

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

**STREPTOZOTOSİN İLE İNDÜKLENMİŞ DİYABETİK  
RATLARDA KROM HİSTİDİNATIN NF-κB, Nrf2 VE Akt  
PROTEİNLERİNİN EKSPRESYONU ÜZERİNE ETKİLERİ**

**UZMANLIK TEZİ  
Dr. M. Yavuz SELÇUK**

**TEZ DANIŞMANI  
Yrd. Doç. Dr. Bilge AYGEN**

**ELAZIĞ  
2010**

**DEKANLIK ONAYI**

**Prof. Dr. İrfan ORHAN** \_\_\_\_\_

**Dekan**

Bu tez Uzmanlık Tezi standartlarına uygun bulunmuştur.

**Prof. Dr. Emir DÖNDER** \_\_\_\_\_

**İç Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanı**

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

**Yrd. Doç. Dr. Bilge AYGEN** \_\_\_\_\_

**Danışman**

**Uzmanlık Sınavı Jüri Üyeleri**

..... \_\_\_\_\_  
..... \_\_\_\_\_  
..... \_\_\_\_\_  
..... \_\_\_\_\_  
..... \_\_\_\_\_

## TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim sürecinde, eğitimime büyük katkıları olan başta tez danışmanım Yrd. Doç. Dr. Bilge AYGEN olmak üzere, İç Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Emir DÖNDER ve diğer saygıdeğer hocalarım, Prof. Dr. Ayhan DOĞUKAN, Prof. Dr. İbrahim Halil BAHÇECİOĞLU, Prof. Dr. Ahmet IŞIK, Prof. Dr. Hüseyin ÇELİKER, Doç. Dr. Mehmet YALNIZ, Doç. Dr. Emin Tamer ELKIRAN, Doç. Dr. Süleyman Serdar KOCA, Doç. Dr. Aziz KARAOĞLU, Doç. Dr. Ramiz ÇOLAK, Doç. Dr. Yusuf ÖZKAN, Yrd. Doç. Dr. Cem AYGÜN'e teşekkür ederim.

Tezimin tüm aşamalarında değerli bilgilerini aktaran, her konuda destek olarak, yol gösteren tez danışmanı Nefroloji Bilim Dalı öğretim üyesi Yrd. Doç. Dr. Bilge AYGEN'e ve tezimin her aşamasında engin bilgi ve tecrübeleri ile desteklerini esirgemeyen Nefroloji Bilim Dalı öğretim üyesi Prof. Dr. Ayhan DOĞUKAN'a, Veterinerlik Fakültesi Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları öğretim üyesi Prof. Dr. Kazım ŞAHİN ve ekibine, Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji bölümü öğretim üyesi Yrd. Doç. Dr. Mehmet TUZCU ve ekibine teşekkür ederim.

Uzmanlık eğitimim boyunca birlikte çalıştığım samimi ve dostane duygular paylaştığım tüm asistan ve uzman olmuş arkadaşlarıma, iç hastalıkları servislerinde çalışan tüm hemşire, personel ve kliniğimiz çalışanlarına teşekkür ederim.

Bugünlere gelmemde en büyük pay sahibi olan ve hayatımın tüm aşamalarında olduğu gibi asistanlığım süresince de bana sevgi ve desteklerini biran bile eksik etmeyen ve bana sabırlarını sunan sevgili annem, babam ve kardeşlerime teşekkür ederim.

Hayatıma girdiği andan beri her zaman olduğu gibi, tez çalışmam esnasında da her türlü desteğini esirgemeyen, varlığıyla güven veren yol arkadaşım, sevgili eşim Dt. Ahu SELÇUK'a ve tez çalışmamın son günlerinde dünyaya gelerek bu çalışmaya farklı bir anlam katan, oğlum M. Agah SELÇUK'a sonsuz teşekkür ederim.

Dr. M.Yavuz SELÇUK

## ÖZET

### **STREPTOZOTOSİN İLE İNDÜKLENMİŞ DİYABETİK RATLARDA KROM HİSTİDİNATIN NF-κB, Nrf2 VE Akt PROTEİNLERİNİN EKSPRESYONU ÜZERİNE ETKİLERİ**

Değişik organik formları bulunan kromun son yıllarda yapılan çalışmalar sonucunda tip 2 diyabet hastalığında insülin duyarlılığını, insülin reseptör sayısını, glukoz tutabilme yeteneğini artırdığı ve oksidatif stresi azaltarak diyabet ve komplikasyonlarının önlenmesinde katkı sağladığı bildirilmektedir.

Bu çalışmada, insanlarda diğer krom suplemanlarından daha iyi emilime sahip olduğu bildirilen krom histidinatin (CrHis); yüksek yağlı diyet (HFD) ve streptozotosin (STZ) ile diyabet oluşturulmuş ratlarda böbrek dokusundaki NF-κB, Nrf2 ve AKT proteinlerinin ekspresyonu üzerine olan etkileri araştırılmıştır. Bu amaçla ortalama ağırlıkları 200 gr (180-220 gr) olan, 8 haftalık yaşta toplam 28 adet Wistar albino cinsi erkek rat kullanıldı. Ratlar her grupta 7 hayvan bulunacak şekilde 4 gruba ayrıldı. (i) Enerjinin % 12'si yağlardan oluşan standart diyetle beslenen grup Kontrol grubunu (K), (ii) Standart diyet ve CrHis içme suyu ile birlikte günlük 110 mcg/kg verilen grup K+CrHis grubunu, (iii) HFD ile beslenen ve 2 haftadan sonra streptozotosin (STZ) (STZ, 40 mg/kg i.p.) verilen grup (HFD+STZ) grubunu (iv), HFD ile beslenen ve 2 haftadan sonra streptozotosin (STZ) (STZ, 40 mg/kg i.p.) enjekte edilen ve CrHis (günlük 110 mcg/kg) verilen grup HFD+STZ+CrHis grubunu oluşturdu. Araştırma 12 haftada sonuçlandırıldı. HFD+STZ uygulanan grupta kontrol grubuna göre NF-κB düzeyleri artış gösterdi. HFD+STZ+CrHis grubunda ise HFD+STZ uygulanan gruba göre NF-κB düzeyleri anlamlı ölçüde azaldı ( $p<0,05$ ). HFD+STZ uygulanan grupta kontrol grubuna göre Nrf2 düzeyleri azalırken, HFD+STZ+CrHis grubunda ise HFD+STZ uygulanan gruba göre Nrf2 düzeyleri anlamlı ölçüde arttı ( $p<0,05$ ). HFD+STZ uygulanan grupta kontrol grubuna göre Akt düzeyleri azalırken, HFD+STZ+CrHis grubunda ise HFD+STZ uygulanan gruba göre Akt protein ekspresyon düzeyleri anlamlı ölçüde arttı ( $p<0,05$ ).

Sonuç olarak yağlı diyetle beslenen ve deneysel olarak diyabet oluşturulan ratlarda krom histidinatin verilmesi; böbrek dokusunda NF-κB protein ekspresyon

düzeylelerini azaltıp, Nrf2 ve Akt protein ekspresyon düzeylelerini de artırarak diyabet ve diyabetin komplikasyonlarından olan diyabetik nefropatinin gelişiminin önlenmesinde destek sağladığı gözlenmiştir.

**Anahtar kelimeler:** Tip 2 Diyabet, Krom histidinat, NF-κB, Nrf2, Akt

**ABSTRACT**

**EFFECTS OF CHROMIUM HISTIDINATE ON THE EXPRESSION OF  
NF- $\kappa$ B, Nrf2 AND Akt PROTEINS IN A RAT MODEL OF  
STREPTOZOTOCIN-INDUCED DIABETES**

It has been reported in recent studies that in type 2 diabetes various organic form of chromium is capable of improving insulin sensitivity, insulin receptor number, glucose uptake of cells and diminishing oxidative stress and by these ways contributes to prevent diabetes and its complications.

In this study, effects of chromium histidinate (CrHis), which previously reported as more absorbable by human than the other chromium forms, on NF- $\kappa$ B, Nrf2 and Akt protein expression on the kidney tissue of the diabetic rats by high fat fed (HFD) and experimentally diabetes induced by streptozotocin (STZ), were researched. 28 male wistar albino rats used in this study mean weight was 200 gr (180-220 gr) and age was 8 week. Rats were divided into 4 groups that contain 7 animals. (i) The group which received a standard diet (12% of calories as fat) was assigned as control group (C), (ii) The group which fed standard diet and concomitantly received CrHis 110 mcg CrHis/kg body weight per day was assigned as C+CrHis group, (iii) The group which fed as HFD but were injected with STZ on day 14 (STZ, 40 mg/kg i.p.) was assigned as HFD+STZ group, (iv) The group which fed as HFD and after two weeks injected STZ concomitantly supplemented with 110 mcg CrHis/kg body weight per day was assigned as HFD+STZ+CrHis group. The research finished in 12 weeks. HFD+STZ group had higher NF- $\kappa$ B levels than control group. In HFD+STZ+CrHis group, NF- $\kappa$ B levels had diminished significantly in comparison to HFD+STZ group ( $p < 0,05$ ). Nrf2 levels had diminished in HFD+STZ group in comparison to control group, on the other hand increased significantly in HFD+STZ+CrHis group comparison to HFD+STZ group ( $p < 0,05$ ). Akt levels had diminished in HFD+STZ group in comparison to control group; these levels increased significantly in HFD+STZ+CrHis group comparison to HFD+STZ group ( $p < 0,05$ ).

In conclusion, in the kidney tissue of the rats that were under high fat fed and diabetic by STZ administration; CrHis supplementation diminished the NF- $\kappa$ B protein

expression and increased Nrf2 and Akt protein expression. By this way CrHis supports the prevention of diabetes and its complication, such as diabetic nephropathy.

**Keywords:** Type 2 Diabetes, Chromium Histidinate, NF- $\kappa$ B, Nrf2, Akt

## İÇİNDEKİLER

<b>BAŞLIK</b>	<b>i</b>
<b>ONAY</b>	<b>ii</b>
<b>TEŞEKKÜR</b>	<b>iii</b>
<b>ÖZET</b>	<b>iv</b>
<b>ABSTRACT</b>	<b>vi</b>
<b>İÇİNDEKİLER</b>	<b>viii</b>
<b>TABLolar LİSTESİ</b>	<b>xi</b>
<b>ŞEKİLLER LİSTESİ</b>	<b>xii</b>
<b>KISALTMALAR LİSTESİ</b>	<b>xiii</b>
<b>1. GİRİŞ</b>	<b>1</b>
1.1. Diabetes Mellitus	1
1.1.1. Tanım	1
1.1.2. Epidemiyoloji	1
1.1.3. Tanı	2
1.1.3.1. Oral Glikoz Tolerans Testi	3
1.1.4. Diabetes Mellitus Sınıflaması	4
1.1.4.1. Tip 1 Diabetes Mellitus	6
1.1.4.1.1. Tip 1 Diabetes Mellitus Patogenezi	7
1.1.4.2. Tip 2 Diabetes Mellitus (NIDDM)	8
1.1.4.2.1. Tip 2 Diabetes Mellitusun Etiyolojik Sınıflandırması	8
1.1.4.2.2. Tip 2 Diabetes Mellitus Patogenezi	9
1.1.5. Diabetes Mellitus'un Komplikasyonları	10
1.1.5.1. Diabetes Mellitusun Akut Komplikasyonları	11
1.1.5.1.1. Diyabetik Ketoasidoz (DKA)	11
1.1.5.1.2. Hiperosmolar Hiperglisemik Sendrom (HHS)	11
1.1.5.1.3. Laktik Asidoz	12
1.1.5.1.4. Hipoglisemi	12
1.1.5.2. Diabetes Mellitusun Kronik Komplikasyonları	12

1.1.5.2.1. Mikrovasküler Komplikasyonlar	12
1.1.5.2.1.1. Diyabetik Nefropati	12
1.1.5.2.1.2. Diyabetik Retinopati	13
1.1.5.2.1.3. Diyabetik Nöropati	13
1.1.5.2.2. Kronik Makrovasküler Komplikasyonlar	13
1.2. Krom ve Diyabet	14
1.2.1. Kromun Tip 2 Diyabette İnsülin Direncine Etkileri	15
1.2.2. Krom ile İnsülin Arasındaki Moleküler Etkileşim Mekanizması	15
1.2.3. Histidin Aminoasiti ve Krom Histidinat	17
1.2.4. Organik Kromun Etkileri	17
1.2.5. Cr-Histidinat ve Diğer Organik Krom Formlarının Emilimleri	19
1.2.6. Krom Toksisitesi	20
1.3. Nükleer Faktör Kappa B (NF-κB)	21
1.3.1. Tanımı, Yapısı ve Aktivasyonu	21
1.3.2. NF-κB'nin Fonksiyonu	22
1.3.3. NF-κB ve Diyabet	22
1.3.4. NF-κB ve Böbrek	23
1.4. Nükleer Faktör Eritroid 2 - Related Faktör 2 (Nrf2)	24
1.4.1. Nrf2'nin Yapısı ve Fonksiyonları	24
1.4.2. Nrf2 Aktivasyonunun Moleküler Mekanizmaları	25
1.4.3. Nrf2 ve Diyabet	26
1.4.4. Nrf2 ve Böbrek	27
1.5. Akt (Protein Kinaz B)	27
1.5.1. Akt Tanımı	27
1.5.2. Akt'nin Yapısı	27
1.5.3. Akt'nin Regülasyonu	28
1.5.4. Akt'nin Fonksiyonları	29
1.5.5. Akt ve İnsulin	30

<b>2. MATERYAL VE METOD</b>	<b>33</b>
2.1. Hayvan Materyali	33
2.2. Araştırma Grupları	33
2.3. Örneklerin Hazırlanması	34
2.4. Laboratuvar Analizleri	34
2.4.1. SDS-PAGE Analizleri	34
2.4.2. Western Blot Analizleri	34
2.5. İstatistiksel Analizler	35
<b>3. BULGULAR</b>	<b>36</b>
3.1. Böbrek Dokusundaki Nükleer Faktör Kappa B (NF-κB) Proteinini Ekspresyonu	36
3.2. Böbrek Dokusundaki Nükleer Faktör Eritroid 2 - Related Faktör 2 (Nrf2) Ekspresyonu	37
3.3. Böbrek Dokusundaki Akt (Protein Kinaz B) Proteinini Ekspresyonu	38
<b>4. TARTIşMA VE SONUÇ</b>	<b>40</b>
<b>5. ÖZGEÇMİş</b>	<b>65</b>

## TABLULAR LİSTESİ

<b>Tablo 1.</b> Diabetes mellitusun tanı kriterleri	2
<b>Tablo 2.</b> Tip 2 DM için yüksek risk grupları	3
<b>Tablo 3.</b> ADA 1997, 2004 ve WHO 1999 raporlarına göre bozulmuş glikoz metabolizma kriterleri	3
<b>Tablo 4.</b> Diabetes Mellitusun Etiyolojik Sınıflandırılması	4
<b>Tablo 5.</b> Diyabetin akut ve kronik komplikasyonları	10
<b>Tablo 6.</b> İnsanlar için önerilen günlük alınması gereken yeterli krom miktarı	19
<b>Tablo 7.</b> Deney Hayvanlarına Verilen Standart ve Yüksek Yağlı Yemlerin Bileşimi	33

## ŞEKİLLER LİSTESİ

<b>Şekil 1.</b> İnsülin Potensiyalizasyonunda Kromun Etki Şekli	16
<b>Şekil 2.</b> İnsülin Potensiyalizasyonunda Krom ve LMWCr İlişkisi	16
<b>Şekil 3.</b> Protein Kinaz B/Akt yolunun aktivasyonu ve işlevleri	28
<b>Şekil 4.</b> Çalışma gruplarına ait böbrek dokusu NF-κB düzeyleri	36
<b>Şekil 5.</b> Çalışma gruplarına ait böbrek dokusu Nrf2 düzeyleri	37
<b>Şekil 6.</b> Çalışma gruplarına ait böbrek dokusu Akt düzeyleri	38
<b>Şekil 7.</b> Çalışma gruplarına ait böbrek dokusu NF-κB, Nrf2, Akt bantları	39

## KISALTMALAR LİSTESİ

<b>ADA</b>	: Amerikan Diyabet Cemiyeti
<b>AGE</b>	: İleri Glikasyon Son Ürünleri
<b>Akt</b>	: Protein Kinaz B
<b>ARE</b>	: Antioksidan Cevap Elementi
<b>Cr</b>	: Krom
<b>CrHis</b>	: Krom Histidinat
<b>CrPic</b>	: Krom Pikolinat
<b>DAB</b>	: Diaminobenzidin
<b>DAG</b>	: Diaçilgliserol
<b>DKA</b>	: Diyabetik Ketoasidoz
<b>DM</b>	: Diabetes Mellitus
<b>FIGlu</b>	: N-formiminoglutamatı
<b>GAD</b>	: Glutamik Asit Dekarboksilaz
<b>GDM</b>	: Gestasyonel Diabetes Mellitus
<b>GLUT-4</b>	: Glukoz Taşıyıcı Protein 4
<b>GSK</b>	: Glikojen Sentaz Kinaz
<b>GS</b>	: Glikojen Sentaz
<b>GTF</b>	: Glukoz Tolerans Faktör
<b>HbA1c</b>	: Hemoglobin A1c
<b>HDL</b>	: Yüksek Dansiteli Lipoprotein
<b>HFD</b>	: Yüksek Yağ İçeren Diyet
<b>HHS</b>	: Hiperosmolar Hiperglisemik Sendrom
<b>IA<sub>2</sub></b>	: Tirozin Fosfataz
<b>ICAM-1</b>	: İnterelüler Adhesion Molecule-1
<b>ICA</b>	: Islet Cell Antibodies
<b>IDDM</b>	: İnsüline Bağımlı Diabetes Mellitus
<b>IFG</b>	: Bozulmuş Açlık Glisemisi
<b>IFN</b>	: İnterferon
<b>IGT</b>	: Bozulmuş Glukoz Toleransı
<b>İkB</b>	: İnhibitör Kappa B

<b>IKK</b>	: İnhibitör Kappa Beta Kinaz
<b>IL</b>	: İnterlökin
<b>INrf2</b>	: İnhibitör Nrf2
<b>IRS-1</b>	: İnsülin Reseptör Substrat-1
<b>IP</b>	: İnteraperitoneal
<b>IV</b>	: İntravenöz
<b>LMWCr</b>	: Krom İçeren Düşük Moleküler Ağırlıklı Oligopeptid
<b>MAPK</b>	: Mitojen Activated Protein Kinaz
<b>MODY</b>	: Maturity Onset Diabetes of The Young
<b>NF-κB</b>	: Nükleer Faktör Kappa B
<b>NK</b>	: Natural Killer
<b>NO</b>	: Nitrik Oksit
<b>Nrf2</b>	: Nükleer Faktör Eritroid 2 - Related Faktör 2
<b>OGTT</b>	: Oral Glukoz Tolerans Testi
<b>PH</b>	: Pleckstrin Homology
<b>PİP3</b>	: Lipid Phosphatidylinositol 3,4,5,-Triphosphate
<b>Pİ3K</b>	: Fosfatidylinositol Kinaz
<b>PKC</b>	: Protein Kinaz-C
<b>ROS</b>	: Serbest Oksijen Radikalleri
<b>SDS</b>	: Sodyum Dodesil Sülfat
<b>SDS-PAGE</b>	: Sodyum Dodesil Sülfat Poli Akrilamid Jel Elektroforezi
<b>STZ</b>	: Streptozosin
<b>TNF-Alfa</b>	: Tümör Nekroz Faktör Alfa

# 1. GİRİŞ

## 1.1. Diabetes Mellitus

### 1.1.1. Tanım

Diabetes mellitus ortak özelliği hiperglisemi olan heterojen bir metabolizma bozukluğudur (1).

İnsülin sekresyonu ve/veya insülinin etkisindeki bozukluklardan kaynaklanan, hiperglisemi ile karakterize karbonhidrat, lipit ve protein metabolizması bozuklukları ve hızlanmış aterosklerozla birlikte, mikrovasküler ve makrovasküler komplikasyonlarla seyreden kronik, metabolik bir hastalıktır (2). Belirgin hipergliseminin semptomları poliüri, polidipsi, kilo kaybı, bazen de polifaji ve görme bozukluğunu içerir (3). Bazı durumlarda diyabet, gestasyonel diabetes mellitus (GDM) veya gebelikte görülen glikoz intoleransı şeklinde kolaylıkla fark edilebilir. Bazı kişilerde diyabet gelişme olasılığı glikoz tolerans anomalilerinden önce de tanımlanabilir (4).

### 1.1.2. Epidemiyoloji

Diabetes mellitusun tanınması, erken dönemde tanı konması ve tedavi programlarının belirlenmesi için hastalığın epidemiyolojik özelliklerinin bilinmesi önemlidir (2). Diyabet epidemiyolojisi, bir disiplin olarak oldukça yeni bir konudur. 1979 “National Diabetes Data Group” ve daha sonra 1980’de, World Health Organization (WHO) Diabetes Mellitus kriterleri ve sınıflandırmasının standardizasyonu toplantılarında bu konu üzerinde de durulmuştur. Son 20 yılda diyabetin araştırma, bakım ve önlenmesi için epidemiyoloji çalışmaları oldukça hız kazanmıştır. Günümüzde diabetes mellitus birçok gelişmiş ve endüstrileşmekte olan ülkeler için epidemik bir hastalık olarak kabul görmektedir. Günümüzde genetik, çevresel, davranışsal, sosyoekonomik ve kültürel faktörlerin epidemiyeye eklenmesi özellikle tip 2 DM prevalansında artışa neden olmuştur. Diabetes Mellitus, dünyanın farklı bölgelerinde farklı oranlarda görülür. Dünyada en yüksek diyabet prevalansı Amerika’da yaşayan Pima Kızılderilileri’nde olup, % 55 civarındadır. Grönland ve Alaska Eskimolarında ise DM prevalansının çok düşük olduğu görülmüştür (5).

Tip 2 DM, dünya çapında görülen en sık diyabet formudur. Uluslararası Diyabet Federasyonu verilerine göre 2000 yılında 150 milyon olarak hesaplanan

diyabetik hasta sayısının 2010 yılında 220 milyona, 2025 yılında ise 300 milyona yükseleceği öngörülmektedir (6, 7).

Türkiye’de geniş çaplı ilk diyabet taraması 1999-2000 yıllarında Türk Diyabet Epidemiyoloji Çalışma Grubu (TURDEP) tarafından 20 yaş ve üzeri 24788 kişi üzerinde yapılan çalışmada diyabetin prevalansının 20- 60 yaş arasındaki bireylerde % 7,2 bozulmuş glikoz toleransı prevalansı ise % 6,7 olarak bildirilmiştir. 2000 yılı nüfus sayımına göre 4,9 milyon diyabetli hasta bulunduğu ve her üç diyabetliden birinin diyabetinin farkında olmadığı saptanmıştır. Kadınlarda erkeklere göre daha fazladır. Şehirlerde, kırsal kesime göre diyabet ve bozulmuş glikoz toleransı daha sık olarak görülmektedir (8).

