



**T.C**  
**DİCLE ÜNİVERSİTESİ**  
**TIP FAKÜLTESİ**  
Tıbbi Biyokimya Ana Bilim Dalı

Tip 1 ve Tip 2 Diyabetes Mellitus Hastalıklarının  
Patogenezinde D vitamini Eksikliğinin Rolünün  
Araştırılması

**(Biyokimya Uzmanlık Tezi)**

Dr. Mehmet TÜRKEN

**Tez Danışmanı**

Prof. Dr. Leyla ÇOLPAN

DİYARBAKIR  
2011

## ÖNSÖZ

Tezimin hazırlanmasında kıymetli bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım saygıdeğer tez danışmanı hocam sayın Prof. Dr.Leyla COLPAN'a şükranlarımı sunarım. Tezimin veri toplama aşamasında hastalara ulaşmamda yardımlarını esirgemeyen Prof.Dr.Alpaslan Kemal TUZCU'ya, Tezimin istatistik aşamasında bana yardımcı olan Uzm.Dr.Sedat YILMAZ'a, Tezimdeki sitokin analizlerini çalışan Dicle Üniversitesi merkez Laboratuvarında görevli teknisyen Gülten KAHRAMAN'a, Tezimdeki hormon analizlerini çalışan Dicle Üniversitesi merkez Laboratuvarında görevli teknisyen Neşe ESER'e, Tezimdeki Vitamin D analizlerini çalışan Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya ABD Laboratuvarında görevli Hayriye D.BAYRAM'a,

Uzmanlık eğitimim boyunca desteklerini esirgemeyen, bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım, yetişmemde değerli katkıları olan Biyokimya ABD'nin kıymetli hocaları olan Prof.Dr. Belkıs AYDINOL'a, Prof.Dr.Nuriye METE'ye, Prof.Dr.Levent ERDİNÇ'e, Prof.Dr.Sabri BATUM'a, Prof.Dr.Cumhur KILINÇ'a, Prof.Dr.Birgül IŞIK'a, Prof.Dr.Abdurahman KAPLAN'a, Prof.Dr.Sadık BÜYÜKBAŞ'a, Prof.Dr.Eşref YEĞİN'e, Yrd.Dç.Dr.Gülten TOPRAK'a, Yrd.Dç.Dr. Osman EVLİYAOĞLU'na, Yrd.Dç.Dr. M. Kemal BAŞARILI'ya, bölüm başkanımız Prof.Dr.Naime CANORUÇ'a ve bütün asistan arkadaşlarıma teşekkürlerimi sunarım.

**Dr. Mehmet TÜRKEN**

## İÇİNDEKİLER

Kapak	I
Önsöz	II
İçindekiler Dizini	III- IV
Şekiller Dizini	V
Grafikler Dizini	V
Tablolar Dizini	VI
Simgeler ve Kısaltmalar	VII
Türkçe Özet	VIII
İngilizce Özet	IX-X
<b>1.Giriş ve Amaç</b>	1-3
<b>2.Genel Bilgiler</b>	4-42
2.1.Diyabetes Mellitusun Tanımı ve Tarihçesi	4-5
2.2. Diyabetes Mellitusun Epidemiyolojisi	5-6
2.3. Diyabetes Mellitus Sınıflaması	6-8
2.4.Tip 1 Diyabetes Mellitus Patogenezi:	8-11
2.5.Tip 2 Diyabetes Mellitus Patogenezi:	11-15
2.6. Adacık Otoantikorları, Hemogloblin A <sub>1c</sub> ve C-peptid:	16
2.6.1.Adacık Otoantikorları:	16
2.6.2.Hemogloblin A <sub>1c</sub> (HbA <sub>1c</sub> ):	16-17
2.6.3.C-peptid	17
2.7.D Vitamini	18
2.7.1.D vitaminin Kimyasal Yapısı	18
2.7.2.D vitaminin Sentezi ve Metabolizması	19-20
2.7.3.Vitamin D'nin Etkileri	20-23
2.7.4.Vitamin D Düzeyinin Düzenlenmesi	23-30
2.8.Paratiroid Hormonu	31
2.8.1.Paratiroid Hormonu Yapısı	31
2.8.2.Paratiroid Hormonun Etkileri	31
2.8.3.PTH salıverilişinin kontrolü	31

2.9.Sitokinler	32
2.9.1.Interlökin-1	33-36
2.9.2.Interlökin-2	36-37
2.9.3.Interlökin-6	37-38
2.9.4.Tümör Nekroz Faktör- $\alpha$	39-42
<b>3.Gereç ve Yöntemler</b>	43-47
3.1. Anti-GAD ve adacık hücre antikoru (ICA) analizleri:	43-44
3.2.Serum D vitamini ve HbA <sub>1c</sub> analizleri:	44-46
3.3.Serum Parathormon ve c-peptid analizleri:	46-47
3.4. Serum Sitokin analizleri:	47
3.5. İstatistiksel Analiz	47-48
<b>4. Bulgular</b>	49-55
4.1.Anti-GADA ve ICA ,Yaş, HbA <sub>1c</sub> C-peptid analiz Sonuçları:	49-50
4.2.Serum D vitamini ve Parathormon analiz Sonuçları:	50-51
4.3.Serum IL-2R, IL-6, TNF- $\alpha$ analiz Sonuçları:	51-55
<b>5. Tartışma</b>	56-62
<b>6. Sonuç</b>	63
<b>7. Kaynaklar</b>	64-72

<b>ŞEKİLLER</b>	<b>Sayfa</b>
Şekil-1. İnsülin direncinde oluşturan moleküler nedenler	15
Şekil-2. Vitamin D <sub>2</sub> ve D <sub>3</sub> 'ün kimyasal yapısı	18
Şekil 3: D vitaminin Sentezi ve Metabolizması	20
Şekil 4: D vitamini Eksikliğinin Tip 1 Diabetes Mellitus Oluşturma Mekanizması	23
Şekil 5: Vücut D vitamini düzeyinin kısa sürede düzenlenmesi	26
Şekil 6: Işık Spekturumu	27
Şekil 7: Dünyamızda insanların deri rengi dağılımı	30
Şekil 8: Yaşanılan enleme göre Vitamin D sentez düzeyleri	31
Şekil 9: Interlökin-1	35
Şekil 10: Interlökin-2	37
Şekil 11: Interlökin-6	38

<b>GRAFİKLER DİZİNİ</b>	<b>Sayfa</b>
<b>Grafik 1:</b> HPLC cihazında vitamin D düzeyi ölçülürken oluşan pikler.	45
<b>Grafik 2:</b> Her üç grubun Yaş, HbA <sub>1c</sub> ve C-peptit paramerelerinin aritmetik ortalama sonuçları	48
<b>Grafik 3:</b> Her üç grubun serum D vitamini ve Parathormon paramerelerinin aritmetik ortalama sonuçları	50
<b>Grafik 4:</b> Her üç grubun IL-2R paramerelerinin aritmetik ortalama sonuçları	52
<b>Grafik 5:</b> Her üç grubun IL-6, TNF- $\alpha$ parametrelerinin aritmetik ortalama sonuçları	53

<b>TABLULAR</b>	<b>Sayfa</b>
<b>Tablo-1.</b> Her üç grubun GADA,ICA,Yaş,HbA <sub>1c</sub> ve C-peptit parametrelerinin aritmetik ortalama +/- standart sapma sonuçları	48
<b>Tablo-2.</b> Yaş parametresinin Tip 1 DM- Kontrol grubu ve Tip 2 DM-Kontrol grubunun ikili karşılaştırma sonuçları	49
<b>Tablo-3.</b> HbA <sub>1c</sub> parametresinin Tip 1 DM- Kontrol grubu ve Tip 2 DM-Kontrol grubunun ikili karşılaştırma sonuçları	49
<b>Tablo-4.</b> HbA <sub>1c</sub> parametresinin Tip 1 DM- Kontrol grubu ve Tip 2 DM-Kontrol grubunun ikili karşılaştırma sonuçları	49
<b>Tablo-5.</b> Her üç grubun serum D vitamini ve Parathormon parametrelerinin aritmetik ortalama +/- standart sapma sonuçları	50
<b>Tablo-6.</b> Serum D vitamini parametresinin Tip 1 DM- Kontrol grubu ve Tip 2 DM-Kontrol grubunun ikili karşılaştırma sonuçları	51
<b>Tablo-7.</b> Parathormon parametresinin Tip 1 DM- Kontrol grubu ve Tip 2 DM -Kontrol grubunun ikili karşılaştırma sonuçları	51
<b>Tablo-8.</b> Her üç grubun serum D vitamini ve Parathormon parametrelerinin aritmetik ortalama +/- standart sapma sonuçları	52
<b>Tablo-9.</b> IL-2R parametresinin Tip 1 DM- Kontrol grubu ve Tip 2 DM-Kontrol grubunun ikili karşılaştırma sonuçları	53
<b>Tablo-10.</b> IL-6 parametresinin Tip 1 DM- Kontrol grubu ve Tip 2 DM -Kontrol grubunun ikili karşılaştırma sonuçları	54
<b>Tablo-11.</b> TNF- $\alpha$ parametresinin Tip 1 DM- Kontrol grubu ve Tip 2 DM -Kontrol grubunun ikili karşılaştırma sonuçları	54

**SİMGELER VE KISALTMALAR****1,25(OH)<sub>2</sub>D** : 1,25-dihidroksivitamin D**25OH D** : 25-hidroksivitamin D**UV-B:** Ultraviole-B**DM** : Diabetes mellitus**OGTT** : Oral glukoz tolerans testi**PTH** : Paratiroid hormonu**VDR** : Vitamin D reseptörü**ICA:** Adacık hücre antikorları**IAA:** insülin antikorları**IA-2A: 1A-2 antikoru****GADA: Glutamik asit dekarboksilaz****TNF- $\alpha$ :** Tümör nekroz faktörü- $\alpha$ **IL-1:** interlökin-1**IL-2:** interlökin-2**IL-6:** interlökin-6**IL-12:** interlökin-12**PC-1:** Plazma Cell antijen 1**IFN- $\gamma$ :** interferon- $\gamma$ **CD4:** Cluster of designation 4**Th-1:** T-helper type 1**Th-2:** T-helper type 2**ANP:** Atrial Natriüretik Peptid**RANKL:** Vitamin D receptor aktivator of nuklear faktor kB ligand**BCSF II:** B hücre stimulatör faktör II

## ÖZET

Bu çalışmada bölgemizdeki Tip1 ve Tip2 Diabetes Mellitus hastalarının etiopatogenezinde vitamin D eksikliğinin etkisini ve olası moleküler mekanizmaları araştırmayı amaçladık.

Çalışmaya Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Endokrinoloji Polikliniginde **Nisan 2010 - Eylül 2010 tarihleri** arasında takip ve tedavi edilen, 18-65 yaş arasında olan, anti-GAD ve/veya ICA otoantikorları mevcut olan 30 tadet Tip1 diyabet hastası ve 30 Tip2 diyabet hastası (ADA 2003 kriterlerine göre) dahil edildi. Hastalardan alınan kanlarda Anti-GAD, adacık hücre antikor (ICA), HbA<sub>1c</sub>, C-peptid, D vitamini (25 OH) Kolekalsiferol, Parathormon, ve Sitokin analizleri yapıldı. Tip1 DM, Tip2 DM ve Kontrol grubu arasında HbA<sub>1c</sub>, C-peptid ve D vitamini parametreleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulundu (P<0,001).

Serum D vitamini düzeylerinde Tip1 DM - Kontrol grubu ve Tip2 DM - Kontrol grubu ile karşılaştırdığımızda istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görüldü (P<0,001), (P<0,05). Parathormon düzeyleri, Tip1 DM'da Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir yükseklik vardı (P<0,05). Tip2 DM ve kontrol grubu arasındaki fark anlamlı değildi (P>0,05). C-peptid parametresi Tip1 DM - Kontrol grubu ile karşılaştırdığımızda istatistiksel olarak anlamlı bir düşüklik vardı (P<0,001). Tip2 DM ve Kontrol grubu arasındaki fark anlamlı değildi (P>0,05).

IL-2R düzeylerine bakıldığında Tip1 DM - Kontrol grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunurken (P<0,001), Tip2 DM ve Kontrol grubu ile arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi (P>0,05). IL-6 düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmezken (P>0,05), TNF- $\alpha$  düzeylerinde, Tip1 DM-Kontrol grubu ve Tip2 DM-Kontrol grubu ile karşılaştırdığımızda istatistiksel olarak anlamlı bir yükseklik bulundu (P<0,001).

**Anahtar kelimeler:** Tip1 Diyabetes Mellitus, Tip2 Diyabetes Mellitus, 25(OH) Kolekalsiferol, Sitokinler

### ABSTRACT

In this study, we aimed to search possible molecular mechanisms and the effect of lack of vitamin D in etiopathogenesis of the type-1 and type-2 patients with diabetes mellitus in our region. 30 type-1 diabetic patients and 30 type-2 diabetic patients, 18-65 years old with anti-GAD and/or ICA auto antibodies (according to ADA 2003 criteria), who were followed and treated between April 2010 and September 2010 in Endocrinologic Policlinic of Dicle University Medical Faculty were admitted to the study. The blood taken from the patients was analyzed for Anti-GAD, Islet cell antibody (ICA), HbA<sub>1c</sub>, c-peptide, D vitamin (25(OH) colecalciferol, parathormone and Cytokines. A statistically meaningful difference was found between Type1 DM, Type2 DM and control group in terms of HbA<sub>1c</sub> parameter. (P<0,001). A statistically meaningful difference was found in terms of C-peptide(P<0,001). A statistically meaningful difference was found in terms of D vitamin parameter(P<0,001).

After we had compared Serum D vitamin parameter Type1 DM-Control group and Type2 DM and Control group, we found out a statistically meaningful difference (P<0,001), (P<0,05). As comparing parathormone parameter Type1 DM with control group, we found out a statistically meaningful difference (P<0,05). After comparing Type2 DM with Control group, we didn't find any statistically meaningful difference (P>0,05). As comparing C-peptide parameter Type1 DM with Control group, we found out a statistically meaningful difference (P<0,001). After comparing Type2 DM with Control group, we didn't find any statistically meaningful difference (P>0,05).

A statistically meaningful difference was found between Type1 DM, Type2 DM and Control group in terms of IL-2R parameter. Having compared IL-2R parameter with Type1 DM - Control group, we found out a statistically meaningful difference (P<0,001). Upon comparing Type2 DM with Control group, we didn't find any statistically meaningful difference (P>0,05). There is no statistically meaningful difference in terms of IL-6 parameter (P>0,05). There is statistically meaningful difference in terms of TNF- $\alpha$  parameter(P<0,001). Having compared TNF- $\alpha$  parameter Type1 DM- Control group with Type2 DM with Control group we found out a statistically meaningful difference (P<0,001).

**Key words:** Typ1 Diabetes Mellitus, Type2 Diabetes Mellitus, 25 (OH) Cholecalciferol, Cytokines

## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Diyabetes Mellitus, endojen insülinin tam ya da kısmi eksikliği veya periferde insülin direncinin neden olduğu kronik hiperglisemi, karbonhidrat, protein ve yağ metabolizması bozukluklarıyla giden ve bunların sonucunda kapiller membran değişiklikleri ve hızlanmış aterosklerozun olduğu ve tedavi edilmediğinde poliüri, polidipsi, polifaji semptomlarıyla seyreden bir sendromdur (1,2,3). Diyabetes mellitus, bütün toplumlarda ve ırklarda görülen bir hastalıktır. Dünya Sağlık Örgütünün tahminlerine göre dünya diyabetik hasta nüfusu halen 200 milyon civarındadır ve bu sayının 2025 yılında 300 milyona ulaşacağı öngörülmektedir. Hastalık bazı etnik gruplar dışında her kıtada, hemen tüm toplumlarda gözükabilmektedir (4,5).

Tip1 DM Çocukluk ve adolesan çağının en sık görülen endokrin hastalığı olup, tüm diyabetik olguların % 20-25 ini oluşturmaktadır. Tip1 DM insidansı ve riski toplumdan topluma çok büyük değişiklikler göstermektedir. Tip1 DM daha çok kış aylarında ortaya çıkan bir hastalıktır. Bu mevsimsel ilişki hemen tüm yaş gruplarında fark edilmekle birlikte, hastalık küçük yaş gruplarında her mevsimde görülebilir. Yaşam tarzındaki hızlı değişim ile birlikte gelişmiş ve gelişmekte olan toplumların tümünde diyabet prevalansı hızla artmaktadır. Tip1 DM etyolojisinde genetik, çevresel ve otoimmün faktörler rol oynamaktadır (6).

D vitamini eksikliği artık yüksek tansiyon, şeker hastalığı gibi modern çağın hastalıklarından biridir. D vitamininin yapımı için ultraviyale ışını çok önemlidir. Gün boyu güneş yüzü görmeden kapalı mekanlarda çalışmak, ya da vücudun güneş ışığı almasının engellenmesi D vitamini eksikliğine yol açan nedenlerdir. D vitamini sentezi için bol ışık alan camlı mekanlar da bulunmak yeterli değildir. Çünkü cam ultraviyole ışınlarını keseceğinden, bu koşullarda güneşten yararlanma yeterli D vitamini üretimi sağlayamamaktadır. Sigara, aşırı çay ve kahve tüketenlerde de D vitamini yetmezliği daha fazla gözlenmektedir (7).

D vitamini eksikliğine neden olan bir başka hasta grubu ise aşırı zayıflamak isteyen yanlış ve tek taraflı beslenen kişilerdir. Düşük kalorili bu eksik beslenmeyle birlikte D vitamini eksikliği artmaktadır. Bazı bitkisel zayıflama ürünleriyle birlikte hem idrar çıkışı artmakta hem de bağırsaklarda D vitamini emilimi bozulmaktadır. Bu faktörler özellikle kalsiyumun emilimine ve D vitamininin üretimine zarar verebilir.

Zayıflama programında olanların mutlaka D vitamini içeren gıdalar alması ya da destek ürünlerini alması ve bol bol güneşlenmesi önemlidir (8).

Bazı araştırmacılar, koruma faktörü çok yüksek olan güneş kremlerinin de D vitamini eksikliğine yol açabileceğini ileri sürmektedir (9).

Tip1 diyabet etiopatogenezinde D vitamini eksikliği gündeme getirilmiştir. Finlandiya'da yapılan kohort çalışmasında Tip1 diyabetli hastaların bebeklik dönemlerinde yeteri kadar D vitamini almadıkları gözlemlenmiştir. Süt çocukluğu döneminde D vitamini desteğinin çocukları Tip1 diyabet gelişiminden koruyabileceği bildirilmiştir. Vitamin D'nin immünmodülatör olarak beta hücrelerine karşı gelişen otoimmün zedelenmeyi inhibe ettiği sanılmaktadır. 25(OH)D<sub>3</sub> eksikliğinde makrofaj ve dendritik hücrelerden üretilen IL-12 proteini Th-1 lenfositlerin gelişimini stimüle eder(10).

Makrofaj ve dendritik hücrelerden üretilen IL-12 proteini CD4 T-helper type1 (Th-1) lenfositlerin gelişimini stimüle ederken, CD4 Th-2 lenfositlerin gelişimini inhibe eder. Th1 lenfositler bu sinyali yüzeylerindeki CD154 molekülünü dendritik hücrelerin yüzeylerindeki CD40 reseptörüne bağlayarak yaparlar. IL-12 sitokininin uyardığı Th1 lenfositler büyük miktarda interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) üretirler. İnterferon- $\gamma$  makrofajları uyarak pankreas beta hücreleri için toksik maddeleri salgılatır.

İnterferon- $\gamma$  ve IL-2 sitotoksik CD8+ hücrelerden de beta hücreleri için toksik maddeleri salgılatır. Th1 lenfositler interferon- $\gamma$  salgılayarak beta hücreleri direkt hasara uğratabilir. Uyarılmamış CD4 T-helper type1 (Th-1) lenfositler TNF- $\alpha$  sekrete eder. 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> vitamini IL-1 $\beta$  veya IFN- $\gamma$  indüklenen beta hücre inhibisyonunu invitro olarak önlemiştir (11). Vitamin D'nin immunomodülatör etkisindeki yetersizliği **Tip1 Diabetes Mellitus'a** neden olur (11).

Tip 2 diyabet etiopatogenetik olarak insülin direncinin ve insülin sekresyon bozukluğunun bir arada bulunması ile ortaya çıkan bir hastalıktır. Tüm diyabetli hastaların % 75-80'lik kısmını oluşturur (12). Obezite, fiziksel aktivite azlığı, hipertansiyon ve dislipidemisi olan kişilerde daha sık görülür. Genellikle kuvvetli bir genetik yatkınlık görülür, ancak genetiği komplekstir (poligenik) ve tam olarak tanımlanamamıştır. Vitamin D eksikliği ile Tip2 diyabetes mellitus hastalığı çok eskiden beri ilişkilendirilmiştir. Hayvan modellerinde Vitamin D eksikliğinin insülin sekresyonunu inhibe ettiği doğrulanmıştır (13).

Pankreas  $\beta$ -hücrelerinde 1-25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> vitamini reseptörleri bulunmuştur. Birkaç çalışmada VDR gen polimorfizminin Tip2 diyabet ile arasında bağlantı belirlenmiştir. Vitamin D insülin yapımını ve sekresyonunu arttırırken insülin direncini azaltmaktadır (14).

1,25-Dihidroksivitamin D<sub>3</sub> vitamininin insülin salgılanmasında görev aldığı düşünülmektedir. D vitamini eksikliğinin insan ve hayvan deneylerinde bozulmuş insülin salınımı ile ilişkili olduğu ve bunun 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> kullanılmasıyla normale döndüğü gösterilmiştir (15). D vitamini yalnızca  $\beta$  hücrelerinin yapım kapasitesini arttırmakla kalmayıp, proinsulin-insülin dönüşümünü de hızlandırır (16). Farelerdeki D vitamini eksikliğinin insülin salgısında sorunlara yol açtığı görülmüştür. Pankreasın insülin salgılayan beta hücrelerinde VDR reseptörüne ek olarak vitamin D düzenleyici protein olan calbindinin de bulunduğu gösterilmiştir.

D vitamini çevre dokularda insülin direncini azaltmakta, böylece insülin direnci nedeniyle kan şekerindeki artışa yanıt olarak oluşan aşırı insülin salınımını azaltmakta ve insülin duyarlılığını arttırmaktadır. Bu nedenle D vitamini yetersizliği metabolik sendrom ve tip2 DM için risk faktörüdür ve D vitamini yetersizliğinin insülin direnci ve  $\beta$  hücre işlev bozukluğu ile ilişkisi gösterilmiştir (17).

D vitamininin bu etkisini gösteren yayında, D vitamini eksikliği olan Tip2 diyabetikler ve diyabetik olmayanlara D vitamini desteği verilmesiyle insülin salınımının düzeldiğini gösterilmiştir (18). Vitamin D'nin insülin yapımı, sekresyonunu arttırma ve insülin direncini azaltma etkisindeki yetersizliği **Tip2 Diabetes Mellitus'a** neden olur.

Bu bilgiler ışığında biz de bölgemizdeki Tip1 ve Tip2 Diabetes Mellitus hastalarının etiyopatogenezinde vitamin D eksikliğinin etkisini ve olası mekanizmaları araştırmayı amaçladık.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1.Diyabetes Mellitusun Tanımı ve Tarihçesi

Diyabetes Grekçe'de 'sifon' anlamına gelmekte olup çok miktarda idrar çıkarımını tanımlamak için kullanılmıştır. Mellitus ise yine Grekçe 'bal' anlamına gelmekte olan mel sözcüğünden üretilmiştir (19).

Diyabetes Mellitus, endojen insülinin tam ya da kısmi eksikliği veya periferde insülin direncinin neden olduğu, kronik hiperglisemi, karbonhidrat, protein ve yağ metabolizması bozukluklarıyla giden ve bunların sonucunda kapiller membran değişiklikleri ve hızlanmış aterosklerozun olduğu ve tedavi edilmediğinde poliüri, polidipsi, polifaji semptomlarıyla seyreden bir sendromdur (20).

Diyabetes mellitusun ilk tarifine milattan 1500 yıl önce Mısır Ebers papirüslerinde rastlanır. M.Ö 150 yıllarında, Kapadokyalı **Arataeus** çok su içme, çok idrara çıkmayı vurgulayarak hastalığı erime hastalığı olarak izah etmeye çalışmıştır (21). Büyük Türk İslam alimi **İbn-i Sina**'da şeker hastalığını bugünkü tanımına yakın bir şekilde tarif etmiştir. 1674 yılında, **Thomas Willis** adlı anatomist bir bilim adamı, ilk kez diyabetik hastaların idrarlarının tatlı olduğunu göstermiştir. İdrarla şeker atıldığını ilk kez 1776 yılında İngiliz **Matthew Dobsoy** göstermiştir. İdrarı kaynatarak, buharlaştırmış sonra kurutmuş ve kristalleştirmeye terk etmiştir. 1777'de **Pool** ve 1778'de **Cawley** kimyasal olarak idrarda şeker bulmuş ve idrardaki şekerin glukoz olduğunu kanıtlamışlardır. İdrarda kantitatif olarak şeker arama metodunu, **Fehling**, 1850 yılında tarif etmiştir. Diyabetik komada idrarda aseton bulunduğunu ilk kez Prague'den **Lerch** tanımlamış, onu 1857 yıllarındaki çalışmalarıyla **Williams Paters** izlemiştir. **Claude Bernard** 1849-1855 tarihleri arasında yaptığı çalışmalarda hastalığın klinik bulguları yanı sıra, biyokimyasal bulgularıyla da ilgilenmiş ve glukozun karaciğerde glikojen olarak depolandığını göstermiştir. 1869 yılında **Paul Langerhans** pankreastaki hücre tiplerini belirlemiş ve Langerhans adacıklarını tanımlamıştır. 1889 yılında **Minkowski**, hayvan modelleri üzerinde yaptığı çalışmalarda pankreatektomi yapılan hayvanlarda diyabetes mellitus geliştiğini göstermişlerdir. 1922 'de **Best ve Banting** pankreas ekstresi insülini izole etmişler ve hastalık tedavisinde yeni bir çığır açmışlardır. 1926 yılında **Frank** bugünkü oral antidiyabetiklerin atası Synthalini bulmuş. 1942'de **Laubatie**r, sülfonamidlerin

hipoglisemik etkisini bulduktan sonra Sulfanilüre türevleri tıp dünyasına girmiştir. 1946-1950 yıllarında çeşitli uzun etkili insülinler bulmuş. 1973'de **Nova ve Leo** firmaları antikor oluşturmeyen ileri derecede saf insülini geliştirmişler, bu günümüzde kullanılan DNA teknolojisiyle yapılmış olan insülinlere öncülük etmiştir (22).

## 2.2. Diyabetes Mellitusun Epidemiyolojisi

Diyabetes mellitus'un prevalans ve insidansları coğrafi bölgelere, ırklara ve etnik gruplara göre farklılık gösterir. Bu durum çeşitli etnik gruplarda genetik ve çevre faktörlerinin derecesinin ve etkinliğinin ayrı oluşundan, sosyal ve ekonomik durumun değişik olmasından ve kullanılan araştırma metodlarının farklı olmasından kaynaklanmaktadır (23).

Tip1 DM Çocukluk ve adolesan çağının en sık görülen endokrin hastalığı olup, tüm diyabetik olguların % 20-25 ini oluşturmaktadır. Tip1 DM doğumdan sonraki ilk 6 ayda son derece nadir görülürken, 9. aydan sonra görülme oranı artar, 5-7 yaş grubunda ve puberte döneminde iki pik oluşturur. Anaokulu ile ilkokula başlama döneminde enfeksiyonlar, pubertede artan steroidler, büyüme hormonları, emosyonel stresler piklerin gelişiminde etkilidirler. Puberte dönemine uyan ikinci pik kız çocuklarında 10-12, erkek çocuklarında 12-14 yaşlarında görülür. Yeni vakalar sonbahar ve kış aylarında artış gösterir. Ülkemizde Tip1 DM insidansının (16/100.000) olduğu sanılmaktadır. 1996 yılında Ankara'da okul çağı çocuklarında yapılan bir çalışmada 320.246 öğrencide insidans (27/100.000) olarak bulunmuştur (24).

