



**T.C.
AKSARAY ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

BİYOTEKNOLOJİ VE MOLEKÜLER BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**DENEYSEL DİYABET MODELİ OLUŞTURULAN RATLARDA
KETOJENİK DİYETİN ADİPOKİN DÜZEYLERİ, OKSİDAN-
ANTİOKSİDAN STATÜ VE BAZI BİYOKİMYASAL PARAMETRELER
ÜZERİNE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

DOKTORA TEZİ

Fadime GÖKTAŞ

DANIŞMAN

Doç. Dr. Neslihan TEKİN KARACAER

AKSARAY, 2024

Aksaray Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü'nün 202330302 numaralı Doktora öğrencisi Fadime GÖKTAŞ tarafından hazırlanan “**DENEYSEL DİYABET MODELİ OLUŞTURULAN RATLARDA KETOJENİK DİYETİN ADİPOKİN DÜZEYLERİ, OKSİDAN-ANTİOKSİDAN STATÜ VE BAZI BİYOKİMYASAL PARAMETRELER ÜZERİNE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ/OY ÇOKLUĞU ile Biyoteknoloji ve Moleküler Biyoloji Anabilim Dalında DOKTORA TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Unvanı Adı SOYADI

Üniversite Adı

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum/onaylamıyorum.....

Üye: Unvanı Adı SOYADI

Üniversite Adı

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum/onaylamıyorum.....

Üye: Unvanı Adı SOYADI

Üniversite Adı

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum/onaylamıyorum.....

Tez Savunma Tarihi:/...../.....

Jüri tarafından kabul edilen bu tezin Yüksek Lisans Tezi olması için gerekli şartları yerine getirdiğini onaylıyorum.

Prof. Dr. Mehmet Ali HINIS

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

DOĞRULUK BEYANI

Doktora tezi olarak sunduđum bu çalıřmayı, akademik kurallara ve bilimsel etik, ahlak ve geleneklere aykırı dűőecek bir yol ve yardıma bařvurmaksızın yazdıđımı, yararlandıđım eserlerin kaynakçada gűsterilenlerden olduđunu, çalıřmamda kullandıđım verilerin orijinalliđini ve her tűrlű intihalden uzak olduđunu beyan ederim.

Enstitű tarafından belli bir zamana bağlı olmaksızın, tezimle ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması durumunda, ortaya çıkacak tűm ahlaki ve hukuki sonuçlara katlanacağımı bildiririm.

Fadime GűKTAř

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim süresince bana yol gösteren, bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşarak bilimsel ve manevi desteğini her zaman hissettiğim, tez çalışmamın başından itibaren her anında emeği olan, görüş ve fikirleri ile bu çalışmaya yön veren kıymetli danışmanım Doç. Dr. Neslihan TEKİN KARACAER'e sonsuz teşekkürlerimi bir borç bilirim.

Tez izleme komitesinde yer aldıkları ve değerli katkıları için Prof. Dr. Yavuz Selim ÇAKMAK'a ve Dr. Öğr. Üyesi Sibel Çiğdem TUNCER'e, histopatolojik analizlerin yapılmasında desteklerini esirgemeyen Dr. Öğr. Üyesi Melike ORDU'ya, deney hayvanları ile çalışma sürecimde her zaman bana destek olan, bilgi ve tecrübelerini esirgmeden bana yardımcı olan Öğr. Gör. Erkan ÖZKAN'a, laboratuvar çalışmalarında bana destek olan, çalışmamın her aşamasında bana büyük bir özveriyle yardım eden Fatma Nur ÖZÇINAR'a çok teşekkür ederim.

Bu günlere gelmemi sağlayan, maddi ve manevi desteklerini her zaman üzerimde hissettiğim, başarılarımı borçlu olduğum canım babam Refik ERTAP'a, canım annem Fatma ERTAP'a ve bana hayatımın her anında destek olan, çalışmalarında beni her zaman motive eden sevgili kardeşlerim Nahide KALE, Merve İRHAN ve Ferit ERTAP'a sonsuz saygı ve sevgilerimi sunarım.

Doktora eğitimimim her aşamasında beni destekleyen, yardımcı olan, sevgisiyle bana güç veren değerli eşim Yasin GÖKTAŞ'a ve hayatıma anlam katan canım kızlarım Elif ve Betül GÖKTAŞ'a en içten sevgilerimle teşekkür ederim.

Tezimin gerçekleşmesinde 122S254 numaralı proje ile maddi destek sağlayan Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu'na (TÜBİTAK) teşekkür ederim.

Fadime GÖKTAŞ

AKSARAY, 2024

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	i
İÇİNDEKİLER	ii
ÖZET.....	v
ABSTRACT	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR	x
1. GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ	6
2.1 Kan Glikoz Düzeyinin Hormonal Regülasyonu.....	6
2.2 Glikoz Taşıyıcıları.....	7
2.3 İnsülin Hormonu	9
2.3.1 İnsülin moleküler yapısı, sentezi ve salgılanması	9
2.3.2 İnsülinin etkileri.....	14
2.4 Diabetes Mellitus Tanımı	16
2.5 Diabetes Mellitus Epidemiyolojisi	17
2.6 Diyabetin Mellitus Tanı Kriterleri.....	20
2.7 Diyabet Mellitus Tanısı İçin Diagnostik Testler	20
2.7.1 Açlık plazma glikozu.....	20
2.7.2 Oral glikoz tolerans testi (OGTT)	21
2.7.3 Rastgele plazma glikoz düzeyinin ölçümü	21
2.7.4 Glikolize hemoglobin testi (HbA1c)	22
2.8 Diabetes Mellitusun Etiyolojik Sınıflandırılması.....	23
2.8.1 Tip 1 diabetes mellitus.....	24
2.8.2 Tip 2 diabetes mellitus.....	24
2.8.3 Gestasyonel diyabetse mellitus.....	26
2.8.4 Diğer spesifik tipler	26
2.9 Diabetes Mellitusun Semptomları (Belirtileri).....	27
2.10 Tip 2 Diabetes Mellitus Patofizyolojisi.....	27
2.10.1 İnsülin direnci	29
2.10.1.1 HOMA-IR (Homeostasis Model Assesment of Insulin Resistance) .	31
2.10.2 β -hücre fonksiyon bozukluğu	32
2.10.3 Hepatik glikoz üretimi artışı	33
2.11 Serbest Radikaller.....	34
2.12 Serbest Radikal Kaynakları	35
2.12.1 Endojen kaynaklar	35
2.12.2 Ekzojen kaynaklar	36
2.13 Reaktif Oksijen Türleri (ROT).....	37
2.13.1 Süperoksit radikali ($O_2^{\cdot-}$)	40
2.13.2 Singlet oksijen ($^1O_2$).....	41
2.13.3 Hidroksil radikali ($OH^{\cdot}$)	41
2.13.4 Hidrojen peroksit radikali (H_2O_2)	42
2.14 Reaktif Nitrojen Türleri (RNT)	43
2.14.1 Nitrik oksit ($NO^{\cdot}$)	44
2.15 Serbest Radikallerin Yararları	46
2.16 Serbest Radikallerin Zararları	46
2.16.1 Serbest radikallerin lipidlere etkileri	47
2.16.1.1 Malondialdehit (MDA)	49

2.16.2 Serbest radikallerin proteinlere etkileri	50
2.16.3 Serbest radikallerin nükleik asitler ve DNA'ya etkileri	51
2.16.4 Serbest radikallerin karbonhidratlara etkileri	51
2.17 Antioksidan Sistem (Antioksidanlar)	52
2.17.1 Süperoksit dismutaz (SOD)	54
2.17.2 Katalaz (CAT)	54
2.17.3 Glutasyon peroksidaz (GPx)	55
2.18 Oksidatif Stres	55
2.19 Tip 2 Diyabet ve Oksidatif Stres	56
2.20 Adipoz Doku ve Adipositler.....	61
2.20.1 Beyaz adipoz doku.....	63
2.20.2 Kahverengi adipoz doku	64
2.20.3 Bej adipoz doku	65
2.21 Adipokinler.....	65
2.21.1 Chemerin	66
2.21.2 Omentin	67
2.21.3 Nesfatin-1	69
2.21.4 Çinko α 2 glikoprotein (Zn- α 2-glikoprotein, ZAG)	70
2.22 Ketojenik Diyet	70
2.23 Keton Metabolizması	71
2.23.1 Ketogenez	72
2.23.2 Ketoliz	75
2.23.3 Ketogenezin kontrolü	76
2.24 Ketojenik Diyetin Biyokimyası.....	76
2.25 Streptozotosin ve Nikotinamid (STZ+NAD) Kullanılarak Oluşturulan DeneySEL Tip 2 DM Modeli	78
3. MATERYAL VE YÖNTEM	79
3.1 Araştırma Yeri ve Örneklem Seçimi	79
3.2 Kullanılan Cihazlar	79
3.3 Kullanılan Kimyasal Maddeler	80
3.4 Kullanılan Ticari Kitler	80
3.5 Hayvanların Temini ve Bakımı	80
3.6 Ön Çalışmanın Yapılması ve Diyabet Modelinin Oluşturulması.....	81
3.7 Deney Gruplarının Oluşturulması ve Hayvanların Bakımı.....	81
3.8 Deney Gruplarının Beslenmesi	83
3.9 Kan ve Doku Örneklerinin Toplanması ve Biyokimyasal Ölçümler	84
3.10 Analiz Yöntemleri	85
3.11 ELISA (Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay) Yöntemleri	86
3.11.1 Serum chemerin analizi	86
3.11.2 Serum nesfatin-1 analizi	88
3.11.3 Serum çinko alfa-2 glikoprotein (ZAG) analizi.....	89
3.11.4 Serum omentin-1 analizi.....	91
3.12 Karaciğer Dokusunda Oksidatif Stres ve Antioksidan Enzim Analizleri	93
3.12.1 Süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesi analizi.....	93
3.12.2 Katalaz (KAT) aktivitesi analizi.....	94
3.12.3 Karaciğer nitrik oksit (NO) düzeylerinin belirlenmesi.....	95
3.12.4 Karaciğer malondialdehit (MDA) düzeylerinin belirlenmesi.....	97
3.12.5 Doku protein analizi	98
3.13 Histopatolojik Değerlendirme ve Histolojik Tekniklerin Uygulanması	99
3.13.1 Histopatolojik verilerin değerlendirilmesi.....	100

3.14 İstatistiksel Analizler	101
4. BULGULAR	102
4.1 Yem Tüketim Miktarı.....	102
4.2 Ağırlık Değişimleri	103
4.3 BKİ Verileri.....	104
4.4 Biyokimyasal Bulguların Değerlendirilmesi.....	106
4.4.1 Haftalık açlık kan glikoz düzeylerinin değerlendirilmesi.....	106
4.4.2 HbA1c düzeylerini değerlendirilmesi.....	107
4.4.3 Serum insülin düzeylerinin değerlendirilmesi.....	108
4.4.4 HOMA-IR indeksi seviyelerinin değerlendirilmesi	109
4.4.5 HDL-Kolesterol düzeylerinin değerlendirilmesi	110
4.4.6 LDL-Kolesterol düzeylerinin değerlendirilmesi	111
4.4.7 VLDL-Kolesterol düzeylerinin değerlendirilmesi.....	112
4.4.8 TK düzeylerinin değerlendirilmesi	113
4.4.9 TG düzeylerinin değerlendirilmesi	114
4.4.10 Zn- α 2-glikoprotein (ZAG) düzeylerinin değerlendirilmesi.....	115
4.4.11 Omentin-1 düzeylerinin değerlendirilmesi	116
4.4.12 Nesfatin-1 düzeylerinin değerlendirilmesi	117
4.4.13 Chemerin düzeylerinin değerlendirilmesi	118
4.4.14 NO düzeylerinin değerlendirilmesi	119
4.4.15 MDA düzeylerinin değerlendirilmesi	120
4.4.16 SOD düzeylerinin değerlendirilmesi	121
4.4.17 KAT düzeylerinin değerlendirilmesi	122
4.5 Histopatolojik Bulgular	123
4.6 Histopatolojik Bulguların Değerlendirilmesi	125
5. TARTIŞMA	126
5.1 Tip 2 Diyabet Modelinin Oluşturulması	128
5.2 Yem Tüketimlerinin Değerlendirilmesi	129
5.3 Vücut Ağırlıklarının ve BKİ'lerinin Değerlendirilmesi.....	131
5.4 Kan Glikoz Düzeyi Değişiklikleri.....	134
5.5 HbA1c, İnsülin ve HOMA-IR Değerleri.....	136
5.6 Serum Lipid Profilinde Değişiklikler	140
5.7 Adipokin Düzeylerinde Değişiklikler	143
5.8 Oksidatif Stres Parametrelerinde Değişiklikler.....	151
5.9 Karaciğer Dokusunda Histopatolojik Değişiklikler	155
SONUÇ VE ÖNERİLER.....	157
KAYNAKLAR	158
ÖZGEÇMİŞ.....	181

DOKTORA TEZİ

DENEYSEL DİYABET MODELİ OLUŞTURULAN RATLARDA KETOJENİK DİYETİN ADİPOKİN DÜZEYLERİ, OKSİDAN- ANTIOKSİDAN STATÜ VE BAZI BİYOKİMYASAL PARAMETRELER ÜZERİNE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Fadime GÖKTAŞ

**Aksaray Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü**

Biyoteknoloji ve Moleküler Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Neslihan TEKİN KARACAER

ÖZET

Bu çalışmada streptozosin (STZ) ile Tip 2 Diabetes Mellitus (DM) modeli oluşturulan ratlarda ketojenik diyetin (KD) glisemik kontrol, lipid profili, adipokinler, antioksidan ve oksidatif stres belirteçleri üzerine etkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır. 32 adet wistar albino cinsi erkek ratlar standart yem, KD, diyabet+standart yem ve diyabet+KD olmak üzere 4 gruba ayrıldı. Her bir rat grubu dört hafta boyunca belirlenen diyet tipi ile beslendi. Deney sonunda ratlardan elde edilen kan ve doku örneklerinde glisemik kontrol ile lipid profili, serum adipokinleri (chemerin, omentin-1, nesfatin-1 ve ZAG), oksidatif stres belirteçleri (MDA ve NO) ve antioksidan enzim aktiviteleri (SOD, KAT) analizleri yapıldı. En düşük vücut ağırlığı diyabet+standart yem grubunda, en fazla ağırlık artışı ise KD grubunda gözlemlendi. KD, diyabetik ratlarda kan glikoz kontrolünü sağlarken, HbA1c düzeyinin yükselmesini önledi. İnsülin direncinin göstergesi olan HOMA-IR değerleri diyabet+standart yem grubunda anlamlı şekilde yükselirken KD diyabetik ratlarda insülin direnci oluşumunu önleyebilmiştir. KD ile beslenme ratlarda standart yem ile beslenen gruplara göre lipid parametrelerinde de artışa sebep olmuştur. ZAG, KD gruplarında standart yem grubuna göre anlamlı şekilde yükselmiştir. Chemerin, sadece standart yem grubuna göre diğer gruplarda artmıştır. Omentin-1 düzeyleri KD gruplarında artmıştır. Nesfatin-1'in düzeyleri diyabet+standart yem grubuna göre diyabet+KD grubunda yükselmiştir. Diyabete bağlı oksidatif stresin KD ile önemli ölçüde azaltıldığı ve antioksidan kapasitenin arttığı gözlemlendi. Sonuç olarak bu çalışmada sunulan biyokimyasal ve histolojik veriler KD'in diyabetik durumu iyileştirmede ve hiperglisemiye stabilize etmeye yardımcı olmada önemli bir yararlı etkiye sahip olduğu ancak KD'in lipid metabolizmasında ve hepatik steatozda bozulmalara yol açabileceğini göstermektedir. Elde edilen bulguların desteklenmesi için ayrıntılı klinik çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Ketojenik Diyet, Adipokinler, Oksidatif Stres, İnsülin Direnci.

Mayıs, 2024; 181 sayfa

PhD. THESIS

INVESTIGATION OF THE EFFECTS OF KETOGENIC DIET ON ADIPOKINE LEVELS, OXIDANT-ANTIOXIDANT STATUS AND SOME BIOCHEMICAL PARAMETERS IN RATS FOR WHICH AN EXPERIMENTAL DIABETES MODEL WAS CREATED

Fadime GÖKTAŞ

**Aksaray University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Biotechnology and Molecular Biology**

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Neslihan TEKİN KARACAER

ABSTRACT

In this study, it was aimed to investigate the effects of ketogenic diet (KD) on glycemic control, lipid profile, adipokines, antioxidant and oxidative stress markers in rats with Type 2 Diabetes Mellitus (DM) model created with streptozocin (STZ). 32 wistar albino male rats were divided into 4 groups as standard feed, KD, diabetes +standard feed and diabetes+KD. Each group of rats was fed with the specified diet type for four weeks. At the end of the experiment, glycemic control and lipid profile, serum adipokines (chemerin, omentin-1, nesfatin-1 and ZAG), oxidative stress markers (MDA and NO) and antioxidant enzyme activities (SOD, KAT) were analyzed in blood and tissue samples obtained from rats. The lowest body weight was observed in the diabetes+standard diet group, and the highest weight gain was observed in the KD group. While KD provided blood glucose control in diabetic rats, it prevented the increase of HbA1c level. HOMA-IR values, which are an indicator of insulin resistance, increased significantly in the diabetes+standard feed group, while KD was able to prevent the formation of insulin resistance in diabetic rats. Feeding with KD also caused an increase in lipid parameters in rats compared to groups fed with standard feed. ZAG was significantly increased in the KD groups compared to the standard feed group. Chemerin increased only in other groups compared to the standard feed group. Omentin-1 levels increased in KD groups. The levels of nesfatin-1 were increased in the diabetes+KD group compared to the diabetes+standard feed group. It was observed that oxidative stress due to diabetes was significantly reduced with KD and antioxidant capacity increased. In conclusion, the biochemical and histological data presented in this study show that KD has a significant beneficial effect in improving the diabetic condition and helping to stabilize hyperglycemia, but KD can lead to disruptions in lipid metabolism and hepatic steatosis. Detailed clinical studies are needed to support the findings obtained.

Key Words: Ketogenic Diet, Adipokines, Oxidative Stress, Insulin Resistance.

May, 2024; 181 pages

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Kan glikoz düzeyinin hormonal kontrolü	7
Şekil 2.2. İnsülinin yapısı	9
Şekil 2.3. İnsülinin sentezi.	10
Şekil 2.4. İnsülin sekresyon mekanizması	11
Şekil 2.5. İnsülin reseptörü ve insülinin Akt ve MAPK aracılı etkilerinin özeti	13
Şekil 2.6. İnsülin karaciğer, kas ve adipoz doku üzerinde metabolik etkileri	14
Şekil 2.7. 20-79 yaş grubunda diyabetin küresel prevalansına ilişkin tahminler (milyon).....	18
Şekil 2.8. Tip 2 DM fizyopatolojisinde uğursuz sekizli (omnious octet).	28
Şekil 2.9. Tip 2 DM'nin patogenezi.....	29
Şekil 2.10. İnsülin direnci.	30
Şekil 2.11. β -hücrelerinde disfonksiyona sebep olan mekanizmalar.	33
Şekil 2.12. Oksijen biradikali.	37
Şekil 2.13. Reaktif oksijen türleri oluşumu	39
Şekil 2.14. Nitrik oksit sentezi.	44
Şekil 2.15. NO ve RNT oluşumu.	45
Şekil 2.16. Serbest radikallerin hücre ve bileşenlerine zararları.....	47
Şekil 2.17. ROT'a bağlı oluşan lipid peroksidasyon ürünleri.	48
Şekil 2.18. Oksidatif denge.....	56
Şekil 2.19. Hiperglisemiye bağlı gelişen oksidatif stres yolları.....	58
Şekil 2.20. Kahverengi, beyaz ve bej adipoz dokular.....	63
Şekil 2.21. Keton metabolizması	74
Şekil 3.1. Araştırma kapsamında kullanılan Wistar Albino cinsi erkek ratlar.....	81
Şekil 3.2. Deney gruplarının oluşturulması	82
Şekil 3.3. Deney gruplarının beslenmesi	83
Şekil 3.4. Chemerine ait standart eğri grafiği	87
Şekil 3.5. Nesfatin-1'e ait standart eğri grafiği.....	89
Şekil 3.6. ZAG'a ait standart eğri grafiği	91
Şekil 3.7. Omentin-1'e ait standart eğri grafiği	93
Şekil 3.8. NO standart grafiği	97
Şekil 3.9. MDA standart grafiği.....	98
Şekil 3.10. Doku protein standart grafiği.....	99
Şekil 4.1. Deney süresince ratların haftalık yem tüketim miktarındaki değişiklikler.	103
Şekil 4.2. Grupların zamana göre ağırlık değişim grafiği.....	104
Şekil 4.3. Grupların zamana göre BKİ değişimi.....	105
Şekil 4.4. Grupların zamana göre açlık kan glikoz değerleri değişimi.....	107
Şekil 4.5. HbA1c (%) değerleri ve istatistiksel değerlendirmesi.	108
Şekil 4.6. İnsülin (mIU/mL) değerleri ve istatistiksel değerlendirmesi.....	109
Şekil 4.7. HOMAİR değerleri ve istatistiksel değerlendirmesi	110
Şekil 4.8. HDL-Kolesterol (mg/dL) değerleri ve istatistiksel değerlendirmesi	111
Şekil 4.9. LDL-Kolesterol (mg/dL) değerleri ve istatistiksel değerlendirmesi	112
Şekil 4.10. VLDL-Kolesterol (mg/dL) değerleri ve istatistiksel değerlendirmesi... ..	113
Şekil 4.11. Toplam kolesterol (mg/dL) değerleri ve istatistiksel değerlendirmesi.. ..	114
Şekil 4.12. Trigliserit (mg/dL) değerleri ve istatistiksel değerlendirmesi	115
Şekil 4.13. Zn- α 2-glikoprotein (ZAG) değerleri ve istatistiksel değerlendirmesi... ..	116
Şekil 4.14. Omentin-1 değerleri ve istatistiksel değerlendirmesi	117
Şekil 4.15. Nesfatin-1 değerleri ve istatistiksel değerlendirmesi.....	118

Şekil 4.16. Chemerin değerleri ve istatistiksel değerlendirmesi.....	119
Şekil 4.17. NO (nmol/mg-protein) değerleri ve istatistiksel değerlendirmesi	120
Şekil 4.18. MDA (nmol/mg-protein) değerleri ve istatistiksel değerlendirmesi	121
Şekil 4.19. SOD (U/mg-protein) değerleri ve istatistiksel değerlendirmesi	122
Şekil 4.20. KAT (U/mg-protein) değerleri ve istatistiksel değerlendirmesi.....	123



ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1. Glikoz taşıyıcıları.....	8
Çizelge 2.2. İnsülinin endokrin etkileri.....	16
Çizelge 2.3. Farklı çalışmalara göre Türkiye’de diyabet oranları	19
Çizelge 2.4. DM ve glikoz metabolizmasının diğer bozukluklarında tanı kriterleri .	20
Çizelge 2.5. Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği tarafından kabul edilen sınıflama.....	23
Çizelge 2.6. Reaktif oksijen türleri (ROT).....	39
Çizelge 2.7. Reaktif nitrojen türleri (RNT).....	43
Çizelge 2.8. Enzimatik Antioksidanlar ve Temel Fonksiyonları.....	53
Çizelge 2.9. Enzimatik Olmayan Antioksidanlar ve Temel Fonksiyonları.	53
Çizelge 2.10. Eksojen Antioksidanlar.....	53
Çizelge 2.11. Farklı fizyolojik koşullarda insan plazmasındaki keton vücut düzeylerinin aralıkları.	75
Çizelge 2.12. Tip 2 DM oluşturmak için ratlarda STZ’nin kullanım şekilleri ve dozları.	78
Çizelge 3.1. Standart rat yem içeriği.....	84
Çizelge 3.2. Ketojenik yem içeriği.	84
Çizelge 3.3. Chemerin kit standartlarının hazırlanması.....	86
Çizelge 3.4. Nesfatin-1 kit standartlarının hazırlanması.....	88
Çizelge 3.5. ZAG kit standartlarının hazırlanması.	90
Çizelge 3.6. Omentin-1 kit standartlarının hazırlanması.	92
Çizelge 3.7. Karaciğer doku süpernatant Lowry deneyi.....	99
Çizelge 4.1. Ratların haftalık yem tüketim miktarı (gr)	102
Çizelge 4.2. Deney süresince gruplara göre ratların ağırlıkları değişimleri.	104
Çizelge 4.3. Deney süresince gruplara göre ratların BKİ değişimleri.	105
Çizelge 4.4. Grupların zaman göre açlık kan glikoz değişimi.	106
Çizelge 4.5. HbA1c (%) değerleri ve istatistiksel değerlendirmesi	107
Çizelge 4.6. İnsülin değerleri ve istatistiksel değerlendirmesi.	108
Çizelge 4.7. HOMAİR değerleri ve istatistiksel değerlendirmesi.	109
Çizelge 4.8. HDL-Kolesterol değerleri ve istatistiksel değerlendirmesi.	110
Çizelge 4.9. LDL-Kolesterol değerleri ve istatistiksel değerlendirmesi.....	111
Çizelge 4.10. VLDL-Kolesterol değerleri ve istatistiksel değerlendirmesi.....	112
Çizelge 4.11. TK değerleri ve istatistiksel değerlendirmesi.	113
Çizelge 4.12. TG değerleri ve istatistiksel değerlendirmesi.	114
Çizelge 4.13. ZAG değerleri ve istatistiksel değerlendirmesi.	115
Çizelge 4.14. Omentin-1 değerleri ve istatistiksel değerlendirmesi.	116
Çizelge 4.15. Nesfatin-1 değerleri ve istatistiksel değerlendirmesi.....	117
Çizelge 4.16. Chemerin değerleri ve istatistiksel değerlendirmesi.....	118
Çizelge 4.17. NO değerleri ve istatistiksel değerlendirmesi.....	119
Çizelge 4.18. MDA değerleri ve istatistiksel değerlendirmesi.	120
Çizelge 4.19. SOD değerleri ve istatistiksel değerlendirmesi.....	121
Çizelge 4.20. KAT değerleri ve istatistiksel değerlendirmesi.	122
Çizelge 4.21. Gruplar arası karaciğer hasarına (histopatolojik bulguların) ait skorların dağılımı.	125
Çizelge 4.22. Gruplar arası karaciğer hasarına (histopatolojik bulguların) ait skorlarlar.	125

SİMGELER VE KISALTMALAR

ADA	American Diabetes Association (Amerikan Diyabet Birliği)
ADP	Adenozin Difosfat
AGEs	İleri Glikolizasyon Son Ürünleri
ANOVA	Tek Yönlü Varyans Analizi
APG	Açlık Plazma Glikozu
ASÜ-HADYEK	Aksaray Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu
ATP	Adenozin Trifosfat
BAG	Bozulmuş Açlık Glikozu
BGT	Bozulmuş Glikoz Toleransı
BKİ	Beden Kütle İndeksi
cAMP	Siklik Adenozin Monofosfat
KAT	Katalaz
coA	Koenzim A
CRP	C-Reaktif Protein
DM	Diabetes Mellitus
DNA	Deoksiribonükleik Asit
EDTA	Etilen Diamin Tetra Asetik Asit
ELISA	Enzim-Bağlı İmmünosorbent Ölçüm
ETZ	Elektron Transport Zinciri
FADH₂	Flavin Adenin Dinükleotidi
GLUT	Glikoz Taşıyıcı Protein
GSH-Px	Glutasyon Peroksidaz
H₂O₂	Hidrojen Peroksit Radikali
HbA1c	Hemoglobin A1c (Glikozillenmiş Hemoglobin)
HDL	Yüksek Dansiteli Lipoproteinler
HMG-KoA	3-Hidroksi-3-Metil-Glutaril-Koa
HOMA-IR	İnsülin Direnci Değerlendirmenin Homeostatik Modeli
IDF	Uluslararası Diyabet Federasyonu
IRS	İnsülin Reseptör Substrat
KD	Ketojenik Diyet
LDL	Düşük Dansiteli Lipoproteinler
LOO[•]	Lipit Peroksil Radikali
LOOH	Lipit Hidroperoksit Radikali
MAPK	Mitojenle Aktive Edilmiş Protein Kinazlar
MDA	Malondialdehit
MODY	Maturity-Onset Diabetes Of The Young (Gençlerde Görülen Erişkin Tipi Diyabet)
NaCl	Sodyum Klorür
NADPH	Nikotinamid Adenin Dinükleotid Fosfat
NBT	Nitroblue Tetrazolium
NF-κB	Nükleer Faktör Kappa B
NO	Nitrik Oksit
NOS	Nitrik Oksit Sentaz
O₂[•]	Süperoksit Radikali
OGTT	Oral Glikoz Tolerans Testi
OH[•]	Hidroksil Radikali
PK1	Pirüvat Dehidrogenaz Kinaz

PI3K	Fosfotidilinositol 3 Kinaz
PIP2	Fosfotidilinositol Bifosfat
PIP3	Fosfotidilinositol Trifosfat
PUFA	Çoklu Doymamış Yağ Asidi
RNT	Reaktif Nitrojen Türleri
ROT	Reaktif Oksijen Türleri
SDS	Sodium Dodesil Sülfat
SGLT	Sodyum-Glikoz Taşıma Proteini
SOD	Süperoksit Dismutaz
STZ	Streptozotosin
TBA	Tiobarbitürik Asit
TBARS	Tiyobarbitürik Asitle Reaksiyona Giren Maddeler
TG	Trigliserit
TK	Toplam Kolesterol
TURDEP	Türkiye Diyabet, Hipertansiyon, Obezite ve Endokrinolojik Hastalıklar Prevalans Çalışması
VLDL	Çok Düşük Dansiteli Lipoproteinler
WHO	Dünya Sağlık Teşkilatı
ZAG	Zinc Alpha 2 Glycoprotein (Çinko Alfa-2 Glikoprotein)
cm²	Santimetrekare
Da	Dalton
dk	Dakika
dL	Desilitre
gr	Gram
IU	Ünite
M	Molar
mg	Miligram
mL	Mililitre
rpm	Dakikadaki Devir Sayısı
sn	Saniye
µg	Mikrogram
µL	Mikrolitre
°C	Santigrat derece
%	Yüzde ifadesi
β	Beta

1. GİRİŞ

Diabetes Mellitus (DM), insülin salınımı, eksikliği ya da insülin etki mekanizmasındaki bozukluklar nedeniyle hiperglisemi ile karakterize, vücudun karbonhidrat, yağ ve proteinlerden istenilen düzeyde yararlanamaması sonucu ortaya çıkan, sürekli tıbbi bakım gerektiren, kronik metabolik bir hastalıktır. İnsülin, pankreas tarafından üretilen ve kan dolaşımındaki glikozun hücrelere taşınmasına yardımcı olan bir hormondur. Hastalığın en önemli bulgusu yetersiz insülin salınımı veya insülin fonksiyon bozukluğu sonucu gelişen hiperglisemidir. Diyabetin etiyolojisinde ise genetik sebepler, immünolojik faktörler, yanlış beslenme alışkanlıkları, hareketsiz yaşam ve diğer çevresel etkenler rol oynamaktadır. DM dört ana başlık altında sınıflandırılır. Bunlar Tip 1 DM, Tip 2 DM, gestasyonel DM ve diğer spesifik DM tipleridir.

Gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde özellikle yaşam tarzındaki değişikliklerle birlikte Tip 2 DM prevalansı hızla yükselmektedir. Tüm diyabetli hastaların %90-95'ini oluşturan Tip 2 DM genellikle orta-ileri yaş hastalığı olarak kabul edilmektedir (Coşansu, 2015). Ancak son yıllarda toplumlardaki hızlı büyüme, sağlıksız ve düzensiz beslenme, obezite ve sedanter yaşam prevalanslarındaki artışlar nedeniyle çocuk ve adolesan yaşlarında da Tip 2 DM sıklığı artmaktadır. Tip 2 DM ilerleyici bir hastalıktır ve değişken oranlarda insülin direnci, ilerleyici β -hücre disfonksiyonu, bazı bireylerde ise mutlak insülinin salınım eksikliği ile karakterizedir.

Vücutta farklı morfolojik ve fonksiyonel özelliklere sahip iki tip yağ (adipoz) doku bulunur. Beyaz yağ adipoz fazla enerjinin depolanmasında; kahverengi adipoz doku ise termogenezde rol oynar. Beyaz adipoz dokusunu subkutan ve visseral yağ dokuları temsil etmektedir ve bu dokuların temel görevi enerji depolamaktır. Bu görevi glikozdan yağ asidi sentezleyerek veya lipoproteinler ile taşınan yağları depolayarak yerine getirir. Adipoz doku, trigliseritin enerji deposu olarak bulundurulduğu esas yerdir. Son yıllarda yapılan araştırmalar adipositlerin ve adipositler arasındaki bağ dokusu hücrelerinin salgıladığı proteinlerin, çeşitli fizyolojik etkilere sahip olduğunu göstermektedir. Bu proteinlere “adipokinler” denir. Adipokinler çoğu zaman otokrin (kendine etki eden), parakrin (yakın çevresindeki hücrelere etki eden) ve endokrin (uzak organlara ve dokulara etki eden)

etkilere sahiptir. Santral ve periferde rolleri olan bu adipokinler santralde iştah ve enerji tüketimini düzenlerken periferde insülin duyarlılığı, oksidatif kapasite ve lipid alımını etkilemektedir. Yağ dokusundan salınan pek çok adipokin (leptin, resistin, apelin, vaspin, omentin, visfatin, adiponektin, chemerin vb.) tanımlanmıştır. Adipoz dokudan salgılanan adipokinler, yağ dokusunun gelişimi ve fonksiyonu üzerinde önemli düzenleyici etkilere sahiptirler. Ayrıca, çeşitli dokulardaki glikoz metabolizması üzerinde de belirgin bir etkiye sahiptirler ve toplam enerji dengesini etkilerler. Özellikle artan yağ kütlesi ile Tip 2 DM, metabolik sendrom, hipertansiyon ve astım gibi pek çok hastalığın ortaya çıkması bu durumu ispatlamaktadır. Yağ dokusunun, salgıladığı adipokinlerin miktarındaki değişikliklerin bu hastalıkların patogenezinde rol oynadığı düşünülmektedir. Ayrıca adipositlerden, proinflamatuvar ve antiinflamatuvar özelliklere sahip bazı sitokinler salınarak metabolizma ve immün sistem koordinasyonu sağlanır. Normal metabolik durumu olan bireylerde proinflamatuvar ve antiinflamatuvar adipokin dengesi vardır. Obezite gelişimi sırasında yağ dokusu genişledikçe, bu denge proinflamatuvar mediatörlerin lehine değişir. Sonuç olarak, yağ dokusunun proinflamatuvar durumu, kronik düşük dereceli inflamasyon durumuna ve obezite ile ilişkili metabolik bozukluklara katkıda bulunur. Antiinflamatuvar sitokinler, zayıf adipoz dokuda insülin duyarlılığını korumaya yardım ederken, obezitedeki proinflamatuvar sitokinler insülin direncine yol açmaktadır. Yine proinflamatuvar sitokinler adipositlerde lipolizi uyarır ve diğer dokularda lipotoksisteye neden olurlar.

Başarılı bir diyabet tedavisinin temel hedefleri fazla kilolu ve obez hastalarda ağırlığı azaltmak, yaşam tarzı değişiklikleri ve glikoz düşürücü ilaçlar ile hiperglisemiyi kişiselleştirilmiş bir hedef aralığında tutmaktır. Yaşam tarzı müdahaleleri Tip 2 DM yönetim stratejileri arasında ilk sırada yer almaktadır. Kişiye göre hazırlanmış bir beslenme programı diyabet yönetiminde temel bir rol oynar ve hastaların daha iyi bir yaşam kalitesi sağlamalarına yardımcı olur. Bu amaçla literatürde diyabet hastaları için önerilen birçok diyet türü bulunmaktadır. Ancak prediyabet ve Tip 2 DM hastalarında hiperglisemiyi kontrol etmek için optimal bir diyetin ne olduğu konusunda fikir birliğine varılamamıştır. Şöyle ki, iyi bir glisemik kontrol sağlayabilmek için kilo vermenin ve toplam kalori alımının azaltılmasının önemli olduğu gerçektir. Ancak hastalara tavsiye edilmesi gereken 3 ana gıda bileşeninin (karbonhidrat, yağ ve protein) ideal oranı halen belirsizliğini korumaktadır.

Son yıllarda popüler olan ketojenik diyet (KD), düşük karbonhidrat, orta düzeyde protein ve yüksek oranda yağ içeren, bilimsel temelleri olan bir diyetdir. Normal şartlarda diyetle alınan karbonhidrat glikoza çevrilerek enerji olarak kullanılır. KD’de ise; düşük karbonhidrat alımı nedeniyle kandaki glikoz seviyeleri azalır ve bu da insülin salınımının düşmesine yol açar. Vücutta yeterli karbonhidrat bulunmadığı için diyetle alınan yağlar veya depo yağlar önce yağ asitlerine ve ardından keton cisimciklerine dönüşerek ana enerji kaynağı olarak kullanılır. KD’nin kilo yönetimi ve beslenme ketozisini indükleyerek metabolik sendromun önlenmesindeki yararlı etkileri araştırılmaya başlanmıştır. Özellikle keton cisimlerinin enerji kaynağı olarak kullanılmasının yanısıra, sinyal molekülleri olarak da işlev görmesi sebebiyle KD; Tip 2 DM, epilepsi, obezite, diyabet, Alzheimer, Parkinson, polikistik over sendromu ve kanser gibi hastalıklarda etkileri araştırılmıştır. Son çalışmalar KD’nin hastaların kilo vermesine, metabolik sendrom belirtilerini tersine çevirmesine, Tip 2 DM hastaları için insülin gereksinimlerini azaltmasına veya ortadan kaldırmasına yardımcı olma konusunda umut vaat etmektedir. Diğer taraftan yüksek yağ içeriği nedeniyle bu diyet ile ilgili bazı endişeler de bulunmaktadır. Örneğin, bazı çalışmalar KD’nin hepatik inflamasyona ve dislipidemiye neden olabileceğini göstermiştir. Ayrıca hastaların KD’ye uyumunun daha zayıf olduğu da görülmüştür. Bu nedenle KD ve Tip 2 DM arasındaki ilişkilerin altında yatan mekanizmalar hala bir tartışma konusudur.

Bu bilgiler ışığında karbonhidrat alımının kısıtlandığı KD’nin diyabette kan lipid profilini, glisemik kontrolü ve insülin direncini iyileştirebileceği düşünülebilir. Diyabetik süreçte gelişen hiperglisemi nedeniyle karaciğer fonksiyonlarındaki değişimin diğer organlara kıyasla daha önce olduğu yapılan çalışmalarda gösterilmiştir. Karaciğer glikoz metabolizması için önemli bir organ olmasından dolayı hiperglisemi sonucu meydana gelen oksidatif stres bu dokuda hasara sebep olabilmektedir. Karaciğer dokusu, yüksek oksijen tüketimi ve az miktarda antioksidan savunması nedeniyle oksidatif strese duyarlıdır. Artan serbest radikaller antioksidan savunma bileşenlerini tüketerek membranlarda oksidatif hasara, hücresel fonksiyonların bozulmasına ve lipid peroksidasyonuna yatkınlığı arttırmaktadır. Bununla birlikte yağ oranı yüksek olan KD ve inflamatuvar bir tablo olan diyabette adipoz dokudan salınan sitokinlerin ve anti/pro- inflamatuvar adipokinlerin profili de değişecektir.

Adipoz dokuda meydana gelen bu değişimler bu dokudaki oksidatif stres belirteçlerinin ve antioksidan enzimlerin salınımı da etkileyecektir. Ayrıca diyabetin karaciğer dokusunda hepatosit dejenerasyonu, inflamasyon, fibrozis gibi histopatolojik değişikliklere neden olduğu gösterilmiştir. Kronik hiperglisemi ile artan serbest radikaller ve inflamatuvar cevap, diyabetle oluşan karaciğer değişikliklerinden sorumlu tutulmaktadır. Bu tez çalışmasında temel olarak iki önemli hipotez bulunmaktadır. Bunlar;

1. KD, yağ dokusu morfolojisinin değişmesine ve muhtemelen fonksiyonel özelliklerinin de değişmesine neden olan adipoz dokunun yeniden şekillenmesini indükleyebilir. Karbonhidrat kısıtlaması ketogenezis ile birlikte adiposit lipolizinde uyacaktır. Dolayısıyla KD süresince makro besin alımındaki kaymalar salgılanan adipokinlerin profilini değiştirerek yağ dokusundaki endokrin aktiviteleri de değiştirecektir. Tip 2 DM modeli oluşturulan ratlarda KD'nin olası etkilerini incelemek için bazı plazma adipokin düzeylerinin ölçümü planlanmıştır. Adipoz dokudan salgılanan ve insülin duyarlılığı ile negatif ilişkili inflamatuvar bir adipokin olan chemerin, insülin duyarlılığının korunmasında etkili ve anti-diyabetik rolleri olan antiinflamatuvar bir adipokin olan omentin-1, etkisini lipoliz ve lipid kullanımını uyarak gösteren ZAG, beslenme ve kilo kontrolünde önemli bir role sahip, güçlü bir anoreksijenik peptid olan nesfatin-1'in plazma düzeyleri ölçülmüştür. Diyabetin sağaltımında uygulanacak olan KD'nin söz konusu adipokinlerin olası rolleri ile ilgili deneysel sonuçları belirlemek, Tip 2 DM'nin erken teşhisinde, komplikasyonlarının kontrolünde, glikoz ve lipid metabolizmasının düzenlenmesindeki etkileri açıklanacaktır.

2. İnsan ve hayvanlar ile yapılan çalışmalarda diyabette KD'nin koruyucu ve tedavi edici etkilerinin olduğu gösterilmiştir. KD'nin mitokondriyal biyogenezi uyardığı, mitokondriyal fonksiyonları iyileştirdiğı böylece oksidatif stresi azalttığı ayrıca karaciğerdeki lipid peroksidasyonunu azaltarak oksidatif hasarı önlediğı düşünülmektedir. Kronik hiperglisemi ile seyreden diyabet, vücutta inflamatuvar bir ortam oluşturarak oksidatif strese yol açarak diyabet tablosunu ağırlaştırır. KD uygulaması diyabette oksidatif stresin neden olduğu doku hasarını önleyebileceğı öngörülmektedir. KD'nin diyabet tablosunda artan lipid peroksidasyonu ölçütü olan MDA ve hipergliseminin etkisiyle biyoyararlanımı azalan NO düzeyleri üzerine

etkileri incelenmiştir. Ayrıca serbest oksijen radikallerine karşı savunmada ilk basamak olan SOD ve H_2O_2 yıkımını katalizleyen KAT enzim düzeyleri de incelenecektir.

Bu çalışmada amacımız Tip 2 DM modeli oluşturulan ratlarda KD'nin glisemik kontrol, lipid profili, serum adipokin düzeylerine etkilerini, oksidatif stres-antioksidan savunmadaki rolünü ve karaciğer dokularında meydana gelebilecek olası histolojik değişiklikleri ortaya çıkarmaktır. Bu amaç doğrultusunda hedefimiz Tip 2 DM modeli oluşturulan ratlara uygulanan KD'nin glisemik kontrol (kan glikozu, insülin, HbA1c ve insülin direnci), lipid profili (TK, LDL, VLDL, HDL, TG), fiziksel parametreler (vücut ağırlığı ve BKİ) üzerine etkilerini incelemek, serum adipokin (chemerin, omentin-1, nesfatin-1 ve ZAG) düzeylerini ve karaciğer ve yağ dokularında oksidatif stres belirteçlerini (MDA ve NO), antioksidan enzim kapasitelerini (SOD, KAT) ölçmek ve karaciğer dokularını histolojik yöntemlerle incelemektir.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

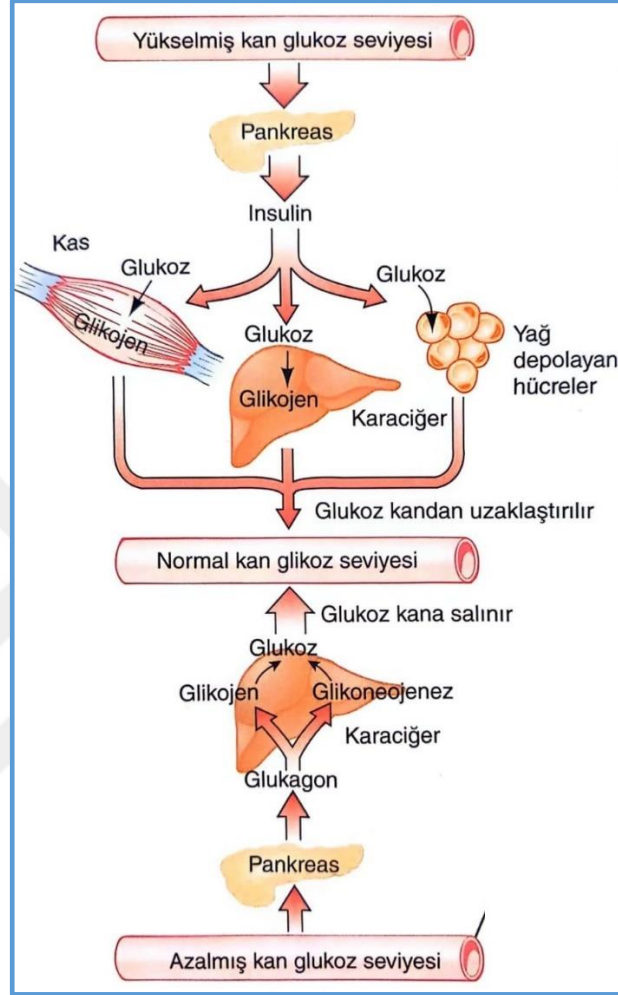
2.1 Kan Glikoz Düzeyinin Hormonal Regülasyonu

Vücudun en önemli enerji kaynağından biri olan glikozun Emilimi, hücre içine alınması, karaciğerde depolanması ve yeniden sentezlenerek tekrar kana verilmesine kadar olan tüm metabolik süreç ve yollar sıkı bir şekilde düzenlenmiştir. Kan glikoz seviyesi, beslenme veya aktivite durumundaki değişikliklere rağmen, gün boyunca oldukça stabil seyreder. Normal kan glikoz düzeyi 8-12 saatlik açlıktan sonra 70-110 mg/dL arasında ölçülür. Uzun süren açlıklarda dahi plazma glikoz düzeyi korunur veya çok az bir düşüş gösterir. Besin alımları sonrası da bu denge korunmakta olup, besin alımından sonra kan glikoz seviyesi en fazla 160-170 mg/dL'ye kadar yükselir. Açlık ve tokluk devresi içinde kan glikoz seviyesindeki bu düzene glikoz homeostazı denir. Glikoz homeostazı, vücudun kan glikozunu fizyolojik sınırlarda tutmak için güçlü bir düzenleme sistemine sahip olduğunu göstermektedir. Özellikle eritrosit, beyin ve retina gibi enerji kaynağı olarak glikoz kullanan organlar için glikoz homeostazı oldukça önemlidir (Gürdöl, 2018; Tucker ve Tan, 2017; Röder vd., 2016).

Kan glikoz konsantrasyonunun sabit bir şekilde sürdürülmesi, karaciğer, ekstrahepatik dokular ve çeşitli hormonları içeren tüm homeostatik mekanizmaların en ince şekilde düzenlenmesine bağlıdır. Kana glikoz sağlayan kaynaklar ile glikozun kullanıldığı olaylar arasında dengenin sürdürülmesi esastır. Kan glikoz seviyelerinin ayarlanmasında başta insülin ve glukagon hormonları olmak üzere epinefrin, büyüme hormonu ve kortizol hormonlarının karşılıklı ve sinerjistik etkileşimleri mutlaklıdır (Rodwell vd., 2019).

Glikoz homeostazında görevli hormonlar iki grupta toplanır; insülin hormonu ve insülin karşıtı sistem. İnsülin hormonu; tokluk halinde hiperglisemiye cevap olarak pankreastan salınan bu hormon glikozun hücreler tarafından kullanılmasını sağlayarak kan glikoz düzeylerini düşürür. İnsülin bu etkisini organizmada glikoz kullanımını yani glikoz oksidasyonu, glikojenez ve lipojenez yollarını aktive ederek sağlar. İnsülin karşıtı sistem; pankreastan salınan glukagon, böbrek üstü bezlerden salınan epinefrin ve glikokortikoidler ve hipofiz bezi ön lob hormonu olan büyüme hormonunu kapsar.

İnsülin karşıtı sistem açlıkta etkilidir ve kan glikoz düzeyinin düşmesinin önler. Bu etkisini glikojenoliz ve/veya glikoneojenezi aktive ederek ve glikoz kullanımını baskılayarak gösterir (Şekil 2.1.) (Gürdöl, 2018; Tucker ve Tan, 2017).



Şekil 2.1. Kan glikoz düzeyinin hormonal kontrolü (Holt, 2015).

2.2 Glikoz Taşıyıcıları

Glikoz hücre membranından kolayca geçemeyecek büyüklükte olduğu için hücre içine alınması başlıca iki çeşit taşıyıcı protein vasıtasıyla gerçekleşir. Bunlar sodyum-glikoz ilişkili taşıyıcılar (SGLT) ve kolaylaştırılmış difüzyon glikoz taşıyıcı (GLUT) proteinleridir (Navale ve Paranjape, 2016). SGLT'ler, barsak lümeni içindeki glikozun enterosit içerisine alınmasında ve glomerüler filtrattan proksimal tübüle transportunda görevlidir. SGLT1, ince barsaktan glikoz absorpsiyonunu sağlar. SGLT2 ise esas olarak böbreğe gelen glikozun büyük bir kısmının (>%90) filtre edilmesinden sorumludur (Wright vd., 2011). Kolaylaştırılmış difüzyon ile

glikoz alımının yaygın şeklini temsil eden GLUT taşıyıcıları ise hücre zarı yüzeyinde yayılmış bir şekilde bulunan integral membran proteinleridir. Bunlar metabolizma için gerekli glikozun ekstraselüler ve intraselüler kompartmanlar arasında hareketini düzenlerler (Navale ve Paranjape, 2015). Karaciğer hücreleri her iki yönde (GLUT 2 taşıyıcısı yoluyla) glikoza serbest geçirgendir. Ekstrahepatik dokuların hücreleri ise (pankreas β -hücreleri hariç) glikoza kısmen geçirgen olup tek yönlü glikoz taşıyıcıları insülin tarafından düzenlenir. İnsülin, kas, yağ ve diğer dokularda, hücre zarında yer alan glikoz taşıyıcıların sayısını arttırarak, hücre içine glikoz girişini uyarmaktadır. Tanımlanan izozimleriyle yaygın bir çeşitliliğe sahip bu taşıyıcılar, glikozun hücre içi ve dışına taşınmasında büyük öneme sahiptir (Rodney vd., 2017). Bugüne kadar insanda 14 adet GLUT tanımlanmış ve bulunuş sırasına göre isimlendirilmiştir (Çizelge 2.1). Bu taşıyıcılar yaklaşık 500 amino asitlik 12 adet transmembran segmenti olan proteinlerdir. Bunlardan GLUT4 hariç diğerleri hücre membranında bulunurken GLUT4 özellikle glikoz kullanımın çok olduğu kas ve yağ gibi dokularda sitoplazma içinde bulunur ve membrandaki sayısı insülin tarafından arttırılır (Rodwell vd., 2019).

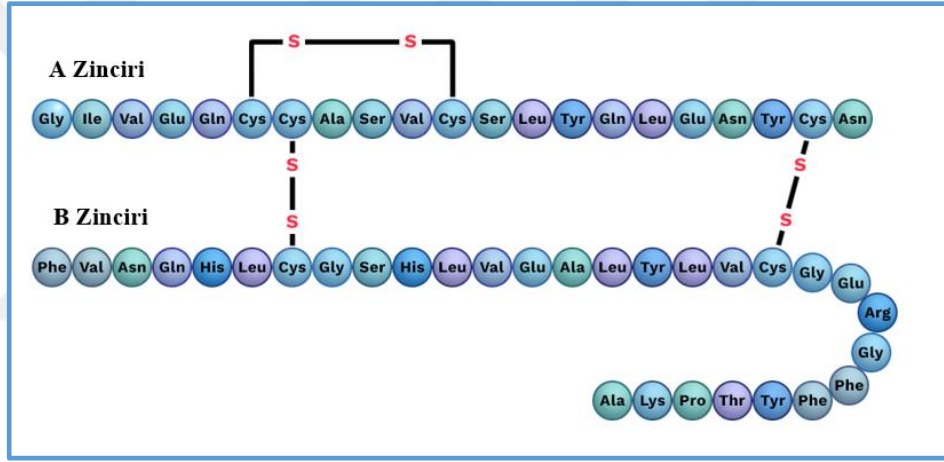
Çizelge 2.1. Glikoz taşıyıcıları (Rodney vd., 2017).