### 1.1.3. Tanı

Diabetes mellitus tanısı konusunda oldukça sık değişiklikler olmuştur. Amerikan Diyabet Birliği (ADA) ve Dünya Sağlık Örgütü uzmanları tarafından yapılan paneller sonucunda en son gözden geçirilen ve uzlaşma sağlanan tanı kriterleri yayınlanmıştır (1). ADA’nın 2004 ve WHO’nun 1999 yılı raporlarına göre diabetes mellitusun tanı kriterleri Tablo 1’deki gibidir (5, 9, 10).

**Tablo 1.** Diabetes mellitusun tanı kriterleri

---

1. Klasik diyabet semptomları (poliüri, polidipsi ve açıklanamayan kilo kaybı) ile birlikte günün herhangi bir saatinde, son öğün zamanı dikkate alınmaksızın, plazma glukoz konsantrasyonunun $\geq 200$ mg/dl (11,1 mmol/L).
2. En az 8 saatlik açlık sonrasında plazma glukoz düzeyinin $\geq 126$ mg/dl (7,0 mmol/L).
3. 75 gram glukoz kullanılarak uygulanacak olan Oral Glukoz Tolerans Testi (OGTT)’nin 2.saat glukoz düzeyinin $\geq 200$ mg/dl (11,1 mmol/L) olması.

---

Eğer açlık kan şekeri 100-125 mg/dl aralığında ise kişide bozulmuş açlık glukozu (IFG), OGTT sonrası 2. saat kan şekeri düzeyi 140-199 mg/dl aralığında ise kişide bozulmuş glukoz toleransı (IGT) mevcuttur (9).

3. kriter olan OGTT’nin rutin olarak uygulanması önerilmez. Diyabet için yüksek risk taşıyan bireyler (Tablo 2), tanı amaçlı olarak OGTT ile değerlendirilmelidir (1, 3).

**Tablo 2.** Tip 2 DM için yüksek risk grupları (1).

1. Ailede diyabet öyküsü olması (anne-baba veya kardeşte tip 2 DM)
2. Obezite (Vücut Kitle İndeksi  $\geq 27$  kg/m<sup>2</sup>, ideal vucut ağırlığından % 20 fazlalık)
3. Yaş  $\geq 45$
4. Irk, etnisite (Hispanik Amerikalılar, Pasifik adalılar, vs.)
5. Gestasyonel diyabet veya makrozomi öyküsü ( $\geq 4$  kg)
6. Polikistik over sendromu
7. Daha önce IFG veya IGT tanısı alanlar
8. Hipertansiyon (Kan basıncı  $\geq 140/90$  mmHg)
9. Yüksek dansiteli kolesterol (HDL) kolesterol değeri 35 mg/dl'den az ve/veya trigliserid değeri 250 mg/dl'den fazla olanlar.

ADA, 2004 yılında açlık plazma glikoz düzeyinde bir değişiklik yaparak alt sınırı 100 mg/dl'ye indirilmiştir (Tablo 3).

**Tablo 3.** ADA 1997, 2004 ve WHO 1999 raporlarına göre bozulmuş glikoz metabolizma kriterleri (9, 10)

		ADA (1997)	ADA (2004)	WHO (1999)
Diyabet	Açlık	$\geq 126$ mg/dl	$\geq 126$ mg/dl	$\geq 126$ mg/dl
	OGTT 2. saat	$\geq 200$ mg/dl	$\geq 200$ mg/dl	$\geq 200$ mg/dl
IFG	Açlık	110-125 mg/dl	100-125 mg/dl	110-125 mg/dl
	OGTT 2. saat			< 140 mg/dl
IGT	Açlık			< 126 mg/dl
	OGTT 2. saat	140-199 mg/dl	140-199 mg/dl	140-199 mg/dl

#### 1.1.3.1. Oral Glikoz Tolerans Testi

OGTT, sabah vaktinde, her zamanki fiziksel aktivite ve en az 3 günlük sıkı bir diyet (> 150 gr günlük karbonhidrat) yaptıktan sonra yapılmalıdır. Test öncesi gece boyunca 10-16 saatlik açlık olmalıdır, fakat hasta su içebilir. Test sonucunu etkileyebilen faktörler kaydedilmelidir (örn. medikasyon, inaktivite, enfeksiyonlar). Açlık kan örneği alındıktan sonra, hastalar 5 dakikalık süre içinde 150-300 mL su ile

75 gr glikoz içmelidirler. Kan örnekleri testten önce (açlık) ve testin başlangıcından sonra ikinci saatte alınmalıdır (4). OGTT sonuçları Tablo 3.'de verilen kriterlere göre yorumlanmalıdır.

#### **1.1.4. Diabetes Mellitus Sınıflaması**

Diyabetin spesifik etiyolojiyle tanımlanan formlarının artması üzerine 1997 yılında, ADA diyabetin klinik klasifikasyon kriterlerini düzenleyip WHO'ya sunmuştur. Bu kriterler 1999 yılında WHO tarafından bir rapor halinde yayınlanmıştır. Yeni klasifikasyon etyolojiye dayanan özelliktedir. Bu sınıflama ile insüline bağımlı ve insüline bağımlı olmayan diyabet yerine Tip 1 ve Tip 2 diyabet terminolojisinin kullanılması önerilmiştir. Diyabet 4 ana klinik gruba ayrılmıştır. Bunlar; Tip 1 DM, Tip 2 DM, diğer spesifik diyabet tipleri ve gestasyonel DM (GDM)'dir (11, 12).

2004 yılında ADA, WHO'nun DM için 1999'da kabul ettiği sınıflandırmasını daha da geliştirerek etiyolojisine göre yapılmış olan son sınıflamasını yayınlamıştır. ADA'nın 2004'te kabul ettiği DM'in etiyolojik sınıflandırması Tablo 4'de gösterilmiştir (9).

**Tablo 4.** Diabetes Mellitusun Etiyolojik Sınıflandırılması

---

#### **I- Tip 1 Diyabet**

$\beta$  hücre yıkımı, çoğunlukla mutlak insülin eksikliği

a) İmmunolojik

b) İdiopatik

#### **II- Tip 2 Diyabet**

İnsülin eksikliği ve ağırlıklı olarak insülin direncinin veya insülin salgı bozukluğunun eşlik ettiği geniş bir spektruma kadar değişiklik gösterir.

#### **III- Diğer spesifik tipler**

A)  $\beta$  hücre fonksiyonunda genetik hata

1. Kromozom 12, HNF-1 a (MODY 3)

2. Kromozom 7, glukokinaz (MODY 2)

3. Kromozom 20, HNF-4 a (MODY 1)

4. Kromozom 13, insülin-promotor faktör-1 (IPF; MODY 4)

5. Koromozom 17, HNF-1 b (MODY 5)
6. Kromozom 2, NeuroD1 (MODY 6)
7. Mitokondriyal DNA
8. Diğerleri

B) İnsülin etki mekanizmasındaki genetik hatalar

1. Tip A insülin rezistansı
2. Leprechaunizm
3. Rabson-Mendenhall Sendromu
4. Lipoatrofik diyabet
5. Diğerleri

C) Ekzokrin pankreas hastalıkları

1. Pankreatit
2. Travma/pankreatektomi
3. Neoplazi
4. Kistik fibrozis
5. Hemakromatozis
6. Fibrokalküloz pankreatopati
7. Diğerleri

D) Endokrinopatiler

1. Akromegali
2. Cushing sendromu
3. Glukagonoma
4. Feokromasitoma
5. Hipertiroidizm
6. Somatostatinoma
7. Aldesteronoma
8. Diğerleri

E) İlaç veya kimyasallara bağlı

1. Vacor
2. Pentamidin
3. Nikotirik asit
4. Glukokortikoidler

5. Tiroid hormonu
6. Diazoksit
7.  $\beta$  adrenerjik agonistler
8. Tiazidler
9. Dilantin
10. Alfa-interfereron

F) Enfeksiyonlar

1. Konjenital rubella
2. Sitomegalovirüs
3. Diğerleri

G) İmmun diyabetin bilinmeyen formları

1. “Stiff-man” Sendromu
2. Anti-insülin reseptör antikoları
3. Diğerleri

H) Bazen diyabetin eşlik ettiği diğer genetik sendromlar

1. Down sendromu
2. Klinefelter sendromu
3. Turner sendromu
4. Wolfram sendromu
5. Friedreich ataksisi
6. Huntington koreası
7. Laurence- Moon-Biedl Sendromu
8. Miyotonik distrofi
9. Porfiriya
10. Prader-Willi sendromu

#### **IV- Gestasyonel diyabet (GDM)**

---

##### **1.1.4.1. Tip 1 Diabetes Mellitus**

Tip 1 (insüline bağımlı) diyabet (Insülin-dependent diabetes mellitus, IDDM) otoimmün bir hastalıktır (13). Yaşamın her döneminde görülebilir, genellikle otuz yaşın altında ortaya çıkar. 10-15 yaş grubunda daha sık görülür. Tüm diyabetlilerin yaklaşık % 7-10 oluşturur (14).

Tip 1 diyabet,  $\beta$  hücre destrüksiyonuyla seyreden diyabet formudur. Hayatta kalmak için insüline ihtiyaç vardır.  $\beta$  hücre destrüksiyonu, otoantikörlerin kesin olarak gösterilmesiyle erkenden yakalanabilir. Hastalık açıkça tanınır karakter kazanmadan önce metabolik olarak normaldirler. Tip 1 diyabet,  $\beta$  hücre destrüksiyonuna sebep olan otoimmün belirteçlerden; glutamik asit dekarboksilaza karşı gelişen antikörler (anti GAD), anti adacık hücresi antikörleri “Islet Cell antibodies (ICA)” insülin antikörleri, tirozin fosfotaz IA-2 ve IA-2b otoantikörlerinin varlığıyla karakterizedir. Bu antikörlardan bir veya daha fazlasına sahip olan hasta tip 1A, immün-aracılıklı tip 1 diyabet olarak sınıflandırılır (5, 11, 12). Tip 1 diyabetin, otoimmün bozukluk ya da otoimmün antikörlerin olmadığı bir formunda vardır. Tip 1 diyabetin bu formunda, ketozis olmaması ve kişinin yaşamını devam ettirebilmesi için insüline gereksinim duyulan ve hiperglisemiyle seyreden ilerleyici bir hastalık süreci vardır. Bu form, tip 1B veya idiyopatik diyabet olarak adlandırılır (11).

Tip 1 diyabetik hastalarda, çok düşük veya tespit edilemeyen insülin ve C-peptid düzeyleri vardır. Tip 1A diyabetli hastalar çoğu zaman; graves, hashimato, addison, vitilligo ve pernisyoz anemi gibi otoimmün hastalıklarla beraberlik gösterirler (5, 11). Tip 1B veya idiyopatik diyabetli hastalar düşük insülin ve C-peptid seviyeleriyle seyrederek. Bu tür hastalar ketoasidoza eğilimlidirler. Bu hastaların büyük kesimi Afrika ve Asya kökenlidirler. Bunlar epizodik ketoasidoz tablolarıyla sık karşılaşılır ve genelde insulinoopeninin patogenetik zemini açıklanamamaktadır (11, 12).

#### **1.1.4.1.1. Tip 1 Diabetes Mellitus Patogenezi**

Tip 1 diyabet etiopatogenezinden sorumlu birçok etiyolojik faktör tanımlanmıştır.

**a) Genetik Faktörler:** Tip 1 diyabette genetik faktörlerin önemli olmasına rağmen spesifik bir genetik geçiş şekli tespit edilememiştir. Diyabetlilerin kardeşlerinde tip 1 diyabet genel popülasyona göre yaklaşık 15 kat daha fazla görülür. Bazı HLA haplotipleri tip 1 diyabet ile ilişkili bulunmuştur. Tip 1 diyabetli vakaların % 90-95'i DR3 ve/veya DR4 Class II HLA molekülünü ekspres ederler.

**b) Beta Hücre İmmüntoleransının Bozulmasına Neden Çevresel Faktörler:** Beta hücrelerinde immün toleransın bozulmasına neden olan etkenler toksinler, virüsler ve bazı gıda maddeleridir.

**c) Beta Hücrelerine Yönelik Hücre Aktivasyonu:** Virüsler veya toksinlerle doğal yapısı bozulan beta hücreleri, sitokinlerle (IFN-a, IFN-g, TNF-a, nitrik oksit (NO), IL-1 vb.) salarak ya da antijenik peptidlerle immün sistemi uyarır. Bunun sonucunda destrüktif insülitis başlatılır.

**d) İnsülitis ve Beta Hücre Ölümü:** Geç faz immün aktif dönemde, mononükleer hücre infiltrasyonu ve inflamasyon süreci insülitis olarak nitelendirilir. Adacıkları önce makrofajlar CD8 sitotoksik T lenfositleri daha sonra CD4 lenfositleri TH1, NK (Natural Killer) hücreleri ve B lenfositleri infiltre eder ve destrüksiyona uğratar. Hastalığın başlangıç yaşı küçük olanlarda, puberte döneminde, sekonder infeksiyonlarda ya da kız çocuklarında destrüksiyon daha hızlıdır. Destrüksiyon hızı hastalığın ortaya çıkış yaşı ile ters orantılıdır.

**e) Beta Hücre Otoantijen ve Otoantikoları:** Tip 1 diyabetin henüz semptomları ve klinik süreci başlamadan Beta hücre antijenlerine karşı oluşan otoantikoların tespiti prelinik süreçte tanı konulması açısından büyük önem taşımaktadırlar. Günümüzde sensitivite ve spesifitesi yüksek, altın standart olarak değerlendirilen üç otoantikor; ICA (Adacık hücre antijeni), anti GAD (Glutamik asit dekarboksilaz) ve IA2 (Tirozin fosfataz) otoantikolarıdır (15-19).

#### **1.1.4.2. Tip 2 Diabetes Mellitus (NIDDM)**

Tip 2 diyabet yaygın olması ve komplikasyonlarından dolayı günümüzde en önemli mortalite ve morbidite nedenlerinden biridir. Tip 2 diyabetliler, tüm diyabetiklerin % 85'ine yakınıni oluşturmaktadır (19). Genellikle uzun sürebilen asemptomatik bir dönem olabilir. Yakınmalar genellikle 45 yaş civarında başlar. Kronik komplikasyonlar ilk tanı konulduğunda çoğu zaman vardır (2).

##### **1.1.4.2.1. Tip 2 Diabetes Mellitusun Etiyolojik Sınıflandırması**

###### **A- İnsülinin Etkisine Göre**

1- Glikoz klirensinde intrasellüler defektler

2- İnsülin reseptör fonksiyonunda bozukluklar

a) İnsülin reseptör antikoları

b) İnsülin reseptör mutasyonu (kromozom 19 p)

3- İnsülin yapısında bozukluk

- a) İnsülin gen mutasyonu (kromozom 19 p)
- b) Proinsülinin insüline dönüşümünde bozukluk

4- İyatrojenik

- a) Glikokortikoidler
- b) Büyüme hormonu
- c) Nikotinik asit
- d) Diğerleri

**B- İnsülin Sekresyonuna Göre**

1- Sinyal defekti: Glikokinaz mutasyonu (kromozom 7p)

2- Beta hücre kitlesinin yıkımı

- a) Otoimmün beta hücre yıkımı
- b) Pankreatit
- c) Diğer sebepler

**C- Bilinmeyen Patogenez**

1- Malnütrisyon DM

2- Kistik fibrozis

3- Talasemi

4- Hemakromatozis

**D-Sınıflandırılmayanlar:** İnsülin sekresyon ve etkisinde bilinmeyen nedenlerle azalma (2).

#### **1.1.4.2.2. Tip 2 Diabetes Mellitus Patogenezi**

Tip 2 diyabet patogenezinde beta hücre fonksiyon bozukluğu, insülin direnci ve hepatik glikoz üretimi artışı rol oynar. Temel bozukluk olarak insülin direnci ve /veya insülin eksikliği ön plandadır (2, 4). Beta hücre fonksiyon bozukluğu veya insülin direnci oluşmasında yaş, etnik farklılıklar, obezite ve diyabetin heterojenitesinin kısmen de olsa belirleyici olduğu ileri sürülmektedir (20). Tip 2 diyabetin patogenezinde genetik olarak kontrol edilen faktörler insülin direnci ve bozulmuş insülin sekresyonu olup bunlardan hangisinin primer ağırlıkta rol oynadığı henüz belli değildir. Aile öyküsü hemen hepsinde vardır. Hastalık henüz tek bir genetik sebebe bağlanılamamıştır. Son yıllarda, primer defektin hiperinsülinemi olduğu ve insülin direncinin hiperinsülinemiye bağlı olarak oluştuğu

düşünülmektedir. Hiperinsülineminin glikojen sentezini veya nonoksidatif glikoz kullanımını bozarak insülin direncine yol açabileceği ileri sürülmektedir (21).

### **1.1.5. Diabetes Mellitus'un Komplikasyonları**

Diyabet, akut ve kronik komplikasyonlarla seyreden bir hastalıktır. Uzun süreli diyabet kapilleri, arterielleri yapan vasküler hücreleri ve bazal membranları etkileyip tüm damarlarda bozukluk oluşturur. Tüm mikrovasküler yapılar etkilenmesine karşın klinik olarak sadece retina, renal glomerül ve büyük sinirlerdeki patolojiler kendini gösterir (4). Diabetes mellitusun akut ve kronik komplikasyonları gruplar halinde belirlenmiştir (Tablo 5) (22, 23).

**Tablo 5.** Diyabetin akut ve kronik komplikasyonları

---

#### **AKUT KOMPLİKASYONLAR**

1. Diyabetik ketoasidoz (DKA)
2. Hiperosmolar hiperglisemik sendrom (HHS)
3. Laktik asidoz
4. Hipoglisemi

#### **KRONİK KOMPLİKASYONLAR**

##### Makrovasküler komplikasyonlar

- a. Diyabetik kalp hastalığı
- b. Periferik arter hastalığı
- c. Serebrovasküler hastalık

##### Mikrovasküler komplikasyonlar

- a. Diyabetik nöropati
- b. Diyabetik nefropati
- c. Diyabetik retinopati

##### Diğer komplikasyonlar

- a. Diyabetik ayak
  - b. Diyabetik gastroenteropati
  - c. Genitoüriner bozukluklar
  - d. Erektile disfonksiyon
-

### **1.1.5.1. Diabetes Mellitusun Akut Komplikasyonları**

#### **1.1.5.1.1. Diyabetik Ketoasidoz (DKA)**

DKA, ciddi ve ölümcül bir komplikasyon olup, dolaşımdaki insülin seviyesinin eksikliği ile mutlak veya rölatif glukagon fazlalığından oluşur. Hiperglisemi ( $> 300\text{mg/dl}$ ), hiperketonemi, ketonüri ve metabolik asidoz (kan  $\text{pH} < 7,3$  veya serum bikarbonat düzeyi  $< 15 \text{ mg/L}$ ) ile karakterize akut metabolik dekompanseasyondur. Dolaşımda ölçülebilir düzeyde insülin olsa dahi mevcut insülin, hiperglisemi, ketoz ve asidozu önleyememektedir. Ayrıca glukagon, katekolaminler, kortizol ve büyüme hormonu seviyelerinin yükselmesi de, insülin eksikliğinin şiddetlenmesine neden olmaktadır. Özellikle tip 1 DM'lı hastalarda görülen, önemli bir morbidite ve mortalite nedenidir. Tip 2 DM'lı hastalarda da görülebilir. Tip 1 DM'lı hastalarda yıllık % 2-5 oranında DKA oluşmasına rağmen; tanının gecikmesi, hipokalemi gibi tedavi ile ilgili komplikasyonlar veya birlikte görülebilen ve presipite edici sepsis gibi koşullar nedeniyle halen % 1-10 oranında ölümlerle sonuçlanabilmektedir. Yaşlılarda, hipotansiflerde ve başlangıç hiperglisemisi ile üresi çok yüksek olan pH'sı düşük olan olgularda mortalitesi daha yüksektir (22, 24, 25).

#### **1.1.5.1.2. Hiperosmolar Hiperglisemik Sendrom (HHS)**

Literatürde hiperosmolar nonketotik koma, diyabetik hiperosmolar koşul, hiperosmolar nonasidotik diyabet gibi değişik isimlerle tanımlanmıştır. Çoğu kez koma tablosunun görülmemesi ve ciddi hipogliseminin de komaya neden olması nedeni ile önceleri koma tanımlanması yapılırken 1994'den beri bu ifadeden uzaklaşmıştır. HHS, hiperosmolarite ( $\text{Sosm} \geq 320 \text{ mOsm /kg}$ ), ciddi hiperglisemi (glukoz  $\geq 600 \text{ mg/ dl}$ ), çok derin dehidratasyon, hafif asidemi ( $\text{pH} \geq 7,3$ ,  $\text{HCO}_3 > 15 \text{ mEq/L}$ ) ile karakterizedir. Genellikle, ketozsuz olarak bilinirse de pek çok hastada hafif metabolik asidoz vardır. Ketozun derecesi açlık ketozu ile aynıdır. Hafif ketonüri ve ketonemi görülebilmektedir. Ancak çoğu kez ketozun belirlenememiş olması, major keton cismi olan beta-hidroksibütiratın, asetoastatı belirleyen nitropurid reaksiyonu ile ölçülememesi nedeniyledir. HHS, genellikle tip 2 DM'lı hastalarda görülür. Hastaların çoğu orta yaşın üzerinde olup belirgin bir yaş ve cins farkı yoktur. Olguların yarısı önceden tanısı olan ve oral antidiyabetik tedavi alan

hastalar iken yarısı ise hastalığın ilk belirtisi şeklinde ortaya çıkar. Çoğunda tetikleyici faktörler mevcuttur. Pnömoni, üriner sistem infeksiyonları, sepsis gibi akut infeksiyonlar hastaların % 32-62'ında hazırlayıcı koşuldur (22, 23, 25).

#### **1.1.5.1.3. Laktik Asidoz**

Laktik asidoz daha çok hastane koşullarında sık görülen metabolik bir asidoz tablosudur. Ciddi hastalığı olan bireylerde oksijen dağılımının veya kullanımının yetersizliği sonunda oluşur. Her ne sebeple olursa olsun; laktik asit birikimi, laktat üretimi ile kullanımı arasındaki dengenin bozulmuş olduğunu gösterir. Kan laktat düzeyi genellikle 5 mmol/L'yi aşmaktadır (22). Laktik asidozlu vakaların % 50'sinden fazlası mortalite ile sonlanmaktadır (8).

