksi kroman halkasına izoprenoit yan zincirlerinin katılması ile elde edilir. Tokoferoller, 16 karbon içeren doymuş bir izoprenoit yan zincir ve kroman halkasının 2', 4' ve 8' pozisyonlarda CH₃ grubu bulunurken, tokotrienollerin, 3', 7', 11' pozisyonlarında doymamış yan zincir bulunur. α , β , δ , γ adları ise bu gruplardaki aromatik halkaya bağlanan metil gruplarının bulunduğu yer ve sayısına bağlı olarak verilir. Moleküldeki alifatik yan zincir non-polar olduğu için tokoferoller suda çözünmezler (Kalaycıoğlu ve ark., 2000).

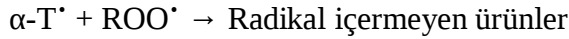
Besinler içinde en fazla bulunan ve en güçlü vitamin E etkinliği gösteren türev α -tokoferol'dur. Bu madde doğal olarak D izomeri halinde bulunur. Vitamin E, tahıl tanelerinde, mısır yağı, pamuk yağı, soya yağı ve diğer bitkisel sıvı yağlarda ve bunlardan yapılan margarinlerde, et, hayvansal yağ, karaciğer, balık eti, tavuk eti ve yumurtada bulunmaktadır (Machlin, 1991).

Vitamin E'nin bağırsaklardan emilebilmesi lipidlerin ve safranın varlığına bağlıdır. Vitamin E, ince bağırsakların üst kısmından emilir ve lenf içerisinde şilomikronlarla taşınır. Karaciğer, plazma ve yağ dokularında yüksek oranda vitamin E bulunur. Tokoferollerin hızlı bir biçimde değişimi eritrosit membranları ve plazma lipoproteinleri arasında olmaktadır. Vitamin E normal sınırlar içerisinde verilirse idrarla bir miktar atılır. İdrar ile atılan formu quinoik tokoferonik asit ve hidroquinoik formunun β -glukronid konjugatıdır (Karagül ve ark., 2000).



Şekil 20. α -tokoferol ve α -tokotrienol yapıları (Anonim, 2008b).

Vitamin E'nin en belirgin özelliği 6. karbon atomundaki fenolik hidroksil grubu sayesinde gösterdiği antioksidan aktivitedir.



Özellikle mitokondri, endoplazmik retikulum ve plazma membranı gibi doymamış yağ asitleri bakımından zengin hücre membranlarını lipid peroksidasyondan koruyan merkezi bir role sahiptir.

Membranlar içinde bulunan doymamış yağ asitlerinin oksitlenmesini önleyen vitamin E, membranlarda meydana gelebilecek yıkımlanmayı önlemektedir. Membranda bulunan fosfolipidlerin doymamış yağ asitleri bölümü, flavoprotein oksidaz tarafından oluşturulan hidrojen peroksit üretimiyle oksitlenir. Evcil veya deney hayvanlarında öncelikle ortaya çıkan bozukluklar, embriyo, böbrek, karaciğer, pankreas, yumuşak doku ve iskelet kaslarında görülür. Oksidasyon esnasında ortaya çıkan süperoksit, diğer radikaller ve peroksit, membran enzimleri sitokrom P 450 oksidaz ve ksantin oksidaz tarafından katalizlenir ve diğer proteinlerle serbest radikalleri oluştururlar. Bu serbest radikaller daha sonra mitokondriyel, mikrozomal ve hücre membranları fosfolipidlerinin doymamış yağ asitlerini okside ederek bozuklukların ortaya çıkmasına neden olur (Kalaycıoğlu ve ark., 2000).

Antioksidan özelliğinden dolayı, kanser ve kalp hastalığının önlenmesi

bakımından önemli olduğu düşünölmekte ve bu konuda pek çok çalışmalar yapılmaktadır. Kalp hastalığı oluşum riskini azaltmasına dair yapılan çalışmalarda, belli oranda vitamin E alınması halinde, kalp krizi görölme sıklığının azaldığı ortaya konulmuştur. Bu etkinin, kalp hastalığının ilerlemesine neden olan LDL oksidasyonunu azaltarak ortaya çıktığı düşünölmektedir (Miller ve ark., 1993).

E vitamini selenyum metabolizmasında da önemli rol oynar. Selenyum E vitamininin lipoproteinler içinde tutulmasına yardımcı olur. E vitamini ise selenyumun organizmadan kaybını önleyerek veya onu aktif şekilde tutarak selenyum ihtiyacını azaltır (Wuryastuti ve ark., 1993).

Vitamin E, hücre için antioksidan madde olarak bilindiği halde diğer rollere de sahiptir. Tromboksan, prostaglandinler ve prostasiklin gibi birçok bileşiğin ilk kaynağı olan araşidonik asit metabolizmasında önemli role sahiptir. Araşidonik asit metabolizması sırasında reaktif oksijenlerin üretimi artar. Reaktif oksijen, fagositoz olayı ile patojenlerin tutulması ve öldürölmesinde işe yarar ve bu fagositoz sonucunda peroksitler oluşur. Oluşan bu yapılar fagositozun daha hızlı ilerlemesini sağlarken diğer taraftan hücre ve doku bütönlüğü açısından tehlike arzeder. Bu durum ise hücresel savunmayı bloke eder. α -tokoferol buradaki olumsuz mekanizmaları peroksit oluşumunu önlemek suretiyle durdurur ve hücresel savunmanın devamlılığını sağlar. Vitamin E'nin antikanserojenik etki gösterdiği ve DNA sentezinde rolü olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca, vitamin E, C ve β -karoten ile birlikte katarakt oluşumunu önlemede görev alır. Hücre çoğalması üzerinde etkilidir (Montgomery ve ark., 1996).

İmmün fonksiyonlar üzerinde vitamin E'nin önemli etkileri vardır. Özellikle yardımcı T hücre (T helper-Th) sayılarını ve aktivitelerini artırıcı etkileri son yıllarda tespit edilmiştir. Hüморal immünite üzerine de benzeri etki yaparak B lenfositleri uyarır ve immunoglobulin sentez hızını artırır (Champe ve Harvey, 1997; Kalaycıoğlu ve ark., 2000).

2.5.4. Vitaminler ve Diabetes Mellitus

Tip I diyabet, aktive T lenfosit ve monositlerin pankreasın Langerhans adacıklarına infiltrasyonu ile immün sistemin insölün üreten beta hücrelerinde yıkıma

yol açması sonucu oluşur. Vitamin A ve diğer antioksidanların immün sistemi düzenlediği bilinmektedir. Vitamin A'nın tip I diyabet üzerindeki baskılayıcı etkisini ortaya koymak için fareler üzerinde yapılan bir çalışmada vitamin A tüketiminin tip I diyabet oluşumunun önlenmesinde etkili olduğu, bunu da TNF- α gibi otoimmün diyabet oluşumunda etki gösterdiği ortaya konan sitokin düzeylerini azaltarak sağladığı ileri sürülmektedir (Zunino ve ark., 2007).

Obez olmayan diyabetik (NOD) farelerde yapılan çalışmalarla tip I diyabet oluşumu riski üzerine vitamin D'nin etkisini gösteren güçlü kanıtlar ortaya konmuştur. NOD farelerdeki deneysel hastalık patogenezi insanlarda olduğu gibi β hücrelerinin otoimmün yıkımı şeklinde gerçekleşir. Vitamin D'nin aktif formu olan 1,25-dihidroksi kolekalsiferol (1,25(OH) $_2$ D) farmakolojik dozlarda uygulandığında diyabet oluşumunu engellediği gözlenmiştir (Mathieu ve ark., 1994). Daha sonraları yapılan bir çalışmada ise vitamin D eksikliği bulunan NOD farelerde kontrol grubuna göre daha erken yaşta diyabet oluşumunun meydana geldiği saptanmıştır (Giulietti ve ark., 2004). Avrupa'da insanlar üzerinde yapılan birkaç gözleme dayalı araştırmada bebeklerde vitamin D ilavesinin tip I diyabet oluşumunu engellemede önemli bir etkiye sahip olma olasılığının yüksek olduğu bildirilmiştir (Harris, 2005).

Knekt ve arkadaşları yaptıkları çalışmada yüksek antioksidan özelliğe sahip olduğu bilinen vitamin E'nin vücutta düşük düzeyde bulunma durumunun tip I diyabet için potansiyel bir risk faktörü oluşturduğu görüşünü ileri sürmüşlerdir (Knekt ve ark., 1999). Yapılan in vitro çalışmalarla vitamin E'nin periferik doku ve hücreleri serbest radikallerin yol açtığı hasara karşı koruyarak insülin etki ve salgılanmasının düzenli bir şekilde gerçekleştirilmesini sağladığı gösterilmiştir (Tajiri ve Grill, 1999). Hayvan modellerinde, reaktif serbest radikallerin diyabet oluşumuna neden olabildikleri gösterilmiş olup, vitamin E'nin oluşan oksijen radikallerini süpürerek diyabet oluşumunu önlediği ileri sürülmüştür (Murthy ve ark., 1992; Beales ve ark., 1994).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereç

3.1.1. Hayvan materyali

Araştırmanın canlı materyali Van Sağlık Meslek Yüksek Okulu'nda yetiştirilen ortalama 180-210 gr ağırlığında 7-8 haftalık 40 adet erkek Wistar Albino cinsi rattan oluşturuldu. Streptozotosin (STZ) uygulanan 25 rat diyabetik grup, kalan 15 rat ise kontrol grup için kullanıldı.