Tip 1 diyabetin epidemiyolojisi ile ilgili çalışmalar hızla artmakla birlikte, dünya nüfusunun % 5'ine ait veriler mevcuttur. Diyabetes mellitus, bütün toplumlarda ve ırklarda görülen bir hastalıktır. Dünya Sağlık Örgütünün tahminlerine göre dünya diyabetik hasta nüfusu halen 200 milyon civarındadır ve bu sayının 2025 yılında 300 milyona ulaşacağı öngörülmektedir. Hastalık bazı etnik gruplar dışında her kıtada, hemen tüm toplumlarda gözükabilmektedir (4). Bununla beraber Tip 1 DM insidansı ve riski toplumdan topluma çok büyük değişiklikler göstermektedir. Önceleri hastalığın en sık İskandinav ülkelerinde görüldüğü ve kuzeyden güneye gidildikçe sıklığının azaldığının bildirilmesi nedeniyle, bu epidemiyolojik durum

basit bir coğrafi enlem ile açıklanmaya çalışılmış, ancak daha sonra Avrupa'nın güneyinde Sardunya'da da Tip1 diyabet insidansının yükseldiği anlaşılmıştır. 1990'lı yıllarda yapılmış çok uluslu Who-Diamond, Eurodiab, Ace ve Deri çalışmalarına dayanarak Avrupa'da 0-15 yaş grubundaki Tip1 diyabet insidansının Finlandiya ve Sardunya'da 30–35/100.000 çocuk/yıl gibi çok yüksek rakamlara ulaştığı, buna karşılık eski Doğu Bloğu ülkelerinde her 100.000 çocuk için yılda 4-5, Makedonya'da ise sadece 2-3 yeni vaka ortaya çıktığı görülmüştür.

Tip1 DM daha çok kış aylarında ortaya çıkan bir hastalıktır. Bu mevsimsel ilişki hemen tüm yaş gruplarında fark edilmekle birlikte, hastalık küçük yaş gruplarında her mevsimde görülebilir. Yaşam tarzındaki hızlı değişim ile birlikte gelişmiş ve gelişmekte olan toplumların tümünde diyabet prevalansı hızla artmaktadır (6).

### **2.3. Diyabetes Mellitus Sınıflaması**

Temmuz 1997'de Amerikan Diyabet Cemiyeti 1979'da basılan Ulusal Diyabet Veri Grubunun kriterinin yerini alacak tanı ve sınıflama kriterini yayınlamıştır. Bu kriterler hastalığı anlamamız için ve bir önceki önerilerdeki genel yanlış anlaşılımları düzeltilmek amacıyla 2003 yılında tekrar revize edilmiştir.

Diyabetes Mellitusun sınıflaması beş klinik sınıfı içerir; Tip1 DM, Tip2 DM, diğer spesifik diyabet tipleri, gestasyonel diyabetes mellitus ve prediyabet. Diyabet tanısı konulması için yeterli olmayan hiperglisemi IFG (bozulmuş açlık glukozu) ve IGT (bozulmuş glukoz toleransı) ile karakterize olan durum, son zamanlarda pre-diyabet olarak adlandırılmaktadır. Bunun nedeni epidemiyolojik kanıtların düşük düzeyde olan karbonhidrat intoleransının, makrovasküler komplikasyonlarla birlikte olması ve sıklıkla diyabete ilerlemesidir. Diyabetin sınıflamasını iki gözlem problemlili hale getirmiştir. Birincisi, erişkin yaşlarda gelişen diyabetli hastaların % 10-15'ini oluşturan 'yaşlıda latent otoimmün diyabet'(LADA) saptanmasıdır. LADA kendini otoimmün zeminde beta hücre kaybı ile birlikte yavaş progressif hiperglisemi ile gösterir. LADA olan bireyler yıllarca insülininden bağımsız kalsalar da, otoimmün Tip1 diyabeti olanlarla aynı patojenik özelliği taşırlar. İkincisi, çocuklarda ve gençlerde Tip2 diyabetin epidemisi bu yaş grubundaki diyabetin dağılımını değiştirmiştir. Bu bireyler diyabetik ketoasidoz ile başvursalarda, aktif otoimmünite veya beta hücre yıkımına ait kanıt

bulunmamaktadır. Bu bireylerin birçoğu insülin kullanımını sonlandırabilir ve hiperglisemilerini yaşam tarzı değişikliği ile birlikte oral antidiyabetik ajan kullanarak veya kullanmayarak kontrol ederler.

Eski sınıflama sisteminde çocuklarda, gençlerde ve erişkinlerde diyabeti olan ve otozomal dominant geçişin gösterildiği aileler vardı. Diyabetin bu türüne erişkin yaşta ortaya çıkan gençlerin diyabeti (maturity onset Diabetes of the young (MODY)) denilmekte ve Tip2 diyabetin bir alt tipi olarak düşünülmekteydi. Yeni sınıflama sisteminde ise MODY “diğer spesifik diyabet tipleri” arasında yer almaktadır, çünkü beta hücre fonksiyonunda bu hastalığın meydana gelmesini sağlayan belirli bir genetik defekt vardır. Fakat Tip2 diyabetin en önemli noktalarından biri olan insülin etkisinde minimal veya hiç defekt yoktur (25). Yeni sınıflama sisteminde “malnütrisyon ilişkili diyabet” tanımını sınıflandırmadan çıkarılmıştır, çünkü protein eksikliklerinin diyabete yol açtığı konusunda bir delil bulunamamıştır.

Yeni sınıflamada prediyabet olarak sınıflandırılan grupta; açlık plazma glukozu 100-125 mg/dl ve oral glukoz tolerans testinin 2.saat ölçümü 140-199 olan hastalar yer alır. Bu kategorinin önemi, gelecekte diyabet ve kardiyovasküler hastalık için risk olmasıdır (26).

### **Amerikan Diyabet Birliğinin Diyabet Sınıflandırması**

#### **1.Tip 1 DM**

- a) İmmunolojik tip
- b) İdiyopatik tip

#### **2.Tip 2 DM**

İnsülin direnci veya insülin salgı bozukluğu

**3.Gestasyonel Diyabetes Mellitus** (glukoz intoleransının başlangıcı veya tanınması gebeliktedir.)

**4.Pre-diyabet** (açlık glukoz seviyesi veya glukoz toleransı test sonuçları normalin üzerinde, ancak diyabet için tanısal değil)

#### **5.Diğer spesifik tipler**

- a) Beta hücre fonksiyonunda genetik defekt
- b) İnsülin etkisinde genetik defekt
- c) Ekzokrin pankreas hastalıkları (Pankreotektomi, Pankreatit, Hemokromatozis)

- d) Endokrinopatiler (Akromegali, Cushing sendromu, Glukagonom, Feokromasitoma, Hipertiroidi, Karsinoid sendrom, Primer hiperaldosteronizm, Hiperprolaktinemi, Otoimmün poliglandüler sendrom, POEMS sendromu, Büyüme hormonu eksikliği, Hiperparatiroidi, Somatostatinoma, Pankreatik kolera sendromu, MEN sendromu)
- e) İlaç ya da kimyasallara bağlı (Tiyazid diüretikler, beta blokerler, glukokortikoidler, Psikoaktif ajanlar, antikonvülzanlar, Antineoplastik ajanlar, Antiprotozoal ajanlar, Katyonlar)
- f) İnfeksiyonlar (Konjenital rubella, sitomegalovirus..)
- g) İmmün diyabetin diğer şekilleri
- h) Diğer genetik sendromlar (TipA ve TipB insülin direnci sendromları, Kistik fibrozis, Glikojen depo hastalıkları  
Laurence –Moon –Biedl sendromları, Down, Klinefelter ve Turner sendromları  
DIDMOAD (Wolfram) sendromu)

**2.4.Tip 1 Diyabetes Mellitus Patogenezi:** Tip1 DM etyolojisinde genetik, çevresel ve otoimmün faktörler rol oynamaktadır.

**Genetik Yatkınlık:**

Tip1 DM insidansında ülkeler arasında ve ülke içinde bölgesel farklılıklar bulunuşu genetik ve çevresel faktörlerle açıklanmaktadır. Diyabetin ortaya çıkışında tek bir genin etkili olmadığı, hastalığın birden fazla genle ilgili (polijenik) kalıtımla geçtiği düşünülmektedir. İnsan genomunda 20'den fazla bölge Tip1 DM ile ilişkilidir, ancak bunların çoğunun diyabet gelişiminde katkıları büyük değildir(27).

Tip1 DM nin kalıtımla ilgili olduğunun bir diğer kanıtı hastalığın, 6. kromozom üzerinde yer alan histokompatibilite (HLA) antijenleri ile ilişkisinin olmasıdır. Kişide bazı HLA antijenlerinin bulunuşu diyabetin ortaya çıkışını kolaylaştırırken, bazılarında bulunması engelleyicidir. HLA-DR<sub>3</sub> veya DR<sub>4</sub> antijenlerinin varlığında Tip1 DM gelişim riski 2-3 kat, her ikisinin bulunuşunda 7-10 kat artar. DQ antijenindeki değişiklikler de diyabet çıkışını etkilemektedir. HLA-DQ B zincirinde 57. pozisyonda aspartik asitin homozigot yokluğu (non-Asp/non-Asp) Tip1 DM gelişimi için relatif riski 100 kat artırır. Aspartik asitin heterozigot yokluğunda ( non-Asp/Asp ) homozigotlara göre risk daha azdır. Çalışmalar bir toplumda Tip1 diabet

insidansının o toplumda non-Asp allellerinin gen frekansı ile orantılı olduğunu göstermiştir. DQ alfa zincirinde 52 pozisyonunda arginin bulunuşu da Tip1 DM için yatkinlık sağlar. Dolayısıyla DQ beta zincirinin 57. pozisyonu, DQ alfa zincirinin 52. pozisyonu HLA molekülünün kritik bölgeleridir ve T hücre reseptörlerine antijen prezantasyonunu engeller veya kolaylaştırır. Beyazlarda DR<sub>4</sub>-DQ<sub>8</sub> ve DR<sub>3</sub>-DQ<sub>2</sub> haplotipleri maksimum yatkinlık sağlarken, DR<sub>2</sub>-DQ<sub>6</sub> ve DR<sub>5</sub> koruyucudur (28).

### **Çevresel Faktörler**

Kimyasal maddeler, virüsler, gıdalar gibi çeşitli çevresel faktörler genetik yatkinlığın da birlikteliğiyle diyabet gelişimini etkilemektedir. Tip1 DM nin ortaya çıkışında mevsimsel farklılıklar enfeksiyonların dolaylı etkisi olarak düşünülmektedir. Virüsler doğrudan sitolitik etkiyle veya otoimmün olayı tetikleyerek beta hücre hasarına yol açarlar (29). Kabakulak, Rubella, Sitomegalovirüs, Coxsackie ve Retrovirüs gibi enterovirüslerin Tip1 DM'a yol açabileceği gösterilmiştir. Konjenital Rubella sendromlu hastaların % 10-20'sinde enfeksiyondan 5-25 yıl sonra otoimmün diyabet görülmektedir. Süt çocuklarında 2 aydan sonra yapılan immunizasyon ile Tip1 DM riskinde artış belirtilmişse de, diğer çalışmalarda aşılama ile Tip1 DM arasında ilişki gösterilmemiştir (30). Süt çocuklarında inek sütüne erken başlanması ile diyabet ilişkisi üzerinde durulmakta ve genetik yatkinlığı olan çocuklarda pankreas beta hücre harabiyetine yol açan çevresel etkilere karşı anne sütünün koruyucu olduğuna değinilmektedir (31). İnek sütünün beta hücrelerine karşı antijen olarak etki edebileceği belirtilmektedir. Kısa süreli ( <3 ay ) anne sütü alan ve erken inek sütüne başlayanlarda Tip1 diabet sıklığının yaklaşık 1,5 kat arttığına işaret eden araştırmalara karşılık ( 32), Finlandiya'da 1980 den sonra anne sütü verme süresi ve sıklığının artmasına rağmen Tip1 DM insidansında yükselişin devam edişi bebek beslenmesi ve Tip1 diabet ilişkisini desteklememektedir. Diğer faktörler arasında nitrozaminden zengin ( tütülenmiş et gib i) besinlerin sık tüketilmesinin ve içme sularında bulunan nitrat içeriğinin Tip1 DM ile ilişkisi çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir(33). Toprakta düşük çinko düzeyi ile Tip1 diyabette artışın ilişkisi gösterilmiş ve çinkonun immun fonksiyon için gerekli olduğu belirtilmiştir. Tip1 DM'lu hastaların % 5-10 unda glutene duyarlı enteropati (Çöliak hastalığı) saptanması ve birçoğunda transglutaminaz antikörlerinin

gösterilmesi buğdayın Tip1 DM patogeneğinde etkili olabileceği şeklinde yorumlanmaktadır (34).

Avrupa'da çok uluslu bir çalışmada süt çocuğunda yapılan D vitamin suplemantasyonunun daha sonraki çocukluk döneminde Tip1 diyabet gelişimini önleyeceği (41), yine gebelikte alınan D vitamininden zengin morina karaciğer yağının, çocukta Tip1 diyabet riskini azaltacağı belirtilmiştir (35). Psikolojik stresin Tip1 DM ortaya çıkışında kolaylaştırıcı bir faktör olduğu ve özellikle erken yaşlarda oluşan stres durumunun diyabet gelişimini etkileyebileceği bildirilmiştir (36).

### **Otoimmunité**

1970'li yıllardan beri Tip1 DM nin otoimmun etyopatogenezi olduğu bilinmektedir. Beta hücrelerine karşı otoantikorların varlığı, tanı anında çoğu hastada pankreasta lenfoplazmositer infiltrasyonun görülmesi, hastalığın diskordan monozygotik ikizlerden yapılan pankreas transplantasyonundan sonra tekrar görülmesi ve immunosupresif tedaviye duyarlılığı patogenezi destekleyen bulgulardır (37). İnsulitis'in başlıca göstergeleri adacık hücre antikorları (ICA), insülin antikorları (IAA), protein tirozin fosfataza karşı antikorlar 1A-2 antikorları (IA-2A) ve glutamik asit dekarboksilaz antikorları (GADA)'dır. Yeni tanı konan diyabetlilerde ayrıca % 80 oranında GAD antikorları, % 30-40 oranında spontan insülin antikorları saptanmaktadır. Otoimmun etyolojinin diğér bir göstergesi Tip1 DM'un Hipotiroidi, Graves Hastalığı, Otoimmun Poliglandüler Sendrom I ve II, PernisyoZ Anemi, Addison ve Çöliak hastalığı gibi diğér otoimmun hastalıklarla birlikte görülmesidir (38).

Tip1 diyabetin ortaya çıkışı çeşitli evreler halinde gösterilebilir. Genetik yatkınlık dönemi HLA tiplerinin tayini ile belirlenebilir. Herhangi bir zamanda çevresel tetikleyici etmenler otoimmun olayı başlatır ve pankreas beta hücrelerinin otoimmun harabiyeti (=insulitis) gelişir. İnsulitis periferik kanda otoantikorların (ICA, IAA, GADA, IA-2) gösterilmesiyle saptanabilir. Zamanla intravenöz glukoz tolerans testine (IVGTT) insülin yanıtı azalır, bunu izleyerek OGTT'ye yanıtlar bozulur (glukoz intoleransı). Bu dönemde açlık glukozu yükselmektedir. (glukoz>110mg/dl ve OGTT ye 2. saat yanıtı >140mg/dl), ancak klinik diyabet düzeyine (açlık glukoz >126mg/dl, OGTT ye 2. saat yanıtı >200 mg/dl) henüz

gelmemiştir. Nihayet beta hücre kitlesinin % 80 inin kaybıyla klinik diyabet gelişir. Klinik diyabetin başlangıcında glukagona C-peptid yanıtlarıyla gösterildiği gibi beta hücre yedeği henüz tümüyle kaybolmamaktadır. Sonuçta beta hücre yedeğinin tamamen harabiyeti ile uyarıya C-peptid yanıtları da kaybolur ve tam insülin eksikliği gelişir (39).

**2.5. Tip2 Diyabetes Mellitus Patogenezi:** Tip2 diyabet etiyopatogenetik olarak insülin direncinin ve insülin sekresyon bozukluğunun bir arada bulunması ile ortaya çıkan bir hastalıktır. Tüm diyabetli hastaların %85-90'lık kısmını oluşturur. (40). Glukoz homeostazisi göz önüne alındığında klinik açıdan Tip2 Diabetes Mellitus, tipik olarak 3 patofizyolojik fenomen ile karakterizedir:

1. İnsülin duyarlılığında azalma,

2. Göreceli insülin yetersizliği ile birlikte pankreas beta hücrelerinin fonksiyon bozukluğu,

3. Karaciğerde glukoz üretiminde artış.

Son basamakta ifade edilen ve geç bir fenomen olan karaciğerde glukoz üretiminde artış, glukagon ile hepatik insülin oranında meydana gelen değişikliğin karaciğer metabolizmasına etki ederek karaciğerde glukoneogenezin artması sonucunda meydana gelmekte olduğunu gösterir. Glukoz tarafından uyarılan pankreas beta hücrelerinin insülin sekresyonu sürecinde iki faz dikkati çeker. Bunlardan biri hızlı diğeri yavaş ve sürekli insülin salgılayan fazlardır. İnsülin pulsatil bir düzende salgılanır. İnsülin sekresyonunda birinci fazın yokluğu ve pulsatil salgı düzeninde değişiklikler Tip2 Diabetes Mellitus gelişimine ilk belirti beta hücre fonksiyon bozukluğudur ve genellikle klinik belirtiler ortaya çıkmadan tespit edilebilir (41).

İnsülin tarafından uyarılan glukoz uptake'inde azalma veya insülin direnci Tip2 Diabetes Mellitus gelişiminde en erken tespit edilebilen fonksiyon bozukluklarıdır. Glukoz uptake'inde bu azalma azalmış insülin duyarlılığına yol açar (22). Birçok faktör insülin duyarlılığını etkilemektedir. Bunlar yaş, cins, ırk, vücut yağ kütlesi ve dağılımı, egzersiz, kan basıncı, ailesel diyabet öyküsü, sigara içimi ve iskemik kalp hastalığıdır (22). Tip2 Diabetes Mellitus tanısı konmadan önce hem insülin işlevinde azalma hem de insülin sekresyon bozuklukları mevcut olmalıdır. Bu

nedenle şiddetli insülin direncinin mevcut olduğu hastalarda eğer insülin sekresyonları yeterli miktarda artırılabilirse glukoz seviyeleri normal seyredebilir (42).

İnsüline bağımlı glukozun transportu glukoz transport proteinleri aracılığıyla gerçekleştirilir (43). Glukoz taşıyıcı ailesini 11 değişik protein oluşturur ve bu proteinler D-glukoz enerjisinin, konsantrasyon gradyanından bağımsız olarak hücre içine taşınmasını kolaylaştırırlar. Bu işlemde temel olarak GLUT-4 izoformu sorumludur. GLUT-4 yağ dokusu ve iskelet kasında hakim olan glukoz taşıyıcısıdır. Taşıyıcı aktivitesi, glukoz taşıyıcılarının hücre içinden plazma membranına kadar geri dönüşümlü dağılımıyla regüle edilir. Bu dağılımın regülasyonu ise vezikül transportu ile yapılır. Çoğu GLUT-4 glukoz taşıyıcıları, uyarılmamış adipositlerde hücre içi rezervuarda bulunurlar. Bu taşıyıcılar trans-Golgi ağı ile ilişkili gibi görünmektedirler. İnsülin uyarısı ile GLUT-4 veziküllerinde ekzositoz hızında artışa yol açar. Bu nedenle insülin aracılığıyla plazma membranına bir GLUT-4 translokasyonu olur. Plazma membranındaki GLUT-4 taşıyıcıları, hormondan bağımsız ve sürekli olarak endozomal tasnif kompartmanına alınırlar (41). GLUT-4 düzeylerindeki düşüklük insülin direncinin gelişmesinden, GLUT-2 düzeylerindeki düşüklük ise glukozu karşı erken insülin cevabının yokluğundan sorumlu tutulmaktadır (40). İnsülin direncinin Tip2 Diabetes Mellitus gelişiminde en erken tespit edilebilen fonksiyon bozukluklarından biri olduğuna daha önce değinilmişti. Hücre düzeyinde insülin direnci insülin işlevinde azalma şeklinde tanımlanır ve sadece glukoz uptake'ini değil aynı zamanda insüline karşı diğer hücresel yanıtları da etkiler. Zaman içinde çeşitli sinyalizasyon yollarında, pek çok hücre ve dokuda farklı defekt ve bozuklukların değişik kombinasyonları gelişebilir ve bu durum bu tip hastaların klinik fenotiplerindeki heterojenliği sağlar (41). İnsülin direncinde insülin hipersekresyonu ilk saptanan bozukluktur, bunu kısa bir süre sonra insülinin periferik etkisindeki azalma izlemektedir. Fakat bu değişimlerin plazma glukoz düzeyinden bağımsız oldukları bildirilmektedir (41). Tip2 diyabette iskelet kas dokusunda insülin reseptör kinaz aktivitesi ve glikojen sentaz aktivitesi düşüklüğü nedeniyle insülin etkinliği azalmaktadır.

İnsülinin etkinliği, sadece glukoz uptake'i ile ilgili olaylarla sınırlı değildir. Aynı zamanda insülin sekresyonu ve direncini, mitokondride solunum hızı veya

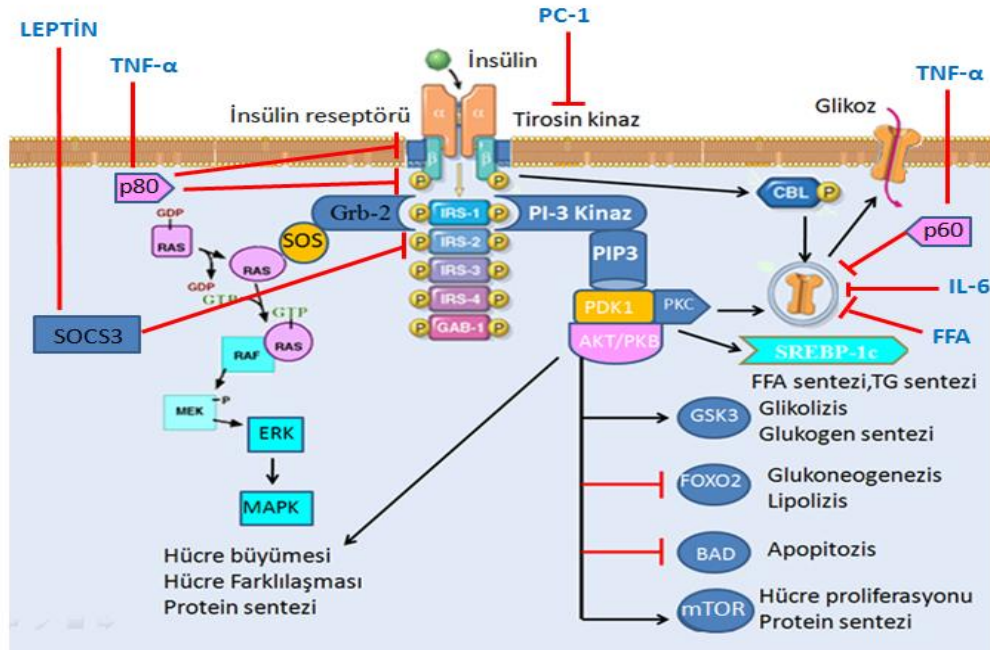
enerji tüketimini,metabolik olarak aktif ve inaktif kas hücrelerinin oluşumunu, adipositlerin farklılaşmasını, hücre büyümesini etkileyen regülatör gen ağlarında değişiklikleri indükleyen genler gibi pek çok farklı genlerin regülasyonunda da insülinin etkisi söz konusudur. İnsülinin etkisinde değişikliklerin sonucunda primer veya sekonder olarak transkripsiyon faktörleri aktiveleşebilir veya etkisiz hale gelebilir. İnsülin duyarlılığı ve hücre içi lipid metabolizması ile ilişkili besin molekülleri, metabolitler, hormonlar, büyüme faktörleri, inflamatuvar sinyaller, ve ilaçlar tarafından indüklenen hücresel bilginin transkripsiyon faktörleri tarafından bütünleştirilmesine en iyi örnek peroksimal proliferatör aktivatör reseptörleri (PPAR'ler) ve sterol düzenleyici element bağlayan proteinlerdir (SREBP'ler) (41). Peroksimal proliferatör aktivatör reseptörlerinin değişik izoformları vardır. Alfa formu temel olarak karaciğer tarafından eksprese edilir. Yağ asidi metabolizmasında merkezi rol oynar ve fibrat içeren ilaçlar için bir hedef teşkil eder. Beta/delta formu pek çok farklı dokuda eksprese edilir ve bu ekspresyonun bazı yağ asitleri tarafından düzenleniyor olması kuvvetle muhtemeldir. Gama formu ise adipojeniz ve insülin duyarlılığının kontrolünde anahtar rol oynar (44). Fiziopatolojik olarak insülin direnci ve insülin eksikliği tek başlarına plazma glukoz düzeylerini etkilemektedir. İnsülin sekresyonu ve periferik etkisi glukoz homeostazisini iki yolla düzenlemektedir: Glukoz düzeyi artışı insülin sekresyonunu uyarmakta, bu da zaman ve konsantrasyona bağımlı olarak plazma glukozunu düşürmektedir (41). Plazma glukozu 140 mg/dl'nin altında iken normale göre ortalama 2 kat insülin sekrete edilirken 140'ın üzerindeki değerlerde beta hücresi bu artışı sürdürmemekte ve insülin sekresyonu azalmaktadır. Bu dönemden sonra hepatik glukoz yapımı artmaya başlamaktadır. Plazma glukozu 250 mg/dl'nin üzerindeki Tip2 diyabetlilerde bazal insülin düzeyi normal veya yüksek bulunabilmektedir. Bu ikili kombinasyon önemli derecede insülin direncinin olduğunu göstermektedir. Ayrıca hiperinsülinemi, IGT ve Tip2 Diabetes Mellitus gelişme riskinin arttığını gösteren önemli bir bulgudur (22).

Sonuç itibarıyla; Tip2 Diabetes Mellitus'lu hastalarda fiziopatolojik olarak başlıca iki defekt bulunmaktadır: Anormal insülin salınması ve hedef dokularda insülinin etkisine karşı direnç. Hangisinin primer olduğu açık değildir. Tip2 Diabetes Mellitus, üç dönem halinde seyredir. Birinci dönemde insülin direnci nedeniyle insülin yüksekliği olmasına rağmen kan glukoz düzeyi normal sınırlardadır. İkinci

dönemde insülin direnci daha da belirgin hale gelirken, yüksek insülin düzeylerine rağmen postprandiyal hiperglisemi gelişir. Üçüncü dönemde insülin direncinde ilerleme olmamasına rağmen, insülin salınmasında azalma meydana gelir ve açlıkta bile hiperglisemi gelişerek aşikar diyabet ortaya çıkar. Hiperglisemi sadece bir sonuç değildir. Diyabetik hastalarda insülin duyarlılığını azaltarak ve hepatik glukoz outputunu artırarak glukoz toleransını daha da bozabilir. Yani, başka bir neden olmaksızın sadece yüksek glukoz düzeyleri pankreasdan insülin salgılanmasını bozabilir ve insülin direnci yaratır (glukotoksisite). Birinci faz insülin sekresyonunun yani erken insülin yanıtının kaybolması Tip2 diyabetin gelişiminde önemli rol oynamaktadır. Bu yanıtın kaybolması geç dönemdeki hiperglisemi ve hiperinsülinemiden de sorumludur. Plazma glukoz düzeyi 140 mg/dl'nin altında olan Tip 2 diyabetlilerde oral glukoz yanıtın tümünde insülin sekresyonu azalmış olarak saptanmaktadır. İnsülin direnci saptanmayan ancak total insülin sekresyonu azalan kişilerde de Tip 2 diyabet gelişme riski artmaktadır. Tip2 diyabetlilerde glisemik regülasyon sağlandığında normal salınım profili elde etmek mümkün olabilmektedir. Bu da glukotoksisitenin Tip2 diyabette insülin sekresyonuna etkisini gösteren önemli bir bulgudur (22). Diyabetik hastaların dolaşımında bulunan yüksek serum yağ asitleri, karaciğerde insülin etkisine karşı bir dirence yol açar. Artmış yağ oksidasyonu, glukoz uptake'yi ve glikojen sentezini bozabilir (lipotoksisite) (40). Glukotoksisitenin yanı sıra, lipotoksisite de Tip2 diyabetin patofizyolojisinde yer alan olaylarından biridir. Normalde glukoz, glikolizi ve Krebs siklusunu uyararak, serbest yağ asitleri ise yağ açıl CoA esterlerini artırarak insülin sekresyonunu etkilerler. Fakat plazma glukoz ve serbest yağ asitleri düzeylerinin uzun süre yüksek kalması insülin sekresyonunun azalmasına neden olurlar. Adacıkların in vitro yüksek konsantrasyonda glukoz ve lipid içeren ortamda tutulması insülin gen ekspresyonunu azaltmaktadır. Mitokondride beta oksidasyon artışının bu olayı oluşturduğu bildirilmektedir. Aynı şekilde bu mekanizma ile kas dokusunda insülin direnci ve karaciğerde glukoneojenez artışı gözlenmekte, beta hücresinde hücre içi yağ açıl CoA azalmasıyla insülin sekresyonu da azalmaktadır (22).