Protein ismi	İnsülinin cevabi	Doku dağılımı
GLUT1	Yok	Beyin, eritrosit, kan-doku bariyeri, kan-beyin bariyeri birçok fetal doku
GLUT2	Yok	Karaciğer, Langerhans adacığı, böbrek, beyin
GLUT3	Yok	Beyin (nöron), testis
GLUT4	Var	Adipoz doku (beyaz ve kahverengi), iskelet ve kalp kası
GLUT5	Yok	İnce bağırsak, böbrek, testis
GLUT6	Yok	Beyin, dalak, lökosit
GLUT7	Yok	Prostat, testis, ince bağırsak, kolon,
GLUT8	Yok	Beyin, testis, karaciğer, adrenal bez, dalak, kahverengi adipoz oku, akciğer (hücre içi)
GLUT9	Bilinmiyor	İnce bağırsak, böbrek, karaciğer, plasenta, akciğer ve lökosit
GLUT10	Yok	Beyin, kalp, akciğer, karaciğer, iskelet kası, pankreas, böbrek ve plasenta
GLUT11	Yok	Kalp, kas
GLUT12	Yok	Kalp, prostat, iskelet kası, plasenta
GLUT13	Bilinmiyor	Beyin, adipoz doku
GLUT14	Bilinmiyor	Testis

2.3 İnsülin Hormonu

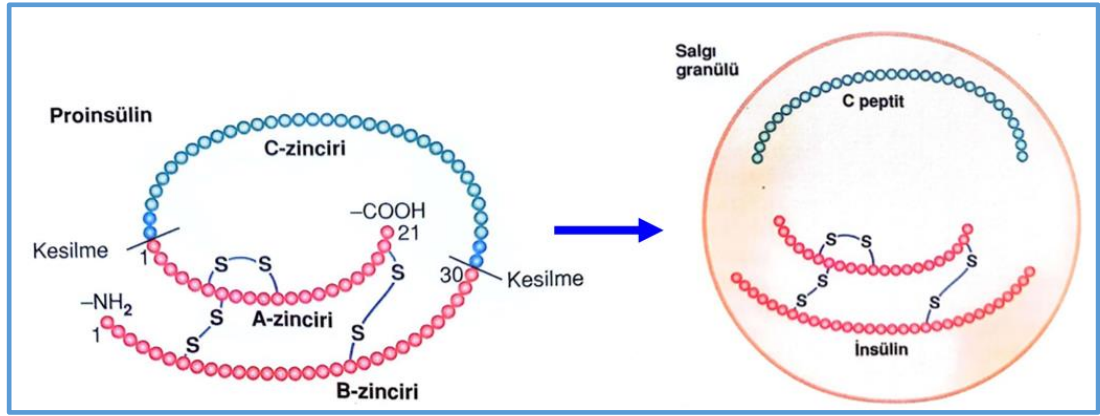
2.3.1 İnsülin moleküler yapısı, sentezi ve salgılanması

İnsülin, pankreasın ekzokrin bölümünde kümelenmiş hücreler halinde bulunan Langerhans adacıklarının beta (β) hücreleri tarafından üretilen polipeptid yapıda bir hormondur. Moleküler ağırlığı 6000 dalton (Da) olan bu hormon A (kısa) ve B (uzun) diye adlandırılan iki düz aminoasit zincirinin birbirine disülfid köprüleri ile bağlanması ile oluşmuştur. Aminoasit zincirleri arasında yer alan bu disülfid köprüleri hormonun biyolojik aktivitesi için gerekli olan kısımlardır. A zinciri 21 aminoasit, B zinciri 30 aminoasit olmak üzere toplam 51 aminoasitten meydana gelmektedir (Şekil 2.2.) (Varewijck ve Janssen, 2012).



Şekil 2.2. İnsülinin yapısı

İnsülin sentezi; İnsülin ilk olarak pankreas β -hücrelerinin ribozomlarında tek zincirli ve 110 aminoasitten oluşan pre-proinsülin olarak sentezlenir. Bu yapı endoplazmik retikulum lümenine taşınırken 24 aminoasitten oluşan N-terminal sinyal peptidini kaybederek proinsülin haline gelir. Proinsülin, insülinin yanı sıra bir C-peptid adı verilen bir kısmı da içerir. Proinsülin, golgi cisimciğinde yer alan salgı granüllerine (mikroveziküllere) girer ve burada yer alan proteazların etkisiyle 35 aminoasitten oluşan C-peptidini kaybeder (Köylü, 2019). C-peptid, insülinin biyolojik aktivitesi olmayan bir yan üründür. Aktif insülin, çinko iyonları ile salgı granüllerinde depolanır. Normal fizyolojik koşullarda salgı granülleri içerisinde %5 proinsülin ve %95'i insülin vardır. Bu şekilde insülin, ihtiyaç duyulduğunda hızla salgılanabilir ve glikoz homeostazı sağlanır (Şekil 2.3.).

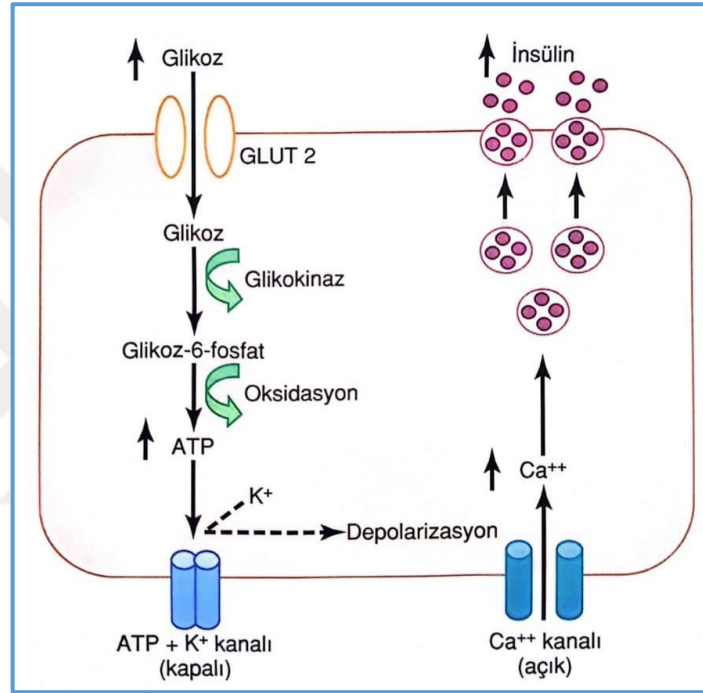


Şekil 2.3. İnsülinin sentezi (Guyton ve Hall, 2017).

İnsülin olgunlaştıktan sonra, insülin salınımı tetiklenene kadar salgı granüllerinde depolanır. İnsülin salınımı uyarıldıktan sonra ise salgı granüllerinden plazma membranına doğru hareket ederek eksositoz ile kana verilir. İnsülin kana salındığında dolaşımda büyük bir kısmı serbest formda bulunur (Holt, 2015). İnsülinin plazmadaki yarı ömrü oldukça kısadır, genellikle 6-10 dk arasında değişir. Bu da insülinin kısa sürede plazmadan temizlenmesine yol açar. İnsülin, hedef hücrelerdeki reseptörlere bağlandıktan sonra etkisini gösterir ve birçok hücredeki insülinaz enzimi tarafından parçalanır. Karaciğer, böbrek ve kaslar, insülinin parçalanmasında önemli bir rol oynar. İnsülinin kontrol işlevlerinin hızla sona erdirilmesi, vücuttaki kan glikoz seviyelerinin dengelenmesi için kritiktir. Özellikle insülinin hızla uzaklaştırılması, kan şekeri seviyelerinin normale dönmesini sağlar ve hipoglisemi durumlarını önler (Guyton ve Hall, 2017).

İnsülin salgılanmasında glikozu rolü; glikoza verilen insülin salgı yanıtı β -hücresinde glikozun metabolize edilmesinin bir sonucudur. Bu yanıtın aşamaları şu sırayla olmaktadır; İlk olarak glikoz, β -hücresine bir glikoz taşıyıcısı olan GLUT2 ile kolaylaştırılmış difüzyon mekanizması ile girer. Hücre içine giren glikoz, glikokinaz enzimi tarafından fosforillenerek kreps döngüsüne sokulur. Bu döngüde metabolize edilen glikoz hücrede ATP seviyesinin dolayısı ile ATP/ADP oranının artmasına sebep olur (Rodwell vd., 2016). Artmış ATP ve ATP/ADP oranı β -hücre membranında bulunan ATP'ye duyarlı potasyum (K^+) kanallarının kapanmasına sebep olur. Hücre membranından K^+ iletkenliğinin bu yolla azaltılması membran voltajını daha az negatif, bir başka deyişle depolarize hale getirir. Membranın depolarize olması voltaj kapılı kalsiyum (Ca^{+2}) kanallarının açılmasına ve hücre içine Ca^{+2} akımının

artmasına neden olur. Hücre içinde Ca^{+2} artışı depolanmış veziküllerin ekzositozunu uyarak insülinin önce ekstraselüler aralığa oradan da dolaşıma verilmesine sebep olur (Şekil 2.4.). İnsülin salgısının, glikoza ilaveten arjinin, lizin ve lösin gibi çeşitli esansiyel amino asitlerin, asetat, propionat ve bütirat gibi kısa zincirli uçucu yağ asitlerinin ve özellikle de β -hidroksi bütirat olmak üzere çeşitli keton cisimlerinin uyardığı bilinir. Amino asitlerin β -hücresinde glikoz gibi metabolize edilerek, ATP düzeyini dolayısı ile de insülin salgısını arttırdığı bilinmektedir (Galicia-Garcia vd., 2020; Köylü, 2019; Guyton ve Hall, 2017).



Şekil 2.4. İnsülin sekresyon mekanizması (Guyton ve Hall, 2017).

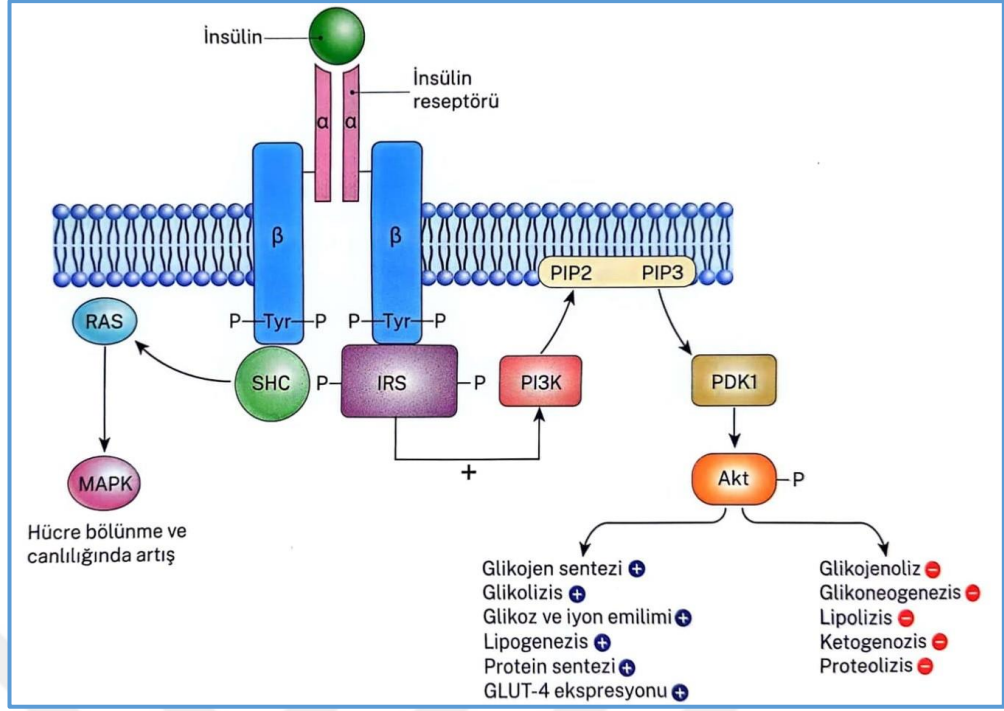
İnsülinin etki mekanizması; peptit yapılı bir hormon olan insülin hücre içerisine giremez. Bu nedenle insülin metabolik etkisini hücre içinde yer alan enzimlerin aktivitesini değiştirerek gösterir. İnsülinin hücre üzerinde etkili olabilmesi için öncelikle pankreas β -hücresinden salınıp sistemik dolaşıma geçmeli, oradan interstisyuma ve son olarak hedef dokulara ulaşarak hücre yüzeyinde yer alan insülin reseptörlerine bağlanması gerekir (Çoban ve Gültekin, 2012). Hücre zarında yer alan insülin reseptörü, sitoplazmadaki insülin duyarlı enzimler ve belirli genlerin ifadesini uyardığı çekirdeğe kadar uzanan çok dallı bir yolak boyunca giden bir sinyal oluşturur. İnsülin reseptörü, insülinin hedef dokularda etkinliğinin oraya çıkmasında görev alan tirozin kinaz etkinliğine sahip reseptör gen ailesinin bir üyesidir. Bu

reseptör, birbirleriyle disülfid köprüleri ile bağlı 2α ve 2β alt birimden oluşmuş bir heterotetramerdir. Sistein kalıntısından (residue) zengin ve glikozilasyona uğramış pek çok bölgesi bulunan α zincirler ekstraselüler alanda bulunur ve insülin hormonunun bağlandığı bölgeyi oluştururlar (Köylü, 2019). β alt ünitelerinin ekstraselüler, transmembran ve intraselüler kısımları vardır (Şekil 2.5.). Ekstraselüler kısmı glikozillenmiştir ve bu insülinin bağlanması ve etkinliğinin ortaya çıkmasında gereklidir. Transmembran kısmı reseptörü plazma membranına bağlarken, intraselüler kısımda insülin α alt birimine bağlandığında otofosforilasyona uğrayabilen tirozin kalıntıları bulunur (Şekil 2.5).

İnsülin bağlanmasıyla otofosforilasyona uğrayan β alt birimleri reseptöre tirozin kinaz etkinliği kazandırır. Tirozin kinaz aktivitesi kazanmış insülin reseptörü, insülinin hedef hücredeki etkilerini göstermesi için temel olarak iki hücre içi yolağı kullanır. Bunlar Akt (Protein Kinaz B olarak da bilinen bir serin treonin kinaz) ve MAPK (Mitojenle Aktive Protein Kinaz) yolaklarıdır. İnsülinin glikoz ve protein metabolizması üzerine olan etkilerinin çoğu Akt yolağı üzerinden olmaktadır. Bu yolağın hücre içinde akış şeması aşağıda gösterilmiştir.

1. İnsülin'in reseptöre bağlanması, β zincirdeki tirozin rezidülerinin otofosforilasyona uğraması nedeniyle reseptörün tirozin kinaz etkinliğini ortaya çıkartır.
2. Bu etkinlik İnsülin Reseptör Substratları (IRS 1-4) adı verilen bir grup sitozolik proteinlerin tirozin rezidülerinin fosforillenerek aktifleşmesine neden olur.
3. IRS'lerin fosforile tirozin rezidülerine hücre içinde fosfotidilinositol 3-kinaz (PI3K) enzimi bağlanarak aktive olur.
4. Aktive PI3K'ın membran lipidlerinden Fosfotidilinositol 4,5 bifosfatı (PIP2) fosforilleyerek Fosfotidilinositol 3,4,5 trifosfat (PIP3) oluşumuna neden olur.
5. PIP3 ise 3-Fosfotidilinositol Bağımlı Kinaz 1 (PDK1) aktivitesini artırır.
6. PDK1 ise Protein kinaz B'yi (Akt) fosforilleyerek aktivasyonuna sebep olur.

Akt aktivasyonu üzerinden çalışan bu yolak insülinin karaciğer, kas ve yağ dokusundaki metabolik etkilerinin ortaya çıkmasında baskın (dominant) bir etkiye sahiptir. Ayrıca insülinin protein sentezindeki düzenleyici, hücre büyümesi ve canlılığı üzerine olumlu etkilerinin ortaya çıkmasında da bu yolağın katkısı vardır (Ağar, 2021) (Şekil 2.5.).



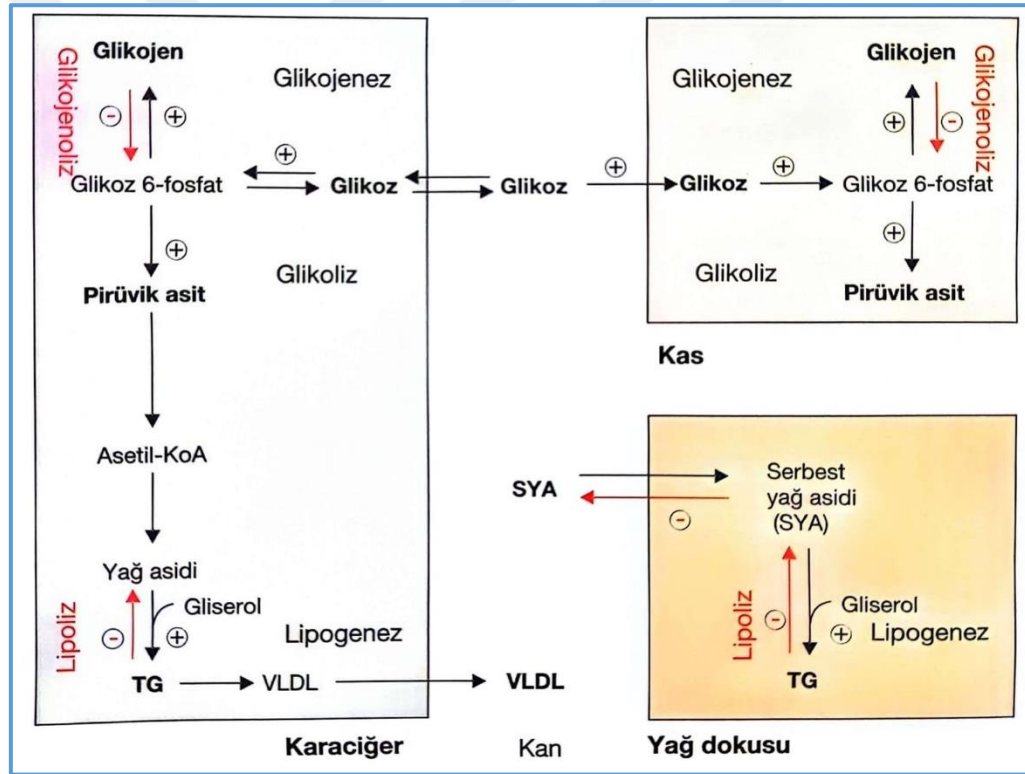
Şekil 2.5. İnsülin reseptörü ve insülinin Akt ve MAPK aracılı etkilerinin özeti

IRS: insülin reseptör substratı. SHC: SRC Homology C Terminus. PI3K: fosTotidilinositol 3-kinase. PIP2: Fosfotidilinositol 4,5 bifosfat. PIP3: Fosfotidilinositol 3,4,5 trifosfat. PDK1: 3-Fosfotidilinositol Bağımlı Kinaz 1.

Diğer temel yolak olan MAPK aktivasyonu metabolik etkilerden daha çok insülinin çoğaltıcı ve farklılaştırıcı etkilerinin ortaya çıkmasında görev alır. Bu yolaktada IRS'ler tarafından aktive edilen hücre içi bir protein olan SHC (SRC Homology C Terminus) tarafından başlatılır. Hücre içine yollanan sinyal akışı hücre yüzeyinde reseptör aktivasyonu ile sınırlı değildir (Rodney vd., 2017). Aktive olmuş ligant-reseptör kompleksi hücre içine endozomlar aracılığı ile alındıktan sonra dahi, endozom lümeni asitleşene kadar reseptörün tirozin kinaz etkinliği devam eder. Lümen içi asitleştikten sonra insülin reseptöründen ayrılır ve etkinliği sona erer, İnsülin, insülinaz enzimi ile parçalanırken reseptör tekrar membrana yollanır (Guyton ve Hall, 2017). İnsülin reseptör sayısı egzersiz, diyet, insülin ve diğer hormonlarca düzenlenir. Kronik kan insülin düzeyindeki yükseklik, obezite ve yüksek büyüme hormon düzeyleri insülin reseptörlerinin membrandaki sayısını azaltırken, egzersiz ve açlık reseptör sayısını çoğaltarak insüline cevap verebilirliği artırır (Ağar, 2021; Thong, 2005).

2.3.2 İnsülinin etkileri

İnsülin, vücuttaki tek hipoglisemik etkili hormondur. Glikozun hücrelere girişini kolaylaştırır ve kan glikozunu düşürür. İnsülin sadece karbonhidrat metabolizmasında değil, aynı zamanda protein metabolizması, yağ metabolizması ve büyümede etkili bir hormondur. Ağırlıklı olarak karbonhidrat metabolizmasına etki eder (Rodney vd., 2017). Alınan besin maddelerinin hücrelerde depolanmasını ve kullanılmasını sağlar. İnsülin vücutta karbonhidrat, protein ve yağ depolanmasını sağlar. Bu nedenle bolluk hormonu olarak da adlandırılır. Depolanan besinler besin alımından sonraki açlık dönemleri esnasında santral sinir sistemine glikoz, kas kitlesi ve iç organlara yağ asidi sağlamak için hazır tutulur. İnsülinin başlıca hedef dokusu karaciğer, kas ve yağ dokusudur (Şekil 2.6.) (Köylü, 2019).



Şekil 2.6. İnsülin karaciğer, kas ve adipoz doku üzerinde metabolik etkileri (Köylü, 2019).

İnsülin başta adipoz ve kas dokusu olmak üzere birçok hücrede, hücre membranındaki glikoz taşıyıcılarının sayısını artırarak glikozun hücreye girişini kolaylaştırır. Böylece glikozun hücre içine taşınma hızını artırır (Guyton ve Hall, 2017).

İnsülinin glikoz alımını kolaylaştırmadığı dokular beyin, retina, gonadların germinal epiteli, böbrek tübülleri, bağırsak mukozası ve eritrositlerdir. Bu dokularda insülinin doğrudan bir etkisi yoktur. Beyin hücreleri (nöronlar) normalde glikoza geçirendir ve insülinin aracılığı olmadan glikozu kullanır. Beyin hücreleri enerji kaynağı olarak sadece glikozu kullanır. Bu nedenle kan glikozunun daima kritik bir değerin üzerinde sürdürülmesi gerekir (Rodney vd., 2017). Hipoglisemide insülin salgısı azalır ve glukagon salgısı artar; bu durum beyin gibi insülininden bağımsız olarak glikoz kullanan dokuların kullanımında öncelik kazanmasını sağlar. Böylece insüline bağımlı dokuların glikoz alımı en aza inerken, sinir sistemi sınırsız glikoz kullanabilir. Bu, santral sinir sistemi için önemli bir ayrıcalıktır. Ancak ciddi hipoglisemilerde (kan glikozunun 50 mg/dL'nin altına düşmesi durumunda) santral sinir sistemi ciddi bir şekilde etkilenir; konfüzyon, senkop ve hipoglisemik koma ortaya çıkabilir (Köylü, 2019; Gürdöl, 2018).

Glikoz hücelere kolaylaştırılmış difüzyon ile taşınır. Bu taşınma glikozun böbrek tübülleri ve bağırsak mukozasında sekonder aktif taşınmasından farklıdır. Kas, adipoz ve diğer bazı dokularda insülinin hücre membranında bulunan reseptörüne bağlanması, hücre membranında glikoz taşıyıcılarının sayısını artırır ve glikozun hücreye girişini kolaylaştırır (Wright vd., 2011). GLUT4 taşıyıcı proteinleri insüline bağımlıdır ve insüline duyarlı hücrelerin sitoplazmasında bulunur. GLUT4 taşıyıcı proteini sadece kalp, iskelet kası ve yağ dokusunda bulunur. Dolayısıyla bu dokulara glikozun girmesi için insüline ihtiyaç vardır. Bu hücreler insülinle karşılaştıklarında bu taşıyıcı proteinler hücre membranına doğru hareket eder ve hücre membranı ile kaynaşır. İnsülin uyarısı durduğunda ise muhtemelen endositoz ile sitoplazmaya geri dönerler. GLUT4 taşıyıcı proteinlerinin aksine, diğer glikoz taşıyıcı proteinleri hücre membranında bulunur (Köylü, 2019; Guyton ve Hall, 2017).

İnsülin karaciğer hücrelerinde de glikoz alımını artırır. Fakat bu etkiyi hücre membranındaki GLUT4 taşıyıcılarının sayısını artırarak yapmaz. Bunun yerine insülin glikozun fosforilasyonu için gerekli glikokinaz enziminin aktivitesini artırır (Rodwell vd., 2019). Hücre içine alınan glikoz glikokinaz ile glikoz 6-ftosftata dönüştürülür. Bu fosforilasyon hücre içinde glikozun sürekli düşük konsantrasyonda kalmasını sağlar. Böylece hücre içi glikoz miktarı düşük tutularak hücreye glikoz girişi kolaylaşır. Hepatositler glikoza geçirendir ve hepatositler için glikoz alımı

sınırsızdır. Fosforillenmiş glikozun hücre membranından geriye sızması mümkün değildir. Böylece glikoz geçici bir süre karaciğer hücrelerinde hapsedilir (Gardner ve Shoback, 2019). İnsülin hormonunun endokrin etkiler Çizelge 2.2’de özetlenmiştir.

Çizelge 2.2. İnsülinin endokrin etkileri (Çoban ve Gültekin, 2012).

Doku	İnsülin Etkisi
Karaciğer	Katabolik etkiler: • Glikojen yıkımını inhibe eder (Glikojen fosforilazı inhibe eder) • Yağ asitlerinin ve aminoasitlerin keto asitlere dönüştürülmesini inhibe eder • Aminoasitlerin glukoza dönüştürülmesinin inhibe eder (glükoneogenez) Anabolik etkiler: • Glukozun glikojen şeklinde depolanması uyarı (glukokinazı ve glikojen sentazı uyarır) • Trigliserid sentezini ve VLDL oluşumunu artırır.
Kas	Glikojen sentezi • Glikojen sentazı uyarır • Glikoz transportunu artırır • Glikojen fosforilazı inhibe eder Protein sentezi: • Ribozomal protein sentezini artırır • Aminoasit transportunu artırır
Adipoz doku	Trigliserid depolanması: • Lipoprotein lipaz, insülin tarafından uyarılarak yağ asitlerini adipositlere dağıtımı için dolaşımdaki lipoproteinlerdeki trigliseridleri hidrolize eder. • Hücre içine glikoz transportu ile gliserol fosfat temin ederek lipoprotein transferi ile sağlanan yağ asitlerinin esterifiye olmasını sağlar. • Hücre içi lipaz insülin tarafından inhibe edilir.
Beyin	• Azalmış iştah • Artmış enerji tüketimi

2.4 Diabetes Mellitus Tanımı

Diabetes Mellitus (DM), insülin sekresyonunun yokluğu, yetersizliği ve/veya insülin direnci sonucu gelişen; esas hiperglisemi ile karakterize kronik seyirli endokrin ve metabolik bir hastalıktır. İnsülin pankreastan sentezlenen ve vücutta enerji dengesini kontrol eden en önemli hormondur. İnsülinin mutlak veya göreceli eksikliği ya da periferik dokularda insüline duyarsızlık vücudun karbonhidrat, yağ ve proteinlerden

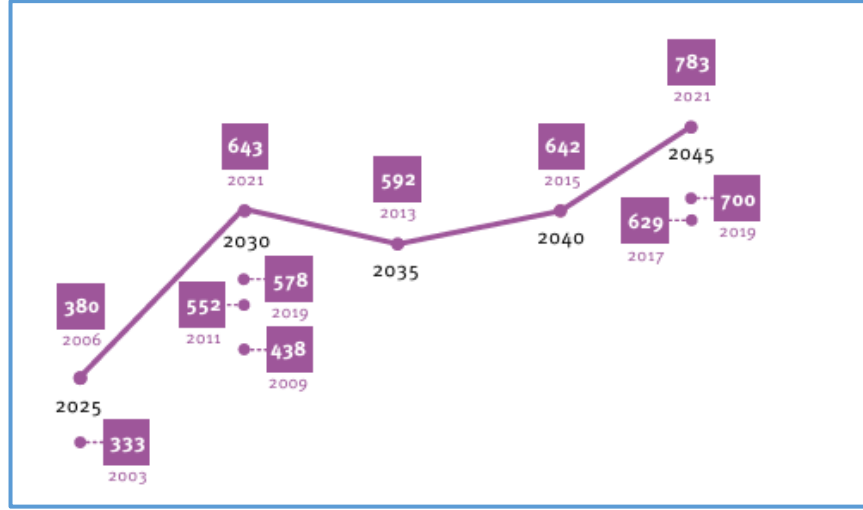
istenilen düzeyde yararlanamamasına neden olur. DM’de glikozun hücre içine alımı engellenir ve hiperglisemi meydana gelir. Hipergliseminin belirtileri arasında polidipsi, polifaji, poliüri, kilo kaybı ve bulanık görme durumları görülmektedir (TEMD, 2020; Punthakee vd., 2018).

Hiperglisemi ve buna bağlı karbonhidrat, yağ ve protein metabolizmasında gelişen bozukluklar birçok organı ve sistemin işleyişini bozar. DM daha çok komplikasyonlarla karşımıza çıkmaktadır (Banday vd., 2020). Diyabet kaynaklı ortaya çıkan hiperglisemi akut komplikasyonlar ile ölüme sebebiyet verebilirken, uzun dönemde gelişen kronik komplikasyonlar ile hastaların yaşam kalitesini olumsuz etkilemektedir. Hastalığın akut komplikasyon riskini azaltmak ve uzun dönemde kronik (retinal, renal, nöral, kardiyak ve vasküler) sekellerden korumak için hastaların sürekli tıbbi bakım ve tedavi alması gerekmektedir (ADA, 2021).

2.5 Diabetes Mellitus Epidemiyolojisi

Yaşadığımız yüzyılın sağlık krizi olarak tanımlanan diyabet çok boyutlu etkisi ile insanları, toplumları ve sağlık sistemlerini etkileyen önemli sağlık sorunlarından biridir. Birçok sistemi doğrudan veya dolaylı olarak etkileyen DM, sosyo-ekonomik açıdan ciddi bir küresel yük oluşturan hem dünyada hem de ülkemizde prevalansı artan eğilim gösteren önemli bir halk sağlığı sorunu haline gelmiştir. Ayrıca tüm dünyada çocuk, genç ve erişkinleri kapsayan geniş bir popülasyonda görüldüğü için bulaşıcı olmadığı halde küresel bir salgın olarak görülmektedir (Gardner ve Shobac, 2013).

Uluslararası Diyabet Federasyonu (IDF) verilerine göre 2019 yılında 20-79 yaş arasındaki diyabetli sayısı 463 milyon (tüm dünya nüfusunun %9,3’ü) iken, 2021 yılında bu sayının 537 milyon olduğu tahmin edilmektedir (Şekil 2.7.). 2030 yılında aynı yaş grubunda diyabetli hasta sayısının 578 milyon (tüm dünya nüfusunun %10,2’si), 2045 yılına kadar ise 783 milyona ulaşacağı ön görülmektedir (IDF, 2019).



Şekil 2.7. 20-79 yaş grubunda diyabetin küresel prevalansına ilişkin tahminler (milyon) (IDF, 2019).

Türkiye’de diyabet istatistikleri dünya verileri ile benzerlik göstermekte olup diyabetin prevalansı ve hasta sayısı her geçen gün artmaktadır. IDF verilerine göre Türkiye, %11,1 diyabet prevalansı ile IDF Avrupa bölgesinde en yüksek diyabet prevalansına sahip ülkedir (Erdoğan ve Özcan, 2021). IDF 2021 verilerine göre Türkiye’de; 2021 yılında 20-79 yaş aralığında yaklaşık olarak 9 milyon yetişkin diyabetle yaşamaktadır ve diyabetli toplam insan sayısının 2030 yılına kadar 10 milyona, 2045 yılına kadar ise 13 milyona ulaşacağı tahmin edilmektedir. Ayrıca diyabet prevalansı 2021 yılında %14,5 iken, bu oranın 2030 yılına kadar %16,2’ye, 2045 yılına kadar da %17’ye yükseleceği öngörülmektedir (IDF, 2023).

Ülkemizde yapılmış en büyük alan çalışması olan Türkiye diyabet epidemiyolojisi (TURDEP-II) çalışmasına göre 12 yılda (1998-2010) diyabet görülme oranı hızla artarak %7,2’den %13,7’ye (kaba hız %16,5) yükselmiştir. Bu süreçte diyabet görülme oranı %90, bozulmuş glikoz toleransı %106, obezite %40, santral obezite ise %35 oranında artmıştır. Diyabetli hasta sayıları kadar prediyabetli hastalar da düşünüldüğünde Türkiye’de diyabetten etkilenenlerin sayısının azımsanmayacak boyutlara ulaştığını söylemek mümkündür. Ülkemizde yapılan farklı çalışmalarda diyabet prevalansı farklılık gösterse de ortak olan nokta artışın yıllar içinde çok hızlı olmasıdır (Çizelge 2.3.) (Satman vd., 2013).

Çizelge 2.3. Farklı çalışmalara göre Türkiye’de diyabet

	TURDEP II çalışması	PURE çalışması	CREDİT Çalışması
Çalışmanın yapıldığı yıl	2010	2009	2008
Yaş grubu	20 yaş ve üzeri	35-70	18 yaş ve üzeri
DM Tanımı	Diyabet öyküsü APG ölçümü İlaç kullanma öyküsü Oral glikoz tolerans testi	Diyabet öyküsü APG ölçümü	Diyabet öyküsü İlaç kullanma öyküsü APG ölçümü
Bulunan Sıklık (Kaba Hız)	%16,5	%14,7	%13,0

Diyabet tüm ölüm nedenleri arasında 8. sırada gelmektedir. Dünya’da 2017 yılında diyabet nedeniyle yaklaşık 4 milyon kişi hayatını kaybetmiştir. Erken mortalitenin başlıca sebebi diyabette artmış kardiyovasküler hastalıklardır; bunun yanı sıra göz, sinir sistemi ve böbreğin etkilendiği mikrovasküler komplikasyonlar da diyabette morbidite artışından sorumludur (Aycan, 2023).

Diyabet, dünya genelinde ve Türkiye’de giderek artan bir sağlık sorunu haline gelmektedir. Diyabetin ekonomik yükü de önemli bir konudur. Diyabetin neden olduğu sağlık hizmetleri maliyetleri, iş gücü kaybı ve sakatlık gibi faktörler, bireylerin, ailelerin ve toplumların sağlık sistemleri üzerinde ciddi bir ekonomik yük oluşturmakta ve bu yük giderek artmaktadır. Ayrıca, diyabetin komplikasyonlarını tedavi etmek için harcanan kaynaklar da giderek artmaktadır. Diyabete ait küresel sağlık harcamalarındaki artış, 2007 yılında 232 milyar dolar iken 2021’de 966 milyar dolara yükselmiştir (IDF, 2021). Ülke düzeyinde, Amerika Birleşik Devletleri’nde (379,5 milyar dolar) diyabetle ilgili en yüksek sağlık harcaması gözlenirken, onu Brezilya ve Çin (sırasıyla 42,9 milyar dolar ve 165,3 milyar dolar) takip etmektedir. Türkiye’de diyabet ile ilişkili yıllık sağlık harcaması yaklaşık 3,1 milyar dolardır (IDF, 2021).

Diyabet, sağlıklı yaşam tarzı davranışlarıyla önlenebilen ve kontrol altında tutulabilen bir hastalıktır. Sağlıklı bir yaşam tarzı benimsemek, diyabetin ortaya çıkma riskini azaltabilir veya diyabeti yönetmeye yardımcı olabilir (Gardner ve Shobac, 2013). Ayrıca, diyabetin önlenmesi ve yönetimi için risk faktörlerinin tanınması da önemlidir. Obezite, fiziksel aktivite eksikliği, yüksek kan basıncı, yüksek kolesterol, ailesel öykü, yaş, etnik köken gibi faktörler diyabet riskini

artırabilir. Bu risk faktörlerinin farkında olmak ve gerektiğinde önleyici önlemler almak, diyabetin gelişme riskini azaltabilir. Bu bağlamda önemli bir halk sağlığı sorunu haline gelen diyabetin önlenmesinde koruyucu sağlık uygulamaları oldukça kıymetlidir (Çoban ve Gültekin, 2012).

2.6 Diyabetin Mellitus Tanı Kriterleri

Amerikan Diyabet Derneği (ADA), Dünya Sağlık Örgütü (WHO) ve IDF tarafından benimsenmiş olan kriterlere göre diyabet; açlık plazma glikozu (APG), 75 gram oral glikoz tolerans testinde (OGTT) 2. saat plazma glikozu, rastgele (random) bakılan plazma glikozu veya HbA1c düzeyleri ile teşhis edilir. Aynı testler prediabeti teşhis etmek için de kullanılabilir. Diyabet, prediabet, bozulmuş açlık glikozu (BAG) ve bozulmuş glikoz toleransı (BGT) tanı kriterleri Çizelge 2.4.'te verilmiştir (Olgun ve Çetinkaya, 2021).

Çizelge 2.4. DM ve glikoz metabolizmasının diğer bozukluklarında tanı kriterleri

	Diabetes Mellitus	Prediabet	İzole BAG	İzole BGT	BAG + BGT
APG (≥8 st açlıkta)	≥126 mg/dl	100-125 mg/dl	100-125 mg/dl	<100 mg/dl	100-125 mg/dl
OGTT 2.st Plazma Glikozu (75 g glikoz)	≥200 mg/dl	140-200 mg/dl	<140 mg/dl	140-199 mg/dl	140-199 mg/dl
Rastgele Plazma Glikozu	≥200 mg/dl + Diyabet semptomları	-	-	-	-
HbA1c	≥%6,5	%5,7-6,4	-	-	-

2.7 Diyabet Mellitus Tanısı İçin Diagnostik Testler

2.7.1 Açlık plazma glikozu

DM tanısı için en sık kullanılan testtir. Hastaların ölçüm öncesi 8-10 saatlik aç kalması dışında herhangi bir hazırlık yapmasına gerek yoktur. Ayrıca testten önceki günlerde hastanın nasıl bir diyet yaptığı da önemli değildir. Ancak testin yapıldığı günlerde hastada ciddi bir hastalık veya belirgin bir enfeksiyonun olmaması gerekir (ADA, 2021). Sağlıklı bireylerde APG düzeyinin <100 mg/dL (5,6 mmol/L) altında olması beklenir. Buna karşın APG düzeyi ≥126 mg/dL (7,0 mmol/L) olan kişiler

diyabetik olarak değerlendirilir. Ancak, APG düzeyi 100-126 mg/dL arasında olan kişilerde, bu durum “Bozulmuş Açlık Glisemisi” olarak adlandırılır. Bu durum, prediyabet olarak da adlandırılan bir gruba dahil edilir. Bu kişilerde diyabet tam olarak ekarte edilmez. Bu durumda, genellikle standart bir OGTT yapılır (Bilous ve Donnelly, 2013).

2.7.2 Oral glikoz tolerans testi (OGTT)

OGTT, çoğunlukla araştırma amaçlı veya açlık kan glikozu 126 mg/dL’nin altında olan veya HbA1c düzeyi %6,5’in altında olup diyabet şüphesi yüksek olan hastalarda yapılır. Bu test hem diyabet tanısında hem de diyabet ve prediyabet taramasında önemli bir rol oynar. Bu test ile hastanın ağızdan alınan glikozu tolere etme yeteneğini ölçülür. APG zaten iki kez 126 mg/dL veya daha yüksek ise OGTT uygulanmaz çünkü bu durumda zaten diyabet tanısı konmuş olabilir. Testten önceki üç gün boyunca, hastanın normal karbonhidrat alımını sürdürmesi önerilir (en az 150 gr/gün) (Çoban ve Gültekin, 2018). Testten önceki akşam 30-50 gr karbonhidrat içeren bir öğün tüketilmesi önerilir. Test en az 8 saatlik açlık sonrası sabah uygulanır. Test öncesi ve test sırasında su içmek serbesttir, ancak çay, kahve gibi içeceklerin veya sigara içilmesine izin verilmez. Test sırasında kişinin istirahat halinde olması önemlidir. Ayrıca, karbonhidrat toleransını etkileyen ilaçların kullanımı (örneğin kortikosteroidler, beta blokerler, antipsikotikler), inaktivite ve akut/kronik enfeksiyon gibi durumlarda OGTT yapılmamalıdır. Sabah hastadan APG için kan alınır ve 250-300 ml su içinde 75 gr eritilmiş glikoz içeren bir çözelti, kişiye 5 dakika içinde içirilir. Glikozlu sıvının içilmeye başlandığı an, testin başlangıcı olarak kabul edilir ve bu noktadan itibaren 2 saat sonra kan örneği alınır. Testten 2 saat sonra alınan kanda glikoz 200 mg/dL veya daha yüksekse: Bu durumda, kişiye diyabet tanısı konur. 100-199 mg/dL arasındaysa: Bu değerler “Bozulmuş Glikoz Toleransı” olarak adlandırılır. Bu durum, prediyabet olarak da adlandırılır ve kişinin diyabet riski artmıştır (ADA, 2021; TEMD, 2020; Birol vd., 2015).

2.7.3 Rastgele plazma glikoz düzeyinin ölçümü

Rastgele plazma glikoz ölçümü, günün herhangi bir saatinde, öğünler dikkate alınmadan yapılan bir testtir. Beslenme sonrasında alınan karbonhidrat miktarına bağlı olarak kan glikoz düzeyi artabilir. Ancak, sağlıklı bireylerde, rastgele plazma

glikoz düzeyinin 200 mg/dL (11,1 mmol/L) üzerinde olması beklenmez. Bu nedenle, rastgele plazma glikozu düzeyinin 200 mg/dL veya daha yüksek olması, diyabet tanısı için yeterli bir kriterdir (TEMD 2020, ADA 2021). Ancak, tanıyı kesinleştirmek için diğer test yöntemleri ile desteklenir. Çünkü rastgele kan glikoz ölçümü DM tanısı için özgüllüğü (spesifisitesi) yüksek olmasına rağmen hassasiyeti (sensitivitesi) düşük bir test olarak görülmektedir. Bu nedenle diyabet tanısında yaygın olarak kullanılması önerilmez (Erdoğan ve Özcan, 2021).

2.7.4 Glikolize hemoglobin Testi (HbA1c)

Kan glikoz düzeyi ile doğrudan ilişkili olan hemoglobin proteini, enzimatik olmayan, yavaş ve geri dönüşümsüz reaksiyon ile glikolizasyona uğramaktadır. Glikozillenme dönüşümsüz bir olay olduğu için hemoglobinin yaşamı süresince glikoz ile bağlı kalır. Glikolize hemoglobinin majör formu HbA1c'dir. HbA1c normalde total hemoglobinin %4-6'sını oluşturur. HbA1c dışındaki glikozile hemoglobinler fosforillenmiş glikoz veya fruktoz olup, HbAla ve HbAlb olarak adlandırılır. Bunlar total hemoglobinin %2-4'ünü oluşturur (Bilous ve Donnelly, 2013).

Kan glikoz düzeyi arttığı zaman, glikoz molekülleri eritrosit içindeki hemoglobine bağlanır. Glikozun eritrosit hücresi içine girişi insuline bağlı olmadığı için hemoglobine bağlanan glikoz, doğrudan kandaki glikoz miktarı ile ilişkilidir. Kanda normalin üzerinde glikoz ne kadar uzun süre kalırsa, o kadar fazla glikoz eritrosit hücrelerine bağlanır ve glikolize hemoglobin düzeyi artar. Glikozilasyon geri dönüşümsüz bir olaydır. Bu nedenle HbA1c ölçümü geriye dönük 8-12 hafta boyunca (eritrositlerin yarı ömrü 120 gündür) kan glikoz seyri hakkında bilgi verir (Carol vd., 2018). HbA1c ölçüm açlık veya tokluk durumuna bakılmaksızın herhangi bir zamanda yapılabilir. Sağlıklı kişilerde HbA1c düzeyi $<5,7\%$ iken bu değer $\geq 6,5\%$ saptanması halinde DM tanısı koyulur. ADA, son kılavuzlarda HbA1c ölçümünü diyabetik hastaların glisemi düzeylerinin izleminde altın standart olarak kabul etmiştir (ADA, 2021).

2.8 Diabetes Mellitusun Etiyolojik Sınıflandırılması

Hiperglisemi ile seyreden DM'nin sınıflandırılması, patogenezi ve etiyolojiye dayanır. Diyabetin farklı formları, temel olarak insülinin salınımındaki yetersizlik veya insülinin etkisindeki yetersizlik gibi temel mekanizmalara dayanır. Bu iki temel mekanizma, diyabetin alt tiplerini ve formlarını belirlemek için önemli bir farklılık sağlar (Gardner ve Shoback, 2019).

Diyabet sınıflandırması zaman içinde çeşitli şekillerde değişmiştir ve bu sınıflandırmalar hastalığın anlaşılmasını ve yönetimini etkilemiştir. İlk başta, diyabet başlangıç yaşına göre sınıflandırılmış ve juvenil (çocuk), MODY (Maturity-Onset Diabetes of the Young) ve adult (yetişkin) olarak 3 tipe ayrılmıştır. Daha sonra, 1979'da Amerika Birleşik Devletleri'nde "U.S. National Diabetes Data Group" tarafından yapılan bir çalışma, insüline bağımlı ve insüline bağımlı olmaya diyabet kavramlarını ortaya atmıştır (Olgun ve Çetinkaya, 2021). Diyabetin çeşitli formlarının patogenezi daha iyi anlaşıldıkça, sınıflandırmanın da bu anlayışa uygun olarak geliştirilmesi gerektiği anlaşılmıştır. Bugün itibarıyla küresel anlamda ADA ve ülkemizde TEMD tarafından kabul edilen ve yaygın olarak kullanılan bu sınıflama Çizelge 2.5'te ayrıntılı olarak verilmiştir.

Çizelge 2.5. Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği tarafından kabul edilen sınıflama (TEMD, 2020).

I. Tip 1 Diabetes Mellitus	• Nedeni bilinmeyen • İmmün nedenli
II. Tip 2 Diabetes Mellitus	• İnsülin sekresyon yetmezliği ön planda • Periferik insülin direnci ön planda
III. Gestasyonel Diabetes Mellitus	Gebelik sırasında gelişen ve genellikle doğumla birlikte düzelen diyabet
IV. Diğer spesifik diyabet tipleri	• Beta hücre fonksiyonunda genetik bozukluklar • İnsülin fonksiyonunda genetik bozukluklar • İlaçlar ve diğer kimyasal maddeler • Endokrin hastalıklar • Pankreas hastalıkları • Enfeksiyonlar

Yeni sınıflandırma, diyabetin etiyolojisine dayanmaktadır, yani hastalığın altında yatan nedenlere odaklanır. Bu sınıflandırma, diyabetin temel nedenlerine göre grupları tanımlamayı amaçlar ve her bir gruba özgü tedavi ve yönetim stratejileri geliştirmeyi hedefler (ADA, 2021; Erdoğan ve Özcan, 2021).

2.8.1 Tip 1 diabetes mellitus

“Çocukluk diyabeti”, “insüline bağımlı diyabet” ve “juvenil diyabet” olarak da bilinen Tip DM, pankreatik beta hücrelerinin yıkımı ve mutlak insülin eksikliği ile seyreder. Tüm diyabetlerin %5-10’unu oluşturan Tip 1 DM’ye ailesel yatkınlık ve de henüz sebebi tam olarak ortaya konulamayan çevresel etmenlerin sebep olduğu düşünülmektedir. Genellikle 30 yaştan önce görülür ve üç pik dönemi vardır: okul öncesinde, ergenlikte ve geç adolesanlıkta (6., 13. ve 20. yaşlar civarında). Semptom ve bulgular aniden ortaya çıkar. Diyabetik ketoasidoza yatkınlık mevcuttur, hatta ilk prezantasyon diyabetik ketoasidoz ile olabilir (Erdoğan ve Özcan, 2021).

Tip 1 A’da otoimmün sebeplerle insülin üreten β -hücrelerinin yıkımı meydana gelir. Çeşitli antijenlere karşı otoantikörler pozitif bulunur. Bu hastalar ömür boyu insülin replasman ihtiyacı duyacaktır. Hastalık, DQA ve DQB genleriyle güçlü ilişkilere sahiptir. Birtakım alleller predispozan olabilirken, birtakım alleller koruyucu özellikler gösterir. Genetik yatkınlığı bulunan kişilerde virüsler, toksinler, duygusal stres, diyet gibi çevresel etmenlerle otoimmünite tetiklenir ve β -hücre rezervi %80-90’ı kadar azaldığında aşikar diyabet gelişir (Oğuz vd., 2022). Tip 1B’de non-otoimmün sebeplerle β -hücresi yıkımı mevcuttur. Etiyolojisi bilinmemektedir. Bu hastalarda güçlü genetik yatkınlık mevcuttur, diyabetik ketoasidoz sık görülür, insülin ihtiyacı ise aralıklı olabilir. Tip 1 DM hastalarının az bir kısmı bu kategoride yer alır (Altuntaş, 2001).

2.8.2 Tip 2 diabetes mellitus

Daha önce “erişkin başlangıçlı diyabet” veya “insüline bağımlı olmayan diyabet” olarak adlandırılan Tip 2 DM, tüm diyabet olgularının %90’dan fazlasını oluşturmaktadır (Banday vd., 2020). Nüfusun yaşlanması, şehirleşmenin ve obezitenin hızlı bir şekilde artması nedeniyle giderek prevalansı artan bir hastalıktır. Çoğunlukla 30 yaş sonrası ortaya çıkar, ancak özellikle obezitenin daha genç yaşlarda da görülmesiyle birlikte Tip 2 DM başlangıç yaşı düşmeye başlamıştır. Hastalığın ortaya çıkmasında güçlü bir genetik yatkınlık söz konusudur. Ailede genetik yoğunluk arttıkça, sonraki nesillerde diyabet riski artar ve hastalık daha erken yaşlarda görülmeye başlar (Olgun ve Çetinkaya, 2021). Hastalar sıklıkla kilolu veya obezdir ve artmış abdominal yağ oranına sahiptir. Özellikle abdominal obezite

insülin direncine sebep olur. Yaş, aile öyküsü ve sedanter yaşam Tip 2 DM riskini arttıran önemli risk faktörleridir. IDF 2021 yılı verilerine göre dünyada genelinde yaklaşık 483 milyon Tip 2 DM'li birey bulunmaktadır. Türkiye'de ise aynı yıl yaklaşık 8,1 milyon yetişkin bireyin (20-79 yaş arası) Tip 2 DM'li olduğu tahmin edilmektedir (IDF 2021). Tip 2 DM, insülin üreten pankreas β -hücrelerinin fonksiyon bozukluğunu, vücut hücrelerinde insülin hormonu direncini veya her ikisinin birleşimini içeren heterojen bir hastalık tablosudur. Başlangıçta, glikoz seviyelerini normal aralıkta tutan insülin sekresyonunda telafi edici bir artış vardır. Ancak hastalık ilerledikçe β -hücreleri değişir ve zamanla endojen insülin üretimi azalarak Tip 2 DM ile sonuçlanır (Erdoğan ve Özcan, 2021).

Tip 2 DM, sinsi seyreden bir hastalıktır ve belirti vermeden çok uzun yıllar varlığını sürdürebilir. Tanı konmadan önceki uzun dönemde komplikasyonlar gelişebilir. Bu nedenle, hastalığın ileri evrelerinde kilo kaybı, büyüme bozukluğu ve hiperglisemiyle ilişkili bulanık görme, poliüri, polidipsi gibi şiddetli klasik semptomlar ortaya çıkana kadar büyük ölçüde tanı konulamaz. Hastalığın semptomsuz olduğu dönemde tanı konulması ve risk faktörlerinin etkili yönetimi ile DM'nin durdurulması ya da başlamasının geciktirilmesi büyük oranda mümkündür (Banday vd., 2020).

Tip 2 DM'li hastalarda, genellikle tanı konulduktan sonra ilk yıllarda ve birçok durumda hayat boyu ekzojen (dışarıdan verilen) insülin ihtiyacı duyulmaz. Birçok Tip 2 DM'li hasta, sağlıklı ve dengeli beslenme alışkanlıklarıyla, yeterli fizik aktiviteyle ve gerektiğinde oral antidiyabetik ilaçlarla hipergliseminin olumsuz etkilerinden korunabilir. Bu önlemler, insülin direncini azaltabilir, kan glikoz seviyelerini düzenleyebilir ve diyabetle ilişkili komplikasyonların riskini azaltabilir (ADA, 2014).