3.1.2. Kullanılan alet ve malzemeler

Vakumlu tüp,

Ependorf tüp,

Soğutmalı santrifuj (Heraeus Sepatech Minifuge RF),

Hassas terazi (Bosch S 2000),

Ayarlanabilir otomatik pipetler (Socorex, Swiss)

Derin dondurucu (Uğur),

Mikro Elisa cihazı (Grifols Triturus)

Yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) (Agilent 1100 serisi, Germany)

HPLC kolonu (C-18, 250x4,6 mm, Ace, Scotland)

HPLC enjektörü (Hamilton, 50 µl)

Vorteks (NM 110, Nüve)

Azot gazı tankı

Serum saklama tüpleri

Plastik santrüfuj tüpleri

Biosensor şeker ölçüm cihazı ve stripleri (PlusMED Accuro)

3.1.3. Kimyasal maddeler

Streptozotosin (Sigma)

Retinol asetat standardı (Sigma)
 α - tokoferol standardı (Sigma)
Kolekalsiferol (Fluka)
Etanol (C₂H₅OH) (Merck)
Sodyum klorür (NaCl) (Merck)
Sodyum asetat (CH₃COONa) (Merck)
Metanol (CH₃OH) (Merck)
n-Hekzan (C₆H₁₄) (Merck)
Rat IL 1 β kit (Biosource, California, USA)
Rat IL 2 kit (Biosource, California, USA)
Rat IL 6 kit (Biosource, California, USA)
Rat IL 10 kit (Biosource, California, USA)

3.2. Yöntem

3.2.1. Diyabet Oluşturma

Deneme grubundaki 25 adet rata steril 0,1 M soğuk sitrat tampon çözeltisi (pH 4,5) içinde çözülmüş 45 mg/kg STZ, intraperitoneal enjeksiyonla verildi (Karabay ve ark., 2006). Solüsyon 200 gr hayvan ağırlığı için 9mg/ml STZ uygulamasını gerçekleştirecek şekilde hesaplanarak hazırlandı. 15 rattan oluşan kontrol grubuna da aynı stresi yaşamaları amacıyla steril 0,1 M soğuk sitrat tampon çözeltisinden birer ml intraperitoneal enjeksiyonla uygulandı. Glikoz düzeyleri, STZ enjeksiyonundan 48 saat sonra kuyruk venlerinden alınan kan örneklerinde PlusMED Accuro marka biosensor şeker ölçüm cihazı ve stripleri vasıtasıyla saptandı. Kan glikoz düzeyi STZ uygulanan ratlarda 230–390 mg/dl arasında bulunarak diyabet olduğu kesinleştirildi. Aynı yöntemle kontrol grubunda da ölçüm yapılmış ve kan glikoz düzeyleri 85 –110 mg/dl arasında bulundu.

3.2.2. Kan örneklerinin alınması

Deneme sonunda eter anestezi altındaki ratların kalplerinin sol ventrikülünden 10 cc'lik vakumlu cam tüplere kan örnekleri alındı. Ratlardan alınan bu kan örnekleri

3000 devirde 5 dk. santrifüj edildikten sonra elde edilen serumlar, vitamin ve sitokin analizlerinde kullanılmak üzere ependorf tüplere alınarak ayrıldı. Ardından analizlerin yapılacağı tarihe kadar derin dondurucuda 70°C’de muhafaza edildi.

3.2.3. Serum sitokin düzeylerinin ELISA yöntemi ile analizi

Prensip:

ELISA yönteminde testte kullanılan içerik ve yöntem aynıdır. Sadece kullanılan solüsyonlar aranılan markıra spesifik etki gösterir. ELISA yöntemi özgül antijen-antikor bağlanmasını göstermek amacıyla enzimle işaretli konjugat ve enzim substratı kullanılarak renklendirilmesi esasına dayanır. Antijen ve antikor bağlanması özgül olduğu için elde neye özgü olduğu bilinen antijen var ise bununla örnekteki antikorun varlığı, tipi ve miktarı; antikor var ise bununla da örneklerdeki antijen varlığı ve miktarı saptanabilir. Mikro ELISA yöntemi basamakları şu şekilde özetlenebilir:

1. Katı faz olarak polistren plaklar kullanılabilir. Katı faza bilinen bir antijen bağlanır. Katı faza antijen bağlandığı için hazırlanan ELISA plağı ile serum örneklerinde bu antijene özgül antikor varlığı araştırılır.

2. Antijen bağlı çukurlara serum örnekleri eklenerek oda ısısında belirli bir süre bekletilir. İnkübasyon sonunda çukurlara eklenmiş olan serum örnekleri dökülerek çukurlar tamponlanmış sıvı ile yıkanır. Çukura eklenen serum içerisinde özgül antikor var ise katı fazdaki antijene bağlandığı için yıkama işlemi ile ortamdan uzaklaştırılmaz. Çukura eklenen serum örneğinde özgül antikor yok ise katı fazdaki antijene bağlanma olmaz ve yıkama işlemi ile eklenen serum örneği tamamen temizlenmiş olur.

3. Katı fazdaki antijene bağlanmış olan IgG yapısındaki antikoru saptamak amacı ile çukurlara Fc kısmı enzim ile işaretli anti-IgG antikoru eklenir. Katı fazdaki antijene bağlanmış olan IgM yapısındaki antikorları saptamak için ise üzerinde enzim ile işaretli anti-IgM antikoru eklenir. Enzim ile işaretli anti-IgG veya anti-IgM antikorları konjugat olarak tanımlanır. Konjugat yapısına eklenen enzim genellikle peroksidazdır. Ancak alkalen fosfat, glikoz oksidaz, β D-galaktozidaz gibi başka

enzimler de işaretleme için kullanılmaktadır. Bu aşamada çukurlara konjugat eklendikten sonra plak belirli bir süre bekletilir. İnkübasyon sonunda çukurlara eklenen konjugat dökülür ve tamponlanmış su ile birkaç kez ikinci yıkama işlemi yapılır. Eklenmiş olan konjugat katı fazdaki antijene bağlanmış olan özgül antikora bağlandığı için ikinci yıkama işlemi ile çukurdan uzaklaştırılmaz.

4. İkinci yıkama işlemi sonrasında ortama bağlı kalan konjugatın gösterilmesi amacıyla çukurlara konjugattaki enzime uygun substrat ve reaksiyonun görünür hale gelmesi için kromojen içeren karışım eklenir. Örneğin konjugattaki enzim peroksidaz enzimi ise enzim substratı olarak ortofenilen diamino benzidin (OPD) veya tetrametil benzidin (TMB) gibi kromojen madde içeren hidrojen peroksit kullanılır. Çukurlara eklenmiş renksiz enzim substratı belirli bir süre sonrasında konjugattaki enzimin etkisiyle renklenir. Örneğin enzim substratı kullanılan H_2O_2 +OPD karışımı sarı renge dönüşür. Enzim aktivitesini durdurmak amacıyla H_2SO_4 eklenir ve oluşan rengin koyuluğu (optik dansitesi) ELISA okuyucusunda uygun filtre kullanılarak değerlendirilir. Çukurlarda oluşan rengin koyuluğu serum örneğindeki antikorun miktarı ile doğru orantılıdır. Serumda katı faza bağlı antijene özgül antikor yoksa, 3'üncü aşamada eklenen konjugatın ortamda bağlı kalması mümkün olamayacağı için ikinci yıkama işlemi ile atılır ve çukura enzim substratı eklendiği halde renklenme olmaz. Plaktaki bazı çukurlara miktarı bilinen standart antikor eklenirse, bu çukurlardan elde edilen optik dansite eğrisi ile içeriği bilinmeyen örneklerdeki antikor miktarı saptanabilir (Kıyan ve Ustaçelebi, 1999).

Serum IL-1 β , IL-2, IL-6 ve IL-10 düzeylerinin ölçümü

-70°C 'de muhafaza edilen deney ve kontrol grubuna ait serumlar oda ısısında çözündürüldü. Serum IL-1 β , IL-2, IL-6 ve IL-10 düzeylerinin ölçümü ELISA prensibine dayanan BioSource marka rat ELISA hazır ölçüm kitleri vasıtasıyla aşağıdaki tayin metodları kullanılarak yapıldı.

IL-1 β Tayin metodu

IL-1 β tayini aşağıdaki basamaklardan oluşmaktadır:

1. 100 μ l standart dilüent tamponu (SDT) sıfır kuyucuklarına eklenir,
2. Standart eğri için standart kuyucuklarına standartlardan 100 μ l alınır, numune kuyucuklarına 50 μ l SDT ve 50 μ l serum eklenir, kontrol için ise 50 μ l SDT ve 50 μ l kontrol solüsyonu bırakılır,
3. İnkübasyon için oda sıcaklığında üç saat beklenir,
4. Aspirasyon yapılır ve kuyucuklar 4 defa yıkama işleminden geçirilir,
5. Blank hariç kuyucuklara 100 μ l biotin konjugatı eklenerek inkübasyon için bir saat beklenir,
6. Aspirasyon yapılır ve kuyucuklar 4 defa yıkama işleminden geçirilir,
7. Blank hariç kuyucuklara 100 μ l Streptavidin-HRP çalışma solüsyonu eklenir,
8. İnkübasyon için oda sıcaklığında yarım saat beklenir,
9. Aspirasyon yapılır ve kuyucuklar tekrar 4 defa yıkama işleminden geçirilir,
10. 100 μ l Stabilised Chromogen'den her bir kuyucuğı eklenir ve kuyucuklardaki sıvıların maviye dönmeye başladığı görülür,
11. İnkübasyon için karanlıkta, oda sıcaklığında yarım saat beklenir,
12. 100 μ l stop solüsyonundan her bir kuyucuğı eklenir,
13. 450 nm'de 2 saat içerisinde okuma gerçekleştirilir.

IL-2 Tayin metodu

1. Tüm kuyucuklara inkübasyon tamponu eklenir,
2. 100 μ l SDT sıfır kuyucuklarına eklenir,
3. Standart eğri için standart kuyucuklarına standartlardan 50 μ l alınır, numune kuyucuklarına 25 μ l SDT ve 25 μ l serum eklenir, kontrol için ise 25 μ l SDT ve 25 μ l kontrol solüsyonu bırakılır,
4. Blank hariç kuyucuklara 50 μ l biotin konjugatı eklenerek inkübasyon için 2 saat beklenir,
5. Aspirasyon yapılır ve kuyucuklar 4 defa yıkama işleminden geçirilir,
6. Blank hariç kuyucuklara 100 μ l Streptavidin-HRP çalışma solüsyonu eklenir,

7. İnkübasyon için oda sıcaklığında yarım saat beklenir,
8. Aspirasyon yapılır ve kuyucuklar 4 defa yıkama işleminden geçirilir,
9. 100 µl Stabilised Chromogen'den her bir kuyucuğa eklenir ve kuyucuklardaki sıvıların maviye dönmeye başladığı görülür,
10. İnkübasyon için karanlıkta, oda sıcaklığında yarım saat beklenir,
11. 100 µl stop solüsyonundan her bir kuyucuğa eklenir,
12. 450 nm'de 2 saat içerisinde okuma gerçekleştirilir.

IL-6 Tayin metodu

1. 100 µl SDT sıfır kuyucuklarına eklenir,
2. Standart eğri için standart kuyucuklarına standartlardan 100 µl alınır, numune kuyucuklarına 50 µl SDT ve 50 µl serum eklenir, kontrol için ise 100 µl kontrol solüsyonu bırakılır,
3. İnkübasyon için oda sıcaklığında iki saat beklenir,
4. Aspirasyon yapılır ve kuyucuklar 4 defa yıkama işleminden geçirilir,
5. Blank hariç kuyucuklara 100 µl biotin konjugatı eklenerek inkübasyon için bir saat beklenir,
6. Aspirasyon yapılır ve kuyucuklar 4 defa yıkama işleminden geçirilir,
7. Blank hariç kuyucuklara 100 µl Streptavidin-HRP çalışma solüsyonu eklenir,
8. İnkübasyon için oda sıcaklığında yarım saat beklenir,
9. Aspirasyon yapılır ve kuyucuklar tekrar 4 defa yıkama işleminden geçirilir,
10. 100 µl Stabilised Chromogen'den her bir kuyucuğa eklenir ve kuyucuklardaki sıvıların maviye dönmeye başladığı görülür,
11. İnkübasyon için karanlıkta, oda sıcaklığında yarım saat beklenir,
12. 100 µl stop solüsyonundan her bir kuyucuğa eklenir,
13. 450 nm'de 2 saat içerisinde okuma gerçekleştirilir.