Adacık amiloid polipeptid (amilin) adı verilen maddenin Tip 2 diyabetiklerde pankreaslarında depolandığının saptanması ve sıçanlarda insülin salınımını baskılaması, bu maddenin diyabet patogenezinde rol oynadığını düşündürmüştür de

son zamanlardaki çalışmalarda normal kişilerde plazma amilin düzeyinin yüksek olmasına karşın belirgin etki görülmemesi ve amilin infüzyonunun insülin sekresyonu üzerine etkisinin olmaması, amilin Tip2 diyabet patogenezinde belirgin rolü olmadığını göstermiştir (22). İnsülin sekresyonunu fizyolojik olarak artıran önemli bir gastrointestinal hormon olan GLP-1 düzeylerinin Tip2 diyabetlilerde normal veya yükseldiği ancak etkisinin azaldığı gözlenmiştir (41). Obezite, fiziksel aktivite azlığı, hipertansiyon ve dislipidemisi olan kişilerde daha sık görülür. Sıklıkla kuvvetli bir genetik yatkınlık görülür, ancak genetiği komplekstir (poligenik) ve tam olarak tanımlanamamıştır (41). İnsülin direncinde oluşturan moleküler nedenlerden dört molekül dikkat çekmektedir. Bu molekülleri Tümör nekroz faktörü- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), interlökin-6 (IL-6), Membran glikoprotein plazma hücre antijen-1(PC-1) ve leptin olarak sayılabilir. Moleküllerin insülin reseptörünün neresinde nasıl etkili olduğu şekil-1’de gösterilmiştir (42).



Şekil-1. İnsülin direncinde oluşturan moleküler nedenler

## 2.6. Adacık Otoantikoları,Hemoglobin A<sub>1c</sub> ve C-peptid:

### 2.6.1.Adacık Otoantikoları:

**Adacık hücre antikoru (ICA) :**ICA antikoları , farklı adacık antijenlerine karşı gelişen poliklonal antikolarlardır ve genellikle Ig G yapısındadır. Sitoplazmik veya hücre yüzeyine karşı gelişebilir, fakat pratikte sitoplazmaya karşı gelişen antikor bakılır.Tanı anında hastaların % 70'inden fazlasında pozitifdir. Zamanla antikor pozitifliği azalır ve tanıdan 10 yıl sonra bu oran % 5-10'a düşer. Genel popülasyonda ICA pozitifliği 1/250 kadardır, buna karşılık Tip1 diyabetlilerin 1. derece yakınlarında % 2-3 oranında pozitif bulunur. ICA ölçümü 0 kan gruplu genç donör pankreas substratı ile indirek immün floresan yöntemi kullanılarak yapılır. ICA ölçümü, otomatize değildir ve yoğun emek gerektirir ve ancak yüksek kalite kontrolü yapıldığında güvenilir sonuç elde edilir Juvenil diabetes foundation (JDF) ünitesidir. >20 JDF pozitif, 10-20 JDF sınır, < 10 JDF negatif kabul edilir (45). Yüksek ICA titresi nondiyabetik bireylerde artmış Tip 1 diyabet riskini, yeni diyabet tanısı konmuş bireylerde ise hızlı endojen c peptid sekresyon kaybını gösterir (46).

**Anti-glutamik asit dekarboksilaz antikoru (GADA):** GAD (glutamik asit dekarboksilaz) GABA sentezinde kısıtlayıcı bir enzimdir. Esas olarak merkezi sinir sisteminde ayrıca bazı extranöral dokularda sentezlenir. GAD'ın hem hücresel hem hümoral immunitiyi uyardığı bilinmektedir. GADA radiobinding assay ile ölçülür ve "Relatif Unit" RU birimi ile değerlendirilir. Standart pozitiflik eşik değeri yoktur; Aynı yaş grubunda diyabetli olmayan bireylerin 99. persentil değerinin üzeri pozitif kabul edilir. GADA, ICA' ya göre daha uzun süre pozitif kaldığından LADA ( Latent Otoimmün Diabets of Adulthood) tanısında daha kullanışlıdır (47). Genel olarak yeni tanı Tip1 diyabetlilerde % 60 'ın üzerinde, diyabetli yakınlarında ise % 3-5 oranında pozitiflik saptanır.

### 2.6.2.Hemoglobin A<sub>1c</sub> (HbA<sub>1c</sub>):

Glukozun hemoglobinin beta zincirinin N-terminal ucuna nonenzimatik yolla bağlanması ile oluşan glukozillenmiş hemoglobin (HbA<sub>1c</sub>) ölçümü ile yaklaşık 2-3 aylık bir dönemdeki ortalama glukoz düzeyi değerlendirilebilir. Glukoz

nonenzimatik yollarla diğer plazma proteinlerine de bağlanır. Daha kısa yarılanma süreli bu glukozillenmiş proteinlerin, örneğin fruktozamin düzeyi 2-3 haftalık bir glisemi düzeyini gösterir (48). HbA<sub>1c</sub> düzeyleri ölçüm yöntemlerine göre değişmekle birlikte genellikle normal kişilerde % 6'nın altındadır. Yaklaşık % 6,5-7,5 arası değerler iyi kontrolü, % 7,5-9 arası değerler orta kontrolü, %9,0 un üstündeki değerler de kötü kontrolü gösterir (49).

**2.6.3.C-peptid;** Proinsülinin, insüline dönüşümü sırasında açığa çıkar. Biyolojik olarak aktif değildir. Portal dolaşıma insülin ile eşit miktarlarda salgılanmakla beraber yarı ömrünün daha uzun olması nedeniyle açlık C-peptid düzeyleri insüline göre 5-10 kat daha fazladır. 8 saatlik bir açlık sonrası ölçülür. Endojen insülin düzeylerini yansıtır. Düşük C-peptid düzeyi Tip1 DM için karakteristiktir. Tip2 DM'de C-peptid düzeyleri yüksektir. insülin tedavisi gören diyabetik hastalarda vücut insülin deposunun göstergesidir. Dolaşımda bulunan insülin antikorlarının varlığı nedeniyle insülinin ölçülemediği durumlarda ya da insülin tedavisi gören hastalarda C-peptid düzeylerine bakılabilir (50).

## 2.7.D Vitamini

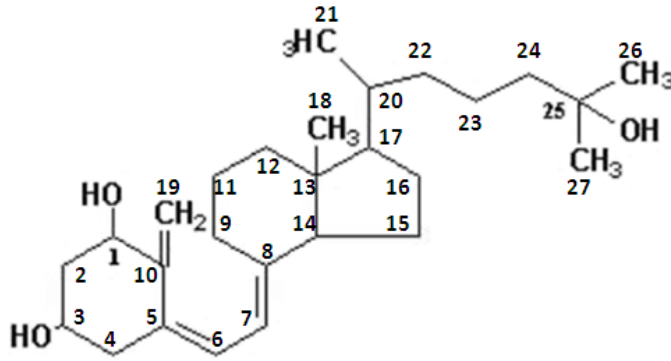
### 2.7.1.D vitaminin Kimyasal Yapısı

Bir siklopentanoperhidrofenentren türevidir. Bu halka sisteminin B halkasının 5., 6. ve 7., 8. karbonları arası ikişer çift bağlı ve 9., 10. karbonları arası açılmış, diğer A, C, D halkaları ise doymuş durumdadır. İki önemli türevi vardır. Biri kolesterolün oksitlenme ürünü olan 7-dehidrokolesterol'den türeyen vitamin D<sub>3</sub>, yani kolekalsiferol, diğeri ergosterol'den türeyen vitamin D<sub>2</sub>, yani ergokalsiferoldür. Aralarındaki fark 17 nolu karbon atomuna bağlı yan kolda, kolekalsiferol'de 8, ergokalsiferol'de 9 karbon atomu bulunması ve kolekalsiferolün doymuş, ergokalsiferolün bir çift bağ taşımasıdır (Şekil:2) (51).

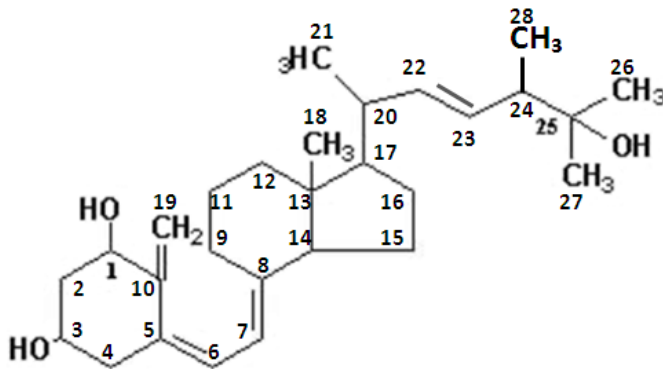
### 2.7.2.D vitaminin Sentezi ve Metabolizması

Vitamin D, ilk kez 1919-1920'lerde vitamin olarak sınıflandırılmıştır. Vücudun D vitamini ihtiyacı diyetle alınarak ve endojen olarak sentezlenerek karşılanmaktadır. **Diyetle**, ergosterol şeklinde bitkisel kaynaklı besinlerle (mantar ve maya) alınır ve ciltte depolanır. Cildin UV ışınlarına maruz kalması ile

ergokalsiferol (D<sub>2</sub> Vitamini) oluşur. Yine diyetle kolekalsiferol (vitamin D<sub>3</sub>) şeklinde hayvansal besinlerle (balık, karaciğer ve yumurta) alınır. Gıdalarımızla alınan D<sub>2</sub> ve D<sub>3</sub> vitamini başlıca duodenum ve jejunumdan safra tuzları ve lumen içi lipidlerle lenfatik kanallara emilerek vücutta sentez edilen D<sub>3</sub> vitamini ile karışır. **Endojen** olarak derinin stratum granulosum tabakasında 5 α-kolestan'dan türeyen 7-Dehidrokolesterol 290-310 nm dalga boyundaki UV ışınlarının etkisiyle kolekalsiferole (vitamin D<sub>3</sub>) dönüşür (52). D<sub>2</sub> ve D<sub>3</sub> vitaminleri spesifik bir alfa-2 globulin olan vitamin D bağlayıcı protein (DBP) ile karaciğere taşınır. Karaciğerde mikrozomal bir enzim olan 25-hidroksilaz enzimi ile 25 hidroksiergokalsiferole veya 25 hidroksikolekalsiferole dönüşür.



C<sub>27</sub>H<sub>44</sub>O<sub>3</sub>, kolekalsiferol, vitamin D<sub>3</sub>

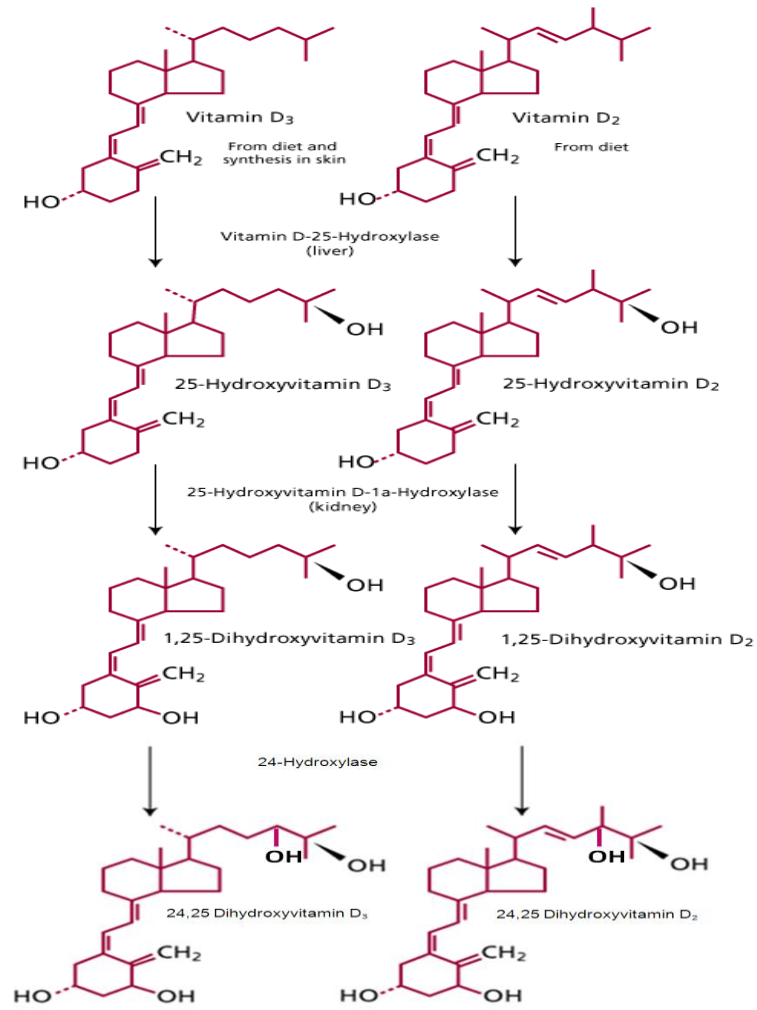


C<sub>28</sub>H<sub>44</sub>O<sub>3</sub> ergokalsiferol , vitamin D<sub>2</sub>

Şekil-2. Vitamin D<sub>2</sub> ve D<sub>3</sub> 'ün kimyasal yapısı

25(OH)D, vitamin D'nin dolaşımdaki major formdur, konsantrasyonu 1,25(OH)<sub>2</sub>D'nin yaklaşık 1000 katıdır ve inaktiftir (53). 25(OH) kolekalsiferol ve 25(OH) ergokalsiferol dolaşımda bir alfa-2 globulin olan DBP protein ile bağlanarak böbreğe taşınır. Böbreğin proximal tubuli epitelinde 25 hidroksi vitamin D, 1 alfa hidroksilaz enzimi aracılığı ile 1,25 dihidroksikolekalsiferole (1,25 DHCC) dönüşerek, bugün için bilinen en aktif vitamin D metabolitini oluşturur. 1 alfa hidroksilaz enzimi D vitamini sentezinde anahtar enzimdir.

Yüksek plazma 1,25 dihidroksikolekalsiferole (1,25 DHCC) düzeyi **24 hidroksilaz** enziminin salınımını artırarak 1,25 DHCC sentezini inhibe ederken 24,25 DHCC sentezini uyarır. 24,25 dihidroksikolekalsiferole D vitamininin inaktif formudur. Vitamin de oluşumu ve inaktivasyon basamakları şekildeki gibidir (Şekil:3) (53).



**Şekil 3: D vitaminin Sentezi ve Metabolizması**

### 2.7.3. Vitamin D'nin Etkileri

**1- Vitamin D intestinal kalsiyum ve fosfor emilimini sağlayarak PTH ile birlikte organizmanın kalsiyum/fosfor dengesini korur.** 1,25 DHCC barsak mukozası fırçamsı kenarda  $Ca^{++}$  bağlayan proteininin, mRNA'sının yapımını ve aktivitesinin artmasını sağlar. Bu protein varlığında  $Ca^{++}$  duodenumdan aktif olarak emilir. Vitamin D böbreklerden kalsiyum ve fosfat atılımını azaltarak kan kalsiyum ve fosfor düzeyini arttırır. Vitamin D yeterli düzeye eriştiğinde *paratiroid bezlerde PTH* sentezini ve salınımını azaltır. Vitamin D bu özelliğinden dolayı hormon olarak kabul edilmektedir (54).

**2- Vitamin D'nin hem osteoblast hem de osteoklastik serinin farklılaşmasında rolü olduğu bilinmektedir.** Kemikte mineralizasyonu ve osteoblastik aktivasyonu arttırır. Ayrıca aynı zamanda eskimiş kemik dokusundan kalsiyum mobilizasyonunada yol açar (osteoklastik aktivasyon). Böylece yeni kemik oluşumu için olanak sağlar. *Vitamin D, receptor aktivator of nuklear faktor* kB ligand(RANKL) ekspresyonunu *arttırmaktadır*. RANKL Preosteoklastlarda RANK ile etkileşime girerek preosteoklastların matur osteoklastlara dönüşmesini sağlamaktadır. *Böylece kemik rezorpsiyonu artmaktadır* (74).

Vitamin D 'nin kalsiyum/fosfor dengesini düzenlemedeki yetersizliği gençlerde **raşitizm**, gelişmesini tamamlamış olanlarda da **osteomalasi** denilen kemik deformasyonlarına ve bozukluklarına neden olur (51).

**3- Vitamin D 200'den fazla geni kontrol etmektedir.** Bu genler hücre proliferasyonu, diferansiasyonu, apoptozis ve anjiogenezis üzerine odaklanmaktadır. Vitamin D hematopoietik kök hücrelerin farklılaşması ve olgunlaşmasında rol oynar. Vitamin D'nin hematopoietik kök hücrelerin farklılaşmasında düzenleme rolündeki yetersizliği **Raşitik anemiye** neden olur (54).

**4- Vitamin D iyi bir immunomodülatördür.** D vitamininin immunomodülatör etkisi ve hemen hemen tüm immun sistem hücrelerinde bilhassa antijen sunan makrofaj, dendritik hücre ve aktive T lenfositlerde VDR reseptörünün bulunması ile kesinlik kazanmıştır (55). Makrofaj ve dendritik hücrelerin granüllerinde  $1\alpha$ -hydroxylase enzimi vardır. Bu D vitamini sentezinin son basamağındaki aktivasyonda etkili olan enzim Makrofaj ve dendritik hücrelerce sentezlenip salınır (56). İmmun

hücrelerde salınan  $1\alpha$ -hydroxylase enzimi böbrekten salınan  $1\alpha$ -hydroxylase enzimi ile aynıdır. Fakat salınımını düzenlenmesi farklıdır. Böbrek kaynaklı  $1\alpha$ -hydroxylase enzimi esas olarak PTH hormonu ve D vitamini gibi kalsiyum ve kemik kaynaklı sinyallerle kontrol edilirken, Makrofaj kaynaklı  $1\alpha$ -hydroxylase enzimi primer olarak IFN- $\gamma$  ve Toll-like receptor agonistleri gibi immun sinyaller ile kontrol edilir. D vitamini benzersiz immunomodulör özelliğini T hücrelerde uyaran etkisiyle gösterir, aynı zamanda antijen sunan hücrelere de etkisi süreklidir (57).

İn vitro olarak  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  vitamini makrofajların fagositoz aktivitesini ve bakteri öldürmelerini stimüle ederken makrofajların ve dendritik hücrelerin antijen sunma kapasitelerini baskılar(58).

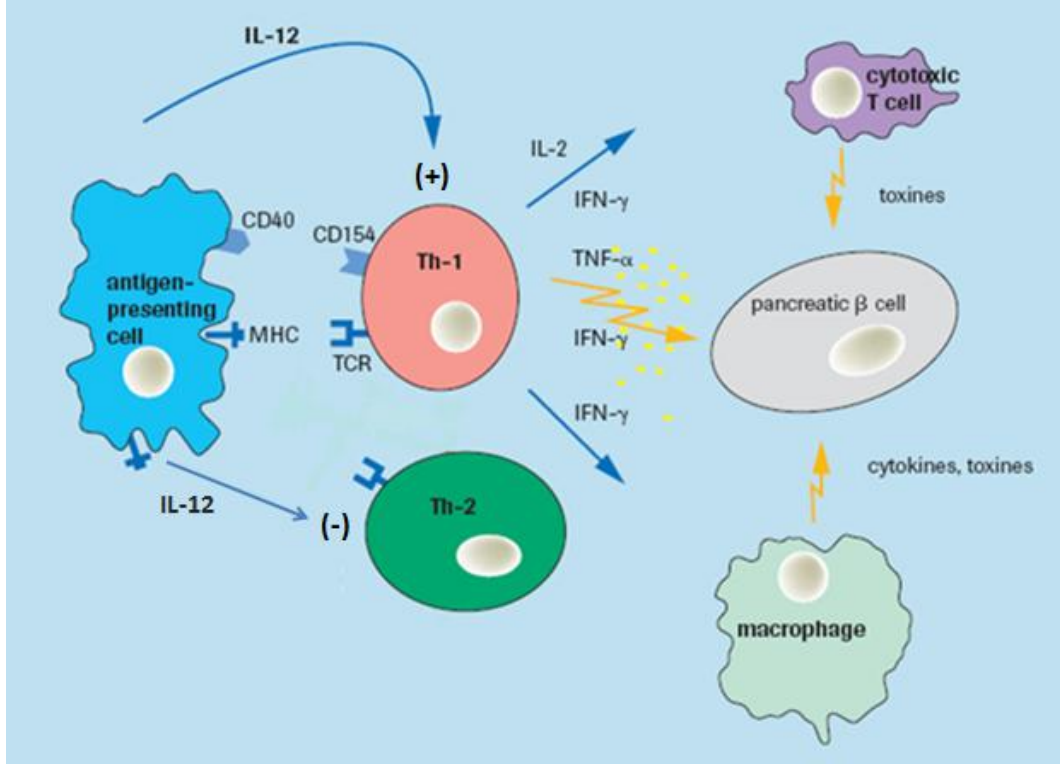
D vitamini MHC-II molekülü ve adhezyon molekülerinin ekspresyonlarını stimüle ederken B-7.2 molekülünü baskılar (59).  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  vitamini antijen sunan hücreleri sitokinlerle aktive ederken T hücreleri direkt olarak etkiler.

$1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  varlığında Th2/Tc2 hücre paterninin Th1/Tc1 hücrelere baskın gelmesinde, Th1/Tc1 supresyonu ile birlikte, D vitamininin IL-4 ile indüklenen Th2/Tc2 farklılaşması üzerindeki indükleyici etkisi beraber rol oynamaktadır. IL-6 Th1 farklılaşmasını inhibe ederken, T lenfositlerinde IL-4 sergilenmesini uyarmak yoluyla da Th2 hücre farklılaşmasını indükler.  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  eksikliğinde IL-4 pozitif hücreler yetersiz kalır ve önemli miktar da IL-6 üretemezler. Bunun sonucunda da Th1/Tc1 supresyonu ve Th2/Tc2 indüksiyonu oluşmayacağından Th-1 lenfosit hakimiyeti oluşur (60).

$1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  eksikliğinde makrofaj ve dendritik hücrelerden üretilen IL-12 proteini Th-1 lenfositlerin gelişimini stimüle eder. Makrofaj ve dendritik hücrelerden üretilen IL-12 proteini, CD4+ T-helper tip1 (Th-1) lenfositlerin gelişimini stimüle ederken CD4+ Th-2 lenfositlerin gelişimini inhibe eder. Th1 lenfositler bu sinyali yüzeylerindeki CD154 molekülünü dendritik hücrelerin yüzeylerindeki CD40 reseptörüne bağlayarak yaparlar(Şekil:4). IL-12 sitokininin uyardığı Th1 lenfositler büyük miktarda interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) üretirler. İnterferon- $\gamma$  makrofajları uyarak pankreas beta hücreleri için toksik maddeleri salgılatır. İnterferon- $\gamma$  ve IL-2 sitotoksik CD8+ hücrelerden de beta hücreleri için toksik maddeleri salgılatır (61).

Th1 lenfositler interferon- $\gamma$  salgılayarak beta hücreleri direkt hasara uğratabilir. Uyarılmamış CD4+ T-helper type1 (Th-1) lenfositler TNF- $\alpha$  sekrete

eder.  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  vitamini  $\text{IL-1}\beta$  veya  $\text{IFN-}\gamma$  indüklenen beta hücre inhibisyonunu *in vitro* olarak önlemiştir (62). Vitamin D 'nin immunomodülatör etkisindeki yetersizliği Tip 1 Diabetes Mellitus'a neden olur.



**Şekil 4: D vitamini Eksikliğinin Tip1 Diabetes Mellitus Oluşturma Mekanizması**

**5- Vitamin D insülin yapımını ve sekresyonunu artırırken, insülin direncini azaltmaktadır.**  $1,25$ -Dihidroksivitamin  $\text{D}_3$  vitamininin insülin salgılanmasında görev aldığı düşünülmektedir. D vitamini eksikliğinin insan ve hayvan deneylerinde bozulmuş insülin salınımı ile ilişkili olduğu ve bunun  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  kullanılmasıyla normale döndüğü gösterilmiştir (63). D vitamini yalnızca  $\beta$  hücrelerinin yapım kapasitesini artırmakla kalmayıp, proinsülin-insülin dönüşümünü de hızlandırır (64).

Farelerdeki D vitamini eksikliğinin insülin salgısında sorunlara yol açtığı görülmüştür. Pankreasın insülin salgılayan beta hücrelerinde VDR reseptörüne ek olarak vitamin D düzenleyici protein olan calbindinin de bulunduğu gösterilmiştir.

D vitamini çevre dokularda insülin direncini azaltmakta, böylece insülin direnci nedeniyle kan şekeriindeki artışa yanıt olarak oluşan aşırı insülin salınımını azaltmakta ve insülin duyarlılığını artırmaktadır. Bu nedenle D vitamini yetersizliği metabolik sendrom ve Tip2 DM için risk faktörüdür ve D vitamini yetersizliğinin insülin direnci ve  $\beta$  hücre işlev bozukluğu ile ilişkisi gösterilmiştir (65).

D vitamininin bu etkisi insanlarda da gösteren çalışmada, D vitamini eksikliği olan Tip 2 diyabetikler ve diyabetik olmayanlara D vitamini desteği verilmesiyle insülin salınımının düzeldiği görülmüştür (66). Vitamin D 'nin insülin yapımı, sekresyonunu artırma ve insülin direncini azaltma etkisindeki yetersizliği **Tip2 Diabetes Mellitus'a** neden olur.

**6- Vitamin D kanserden koruyucu etki gösterir. Neoplastik hücreler Vitamin D reseptörü taşımaktadırlar.** Sahip oldukları 1-alfa hidroksilaz enzimi ile  $25(\text{OH})\text{D}_3$  düzeyi 30 ng/ml'dan yüksek olduğunda  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  oluşturmaktadırlar.  $1,25(\text{OH})_2\text{D}$  ise kanseri azaltıcı özelliktedir. Proliferasyon, invazyon, anjiogenez, metastaz üzerine azaltıcı, diferansiasyon, apoptozis üzerine ise arttırıcı etkileri vardır (67). Vitamin D'nin kanserden koruyucu etkisindeki yetersizliği **kolon kanseri, pankreas kanseri, prostat kanseri, akciğer kanseri ve hodgkin lenfoma** gibi birçok kanserin görülme sıklığında artışa neden olur (68).

**7- Vitamin D kalp damar hastalıklarından koruyucu etkiye sahiptir.** Vitamin D renin sentezini azaltmaktadır. Kalp kasına bağlanarak ANP (Atrial Natriüretik Peptid)'yi azaltır. Vitamin D myokardial kontraktileteyi arttırmaktadır (69). D vitamini değerleri daha yüksek olan hastalarda daha az kardiyovasküler hastalıklara bağlı mortalite görüldüğü bildirilmektedir. Kuzey ülkelerinde daha yüksek oranda kalp hastalıkları görüldüğü ve özellikle kalp krizinin kış aylarında % 53 daha fazla geliştiği bildirilmektedir. Bu bulgular güneş ışınlarıyla D vitamin yapımına etkisinin olduğunu düşündürmektedir (70). Vitamin D'nin kalp damar hastalıklarından koruyucu etkisindeki yetersizliği, Hipertansiyon ve koroner damar hastalıklarına neden olur.

#### **2.7.4.Vücut Vitamin D Düzeyinin Düzenlenmesi**

Vücut D vitamini düzeyinin düzenlenmesi kısa sürede ve uzun sürede olmak üzere iki şekilde gerçekleştirilir.

### **Vücut D vitamini düzeyinin kısa sürede düzenlenmesi**

Vücut D vitamini düzeyinin kısa sürede düzenlenmesinde **1 $\alpha$ -hidroksilaz enzimi** kilit rol oynar. D vitamini karaciğerde depo edilmekte ve yapımı negatif geri bildirim mekanizması ile kontrol edilmektedir. Bu enzimin düzenlenmesinde de PTH, kalsiyum, fosfor ve fibroblast growth factor 23 (FGF 23) rol oynar (Şekil:5). Kısa sürede düzenlenmesi dört şekilde olur.