Diğer diyabet türleri ile karşılaştırıldığında Tip 2 DM'nin patogenezi/etiyojisi oldukça karmaşıktır ve bilinen ve bilinmeyen birçok faktörü içermektedir. Bunlar genetik yatkınlıkların ve güçlü çevresel etkilerin bir kombinasyonu olarak tanımlanabilir. Hastalığın prognozunda genetik yatkınlık, artan yaş, obezitedeki küresel artış, hareketsiz yaşam tarzları, yüksek kalorili diyetlerdir büyük önem taşımaktadır (Oğuz vd., 2022).

2.8.3 Gestasyonel diabetes mellitus

Gebelik sırasında ortaya çıkan geçici bir diyabet formudur. Gebelik öncesinde kan glikoz düzeyleri normal olan kadınlarda bile, gebelik sırasında kan glikoz düzeylerinin yüksek seyretmesiyle karakterizedir. Tipik olarak, gebeliğin sonlanmasıyla kaybolur, ancak hem annede hem de çocukta diyabet riskini artırabilir (Beers ve Berkow, 2002). Genellikle gebeliğin 24. haftasından sonra ortaya çıkar ve plasenta hormonlarının insülinin etkisini olumsuz etkilemesiyle ilişkilidir. Plasenta, gebelik sırasında çeşitli hormonlar salgılar ve bu hormonlar genellikle insülinin etkisini azaltarak insülin direncini artırır. Bu durumda, vücut insülini daha etkili bir şekilde kullanamaz ve kan glikozunun normal seviyelerde tutulması zorlaşır. Gestasyonel Diyabetin prevalansı genellikle bölgesel farklılık gösterir, ancak tüm gebelerin yaklaşık %3'ünde gözlemlenebilir (Altuntaş, 2001). İnsülin duyarlılığının azalmasına bağlı geçici bir durum olmasına rağmen, bazı durumlarda glikoz toleransının bozulması ve belirtilerin gebelik süreci sonrasında da devam etmesi Tip 2 DM riskini artırabilir ve Tip 2 DM'ye dönüşebilir (Kayaalp, 2000). Hastalarda kan glikoz düzeyinin kontrol edilememesi, fetüsün normalden daha iri olmasına neden olur. Etiyolojisinde bir önceki gebelikte ölü doğum, makrozomi, ileri yaşlarda hamilelik, hipertansiyon, glikozüri, obezite ve genetik faktörler yer almaktadır (Karakurt vd., 2009; Onat vd., 2006).

2.8.4 Diğer spesifik tipler

Tüm diyabet hastalarının %1'inden daha azını oluşturur ve spesifik bir bozukluğa bağlı olarak gelişen hiperglisemi türlerini kapsar. Bu grup, Tip 1 Diyabet (DM) ve Tip 2 Diyabet (DM) ile ilişkisi olmayan, spesifik bir bozukluğa bağlı olarak gelişen hiperglisemi tiplerini kapsar. Bu grup içerisinde yer alan durumlar arasında pankreas hastalıkları (örneğin, pankreatit), hormon bozuklukları (feokromositoma, akromegali, hiperaldosteronizm, Cushing sendromu gibi), belirli ilaçlar (kortikosteroidler, tiazid grubu diüretikler gibi), insülin reseptör anomalileri ve genetik sendromlar gibi faktörler sayılabilir. Bu spesifik tiplerin her biri, farklı bir patofizyolojiye ve tedaviye sahip olabilir. Tanı ve tedavi için genellikle belirli bir altta yatan bozukluğun tespit edilmesi gerekebilir (ADA, 2021; Lebovitz, 2004).

2.9 Diabetes Mellitusun Semptomları (Belirtileri)

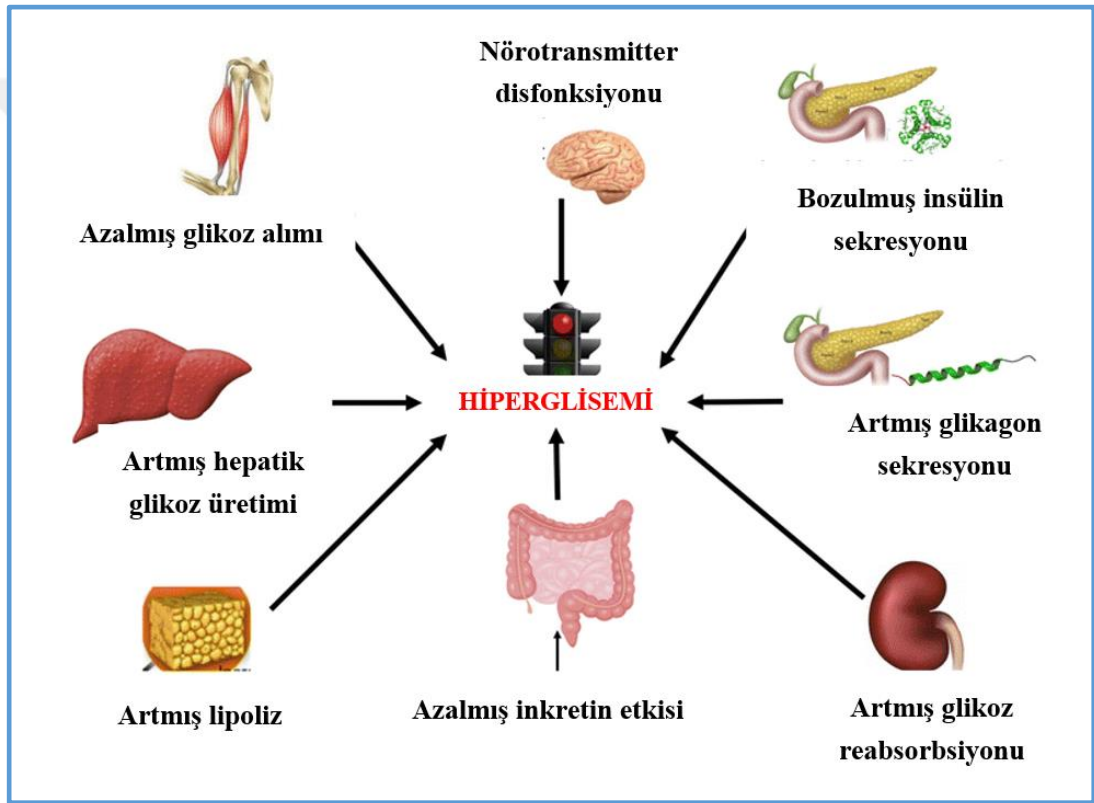
Diyabetli hastalarda en sık görülen klinik belirtiler “3P” olarak tanımlanan, poliüri, polidipsi ve polifaji’dir. Poliüri (idrar yapmanın artması) ve polidipsi (susamanın artması) ozmotik diürece bağlı fazla sıvı kaybı ile ilgilidir. Polifaji (iştahın artması), insülin sekresyonu yeterli hatta fazla olmasına karşın glikozun hücre içine girememesi sonucu ortaya çıkar: İnsülin yetmezliği durumunda iştahsızlık, protein ve yağların yakımı sonucu halsizlik, çabuk yorulma, zayıflık görülür. Diğer belirtiler ise; ağız kuruluğu, ani görme değişikliği, ellerde ya da ayaklarda uyuşukluk ya da titreme, ciltte kuruluk, yaraların geç iyileşmesi, akantozis nigrikans (kasık, koltuk altı, boyun ve/veya diğer deri kıvrımlarında ortaya çıkan, kalınlaşmış koyu cilt lekeleri) ve sık tekrarlayan enfeksiyonlardır (Oğuz vd., 2022; Olgun ve Çetinkaya, 2021).

2.10 Tip 2 Diabetes Mellitus Patofizyolojisi

Tip 2 DM patogenezinde genetik, epigenetik, davranışsal ve çevresel faktörler rol alır. Pozitif aile öyküsü hastalığın gelişmesi için 2-4 kat risk oluşturur. Birinci derece akrabasında diyabet olanlarda, %15-23 oranında bozulmuş glikoz toleransı ya da diyabet gelişme riski bulunur (Onat vd., 2006). Güçlü ailesel yatkınlığa rağmen, Tip 2 DM’nin genetiği net olarak tanımlanamamıştır. Bunun nedeni hastalığın doğasının fazla heterojen oluşudur. Kazanılmış faktörler insulinin etkisini ve glisemik kontrolü etkilemektedir. Tip 2 DM ile ilgili 60’dan fazla genetik lokus tanımlanmıştır. Ancak bu genlerin tamamı toplandığında Tip 2 DM nedeninin sadece %10’unun kaynağı olduğu görülmektedir. Tip 2 DM vakalarının çoğu β -hücre disfonksiyonu ve yetmezliği için genetik yatkınlığı olan obez bireylerdir (Oğuz vd., 2022).

Fiziksel inaktivite ve obezite, Tip 2 DM gelişimi için önemli yatkınlık faktörlerindendir. Beden kütle indeksi (BKİ) arttıkça diyabet gelişme riski de artar, yaklaşık olarak diyabetli hastaların %90’ı fazla kiloludur. Obezite, dokuların insüline karşı olan duyarlılıklarına karşı derin bir etkiye sahiptir, sonuç olarak glikoz homeostazı üzerine doğrudan etkilidir. Vücutta bulunan yağ dokusunun miktarı kadar, bu yağ dokunun vücuttaki dağılımı da insülin direnci üzerine etki eder. Santral obezitesi olan kişiler, periferik obezitesi olanlara göre Tip 2 DM geliştirme açısından daha fazla risk taşırlar. Bel çevresi ve bel kalça oranı (santral obezite için bu iki

değer birer göstergedir) insülin direnci ile korelasyon gösterir (Çoban ve Gültekin, 2012). Literatürde Tip 2 DM fizyopatolojisinde yer alan organlar “Uğursuz sekizli (ominous octet)” olarak tarif edilmiştir. Bu fizyopatolojik durumların ortaya çıkarılması diyabet tedavisinde çok önemli bir çıkır açmıştır. Uzun yıllar sadece pankreastan İnsülin sekresyonuna yol açan sulfanilüreler veya karaciğerden glukoz çıkışını kontrol altına alan ve halihazırda çok kullanılan metformin grubu ilaçların yanı sıra diğer organ bozukluklarını da kontrol altında tutmaya yarayan tedaviler bulunmaktadır. Diyabet fizyopatolojisinde rolü olan organlar Şekil 2.8’de gösterilmiştir (Erdoğan ve Özcan, 2021; Bilous ve Donnelly, 2013).

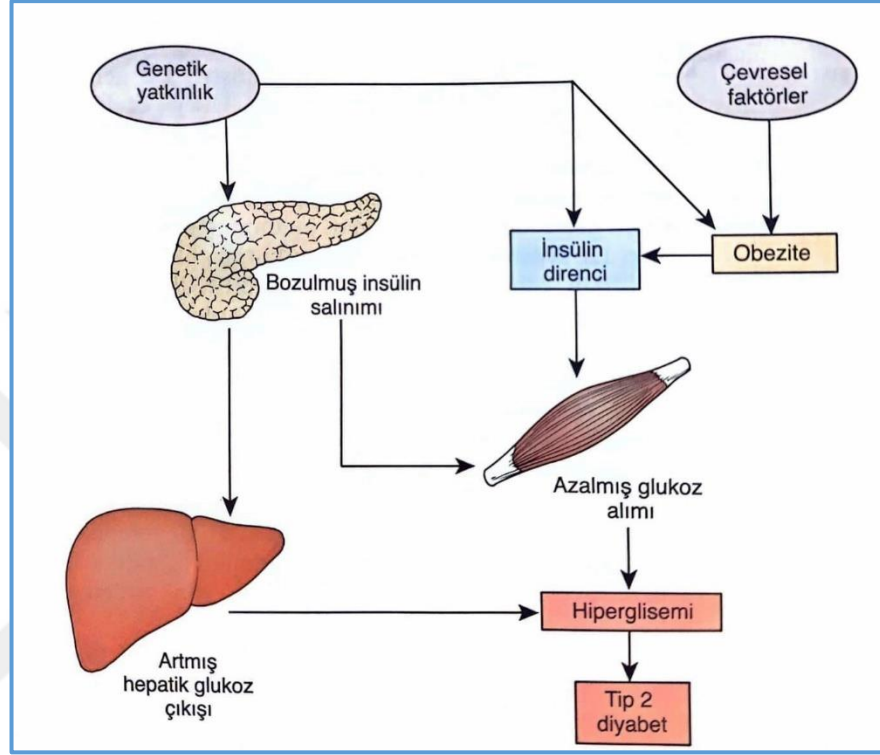


Şekil 2.8. Tip 2 DM fizyopatolojisinde uğursuz sekizli (omnious octet) (Erdoğan ve Özcan, 2021).

İnsülinin dolaşımdaki hareketi ve sekresyon miktarı arasındaki denge hastalığın patogenezi için önemli bir yer tutmaktadır. Tip 2 DM’li bireylerde glukoz homeostazı, hem pankreastaki insülin sekresyonunun azalmış olması nedeniyle hem de kas, karaciğer ve adipositler gibi hücre ve dokularda gelişen insülin direnciyle birlikte bozulmaktadır (DeFronzo, 2004).

Patofizyolojik açıdan Tip 2 DM’de hipergliseminin nedeni olarak 3 ana metabolik bozukluk sorumludur (Şekil 2.9.):

- İnsülin duyarlılığında azalma ve insülin direnci
- Pankreas β -hücrelerinin fonksiyon bozukluğu
- Karaciğerde glikoz üretimi artışı (Altuntaş, 2001).



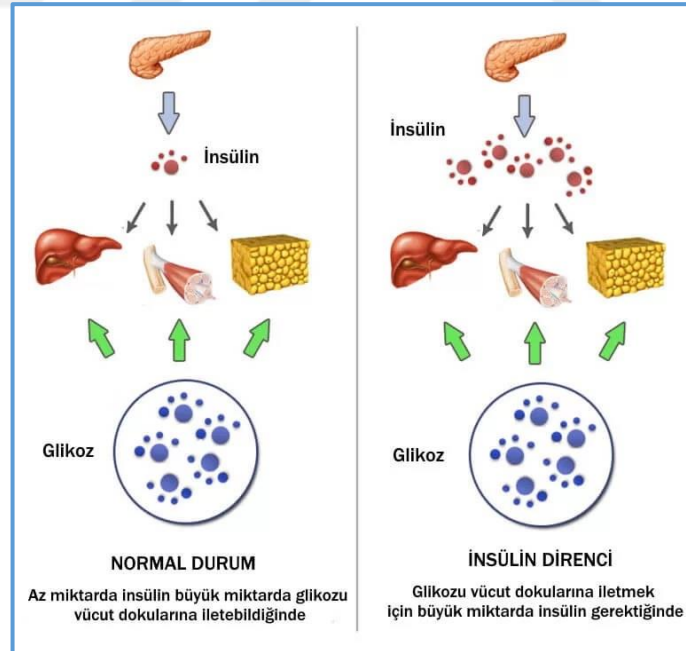
Şekil 2.9. Tip 2 DM’nin patogenezi (Çoban ve Gültekin, 2012).

2.10.1 İnsülin direnci

İnsülin direnci, periferik hedef dokularda (kas ve adipoz doku), insülinin etkisinin giderek azalmasıdır. İnsülin direnci, Tip 2 DM’nin patogenezinde önemli bir anahtar parametre olup kas ve yağ dokuda insülin tarafından uyarılan glukoz transportundaki ve/veya metabolizmadaki bozukluklar karaciğerdeki glukoz yapımındaki baskılanmada oluşan yetersizlikle sonuçlanmaktadır (Cefalu, 2021).

Dolaşımdaki glukoz, insülin salgılanmasını tetikleyen ana faktördür. İnsülin, bir dizi hücrel işlemi düzenleyerek dolaşımdaki glukoz seviyelerini azaltır. İnsülin, karaciğerde glikojenolizi ve glikoneogenezi baskılar. Bu, karaciğerin glukoz üretimini ve serbest bırakımını azaltır. Ayrıca dolaşımdaki glukozun da periferik dokulara (kas ve yağ doku) taşınarak glikojen şeklinde depolanmasını veya

oksidasyonu ile enerji üretilmesini sağlamaktadır. İnsülin direnci geliştiğinde insülinin karaciğer, kas ve yağ dokularındaki bu etkilerine karşı direnç oluşarak hepatik glikoz baskılanması bozulur (Bilous ve Donnelly, 2013). Bu nedenle kas ve yağ dokuda da insülin aracılığı ile olan glikoz kullanımı azalır. Vücut, insülin direncini karşılamak için pankreastan daha fazla insülin salgılamaya başlar. Böylece hipergliseminin önlenmesi için β -hücreleri sürekli olarak insülin salgısını artırmaya yönelik bir çaba içerisine girer. Sonuçta normoglisemi sağlanırken insülin düzeyi de 1,5-2 kat artar (Çoban ve Gültekin, 2012). Ancak açlık hiperglisemisi olan hastalarda insülin direnci, hem insülin reseptörleri azalmasına (reseptör düzeyindeki rezistans) hem de glikoz taşıyıcısı olan GLUT4'ün insülin ile aktivasyonunda bozukluğa (post-reseptör düzeyindeki rezistans) bağlıdır. Hiperglisemi kötüleştikçe, periferik glikoz alımındaki post-reseptör kusur ortaya çıkar ve giderek artar (Cefalu, 2021). Sonuç olarak organizmanın ürettiği insülin kullanılmaz ve glikoz hücre içine alınamaz. Periferik dokularda insülinin etkisi yetersizdir ve hücreler glikozu etkili bir şekilde içeri alamazlar. Yani hiperinsülinemiye rağmen yeterli insülin etkisi oluşmaz. Kısaca pankreasın salgıladığı insülinin vücutta etkin olarak kullanılamamasına insülin direnci denir (Şekil 2.10.) (Bilous ve Donnelly 2013).



Şekil 2.10. İnsülin direnci (Köylü, 2019).

Başlangıçta hastaların β -hücrelerinde bir bozukluk yoktur. Ancak, zamanla pankreas yorulur ve β -hücreleri, artan insülin talebini karşılamakta yetersiz kalır ve insülin üretimi azalır. Bu süreçte β -hücreleri, insülin üretimini sürdürmekte zorlanır ve yıpranır. İşlev gören β -hücrelerinin sayısının azalması sonucu insülin salgısı da giderek azalır. β -hücrelerinin yarısının kaybı ile de aşikar diyabet ortaya çıkar. Aşikar diyabet geliştiğinde β -hücre fonksiyonu neredeyse %80 azalır (Olgun ve Çetinkaya, 2021; Altuntaş, 2001).

İnsülin direnci, vücuttaki yağ dağılımında değişikliklere neden olabilir. İnsülinin hem lipolitik hem de antilipolitik etkileri vardır. İnsülin direnci geliştikçe, insülinin antilipolitik etkileri azalırken lipolitik etkileri artabilir. Bu durumda, yağ dokusundan serbest yağ asitlerinin salınımı artar (Gardner ve Shoback, 2019). Serbest yağ asitleri, karaciğerde glikoneogenez ve glikoz çıkışının artmasına neden olarak kan glikoz seviyelerini yükseltebilir. Ayrıca, insülin direnci, karaciğerdeki yağ asidi metabolizmasını ve trigliserid sentezini artırarak karaciğer yağlanmasına yol açabilir. Özellikle abdominal (karın) bölge yağlanması, insülin direnci ile yakından ilişkilidir (Cefalu, 2021).

İnsülin direnci durumunda, adipoz dokuda belirli değişiklikler meydana gelir. Abdominal bölgedeki yağ dokusunun genişlemesi ve adipositlerde hipertrofik değişiklikler, insülin direnci ile ilişkilidir. Ayrıca, insülin direnci ile birlikte, adipoz dokuda makrofaj infiltrasyonu da sıkça gözlenir (Rodney ve Rhoades, 2017). Bu, inflamasyonun arttığını ve adipoz dokunun proinflamatuvar bir ortamda olduğunu gösterir. Adipoz dokuda toplanan makrofajlar, proinflamatuvar sitokinler gibi inflamatuvar molekülleri salgılayarak insülin direncini artırabilirler. Bu nedenle, insülin direnci arttıkça, adipoz dokuda inflamasyon artar ve bu da Tip 2 DM gelişimi ile ilişkilendirilir. Bu süreç, insülin direncinin inflamasyonla karakterize bir hastalık olduğunu gösterir (Olgun ve Çetinkaya, 2021).

2.10.1.1 HOMA-IR (Homeostasis Model Assesment of Insulin Resistance)

HOMA-IR: İnsülin direncini ve β -hücre fonksiyonunu değerlendirmek için kullanılan bir endokrinolojik hesaplama modelidir. İlk kez Matthews ve arkadaşları tarafından geliştirilen bu test, insülin direncindeki kantitatif ölçüme müsaade eden matematiksel bir veri yardımıyla yapılmaktadır (Matthews vd., 1985).

HOMA indeksi, insülin direnci yanı sıra β -hücre kapasitesini de değerlendirmeye yardımcı olur. HOMA indeksinin yüksek olması, insülin direncinin arttığını ve beta hücre fonksiyonunun azaldığını gösterebilir. Bu nedenle, diyabet riskini belirleme ve tedaviyi yönlendirme konusunda önemli bir klinik araçtır. HOMA-IR değeri hesaplaması; ortalama 10-12 saat açlıktan sonra alınan APG ile insülin düzeyi kullanılarak yapılır (Köskenli, 2014; Bilous ve Donnelly, 2013).

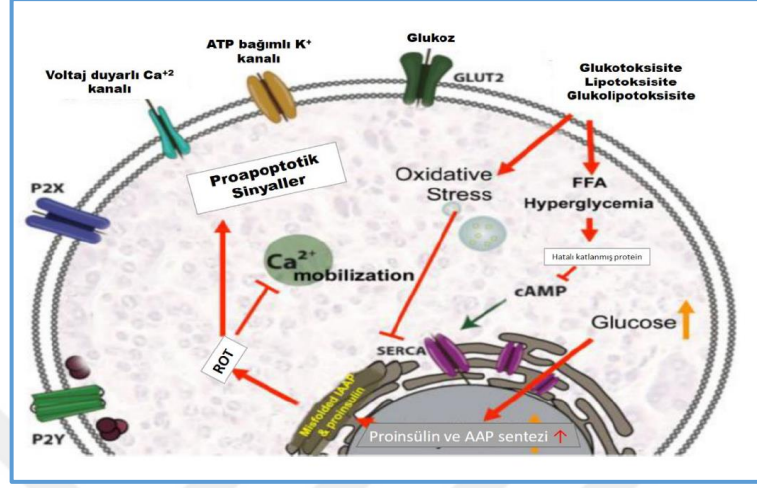
Sağlıklı bireylerde tipik olarak HOMA-IR değerleri düşüktür ve genellikle 2,7'nin altındadır. ADA, HOMA-IR değerinin 2,7'nin üzerinde olması durumunda insülin direncinin varlığını gösterdiğini belirtmektedir. Bu değerler, insülin direncinin farklı derecelerini yansıtabilir. Örneğin, 2,7'nin üzerindeki HOMA-IR değerleri hafif ila orta derecede insülin direncini, daha yüksek değerler ise şiddetli insülin direncini gösterebilir (ADA, 2021).

2.10.2 β -hücre fonksiyon bozukluğu

Tip 2 DM'nin patogenezi, insülin direnci ile β -hücrelerindeki sayısal azalma ve fonksiyonel kayıp gibi faktörleri içerir. Özellikle diyabet ilerledikçe, β -hücrelerinin sayısında azalma ve fonksiyonunun kaybı önemli hale gelir. Normal glikoz toleransından BGT'ye geçiş sürecinde (prediyabet) ve Tip 2 DM gelişiminde genellikle hiperinsülinemi görülür (Olgun ve Çetinkaya, 2021). APG düzeyindeki artış, pankreas β -hücrelerinin insülin salgılamasını uyarır. Normal sağlıklı bireylerde, APG düzeyi 80 mg/dL'den 140 mg/dL'ye yükseldiğinde insülin düzeyi genellikle 2-2,5 kat artar. Bu artış, vücudun kan şekerini normale döndürme çabasının bir parçasıdır. Bu süreç, Tip 2 DM gelişimi sırasında karşılaşılan bir durumdur (Çoban ve Gültekin, 2012). İnsülin direncinin artması ve β -hücrelerinin fonksiyonel kapasitesinin azalması, glikoz metabolizmasında bozulmaya ve açlık gliseminin yükselmesine yol açabilir. Bu nedenle, Tip 2 DM'nin ilerleyen aşamalarında, karaciğerin glikoz üretimi artarak kan şekerinin kontrolünde zorluklar yaşanabilir (Altuntaş, 2001).

İnsülin ekzositozunu uyarıcı en önemli ikincil haberci hücre içindeki çeşitli sinyal transdüksiyon mekanizmalarını aktive eden siklik adenosin monofosfat (cAMP) molekülüdür. cAMP, hücre içi Ca^{+2} seviyelerini artırarak vezikül mobilizasyonunu artırır ve böylece insülin salınımını uyarır. Bu süreçte purinerjik reseptör X (P2X),

prünerjik reseptör Y (P2Y), sarko-endoplazmik retikulum Ca^{+2} -ATPaz (SERCA) ve ryanodine reseptör kanalı (RZR) gibi diğerk faktörler de Ca^{+2} iyonlarının hücre içine mobilizasyonunda önemli bir rol oynar (Şekil 2.11.) (Christensen ve Gannon, 2019).



Şekil 2.11. β -hücrelerinde disfonksiyona sebep olan mekanizmalar (Halban vd., 2014).

Uzamiş hiperglisemi, β -hücrelerinde pro-insülin ekspresyonunu ve pankreasın β -hücrelerinde üretilen bir peptit olan adacık amiloid polipeptit (AAP) sentezini artırır ve bu da hatalı katlanmış insülin ile birlikte birikerek AAP birikimine yol açabilir. Bu birikim, β -hücrelerinde reaktif oksijen türlerinin (ROT) üretimini artırabilir. ROT'ler hücresel hasara ve stres yanıtıyla ilişkilendirilen zararlı moleküllerdir. Bozulmuş glikoz toleransından Tip 2 DM'ye geçiş yapan bireyler, β -hücre fonksiyonunun %80'ni kaybetmiş olabilir (Gardner ve Shoback, 2013).

2.10.3 Hepatik glikoz üretimi artışı

Hepatik glikoz üretimi, karaciğerin glikojenolizis ve glikoneogenez yoluyla glikoz üretmesini ifade eder. Normal şartlarda, karaciğer, kan glikoz düzeylerinin normal seviyelerde olması ve insülinin varlığına bağlı olarak glikoz üretimini dengelemektedir. Ancak, insülin direnci veya insülin eksikliği gibi durumlarda, hepatik glikoz üretimi artabilir ve bu da açlık kan glikoz seviyelerinin yükselmesine neden olabilir (Altuntaş, 2001). Sonuç olarak, insülin direnci veya insülin eksikliği durumlarında, karaciğerin glikoz üretimi artabilir ve bu da açlık kan glikoz seviyelerinin yükselmesine katkıda bulunabilir. Bu durum, diyabetin patofizyolojisinde önemli bir rol oynar ve kan glikoz kontrolünün sağlanması için dikkate alınması gereken bir faktördür.

2.11 Serbest Radikaller

Atom çekirdeğinin çevresinde bulunan elektronlar, belirli yörüngelere sahip orbital denilen alanlarda hareket ederler. Bu orbitaller, elektronların çekirdeğe olan enerji seviyelerini ifade eder. Kararlı durumda, bir atomun ilk orbitalinde iki, diğerlerinde sekiz elektron bulunur. Dış orbitallerinde bir ya da daha fazla eşleşmemiş elektron bulunduran atomlar veya moleküller serbest radikaller olarak tanımlanır (Kehrer ve Klotz, 2015). Serbest radikaller oldukça reaktif yapıya sahiptirler. Bu reaktivite, dış orbitallerinde eşlenmemiş bir elektron bulunmasından kaynaklanır. Bu eşlenmemiş elektron, radikal oluşturan molekül veya atomun kimyasal reaksiyonlarda diğer moleküllerden bir elektron almak veya vermek için yüksek bir eğilime sahip olmasına neden olur. Serbest radikallerin kısa ömürlü olması bu yüksek reaktiviteye ve enerjik yapıya bağlıdır. Kimyasal sembollerin üst tarafına konulan nokta, serbest radikalleri belirtmek için kullanılır. Örneğin: süperoksit anyon radikali ($O_2^{\bullet-}$), hidroksil radikali ($OH^{\bullet}$). Serbest radikaller genel olarak üç yolla meydana gelirler (Altın vd., 2018; Karakan ve Nazlıkul, 2017).

1. Kovalent bağlı normal bir molekülün homolitik bölünmesi
$$X : Y \rightarrow X^{\bullet} + Y^{\bullet}$$
2. Kovalent bağlı bir molekülden tek bir elektron kaybı veya molekülün heterolitik bölünmesi (Bu mekanizmada, bir molekül bir elektron kaybeder ve serbest bir radikal ile pozitif bir iyon (katayon) oluşturur).
$$X \rightarrow e^{-} + X^{+\bullet}$$
3. Normal bir moleküle tek bir elektron ilave edilmesi veya transferi
$$X + e^{-} \rightarrow X^{\bullet-}$$

Canlının yaşamı boyunca çevresel etkilere bağlı olarak gelişen fizyolojik veya patolojik reaksiyonlar sebebiyle sürekli bir serbest radikal üretimi meydana gelmektedir. Aerobik metabolizmanın bir ürünü olan serbest radikaller sinyalizasyon, programlanmış hücre ölümü, antioksidan savunmasının aktive olması gibi birden çok değişik görevde aktif rol üstlenmektedir (Karabulut ve Gülay, 2016).

Serbest Radikaller, hücre sinyal yolları, enzim aktivitesi, savunma elemanlarının sentezi ve bazı hastalıkların patofizyolojisi gibi farklı birçok biyolojik olayla doğrudan ilişkilidir (Flora, 2007). Az miktarda serbest radikal oluşumunun, hücre içi

sinyalizasyonda, patojenlere karşı savunmada ve antioksidan savunma sisteminin gelişmesinde olumlu etkileri olmasına rağmen, yüksek miktarlardaki serbest radikal oluşumu, oksidatif strese neden olacağı için hücre içerisindeki yapılara zarar vererek hücrelerin tahribatına yol açmaktadır. Sonuç olarak serbest radikaller diyabet, kanser, artrit, ateroskleroz, iskemi, endokrin bozuklular gibi birçok hastalığa sebep olmaktadır (Altınır vd., 2018).

2.12 Serbest Radikal Kaynakları

Serbest radikaller ve reaktif özellik gösteren maddelerin oluşumunda ana kaynaklar, oksidan veya prooksidan olarak tanımlanır. Bu maddeler, hücresel hasara ve oksidatif stresin artmasına neden olabilirler. Oksidanlar veya prooksidanlar, biyolojik sistemlerde serbest radikal oluşturan veya onları artıran maddelerdir. Serbest radikaller, organizmada hem normal metabolik reaksiyonlar sırasında hem de çevresel faktörlerin etkisiyle oluşabilirler (Altınır vd., 2018).

Serbest radikaller biyolojik sistemlerde çeşitli kaynaklardan üretilirler. Mitokondrideki elektron transfer zinciri, serbest radikallerin en önemli kaynaklarından biridir. Serbest radikaller negatif yüklü, pozitif yüklü veya elektriksel olarak nötral, organik veya inorganik moleküller şeklinde olabilirler. Ortaklanmamış elektrona sahip bazı geçiş metalleri (Fe^{+3} , Cu^{+2} , Mn^{+2} ve Mo^{+3}) serbest radikal olarak kabul edilmezler. Ancak bu iyonlar serbest radikallerin oluştuğu reaksiyonları katalizleyebilirler. Serbest radikaller endojen ve ekzojen kaynaklardan oluşur. Endojen kaynaklar fizyolojik koşullarda hücresel aktivite sonucu meydana gelir (Nagendrappa, 2005).

2.12.1 Endojen kaynaklar

Serbest radikaller hücrenin çeşitli fraksiyonlarında oluşabilirler. Serbest radikaller hücrenin tüm fraksiyonlarında oluşabilme özelliğindedir. Serbest radikal oluşumu, hücre tiplerine ve hatta hücre içindeki farklı bölgelere göre değişiklik gösterebilir (Ekici ve Sağdıç, 2008).

1. Organizma ve doku düzeyinde

- Diyetsetel antioksidanların sağlanmasını etkileyen koşullar (iştahsızlık, malabsorbsiyon)

- Yaşlılık
 - Fiziksel egzersiz/sedanter yaşam
 - Doku hasarı, kronik hastalıklar, enfeksiyon (ateroskleroz, kanser, kronik inflamasyon iskemik reperfüzyon hasarı, diyabet vb.)
 - Stres
2. Hücresel düzeyde
- Oksijenin suya indirgenmesi
 - Aktiflenmiş nötrofiller
 - Nitrik oksit
 - Mitokondriyal elektron transport zinciri
 - Plazma membranları
 - Peroksizomlar
 - Endoplazmik retikulum ve nükleer membranda elektron transport sistemleri
 - Enzimler ve proteinler (ksantin oksidaz, hemoglobin)

2.12.2 Ekzojen kaynaklar

Serbest radikal oluşumunda ekzojen kaynaklar, canlıların dış ortamdan maruz kaldıkları ve vücuda giren kaynaklardır. Bu kaynaklar çevresel etkenler, bazı ilaçlar ve diyet maddelerini içerebilir (Ekici ve Sağdıç, 2008).

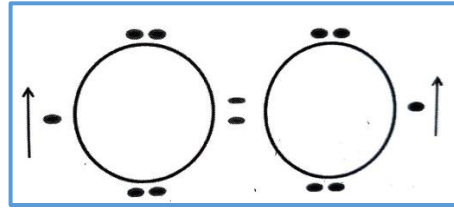
1. Diyet
- Çoklu doymamış yağ asitlerince zengin beslenme
 - Fazla kalorili beslenme
 - Meyve ve sebzelerin az tüketilmesi
 - Aşırı demir ve bakır alınması
 - Alkol
 - Hayvansal proteinlerce zengin beslenme
 - Yiyeceklerin uygunsuz koşullarda hazırlanması
2. Çevresel
- UV ışınlar, X-rays, gamma ışınları, mikrodalga ışınları,
 - Sigara dumanı
 - Antikanser ilaçlar
 - Ksenobiyotikler

- Glutasyon tüketen ilaçlar (asetaminofen, kokain)
- Karbonmonoksit, asbest, formaldehit, benzen, toluen ve ozon gibi hava kirleticiler
- İlaçlar

2.13 Reaktif Oksijen Türleri (ROT)

Canlı yapısındaki en önemli serbest radikaller oksijen molekülleri aracılığıyla meydana gelmektedir. Oksijen canlı organizmalar için hayati bir öneme sahiptir ve birçok temel fizyolojik süreçte görev alır. Diğer taraftan oksijen bazı durumlarda canlı vücudu üzerinde zararlı etkilere neden olmaktadır (Navarro ve Boveris, 2004). Vücuttaki moleküler oksijenin büyük bir kısmı enzimatik yollarla suya dönüştürülürken, geriye kalan küçük bir yüzde (%1-3) mitokondriyal elektron transport zinciri (ETZ) sırasında oluşan elektron kaçaklarına bağlı olarak reaktif oksijen türlerine dönüşebilir (Finkel ve Holbrook, 2000).

Eşsiz elektronik konfigürasyona sahip olan moleküler oksijen toplam sekiz elektron içermektedir ve dış yörüngede paralel spin durumlu iki ortaklanmamış (eşleşmemiş) elektrona sahip olduğu için biradikal (diradikal) olarak değerlendirilir (Şekil 2.12.). Bu durum, oksijen molekülünün bir serbest radikal olmasına rağmen aktif bir bileşik olmamasına neden olur (Nagendrappa, 2005).



Şekil 2.12. Oksijen biradikali.

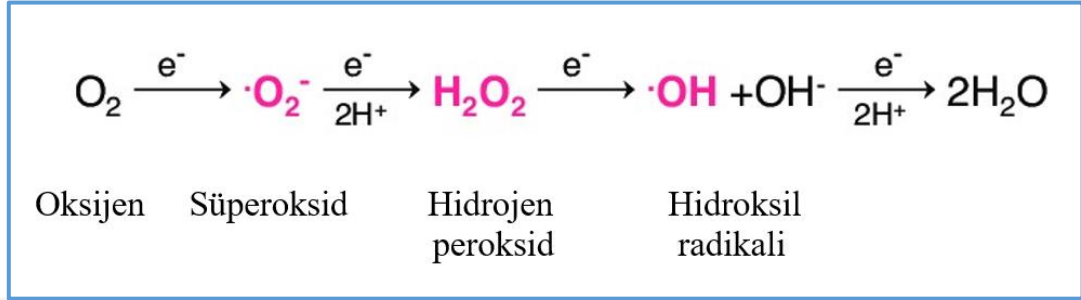
Serbest radikaller, bir elektron kaybettiğinde veya kazandığında genellikle bir diğer molekülden elektron alarak veya bir diğer moleküle elektron vererek daha kararlı hale gelirler. Ancak, oksijen molekülünün orbitallerindeki elektronlar aynı spinde olduğu için, bir elektron alışverişi yapması durumunda, gelen elektronun orbitaldeki elektronla aynı spinde olma eğilimi vardır. Bu durum, oksijen molekülünün aktif bir şekilde diğer moleküllerden elektron almasını veya vermesini zorlaştırır (Karabulut ve Gülay, 2016). Sonuç olarak, oksijen molekülü reaktif bir bileşik olmasına rağmen,

elektron alışverişi sırasında spin kısıtlaması nedeniyle diğer radikaller gibi aktif bir şekilde davranamaz. Bu, oksijen molekülünün biyokimyasal reaksiyonlarda oksidan olarak rol almasını sınırlar ve reaktif oksijen türleri oluşumu için bir adım oluşturur, ancak kendi başına zararlı serbest radikal aktivitesine neden olmaz (Navarro ve Boveris, 2004).

Aerob organizmalarda oksijen molekülü, elektronları teker teker alarak spin kısıtlamasını aşabilir. Birçok madde oksijen molekülüne tek bir elektron verebilir. Özellikle değişken değerliklere sahip geçiş metalleri (demir ve bakır) oksijene elektron transferi yapabilen ve oksijenin redüksiyonunu kolaylaştıran önemli bileşiklerdir (Finkel ve Holbrook, 2000). Bu süreçte, elektronlar nikotinamid adenin dinükleotid (NADH) ve flavin adenin dinükleotidin (FADH₂) gibi bileşiklerden ETZ'ye aktarılır ve ardından elektronlar bir dizi protein kompleksi aracılığıyla taşınarak oksijen molekülüne aktarılırken, oksijenin redüksiyonu gerçekleşir ve sonunda su oluşur. Böylece hücre kendisi için gerekli enerjiyi üretir (Altan vd., 2006). Mitokondri elektron taşıma zinciri elemanları ve birçok oksidaz ve oksijenaz enziminin aktif bölgelerinde demir ve bakır bulunmaktadır. Oksidazlar, moleküler oksijeni kullanarak redoks tepkimelerini katalizleyen enzim grubudur. İnsan vücudunda glikoz oksidaz, ksantin oksidaz, monoamin oksidaz, NADPH oksidaz ve sitokrom p450 oksidaz gibi çok sayıda oksidaz bulunmaktadır (Nagendrappa, 2005).

O₂, toplam dört elektron kabul etme kapasitesine sahiptir ve bu elektronlar sayesinde suya indirgenir. Mitokondride gerçekleşen ETZ'de sitokrom c oksidaz seviyesinde elektronik indirgenme ile O₂ moleküllerinden su üretilir. Bu elektronlar başlangıçta NADH ve FADH₂ sırasıyla indirgenmesi sonucu sitokrom c oksidaza ulaşmaktadır. O₂'in suya indirgenmesi sırasında sitokrom oksidaz enzimi elektronları teker teker oksijene aktarması sırasında oluşan süperoksit radikali ve diğer radikaller enzimin aktif bölgesine bağlı olarak kalır ve böylece radikal kaçağı olmaz (Finkel ve Holbrook, 2000). Buna karşılık ETZ'ye elektronların giriş hızı ile taşıma hızının aynı olmaması, bazı bölgelerdeki elektron kaçağına bağlı mitokondriye zarar verebilecek serbest radikallerin oluşumuna yol açar. Özellikle az bir miktar (%2) elektron kompleks I ve kompleks III'te kaybolur, kaybolan elektronlar oksijenin indirgenmesine neden olmaktadır. Oksijenin indirgenmesi sırasında bir dizi ara ürün oluşur. İlk olarak, oksijen bir elektron alarak süperoksit radikali (O₂^{•-}) haline gelir.

Daha sonra, süperoksit radikali, iki elektron alarak hidrojen peroksit (H_2O_2) oluşturur. Üçüncü elektronun eklenmesi ile son derece aktif olan hidroksil radikali ($OH^\bullet$), dördüncü elektron eklenmesiyle su oluşur. Mitokondrideki total O_2 'nin %96-99'u elektron taşınması sonunda suya indirgenirken, %1-4'ü ROT'lara dönüşür (Şekil 2.13.) (Rodwell vd., 2019; Lobo vd., 2010).



Şekil 2.13. Reaktif oksijen türleri oluşumu (Rodwell vd., 2019).

Reaktif oksijen türleri (ROT), vücutta oksijenin metabolizması sırasında üretilen ve oldukça reaktif, kısa ömürlü ve kararsız bileşiklerdir. Kararlı hale gelmek için diğer moleküllerle veya kendileriyle reaksiyona girme eğilimindedirler. Bu reaksiyonlar sırasında ROT'ler, çevrelerindeki diğer molekülleri okside edebilir veya onlarla reaksiyona girerek daha az reaktif ürünlere dönüşebilirler (Finkel ve Holbrook, 2000). Çizelge 2.6'da ROT verilmiştir.

Çizelge 2.6. Reaktif oksijen türleri (ROT).

Radikaller	Radikal Olmayanlar
Süperoksit ($O_2^{\bullet-}$)	Singlet oksijen ($^1O_2$)
Hidroksil ($OH^\bullet$)	Hidrojen peroksit (H_2O_2)
Lipid peroksil ($LOO^\bullet$)	Hipokloröz asit ($HOCl$)
Alkoksil ($RO^\bullet$)	Lipid hidroperoksit ($LOOH$)
Peroksil ($ROO^\bullet$)	Hipobromöz asit ($HOBr$)
Hidroperoksil ($HO_2^\bullet$)	Ozon (O_3)

ROT'ler, normal hücre metabolizması sırasında düşük miktarlarda üretilir. Özellikle mitokondriyal solunum ve diğer metabolik süreçler sırasında, hücrelerde ROT'lerin üretimi kaçınılmazdır. Bunlar, hücrelerde bir dizi biyolojik işlev için gereklidir. Örneğin, hücre sinyalleme, hücre döngüsü düzenlenmesi ve bağışıklık yanıtı gibi süreçlerde ROT'ler önemli roller oynarlar. ROT'lerin düşük konsantrasyonları hücre savunmasında etkili olabilirken, yüksek konsantrasyonlarda zararlı hale gelebilirler.

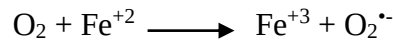
Bu nedenle, hücrelerde antioksidan savunma sistemi ve ROT üretimi arasındaki denge önemlidir. Bu dengeyi sağlamak için, hücrelerin antioksidan enzimler ve moleküller aracılığıyla ROT'leri etkili bir şekilde nötralize etmesi gerekmektedir (Karabulut ve Gülay, 2016; Valko vd., 2007).

2.13.1 Süperoksit radikali ($O_2^{\cdot-}$)

O_2 'nin tek bir elektron alarak indirgenmesiyle oluşan süperoksit radikali, hemen hemen tüm aerobik organizmaların normal metabolizması sırasında üretilir. Bu reaksiyon, aerobik hücrelerin mitokondrilerinde veya diğer hücresel bölgelerinde gerçekleşebilir (Nagendrappa, 2005). Serbest radikal olmasına rağmen çok reaktif değildir. Süperoksit radikali, hücre içinde çoğunlukla mitokondride oluşur. Özellikle, ATP üretimi sırasında ETZ boyunca meydana gelir (Lobo vd., 2010).



Demir veya diğer geçiş metallerinin oksidasyonu da süperoksit radikalini oluşturur. Süperoksit radikalinin direkt olarak zarar vermediği düşünülse de zararlı etkileri olan hidrojen peroksit kaynağı olması ve proteinlerdeki demir sülfür kümeleriyle reaksiyona girerek geçiş metallerini indirgemesi nedeniyle süperoksit üretimi önemlidir. Süperoksit radikali bir oksitleyici gibi davranarak bir elektron daha alabilir (Finkel ve Holbrook, 2000). Bu durumda, oluşan süperoksit radikali daha stabil bir yapıya ulaşmak için bir başka elektron alıcıya elektron verebilir veya iki süperoksit radikali bir araya gelerek birbirleriyle etkileşime girebilir. Süperoksit radikalinin bir elektron daha alması sonucu oluşan peroksit anyonu, iki proton alarak hidrojen peroksit (H_2O_2) molekülünü oluşturabilir. Ayrıca, iki süperoksit radikali bir araya geldiğinde birbirleriyle etkileşime girerek biri oksitlenirken diğeri ise indirgenir. Sonuç olarak, hidrojen peroksit ve oksijen gibi daha az reaktif ve daha kararlı moleküller oluşur (Rodwell vd., 2019).



Süperoksit radikali nitrik oksit radikali (NO) ile birleşerek başka bir reaktif oksijen türü olan peroksinitriti meydana getirerek nitrik oksitin zararlı etkili olmasına neden olur. Süperoksit radikali ayrıca nötrofiller için kemotaktik bir faktör olarak da inflamatuvar yanıtı neden olmaktadır (Lobo vd., 2010).

2.13.2 Singlet oksijen ($^1\text{O}_2$)

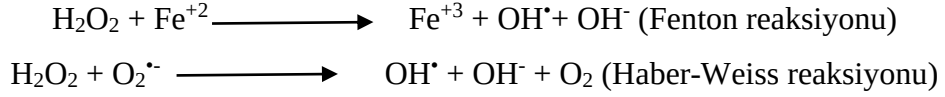
Moleküler oksijenin, uyarılması sonucunda oluşan bir oksijen türüdür. Moleküler oksijenin normal durumunda, dış iki orbitalinde paralel spinlere sahip olan iki elektron bulunur. Ancak, bu durumun sınırlarının kalkması veya değişmesi sonucunda moleküler oksijenin iki elektronunun aynı orbitale girmesiyle oluşur. Singlet oksijen, reaktif bir oksijen türüdür ve biyolojik sistemlerde oksidatif stresin bir nedeni olarak rol oynar. Çok kısa bir yarı ömre sahiptir, ancak difüzyon yeteneği bulunur ve zarlara kolayca nüfuz edebilir. Singlet oksijen, gerçek bir serbest radikal değildir çünkü yapısında ortaklanmamış bir elektron bulundurmaz. Ancak serbest radikallerin üretimi ve oksidatif stresin başlaması açısından önemlidir (Giardino, 2005; Johansen vd., 2005).

Singlet oksijen, vücutta çeşitli mekanizmalar aracılığıyla üretilir. Bu mekanizmalardan biri, immün sistemin hücrel bileşenlerinden olan nötrofiller ve eozinofillerin aktivasyonu ile ilgilidir. Aktive olan bu hücreler, oksijenin moleküler formunu singlet oksijene dönüştürmek için çeşitli enzimler aracılığıyla reaksiyona girerler. Ayrıca, bazı enzimatik reaksiyonlar da singlet oksijenin üretimine katkıda bulunabilir. Örneğin, lipoksijenazlar, dioksijenazlar ve laktoperoksidaz gibi enzimler, substratları ile etkileşime girerek singlet oksijenin oluşumuna yol açabilirler. Bu enzimlerin aktivitesi, biyolojik sistemlerde singlet oksijen seviyelerinin artmasına ve dolayısıyla oksidatif stresin oluşmasına katkıda bulunabilir (Valko vd., 2007).

2.13.3 Hidroksil radikali ($\text{OH}^\bullet$)

Hidroksil radikali, yarı ömrü çok kısa olan biyolojik sistemlerdeki en reaktif serbest radikallerden biridir. Moleküler oksijenin 3 elektron alarak indirgenmesi sonucunda oluşur. Lipidlerde peroksidasyon, proteinlerde amino asit yan zincirlerinin oksidasyonu ve DNA'da bazların modifikasyonu gibi bir dizi zararlı reaksiyona neden olabilir (Giardino, 2005). Bu reaksiyonlar hücre zarını, proteinleri ve nükleik

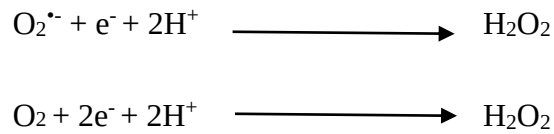
asitlere zarar verebilir ve hücre fonksiyonlarını bozabilir. Bu nedenle, hidroksil radikali, hücreler için ciddi bir oksidatif stres kaynağı olarak kabul edilir. Reaktivitesi o kadar yüksektir ki, oluştuğu yerden hemen çevredeki biyomoleküllere saldırabilir. Hidroksil radikali, Fenton reaksiyonu ve Haber-Weiss reaksiyonu gibi kimyasal tepkimelerle oluşabilir (Evans vd., 2005).



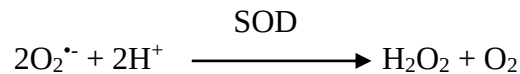
Fenton reaksiyonunda; H_2O_2 , Fe^{+2} veya başka bir geçiş metal iyonu tarafından indirgenerek hidroksil radikali üretir. Haber-Weiss reaksiyonu, süperoksit radikalının H_2O_2 ile reaksiyona girerek hidroksil radikali oluşturduğu bir serbest radikal zincir reaksiyonudur. Eser miktarda serbest demir Fenton/Haber-Weiss reaksiyonlarını katalizleyebilir (Betteridge, 2000). Hidroksil radikali, hücredeki birçok biyomolekülle etkileşime girerek zararlı etkilere yol açabilir. Özellikle amino asitler, çoklu doymamış yağ asitleri ve nükleik asitler hidroksil radikalının hedefi olabilir (Giardino, 2005).

2.13.4 Hidrojen peroksit radikali (H_2O_2)

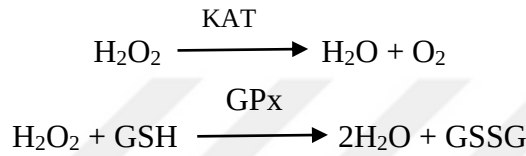
Hidrojen peroksit (H_2O_2), süperoksidin etrafındaki moleküllerden bir elektron alarak veya moleküler oksijenin etrafındaki moleküllerden iki elektron almasıyla oluşan peroksidin iki proton (H^+) ile birleşmesi sonucu meydana gelir (Giardino, 2005).



Hidrojen peroksidin bir kaynağı, süperoksit radikalının dismutasyonu yoluyla olabilir. Süperoksit dismutaz (SOD) enzimi, iki süperoksit molekülünü birbirinden ayırarak hidrojen peroksit ve moleküler oksijen oluşturur. Bu reaksiyona süperoksit dismutasyonu denir. Bu dismutasyon spontan olarak veya SOD enzimi aracılığıyla katalizle olabilir:



Oksidan bir ajan olan hidrojen peroksit düşük reaktiviteye sahiptir (Freeman ve Crapo 1982). H_2O_2 , gerçekte bir serbest radikal olmamasına rağmen ROT arasında yer alır ve hücrelerde oksidatif stres ve hasara neden olabilir. Hücresel membranlara kolayca geçebilir ve hücre içinde serbest hidroksil radikali gibi daha reaktif serbest radikallerin oluşumuna katkıda bulunabilir. Bu nedenle H_2O_2 , oksidatif stresin bir belirteci olarak önemli bir rol oynar ve hücrelerin oksidatif hasara karşı savunmasız hale gelmesine neden olabilir. Süperoksit dismutaz aktivitesi sonucu ortaya çıkan H_2O_2 ; katalaz (KAT) ve glutatyon peroksidaz (GPx) enzimleri ile H_2O ve O_2 'ye dönüştürülür (Betteridge, 2000).