#### **1.1.5.1.4. Hipoglisemi**

Diyabetin en sık görülen akut komplikasyonudur. Genellikle plazma glikozu 45 mg/dl altına indiğinde tanı konulsa da hastaların önceki kan şekerleri yüksekse daha yüksek değerlerde de klinik fark edilebilir (25). Tip 1 diyabette erken dönemde görülmeye başlarken tip 2 diyabette ise başlangıçta sık görülmez. Hastalık ilerledikçe ve hastada insülin yetersizliği oluştuğunda sıklık artar. Her yaş grubunda görülmekle beraber insanların çoğu orta yaş grubu veya daha yaşlılardır. Düzensiz gıda alımı, ilaç etkileşimleri, ilaç metabolizmasının azalması ve böbrek yetersizliği ile oluşan azalmış insülin klirensi hipoglisemi için risk oluşturmaktadır. Diyabetiklerde hipoglisemi hemen daima tedavinin bir yan etkisi olarak ortaya çıkmaktadır. Hipoglisemi, sıklıkla insülin kullanan diyabetiklerde görülürken sülfonilüre kullananlarda da nadirde olsa ortaya çıkmaktadır. Hipoglisemi kalıcı nörolojik sekellere sebep olabilecek ciddi bir komplikasyondur. Trombosit agregasyonunu arttırarak diyabetin vasküler komplikasyonlarını daha da ağırlaştırabilir. Hipoglisemilerin tekrar etmesi gerçek glisemi kontrolünün sağlanmasını önlemektedir. Dolayısıyla agresif tedaviye rağmen komplikasyonlar gelişebilir (26).

#### **1.1.5.2. Diabetes Mellitusun Kronik Komplikasyonları**

##### **1.1.5.2.1. Mikrovasküler Komplikasyonlar**

###### **1.1.5.2.1.1. Diyabetik Nefropati**

Diyabet nefropatisi terimi, diabetes mellitus'ta böbrekte oluşan bozuklukların tamamını ifade eder. Nefropati büyük ve küçük damarlardaki patoloji sonucu oluşur. Diabetes mellitus'taki patolojik değişiklikler, intrarenal ve ekstrarenal arterlerin

aterosklerozu ve glomerüller kapiler yumağındaki mikroanjyopati sonucu oluşur. Özellikle batı ülkelerinde, terminal böbrek yetmezliğinin esas nedeni diyabetik nefropatidir. Diyabetik nefropatinin tip 1 ve tip 2 DM'de hemen hemen aynı oranda görülür. Tip 1 DM'li hastaların % 30-40'ında diyabetik nefropati görülür. Çoğunda hastalığın başlangıcından sonraki 10 yıl içinde önemli derecede renal hasar oluşmaktadır. Diyabetik nefropatisi olanların % 50-60'ında tip 2 DM vardır. Tip 2 DM'li hastalarda nefropati prevalansı toplumsal verilere dayanan çalışmalara göre % 5-10 dur, bunun nedeni bu hastaların uzun bir subklinik hiperglisemi yaşamış olmalarıdır (27). Tip 2 DM de hastalık süresinin daha kısa ve kardiyovasküler mortalitenin daha yüksek olması nedeniyle renal hastalıktan ölüm daha azdır (23, 28).

#### **1.1.5.2.1.2. Diyabetik Retinopati**

Gelişmiş ülkelerde, 20-75 yaşları arasındaki insanlarda başlıca körlük nedeni diyabettir. Diyabetiklerde diyabetik olmayanlara göre 20 kat daha fazla körlük görülmektedir. Hastalığın 15. yılından itibaren görülür. Tip 1 DM'li hastaların % 10-15'inde ve tip 2 DM'li hastalarında bunun yarısı kadarında körlük vardır. Diyabetin tipi ne olursa olsun diyabetik retinopatinin derecesi hastalığın süresi ile orantılı olarak artar. Diyabetin süresi 5 yıl olduğunda % 20-25, 10 yıl olduğunda % 50-70, 15 yıldan sonra % 95'e ulaşır (28). En önemli risk faktörü kötü glisemik kontroldür. Ayrıca mevcut renal hastalık, mikroalbuminüri varlığı ve dislipidemi de ilave risk faktörleridir (23).

#### **1.1.5.2.1.3. Diyabetik Nöropati**

Tanı sırasında tip 2 diyabetik hastaların % 7-8 oranında diyabetik nöropati vardır. Hastalığın 25. yılında bu sayı % 50'ye kadar çıkar. Diyabetik hastaların % 50'sinde semptomatik, ciddi olarak yaşam kalitesini düşüren nöropati vardır. Diyabetik nöropatinin mononöropati, simetrik polinöropati ve otonom nöropati olmak üzere üç tipi vardır. Vazo nervorumların hastalığı mononöropatiye neden olurken, otonom nöropati ve polinöropatinin ise metabolik nedenlerle oluştuğu kabul edilmektedir (28).

#### **1.1.5.2.2. Kronik Makrovasküler Komplikasyonlar**

Diyabet ateroskleroz için risk faktörüdür. Ateroskleroz riski kontrolsüz diyabetlilerde fazladır. Ek olarak bulunan insülin rezistansı, obezite hipertansiyon,

hiperkolesterolemi ve hipertrigliseridemi bu riski daha da artırır (23). Tip 2 diyabetiklerde makrovasküler komplikasyonlar ölümlerin % 80 nedenidir ve bunların da % 60'ı koroner kalp hastalığındandır (28). Tip 2 diyabetiklerde daha önceki hiperglisemi, diyabetik komplikasyon riski ile ilişkilidir. Glikoz regülasyonu için bir gösterge olan HbA1c'deki herhangi bir düşüş, komplikasyon riskinde azalma ile orantılıdır. HbA1c'de % 1 oranında azalmanın tüm komplikasyonlarda % 21, diyabetle ilişkili tüm ölümlerde % 27, myokard infarktüsünde % 14 ve mikrovasküler komplikasyonlarda % 37 oranında azalma sağladığı gösterilmiştir (29).

Diyabetin komplikasyonları, insülin homeostazisi ve enerji metabolizmasındaki değişikliklerden kaynaklanan metabolik stresin bir sonucu olarak meydana gelmektedir. Diyabetin gelişimi ve önlenmesinde diyet önemli bir rol oynamaktadır. İnsanlar ve kemirgenlerde yüksek yağlı diyet; hipertansiyon, dislipidemi, insülin direnci, metabolik bozukluklar ve obeziteye neden olabilir (30, 31). Yüksek yağlı diyet sadece enerji metabolizmasında değil aynı zamanda karaciğer, böbrek ve beyin fonksiyonlarında da değişikliğe sebep olur. Diyabette karbonhidrat, lipit ve protein mekanizmaları etkilenir (32). Bu metabolik değişiklikler birçok dokuda hasara ve sonucunda böbrek gibi birçok dokuda insülin direncine sebep olur (33). Diyabette böbrek hasarı ile ilgili birçok mekanizma öne sürülmüştür. Yüksek yağlı diyet aynı zamanda renal lipit birikimi ve renal hasara yol açmaktadır (34).

Çinko, selenyum ve krom gibi birçok mikroelement ile kronik hastalıklar arasında bir etkileşim vardır. İnsülin metabolizması bozulmuş diyabetiklerde bu elementlerin dikkat çekici bir şekilde değişim gösterdiği gözlenmiştir. Diyabetli hastalarda normal insanlara göre daha düşük krom, selenyum ve çinko düzeyleri bütün kan ve plazma ürünlerinde tespit edilmiştir (35-38).

Kan şekerinin düzenlenmesinde başrol oynayan hormon insülin hormonudur. Kromunda insülinin etkisini artırdığı ve dolayısı ile antidiyabetik etkileri olduğu deneysel olarak oluşturulan tip1 ve tip 2 diyabetiklerde bildirilmektedir (39).

## **1.2. Krom ve Diyabet**

Krom, eser element olarak ilk defa 1959 yılında tanımlanmıştır. Beyaz kristalize yapılı bir element olan kromun, biyolojik sistemler içerisinde en fazla

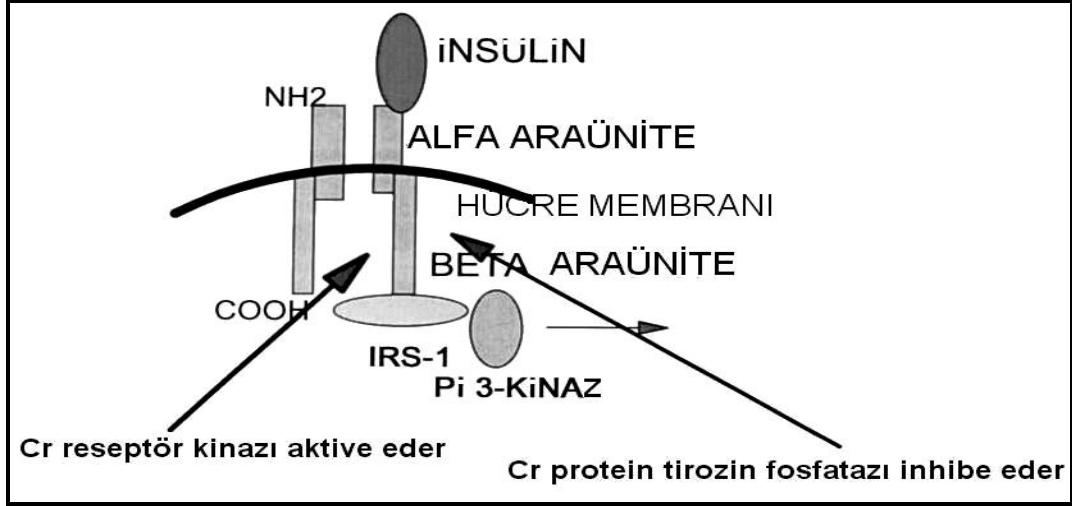
bulunan formu, stabil ve (+3) değerlidir. Karbonhidrat, protein ve lipid metabolizmalarında önemli fonksiyonları olan krom, memeliler için temel besin maddelerinden biridir (40). Kromun insülinin etkisini artırdığı ve dolayısı ile antidiyabetik etkileri olduğu bildirilmektedir (39). Organizmada kromun etkisi, insülin ile çok yakın ilişki içerisinde. Deneysel krom eksikliği, insüline duyarlı dokularda hormona olan cevabın azalmasına neden olmuştur. Krom ve insülin arasındaki etkileşimin insüline duyarlı dokunun hücre membranında olduğuna inanılmaktadır. Burada krom, muhtemelen bir üçlü kompleks oluşturarak insülinin reseptörleriyle birleşmesinde başlangıç tepkimesini şiddetlendirmektedir. Yapılan çalışmalarda normal glikoz toleransının görülmesi için kromun temel bir element olduğu saptanmıştır (41-43).

### **1.2.1. Kromun Tip 2 Diyabette İnsülin Direncine Etkileri**

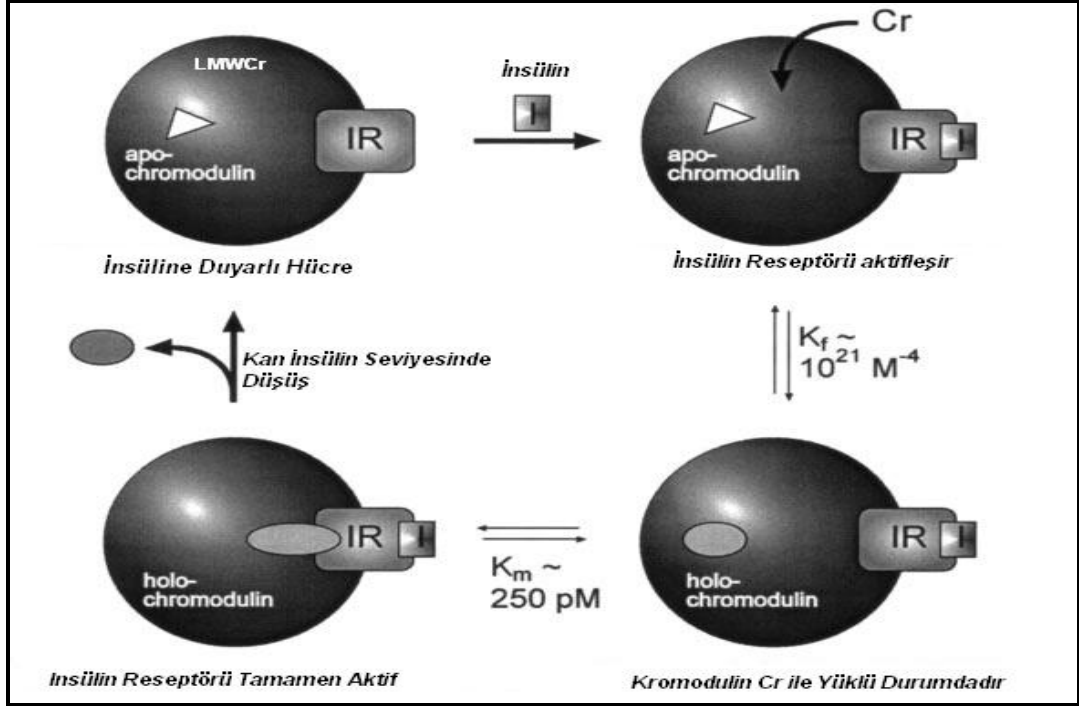
Tip 2 diyabette pankreasta yeterli insülin üretilmesine rağmen tam olarak bilinmeyen nedenlerden dolayı insülin etkin olarak kullanılamaz ve hiperglisemi oluşur. Özellikle obezlerde kas ve diğer dokulardaki insülin direnci hastalığın oluşmasını sağlar. Krom eksikliğinde vücut glikozu enerjiye dönüştürme yeteneği bozulur ve insüline duyulan ihtiyaç artar (44). Diyetle takviye edilen kromun insüline duyarlı hücrelerdeki krom içeren düşük moleküler ağırlıklı oligopeptidin (LMWCr), artışı sağladığı bildirilmiştir. Bu oligopeptid insülin reseptörüne bağlanarak, insülinin aktive ettiği tirozin kinazın aktivitesini artırır ve insülin reseptör substrat-1 (IRS-1) ile glikoz taşıyıcı proteinin (GLUT4) fosforilasyonunda sağlar (45, 46).

### **1.2.2. Krom ile İnsülin Arasındaki Moleküler Etkileşim Mekanizması**

İnsanlarda yapılan çalışmalar krom pikolinatın (CrPic) tip 2 diyabetli obez populasyonlarda glikoz kullanımını ve insülin hassasiyetini arttırdığını öne sürmektedir. Az sayıda çalışma CrPic'in kan glikozunu insülin sekresyonunu arttırmadan düşürdüğünü ve CrPic'in daha çok insülin duyarlayıcı olarak dikkate alındığını göstermektedir (38, 47, 48). Krom pikolinat insülin duyarlılığını artırmanın yanında diyabetin komplikasyonları da azaltabilmektedir (49). Şekil. 1 ve Şekil. 2'de kromun insülin potensiyalizasyonundaki moleküler etkisi görülmektedir.



Şekil 1. İnsülin Potensiyalizasyonunda Kromun Etki Şekli (36).



Şekil 2. İnsülin Potensiyalizasyonunda Krom ve LMWCr İlişkisi (50).

Krom (Cr), fosforilasyonunu artırıp reseptörlerin insülin duyarlılığını, insülinin bağlanmasını ve insülin reseptörlerinin sayısını da artırır (47). Glutasyonun, glisin ve sistenin insülinin sıkıca bağlanmasında rol oynadıkları bildirilmiştir. Krom; sonradan bir  $Cr^{+3}$ -glutasyon-nikotinat kompleksi olduğu bildirilen ve glikoz tolerans faktörü (GTF) olarak adlandırılan molekülün primer bileşenidir. Ayrıca bir

oligopeptid olan düşük moleküler ağırlıklı krom bağlayıcı maddenin (LMWCr); kromik iyonlar tarafından koordine edilen bir sistein-aspartat-glutamat kompleksi olduğu kanıtlanmıştır (42). Transferrin proteininden serbest bırakılan krom; LMWCr tarafından yakalanır. Böylece transferrin üzerinde inaktif halde bulunan kromodulin (apo-chromodulin), aktif duruma geçer (holo-chromodulin). Daha sonra LMWCr'nin insülin sinyalizasyonunun çoğaltılmasına katkıda bulunduğu ve burada tirozin aktivitesini artırarak yaptığı düşünülmektedir (48).

### **1.2.3. Histidin Aminoasiti ve Krom Histidinat**

Histidin esansiyel bir aminoasittir. Histidin metabolizmada deaminasyonla ve hidrolize olarak n-formiminoglutamatı (FIGlu) oluşturur (51). Folik asit, suda çözünebilen B9 vitaminin diğer adıdır. Eksikliğinde gebelikte kansızlık meydana gelir. FIGlu ekskresyon testi folik asit eksikliğinin tanısında kullanılan bir testtir. Folik asit eksikliği olan kişilere histidinden zengin diyet verildiğinde özellikle idrarda FIGlu miktarında artış kaydedilmiştir, koordineli olarak folik asit verildiğinde ise dokulardaki histidin düzeylerinin yeniden eski seviyelerini aldığı belirlenmiştir (47, 51, 52). Histidin hemoglobinin % 10'unu oluşturduğu bilinmektedir. Histidin diyetel alımı azaldığında ya da üriner kaybı çok arttığında kansızlık meydana gelir. Normal koşullarda diyetle alınan histidin anemi oluşumunu engeller. Histidin glomerüllerdeki infiltrasyonunun diğer bazı aminoasitlerle karşılaştırıldığında daha yüksek düzeyde olduğu bildirilmiştir. Dokulardaki absorbansıda oldukça güçlüdür (52, 53). Krom histidinat (CrHis), krom mineralinin histidin aminoasitiyle oluşturulmuş organik bir kompleksidir. Bu bileşimin güvenilirliği ve kan dolaşımında yüksek oranda absorbe olduğu araştırmacılar tarafından bildirilmiştir (49).

### **1.2.4. Organik Kromun Etkileri**

Kromun dört ticari biçimi vardır, bunlar: krom klorür, krom mayası, krom nikotinat (niasinat ) ve krom pikolinattır. Hepsi de kromun +<sup>3</sup> değerlikli formlarıdır. Nikotinat ve pikolinat sentetik komplekslerdir. Yalnızca Krom Pikolinatın, 1999 yılında ABD'de 500 milyon dolarlık satışı gerçekleşmiştir (54). Tip 2 diyabetik insanlarda henüz tam ispatlanmasa da zamanla krom potansiyelinde bir düşüş olabilmektedir. Bunun nedeninin artan üriner krom kaybı olduğu düşünülmektedir. Henüz tam olarak anlaşılmasada glikoz metabolizmasında kromun rolünün bir

insülin kofaktörü olduğu hipotezi varsayılmaktadır (55, 56). Obez ve insülin direnci olan ratlara krom verilmesi, insülin etkisini arttırabilmektedir. Krom ayrıca insülinden bağımsız fosforilasyon ve 5'-adenozin monofosfat-aktifleştirici protein kinazının (AMPK) aktivasyonu GLUT4'ün translokasyonunu sağlar. Krom pikolinatın (CrPic), AMPK'yı harekete geçirdiği belgelendiğinden dolayı CrPic'in AMPK'yı lipogenezi baskılamak ve yağ asidi oksidasyonunu uyarma amaçlı aksiyonu için majör bir sinyal olarak kullandığı anlaşılmaktadır. CrPic alımının iskelet kasında glikoz alınımını arttırdığı ispat edilmiştir (38, 57, 58).

Ayrıca son yapılan bir çalışmada (59) Metil- $\beta$ -siklodekstrinin ön uygulama yapıldığı ve öncesinde düşük plazma membran kolesterolü ve artan GLUT4 yer değişimine sahip hücrelerde, krom etkisinin eksikliği rapor edilmiştir. Hücre seviyesindeki bu bulgular; in vivo çalışmalarda gözlenen krom eklenmesi ile artan glikoz toleransı ve düşen kolesterol döngü seviyeleriyle tutarlılık arz etmektedir (60). Önceki bildirimlerde kromun; beta hücre hassasiyetini, insülin bağlanma, insülin reseptör sayısı ve insülin internalizasyonu arttırdığı ortaya konmuştur (47). Krom, insülin bağlanışını değiştirmeden veya reseptörü depolarize eden tirozin fosfatazi, inhibe etmeden düşük insülin dozlarına karşın insülin reseptörünün tirozin fosforilasyonunu arttırmaktadır. Yakın zamanda yapılan çalışmalarda kromun glikoz tutulumunu arttırdığını göstermiştir (61).

Krom komplekslerinin optimal insülin aktivitesinde ve normal karbonhidrat ve lipid metabolizmasında gerekliliği belirlenmeden önce (47) başlangıçta diyetsel alınımı çok düşük (% 0.5-2, sırasıyla 10-40  $\mu$ g/gün) olan biyoyararlanımlarının arttırılması amacıyla sentezlenmiştir (62). Krom ve glikoz metabolizması arasındaki ilişki ve kromun gerekliliği ilk olarak 1950'lerde krom mayasının laboratuvar hayvanlarında diyabeti önlediğinin bulunmasıyla rapor edilmiştir (63). Tip 2 diyabetik insanların ne kadar krom alması gerektiği henüz belirlenmemiş olmakla beraber insanlar için günlük önerilen güvenli ve yeterli organik krom miktarlarına ait oranlar Tablo 6'da belirtilmiştir (64).

**Tablo 6.** İnsanlar için önerilen günlük alınması gereken yeterli krom miktarı (97)

Yaş Aralığı	Yenidoğan ve Çocuk (µg/gün)	Erkekler (µg/gün)	Kadınlar (µg/gün)	Gebeler (µg/gün)	Emzirenler (µg/gün)
0-6 aylık	0,2	-	-	-	-
7-12 aylık	5,5	-	-	-	-
1-3 yaş	11	-	-	-	-
4-8 yaş	15	-	-	-	-
9-13 yaş	-	25	21	-	-
14-18 yaş	-	35	24	29	44
19-50 yaş	-	35	25	30	45
50 > yaş	-	30	20	-	-

### 1.2.5. Cr-Histidinat ve Diğer Organik Krom Formlarının Emilimleri

Çok sayıda bildirimde kromun olumlu etkileri ortaya konmuş olmasına rağmen diyetsel krom alımının optimum miktarı açık değildir. Kromun plazma tutulumunda artış meydana gelmesi durumlarında; insanları, deney hayvanlarını ve çiftlik hayvanlarını kapsayan çok sayıda çalışmada çoğunlukla glikoz, insülin, lipid ve bunlarla ilişkilendirilen değişkenlerde iyileşmelere sebep olduğu ortaya konmuştur (65).