**1-** PTH Böbrek tubulus hücrelerinde 1- $\alpha$  hidroksilaz enzimini stimüle ederek aktif Vitamin D düzeyini arttırmaktadır (71).

**2-** Serum kalsiyum ve fosfor düzeyi düştüğünde 1- $\alpha$  hidroksilaz enzimi aktifleşerek Vitamin D sentezi artmaktadır (71).

**3-** Kemikten salgılanan FGF 23 Vitamin D sentezini azaltmaktadır. FGF 23, 1,25(OH)<sub>2</sub>D yapımını baskılamakta ve 24 hidroksilaz enzimini aktive ederek 1,25(OH)<sub>2</sub>D'yi inaktif formuna dönüştürmektedir (72).

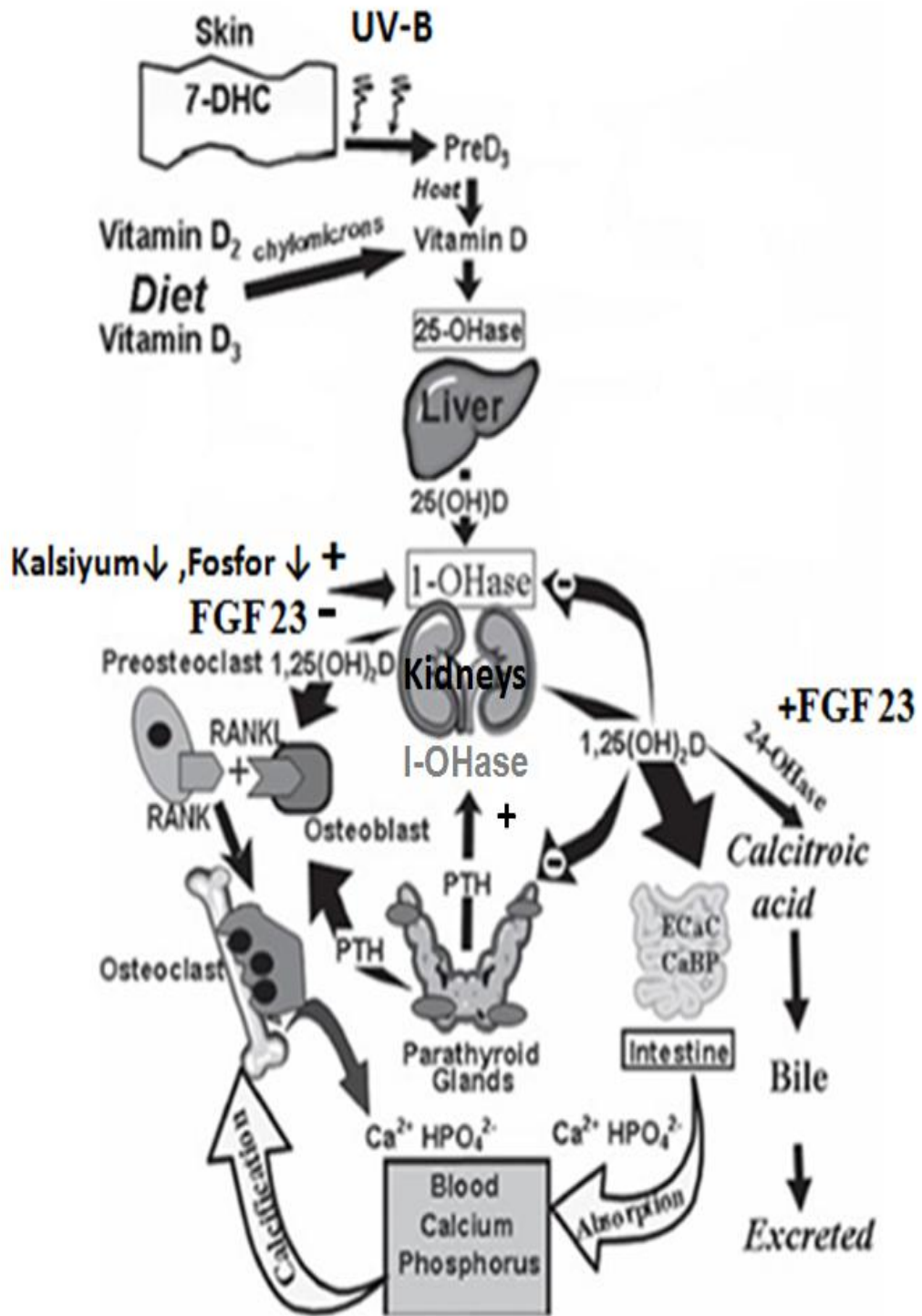
**4-** 1,25 dihidroksikolekalsiferol yeterli düzeye eriştiğinde sitokrom P-450 enzimleri ve 24 hidroksilaz enzimi ile 24,25-dihidroksivitamin D<sub>3</sub> (24,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>) şekline dönüştürülerek metabolize edilir (73).

### **Vücut D vitamini düzeyinin uzun sürede düzenlenmesi**

**1- UV ışığa maruz kalma şekli ve süresi Vitamin D düzeyini belirlemede etkilidir.** Güneş ışığında üç tür ultraviyole ışın vardır. UV-A ışını uzun dalga (320-400 nm) boyludur ve derinin derinlerine penetre olarak melanositleri etkiler. Bu nedenle melanoma kanseri yapabilir. Güneş kremi bu ışını engelleyemez. UV-A ışını camı kolaylıkla geçer.

UV-B ışını cildin vitamin D yapmasını sağlar. UV-B kısa dalga boyundadır (280-320 nm) ve güneş yanığına neden olur. Fakat derinin derinlerine penetre olmaz. Güneş kremi bu ışını engelleyebilir. UV-B ışını camı geçemez. Bu nedenle camın arkasından aldığımız güneş ışını vitamin D sentezinde etkili değildir.

UV-C ışını en kısa dalga boyundadır (200-280 nm) oksijen ve ozon tarafından yutulur ve asla dünya yüzeyine erişmez. Güneş ışınlarının yeryüzüne eğik veya dik gelmesi yeryüzüne ulaşan UV radyasyon miktarını etkiler (78).

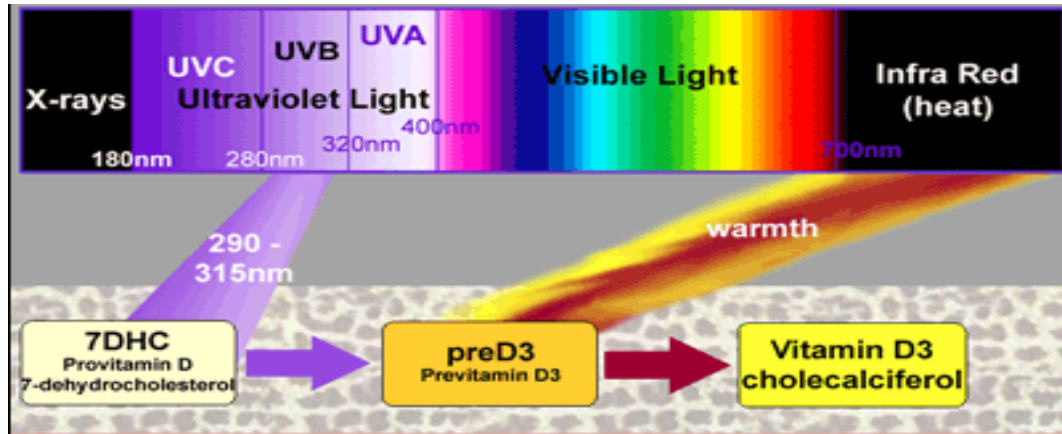


Şekil 5: Vücut D vitamini düzeyinin kısa sürede düzenlenmesi

Bunun yanında, güneşin gün içerisindeki konum değişikliği, atmosfer içerisinde geçen UV radyasyon miktarını etkiler. Güneş gökyüzünde alçak olduğunda, sabah ve akşam saatlerinde ışınlar atmosfer içerisinde daha uzun bir mesafe kat etmektedir ve su buharı ile diğer atmosferik bileşenler tarafından saçılmaya uğrayabilir ve yutulabilirler. Güneş kendisinin en yüksek noktasında olduğunda (öğlen), yani gün ortası civarında UV'nin daha büyük miktarları dünyaya ulaşır (79).

İnsanların çoğu güneş ışığına maruz kaldıklarında UV ışık etkisi ile derilerinde bitkisel kaynaklı ergosterolden, ergokalsiferol (vitamin D<sub>2</sub>) ve kolesterol kaynaklı 7-dehidrokolesterolden, kolekalsiferol (vitamin D<sub>3</sub>) oluştururlar. Serum 25-hidroksikolekalsiferol düzeyi diyetle alınan D vitamini miktarına ve güneşten yararlanma derecesine bağlı olup, yaz ve kış değerleri farklı olarak bulunmuştur. Vitamin D sentezini güneş koruyucuların kullanımı ya da kapalı giyinme kısıtlamaktadır (77).

Uzun süreli güneş ışığına maruz kalma sonucu, previtamin D<sub>3</sub> alternatif iki inert izomer (lumisterol ve tachysterol) sekline veya yeniden 7-DHC'e dönüşebilir (Şekil:6). Bu nedenle D vitamini intoksikasyonu oluşmamaktadır. Oluşan izomerlerin, kalsiyum metabolizması üzerine çok az etkili olduğu düşünülmektedir (76).



Şekil 6: Işık Spekturumu

## **2- İnsanların deri rengi Vitamin D düzeyini belirlemede etkilidir.**

Açık derili bir insan ekvator bölgesinde öğleyin 20 dakika güneşleyerek 20.000 IU D vitamini sentezleyebilir. 20.000 IU D vitamini günlük ihtiyacın dört katıdır. Siyah tenli kişiler diğerlerinin altıda biri kadar vitamin D sentezlerler. Bu nedenle ılıman kuşakta ve soğuk kuşakta vitamin D eksikliği riskleri vardır. Şekil 7'de Dünya üzerinde deri rengi dağılımı görülmektedir.

İnsanların derilerinde melanin pigmenti arttığı zaman, maksimum D vitamini sentezi için daha uzun süre UV ışığına maruz kalmaları gerekir. "Beyaz tenlilerin elleri, kolları ve yüzü günde en az 15 dakika güneş görmelidir ki D vitamini eksikliği olmasın. Kumral tenliler için bu süre 30 dakika, esmer tenliler için daha fazla olmalıdır" (78).

Deride, kullanılandan daha fazla miktarda D vitamini sentezlendiğinde deri aşırı melanin pigmenti üretir (79). Tropikal bölgenin dışında, özellikle 40. enlemin kuzeyinde oturanlarda yıllık ortalama düşük UV ışık alımının insan derisinin pigment sıklığını düzenlediğini bildirmişlerdir. Ayrıca deri pigment durumunun D vitamini seviyesine bağlı olduğunu bildirmişlerdir (79).

Jablonski ve Chaplin ise morötesi ışınımın bazı dezavantajlarıyla bir avantajını içeren iki seçilim faktörünün bir bileşimini tercih ediyorlar. Morötesi ışınımın dezavantajları arasında derideki birçok bileşimin ışık yoluyla öldüğünü söylemişlerdir (fotoliz). Bunlardan iki araştırmacının özellikle önem verdiği, folik asittir (B9 vitamini). Folat herkesin ihtiyaç duyduğu bir vitamindir (79). Bu durumda başka seçici faktörlerin yokluğu durumunda (morötesi ışınımı perdelemek ve fotoliz olgusunu azaltmak için) herkesin koyu renkli derilere sahip olması beklenirken, morötesi ışınımın D vitamini sentezini hızlandıran yararlı bir etkisi daha mevcuttur. Dolayısıyla da insanların deri renkleri, D vitamini sentezi için ışığın sızmasına kolaylaştıracak kadar açık, ancak folat fotolizini azaltacak kadar koyu renk tercihi arasında bir uzlaşmanın türevi olarak belirleniyor (78, 79).

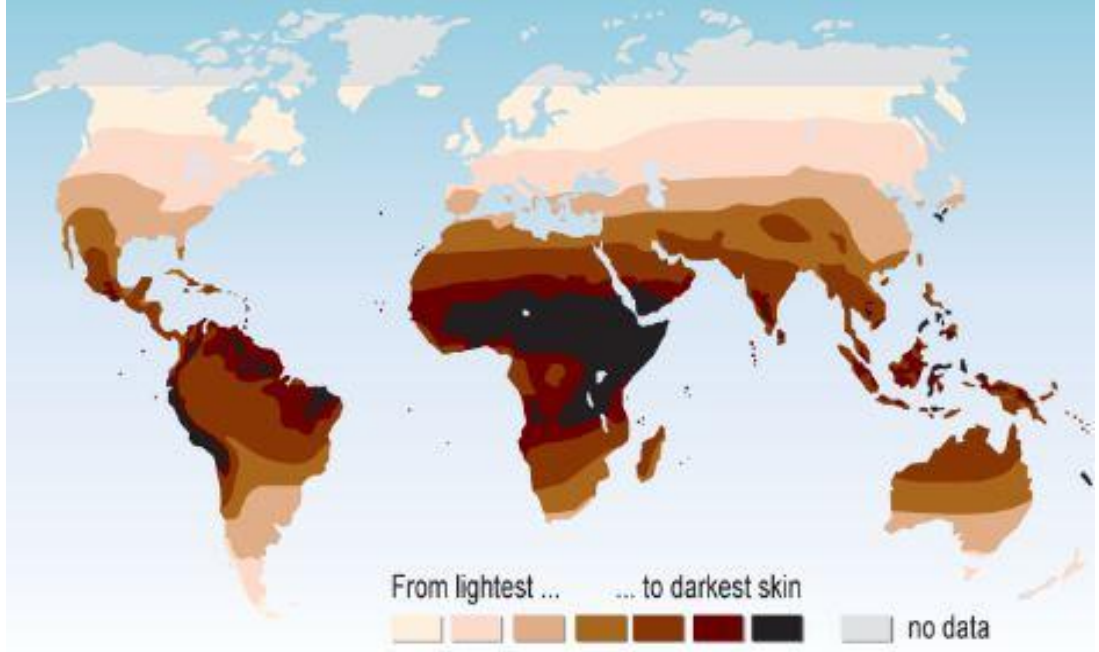
Bu uzlaşma, morötesi ışınım düzeylerinin düşük olduğu yüksek enlemlerde açık tenler seçilimiyle kendini ortaya koyuyor. Güney Afrika'daki albino (melatonin pigmentinin eksikliği nedeniyle ortaya çıkan cilt ve saç beyazlığı) okul çocukları, normal kalsiyum ve D vitamini düzeyleri için gereken D vitamini besinlere, normal pigmentasyona sahip çocuklara göre daha az gereksinim duyuyorlar. Tüm insan

topluluklarında kadınların derileri, erkeklere göre daha açık renkli oluyor. Olası neden, hamilelik ve süt salgılama dönemlerinde daha fazla kalsiyum ve D vitaminine duyulan gereksinimden kaynaklanmaktadır. Bu farklılık, cinsel seçim yoluyla daha da belirgin hale gelmiş olabilir. Jablonski ve Chaplin, morötesi ışınım ile deri rengi arasında bu kuvvetli ilişkiyi belirledikten sonra, tüm kıtaları temsil eden 85 ayrı insan topluluğunu kapsayan bir çalışmayla, morötesi ışınım düzeylerinin gerektirdiği deri renginden sapmaları derecelendiren bir tablo hazırlamışlar (79).

Deri rengi daha önce renkli tabletlerle karşılaştırılarak nitel olarak ölçülüyordu. Jablonski ve Chaplin ise cilt renklerine derinin yansıtma spektrofotometrisine (deriden yansıyan ışığın şiddet ve tayfinin ölçülmesi) dayanan sayısal değerler vermişler. Güneş ışığının şiddetinin bir göstergesi olarak da enlem derecelerini değil, yeryüzüne düşen morötesi radyasyon değerlerini almışlardır (79). Aslında morötesi ısınım da enlem derecelerine bağlı olarak değişiyor. Çünkü yüksek enlemlerde güneş ışığının atmosfere eğik bir açıyla düşmesi, ışığın daha uzun bir yol kat etmesine ve dolayısıyla da morötesi ışınların daha çok emilmesi ve saçılmasına neden oluyor. Ancak, morötesi ısınımın enlem dereceleriyle korelasyonu da mükemmel değildir. Morötesi ışınım, atmosfer tabakası incelendiğinden yüksek yerlerde de artar, Örneğin, **Tibet ve And Dağları** platolarında morötesi ışınım değerleri yüksektir. Morötesi ışınım, atmosferde yağmur, bulut ve nem biçiminde bulunan su buharına bağlı olarak azalır. Örneğin, aynı enlemdeki bazı bölgelere göre daha kuru olan **Atacama Çölü (Şili)**, ABD'nin Güneybatısı ve "Afrika'nın Boynuzu"nda morötesi ışınım yüksektir (78).

Bu nicel veritabanında morötesi ısınım değerlerindeki değişimler derinin yansıtma ölçüsünü belirleyen en güçlü faktör olarak ortaya çıkar. Kuzey yarıkürede deri rengi dağılımının % 77'sini, güney yarıkürede de % 70'ini başarıyla açıklıyor. **Negatif farklar** (derinin morötesi ışınım değerlerinin normalde gerektirdiğinden daha koyu olması durumu) sıralamasında en yüksek dördüncü sırada **Grönland'da** yaşayan İnuit toplumu yer alıyor. Bu insanların böylesine yüksek enlemlerde koyu bir deriyle yaşayabilmelerinin nedeni, gereksinim duydukları D vitaminini büyük ölçüde geleneksel olarak deniz memelileri bakımından zengin bir beslenme diyetinden sağlıyor olmalarıdır. Ancak, artık foklar ve deniz ürünleri yerine yerine süpermarket ürünleriyle beslenmeye başlayan modern İnuitlerin, dünyada D vitamini

eksikliği belirtilerini en çok gösteren insanlar olmalarına beklenen bir sonuçtur. **Tersine, pozitif farkların** (derinin, olması gerekenden daha açık renkte bulunması) en yüksek olduğu dokuz toplumdan üçü de Asya'nın içlerinde, yani herhangi bir deniz ürününden çok uzakta yaşıyor (79).



Source: Chaplin G.<sup>®</sup>, *Geographic Distribution of Environmental Factors Influencing Human Skin Coloration*, *American Journal of Physical Anthropology* 125:292–302, 2004; map updated in 2007.

### Şekil 7: Dünyamızda insanların deri rengi dağılımı

#### 3.Yaşanılan Enlem Vitamin D düzeyini belirlemede etkilidir.

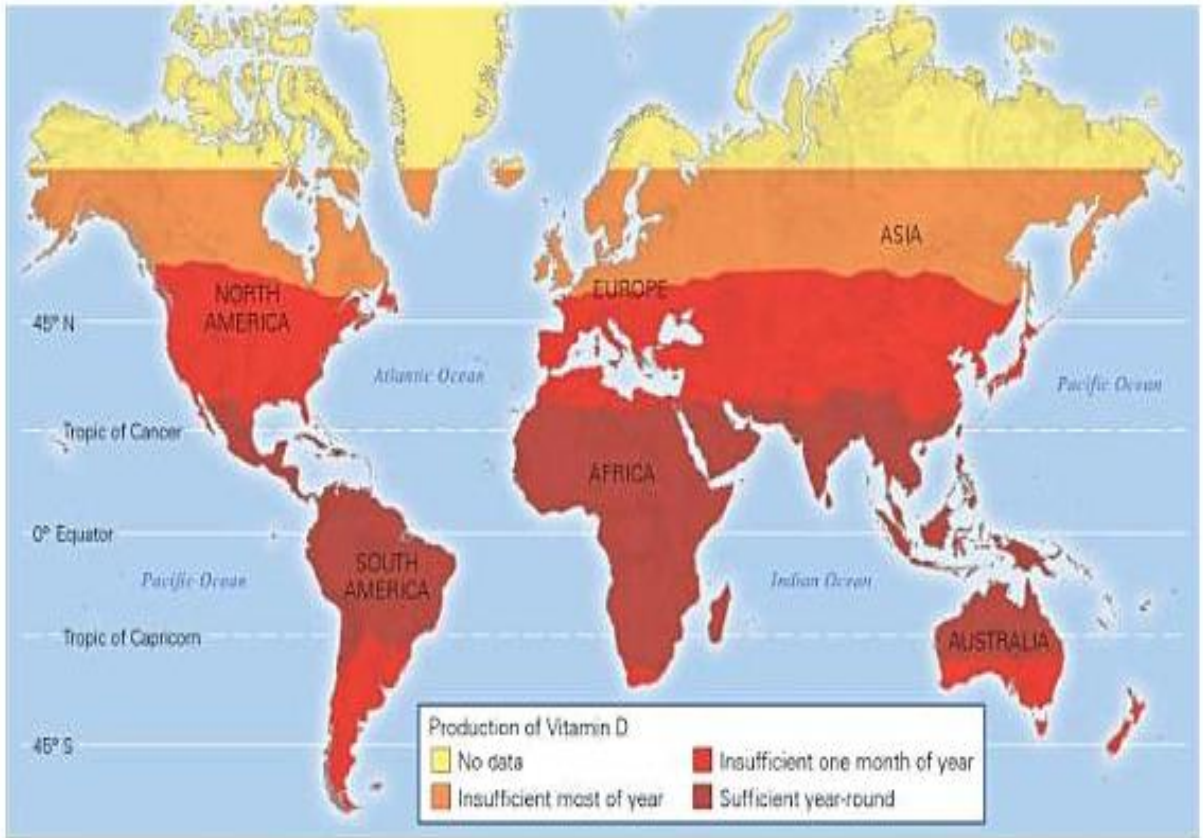
Ekvator'un (eşlek)  $23^{\circ} 27'$  kuzey ve güneyinden geçen enlemlerine **dönence** denir. Bu enlemlerden yeryüzünün kuzey yarısında olanına **Yengeç Dönencesi**, güney yarısındakine de **Oğlak Dönencesi** adı verilir. Yengeç Dönencesi 21 Haziran'da, Oğlak Dönencesi 21 Aralık'ta Güneş ışınlarını dik açı ile alır. Bu iki enlem arasındaki bölgeye **tropikal kuşak** (Zone 1) denir. Tropikal bölgedeki yerli halk yıl boyunca D vitamini sentezi için yeterli UV ışığı alır. Enlemlere göre Vitamin D sentez düzeyleri şekildeki gibidir (Şekil 8).

Ekvator'un (eşlek)  $66,5^{\circ}$  kuzey ve güney enlemlerine Kutup Daireleri denir. 21 Haziran'da Kuzey Kutup Dairesi'nde, 21 Aralık'ta Güney Kutup Dairesi'nde 24

saat gündüz yaşanır. Dönencelerle kutup daireleri arasındaki bölgeye orta kuşak (Zon 2) denir. Orta derecede melaninli derili Zon 2'deki halk yılda en az bir ay D vitamini sentezi için yeterli UV ışığını yılda en az bir ay yeterli alamamaktadır (Ülkemiz bu zondadır). 90 Kuzey ve Güney paralellere kutup noktaları denir. Buralarda bir yıl içinde 6 ay sürekli gündüz, 6 ay sürekli gece yaşanır.

Kutup dairelerinin  $66,5^\circ$  kuzey ve güney enlemleri ile Kuzey ve Güney kutupları arasında kalan bölgeye kutup kuşağı (Zon 3) denir. Zon 3 bölgesinde ise bütün yıl D vitamini sentezi için UV ışık yetersiz kalır.

Ekvator'dan, yaz ortasından ve öğle vaktinden uzaklaştıkça vitamin D sentez düzeyi azalır ama ılıman kuşakta günlük ihtiyaç kadar vitamin D sentezi hala mümkündür (75).



**Şekil 8: Yaşanılan enleme göre Vitamin D sentez düzeyleri**

## 2.8.Paratiroit Hormonu

### 2.8.1.Paratiroit Hormonun Yapısı

PTH, paratiroit bezleri içinde devamlı olarak sentez edilip salıverilen bir polipeptit hormondur.Paratiroid hormon molekülü 84 aminoasitten oluşur. Karaciğerde metabolize olarak N- ve C- terminal parçalarına ayrışır. Moleküldeki ilk 1-29 veya 1-34 amino asit, biyolojik aktiviteden sorumludur; sonraki 50 amino asitlik kısım, periferik dokularda yıkılma ve inaktivasyonun geciktirilmesinden sorumludur (76).

### 2.8.2.Paratiroit Hormonun Etkileri

PTH, cAMP üzerinden, kemik ve böbrekler üzerine direkt olarak, gastrointestinal traktus üzerine indirekt olarak etki gösterir. Bu etkiler;

1- PTH'un kemik üzerine direkt etkisi; prekürsör hücrelerin osteoblast ve osteoklastlara olgunlaşmasını, osteositik ve osteoklastik osteolizisi artırmak ve kollajen sentezini inhibe etmektir. PTH'un kemik üzerine indirekt etkisini böbrekte 1- $\alpha$  hidroksilaz aktivitesini artırarak ve dolaylı olarak 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> vitamini sentezini artırarak gösterir. Sentezlenen Vitamin D<sub>3</sub> kemikten Ca<sup>++</sup> mobilizasyonunu artırır. PTH'un kemik üzerine etkisiyle kemikten kalsiyum açığa çıkışı yani kemik rezorpsiyonu hızlanır.

2- PTH'un böbrekler üzerine direkt etkisi, distal tubuluslardan kalsiyum ve magnezyum geri emilimini, böbreklerden potasyum, fosfat ve bikarbonat atılımını, böbreklerde aktif vitamin D<sub>3</sub> oluşumunu artırmaktır; ayrıca H<sup>+</sup> ve NH<sub>4</sub><sup>+</sup> atılımını azaltır.

3- PTH'un gastrointestinal kanal üzerine etkisi indirektir. PTH böbreklerde aktif vitamin D<sub>3</sub> oluşumunu artırır, aktif vitamin D<sub>3</sub> de intestinal mukoza hücreleri tarafından kalsiyum ve fosforun emilimini artırır (76).

### 2.8.3.PTH salıverilişinin kontrolü

PTH, insan paratiroit bezinde depo edilmez; sentezlenir ve salıverilir.

1- PTH salıverilişi, plazma iyonize kalsiyum düzeyi ile ilişkili bir negatif feedback mekanizması ile kontrol edilir. Plazmada iyonize kalsiyum düzeyi düşünce

PTH salıverilişı artar; plazmada iyonize kalsiyum düzeyi yükselince PTH salıverilişı azalır.

2- Yüksek konsantrasyonda 1,25 dihidroksikolekalsiferol (kalsitriol, aktif vitamin D<sub>3</sub>), PTH sentez ve salıverilişini bastırır.

3- Hipofiz ve hipotalamusun, PTH salıverilişı üzerine etkisi yoktur (76).

### 2.9.Sitokinler

Çeşitli hücre tipleri tarafından üretilen ve salgılanan polipeptidler olan sitokinler, inflamasyon, hücre büyümesi, iyileşmesi ve yaralanmaya karşı sistemik yanıtı da içine alan bağışıklık ve inflamatuvar olayları düzenlerler. Sitokinler hormona benzemekle beraber tam olarak hormon değildirler. Sitokinlerin hedef hücreleri; salındıkları hücre (otokrin etki), yakınındaki hücre (parakrin etki) veya dolaşıma girmiş sitokinlerle uyarılan uzaktaki bir hücredir (endokrin etki).

Sitokinlere başlangıçta, sadece lenfositlerin sitokinlerin kaynağı olduğu sanıldığından “lenfokin” adı verilmiştir. Daha sonraları, monositlerin de bu faktörleri ürettiği anlaşılmış ve “monokin” ismi kullanılmıştır. Bugün bu mediatörlerin sadece lenfoid hücreler tarafından salgılanmadığı görülmüş ve “sitokin” ismi daha çok kullanılmaya başlanmıştır. Lökositler arasındaki haberleşmeyi düzenlemede görev yapan sitokinlere de “interlökin” adı verilmiştir (80).