IL-10 Tayin metodu

1. 100 µl SDT sıfır kuyucuklarına eklenir,

2. Standart eğri için standart kuyucuklarına standartlardan 100 µl alınır, numune kuyucuklarına 50 µl SDT ve 50 µl serum eklenir, kontrol için ise 50 µl SDT ve 50 µl kontrol solüsyonu bırakılır,

3. Blank hariç kuyucuklara 100 µl biotin konjugatı eklenerek inkübasyon için iki saat beklenir,

4. Aspirasyon yapılır ve kuyucuklar 4 defa yıkama işleminden geçirilir,

5. Blank hariç kuyucuklara 100 µl Streptavidin-HRP çalışma solüsyonu eklenir,

6. İnkübasyon için oda sıcaklığında yarım saat beklenir,

7. Aspirasyon yapılır ve kuyucuklar tekrar 4 defa yıkama işleminden geçirilir,

8. 100 µl Stabilised Chromogen'den her bir kuyucuğa eklenir ve kuyucuklardaki sıvıların maviye dönmeye başladığı görülür,

9. İnkübasyon için karanlıkta, oda sıcaklığında yarım saat beklenir,

10. 100 µl stop solüsyonundan her bir kuyucuğa eklenir,

11. 450 nm'de 2 saat içerisinde okuma gerçekleştirilir.

3.2.4. Vitamin A, E, D ekstraksiyonları ve HPLC analizleri

-70°C 'de muhafaza edilen deney ve kontrol grubunun serumları oda ısısında çözdürüldükten sonra, Vitamin A, E ve D analizleri için 100 µl serum plastik tüplere alındı. Üzerlerine 100 µl etanol eklenip 1 dakika vorteksle karıştırıldı. Bunların üzerlerine 400 µl n-hekzan ilave edilip tekrar 1 dakika vortekslendi ve 2000 RPM'de 10 dakika santrüfjü edildi. Oluşan hekzan fazından 350 µl alınarak azot gazı altında kurutuldu. Kalıntı 100 µl metanolde çözüldürüldü ve HPLC kolonuna enjekte edildi (Kenneth ve Chung, 1985; Stewart ve Judd, 1984).

Sıvı kromatografisi:

Önce vitamin A, E ve D standartları kullanılarak düzenek analizler için hazır hale getirildi. Daha sonra, hazırlanan ekstraksiyonlardan 50 µl alınarak sıvı kromatografisi kolonuna enjekte edildi. Vitamin A, E ve D' lerin tanımları DAD (diode-array detector) dedektörü kullanılarak 325 ve 290 ve 265 nm dalga boylarında yapıldı. Mobil faz olarak metanol-su (98:2) 1.5 ml/dak akış hızında kullanıldı. Vitaminlerin

ayırılmasında Ace (Scotland) marka C18 kolonundan (4.6 mm x 25 cm) faydalanıldı (Stewart ve Judd, 1984; Beverly ve Sarı 1983). Analizler Agilent 1100 serisi HPLC cihazı ile gerçekleştirildi.

3.3. İstatistiksel Analiz

Serum sitokin ve vitamin düzeyleri ile ilgili elde edilen tüm veriler Independent T testi ile istatistiksel olarak yorumlandı.

Kontrol ve diyabet gruplarına ait verilerin ortalamaları ve ortalamaların standart hatası $X \pm SEM$ olarak gösterildi.

4. BULGULAR

STZ ile diyabet oluşturulan ve kontrol grubu erkek Wistar-Albino ratlara ait elde edilen serum sitokin ve vitamin düzeyleri Çizelge 5.'te sunuldu.

Çizelge 5. Sağlıklı ratlar ile diyabet oluşturulan ratlarda saptanan serum sitokin ve vitamin düzeyleri.

Parametre	N	Kontrol grup X±SEM	N	Diabetik grup X±SEM	p
IL-1 β (pg/ml)	15	106.08±1.47	25	108.85±1.12	
IL-2 (pg/ml)	15	135.71±0.99	25	131.37±1.33	p ≤0.05
IL-6 (pg/ml)	15	19.69±1.14	25	20.45±0.64	
IL-10 (pg/ml)	15	63.23±2.80	25	63.35±0.53	
Retinol (µg/ml)	15	0.823±0.0356	25	0.680±0.0430	p ≤0.05
α-Tokoferol (µg/ml)	15	0.993±0.2279	25	0.517±0.0584	p ≤0.07
Vitamin D3 (µg/ml)	15	0.0878±0.0152	25	0.0393±0.0146	p ≤0.05

Çizelge 5. incelendiği zaman, serum IL-1 β ve IL-6 düzeylerinde diyabetik grupta kontrol grubuna göre hafif bir yükselme olduğu, ancak bu yükselmenin istatistiksel anlamda önemli olmadığı saptandı (p>0.05).

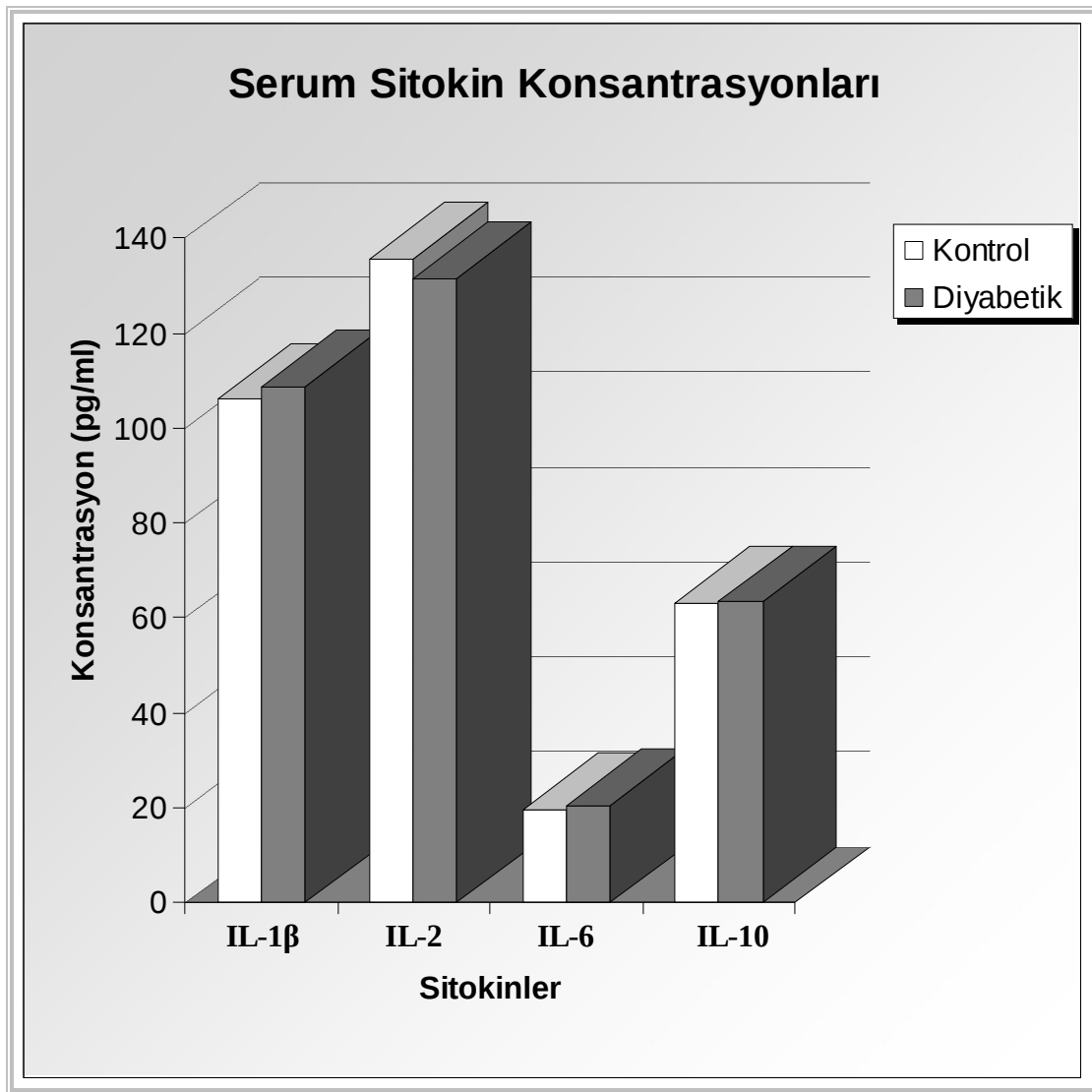
Kontrol grubunda serum IL-2 düzeyi 135.71±0.99 pg/ml iken, diyabetik grupta 131.37±1.33 pg/ml'ye düştüğü görülmekte olup bu azalma (p ≤0.05) istatistiksel olarak önem gösterdi.