2.14 Reaktif nitrojen türleri (RNT)

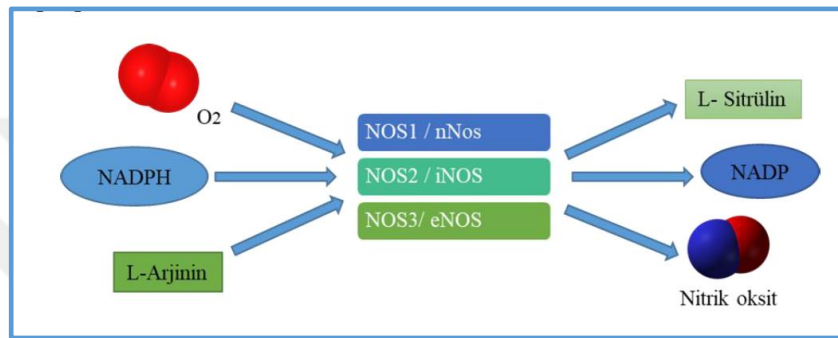
Reaktif nitrojen türleri (RNT), nitroksil anyonu (NO^-), Nitrosil katyonu (NO^+), peroksinitrit ($ONOO^-$) ve dinitrojen trioksit (N_2O_3) dahil olmak üzere çeşitli NO türevli bileşiklerdir. Bu türler, NADPH oksidaz, nitrik oksit sentaz (NOS), lipoksijenaz, siklooksijenaz ve ksantin oksidaz (XO) gibi çeşitli enzimler tarafından hücrelerde üretilir (Kehrer ve Klotz, 2015). Çizelge 2.7'de organizmada üretilen RNT türleri verilmiştir.

Çizelge 2.7. Reaktif nitrojen türleri (RNT).

Radikaller	Radikal Olmayanlar
Nitrik oksit ($NO^\bullet$) Nitrojen dioksit ($NO_2^\bullet$)	Nitrik asit (HNO_2) Nitrosil katyonu (NO^+) Peroksinitrit ($ONOO^-$) Peroksinitrik asit ($ONOOH$) Dinitrojen tetroksit (N_2O_4) Nitronyum katyonu (NO_2^+) Nitroksil anyonu (NO^-) Nitril klorid (NO_2Cl) Dinitrojen trioksit (N_2O_3) Alkil peroksinitrit ($ROONO$)

2.14.1 Nitrik Oksit (NO)

Nitrik oksit, L-arginin amino asidinin, nitrik oksit sentaz (NOS) enzimleri tarafından L-sitrüline dönüştürülmesiyle üretilir. Bu reaksiyon, bir dizi kofaktör aracılığıyla gerçekleşir (Şekil 2.14.). Bunlar arasında flavin adenin dinükleotid (FAD), flavin mononükleotid (FMN) ve tetrahidrobiyopterin (BH₄) bulunur. Bu kofaktörler, oksidasyon reaksiyonlarında elektron taşıyıcıları olarak görev yaparlar ve L-arginin'in oksidasyonunu NO ve L-sitrülin ürünlerine yönlendirirler (Lancaster, 2015).

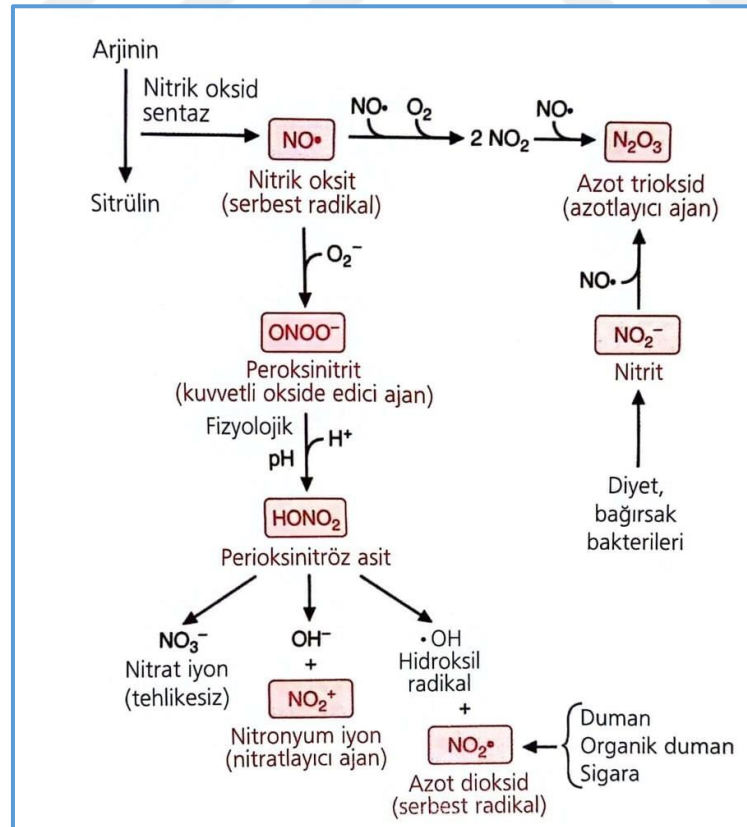


Şekil 2.14. Nitrik oksit sentezi (Fang vd., 2002).

NO, oksijen içeren bir serbest radikaldır ve O₂ gibi hem hayat için vazgeçilmezdir hem de toksiktir. NO, hücre içi ve hücreler arası biyolojik haberci olarak işlev gören bir gazdır. NO kısa yarılanma ömrüne sahiptir ve genellikle hücresel sinyal iletiminde önemli bir rol oynar (Alderton vd., 2001). Ayrıca hem lipofilik (yağda çözünebilir) hem de hidrofilik (suda çözünebilir) özelliklere sahip olduğu için, plazma membranından ve sitoplazmadan kolayca geçebilir. Bu özelliği, NO'nun hücre içinde ve hücreler arasında serbestçe hareket etmesine olanak tanır. Bu nedenle, NO, bir hücreden diğerine veya hücre içindeki farklı hücresel bileşenler arasında hızlı bir şekilde sinyal taşınmasına yardımcı olabilir (Lancaster, 2015). Düşük konsantrasyonlarda bir nörotransmitter ve hormon gibi fizyolojik olarak fonksiyon gösterir ve vazodilatasyona neden olur. Ancak yüksek konsantrasyonlarda O₂ veya süperoksit ile birleşerek hem azot hem de O₂ bulunduran ilave reaktif nitrojen türlerini oluşturur (Ridnour vd., 2004). NO, çok yüksek konsantrasyonlarda olduğunda (örn. inflamasyon esnasında), NO peroksinitriti (ONOO⁻) oluşturmak üzere nonenzimatik olarak süperoksitle veya dinitrojen trioksidi (N₂O₃) oluşturmak üzere O₂ ile birleşir. Peroksinitrit bir serbest radikal olmadığı halde kuvvetli bir

okside edici ajandır, stabildir ve doğrudan toksiktir. Hücre ve lipid membranlardan difüze olabilir ve proteinlerdeki metiyonin yan zincirleri ve -SH grupları (örneğin elektron transport zincirindeki Fe-S merkezleri) gibi çok çeşitli hedeflerle etkileşime girebilir (Alderton vd., 2001). Ayrıca, etkili bir lipid peroksidasyon başlatıcı serbest radikal olan nitrojen dioksit (NO_2) gibi ilave RNT'ler oluşturmak üzere parçalanır.

Peroksinitrit ürünleri, nitrotirozin ve nitroguanozin gibi bileşikler oluşturmak üzere aromatik halkalarla da reaksiyona girebilirler (azotlanma), NO_2 'den veya nitritten elde edilebilen N_2O_3 , nitrozatif stres ajanıdır ve hücredeki sülfhidril ve benzer reaktif grupları nitrozile eder. Nitrozilasyon genellikle modifiye edilmiş olan protein veya lipidin düzgün çalışması ile interfere olur (Şekil 2.15.) (Lancaster, 2015). Dolayısıyla RNT diğer ROT'lar kadar oksidatif hasar ve serbest radikal hasarı oluşturabilir, bu nitratlayıcı ve nitrozilleyici bileşikler için de geçerlidir. Sonuçta etki yaygındır ve çok sayıda enzimin inhibisyonunu, elektron transport zincirinin inhibisyonunu, mitokondriyal lipid peroksidasyonunu, tek veya çift zincirli DNA kırıklarını ve DNA'daki bazların modifikasyonunu ve enerji yetmezliğini içerir (Ridnour vd., 2004).



Şekil 2.15. NO ve RNT oluşumu (Beken ve Akça, 2017).

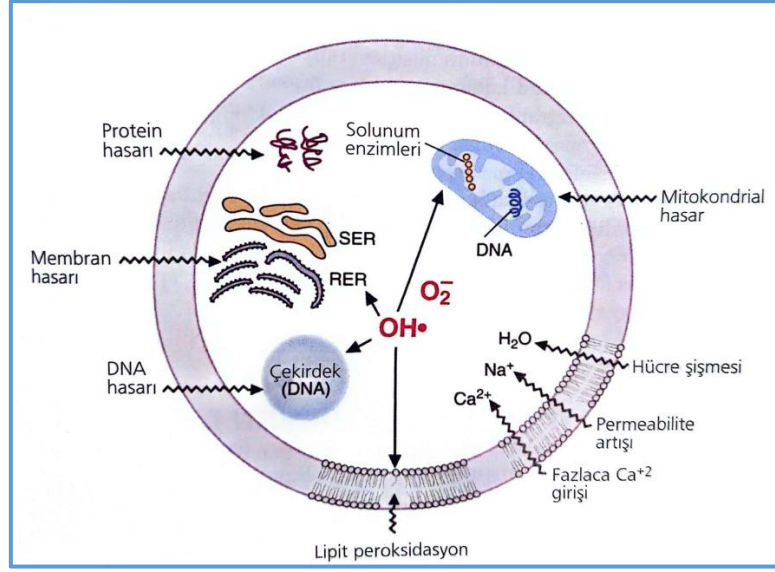
2.15 Serbest Radikallerin Yararları

ROT ve RNT düşük yoğunluklarda olduğunda, yararlı etkilerinden bahsetmek mümkündür. Ayrıca, bazı hücreler, ROT ve RNT salınım sistemini uyararak etkilerini gösterebilirler, bu da hücresel tepkilerin düzenlenmesinde önemli bir rol oynar (Valko vd., 2007). Serbest radikallerin yararlı etkilerinden bazı şunlardır;

1. Mikroorganizmaların Öldürülmesi: ROT, akciğer epitel hücreleri ve fagositler gibi immün hücreler tarafından üretilir ve mikroorganizmaların yok edilmesinde rol oynarlar.
2. Apoptozun Düzenlenmesi: Serbest radikaller, apoptozun (programlı hücre ölümü) tetikleyicisi, habercisi ve efektörü olarak işlev görebilirler. Bu şekilde, hücrelerin kontrolsüz büyümesini ve dengesiz çoğalmasını önleyebilirler.
3. Hücre Proliferasyonunun Kontrolü: Aşırı hücre proliferasyonunu önleyerek homeostaziste görev alabilirler. Bu, normal hücre çoğalması ve doku onarımı süreçlerinde önemli bir rol oynar.
4. Hücreler Arası Haberleşme: Serbest radikaller, hücreler arası haberleşmede rol alabilirler. Özellikle, hücre sinyalizasyon yollarında ve hücre döngüsü kontrolünde etkili olabilirler.
5. Hücre Büyümesinin Düzenlenmesi: Serbest radikaller, hücre büyümesini düzenleyen olaylara katılabilirler. Bu, hücre döngüsü ve hücresel büyüme kontrolünde önemli bir rol oynar.
6. Protein Yapısının Düzenlenmesi: Sitozolde ve mitokondride üretilen serbest oksijen radikalleri, özellikle proteinlerin sistein kalıntıları üzerindeki redoks değişikliklerini düzenleyerek protein yapılarının ve işlevlerinin kontrolünde kritik bir rol oynarlar (Devasagayam vd., 2004; Fang vd., 2002).

2.16 Serbest Radikallerin Zararları

Serbest radikaller, hücrelerdeki lipidler, proteinler, DNA ve diğer önemli moleküllerle etkileşime girerek yapılarının bozulmasına neden olabilirler. Bu etkileşimler sonucunda hücre hasarı ve homeostatik dengenin bozulması ortaya çıkabilir (Şekil 2.16.) (Guyton ve Hall, 2017).



Şekil 2.16. Serbest radikallerin hücre ve bileşenlerine zararları (Guyton ve Hall, 2017).

2.16.1 Serbest radikallerin lipidlere etkileri

Lipidler, hücrelerin yapısını koruyan ve işlevlerini kontrol eden hücre zarlarının temel bileşenleri olup aynı zamanda serbest radikallerin etkilerine karşı en hassas olan biyomoleküllerdir. Oksijen molekülünün lipidlere karşı yüksek afinitesi olup hemoglobinden ayrıldıktan sonra plazmadaki lipoproteinler ile eritrosit membranındaki lipidlere çözünmekte ve daha sonra dokularda kullanılmaktadır (Öztürk vd., 2009).

Hücre zarları, esnekliklerini ve akıcılıklarını sağlamak için çoklu doymamış yağ asitleri (PUFA) açısından zengin bir yapıya sahiptir. Hücre ve hücre içi membranda bulunan fosfolipid, glikolipid, gliserid ve sterol yapısında yer alan doymamış yağ asitleri, serbest radikallerle kolayca reaksiyona girerek peroksidasyon ürünleri oluştururlar. Lipid peroksidasyonu, PUFA'ların oksidatif yıkımını ifade eder. Kendini devam ettiren bir zincir reaksiyonu şeklinde ilerler ve oldukça zararlıdır (Nam, 2011).

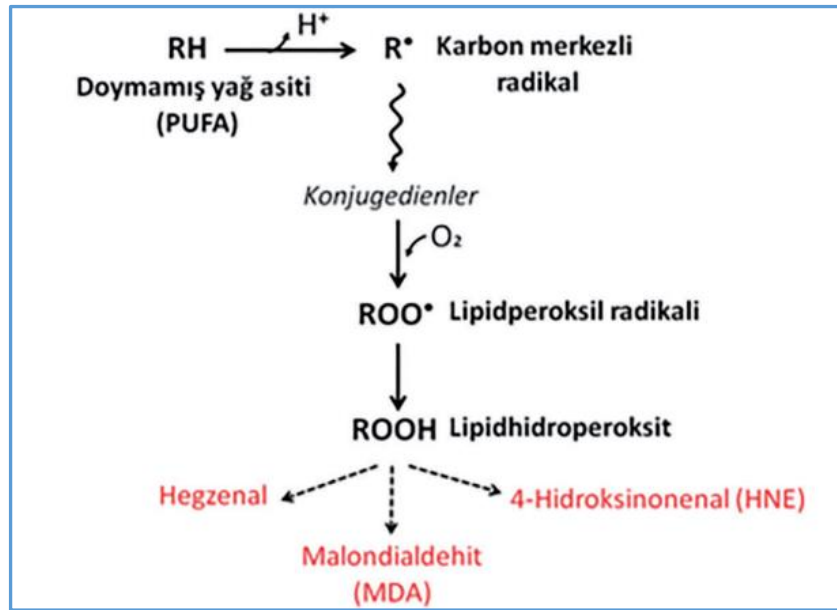
Serbest radikallerin sebep olduğu lipit peroksidasyonu, hücresel zarların ve lipid yapıların oksidatif hasarına yol açan bir süreçtir. Bu süreç, ROT ve RNT gibi serbest radikallerin varlığında gerçekleşir. Non-enzimatik lipit peroksidasyonu olarak adlandırılan bu süreç, hücresel zarların yapısını ve fonksiyonunu bozabilir. H_2O_2 ,

Fenton reaksiyonu ile hidroksil radikali gibi son derece reaktif serbest radikallere dönüşebilir. Bu hidroksil radikalleri, lipid peroksidasyonunu başlatmak için hücre zarlarında bulunan lipidlerle etkileşime girer (Basu, 2003). Lipid peroksidasyonu genellikle üç aşamalı bir süreçtir ve zincir reaksiyonu şeklinde ilerler:

Başlama Basamağı: Çoklu doymamış yağ asitlerinin yapısındaki çift bağlar hidroksil radikalının hedefindedir. Bu bağlar arasındaki metilen köprülerinden (-CH₂-) bir hidrojen atomunun koparılması sonucu yağ asidi zinciri bir lipit radikaline (L[•]) dönüşür.

İlerleme Basamağı: Dayanıksız bir bileşik olan lipit radikali oksijenle etkileşerek lipit peroksil radikali (LOO[•]) oluşturur. Lipit peroksil radikali, proteinlere ve DNA'ya zarar veren lipit peroksidasyonunun toksik son ürünleri olan 4-hidroksil nonenal (4-HNE), malondialdehit (MDA) ve hegzenal isimli aldehitlere dönüşür.

Sonlanma Basamağı: Lipid peroksidasyonu, antioksidanlar gibi moleküller tarafından gerçekleştirilen radikallerin birbirleriyle reaksiyona girmesiyle sonlandırılabilir. Lipit peroksidasyonu, lipit hidroperoksitlerinin aldehitler, diğer karbonil bileşikleri ve hatta uçucu gazlar gibi daha kararlı ürünlere dönüşmesiyle sonlanır (Şekil 2.17.) (Aslankoç vd., 2019; Ayala vd., 2014).



Şekil 2.17. ROT'lere bağlı oluşan lipit peroksidasyon ürünleri.

Lipid peroksidasyonu, zararlı bir süreçtir ve genellikle geri dönüşümsüz hasara neden olur. Antioksidanlar gibi koruyucu sistemler ile durdurulamazsa özellikle membranlar ciddi zarar görür. Membranlarda akışkanlığın ve geçirgenliğin azalmasına bağlı fonksiyon kaybı ve membrana bağlı enzim ve reseptörlerin etkisiz hale gelmesi söz konusudur. Lipooksijenaz, siklooksijenaz, sitokrom p450 gibi enzimlerin hücresel süreçlerdeki reaksiyonları sırasında da lipidlerin oksidasyonu gerçekleşebilir. Lipid peroksidasyonunun başlayıp ilerlemesine karşılık, hücreler tamir kapasitelerine göre yaşamayı veya ölümü seçebilir. Düşük lipid peroksidasyon hızında, hücreler savunma sistemlerini veya koruyucu molekülleri uyarak yaşamın sürdürülmesini; buna karşılık oksidatif strese bağlı hasar, tamir kapasitesini aşacak düzeyde ise apoptoz veya nekroz programlı ölümü seçebilir (Gürdöl, 2018; Blair, 2008).

2.16.1.1 Malondialdehit (MDA)

MDA, lipid peroksidasyonu sonucu ortaya çıkar ve uzun ömürlü bir aldehit türüdür. Araşidonik asidin ve daha büyük çoklu doymamış yağ asitlerinin (PUFA) enzimatik veya enzimatik olmayan yolla ayrışması sonucu oluşan son üründür. MDA, hücre veya çekirdek içine kolayca difüze olabilir ve bu şekilde DNA ile etkileşime geçebilir. MDA'nın DNA bazlarıyla reaksiyona girmesi, DNA zincirinde çapraz bağlar oluşturabilir veya DNA bazlarını modifiye edebilir. Bu, DNA hasarına ve genetik materyalin bütünlüğünün bozulmasına neden olabilir (Blair, 2008). Oksidatif stresin ölçülmesinde en yaygın metod MDA düzeyinin belirlenmesidir. MDA, yağ asidi oksidasyonunun spesifik ya da kantitatif bir indikatörü değildir, ancak lipid peroksidasyonunun derecesi ile korelasyon göstermektedir. 1960'lerden bu yana, in vivo ve in vitro olarak oksidatif stres seviyesini ölçmek için bu molekül değerlendirilmiş ve birkaç yöntem geliştirilmiştir (Aslankoç vd., 2019).

Tiyobarbitürik asit (TBA) yöntemi, MDA gibi lipid peroksidasyon ürünlerini belirlemek için sıkça kullanılan bir yöntemdir. Bu yöntemin temeli, TBA'nın MDA ve diğer peroksidasyon ürünleriyle reaksiyona girerek bir pembe renkli kompleks oluşturmasıdır. Oluşan kompleksin 532 nm dalga boyunda emiliminin ölçülmesi, MDA konsantrasyonunu belirlemek için kullanılır. Bu yöntem, plazma ve doku homojenatında lipid peroksidasyonunu değerlendirmek için yaygın olarak kullanılan bir tekniktir ve MDA konsantrasyonunun bir göstergesi olarak kabul edilir (Özcan

vd., 2015). Non-enzimatik lipid peroksidasyonu, hücre zarlarının yapısını ve işlevini doğrudan etkileyen zararlı bir süreçtir. Bu süreç, reaktif aldehytler gibi yan ürünlerin oluşumuna ve doku hasarına neden olabilir. MDA, DNA'nın nitrojen bazlarıyla reaksiyona girerek DNA hasarına neden olabilir, bu da mutajenik, genotoksik ve karsinojenik etkilere yol açabilir. MDA, yüksek reaktivitesi ve uzun ömrü ile hücre içinde ve dışında bulunan diğer biyomoleküllere de zarar verebilir (Aslankoç vd., 2019).

Proteinlerin, nükleik asitlerin ve diğer biyomoleküllerin etkilenmesi, geri dönüşümsüz hasarlara yol açabilir. Bunun yanı sıra hücre zarlarının yapısındaki değişiklikler nedeniyle zarların geçirgenliğini artırabilir. Özellikle, membranların Ca^{+2} iyonları üzerine geçirgenliğinin artması, hücre içi kalsiyum dengesinin bozulmasına ve çeşitli hücre işlevlerinin etkilenmesine yol açabilir (Ayala vd., 2014). Son araştırmalar, aşırı MDA üretiminin oksidatif stresin bir göstergesi olduğunu ve birçok patolojik durumla ilişkilendirildiğini göstermektedir. Özellikle Alzheimer hastalığı, kanser, kardiyovasküler hastalıklar, diyabet, karaciğer hastalıkları ve Parkinson gibi çeşitli sağlık sorunlarıyla MDA seviyeleri arasında bir ilişki olduğu bulunmuştur. Bu nedenle, MDA seviyelerinin değerlendirilmesi, bu hastalıkların tanı ve tedavisinde önemli bir rol oynayabilir. (Aslankoç vd., 2019).

2.16.2 Serbest radikallerin proteinlere etkileri

Proteinler serbest radikallere karşı genellikle poliansatüre yağ asitlerinden daha az hassastırlar. Bununla birlikte, proteinlerin serbest radikallerle etkileşim derecesi, amino asit bileşimlerine bağlıdır. Özellikle, doymamış bağ içeren ve kükürt içeren amino asitler serbest radikallerle daha kolay reaksiyona girer ve dolayısıyla proteinlerin serbest radikal harabiyetine daha yatkındır. Serbest radikallerle etkileşim sonucu oluşan karbon merkezli organik radikaller ve sülfür radikalleri, hücrelerde oksidatif strese neden olabilir. Bu durum, hücre hasarına ve çeşitli sağlık sorunlarına yol açabilir (Devasagayam vd., 2004). Bu radikaller geçiş metallerinin varlığında protein yapısında oksidatif kırılmalar, protein-protein çapraz bağlanmaları, proteinlerin denatürasyonu, enzimlerde aktivite kaybı, reseptör ve taşıyıcı proteinlerde fonksiyon kaybı, molekül yapısına karbonil grubunun girmesi, alkil, alkoksil ve alkil-peroksil radikallerinin oluşması gibi birçok değişikliğe yol açar. Karbonil gruplarının ölçülmesi protein oksidasyonunun bir göstergesi olarak

kullanılmaktadır. Alzheimer, Parkinson, kas distrofisi, diyabet, ateroskleroz, progeria, Werner Sendromu gibi hastalıklarda ve yaşlanmada karbonil gruplarında artış olduğu gösterilmiştir. Oksidasyona duyarlı olan protein yapısındaki kükürtlü amino asitlerin (metyonin, sistein) oksidasyon ürünlerinin ölçümü de proteinlerdeki hasarın göstergesi olarak kullanılmaktadır (Gürdöl, 2018; 2015; Devasagayam vd., 2004).

2.16.3 Serbest radikallerin nükleik asitler ve DNA'ya etkileri

ROT'un DNA molekülüne saldırısı mutajenez, karsinogenez ve yaşlanmanın ilk adımı olarak kabul edilmektedir. Oksijen türevleri DNA molekülünün tüm bileşenleri ile reaksiyona girebilmektedir. DNA üzerinde oluşan hasar tek veya çift zincir kırılması, yapıda yer alan pürin, pirimidin veya deoksiribozların değişime uğramaları ve DNA çapraz bağlanmaları olarak sayılabilir. 8-Hidroksi-2'-deoksiguanozin oluşması DNA'daki hasarın bir göstergesi olarak kabul edilmektedir. DNA'da oluşan bu tahrip, transkripsiyonun durmasına veya indüklenmesine, sinyal iletilerinin uyarılmasına, replikasyon hatalarına ve genomik dengesizliğe yol açarak karsinogeneze zemin hazırlar. Oksijen türevlerinin yoğun olarak olduğu bölgeye yakın bulunan mitokondri DNA'sının tamir ve koruma sistemleri, nükleer DNA'ya göre yetersizdir (Gürdöl, 2018; Devasagayam vd., 2004; Dizdaroglu).

2.16.4 Serbest radikallerin karbonhidratlara etkileri

Serbest radikaller, glikoz ve diğer monosakkaritler gibi karbonhidrat moleküllerine zarar verebilirler. Bu zarar, özellikle hidroksil radikallerinin glikoza etki etmesi sonucu ortaya çıkar. Hidroksil radikalleri, glikoz gibi şeker moleküllerindeki hidrojen ve oksijen atomları arasında reaksiyona girerek peroksit radikalleri oluşturabilirler. Ayrıca, glikozun aldehit grubu içermesi, toksik etkilere yol açabilir (Gürdöl, 2018). Aldehitler, reaktif maddelerdir ve proteinler ile DNA'ya bağlanarak enzimatik olmayan glikasyon reaksiyonlarına (AGEs) yol açabilirler. Bu reaksiyonlar, proteinlerin ve DNA'nın yapısal ve fonksiyonel özelliklerini değiştirebilir ve hücrel hasara neden olabilirler. Bu durum, diyabet gibi kan glikoz seviyelerinin yüksek olduğu zaman daha da belirgin hale gelebilir, çünkü glikozun birincil hedefleri hücrelerdeki proteinlerdir ve uzun süreli yüksek glikoz seviyeleri hasara yol açabilir (Dean vd., 1997).

2.17 Antioksidan Sistem (Antioksidanlar)

Yüksek reaktif bir durumda olan serbest radikallerin; lipid membranı, DNA ve proteinlere verdiği zarar nedeniyle hücre bileşenlerinde farklılıklar ortaya çıkarak hücre ve dokulara zarar verdiği bilinmektedir. Serbest radikallerin zararlı etkilerini azaltarak veya önleyerek hücrelerdeki oksidatif stresi dengelemeye yardımcı olan maddelerdir. Antioksidanlar, serbest radikallerin oluşumunu inhibe edebilir, oksidasyon reaksiyonlarını engelleyebilir veya serbest radikallerle etkileşime girerek onların zararlı etkilerini nötralize edebilirler (Çolak, 2011). Antioksidanlar, serbest radikallerle reaksiyona girerek oksidatif stresi azaltır ve hücrelerin oksidatif hasara karşı korunmasına yardımcı olur. Antioksidanlar, hidrojen verici, radikal temizleyici, enzim inhibitörü, elektron verici, peroksit çözücü ve metal şelatlayıcı maddeler olarak görev yaparlar (Pham-Huy vd., 2008).

Dokular ve organlar farklı metabolik aktivitelere ve oksijen tüketimine sahiptirler ve bu durum antioksidan seviyeleri açısından da farklılıklara sebep olur. Özellikle yüksek oksijen tüketim oranlarına sahip dokular (karaciğer, kalp ve beyin), yapısal antioksidan enzimlerini yüksek seviyede bulundurlar. Bunun nedeni, bu dokuların sürekli olarak oksidatif stres altında olmaları ve serbest radikallerin zararlı etkilerinden korunmaları gerekliliğidir (Limón-Pacheco ve Gonshebbat, 2009). Hücreler, antioksidan seviyelerini korumak için hem besin alımı yoluyla dışarıdan antioksidanları almaları hem de kendi içlerinde antioksidanları sentezlemeleri gerekmektedir. Dışarıdan alınan antioksidanlar genellikle besinlerle sağlanırken, hücre içinde glutatyon, süperoksit dismutaz, katalaz gibi antioksidan enzimler de sentezlenerek oksidatif stresin etkilerine karşı koruyucu bir rol oynarlar (Roberts ve Sindhu, 2009).

Hücre içi ve hücre dışı ortamda serbest radikallerin etkilerini nötralize etmek için endojen ve eksojen kaynaklı antioksidanlar bulunur. Endojen antioksidanlar; enzimler, metal iyonlarını birbirine bağlayan bazı yağda ve suda çözünür radikal temizleyicileri ve proteinleri içerir. Eksojen antioksidanlar; vitaminler, ilaçlar ve yiyecekler yoluyla alınan antioksidanlardır (Türkyılmaz, 2003). Endojen kaynaklı antioksidanlar, enzimatik (Çizelge 2.8.) ve enzimatik olmayan (Çizelge 2.9.) antioksidanlar olmak üzere iki alt gruba ayrılırlar.

Çizelge 2.8. Enzimatik Antioksidanlar ve Temel Fonksiyonları.

Antioksidanlar	Temel Fonksiyonları
Katalaz (KAT)	H ₂ O ₂ 'nin H ₂ O ve O ₂ 'ye dönüşümü
Süperoksit Dismutaz (SOD)	O ₂ ' radikallerinin O ₂ ve H ₂ O ₂ 'e dönüşümü
Glutasyon-S-Transferazlar (GST)	Glutasyon ile ksenobiyotiklerin detoksifikasyonu
Glutasyon Peroksidaz (GPx)	Hidrojenperoksit ve lipid peroksitlerin detoksifikasyonu
Glutasyon Redüktaz (GR)	Okside glutasyonun, indirgenmiş glutatyonla dönüşümü
Glutamat Sistein Ligaz (GCL)	Glutasyon sentezi
Peroksiredoksinler (PRDX)	Hidrojen peroksit ve alkil hidroperoksitlerin azaltılması
Tiyoredoksin Redüktaz (TrxR)	Antioksidan savunma ve redoks dengesini korumak

Çizelge 2.9. Enzimatik Olmayan Antioksidanlar ve Temel Fonksiyonları.

Antioksidanlar	Temel Fonksiyonları
Glutasyon	ROT'ler ile direkt reaksiyona girerek antioksidan etki gösterir.
Ürik asit	ROT ve RNT'leri etkisizleştirir ve geçiş metalleri şelatlar.
Melatonin	ROT ve RNT üzerine süpürücü etki gösterir
Albumin	HOCl, OH [•] üzerine süpürücü etki gösterir
Bilirubin	ROO [•] Radikalleri üzerine zincir kırıcı etki gösterir.
Alfa lipoik asit	OH [•] , HOCl, ONOO ⁻ ve 1O ₂ üzerine süpürücü etki gösterir
Koenzim Q10	O ₂ ^{-•} , H ₂ O ₂ üzerine süpürücü etki gösterir, lipid peroksidasyonunu baskılar.

Eksojen antioksidanlar, vücut tarafından üretilmeyen ancak besinler veya takviyeler yoluyla alınan antioksidanlardır. Ancak, dikkat edilmesi gereken önemli bir nokta, eksojen antioksidanlar fizyolojik dozlarda alındığında yararlı etkilere yol açarken, yüksek dozlarda prooksidan etkiler göstererek serbest radikal oluşumunu artırabilirler ve hücrel hasara neden olabilirler (Çizelge 2.10.) (Pham-Huy vd., 2008).

Çizelge 2.10. Eksojen Antioksidanlar.

Eksojen Antioksidanlar	
Mineraller	Çinko, Selenyum
Vitaminler	E ve C vitaminleri
Fitoaleksinler	Resveratrol
Karotenoidler	Likopen, β-karoten,
Flavanoller	Kateşin
Fenolik asitler	Kafeik asit, klorojenik asitler, gallik asit
Antosiyanidinler	Siyanidin
Flavonoller	Quercetin
Flavanonlar	Apigenin
İzoflavonoidler	Genistein
Alkaloidler	Kafein

2.17.1 Süperoksit dismutaz (SOD)

Hücrelerde bulunan önemli bir antioksidan enzim olan SOD, oksijenin metabolizması sırasında oluşan süperoksit radikallerini nötralize ederek oksidatif stresin etkilerini azaltır. Endojen olarak üretilen SOD enzimi, organizmanın ilk savunma hattını oluşturarak süperoksidin hidrojen perokside dismutasyonunu katalizleyen bir metallo enzimdir. Böylece SOD'un etkisiyle organizmadaki süperoksit radikali kontrol altına alınmaktadır (Zelko vd., 2002).

İnsanlarda SOD enzimi iki izoformda bulunur: sitoplazmik SOD (CuZn-SOD) ve mitokondriyal SOD (Mn-SOD). CuZn-SOD, sitoplazma ve hücrenin diğer bölgelerinde bulunurken, Mn-SOD sadece mitokondri içinde bulunur. SOD izoformları arasındaki ana fark, aktivitelerinin pH'ya duyarlılığıdır. Her iki izoform da pH 7 civarında en aktif konumda bulunur. Ancak, Mn-SOD, pH 7'nin üzerindeki alkali koşullarda aktivitesini kaybederken, CuZn-SOD'un aktivitesi genellikle pH 5,5 ila 10 arasında değişmez (Fattman vd., 2003; Takada vd., 2002).



SOD enzimi, memeli dokularında genellikle hücre içinde yer alır ve mitokondri matrikslerinde, özellikle eritrositlerde, hepatositlerde ve beyin hücrelerinde bulunur. Ancak, yaklaşık %10'u hücre dışında da bulunabilir. SOD aktivitesi dokular arasında değişiklik gösterir; örneğin, karaciğerde kalbe göre daha yüksek bir aktiviteye sahiptir. Bu, farklı dokuların oksidatif stresle mücadele etme kapasitesinin farklı olabileceğini ve bu dokuların farklı oksidatif stres düzeylerine maruz kaldıklarını gösterir (Zelko vd., 2002).

2.17.2 Katalaz (KAT)

Hücre içine geniş çapta dağılmış olan katalaz enzimi esas olarak H_2O_2 'nin H_2O ve O_2 'ye indirgenmesini katalize eder. Bu redoks reaksiyonları, hidrojen peroksidin daha az reaktif ve zararsız hale getirilmesini sağlar. Katalazın bu işlevi, hücrelerin oksidatif stresle mücadelesinde önemli bir rol oynar (Chelikani vd., 2004).



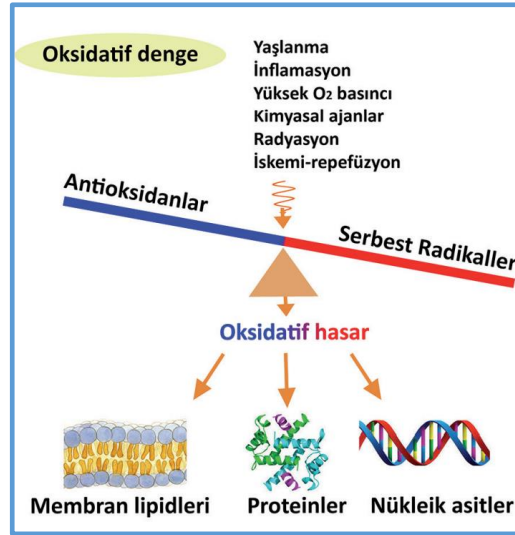
KAT, dört protein alt birimden meydana gelir. Her bir alt birim, bir hem grubu ve bir NADPH molekülü içerir. Enzimin aktif kısmına bağlanan demir kofaktör olarak rol alır. KAT ve GPx, ortak substratları paylaşırlar. KAT, özellikle karaciğer, böbrek ve eritrositlerde yoğun olarak bulunur (Takada vd., 2002).

2.17.3 Glutasyon peroksidaz (GPx)

Glutasyon sistemi, hücrelerin oksidatif stresle mücadelesinde önemli bir rol oynayan bir antioksidan savunma sistemidir. Bu sistem, glutasyon, glutasyon peroksidaz, glutasyon redüktaz, ve glutasyon S-transferaz gibi çeşitli bileşenleri içerir. Glutasyon sistemi, hayvanlar, bitkiler ve mikroorganizmalar gibi birçok organizmada bulunur. Glutasyon peroksidazlar, glutasyon sisteminin önemli bir parçasıdır ve hidrojen peroksit ile organik hidroperoksitlerin parçalanmasını katalize ederler. Bu enzimler, glutasyon ile birlikte çalışarak hücreleri oksidatif stresin zararlı etkilerinden korurlar. Glutasyon peroksidazlar, genellikle dört selenyum kofaktörü içeren bir enzimdir. Bu selenyum kofaktörleri, enzimin aktif bölgesinde hidrojen peroksit veya organik hidroperoksitleri parçalamak için gerekli olan reaksiyonları katalize eder (Chabory vd., 2009; Blankenberg vd., 2003).

2.18 Oksidatif Stres

Fizyolojik koşullarda, hücrelerde serbest radikal oluşumu ile antioksidan savunma sistemi arasında bir denge vardı. Ancak serbest oksijen radikallerinin aşırı üretimi veya yetersiz indirgenmesi, hücrenin redoks (indirgeyici ve oksidatif) dengesini bozar (Navarro ve Boveris, 2004). Canlıdaki biyolojik sistemlerde serbest radikallerin oluşumunun artması veya antioksidan savunma sistemlerinin zayıflaması sonucu serbest radikallerin kontrolsüz bir şekilde birikmesi durumunda ortaya çıkar. Serbest radikallerin hücrelerde ve dokularda neden olduğu hasarlar, antioksidanların bu hasarları tamir etme kapasitesini aşabilir ve oksidatif stres gelişir (Özcan vd., 2015). Oksidatif stres, canlı organizmaların normal fizyolojik koşullar altında karşılaştığı bir süreçtir. Oksijene ihtiyaç duyan tüm canlı organizmalar, oksijeni metabolik süreçlerinde kullanırken yan ürün olarak serbest radikalleri üretebilirler. Ancak bu oksidasyon süreci antioksidanlar tarafından etkisiz hale getirilemediği ya da üretimde çeşitli sebeplere bağlı artış olduğu durumlarda serbest radikaller ve reaktif oksijen türleri organizmaya zarar vermektedir (Şekil 2.18.) (Gupta vd., 2014).



Şekil 2.18. Oksidatif denge.

Serbest radikallerin oluşum hızı ile bu radikallerin antioksidanlar tarafından etkisiz hale getirilme veya nötralize edilme hızı arasındaki dengeye “oksidatif denge” veya “antioksidan denge” denir. Bu denge, vücuttaki serbest radikallerin ve antioksidanların düzeylerinin kontrol altında tutulmasını sağlar (Altan vd., 2006).

Oksidatif stres, birçok hücre ve moleküler düzeyde zararlı etkilere neden olabilir. Bu etkiler genellikle, hücre organelleri ve membranlarında lipid ve protein yapısının bozulması, hücre içi enzimlerin inaktifleşmesi, DNA ve mitokondriyal hasarı, hücreden K^+ kaybının artması, lizozomal Enzimlerin Aktivasyonu, damar geçirgenliğinin bozulması, trombosit agregasyonunun artması, ekstraselüler kollajen doku komponentlerinin yıkılması ve dokulara fagositlerin göçünün artması gibi durumları içerir (Navarro ve Boveris, 2017). Oksidatif stres, birçok hastalığın patogenezinin sorumlu bir faktör olarak kabul edilir. Özellikle kanser, ateroskleroz, diyabet, kardiyovasküler hastalıklar, nörolojik hastalıklar ve inflamatuvar bozukluklar gibi birçok hastalığın gelişiminde oksidatif stresin önemli bir rolü vardır (Motor vd., 2014).

2.19 Tip 2 Diabetes Mellitus ve Oksidatif Stres

Son yıllarda yapılan çalışmalar, oksidatif stresin birçok hastalığın, özellikle de diyabetin patogenezinde önemli bir rol oynadığını göstermektedir. Diyabeti hastalarda dengesiz ve yetersiz beslenme, fiziksel aktivitede azalma, bozulmuş glikoz toleransı, hipoksi, inflamasyon ve genetik faktörler kan glikoz düzeyini artmasına

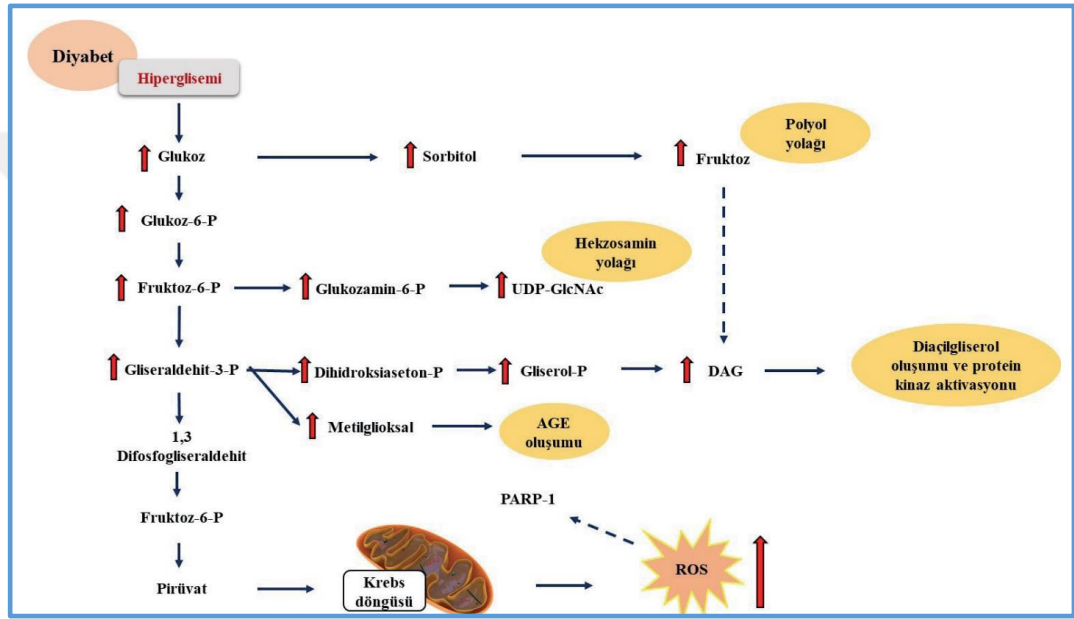
dolayısıyla oksidatif stresin oluşmasına katkıda bulunabilir (Rehman ve Akash, 2017). Diyabet hastalarının sağlıklı bireylere kıyasla antioksidan savunma sistemi aktivitelerindeki azalma hücresel düzeyde oksidatif dengenin bozulmasına yol açabilir (Rains ve Jain, 2011). DM’de uzamış hipergliseminin hücre içi KAT, GSH-Px, SOD gibi antioksidan enzimlerin miktarı azalabilir. SOD, hidrojen peroksit gibi ROT türü olan süperoksit anyonunu detoksifiye etmek için çalışır. GSH-Px ve KAT ise H_2O_2 ’i suya ve oksijene dönüştürerek hücreyi oksidatif hasara karşı korur. Uzun süreli hiperglisemi, SOD enziminin glikasyonuna ve aktivitesinde azalmaya neden olur (Giacco vd., 2010).

Çeşitli çalışmalarda diyabetik hastalarda ve diyabet modeli oluşturulan ratlarda serbest oksijen radikallerinin ve lipid peroksidasyonunun önemli derecede arttığı ve oksidatif stresin diyabet etiolojisinde ve ilerlemesinde rolü olduğu bildirilmiştir (Bakirel vd., 2008). DM’de çeşitli mekanizmalar sonucu ROT üretilebilir. ROT üretiminin mitokondriyal kaynağı oksidatif fosforilasyon iken, sitozolik kaynakları glikoliz, glikoz-6-fosfat dehidrojenaz, ilerlemiş glikasyon, sorbitol yolu, NADPH oksidaz, ksantin oksidazdır. Ayrıca ROT ileri glikasyon son ürünleri (AGE’ler) aracılığıyla da oluşabilir (Macit ve Akbulut, 2015).

Sağlıklı hücrelerde ROT üretimi genellikle antioksidan enzimler ve diğer savunma mekanizmaları tarafından denge altında tutulur. Ancak metabolik disfonksiyon durumlarında, ROT üretimi artabilir ve bu da hücrelerin normal işlevlerini bozabilir. ROT ve RNT, nükleer faktör kappa B (NF- κ B) gibi proinflamatuvar transkripsiyon faktörlerini aktive edebilirler. NF- κ B, immün cevap ve inflamatuvar cevapta kritik bir rol oynar. Özellikle diyabetin komplikasyonlarına katkıda bulunan NF- κ B’nin aktivasyonu, oksidatif stresin artmasına ve inflamasyonun şiddetlenmesine yol açabilir (Evans vd., 2003).

ROT ve RNT, insülin salınımını uyararak insülinin hücrelere alınmasına ve bu şekilde kan glukoz düzeylerinin düzenlenmesine yardımcı olabilirler. Ancak, aşırı miktarda ROS ve RNS üretimi, insülin sinyalini negatif etkileyerek, hücrelerdeki insülin reseptörlerinin fonksiyonunu bozabilirler ve bu da insülin direncine katkıda bulunabilir (Macit ve Akbulut, 2015). Kronik hiperglisemi ve hiperlipidemi, ROT oluşumu için önemli risk faktörleridir. Hipergliseminin, ROT birikimine katkısı farklı metabolik yollar üzerinden gerçekleşebilmektedir. Temel olarak

hiperglisemik koşullarda glikolitik yolağın aktivitesinin artması ve mitokondriyal elektron taşıma sistemi üzerinde oluşan elektron basıncı, ROT oluşumuna katkı sağlar. ROT'un oluşumu ve birikimi daha sonra glikolizde görevli kilit enzimlerden gliseraldehit 3-P dehidrogenaz (GAPDH) enzim aktivitesini baskılayarak hücreyi, glikozu alternatif yollarla metabolize etmeye zorlar. Glikoliz ve krebs döngüsünün etkinliği azalır; poliol yolu, hekzozamin yolağı ve protein kinaz C (PCK) aktivitesi ve advanced (gelişmiş) glikasyon son ürünlerinin (AGEs) oluşumu artar (Şekil 2.19.) (Brownlee, 2005).



Şekil 2.19. Hiperglisemiye bağlı gelişen oksidatif stres yolları.

Poliol yolu: Birçok hücre, toksik aldehytleri ilgili alkollerine (poliol yolu) dönüştüren bir enzim olan aldoz redüktaz içerir. Aldoz redüktaz, hücreler arası hiperglisemi koşullarında glikozu karşı düşük bir afiniteye sahip olduğundan; aldoz redüktan yolağı glikozu sorbitole dönüştürerek glikoz akışının üçte birini oluşturabilir. Sorbitol hidrofiliktir, hücre içinde birikerek osmotik basıncı artırır ve hücre içine suyun girmesine neden olabilir. Bu durum, hücrelerin şişmesine ve fonksiyonlarının bozulmasına yol açabilir. Özellikle, retina, böbrekler ve sinirler gibi dokularda, sorbitol birikiminin osmotik etkileri, diyabetik komplikasyonların gelişiminde önemli bir rol oynar. Poliol yolağı, hiperglisemi koşullarında glikozun yaklaşık %30'unun metabolize edilmesinden sorumludur. Bu yolda, aldoz redüktaz enzimi aracılığıyla glikoz sorbitole dönüştürülürken, bu reaksiyon için NADPH kullanılır.

Bu süreç, hücre içinde NADPH tüketimine yol açar (Maritim vd., 2003). NADPH, hücrelerde antioksidan kapasitenin korunması için önemlidir. Özellikle, okside glutatyonun redükte forma dönüştürülmesi için ve NO sentezi için NADPH gereklidir. Bu durumda, hücrelerin antioksidan kapasitesi azalır ve oksidatif stresin artma riski ortaya çıkar. Redükte glutatyonun azalması ve vazodilatasyonda görev yapan NO sentezinin azalması, diyabetin vasküler komplikasyonlarının ortaya çıkışında önemli bir rol oynar (Rehman ve Akash, 2017). Sorbitol birikimi sonucunda, miyoinositol ve taurin gibi osmolitlerin seviyeleri azalabilir. Osmolitler, hücre içi osmotik dengeyi koruyan maddelerdir. Bu dengeyi etkileyen bir değişiklik, hücrelerde ödem oluşumuna neden olabilir. Özellikle Schwann hücrelerinde, taurin seviyelerinin azalması, diyabetik nöropati gibi durumlarla ilişkilendirilen sinir disfonksiyonuna katkıda bulunabilir. Schwann hücreleri, periferik sinirlerde miyelin kılıfını oluşturan ve sinir iletişimini destekleyen hücrelerdir. Bu nedenle, taurin seviyelerinin azalması Schwann hücrelerinin fonksiyonlarını bozabilir ve diyabetik nöropatinin gelişimine katkıda bulunabilir (Macit ve Akbulut, 2015).

Advanced (gelişmiş) glikasyon son ürünlerinin (AGEs) oluşumunun artması: AGEs, indirgeyici şekerlerin karbonil grupları ve lipoproteinler, proteinler ve/veya nükleik asitlerde bulunan azotlu gruplar arasında nonenzimatik glikasyon sonucu oluşan heterojen bileşiklerdir. Bu glikasyon reaksiyonları, genellikle yüksek glikoz seviyelerine maruz kalan hücrelerde gerçekleşir. Glikasyona uğramış proteinler, moleküler oksijene bir elektron transfer ederek serbest oksijen radikali oluşumuna neden olabilirler (Rains ve Jain, 2011). AGEs'in oluşumu, enzimatik ve non-enzimatik mekanizmalar aracılığıyla gerçekleşir. Enzimatik olarak, gliseraldehit-3-fosfat gibi glikolitik ara ürünlerden türetilen metilglükoksal gibi bileşikler, proteinlerin belirli amino asit kalıntılarıyla (sistein, lizin, arjinin gibi) reaksiyona girerek AGE'leri oluşturabilirler. Bu reaksiyonlar çeşitli enzimler aracılığıyla katalizlenebilir. Non enzimatik olarak, glikozun proteinlerin lizin kalıntılarına doğrudan bağlanmasıyla Schiff bazı oluşturulur (Giacco ve Brownlee, 2010). Schiff Bazı, sonrasında daha stabil olan “Amadori Ürünleri” oluşur ve daha sonra AGE'ler meydana gelir. AGE'lerin birikimi çeşitli sağlık sorunlarına yol açabilir, özellikle de damar sağlığı üzerinde olumsuz etkileri vardır ve oksidatif stresin artmasına neden olabilirler.

Glikozun oto-oksidasyonu: Sağlıklı hücrelerde glikozun metabolizması genellikle glikoliz yoluyla başlar ve son ürün olan pirüvat, mitokondri içinde Krebs döngüsüne katılır. Krebs döngüsünde, pirüvat ve diğer metabolik bileşiklerin oksidasyonu, NADH ve FADH₂ gibi yüksek enerjili elektron taşıyıcılarının üretilmesine yol açar. Bu elektron taşıyıcıları, oksijenle reaksiyona girerek hücrede ATP sentezi için gerekli olan proton konsantrasyonunu artırır. Bu esnada oluşan süperoksit anyonları antioksidan savunma sistemi tarafından etkisiz hale getirilmektedir (Makino vd., 2010). Hiperglisemi durumunda, NADH/NAD oranı artar ve bu durum süperoksit radikalinin artmasıyla sonuçlanır. Mitokondri kaynaklı aşırı süperoksit üretiminin, NF-κB aracılı sitokrin üretimini, protein kinaz C (PKC) ve NADPH oksidaz aracılığıyla ROT ve RNT üretimini uyarak DM'de oksidatif stresi başlattığı düşünülmektedir (Johansen vd., 2005).

Artmış protein kinaz C aktivasyonu: Protein kinaz C (PKC), memeli dokularında geniş olarak dağılmış olan ve en az 11 izoformdan oluşan bir enzim ailesidir. PKC izoformları, hücre sinyal iletiminde önemli rol oynayan bir grup enzimdir. PKC izoformları, AGE'ler ve onların hücre yüzeyindeki reseptörleriyle etkileşime girebilirler (Giacco ve Brownlee, 2010). Bu etkileşim, hücrel sinyal iletiminde ve gen ekspresyonunda değişikliklere neden olabilir. Özellikle, PKC'nin bu etkileşimi, hücrel inflamasyon, oksidatif stres ve diğer patolojik süreçlerde rol oynayabilir. Hiperglisemi durumunda, hücre içindeki NADH/NAD oranının artmasına bağlı olarak diaçilgliserol sentezini artırarak protein kinaz C aktivasyonuna neden olabilir. Bu da diyabetik damar patolojilerinin gelişiminde önemli bir rol oynar. Hiperglisemi kaynaklı PKC aktivasyonu, NF-κB aktivasyonunu etkileyerek endotel hücrelerde ROS oluşumuna neden olabilir. Bu mekanizma, diyabetik vasküler komplikasyonların patofizyolojisinde önemli bir rol oynar ve hücrel hasara katkıda bulunabilir (Geraldine ve King, 2010).