Sitokinlerin birçok ortak özellikleri vardır. Bu ortak özelliklere değinilecek olunur ise sitokinler doğal ve spesifik immünitinin efektör fazında üretilirler ve inflamatuvar yanıtların oluşmasını ve düzenlenmesini sağlarlar. T hücrelerinden türeyen sitokinler yabancı antijenlerin özel olarak tanınmasını sağlamak üzere üretilirler. Birçok farklı hücre tiplerine etki ederler. Bu özelliğe pleotropizm denir. Aynı hedef hücrede farklı birçok etkileri vardır. Sitokinler diğer sitokinlerin sentezini ve birbirlerinin fonksiyonlarını etkileyebilir. Sitokinler diğer polipeptit hormonlarda olduğu gibi hedef hücrenin yüzeyindeki özel membran reseptörlerine bağlanarak etkilerini başlatırlar. Bu reseptörler transmembran proteinler olup, ekstrasellüler uzantıları vardır. Birçok sitokin reseptörünün ekspresyonu özel sinyaller tarafından üretilir. Birçok hedef hücre için sitokinler hücre bölünmesini düzenlerler yani büyüme faktörü gibi etki ederler (81).

### 2.9.1. Interlökin-1

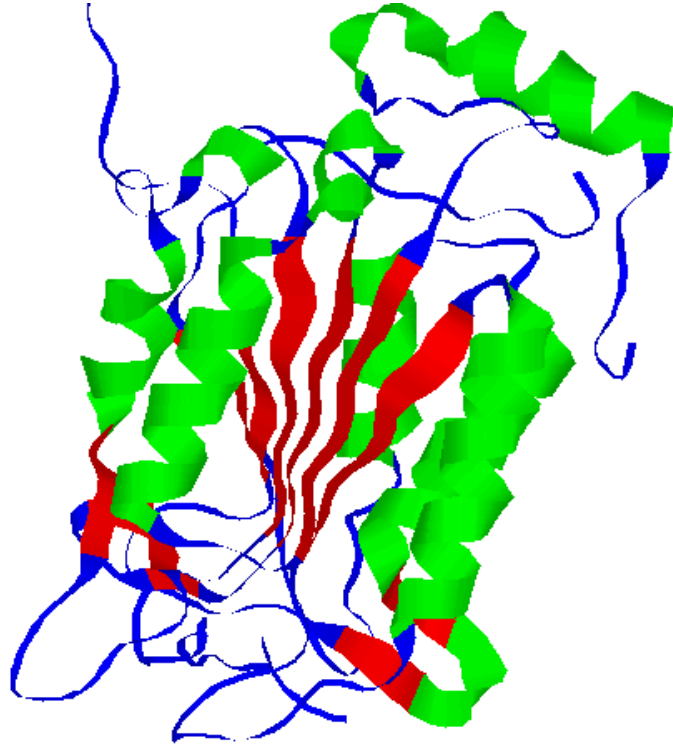
İnterlökin-1 (IL-1) iki farklı proteinden meydana gelmekte olup (şekil 9) bunlar IL-1 $\alpha$  ve IL-1 $\beta$ 'dir. İkinci kromozom üzerinde iki ayrı gen tarafından meydana getirilen IL-1  $\alpha$  ve IL-1  $\beta$ 'in antijenik yapıları farklı olmalarına rağmen biyolojik aktiviteleri ve etkinlikleri aynıdır. Monositler hem IL-1  $\alpha$  hemde IL-1  $\beta$  yapmalarına rağmen daha çok IL-1  $\beta$  yaparlar. Buna karşılık keratinositler daha çok IL-1  $\alpha$  yaparlar (82). İnterlökin-1, organizmada hemen hemen bütün hücreler tarafından yapılmakla beraber daha çok makrofajlar, keratinositler, endotel hücreleri, düz kas hücreleri, dendritik hücreler, fibroblastlar ve nötrofillerde de yapılmaktadır. Bazı hücrelerde IL-1 devamlı olarak yapılabilirse de mikroorganizmalar, LPS, muramil dipeptid gibi maddelerle uyarıdan sonra daha fazla IL-1 yapılmaktadır. T lenfositlerini uyaran ajanlar aynı zamanda makrofajları da uyurarak IL-1 oluşmasına neden olabilirler. Makrofajların uyarılması iki şekilde olabilir.

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

2- Antijenle karşılaşan T hücreleri, tümör nekroz faktör (TNF- $\alpha$ ), koloni uyarıcı faktör (CSF) ve interferon- $\gamma$  gibi çeşitli sitokinler salgırlar. Bunlarda makrofajları uyurarak IL-1 salgılanmasına neden olabilir. Amniyotik sıvı, deri ve beyin gibi dokularda herhangi bir uyarı olmadan da IL-1 salgılanabilir. Steroidler ve PGE<sub>2</sub> IL-1 oluşumunu engellerken, lipooksijenaz yolunda oluşan maddeler IL-1 salınımını uyarıcı etki gösterirler (83). IL-1'in etkili olabilmesi için hücre düzeyinde bulunan reseptörlere bağlanması gerekir. Reseptöre bağlandıktan sonra hücre içinde meydana gelen olayların gelişimi tam olarak bilinmemektedir. Bazı maddeler reseptör düzeyinde veya postreseptör düzeyinde IL-1 ile antagonist etki gösterirler. Bunlar arasında alfa melanosit uyarıcı hormon ( $\alpha$ -MSH), transforming growth faktör beta (TGF- $\beta$ ) ve kortikosteroidler sayılabilir.

İnterlökin-1 hücreler üzerinde daha çok koruyucu etkiye sahiptir ve bu etki kemik üzerinde daha belirgindir. IL-1, T hücrelerinden IL-2 salgılanmasını ve bu hücrelerin yüzeyinde IL-2 reseptörlerinin sayısını arttırarak da T hücrelerinin çoğalmasını sağlar. IL-1, antijen sunan hücrelerin kapasitesini arttırır. TNF- $\alpha$ , timositler için komitojen olarak da rol oynar ve IL-2 reseptörlerinin ortaya çıkmasını

sağlar. IL-1, B lenfositleri üzerindeki etkileri ile B lenfositlerinin proliferasyonunu, immünglobulin sentezini ve hücre yüzeyinde immün-globulin reseptörlerinin sayısını arttırmaktadır. IL-1 lokal nötrofil infiltrasyonuna, gecikmiş tipte hücrel hassasiyete, fibroplazi ve anjiyogenezise neden olur. IL-1'in derialtı enjeksiyonundan sonra lokal inflamatuvar reaksiyon oluşur ve bu reaksiyon enjeksiyondan bir saat sonra başlar ve 3-4 saatte maksimuma ulaşır. İnflamasyon bölgesinde önce nötrofiller damar boyunca sıralanır ve endotele yapışırlar. Daha sonra nötrofil infiltrasyonu ve dokulara mayi ekstravazasyonu oluşur. IL-1'in endotel hücresi üzerine etkisi sonucu ortamda TNF- $\alpha$ , prostaglandin, IL-6 ve prokoagulan aktivite meydana gelir. Bunun sonucunda lokal inflamasyon ve tromboz oluşur. Düşük dozda IL-1, TNF- $\alpha$  ile sinerjik etki göstermektedir. IL-1 ve TNF- $\alpha$  hipotalamusa etki ederek ateş, hepatositlere etki ederek de akut faz proteinlerin yapılmasına neden olmaktadır. IL-1 hipotalamusa etki ederek kortikotrop salgılatıcı faktörün (CRF) salınmasına neden olur. Bu da adrenal kortekse etki ederek steroidlerin salınımını sağlar ve steroidler de IL-1 ve TNF- $\alpha$ 'ün salınımını inhibe eder. Böylece IL-1'in negatif feedback etkisi ortaya çıkar (84). Glukokortikoidler B lenfositlerinde bulunan IL-1 reseptörlerinin sayısını arttırıcı etki gösterirler. Hem IL-1, hem de TNF- $\alpha$  osteoklastik aktiviteyi uyararak kemik turnover'ının artmasına neden olurken, aynı zamanda osteoblastlardan alkale fosfatazin salınımını arttırmaları. IL-1, fibroblast ve sinovial hücrelerin proliferasyonunu arttırıcı etki gösterir. IL-1, kemik iliği hematopoetik hücrelerine etki ederek hızlı proliferatif kapasite gösteren kolonilerin oluşmasına neden olurken, aynı zamanda kemik iliği stromal hücrelerine de etki ederek koloni stimüle edici faktörlerin yapılmasına neden olmaktadır. Hem IL-1, hem de TNF- $\alpha$  radyoprotektif etki göstermektedirler. IL-1 epitel hücrelerinin proliferasyonunu, tip IV kollajen ve interferon beta yapımını arttırır ve bu etkisi ile de antiviral etki gösterir (83). Protein kinaz aktivasyonu yoluyla önemli bir antiiskemik ve hematopoetik etkiye sahip bryostatın 1, IL-1 ile sinerjist bir şekilde kemik iliği stromal hücrelerinden G-CSF ve diğer sitokinlerin sekresyonuna neden olmaktadır (84).



**Şekil 9: Interlökin-1**

### **2.9.2.İnterlökin-2**

IL-2, 15.400 molekül ağırlığında bir protein olup 133 aminoasitten meydana gelir ve 4. kromozom üzerinde bulunan bir gen vasıtası ile yapılır (şekil 10). IL-2, T ve B lenfositlerin ve natural killer (NK) hücrelerinin proliferasyonunu ve sitokin oluşumunu artırır. İstirahat halindeki T hücreleri IL-2 mRNA'sı ihtiva etmez iken bu hücrelerin IL-2 meydana getirebilmeleri için antijen veya poliklonal T hücre aktivatörleri ile uyarılması gerekmektedir. IL-2 daha çok CD4+ hücrelerinden salgılanmakla birlikte CD8+ hücreleri, medüller timositler ve büyük granüllü lenfositlerden de salgılanabilir. İnterlökin-2, IL-2 reseptörlerine bağlanarak etki eder. İnterlökin-2 reseptörü iki polipeptid zincirinden meydana gelmekte olup alfa zinciri 75 kd, beta zinciri 55 kd ağırlığındadır. Beta zinciri interlökin-2'ye karşı düşük aktivite gösterir ve beta zincirine yapışan interlökin-2 hücreyi aktive edemez. Alfa zinciri ise IL-2'ye orta derecede affinite gösterir. Normal istirahat halindeki hücre yüzeyinde 500 ile 5.000 arasında alfa polipeptid zinciri bulunurken beta zinciri

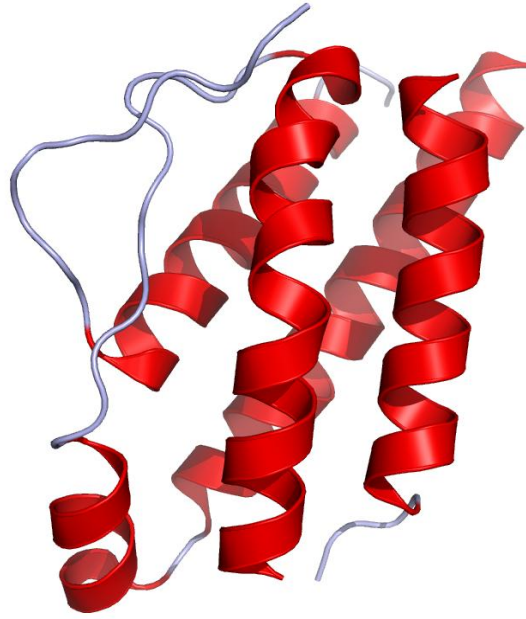
istirahat halindeki hücrede bulunmaz. Hücre aktive olduktan sonra beta polipeptit zinciri hücre yüzeyinde görülmeye başlar, alfa zincirlerinin sayısında da artma görülür ve böylece alfa ve beta zincirleri birleşerek yüksek afiniteli IL-2 reseptörünü meydana getirir. IL-2 reseptörleri meydana geldikten sonra yaklaşık 1 hafta süreyle hücre yüzeyinde kalırlar ve daha sonra kaybolur (85). Normal insan lenfositleri fitohemaglutin (PHA) ile uyarıldıktan 4 saat sonra IL-2 mRNA hücre içinde birikmeye başlar ve 12 saat içerisinde maksimal düzeye erişir ve daha sonra da aniden düşer. IL-2'nin yarı ömrü 1-2 saat kadar olduğundan IL-2 teşekkülü geçicidir. Ancak antijenle tekrar uyarıldıktan sonra yeniden IL-2 meydana gelir.

### **Interlökin-2'nin Etkileri**

Interlökin 2, T hücrelerinin proliferasyonunu sağlasa da bu etki istirahat halinde bulunan T hücrelerinde görülmez. T hücrelerinin IL-2'ye cevap vermesi için önce bir antijen veya mitojenle uyarılması gerekir ve bu şekilde T hücresi  $G_0$  fazından  $G_1$  fazına girer. Bu sırada yüzeyinde IL-2 reseptörü meydana gelir ve hücre aynı zamanda IL-2 salgılar. Meydana gelen IL-2 hücreye otokrin olarak etki ederek hücrenin proliferasyonuna neden olur. IL-2, T hücreleri, B hücreleri ve monositlerdeki spesifik reseptörlere bağlanarak etki gösterir. IL-2 monositler hariç diğer hücrelerin S fazına geçmesini sağlar, lenfokin salınımını stimüle eder ve makrofajların öldürücü kapasitelerini, immunoglobulin yapımını, büyük granüllü lenfositlerin natural killer aktivitesini artırır ve anjiogenezise neden olur. IL-2 reseptörleri yüksek afiniteli kompleksler olup, iki heterolog subüniteden meydana gelir. IL-2 reseptörleri geçici olarak eksprese edilir ve IL-2, antijen, TNF- $\alpha$  ve IL-4 tarafından meydana getirilir. IL-2 ayrıca hücrenin aracılık ettiği fonksiyonların artmasına da neden olur. IL-2R'nin P75 tipi yüksek affiniteli komplekslerin yapılarında ve daha az olarak istirahat halindeki T hücre veya büyük granüllü lenfositler üzerinde bulunur. IL-2R'nin P75 tipi yüksek affiniteli komplekslerin yapısında bulunur, IL-2 tarafından ekspresyonları artırılır. IL-2, TNF- $\alpha$ , IL-4 ve IL-6 tarafından indüklenir.

IL-2 büyük granüllü lenfositlere etki ederek, bu hücrelerin proliferasyonunu lenfokin salınımını ve fonksiyonlarını artırır. IL-2 daha yüksek konsantrasyonlarda B lenfositlerinin antikör yapımını ve proliferasyonunu sağlar. Monosit ve makrofajlar normalde düşük affiniteli P55 Tac antijenlerine sahip olduklarından bu

hücreler IL-2'ye duyarsızdır. Monosit ve makrofajlar lipopolisakkarit veya gama interferon ile muamele edildikten sonra bu hücrelerde yüksek affiniteli reseptörler meydana gelir. Bu hücreler IL-2 ile etkileştikten sonra hücrelerin tümörosidal aktivitelerinde artma olduğu gibi, granulosit-makrofaj koloni uyarıcı faktör (GM-CSF) ve granulosit koloni uyarıcı faktör (G-CSF) genlerinde de aktivasyon oluşur (86).

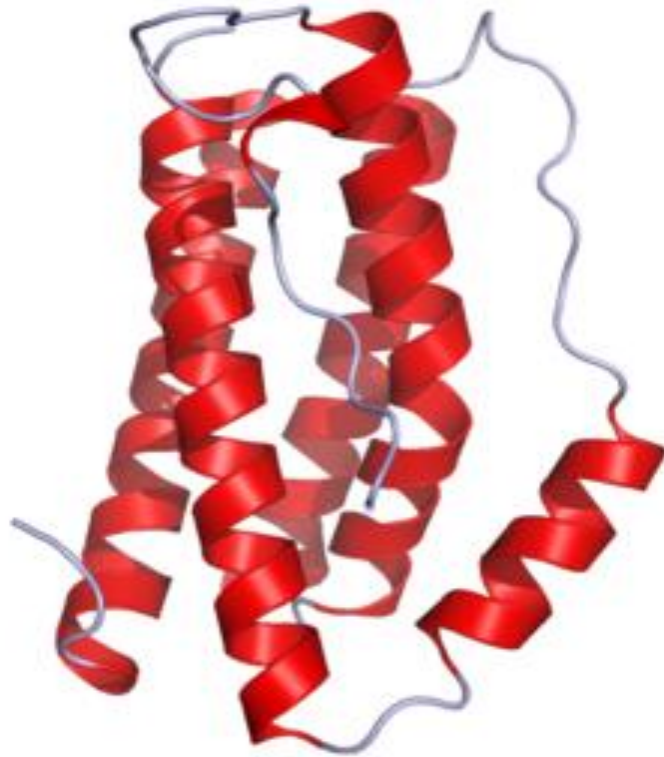


**Şekil 10: Interlökin-2**

### **2.9.3. Interlökin-6**

Interlökin-6 (IL-6) ilk olarak preaktivasyon halindeki normal insan lenfositleri ve Epstein Barr virüsü tarafından transformasyona uğratılmış B lenfositler tarafından immunglobulin salgılatan bir faktör olarak tanımlanmıştır. 26 kd ağırlığında olup 184 aminoasitten oluşur (Şekil 11). Başlıca T ve B lenfositler, monositler, fibroblastlar, keratinositler, endotelyal hücreler, astrositler, kemik iliği stromal hücreleri ve mezenkimal hücreler tarafından sentez edilir. Lenfosit, monosit, mesane ve akciğer hücreleri tarafından oluşturulabildiği gibi kardiyak miksoma, myeloma ve hipernefroma gibi tümör hücrelerince de oluşturabilmektedir (87).

Interlökin 6, B hücre stimulator faktör II (BCSF-II), interferon- $\beta_2$  (INF- $\beta_2$ ), myeloma/plazmasitoma büyüme faktör, hibridoma büyüme faktör (HBF), hepatosit stimule edici faktör, B hücre farklılaştırıcı faktörü (BHFF) ve sitotoksik T hücre farklılaştırıcı faktörü olarak da adlandırılır (88). IL-1, TNF- $\alpha$ , PDGF, IFN- $\beta$  ve sikloheksimid IL-6 gen ekspresyonunu artırıcı etki oluşturur. Glukokortikoidler, IL-6 gen belirmesini negatif olarak etkilerler. Interlökin 6, B lenfositlerin antikor yapabilmesi için gerekli temel faktörlerden biridir ve poke-weed mitojen ile uyarılmış lenfositlerin IgG, IgM, IgA yapan plazma hücrelerine dönüşümünü artırır. IL-6 reseptörleri istirahat halindeki B lenfositlerinde bulunmazken istirahat halindeki T lenfositlerinde bulunmaktadır. Bu özellik IL-6'nın B lenfositlerin son dönemine etkili olduğunu gösterir. IL-2 reseptör ekspresyonunu artırarak timosit ve dalak T lenfositlerden sitotoksik T lenfosit oluşmasını indükler. Hücre kültürlerinde IL-3 ile beraber sinerjistik etki gösterir ve ayrıca makrofajlarda C3b, Fc gamma reseptör belirginleşmesi ve fagositozu artırıcı etki gösterir.



**Şekil 11: Interlökin-6**

#### **2.9.4.Tümör Nekroz Faktör- $\alpha$**

Tümör nekroz faktör (kaşektin) polipeptid yapıda geniş biyolojik etki spektrumlu bir hormondur. İlk olarak 1975 yılında Carswell ve ark. tarafından endotoksin (lipopolisakkarid) verilen farelerin serumlarında tümör dokusunda nekroza yol açan bir mediatör olarak tanımlanmıştır (89). 1986 yılında Beutler ve Cerami tümör nekroz faktörünün mononükleer fagositlerden endotoksin ve diğer mikrobial ürünlerin aktivasyonu sonucu salındığını göstermişlerdir. 1989 yılında Tracey ve arkadaşları Gram(-) septik şoktaki letal etkisini göstermişlerdir (89). Sonraki yıllarda septik nedenli olmayan iskemilerde de rolü olduğu savunulmuştur. 1990 yılında Colletti ve arkadaşları karaciğer iskemisinde, 1992 yılında Squadrito ve arkadaşları barsak iskemisinde ve buna bağlı doku zedelenmesinde önemli bir rol oynadığı üzerinde durmuşlardır (90). TNF- $\alpha$ 'nın doku kültürlerinde bazı tümör hücreleri üzerinde sitosidal ve sitostatik etkisi de gözlenmiştir. TNF- $\alpha$ 'nın konakçı savunmasında, immünitede, doku homeostazisinde, infeksiyonlarda doku zedelenme ve inflamasyonda rol oynadığı savunulmaktadır.

#### **Tümör Nekroz Faktör- $\alpha$ Sentezi**

Makrofajlar, T ve B lenfositler, keratinositler, fibroblastlar, endotel hücreleri, astrositler TNF- $\alpha$  üretebilen hücreler arasında sayılmasına karşın, TNF- $\alpha$  başlıca monosit-makrofaj tarafından üretilmektedir. Bu hücreleri TNF- $\alpha$  üretmek üzere uyaraabilen etkenler arasında; PMA (phorbol myristate acetate), lipopolisakkarid, sendai virüs, MDP (muramyl dipeptide), tümör hücreleri, mycoplazmalar ve BCG sayılabilir. T lenfositler, antijenler veya mitojenler yoluyla TNF- $\beta$  üretmek üzere stimule edilebilirler, ancak lenfositler ve naturel killer ( NK ) hücreler de bir miktar TNF- $\alpha$  üretebilir. Bir grup endojen mediatör de aktif TNF- $\alpha$  uyarıcılarıdır. Bunlar IL-3, IL-1, TNF- $\alpha$  'nin kendisi, GM-CSF, CSF-1, lökotrien B4, Platelet Activating Factor (PAF) ve lipopolisakkarid birlikteliğinde interferon gamma (INF- $\gamma$ )'dan oluşmaktadır.

#### **Tümör Nekroz Faktör- $\alpha$ Etki Mekanizması**

TNF- $\alpha$  reseptör kompleksi, hedef hücrede birçok biyolojik aktivitenin başlamasına neden olur. TNF- $\alpha$  reseptörü, 300 kDa moleküler ağırlığında bir

proteindir ve iki alt ünitelerden oluşur (91). Bu alt ünitelerden Fas antijeni olarak adlandırılan kısım, TNF- $\alpha$ 'yı bağlamaz. Sağlıklı canlıların idrarında TNF- $\alpha$ 'ya çok benzeyen solubl bir reseptöre rastlanıldığı bildirilmektedir. Bu form hücre yüzey reseptörlerine bağlanmada TNF- $\alpha$  ile yarışarak inhibitör görevi görüyor olabilir. TNF- $\alpha$ , reseptörü ile bağlandıktan sonra G protein sistemi aracılığıyla ikincil aktive eder (85). Değişik hedef hücrelerde TNF- $\alpha$  ile etkileşimden sonra fosforilasyon reaksiyonlarında hızlı bir artış gözlenir. TNF- $\alpha$  intraselüler cAMP birikmesine ve protein kinaz A'nın aktivitesinin artmasına yol açar. TNF- $\alpha$ 'nın protein kinaz C üzerindeki aktivitesi hücreye spesifiktir. TNF- $\alpha$  vasküler hücrelerde fosfolipaz A ve PAF sentezini artırmaktadır. Bazı serbest radikaller, özellikle süperoksit (O<sub>2</sub>)<sup>-1</sup> ve hidroksil (OH)<sup>-1</sup> gibi reaktif O<sub>2</sub> derivelerinin ve nonradikal hidrojen peroksitin (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), TNF- $\alpha$ 'nın bazı etkilerinden sorumlu olduğu düşünülmektedir (91). Serbest oksijen radikalleri damar geçirgenliğini artırarak ödeme neden olur. TNF- $\alpha$  ile aktive olan hücrelerin fonksiyonlarında çeşitli değişiklikler gözlenir. Monosit, fibroblast ve endotel hücreleri gibi TNF- $\alpha$  ile stimüle olan hücreler koloni stimüle edici faktörleri salgırlar. TNF- $\alpha$ 'nın bir etkisi de kan damarları üzerinedir (92). Endotel hücreleri de TNF- $\alpha$ 'ya çok duyarlıdır. Endotel dokusu ve kan ile temasta çok önemli konuma sahiptir. Bir yandan lökosit artışını, diğer yandan da hemostatik ve trombotik sistemi kontrol eder. TNF- $\alpha$ , endotel hücreleri üzerinde önemli bir düzenleyici etki göstermektedir. Lökosit adezyon moleküllerini indükler ve prokoagulan maddelerin sentezini artırır ve protein C sentezini baskılar. TNF- $\alpha$ 'nın etkisiyle düz kaslarda IL-1 üretimi ve prostaglandin salınımı aktive olmaktadır (92).

### **Tümör Nekroz Faktör- $\alpha$ ' nın Etkileri**

TNF- $\alpha$ 'nın oldukça zengin ve çeşitli biyolojik etkileri vardır. Bu etkiler *kaşeksi*, endotoksik şok, inflamasyon, dokunun yeniden şekillenmesi, infeksiyon ve immünite, sitotoksitedir.

**1-** TNF- $\alpha$ 'nın yapımındaki inatçı artışla kaşeksinin görüldüğü bilinmektedir. Adipositler ve iskelet kası hücrelerinin TNF- $\alpha$  ile inkübasyonundan sonra katabolizmanın, lipolizin ve glikojenolizisin arttığı gösterilmiştir. TNF- $\alpha$  tüm vücudun enerji tüketimini, lipolizi ve protein döngüsünü artırırken, diğer yandan da iştahsızlık ve anemi yaparak total vücut kitlesinin kaybına yol açar. Kaşektik olan

kanserli hastalarda, kalp yetersizliği, AIDS ve parazitik infeksiyonu olan hastalarda serum TNF- $\alpha$  düzeyinin yüksek olduğu gözlenmiştir.

**2-** TNF- $\alpha$ 'nın akut sistemik salınımının septik şok patogeneğinde önemli rol oynadığı savunulmaktadır. TNF- $\alpha$ 'nın salınımı, ateş, myalji, kusma ve başağrısıyla korelasyon göstermektedir. Monoklonal anti-TNF- $\alpha$  antikorları letal etki gösteren endotoksin injeksiyonlarından sonra farelere verildiğinde bu etki azalmaktadır. TNF- $\alpha$ 'nın yüksek serum düzeyleri, meningokok infeksiyonunda, serebral malaryada ve Gram (-) purpura fulminansda mortalite artışı ile ilişkilidir (91) .

**3-** TNF- $\alpha$ , monosit ve nötrofiller için kemotaktik bir ajandır. Fagositozu, endotele yapışmayı, süperoksit türevlerinin salınımını ve insan endotel doku kültürlerinde prokoagulan aktiviteyi uyarmaktadır. TNF- $\alpha$  ile birlikte yapı olarak farklı ancak benzer biyolojik aktivitelere sahip 17 kDa moleküler ağırlığında başka bir sitokin olan IL-1 de, endotel hücrelerinden, bu hücrelere yeni fonksiyonlar kazandıran proteinlerin salınımına yol açmaktadır. İnvivo olarak bu sitokinler, endotel yüzeyinde fibrinojen ve trombin gibi endotel hücre kontraksiyonuna yol açan ajanların salınımında öncülük yaparak koagülasyonu başlatmaktadır. TNF- $\alpha$ , prostasiklin (PGI<sub>2</sub>), endotel kaynaklı damar genişletici faktör (EDRF) ve PAF sentezini stimüle etmektedir. Böylece erken dönemde vazodilatasyondan ve lökositlerin damarda birikmesinden sorumludur (91). Direkt olarak damar geçirgenliğini arttırmaktadır. PAF'ın erken dönemde (30 dakikada) nötrofillerin endotele yapışmasında etkili olduğu söylenmektedir. TNF- $\alpha$  direkt olarak endotelde zedelenme yapmaz. Endoteli lökositlerin zedeleyici etkisine karşı duyarlı kılar. TNF- $\alpha$  endotel hücrelerinde intrasellüler adezyon molekülleri (ICAMs) ve endotel lökosit adezyon molekülleri (ELAM-1) sentez ve salınımını da artırmaktadır. ELAM-1, 110 kDa moleküler ağırlığında nötrofil ve monositleri bağlayan endotel hücre yüzeyinde bulunan glikoproteindir. TNF- $\alpha$  aynı zamanda IL-8 denilen düşük molekül ağırlıklı sitokinin sentez ve salınımına da neden olmaktadır. IL-8, nötrofil hareketlerini, kemotaksisi ve degranülasyonu uyarmaktadır. TNF- $\alpha$  kemotaktik protein (MCP-1) denilen bir proteinin endotel hücrelerinden salınımına yol açar. MCP-1, inflamatuvar dokuda lenfosit ve monositlerin yapışmasından sorumludur. TNF- $\alpha$ , IL-1 ve IFN- $\gamma$  benzer etkiler gösterir. Ayrıca indüklenebilen hücre adezyon molekülü (inducible cell adhesion molecule-ICAM-110 ) ve vasküler hücre

adezyon molekülü (vascular cell adhesion molecule-VCAM-1) salınımında artırır. INCAM-110 ve VCAM-1 inflamasyonun geç fazında (12-24 saat) görev yaparlar. Bu ELAM-1'in azalmaya başladığı dönemdir. Majör histokompatibilite (MHC) antijenlerinin endotel hücrelerinden açığa çıkması, bu hücreleri duyarlılaşmış T hücreleri için antijen sunucu veya hedef hücre haline getirmektedir. TNF- $\alpha$  serum düzeyi ve lokal artışı, romatoid artrit, renal allogreft rejeksiyonu ve Graft Versus hastalığı gibi durumlarda gözlenmektedir (93).