Serum IL-10 düzeyleri açısından gruplar arasında istatistiksel olarak fark

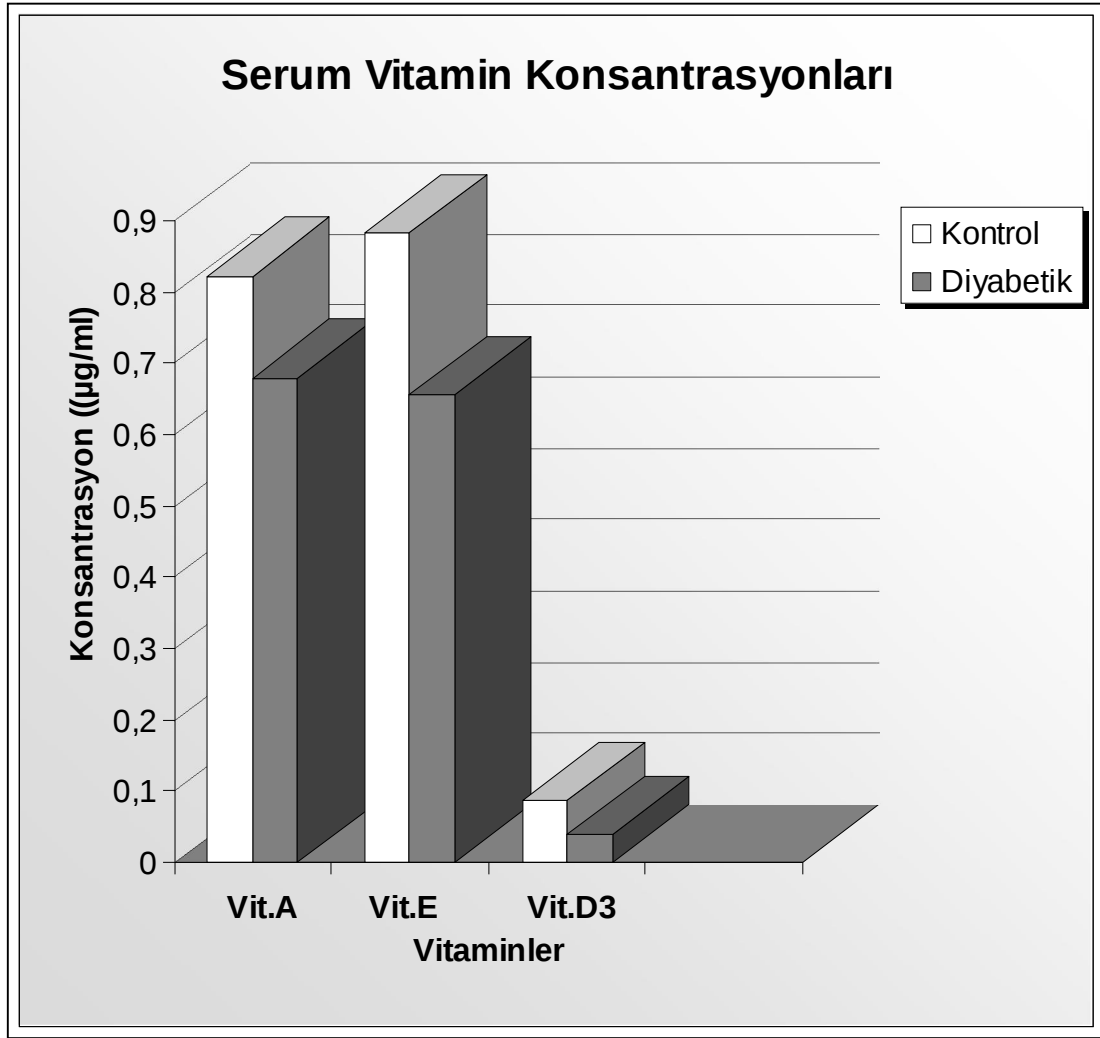
olmadığı saptandı.

Gruplar vitamin düzeyleri açısından incelendiği zaman diyabetik grupta retinol, α -tokoferol ve vitamin D₃ seviyelerinde azalma olduğu ve bu azalmanın istatistiksel olarak önemli olduğu bulundu (retinol ve vitamin D₃ için $p \leq 0.05$, α -tokoferol için $p \leq 0.07$).

Kontrol ve diyabetik gruplara ait sunlan değerler grafiksel olarak Şekil 21 ve Şekil 22’de sunuldu.



Şekil 21. Kontrol ve diyabetik gruplarda saptanan serum sitokin konsantrasyonlarının grafiksel gösterimi.



Şekil 22. Kontrol ve diyabetik gruplarda saptanan serum vitamin konsantrasyonlarının grafiksel gösterimi.

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Diabetes Mellitus; akut metabolik komplikasyonlarının yanı sıra, uzun dönemde vasküler, renal, retinal ya da nöropatik bozukluklara yol açan, morbidite ve erken mortalite riski yüksek, yaygın bir hastalıktır (Bağrıaçık, 1997) .

Sitokinlerin başta tip I diyabet olmak üzere Diabetes Mellitus patojenitesinde kritik roller üstlendiği yapılan birçok çalışmayla ortaya konmuştur (Rabinovitch , 2007; Haller ve Shatz, 2008; Gysemans ve ark., 2008; Tilg ve Moschen, 2008). Tip I diyabetin kesin nedeni bilinmemesine karşın pankreatik β hücre yıkımının bu hastalığa arabuluculuk ettiği konusunda kanıtlar mevcuttur (Rutter ve Wong, 2008; Chentoufi ve ark., 2008).

İnsanlarda tip I diyabet başlangıcının pankreatik β hücrelerinin T lenfositik ve monositik infiltrasyonu (insülitis) ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (Hänninen ve ark., 2008).

Sitokinlerin T hücre regülasyonunda temel olarak aracılık etmesi veya etki edecek fonksiyonlar göstermesi, pankreatik hücre kaynaklı otoimmünitinin oluşumu ve gelişiminde bu moleküllerin ne denli önemli olduğunu ortaya koymuştur (Kroemer ve Martinez, 1991; Calzascia ve ark., 2008).

Rabinovitch ve ark. (1996), IL-1 β , TNF- α ve IFN- γ gibi bazı sitokinlerin serbest oksijen radikallerini indükleyerek, lipid peroksidasyonu ve aldehit üretimine neden olarak β hücrelerine toksik etkiye bulunduklarını ileri sürmektedirler.

Schlott ve ark. (2002), non obez Diabetes Mellitus (NOD) oluşturulan dişi fareler üzerinde yaptıkları çalışmada kontrol grubuna göre serum IFN γ düzeyinin düşük olduğunu, ancak serum IL-10 düzeyinin değişmediğini bildirmektedirler.

Fidan ve ark. (2005), 6-8 haftalık STZ ile diyabet oluşturulmuş dişi fareler üzerinde yaptıkları çalışmada, serum IFN- γ düzeyinde kontrol grubuna göre artış meydana geldiğini ve serum TNF- α , IL-1, IL-2, IL-6 ve IL-10 düzeylerinin değişmediğini saptadılar.

Yapılan bir in vitro çalışmada ise IL-1 reseptör antagonist proteininin adenoviral gen transferiyle, IL-1 β 'nın indüklediği adacık hücrelerinin apoptosisini önlediği belirtilmektedir (Giannoukakis ve ark., 1999).

Altınova ve ark. (2006), mikrovasküler komplikasyonu olan ve olmayan tip I Diabetes Mellituslu hastalarda serum TNF- α ve IL-6 düzeylerini incelemek için yaptıkları çalışmada serum TNF- α ve IL-6 düzeyleri açısından gruplar arasında istatistiksel olarak fark bulunmadığını gösterdiler.

Diabetes Mellituslu, Diabetes Mellitusun yanında diabetik nefropati bulunan hastalar ve sağlıklı bireyler üzerinde Mys'liwska ve ark. (2005), tarafından yapılan çalışmada diabetik nefropatili bireylerde kontrol grubuna göre yüksek IL-10 düzeyi görülürken, diabetik nefropati göstermeyen Diabetes Mellituslu hastalarla kontrol grubu IL-10 düzeyi arasında belirgin bir fark olmadığı ortaya konuldu.

Tip I diyabetli çocuklarda IL-6, IL-8 ve TNF- α düzeylerinin incelendiği başka bir çalışmada ise serum IL-8 düzeyinin kontrol grubuna göre arttığı, IL-6 ve TNF- α düzeylerinin karşılaştırılabilir olduğu ancak yeni teşhis konmuş (< 1 yıl) hastalarda IL-6 ve TNF- α düzeylerinin uzun süreden beri diyabet bulunan hastalardan daha yüksek olduğu saptanmıştır. Bunun sonucu olarak da inflamatuvar immün yanıt sistemi aktivasyonunun hastalığın yeni olduğu evrede meydana geldiği ileri sürülmektedir (Erbağcı ve ark., 2001).

Henüz insülin tedavisi görmemiş 15 tip I diyabet hastası, 3 aydan daha kısa süre önce tip I diyabet teşhisi konmuş 20 birey ve 15 sağlıklı bireyden oluşturulan 3 grupta tip I diyabetin erken klinik evrelerinde Th1 ve Th2 sitokin profilleri ve nötrofil fonksiyonları incelenmiş, CD4⁺T ve CD8⁺T hücreleri IL-2 düzeylerinin hem 1. hem de 2. grupta sağlıklı bireylere oranla düştüğü (sırasıyla p < 0.01, 0.001) görülürken IL-10 ve IFN- γ düzeylerinde hiçbir grupta istatistiksel önem saptanamadığı vurgulanmaktadır. Bununla birlikte, CD8⁺T lenfositlerinin TNF- α içeriğinin grup 1'de grup 2 ve sağlıklı bireylere oranla yüksek (p < 0.001) olduğu gözlenirken, CD4⁺T lenfositlerinin TNF- α içeriğinin grup 1'de grup 2 ve sağlıklı bireylere oranla düşük olduğu görülen bu çalışmada, bunun sonucu olarak da CD8⁺T hücrelerindeki artmış TNF- α sekresyonunun

CD8⁺T hücrelerinin β hücre yıkımında rolü olabileceğini gösterdiği ileri sürülmektedir (Bilgiç ve ark., 2008).

Diyabetli 85 hasta ve sağlıklı 23 birey üzerinde yapılan bir çalışmada serum NO ve IL-1 β 'nın diyabet oluşumunda sinerjik etki göstermelerine karşın, serum düzeylerinde gruplar arası fark gözlemlenemediği, bunun sonucu olarak da sadece serum NO ve IL-1 β düzeylerine bakarak bu parametrelerin diyabetik hastalardaki rolleri üzerinde değerlendirme yapılamayacağı bildirilmektedir (Yenisey, 2001).

Hui-Chen ve ark. (2004) tip I diyabetli 58 çocuk ve onların kardeşleri olan sağlıklı 33 çocukta serum IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, TNF- α , IFN- γ , NO ve Leptin düzeylerini inceledikleri çalışmada, gruplar arasında IL-1 β , TNF- α ve IFN- γ düzeylerinde istatistiksel önem saptanmazken, IL-2, IL-6 ve NO düzeylerinin kontrol grubuna göre düştüğünü ve Leptin, IL-4 ve IL-8 düzeylerinin diyabetik grupta kontrol grubuna oranla yüksek bulunduğunu, bunun sonucu olarak da ileriki yaşlarda kardiyovasküler hastalıklarla karşılaşabileceklerini ileri sürmektedirler.

Hayvanlar üzerinde yapılan çalışmalarda Th1 ve Th2 sitokinleri arasındaki dengenin bozulması ile otoimmün diyabetin ortaya çıktığını gösteren kanıtların aksine Th1/Th2 dengesinde meydana gelecek değişikliklerin insanlar üzerindeki etkileri hakkında fazla bilgi sahibi olunmadığını bildiren Rapoport ve ark. (1998), 17 tip I diyabetli ve 24 sağlıklı birey üzerinde yaptıkları çalışmada periferik mononükleer kan hücreleri tarafından stimüle edilen IL-2 ve IFN- γ Th1 sitokinleri ile IL-4 ve IL-10 Th2 sitokinleri düzeylerini incelemeleri neticesinde, IFN- γ düzeyinde kontrol grubuna göre artış görüldüğünü, IL-2, IL-4 ve IL-10 düzeylerinde ise kontrol grubuna göre azalmanın saptandığını vurgulamaktadırlar.