Heksozamin yolağı: Hücrelerde amino şekerlerin sentezlendiği önemli bir metabolik yoldur. Bu yolağ, glikozamin ve galaktozamin gibi amino şekerlerin sentezi için gereklidir ve hücrelerin çeşitli biyolojik süreçlerinde rol oynar. Normoglisemik bireylerde, glikoliz basamağında oluşan fruktoz-6-fosfatın sadece az bir kısmı heksozamin yolağında metabolize olur. Heksozamin yolağı, glikozaminoglikanlarının sentezinde ve hücrel sinyalleşme yollarında önemli bir

rol oynar. Glikozamin-fruktoz amidotransferaz (GFAT) enzimi, heksozamin yolağının başlangıç noktasındaki anahtar enzimlerden biridir. Normoglisemik koşullarda, GFAT enzim aktivitesi genellikle düşük veya normal seviyededir. Çünkü heksozamin yolağının metabolik gereksinimleri normal seviyededir. Ancak, hiperglisemik koşullarda, artan miktarda glikoz mevcuttur ve bu durum glikoliz yolu aracılığıyla fruktoz-6-fosfat birikimine neden olabilir. Fruktoz-6-fosfat, GFAT enzim aktivitesini uyarır. Bu uyarım sonucunda GFAT enzimi daha fazla glikozaminoglukan sentezlemek için daha fazla glikozamin-fruktoz amidotransferaz aktivitesi gösterebilir. GFAT enziminin aktivitesindeki artış, fruktoz-6-fosfatın UDP-GlcNAc'a (üridin difosfat N-asetilglukozamin) dönüşümünü artırır. UDP-GlcNAc, heksozamin yolağında önemli bir ara üründür ve hücrelerde çeşitli biyolojik süreçlerde kullanılır. UDP-GlcNAc'ın artması, O-Glukozamin-N-Asetil transferaz enziminin (OGT) aktive olmasına neden olabilir. OGT enzimi, proteinlerin O-glikozilasyonunda rol oynar. O-Glikozilasyon, proteinlerin glukozamin (GlcNAc) birimlerinin eklenmesini içeren bir post-translasyonel modifikasyon sürecidir. Heksozamin yolağındaki bu değişiklikler özellikle diyabetik nefropati ile ilişkilendirilir. Diyabetik nefropati, diyabetik böbrek hastalığı olarak bilinir ve diyabetin en sık görülen komplikasyonlarından biridir. (Giacco ve Brownlee, 2010).

2.20 Adipoz Doku ve Adipositler

Adipoz (yağ) doku, vücuttaki dağılımı cinsiyete göre farklılık gösteren, endokrin ve metabolik fonksiyonlara sahip son derece aktif bir dokudur. Adipoz doku hem enerjinin depolandığı bir doku hem de besinle ilgili, hormonal ve nöronal sinyallere yanıt oluşturarak; bağışıklık sistemi, termogenez, beslenme ve nöroendokrin fonksiyonları kontrol ederek enerji homeostazında önemli bir rol oynar (Cesur ve Gökçimen, 2012).

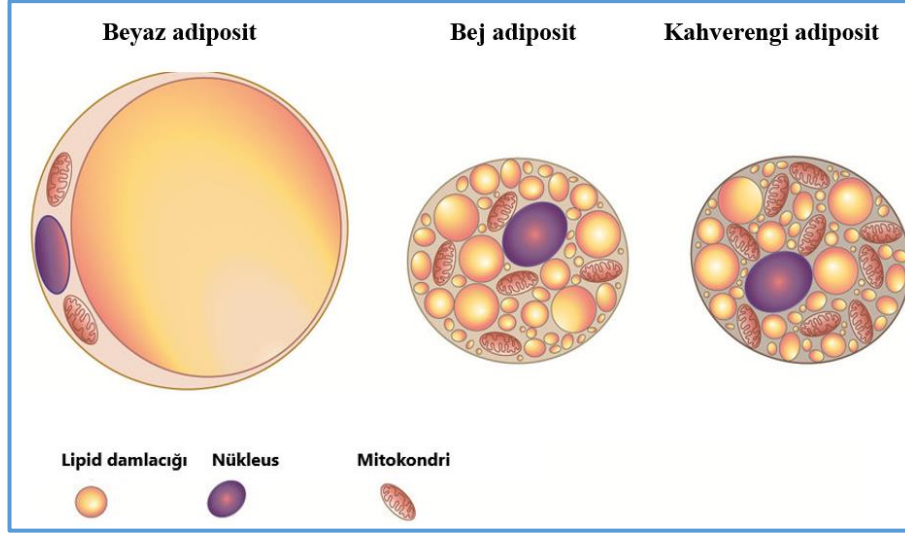
İnsan vücudu, 3 ayrı bölgede farklı işlevlere sahip yağ depoları bulundurur. Abdominal içi yağ deposu (visseral yağ); karın boşluğu içindeki iç organların etrafında bulunur. Bu yağ depoları, karaciğer, bağırsaklar, böbrekler gibi iç organların çevresini sarar. Visseral yağ, özellikle Tip 2 DM, metabolik sendrom ve kardiyovasküler hastalıklar gibi sağlık sorunları ile ilişkilendirilmiştir (Harvey vd., 2020). Üst vücut/abdominal deri altı yağ deposu; karın bölgesinin deri altında bulunur ve genellikle göbek çevresi gibi bölgelerde birikir. Bu depo, tipik olarak

“göbek yağı” olarak adlandırılır ve obeziteye bağlı sağlık sorunları riskini artırabilir. Alt vücut deri altı yağ deposu; kalça, uyluklar ve alt karın bölgesi gibi alt vücut bölgelerinde bulunur. Bu bölgedeki yağ depoları, genellikle cinsiyete bağlı olarak farklılık gösterir ve kadınlarda daha belirgin olabilir (Rosenwald vd., 2013).

Adipoz doku, vücutta yaygın olarak bulunan ve yağ depolamak için özelleşmiş bir doku türüdür. Farklı hücre tiplerini içerdiği için heterojen bir yapıya sahiptir. Adipoz doku temel olarak; adiposit, kondrosit, osteoblast veya miyositlere dönüşebilme kapasitesinde olan preadipositler, fibroblastlar, immün hücreler (monositler, lökositler ve makrofajlar), kollajen lifleri ve kan damarlarının oluşturduğu bir matriks tarafından desteklenen gevşek bağ dokusudur (Ahima ve Flier, 2000).

Adipoz dokunun metabolizma fazlası enerjiyi, trigliserid formunda depolayarak vücutta enerji rezervi sağlar. İhtiyaç durumunda depo trigliseridler yağ asitlerine ve gliserole parçalanarak kan dolaşımına verilir. Bu süreç, enerji gereksinimlerini karşılamak için önemlidir. Bu nedenle adiposit hücreleri enerji depolamaya ve salgılamaya uyum sağlamıştır (Harvey vd., 2020). Adipozitler çok çeşitli endokrin fonksiyonlar da üstlenmektedirler. Genel olarak lipid ve glikoz metabolizmasında, lipidlerin depolanması, serbest yağ asitlerinin salınması ve glikozun insülin duyarlılığı üzerindeki etkileri gibi süreçleri düzenlerler. Sitokinlerin salınımı yoluyla immün fonksiyonları etkileyebilirler. Ayrıca vücudun genel homeostazisini koruma, anjiogenez, kan basıncının kontrolü, üreme fonksiyonu gibi çeşitli endokrin fonksiyonlara sahiptir. Bu endokrin fonksiyonlar, adipozitlerin sadece enerji depolama organları olmadığını, aynı zamanda metabolizmanın düzenlenmesi ve vücut fonksiyonlarının kontrolünde kritik bir rol oynadıklarını göstermektedir (Rosenwald vd., 2013).

Memelilerde, vücuttaki dağılımlarına, kaynağına ve homeostatik görevlerine göre farklılıklar gösteren beyaz adipoz doku, kahverengi adipoz doku ve bej adipoz doku olmak üzere üç ana adipoz doku bulunmaktadır (Şekil 2.20.) (Castro vd., 2014).



Şekil 2.20. Kahverengi, beyaz ve bej adipoz dokular (Rui, 2017).

2.20.1 Beyaz adipoz doku

Beyaz adipoz doku, sağlıklı bir yetişkinde vücut ağırlığının yaklaşık olarak %10-20'sini oluşturur. Vücudun çeşitli bölgelerinde bulunabilir ancak çoğunlukla subkutan (deri altı) ve visseral (karın boşluğu etrafındaki organlar) bölgelerde yoğunlaşmıştır (Chen vd., 2017). Beyaz adipositler, depoladığı yağın boyutuna göre değişen büyüklükte olan küresel hücrelerdir. Bu hücreler genellikle büyük, tek bir lipid damlacığı ile doludur ve hücrenin hacminin büyük bir kısmını (%90'ına kadar) kaplayabilir. Bu tek büyük lipid damlacığı, çoğu zaman hücrenin çekirdeğini ve diğer organellerini bir kenara itmeye neden olur (Romacho vd., 2014). Beyaz adipositlerin bu yapısal özelliği, enerji depolama için optimize edilmiştir. Bir hücredeki tek büyük lipid damlacığı, yağ depolamanın verimli bir yoludur ve hücrenin enerji depolama kapasitesini artırır. Bu yapısal özellik, beyaz adipoz dokunun ana fonksiyonu olan enerji depolama ve serbest bırakma süreçlerini destekler. Ayrıca beyaz adipositlerin mitokondri miktarı genellikle düşüktür. Bu nedenle, beyaz adipositler, kahverengi adipositlere kıyasla daha az metabolik olarak aktiftirler. Bununla birlikte, beyaz adipositlerin endokrin fonksiyonları da önemlidir ve vücut metabolizmasının düzenlenmesine katkıda bulunabilirler (Saely vd., 2012).

Beyaz adipoz doku, insülin ve glukagon gibi hormonlara cevap vererek lipogenezis ve lipoliz gibi süreçleri düzenler. İnsülin, kandaki glikoz seviyelerini düşürmek için hücrelerin glikoz alımını artırır ve lipogenezisi teşvik eder. İnsülinin etkisiyle lipogenezis sürecini başlatarak, hücreye giren glikozu trigliseritlere dönüştürerek

lipid depolamasını artırır. Böylece beyaz adipoz doku enerjiyi depolamak için kullanılan bir mekanizma olan lipogenezise yardımcı olur (Chen vd., 2017). Enerji yetersizliği durumunda, glukagon seviyeleri artar ve bu da lipoliz sürecini başlatır. Beyaz adipoz doku, lipoliz aracılığıyla trigliseridlerin parçalanmasını ve serbest yağ asitlerinin salınmasını sağlar. Serbest yağ asitleri daha sonra dolaşım sistemi aracılığıyla diğer dokulara taşınarak enerji üretiminde kullanılır. Bu süreçler, beyaz adipoz dokunun enerji depolama ve serbest bırakma süreçlerini düzenlemesine yardımcı olur ve vücuttaki enerji homeostazını korumaya yöneliktir. Bu mekanizmalar, vücuttaki enerji ihtiyaçlarını ve dengesini kontrol etmek için karmaşık bir şekilde düzenlenir (Romacho vd., 2014). Hormonal etkileşimler, uzun süreli soğuk maruziyeti ve egzersiz gibi çevresel faktörler beyaz yağ dokusundan kahverengi adipositlerin gelişimini tetikleyebilir. (Mermer ve Acar, 2017). Beyaz adipoz dokunun az (lipodistrofi) veya çok sayıda (obezite) olması, çeşitli metabolik disfonksiyonlara yol açabilir. Bu metabolik bozukluklar (örn., hiperlipidemi, hipertansiyon, hiperglisemi, diyabet, artmış karsinogenez, karaciğer hastalığı vb.) beyaz adipoz dokunun sistemik metabolizmayı düzenleyen önemli bir rolü olduğunu gösterir (Saely vd., 2012).

2.20.2 Kahverengi adipoz doku

Kahverengi adipoz doku, termojenez adı verilen bir süreçle vücut ısını artırmak için özelleşmiş bir yağ dokusudur. İsmi içerdiği mitokondrilerde bulunan yüksek miktarda demir içeren sitokromlar nedeniyle kahverengi renkten alır. Bu demir içeren sitokromlar, hücrenin oksijen tüketimini artırarak enerjinin ısıya dönüştürülmesini sağlar. Yenidoğanlarda vücut ağırlığının %2-3'ü kadar bulunabilir. Ancak, yaş ilerledikçe, vücut ısısının düzenlenmesi için ihtiyaç duyulan kahverengi adipoz doku, beyaz adipoz dokunun yerini alarak azalır veya azalma eğilimi gösterir (Cypess vd., 2009). Beyaz adipositlerin aksine, kahverengi adipositlerin histolojik görünümü farklıdır ve multiloküler yapıya sahiptir. Bu, kahverengi adipositlerin içerdiği birçok küçük lipid damlacığı vardır ve mitokondri sayısı oldukça yüksektir. Bu mitokondriler, içerdikleri UCP1 (Üçlü bağlayıcı protein 1) ile termojenez sürecini gerçekleştirirler. UCP1, mitokondri zarında yer alır ve oksidatif fosforilasyonun bir parçası olarak proton akışını değiştirerek ATP üretimini azaltır ve bu enerjinin ısı üretimine yönlendirilmesini sağlar. Bu sayede, kahverengi adipoz

dokusu, vücut ısısının korunması için gereken enerjiyi üretme kapasitesine sahiptir (Cannon ve Nedergaard, 2004). Kahverengi adipoz doku, ihtiyaç duyduğu oksijen ve besin maddelerinin sağlanması için yoğun bir kapiller ağına sahiptir. Ayrıca, bu yoğun vaskülarizasyon, vücut ısısının dengesini korumak için termogenezinin etkin bir şekilde gerçekleşmesine yardımcı olur. Kan damarları, dokudaki ısı transferini artırarak vücut ısısının düzenlenmesine katkıda bulunur (Berköz ve Yalın, 2008).

2.20.3 Bej adipoz doku

Soğuğa maruz kalmaya yanıt olarak, beyaz adipoz dokuda “esmerleşme” olarak adlandırılan bir işlemle kahverengi benzeri bir fenotip oluşmaktadır. Bu süreçte, yağ hücreleri daha fazla mitokondri ve multiloküler lipid damlacıklarına UCP-1 eksprese eden kahverengi benzeri adipositler ortaya çıkmaktadır (Chen vd., 2017). Bej adipoz doku, vücut ısısını korumak için önemli bir rol oynar ve soğuk ortamlara maruz kalındığında aktive olur. Ayrıca, egzersiz ve diyet değişiklikleri gibi çeşitli faktörler bej adipoz dokusunun aktivitesini artırabilir (Saely vd., 2012).

Bej adipoz doku, obezite ve metabolik sendrom gibi durumlarla ilişkilendirilen beyaz adipoz dokusuna kıyasla daha metabolik olarak aktif olması nedeniyle, araştırmacılar tarafından potansiyel bir terapötik hedef olarak incelenmektedir. Bej adipoz dokunun aktivitesinin artırılması veya beyaz adipoz dokusunun bej adipoz dokusuna dönüştürülmesi, obezite ve metabolik hastalıkların tedavisine yönelik potansiyel stratejiler arasında yer almaktadır (Rosenwald vd., 2013).

2.21 Adipokinler

Adipoz dokunun sadece bir enerji deposu değil sistemik metabolizmayı düzenleyen endokrin bir organ olduğu 1994 yılında leptin keşfinden sonra anlaşılmıştır. Büyük bir endokrin fonksiyonuna sahip olan adipoz doku; kemokinler, sitokinler ve hormonlar dahil olmak üzere birçok adipokin salgılar. Adipoz dokudan salgılanan bu adipokinler bir çeşit hücrelere sinyal ileten proteinlerdir. Bu proteinler, otokrin (hücre içinde), parakrin (yakındaki hücrelere) ve endokrin (uzak hücrelere, genellikle kan dolaşımı aracılığıyla) etkiler sergileyebilirler. Günümüzde, adipoz dokudan yaklaşık 600 civarı adipokin salgılandığı tahmin edilmektedir. Bu adipokinler, enerji dengesini, insülin duyarlılığını, inflamasyonu, kan basıncını, lipid metabolizmasını ve

diğer metabolik süreçleri düzenlemekte önemli rol oynarlar. Adipokinler genellikle adipoz dokudan salınır, ancak dolaşımdaki adipokinlerin tamamı adipoz dokudan kaynaklanmaz. Adipokinlerin yanı sıra, birçok doku ve hücre tipleri, özellikle karaciğer, adrenal korteks, iskelet kası, beyin ve sempatik sinir sistemi gibi organlar, adipokinlerin etkileşimine ve düzenlenmesine katkıda bulunur (Berköz ve Yalın, 2008). Genellikle, yağ kütlesindeki artışla birlikte adipokinlerin düzeyleri artar. Bu durum, özellikle obezite gibi durumlarda gözlemlenir. Adipokinlerin salınımı, genellikle adipoz dokudaki lipid depolama miktarı ile ilişkilidir. Daha fazla yağ depolama, genellikle daha yüksek adipokin üretimine ve salınımına yol açar. İnsanlarda gözlenen adipokin salınım örüntüsünün kemirgenlerdekine çoğunlukla benzer olduğu belirtilmektedir (Chusyd, 2016).

2.21.1 Chemerin

Chemerin; adipoz dokudan salınan adipokinler arasında son keşfedilenlerdendir. 2007 yılında yayınlanan bir çalışmada insan ve fare adipositlerinin yüksek seviyelerde chemerin ve chemerin reseptörü 1 (CMKLR1) eksprese ettiği ve bu sinyal yolunun adipogenezi ve adiposit metabolizmasını düzenlediği bildirilmiştir (Goralski vd., 2007).

Chemerin, ilk olarak pre-prochemerin olarak sentezlenir. Pre-prochemerin, etkin olmayan bir formdur ve 163 amino asitten oluşan bir polipeptit zinciridir. Sentezlenen pre-prochemerin, endoplazmik retikulumda N-terminal kısmındaki sinyal peptidi kesilerek prochemerine dönüşür. Prochemerin, etkin olmayan bir formdur ve biyolojik aktivitesini göstermez. Daha sonra ise hücre dışı çeşitli proteazların etkisi ile prochemerinin C-terminal ucunun bölünmesi ile 16 kDa'lık aktif chemerin oluşur (Wittamer vd., 2005). Yapılan çalışmalarda chemerinin obez bireylerde aktif formda olduğunu, zayıf bireylerde ise genellikle inaktif formda olduğunu göstermektedir Bu durum, chemerin biyoaktif formunun, inflamasyon ve yağlanma gibi metabolik bozuklukları başlatıcı bir özelliği olabileceğini düşündürmektedir (Goralski vd., 2007). Chemerin sinyalinin yağ dokusunun hem üretim yeri hem de hedefi olduğunu düşünülmektedir. Chemerin bu çift yönlü etkisi ile vücuttaki enerji dengesi, inflamasyon, insülin duyarlılığı ve diğer metabolik süreçlerin düzenlenmesinde önemli bir rol oynamaktadır (Booth vd., 2015).

Chemerin'in bilinen üç reseptörü vardır. ChemR23 veya diğer adıyla CMKLR1 (Chemokine-like receptor 1), chemerin'in en iyi karakterize edilmiş reseptörüdür. ChemR23, chemerin ile yüksek afiniteli bir etkileşime girer. Bu reseptör, bağışıklık sistemi hücrelerinde (örneğin, makrofajlar, dendritik hücreler) ve diğer hücre tiplerinde bulunur (Goralski vd., 2007). ChemR23, chemerin'in antiinflamatuvar etkilerini ve immün regülasyonunu kontrol edebilir. İkincisi, CCRL2, chemerin ile etkileşime giren diğer bir reseptördür. Ancak, ChemR23 gibi bir G-protein bağlayıcı reseptör değildir ve chemerin sinyallemesine katkıda bulunmaz. CCRL2, chemerin'in bağlanması ve depolanması için bir taşıyıcı reseptör olarak işlev görebilir. Üçüncü chemerin reseptörü olan GPR1 (G protein-coupled receptor 1), chemerin ile etkileşime girerek sinyallemeyi başlatır (Wittamer vd., 2003).

Kan dolaşımındaki chemerin kaynağı hala tam olarak saptanmamıştır. Ancak, yapılan araştırmalar, en yüksek chemerin ekspresyonunun adipoz dokuda, karaciğerde ve böbrekte olduğunu göstermektedir. Chemerin, plazma ve serumdaki konsantrasyonu sırasıyla insanlarda 3,0-4,4 nM, farelerde ise 0,6-0,5 nM'dir. Bu değerler, chemerin konsantrasyonunun türler arasında ve dokularda değişebileceğini göstermektedir (Goralski vd., 2007).

Chemerinin hem parakrin hem de otokrin etkileri bilinmektedir. Chemerinin parakrin yanıtı; obezite ile ilişkili kronik düşük dereceli inflamasyon boyunca aktif olmasıdır. Otokrin yanıtı; lipoliz, glikoz alımı ve lipostatik sinyalizasyonu düzenleyen metabolik yollarla bağlantılıdır (Goralski vd., 2007). Son çalışmalarda chemerin ve reseptörlerinin cilt ve yağ dokusunda anjiogenezis, adipogenez, osteoklastogenesis ve inflamasyon süreçlerinde rol oynadığını gösterilmiştir. Ancak chemerinin adiposit gelişimini ve adipogenezini etkilediği moleküler mekanizma ve sinyal yolları tam olarak bilinmemektedir (Booth vd., 2015).

2.21.2 Omentin

Omentin-1 (intelektin), 2003 yılında Yang ve arkadaşları tarafından visseral omental yağ dokusundaki bir cDNA kütüphanesinden tanımlanan bir adipokindir. Toplam 313 aminoasitten oluşan omentinin , amino terminal kısmı, yani ilk 296 aminoasitlik kısmın moleküler ağırlığı 33 kDa'dır (Yang vd., 2003). Omentin, visseral yağ dokusunda özellikle de omental yağ dokusunda ifade edilen bir protein olup insülin

duyarlılığı, inflamasyon ve metabolik homeostaz üzerindeki potansiyel etkileri nedeniyle araştırmacıların ilgisini çekmiştir. Omentin, omentin-1 ve omentin-2 olmak üzere iki izoforma sahiptir. Ancak, yapılan araştırmalar, dolaşımdaki en önemli omentin izoformunun omentin-1 olduğunu göstermektedir. Omentin-1'in antiinflamatuvar, antioksidan ve antiapoptotik rollerinin olduğu gösterilmiştir (Yang vd., 2006).

Omentin'in ilk olarak intestinal paneth hücrelerinden izole edildiği ve daha sonra çeşitli dokularda da ifade edildiği bildirilmiştir. Omentin en fazla visseral adipoz dokuda daha az oranda da kalp, akciğer, over, plasenta, endotel ve kas dokusunda salgılanmaktadır (Schaffler vd., 2005). Umbilikal kord kanında yüksek omentin seviyelerinin saptanması omentinin fetal büyümeyi uyarıcı etkisinin olabileceğini düşündürmektedir. Omentin-1'in intestinal paneth hücreleri ve endotel hücrelerinde bulunması, doğal immün sistemle ilişkilendirilmiştir. Paneth hücreleri, bağırsakta bulunan ve antimikrobiyal peptitler gibi savunma mekanizmalarını üreten hücrelerdir. Bu nedenle, omentin-1'in paneth hücrelerinde bulunması, bağırsak mukozasının doğal savunma sistemine katkıda bulunabileceğini düşündürmektedir. Ayrıca, omentin-1'in C-reaktif protein (CRP) düzeylerini düşürdüğü gözlemlenmiştir. CRP, vücutta inflamasyonun bir göstergesi olarak bilinir ve yüksek seviyeleri, inflamasyon ve enfeksiyon durumlarının bir işareti olabilir. Dolayısıyla, omentin-1'in CRP düzeylerini düşürmesi, antiinflamatuvar etkileri olduğunu düşündürmektedir. Bu da omentin-1'in inflamasyonu düzenlemede potansiyel bir rol oynayabileceğini göstermektedir (Yang vd., 2006).

Omentinin biyolojik fonksiyonları henüz tam olarak bilinmese de yapılan çalışmalarda omentin seviyelerinin obezite ile negatif korelasyon gösterdiği bildirilmiştir. Dolaşımdaki Omentin-1 düzeylerinin obez kişilerde azaldığı ve BKİ, bel çevresi ve dolaşımdaki leptin gibi obezite belirteçleri ile negatif ilişkili olduğu rapor edilmiştir (Rathwa vd., 2019).

Omentin-1, enerji homeostazını çeşitli mekanizmalarla etkileyen bir protein olarak bilinir. Çeşitli çalışmalarda omentin-1'in insülin duyarlılığını artırıcı etkilerini vurgulamaktadır (Yang vd., 2006). Omentin, insülin sinyal iletimini sağlar ve insülinle uyarılan glikoz transportunu kolaylaştırır. İn vitro çalışmalarda rekombinat omentin-1'in visseral ve subkutan yağ doku hücrelerinde insülin ile uyarılan glikoz

transportunu Akt/protein kinaz B (PKB)'yi aktive ederek arttırdığı gösterilmiştir. Akt yolağının hücre dışı sinyallere tepki olarak hayatta kalmayı ve büyümeyi artıran bir sinyal iletim yolu olduğu bilinmektedir. Söz konusu yolağın regülasyonunun işlevsizliği Tip 2 DM'ye yol açabilecek sinyal aktivitesinin artmasıyla sonuçlanır (Schaffler vd., 2005).

2.21.3 Nesfatin-1

İlk olarak 2006 yılında Japon bilim adamları Oh-I ve Shimizu tarafından tanımlanan Nesfatin-1, 9,7 kDa ağırlığında 82 amino asitten oluşan anoreksijenik (iştahı azaltıcı) bir peptittir (Oh vd., 2006). Beyinde hipotalamusun iştah ve metabolizma üzerinde etkili bölgesinde salgılanan nesfatin-1, beslenme davranışının düzenlenmesinde önemli görevi olan bir moleküldür. Tokluk peptidi olarak bilinen nesfatin-1, öncül nükleobindin 2'den (NUKB2) köken alır. İlk olarak hipotalamik çekirdeklerde keşfedilen nesfatin molekülü, nesfatin-1, nesfatin-2 ve nesfatin-3 olmak üzere üç farklı forma sahiptir. Ancak, şimdiye kadar yapılan çalışmalarda yalnızca nesfatin-1'in fizyolojik etkinliği ortaya konmuştur (Aydın, 2013).

Nesfatin-1, hipotalamik iştah kontrol bölgelerinde ve periferik dokular, merkezi ve periferik sinir sistemi tarafından salgılanan bir peptittir. Nesfatin-1, kan-beyin bariyerini her iki yönde geçebilir. Periferik nesfatin-1'in merkezi sinir sistemine geçebileceği ve burada iştahı düzenleyebileceği düşünülmektedir (Ayada vd., 2015). Nesfatin-1'in merkezi sinir sisteminin dışında, bağırsak mukozasında, midede ve adipoz dokularda bulunduğu ortaya konmuştur. Nesfatin-1'in hipotalamusta melanokortin sinyal yolu ile gıda alımını baskılamaktadır (Shimizu vd., 2009).

Yapılan son çalışmalarda glikoz homeostazında nesfatin-1'in antihiperglisemik etkileri ortaya konulmuştur. Nesfatin-1 iskelet kası, yağ dokusu ve karaciğerde AKT (protein kinaz B) fosforilasyonunu ve GLUT4 membran translokasyonunu değiştirerek insülin salınımını ve insülin duyarlılığını artıran mekanizmalarla kan-glikoz seviyesini düşürmektedir (Li vd., 2013). Nesfatin-1'in anti-hiperglisemik etkileri sadece endokrin fonksiyonlarla sınırlı olmayıp karaciğerdeki glikoz metabolizmasını doğrudan etkileyerek anti-hiperglisemik etkiler gösterdiği öne sürülmektedir (Su vd., 2010).

2.21.4 Çinko $\alpha 2$ glikoprotein (Zn- $\alpha 2$ -glikoprotein, ZAG)

İlk kez insan plazmasından üretilen ZAG, daha sonra subkutan ve visseral adipositler dahil olmak üzere karaciğer, meme, akciğer ve prostat gibi farklı organlar tarafından sentezlendiği ve farklı metabolik etkiler gösterdiği keşfedilmiştir (Yang, vd., 2013). ZAG, 41 kDa ağırlığında ve 278 amino asit büyüklüğünde, siasilik asit, glukozamin, galaktoz, mannoz ve fukoz içeren çözünebilir tek zincirli bir glikoproteindir (Hassan vd., 2008). ZAG önce kanser kaşeksisi olan hastalarda yağ dokusu kaybı ile ilişkili lipid mobilize edici faktör olarak tanımlanmıştır (Hirai vd., 1998). Bir sonraki çalışmada ise kaşektik prostat kanseri hastalarında ZAG'ın plazma düzeyinin normal yaş ve cinsiyetteki insanlara göre 20 kat yüksek olduğu bildirilmiştir.

Son yıllarda obezite, insülin direnci ve diyabet üzerinde yapılan çalışmalarda ZAG giderek önem kazanmaktadır. Bu çalışmalarda ZAG'ın insülin direnci ve obezite üzerindeki negatif rolü ile adipoz doku metabolizması üzerine olan etkisi öne çıkmaktadır. ZAG, lipogenezi inhibe ederek ve ayrıca lipoliz ve lipid kullanımını uyarak obezite oluşumunu engellemektedir. ZAG, klasik cAMP yolu yoluyla hareket ederek beyaz yağ dokusunda lipolizi arttırmaktadır ve enerji kaynağı olarak daha fazla serbest yağ asidi sağlamaktadır (Banaszak vd., 2021).

2.22 Ketojenik Diyet

Ketojenik diyet (KD), açlık durumunu taklit etmek amacıyla; kalori kaynağının karbonhidratlar yerine ağırlıklı olarak yağlardan sağlanarak; yağ metabolizmasıyla keton cisimciği üretiminin indüklendiği, yüksek yağ, yeterli protein ve düşük karbonhidrattan oluşan bir diyet formudur (Pilla, 2018). 1921 yılında Mayo Klinik'ten Dr. Wilder, dirençli epilepsili çocuklarda bu diyeti kullandı ve başarı sağladı. Diğer taraftan 20. yüzyılın başlarında, özellikle insülinin keşfi öncesinde, diyabetin tedavi yaklaşımı önemli ölçüde farklıydı. İnsülinin keşfi 1921 yılında gerçekleştiği için, o zamana kadar diyabet tedavisinde sınırlı seçenekler vardı. Diyabet tedavisinde, özellikle Tip 1 DM yönetiminde, kan glikoz seviyesini düşük tutmak ve insülin duyarlılığını arttırmak için düşük karbonhidrat diyetleri tercih edilmekteydi (Westman vd., 2006). Ketojenik diyet, 1920'lerde ve 1930'larda epileptik nöbetler ve diyabet tedavisi için kullanılmasına rağmen insülinin 1922'de keşfi ve 1938'de bulunan fenitoin gibi güvenli antiepileptik ilaçların ortaya çıkması ile KD'nin klinik kullanımından uzaklaşıldı (Kuchkuntla vd., 2019).

KD'nin besin içeriği genellikle %80 yağ, %15 protein ve %5 karbonhidrattan oluşur. Yağın, karbonhidrat ve proteine oranı 2:1 ila 4:1 arasında değişebilir. KD'nin yüksek yağ içeriği, vücudun ketozise girmesini ve keton cisimciklerinin üretilmesini sağlar. Ancak, yüksek yağlı diyetlerin (özellikle 4:1 oranında) kusma, iştahsızlık, reflü, baş ağrısı, uykusuzluk, kabızlık, ishal gibi geçici yan etkilerin yanında; böbrek taşı oluşumu, düşük kemik mineral yoğunluğu ve kemik formasyonu ve çocuklarda boy uzamasının yavaşlaması gibi yan etkileri olabileceği düşünülmektedir (McDonald ve Cervenka, 2018). KD'nin yağ içeriğinin değiştirilmesiyle, özellikle doymuş yağların azaltılması ve çoklu doymamış yağların artırılması, karbonhidrat ve lipid metabolizması üzerindeki etkilerin iyileştirilmesi ve keton seviyelerinin daha iyi düzenlenmesi sağlanabilir (Fuehrlein vd., 2004). KD'nin uygulanabilirliğini artırmak amacıyla çeşitli modifiye edilmiş ve kolaylaştırılmış ketojenik diyet formları önerilmiştir. Bu modifiye edilmiş diyetler, KD'nin sıkı kısıtlamalarını hafifletmek ve kişilere daha fazla esneklik sağlamak için tasarlanmıştır.

Son yıllarda KD'nin kilo kontrolü ve beslenme ketozisini indükleyerek metabolik sendromun önlenmesindeki yararlı etkileri araştırılmaya başlanmıştır. Özellikle KD ile oluşan keton cisimciklerinin enerji kaynağı olarak kullanılmasının yanı sıra, sinyal molekülleri olarak da işlev görmesi sebebiyle Tip 2 DM, obezite epilepsi, diyabet, Parkinson, Alzheimer, polikistik over sendromu ve kanser gibi hastalıkların tedavisi üzerinde potansiyel etkileri araştırılmaktadır.

2.23 Keton Metabolizması

Keton cisimlerinin üretimi açlık, uzun süreli ağır egzersiz ve kontrolsüz diyabet gibi durumlarda artmaktadır. Keton cisimlerinin sentezi (ketogenez) ve yıkımı (ketoliz) birlikte keton metabolizmasını oluşturmaktadır. Bu biyokimyasal yollar sayesinde sınırlı karbonhidrat kaynaklarının mevcudiyetinde veya karbonhidratların etkili bir şekilde kullanılamadığı durumlarda enerjinin büyük bir kısmı yağlardan elde edilir. Yağ kaynaklı bu enerji beyin, kalp, böbrek korteksi ve iskelet kası gibi diğer organlar tarafından kullanılır. Örneğin, bir gecelik açlıktan sonra ketogenez ile oluşan keton cisimleri vücudun enerji ihtiyacının %2-6'sını karşılarken, 3 günlük bir açlıktan sonra enerji ihtiyacının %30-40'ını karşılar (Laffel, 1999).

Temel gıda bileşenlerinden olan ve beslenmede önemli role sahip olan yağlar, vücudun en konsantre enerji kaynağıdır. Çünkü yağlar, ağırlık ve hacim başına daha fazla enerji depolar ayrıca çözünürlüğü ve konformasyonun korunması için ilave su gerekmez. Şöyle ki insan vücudunda kaslarda bulunan glikojen ağırlık olarak 1/3 (glikoz/su) oranında suya bağlı olarak depolanır. Bu nedenle kas dokusuna göre daha az su bulunan yağ dokusu (adipoz doku) kalori açısından karbonhidratlara göre sekiz kat daha fazla kalori içerir (Youm vd., 2015). Bununla birlikte yapılarında karbonhidrat ve proteinlere kıyasla düşük sayıda oksijen atomuna karşılık yüksek sayıda karbon atomu içerdiği için yağlar, karbonhidrat ve proteinlerin birim ağırlığı başına iki katından daha fazla enerji (1 gr yağ 9 kcal, 1 gr karbonhidrat 4 kcal ve 1 gr protein 4 kcal) sağlar (Paoli vd., 2023).

2.23.1 Ketogenez

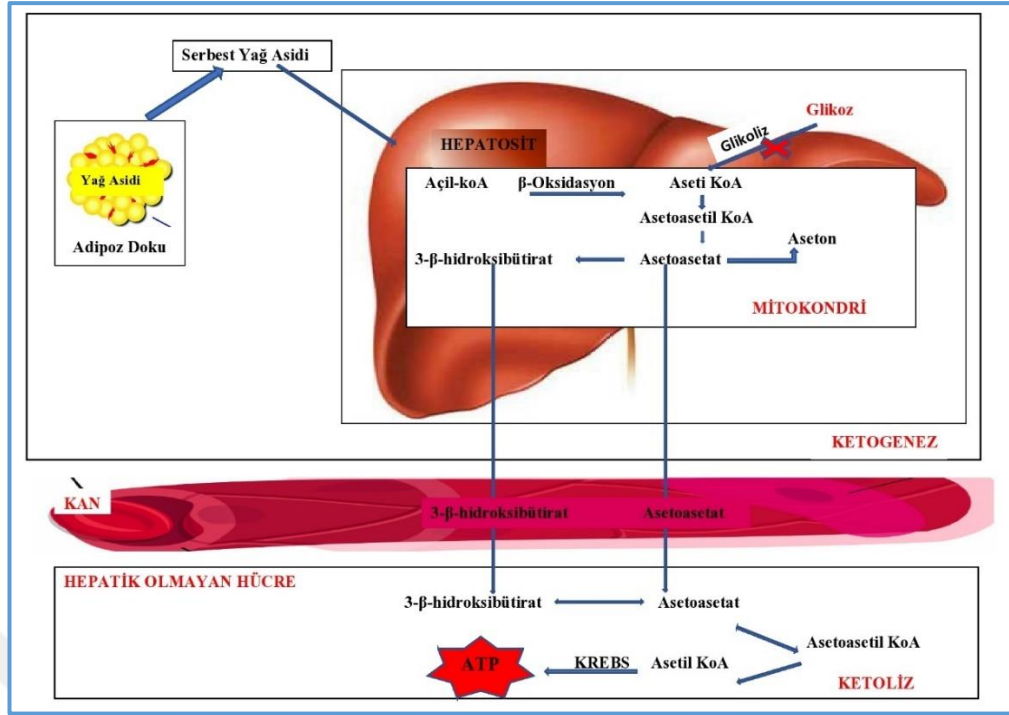
Metabolik faaliyetlerde karbonhidratlar birinci dereceden enerji verici olarak kullanılırlar. Özellikle beyin genellikle enerji kaynağı olarak glikozu kullanmaktadır. Uzamış açlık durumlarında (>3 gün) veya karbonhidrat alımı 50 gr/gün'den az olduğunda, insülin salınımı düşer ve katabolik süreç başlar (Patikorn vd., 2003). Bu aşamada glikojen depoları tükendiği için glikoneogenez ve ketogenez aktive olur (Westman vd., 2006). Protein yıkımını engellemek adına yağlar enerji ihtiyacı için kullanılmaya başlanır. Yağlardan enerji üretimi, adipoz dokularda depolanan trigliseritlerden, şilomikronlardaki diyet yağından veya diğer trigliserit açısından zengin lipoproteinlerden serbest yağ asitlerinin (SYA) salınmasını gerektirir. Yağ dokusunda depolanan trigliseritlerden SYA'lerinin mobilizasyonu epinefrin ve glukagon tarafından uyarılırken güçlü bir lipoliz inhibitörü olan insülin tarafından inhibe edilir. Dolaşıma salınan serbest yağ asitleri oksidatif fosforilasyon yolu ile sitrik asit döngüsüne girebilen asetil koenzim A (CoA) oluşturmak için karaciğerde β -oksidasyona uğrarlar.

Asetil-CoA, enerji metabolizmasında önemli bir ara üründür. Oluşan asetil-CoA'lar pirüvat dehidrogenazı inhibe eder, pirüvat karboksilazı aktive ederek oksalasetat oluşur. Bu aşamada glikoz seviyeleri çok düşerse ve yağ asidi oksidasyonu nedeniyle mitokondride artan NADH/NAD⁺ oranını dengelemek üzere, oksalasetat malata indirgenir. Malat, sitozole geçerek glikoneogenez yoluna sapar. Bu durumda sitrik asit döngüsü (ara ürünlerinin glikoneogenezde kullanılması nedeniyle)

yavaşlayacağından, asetil-CoA'lar birikmeye başlar. Sonuç olarak asetil-CoA'lar da keton cismi sentezine (ketogenez) yönelir. Çünkü krebs siklusuna kendisi ile birlikte katılacak oksalasetat kalmamıştır (Paoli vd., 2023).

Mitokondride üretilen asetil-CoA'lar krebs siklusunun kapasitesini aşmaya başladığında keton cisimleri sentezlenmeye başlar. Keton cismi biyosentezinde ilk basamak, tiyolazın katalizlediği bir reaksiyonla 2 molekül asetil CoA'nın enzimatik kondensasyonu ile asetoasetil-CoA oluşmasıdır. Oluşan asetoasetil-CoA, HMG-CoA sentaz tarafından bir molekül asetil-CoA ile kondense olarak β -hidroksi- β -metil glutaril-CoA (HMG-CoA) oluşturur. Bu adım, açlık, düşük insülin seviyeleri ve yüksek yağlı bir diyet tüketimi ile uyarılır (Laffel, 1999). Sonraki adımda HMG-CoA liyaz bu molekülü serbest asetoasetat ve asetil-CoA'ya ayırır. Asetoasetat karaciğerde ilk oluşan keton cismidir. Diğer bir keton cismi olan β -hidroksibutirat ise serbest asetoasetatın, mitokondriyal bir enzim olan β -hidroksibutirat dehidrojenaz etkisiyle indirgenmesi suretiyle oluşur. Asetoasetattan spontan olarak veya asetoasetat dekarboksilazın kataliziyle az miktarda uçucu özellikteki aseton oluşur. Aseton, normalde çok az miktarda oluşur ve uçucu olduğu için ekspirasyon vücuttan atılır, toksiktir havasının içinde ve enerji ihtiyacı için kullanılamaz. Asetoasetat, β -hidroksibutirat ve aseton yağ asitlerinin β -oksidasyonu ile meydana gelen keton cisimleridir. Karaciğer hücrelerinin mitokondri matriksinde açlık veya adrenerjik stres durumunda gerçekleşen bu olaya ketogenez denir (Şekil 2.21.) (Youm vd., 2015).

Glikoz eksikliği dönemlerinde, keton cisimleri glikoz kullanımının korunmasında ve proteolizi azaltmada önemli rol oynar. Lipitlere göre suda daha fazla çözünen keton cisimleri kan yolu ile taşınmaları için lipoprotein/albumin gibi taşıyıcılara ihtiyaç duymazlar. Ayrıca keton cisimleri böbrekte süzülür ve geri emilir (Thaele-Franz vd., 2023). Kalp, iskelet kası, bağırsak mukozası ve böbrek korteksi için mükemmel enerji molekülleridir. Diğer dokulardan farklı olarak beyin, kan glikoz seviyeleri tehlikeye girdiğinde enerji için yağ asitlerini kullanamaz. Ancak kan beyin bariyerini geçebilen keton cisimleri beyin için alternatif bir enerji kaynağı olarak kullanılır (Bough ve Rho, 2007). Bu durumda, keton cisimleri beyne, uzun süreli açlık dönemlerinde beynin enerji ihtiyacının yaklaşık 2/3'ü kadar alternatif bir enerji kaynağı sağlar (Laffel, 1999).



Şekil 2.21. Keton metabolizması.

Normal dengeli bir diyet, beynin ve diğer dokuların glikoz gereksinimlerini karşılamak için yeterli besin içeriğini sağlar. Bu koşullar altında karaciğer tarafından ketogenez ihmal edilebilir düzeydedir ve plazma keton konsantrasyonu genellikle 0,5 mM'den düşüktür ve sirkadiyen salınımlar sergiler. Bununla birlikte, 24 saatlik açlık veya uzun süreli egzersizden sonra sağlıklı bireylerin kanında çok az miktarda (yaklaşık 1 mM) keton cisimleri bulunur (fizyolojik ketoz). Fizyolojik ketozis durumunda böbrek eşiği aşılmadığı için keton cisimleri idrarda bulunmazlar (Puchalska ve Crawford, 2017). Beslenme ketozu, beslenme müdahalesi sonucu gelişmektedir.

Keton cisimlerinin artması ile görülen genel bozukluk tablosuna ketozis adı verilir. Keton cisimlerinin oluşum hızı, karaciğer dışı dokuların oksitleme kapasitesinin üzerinde ise keton cisimleri kanda birikir. Kanda keton cismi konsantrasyonunun artması ketonemi olarak adlandırılır. Kanda miktarı artan keton cisimlerinin idrara çıkmasına da ketonüri denir. Aseton hariç diğer keton cisimleri asit karakterde oldukları için kan pH'ını düşürür (ketoasidoz). Beslenme ketozu, ketoasidozdan farklı bir durumdur. Ketoasidoz, kontrolsüz diyabette keton cisimlerinin kan düzeyi 20 mM'ye kadar çıkması, düşük arteriyel pH değeri (7,30-7-20) ile patolojik bir

durumdur. Kan keton düzeyleri hem fizyolojik hem de patolojik koşulları kapsayan, açlık, egzersiz, diyabet durumlarında yükselir. İnsanlarda serum keton vücut seviyeleri, kısa süreli açlıktan (2-3 gün) sonra 1-4 mM'dır ve uzun süreli açlıkta (17-24 gün) 7-9 mM'ye yükselir. Farklı fizyolojik koşullarda plazmadaki keton cisimlerinin konsantrasyonları Çizelge 2.11'de verilmiştir (Paoli vd., 2023).

Çizelge 2.11. Farklı fizyolojik koşullarda insan plazmasındaki keton vücut düzeylerinin aralıkları.

Fizyolojik Durum	Plazmada β-Hidroksibütirat Konsantrasyonu (mmol/L)
Normal sirkadiyen varyasyon	0,1–0,4
Uzun süreli egzersizden sonra	0,3–2
1-2 günlük oruçtan sonra	1–2
2-3 haftalık oruçtan sonra	5–7
1-3 haftalık ketojenik diyetten sonra	0,5–5
Diyabetik ketoasidoz sırasında	3–25

2.23.2 Ketoliz

Keton cisimlerinin çeşitli hücre içi metabolik aktiviteleri beslemek için kullanılabilecek enerjiye dönüştürüldüğü süreçtir. Keton cisimleri karaciğerde olduğu halde tiyoforaz enzimi bulunmadığı için keton cisimlerini enerji kaynağı olarak kullanamayan tek organ karaciğerdir. Yine mitokondrileri olmadığı için eritrositler de keton cisimlerini kullanamazlar. Karaciğerde sentezlenen keton cisimleri doğrudan kana verilir ve karaciğer dışındaki dokular tarafından kandan alınarak (aseton hariç) enerji olarak kullanılırlar (Longo vd., 2019). Karaciğer tarafından de novo sentezlenen keton cisimleri büyük oranda ekstrahepatik dokuların mitokondrilerinde, enerji temini için krebs döngüsünde bulunan asetil-KoA'ya katabolize edilir. Daha az oranda ise lipogenez veya sterol sentez yollarına yönlendirilir veya idrarla vücut dışına atılır (Puchalska, 2017).

Kandaki keton cisimlerinin %75-80'ini β -hidroksibütirat, %20'sini asetoasetat, %2'sini aseton oluşturur. Karaciğer dışı dokular tarafından alınan β -hidroksibütirat, düşük NADH/NAD⁺ oranı nedeniyle enzimatik olarak tekrar asetoasetata oksitlenir. Oluşan asetoasetat, süksinil KoA-asetoasetat KoA transferaz kataliziyle süksinil-KoA'dan bir KoA alarak asetoasetil KoA'ya dönüşür. Sonraki adımda, asetoasetil KoA tiyolaz kataliziyle 2 molekül asetil-KoA'ya ayrılır. Oluşan bu asetil-KoA

molekülleri de krebs döngüsüne girerek enerji temininde kullanılır. Keton cisimleri, enerji açısından zengin bileşiklerdir. Şöyle ki "süper yakıt" olarak adlandırılan glikoza kıyasla daha fazla adenosin trifosfat (ATP) yani enerji üretir. Örneğin 100 gr asetoasetat 9400 gr ATP, 100 gr β -hidroksibutirat 10500 gram ATP üretirken 100 gr glikoz sadece 8700 gr ATP üretir. Böylece keton cisimleri vücudun kalori açığı sırasında bile verimli Yakıt Üretimini Sağlar (Youm vd., 2015).

2.23.3 Ketogenezin kontrolü

Keton cisimlerinin üretimi, hepatik yağ asidi β -oksidasyonu için mevcut olan serbest yağ asitlerinin miktarına bağlıdır. Bu nedenle adipositlerdeki lipoliz ilk kontrol noktasıdır. Bu yol, açlık sırasında β -adrenerjik stimülasyon tarafından aktive edilirken, insülin bu yolu inhibe eder (Longo vd., 2019). Ketogenez hızı, üç enzimin aktivitesine bağlıdır: periferik adipositlerden salınan hormona duyarlı lipaz, karaciğerde bulunan asetil-KoA karboksilaz ve HMG-KoA sentaz. Bu enzimlerin salınımı ketogenezi inhibe etme görevi gören dolaşımdaki insülin ve ketogenezi uyarma işlevi gören epinefrin ve glukagon tarafından mükemmel bir şekilde kontrol edilir (Patikorn vd., 2023). Örneğin insülin, hormona duyarlı lipazın fosforilasyonunu tetikleyerek ketogenezi inhibe eder ve asetil-KoA karboksilazı uyarak lipogenezi aktive eder. Glukagon ise cAMP'ye bağımlı protein kinaz tarafından hem lipaz hem de asetil-KoA karboksilazın fosforilasyonunu tetikleyerek ketogenezi uyarır. Adipositlerde, cAMP'ye bağımlı protein kinaz tarafından lipazın fosforilasyonu, yağ asitlerinin trigliseritlerden salınmasını uyarır. Özetle düşük bir glukagon/insülin oranı ketogenezi inhibe ederken, yüksek bir glukagon/insülin oranı, açlık veya diyabette olduğu gibi, adipositlerde lipolizi teşvik ederek ve karaciğerde serbest yağ asitlerinin β -oksidasyonunu uyarak ketogenezi destekler (Puchalska, 2017).

2.24 Ketojenik Diyetin Biyokimyası

KD, primer enerji kaynağı olan karbonhidratları ortadan kaldırarak vücudun açlığa verdiği tepkiyi taklit etmeye çalışır. Bu diyet vücut metabolizmasını glikoliz yerine keton cisimlerinin oksidasyonuna yönlendirerek metabolizmayı ketogeneze doğru kaydırır (Longo vd., 2019). KD, beslenme ketozisine neden olan çok düşük karbonhidrat (<50 g/gün veya <10 g/gün enerji alımı), yüksek yağ (toplam

enerjinin>%75'i) içeren diyet olarak tanımlanır. KD modelinin kilit yönü, karbonhidratların 50 gr/günlük'den daha az alımının sağlanmasıdır. Bunun için bu diyetle karbonhidrat içeriği yüksek besinler (tahıllar, nişastalı sebzeler, meyveler vb.) tamamen çıkartılır. Böylece glikozdan enerji alımı sınırlanarak vücut metabolizmasını glikoliz yerine keton cisimlerinin oksidasyonuna yönlendirerek metabolizmayı ketogeneze doğru kaydırır (Youm vd., 2015). Karbonhidrat tüketimi büyük ölçüde azaltıldığında vücut hem diyet trigliseritlerini hem de adipoz dokularda bulunan trigliseritleri lipoliz yoluyla parçalayarak keton cisimlerini elde eder. KD'deki üretilen keton cisimlerinin miktarı, beslenme veya fizyolojik ketozis olarak adlandırılan 0,5 ile 3 mM arasındadır (Puchalska, 2017). Vücut karbonhidratlardan mahrum kaldığı sürece, metabolizma ketotik durumda kalır. Keton cisimleri kan pH'ında herhangi bir değişiklik olmaksızın küçük konsantrasyonlarda üretildiğinden (1-5 mM), DM ile ilişkili yaşamı tehdit eden ketoasidozdan farklı olarak beslenme ketozisi oldukça güvenli kabul edilir (Paoli vd., 2023). Gelişim sırasında ve gün içerisinde çoğu zaman ketozise yaklaşıyoruz. Özellikle açlık sırasında vücudun metabolizması, açlığı bastırarak vücudun kalori alımının düzenleyicisi olarak görev yapan ketozise çevrilir. Ketozis ile ilgili bazı ilginç ve doğal gerçekler şunlardır; insan beyni doğum sonrası erken evrede keton cisimlerine ihtiyaç duyar. Kolostrumun yüksek yağ ve düşük laktoz içeriği nedeniyle yenidoğanların metabolizması hafif ketotiktir. Yeni doğan insan beyninin tükettiği enerjinin yaklaşık yarısı β -hidroksibutirattan gelir. Emzirmeden birkaç gün sonra laktoz içeriği artar ve ketozis kaybolur. Bununla birlikte kuşlar, göç için birincil metabolik yakıt olan yağları kullanırlar (Dashti vd., 2020). Ketozis veya ketoz durumunda kalabilmek için başlangıçta yaklaşık 25-50 gr/gün net karbonhidrat alımının yeterli olduğu düşünülmektedir. KD'ye alışma süreci tamamlandıktan sonra ise günlük 20 gr net karbonhidrat hedefi, bu diyet için yeterli görünmek ancak uygulamasının oldukça zor olduğu bilinmektedir (Drabińska vd., 2022). Son yıllarda KD'nin konforunu artırmak ve uygulanabilirliğini iyileştirmek için çeşitli modifiye edilmiş ve kolaylaştırılmış ketojenik diyet formları önerilmiştir. Bunlar, geleneksel ketojenik diyete kıyasla daha esneklik sağlayarak kişilere uygulamayı kolaylaştırmayı amaçlar. Bu modifiye edilmiş ketojenik diyet formları genellikle yağ içeriğini değiştirirken, doymuş yağların yerine daha az doymuş yağlar veya daha fazla çoklu doymamış yağlar gibi daha sağlıklı yağ kaynakları önerilmektedir.