**4-** Dokuların yeniden şekillenmesinde TNF- $\alpha$ 'nın etkisi olduğu bildirilmiştir. TNF- $\alpha$  ve TNF- $\beta$  kırık ve kemik rezorpsiyonunda önemli rol oynar. TNF- $\alpha$  proteoglikan sentezini inhibe eder. Proteoglikan kaybı bazı eklem hastalıklarında kendini kırık fonksiyonlarının bozulmasıyla gösterir. TNF- $\alpha$ , fibroblast ve mezenkimal hücre proliferasyonunu direkt olarak uyararak sağlam ve inflamatuvar dokuların yeniden şekillenmesinde büyüme faktörü etkisi yapar. TNF- $\alpha$  ayrıca aynı görevi yapan sitokinlerin de salınımını uyarır. TNF- $\alpha$ , epidermal büyüme faktörünün mitojenik etkisini ve bu faktöre duyarlı hücre yüzey reseptörlerini artırmaktadır. TNF- $\alpha$  neoanjiogenezis için promotor görevi yapmaktadır (91).

**5-** TNF- $\alpha$  fagositozu aktive eder. Sonuçta nötrofillerin süperoksit anyon üretimini ve degranulasyonunu dolayısı ile mikrop öldürücü etkilerini artırır. İn vitro olarak TNF- $\alpha$  'nın anti-şistozomal, anti-mikobakteriyel ve anti-viral etkileri vardır. T-lenfositlerde hücre aktivasyonuna yol açar ve IL-2 bağımlı T hücrelerinin proliferasyonunu artırır. Ayrıca IL-1, IL-6, interferon- $\gamma$  (INF- $\gamma$ ), TGF (transforming growth faktör), GM-CSF (granulocyte monocyte colony stimulating factor) ve PDGF (platelet derived growth factor) gibi sitokinlerin yapımını artırır. Bazı çalışmalarda TNF- $\alpha$ 'nın kronik B hücre malignansilerinde otokrin bir büyüme faktörü etkisi yaptığı gösterilmiştir.

**6-** TNF- $\alpha$ , apoptozise ve nekrotik hücre lizisine yol açmaktadır. Bazı kanser hücreleri TNF- $\alpha$ 'nın sitotoksik etkisine duyarlı iken bazıları tamamen duyarsızdır (91).

### 3. GEREÇLER VE YÖNTEMLER

Çalışmamıza T.C. Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Komitesinden alınan 26.05.2010-23 tarih ve sayılı izin ile başlandı.

Çalışmaya Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Endokrinoloji Polikliniginde Nisan 2010-Eylül 2010 tarihleri arasında takip ve tedavi edilen, 18-65 yaş arasında olan, anti-GAD ve/veya ICA otoantikörleri mevcut olan 30 adet Tip1 diyabet hastası ve 30 Tip2 diyabet hastası (ADA 2003 kriterlerine göre) dahil edildi. Ayrıca hasta gruplarının yaş ve cinsiyeti ile uyumlu herhangi bir sağlık sorunu olmayan gönüllü kişiler arasından 30 kişilik kontrol grubu oluşturuldu. Kontrol grubundan ve Tip1 ve Tip2 diyabet hastalarından Jelli biyokimya tüplerine alınan kanlar yarım saat bekletildikten sonra 6500 rpm'de 5 dakika santrifüj edilerek serumları ayrıldı ve analiz edilinceye kadar – 80 °C'de derin dondurucuda saklandı.

#### 3.1. Anti-glutamik asit dekarboksilaz antikoru (GADA) ve adacık hücre antikoru (ICA) analizleri:

**Glutamik asit dekarboksilaz antikoru** jelli biyokimya tüplerine alınan kanlardan Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Merkez Laboratuvarında (EUROIMMUN Medizinische Labordiagnostika AG) ticari kitleri kullanılarak DSX Automated System cihazında enzyme-linked immunosorbant assay (ELİSA) yöntemiyle ölçüldü. Bu ölçüm için aşağıdaki sıra takip edildi.

**1-** Hasta serumundan ve standart serumdan 25µl alınarak antijen ile kaplanmış pleytlere konur,

**2-** Pleytlere 100 µl biyotin işaretli GAD enzimi ve GAD tamponu eklenerek dilüe edilir. 1 saat inkübasyondan sonra yıkama tamponu ile üç kez yıkandı.

**3-** Pleytlere 100 µl enzim konjugat (HRP-işaretli avidin) ekleyerek 25 dakika inkübasyondan sonra yine üç kez yıkama tambonu ile yıkandı.

**4-** Pleytlere 100 µl kromojen substrat ekleyerek 25 dakika inkübasyondan sonra yine yıkama tambonu ile üç kez yıkarız.

**5-** Pleytlere stop solüsyon konuldu ve DSX Automated System cihazında okutuldu. Anti-GAD pozitif yada Anti-GAD negatif şeklinde sonuç alınır.

**İnsulitis adacık hücre antikoru (ICA)** jelli biyokimya tüplerine alınan kanlardan Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Merkez Laboratuvarında Viroimmun Labor diagnostika ticari kitleri kullanılarak Floresans mikroskopta Floresan immünoassay (İFA) tekniği ile ölçüldü. Bu ölçüm için aşağıdaki basamaklar takip edildi

1. PBS tampon içeriğini 1 litre suyla karıştırarak PH'sı 7.3-7.6'lık PBS tampon hazırlandı.

2. Hasya serumundan 20 µl alınıp üzerine 200 µl PBS tampon ile dülüe edildikten sonra vorteks ile karıştırıldı.

3. Karışımdan 100 µl alarak kuyucuklarında ADA preparatlarının olduğu pleytlere ilave edilerek oda sıcaklığında iki saat inkübasyona bırakılır, sonra PBS tamponuyla 5 dakika yıkandıktan sonra kurutulur.

4. Kuyucuğa FITC (**Fluorescein isothiocyanate**) anti-human konjugat eklenerek oda sıcaklığında 30 dakika bekletildikten sonra PBS tambon ile yıkanır.

5. Kuyucuğa glisin eklenip üzeri lamel kapatılarak Floresans mikroskopta değerlendirildi. ICA pozitif yada ICA negatif şeklinde sonuç alındı.

### **3.3.Serum D vitamini (25 (OH) Kolekalsiferol) ve HbA<sub>1c</sub> analizleri:**

**Serum D vitamini** değerleri tam kan tüplerine alınan kanlardan Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim dalı Moleküler Tanı Laboratuvarında High-performance liquid chromatography tekniği ile, Shimadzu HPLC cihazında vitamin D düzeyi ölçüldü. Vitamin D (25 (OH) Kolekalsiferol) değerleri µg/l olarak hesaplandı. Referans değeri olarak kış ayları için: 10–60 µg/l, yaz ayları için 20–120 µg/l olarak kabul edildi.

1. Hastalardan alınan kanlar öncelikle enjeksiyona hazırlanır, bunun için 500 µl hasta plazması ve 50 µl internal standart karıştırılarak 5 saniye vortekslendi.

2. Karışıma 500 µl precipitasyon Reagent eklenerek 30 saniye vortekslendikten sonra +2-8 C°'de 10 dakika inkübasyona bırakıldı.

3. Karışım 13000 rpm'de 10 dakika santrifujlendikten sonra sample clean up kolona alınır. Sonra karışım 1500 rpm'de 2 dakika santrifujlendikten sonra eluent atıldı.

4. Kalan karışıma 2 ml yıkama tamponu-I eklenip ve 2500 rpm'de 1 dakika santrifujlendikten sonra eluent atıldı.

5. Karışıma 75 µl yıkama tamponu-II eklenip ve 1500 rpm'de 1 dakika santrifujlendikten sonra eluent atıldı.

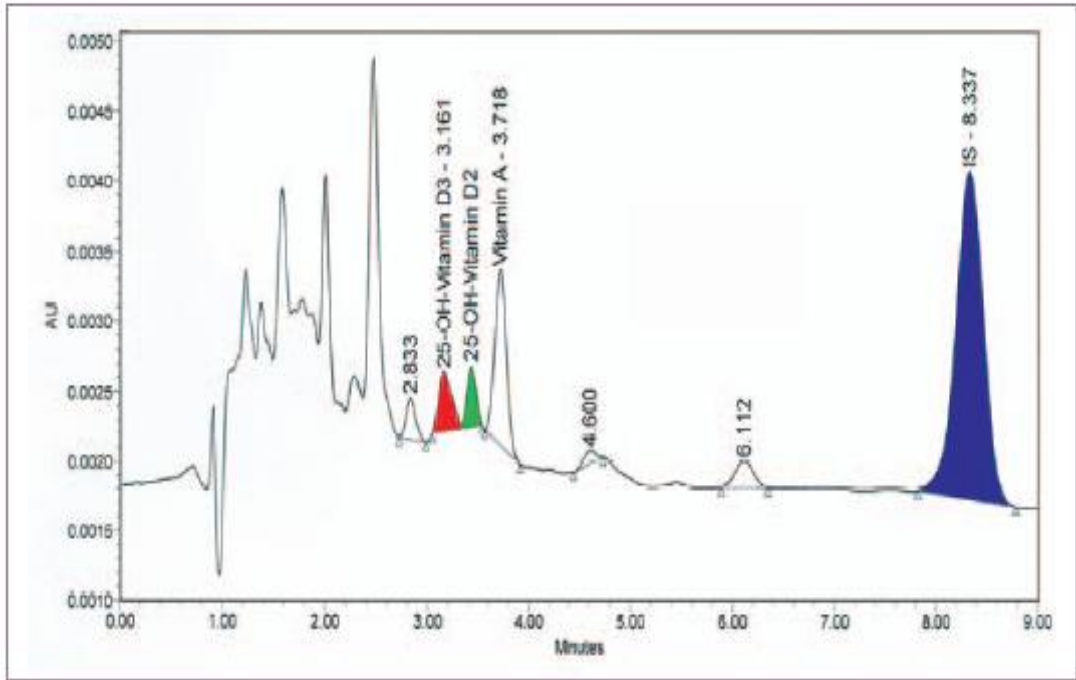
6. Sample clean up kolon temiz bir tüpe alındı.

7. Karışıma 200 µl elüsyon tampon eklenip ve 1500 rpm'de 1 dakika santrifujlendikten sonra eluent alındı ve örnek enjeksiyona hazırlandı.

8. Cihazın pompasını, kolon fırını ve (25(OH) Kolekalsiferol) dedektörü açılır.

9. Cihaza (25 (OH) Kolekalsiferol) kolonunu takılır, CBM ünitesi ve bilgisayar açılır.

10. Standart çözeltinin okutulması ile hazırlanan kalibrasyon eğrisine göre kontrol çözeltileri okutulur, uygun aralıktaysa numuneler de okutulur.



**Grafik 1: HPLC cihazında vitamin D düzeyi ölçülürken oluşan pikler.**

**HbA1c** değerleri tam kan tüplerine alınan kanlardan Merkez Laboratuvarında High-performance liquid chromatography tekniği Agilent 1100 HPLC cihazında %

değer şeklinde ölçüldü. Ölçümde normal sınırlar % 4,4-5,7 referans aralığındaydı. Bu ölçüm için aşağıdaki sıra takip edildi.

1. İlk olarak antikoagulan 0,1mM Etilen diamin tetra asetik asit (EDTA) ve tampon çözelti 25 mM Tris HCl alınıp balon jode 500 ml distile su ile karıştırılarak PH=8,7 olan Hemolizat hazırlanır.

2. Kuyucuğa 1 ml hemolizat ve 5µl tam kan ilave edilerek pipetaj ile eritrositler parçalanır.

3. Karışım 37,2 C°'de 20 dakika inkübasyona bırakılır.

4. Inkübasyon sonunda örnek Agilent 1200 HPLC cihazına yüklenerek okutulur.

### 3.2.Serum Parathormon ve c-peptid analizleri:

**Parathormon** değeri jelli biyokimya tüplerine alınan kanlardan Merkez Laboratuvarında electrochemiluminescent tekniği ile Modular E-170 cihazında 15-65 pg/mL referans aralığında ölçüldü. Ölçüm için sıralama aşağıdaki gibidir.

1. Hasta serumundan 50 µl alınarak PTH'ye spesifik biyotinli monoklonal antikor ve rutenyum kompleksi ile işaretlenmiş PTH'ye spesifik monoklonal antikor ile inkübe edilerek sandviç kompleksi oluşturulur.

2. Karışıma Streptavidin-kaplı mikropartiküller eklendikten sonra biyotin ile streptavidin etkileşimi aracılığıyla kompleks katı faza bağlı hale gelir.

3. Reaksiyon karışımı mikropartiküllerin elektrodun yüzeyinde manyetik olarak tutuldukları ölçüm hücresi içine aspire edilir. Daha sonra bağlanmamış maddeler ProCell ile uzaklaştırılır.

4. Elektrod üzerine voltaj uygulanması electrochemiluminesans emisyonuna neden olup, bu bir foton sayıcı ile ölçülür.

5. Sonuçlar iki noktalı kalibrasyon eğrisi ve reaktif barkodu aracılığıyla edinilen bir ana eğri ile tayin edilir

**C-peptit** değeri jelli biyokimya tüplerine alınan kanlardan Merkez Laboratuvarında electrochemiluminescent tekniği ile Modular E-170 cihazında 0,003-13,3 nmol/L referans aralığında ölçüldü.

1. 20 µl Hasta serumu ile Anti-C-peptid-Ab-biyotin ve Anti-C-peptid-Ab-Ru karıştırılarak sandviç kompleks oluşturulur.

2. Karışıma Streptavidin kaplı mikropartiküller eklenerek biyotin ve streptavidin etkileşimi aracılığı ile kompleks katı faza bağlı hale gelir.

3. Reaksiyon karışımı mikropartiküllerin elektrodun yüzeyinde manyetik olarak tutuldukları ölçüm hücresi içine aspire edilir. Daha sonra bağlanmamış maddeler ProCell ile uzaklaştırılır.

4. Elektrod üzerine voltaj uygulanması electrochemiluminesans emisyonuna neden olup, bu bir foton sayıcı ile ölçülür.

5. Sonuçlar iki noktalı kalibrasyon eğrisi ve reaktif barkodu aracılığıyla edinilen bir ana eğri ile tayin edilir

**3.3. Serum Sitokin analizleri:** Jelli biyokimya tüplerine alınan kanlardan Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Merkez Laboratuvarında IL-2R düzeyleri Immulite 1000 IL-2R kiti ile solit faz iki yönlü chemiluminescent immunometrik assay tekniği ile Siemens firmasının Immulite 1000 cihazında, 200-1000 U/mL referans aralığında ölçüldü. Jelli biyokimya tüplerine alınan kanlardan Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Merkez Laboratuvarında IL-6 düzeyleri Immulite 1000 IL-6 kiti ile solit faz enzim-labelet chemiluminescent sequensiyel immunometrik assay tekniği ile Siemens firmasının Immulite 1000 cihazında 0-12 pg/mL referans aralığında ölçüldü. Jelli biyokimya tüplerine alınan kanlardan Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Merkez Laboratuvarında TNF- $\alpha$  düzeyleri Immulite 1000 TNF- $\alpha$  kiti ile solit faz chemiluminescent immunometrik assay tekniği ile Siemens firmasının Immulite 1000 cihazında 4-10 pg/mL referans aralığında ölçüldü.

### 3.4. İstatistiksel Analiz

Çalışmada elde edilen bulgular değerlendirilirken, istatistiksel analizler için SPSS (Statistical Package for Social Sciences) for Windows 16 programı kullanıldı. Elde edilen sonuçlar % 95'lik güven aralığında, anlamlılık  $p < 0,05$  düzeyinde değerlendirildi. Olgulara ait tüm parametrelerin sonuçları aritmetik ortalama +/- standart sapma olarak verildi.

İlk olarak verilerin normal dağılım analizi için Kolmogorov-Smirnov testi uygulandı. Yaş ( $P > 0,05$ ), D vitamini ( $P > 0,05$ ) ve TNF- $\alpha$  ( $P > 0,05$ ) değerlerinin normal dağılım gösterdiği, HbA<sub>1c</sub> ( $P > 0,05$ ), C-peptit ( $P < 0,05$ ), PTH ( $P < 0,05$ ), IL-2

( $P < 0,05$ ) ve IL-6 ( $P < 0,05$ ) değerlerinin normal olmayan dağılım gösterdiği görüldü. İkinci olarak aynı verilerin varyans homojenite analizi için Levene's F-test uygulandı. Yaş ( $P > 0,05$ ) ve IL-6 ( $P > 0,05$ ) varyanslarının homojen olduğu, diğer tüm parametrelerin varyanslarının homojen olmadığı görüldü.

Bu sonuçlardan dolayı tüm parametrelerde (HbA<sub>1c</sub>, C-peptit, D vitamini, PTH, IL-2, IL-6 ve TNF- $\alpha$ ) üç deney grubunun karşılaştırılmasında nonparametrik Kruskal Wallis testi, ikili grupların karşılaştırılmasında nonparametrik Mann-Whitney U-testi yapıldı.

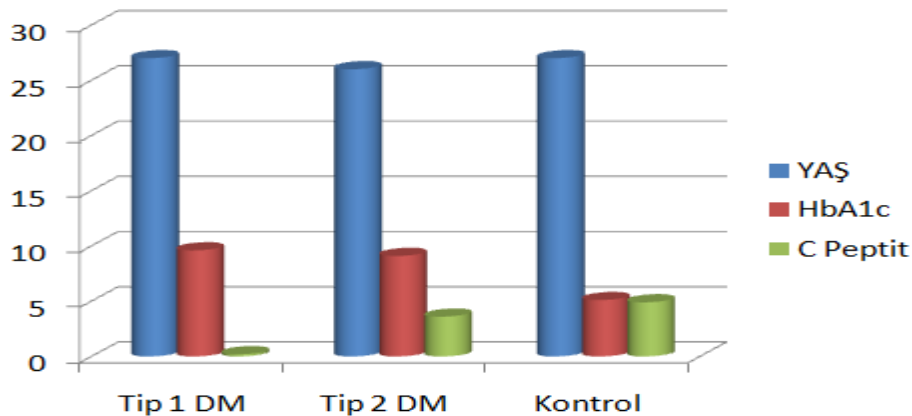
#### 4. BULGULAR

##### 4.1. Serum Anti-glutamik asit dekarboksilaz antikorlu (GADA) ve adacık hücre antikorlu (ICA) ,Yaş, HbA<sub>1c</sub> C-peptit analiz Sonuçları:

Bu çalışmada Anti-GAD ve ICA otoantikorları mevcut olan 30 adet Tip1 DM hastası ile ADA 2003 kriterlerine göre Tip2 DM tanısı konmuş, 30 hasta ve sağlık sorunu olmayan 30 donör'ün GADA, ICA, yaş, HbA<sub>1c</sub> ve C-peptit paramerelerinin sonuçları aritmetik ortalama +/- standart sapma olarak tablo 1'de verildi. Tip1 DM, Tip2 DM ve Kontrol gruplarının Yaş, HbA<sub>1c</sub> ve C-peptit paramerelerinin aritmetik ortalama sonuçları grafik 1'de sunuldu.

**Tablo-1. Her üç grubun GADA, ICA, Yaş, HbA<sub>1c</sub> ve C-peptit parametrelerinin aritmetik ortalama +/- standart sapma sonuçları**

	Kontrol	Tip1 DM		Tip2 DM	
<b>GADA</b>	(-)	(+)	P<0.001	(-)	P>0.05
<b>ICA</b>	(-)	(+)	P<0.001	(-)	P>0.05
<b>YAŞ</b>	27±6	27±8	P>0,05	26±8	P>0,05
<b>HBA1c (%)</b>	5.1±0.4	9.6±2.6	P<0.001	9.1±2.5	P<0.001
<b>C-PEPTİD(nmol/L)</b>	4,947±0,19	0,181±0,09	P<0,001	3,630±0,43	P>0,05



**Grafik 2: Her üç grubun Yaş, HbA<sub>1c</sub> ve C-peptit paramerelerinin aritmetik ortalama sonuçları**

Tip1 DM, Tip2 DM ve Kontrol grubu arasında yaş parametresi açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktu ( $P>0,05$ ). HbA<sub>1c</sub> parametresi açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık vardır ( $P<0,001$ ).

Yaş parametresinin Tip1 DM- Kontrol grubu ve Tip2 DM- Kontrol grubunun ikili karşılaştırma sonuçları tablo-1’de verilmiştir.

HbA<sub>1c</sub> parametresinde kontrol grubu ile hasta grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir yükseklik vardı ( $P<0,001$ ).

HbA<sub>1c</sub> parametresinin Tip1 DM-Kontrol grubu ve Tip2 DM-Kontrol grubunun ikili karşılaştırma sonuçları tablo-1’te verilmiştir.

C-peptid parametresi kontrol grubuna göre Tip1 DM’da istatistiksel olarak anlamlı düşük bulunurken( $P<0,001$ ), Tip2 DM’deki düşüklük anlamlı bulunmamıştır ( $P>0,05$ ).

C-peptid parametresinin Tip1 DM-Kontrol grubu ve Tip2 DM-Kontrol grubunun ikili karşılaştırma sonuçları tablo-1 verilmiştir.

#### 4.2.Serum D vitamini ve Parathormon analiz Sonuçları:

Tip 1 DM, Tip 2 DM ve Kontrol gruplarının serum D vitamini ve Parathormon parametrelerinin sonuçları aritmetik ortalama +/- standart sapma olarak tablo 2’de sunuldu.

**Tablo-2. Her üç grubun serum D vitamini ve Parathormon parametrelerinin aritmetik ortalama +/- standart sapma sonuçları**

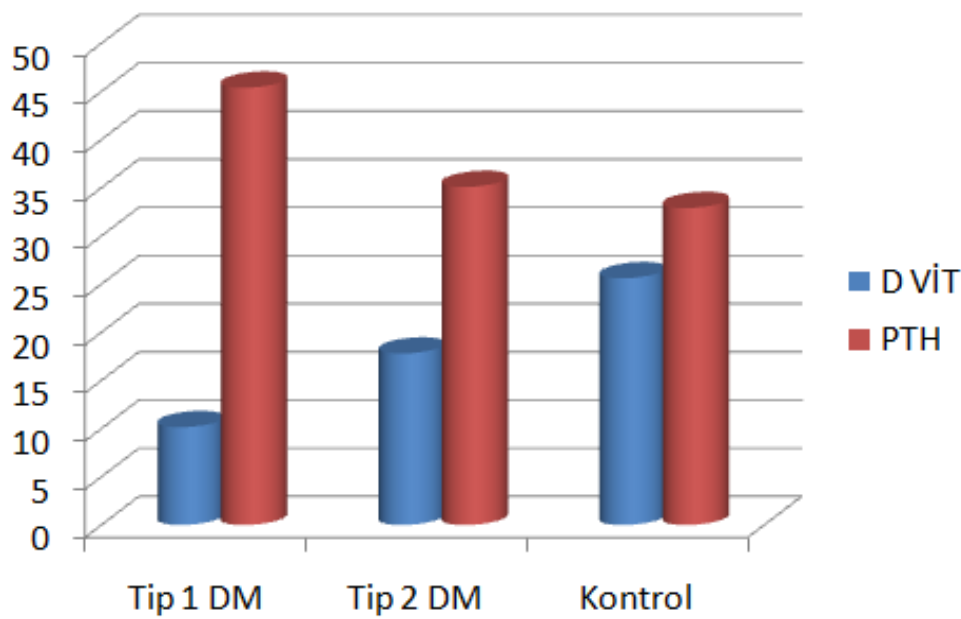
	Tip1 DM		Tip2 DM		Kontrol
<b>D VİT(µg/l)</b>	10,16±5,18	P<0,001	17,80±4,98	P<0,05	25,62±5,65
<b>PTH(pg/ml)</b>	45,43±22,7	P<0,05	35,06±7,8	P>0,05	32,94±5,8

Tip1 DM, Tip2 DM - Kontrol grubu arasında D vitamini parametresi açısından istatistiksel olarak anlamlı bir düşme vardı ( $P<0,001$ ).

Tip1 DM'lu hastaların Parathormon değerlerinde kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir yükselme vardı ( $P<0,05$ ). Ancak Tip2 DM'lu hastalarla kontrol grubu arasında anlamlı bir fark görülmedi ( $P>0,05$ ).

Parathormon parametresinin Tip1 DM- Kontrol grubu ve Tip2 DM- Kontrol grubunun ikili karşılaştırma sonuçları tablo-2'de verilmiştir.

Tip1 DM, Tip2 DM ve Kontrol gruplarının serum D vitamini ve Parathormon paramerelerinin aritmetik ortalama sonuçları olarak grafik 3'de verildi.



**Grafik 3: Her üç grubun serum D vitamini ve Parathormon paramerelerinin aritmetik ortalama sonuçları**

#### 4.3.Serum IL-2R, IL-6, TNF- $\alpha$ analiz Sonuçları:

Tip1 DM, Tip2 DM ve Kontrol gruplarının serum IL-2R, IL-6, TNF- $\alpha$  parametrelerinin sonuçları aritmetik ortalama +/- standart sapma olarak tablo 3'de verildi.

**Tablo-3. Her üç grubun serum IL-2R, IL-6 ve TNF- $\alpha$  parametrelerinin aritmetik ortalama +/- standart sapma sonuçları**

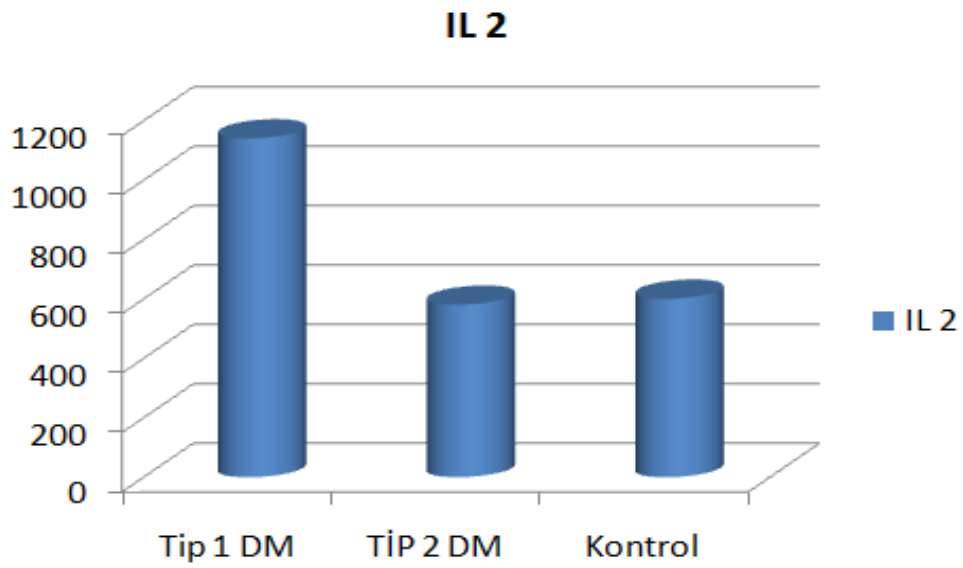
	Tip1 DM		Tip2 DM		Kontrol
<b>IL-2R (U/ml)</b>	1140,77 $\pm$ 217	P<0,001	580,80 $\pm$ 129	P>0,05	600 $\pm$ 129
<b>IL-6 (pg/ml)</b>	3,12 $\pm$ 1,4	P>0,05	3,19 $\pm$ 1,5	P>0,05	3,1 $\pm$ 1,2
<b>TNF-<math>\alpha</math> (pg/ml)</b>	13.11 $\pm$ 2.2	P<0,001	11.8 $\pm$ 1.7	P<0,001	<b>7.72<math>\pm</math>1.1</b>

Tip1 DM ve Tip2 DM'lu hastaların IL-2 düzeylerini kontrol grubu ile karşılaştırdığımızda, Tip1 DM ile Kontrol grubu arasında IL-2R parametresi açısından istatistiksel olarak anlamlı bir yükseklik görülürken (P<0,001), Tip2 DM'lu hastaların IL-2 düzeyleri kontrol grubundan farklı değildi (P>0,05). IL-2R parametresinin Tip1 DM-Kontrol grubu ve Tip2 DM-Kontrol grubunun ikili karşılaştırma sonuçları tablo-3'te verilmiştir.