Tam olarak absorbe olan kromu gösteren yöntem; kromun üriner kaybının hesaplandığı yöntemdir. Bununla birlikte seçilen denekler, diyetsel faktörler, uygulamanın süresi ve kullanılan krom suplemanın formu sonuçlarda ortaya çıkan değişimler ile ilişkilidir (49). Kromun farklı emilim düzeyi ya da kromdan etkilenmedeki farklılıklar; kromun bir tıropatik değil, mikro besin olmasına bağlı olabilir. Bundan dolayı krom eksikliği olan kişilerde kromdan yararlılık daha üst düzeyde olmaktadır. Krom komplekslerinin çözünmeleri yavaş olduğu için diğer elementlere göre krom ligantlarının yer değişimi, ikamesi ya da değişim reaksiyonları çok daha yavaştır. Bu olaylar çoğu elementte mikro saniyelerde olurken krom komplekslerinde saatleri bulmaktadır. Bazı krom biçimlerinin diğer formlara oranla daha iyi oranlarda emildiği bildirilmiştir. Bu amaçla kromun emilimi ile ilgili Anderson ve ark. (49) yetişkin insanlar üzerinde yaptıkları bir çalışmada, değişik

krom formları mısır nişastasıyla karıştırılarak optimum absorpsiyonları sağlanmaya çalışılmıştır. Bu çalışmada insan deneklere 200 µg Cr ve 400 mg nişasta içeren kapsüller verilmiştir. Yine aynı çalışmada deneklere on farklı krom komplekslerinden (Cr-klorit, Cr-nikotinat, Cr nikotinat ticari, Cr-nikotinat-glisinat-sisteinat-glutamat kompleks, Cr-pidolat, Cr-pikolinat, Cr-pikolinat ticari, Cr-metiyonat, Cr-glisinat-glutamat-histidinat, Cr-histidinat) verilmiş ve bunların absorpsiyonları idrar tahliliyle belirlenmiştir. Buna göre Histidin içeren kompleksler test edilen tüm Cr kompleksleri içerisinde en yüksek absorpsiyonu sağlamışlardır. Çalışmada ayrıca farklı aminoasitlerle (lizin, serin, valin, glutamin, asparjin, lözin) krom kompleksleri oluşturulmuş ve absorpsiyonları aynı çalışmadaki Cr-klorit düzeyinde olmuştur. Aynı çalışmada Cr-aminoasit komplekslerinden herhangi birine histidin katıldığında absorpsiyon oranında her seferinde artış olduğu bildirilmiştir. Kromun absorpsiyonunun insanlar ve kemirgenler arasında bazı durumlarda değişebilen absorpsiyon farkının dışında ayrıca diyetle bağlı olduğu da bildirilmiştir. Yapılan bir çalışmada obez farelerin diyetlerine % 50 oranında glikoz, fruktoz, sükroz veya nişasta katılarak hayvanların dokularındaki krom tutulumu incelenmiş ve bu çalışmada özellikle nişasta-Cr kompleksinin diğer glikoz kaynaklarına oranla çoğu farklı dokuda krom seviyelerinin daha yüksek olduğu bulunmuştur (49, 66).

#### **1.2.6. Krom Toksisitesi**

Krom doğada daha çok 6 değerlikli olan hegzavalent formda bulunur. Hegzavalent Cr endüstriyel krom kaplamacılığında, kaynakçılıkta, boyamada, çelik endüstrisinde kullanılır. Toksik etkisi, mutajenite ve karsinojenitesi ispatlanmıştır. Çok sayıda çalışmada hegzavalent kromun; oksidatif strese, DNA hasarına, apoptotik hücre ölümüne ve değişmiş gen ekspresyonuna neden olduğu gösterilmiştir. 3 değerlikli trivalent Cr ise uygun insülin fonksiyonunu sağlamakta görev yaparken, normal protein, yağ ve karbonhidrat metabolizması için gerekli olduğu görülmüş ve diyetel bir supleman olarak kabul edilmiştir (67).

Tabakhanede çalışan 72 işçide serum ve idrar krom düzeyi ölçülmüş, ortalama serum, idrar krom seviyeleri ve idrar krom/idrar kreatin oranları, kontrol grupla karşılaştırıldığında tabakhanede çalışan işçilerde belirgin yüksek bulunmuştur.

Ayrıca ıslak deri işleyen ve sıkma bölümünde çalışan işçilerde; tabakhanenin diğer bölümünde çalışan işçilerle karşılaştırıldığında, serum krom seviyeleri ve idrar

krom/idrar kreatin oranları daha yüksek bulunmuştur. (+) 3 değerli krom, işçilerin cildinden absorbe olduktan sonra hızlıca idrarla atılmaktadır. Bu bulgu, pazartesi sabahı alınan idrarların ortalama idrar krom/idrar kreatinin oranlarının, cuma akşamı alınan örneklerle kıyaslandığında, belirgin düşük olduğu gerçeğine bağlıdır. Yapılan başka bir çalışmada; tabakhane işçilerinde idrar krom konsantrasyonu, idrar krom/kreatinin oranı ve günlük krom atılımı, aynı fabrikada çalışan mutfak işçilerinininki ile karşılaştırıldığında belirgin derecede daha yüksek bulunmuştur. İnsanlarda, (+) 6 değerli kromun inhalasyonuna bağlı toksik semptomlar bildirilmiştir. Bu semptomlar arasında; nazal septumun ülserasyonu ve perforasyonu, nazal mukozanın inflamasyonu, kronik bronşit ve amfizem yer alır. (+) 6 değerli krom bileşikleri, alerjik kontakt dermatite ve akciğer kanser insidansında artışa neden olabilir (68-70). Krom nikotinatın ratlar üzerinde 1 yıl süren ve 1000 µg/gün oranında olan insan dozuna eşit ilavenin yapıldığı bir çalışmada herhangi toksik etkisi bulunmamıştır (71). Ayrıca krom pikolinat, 15 mg/kg/gün oranında 20 hafta boyunca ratlara supleman olarak verildiğinde de hiç toksisite görülmemiştir (63).

### **1.3. Nükleer Faktör Kappa B (NF-κB)**

#### **1.3.1. Tanımı, Yapısı ve Aktivasyonu**

Transkripsiyon faktör nükleer faktör kappa B (NF-κB) apoptozis ve inflamasyon gibi patolojik olaylarda genlerin regülasyonu ile ilgili olan dimerik transkripsiyon faktörüdür (72, 73). Transkripsiyon faktörü olan nükleer faktör-kappa B (NF-κB) birçok organ sisteminde klinik olarak önemli olan hastalıkların patofizyolojisinde kilit rol oynar. NF-κB protein ailesi memelilerde c-Rel, RelA (p65), RelB, NF-κB1 ve NF-κB2 (p100) adlı 5 üyeden oluşur. Bunlar DNA bağlama aktivitesi, protein dimerizasyonu ve nükleer translokasyondan sorumlu korunmuş, Rel-homoloji alanını paylaşır. Bu alt birimler NF-κB'nin transkripsiyonel olarak aktif veya baskılayıcı şekillerini oluşturan homodimerler ve heterodimerler meydana getirirler. İnaktif NF-κB sitozolde, inhibitör protein olan IκB ile kompleks halinde bulunur. Anahtar enzim olan ve iki regülatuar IKK gama (γ) (NEMO) alt birimi ve enzimatik olarak aktif iki alt birim olan IKKα ve IKKβ'dan oluşan IκB kinaz, belirli bir membrana veya sitozolik reseptörlere ligand bağlanması ile aktif hale geçer. Standart IKK aktivasyonu IKKβ' yı kapsar ve IκB'nin fosforilasyonu, IκB'nin NF-κB'den ayrılması, ubiquitinasyon ve en son inhibitörün proteozomal yıkımı ile

sonuçlanır. Bu yolak en sık prototipik heterodimer p50/RelA' nın aktivasyonuna yol açar. Alternatif IKK sinyal yolağında IKK $\alpha$  aktive olur ve p52/RelB dimerlerinin oluşumuna yol açan p100'ün fosforilasyonu ve işlenmesine neden olur. Aktivasyon sonrası, NF- $\kappa$ B dimerleri selektif hedef gen promoterlerine bağlandığı ve transkripsiyonel aktivasyona aracılık ettiği veya bazı olgularda doğal ve kazanılmış immün yanıtları ilgilendiren çok sayıda (> 200) genin baskılandığı yer olan nükleusun içine taşınır (74).

### **1.3.2. NF- $\kappa$ B'nin Fonksiyonu**

Transkripsiyon faktörü NF- $\kappa$ B, karaciğer de dahil olmak üzere her yerde eksprese edilir ve inflamasyonla ilişkili genlerin transkripsiyonel regülasyonunda çok önemli rol oynar (75). NF- $\kappa$ B aktivasyonu hücredeki immün ve inflamatuvar yanıtın amplifikasyonu ve düzenlenmesinde önemli rol oynar. NF- $\kappa$ B aktivasyonundaki artışı, inflamasyondaki sitokin ve diğer kemotaktik faktörlerin salınımındaki artış takip eder (76). Sitokinlerin büyük bir bölümü NF- $\kappa$ B yi aktive eder. Böylelikle ROS üretimini artırarak bir kısır döngü oluşturular. Tip 1 DM gelişiminde; ROS aracılıklı NF- $\kappa$ B aktivasyonu büyük olasılıkla pankreastaki  $\beta$  hücre ölümüne yol açan otoimmün süreci başlatıp yayan merkezi sinyaldir (77).

### **1.3.3. NF- $\kappa$ B ve Diyabet**

Iwasaki ve ark. (78) yaptığı çalışmada yüksek glukoz konsantrasyonunun, karaciğerde NF- $\kappa$ B bağımlı genlerin transkripsiyonel aktivitesini aktive edeceğini, böylece proinflamatuvar/prokoagulan proteinlerin aşırı miktarda üretilebileceğini düşündü. Yapılan çalışmada besi yerindeki glukoz konsantrasyonu artışının NF- $\kappa$ B bağımlı transkripsiyon üzerine olan etkisini doz-yanıt ve zaman ilişkisi açısından incelenildi. Glukoz konsantrasyonunda 6 saat süreyle artış; NF- $\kappa$ B lusiferaz aktivitesini doza bağımlı bir şekilde uyarmıştır. Hücrelerin aynı zamanda insülinle (1 nM) de muamele edilmesi, bu etkiyi daha belirgin hale getirmiştir. Glukoz konsantrasyonunun 3 mM'den 24 mM'e çıkartılması ile de bu etkinin % 40 arttığı gözlenmiştir. Bu sonuçlar göstermektedir ki, yüksek glukoz konsantrasyonu tek başına, NF- $\kappa$ B bağımlı transkripsiyon için bağımsız bir uyarıcıdır ve bu etki insülin varlığında daha belirgin hale gelmektedir (78).

Yüksek konsantrasyondaki glukozun tek başına NF- $\kappa$ B bağımlı transkripsiyon üzerine olan etkisi, ortamda insülin yoksa nispeten zayıftır. Halbuki

insülin ile birlikte bu etkide bariz bir artış görülmüştür. Bu durum yüksek konsantrasyonda glukoz (hiperglisemi) ve yüksek konsantrasyonda insülin (hiperinsülinemi) kombinasyonunun diyabetli obez hastalarda daha yüksek riske neden olmasına benzemektedir. Dahası, proinflamatuvar sitokinler (IL-1, TNF-a) ile de NF-κB bağımlı transkripsiyonun aktive edilmesi, metabolik sendromda görülen multipl risk faktörlerinin integrasyonunda NF-κB 'nin anahtar rol oynadığı ihtimalini düşündürmektedir (78).

Glukozun kendisi, en azından kısmen, oksidatif stresi artırarak inflamasyon/koagülasyonla ilişkili proteinlerin aktivasyonundan sorumlu görünmektedir (78). Yüksek glukoz düzeyinin, NF-κB yolunu aktive etmesinin gerçek mekanizması tam olarak bilinmemektedir. Kronik hiperglisemi, ileri glikolizasyon son ürünlerinin (AGE) ortaya çıkmasına, bu da reaktif oksijen ürünlerinin (ROS) açığa çıkmasına neden olur, böylece NF-κB aktivasyonu sağlanır (79). Çalışmalar gösteriyor ki glikolizasyon son ürünlerinin ve oksidatif stresin NF-κB aktivasyonunu artırdığı gösterilmiştir (80-83). Ancak Iwasaki ve ark. (78) yaptığı çalışmada yüksek glukoz etkisi 6 saatte dikkati çekecek kadar erken dönemde ortaya çıkmıştır. Bu durumda AGE'nin rolü mümkün görünmemektedir (78).

Önceki çalışmalarda, vasküler endotel ve düz kas hücrelerinde, yüksek glukoz ile indüklenen NF-κB aktivasyonunda protein kinaz C'nin (PKC) rolü gösterilmiştir (84, 85). Hiperglisemi DAG sentezinin artırarak PKC yolunun aktivasyonuna neden olur. PKC β-İzoformu diyabetik nefropati, retinopati ve kardiovasküler hastalıklarla ilişkilidir (86-88). PKC yolunun hiperstimulasyonu vasküler endotel büyüme faktörü (VEGF), plazminojen aktivatörü inhibitörü-1, NF-κB ve TGF-β artışına sebep olur. Bu da diyabetik komplikasyonlardaki PKC aktivasyonunu destekler. Yapılan çalışmaların bazısında STZ ile diyabet yapılan ratlarda PKC yolunun inhibe edilmesi sonucunda diyabetik noropatinin gerilediği gösterilmiştir (89, 90).

#### **1.3.4. NF-κB ve Böbrek**

İnsan ve deneysel böbrek hastalıklarında NF-κB'deki nükleer translokasyon artışı gösterilmiştir (91, 92). NF-κB'nin kronik nefropatideki rolü üzerine birçok çalışma yapılmıştır (93). Aktive olmuş NF-κB inflamasyon ile ilgili bir sıra genin ekspresyonuna neden olur. Bu genler sitokin ve adezyon molekülleri ile ilişkilidir. Tüm bu olaylar böbrek hastalıklarının patogenezinde önemli bir role sahiptir (94).

Sonuçta, kronik hipergliseminin komplikasyonu olarak mikrovasküler hasarın yanı sıra, kısa süreli yüksek konsantrasyondaki plazma glukozun da tek başına veya diğer risk faktörleri ile birlikte NF-κB aracılıklı transkripsiyonun aktivasyonuna neden olduğu belirlemiştir (78).

#### **1.4. Nükleer Faktör Eritroid 2 - Related Faktör 2 (Nrf2)**

##### **1.4.1. Nrf2'nin Yapısı ve Fonksiyonları**

Transkripsiyon faktörü Nrf2, ARE ilişkili gen ekspresyonunda ve immun cevapta merkezi bir düzenleyicidir. Nrf2-knockout farelerde bu koordine gen düzenleyici programda bir eksiklik ortaya çıkmakta, oksidatif hasara ve kimyasal karsinogeneze hassasiyet artmaktadır (95).

Nrf2 rutin olarak detoksifikasyonun olduğu böbrek, karaciğer, barsaklar ve karaciğerde bolca eksprese edilir. Yeni olarak, Nrf2 ve bunun downregülatuar efektörlerinin intraselüler redoks durumunun regülasyonu ile akciğer ve karaciğerin oksidatif stres ve kimyasal hasardan hücreleri korumada kritik olarak önemli regülatörler olduğu gösterilmiştir (95, 96). Nrf2 knockout yapılmış farelerin akciğer dokusunun hiperoksik hasara daha duyarlı olduğu gösterilmiştir (97) ve Nrf2 eksikliği şiddetli oksidatif stres ile erken embriyonik letalite ile sonuçlanmaktadır (98). ROS seviyesinin regülasyonundaki rolünün yanında, yeni yapılan değişik çalışmalar Nrf2 yolunun immün ve inflamatuvar prosesleri düzenlediğini göstermişlerdir (99). Nrf2 defektli dişi farelerde lupus benzeri otoimmün nefritin geliştiğini bildirmişlerdir. Ayrıca, Nrf2 defektli farelerin kutanöz yara iyileşmesi sırasında daha uzun süre inflamasyon sergilediği ve artmış bronşial inflamasyon gösterdikleri ve de sigara dumanı ile oluşan amfizeme daha duyarlı oldukları gösterilmiştir (100). Bu data Nrf2 eksikliğin ve sonucunda bozulan antioksidan aktivitenin otoimmün ve inflamatuvar hastalıklara duyarlılığı tespit etmede önemli olduğunu göstermektedir.

Nrf2, DNA'yı hasara uğratarak karsinogenezi başlatabilen ksenobiyotiklere karşı koruyucu mekanizmada major bir rol oynar (101). Ksenobiyotik toksikanlar ve reaktif oksijen türleri (ROS) ile yapılan oksidan yaralanmalara karşı hücrel savunma sistemleri ise GSH üreten sistemleri [örneğin glutamat sistein ligaz (GCL), glutathion redüktaz], ve faz 2 ilaç metabolize eden enzimleri (örneğin glutathion S-transferazlar (GSRs)] içermektedir. Bu antioksidan enzimlerin çoğu Nrf2'nin

kontrolü altındadır. Nrf2 CNC-bZIP transkripsiyon faktörlerin bir üyesidir (cap'n' collar family of basic leucine-zipper) ve stoplazmada ki Kelch-like ECH ilişkili proteine bağlıdır (102, 103).

İlaç direncindeki rolünün antioksidan enzimleri uyarması ile ilişkili olduğu bilinmektedir (104). INrf2 (Keap1 ) fonksiyonun kaybı ile hücrede Nrf2 birikimi, metabolize edici enzimlerin aktivasyonuna ve ilaç direncine neden olabilmektedir. Bununla birlikte, Nrf2'nin neden olduğu ilaç direncinin mekanizması net olarak anlaşılamamıştır (105). Oksidatif stres ve elektrofilik kimyasallar gibi stimulanlar Keap1 ile Nrf2'nin sekastrasyonunu bozarlar ve Nrf2'nin nükleer translokasyonuna neden olurlar. Küçük Maf proteinleri veya diğer lösün zipper proteinleri ile heterodimerizasyonu sonrası, bunun hedef genlerinin promotorlarında nükleer Nrf2 cis-acting antioksidan cevap elementine (cis-acting ARE) bağlanır. Nrf2 disrupted ve wild-tip farelerde gen ekspresyon profilinin karşılaştırılmalı çalışmalarında, faz 2 ilaç metabolize eden genler gibi proteasome subunit genler ve antioksidan genlerin indüklenebilen ekspresyonunun regülasyonunda Nrf2'nin önemli rolü aldığını gösterilmiştir (106-108). Sonuç olarak, Nrf2 disrupted fareler stres ve çevresel kimyasallardan kaynaklanan toksisitelere daha duyarlıdırlar ve Nrf2 antikanserojenite, nöroproteksiyon, ve anti-inflmatuar cevap gibi değişik sito-proteksiyon için anahtar bir faktördür (109-112).

#### **1.4.2. Nrf2 Aktivasyonunun Moleküler Mekanizmaları**

Nrf2'nin aktivasyonundan sorumlu moleküler mekanizmaları ortaya çıkarmak için birçok çalışma yapılmaktadır. Nrf2'nin sitozolik bir inhibitörü tanımlanmıştır. Bu inhibitör INrf2 veya Keap1 olarak adlandırılır. Hücre oksidatif strese maruz kaldığında Nrf2, INrf2 kompleksinden ayrılır ve çekirdeğe geçer. Burada ARE ilişkili gen ekspresyonunu aktive eder (105, 113). Normal fizyolojik durumlar altında, Kelch-like erythroid CNC homolg (ECH)-ilişkili protein 1 (Keap1) olarak bilinen sito-iskelet bağlanma proteini Nrf2'ye bağlanır ve bu da bunun translokasyonunu ve aktivasyonunu gösterir. Antioksidan enzimlerin Nrf2 ile oluşan transkripsiyonel aktivasyonundaki moleküler mekanizmalar tam anlaşılmamasına rağmen, Keap1'deki kritik sistein rezidünün kovalent modifikasyonunun veya oksidasyonunun Keap1-Nrf2 kompleksinin diskonneksiyonunu kolaylaştırabileceği veya Nrf2'nin stabilitesini artırabileceği hipoteze edilmiştir (114, 115). Keap1 de

bulunan sistein rezidüsünün elektrofiller veya ROS ile tetiklenen değiştirilmiş intraselüler redoks durumunu tanımak için bir moleküler sensör olabileceği düşünülmektedir (116). Keap1'deki thiol gruplarının direkt oksidasyon veya kovalent modifikasyonu yanında, Nrf2-Keap1 sinyali direkt olarak Nrf2'nin posttranskripsiyonel modifikasyonu ile modüle edilebilir. Protein kinaz C (PKC), fosfoinositol 3-kinaz (PI3K), mitojen-activated protein kinazlar (MAPKs) gibi değişik kinazlar ile bunun serin ve treonin rezidüsünün fosforilasyonunun Nrf2'yi aktive ettiği gösterilmiştir (117). Örneğin, kemopreventif fitokimyasal (gıdalarda bulunup vücuda etki eden moleküller) fenetil izotiosiyanat'ın nükleusa Nrf2'nin translokasyonunu kolaylaştıran ERK1/2 veya JNK'nın fosforilasyonunun artması sonrasında, Nrf2'nin fosforilasyonunu artırdığı gösterilmiştir (118).

Yakın zamanda yapılan çalışmalar Nrf2'nin insan hastalıklarının patogeneğinde anahtar rol aldığını göstermiştir (99, 119).

#### **1.4.3. Nrf2 ve Diyabet**

Nrf2'nin diyabetteki koruyucu rolü hakkında çok az şey bilinmektedir. Yoh ve ark. (120) STZ ile indüklenmiş diyabet oluşturulan ratlardaki çalışmasının sonuçları, hipergliseminin neden olduğu böbrek fonksiyon bozukluğunu önlemede Nrf2'nin önemli bir rol oynayabileceğini ileri sürmüştür.

Yüksek glukoz maruziyetinin neden olduğu oksidatif hasarla ilgili çalışmalar olmakla beraber, bu çalışmalarda Nrf2'nin potansiyel koruyucu rolü yeterince çalışılmamıştır. Diyabetik hastalarda major vasküler lezyon olmadan çeşitli sorunlar gelişebilmektedir. Diyabetik kardiyomiopati bu durumun örneklerinden biridir. Oluşan bu tür komplikasyonların patogeneğinde hipergliseminin oksidatif hasar yoluyla hücreler üzerine olan direkt toksik etkisinin rol oynadığı düşünülmektedir (82). Nrf2 ilişkili antioksidan cevap hücre içi redoks homeostazını koruyan ve oksidatif hasarı sınırlayan önemli bir hücre defans mekanizmasıdır. Bu koruyucu rolüne rağmen, antioksidan enzimler ROS'un uyardığı sinyal iletim yollarını kapatabilirler. Dolayısıyla, Nrf2 ilişkili antioksidan cevap olumsuz sonuçlarada yol açabilir. Pi ve ark. (121) yaptığı çalışmada Nrf2'nin, örneğin glukoz oksidasyonunu tetikleyebileceği normal ROS/redoks sinyal mekanizmasını engelleyerek insülin sekresyonunda paradoks bir rol oynayabileceğini ileri sürmüşlerdir. Diğer yandan Nrf2 beta hücrelerini oksidatif hasar ve muhtemel hücre ölümünden koruyarak oksidatif stresin bozacağı insülin sekresyonunu en aza indirir (121).

#### **1.4.4. Nrf2 ve Böbrek**

Renal inflamasyon esnasında böbrekte hücre hücre hasarını veya ölümü engelleyen 15d-PGJ2 (15-deoksi-prostaglandin-j2)'nin Nrf2'yi aktive ettiği gösterilmiştir (122). Bu sonuç renal inflamasyonda 15d-PGJ2'nin sitoprotektif rolünde Nrf2'nin varlığının önemli bir faktör olduğunu ileri sürmektedir. Yine renal parankim tübüllerde yapılan inflamasyon çalışmalarında, egzersiz sonrası antiinflamatuvar IL-10 geninin ekspresyonu ile birlikte Nrf2 aktivitesinin arttığı gösterilmiştir (123).