2.25 Streptozotosin ve Nikotinamid (STZ+NAD) Kullanılarak Oluşturulan DeneySEL Tip 2 DM Modeli

Son yıllarda, insan tip 2 DM'ye birçok yönüyle benzer olan bir sıçan tip 2 DM modeli oluşturulmuştur (Chang vd., 2006). Bu modelde; 60-65 mg/kg streptozotosin (STZ) intraperitoneal veya intravenöz enjeksiyon uygulanmasından 15 dk önce 90-290 mg/kg aralığında Nikotinamid (NAD) intraperitoneal veya intravenöz enjeksiyonu uygulanmaktadır (Masiello vd., 1998).

NAD, vitamin B3'ün bir formu olup, vücutta nikotinamid adenin dinükleotid (NAD⁺) adlı önemli bir metabolitin öncülüğünü yapar. NAD, vücutta NAD⁺ sentezinin bir bileşeni olarak önemli bir rol oynar ve birçok biyolojik süreçte kritik fonksiyonlara sahiptir. Ayrıca NAD'nin anti-diyabetojenik özellikleri bilinmektedir ancak etki mekanizması tam olarak anlaşılamamıştır. Serbest radikalleri temizleme ve β -hücrelerindeki immün hasarı azaltma gibi etkilerle β -hücrelerde koruyucu etkiler gösterdiği bildirilmektedir (Roche vd., 2006). STZ ise β -hücrelerde serbest radikal oluşumu ile DNA hasarına yol açar. Bu durum pankreatik β -hücre fonksiyonunun bozulmasına ve nihayetinde β -hücrelerinin yıkımına neden olur. Bu model, STZ'nin neden olduğu nikotinamid depolarının tükenmesini ve bunun sonucunda β -hücre hasarını tersine çevirerek tip 2 diyabet benzeri fenotipleri oluşturur. Bu mekanizmalar, nikotinamidin anti-diyabetojenik etkilerinin anahtarı olarak kabul edilir ve bu nedenle nikotinamid replasmanının tip 2 diyabet tedavisinde potansiyel bir strateji olarak değerlendirilmesine yol açar.

Çizelge 2.12. Tip 2 DM modeli oluşturmak için ratlarda STZ'nin kullanımı.

Rat	Yenidoğanda; 100 mg/kg tek doz STZ i.v., i.p., s.c.
	Erişkinde; • 65 mg/kg i.v. + 90-230 mg/kg i.p. NAD • 2 hafta boyunca yüksek yağlı diyet +35 mg/kg tek doz STZ i.p. • 4 hafta boyunca yüksek yağlı diyet+30 mg/kg iki doz STZ i.p. • 2 hafta boyunca yüksek yağlı diyet +60 mg/kg STZ i.v.

3. MATERİYAL VE YÖNTEM

3.1 Araştırma Yeri ve Örneklem Seçimi

Bu çalışma Aksaray Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik kurulunda (ASÜ-HADYЕК) değerlendirilmiş ve 30 Haziran 2022 tarihinde 2022/6-27 sayılı etik kurul kararı ile onay alınmıştır. Çalışma kapsamında Tip 2 DM modeli oluşturulan ratlarda, KD'nin kan lipid profili, glisemik kontrol, bazı serum adipokinleri (chemerin, omentin-1, ZAG ve nesaftin-1), antioksidan ve oksidatif stres belirteç düzeyleri üzerine etkileri ve karaciğer dokusunda olası histopatolojik değişiklikler araştırılmıştır.

ASÜ-HADYЕК tarafından alınan izin doğrultusunda ratlarda tip 2 diyabet modelinin başarılı bir şekilde oluşturulması için ağırlıkları 250-300 gr arasında olan 6 adet wistar albino cinsi erkek rat üzerinde ön çalışma yapılmıştır. Ön çalışma sonrası yapılan deneysel çalışmada aynı yaşta ağırlıkları 250-300 gr arasında olan 32 adet wistar albino cinsi erkek ratlar kullanılmıştır. Ratların beslenmesi, bakımı ve deney sonrası kan alma, doku ve organ diseksiyonu Aksaray Üniversitesi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi Laboratuvarında yapılmıştır. Hayvan çalışmaları sonunda elde edilen kan ve izole edilen doku ve organların saklanması ve ileri laboratuvar analizleri ise Aksaray Üniversitesi Bilimsel ve Teknolojik Uygulama ve Araştırma Merkezi Laboratuvarları'nda gerçekleştirilmiştir.

3.2 Kullanılan Cihazlar

Analizler Aksaray Üniversitesi Bilimsel ve Teknolojik Uygulama ve Araştırma Merkezi Laboratuvarları'nda bulunan; spektrofotometre (Shimadzu UV-1800, Japan), homojenizatör (Heidolph RZR), santrifüj (Hettich Universal 320 R), ELISA okuyucusu (Thermo Multiskan FC, USA), pH metre (Hanna pH 211, USA), otomatik pipetler (Brand 2-20µl, 20-200 µl, 5-50 µl, 100-1000 µl), -20°C'lik derin dondurucu, -80°C'lik derin dondurucu, hassas terazi (Denver Instrument Germany SI-234) kullanılmıştır.

3.3 Kullanılan Kimyasal Maddeler

Sodium dihydrogen phosphate monohydrate (Carlo Erba), Sodyum potasyum tartarat (Kimetsan), Potasyum Klorür (KCl) (Kimetsan), Folin-Ciocalteu'S Phenol Reagent (Merck), Sodyum karbonat (Kimetsan), Sodium Chloride $\geq$ %99,5 (Isolab), Sodium Cyanide Pure (Merck), p-p-Nitrotetrazolium blue chloride (Bio Basic), EDTA Sodyum Tuzu (Kimetsan), Riboflavine (Biomatik), TRIS hydrochloride (Bio Basic), di-Sodium hydrogen phosphate anhydrous (Carlo Erba), Hydrogen peroxide solution %30 (Carlo Erba), Çinko Sülfat.7H₂O (Kimetsan), Sodyum Hidroksit (NaOH) (Kimetsan), Glisin (Kimetsan), Sulphanilamide %99 Extra Pure (AFG Bioscience), N-(1-Naphthyl) ethylenediamine dihydrochloride, %96 (AkScientific), Bakır Sülfat.H₂O (Kimetsan), Sodium tetraborate decahydrate (Carlo Erba), Hidroklorik asit %37 (Kimetsan), Sülfürik Asit (Kimetsan), Cadmium granular, % $\geq$ 99, 5-20 mesh (Sigma), Sodium dodecyl sulfate (Sigma), Asetik Asit Glacial (Kimetsan), 2-Thiobarbituric acid (Sigma), Butanol-1 (Kimetsan), Pyridine anhydrous, %99,8 (Sigma).

3.4 Kullanılan Ticari Kitler

Rat CHEM(Chemerin) ELISA Kit E0864Ra (Bt Lab), Rat ITLN1(Intelectin 1) ELISA Kit E0607Ra (Bt Lab), Rat NES1(Nesfatin 1) ELISA Kit E0878Ra (Bt Lab), Rat aZGP1(Alpha-2-Glycoprotein 1, Zinc Binding) ELISA Kit E3359Ra (Bt Lab).

3.5 Hayvanların Temini ve Bakımı

Çalışmada kullanılan 32 (+ 6 adet ön çalışma için) adet wistar albino cinsi erkek ratlar Aksaray Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma ve Uygulama Merkezi'nden temin edilmiştir (Şekil 3.1.). Hayvanların deney ortamına alışabilmeleri için deneyden 1 hafta önce standart bakım kafeslerinde stabil laboratuvar koşulları altında (ortam nemi %55 $\pm$ 5, 22 $\pm$ 3°C sıcaklıkta, 12/12 saat gündüz/gece siklusunda) tutulmuştur. Hayvanlara bu süreçte yemeleri için standart pellet yem, içmeleri için ise çeşme suyu ad libitum olarak verilmiştir.



Şekil 3.1. Araştırma kapsamında kullanılan wistar albino cinsi erkek ratlar

3.6 Ön Çalışmanın Yapılması ve Diyabet Modelinin Oluşturulması

Ratlarda diyabet modelinin geliştirilebilmesi için 6 rat üzerinde ön çalışma yapılmıştır. Ön çalışma sonrası deney grupları oluşturularak belirlenen streptozotosin (STZ) ve nikotinamid (NAD) dozları esas alınarak ratlarda diyabet modeli oluşturulmuştur.

Diyabet modeli oluşturulacak ratların her birine 12 saatlik açlık sonrası 0,9'luk sodyum klorür (NaCl) içinde çözülmüş 110 mg/kg NAD intraperitoneal olarak verildikten 15 dk sonra 65 mg/kg STZ 0,1 M sodyum-sitrat tamponunda (pH=4,5) çözdürülerek intraperitoneal olarak verilmiştir. STZ uygulamasından sonra akut dönemde oluşabilecek hipoglisemiye önlemek için ilaç uygulanan gece ratların içme sularına %10 glikoz çözeltisi eklenmiştir. STZ enjeksiyonunda 72 saat sonra ratların kuyruk veninden alınan kan örneklerinden açlık kan glikoz düzeyleri glikometre cihazı ile ölçülmüştür. Kan glikoz düzeyi 250 mg/dL ve üzerinde olan hayvanlar diyabetik kabul edilmiştir (Nasri, 2020; Alaca vd., 2018; Masiello vd., 2018).

3.7 Deney Gruplarının Oluşturulması ve Hayvanların Bakımı

Vücut ağırlıkları birbirine yakın olan ratlar aynı grupta olacak şekilde 4 grup (n=8 rat) oluşturulmuştur (Şekil 3.2.). Deney kapsamında oluşturulan gruplar şu şekildedir;

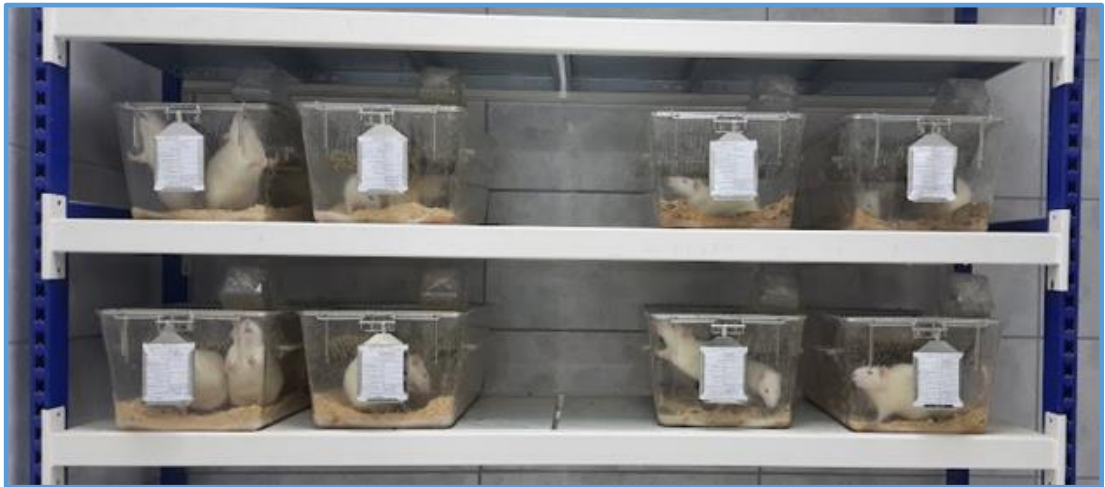
Grup 1 (Standart yem): Bu grupta bulunan ratlara dört hafta boyunca standart pellet yem ve içme suyu adlibitum olarak verilmiştir. Bu grubun hayvanlarına diğer gruplarındaki ile eşit stres koşullarını oluşturmak amacıyla i.p. yol ile aynı miktar ve sayıda serum fizyolojik (%0,9 NaCl) uygulanmıştır.

Grup 2 (Ketojenik diyet): Bu grupta bulunan ratlara dört hafta boyunca ketojenik diyet ve içme suyu adlibitum olarak verilmiştir. Bu grubun hayvanlarına diğer gruplarındaki ile eşit stres koşullarını oluşturmak amacıyla i.p. yol ile aynı miktar ve sayıda serum fizyolojik (%0,9 NaCl) uygulanmıştır.

Grup 3 (Tip 2 DM grubu, standart yem): Bu grupta deneysel diyabet oluşturulan ratlara dört hafta boyunca standart pellet yem ve içme suyu adlibitum olarak verilmiştir.

Grup 4 (Tip 2 DM grubu, ketojenik diyet): Bu grupta deneysel diyabet oluşturulan ratlara dört hafta boyunca ketojenik diyet ve içme suyu adlibitum olarak verilmiştir.

Ratlar 4 tanesi bir arada olmak üzere uygun büyüklükteki polikarbonat kafeslere yerleştirildi ve her bir kafes üzerine gruplara ait etiketler asıldı. Deney süresi boyunca hayvan bakım odalarında stabil laboratuvar koşulları (ortam nemi $55 \pm 5\%$, $22 \pm 3^\circ\text{C}$ sıcaklıkta, 12/12 saat gündüz/gece siklusunda) hazırlanarak ratların barınması sağlandı. Hayvanların beslenmesi için günlük içme suyu ve adlibitum standart ve KD her gün düzenli olarak kafeslerine eklendi. Ayrıca diyabet modeli geliştirilen ratların takip ve bakımları konusunda diyabetik hayvan bakım ilkelerine dikkat edildi.

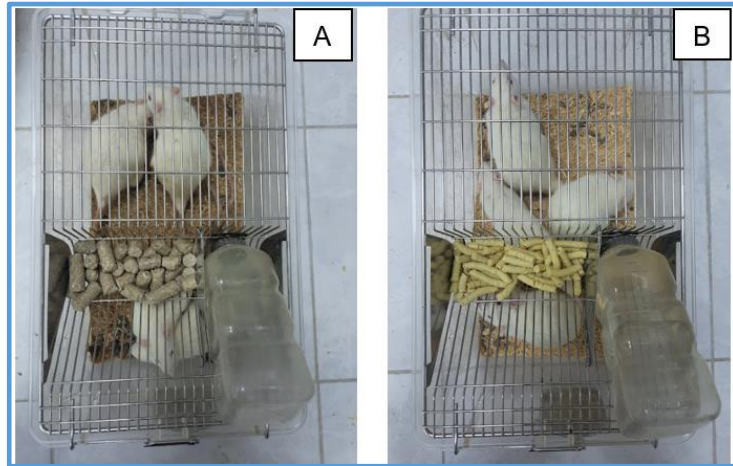


Şekil 3.2. Deney gruplarının oluşturulması

Deney kapsamında yer alan bütün ratlar beslenmeye başlamadan önce 12 saat aç bırakılarak beslenmeye başlayacakları gün içerisinde kuyruk veninden alınan kanda açlık kan glikoz düzeyleri ölçüldü. Açlık kan glikoz düzeyi ölçümü, çalışmanın başlangıcından itibaren çalışmaya katılan her rat için 4 haftalık deney süresi içinde haftalık olarak devam etti. Gruplarda bulunan her bir ratın boy ve ağırlıkları haftalık olarak ölçülerek kaydedildi. Oluşturulan 4 deney grubunda ratların tükettikleri yem miktarları da haftalık olarak takip edilerek kayıt altına alındı.

3.8 Deney Gruplarının Beslenmesi

Her bir rat grubu, 4 hafta boyunca belirlenen diyet tipi ile beslenmiştir. Çalışmamızda kullanılan standart yem Aksaray Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma ve Uygulama Merkezi'nden temin edilmiştir. Standart yem ile beslenecek olan gruplara pellet halinde 2600 kcal/kg'lık standart sıçan yemi (enerjinin %70'i karbonhidratlardan, %20'si proteinlerden ve %10'u yağlardan sağlanan) verilmiştir (Şekil 3.3A). KD ile beslenecek gruplara 4095 kcal/kg'lık ketojenik rat yemi (enerjinin %74,24'ü yağlardan, %19,53'ü proteinlerden, %4,95 karbonhidratlardan ve %1,28'i diğer bileşenlerden sağlanan) verildi (Şekil 3.3B). KD içerisinde yağ kaynağı olarak polifenol düzeyi yüksek olan zeytin yağı kullanılmıştır. Ketojenik yem T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı tarafından onaylı yem üretim işletmesi olan bir firmadan (Arden Araştırma & Deney, Ankara, Türkiye) temin edilmiştir. Çalışmada kullanılan ketojenik yem içeriği ve standart rat yemi içerikleri sırası ile Çizelge 3.1 ve Çizelge 3.2'de verilmiştir.



Şekil 3.3. Deney gruplarının beslenmesi
A: Standart yem ile beslenen ratlar B: Ketojenik yem ile beslenen ratlar

Çizelge 3.1. Standart rat yem içeriği.

Yem İçeriği	Yüzde (%)
Kuru Madde	88
Ham Selüloz	8
Ham Protein	15-22
Ham Kül (Soya yağı)	9-10
Ham Yağ	1,5-2
NaCl	1
HCl' de Çözülmüş Kül	1-7
Fosfor	0,5-0,9
Kalsiyum	1
Fosfor	0,5-0,9
Sodyum	0,3
Nem	12
Toplam Enerji (kcal/kg)	2600

Çizelge 3.2. Ketojenik yem içeriği.

Yem İçeriği	Gr	Kcal
Zeytin yağ	337,8	3040
Mısır nişastası	0	0
Kazein 90 Meş	200	800
DL-Methionin+Lsistein	3	12
İnulin	50,7	202,8
Selüloz	50	0
Potasyum sitrat	16,5	0
Kalsiyum karbonat	5,5	0
Di kalsiyum Fosfat	13	0
Kolin klorür	2	0
Mineral mix	10	0
Vitamin mix	10	40
Metil paraben	1	0
Sitrik asit	5	0
Toplam Enerji	705	4095

3.9 Kan ve Doku Örneklerinin Toplanması ve Biyokimyasal Ölçümler

Dört haftalık diyet müdahalesi sonunda, 12 saat açlık durumunun ardından hayvanların açlık kan glikoz düzeyleri ve canlı ağırlık ölçülmüştür. Ardından ratlar 75 mg/kg Ketamin HCl ve 10 mg/kg Xylazine HCl i.p. yol ile verilerek anestezi işlemi uygulanmıştır. Anestezi altına alınan ratların cilt ya da parmak kısırtma tepkileri kontrol edildikten sonra göğüs kafesleri tekniğine uygun olarak açılarak intrakardiyak kan örnekleri alındı. Daha sonra abdomen bölgesi insizyon ile açılarak karaciğer dokuları alındı. Ratlardan alınan karaciğer dokusunun bir parçası patolojik inceleme için %10'luk formaldehid içerisinde fikse edildi. Karaciğer dokusunun

geriye kalan parçaları ise %0,9 NaCl çözeltisi ile yıkandıktan sonra viallere alınarak analiz gününe kadar -80°C’de saklandı. Karaciğer dokuları KAT, SOD enzim aktiviteleri ile NO ve MDA düzeylerinin analizi için kullanıldı.

Alınan tüm kan örneklerinde glikoz, insülin, HOMA-IR (hesaplama yönetimi), HbA1c, toplam kolesterol (TK), HDL-Kolesterol, LDL-Kolesterol, VLDL-Kolesterol, trigliserit (TG) ve serum adipokin (chemerin, omentin-1, nesfatin-1 ve ZAG) düzeyleri ölçülmüştür. HbA1c analizi için kan örnekleri EDTA’lı tüplere alınarak ve 2-8 °C’de saklanmıştır. Diğer değerlendirilecek biyokimyasal parametreler için kan örnekleri 3500 rpm’de 10 dk santrifüjlenerek serumları ayrıldıktan sonra -20 °C’de saklanmıştır (Alzahrani vd., 2020).

3.10 Analiz Yöntemleri

Ratların kuyruk veninden alınan kan ile kan glikoz düzeyleri Lifecek Compact TD-4283 şeker ölçüm cihazı ile ölçülmüştür. HbA1c (Premier Hb9210;)), insülin (Beckman Coulter, ABD), TK, HDL-Kolesterol, LDL-Kolesterol, VLDL-Kolesterol ve TG (Beckman Coulter, ABD) düzeyleri uygun ticari kitler ile otoanalizörde ölçülmüştür.

Homeostasis Model Assesment-Insulin Resistent (HOMA-IR), insülin direncinin hesaplamasında kullanılan bir parametredir. HOMA-IR skoru, açlık glikoz ve açlık insülin seviyelerinden elde edilen verilerle hesaplanır. Çalışma gruplarında insülin direncini değerlendirmek amacıyla, bazal insülin ve serum glikoz düzeyleri kullanılarak, HOMA-IR değerleri hesaplanmıştır (Cacho vd., 2008):. Bu amaçla kullanılan HOMA-IR formülü şu şekildedir

$$\text{HOMA} - \text{IR} = \frac{\text{APG (mg/dL)} \times \text{Açlık plazma insülin (}\mu\text{IU/ml)}}{405} \quad (3.1)$$

Ratların BKİ değerleri haftalık olarak hesaplanmıştır. BKİ hesaplaması, beden ağırlığı (g)/uzunluk² (mm²) şeklinde yapıldı. Ratların boyu ölçülürken burundan anüse kadar olan uzunluk (mm) hesaplandı (Sjögren vd., 2001).

$$\text{BKİ} = \frac{\text{vücut ağırlığı (gr)}}{\text{boy uzunluğu (mm)}^2} \quad (3.2)$$

Serum adipokin (chemerin, omentin-1, nesfatin-1 ve ZAG) düzeyleri rat ELISA kiti ile ELISA okuyucusu kullanılarak ölçülmüştür. Karaciğer dokuları KAT, SOD enzim aktiviteleri ile NO ve MDA düzeylerinin analizleri belirlenen metotlara uygun olarak yapıldı.

3.11 ELISA (Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay) Yöntemleri

3.11.1 Serum chemerin analizi

Serum chemerin düzeyi Bioassay Technology Laboratory marka (Katalog No: E0864Ra) ELISA kit ile çalışıldı. Bu kitte, chemerinin antikora bağlanarak oluşturduğu kompleks biyotin ile işaretlenir. Ardından inkübasyon ve yıkama basamağı gerçekleştirilir. Substrat solüsyonu eklenmesiyle birlikte chemerin miktarıyla orantılı olarak renk değişiminin mavi renkten hızlıca sarıya dönüştüğü gözlenir. Bu renk değişiminin spektrofotometrik olarak ölçümü yapılır.

Kit içeriği:

- Standart solüsyonu (320 ng/L)
- ELISA plate
- Standart Dilüsyon
- Streptavidin-HRP
- Stop solüsyonu
- Substrat solüsyonu A
- Substrat solüsyonu B
- Yıkama Tamponu
- Biyotinle işaretlenmiş rat chemerin antikoru

Standartların hazırlanışı:

Çizelge 3.3. Chemerin kit standartlarının hazırlanması

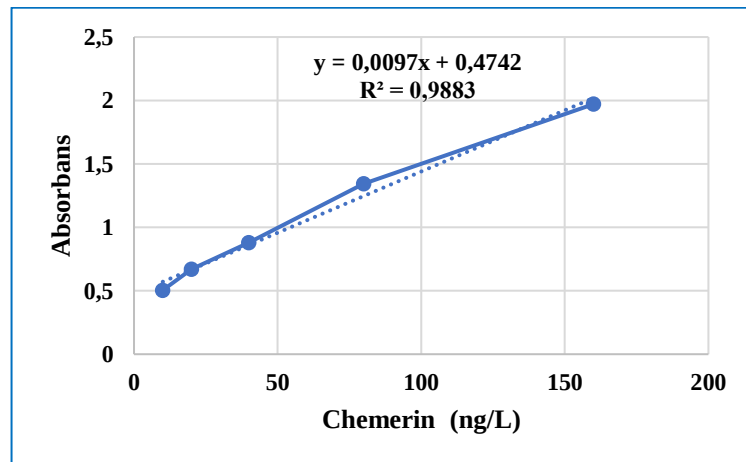
Standard 5	160 ng/L	120 µl Standart dilüsyon+120 µl Orijinal Standart
Standard 4	80 ng/L	120 µl Standart dilüsyon+120 µl Standart 5
Standard 3	40 ng/L	120 µl Standart dilüsyon+120 µl Standart 4
Standard 2	20 ng/L	120 µl Standart dilüsyon+120 µl Standart 3
Standard 1	10 ng/L	120 µl Standart dilüsyon+120 µl Standart 2

Deneyin yapılışı:

1. Tüm reaktifleri, standart solüsyonla ve numuneler talimatlara uygun şekilde hazırladı. Kullanılmadan önce tüm reaktifler oda sıcaklığına alındı.
2. Test için gerekli kuyucuk sayısını belirlendi. Kuyucuklar kullanım için plate yerleştirildi. Kullanılmayan kuyucuklar 2-8 °C'de saklandı.
3. Standart kuyucuklarına 50µL standart eklendi.
4. Örnek kuyucuklarına 40µL örnek eklendi ve ardından sadece örnek kuyucuklarına 10µL anti-chemerin antikoru ekledi. Daha sonra standart kuyucuklara ve örnek kuyucuklarına 50µL streptavidin-HRP eklendi. Plate üzerine membran örtüsü kapatılarak 37 °C'de 60 dk inkübasyona alındı.
5. Membran örtüsü çıkarıldı ve her bir kuyucuk 300µL yıkama tamponu ile 5 kez yıkandı.
6. Her bir kuyucuğa önce 50µL substrat A çözeltisi ardından 50µL substrat B çözeltisi eklendi. Plate üzerine yeni bir membran örtüsü kapatılarak karanlıkta 10 dk 37 °C'de inkübasyona alındı.
7. Her bir kuyucuğa 50µL stop solüsyonu eklendikten sonra mavi rengin hızlıca sarıya dönüştüğü gözlenmiştir ve 450 nm dalga boyunda spektrofotometre cihazında absorbans değerleri ölçüldü.

Hesaplama

Şekil 3.4'te verilen standart eğri grafiği ve denklemini hesaplanarak bu denklemden numunelerin konsantrasyonu “ng/L” olarak belirlendi.



Şekil 3.4. Chemerine ait standart eğri grafiği.

3.11.2 Serum nesfatin-1 analizi

Serum nesfatin-1 düzeyi Bioassay Technology Laboratory marka (Katalog No: E0878Ra) ELİSA kit ile çalışıldı. Bu kitte, nesfatin-1'in antikora bağlanarak oluşturduğu kompleks biyotin ile işaretlenir. Ardından inkübasyon ve yıkama basamağı gerçekleştirilir. Substrat solüsyonu eklenmesiyle birlikte nesfatin-1 miktarıyla orantılı olarak renk değişiminin mavi renkten hızlıca sarıya dönüştüğü gözlenir. Bu renk değişiminin spektrofotometrik olarak ölçümü yapılır.

Kit içeriği:

- Standart solüsyonu (320 ng/L)
- ELISA plate
- Standart Dilüsyon
- Streptavidin-HRP
- Stop solüsyonu
- Substrat solüsyonu A
- Substrat solüsyonu B
- Yıkama Tamponu
- Biyotinle işaretlenmiş rat nesfatin-1 antikoru

Standartların hazırlanışı:

Çizelge 3.4. Nesfatin-1 kit standartlarının hazırlanması.

Standard 5	4800ng/L	120µL Standard dilüent+120µL Original standart
Standard 4	2400ng/L	120µL Standard dilüent +120µL Standard 5
Standard 3	1200ng/L	120µL Standard dilüent+ 120µL Standard 4
Standard 2	600ng/L	120µL Standard dilüent +120µL Standard 3
Standard 1	300ng/L	120µL Standard dilüent +120µL Standard 2

Deneyin yapılışı:

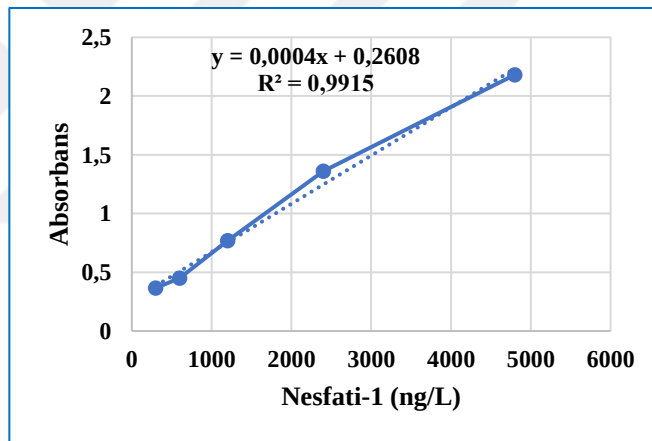
1. Tüm reaktifleri, standart solüsyonla ve numuneler talimatlara uygun şekilde hazırladı. Kullanılmadan önce tüm reaktifler oda sıcaklığına alındı.
2. Test için gerekli kuyucuk sayısını belirlendi. Kuyucuklar kullanım için plate yerleştirildi. Kullanılmayan kuyucuklar 2-8 °C'de saklandı.
3. Standart kuyucuklarına 50µL standart eklendi.
4. Örnek kuyucuklarına 40µL örnek eklendi ve ardından sadece örnek kuyucuklarına 10µL nesfatin-1 antikoru ekledi. Daha sonra standart kuyucuklara

ve örnek kuyucuklarına 50µL streptavidin-HRP eklendi. Plate üzerine membran örtüsü kapatılarak 37 °C'de 60 dk inkübasyona alındı.

5. Membran örtüsü çıkarıldı ve her bir kuyucuk 300µL yıkama tamponu ile 5 kez yıkandı.
6. Her bir kuyucuğa önce 50µL substrat A çözeltisi ardında 50µL substrat B çözeltisi eklendi. Plate üzerine yeni bir membran örtüsü kapatılarak karanlıkta 10 dk 37 °C'de inkübasyona alındı.
7. Her bir kuyucuğa 50µL Stop solüsyonu eklendikten sonra mavi rengin hızlıca sarıya dönüştüğü gözlemlendi ve 450 nm dalga boyunda spektrofotometre cihazında absorbans değerleri ölçüldü.

Hesaplama

Şekil 3.5'te verilen standart eğri grafiği ve denklemi hesaplanarak bu denklemden numunelerin konsantrasyonu “ng/L” olarak belirlendi.



Şekil 3.5. Nesfatin-1'e ait standart eğri grafiği.

3.11.3 Serum çinko alfa-2 glikoprotein (ZAG) analizi

Serum çinko alfa-2 glikoprotein düzeyi Bioassay Technology Laboratory marka (Katalog No: E3359Ra) ELİSA kit ile çalışıldı. Bu kitte, çinko alfa-2 glikoprotein'in antikora bağlanarak oluşturduğu kompleks biyotin ile işaretlenir. Ardından inkübasyon ve yıkama basamağı gerçekleştirilir. Substrat solüsyonu eklenmesiyle birlikte çinko alfa-2 glikoprotein miktarıyla orantılı olarak renk değişiminin mavi renkten hızlıca sarıya dönüştüğü gözlenir. Bu renk değişiminin spektrofotometrik olarak ölçümü yapılır.

Kit içeriği:

- Standart solüsyonu (320 ng/L)
- ELISA plate
- Standart Dilüsyon
- Streptavidin-HRP
- Stop solüsyonu
- Substrat solüsyonu A
- Substrat solüsyonu B
- Yıkama Tamponu
- Biyotinle işaretlenmiş rat çinko alfa-2 glikoprotein antikoru

Standartların hazırlanışı:**Çizelge 3.5. ZAG kit standartlarının hazırlanması.**

Standard 5	400ng/L	120µL Standard dilüent+ 120µL Original standart
Standard 4	200ng/L	120µL Standard dilüent +120µL Standard 5
Standard 3	100ng/L	120µL Standard dilüent+ 120µL Standard 4
Standard 2	50ng/L	120µL Standard dilüent +120µL Standard 3
Standard 1	25ng/L	120µL Standard dilüent +120µL Standard 2

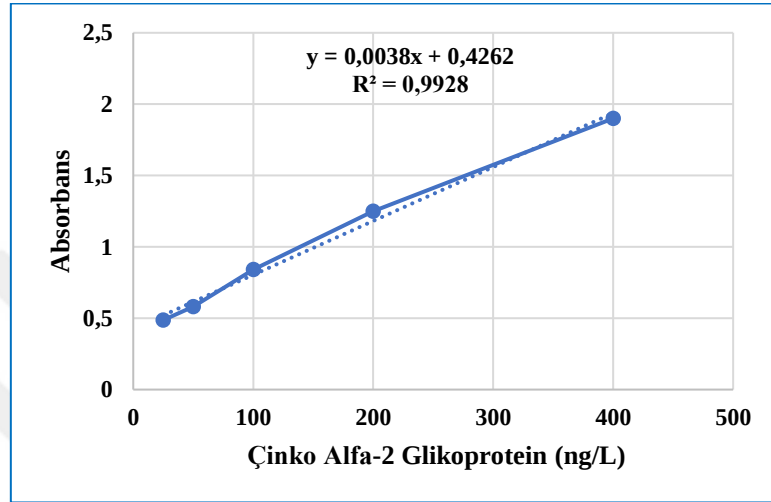
Deneyin yapılışı:

1. Tüm reaktifleri, standart solüsyonla ve numuneler talimatlara uygun şekilde hazırladı. Kullanılmadan önce tüm reaktifler oda sıcaklığına alındı.
2. Test için gerekli kuyucuk sayısını belirlendi. Kuyucuklar kullanım için plate yerleştirildi. Kullanılmayan kuyucuklar 2-8 °C'de saklandı.
3. Standart kuyucuklarına 50µL standart eklendi.
4. Örnek kuyucuklarına 40µL örnek eklendi ve ardından sadece örnek kuyucuklarına 10µL çinko alfa-2 glikoprotein antikoru ekledi. Daha sonra standart kuyucuklara ve örnek kuyucuklarına 50µL streptavidin-HRP eklendi. Plate üzerine membran örtüsü kapatılarak 37 °C'de 60 dk inkübasyona alındı.
5. Membran örtüsü çıkarıldı ve her bir kuyucuk 300µL yıkama tamponu ile 5 kez yıkandı.
6. Her bir kuyucuğa önce 50µL substrat A çözeltisi ardında 50µL substrat B çözeltisi eklendi. Plate üzerine yeni bir membran örtüsü kapatılarak karanlıkta 10 dk 37 °C'de inkübasyona alındı.

7. Her bir kuyucuğa 50µL Stop solüsyonu eklendikten sonra mavi rengin hızlıca sarıya dönüştüğü gözlemlendi ve 450 nm dalga boyunda spektrofotometre cihazında absorbans değerleri ölçüldü.

Hesaplama

Şekil 3.6’da verilen standart eğri grafiği ve denklemi hesaplanarak bu denklemden numunelerin konsantrasyonu “ng/L” olarak belirlendi.



Şekil 3.6. ZAG’a ait standart eğri grafiği.

3.11.4 Serum omentin-1 analizi

Serum omentin-1 düzeyi Bioassay Technology Laboratory marka (Katalog No: E0607Ra) ELİSA kit ile çalışıldı. Bu kitte, omentin-1’in antikora bağlanarak oluşturduğu kompleks biyotin ile işaretlenir. Ardından inkübasyon ve yıkama basamağı gerçekleştirilir. Substrat solüsyonu eklenmesiyle birlikte omentin-1 miktarıyla orantılı olarak renk değişiminin mavi renkten hızlıca sarıya dönüştüğü gözlenir. Bu renk değişiminin spektrofotometrik olarak ölçümü yapılır.

Kit içeriği:

- Standart solüsyonu (320 ng/L)
- ELISA plate
- Standart Dilüsyon
- Streptavidin-HRP
- Stop solüsyonu
- Substrat solüsyonu A
- Substrat solüsyonu B

- Yıkama Tamponu
- Biotinle işaretlenmiş rat omentin-1 antikor

Standartların hazırlanışı:

Çizelge 3.6. Omentin-1 kit standartlarının hazırlanması.

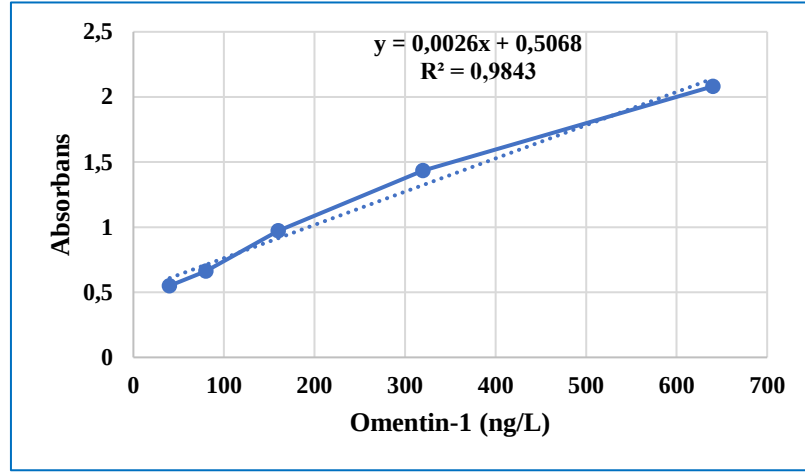
Standard 5	6400ng/L	120µL Standard dilüent+120µL Original standart
Standard 4	320ng/L	120µL Standard dilüent+120µL Standard 5
Standard 3	160ng/L	120µL Standard dilüent+ 120µL Standard 4
Standard 2	80ng/L	120µL Standard dilüent+ 120µL Standard 3
Standard 1	40ng/L	120µL Standard dilüent+120µL Standard 2

Deneyin yapılışı:

1. Tüm reaktifleri, standart solüsyonla ve numuneler talimatlara uygun şekilde hazırladı. Kullanılmadan önce tüm reaktifler oda sıcaklığına alındı.
2. Test için gerekli kuyucuk sayısını belirlendi. Kuyucuklar kullanım için plate yerleştirildi. Kullanılmayan kuyucuklar 2-8 °C'de saklandı.
3. Standart kuyucuklarına 50µL standart eklendi.
4. Örnek kuyucuklarına 40µL örnek eklendi ve ardından sadece örnek kuyucuklarına 10µL omentin-1 antikor eklendi. Daha sonra standart kuyucuklara ve örnek kuyucuklarına 50µL streptavidin-HRP eklendi. Plate üzerine membran örtüsü kapatılarak 37 °C'de 60 dk inkübasyona alındı.
5. Membran örtüsü çıkarıldı ve her bir kuyucuk 300µL yıkama tamponu ile 5 kez yıkandı.
6. Her bir kuyucuğa önce 50µL substrat A çözeltisi ardından 50µL substrat B çözeltisi eklendi. Plate üzerine yeni bir membran örtüsü kapatılarak karanlıkta 10 dk 37°C'de inkübasyona alındı.
7. Her bir kuyucuğa 50µL Stop solüsyonu eklendikten sonra mavi rengin hızlıca sarıya dönüştüğü gözlemlendi ve 450 nm dalga boyunda spektrofotometre cihazında absorbans değerleri ölçüldü.

Hesaplama

Şekil 3.7'de verilen standart eğri grafiği ve denklemi hesaplanarak bu denklemden numunelerin konsantrasyonu “ng/L” olarak belirlendi.



Şekil 3.7. Omentin-1'e ait standart eğri grafiği.

3.12 Karaciğer Dokusunda Oksidatif Stres ve Antioksidan Enzim Analizleri

3.12.1 Süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesi analizi

Karaciğer SOD aktiviteleri Winterbourn vd. (1975) tarafından geliştirilen spektrofotometrik metoda göre çalışıldı.

Prensip:

SOD, oksidatif enerji üretimi esnasında oluşan endojen veya eksojen kaynaklı toksik süperoksit radikallerinin suya ve moleküler oksijene dismutasyonunu hızlandırmaktadır. Bu deneyde riboflavinin, O₂ ve fotoredüksiyonla indirgenmesi sonucu oluşan süperoksit ile Nitro Blue Tetrazoliumchloride (NBT)'un redüksiyonunu enzimin inhibe etme yeteneği değerlendirilir.

Deneyde kullanılan reaktifler:

- Riboflavin 0,12 mM
- Sodyum fosfat tamponu 1/15 M pH 7,8
- Nitro Blue Tetrazoliumchloride (NBT) 1,5 mM
- EDTA+NaCN 0,1M

(0,1 M 100 ml EDTA içerisine 1,5 g NaCN eklenir)

Doku homojenatının hazırlanması:

Karaciğer doku örnekleri, 1 gr dokuya 10 ml 0,1 M fosfat tamponu (pH:7,4) eklendi ve homojenize edilerek %10'luk (w/v) karaciğer dokusu homojenizatları hazırlandı. Daha sonra 4000 g'de +4 °C de 20 dk santrifüj edildikten sonra süpernatantlar alındı.

Prosedür:

- 50 µl süpernatant alınarak üzerine 200 µl EDTA+NaCN eklendi.
- Ardından 50 µl riboflavin, 100 µl NBT ve 2,6 ml fosfat tamponu eklendikten sonra 15 dk floresan ışığına maruz bırakıldı.
- Daha sonra çözeltinin absorbans değerleri 560 nm dalga boyunda ölçülür. Bu, oluşan mavi bileşiğin miktarını belirlemek için kullanılır. % inhibisyon aşağıdaki formüle göre absorbans değerlerine dayanarak hesaplanır. Aynı işlem, SOD standartları kullanılarak tekrarlanır. Süpernatantın SOD aktivitesi ünite/gram (U/gr) doku proteini şeklinde ifade edildi. Doku protein içerikleri Lowry yöntemi kullanılarak ölçüldü (Lowry, 1951)

$$\% \text{ İnhibisyon} = \frac{100 \times (AK - AN)}{AK} \quad (3.3)$$

AN: Numune absorbansı

AK: Kör absorbansı

3.12.2 Katalaz (KAT) aktivitesi analizi

KAT, H₂O₂ yıkımını katalize eden endojen bir antioksidan enzimdir. KAT enzim aktivitesi Beutler (1986)'ın spektrofotometrik metoduna göre çalışıldı.

Prensip:

KAT tarafından yıkılan H₂O₂'nin, H₂O'ya dönüşmesi esnasındaki absorbans değişiminin izlenmesi esasına dayanmaktadır.

Deneyde kullanılan reaktifler:

- H₂O₂ 10 mM
- Tris-HCl-EDTA pH: 8,0
 - Tris-HCl 1 mM
 - EDTA 5 mM
- Sodyum fosfat tamponu 1/15 M pH 7,8

Prosedür:

- Karaciğer dokuları fosfat tamponunda (1 gr doku + 9 ml tampon) homojenize edildikten sonra 4000 rpm'de 10 dk santrifüj edildi ve süpernatanttan 1/2000'lik dilüsyon hazırlandı.

- 100 µl Tris-HCl-EDTA (pH:8,0) üzerine 1800 µl 10 mM H₂O₂ ve 60 µl distile su eklenerek 37 °C’de 10 dk inkübe edildi. Enzimatik reaksiyon, dilüe homojenat (1/2000)’tan 40 µl ilavesi ile başlatıldı. H₂O₂’nin H₂O’ya dönüşümünü, 5 dk boyunca reaktif körüne karşı (H₂O₂ hariç diğer bütün reaktifleri içeren kör) 230 nm’de absorbans değişimi izlenip kaydedildi.
- Kör ve örneğin absorbansı 230 nm dalga boyunda 0., 2.5. ve 5. dakikada ölçüldü.
- H₂O₂ azaldığından yavaş yavaş absorbansta düşüş gözlemlendi. Bir dakikada oluşan ABS değişimi (ΔABS) bulundu.
- Enzim ünitesi, absorbans değişimi H₂O₂’ye ait ekstinksiyon katsayısına bölünerek aşağıdaki formüle göre hesaplandı. KAT aktiviteleri U/mg protein olarak ifade edildi.

$$A = \frac{\Delta ABS}{E \times N \times VH} \times TH \quad (3.4)$$

ΔABS: Dakikada değişen absorbans

E: Milimolar ekstinksiyon katsayısı (H₂O₂ için 0,71)

VH: Homojenatın volümü

N: İndikatörün molekül sayısı (H₂O₂ için 2)

TH: Total hacim (3 ml)

3.12.3 Karaciğer nitrik oksit (NO) düzeylerinin belirlenmesi

NO ölçümü Greiss metoduna göre yapıldı (Cortas ve Wakid, 1990).

Prensip:

Organizmada endojen olarak üretilen nitrik oksit saniyeler içinde nitrat (NO₃) ve nitrite (NO₂) ve okside olduğu için ölçümü direkt olarak yapılamamaktadır. NO ölçümünde daha basit ve hızlı bir yöntem olarak NO metabolizmasının son ürünleri olan NO₂ ve NO₃ miktar tayini daha yaygındır. Her ne kadar NO₂ ve NO₃ konsantrasyonları ayrı ayrı ölçülebilir ise de genellikle total nitrik oksit (nitrit + nitrat) olarak ölçülmektedir. Griess reaksiyonu nitritin asidik ortamda primer bir aromatik amin ile (sülfanilamit) diazotizasyonu ve NED ile mor renkli bir azo ürünü oluşturması esasına dayanmaktadır.

Deneyde kullanılan reaktifler:

- 75 mM ZnSO₄ çözeltisi
- 55 mM NaOH çözeltisi
- Glisin – NaOH Tamponu; pH:9,7

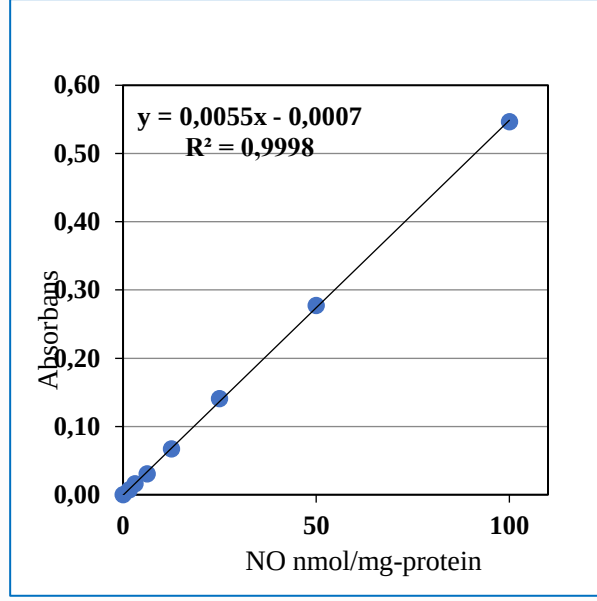
- 15,0 g glisin distile suda çözüldü ve 2 mol/L NaOH ile pH 9,7'ye ayarlandı.
- 500 ml ısıtılmış 3M HCl içerisinde 5 gr sülfanilamid çözüldü.
- 250 ml distile su içerisinde 50 mg NED çözüldü.
- 5 mM CuSO₄ çözeltisi
 - Stok standart: 1 mmol/L lik stok NaNO₂ çözeltisi hazırlandı. Bu çözeltiden distile su ile seyreltme yoluyla 10 µmol/L arasında bir seri standart hazırlandı.
- 10 mM Sodyum tetraborat (.10H₂O)
- 0,1 M Sülfürik asit,
- Kadmiyum granülleri
- Kadmiyum granüllerinin aktive edilmesi: kadmiyum granüllerinden 750 mg tartılarak 10 dk 0,1 M sülfürik asit içerisinde bekletildi. Ardından distile su ile 3 kez yıkandı. 5 mM CuSO₄ içerisinde 2 dk bekletildikten sonra %1,5 glisin ile 3 defa yıkanarak 10 dk içerisinde kullanıldı.
- Fosfat tamponu (0,1M) pH:7.4,
- 3 M hidroklorik asit

Prosedür:

Doku homojenatının hazırlanması:

Karaciğer doku örnekleri, 1 gr dokuya 10 ml 0,1 M fosfat tamponu (pH:7,4) eklendi ve homojenize edilerek %10'luk (w/v) karaciğer dokusu homojenizatları hazırlandı. Daha sonra 4000 g'de +4°C de 20 dk santrifüj edildikten sonra süpernatantlar alındı. Örneklerin deproteinizasyonu: 125 µL homojenat alınarak üzerine 500 µL 75 mM çinko sülfat çözeltisi ve 625 µL 55 mM NaOH çözeltisi ilave edilerek 10 dk beklendi. Ardında 3500 rpm'de 10 dk santrifüj edildi.

Santrifüj işleminden sonra süpernatanttan 250 µL alındı ve üzerine 250 µL glisin – NaOH tamponu eklendi. Ardından tüplerin içerisine yaklaşık 0,75 gr kadmiyum granülleri atılarak oda ısısında 90 dk inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonunda nitrat redüksiyonu sağlanmıştır. İnkübasyon işleminden sonra numune tüplerinden 500 µL alınarak üzerine 250 µL NED ve 250 µL sülfanilamid ilave edildi. Tüpler karıştırılarak oda ısısında 45 dk bekletildi. Oluşan renk spektrofotometrede 545 nm dalga boyunda okundu. Son olarak standartın konsantrasyonundan yararlanılarak ve dilüsyon faktörü de göz önüne alınarak NO değerleri doku örneği için µmol/mg protein olarak hesaplandı.



Şekil 3.8. NO standart grafiği.

3.12.4 Karaciğer malondialdehit (MDA) düzeylerinin belirlenmesi

Karaciğer dokusunda MDA düzeyleri Ohkawa vd. (1979) tarafından geliştirilen yöntem ile belirlendi.

Prensip:

MDA, lipid peroksidasyonunun sekonder bir ürünü olup, lipidlere ait peroksidasyonun belirlenmesinde kullanılan önemli bir parametredir. Bu yöntem ile öncelikle süpernatandaki proteinlerin sodyum dodesil sülfat (SDS) ile bağlanması sağlanır. Daha sonra örnekler tiobarbitürik asit (TBA) çözeltisi ile karıştırılır ve ısıtılır. Isıtılan çözelti genellikle çözelti 95 °C’de ve pH 3.4’te pembe renkli bir kompleks oluşturur, bu kompleks absorbanısı 532 nm dalga boyunda ölçülür.

Doku homojenatının hazırlanması:

Karaciğer doku örnekleri, 1gr doku üzerine 9 ml %1,15’lik KCl çözeltisi (pH=7) eklenerek 15000 rpm’de 1 dk boyunca buz üzerinde homojenize edildikten sonra 10 dk 3500 rpm’de santrifüj edilerek süpernatant alındı.

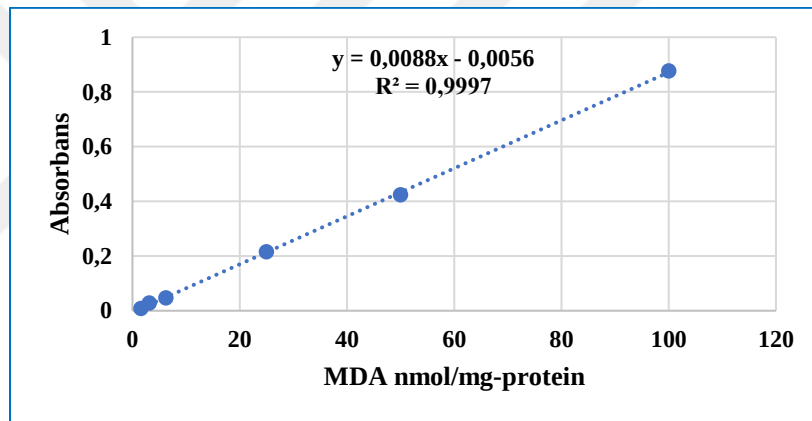
Deneyde Kullanılan Reaktifler:

- **%20 Asetik asit (HAc) (pH 3,5):** 20 ml asetik asit (H₂SO₄) üzerine 100 ml distile su ilave edildi. NaOH ile pH 3,5’e ayarlandı.
- **%8,1 Sodyum dodesil sülfat (SDS):** 8,1 gr SDS distile suda çözülerek son hacim 100 ml’ye tamamlandı.

- **%0,8 TBA (pH 3,5):** 0,8 gr TBA, distile suda çözüldükten sonra pH 5,5-7 arasında olacak şekilde pH ayarı NaOH ile yapıldı ve çözülerek son hacim distile suyla 100 ml'ye tamamlandı.
- **n-Butanol-piridin (nBu-Pri) çözeltisi (15:1, v/v):** 15 ml butanol+1 ml piridin
- **Stok standart:** 1,1,3,3 tetrametoksipropan (yoğunluk: 0,99 gr/ml)

Prosedür:

0,2 ml doku homojenatı üzerine 1,5 ml %20'lik H₂SO₄, 0,2 ml %8,1'lik SDS, 1,5 ml %0,8'lik TBA ve 0,6 ml distile su ilave edildi. Bu karışım 1 saat boyunca 95 °C'deki sıcak su banyosuna alındı. Daha sonra örnekler soğuk su ile soğutuldu ve üzerine 1 ml distile su ve 5 ml butanol/piridin (15:1) eklendi. Numuneler vorteksle 1 dk karıştırıldı. Organik faz 4000 rpm'de 10 dk santrifüj edilerek ayrıldı ve absorbanslar 532 nm dalga boyunda spektrofotometrede okundu.