İmmünolojik etkileri olduğu bilinen NGF ve TGF- β ₂ sitokinleri üzerinde tip I diyabetli hastalarda yapılan bir çalışmada serum NGF düzeyinin kontrol grubuna göre attığı, ancak serum TGF- β ₂ konsantrasyonunun kontrol grubuna göre azaldığı ve bu her iki sitokin de hastalığın patogeneğinde bağımsız roller üstlenmiş olabileceği ileri sürülmektedir (Azar ve ark., 1999).

Serum IL-1 β , IL-2 ve TNF- α düzeylerinin, tip I diyabetli (n=21), tip II diyabetli (n=34) ve sağlıklı kontrol grubunda (n=29) incelendiği bir çalışmada, Diabetes Mellituslu hastaların serum IL-1 β , IL-2 düzeyleri ile kontrol grubunun serum IL-1 β , IL-2 düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı belirlenirken (p>0.05), serum TNF- α düzeyleri kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (p<0.05). Bunun neticesinde Diabetes Mellituslu hastalarda artmış serum TNF- α düzeylerinin bir sonucu olarak, TNF- α 'nın Diabetes Mellitusun patogenezinde rol oynadığı ileri sürülmektedir (Vardar, 2003).

Son zamanlarda sitokinlerin tip II diyabet oluşumunda da etki gösterdiği ne sürülen çalışmalar mevcuttur. Tip II diyabetli bireylerde, devam eden bir akut faz yanıtının meydana geldiği ve bunun neticesinde tip II diyabetin C-reaktif protein (CRP) gibi akut faz proteinlerindeki değişimle karakterize olduğu öne sürülmektedir. Yapılan çalışmalarla akut faz markırları (CRP, serum amiloid-A ve sialik asit gibi) konsantrasyonlarının tip II diyabet hastalarında normal bireylere göre yüksek olduğu vurgulanmaktadır (Pickup ve ark., 1997; Festa ve ark., 2002).

IL-6'nın birçok akut faz proteininin yapımını stimüle ettiği bilinmektedir. Bunun sonucu olarak da artmış IL-6'nın tip II diyabet oluşumu için bir risk faktörü oluşturduğu ileri sürülmektedir (Festa ve ark., 2002).

Bununla birlikte IL-6, IL-1 β ve TNF- α gibi inflamatuvar stokinlerin birbiriyle etkileşim içinde oldukları gösterilmiştir. Örneğin IL-6'nın CRP sentezindeki etkisi büyük oranda IL-1 β ile etkileşimine bağlı olduğu bildirilmektedir (Pradhan ve ark., 2001).

Spranger ve ark. (2003) tarafından, tip II diyabet oluşumunda IL-6, IL-1 β ve TNF- α sitokinlerinin rolünü incelemek için yapılan bir çalışmada, sağlıklı bireylere göre tip II diyabetli hastalarda serum IL-6 ve TNF- α konsantrasyonlarının arttığı, fakat IL-1 β konsantrasyonunun istatistiksel önem gösterecek düzeyde değişmediğinin gözlenmesine karşın, yapılan daha ayrıntılı inceleme neticesinde IL-6 ve IL-1 β 'nın kombine şekilde etki gösterdiği belirlenmiştir. Sadece IL-6 düzeyinde artış görülen, IL-1 β düzeyi saptanamayacak lde düşük bireylerde tip II diyabet oluşma riski

düşükken, IL-6 düzeyi yüksek ve IL-1 β düzeyi saptanabilir ölçüde olan bireylerde tip II diyabet oluşma riskinin yüksek olduğu bu çalışma neticesinde öne sürülmektedir.

Donath ve ark. (2005), yüksek glikoz ve leptin düzeylerinin IL-1 β uyarımını tetikleyerek β hücre apoptozisine neden olduğunu ve tip II Diabetes Mellitusa yol açtığını ileri sürmektedirler.

Tip II Diabetes Mellituslu hastalarda TNF- α , IL-6 ve IL-18 düzeylerini incelemek amacıyla yapılan bir çalışmada diyabetik grupta TNF- α ve IL-18 düzeylerinin kontrol grubuna göre arttığı, IL-6 düzeylerinin ise istatistiksel olarak önem oluşturacak ölçüde değişmediğinin gözlemlendiği vurgulanmaktadır (Moriwaki ve ark., 2003).

Bu çalışmada serum IL-1 β ve IL-6 düzeylerinde diyabetik grupta kontrol grubuna göre hafif bir yükselme olduğu, ancak bu yükselmenin istatistiksel anlamda önemli olmadığı saptandı ($p>0.05$). Kontrol grubunda serum IL-2 düzeyi 135.71 ± 0.99 pg/ml iken, diyabetik grupta 131.37 ± 1.33 pg/ml'ye düştüğü ve bu azalmanın ($p\leq0.05$) istatistiksel olarak önem gösterdiği saptandı. Serum IL-10 düzeyleri açısından ise gruplar arasında istatistiksel olarak fark olmadığı görüldü.

Tip I diyabet, aktive T lenfosit ve monositlerin pankreasın Langerhans adacıklarına infiltrasyonu ile immün sistemin insülin üreten β hücrelerinde yıkıma yol açması sonucu oluşur. Vitamin A ve diğer antioksidanların immün sistemi düzenlediği bilinmektedir. Vitamin A'nın tip I diyabet üzerindeki baskılayıcı etkisini ortaya koymak için fareler üzerinde yapılan bir çalışmada vitamin A tüketiminin tip I diyabet oluşumunun önlenmesinde etkili olduğu, bunu da TNF- α gibi otoimmün diyabet oluşumunda etki gösterdiği ortaya konan sitokin düzeylerini azaltarak sağladığı ileri sürülmektedir (Zunino ve ark., 2007). Kang ve ark. (2004), ratlar üzerinde sitokinlerin neden olduğu β hücre defektlerinin oluşumunu önlemede retinoik asitin rolünü inceledikleri çalışmada IL-1 β ve IFN- γ 'nın arabuluculuk ettiği hücresel toksiteye karşı retinoik asitin koruyucu etki gösterdiği ayrıca IL-1 β ve IFN- γ 'nın indüklediği nitrik oksit (NO) üretimini azalttığını belirtmektedirler.

Obez olmayan diyabetik (NOD) farelerde yapılan çalışmalarla tip I diyabet oluşumu riski üzerine vitamin D'nin etkisini gösteren güçlü kanıtlar ortaya konmuştur. NOD farelerdeki deneysel hastalık patogenezi insanlarda olduğu gibi β hücrelerinin otoimmün yıkımı şeklinde gerçekleşir. Vitamin D'nin aktif formu olan 1,25-dihidroksivitamin D farmakolojik dozlarda uygulandığında diyabet oluşumunun engellendiğinin gözlemlendiği bildirilmektedir (Mathieu ve ark., 1994). Daha sonraları yapılan bir çalışmada ise vitamin D kusuru bulunan NOD farelerde kontrol grubuna göre daha erken yaşta diyabet oluşumunun meydana geldiği vurgulanmaktadır (Giulietti ve ark., 2004). Flores (2005), vitamin D₃'ün proinflamatuvar sitokin salınımını inhibe ederek tip II Diabetes Mellitus oluşumunu engellemede rol oynadığını bildirmektedir. Avrupa'da insanlar üzerinde birkaç gözleme dayalı yapılan araştırmada bebeklerde vitamin D ilavesinin tip I diyabet oluşumunu engellemede önemli bir etkiye sahip olma olasılığının yüksek olduğu bildirilmektedir (Harris, 2005).

Knekt ve ark. (1999), yaptıkları çalışmada yüksek antioksidan özelliğe sahip olduğu bilinen vitamin E'nin vücutta düşük düzeyde bulunma durumunun tip I diyabet için potansiyel bir risk faktörü oluşturduğu görüşünü ileri sürmektedirler. Yapılan in vitro çalışmalarla vitamin E'nin periferik doku ve hücreleri serbest radikallerin yol açtığı hasara karşı koruyarak, insülin etki ve salgılanmasının düzenli bir şekilde gerçekleştirilmesini sağladığı gösterilmiştir (Tajiri ve Grill, 1999).

Hayvan modellerinde reaktif serbest radikallerin diyabet oluşumuna neden olabildikleri gösterilmiş olup vitamin E'nin oluşan oksijen radikallerini süpürerek diyabet oluşumunu önlediği ileri sürülmektedir (Murthy ve ark., 1992; Beales ve ark., 1994).

Pozzilli ve ark. (2005), tarafından, yeni tip I diyabet teşhisi konmuş ortalama 15 yaşındaki 88 hastayla ve aynı yaş grubunda bulunan 57 sağlıklı bireye ait plazma 25-hidroksivitamin D₃ ve 1,25-di hidroksivitamin D₃ düzeylerinin incelendiği çalışmada, gerek 25-hidroksivitamin D₃ gerekse 1,25-di hidroksivitamin D₃ düzeylerinin tip I diyabetli hastalarda kontrol grubuna göre belirgin düzeyde azaldığı (sırasıyla $p < 0.01$ ve $p < 0.03$), elde edilen bu veriler neticesinde de vitamin D₃ ün tip I diyabet için önemli bir patojenik faktör olabileceği ileri sürülmektedir. Bunun yanında vitamin D₃

ilavesinin Th2 immun yanıtını destekleyebileceği ve kalan β hücrelerini koruyabileceği belirtilmektedir.

Tip I diyabetli hastalar üzerinde serum retinol, tokoferol (α ve γ) bazı karotenoidlerin (β -karoten, α -karoten, β -kriptoksantin, lutein, zeaksantin ve likopin) konsantrasyonlarını incelemek için Granado ve ark. (1998), tarafından yapılan çalışmada serum retinol düzeyinin kontrol grubuna göre düştüğü, α -tokoferol γ -tokoferol, lutein, zeaksantin ve likopin düzeylerinde gruplar arasında farklılık meydana gelmezken, β -karoten, α -karoten, β -kriptoksantin düzeylerinin diyabetik grupta kontrol grubuna göre arttığı vurgulanmaktadır.

Basu ve Basualdo (1999), Tip I diyabetli insanlarda vitamin A konsantrasyonlarının kontrol grubuna göre düşmesine karşın insüline bağımlı olmayan diyabetli insanlarda vitamin A konsantrasyonlarının değişmediğini saptadıklarını, bu yüzden de Diabetes Mellitusta vitamin A'nın önemini gösteren daha ileri düzey çalışmaların yapılması gerektiğini belirtmektedirler.