#### **1.5. Akt (Protein Kinaz B)**

##### **1.5.1. Akt Tanımı**

Akt (Protein Kinaz B) ilk olarak 1991'de tanımlanmıştır. PKB veya Rac şeklinde de adlandırılmıştır. Akt 60 kDa ağırlığında bir serin/treonin kinazdır. Hem protein kinaz C (PKC'nin kinaz bölgesine % 73 benzer) hem de protein kinaz A (PKA'nın kinaz bölgesine % 68 benzer) ile benzerliğinden dolayı protein kinaz B (PKB) veya RAC-PK (A ve C kinazı ile ilişkili) adı verilmiştir (124, 125). Akt kemirgenlerdeki T hücreli lenfomada onkogen v-akt'ın retrovirus AKT8 dönüşümü sırasında tanımlanmıştır (126). Bu kinazı tarif etmek için her üç isimde kullanılmaktadır. Akt, P13K (Fosfotidilinositol Kinaz) için hedeftir ve çeşitli hücrel fonksiyonlarda anahtar rol oynar (127).

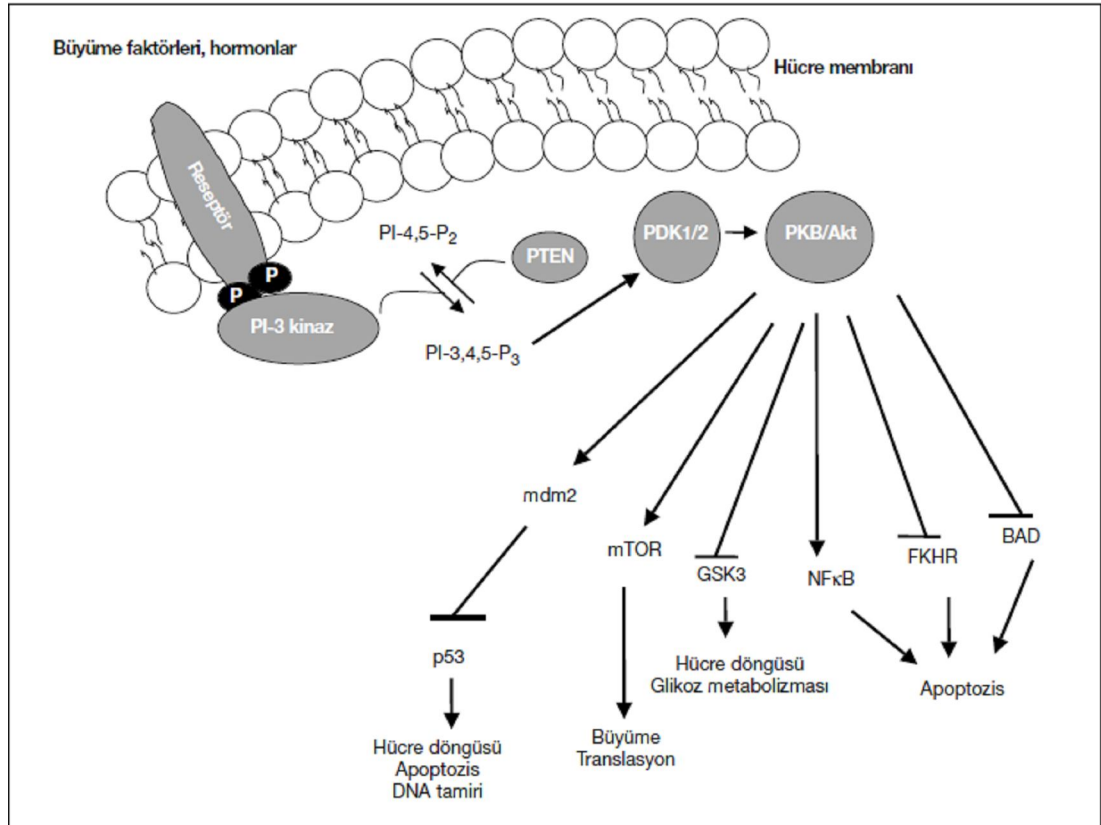
##### **1.5.2. Akt'nin Yapısı**

Akt, bir amino terminal PH (pleckstrin homology) alanı ve karboksi terminal katalitik alandan oluşan serin treonin kinazdır (125). PH alanı (aminoasid 1-106) amino terminal regülatör alanın major parçasını oluşturur ki; 1-147 açıklıklı artıklardır ve Akt-homology (AH) domain olarak adlandırılır. Kinaz domain hatırlayıcı proteinlerden sorumlu karboksi-terminal kuyruk bölgesinde 148-411 artıklarına kadar uzanır (128). Akt'nin 4 isoformu vardır. PKB $\alpha$ , PKB $\beta$ , PKB $\beta$ 2 ve PKB $\gamma$ . Ayrıca PKB $\alpha$ , Akt1 yada RAC-PK $\alpha$  olarak adlandırılır ve PKB $\beta$  da, Akt2 yada RAC-PK $\beta$  olarak adlandırılır (129-131). Akt molekülleri dimerizedir ve amino terminal PH domain (129) yoluyla diğer proteinlerle etkileşir. Akt'nin Homooligomerizasyonu fosfatidylinositol- 3,4-diphosphate ile etkileşince indüklenir ve Akt aktivitesi artar (132). Amino-terminal PH domainin bütünlüğü asıl PI-3 kinaz (PI3K) ve ayrıca PI3K'nin belirli bağımsız yollarınca, farklı growth faktörce

Akt'nin in vivo aktivasyonu için gereklidir (132, 133). Buna karşın Akt PH domain hücrelerde fazlaca yapılan insülin reseptörlerinde okadaik asid ve insülin tarafından Akt aktivasyonu için gerekli değildir (134). Bu sonuçlar gösterdi ki Akt PH alanının aktivasyonu hücre tipi ve stimulusa bağlıdır. Örnek olarak T lenfositlerdeki Pİ3K'nin aktif bir formu veya T hücrelerindeki antijen reseptör ile bağlanarak aktive olmaktadır (135).

### 1.5.3. Akt'nin Regülasyonu

Akt'm tam aktivasyonu için Thr308 ve Ser4733'ün fosforilasyonu gerekmektedir. Akt aktivasyonu; PGDF, EGF, insülin, trombin, NGF gibi büyüme faktörlerini harekete geçirip hücre hayatının devamı, hücre büyümesi ve farklılaşması, hücre döngüsü, transkripsiyon, translasyon ve hücre metabolizması gibi bir çok görevde etkin olarak rol almaktadır (127). Lipid kinaz Pİ3K, Akt regülasyonu ile ilişkilidir (136, 137). Akt'm aktivasyonu, fonksiyon ve işlevleri Şekil 3.'te gösterilmektedir (138).



Şekil 3. Protein Kinaz B/Akt yolunun aktivasyonu ve işlevleri (138).

PI3K'nin aktive formlarının sentezi Akt stimülasyonu ile sonuçlanır. PI3K aktivasyonu sonrasında membran sınırlı PIP3 (lipid phosphatidylinositol 3,4,5,-triphosphate) sentez edilir. Daha sonrada PDK1 (3-phosphoinositide-dependent kinase) kendisi ile ilişkili PH (pleckstrin homology) alanına bağlanır (139, 140). PIP3 ve PIP2, Akt'ın plazma membranları ile PH alanının etkileşimini kuvvetlendirir (132). PDK1 Akt'ın Thr308, PDK2 Ser473 bölgesini fosforile ederek aktive olmasını sağlarlar (139). Diğer koldanda MAPK-MAPKAP kinaz2, Ser473'ü invitro olarak (141) fosforile edebilir ve bu fosforilasyon çeşitli hücrel stress durumlarında Akt aktivasyonuna katkıda bulunur.

#### 1.5.4. Akt'nin Fonksiyonları

Akt'ın fonksiyonu hücre hayatının devamı, hücre büyümesi ve farklılaşması, hücre döngüsü, transkripsiyon, translasyon ve hücre metabolizması gibi çeşitli hücrel işlevlerini regüle etmektedir (127). Akt PI3K'in apoptozis ve protein sentezi gibi bazı hücrel olaylara etkisine aracılık eder (137, 142). Ayrıca glikojen sentaz kinaz-3'ün (GSK-3) insülin tarafından fosforilasyon ve inaktivasyonuna da aracılık ettiği düşünülmektedir (143). GSK-3 glikojen sentezinin negatif bir düzenleyicisidir, GS (glukojen sentaz) aktivitesini inhibe eder (144). Sonuç olarak glikojen sentezinin aktivasyonuna neden olur.

Akt'nin bir diğer hedefi de ribozomal protein S6 kinazdır (139). Bu kinaz protein sentezinin gidişatını değiştirmekten sorumludur. Ayrıca, Akt'nin glikojen uptake ve glukoz transporter-4 (GLUT-4) translokasyonunu stimüle ettiği ve adiposit farklılaşmasını uyardığı bulunmuştur (145, 146). Akt'nin overekspresyonu survival faktör çekilmesi veya PI3K'nin inhibisyonu ile uyarılan serebral nöronların primer kültürlerinde apoptozisi önler (147). Önceki çalışmalarda (148) elde edilen veriler çeşitli cell line'larının sağkalımının PI3K bağımlı olduğunu ve yeni çalışmalarda elde edilen sonuçlar da IGF-1'in Akt'yi aktive ederek serebellar nöronları apoptozisten koruduğunu göstermiştir.

Özet olarak Akt aktivasyonuna sebep olan extrasellüler uyarı büyüme faktörleri, sitokinler ve antijen reseptörlerini içermektedir. Hepsi olmasa da bu uyarılar hücre sağkalımını ve proliferasyonunu düzenlemektedir. Hücre proliferasyonuna katkıda bulunan Akt aktivasyonundaki mekanizmalar tam olarak bilinmemesine rağmen, Akt hedeflerinden bazıları hücre sağkalımını kapsamaktadır (127).

### 1.5.5. Akt ve İnsülin

Akt, özellikle insülinin etkili olduğu çeşitli metabolik olaylarda önemlidir. Akt glukoz transportunun glukoz sentezinin, hücre sağkalımı ve gen ekspresyonunun regulasyonunda PI3K bağlı bir şekilde aktive olmaktadır. Akt, IGF-1 aracılığıyla apoptozise karşı korunmada etkili olmaktadır (127). İnsülinin metabolik eylemlerinde Akt aktivasyonunun önemi açık değildir. Fareler ve insanlarda invivo insülin uygulaması, seri bir şekilde iskelet kasında Akt'yi aktive eder. Ayrıca insülin bağımlı olmayan diabetes mellitus vakalarında iskelet kasında insülin aracılığıyla uyarılmış Akt kinaz etkinliği, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında daha düşüktür. Bu düşüklük Akt'nin azaltılmış protein ekspresyonu ile açıklanamaz. Glikojen sentez kinaz inhibisyonunda Akt'nin etkinliği, insülin aracılı GS aktivasyonunda kritik adımdır (149, 150). Akt, fosfofrukto-2-kinaz aktivasyonu yoluyla glikolizi düzenleyebilir (151). Doku ve türe özgü Akt izoformlarında insülinin diferansiyel bir etkisi vardır. Ratlarda insülin uygulaması hızlı bir şekilde Akt1'i etkiler, iskelet kasında Akt2 üzerinde minimal bir etkisi olur, Akt3'de (152) ise etkisi olmaz. İnsanlar insülin kaslarda bütün izoformları etkilemesine karşın; Akt3 etkisi minimaldir (150). Ratlarda adipositlerde invivo insülin uygulaması, Akt1 ve Akt2 aktivasyonu ile sonuçlanmakta fakat Akt3 etkilenmemektedir. Oysa rat hepatositlerinde invivo insülin Akt1'i etkilemekte, Akt2 üzerine minimal etkisi olmakta, Akt3 üzerine ise etkisi olmamaktadır. Çok zayıf ratlarda kas, karaciğer ve yağ dokularındaki insülin tarafından aktive edilmiş Akt1 ve Akt2 aktivitesi artmıştır. Obez ratlarda, insülin tarafından aktive edilmiş Akt1 aktivitesi kas ve yağ dokusunda düşer, karaciğerde artar. İnsülin reseptör substrat-1 (IRS-1) veya fosfotirozin ile ilişkili PI3K aktivitesi obez ratların dokularında düşmüş, IRS-1 protein düzeyleri ve azalmış insülin reseptör ve IRS-1 fosforilasyonu nedeniyle azalmıştır. Obez ratların adipoz dokularında PI3K aktivitesi ve Akt2 aktivasyonu artmıştı ve glukoz transportu azalmıştı. Bu bulgular adipositlerdeki glukoz transportu üzerine PDK-bağımlı etkinin primer olarak Akt2 tarafından idare edilmediğini göstermektedir. İnsülin direnci durumunda Akt1 ve Akt2 PI3K'nın aktivasyonundan daha fazla zayıflamıştır. İnsülin dirençli obez ratların dokularında insülinin Akt1 ve Akt2 aktiviteleri üzerine etkisinin mekanizmaları, hem ekspresyonda, hem de aktivasyonda dokuya ve izoforma özgü değişimleri içerir (153).

IRS-1 aracılı Akt'nin aktivasyon mekanizması halen net değildir. PI3K çoğunlukla IRS-1 eksprese eden hücrelerde Akt aktivasyonuna neden olurken, IRS-1 eksprese eden hücreler başta olmak üzere Akt'nin aktivasyonu için PI3K'nın tam olarak aktivasyonu gerekmemektedir. Bununla birlikte, IRS proteinlerle ilişkili çok küçük miktardaki PI3K aktivitesi IRS/PI3K kompleksinin özel subselüler lokalizasyonundan dolayı Akt'nin tam aktivasyonu için yeterlidir. Yine de IRS-1, Akt'nin aktivasyonu için sinyalleri PI3K bağımlı yol ve Ras bağımlı yol gibi PI3K bağımsız yollarla iletir. Ueki ve ark. (154) karaciğerdeki Akt'nin sistematik glukoz hemostazında merkezi bir rol oynadığını ve Akt aktivasyonunun PI3K'nın tam aktivasyonu olmadan bile insülin direncini düşürmek için yeterli olabileceğini göstermiştir.

Akt hücrelerin insülin gibi büyüme stimülasyonuna maruz kalma durumuna cevap olarak aktive olmaktadır. Akt'nin full aktivasyonu için Thr 308'in ve Ser 473'ün fosforilasyonuna ihtiyaç vardır. Akt aktivasyonundaki anahtar bir enzim dual fosforilasyonu tetikleyen PI3K'dır. Akt'nin aktivasyonu PI3 bağımsız bir yolla da yönetilir. Aktifleşmiş Akt, hücrelere onları apoptozdan koruyan hayat bağışlayıcı bir sinyal gönderir, vazomotor tone ile ilgili anahtar regülatör olarak fonksiyon görür, PI3K'nın protein sentezi, glikojen sentezi, glukoz transportu, insüline cevap olarak gen ekspresyonu gibi etkilerine aracılık eder. Akt üzerine insülin stimülasyonu dokuya özgüdür ve izoform spesifiktir. Önemli bir biçimde, Akt'nin stimülasyonundaki bir defekt insülin direnci ve diyabet patogenezinde rol oynayabilir (127).

Diyabetin komplikasyonları, insülin homeostazisi ve enerji metabolizmasındaki değişikliklerden kaynaklanan metabolik stresin bir sonucu olarak meydana gelmektedir (30, 31). Diyabetli hastalarda normal insanlara göre daha düşük krom, selenyum ve çinko düzeyleri bütün kan ve plazma ürünlerinde tespit edilmiştir (35). Renal krom defekti ile glukoz intoleransı arasında bir ilişki rapor edilmiştir (155). Diyabet tedavisinde krom ürünlerini vermek fayda gösterebilir. Düşük plazma histidin konsantrasyonları inflamasyon, oksidatif stres, protein enerji kaybının prevalansı, kronik böbrek yetmezliği mortalitesi ile ilişkilidir (156). Krom histidinat stabil bir bileşik olduğundan insanlarda diğer krom formlarına göre daha iyi bir emilime sahiptir (49).

Nrf2, hücresel stres cevabında anahtar rol oynayan transkripsiyon faktörlerinden biridir (157, 158). Çeşitli çalışmalarda, Nrf2'nin inflamatuvar hücreleri yöneterek ve bu hücrelerdeki gen ekspresyonunu düzenleyerek anti-inflamatuvar etki gösterdiği gözlenmiştir (159). NF- $\kappa$ B, inflamasyon ve oksidatif stress reaksiyonlarda kilit bir role sahip olup, renal doku injürilerinde de NF- $\kappa$ B aktivasyonunun merkezi bir rol oynadığı gösterilmiştir (160). Akt enzimi birçok hücre tipinde ekspres edilmektedir. Aktivasyonu büyüme faktörleri ve insülin tarafından düzenlenir. Dolayısıyla özellikle diyabetik böbrek hasarında rol oynadığı ileri sürülmüştür (161).

Bu bilgilerin ışığı altında tez çalışmasında, kromun organik formu olan CrHis, yüksek yağlı diyet ve streptozotosin (STZ) ile tip 2 diyabet oluşturulan ratlarda: NF- $\kappa$ B, Nrf2 ve Akt proteinlerinin ekspresyonu üzerine olan etkilerini araştırmak amaçlandı. Çalışmada kullanılacak krom histidinatin insanlarda denenmeden önce model hayvan olarak ratlarda uygulanması planlanmıştır. Böylece diyabetik ratlarda NF- $\kappa$ B, Nrf2 ve Akt ekspresyonundaki değişimlerin moleküler düzeyde araştırılması, tıbbi tedavi yöntemlerine katkıda bulunmak amacıyla önem arz etmektedir.

## 2. MATERYAL VE METOD

### 2.1. Hayvan Materyali

Fırat Üniversitesi Hayvan Deneyleleri Etik Kurulu (FÜHADEK) onayı alındıktan sonra ( Tarih: 02.12.2009, Toplantı: 27, Karar No: 72 ), çalışma standart deneysel hayvan çalışmaları etik kurallarına uygun olarak yürütüldü.

Deneylelerde kullanılan Wistar albino cinsi ratlar, Fırat Üniversitesi Deneysel Araştırmalar Merkezinden (FÜDAM) temin edildi. Ratlar, 22 ±2°C sıcaklıkta, % 55 ±5 nisbi nem bulunan havalandırma sistemine sahip bir ortamda özel olarak hazırlanmış ve her gün altları temizlenen kafeslerde beslendi. Ratlara verilen standart ve yağlı yemlerin bileşiminde bulunan katkı maddeleri Tablo 7’de gösterilmiştir.

**Tablo 7.** Deneysel Hayvanlarına Verilen Standart ve Yüksek Yağlı Yemlerin Bileşimi.

Diyetlerin Bileşimi (gr/kg)		
İçerikler	Normal Diyet	Yüksek Yağlı Diyet
Kazein	200.0	200.0
Nişasta	615.0	150.0
Sükroz	-	150.0
Mısır Yağı	80.0	-
Sığır İç Yağı	-	400.0
Selüloz	50.0	50.0
Vitamin-Mineral Karışımı*	50.0	50.0
DL-Metiyonin	3.0	3.0
Kolin Klorit	2.0	2.0

\*Vitamin-Mineral Karışımı 1 kg Başına Şunları içerir: Trans retinil asetat, 1.8 mg; Vitamin D-3, 0.025 mg; Alfa-a-tokoferol asetat, 12.5 mg; Menadiyon (menadiyon sodyum bisülfat-vitamin K3), 1.1 mg; Riboflavin, 4.4 mg; Tiyamin (tiyamin mononitrat), 1.1 mg; Vitamin B6, 2.2 mg; Niasin, 35 mg; Kalsiyum pantotenat, 10mg; Vitamin B12, 0.02 mg; Folik asit, 0.55 mg; D-biyotin, 0.1 mg; Manganez (manganez oksit), 40 mg; Demir (demir sülfat), 12.5 mg; Çinko (çinko oksit), 25 mg; Bakır (bakır sülfat), 3.5 mg; Potasyum (potasyum iyodür), 0.3 mg; Selenyum (sodyum selenit), 0.15 mg; Kolin klorit, 175 mg.

### 2.2. Araştırma Grupları

Deneysel çalışmalara başlamadan önce, çıkabilecek aksaklıkların asgariye indirilmesi amacıyla ön çalışma yapıldı. Deneysel hayvanlarının buldukları ortamın sıcaklığı 22-24°C arasında sabit tutuldu ve hayvanlar 12 saat ışık altında ve 12 saatte

karanlıkta takip edildi. Deneysel çalışmalarda ortalama ağırlıkları 200 gr (180-220 gr) olan, 8 haftalık yaşta toplam 28 adet Wistar albino cinsi erkek rat kullanıldı. Bu amaçla, ratlar her grupta 7 hayvan bulunacak şekilde 4 gruba ayrıldı. (i) Enerjinin % 12' si yağlardan oluşan standart diyetle beslenen grup Kontrol grubunu (K), (ii) Standart diyet ve CrHis içme suyu ile birlikte günlük 110 mcg/kg verilen grup K+CrHis grubunu, (iii) HFD ile beslenen ve 2 haftadan sonra streptozotosin (STZ) (STZ, 40 mg/kg i.p.) verilen grup (HFD+STZ) grubunu (iv), HFD ile beslenen ve 2 haftadan sonra streptozotosin (STZ) (STZ, 40 mg/kg i.p.) enjekte edilen ve CrHis (günlük 110 mcg/kg) verilen grup HFD+STZ+CrHis grubunu oluşturdu. Araştırma 12 haftada sonuçlandırıldı.

Streptozotosin (STZ) (Sigma, St. Louis, MO), 40 mg/kg olacak şekilde 0.1 M fosfatsitrat tamponunda (pH: 4.5) çözdürülerek intraperitoneal enjeksiyonla tek doz olarak uygulandı. Bir hafta sonra kuyruk veninden alınan kanın glukometre cihazındaki ölçümü sonucu açlık kan glukozu 140 mg/dl'yi geçen ratlar diyabetik olarak kabul edildiler. Deneklerin açlık kan glukoz düzeylerini saptamak için kan örnekleri, 12 saatlik açlık sonrasında sabah 9.00 - 10.00 arasında alındı. Kandaki glukoz konsantrasyonu ACCU-Chek Active (Roche Diagnostics), glukometre cihazı kullanılarak ölçüldü. 12 haftalık çalışma sonrasında hayvanlar etik yönergelere uygun biçimde dekapite edilerek hedef dokular elde edildi.

### **2.3. Örneklerin Hazırlanması**

Böbrek örneklerinin hazırlanmasında Dogukan ve ark. (162) tarafından uygulanan homojenizasyon yöntemi kullanıldı. Homojenatlar soğutmalı santrifüjde +4 °C'de 60 dakika süreyle 60.000 x g'de santrifüj edildi. Elde edilen süpernatantlar eppendorf tüplere alınarak SDS-PAGE ve Western blot analizleri için -70 °C'de saklandı.

### **2.4. Laboratuvar Analizleri**

#### **2.4.1. SDS-PAGE Analizleri**

Serbest ve serbest olmayan protein örnekleri Laemmli (163) tarafından belirtildiği şekilde hazırlanan SDS-PAGE ile incelendi.