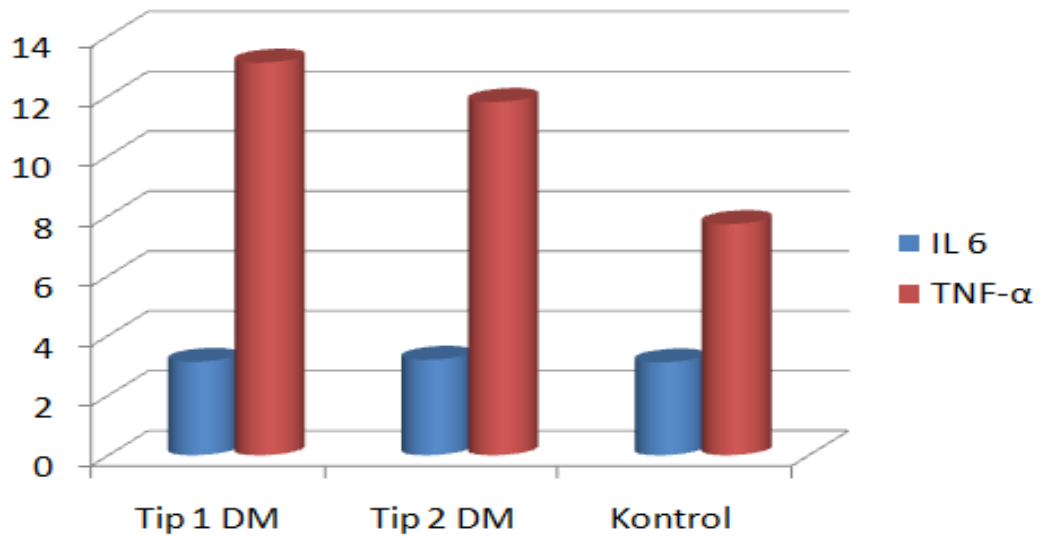
Tip1 DM ve Tip2 DM IL-6 düzeyleri kontrol grubundan farklı görülmedi (P>0,05). IL-6 parametresinin Tip1 DM-Kontrol grubu ve Tip2 DM-Kontrol grubunun ikili karşılaştırma sonuçları tablo-3'te verilmiştir.

TNF- $\alpha$  parametresi ise her iki grupta kontrol grubuna göre anlamlı yüksek bulundu (P<0,001). TNF- $\alpha$  parametresinin Tip1 DM-Kontrol grubu ve Tip2 DM-Kontrol grubunun ikili karşılaştırma sonuçları tablo-3'te verilmiştir.

Tip1 DM, Tip2 DM ve Kontrol gruplarının serum IL-2R parametresinin aritmetik ortalama sonuçları olarak grafik 4'de verildi. Tip1 DM, Tip2 DM ve Kontrol gruplarının serum IL-6, TNF- $\alpha$  parametrelerinin aritmetik ortalama sonuçları grafik 5'te sunulmaktadır.



**Grafik 4: Her üç grubun IL-2R parametrelerinin aritmetik ortalama sonuçları**



**Grafik 5: Her üç grubun IL-6, TNF- $\alpha$  parametrelerinin aritmetik ortalama sonuçları**

Tip1 DM grubunda D vitamini düzeyleri ile HbA<sub>1c</sub>, C-peptit, TNF- $\alpha$ , IL-2, düzeyleri arasında önemli bir korelasyon görülmezken, IL-6 ile D vitamini arasında negatif korelasyon (P<0,05), PTH ile pozitif korelasyon olduğu görüldü (P<0,05)

Tip1 DM hastalarında HbA<sub>1c</sub>, C-peptit, TNF- $\alpha$ , IL-2, IL-6, PTH düzeyleri ile D vitamini düzeyleri arasındaki korelasyon tablo 4’de verildi.

**Tablo-4. Tip1 DM grubunda D vitamini düzeylerinin HbA<sub>1c</sub>, C-peptit, TNF- $\alpha$ , IL-2, IL-6, PTH düzeyleri arasındaki korelasyon sonuçları**

HbA <sub>1c</sub>	C-peptit	TNF- $\alpha$	IL-2	IL-6	PTH
P>0,05	P>0,05	P>0,05	P>0,05	P<0,05	P<0,05
r = 315	r = -329	r = -35	r = 323	r = 377	r = -542

Tip2 DM grubunda D vitamini düzeyleri ile HbA<sub>1c</sub>, C-peptit, TNF- $\alpha$ , PTH, IL-2R ve IL-6 düzeyleri arasında korelasyonun olup olmadığına bakıldığı zaman önemli bir korelasyonun olmadığı görülmüştür (P>0,05) (Tablo 5).

**Tablo-5. Tip 2 DM grubunda D vitamini düzeylerinin HbA<sub>1c</sub>, C-peptit, TNF- $\alpha$ , IL-2, IL-6, PTH düzeyleri arasındaki korelasyon sonuçları**

HbA <sub>1c</sub>	C-peptit	TNF- $\alpha$	IL-2	IL-6	PTH
P>0,05	P>0,05	P>0,05	P>0,05	P>0,05	P>0,05
r = 4	r = -129	r = 8	r = 59	r = 43	r = 8

Ancak tüm hasta gruplarını bir araya getirip D vitamini ile diğer test grupları arasında korelasyon yaptığımızda D vitamini düzeyleri ile C-peptit (P<0,05)düzeyi arasında pozitif korelasyonun olduğu, PTH (P<0,001) ve IL-2 (P<0,001) düzeyleri ile D vitamini düzeyleri arasında negatif korelasyonun olduğunu görülmüştür. D vitamininin HbA<sub>1c</sub>, TNF-  $\alpha$  ve IL-6 arasında ise korelasyon görülmemiştir (Tablo 6).

**Tablo-6: Tüm hasta grubunun toplamında HbA<sub>1c</sub>, C-peptit, TNF- $\alpha$ , IL-2,IL-6, PTH düzeylerinin D vitamini düzeyleri ile arasındaki korelasyon tablosu**

HbA <sub>1c</sub>	C-peptit	TNF- $\alpha$	IL-2	IL-6	PTH
P>0,05	P<0,05	P>0,05	P<0,001	P>0,05	P<0,001
r = 62	r = 372	r = -201	r = -420	r = 157	r = -459

Kontrol grubunda D vitamini ile diğer test grupları arasında korelasyon olup olmadığına baktığımız zaman ise HbA<sub>1c</sub>, C-peptit, TNF- $\alpha$ , IL-2, IL-6 ve PTH düzeyleri ile D vitamini düzeyleri arasında korelasyonun olmadığı gözlenmiştir (Tablo 7).

**Tablo-7: Kontrol grubunda HbA<sub>1c</sub> , C-peptit , TNF- $\alpha$  ,IL-2 ,IL-6 ,PTH düzeyleri ile D vitamini düzeyleri arasındaki korelasyon tablo 7’de verildi**

HbA <sub>1c</sub>	C-peptit	TNF- $\alpha$	IL-2	IL-6	PTH
P>0,05	P>0,05	P>0,05	P>0,05	P>0,05	P>0,05
r = 161	r = -61	r = -51	r = -16	r = 19	r = 170

Yaptığımız bu çalışmada tüm denek gruplarının toplamında D vitamini düzeyleri ile diğer parametreler arasında korelasyona baktığımız zaman HbA<sub>1c</sub>, C-peptit, TNF- $\alpha$ , IL-2 ve PTH (P<0.001) arasında çok önemli korelasyonun olduğu görülmüştür (Tablo 8). Buda hasta grubunda bazı parametrelerde korelasyonun gözlenmemesinin numune sayısının yeterli olmadığından kaynaklanabileceğini düşündürmektedir.

**Tablo-8. Tüm deney grubunun toplamının D vitamini düzeyleri ile HbA<sub>1c</sub>, C-peptit, TNF- $\alpha$ , IL-2, IL-6, PTH düzeyleri arasındaki korelasyon sonuçları**

HbA <sub>1c</sub>	C-peptit	TNF- $\alpha$	IL-2	IL-6	PTH
P<0.001	P<0.001	P<0.001	P<0.001	p>0.05	P<0.05
r= -0.376	r=0.390	r= -0.531	r= -0.444	r=0.074	r= -0.353

## 5. TARTIŞMA

D vitamininin imm unomodülör etkisi ve hemen hemen tüm immün sistem hücrelerinde bilhassa antijen sunan makrofaj, dendritik hücre ve aktive T lenfositlerde VDR reseptörünün bulunması ile kesinlik kazanmıştır (55). Makrofaj ve dendritik hücrelerin granüllerinde  $1\alpha$ -hydroxylase enzimi vardır. Bu D vitamininin sentezinin son basamağındaki aktivasyonda etkili olan enzim Makrofaj ve dendritik hücrelerce sentezlenip salınır (56). D vitamini benzersiz immünomodülör özelliğini T hücrelerde uyaran etkisiyle gösterir. Oysa antijen sunan hücrelerdeki etkisi her zaman görülür (57). İn vitro olarak  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  vitamini makrofajların fagositoz aktivitesini ve bakteri öldürmelerini stimüle ederken makrofajların ve dendritik hücrelerin antijen sunma kapasitelerini baskılar (58). D vitamini MHC-II molekülü ve adezyon molekülerinin ekspresyonlarını stimüle ederken, B7.2(CD86) molekülünü baskılar (59).  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  vitamini antijen sunan hücreleri sitokinlerle aktive ederken, T hücreleri direkt olarak etkiler.  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  varlığında Th2/Tc2 hücre paterninin Th1/Tc1 hücrelere baskın gelmesinde, Th1/Tc1 supresyonu ile birlikte, D vitamininin IL-4 ile indüklenen Th2/Tc2 farklılaşması üzerindeki indükleyici etkisi beraber rol oynamaktadır. IL-6, Th1 farklılaşmasını inhibe ederken, T lenfositlerinde IL-4 sergilenmesini uyarmak yoluyla da Th2 hücre farklılaşmasını indükler (21).  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  eksikliğinde IL-4 pozitif hücreler yetersiz kalır ve önemli miktar da IL-6 üretemezler. Bunun sonucunda da Th1/Tc1 supresyonu ve Th2/Tc2 indüksiyonu oluşmayacağından Th-1 lenfosit hakimiyeti oluşur (60).

$1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  eksikliğinde makrofaj ve dendritik hücrelerden üretilen IL-12 proteini Th-1 lenfositlerin gelişimini stimüle eder. Makrofaj ve dendritik hücrelerden üretilen IL-12 proteini CD4 T-helper type 1 (Th-1) lenfositlerin gelişimini stimüle ederken, CD4(+) Th-2 lenfositlerin gelişimini inhibe eder. Th1 lenfositler bu sinyali yüzeylerindeki CD154 molekülünü dendritik hücrelerin yüzeylerindeki CD40 reseptörüne bağlayarak yaparlar. IL-12 sitokininin uyardığı Th1 lenfositler büyük miktarda interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) üretirler. İnterferon- $\gamma$  makrofajları uyarak pankreas beta hücreleri için toksik maddeleri salgılatır. İnterferon- $\gamma$  ve IL-2 sitotoksik CD8+ hücrelerden de beta hücreleri için toksik maddeleri salgılatır (61). Th1 lenfositler interferon- $\gamma$  salgılayarak beta hücreleri direkt hasara uğratabilir. Uyarılmamış CD4+

T-helper type 1 (Th-1) lenfositler, TNF- $\alpha$ 'yı sekrete eder. 1,25(OH) $_2$ D $_3$  vitamini IL-1 $\beta$  veya IFN- $\gamma$  indüklenen beta hücre inhibisyonunu in vitro olarak önlemiştir(62). Vitamin D 'nin immunomodülatör etkisindeki yetersizliği Tip1 Diabetes Mellitus'a neden olur.

Vitamin D insülin yapımını ve sekresyonunu artırırken insülin direncini azaltmaktadır. 1,25(OH) $_2$ D $_3$  vitamininin insülin salgılanmasında görev aldığı düşünülmektedir. D vitamini eksikliğinin insan ve hayvan deneylerinde bozulmuş insülin salınımı ile ilişkili olduğu ve bunun 1,25(OH) $_2$ D $_3$  kullanılmasıyla normale döndüğü gösterilmiştir (63). D vitamini yalnızca  $\beta$  hücrelerinin yapım kapasitesini artırmakla kalmayıp, proinsulin-insülin dönüşümünü de hızlandırır (64).

Farelerdeki D vitamini eksikliğinin insülin salgısında sorunlara yol açtığı görülmüştür. Pankreasın insülin salgılayan beta hücrelerinde vitamin D reseptörüne (VDR) ek olarak vitamin D düzenleyici protein olan calbindinin de bulunduğu gösterilmiştir. D vitamini çevre dokularda insülin direncini azaltmakta, böylece insülin direnci nedeniyle kan şekerindeki artışa yanıt olarak oluşan aşırı insülin salınımını azaltmakta ve insülin duyarlılığını artırmaktadır. Bu nedenle D vitamini yetersizliği metabolik sendrom ve Tip2 DM için risk faktörüdür, D vitamini yetersizliğinin insülin direnci ve  $\beta$  hücre işlev bozukluğu ile ilişkisi gösterilmiştir (65). D vitamininin bu etkisi insanlarda da gösteren çalışmada; D vitamini eksikliği olan Tip2 diyabetikler ve diyabetik olmayan kişilere D vitamini desteği verilmesiyle insülin salınımının düzeldiğini gösteren bir yayın vardır (66). Vitamin D'nin insülin yapımı, sekresyonunu artırma ve insülin direncini azaltma etkisindeki yetersizliği Tip2 Diabetes Mellitus neden olur.

**Zehra B.Bozkurt** ve arkadaşları 30 yaş altındaki 50 Tip1 DM hastasında 2004-2005 yılları arasındaki yaz döneminde yaptıkları çalışmada HbA $_{1c}$  düzeyini kontrol grubunda % 5,12 $\pm$ 0,41, Tip1 DM hastalarında %9,01 $\pm$ 2,91 olarak bulmuşlar. Bu değerlerde istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görmüşlerdir (P<0,001)(94).

**Ayla Güven** ve arkadaşları beş yaşından küçük 26 Tip1 DM hastasında yaptıkları çalışmada HbA $_{1c}$  düzeyini % 10.3  $\pm$  0.5 olarak bulmuşlardır (96).

**Salih E. DEMİR** ve arkadaşları 60 kadın 16 erkek toplam 76 Tip2 DM hastasında yaptıkları çalışmada HbA $_{1c}$  düzeyini erkek hastalarda % 8.9 $\pm$ 2,2, kadın hastalarında % 9,3 $\pm$ 3,2 olarak bulmuşlardır (95).

**Marco Jannera** ve arkadaşları 130 Tip1 DM hastasında yaptıkları çalışmada D vitamini eksikliği olan 78 hastada HbA<sub>1c</sub> düzeyini % 8.2, D vitamini yetersizliği olan 34 hastada HbA<sub>1c</sub> düzeyini % 7.9, D vitamini düzeyini normal değerlerde olan 17 hastada HbA<sub>1c</sub> düzeyini % 8,1 olarak bulmuşlardır (97).

**Bizim** çalışmamızda 30 Tip1 DM, 30 Tip2 DM ve 30 Kontrol grubu üzerinde yaptığımız çalışmada, HbA<sub>1c</sub> düzeylerini sırasıyla  $9,6\pm 2,6$ ,  $9,1\pm 2,5$  ve  $5,1\pm 0,4$  olarak bulduk. Tip1 ve Tip2 DM hastalarıyla kontrol grubu arasında HbA<sub>1c</sub> parametresi açısından istatistiksel olarak anlamlı bir yükselme vardır ( $P<0,001$ ).

Tip1 ve Tip2 DM hastalarında HbA<sub>1c</sub> düzeylerinde beklediğimiz gibi yüksek bulunan bu sonuçlar diğer araştırmacıların çalışmalarıyla uyumlu bulunmuştur.

Tip1 ve Tip2 DM hastalarında HbA<sub>1c</sub> düzeyleri ile D vitamini düzeyleri arasındaki korelasyonu araştırıldığında sırasıyla  $r = 315$  ve  $r = 4$  bulunduğumuzdur ( $P<0,05$ ). Bu sonuç **HbA<sub>1c</sub> normal dağılım göstermediğinden böyle bulunmuştur.** Hasta gruplarının toplamında  $r = 62$ , kontrol grubunda ise  $r = 161$  olarak tesbit edilmiştir ( $P>0,05$ ). Ancak her üç grubun birlikte HbA<sub>1c</sub> düzeyleri ile D vitamini düzeyleri arasındaki negatif korelasyon bulunmuştur. ( $r = -0,376$ ,  $P<0,001$ ). İstatistikte iki grup arasındaki korelasyon ilişkisi denek sayısının artmasıyla dağılım genişlediğinden korelasyon daha net ortaya çıkmaktadır. Bu durumun nedeninin ise denek sayısının artmasından kaynaklanabileceğini düşündürmektedir.

**Zehra B.Bozkurt** ve arkadaşları 30 yaşın altındaki 50 adet Tip1 DM hastasında 2004-2005 tarihleri arasındaki yaz döneminde yaptıkları çalışmada, C-peptit düzeyini kontrol grubunda  $1,57\pm 0,59$  mg/dl, Tip1 DM hastalarında  $0,87\pm 0,85$  mg/dl olarak bulmuşlardır. Bu farklılık istatistiksel olarak anlamlıdır ( $p<0.001$ )(94).

**Ayla Güven** ve arkadaşları beş yaşından küçük Tip1 DM hastası olan 26 kişide yaptıkları çalışmada C-peptit düzeyini  $0.53\pm 0.13$  ng/ml olarak bulmuşlardır (96).

**Saliha E. DEMİR** ve arkadaşları 60 kadın 16 erkek toplam 76 Tip2 DM hastasında yaptıkları çalışmada, C-peptit düzeyini erkek hastalarda  $2.4\pm 2,2$  mg/dl, kadın hastalarında  $1.8\pm 1,1$  mg/dl olarak istatistiksel bir farklılık bulmuşlardır ( $P=0,001$ ) (95).

**Yaptığımız bu çalışmada,** 30 Tip1 DM, 30 Tip2 DM ve 30 Kontrol grubunda yaptığımız çalışmada C-peptit düzeylerini sırasıyla  $0,181\pm 0,09$ ,  $3,630\pm 0,43$  ve  $4,947\pm 0,19$  nmol/L olarak bulduk. C-peptit değerlerini Tip1 DM'li

hastalarda, kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düşüklük bulduk ( $P<0,001$ ). Tip2 DM'li hastalarda anlamlı bir farklılık bulamadık ( $P>0,05$ ). Bu değerler diğer araştırmadaki bulgularla uyumludur. Çalışmamızdaki C-peptit ile D vitamini düzeyleri arasında korelasyonun olup olmadığına baktığımızda tek tek hasta gruplarıyla her hangi bir korelasyonun olmadığını tespit ederken ( $p>0,05$ ), hasta grupları toplamında ( $r = 372$ ) ( $p<0,05$ ) ve tüm grupların toplamında ( $r= 0,390$ ,  $p<0,05$ ) pozitif bir korelasyon saptandı. Bu durum da yine denek sayısının artmasından kaynaklandığı düşünülebilir.

**Ishimura E** ve arkadaşları, Tip2 DM hastası olan 66 kişide yaptıkları çalışmada serum D vitamini düzeyini kontrol grubunda  $11\pm9.8$  ng/ml, Tip2 DM hastalarında  $9\pm11.3$  ng/ml olarak bulmuşlardır. Bu değerlerde istatistiksel olarak anlamlı bir düşüklük bulunmuş ( $P <0.05$ )(99).

**Zehra B. Bozkurt ve arkadaşları** 30 yaşın altındaki 50 adet Tip1 DM hastasında 2004-2005 tarihleri arasındaki yaz döneminde yaptıkları çalışmada serum D vitamini düzeyini kontrol grubunda  $32,44\pm7,09$  mg/dl, Tip1 DM hastalarında  $27,22\pm10,73$  mg/dl olarak bulmuşlardır. Bu değerlerde istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ( $P>0,05$ )(94).

**Ristan M Greer ve arkadaşları** Avusturalyanın brisbane kentindeki 13 yaş grubunda 47 Tip1 DM hastası çocuk ile aynı yaş grubunda 94 sağlıklı kontrolde yaptıkları çalışmada; D vitamini düzeyini kontrol grubunda  $64,6$  nmol/L, Tip1 DM'li hasta grubunda  $54,7$  nmol/L bulmuşlardır. Bu fark istatistiksel olarak anlamlıdır ( $P<0.005$ )(98)

**Littorin B.** ve arkadaşları 15-34 yaş arası 459 isviçreli Tip1 DM hastasında yaz aylarında yaptıkları çalışmada serum D vitamini düzeyini kontrol grubunda  $96.7 \pm 2.7$  nmol/L, Tip1 DM hastalarında ise  $82.5 \pm 1.3$  nmol/L olarak bulmuşlardır, bu fark istatistiksel olarak anlamlıdır ( $P<0,0001$ )(103).

**Marco Jannera** ve arkadaşları 130 Tip1 DM hastasında yaptıkları çalışmada 78 hastada serum D vitamini eksikliği ( $28.83$  nmol/L), 34 hastada serum D vitamini yetersizliği ( $61.3$  nmol/L), 17 hastada da D vitamini düzeyini normal değerde ( $92.5$  nmol/L) bulmuşlardır (97).

**Biz** 30 Tip1 DM, 30 Tip2 DM ve 30 Kontrol grubu üzerinde yaptığımız çalışmada D vitamini düzeylerini sırasıyla  $10,16\pm5,18$ ,  $17,80\pm4,98$  ve  $25,62\pm5,65$

olarak bulduk. Üç grup arasında D vitamini parametresi açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulduk ( $P<0,001$ ). D vitamini değerlerinin düşük bulunması Tip1 DM patogenezindeki düşük D vitamini etkisini doğrulamaktadır. Tip1 DM'da anlamlı düşük olarak bulduğumuz vitamin D düzeyleri, yapılan diğer araştırmalarla uyumludur. Tip2 DM hastalarında bulduğumuz düşük D vitamini düzeyleri diğer araştırmalarla uyumludur.

Bu düşüklük bizim Tip2 DM'da ve özellikle Tip1 DM'da beklediğimiz bir durumdur.

**Marco Jannera** ve arkadaşları 130 Tip1 DM hastasında yaptıkları çalışmada D vitamin eksikliği olan 78 hastada Parathormon düzeyini 38.0 pg/ml, D vitamini yetersizliği 34 olan hastada Parathormon düzeyini 31.4 pg/ml, D vitamini düzeyini normal değerde olan 17 hastada Parathormon düzeyini 34.8 pg/ml olarak bulmuşlardır (97).

**Çalışmamızda** 30 Tip1 DM, 30 Tip2 DM ve 30 Kontrol grubu üzerinde yaptığımız çalışmada Parathormon düzeylerini sırasıyla  $45,43\pm 22,7$ pg/ml,  $35,06\pm 7,8$  pg/ml ve  $32,94\pm 5,8$  pg/ml olarak bulduk. Tip1 DM'lu hastaların değerleri kontrol grubuna göre yüksekliği istatistiksel olarak anlamlı bulundu ( $P<0,05$ ). Tip2 DM'lu hastalarda kontrol grubuna oranla hafif bir artış görüldü, bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ( $P>0,05$ ). Diyabet hastalarındaki Parathormon değerlerindeki artışı, D vitamin düşüşüne yanıt olarak bekliyorduk.

Çalışmamızdaki Parathormon ve D vitamini düzeyleri arasında korelasyonun olup olmadığına baktığımız zaman Tip1 DM'lu hastalarda beklediğimiz gibi negatif korelasyon vardı ( $r = -0,542$ ,  $p<0,05$ ). Ancak Tip2 DM'lu hastalarda önemli bir korelasyonun olmadığı tespit edildi ( $P>0,05$ ). Bu sonuç Parathormon düzeylerinin **normal dağılım göstermediğinden kaynaklanmaktadır**. Ancak her üç grubun toplamında Parathormon düzeyleri ile D vitamini düzeyleri arasında negatif korelasyon bulunmuştur. ( $r = -0,353$ ,  $p<0,05$ ). Kontrol grubundada anlamlı bir korelasyon görülmemiştir ( $P>0,05$ ).

**Özer G** ve arkadaşları 41 adet Tip1 DM hastası, bu diyabetli çocukların diabet hastası olmayan olmayan kardeşlerinden 32'si ve sağlıklı kontrol grubundan 28 kişi ile çalışma yapmışlardır. Tip1 DM hastalarını kendi içlerinde diyabetik ketoasidoz ile gelenler, diyabetik ketoasidozu olmadan gelenler ve önceden Tip1 DM

hastası olanlar şeklinde üç gruba ayırmışlardır. Bu çalışmada serum IL-2 seviyesini bütün gruplarda benzer bulmuşlardır (102).

**Yaptığımız çalışmada** 30 Tip1 DM, 30 Tip2 DM ve 30 Kontrol grubu üzerinde yaptığımız çalışmada IL-2R düzeylerini sırasıyla  $1140,77 \pm 217$ ,  $580,80 \pm 129$  ve  $600 \pm 129$  olarak bulduk. Tip1 DM hastaların IL-2R düzeyleri kontrol grubuna göre yüksekliği istatistiksel olarak anlamlıydı ( $P < 0,001$ ). Bu sonuç D vitamini eksikliğine bağlı IL-2 artışının Tip1 DM patogenezinde rol aldığını doğrulamaktadır. Ancak Tip2 DM'lu hastaların IL-2R düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmedi.

Üç grup arasında IL-2R parametresi açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık vardır ( $P < 0,001$ ).

Tip1 ve Tip2 DM hastalarında IL-2R düzeyleri ile D vitamini düzeyleri arasındaki korelasyonu araştırıldığında sırasıyla  $r = 0,323$  ve  $r = 0,059$  bulundu. Bu sonuç IL-2R **normal dağılım göstermediğinden böyle bulunmuştur**. Tip1 DM ve Tip2 DM hastalarında IL-2R düzeyleri ile D vitamini düzeyleri arasında önemli bir korelasyon görülmemiştir ( $P > 0,05$ ). Ancak Tip1 ve Tip2 DM hastalarının toplamında ( $r = -0,420$ ) ( $P < 0,001$ ) ve her üç grubun toplamında IL-2R düzeyleri ile D vitamini düzeyleri arasındaki ( $r = -0,444$ ,  $p < 0,05$ ) negatif korelasyon bulunmuştur.

**R Riachy** ve arkadaşları pankreas  $\beta$ -hücre kültürü ile yaptıkları çalışmada hücreleri dört gruba ayırmışlar. Birinci grup kontrol grubu, ikinci gruba  $50 \text{ IU/ml}$  IL-1 $\beta$ ,  $1000 \text{ IU/ml}$  TNF- $\alpha$ ,  $1000 \text{ IU/ml}$  IFN- $\gamma$  ilave etmişler, üçüncü gruba aynı oranda IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , ve  $10^{-6}$  mmol/lit  $1,25 \text{ D}_3$  vitamini ilave etmişler ve dördüncü gruba da aynı oranda IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$  ve  $10^{-8}$  mmol/lit  $1,25 \text{ D}_3$  vitamini ilave etmişler. 48 saat sonra en fazla IL-6 üretiminin ikinci grupta olduğunu, üçüncü ve dördüncü grupta aynı düzeyde IL-6 üretildiğini ancak ikinci gruptan daha az olduğunu bulmuşlar (101).

**Bizim** 30 Tip1 DM, 30 Tip2 DM ve 30 Kontrol grubu üzerinde yaptığımız çalışmada IL-6 düzeylerini sırasıyla  $3,12 \pm 1,4$ ,  $3,19 \pm 1,5$  ve  $3,10 \pm 1,2$  olarak bulduk. Üç grup arasında IL-6 parametresi açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktur ( $P > 0,05$ ).