Şekil 3.9. MDA standart grafiği.

3.12.5 Doku protein analizi

Karaciğer dokusu protein konsantrasyonlarının tayininde Lowry (1951) yöntemi kullanıldı.

Prensip:

Alkali ortamda bakır iyonu (Cu⁺²) proteinlerdeki peptid bağlarıyla kompleks oluşturarak Cu⁺¹'e indirgenir. Daha sonra Cu⁺¹, folin ayırıcı triptofan, sistein ve tirozin aminoasitleri ile reaksiyona girerek mavi renkli bileşik oluşturur. Oluşan bu renkli bileşiğin absorbansı 700 nm dalga boyunda spektrofotometre cihazında ölçülür. Protein konsantrasyonu ile absorbans doğru orantılıdır.

Deneyde kullanılan reaktifler:

A reaktifi: %2'lik Na_2CO_3 içinde 0,1 N'lik NaOH; distile su içinde hazırlandı.

B1 reaktifi: %2'lik Na-K tartarat

B2 reaktifi: %1'lik CuSO_4 100 ml distile su içerisinde hazırlandı

C solüsyonu: 0,5 ml B1 + 0,5 ml B2 + 16,5 ml A

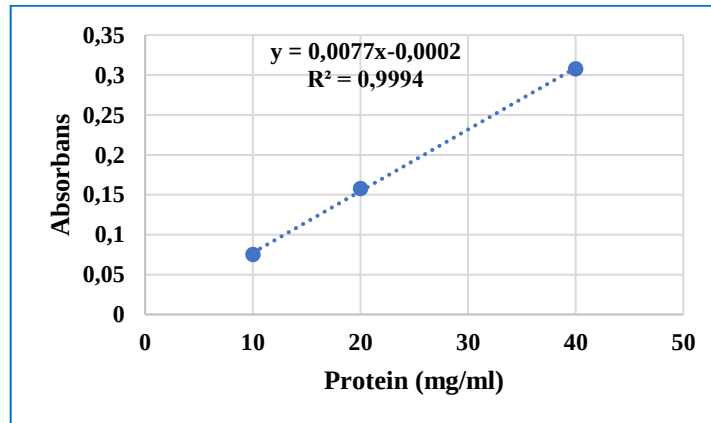
Standart: 1 mg/ml bovine serum albümin (BSA)

Folin reaktifi: 1 hacim distile su + 1 hacim Folin ciocalteu's fenol

Çizelge 3.7. Karaciğer doku süpernatant Lowry deneyi.

Tüpler	Örnek	BSA	C solüsyonu	Distile Su
Kör	-	-	2 ml	100 μl
Numune	20 μl	-	2 ml	80 μl
Standart-1	-	10 μl	2 ml	90 μl
Standart-2	-	20 μl	2 ml	80 μl
Standart-3	-	40 μl	2 ml	60 μl

Kör, numune ve standart tüpleri Çizelge 3.7'de verilen miktarlara göre hazırlandı. Deney tüpleri vortekslenerek 15 dk bekletildi. Ardında tüplere 200 μL folin reaktifi eklendi ve vortekslenerek 1 saat karanlık ortamda inkübe edildi. Son olarak tüplerdeki absorbans 750 nm'de dalga boyunda spektrofotometre cihazında okundu.



Şekil 3.10. Doku protein standart grafiği.

3.13 Histopatolojik Değerlendirme ve Histolojik Tekniklerin Uygulanması

Çalışmamızda ketojenik diyetin glikoz metabolizmasında merkezi rolü üstlenen karaciğer dokusu üzerindeki etkilerini histopatolojik yönden inceleyerek, Tip 2 DM patofizyolojisini diyet odaklı araştırılması amaçlandı. Bu amaçla alınan karaciğer

doku örneklerinin bir miktarı %10'luk formaldehit içerisinde alınarak histopatolojik analiz için saklandı. Dokular 48 saat formaldehit solüsyonunda tespit edildikten sonra çeşme suyu altında 1 gece boyunca bekletildi. Fikse edilmiş doku örnekleri, suyun çıkarılması için sırasıyla alkol (70°, 80°, 90°, 96° ve 100°) ve ksilol serilerinden geçirildi. Daha sonra dokular sıvı parafine alınarak 2 saat vakumlu etüvde vakumlandı. Vakumlama işleminde sonra her bir doku bloklandı. Değerlendirme aşamasında dokularda 700 mikron arayla 5 mikronluk kesitler alındı. Elde edilen bu kesitler ksilol ve alkol serilerinden tekrar geçirildikten sonra Hematoksilen-Eozin boyası ile boyandı ve ataçmanlı ışık mikroskopunda değerlendirilerek resimleri çekildi.

3.13.1 Histopatolojik verilerin değerlendirilmesi

Hematoksilen-Eozin ile boyanan dokularda histolojik değişiklikleri tespit etmek için preperatlarda hepatosit hasarı, steatoz, kanama, genel lobül yapısı ve inflamasyon bulguları değerlendirildi. Doku kesitlerinden sistematik rastgele örneklemeler yapıldı ve belirli aralıklarla alınan kesitler incelendi. Verilen örnekte, her 700 mikron arayla alınan kesitlerden 100 farklı lobül incelenmiştir. Tüm gruplardaki histopatolojik bulgular skorlama yapılarak değerlendirildi. Konjesyon bulgusu var/yok şeklinde değerlendirildi. Histolojik değişikliklerin skorlanması için 20X alanda (ortada santral ven olan) steatoz, hepatosit hasarı ve genel lobül yapısındaki değişiklikler için kullanılan derecelendirme yöntemi aşağıdaki gibidir:

Derece 0: Herhangi bir hepatosit hasarı yok ve %5'in altında

Derece 1: Hafif histopatolojik değişiklikler (tüm alanın %5-33'ü arasındaki alanda)

Derece 2: Orta derecede histopatolojik değişiklikler (tüm alanın %33-66'sı arasındaki alanda)

Derece 3: Ağır histopatolojik değişiklikler (tüm alanın %66'sından daha fazla alanda)

İnflamasyon skorlaması için 20X alanda (ortada santral ven olan) aşağıdaki derecelendirme kullanıldı.

Derece 0: herhangi bir kanama bulgusu yok

Derece 1: Sadece 1 alanında kanama/inflamasyon varlığı

Derece 2: 2-4 alanında kanama/inflamasyon varlığı

Derece 3: 4'ten fazla alanda kanama/inflamasyon varlığı (Kleiner vd., 2005).

3.14 İstatistiksel Analizler

Çalışmamızda elde edilecek verilerin değerlendirilmesinde IBM SPSS Statistics for Windows, Version 20.0. paket programı kullanıldı ve $p < 0,05$ değeri istatistiksel anlamlılık sınırı olarak alındı. Çalışma gruplarına deneklerin atanmasında, Random Allocation Software (RAS) programı kullanılarak oluşturulan dörtlü blok randomizasyon listesinden yararlanıldı. Bağımsız 4 grubun (Standart yem, Ketojenik diyet, Diyabet+standart yem ve Diyabet+ketojenik diyet) tek sefer ölçülecek sürekli değişkenler bakımından kıyaslanması adına Shapiro Wilk normallik testi ve Levene'in homojenlik testi sonuçlarına göre Tek Yönlü Varyans Analizi ve/veya Kruskal Wallis analiz yöntemleri kullanıldı. Grupların en az bir tanesinin diğerlerinden farklı olduğunun belirlenmesi durumunda, farklılığı yaratan grup (lar) ın tespiti amacıyla Tukey HSD ve Dunn'ın post hoc çoklu karşılaştırma testleri kullanıldı. Bu analizlerin sonuçları aritmetik ortalama $\pm$ St.Sapma ve Ortanca (minimum–maksimum) gibi tanımlayıcı istatistikler kullanılarak özetlendi. Zaman bağılı olarak yinelenen ve bir denekten birden fazla sayıda alınan ölçümler için ise, gruplar arası ve zamana bağılı değişimin aynı zamanda da grup x zaman etkileşiminin inceleneceği Tekrarlanan Ölçümlü ANOVA modelinden yararlanıldı. Bu model ile elde kestirilen marjinal ortalamalar standart hatalar ve %95 güven aralıkları ile uygun grafiksel yöntemlerle açıklandı.

4. BULGULAR

Çalışmamızda Tip 2 DM modeli oluşturulan ratlarda, ketojenik diyetin kan lipid profili, glisemik kontrol, bazı serum adipokinleri (chemerin, omentin-1, ZAG ve nesaftin-1), antioksidan ve oksidatif stres belirteç düzeyleri üzerine etkileri ve karaciğer dokusunda olası histopatolojik değişiklikler araştırılmıştır. Çalışma kapsamında dört grup oluşturulmuştur;

Grup 1: Standart yem ile beslenme

Grup 2: KD ile beslenme

Grup 3: Tip 2 diyabet modeli+standart yem ile beslenme

Grup 4: Tip 2 diyabet modeli+KD ile beslenme

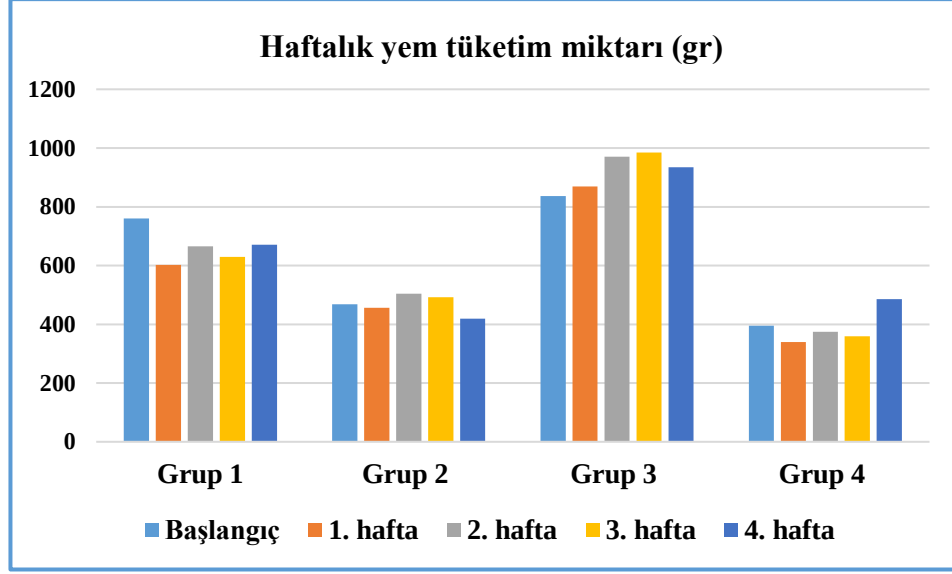
Her grup için planlanan beslenme programı dört hafta boyunca uygulanmıştır. Deney sonunda ratlardan kan ve doku örnekleri alınarak laboratuvar analizleri yapıldı. Elde edilen veriler ve bu verilerin istatistiksel analizleri aşağıda yer alan çizelge ve şekillerde sunulmuştur.

4.1 Yem Tüketim Miktarı

Tüm gruplarda yer alan ratların tükettikleri yem miktarı 4 hafta boyunca haftalık olarak takip edilmiş ve Çizelge 4.1’de gösterilmiştir. Genel olarak bakıldığında tüm gruplarda deney boyunca yem tüketiminin giderek arttığı tespit edilmiştir. Gruplar arasındaki yem tüketim miktarı karşılaştırıldığında ketojenik yem tüketen her iki grubun (Grup 2 ve Grup 4) diğer gruplara göre haftalık yem tüketimlerinin daha az olduğu gözlenmiştir. Grup 3’te bulunan ratların hem haftalar tek tek incelendiğinde hem de toplamda diğer gruplara göre haftalık yem tüketim miktarında artış gözlenmiştir.

Çizelge 4.1. Ratların haftalık yem tüketim miktarı (gr).

Hafta	Grup 1 (n=8)	Grup 2 (n=8)	Grup 3 (n=8)	Grup 4 (n=8)
Başlangıç	760 gr	468 gr	836 gr	395 gr
1. hafta	602 gr	456 gr	869 gr	340 gr
2. hafta	665 gr	504 gr	971 gr	374 gr
3. hafta	629 gr	492 gr	985 gr	359 gr
4. hafta	671 gr	419 gr	935 gr	486 gr



Şekil 4.1. Deney süresince ratların haftalık yem tüketim miktarındaki değişiklikler.

4.2 Ağırlık Değişimleri

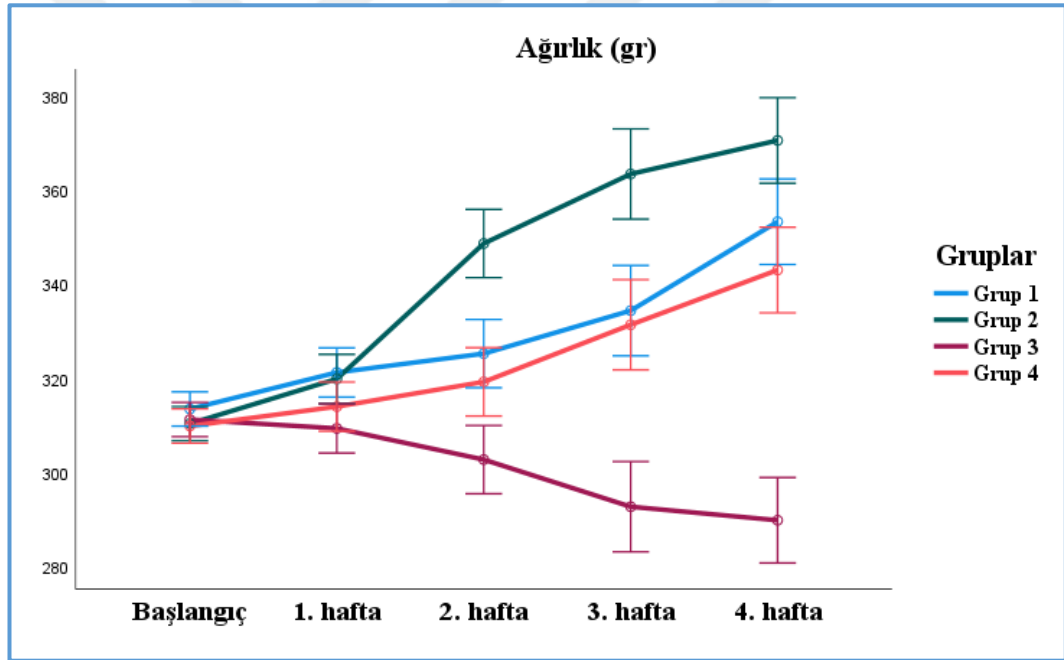
Tüm gruplarda yer alan ratların vücut ağırlıkları, başlangıçta ve 4 haftalık deney süresi boyunca her hafta tartılmıştır. Ratların vücut ağırlıkları değişimi Çizelge 4.2 ve Şekil 4.2’de verilmiştir. Çalışmanın hazırlık aşaması olan başlangıç haftasında grupların ağırlık ortalamaları birbirine yakın olduğu için ratların ağırlıklarında istatistiksel olarak anlamlılık görülmedi ($p>0,05$). Deney süresince Grup 1, 2, ve 4’te yer alan ratların ağırlık ortalamaları artarken sadece Grup 3’te yer alan ratların ağırlık ortalamaları deney sürecinde azalmaya devam etmiştir.

Birinci hafta sonunda Grup 3’e göre Grup 1 ve 2’de yer alan ratların ağırlıklarında önemli düzeyde artış olmuştur ($p<0,05$). İkinci haftada Grup 1, 3 ve 4’e göre Grup 2’de yer alan ratların ağırlıklarında ileri derecede önemli artış belirlendi ($p<0,001$). Ayrıca Grup 3’e göre Grup 1 ve 4’te yer alan ratların ağırlıklarında ileri derecede önemli artış belirlendi ($p<0,001$). Üçüncü haftada ise Grup 3’e göre Grup 1, 2, ve 4’te yer alan ratların ağırlıklarında ileri derecede önemli artış belirlendi ($p<0,001$). Ayrıca Grup 1’e göre Grup 2’de bulunan ratların ağırlıklarında ileri derecede önemli artış belirlendi ($p<0,001$). Deneyin son haftasında ise Grup 3’te yer alan ratlarda diğer gruplara göre anlamlı şekilde ağırlık kaybı olurken ($p<0,001$), Grup 2’de bulunan ratların ağırlıklarında diğer gruplara göre ileri derecede önemli artış belirlendi ($p<0,001$).

Çizelge 4.2. Deney süresince gruplara göre ratların ağırlıkları değişimleri.

Haftalar	Grup 1 (n=8) ($\bar{X} \pm SS$)	Grup 2 (n=8) ($\bar{X} \pm SS$)	Grup 3 (n=8) ($\bar{X} \pm SS$)	Grup 4 (n=8) ($\bar{X} \pm SS$)	P değeri
Başlangıç	313,38 $\pm$ 5,06	310,25 $\pm$ 4,74	311,13 $\pm$ 4,08	309,75 $\pm$ 5,99	p=0,496
1. hafta	321,13 $\pm$ 9,14 ^a	319,75 $\pm$ 4,02 ^a	309,25 $\pm$ 6,51	313,87 $\pm$ 8,09	Grup 3'e göre fark: a; p<0,05
2. hafta	325,13 $\pm$ 12,82 ^{a,b}	348,50 $\pm$ 12,24	302,63 $\pm$ 7,34 ^a	319,13 $\pm$ 5,66 ^{a,b}	Grup 2'ye göre fark: a; p<0,001 Grup 3'e göre fark: b; p<0,001
3. hafta	334,25 $\pm$ 7,77 ^{a,b}	363,25 $\pm$ 20,72	292,63 $\pm$ 13,13 ^a	331,25 $\pm$ 6,13 ^{a,b}	Grup 2'ye göre fark: a; p<0,001 Grup 3'e göre fark: b; p<0,001
4. hafta	353,13 $\pm$ 16,06 ^{a,b}	370,38 $\pm$ 15,87	289,75 $\pm$ 9,36 ^a	342,88 $\pm$ 5,56 ^{a,b}	Grup 2'ye göre fark: a; p<0,001 Grup 3'e göre fark: b; p<0,001

İki Yönlü Anova, $\bar{X} \pm SS$: Aritmetik ortalama $\pm$ standart sapma, Grup 1: Standart yem, Grup 2: Ketojenik diyet, Grup 3: Diyabet+standart yem, Grup 4: Diyabet+ketojenik diyet



Şekil 4.2. Grupların zamana göre ağırlık değişim grafiği.

Sonuçlar ortalama ve standart sapma değerlerine göre grafiklenmiştir. Grup 1: Standart yem, Grup 2: Ketojenik diyet, Grup 3: Diyabet+standart yem, Grup 4: Diyabet+ketojenik diyet

4.3 BKİ Verileri

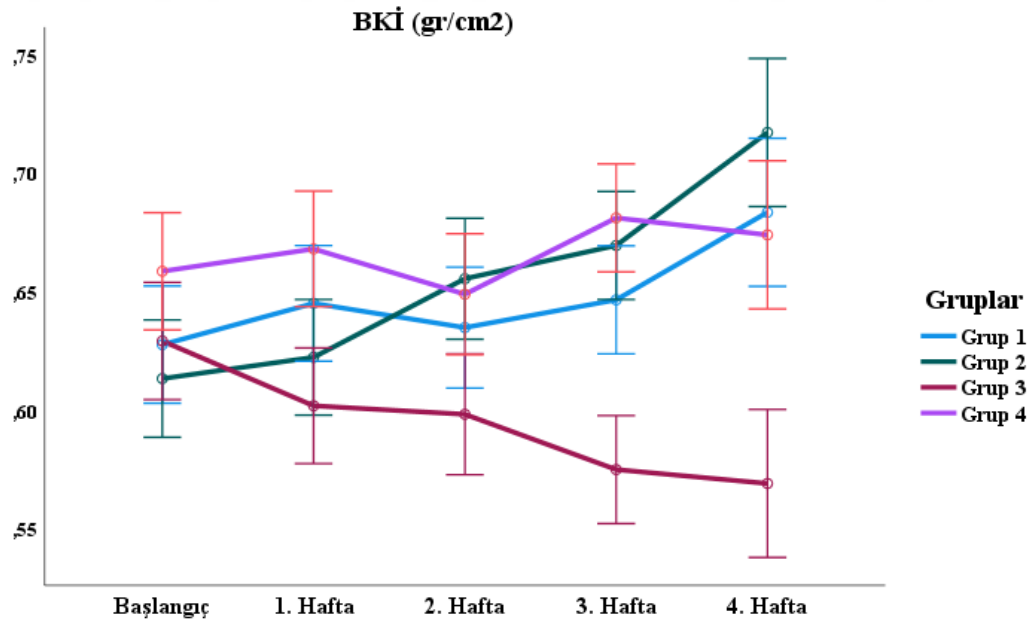
Tüm gruplarda yer alan deney hayvanlarının vücut ağırlıkları ve boyları, başlangıçta ve 4 haftalık deney süresince her hafta ölçülmüştür. Bu verilerden elde edilen BKİ bulguları Çizelge 4.3 ve Şekil 4.3'te verilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre 4 hafta

sonunda Grup 2'nin BKİ değerlerinin, diğer gruplar ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı şekilde azaldığı tespit edilmiştir. Çalışmanın hazırlık aşaması olan başlangıç haftasında gruplar arasında ratların BKİ'lerinde istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olmadığı görülmüştür ($p>0,05$). Birinci haftada Grup 4'te bulunan ratların BKİ'lerinin Grup 3'e göre önemli derecede arttığı görülmüştür ($p<0,01$). Daha sonraki haftalarda (2., 3. ve 4. hafta) ise Grup 1, 2 ve 4'te yer alan ratların BKİ'lerinin Grup 3'e göre önemli derecede arttığı tespit edilmiştir ($p<0,001$).

Çizelge 4.3. Deney süresince gruplara göre ratların BKİ değişimleri.

Haftalar	Grup 1 (n=8) ($\bar{X}\pm SS$)	Grup 2 (n=8) ($\bar{X}\pm SS$)	Grup 3 (n=8) ($\bar{X}\pm SS$)	Grup 4 (n=8) ($\bar{X}\pm SS$)	P değeri
Başlangıç	0,62±0,04	0,61±0,03	0,63±0,03	0,66±0,2	P=0,082
1. hafta	0,64±0,02	0,62±0,02	0,60±0,04	0,67±0,02 ^a	Grup 3'e göre fark: a; $p<0,01$
2. hafta	0,63±0,02 ^a	0,66±0,03 ^a	0,60±0,03	0,65±0,04 ^a	Grup 3'e göre fark: a; $p<0,05$
3. hafta	0,65±0,03 ^a	0,67±0,02 ^a	0,58±0,03	0,68±0,03 ^a	Grup 3'e göre fark: a; $p<0,001$
4. hafta	0,68±0,05 ^a	0,71±0,05 ^a	0,57±0,01	0,67±0,04 ^a	Grup 3'e göre fark: a; $p<0,001$

İki Yönlü Anova, $\bar{X}\pm SS$: Aritmetik ortalama $\pm$ standart sapma, Grup 1: Standart yem, Grup 2: Ketojenik diyet, Grup 3: Diyabet+standart yem, Grup 4: Diyabet+ketojenik diyet



Şekil 4.3. Grupların zamana göre BKİ değişimi.

4.4 Biyokimyasal Bulguların Değerlendirilmesi

4.4.1 Haftalık açlık kan glikoz düzeylerinin değerlendirilmesi

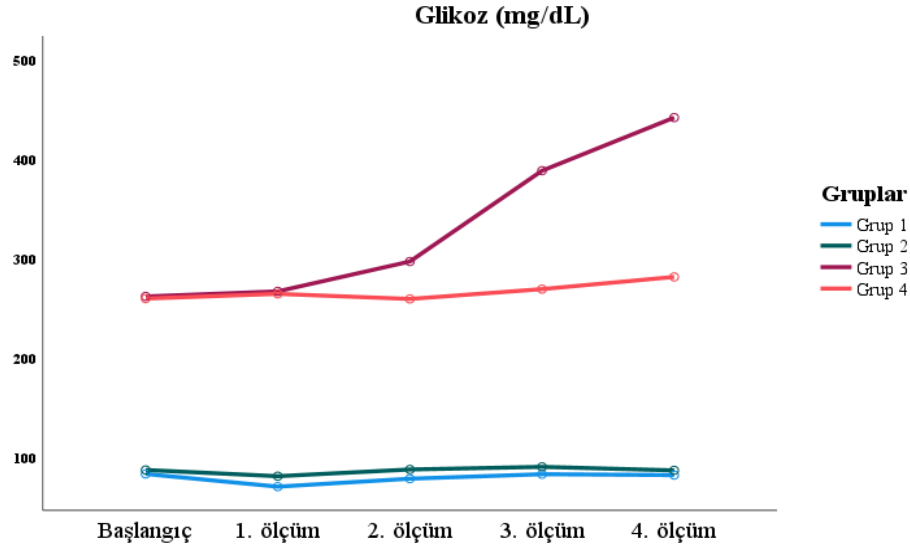
Grupların haftalık açlık kan glikoz değerlerine baktığımızda diyabet modeli oluşturulduktan bir hafta sonra her iki diyabet grubunda (Grup 3 ve 4) kontrol gruplarına (Grup 1 ve 2) göre açlık kan glikoz değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı artış görülmüştür ($p<0,001$). Deney boyunca kontrol grupları (Grup 1 ve 2) arasında kan glikoz değerlerinde anlamlı bir fark görülmedi ($p>0,05$). Diyabet modeli oluşturulan gruplarda (Grup 3 ve 4) ise beslenme müdahalesinin ikinci haftasından itibaren Grup 3'te açlık kan glikoz düzeyleri anlamlı şekilde artmıştır. Grup 4'te bulunan ratların açlık kan glikoz düzeyleri grup 3'e göre daha stabil seyretmiştir.

Beslenme müdahalesinin birinci haftasında gruplar arasın kan glikoz düzeylerinin karşılaştırdığımızda; Grup 1 ve 2'ye göre Grup 3 ve 4'te kan glikoz değerleri ileri derecede önemli artış gözlemlendi ($p<0,001$). İkinci haftada ise Grup 1, 2 ve 4'e göre Grup 3'teki hayvanların kan glikoz değerleri ileri düzeyde önemli artış gerçekleşirken Grup 1 ve 2'ye göre Grup 4'te bulunan hayvanların kan glikoz değerlerinde de ileri derecede önemli artış gözlemlendi ($p<0,001$). Üçüncü ve dördüncü haftalarda gruplar arasındaki kan glikoz değişimi istatistiksel olarak ikinci haftadaki değişim ile benzer yönde olmuştur. Grupların zamana bağlı açlık kan glikoz değerlerindeki değişim Çizelge 4.4 ve Şekil 4.4'te verilmiştir.

Çizelge 4.4. Grupların zaman göre açlık kan glikoz değişimi.

Haftalar	Grup 1 (n=8) ($\bar{X}\pm SS$)	Grup 2 (n=8) ($\bar{X}\pm SS$)	Grup 3 (n=8) ($\bar{X}\pm SS$)	Grup 4 (n=8) ($\bar{X}\pm SS$)	P değeri
Başlangıç	83,75 $\pm$ 5,17 ^{a,b}	84,00 $\pm$ 74,27 ^{a,b}	262,12 $\pm$ 8,30	260,00 $\pm$ 5,04	Grup 3'e göre fark: a; $p<0,001$ Grup 4'e göre fark: b; $p<0,001$
1. hafta	71,00 $\pm$ 5,68 ^{a,b}	77,88 $\pm$ 5,46 ^{a,b}	267,25 $\pm$ 11,31	264,75 $\pm$ 13,22	Grup 3'e göre fark: a; $p<0,001$ Grup 4'e göre fark: b; $p<0,001$
2. hafta	79,00 $\pm$ 7,83 ^{a,b}	83,38 $\pm$ 6,20 ^{a,b}	297,25 $\pm$ 16,31	259,62 $\pm$ 13,33 ^a	Grup 3'e göre fark: a; $p<0,001$ Grup 4'e göre fark: b; $p<0,001$
3. hafta	83,50 $\pm$ 9,50 ^{a,b}	85,75 $\pm$ 3,53 ^{a,b}	388,50 $\pm$ 16,41	269,50 $\pm$ 11,07 ^a	Grup 3'e göre fark: a; $p<0,001$ Grup 4'e göre fark: b; $p<0,001$
4. hafta	82,62 $\pm$ 9,08 ^{a,b}	81,00 $\pm$ 5,09 ^{a,b}	441,87 $\pm$ 26,08	281,75 $\pm$ 11,92 ^a	Grup 3'e göre fark: a; $p<0,001$ Grup 4'e göre fark: b; $p<0,001$

İki Yönlü Anova, $\bar{X}\pm SS$: Aritmetik ortalama $\pm$ standart sapma, Grup 1: Standart yem, Grup 2: Ketojenik diyet, Grup 3: Diyabet+standart yem, Grup 4: Diyabet+ketojenik diyet



Şekil 4.4. Grupların zamana göre açlık kan glikoz değerleri değişimi

Grup 1: Standart yem, Grup 2: Ketojenik diyet, Grup 3: Diyabet+standart yem, Grup 4: Diyabet+ketojenik diyet

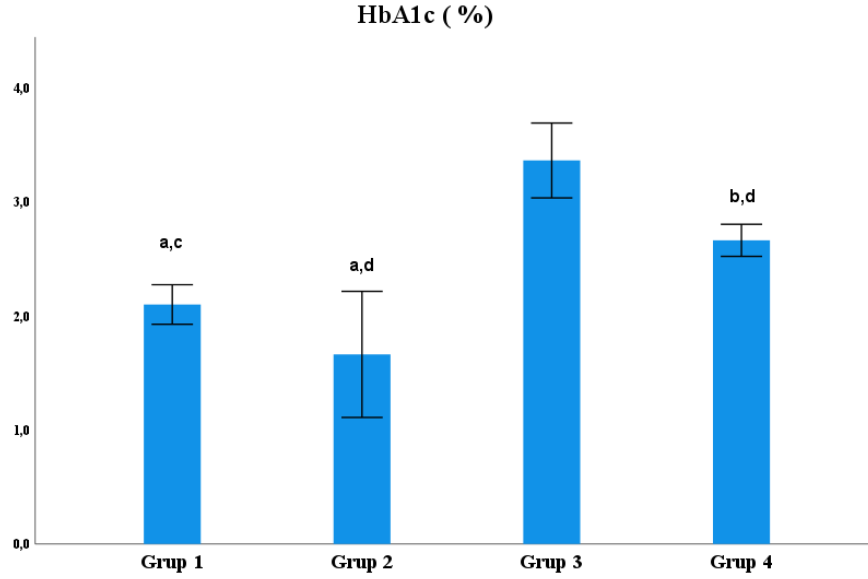
4.4.2 HbA1c düzeylerini değerlendirilmesi

Deney sonunda ratların HbA1c düzeyleri Çizelge 4.5 ve Şekil 4.5'te verilmiştir. Elde edilen verilere göre Grup 1 ve 2'ye göre Grup 3'te HbA1c değerlerinde ileri derecede önemli artış gözlemlendi ($p < 0,001$). Grup 4'e göre Grup 3'te ise HbA1c değerlerinde çok önemli düzeyde artış gözlemlendi ($p < 0,01$). Grup 1'e göre Grup 4'te HbA1c değerleri önemli düzeyde artarken ($p < 0,05$) Grup 2'ye göre Grup 4'te HbA1c değerlerinde ileri derecede önemli artış gözlemlendi ($p < 0,001$).

Çizelge 4.5. HbA1c (%) değerleri ve istatistiksel değerlendirmesi

Gruplar	HbA1c (%) ($\bar{X} \pm SS$)
Grup 1 (n=8)	2,10 $\pm$ 0,20 ^{a,c}
Grup 2 (n=8)	1,66 $\pm$ 0,66 ^{a,d}
Grup 3 (n=8)	3,63 $\pm$ 0,39
Grup 4 (n=8)	2,66 $\pm$ 0,16 ^b

$\bar{X} \pm SS$: Aritmetik ortalama $\pm$ standart sapma, Grup 1: Standart yem, Grup 2: Ketojenik diyet, Grup 3: Diyabet+standart yem, Grup 4: Diyabet+ketojenik diyet. Grup 3'e göre fark: a; $p < 0,001$. Grup 3'e göre fark: b; $p < 0,01$. Grup 4'e göre fark: c; $p < 0,05$. Grup 4'e göre fark: d; $p < 0,001$



Şekil 4.5. HbA1c (%) değerleri ve istatistiksel değerlendirmesi.

Grup 3'e göre fark: a; $p < 0,001$ Grup 3'e göre fark: b; $p < 0,01$ Grup 4'e göre fark: c; $p < 0,05$
Grup 4'e göre fark: d; $p < 0,001$

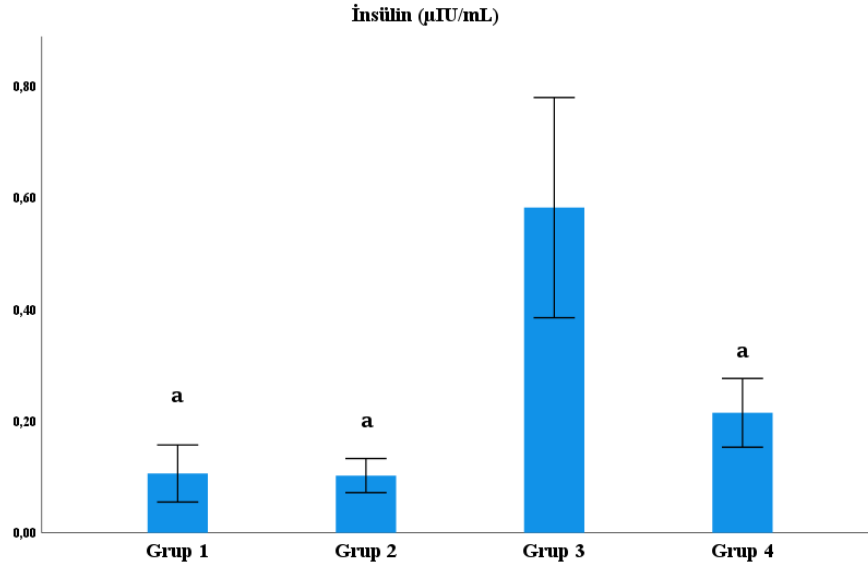
4.4.3 Serum insülin düzeylerinin değerlendirilmesi

Deney sonunda ratların insülin düzeyleri Çizelge 4.6 ve Şekil 4.6'da verilmiştir. Elde edilen verilere bakıldığında Grup 3'te bulunan ratların serum insülin düzeylerinin Grup 1, 2 ve 4'te bulunan ratlara göre ileri derecede önemli artış gözlemlendi ($p < 0,001$). Diğer gruplar arasında ise istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmedi ($p > 0,05$).

Çizelge 4.6. İnsülin değerleri ve istatistiksel değerlendirmesi.

Gruplar	İnsülin ($\mu\text{IU/mL}$) ($\bar{X} \pm \text{SS}$)
Grup 1 (n=8)	0,11 $\pm$ 0,06 ^a
Grup 2 (n=8)	0,10 $\pm$ 0,03 ^a
Grup 3 (n=8)	0,58 $\pm$ 0,13
Grup 4 (n=8)	0,21 $\pm$ 0,07 ^a

$\bar{X} \pm \text{SS}$: Aritmetik ortalama $\pm$ standart sapma, Grup 1: Standart yem, Grup 2: Ketojenik diyet, Grup 3: Diyabet+standart yem, Grup 4: Diyabet+ketojenik diyet. Grup 3'e göre fark: a; $p < 0,001$



Şekil 4.6. İnsülin (µIU/mL) değerleri ve istatistiksel değerlendirmesi
Grup 3'e göre fark: a; p<0,001

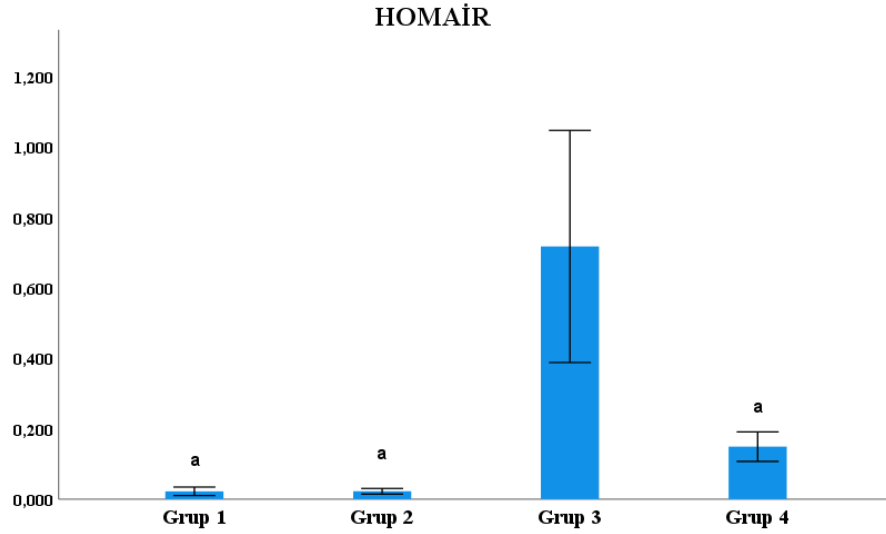
4.4.4 HOMA-IR indeksi seviyelerinin değerlendirilmesi

HOMA-IR indeksi değeri; açlık kan şekeri x açlık insülini/405 formülü ile hesaplanarak bulundu ve gruplara ait istatistiksel veriler Çizelge 4.7 ve Şekil 4.7'de verildi. Elde edilen verilere bakıldığında Grup 3'te bulunan ratların HOMA-IR indeksi Grup 1, 2 ve 4'te bulunan ratlara göre ileri derecede önemli artış gözlemlendi (p<0,001). Diğer gruplara arasında ise istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmedi (p>0,05).

Çizelge 4.7. HOMAİR değerleri ve istatistiksel değerlendirmesi.

Gruplar	HOMA-IR ($\bar{X} \pm SS$)
Grup 1 (n=8)	0,22±0,01 ^a
Grup 2 (n=8)	0,23±0,01 ^a
Grup 3 (n=8)	0,77±0,49
Grup 4 (n=8)	0,44±0,05 ^a

$\bar{X} \pm SS$: Aritmetik ortalama ± standart sapma, Grup 1: Standart yem, Grup 2: Ketojenik diyet, Grup 3: Diyabet+standart yem, Grup 4: Diyabet+ketojenik diyet. Grup 3'e göre fark: a; p<0,001



Şekil 4.7. HOMAİR değerleri ve istatistiksel değerlendirmesi
Grup 3'e göre fark: a; $p<0,001$

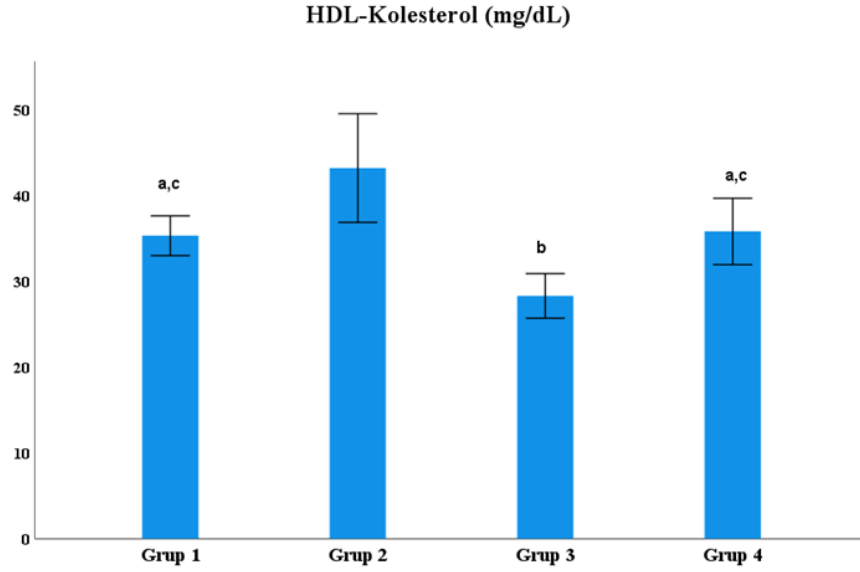
4.4.5 HDL-Kolesterol düzeylerinin değerlendirilmesi

Grupların HDL-kolesterol düzeyleri değerlendirildiğinde; her iki diyabet grubunda (Grup 3 ve 4), kendi kontrol gruplarına (Grup 1 ve 2) göre HDL-Kolesterol düzeylerini düşüğü gözlemlendi. En düşük ortalama ise Grup 3'te bulunan diyabetik ratlarda meydana geldi. İstatistiksel olarak değerlendirildiğinde; Grup 1 ve 4'e göre Grup 2'de önemli düzeyde artarken ($p<0,05$), Grup 3'e göre Grup 2'de HDL-kolesterol değerleri ileri derecede önemli artış gözlemlendi ($p<0,001$). Ayrıca Grup 3'e göre Grup 1 ve 4'te HDL-kolesterol düzeylerinde önemli düzeyde artış gözlemlendi ($p<0,05$). Diğer gruplara arasında ise istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmedi ($p>0,05$) (Şekil 4.8 ve Çizelge 4.8).

Çizelge 4.8. HDL-Kolesterol (mg/dL) değerleri ve istatistiksel değerlendirmesi.

Gruplar	HDL-Kolesterol (mg/dL) ($\bar{X} \pm SS$)
Grup 1 (n=8)	35,25 $\pm$ 2,76 ^{a,c}
Grup 2 (n=8)	43,13 $\pm$ 7,56
Grup 3 (n=8)	28,25 $\pm$ 3,10 ^b
Grup 4 (n=8)	35,75 $\pm$ 4,62 ^{a,c}

$\bar{X} \pm SS$: Aritmetik ortalama $\pm$ standart sapma, Grup 1: Standart yem, Grup 2: Ketojenik diyet, Grup 3: Diyabet+standart yem, Grup 4: Diyabet+ketojenik diyet. Grup 2'ye göre fark: a; $p<0,05$. Grup 2'ye göre fark: b; $p<0,001$. Grup 3'e göre fark: c; $p<0,05$



Şekil 4.8. HDL-Kolesterol (mg/dL) değerleri ve istatistiksel değerlendirmesi

Grup 2'ye göre fark: a; $p < 0,05$ Grup 2'ye göre fark: b; $p < 0,001$ Grup 3'e göre fark: c; $p < 0,05$

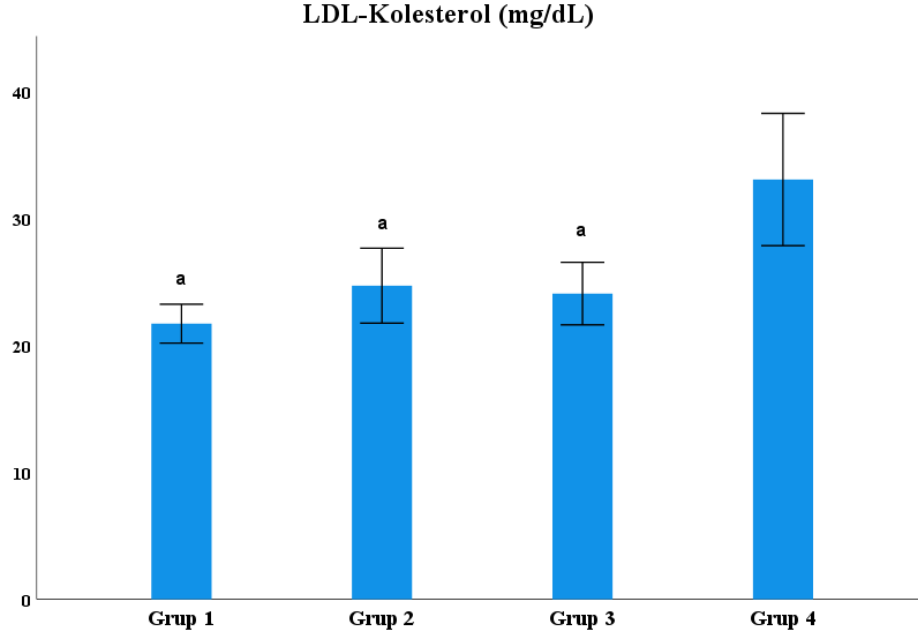
4.4.6 LDL-Kolesterol düzeylerinin değerlendirilmesi

Grupların LDL-kolesterol düzeyleri değerlendirildiğinde; her iki diyabet grubunda (Grup 3 ve 4), kendi kontrol gruplarına (Grup 1 ve 2) göre LDL-Kolesterol düzeylerini arttırdığı gözlemlendi. İstatistiksel olarak değerlendirildiğinde; Grup 1, 2 ve 3'e göre Grup 4'te ileri derecede önemli artış gözlemlendi ($p < 0,001$). Grup 1'e göre Grup 3'te LDL-Kolesterol düzeyleri önemli düzeyde yükseldi ($p < 0,05$). Grup 3'e göre Grup 4'te LDL-Kolesterol düzeyleri yüksek olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmedi ($p > 0,05$) (Şekil 4.9 ve Çizelge 4.9).

Çizelge 4.9. LDL-Kolesterol (mg/dL) değerleri ve istatistiksel değerlendirmesi.

Gruplar	LDL-Kolesterol (mg/dL) ($\bar{X} \pm SS$)
Grup 1 (n=8)	21,75 $\pm$ 1,83 ^{a,b}
Grup 2 (n=8)	24,75 $\pm$ 3,53 ^a
Grup 3 (n=8)	28,13 $\pm$ 2,94 ^a
Grup 4 (n=8)	33,13 $\pm$ 6,24

$\bar{X} \pm SS$: Aritmetik ortalama $\pm$ standart sapma, Grup 1: Standart yem, Grup 2: Ketojenik diyet, Grup 3: Diyabet+standart yem, Grup 4: Diyabet+ketojenik diyet. Grup 4'e göre fark: a; $p < 0,001$



Şekil 4.9. LDL-Kolesterol (mg/dL) değerleri ve istatistiksel değerlendirmesi
Grup 4'e göre fark: a; $p<0,001$

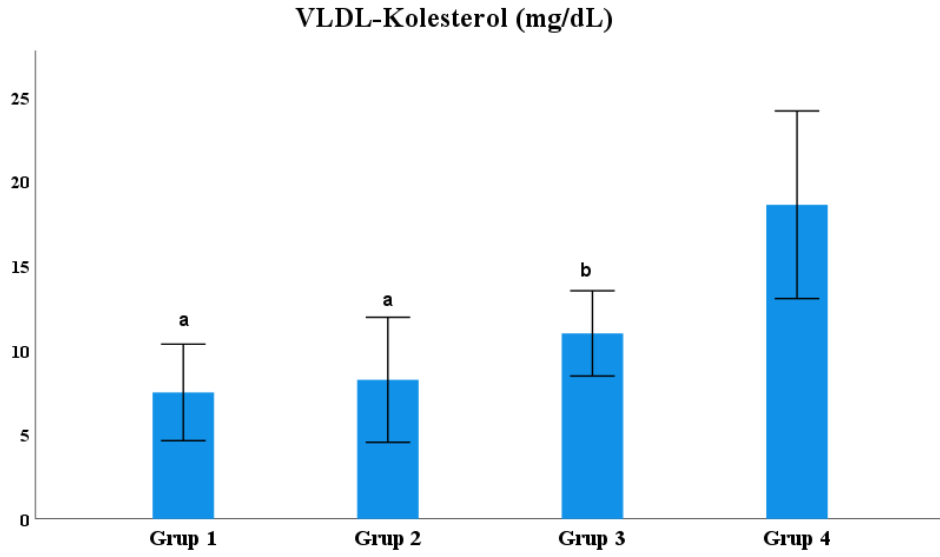
4.4.7 VLDL-Kolesterol düzeylerinin değerlendirilmesi

Grupların VLDL-kolesterol düzeyleri değerlendirildiğinde en fazla artış Grup 4'te gözlemlendi. Gruplar arası karşılaştırma yapıldığında Grup 1 ve 2'ye göre Grup 4'te VLDL-kolesterol düzeylerinde ileri derecede önemli artış olduğu gözlemlendi ($p<0,001$). Grup 3'e göre Grup 4'te ise önemli düzeyde artış gözlemlendi ($p<0,05$). Diğer gruplara arasında ise istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmedi ($p>0,05$) (Şekil 4.10 ve Çizelge 4.10).

Çizelge 4.10. VLDL-Kolesterol (mg/dL) değerleri ve istatistiksel değerlendirmesi.

Gruplar	VLDL-Kolesterol (mg/dL) ($\bar{X} \pm SS$)
Grup 1 (n=8)	7,50 $\pm$ 3,42 ^a
Grup 2 (n=8)	8,25 $\pm$ 4,43 ^a
Grup 3 (n=8)	11,00 $\pm$ 3,02 ^b
Grup 4 (n=8)	18,63 $\pm$ 6,65

$\bar{X} \pm SS$: Aritmetik ortalama $\pm$ standart sapma, Grup 1: Standart yem, Grup 2: Ketojenik diyet, Grup 3: Diyabet+standart yem, Grup 4: Diyabet+ketojenik diyet. Grup 4'e göre fark: a; $p<0,001$. Grup 4'e göre fark: b; $p<0,05$



Şekil 4.10. VLDL-Kolesterol (mg/dL) değerleri ve istatistiksel değerlendirmesi

Grup 4'e göre fark: a; $p<0,001$ Grup 4'e göre fark: b; $p<0,05$

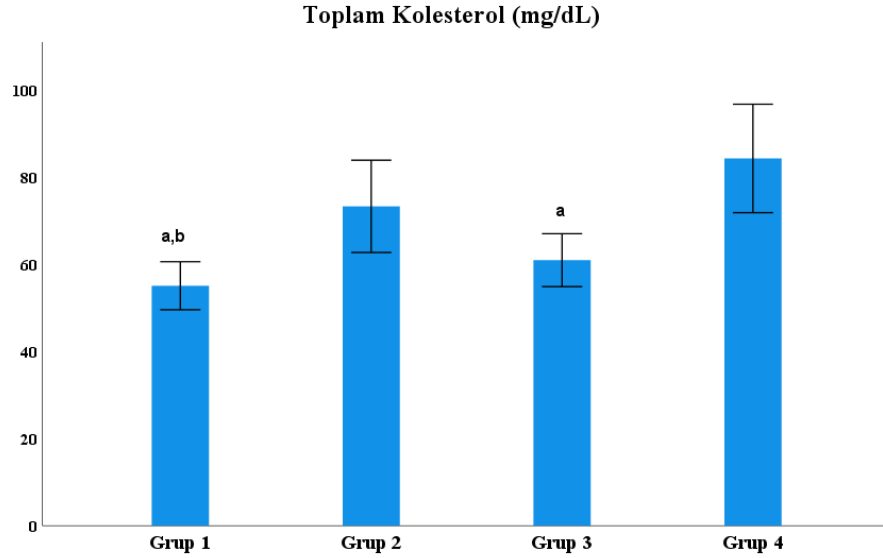
4.4.8 TK düzeylerinin değerlendirilmesi

Grupların TK düzeyleri değerlendirildiğinde her iki ketojenik beslenen grupta artış gözlemlendi. İstatistiksel olarak gruplar arası karşılaştırmada ise Grup 1 ve 3'e göre Grup 4'te TK düzeylerinde ileri derecede önemli artış olduğu gözlemlendi ($p<0,001$). Grup 1'e göre ise Grup 2'de TK düzeylerinde önemli düzeyde artış gözlemlendi ($p<0,05$) (Şekil 4.11 ve Çizelge 4.11). Standart yem ile beslenen grupların (Grup 1 ve 3) arasında ise TK değerleri açısından istatistiksel bir fark görülmedi ($p>0,05$).

Çizelge 4.11. TK değerleri ve istatistiksel değerlendirmesi.