#### **2.4.2. Western Blot Analizleri**

Böbrek dokusu homojenatlarının Western blot analizi Dogukan ve ark. (162) tarafından uygulanan metoda göre yapıldı. Primer antikor olarak NF-κB (abcam,

Cambridge, UK), Nrf2 (abcam, Cambridge, UK), Akt (abcam, Cambridge, UK) antikorları kullanıldı. Primer antikorlar % 0.05 oranında Tween-20 bulunan tamponda 1:1000 oranında hazırlanarak kullanıldı. Nitroselüloz membranlar primer antikorlar ile +4 °C'de gece boyunca inkübasyona bırakıldı. Daha sonraki safhada nitroselüloz membranlar 5 kez 5 dakika tampon solüsyonuyla yıkandı. Yıkama işlemi tamamlandıktan sonra nitroselüloz membranlar % 0.05 oranında Tween-20 bulunan tamponda 1: 1000 oranında hazırlanan, peroksidazla konjuge edilmiş goat-anti-mouse (abcam, Cambridge, UK) immünoglobulinle 37°C'de 90 dakika süreyle inkübasyona bırakıldı. Sonraki aşamada nitroselüloz membranlar 5 kez 5 dakika tampon solusyonuyla yıkandı.

Bantların görüntülenmesi için 1 M Tris (pH: 7.4) tamponunda % 0.03-0.05 oranında hazırlanmış diaminobenzidin (DAB) solusyonu kullanıldı. DAB'la reaksiyon sonucu nitroselüloz membranlar üzerindeki bantlar kısa bir süre sonra görünür hale geldi. 5-10 dakikalık bir reaksiyon süresi sonunda DAB'la renklendirilen bantlar net olarak görüldükten sonra nitroselüloz membranlar iyice yıkandı. Nitroselüloz membranlar iyice kurutulduktan sonra, bantların rölatif yoğunlukları analiz edilmek üzere alındı. Bantların rölatif yoğunlukları Image Analyses System (Image J; National Institute of Health, Bethesda, USA) yazılım programı kullanılarak analiz edildi.

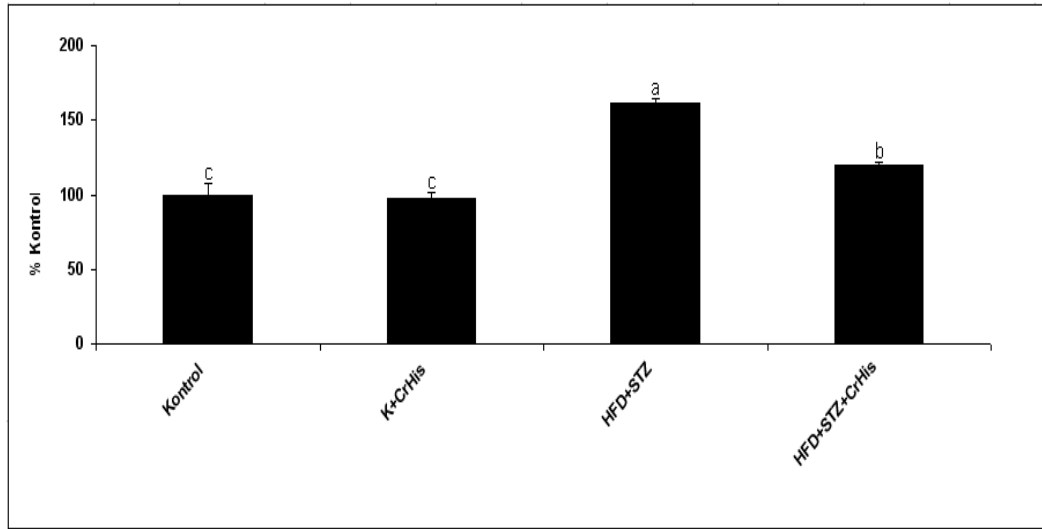
## **2.5. İstatistiksel Analizler**

Veriler gruplar arasındaki farklılıkları ortaya koymak için SAS (164) paket programında bulunan PROC GLM prosedürü kullanılarak analiz edildi. Grup içi farklılıklar da Fisher post hoc testi ile analiz edildi. İstatistiksel anlamlılık  $P < 0.05$  olarak kabul edildi.

### 3. BULGULAR

#### 3.1. Böbrek Dokusundaki Nükleer Faktör Kappa B (NF-κB) Proteini Ekspresyonu

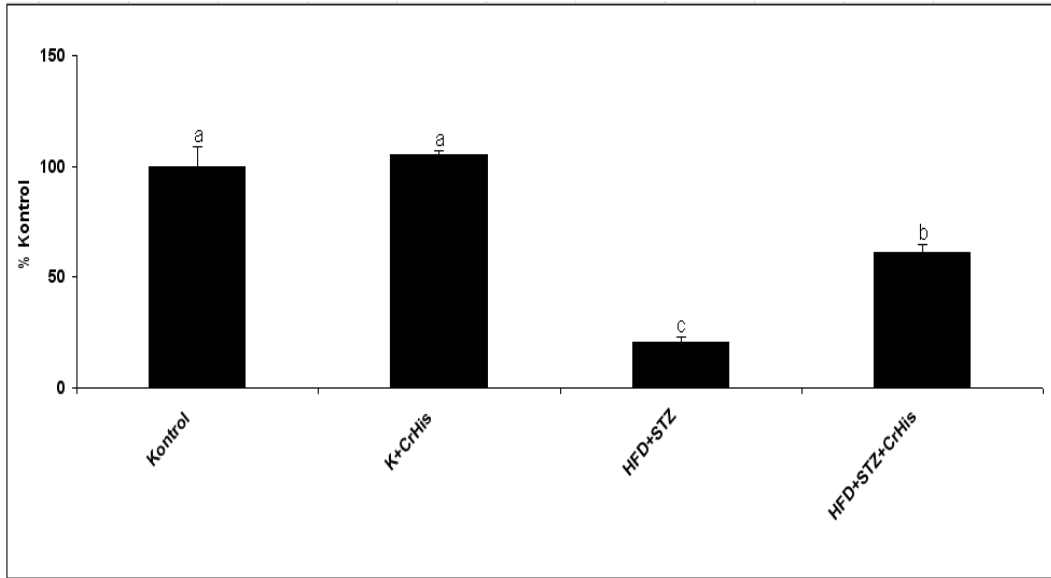
Bu çalışmada; HFD ile beslenen ve STZ uygulanan ratlarda krom histidinat takviyesinin böbrek dokusundaki NF-κB ekspresyonunu nasıl etkilediği araştırılmıştır. Bu amaçla hazırlanan böbrek örneklerindeki NF-κB düzeyleri Western blot yöntemi ile analiz edilmiştir. Nitrosellülöz membranlara aktarılan bantların rölatif yoğunlukları hesaplanarak grafikler oluşturulmuştur. Özellikle HFD+STZ uygulanan grupta NF-κB düzeyleri artış gösterirken, CrHis uygulanması sonucunda NF-κB düzeylerinde anlamlı bir azalma saptanmıştır ( $p<0,05$ ). Bu analiz sonuçlarına göre oluşturulan grafik şekil 4'te ve ratların böbrek dokusu NF-κB bantları şekil 7'de gösterilmiştir.



**Şekil 4.** Çalışma gruplarına ait böbrek dokusu NF-κB düzeyleri ( $p<0,05$ ); (a-c) Farklı harf taşıyan gruplar arasındaki farklılık istatistiksel bakımdan önemlidir

### 3.2. Böbrek Dokusundaki Nükleer Faktör Eritroid 2 - Related Faktör 2 (Nrf2) Ekspresyonu

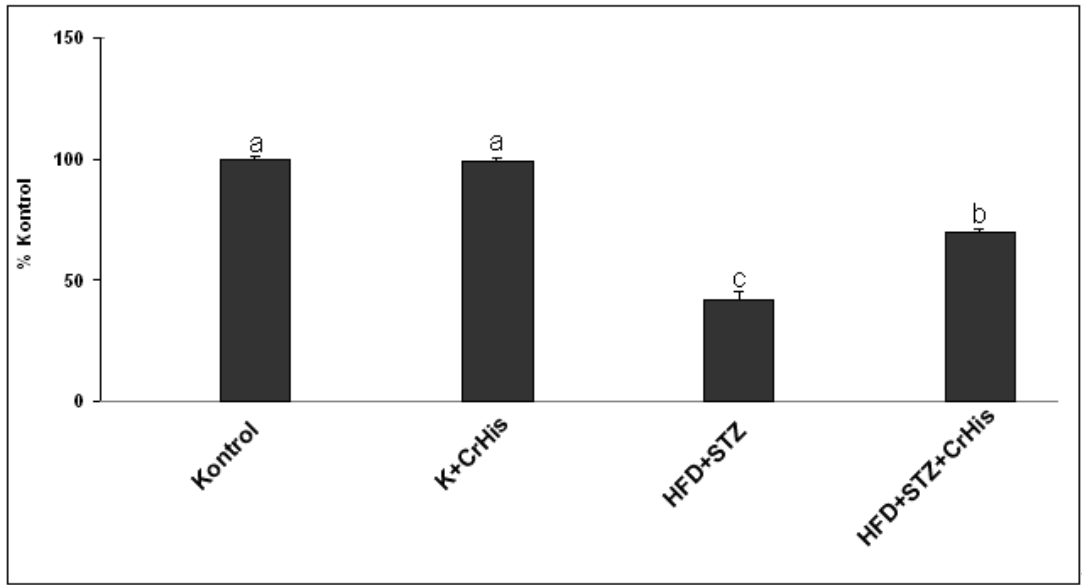
Bu çalışmada; HFD ile beslenen ve STZ uygulanan ratlarda krom histidinat takviyesinin böbrek dokusundaki Nrf2 ekspresyonunu nasıl etkilediği araştırılmıştır. Bu amaçla hazırlanan böbrek örneklerindeki Nrf2 düzeyleri Western blot yöntemi ile analiz edilmiştir. Nitrosellülöz membranlara aktarılan bantların rölatif yoğunlukları hesaplanarak grafikler oluşturulmuştur. Özellikle HFD+STZ uygulanan grupta Nrf2 düzeylerinde azalma saptanırken, CrHis uygulanması sonucunda Nrf2 düzeylerinde anlamlı bir artış saptanmıştır ( $p<0,05$ ). Bu analiz sonuçlarına göre oluşturulan grafik şekil 5’te ve ratların böbrek dokusu Nrf2 bantları şekil 7’de gösterilmiştir.



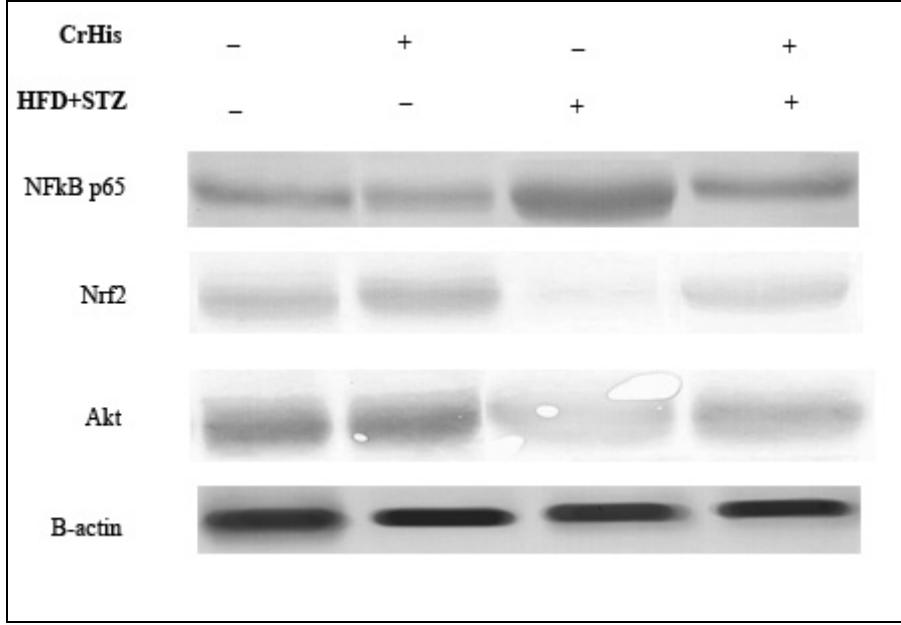
**Şekil 5.** Çalışma gruplarına ait böbrek dokusu Nrf2 düzeyleri, ( $p<0,05$ ); (a-c) Farklı harf taşıyan gruplar arasındaki farklılık istatistiksel bakımdan önemlidir

### 3.3. Böbrek Dokusundaki Akt (Protein Kinaz B) Proteini Ekspresyonu

Bu çalışmada; HFD ile beslenen ve STZ uygulanan ratlarda krom histidinat takviyesinin böbrek dokusundaki Akt ekspresyonunu nasıl etkilediği araştırılmıştır. Bu amaçla hazırlanan böbrek örneklerindeki Akt düzeyleri Western blot yöntemi ile analiz edilmiştir. Nitrosellülöz membranlara aktarılan bantların rölatif yoğunlukları hesaplanarak grafikler oluşturulmuştur. Özellikle HFD+STZ uygulanan grupta Akt düzeylerinde azalma saptanırken, CrHis uygulanması sonucunda Akt düzeylerinde anlamlı bir artış saptanmıştır ( $p<0,05$ ). Bu analiz sonuçlarına göre oluşturulan grafik şekil 6'da ve ratların böbrek Akt bantları şekil 7'de gösterilmiştir.



**Şekil 6.** Çalışma gruplarına ait böbrek dokusu Akt düzeyleri, ( $p<0,05$ ); (a-c) Farklı harf taşıyan gruplar arasındaki farklılık istatistiksel bakımdan önemlidir



**Şekil 7.** Çalışma gruplarına ait böbrek dokusu NF-κB, Nrf2, Akt bantları

#### 4. TARTIŞMA VE SONUÇ

DM, insülin sekresyonu ve/veya insülinin etkisindeki bozukluklardan kaynaklanan, hiperglisemi ile karakterize karbonhidrat, lipit ve protein metabolizması bozuklukları ve hızlanmış aterosklerozla birlikte mikrovasküler ve makrovasküler komplikasyonlarla seyreden kronik, metabolik bir hastalıktır (2). Amerika’de 2002 yılında yaklaşık 16 milyon civarında DM hastası mevcut olup bunların % 90’nı Tip 2 DM ‘li hastalar oluşturmaktadır (165). Uluslararası Diyabet Federasyonu verilerine göre 2000 yılında 150 milyon olarak hesaplanan diyabetik hasta sayısının 2010 yılında 220 milyona, 2025 yılında ise 300 milyona yükseleceği öngörülmektedir (6, 7). Ülkemizde TURDEP tarafından 20 yaş ve üzeri 24788 kişi üzerinde yapılan çalışmada diyabetin prevalansının 20- 60 yaş arasındaki bireylerde % 7,2, bozulmuş glikoz toleransı prevalansı ise % 6,7 olarak bildirilmiştir. 2000 yılı nüfus sayımına göre 4,9 milyon diyabetli hasta bulunduğu ve her 3 diyabetliden birinin diyabetinin farkında olmadığı saptanmıştır (8). Yapılan değişik çalışmalarda HFD+STZ verilmesinin deney hayvanlarında tip 2 DM oluşturduğu gözlenmiştir (38, 166).

Bu çalışmada DM ve komplikasyonlarının, özellikle diabetik nefropatinin gün geçtikçe ülkemiz ve dünya genelinde önemli bir sağlık sorunu oluşturduğu düşüncesi ile mevcut bilgiler ışığında, HFD+STZ uygulanan ratlarda CrHis böbrek dokusundaki NF- $\kappa$ B, NrF2 ve Akt proteinlerinin ekspresyonu üzerine etkileri incelenmiştir.

Beyaz kristalize yapıları bir element olan kromun, biyolojik sistemler içerisinde en fazla bulunan formu, stabil ve (+3) değerlidir. Karbonhidrat, protein ve lipit metabolizmalarında önemli fonksiyonları olan krom, memeliler için temel besin maddelerinden biridir (40). Kromun insülinin etkisini artırdığı ve dolayısı ile antidiyabetik etkileri olduğu bildirilmektedir (39). Organizmada kromun etkisi, insülin ile çok yakın ilişki içerisinde. Deneysel krom eksikliği, insüline duyarlı dokularda hormona olan cevabın azalmasına neden olmuştur. Krom ve insülin arasındaki etkileşimin insüline duyarlı dokunun hücre membranında olduğuna inanılmaktadır. Burada krom, muhtemelen bir üçlü kompleks oluşturarak insülinin reseptörleriyle birleşmesinde başlangıç tepkimesini şiddetlendirmektedir. Yapılan çalışmalarda normal glikoz toleransının görülmesi için kromun temel bir element

olduğu saptanmıştır (41-43). Organik kromun birçok formu olmasına rağmen bu çalışmada CrHis uygulanmıştır. Anderson ve ark. (49) krom bileşenlerinin emilimini erkek ve kadınlarda karşılaştırmış. Krom histidin kompleksi 3.1 μg, Krom picolinate 1.8 μg, Krom klorid 0,4 μg, Krom polinikotinat 0,2 μg emilmiş (49).

Renal krom defekti ile glukoz intoleransı arasında bir ilişki rapor edilmiştir (155). Dogukan ve ark. (162) yapmış olduğu çalışmada HFD+STZ uygulanan ratlarda CrHis verilmesi sonucunda renal fonksiyonu gösteren belirteçlerde (üre, kreatinin düzeyleri) iyileşmeler saptanmıştır. Aynı çalışmada ratların böbrek dokularının histopatolojik incelemesinde yapılmış ve glomerüler hiperselülerite, vakuolar dejenarasyon, interstisiel inflamasyon, interstisiel fibrozis, tübüler atrofi düzeylerinde iyileşmeler saptanmıştır (162).

NF-κB, inflamasyon ve oksidatif stress reaksiyonlarda kilit bir role sahip olup, renal doku injrilerinde de NF-κB aktivasyonunun merkezi bir rol oynadığı gösterilmiştir (160). Obezite, yüksek yağlı diyet, hiperglisemi, PKC (Protein Kinaz C) aktivasyonu ve oksidatif stres NF-κB' yi IκB kinaz aracılığı ile aktive etmekte ve insülin etkisini azaltmaktadır (167). Diyabetik nefropatinin patogenezinde önemli bir rol oynadığı kabul edilen ICAM-1' in transkripsiyonunda NF-κB'nin major faktör olduğuna dair çalışmalar mevcuttur (93). Yüksek glukoz seviyeleri ratların mezenşimal hücrelerinde NF-κB bağımlı yolaktaki ICAM-1 ekspresyonunu arttırır (168). Iwasaki ve ark. (78) yaptığı çalışmada yüksek glukoz konsantrasyonunun NF-κB bağımlı transkripsiyon için özgüllüğü saptandı. Yüksek konsantrasyonda glukozun, NF-κB 'nin DNA'ya bağlanmasını arttırdığı, proinflamatuvar sitokinlerin birlikte NF-κB bağımlı transkripsiyonu arttırdığı saptandı. Glukozun kendisi, en azından kısmen, oksidatif stresi arttırarak inflamasyon/koagülasyonla ilişkili proteinlerin aktivasyonundan sorumlu görünmektedir (78). Tip 2 diyabetli hastalarda krom oksidatif stresin olumsuz etkilerini engeller, dolayısıyla ortaya çıkabilecek olumsuz komplikasyonların oluşmasını engellemeye yardımcı olmaktadır (169). Dogukan ve ark. (162) yapmış olduğu çalışmada HFD+STZ uygulanan ratlarda CrHis verilmesi sonucunda renal dokularda oksidatif stresin belirteçlerinden olan malondialdehit düzeylerinin azaldığıda saptanmıştır (162).

Çalışmamızda HFD+STZ uygulanan grupta böbrek dokusundaki NF-κB düzeyleri kontrol grubuna göre belirgin derecede artış gösterirken, CrHis uygulaması

sonrasında NF-κB proteini ekspresyon düzeylerinde azalma saptanmıştır. Elde ettiğimiz sonuçlar önceki çalışmalarla paralellik arz etmekle beraber, diyabetin hiperglisemi ve oksidatif stresi artırarak NF-κB düzeylerinde artış sağladığını, diyabetlilere yapılan CrHis takviyesinin NF-κB düzeylerinde azalma sağlayabileceğini ve hem diyabetin hem de diyabetin komplikasyonlarından olan diyabetik nefropatinin tedavisinde katkı sağlayabileceğini düşündürdü.

Oksidatif strese karşı oluşan ilk etkiler bir dizi koruyucu genin ekspresyonuna neden olur. Bu sayede kimyasalların ve ROS'un detoksifikasyonu sağlanır, serbest radikal oluşumu önlenir. Oksidatif strese karşı oluşan cevapta çeşitli faktörler söz konusudur. Nrf2 bu faktörlerden biridir. Nrf2 detoksifiye edici ve antioksidan etkili enzimleri kodlayan genleri düzenleyen bir transkripsiyon faktörüdür (105). Nrf2 rutin olarak detoksifikasyonun olduğu böbrekte bolca eksprese edilir (95, 96). Yoh ve ark. (120) STZ ile indüklenmiş diyabet oluşturulan Nrf2-knockout ratlarda renal fonksiyonların daha çok etkilendiğini göstermişlerdir. Ha ve ark. (82) yaptığı çalışmada invitro ortamda yüksek miktarda glukoza maruz bırakılan kardiyak miyositlerde ROS'a karşı savunmada Nrf2'nin rolü ve etki mekanizması araştırılmıştır. Araştırmacılar bu bilgilerin ışığında diyabetik kardiyovasküler myopati gelişiminde Nrf2'nin kritik rol oynayabileceğini düşünerek bu çalışmayı planlamışlar. Bu çalışmanın sonucunda Nrf2 fonksiyon kaybının kardiyomyopatilerde yüksek glukozun indüklediği oksidatif stresi ve apoptozu artırdığı ve kontraktiletiyi azalttığı görülmüştür. Nrf2'nin proinflamatuvar sitokin ve oksidatif strese karşı koruyuculuğu ile ilgili değişik çalışmalar mevcut. So ve ark. (158) yaptığı çalışmada TNF-alfa, IL-beta ve IL-6 gibi pro-inflamatuvar sitokinlerin sisplatin ile oluşan koklear yaralanmada kritik rol oynadığını ve T-tip  $Ca^{+2}$  olarak bilinen kalsiyum kanal blokeri flunarizinin kalsiyum bağımsız yoldan PI3K-Akt sinyali ile NF-E2-ilişkili faktör 2 (Nrf2)/hem oksijenaz-1 (HO-1) yolunun aktivasyonu ile HEI-OC1 hücrelerinde sisplatin ile oluşan sitotoksositeye karşı sitoproteksiton sağladığını gösterdiler. Flunarizinin sisplatin ile oluşan proinflamatuvar sitokin sekresyonunu, bunların messenger RNA transkripsiyonunu ve Nrf2/HO-1 in aktivasyonu ve NF-κB'nin downregülasyonu ile sisplatin toksisitesini oldukça azalmıştır. HEI-OCI hücrelerinde, gen transferi veya farmokolojik yaklaşım ile Nrf2/HO-1'in over ekspresyonu sisplatin ile oluşan sitotoksositeyi ve pro-

inflamatuvar sitokin üretimini azaltmıştır. Buna karşı, farmakolojik inhibitörler veya spesifik küçük interferring RNA'lar ile Nrf2/HO-1'in aşırı ekspresyonunun inhibisyonu flunarizinin faydalı etkilerini önemli derecede ortadan kaldırmıştır. Flunarizin ayrıca sisplatin ile oluşan MAPK aktivasyonunu azaltmıştır ve MAPK'ların farmakolojik inhibisyonu özellikle MEK1/ERK'in inhibisyonu HEI-OC1 hücrelerinde sisplatin ile oluşan NF- $\kappa$ B aktivasyonunu bloke etmiştir. WT-Nrf2 overekspresyonu sisplatin ekspozuru sonrası etkili şekilde MAPK aktivasyonunu bloke etmiştir. Bu sonuçlar flunarizinin invitro ve invivoda Nrf2/HO-1 aktivasyonu ile NF- $\kappa$ B'nin downregülasyonuna ve proinflamatuvar sitokin üretiminin inhibisyonu yaptığını göstermektedir (158). Dogukan ve ark. (162) yapmış olduğu çalışmada HFD+STZ uygulanan ratlarda CrHis verilmesi sonucunda renal dokularda oksidatif stresin belirteçlerinde azalma saptanmıştır (162).