Merzouk ve ark. (2003), ise tip I ve tip II diyabetli hastalarda serum α -tokoferol, vitamin A, vitamin C ve süperoksit dismutaz (SOD) düzeylerini inceledikleri çalışmada, α -tokoferol ve vitamin A düzeylerinin her iki grupta da kontrol grubuna göre düştüğünü, vitamin C düzeylerinin değişmediğini, süperoksit dismutaz (SOD) düzeyinin ise tip I diyabetli hastalarda değişmezken tip II diyabetlilerde düştüğünü saptayarak, elde edilen bu bulgulardan da diyabet oluşumunun antioksidan düzeyleri ile bağlantılı olabileceğini ileri sürmektedirler.

Halifeoğlu ve ark. (2005), tip II diyabetlilerde tedavi öncesi ve tedavi sonrası oksidatif durumu gözlemek için yaptıkları çalışmada, 30 tip II diabetik hastadan (19 erkek ve 11 kadın) sağlanan örneklerde serum antioksidan vitamin (A, E ve C) düzeyleri incelenmesi neticesinde vitamin A ve vitamin E düzeylerinde tedavi sonrası anlamlı bir artış görüldüğünü, ancak vitamin C düzeylerinde önemli bir değişiklik saptanmadığını belirtmektedirler.

Scragg ve ark. (1995), Yeni Zelanda'da bozulmuş glikoz toleransı bulunan ve yeni Diabetes Mellitus teşhisi konmuş Polinezyalı hastalar ile Avrupa kökenli hastalar

üzerinde yaptıkları araştırmada her iki grupta da kontrol grubuna göre serum 25-hidroksivitamin D₃ düzeylerinin düştüğünü, ancak Polinezya kökenli hastalardaki düşüşün daha fazla olduğunu ortaya koymuşlardır. Bunun sonucunda düşük serum 25-hidroksivitamin D₃ düzeylerinin Diabetes Mellitus ve bozulmuş glikoz toleransı ile ilişkili olduğunu ve Yeni Zelanda'da yaşayan Polinezyalılarda Diabetes Mellitus/bozulmuş glikoz toleransı prevalansının Avrupa kökenlilerden fazla olmasının, kısmen düşük 25-hidroksivitamin D₃ düzeylerine sahip olmalarından ileri geldiğini öne sürmektedirler.

Krempf ve ark. (1991), tarafından yapılan bir çalışmada sağlıklı bireylerden oluşturulan kontrol grubuna göre tip I diyabet hastalarının plazma vitamin A konsantrasyonunda azalma olmasına karşın tip II diyabetliklerde plazma vitamin A konsantrasyonunda artış meydana geldiği, plazma vitamin E konsantrasyonlarının ise her iki tipte de arttığı vurgulanmaktadır.

Yapılan çalışmada diyabetli grupta kontrol grubuna oranla retinol, α -tokoferol ve vitamin D₃ seviyelerinde azalma olduğu ve bu azalmanın istatistiksel olarak önemli olduğu görüldü (retinol ve vitamin D₃ için $p \leq 0.05$, α -tokoferol için $p \leq 0.07$).

Sonuç olarak, sunulan çalışmada kontrollere göre hasta gruba ait serum sitokin düzeylerinde sapmaların meydana gelmesi, bu sitokinlerin Diabetes Mellitusun ortaya çıkmasında etki gösterdiğini ve vitamin düzeylerindeki azalmanın da bu vitaminlerin serbest oksijen radikallerini ortadan kaldırmak için kullanıldığının göstergesi olabilir. Bunun yanında vitamin D₃ düzeyindeki azalmanın nedeni olarak vitamin D₃'ün T hücre aktivasyonu inhibisyonunda, dolayısıyla Diabetes Mellitus oluşumunda etkili bazı sitokinlerin sekresyonunu engellemede kullanıldığı düşünülebilir. Elde edilen bu verilerin ışığında Diabetes Mellitusun teşhis ve patogenezinde yeni stratejiler geliştirilebileceği ve hasta diyetlerine retinol, α -tokoferol ve vitamin D₃ ilavesinin faydalı olacağı kanısına varılabilir.

ÖZET

Yazar M, Deneyisel diyabet oluşturulan ratlarda serum sitokin ve vitamin düzeylerinin incelenmesi. Y. Y. Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü Biyokimya Anabilim Dalı Doktora Tezi, Van, 2008. Diabetes Mellitus insülinin salgılanma, etki gösterme veya her ikisinden kaynaklanan yüksek kan glikoz düzeyi ile karakterize olan bir metabolik hastalıklar grubudur. Bu çalışmada 7-8 haftalık, 180-210 g ağırlıkları arasında bulunan erkek Wistar-Albino rat kullanıldı. 25 adet STZ ile diyabet oluşturulmuş rat çalışma grubunu oluştururken, kontrol grubu olarak 15 adet sağlıklı rat kullanıldı. Çalışmada serum IL-1 β , IL-2, IL-6 ve IL-10 sitokinleri ile retinol, α -tokoferol ve vitamin D₃ düzeylerinin araştırılması amaçlandı. Serum sitokin düzeyleri ELISA ve serum vitamin düzeyleri HPLC ile saptandı. Serum IL-1 β , IL-6 ve IL-10 sitokin düzeylerinde istatistiksel önem ($p>0.05$) gösterecek düzeyde değişim saptanmazken, serum IL-2 konsantrasyonunun diyabetik grupta kontrol grubuna göre azaldığı ($p\leq 0.05$) görüldü. Gruplar arası serum vitamin düzeyleri incelendiğinde diyabet oluşturulan grupta kontrol grubuna göre retinol, α -tokoferol ve vitamin D₃ düzeylerinde düşüş (sırası ile $p\leq 0.05$, $p\leq 0.07$, $p\leq 0.05$) olduğu saptandı. Sonuç olarak, sunulan çalışmada kontrollere göre hasta gruba ait serum sitokin düzeylerinde sapmaların meydana gelmesi, bu sitokinlerin Diabetes Mellitusun ortaya çıkmasında etki gösterdiğini ve vitamin düzeylerindeki azalmanın da bu vitaminlerin serbest oksijen radikallerini ortadan kaldırmak için kullanıldığının göstergesi olabilir. Bunun yanında vitamin D₃ düzeyindeki azalmanın nedeni olarak vitamin D₃'ün T hücre aktivasyonu inhibisyonunda, dolayısıyla Diabetes Mellitus oluşumunda etkili bazı sitokinlerin sekresyonunu engellemede kullanıldığı düşünülebilir. Elde edilen bu verilerin ışığında Diabetes Mellitusun teşhis ve patogenezinde yeni stratejiler geliştirilebileceği ve hasta diyetlerine retinol, α -tokoferol ve vitamin D₃ ilavesinin faydalı olacağı kanısına varılabilir.

Anahtar Sözcükler: Diabetes Mellitus, Rat, Sitokinler, Vitaminler

SUMMARY

Yazar M, Serum cytokine and vitamin levels in experimental diabetic rats. Yuzuncu Yıl University, Institute of Health Sciences Ph.D Thesis in Department of Biochemistry, Van, 2008. Diabetes Mellitus is a group of metabolic diseases characterized by high blood glucose levels, which result from defects in insulin secretion, or action, or both. Male Wistar-Albino rats, between 7-8 weeks old and weighing 180 to 210 g were used for animal studies. While STZ induced diabetic 25 rats formed the study group, 15 healthy rats constituted the control group. The aim of this study was to investigate serum concentrations of IL-1 β , IL-2, IL-6 and IL-10 cytokines and retinol, α -tocopherol and vitamin D₃ levels. Serum cytokine levels were evaluated by specific enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) and vitamin levels were established by high-performance liquid chromatography (HPLC). In this study, alterations detected between the diabetic and control groups of serum IL-1, IL-6 and IL-10 cytokine levels were not sufficient ($p>0.05$) to constitute a statistical importance. However, decreased IL-2 levels ($p\leq 0.05$) were established in diabetic group in comparison with control group. When vitamin levels were researched, decreased retinol, α -tocopherol and vitamin D₃ levels were determined ($p\leq 0.05$, $p\leq 0.07$ and $p\leq 0.05$, respectively) in diabetic group in comparison with controls. As conclusion, altered serum cytokine levels established in diseased group according to the controls in this study may indicate that cytokines have a part in appearance of Diabetes Mellitus and reduced vitamin levels may exhibit they used for disposal of free oxygen radicals. Besides, the reason of the reduced vitamin D₃ levels may result from its functions in inhibition of the cytokine secretion that responsible for the existence of Diabetes Mellitus by hindering T cell activation. Consequently, the obtained data may provide new strategies for the pathogenesis and prognosis of Diabetes Mellitus and supplementation of retinol, α -tocopherol and vitamin D₃ to patient diets may be beneficial.

Key Words: Diabetes Mellitus, Rat, Cytokines, Vitamins.

KAYNAKLAR

- Abacı A, Böber E, Büyükgebiz A (2007). Tip I diyabet, Güncel Pediatri., 5, 1-10.
- Aktümsek A (2001). Anatomi ve Fizyoloji, Nobel Yayın Dağıtım, Ankara, 189-192.
- Altınova EA, Törüner FB, Karakoç A (2006). Mikrovasküler komplikasyonu olan ve olmayan Tip I Diabetes Mellituslu hastalarda serum TNF- α ve IL-6 düzeyleri, Endokrinolojide Diyalog., 2, 88-92.
- Anonim (2008a). <http://vitamind.ucr.edu/chem.html>
- Anonim (2008b). <http://www.doctormurray.com/newsletter/1-06-2003.htm>
- Anonymous (2007). Diagnosis and classification of Diabetes Mellitus, Diabetes Care., 30, 42-47.
- Anonymous (2006). Definition and Diagnosis of Diabetes Mellitus and Intermediate Hyperglycemia, WHO Document Production Services, Geneva, Switzerland, 5-35.
- Ashby J, Hilton J (1993). Mechanistic relationship among mutagenicity, skin sensitization, and skin carcinogenicity, Environmental Health Perspectives., 101(1), 62-67.
- Azar ST, Major SC, Safieh-Garabedian B (1999). Altered plasma levels of nerve growth factor and transforming growth factor- β 2 in type I Diabetes Mellitus, Brain, Behavior and Immunity., 13, 361-366.
- Bağrıaçık N (1997). İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri, Diabetes Mellitus Sempozyumu, İstanbul, 9-18.
- Banting FG (1991). Pancreatic extracts in the treatment of Diabetes Mellitus: Preliminary report, Canadian Medical Association Journal., 145(10), 1281-1286.
- Basu TK, Basualdo C (1999). Vitamin A homeostasis and Diabetes Mellitus, Nutrition., 15(2), 156.
- Bates CJ (1995). Vitamin A, Lancet., 345, 31.
- Baykal Y, Karaayvaz M, Kutlu M (1998). İnterlökinler, Türkiye Klinikleri Journal of Medical Sciences., 18, 77-84.
- Bayşu N, Bayşu Sözbilir N (2008). Biyokimya, Güneş Tıp Kitabevi, Ankara, 369-390.
- Bazan JF (1991). Neuropoietic cytokines in the hematopoietic fold, Neuron., 7, 197-208.