Tip1 ve Tip2 DM hastalarında IL-6 düzeyleri ile D vitamini düzeyleri arasındaki korelasyonu araştırıldığında sırasıyla  $r = 0,377$  ve  $r = 0,043$  bulundu. Bu sonuç

IL-6 normal dağılım göstermediğinden böyle bulunmuştur. Tip1 DM hastlarında IL-6 düzeyleri ile D vitamini düzeyleri arasındapozitif korelasyon görülürken ( $p<0,05$ ), Tip2 DM hastlarında, kontrol grubunda ve diğer hasta gruplarının toplamı ile tüm denek gruplarının toplamında IL-6 düzeyleri ile D vitamini düzeyleri arasındaki herhangi bir korelasyon saptanmamıştır ( $P>0,05$ ).

**Özer G** ve arkadaşları 41 Tip1 DM hastası, Bu diyabetli çocukların diabet hastası olmayan 32 kardeşi ve 28 sağlıklı kontrol grubu ile çalışma yapmışlardır. Tip1 DM hastalarını kendi içlerinde diyabetik ketoasidoz ile gelenler, diyabetik ketoasidozu olmadan gelenler ve önceden Tip1 DM hastası olanlar şeklinde üç gruba ayırmışlardır. Bu çalışmada serum TNF- $\alpha$  düzeyini diyabetik ketoasidoz ile gelenlerde, diyabetik ketoasidozu olmadan gelenlerden, önceden Tip1 DM hastası olanlardan, diyabetli çocukların diabet hastası olmayan kardeşlerinden ve kontrol grubundan istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulmuşlardır. P değerleri sırasıyla ( $p < 0.05$ ), ( $p < 0.001$ ), ( $p < 0.05$ ), ( $p < 0.005$ ) şeklindedir (102).

**Tao Du** ve arkadaşları 16 Tip1 DM ve 18 latent autoimmüne diabetes in adults (LADA) hastasında yaptıkları çalışmada serum TNF- $\alpha$  düzeyini kontrol grubunda  $2.9\pm 0.5$  (pg/ml), Tip1 DM hastalarında  $4.5\pm 0.6$  (pg/ml) LADA hastalarında  $4.5\pm 0.7$  (pg/ml) olarak anlamlı bir farklılık bulmuşlardır ( $P<0.001$ ) (100).

**Biz** 30 Tip1 DM, 30 Tip2 DM ve 30 Kontrol grubunda TNF- $\alpha$  düzeylerini sırasıyla  $13,11\pm 2,2$ ,  $11,80\pm 1,7$  ve  $7,72\pm 1,1$  olarak bulduk. Tip1 DM'lu ve Tip2 DM'lu hastaların TNF- $\alpha$  düzeyleri kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulduk. Her iki grup için P değerleri sırasıyla ( $P<0,001$ ), ( $P<0,001$ )'dir. Sonuçlar literatürle uyumludur.

Tip1 ve Tip2 DM hastlarında TNF- $\alpha$  düzeyleri ile D vitamini düzeyleri arasındaki korelasyon her grupta ayrı ayrı araştırıldığında tüm gruplarda önemli bir korelasyon görülmezken ( $P>0,05$ ), Bütün denek gruplarının toplamında TNF- $\alpha$  düzeyleri ile D vitamini arasında negatif korelasyon bulunmuştur ( $r = -0.531$ ,  $p<0,05$ ). Bu durum da yine denek sayısının artmasından kaynaklanabileceğini düşündürmektedir.

## 6. SONUÇ

Yaptığımız bu çalışmada Tip1 ve Tip2 Diyabetes Mellituslu hastalarda vitamin D eksikliği önemli derecede tespit edilmiştir. Bölgemiz UV ışın alma açısından zon 2 bölgesinde yer almaktadır. Zon 2 bölgesinde yaşayan insanlar D vitamini sentezi için yılda bir aydan daha fazla süre vitamin D sentezini yeterince yapamamaktadırlar. Ayrıca bölgemiz insanı ten rengi açısından daha çok esmer grubunu oluşturmaktadır. Bu durumda D vitamin eksikliği riski daha da artmaktadır. Yetersiz D vitamini Th1/Th2 oranını Th2 lehine çeviremediği ve olası otoimmün mekanizmaya yatkınlık oluşturduğundan Tip1 DM oluşumuna neden olur. Vitamin D, insülin yapımı, sekresyonu artırırken, insülin direncini azaltır. Vitamin D eksikliğinde yapım ve sekresyon azaldığından Tip2 DM'a yatkınlık oluşur. Bu çalışmamız D vitamini eksikliğinin bölgemizde Tip1 ve Tip2 DM oluşumunun nedenlerin biri olduğunu göstermiş olmasına rağmen;

1- Bölgemizde farklı cilt rengine sahip kişiler arasında,

2- Bölgenin çok güneş alan yüksek veya alçak kesimlerinde

DM ile korelasyonlarının araştırmasında bölgemiz açısından fayda sağlayacağı sonucuna vardık.

Parathormon düzeyi D vitamini eksikliğini kompanse etmek için Tip1 diyabetes mellitus hastalarında artmıştır, Tip2 Diyabetes Mellituslu hastalarda hafif bir yükselme olmuştur. IL-2R düzeyi Tip1 Diyabetes Mellituslu hastalarda kontrol grubuna artmıştır ki Vitamin D eksikliğinde CD4+ T-helper Tip1 lenfositlerden sekrete edilen IL-2 sitotoksik CD8+ hücrelerden pankreas beta hücreleri için toksik maddeleri salgılatarak Tip1 Diyabetes Mellitus patogenezinde rol oynar. TNF- $\alpha$  düzeyleri ise Tip1 ve Tip2 Diyabetes Mellituslu hastalarda kontrol grubuna göre yükselmiştir.

Vitamin D eksikliğinde uyarılmamış CD4+, T-helper type1 lenfositler TNF- $\alpha$  sekrete ederek pankreas beta hücrelerini tahrip ederler. Bu bulgu da Tip1 DM patogenezimizle uyumlu bulunmuştur.

D vitamininin immunomodölatör mekanizmaları daha iyi anlaşıldığında birçok otoimmün hastalık gibi Tip1 Diyabetes Mellitus hastalığı da önlenebilir. Bu konuda daha fazla araştırmaların yapılması gerekmektedir.

## 7. KAYNAKLAR

- 1- Watkins P.J.,Drury P.L.,Howell S.L. :**Diabetes and its management** 5 th ed. Blackwell Co. P:3 (1996).
- 2- Tanyeri F:**Diabetes mellitusun sınıflandırılması ve prevalansı**, Aktüel Tıp dergisi,7:500-503 (1996).
- 3- International diabetes federation. **Triennial (1991-1994) report and directory** 1984.IDF, 4 D. Rue Washington,1050 Brussels Belgium
- 4- Zimmet P., Taft P., Thoma K., et al. **The high prevalence of Diabetes mellitus on a central Pasific Island**. Diabetologia;13: 111-115. (1997)
- 5- Zimmet P.Z. **Diabetes epidemiology as a tool to trigger Diabetes research and care**. Diabetologia; 13: 11-115 (1999).
- 6- Zimmet P., Dowse G., Finch C., King H. **The epidemiology and natural history of NIDDM -lessons from South Pasific**. Diabetes Metabol Rev; 6: 91-124 (1990).
- 7- Gunnarsson O., Indridason O.S., Franzson L., Sigurdsson G. **Factors associated with elevated or blunted PTH response in vitamin D insufficient adults**. Journal of internal Medicine. Apr;265 (4): 488-95 (2009).
- 8- Halliday T, Peterson N., Thomas J., Kleppinger K., Hollis B., Larson-Meyer D. **Vitamin D Status Relative to Diet, Lifestyle, Injury and Illness in College Athletes**. Medicine and science in sports and exercise. Jun 11. (2010)
- 9- Michael F. Holick. **Vitamin D and Sunlight: Strategies for Cancer Prevention and Other Health Benefits**. Clin J Am Soc Nephrol 3: 1548–1554, (2008).
- 10- Dahlquist G. and the EURODIAB Substudy 2 Study Group. **Vitamin D supplement in early childhood and risk for type 1 (insulin-dependent) diabetes mellitus**. Diabetologia; 42: 51-54 (1999).
- 11- Adorini, L., Gregori, S., Harrison, L.C.:**Understanding autoimmune diabetes: insights from mouse models**: Trends in Molecular Medicine 8 (1), (2001)
- 12- Biberoglu, İlçin-Ünal, Süleyman, **Tip 2 Diabetes Mellitus Patogenezi**, s.2296-2297. (2003)

**13-** Norman A.W., Frankel J.B., Heldt A.M., Grodsky G.M., **Vitamin D deficiency inhibits pancreatic secretion of insulin.** Science 209: 823–825 (1980).

**14-** Lee S., Clark S.A., Gill R.K., Christakos S. **1,25-Dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> and pancreatic beta-cell function: vitamin D receptors, gene expression, and insulin secretion.** Endocrinology 134:1602–1610 (1994).

**15-** Ye W.Z., Reis A.F., Dubois-Laforgue D., Bellanne-Chantelot C., Timsit J., Velho G., **Vitamin D receptor gene polymorphisms are associated with obesity in type 2 diabetic subjects with early age of onset.** Eur J Endocrinol;145:181-6 (2001).

**16-** Bourlon P.M., Faure-Dussert A., Billaudel B. **The de novo synthesis of numerous proteins is decreased during vitamin D<sub>3</sub> deficiency and is gradually restored by 1,25 dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> repletion in the islets of Langerhans of rats.** J Endocrinol;162:101-9 (1999).

**17-** Chiu K.C., Chu A., Go V.L., Saad M.F., **Hypovitaminosis D is associated with insulin resistance and  $\beta$  cell dysfunction.** Am J Clin Nutr; 79:820-5 (2004).

**18-** Gedik O., Akalin S., **Effects of vitamin D deficiency and repletion on insulin and glucagon secretion in man.** Diabetologia; 29:142-5 (1986).

**19-** Sodeman W.A., **Sodeman's Pathologic Physiology mechanisms of disease.** Çevirenler: V.Cesur, N.Kemal.1.Baskı, Hekimler Birliği Vakfı Türkiye Klinikleri yayınevi, Ankara (1992).

**20-** Koloğlu S., Endokrinoloji, **Temel ve Klinik, Medical Network**, 1. baskı, Koloğlu S. Diabetes Mellitus, p: 367-386. Ankara, (1996).

**21-** Hatemi H. **Diabetes Mellitusun Tarihçesi.** Aktuel Tıp Dergisi 7: 497-499, (1996).

**22-** Candeğer Yılmaz, Temel Yılmaz, Şazi İmamoğlu, **Diabetes Mellitus'un tarihçesi.** In: Diabetes Mellitus .Mayıs 2000, Gri Tasarım, pp: 13-15, (2000).

**23-** Bağrıaçık N.,**Tanı, komplikasyonlara yaklaşım, tedavi konsensus el kitabı** .Novo Nordisk diabet servisi yayınları. İstanbul (1997).

**24-** Pala Ö., **Tip I DM Epidemiyolojisi, Patogenezi, Klinik, Komplikasyon ve Tedavisi.** İstanbul, Turgut yayıncılık ve AŞ, Kanaat basımevi; 1-27, (1997).

25- World Health Organization, **Diabetes mellitus. Report of a WHO Study Group.** Technical Report Series 727, Geneva, (1985).

26-Erdoğan G., **Diabetes mellitusun tedavisi** 1. baskı. Bilimsel tıp yayınevi Ankara (1997).

27- Bain S.C., Ann Kelly M, Mijovic CH and Barnett AH. **Genetic Factors in the Pathogenesis of Type 1 Diabetes.** Textbook of Diabetes 1(eds. JC Pickup and G Williams) 3. ed. Blackwell Publishing; p. 15, 1-14 (2003).

28- Khalil I, d'Auriol L, Gobet M et al., **A Combination of HLA-DQ Beta Asp57- negative and HLA-DQ Alpha ARG 52 Confers Susceptibility to İDDM.** J Clin Invest; 85: 1315, (1990).

29- Yoon J. W. and Jun H-S.,**Viruses in the Pathogenesis of Type 1 Diabetes.** Textbook of Diabetes 1. (eds. J. C Pichup and G Williams) 3rd ed.Blackwell Publishing; p. 16. 1-16, (2003).

30- EUROĐIAB, **İnfection and Vaccinations as Risk Factors for Childhood Type 1DM,** Multicentre Case-Control İnvestigation. EUROĐIAB Substudy 2 Study Group.Diabetologia; 43: 47-53, (2000).

31- Dahl-Jørgensen K, Joner G Hanssens KF., **Releationship Between Cow's Milk Consumption and İncidence of İDDM in Childhood.** Diabetes Care;14: 1081-1083, (1991).

32.- Scott FW., Norris JM., Kolb H., **Milk and Type 1 Diabetes:Examining The İncidence and Broadening The Focus.**Diabetes Care; 19: 379-83. (1996)

33-Kostraba J.N, Cay E.C., Rewers M. et al., **Nitrate Levels in Community Drinking Wathers and Risk of İDDM.** Diabetes Care; 15: 1505-1508, (1992)

34- Mac Farlane A.J. and Scott F.W., **Environmental Agents and Type 1 Diabetes.** Testbook of Diabetes 1 (eds JC Pickup and G Williams) 3rd Blacwell Publishing;p. 17. 1-16 (2003)

35-Stane L.C., Ulriksen J., Magnus P., Joner G., **Use of Cod Liver Oil During Pregnancy Associated with Lower Risk of Type 1 Diabetes in The Offspring.** Diabetologia; 49: 504-507, (2000).

36- Thernlund G.M., Dahlquist G., Hasson K., et al., **Psychological Stress and The Onset of İDDM in Children.** Diabetes Care; 18: 1323-1329, (1995).

- 37- Kukreja A., McLaren N.K., **Autoimmunity and Diabetes**. J Clin Endocrinol Metab; 84: 4371-4378, (1999).
- 38- Petrovsky N. and Schatz D.A., **The Immunology of Human Type 1 Diabetes** In. Textbook of Diabetes 1 (eds JC Pickup and G Williams) 3. ed. Blackwell Publishing ; 18.1; p.18. 1-14, (2003).
- 39- Eisenbarth GS., **Type 1 Diabetes Mellitus. A Chronic Autoimmune Disease**. N Engl. J. Med.; 314: 1360, (1986).
- 40- Orhan Y., Diabetes Mellitus. In: **Endokrinoloji, Metabolizma ve Beslenme Hastalıkları**,ed. Sencer E, Nobel, İstanbul, sayfa 246-86, (2001).
- 41- Laakso M., **Tip 2 diyabetin patogenezi**. In: Tip 2 Diyabet, ed. Goldstein B.J., Wieland DM, İstanbul, pp. 13-28, (2003).
- 42- Saltiel A.R., **New perspectives into the molecular pathogenesis and treatment of type 2 diabetes**. Cell;104:517-29, (2001).
- 43- Joost H.G., Thorens B. **The extended GLUT-family of sugar/polyol transport facilitators:nomenclature, sequence characteristics and potential function of its novel members**. Mol. Memb. Biol.;18:247-56, (2002).
- 44- Muller E., Drori S., Ajyer A., et al., **Genetic analysis of adipogenesis through peroxisome proliferator activated receptor gamma isoforms**. J. Biol. Chem.; 277:41925-30, (2002).
- 45- Yordam N.,Alikasifoglu A., Bideci A., **Çocuk ve Adölesanda Endokrin Testler**. Pediatrik Endokrinoloji ve Oksoloji Dernegi Yayınları II; 97-104, (2006).
- 46- Decochez K., Keymeulen B., Somers G., H. Dorchy, et al., **Use of an islet cell antibody assay to identify type 1 diabetic patients with rapid decrease in C-peptide levels after clinical onset**. Diabetes care 23(8):1072-1078, (2000).
- 47- Lohmann T., Kellner K., Verlohren H.J., Krug J., Steindorf J., Scherbaum W.A., Seissler J., **Titre and combination of ICA and autoantibodies to glutamic acid decarboxylase discriminate two clinically distinct types of latent autoimmune diabetes in adults (LADA)**. Diabetologia; 44(8):1005-1010, (2001).
- 48- Court J.: The Management of Diabetes Mellitus. In: Brook CGD (ed). **Clinical Pediatric Endocrinology**. 3 th ed. London: Blackwell Science Ltd; 654-677, (1995).

49- Kurtoglu S., Yordam N., Öcal G., Günöz H., **Peiatrik Endokrinoloji 1.** baskı Pediatrik Endokrinoloji ve Oksoloji Derneği Yayınları, 1. 415-457, (2003).

50- Sima, A.A., Zhang, W., Sugimoto K., Henry D., Li Z., Wahren, J., and Grunberger G., **C. Peptide prevents and improves chronic Type I diabetic polyneruopathy in the BB/Wor rat.** Diabetologia 44 (7), 889-897, (2001).

51- Prof.Dr.Tanju ASI.**Tablolarla Biyokimya.**Cilt:2. Ankara, (1999).

52- Biyokimya Lippincott's Illustrated Reviews 3. baskı, Sayfa 384-387, (2007).

53- Michael F. Holick. **Vitamin D Deficiency Medical Progress.** The New England Journal Of Medicine, Boston: Jul 19, Vol. 357, Iss. 3; pg. 266, (2007).

54- Jean T. Spence, MD, and Janet R. Serwint M.D., **Secondary Prevention of Vitamin D-Deficiency Rickets.** American Academy of Pediatrics;113; e70-e72, (2004).

55- Mathieu C., Van Etten E., Decallonne B. etal., **Vitamin D and 1,25-dihydroxyvitamin D(3) as modulators in the immune system.** J Steroid Biochem Mol. Biol., 89–90: 449–452, (2004).

56- Overbergh L., Decallonne B., Valckx D., etal. **Identification and immune regulation of 25-hydroxyvitamin D-1-alphahydroxylase in murine macrophages.** Clin. Exp. Immunol. 120: 139–146, (2000).

57- Adorini L., Penna G., Giarratana N., Etal., **Dendritic cells as key targets for immunomodulation by vitamin D receptor ligands.** J., Steroid Biochem Mol. Biol., 89–90: 437–441, (2004).

58- Van Etten E., Decallonne B., Bouillon R., Mathieu C., **NOD bone marrow-derived dendritic cells are modulated by analogs of 1,25-dihydroxyvitamin D, (3).** J. Steroid Biochem. Mol. Biol., 89–90: 457–459, (2004).

59- Griffin M.D., Lutz W.H., Phan. V.A., Bachman L.A., McKean D.J., Kumar R., **Potent inhibition of dendritic cell differentiation and maturation by vitamin D analogs.** Biochem Biophys Res Commun 270:701–708, (2000).

60- Van Etten E, Mathieu C. **Immunoregulation by 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub>: basic concepts.** J. Steroid Biochem Mol Biol; 97:93-101, (2005).

61- Adorini L., Gregori S., Harrison L.C., **Understanding autoimmune diabetes:insights from mouse models:** Trends in Molecular Medicine 8 (1), (2001).

**62-** Hahn H.J., Kuttler B., Mathieu C., Bouillon R., **1,25-Dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> reduces MHC antigen expression on pancreatic beta-cells in vitro.** Transplant Proc. 29: 2156–2157, (1997).

**63-** Ye W.Z., Reis A.F., Dubois-Laforgue D., Bellanne-Chantelot C., Timsit J., Velho G., **Vitamin D receptor gene polymorphisms are associated with obesity in type 2 diabetic subjects with early age of onset.** Eur. J. Endocrinol; 145:181-6, (2001).

**64-** Bourlon P.M., Faure-Dussert A., Billaudel B., **The de novo synthesis of numerous proteins is decreased during vitamin D<sub>3</sub> deficiency and is gradually restored by 1,25 di hydroxyvitamin D<sub>3</sub> repletion in the islets of Langerhans of rats.** J. Endocrinol;162:101-9, (1999).

**65-** Chiu K.C., Chu A., Go V.L., Saad M.F., **Hypovitaminosis D is associated with insülin resistance and  $\beta$  cell dysfunction.** Am. J. Clin. Nutr; 79:820-5, (2004).

**66-** Gedik O., Akalin S., **Effects of vitamin D deficiency and repletion on insulin and glucagon secretion in man.** Diabetologia; 29:142-5, (1986).

**67-** Speer G.,**The role of vitamin D in the prevention and the additional therapy of cancers.** Hungarian Oncology 54: 303–314, (2010).

**68-** Holick M.F., **Vitamin D: Its role in cancer prevention and treatment.** Prog. Biophys. Mol. Biol.; 92:49-59, (2006).

**69-** Li Y.C., Qiao G., Uskokovic M., Xiang W., Zheng W., Kong J., **Vitamin D: negative endocrine regulator of the renin-angiotensin system and blood pressure.** J. Steroid Biochem Mol. Biol., 89-90: 387-92, (2004).

**70-** Zittermann A., **Vitamin D and disease prevention with special reference to cardiovascular disease.** Prog Biophys Mol. Biol.; 92: 39- 48, (2006).

**71-** Haussler M.B., T.A. Mc Cain: **Basic and clinical concepts related to vitamin D metabolism and action (second of two parts),** N. Engl. J. Med. 297 : 1041, (1977).

**72-** Bouillon R., **Vitamin D: from photosynthesis, metabolism, and action to clinical applications.** In:DeGroot L.J., Jameson J.L., eds. Endocrinology. Philadelphia: W.B. Saunders,:1009-28, (2001).

73- Holick M.F., **High prevalence of vitamin D inadequacy and implications for health.** Mayo Clin. Proc.; 81: 353-73, (2006).

74- Roxane Tenta, George Moschonis, Michael Koutsilieris, Yannis Manios, **Calcium and vitamin D supplementation through fortified dairy products counterbalances seasonal variations of bone metabolism indices: the Postmenopausal Health Study.** Eur. J. Nutr. DOI 10. s, 394-10, 142-7, (2007).

75- Engelsen O., Brustad M., Aksnes L., **Daily duration of vitamin D synthesis in human skin with relation to latitude, total ozone, altitude, ground cover, aerosols and cloud thickness.** Photochem Photobiol.; 81: 1287– 9, (2005).

76- Jameson J.L., Weetman A.P., **Tiroid bezi hastalıkları.** In: Braunwald E., Fauci A.S., Kasper D.L., Hauser S.L., Longo D.L., Jameson J.L., editors., Ceviri editoru: Sağlık Y., Harrison, İç Hastalıkları Prensipleri (15. Baskı), İstanbul: Nobel Matbaacılık; S. 2060-2075, (2004).

77- Dawodu A., Absood G., Patel M., Agarwal M., Ezimokhai M., Abdulrazzaq Y., et al., **Biosocial factors affecting vitamin D status of women of childbearing age in the United Arab Emirates.** J. Bios. Sci.; 30: 431- 7, (1998).

78- Nina G., Jablonski and George Chaplin, **The evolution of human skin coloration.** Journal of Human Evolution 39, 57–106, (2000).

79- George Chaplin. **Geographic Distribution of Environmental Factors Influencing Human Skin Coloration.** American of physical Anthropology. 125:292–302, (2004).

80-Önder F., Keskin E., **İnterlökinlerin biyolojik etkileri.** Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Dergisi, 9(1): 127-138, 2006.

81- Güner İ., Özmen D., Bayındır O., **Sitokinler.** Türkiye Klinikleri Tıp Bilimleri Dergisi; 17: 64-75, (1997).

82- Leonides C., Plataniias M.D., Nicholas J., et al., **Interleukin1: Biology, pathophysiology and clinical prospect.** Am. J. Med.:89 (5):621-62, (1990).

83- Oppenheim J.J., Ruscetti F.W., Faltynek O., **Cytokines in basic and clinical imunology.** Danie P.S. Abba 1 (7 ed) Nortwalk California: 78-83, (1991).

84- Lilly M., Vo K., Le-T. Talcalhishi G., **Bryostatin 1 acts synergistically with IL- alfa to induce secretion of G-CSF and other cytokine from stromal cells.** Exp. Heamatol; 24, (5):613-21, (1996).

**85-** Rubin A.L., Nelson L.D., **The solubl interleukin-2 receptors.Biology function and clinical application.** Ann. Int Med.; 113:619-27, (1990).

**86-** Hirsch M., Lipton A., Harvery H., Gavant E., et al., **Phase II study of interleukin-2 and interferon alfa as outpatient therapy for patients with advanced malignancy.** J. Clin. Oncol.; 8:1657-63, (1990).

**87-** Kishimoto T., **The biology of interleukin-6.** Blood; 74:1-10, (1989).

**88-** Barath P. Fishbein M.C.,Cao J: **Tumor necrosis factor gene expression in human vascular intimal smooth muscle cells detected by in situ hybridization.** Am. J. Pathol. 137:503-9, (1990).

**89-** Tracey K.J., Vlassana H., Caremi A., **Cachectin/tumor necrosis factor.** Lancet, 20:1122-6, (1989).

**90-** Squadrito F.D., Altavilla D., Zingarelli B., et al., **Tumor necrosis factor involment in myocardial ischemia-reperfusion injury.** Eur. J. Pharmacol. 237:223-30, (1993).

**91-** Camussi G., Albano E., Tetta C., Bussolino F.,**The moleculer action of tumor necrosis factor-  $\alpha$ .**Eur. J. Biochem. 202:3-14, (1991).

**92-** Warner S.J.C., Libby P.: **Human vascular smooth muscle cells target for and source of tumor necrosis factor.** J. Immunol. 142:100-9, (1989).

**93-** Buyan N., Bidcci A., Özkaya O., Ortac E., Bakkaloglu S., Gonca S., Peru H., Söylemezoglu O., Cinaz P., **Leptin and resistin levels and their relationships with glucose metabolism in children with chronic renal insufficiency and undergoing dialysis.** Nephrology 11:192-196, (2006).

**94-** Zehra B., Bozkurt Nail Erhan, **Tip 1 Diyabetes Mellituslu Hastalarda Kemik Mineral Dansitesinin Değerlendirilmesi.**Uzmanlık Tezi, İstanbul, (2006).

**95-** Saliha E., Demir Nurdan Paker, **Tip 2 Diyabetes Mellituslu Kadın ve Erkeklerde Kemik Mineral Yoğunluğu.** Uzmanlık Tezi, İstanbul, (2006).

**96-** Ayla Güven, Murat Aydın, **Beş yaşından önce tip 1 diyabetes mellitus tanısı alan çocuklarda etiyopatogenezde rol alan faktörler.** Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi. 48: 295-300, (2005).

**97-** Marco Janner, Pietro Ballinari, Primus E. Mullis, Christa E. Flück, **High prevalence of vitamin D deficiency in children and adolescents with type 1 diabetes.** Swiss Med. Wkly;140:w13091, (2010).

**98-** Ristan M. Greer, Meredith A. Rogers, Francis G. Bowling, Helen M. Buntain, Mark Harris, Gary M. Leong and Andrew M. Cotterill, **Australian children and adolescents with type 1 diabetes have low vitamin D levels.** *Med. J. Aust.* 187 .59–60, (2007).

**99-** Isaia G., Giorgino R., Adami S., High prevalence of hypovitaminosis D in female type 2 diabetic population. *Diabetes Care* 24:1496, (2001).

**100-** Tao Du, Zhi-Guang Zhou, Shuo You, Jian Lin, Lin Yang, Wei-Dong Zhou, Gan Huang, Chen Chao. **Regulation by 1, 25-dihydroxy-vitamin D<sub>3</sub> on altered TLRs expression and response to ligands of monocyte from autoimmune diabetes.** *Clinica Chimica Acta*, 402 ,133–138, (2009).

**101-** Riachy R., Vandewalle B., Belaich S., Kerr-Conte J., Gmyr V., Zerimech F., d'Herbomez M., Lefebvre J. and Pattou F., **Beneficial effect of 1,25 dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> on cytokine-treated human pancreatic islets.** *Journal of Endocrinology* 169, 161–168, (2001).

**102-** Özer G., Teker Z., Cetiner S., Yilmaz M., Topaloglu A.K., Onenli-Mungan N., Yüksel B., Serum IL-1, IL-2, TNF- $\alpha$  and INF- $\gamma$  levels of patients with type 1 diabetes mellitus and their siblings, *J. Pediatr Endocrinol Metab.* Feb; 16 (2), 203-10, (2003).

**103-** Littorin B., Blom P., Scholin A., et al., **Lower levels of plasma 25 hydroxyvitamin D among young adults at diagnosis of autoimmune type 1 diabetes compared with control subjects: results from the nationwide Diabetes Incidence Study in Sweden (DISS).** *Diabetologia*; 49: 2847-2852, 2006.