Çalışmamızda HFD+STZ grubunda kontrol grubuna göre Nrf2 düzeylerinde azalma saptanırken, CrHis verilmesi sonucunda Nrf2 düzeylerinde anlamlı bir artış saptandı. Çalışmamızın sonucunda proinflamatuvar sitokin ve oksidatif strese karşı koruyuculuğu olan Nrf2'de artış saptanması hem diyabet hem de komplikasyonlarının tedavisinde verilecek olan CrHis desteğinin olumlu sonuçlar doğurabileceğini gösterdi.

Akt hücre hayatiyetinin devamı, hücre büyümesi ve farklılaşması, hücre döngüsü, transkripsiyon, translasyon ve hücre metabolizması gibi çeşitli hücrel işlevlerini regüle etmektedir (127). Hücrelerin büyüme faktörü stimülasyonunu Akt aktivasyonu takip eder. Aynı zamanda CAMP, hiperosmolarite ve ısı şok gibi diğer stimulanlarda PI3K yolu ile Akt aktivasyonunu artırır (129, 170). GSK-3'ün Akt tarafından fosforilasyonu bu enzimin inaktivasyonuna ve sonuç olarak glikojen sentezinin aktivasyonuna neden olur (144). Akt'nin etkilerine ek olarak, Endotelial nitrik oksit sentaz (eNOS) da, serinell79'da Akt tarafından fosforile edilmektedir ve bu fosforilasyon onun nitrik oksit sentez yeteneğini artırır. NO önemli bir vazomotor ton düzenleyicisidir. Akt invivo vazomotor tonu anahtar düzenleyici olarak düzenler (171). Akt hücrelerin insülin gibi büyüme stimülasyonuna maruz kalma durumuna cevap olarak aktive olmaktadır. Akt'nin full aktivasyonu için Thr 308'in ve Ser 473'ün fosforilasyonuna ihtiyaç vardır. Akt aktivasyonundaki anahtar bir enzim dual fosforilasyonu tetikleyen PI3K'dır. Akt'nin aktivasyonu PI3K bağımsız bir yolla da

yönetilir. Aktifleşmiş Akt, hücrelere onları apopitozdan koruyan hayat bağışlayıcı bir sinyal gönderir, vazomotor tone ile ilgili anahtar regülatör olarak fonksiyon görür, PI3K'nın protein sentezi, glikojen sentezi, glukoz transportu, insüline cevap olarak gen ekspresyonu gibi etkilerine aracılık eder. Akt üzerine insülin stimülasyonu dokuya özgüdür ve izoform spesifiktir. Önemli bir biçimde, Akt'nin stimülasyonundaki bir defekt insülin direnci ve diyabet patogenezinde rol oynayabilir (127). Ekladous ve ark. (172) yaptığı çalışmada STZ ile indüklenerek diyabet yapılan ratlarda Akt düzeyleri kontrol grubuna göre anlamlı ölçüde düşük saptanmıştır. Bütün bu dataalar göstermektedir ki Akt insülin stimülasyonu ile aktive olmaktadır. Akt aktivasyonu ise insülin direncini azaltması, glikojen sentezini aktive etmesi, endotelial NO sentezini artırması ile diyabetik nefropatinin önlenmesinde katkı sağlamaktadır. Cr suplemanlarının glukoz düzeylerini azalttığı ve insülin duyarlılığı artırdığı da bilinmektedir (49).

Çalışmamızda STZ+HFD verilen grupta Akt düzeyleri düşük saptanırken, CrHis uygulaması sonucunda Akt düzeylerinde anlamlı ölçüde artış saptanmıştır. Bu sonuçlar bize CrHis uygulamasının Akt düzeylerini artırarak diyabet sürecini ve komplikasyonlarının gelişimini önlemede olumlu katkılar sağlayabileceğini göstermektedir. Nitekim Akt aktivasyonu dolayısı ile NO sentezini artırması da CrHis ilavesinin diyabetik nefropatiyi önlemede yardımcı olabileceğinin bir göstergesidir.

Sonuç olarak yağlı diyetle beslenen ve deneysel olarak diyabet oluşturulan ratlarda krom histidinat verilmesi; oksidatif stresi azaltma, hücre büyümesi ve farklılaşması, hücre döngüsü, transkripsiyon, translasyon ve hücre metabolizması gibi çeşitli hücrel işlevlerini regüle etmekte olan NF- $\kappa$ B düzeylerini azaltıp, Nrf2 ve Akt düzeylerini de artırarak diyabet ve diyabetin komplikasyonlarından olan diyabetik nefropatinin gelişiminin önlenmesinde destek sağladığı gözlenmiştir.

## 5. KAYNAKLAR

1. Yönerem A, Özata M. Diabetes mellitus tanısı, sınıflaması, klinik özellikler. Endokrinoloji Metabolizma ve Diyabet. 1. Baskı, İstanbul Medikal Yayıncılık. 2006: 275-283.
2. Yenigün M. Her Yönüyle Diabetes Mellitus. 2. Baskı, İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi, 2001: 51-243.
3. Altuntaş Y. Diabetes mellitus'un tanımı, tanısı ve sınıflaması. Yenigün M (editör), Her yönüyle Diabetes Mellitus. 2. Baskı, İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, 2001: 51-62.
4. Kahn CR, Weir GC, King GL, Jacobson AM, Moses AC, Smith RJ. Joslin's Diabetes Mellitus. Fourteenth edition. Lippincott Williams and Wilkins, Boston: 2005: 331-338.
5. Arslan M. Diabetes mellitusta tanı ve sınıflandırma. İliçin G, Biberoglu K, Süleymanlar G, Ünal S (editörler). İç Hastalıkları. 2. Baskı, Ankara: Öncü Basımevi, 2005: 2279-2295.
6. Yılmaz MT. Diabetes mellitus'un tanı kriterleri ve sınıflaması. Yılmaz MT, Bahçeci M, Büyükbeşe MA (editörler). Diabetes Mellitus'un Modern Tedavisi. 1.Baskı, İstanbul: Özlem Grafik Matbaacılık, 2003: 1-9.
7. King H, Aubert RE, Herman WH. Global burden of diabetes, 1995-2025: prevalence, numerical estimates, and projections. Diabetes Care 1998; 21: 1414-1431.
8. Satman I, Yılmaz T, Sengul A, Salman S, Salman F, Uygur S, et al. Population-based study of diabetes and risk characteristics in Turkey: results of the Turkish diabetes epidemiology study (TURDEP). Diabetes Care 2002; 25: 1551-1556.
9. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. Diabetes Care 2004; 27: 5-10.

10. World Health Organization. Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus and its complications, Report of a WHO consultation, Part 1: Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus, Geneva: World Health Organization, 1999.
11. Bennett PH, Knowler WC. Definition, diagnosis, and classification of diabetes mellitus and glucose homeostasis. Khan CR, Weir GC, King GL, Jacobson AM, Moses AC, Smith RJ (editors). Joslin's Diabetes Mellitus. 14th ed. Boston: Lippincott William and Wilkins, 2005; 333-339.
12. Başkal N. Diabetes mellitus'un sınıflandırılması. Erdoğan G (editör). Koloğlu Endokrinoloji Temel ve Klinik. 2. baskı, Ankara: MN Medical & Nobel, 2005; 342-348.
13. Standards of medical care in diabetes 2006. Diabetes Care 2006; 29: 4-42.
14. American Diabetes Association. Insulin administration. Diabetes Care 2004; 27: 94-102.
15. Balasa B, Van Gunst K, Jung N, Balakrishna D, Santamaria P, Hanafusa T, et al. Islet-specific expression of IL-10 promotes diabetes in nonobese diabetic mice independent of Fas, perforin, TNF receptor-1, and TNF receptor-2 molecules. J Immunol 2000; 165: 2841-2849.
16. Bertry-Coussot L, Lucas B, Danel C, Halbwachs-Mecarelli L, Bach JF, Chatenoud L, Lemarchand P. Long-term reversal of established autoimmunity upon transient blockade of the LFA-1/intercellular adhesion molecule-1 pathway. J Immunol 2002; 168: 3641-3648.
17. Binder C, Brange J. Insulin chemistry and pharmacokinetics. In: Ellenberg & Rifkin's diabetes mellitus, Fifth edition. Eds: Porte D; Sherwin RS: Appleton & Lange, Stamford, 1997; 689-708.
18. Cabrera-Rode E, Sarmiento L, Tiberti C, Molina G, Barrios J, Hernandez D, et al. Type 1 diabetes islet associated antibodies in subjects infected by echovirus 16. Diabetologia 2003; 46: 1348-1353.

19. Chervonsky AV, Wang Y, Wong FS, Visintin I, Flavell RA, Janeway CA, Jr, Matis LA. The role of Fas in autoimmune diabetes. *Cell* 1997; 89: 17-24.
20. Laakso M. Tip 2 diyabetin epidemiyolojisi ve tanısı. In: Goldstein BJ, Müler-Wieland D (eds), *Textbook of Type 2 Diabetes*. New York, Martin Dunitz Group 2003. Çeviri Ed: Akman AC s.1-12. 1.Baskı. AND Yayıncılık, Düzey Matbaası İstanbul 2004.
21. De Fronzo RA, Bonadonna RC, Ferrannini E. Pathogenesis of NIDDM. In: Alberti KGMM, Zimmet P, De Fronzo RA, Keen H (eds), *International Textbook of Diabetes Mellitus*. Second edition. Chichester, John Wiley & Sons Ltd. 1997; 81: 635-689.
22. Başkal N. Diabetes mellitusta akut metabolik dekompanseasyonlar. İliçin G, Biberoğlu K, Süleymanlar G, Ünal S (editörler). *İç Hastalıkları*. 2. Baskı, Ankara: Öncü Basımevi. 2005; 2311-2321.
23. Gedik O. Diabetes mellitus'un komplikasyonları. Erdoğan G (editör). *Koloğlu Endokrinoloji Temel ve Klinik*. 2. Baskı, Ankara: MN Medical & Nobel, 2005; 367-383.
24. Karşıdağ K. Diyabetik ketoasidoz. Yenigün M (editör). *Her yönüyle Diabetes Mellitus*. 2. Baskı, İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, 2001; 285-297.
25. Bayraktar M. Diyabetin akut komplikasyonları. Yöner A, Özata M (editörler). *Endokrinoloji Metabolizma ve Diyabet*. 1. Baskı. İstanbul Medikal Yayıncılık. 2006; 342-352.
26. Cryer PE. Tip 2 diyabette hipoglisemi. Tip 2 Diyabet. Goldstein BJ, Wieland DM (editors). Akman AC (çevirmen) s.171-181. 1. baskı, İstanbul: And Danışmanlık Yayıncılık, 2004.
27. Wieland DM, Kotzka J, Goldstein BJ. Tip 2 diyabetin patogenezi. Tip 2 Diyabet. Goldstein BJ, Wieland DM (editors). Akman AC (çevirmen) s. 13-25. 1. Baskı, İstanbul: And Danışmanlık Yayıncılık, 2004.

28. Sözen T. Diyabetin kronik dejeneratif komplikasyonları. İliçin G, Biberoglu K, Süleymanlar G, Ünal S (editörler). İç Hastalıkları. 2. Baskı, Ankara: Öncü Basımevi, 2005; 2321-2331.
29. Stratton IM, Adler AI, Neil HA, Matthews DR, Manley SE, Cull CA, et al. Association of glycaemia with macrovascular and microvascular complications of type 2 diabetes (UKPDS 35): prospective observational study. *BMJ* 2000; 321: 405-412.
30. Buettner R, Scholmerich J, Bollheimer LC. High-fat diets: modeling the metabolic disorders of human obesity in rodents. *Obesity (Silver Spring)* 2007; 15: 798-808.
31. Barnard RJ, Roberts CK, Varon SM, Berger JJ. Diet-induced insulin resistance precedes other aspects of the metabolic syndrome. *J Appl Physiol* 1998; 84: 1311-1315.
32. Broadhurst CL, Domenico P. Clinical studies on chromium picolinate supplementation in diabetes mellitus a review. *Diabetes Technol Ther* 2006; 8: 677-687.
33. Bartlett HE, Eperjesi F. Nutritional supplementation for type 2 diabetes: a systematic review. *Ophthalmic Physiol Opt* 2008; 28: 503-523.
34. Jiang T, Wang Z, Proctor G, Moskowitz S, Liebman SE, Rogers T, et al. Diet-induced obesity in C57BL/6J mice causes increased renal lipid accumulation and glomerulosclerosis via a sterol regulatory element-binding protein-1c-dependent pathway. *J Biol Chem* 2005; 280: 317-325.
35. Wallach S. Clinical and biochemical aspects of chromium deficiency. *J Am Coll Nutr* 1985; 4: 107-20.
36. Becker DJ, Reul B, Ozcelikay AT, Buchet JP, Henquin JC, Brichard SM. Oral selenate improves glucose homeostasis and partly reverses abnormal expression

- of liver glycolytic and gluconeogenic enzymes in diabetic rats. *Diabetologia* 1996; 39: 3-11.
37. Faure P, Roussel A, Coudray C, Richard MJ, Halimi S, Favier A. Zinc and insulin sensitivity. *Biol Trace Elem Res* 1992; 32: 305-310.
  38. Sahin K, Onderci M, Tuzcu M, Ustundag B, Cikim G, Ozercan IH, et al. Effect of chromium on carbohydrate and lipid metabolism in a rat model of type 2 diabetes mellitus: the fat-fed, streptozotocin-treated rat. *Metabolism* 2007; 56: 1233-1240.
  39. Underwood EJ. Chromium in Trace elements in human and animal nutrition. Fourth Edition. EJ Underwood, ed. Academic Pres, New York: 1977; 258-270.
  40. Güneral F. Eser elementler. *Katkı Dergisi* 1985; 6: 249-250.
  41. Mertz W. Chromium occurrence and function in biological systems. *Physiol Rev* 1969; 49: 163-239.
  42. Sreekanth R, Pattabhi V, Rajan SS. Molecular basis of chromium insulin interactions. *Biochem Biophys Res Commun* 2008; 369: 725-729.
  43. Harshita V, Kobla L, Stella L. Chromium, exercise and body composition, *Critical reviews in food science and nutrition*, 2000; 40: 291-308.
  44. Dietary Supplement Fact Sheet. Chromium. 2005. Office of Dietary Supplements. National Institutes of Health. USA.
  45. Pattar GR, Tackett L, Liu P, Elmendorf JS. Chromium picolinate positively influences the glucose transporter system via affecting cholesterol homeostasis in adipocytes cultured under hyperglycemic diabetic conditions. *Mutat Res* 2006; 610: 93-100.
  46. Jain SK, Rains JL, Croad JL. Effect of chromium niacinate and chromium picolinate supplementation on lipid peroxidation, TNF-alpha, IL-6, CRP,

glycated hemoglobin, triglycerides, and cholesterol levels in blood of streptozotocin-treated diabetic rats. *Free Radic Biol Med* 2007; 43: 1124-1231.

47. Anderson RA. Chromium, glucose intolerance and diabetes. *J Am Coll Nutr* 1998; 17: 548-555.
48. Cefalu WT, Hu FB. Role of chromium in human health and in diabetes. *Diabetes Care* 2004; 27: 2741-2751.
49. Anderson RA, Polansky MM, Bryden NA. Stability and absorption of chromium and absorption of chromium histidinate complexes by humans. *Biol Trace Elem Res* 2004; 101: 211-218.
50. Vincent JB. Elucidating a biological role for chromium at a molecular level. *Acc Chem Res* 2000; 33: 503-510.
51. Champe PC, Harvey RA. *Lippincott's Illustrated Reviews serisinden Biyokimya*. 2. Baskı. Çeviri ed: Tokullugil A, Dirican M, Ulukaya E. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, 1997.
52. Cooperman JM, Lopez R. The role of histidine in the anemia of folate deficiency. *Exp Biol Med (Maywood)* 2002; 227: 998-1000.
53. Doolan PD, Harper HA, Hutchin ME, Shreeve WW. Renal clearance of eighteen individual amino acids in human subjects. *J Clin Invest* 1955; 34: 1247-1255.
54. Mirasol F. Chromium picolinate market sees robust growth and high demand. *Chem Mark Rep* 2000; 257.
55. Vincent JB. Recent advances in the nutritional biochemistry of trivalent chromium. *Proc Nutr Soc* 2004; 63: 41-47.
56. Vincent JB. The biochemistry of chromium. *J Nutr* 2000; 130: 715-718.

57. Wang ZQ, Zhang XH, Russell JC, Hulver M, Cefalu WT. Chromium picolinate enhances skeletal muscle cellular insulin signaling in vivo in obese, insulin-resistant JCR: LA-cp rats. *J Nutr* 2006; 136: 415-420.
58. Cefalu WT, Wang ZQ, Zhang XH, Baldor LC, Russell JC. Oral chromium picolinate improves carbohydrate and lipid metabolism and enhances skeletal muscle Glut-4 translocation in obese, hyperinsulinemic (JCR-LA corpulent) rats. *J Nutr* 2002; 132: 1107-1114.
59. Chen G, Liu P, Pattar GR, Tackett L, Bhonagiri P, Strawbridge AB, Elmendorf JS. Chromium activates glucose transporter 4 trafficking and enhances insulin-stimulated glucose transport in 3T3-L1 adipocytes via a cholesterol-dependent mechanism. *Mol Endocrinol* 2006; 20: 857-870.
60. Khanam R, Pillai KK. Effect of chromium picolinate on modified forced swimming test in diabetic rats: involvement of serotonergic pathways and potassium channels. *Basic Clin Pharmacol Toxicol* 2006; 98: 155-159.
61. Brautigan DL, Kruszewski A, Wang H. Chromium and vanadate combination increases insulin-induced glucose uptake by 3T3-L1 adipocytes. *Biochem Biophys Res Commun* 2006; 347: 769-773.
62. Anderson RA, Kozlovsky AS. Chromium intake, absorption and excretion of subjects consuming self-selected diets. *Am J Clin Nutr* 1985; 41: 1177-1183.
63. Anderson RA, Bryden NA, Polansky MM. Lack of toxicity of chromium chloride and chromium picolinate in rats. *J Am Coll Nutr* 1997; 16: 273-279.
64. Institute of Medicine. Food and Nutrition Board. Dietary Reference Intakes for Vitamin A, Vitamin K, Arsenic, Boron, Chromium, Copper, Iodine, Iron, Manganese, Molybdenum, Nickel, Silicon, Vanadium, and Zinc. National Academy Press. Washington. DC. USA 2001.
65. Anderson RA. Chromium as an essential nutrient for humans. *Regul Toxicol Pharmacol* 1997; 26: 35-41.

66. Seaborn CD, Stoecker BJ. Effects of starch, sucrose, fructose and glucose on chromium absorption and tissue concentrations in obese and lean mice. *J Nutr* 1989; 119: 1444-1451.
67. Bagchi D, Stohs SJ, Downs BW, Bagchi M, Preuss HG. Cytotoxicity and oxidative mechanisms of different forms of chromium. *Toxicology* 2002; 180: 5-22.
68. Randall JA, Gibson RS. Serum and urine chromium as indices of chromium status in tannery workers. *Proc Soc Exp Biol Med* 1987; 185: 16-23.
69. Von Burg R, Liu D. Chromium and hexavalent chromium. *J Appl Toxicol* 1993; 13: 225-230.
70. Johansen M, Overgaard E, Toft A. Severe chronic inflammation of the mucous membranes in the eyes and upper respiratory tract due to work-related exposure to hexavalent chromium. *J Laryngol Otol* 1994; 108: 591-592.
71. Shara M, Kincaid AE, Limpach AL, Sandstrom R, Barrett L, Norton N, et al. Long-term safety evaluation of a novel oxygen-coordinated niacin-bound chromium (III) complex. *J Inorg Biochem* 2007; 101: 1059-1069.
72. Baeuerle PA. Pro-inflammatory signaling: last pieces in the NF-kappaB puzzle? *Curr Biol* 1998; 8: 19-22.
73. Waddick KG, Uckun FM. Innovative treatment programs against cancer: II. Nuclear factor-kappaB (NF-kappaB) as a molecular target. *Biochem Pharmacol* 1999; 57: 9-17.
74. Spehlmann ME, Eckmann L. Nuclear factor-kappa B in intestinal protection and destruction. *Curr Opin Gastroenterol* 2009; 25: 92-99.
75. Barnes PJ, Karin M. Nuclear factor-kappaB: a pivotal transcription factor in chronic inflammatory diseases. *N Engl J Med* 1997; 336: 1066-1071.

76. Siebenlist U, Franzoso G, Brown K. Structure, regulation and function of NF-kappa B. *Annu Rev Cell Biol* 1994; 10: 405-455.
77. Ho E, Bray TM. Antioxidants, NFkappaB activation, and diabetogenesis. *Proc Soc Exp Biol Med* 1999; 222: 205-213.
78. Iwasaki Y, Kambayashi M, Asai M, Yoshida M, Nigawara T, Hashimoto K. High glucose alone, as well as in combination with proinflammatory cytokines, stimulates nuclear factor kappa-B-mediated transcription in hepatocytes in vitro. *J Diabetes Complications* 2007; 21: 56-62.
79. Mohamed AK, Bierhaus A, Schiekofer S, Tritschler H, Ziegler R, Nawroth PP. The role of oxidative stress and NF-kappaB activation in late diabetic complications. *Biofactors* 1999; 10: 157-167.
80. Quehenberger P, Bierhaus A, Fasching P, Muellner C, Klevesath M, Hong M, et al. Endothelin 1 transcription is controlled by nuclear factor-kappaB in AGE-stimulated cultured endothelial cells. *Diabetes* 2000; 49: 1561-1570.
81. Massy ZA, Guijarro C, O'Donnell MP, Kim Y, Kashtan CE, Egido J, et al. The central role of nuclear factor-kappa B in mesangial cell activation. *Kidney Int Suppl* 1999; 71: 76-79.
82. Ha H, Yu MR, Choi YJ, Kitamura M, Lee HB. Role of high glucose-induced nuclear factor-kappaB activation in monocyte chemoattractant protein-1 expression by mesangial cells. *J Am Soc Nephrol* 2002; 13: 894-902.
83. Lee HB, Yu MR, Song JS, Ha H. Reactive oxygen species amplify protein kinase C signaling in high glucose-induced fibronectin expression by human peritoneal mesothelial cells. *Kidney Int* 2004; 65: 1170-1179.
84. Pieper GM, Riaz ul H. Activation of nuclear factor-kappaB in cultured endothelial cells by increased glucose concentration: prevention by calphostin C. *J Cardiovasc Pharmacol* 1997; 30: 528-532.