- Beales PE, Williams AJ, Albertini MC, Pozzilli P (1994). Vitamin E delays diabetes onset in the non-obese diabetic mouse, *Hormone and Metabolic Research.*, 26, 450-452.
- Beverly JZ, Sarı C (1983). Determination of alpha-tocopherol in tissues and plasma by high-performance liquid chromatography, *Analytical Biochemistry.*, 130, 146-150.
- Bilgiç S, Aktaş E, Salman F, Erşahin G (2008). Intracytoplasmic cytokine levels and neutrophil functions in early clinical stage of type I diabetes, *Diabetes Research and Clinical Practice.*, 79, 31-36.
- Borodaco A (2007). Classification and diagnosis of diabetes, *Terapia.*, 15(5), 6-11.
- Calzascia T, Pellegrini M, Lin A, Garza K (2008). CD4 T cells, lymphopenia, and IL-7 in a multistep pathway to autoimmunity, *Proceedings of The National Academy of Sciences USA.*, 105(8), 2999-3004.
- Champe PC, Harvey RA (1997). *Biyokimya, Çeviri Ed. Tokullugil A, Dirican M, Ulukaya E, 2. Baskı, Nobel Tıp Kitapevleri, İstanbul*, 330-340.
- Cheng YW, Caughey AB (2008). Glucose tolerance test: Varying diagnostic strategies for gestational Diabetes Mellitus, *Journal of Perinatology.*, 28, 1-2.
- Chentoufi AA, Binder NR, Berka N, Abunadi T, Polychronakos C (2008). Advances in Type I diabetes associated tolerance mechanisms, *Scandinavian Journal of Immunology.*, 68(1), 1-11.
- Crandall JP, Knowler WC, Kahn SE (2008). The prevention of type 2 diabetes, nature clinical practice, *Endocrinology and Metabolism.*, 4, 382-393.
- Cumhur M (2001). *Temel Anatomi, METU Press, Ankara*, 248-250.
- De Haan G, Dontje B, Nijhof W (1996). Concepts of hemopoietic cell amplification. synergy, redundancy and pleiotropy of cytokines affecting the regulation of erythropoiesis, *Leukemia and Lymphoma.*, 22, 385-394.
- Di Mascio P, Murphy ME, Sies H (1991). Antioxidant defence systems: The role of carotenoids, tocopherols and thiols, *American Journal of Clinical Nutrition.*, 53, 194-200.
- Diab A, Zhu J (1997). High IL-6 and low IL-10 in the central nervous system are associated with protracted relapsing EAE in DA rats, *Journal of Neuropathology and Experimental Neurology.*, 56(6), 641-50.
- Dominique E, Marie-Benedicte L, Odile D (1993). Intratumoral production of IL-6 in B cell chronic lymphocytic leukemia and B lymphomas, *Leukemia and Lymphoma.*, 11, 411-417.
- Donath MY, Joachim Sterling J, Berchtold L (2007). Cytokines and β cell biology: From concept to clinical translation, *Endocrine Reviews.*, 29(3), 334-350.

- Donath M, Ehses JA, Maedler K, Schumann DM (2005). Mechanisms of β cell death in type II diabetes, *Diabetes.*, 54, 108-113.
- Dökmenci İ (2000). *Farmakoloji, Temel Kavramlar, Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul*, 509-514.
- Eisenbarth GS, Jeffrey J (2008). The natural history of type IA diabetes, *Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia.*, 52(2), 146-55.
- Encinas JA, Wicker LS, Peterson LB (1999). QTL influencing autoimmune diabetes and encephalomyelitis map to a 0.15-cM region containing IL2, *Nature Genetics.*, 21(2), 158-60.
- Erbağcı AB, Tarakçıoğlu M, Coşkun Y, Sivaslı E, Namıduru E (2001). Mediators of inflammation in children with type I Diabetes Mellitus: Cytokines in type I diabetic children, *Clinical Biochemistry.*, 34(8), 645-50.
- Festa A, D'Agostino R, Tracy RP, Haffner SM (2002). Elevated levels of acute-phase proteins and plasminogen activator inhibitor-1 predict the development of type II diabetes: The insulin resistance atherosclerosis study, *Diabetes.*, 51, 1131-1137.
- Fidan I, Yüksel S, Kalkancı A, İmir T, Kustimur S (2005). Evaluation of the natural killer cytotoxicity and the levels of cytokines in rats with type I Diabetes Mellitus, *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 100(8), 883-7.
- Flores M (2005). A role of vitamin D in low-intensity chronic inflammation and insulin resistance in type 2 Diabetes Mellitus, *Nutrition Research Reviews.*, 18, 175-182.
- Ganong WF (1999). *Tıbbi Fizyoloji, Çeviri: Türk Fizyolojik Bilimler Derneği*, 19. baskı, Ankara, 352-354.
- Garber AJ (2005). Pharmacologic modifications of hormones to improve their therapeutic potential for diabetes management, *Diabetes, Obesity and Metabolism.*, 7, 666-674.
- Giannoukakis N, Rudert WA, Ghivizzani SC (1999). Denoviral gene transfer of the Interleukin-1 receptor antagonist protein to human islets prevents IL-1-induced-cell impairment and activation of islet cell apoptosis in vitro, *Diabetes.*, 48, 1730-1736.
- Giulietti A, Gysemans C, Stoffels K (2004). Vitamin D deficiency in early life accelerates type I diabetes in non-obese diabetic mice, *Diabetologia.*, 47, 451-462.
- Goldsby RA, Kindt TJ, Osborne BA (2000). *Immunology, Fourth Edition*, WH Freeman and Company, New York, 303-327.
- Granado F, Olmedilla B, Gil-Martinez E, Blanco I (1998). Carotenoids, retinol and tocopherols in patients with insulin-dependent Diabetes Mellitus and their immediate relatives, *Clinical Science (Colch).*, 94(2), 189-95.

- Güner İ, Özmen D, Bayındır O (1997). Sitokinler, Türkiye Klinikleri Journal of Medical Sciences., 17, 65-74.
- Gyseman C, Callewaert H, Overbergh L, Mathieu C (2008). Cytokine signalling in the beta-cell: A dual role for IFN gamma, Biochemical Society Transactions., 36(3), 328-33.
- Halifeoğlu İ, Karataş F, Çolak R, Canatan H (2005). Tip II diyabetik hastalarda tedavi öncesi ve tedavi sonrası oksidan ve antioksidan durum, Fırat Tıp Dergisi., 10(3), 117-122.
- Haller MJ, Shatz DA (2008). Cytokines and type I diabetes complications: Casual or causal association, Pediatric Diabetes., 9(1), 1-2.
- Hänninen A, Nurmela R, Maksimow M, Heino J, Jalkanen S, Kurts C (2008). Islet beta-cell-specific T cells can use different homing mechanisms to infiltrate and destroy pancreatic islets, The American Journal of Pathology., 172(4), 1153.
- Harris SS (2005). Vitamin D in type I diabetes prevention, The American Society for Nutritional Sciences., 135, 323-325.
- Hatemi H (1996) Diabetes Mellitus tarihçesi, Aktüel Tıp Dergisi., 497-490.
- Hazlett BE (1991). Historical perspective: The Discovery of Insulin, Clinical Diabetes Mellitus, Second Edition, Edited by Davidson JK, Thieme Medical Publisher, Inc., New York, 2-10.
- Heitmeier MR, Scarim AL, Corbett JA (1997). Interferon-gamma increases the sensitivity of islets of Langerhans for inducible nitric-oxide synthase expression induced by interleukin 1, The Journal of Biological Chemistry., 272, 13697-13704.
- Holm AM, Aukrust P, Einar Martin Aandahl EM (2003). Impaired Secretion of IL-10 by T cells from patients with common variable immunodeficiency–involvement of protein kinase A type I, The Journal of Immunology., 170, 5772-5777.
- Horii Y, Muraguchi A, Iwano M (1989). Involvement of interleukin-6 in mesangial proliferation of glomerulonephritis, The Journal of Immunology., 143, 3949-3955.
- Hui-Chen L, Su-Chen L, Yu-Mei W (2004). The relationship among serum cytokines, chemokine, nitric oxide, and leptin in children with type I Diabetes Mellitus, Clinical Biochemistry., 37, 666-672.
- Kalaycıoğlu L, Serpek B, Nizamlıoğlu M, Başpınar N, Tiftik AM (2000). Biyokimya, 2. Baskı, Nobel Yayın Dağıtım Ltd. Şti., Ankara, 274-280.
- Kang MK, Yoon YE, Yang JY (2004). Protective effect of retinoic acid on interleukin-1 β -induced cytotoxicity of pancreatic β -cells, Mechanisms of Ageing and Development., 125, 483-490.

Karabay G, Zağyapan R, Take G (2006). Streptozotosinle oluşturulan diabetin sıçan periferik sinirleri üzerine etkisinin elektron mikroskopik incelenmesi, Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi., 32(3), 77-81.

Karagül H, Altıntaş A, Fidancı UR, Sel T (2000). Klinik Biyokimya, Medisan, Ankara, 87-95.

Keeton W, Gold JL (2000). Genel Biyoloji, 5. Baskıdan Çeviri, Palme Yayıncılık, Ankara, 948-949.

Keha E, Küfrevioğlu Öİ (1997). Biyokimya, Şafak Yayınevi, Erzurum, 248-258.

Kenneth WM, Chung SY (1985). An isocratic high-performance liquid chromatography method for the simultaneous analysis of plasma retinol, α -tocopherol and various carotenoids, Analytical Biochemistry., 145, 21-26.

Kılıçturgay K (2003). İmmünoloji, 3. Baskı, Nobel & Güneş Kitabevi, Bursa, 134-144.

Kıyan M, Ustaçelebi Ş (1999). Temel ve Klinik Mikrobiyoloji, Güneş Kitabevi, Ankara, 419-455.

Knekt P, Reunanen A, Marniemi J, Leino A, Aromaa A (1999). Low vitamin E status is a potential risk factor for insulin-dependent Diabetes Mellitus, Journal of International Medicine., 245(1), 99-102.

Koolman J, Roehm KH (2005). Color Atlas of Biochemistry, Second Edition, New York, 161-234.

Köksal O (2001). Gıda ve Beslenme, Erciyes Üniversitesi Yayınları No:130, Kayseri, 285-295.

Krempf M, Ranganathan S, Ritz P, Morin M, Charbonnel B (1991). Plasma vitamin A and E in type I (insulin-dependent) and type II (non-insulin-dependent) adult diabetic patients, International Journal for Vitamin and Nutrition Research., 61(1), 38-42.

Kristi M, Cowell MD (2008). Focus on diagnosis: Type II Diabetes Mellitus, Cowell Pediatrics in Review., 29,289-292.