85. Yerneni KK, Bai W, Khan BV, Medford RM, Natarajan R. Hyperglycemia-induced activation of nuclear transcription factor kappaB in vascular smooth muscle cells. *Diabetes* 1999; 48: 855-864.
86. Arikawa E, Ma RC, Isshiki K, Luptak I, He Z, Yasuda Y, et al. Effects of insulin replacements, inhibitors of angiotensin, and PKCbeta's actions to normalize cardiac gene expression and fuel metabolism in diabetic rats. *Diabetes* 2007; 56: 1410-1420.
87. Das Evcimen N, King GL. The role of protein kinase C activation and the vascular complications of diabetes. *Pharmacol Res* 2007; 55: 498-510.
88. Veves A, King GL. Can VEGF reverse diabetic neuropathy in human subjects? *J Clin Invest* 2001; 107: 1215-1218.
89. Nakamura J, Kato K, Hamada Y, Nakayama M, Chaya S, Nakashima E, et al. A protein kinase C-beta-selective inhibitor ameliorates neural dysfunction in streptozotocin-induced diabetic rats. *Diabetes* 1999; 48: 2090-2095.
90. Cameron NE, Cotter MA. Effects of protein kinase Cbeta inhibition on neurovascular dysfunction in diabetic rats: interaction with oxidative stress and essential fatty acid dysmetabolism. *Diabetes Metab Res Rev* 2002; 18: 315-323.
91. Schmid H, Boucherot A, Yasuda Y, Henger A, Brunner B, Eichinger F, et al. Modular activation of nuclear factor-kappaB transcriptional programs in human diabetic nephropathy. *Diabetes* 2006; 55: 2993-3003.
92. Lopez-Franco O, Suzuki Y, Sanjuan G, Blanco J, Hernandez-Vargas P, Yo Y, et al. Nuclear factor-kappa B inhibitors as potential novel anti-inflammatory agents for the treatment of immune glomerulonephritis. *Am J Pathol* 2002; 161: 1497-505.
93. Guijarro C, Egido J. Transcription factor-kappa B (NF-kappa B) and renal disease. *Kidney Int* 2001; 59: 415-424.

94. Sakurai H, Shigemori N, Hisada Y, Ishizuka T, Kawashima K, Sugita T. Suppression of NF-kappa B and AP-1 activation by glucocorticoids in experimental glomerulonephritis in rats: molecular mechanisms of anti-nephritic action. *Biochim Biophys Acta* 1997; 1362: 252-262.
95. Chan K, Kan YW. Nrf2 is essential for protection against acute pulmonary injury in mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999; 96: 12731-12736.
96. Chan K, Han XD, Kan YW. An important function of Nrf2 in combating oxidative stress: detoxification of acetaminophen. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; 98: 4611-4616.
97. Cho HY, Jedlicka AE, Reddy SP, Kensler TW, Yamamoto M, Zhang LY, Kleeberger SR. Role of NRF2 in protection against hyperoxic lung injury in mice. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2002; 26: 175-182.
98. Leung L, Kwong M, Hou S, Lee C, Chan JY. Deficiency of the Nrf1 and Nrf2 transcription factors results in early embryonic lethality and severe oxidative stress. *J Biol Chem* 2003; 278: 48021-48099.
99. Yoh K, Itoh K, Enomoto A, Hirayama A, Yamaguchi N, Kobayashi M, et al. Nrf2-deficient female mice develop lupus-like autoimmune nephritis. *Kidney Int* 2001; 60: 1343-1353.
100. Iizuka T, Ishii Y, Itoh K, Kiwamoto T, Kimura T, Matsuno Y, et al. Nrf2-deficient mice are highly susceptible to cigarette smoke-induced emphysema. *Genes Cells* 2005; 10: 1113-1125.
101. Giudice A, Montella M. Activation of the Nrf2-ARE signaling pathway: a promising strategy in cancer prevention. *Bioessays* 2006; 28: 169-181.
102. Wakabayashi N, Itoh K, Wakabayashi J, Motohashi H, Noda S, Takahashi S, et al. Keap1-null mutation leads to postnatal lethality due to constitutive Nrf2 activation. *Nat Genet* 2003; 35: 238-245.

103. Itoh K, Wakabayashi N, Katoh Y, Ishii T, Igarashi K, Engel JD, Yamamoto M. Keap1 represses nuclear activation of antioxidant responsive elements by Nrf2 through binding to the amino-terminal Neh2 domain. *Genes Dev* 1999; 13: 76-86.
104. Vollrath V, Wielandt AM, Iruretagoyena M, Chianale J. Role of Nrf2 in the regulation of the Mrp2 (ABCC2) gene. *Biochem J* 2006; 395: 599-609.
105. Kaspar JW, Niture SK, Jaiswal AK. Nrf2: INrf2 (Keap1) signaling in oxidative stress. *Free Radic Biol Med* 2009; 47: 1304-1309.
106. Thimmulappa RK, Mai KH, Srisuma S, Kensler TW, Yamamoto M, Biswal S. Identification of Nrf2-regulated genes induced by the chemopreventive agent sulforaphane by oligonucleotide microarray. *Cancer Res* 2002; 62: 5196-203.
107. Kwak MK, Wakabayashi N, Itoh K, Motohashi H, Yamamoto M, Kensler TW. Modulation of gene expression by cancer chemopreventive dithiolethiones through the Keap1-Nrf2 pathway. Identification of novel gene clusters for cell survival. *J Biol Chem* 2003; 278: 8135-8145.
108. Li J, Pankratz M, Johnson JA. Differential gene expression patterns revealed by oligonucleotide versus long cDNA arrays. *Toxicol Sci* 2002; 69: 383-390.
109. Kobayashi M, Yamamoto M. Molecular mechanisms activating the Nrf2-Keap1 pathway of antioxidant gene regulation. *Antioxid Redox Signal* 2005; 7: 385-394.
110. Kensler TW, Wakabayashi N, Biswal S. Cell survival responses to environmental stresses via the Keap1-Nrf2-ARE pathway. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 2007; 47: 89-116.
111. Surh YJ, Kundu JK, Na HK, Lee JS. Redox-sensitive transcription factors as prime targets for chemoprevention with anti-inflammatory and antioxidative phytochemicals. *J Nutr* 2005; 135: 2993-3001.

112. Cho HY, Reddy SP, Kleeberger SR. Nrf2 defends the lung from oxidative stress. *Antioxid Redox Signal* 2006; 8: 76-87.
113. Jaiswal AK. Nrf2 signaling in coordinated activation of antioxidant gene expression. *Free Radic Biol Med* 2004; 36: 1199-207.
114. Kobayashi A, Kang MI, Watai Y, Tong KI, Shibata T, Uchida K, Yamamoto M. Oxidative and electrophilic stresses activate Nrf2 through inhibition of ubiquitination activity of Keap1. *Mol Cell Biol* 2006; 26: 221-229.
115. Zhang DD, Hannink M. Distinct cysteine residues in Keap1 are required for Keap1-dependent ubiquitination of Nrf2 and for stabilization of Nrf2 by chemopreventive agents and oxidative stress. *Mol Cell Biol* 2003; 23: 8137-8151.
116. Dinkova-Kostova AT, Holtzclaw WD, Cole RN, Itoh K, Wakabayashi N, Katoh Y, et al. Direct evidence that sulfhydryl groups of Keap1 are the sensors regulating induction of phase 2 enzymes that protect against carcinogens and oxidants. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002; 99: 11908-11913.
117. Yu R, Chen C, Mo YY, Hebbar V, Owuor ED, Tan TH, Kong AN. Activation of mitogen-activated protein kinase pathways induces antioxidant response element-mediated gene expression via a Nrf2-dependent mechanism. *J Biol Chem* 2000; 275: 39907-39913.
118. Xu C, Yuan X, Pan Z, Shen G, Kim JH, Yu S, et al. Mechanism of action of isothiocyanates: the induction of ARE-regulated genes is associated with activation of ERK and JNK and the phosphorylation and nuclear translocation of Nrf2. *Mol Cancer Ther* 2006; 5: 1918-1926.
119. Yamamoto T, Yoh K, Kobayashi A, Ishii Y, Kure S, Koyama A, et al. Identification of polymorphisms in the promoter region of the human NRF2 gene. *Biochem Biophys Res Commun* 2004; 321: 72-79.

120. Yoh K, Hirayama A, Ishizaki K, Yamada A, Takeuchi M, Yamagishi S, et al. Hyperglycemia induces oxidative and nitrosative stress and increases renal functional impairment in Nrf2-deficient mice. *Genes Cells* 2008; 13: 1159-1170.
121. Pi J, Zhang Q, Fu J, Woods CG, Hou Y, Corkey BE, et al. ROS signaling, oxidative stress and Nrf2 in pancreatic beta-cell function. *Toxicol Appl Pharmacol* 2009.
122. Zhang X, Lu L, Dixon C, Wilmer W, Song H, Chen X, Rovin BH. Stress protein activation by the cyclopentenone prostaglandin 15-deoxy-delta12,14-prostaglandin J2 in human mesangial cells. *Kidney Int* 2004; 65: 798-810.
123. Asghar M, George L, Lokhandwala MF. Exercise decreases oxidative stress and inflammation and restores renal dopamine D1 receptor function in old rats. *Am J Physiol Renal Physiol* 2007; 293: 914-919.
124. Coffey PJ, Woodgett JR. Molecular cloning and characterisation of a novel putative protein-serine kinase related to the cAMP-dependent and protein kinase C families. *Eur J Biochem* 1991; 201: 475-481.
125. Jones PF, Jakubowicz T, Pitossi FJ, Maurer F, Hemmings BA. Molecular cloning and identification of a serine/threonine protein kinase of the second-messenger subfamily. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991; 88: 4171-4175.
126. Bellacosa A, Testa JR, Staal SP, Tsichlis PN. A retroviral oncogene, akt, encoding a serine-threonine kinase containing an SH2-like region. *Science* 1991; 254: 274-2747.
127. Evcimen-Das N, King LG. Protein Kinase B/AKT: Structure, functions and regulation. *J Fac Pharm Ankara* 2001; 30: 31-40.
128. Marte BM, Downward J. Akt: connecting phosphoinositide 3-kinase to cell survival and beyond. *Trends Biochem Sci* 1997; 22: 355-358.

- 129.** Konishi H, Matsuzaki H, Tanaka M, Ono Y, Tokunaga C, Kuroda S, Kikkawa U. Activation of RAC-protein kinase by heat shock and hyperosmolarity stress through a pathway independent of phosphatidylinositol 3-kinase. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93: 7639-7643.
- 130.** Jones PF, Jakubowicz T, Hemmings BA. Molecular cloning of a second form of rac protein kinase. *Cell Regul* 1991; 2: 1001-1009.
- 131.** Konishi H, Kuroda S, Tanaka M, Matsuzaki H, Ono Y, Kameyama K, et al. Molecular cloning and characterization of a new member of the RAC protein kinase family: association of the pleckstrin homology domain of three types of RAC protein kinase with protein kinase C subspecies and beta gamma subunits of G proteins. *Biochem Biophys Res Commun* 1995; 216: 526-534.
- 132.** Franke TF, Kaplan DR, Cantley LC, Toker A. Direct regulation of the Akt proto-oncogene product by phosphatidylinositol-3,4-bisphosphate. *Science* 1997; 275: 665-668.
- 133.** Klippel A, Reinhard C, Kavanaugh WM, Apell G, Escobedo MA, Williams LT. Membrane localization of phosphatidylinositol 3-kinase is sufficient to activate multiple signal-transducing kinase pathways. *Mol Cell Biol* 1996; 16: 4117-4127.
- 134.** Kohn AD, Kovacina KS, Roth RA. Insulin stimulates the kinase activity of RAC-PK, a pleckstrin homology domain containing ser/thr kinase. *Embo J* 1995; 14: 4288-4295.
- 135.** Genot EM, Arriemerlou C, Ku G, Burgering BM, Weiss A, Kramer IM. The T-cell receptor regulates Akt (protein kinase B) via a pathway involving Rac1 and phosphatidylinositide 3-kinase. *Mol Cell Biol* 2000; 20: 5469-5478.
- 136.** Burgering BM, Coffey PJ. Protein kinase B (c-Akt) in phosphatidylinositol-3-OH kinase signal transduction. *Nature* 1995; 376: 599-602.

- 137.** Franke TF, Yang SI, Chan TO, Datta K, Kazlauskas A, Morrison DK, et al. The protein kinase encoded by the Akt proto-oncogene is a target of the PDGF-activated phosphatidylinositol 3-kinase. *Cell* 1995; 81: 727-736.
- 138.** Blume-Jensen P, Hunter T. Oncogenic kinase signalling. *Nature* 2001; 411: 355-365.
- 139.** Alessi DR, Deak M, Casamayor A, Caudwell FB, Morrice N, Norman DG, et al. 3-Phosphoinositide-dependent protein kinase-1 (PDK1): structural and functional homology with the *Drosophila* DSTPK61 kinase. *Curr Biol* 1997; 7: 776-789.
- 140.** Stephens L, Anderson K, Stokoe D, Erdjument-Bromage H, Painter GF, Holmes AB, et al. Protein kinase B kinases that mediate phosphatidylinositol 3,4,5-trisphosphate-dependent activation of protein kinase B. *Science* 1998; 279: 710-714.
- 141.** Alessi DR, Andjelkovic M, Caudwell B, Cron P, Morrice N, Cohen P, Hemmings BA. Mechanism of activation of protein kinase B by insulin and IGF-1. *Embo J* 1996; 15: 6541-51.
- 142.** Kitamura T, Ogawa W, Sakaue H, Hino Y, Kuroda S, Takata M, et al. Requirement for activation of the serine-threonine kinase Akt (protein kinase B) in insulin stimulation of protein synthesis but not of glucose transport. *Mol Cell Biol* 1998; 18: 3708-3717.
- 143.** Hajduch E, Alessi DR, Hemmings BA, Hundal HS. Constitutive activation of protein kinase B alpha by membrane targeting promotes glucose and system A amino acid transport, protein synthesis, and inactivation of glycogen synthase kinase 3 in L6 muscle cells. *Diabetes* 1998; 47: 1006-1013.
- 144.** Cross DA, Alessi DR, Cohen P, Andjelkovich M, Hemmings BA. Inhibition of glycogen synthase kinase-3 by insulin mediated by protein kinase B. *Nature* 1995; 378: 785-789.

145. Kohn AD, Summers SA, Birnbaum MJ, Roth RA. Expression of a constitutively active Akt Ser/Thr kinase in 3T3-L1 adipocytes stimulates glucose uptake and glucose transporter 4 translocation. *J Biol Chem* 1996; 271: 31372-31378.
146. Magun R, Burgering BM, Coffey PJ, Pardasani D, Lin Y, Chabot J, Sorisky A. Expression of a constitutively activated form of protein kinase B (c-Akt) in 3T3-L1 preadipose cells causes spontaneous differentiation. *Endocrinology* 1996; 137: 3590-3593.
147. Kauffmann-Zeh A, Rodriguez-Viciana P, Ulrich E, Gilbert C, Coffey P, Downward J, Evan G. Suppression of c-Myc-induced apoptosis by Ras signalling through PI (3)K and PKB. *Nature* 1997; 385: 544-548.
148. Yao R, Cooper GM. Requirement for phosphatidylinositol-3 kinase in the prevention of apoptosis by nerve growth factor. *Science* 1995; 267: 2003-2006.
149. Cross DA, Watt PW, Shaw M, van der Kaay J, Downes CP, Holder JC, Cohen P. Insulin activates protein kinase B, inhibits glycogen synthase kinase-3 and activates glycogen synthase by rapamycin-insensitive pathways in skeletal muscle and adipose tissue. *FEBS Lett* 1997; 406: 211-215.
150. Kim YB, Nikoulina SE, Ciaraldi TP, Henry RR, Kahn BB. Normal insulin-dependent activation of Akt/protein kinase B, with diminished activation of phosphoinositide 3-kinase, in muscle in type 2 diabetes. *J Clin Invest* 1999; 104: 733-741.
151. Deprez J, Vertommen D, Alessi DR, Hue L, Rider MH. Phosphorylation and activation of heart 6-phosphofructo-2-kinase by protein kinase B and other protein kinases of the insulin signaling cascades. *J Biol Chem* 1997; 272: 17269-17275.
152. Walker KS, Deak M, Paterson A, Hudson K, Cohen P, Alessi DR. Activation of protein kinase B beta and gamma isoforms by insulin in vivo and by 3-phosphoinositide-dependent protein kinase-1 in vitro: comparison with protein kinase B alpha. *Biochem J* 1998; 331: 299-308.

- 153.** Kim YB, Peroni OD, Franke TF, Kahn BB. Divergent regulation of Akt1 and Akt2 isoforms in insulin target tissues of obese Zucker rats. *Diabetes* 2000; 49: 847-856.
- 154.** Ueki K, Yamauchi T, Tamemoto H, Tobe K, Yamamoto-Honda R, Kaburagi Y, et al. Restored insulin-sensitivity in IRS-1-deficient mice treated by adenovirus-mediated gene therapy. *J Clin Invest* 2000; 105: 1437-45.
- 155.** Feng W, Ding W, Qian Q, Chai Z. Comparison of the chromium distribution in organs and subcellular fractions of normal and diabetic rats by using enriched stable isotope Cr-50 tracer technique. *Biol Trace Elem Res* 1999; 71-72: 121-129.
- 156.** Watanabe M, Suliman ME, Qureshi AR, Garcia-Lopez E, Barany P, Heimbürger O, et al. Consequences of low plasma histidine in chronic kidney disease patients: associations with inflammation, oxidative stress, and mortality. *Am J Clin Nutr* 2008; 87: 1860-1866.
- 157.** Cho JM, Manandhar S, Lee HR, Park HM, Kwak MK. Role of the Nrf2-antioxidant system in cytotoxicity mediated by anticancer cisplatin: implication to cancer cell resistance. *Cancer Lett* 2008; 260: 96-108.
- 158.** So H, Kim H, Kim Y, Kim E, Pae HO, Chung HT, et al. Evidence that cisplatin-induced auditory damage is attenuated by downregulation of pro-inflammatory cytokines via Nrf2/HO-1. *J Assoc Res Otolaryngol* 2008; 9: 290-306.
- 159.** Itoh K, Mochizuki M, Ishii Y, Ishii T, Shibata T, Kawamoto Y, et al. Transcription factor Nrf2 regulates inflammation by mediating the effect of 15-deoxy-Delta (12,14)-prostaglandin j (2). *Mol Cell Biol* 2004; 24: 36-45.
- 160.** Panzer U, Steinmetz OM, Turner JE, Meyer-Schwesinger C, von Ruffer C, Meyer TN, et al. Resolution of renal inflammation: a new role for NF-kappaB1 (p50) in inflammatory kidney diseases. *Am J Physiol Renal Physiol* 2009; 297: 429-39.

161. Cseh A, Szebeni B, Szalay B, Vasarhelyi B. [Akt enzyme: new therapeutic target in cancer and diabetes?]. *Orv Hetil* 2009; 150: 373-378.
162. Dogukan A, Tuzcu M, Juturu V, Cikim G, Ozercan I, Komorowski J, Sahin K. Effects of Chromium Histidinate on Renal Function, Oxidative Stress, and Heat-Shock Proteins in Fat-Fed and Streptozotocin-Treated Rats. *J Ren Nutr* 2009.
163. Laemmli UK. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* 1970; 227: 680-685.
164. SAS Institute, 2002, SAS User's Guide: Statistics. SAS Institute Inc, Cary, NC.
165. Sarah W, Gojka R, Anders G, Richard S. Global Prevalance of Diabetes. *Diabetes Care* 2004; 27: 1047-1053.
166. Reed MJ, Meszaros K, Entes LJ, Claypool MD, Pinkett JG, Gadbois TM, Reaven GM. A new rat model of type 2 diabetes: the fat-fed, streptozotocin-treated rat. *Metabolism* 2000; 49: 1390-1394.
167. Shoelson SE, Lee J, Goldfine AB. Inflammation and insulin resistance. *J Clin Invest* 2006; 116: 1793-801.
168. Park CW, Kim JH, Lee JH, Kim YS, Ahn HJ, Shin YS, et al. High glucose-induced intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) expression through an osmotic effect in rat mesangial cells is PKC-NF-kappa B-dependent. *Diabetologia* 2000; 43: 1544-1553.
169. Anderson RA, Roussel AM, Zouari N, Mahjoub S, Matheau JM, Kerkeni A. Potential antioxidant effects of zinc and chromium supplementation in people with type 2 diabetes mellitus. *J Am Coll Nutr* 2001; 20: 212-218.
170. Filippa N, Sable CL, Filloux C, Hemmings B, Van Obberghen E. Mechanism of protein kinase B activation by cyclic AMP-dependent protein kinase. *Mol Cell Biol* 1999; 19: 4989-5000.

171. McCabe TJ, Fulton D, Roman LJ, Sessa WC. Enhanced electron flux and reduced calmodulin dissociation may explain "calcium-independent" eNOS activation by phosphorylation. *J Biol Chem* 2000; 275: 6123-6128.
172. Ekladous D, Mehdi MZ, Costa M, Srivastava AK, Chiasson JL, Coderre L. Tissue- and fibre-specific modifications of insulin-signalling molecules in cardiac and skeletal muscle of diabetic rats. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2008; 35: 971-978.

## 5. ÖZGEÇMİŞ

1978 yılında Adıyaman'ın Kahta ilçesinde doğdum. İlk ve ortaokulu Kahta'da liseyi Diyarbakır Cumhuriyet Fen Lisesi'nde okudum. 1996 yılında Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesini kazandım ve 2002 yılında aynı fakülteden mezun oldum. 2002-2005 yılları arasında 3 yıl süre ile Adıyaman Kahta'da pratisyen hekim olarak çalıştım. Eylül 2005'de Tıpta Uzmanlık Sınavın'da Fırat Üniversitesi İç Hastalıkları kazandım. Aralık 2005'de İç Hastalıkları Anabilim Dalı'nda başladığım uzmanlık eğitimimi halen devam ettirmekteyim. Evli ve bir çocuk babasıyım. Orta derecede İngilizce bilmekteyim.