Kristiansen OP, Mandrup-Poulsen T (2005). Interleukin-6 and diabetes: The good, the bad, or the indifferent, Diabetes., 54, 114-24.

Kroemer G, Martinez AC (1991). Short analytical review: Cytokines and autoimmune disease, Clinical Immunology and Immunopathology., 61, 275-295.

Liston A, Siggs OM, Goodnow CC (2007). Tracing the action of IL-2 in tolerance to islet-specific antigen, Immunology and Cell Biology., 85, 338-342.

Machlin LJ (1991). Handbook of Vitamins, Second Ed., Marcel Dekker Co., New York, 99-108.

- Mathieu C, Waer M, Laureys J, Rutgeerts O (1994). Prevention of autoimmune diabetes in NOD mice by 1,25 dihydroxyvitamin D₃, *Diabetologia.*, 37, 552-558.
- Mert N, Bildik A, Ertekin A, Dede S (1999). *Biyokimya, Y.Y.Ü. Veteriner Fakültesi Yayını, Van*, 162-164.
- Merzouk S, Hichami A, Madani S, Merzouk H, Berrouiguet AY (2003). Antioxidant status and levels of different vitamins determined by high performance liquid chromatography in diabetic subjects with multiple complications, *General Physiology and Biophysics.*, 22(1), 15-27.
- Miller JK, Brezezinska-Selbodzinska E, Madsen FC (1993). Oxidative stress, antioxidants, and animal function, *Journal of Dairy Science.*, 76, 2812.
- Mire-Sulius A, Thorpe R (1998). *Cytokines, Academic Press, England*, 1-151.
- Montgomery R, Conway TW, Spector AA, Chappell D (1996). *Biochemistry A Case-Oriented Approach*, 6th ed, The Clarinda Company, St. Lous. Missouri, Çeviri Ed. Altan N, Palme Yayıncılık, Ankara, 13-596.
- Moriwaki Y, Yamamoto T, Shibutani Y, Aoki E (2003). Elevated levels of interleukin-18 and tumor necrosis factor- α in serum of patients with type II Diabetes Mellitus: Relationship with diabetic nephropathy, *Metabolism.*, 52, 605-608.
- Murthy VK, Shipp JC, Hanson C, Shipp DM (1992). Delayed onset and decreased incidence of diabetes in BB rats fed free radical scavengers, *Diabetes Research and Clinical Practice.*, 18, 11-16.
- Mys'liwska J, Zorena K, Semetkowska-Jurkiewicz E (2005). High levels of circulating interleukin-10 in diabetic nephropathy patients, *European Cytokine Network.*, 16, 117-22.
- Naka T, Nishimoto N, Kishimoto T (2002). The paradigm of IL-6: From basic science to medicine, *Arthritis Research.*, 4, 233-242.
- Nitta Y, Tashiro F, Tokui M (1998). Systemic delivery of interleukin 10 by intramuscular injection of expression plasmid DNA prevents autoimmune diabetes in nonobese diabetic mice, *Human Gene Therapy.*, 9, 1701-1707.
- Ogawa M (1993). Differentiation and proliferation of hematopoietic stem cells, *Blood.*, 81, 2844-2853.
- Öntürk H, Özbek H (2007). Deneysel diyabet oluşturulması ve kan şeker seviyesinin ölçülmesi, *Genel Tıp Dergisi.*, 17(4), 231-236.
- Öztürk Y, Altan VM, Yıldızoğlu Arı N (1996). Effects of experimental diabetes and insulin on smooth muscle functions, *Pharmacological Reviews.*, 48, 69-112.

- Panelli MC, Wang E, Phan G, Puhlmann M (2001). Gene-expression profiling of the response of peripheral blood mononuclear cells and melanoma metastases to systemic IL-2 administration, *Genome Biology.*, 3(7), 25-35.
- Pickup JC, Mattock MB, Chusney GD, Burt D (1997). NIDDM as a disease of the innate immune system: association of acute-phase reactants and interleukin-6 with metabolic syndrome X, *Diabetologia.*, 40, 1286-1292.
- Pozzilli P, Manfrini S, Crino A, Picardi A, Leomanni C (2005). Low levels of 25-hydroxyvitamin D₃ and 1,25-dihydroxyvitamin D₃ in patients with newly diagnosed type I diabetes, *Hormone and Metabolic Research.*, 37(11), 680-683.
- Pradhan AD, Manson JE, Rifai N, Buring JE, Ridker PM (2001). C-reactive protein, interleukin 6, and risk of developing type II Diabetes Mellitus, *The Journal of the American Medical Association.*, 286, 327-334.
- Rabinovitch A (2007). Roles of cytokines in the pathogenesis and therapy of type I diabetes, *Cell Biochemistry and Biophysics.*, 48, 159-163.
- Rabinovitch A, Suarez-Pinzon WL, Strynadka K (1996). Human pancreatic islet β -cell destruction by cytokines involves oxygen free radicals and aldehyde production, *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism.*, 81, 3197-3202.
- Raju VK (2003). Susruta of ancient India, *Indian Journal of Ophthalmology.*, 51, 119-122.
- Rapoport MJ, Mor A, Vardi P, Ramot Y (1998). Decreased secretion of Th2 cytokines precedes up-regulated and delayed secretion of Th1 cytokines in activated peripheral blood mononuclear cells from patients with insulin-dependent Diabetes Mellitus, *Journal of Autoimmunity.*, 11, 635-642.
- Reddy J, Chastagner P, Fiette L, Liu X, Thèze J (2001). IL-2-induced tumor necrosis factor (TNF)-beta expression: Further analysis in the IL-2 knockout model, and comparison with TNF-alpha, lymphotoxin-beta, TNFR1 and TNFR2 modulation, *International Immunology.*, 13(2), 136-147.
- Rutter GA, Wong FS (2008). The pancreatic beta-cell: Birth, life and death, *Biochemical Society Transactions.*, 36(3), 267-71.
- Santamaria P (2003). Cytokines and Chemokines in Autoimmune Disease. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, Kluwer Academic / Plenum Publishers, New York, U.S.A., 133-179.
- Savino R, Lahm A, Salvati AL (1994). Generation of interleukin-6 receptor antagonists by molecular-modeling guided mutagenesis of residues important for gp130 activation, *European Molecular Biology Organization Journal.*, 13, 1357-1367.
- Schlott NC, Hanifi-Moghaddam P, Goebel C (2002). Serum IFN- γ and IL-10 levels are associated with disease progression in non-obese diabetic mice, *Diabetes Metabolic Research Review.*, 18, 64-70.

Scragg R, Holdaway I, Singh V, Metcalf P, Baker J (1995). Serum 25-hydroxyvitamin D₃ levels decreased in impaired glucose tolerance and Diabetes Mellitus, Diabetes Research and Clinical Practice., 27(3), 181-188.

Sencer E (1987). Beslenme ve Diyet, Beta Basım Yayım Dağıtım A.Ş., İstanbul, 148-174.

Spranger J, Kroke A, Möhlig M (2003). Inflammatory cytokines and the risk to develop type II diabetes, Diabetes., 52, 812-817.

Stewart LR, Judd HJ (1984). Rapid procedure for the determination of vitamins A and D in fortified skimmed milk powder using high-performance liquid chromatography, The Analyst., 109, 489-492.

Tajiri Y, Grill VE (1999). Interactions between vitamin E and glucose on β -cell functions in the rat: An invivo and invitro study, Pancreas., 18, 274-281.

Tilg H, Moschen AR (2008). Inflammatory mechanisms in the regulation of insulin resistance, Journal of Molecular Medicine., 14(3-4), 222-31.

Tokgöz G (1997). Sitokinler, Klinik İmmünoloji, Antıp A.Ş. Yayınları, Ankara, 85-100.

Tüzün C (1993). Medikal Biyokimya, Palme Yayınları, Ankara, 97-103.

Vardar HS (2003). Diabetes Mellituslu hastalarda serum interlökin-1, interlökin-2, tümör nekroz faktörü-alfa sitokin düzeyleri ile serum tiroit peroksidaz antikor düzeyleri arasındaki ilişkilerin incelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı, Ankara.

Wallander M, Malmberg K, Norhammar A (2008). Oral glucose tolerance test: A reliable tool for early detection of glucose abnormalities in patients with acute myocardial infarction in clinical practice, Diabetes Care, 31, 36-38.

Walsh G (2004). Biopharmaceuticals, Biochemistry and Biotechnology, Second Edition, John Wiley and Sons Ltd, England, 189-253.

Wang T, Xiao X, Li WH, Yuan T (2008). Fulminant type I diabetes: Report of two cases, Chinese Medical Journal., 121(2), 181-182.

Williams G (1999). Handbook of Diabetes, 2nd Ed., Blackwell Science, Oxford, 6-7.

World Health Organisation (2006). Definition and Diagnosis of Diabetes Mellitus and Intermediate Hyperglycemia, WHO Document Production Services, Geneva, Switzerland, 5-35.

Wuryastuti H, Stowe HD, Bull RW (1993). Effects of vitamin E and selenium responses of peripheral blood, colostrums, milk leukocytes of sows, Journal of Animal Science., 71, 2464-2466.

Yenigün M (1995). Her Yönü ile Diabetes Mellitus, Haseki Hastanesi Yayını Vakfı No: II, İstanbul, 3-5.

Yenisey Ç, Öge A, Serter M, Bolaman Z (2001). Serum interleukin-1 (IL-1Beta) and nitric oxide (NO) levels in Diabetes Mellitus, Medical Journal of Ege University., 11(1), 1-5.

Zunino SJ, Storms DH, Stephensen CB (2007). Diets rich in polyphenols and vitamin A inhibit the development of type I autoimmune diabetes in nonobese diabetic mice, Journal of Nutrition., 137, 1216-1221.

ÖZGEÇMİŞ

1977 yılında Van'da doğdu. İlkokulu Muğla Karabörtlen Köyü İlkokulu'nda tamamladı. Ortaokul ve lise öğrenimine Muğla Anadolu Lisesi'nde başlayıp 1995 yılında Vangölü Anadolu Lisesi'nden mezun oldu. 1996 yılında Yüzüncü Yıl Üniversitesi Eğitim Fakültesi Kimya Öğretmenliği Bölümü'nü kazandı. 2000 yılında mezun olmasının ardından Milli Eğitim Bakanlığı'na bağlı olarak öğretmenlik mesleğine başladı. Aynı zamanda Yüzüncü Yıl Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Biyokimya Anabilim Dalı'nda yüksek lisans öğrenimi görmeye hak kazandı ve yüksek lisans çalışmalarını tamamlamasının ardından 2003 yılında aynı anabilim dalında doktora öğrenimi görmeye hak kazandı. Halen Milli Eğitim Bakanlığı'na bağlı olarak öğretmenlik mesleğini sürdürmekte olup evli ve bir çocuk babasıdır.