Gruplar	Toplam Kolesterol (mg/dL) ($\bar{X} \pm SS$)
Grup 1 (n=8)	55,13 $\pm$ 6,60 ^{a,b}
Grup 2 (n=8)	73,38 $\pm$ 12,68
Grup 3 (n=8)	61,00 $\pm$ 7,27 ^a
Grup 4 (n=8)	84,38 $\pm$ 14,89

$\bar{X} \pm SS$: Aritmetik ortalama $\pm$ standart sapma, Grup 1: Standart yem, Grup 2: Ketojenik diyet, Grup 3: Diyabet+standart yem, Grup 4: Diyabet+ketojenik diyet. Grup 4'e göre fark: a; $p<0,001$. Grup 2'ye göre fark: b; $p<0,05$



Şekil 4.11. Toplam kolesterol (mg/dL) değerleri ve istatistiksel değerlendirmesi
Grup 4'e göre fark: a; $p<0,001$ Grup 2'ye göre fark: b; $p<0,05$

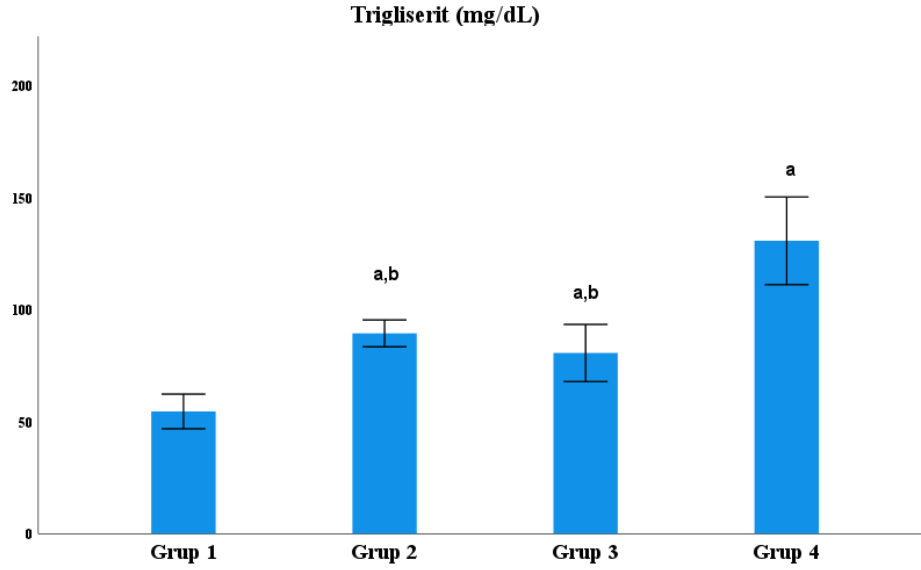
4.4.9 TG düzeylerinin değerlendirilmesi

Grupların TG düzeyleri değerlendirildiğinde en fazla artış Grup 4'te olmuştur. İstatistiksel olarak gruplar arası karşılaştırmada ise Grup 1, 2 ve 3'e göre Grup 4'te TG düzeylerinde ileri derecede önemli artış olduğu gözlemlendi ($p<0,001$). Ayrıca Grup 1'e göre Grup 2'de TG düzeylerinde ileri derecede önemli artış ($p<0,001$) gözlenirken, Grup 1'e göre Grup 3'te önemli düzeyde artış gözlemlendi ($p<0,05$) (Şekil 4.12 ve Çizelge 4.12).

Çizelge 4.12. TG değerleri ve istatistiksel değerlendirmesi.

Gruplar	Trigliserit (mg/dL) ($\bar{X} \pm SS$)
Grup 1 (n=8)	54,63 $\pm$ 9,28 ^a
Grup 2 (n=8)	89,50 $\pm$ 7,17 ^{a,b}
Grup 3 (n=8)	80,75 $\pm$ 15,26 ^{a,c}
Grup 4 (n=8)	130,88 $\pm$ 16,69

$\bar{X} \pm SS$: Aritmetik ortalama $\pm$ standart sapma, Grup 1: Standart yem, Grup 2: Ketojenik diyet, Grup 3: Diyabet+standart yem, Grup 4: Diyabet+ketojenik diyet. Grup 4'e göre fark: a; $p<0,001$. Grup 1'e göre fark: b; $p<0,001$. Grup 1'e göre fark: c; $p<0,05$



Şekil 4.12. Trigliserit (mg/dL) değerleri ve istatistiksel değerlendirmesi
Grup 1'e göre fark: a; $p<0,001$ Grup 4'e göre fark: b; $p<0,001$

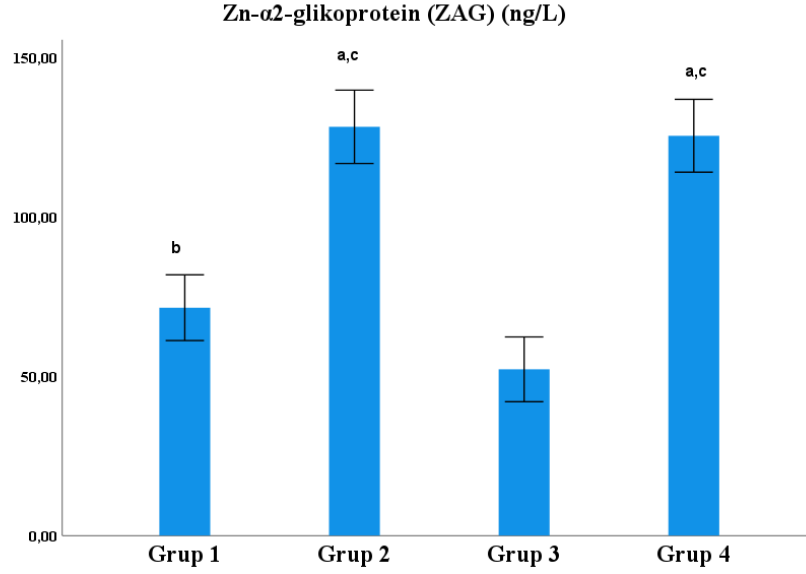
4.4.10 Zn- α 2-glikoprotein (ZAG) düzeylerinin değerlendirilmesi

Grupların ZAG düzeyleri değerlendirildiğinde her iki ketojenik yem ile beslenen grupta (Grup 2 ve 4) ZAG düzeylerinde sayısal olarak artış olduğu gözlemlendi. En düşük ZAG düzeyinin ise Grup 3'te oldu. İstatistiksel olarak gruplar arası karşılaştırmada ise Grup 3'e göre Grup 2 ve 4'te ZAG düzeylerinde ileri derecede önemli artış olduğu gözlemlendi ($p<0,001$). Grup 1'e göre Grup 3'te ZAG düzeyi önemli düzeyde düşüktü ($p<0,05$). Grup 1'e göre Grup 2 ve 4'te ise ZAG düzeylerinde ileri derecede önemli artış olduğu gözlemlendi ($p<0,001$). (Şekil 4.13 ve Çizelge 4.13).

Çizelge 4.13. ZAG değerleri ve istatistiksel değerlendirmesi.

Gruplar	Zn- α 2-glikoprotein (ZAG) (ng/L) ($\bar{X} \pm SS$)
Grup 1 (n=8)	71,49 $\pm$ 12,33 ^b
Grup 2 (n=8)	128,25 $\pm$ 13,76 ^{a,c}
Grup 3 (n=8)	52,15 $\pm$ 12,15
Grup 4 (n=8)	125,44 $\pm$ 13,65 ^{a,c}

$\bar{X} \pm SS$: Aritmetik ortalama $\pm$ standart sapma, Grup 1: Standart yem, Grup 2: Ketojenik diyet, Grup 3: Diyabet+standart yem, Grup 4: Diyabet+ketojenik diyet. Grup 3'e göre fark: a; $p<0,001$. Grup 3'e göre fark: b; $p<0,05$. Grup 1'e göre fark: c; $p<0,001$



Şekil 4.13. Zn-α2-glikoprotein (ZAG) değerleri ve istatistiksel değerlendirmesi

Grup 3'e göre fark: a; $p<0,001$ Grup 3'e göre fark: b; $p<0,05$ Grup 1'e göre fark: c; $p<0,001$

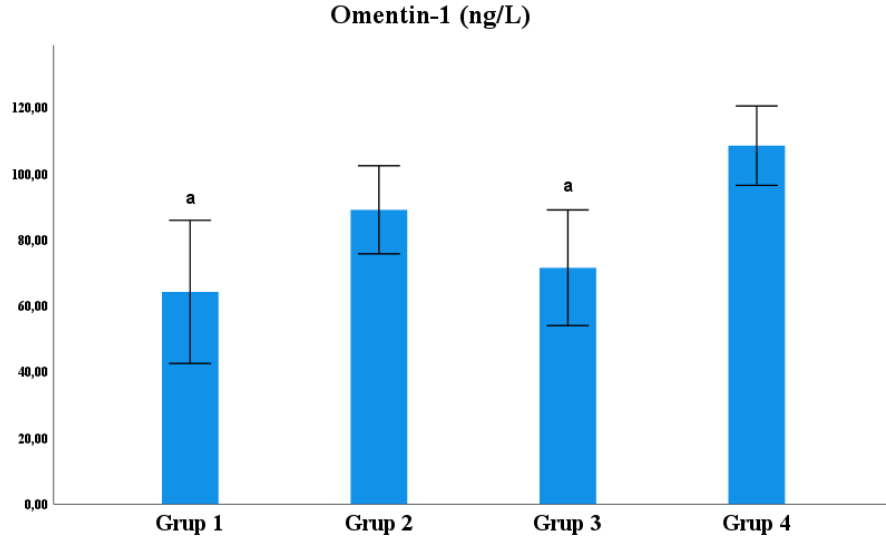
4.4.11 Omentin-1 düzeylerinin değerlendirilmesi

Grupların omentin-1 düzeyleri her iki ketojenik diyet ile beslenen grupta (Grup 2 ve 4) omentin-1 düzeylerinin standart yem ile beslenen gruplara göre daha yüksekti. İstatistiksel olarak gruplar arası karşılaştırmada ise Grup 1 ve 3'e göre Grup 4'te omentin-1 düzeylerinde ileri derecede önemli artış olduğu gözlemlendi ($p<0,001$). Grup 1'e göre ise Grup 3'de omentin-1 düzeyleri sayısal olarak düşük olmasına karşılık istatistiksel olarak anlamlı değildi. Grup 2'ye göre Grup 3'de ise omentin -1 düzeyler önemli derecede düşüktü ($p<0,05$) (Şekil 4.14 ve Çizelge 4.14).

Çizelge 4.14. Omentin-1 değerleri ve istatistiksel değerlendirmesi.

Gruplar	Omentin-1 (ng/L) ($\bar{X} \pm SS$)
Grup 1 (n=8)	71,51 $\pm$ 20,94 ^a
Grup 2 (n=8)	89,06 $\pm$ 15,94
Grup 3 (n=8)	56,85 $\pm$ 19,26 ^{a,b}
Grup 4 (n=8)	108,49 $\pm$ 14,36

$\bar{X} \pm SS$: Aritmetik ortalama $\pm$ standart sapma, Grup 1: Standart yem, Grup 2: Ketojenik diyet, Grup 3: Diyabet+standart yem, Grup 4: Diyabet+ketojenik diyet. Grup 4'e göre fark: a; $p<0,001$ Grup 2'ye göre fark: b; $p<0,05$



Şekil 4.14. Omentin-1 değerleri ve istatistiksel değerlendirilmesi

Grup 4'e göre fark: a; $p < 0,001$ Grup 2'ye göre fark: b; $p < 0,05$

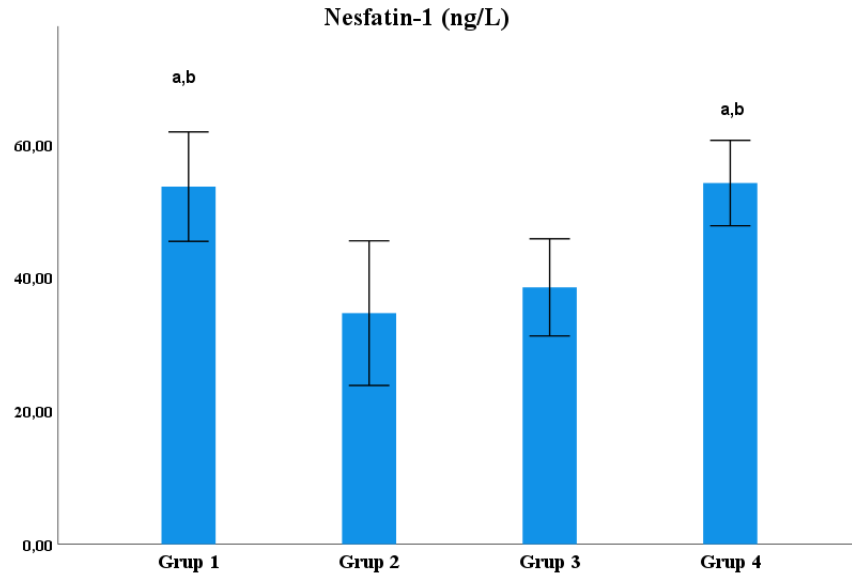
4.4.12 Nesfatin-1 düzeylerinin değerlendirilmesi

Grupların nesfatin-1 düzeyleri değerlendirildiğinde Grup 1 ve 4'ün nesfatin-1 düzeyleri yüksek bulundu. İstatistiksel olarak gruplar arası karşılaştırmada ise Grup 2'ye göre Grup 1 ve 4'te nesfatin-1 düzeylerinde önemli düzeyde artış olduğu gözlenirken ($p < 0,01$) Grup 3'e göre Grup 1 ve 4'te önemli düzeyde artış gözlemlendi ($p < 0,05$) (Şekil 4.15 ve Çizelge 4.15).

Çizelge 4.15. Nesfatin-1 değerleri ve istatistiksel değerlendirilmesi.

Gruplar	Nesfatin-1 (ng/L) ($\bar{X} \pm SS$)
Grup 1 (n=8)	53,69 $\pm$ 9,82 ^{a,b}
Grup 2 (n=8)	34,69 $\pm$ 12,98
Grup 3 (n=8)	38,56 $\pm$ 8,7
Grup 4 (n=8)	54,21 $\pm$ 7,66 ^{a,b}

$\bar{X} \pm SS$: Aritmetik ortalama $\pm$ standart sapma, Grup 1: Standart yem, Grup 2: Ketojenik diyet, Grup 3: Diyabet+standart yem, Grup 4: Diyabet+ketojenik diyet. Grup 2'ye göre fark: a; $p < 0,01$. Grup 3'e göre fark: b; $p < 0,05$



Şekil 4.15. Nesfatin-1 değerleri ve istatistiksel değerlendirmesi

Grup 2'ye göre fark: a; p<0,01 Grup 3'e göre fark: b; p<0,05

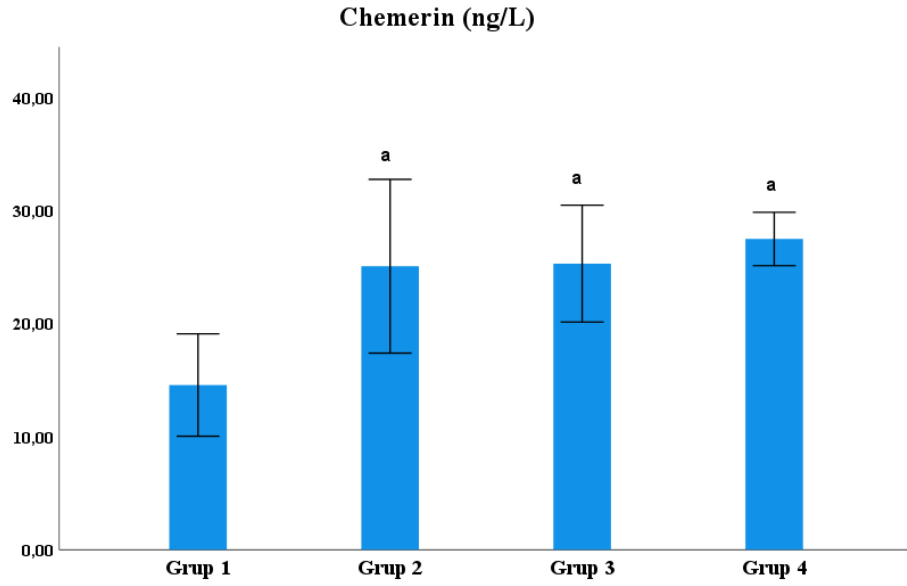
4.4.13 Chemerin düzeylerinin değerlendirilmesi

Grupların chemerin düzeyleri değerlendirildiğinde diyabet indüklenen gruplara (Grup 3 ve 4) göre kontrol gruplarında (Grup 1 ve 2) chemerin düzeylerinde önemli düzeyde artış gözlemlendi (p<0,01). Kontrol grupları ve diyabet gruplarında ise istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmedi (p>0,05) (Şekil 4.16 ve Çizelge 4.16).

Çizelge 4.16. Chemerin değerleri ve istatistiksel değerlendirmesi.

Gruplar	Chemerin (ng/L) (̄X±SS)
Grup 1 (n=8)	14,55 ± 5,41
Grup 2 (n=8)	16,05 ± 4,18
Grup 3 (n=8)	25,28 ± 6,17 ^a
Grup 4 (n=8)	27,46 ± 2,82 ^a

̄X±SS: Aritmetik ortalama ± standart sapma, Grup 1: Standart yem, Grup 2: Ketojenik diyet, Grup 3: Diyabet+standart yem, Grup 4: Diyabet+ketojenik diyet. Grup 1'e göre fark: a; p<0,01



Şekil 4.16. Chemerin değerleri ve istatistiksel değerlendirilmesi
Grup 1'e göre fark: a; $p < 0,01$

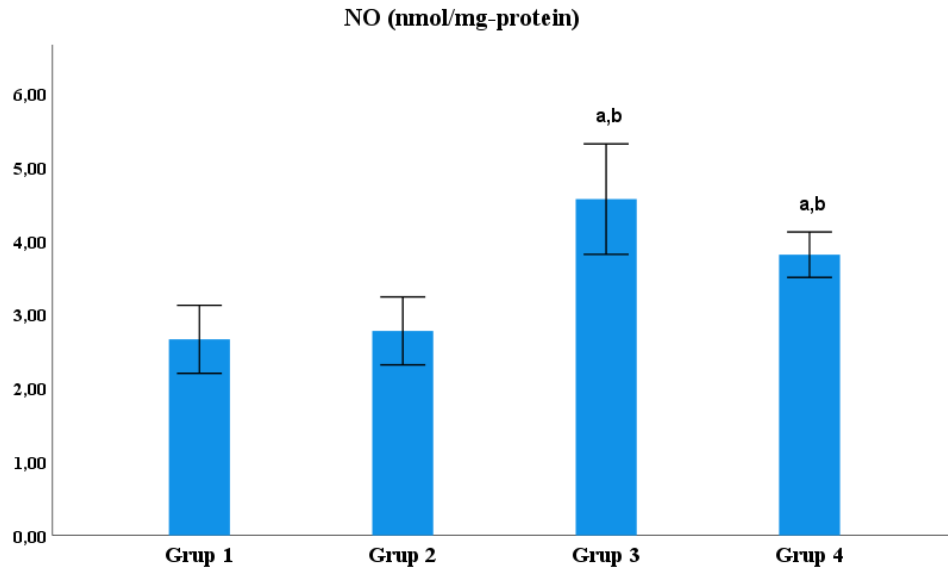
4.4.14 NO düzeylerinin değerlendirilmesi

Karaciğer dokularında analiz edilen NO düzeyleri her iki diyabet grubunda (Grup 3 ve 4) yüksel bulundu. İstatistiksel olarak gruplar arası karşılaştırmada ise Grup 1 ve 2'ye göre Grup 3 ve 4'te NO düzeylerinde ileri derecede önemli artış gözlemlendi ($p < 0,001$) (Şekil 4.17 ve Çizelge 4.17).

Çizelge 4.17. NO değerleri ve istatistiksel değerlendirilmesi.

Gruplar	NO (nmol/mg-protein) ($\bar{X} \pm SS$)
Grup 1 (n=8)	2,66 $\pm$ 0,55
Grup 2 (n=8)	2,77 $\pm$ 0,55
Grup 3 (n=8)	4,56 $\pm$ 0,89 ^{a,b}
Grup 4 (n=8)	3,81 $\pm$ 0,36 ^{a,b}

$\bar{X} \pm SS$: Aritmetik ortalama $\pm$ standart sapma, Grup 1: Standart yem, Grup 2: Ketojenik diyet, Grup 3: Diyabet+standart yem, Grup 4: Diyabet+ketojenik diyet. Grup 1'e göre fark: a; $p < 0,001$. Grup 2'ye göre fark: b; $p < 0,001$



Şekil 4.17. NO (nmol/mg-protein) değerleri ve istatistiksel değerlendirmesi
Grup 1'e göre fark: a; $p<0,001$ Grup 2'ye göre fark: b; $p<0,001$

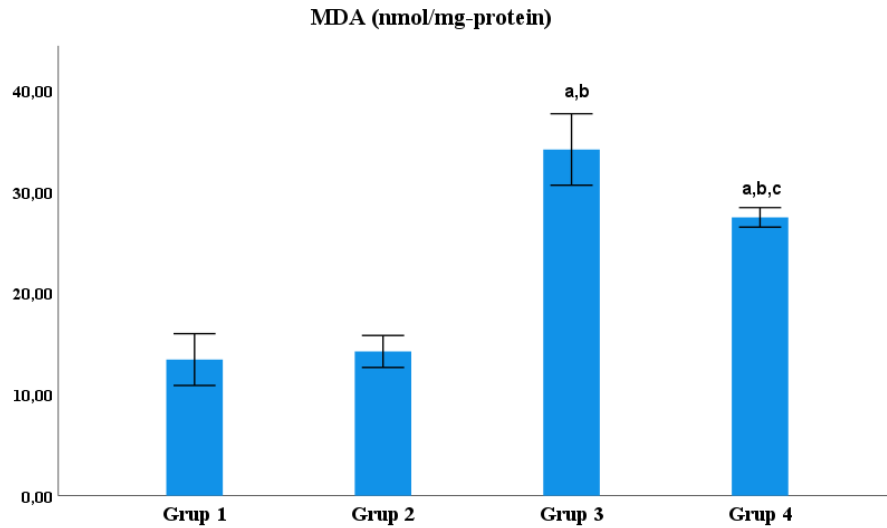
4.4.15 MDA düzeylerinin değerlendirilmesi

Karaciğer dokularında analiz edilen MDA düzeyleri her iki diyabet grubunda (Grup 3 ve 4) yüksek bulundu. İstatistiksel olarak gruplar arası karşılaştırmada ise Grup 1 ve 2'ye göre Grup 3 ve 4'te MDA düzeylerinde ileri derecede önemli artış gözlemlendi ($p<0,001$). Ayrıca Grup 4'e göre Grup 3'te MDA düzeylerinde ileri derecede önemli artış gözlemlendi ($p<0,001$) (Şekil 4.18 ve Çizelge 4.18).

Çizelge 4.18. MDA değerleri ve istatistiksel değerlendirmesi.

Gruplar	MDA (nmol/mg-protein) ($\bar{X} \pm SS$)
Grup 1 (n=8)	13,45 $\pm$ 3,06
Grup 2 (n=8)	14,25 $\pm$ 1,88
Grup 3 (n=8)	34,19 $\pm$ 4,22 ^{a,b}
Grup 4 (n=8)	27,49 $\pm$ 1,14 ^{a,b,c}

$\bar{X} \pm SS$: Aritmetik ortalama $\pm$ standart sapma, Grup 1: Standart yem, Grup 2: Ketojenik diyet, Grup 3: Diyabet+standart yem, Grup 4: Diyabet+ketojenik diyet. Grup 1'e göre fark: a; $p<0,001$. Grup 2'ye göre fark: b; $p<0,001$. Grup 3'e göre fark: c; $p<0,001$



Şekil 4.18. MDA (nmol/mg-protein) değerleri ve istatistiksel değerlendirmesi

Grup 1'e göre fark: a; $p<0,001$ Grup 2'ye göre fark: b; $p<0,001$ Grup 3'e göre fark: c; $p<0,001$

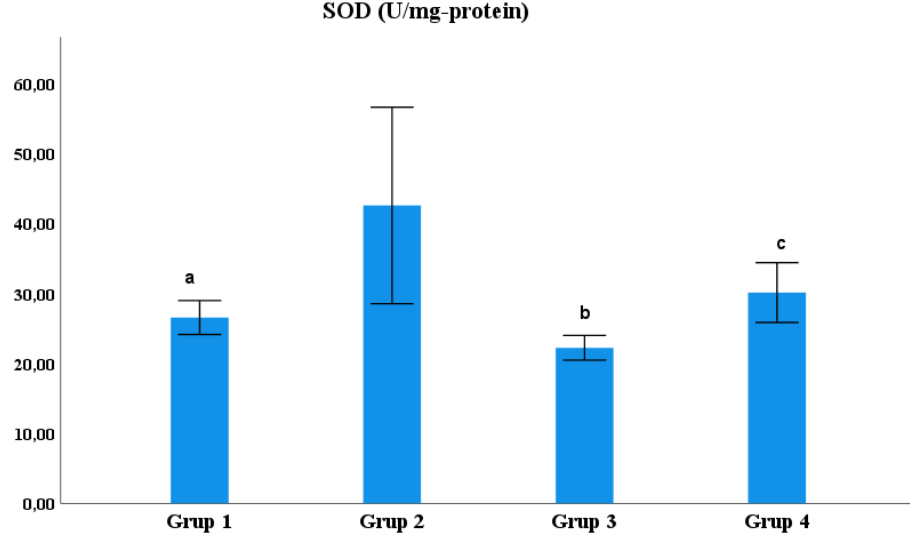
4.4.16 SOD düzeylerinin değerlendirilmesi

Karaciğer dokularında SOD enzim aktivitesi Grup 2'de diğer gruplara göre daha yüksekti. İstatistiksel olarak gruplar arası karşılaştırmada ise Grup 1, 3 ve 4'e göre Grup 2'de SOD düzeyleri arasındaki sırası ile $p<0,01$, $p<0,001$ ve $p<0,05$ istatistik anlamlılık düzeylerinde artış olduğu gözlemlendi. Grup 3'te SOD enzim aktivitesi ($22,23\pm2$) Grup 1'e ($26,56\pm2,89$) göre daha düşüktü ancak bu fark istatistiksel olarak önemli kabul edilmedi ($p>0,05$) (Şekil 4.19 ve Çizelge 4.19).

Çizelge 4.19. SOD değerleri ve istatistiksel değerlendirmesi.

Gruplar	SOD (U/mg-protein) ($\bar{X}\pm SS$)
Grup 1 (n=8)	$26,56\pm2,89^a$
Grup 2 (n=8)	$42,58\pm16,79$
Grup 3 (n=8)	$22,23\pm2,11^b$
Grup 4 (n=8)	$30,12\pm5,11^c$

$\bar{X}\pm SS$: Aritmetik ortalama $\pm$ standart sapma, Grup 1: Standart yem, Grup 2: Ketojenik diyet, Grup 3: Diyabet+standart yem, Grup 4: Diyabet+ketojenik diyet. Grup 2'ye göre fark: a; $p<0,01$. Grup 2'ye göre fark: b; $p<0,001$. Grup 2'ye göre fark: c; $p<0,05$



Şekil 4.19. SOD (U/mg-protein) değerleri ve istatistiksel değerlendirmesi

Grup 2'ye göre fark: a; $p<0,01$ Grup 2'ye göre fark: b; $p<0,001$ Grup 2'ye göre fark: c; $p<0,05$

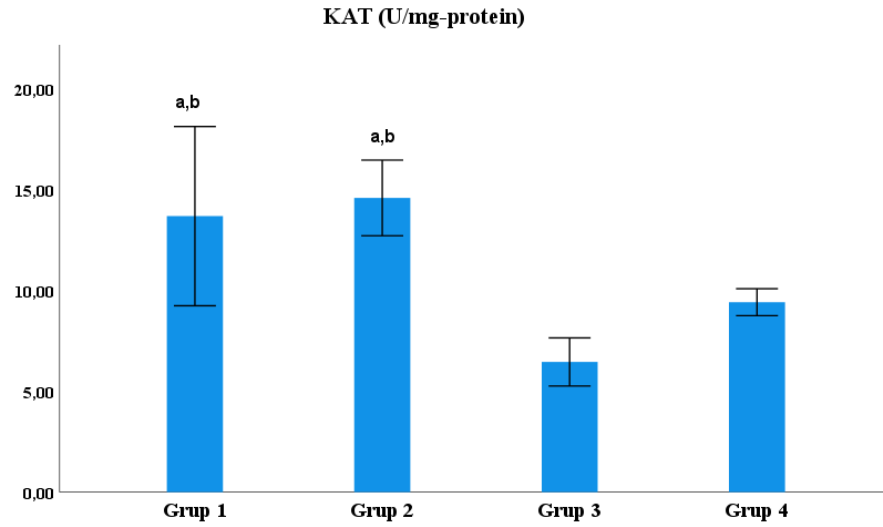
4.4.17 Katalaz (KAT) düzeylerinin değerlendirilmesi

Karaciğer dokularında KAT enzim aktivitesinin her iki kontrol grubunda (Grup 1 ve 2) yüksek olduğu görüldü. İstatistiksel olarak gruplar arası karşılaştırmada ise Grup 3 ve 4'e göre Grup 1 ve 2'de KAT düzeylerinde ileri derecede önemli artış gözlemlendi ($p<0,001$). Grup 4'ün göre KAT aktivitesi Grup 3'e göre daha yüksek olmakla birlikte bu fark istatistiksel olarak önemli kabul edilmedi ($p>0,05$) (Şekil 4.20 ve Çizelge 4.20).

Çizelge 4.20. KAT değerleri ve istatistiksel değerlendirmesi.

Gruplar	KAT (U/mg-protein) ($\bar{X} \pm SS$)
Grup 1 (n=8)	13,71 $\pm$ 5,32 ^{a,b}
Grup 2 (n=8)	14,62 $\pm$ 2,24 ^{a,b}
Grup 3 (n=8)	6,46 $\pm$ 1,42
Grup 4 (n=8)	9,43 $\pm$ 0,79

$\bar{X} \pm SS$: Aritmetik ortalama $\pm$ standart sapma, Grup 1: Standart yem, Grup 2: Ketojenik diyet, Grup 3: Diyabet+standart yem, Grup 4: Diyabet+ketojenik diyet. Grup 3'e göre fark: a; $p<0,001$. Grup 4'e göre fark: b; $p<0,01$



Şekil 4.20. KAT (U/mg-protein) değerleri ve istatistiksel değerlendirmesi

Grup 3'e göre fark: a; $p < 0,001$ Grup 4'e göre fark: b; $p < 0,01$

4.5 Histopatolojik Bulgular

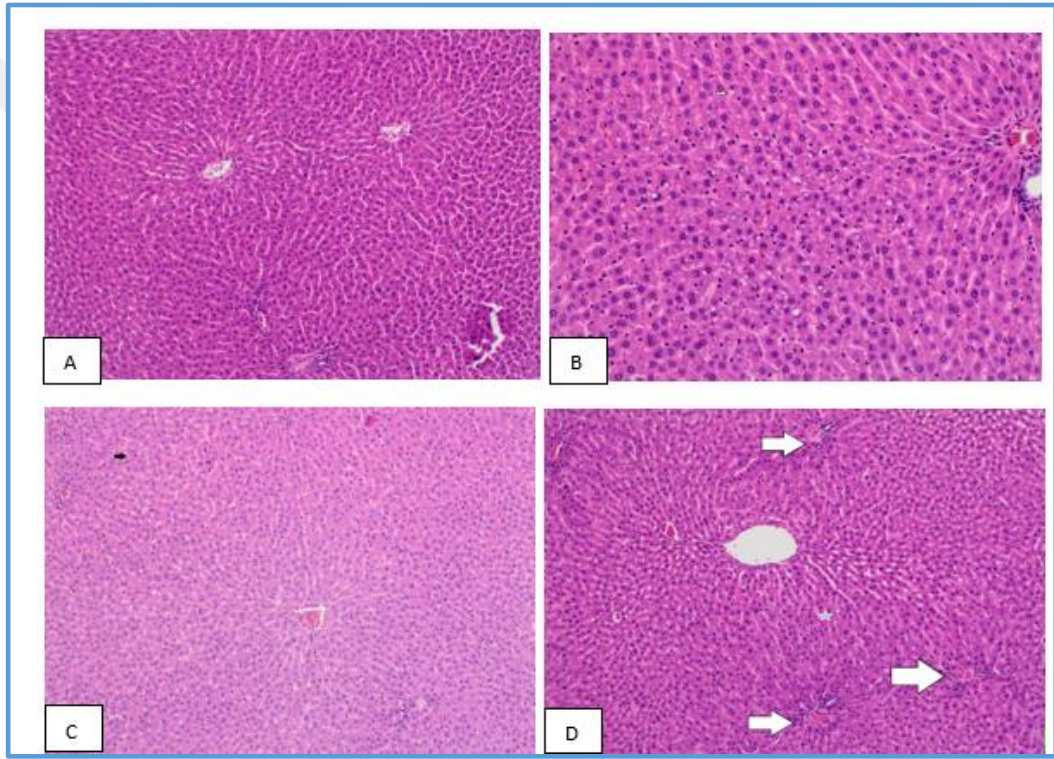
Çalışmada yer alan tüm gruplarda ratların karaciğerinden Hematoksilen-Eozin (H&E) boyaları kullanılarak hazırlanan kesitlerde yapılan histopatolojik değerlendirmeler yapılmıştır. Karaciğer dokularında yapılan histolojik değerlendirme ile elde edilen preparat görüntüleri Şekil 4.21'de verilmiştir.

Grup 1'e ait karaciğer bulguları: Grup 1'de bulunan ratların karaciğer dokusunun genel görüntüsü H&E boyama ile elde edilmiştir. H&E boyama ile karaciğerde minimal makroveziküler vakuolizasyon ve sinusoidlerde dilatasyonla beraber normal karaciğer parankim alanları ve portal alanlar izlendi. Hepatositler santral vene doğru ışınsal şekilde düzenlenmiş ve düzenliydi. Ayrıca bu hepatosit kordonları arasındaki sinüzoidlerin santral vene açıldığı ve portal alanın normal görüldüğü gözlemlendi. Genel olarak hepatositler, hepatosit kordonları ve genel lobül yapısı düzenli olup santral ven ve portal alandaki yapıların H&E boyama ile uyumlu şekilde düzenli olduğu görüldü (Şekil 4.21A).

Grup 2'ye ait karaciğer bulguları: Grup 2'de yer alan ve ketojenik yem ile beslenen ratların karaciğer mikroskopik görüntüleri Grup 1 ile karşılaştırıldığında histopatolojik farklılıkların olduğu izlendi. Bu farklılıklar istatistiksel olarak da anlamlı tespit edildi. H&E ile boyanan karaciğer dokularında hepatosit kordonların santral venden periferine doğru uzanan ışınsal düzende olduğu izlendi. Ancak santral ven çevresinde hafif şiddette inflamatuvar hücreleri ve makroveziküler steatoz gözlemlendi (Şekil 4.21B).

Grup 3'e ait karaciğer bulguları: Grup 3'te yer alan diyabet modeli geliştirilen ve standart yem ile beslenen ratlarda ise en belirgin bulguların hepatositlerde yaygın dejenerasyon ve nekroz şeklinde olduğu tespit edildi. Karaciğer dokusunda portal alanda mononükleer inflamatuvar infiltrasyon ve belirgin sinüzoidal dilatasyonlar, safra kanalı proliferasyonu ve intrasinüzoidal eritrositler görüldü. Bu grupta mikro ve makroveziküler steatoz gözlenmedi (Şekil 4.21C).

Grup 4'e ait karaciğer bulguları: Grup 4'te yer alan, diyabet modeli oluşturulan ve ketojenik yem ile beslenen gruptaki ratları karaciğer dokusunda hafif şiddette lenfosit içeren inflamasyon gözlemlendi. Bu grupta mikro ve makroveziküler steatoz gözlenmedi (Şekil 4.21D).



Şekil 4.21. Gruplara ait histopatolojik karaciğer kesitleri.

A: Grup1; İki adet santral ven kesiti görülmektedir. Karaciğerin normal histolojik yapısı izlenmekte (x10). H&E.

B: Grup 2; Santral ven çevresinde hafifi şiddette inflamatuvar hücre ve mikroveziküler yağlanma (beyaz ok) görülmektedir(x10). H&E.

C: Grup 3; Santral ven çevresinde inflamatuvar hücre ve intrasinüzoidal eritrositler, konjesyon ile uyumlu değişiklik görüldü (siyah ok) (x10). H&E.

D: Grup 4; Santral ven kesiti ve portal alan kesitleri (beyaz ok) görülmektedir. Parankimde hafif şiddette lenfosit içeren iltihabi reaksiyon görüldü (yıldız) (x10). H&E.

4.6 Histopatolojik Bulguların Değerlendirilmesi

Histolojik olarak ışık mikroskopik görüntülerde karaciğer dokusunda gelişen patolojik bulgular istatistiksel olarak da verilerimizi desteklemiştir. Grupların hiçbirinde portal alanda fibrozis gözlenmedi. Grup 2 ve 4'te ise hepatositlerde granüler bir materyal tespit edildi. Karaciğer dokularında histopatolojik değerlendirme için hepatosit hasarı, steatoz, genel lobül yapısı, inflamasyon ve kanama bulguları istatistiksel olarak incelemek için skorlanmıştır. Elde edilen bulgular ratlarda bireysel düzeyde (Çizelge 4.21) ve ortalama değerlere (Çizelge 4.22) göre verildi.

Çizelge 4.21. Gruplar arası karaciğer hasarına (histopatolojik bulguların) ait skorların dağılımı.

	Steatoz				Hepatosit hasarı				İnflamasyon				Konjesyon	
Skor	DY	H	O	Ş	DY	H	O	Ş	DY	H	O	Ş	Var	Yok
Grup 1 (n=8)	5	3		-	8	-	-	-	8	-	-	-	-	8
Grup 2 (n=8)	3	4	1	-	-	7	1	-	3	5	-	-	2	6
Grup 3 (n=8)	8	-	-	-	-	-	4	4	-	1	-	7	7	1
Grup 4 (n=8)	8	-	-	-	-	4	4	-	-	1	7	-	5	3

Çizelge da yer alan sayısal veriler belirtilen patolojik bulguyu gösteren rat sayısını ifade etmektedir. DY: Değişiklik yok, H: hafif, O: orta, Ş: şiddetli.

4.22. Gruplar arası karaciğer hasarına (histopatolojik bulguların) ait skorlarlar.

	Grup 1 (n=8)	Grup 2 (n=8)	Grup 3 (n=8)	Grup 4 (n=8)	p
Steatoz ($\bar{X} \pm SS$)	0,38 $\pm$ 0,51 ^a	0,75 $\pm$ 0,70	0	0	Grup 2'ye göre fark<0,01
Hepatosit hasarı ($\bar{X} \pm SS$)	0 ^b	1,13 $\pm$ 0,35 ^a	2,5 $\pm$ 0,53 ^a	1,50 $\pm$ 0,53 ^a	Grup 3'e göre fark:a; p<0,001
İnflamasyon ($\bar{X} \pm SS$)	0 ^a	0,63 $\pm$ 0,51 ^a	2,75 $\pm$ 0,70	1,88 $\pm$ 0,35 ^a	Grup 3'e göre fark:a; p<0,001
Konjesyon %	0	%25	%87,5	%62,5	-

$\bar{X} \pm SS$: Aritmetik ortalama $\pm$ standart sapma, Grup 1: Standart yem, Grup 2: Ketojenik diyet, Grup 3: Tip 2 DM grubu, standart yem, Grup 4: Tip 2 DM grubu, ketojenik diyet

5. TARTIŞMA

Gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde özellikle yaşam tarzındaki değişikliklerle birlikte Tip 2 DM prevalansı hızla yükselmekte ve morbidite ve mortaliteye en fazla neden olan hastalıklardan biri olarak kabul edilmektedir. Tüm diyabetli hastaların %90-95'ini oluşturan Tip 2 DM genellikle orta-ileri yaş hastalığı olarak kabul edilmektedir (Coşansu, 2015). Ancak son yıllarda toplumlardaki hızlı büyüme, sağlıksız ve düzensiz beslenme, obezite ve sedanter yaşam prevalanslarındaki artışlar nedeniyle çocuk ve adolesanlarda Tip 2 DM sıklığı giderek artmaktadır (ADA, 2021). Tip 2 DM ilerleyici bir hastalıktır ve değişken oranlarda insülin direnci, ilerleyici β -hücre disfonksiyonu, bazı bireylerde ise mutlak insülinin salınım eksikliği ile karakterizedir. Uzun vadede birçok komplikasyonu da beraberinde getiren Tip 2 DM, hastaların yaşam kalitesini büyük ölçüde etkilemektedir. Ciddi sağlık ve ekonomik yükleri nedeniyle Tip 2 DM önlenmesi ve müdahalesi acilen ihtiyaç duyulan önemli bir halk sağlığı sorudur.

Bozulmuş glikoz toleransı (prediyabet), Tip 2 DM gelişimi için önemli bir risk faktörüdür. Erken dönemde önlem alınmadığı takdirde pankreas β -hücre disfonksiyonu ile gelişen kronik hiperglisemi Tip 2 DM gelişimine zemin hazırlar. (Choy ve Louie, 2023). Diyabet tedavisinin temel hedeflerden biri hipergliseminin kontrol altına alınması ve kan glikozunu normal sınırlar içinde tutulmasını sağlamaktır. Bununla birlikte kilo kontrolü ve lipid düzeyleri, kan basıncı gibi diğer bilinen risk faktörlerinin de kontrol altına alınması gereklidir. Başarılı bir diyabet tedavisinin temel bileşenleri sağlıklı beslenme, düzenli fiziksel aktivite ve gerektiğinde tıbbi ilaç tedavisidir. Hastalara uygulanan farklı diyet müdahaleleri ile diyabetin komplikasyonlarının önlenmesinde ve iyi prognozunun sağlanmasında önemli katkılarının olduğu birçok araştırmada ortaya konmuştur. Bununla birlikte, Tip 2 DM'de hiperglisemiye kontrol etmek için optimal diyet yaklaşımına dair yeterli çalışma yoktur (Ajala vd., 2013).

Diyet alışkanlıklarındaki değişikliklerin, özellikle karbonhidrat içeriğinin azaltılmasının diyabet yönetiminde oldukça etkili ve güvenli olduğu gösterilmiştir. Çünkü diyetin karbonhidrat içeriği glisemik seviyeyi etkileyen en önemli faktördür. Düşük karbonhidratlı diyetlerin glisemik kontrolü iyileştirdiği ve eksojen insülin alımını azalttığı bildirilmiştir (Arora ve McFarlane, 2005). ADA, Diyabette Tıbbi

Bakım Standartları 2021 kılavuzunda, karbonhidrat kısıtlı beslenme tedavisinin Tip 2 DM'nin yönetimi için uygun bir seçenek olduğunu bildirmiştir (ADA, 2013). Çalışmalarda KD'nin vücuda daha az karbonhidrat girişi sağlayarak, daha az yağ depoladığı, yağ yıkımını sağladığı, glikasyon son ürünleri ve serbest radikal üretimini azalttığı, metabolik etkinliği arttırdığı, insülin duyarlılığını yükselttiği ve inflamasyonu azalttığı saptanmıştır. Diyabet hastalarının beslenme programına yeni bir kapı açan KD'nin kısa vadede iştah azalmasında, kilo vermede ve glisemik kontrolü sağlamada etkili olduğu düşünülmektedir (Yancy, 2003).

KD, düşük karbonhidratlı (%5-%10), orta proteinli (%15-%20) ve yüksek yağlı (%75) bir diyet olarak bilinir (Sukkar ve Muscaritoli, 2021). Uzun süreli açlığın metabolik durumunu taklit eden KD, vücudu yağ kullanmaya zorlayarak keton cisimlerinin üretimini tetikleyen bir beslenme formudur. Normal şartlarda vücudun enerji temini esas olarak glikozun oksidatif fosforilasyon yolundan sağlanır ancak karbonhidrat alımının yetersiz (50 gr/gün'den az) olduğu durumlarda (açlık, yüksek yağlı diyet gibi) yağ metabolizması ana enerji kaynağı haline gelir (Bough ve Rho, 2007). Yağlar karaciğerde birincil enerji kaynağı olarak kullanıldığında, ketogenez olarak bilinen bir süreç olan keton cisimlerinin üretimi başlar. Yağ metabolizması sürecinde, yağ asitlerinin β -oksidasyonunun artması ile oluşan asetil-KoA'lar, karaciğer mitokondrisinde glikozun yerini alacak alternatif bir enerji kaynağı olan keton cisimlerine (asetoasetat, β -hidroksibütirat ve aseton) çevrilerek dolaşıma verilir. Böylece KD vücutta fizyolojik ketonemiye indükler. Bu metabolik duruma "beslenme ketozisi" denir (Paoli vd., 2014). Vücut karbonhidrattan mahrum kaldığı sürece ketogenez devam eder. Çok düşük konsantrasyonlarda üretilen keton cisimcikleri kan pH'ında değişikliğe sebep olmadığı için beslenme ketozisi güvenlidir (Delikanlı Akbay, 2021; Brouns, 2018). Toplam alınan enerji ve karbonhidrat miktarının büyük oranda azaltılması, insülin ve glikoz seviyelerinin düşerek iç veya dış yağlardan keton cisimleri üretmeye zorlar. Üretilen keton cisimleri özellikle merkezi sinir sistemi olmak üzere glikoza alternatif bir enerji kaynağı olur (Veech vd., 2001)

Yağ dokusu, sadece enerji depolayan bir doku olarak değil, aynı zamanda çeşitli hormonlar ve sitokinler gibi biyolojik aktif maddeler salgılayarak metabolik fonksiyonlara katkıda bulunan bir endokrin organdır. Bu biyolojik aktif maddeler,

adipokinler olarak adlandırılır ve metabolizma, inflamasyon, insülin duyarlılığı ve enerji dengesi gibi birçok fizyolojik süreci etkileyebilir (Trayhurn vd., 2016). Yağ dokusunun artması veya azalması, metabolik sendrom, insülin direnci, Tip 2 DM ve kardiyovasküler hastalık gibi hastalıklarla doğrudan ilişkilidir. Adipokinlerin salınımındaki değişiklikler, yağ dokusunun bu hastalıkların gelişiminde kritik bir faktör olduğunu göstermektedir (Gimble, 2003). Ayrıca adipositlerden, proinflamatuvar ve antiinflamatuvar özelliklere sahip bazı sitokinler salınarak metabolizma ve immün sistem koordinasyonu sağlanır. Normal metabolik durumu olan bireylerde proinflamatuvar ve antiinflamatuvar adipokin dengesi vardır (Zorena vd., 2020). Obezite gelişimi sırasında yağ dokusu genişledikçe, bu denge proinflamatuvar mediatörlerin lehine değişir. Sonuç olarak, yağ dokusunun proinflamatuvar durumu, kronik düşük dereceli inflamasyon durumuna ve obezite ile ilişkili metabolik bozukluklara katkıda bulunur (Mancuso, 2016). Antiinflamatuvar sitokinler, zayıf adipoz dokuda insülin duyarlılığını korumaya yardım ederken, obezitedeki proinflamatuvar sitokinler insülin direncine yol açmaktadır. Yine proinflamatuvar sitokinler adipositlerde lipolizi uyarır ve diğer dokularda lipotoksisteye neden olurlar (Choe vd., 2016).

Karbonhidrat alımını azaltmanın vücut ağırlığını azalttığına ve Tip 2 DM'li hastalarda glikoz kontrolünü iyileştirdiğine dair kanıtlara rağmen, uzun vadede sürdürülebilirlik, güvenlik ve etkinlik hakkında çok az veri mevcuttur. Bu çalışmada, Tip 2 DM modeli oluşturulan ratlarda KD'nin glisemik kontrol, lipid profili, serum adipokin düzeylerine etkilerini, oksidatif stres-antioksidan savunmadaki rolünü ve karaciğer dokularında meydana gelebilecek olası histolojik değişiklikleri inceleyip sonuçlarını karşılaştırmayı hedefledik.

5.1 Tip 2 Diyabet Modelinin Oluşturulması

Deneyssel çalışmalarda çeşitli Tip 2 DM modelleri uygulanmakta ve insan Tip 2 DM modelinin fizyopatolojisini en iyi yansıtacak modeller denenmektedir. Genetik olarak Tip 2 DM oluşturulan hayvanlar hem bulunmalarındaki zorluk hem de pahalı olmaları nedeniyle tercih sebebi olamamaktadır (Srinivasan ve Ramarao, 2007). Kimyasal ajanlar kullanılarak laboratuvar şartlarında oluşturulan Tip 2 DM modellerinde STZ sıklıkla kullanılmaktadır. STZ; neoplastik, antineoplastik ve diyabetojenik özellikleri olan geniş spektrumlu bir antibiyotiktir (Lenzen, 2008; Bell

ve Hye, 1983). Pankreatik β -hücreleri içine GLUT2 aracılığı ile alınan STZ'nin ilk etkisinin β -hücrelerinin glikoza yanıtını ortadan kaldırmak olduğu düşünülmektedir ve bu olaydan sonra β -hücre hasarı görülür ve kayıp kalıcıdır (İrer ve Alper, 2004). Çalışmamızda kullandığımız nikotinamid (NAD) inhibitörü ile tedavi, STZ'nin diyabetojenik etkilerine karşı koruyucudur (Anderson vd., 1974).

Masiello vd. (1998)'ne göre NAD ve STZ'nin birlikte uygulanması, kronik diyabet çalışmalarına uygun, stabil ve orta şiddette hiperglisemiye neden olur. NAD; β -hücrelerini STZ aracılı sitotoksik zararlara karşı kısmen korur. NAD'nın, hücre içi NAD rezervini, NAD tüketici bir enzim olan ve STZ ile aktiflenen poli (ADP-riboz) sentetazın aktivitesini inhibe ederek koruduğu ileri sürülmektedir (Rabbani vd., 2010). Vikram vd. (2007) yaptığı bir çalışmada; STZ ile meydana gelen hücre hasarında glikasyon ürünlerinin yapımında artış ve oksidatif stres etkili olmakla beraber bu süreçlere polyol ve hekzozamin yolları ile protein kinaz-C aktivasyonlarının da katıldığını belirtilmektedir. STZ-NAD modelinde; β -hücreleri hala fonksiyoneldir. Novelli vd. (2000)'ne göre β -hücre kütlelerinde sadece % 40'lık azalma görülmektedir. Böylece insan Tip 2 diyabeti ile birçok yönden benzetilmektedir.

Araştırmamızda kullanılan wistar albino cinsi erkek ratlarda STZ ve NAD uygulaması ile deneysel diyabet modelinin oluşturulması planlanmıştır. STZ ve NAD indüksiyonundan 72 saat sonra ratların kuyruk veninden alınan kan örneklerinde açlık kan glikozunun 250 mg/dL'nin üzerinde gelmesi ile hayvanlarda deneysel diyabet başarılı bir şekilde oluşturulmuştur (Cheng vd. 2003; Liu vd. 2001). Bununla birlikte diyabet oluşan ratlarda deney süresince polifaji, polidipsi ve poliüri gözlenmiştir. Diyabetli ratlarda gözlenen bu klinik bulgular diyabetin klinik bulguları ile uyumlu olarak değerlendirilmiştir.

5.2 Yem Tüketimlerinin Değerlendirilmesi

Çalışmamızda, deney gruplarının yem tüketim profillerine bakıldığında; Çizelge 4.1 ve Şekil 4.1'de görüldüğü gibi KD ile beslenen her iki grup (Grup 2 ve 4) standart yem ile beslenen gruplara (Grup 1 ve 3) göre daha az yem tüketmiştir. Deney boyunca en fazla yem tüketiminin ise diyabet modeli oluşturulan Grup 3'te olduğu gözlenmiştir.

Diyabetin önemli hiperglisemi semptomları arasında poliüri, polidipsi, polifaji ve kilo kaybı yer almaktadır. Polifaji, yani aşırı yeme veya sürekli açlık hissi vücudun insülini etkili bir şekilde kullanamaması ve kan-glikoz düzeylerinin sürekli yüksek olmasına bağlı gelişir. Özellikle diyabetin erken dönemlerinde, vücut hücreleri glikozu etkili bir şekilde kullanamadığı için enerji eksikliği yaşanır. Bu durumda vücut, enerji ihtiyacını karşılamak için daha fazla yeme isteği oluşturur. Çalışmamızda diyabet oluşturulan grupta (Grup 3) gelişen hiperglisemiye paralel olarak haftalık yem tüketiminin diğer gruplara göre daha fazla olduğu gözlenmiştir.

Açlık ve tokluk, vücut ağırlığının düzenlenmesinde rol oynayan iki önemli mekanizmadır. İnsanlar gıda alımını kendi istekleriyle düzenleyebilse de merkezi sinir sistemi içinde gıda alımını ve enerji harcamasını düzenleyen sistemler vardır. Kontrol merkezi beynin farklı bölgelerine yayılmış olan bu karmaşık ağ, yağ dokusundan, gastrointestinal sistemden, kandan ve periferik duyu reseptörlerinden bilgi alır. Beynin açlık/tokluk merkezlerinin eylemleri besinlerden, hormonlardan ve diğer sinyal moleküllerinden etkilenir. KD uygulaması ile açlığın fizyolojik etkilerine benzer bir tablo oluşur ve enerji için keton cisimleri kullanılmaya başlanır. Bu diyet vücut metabolizmasını glikoliz yerine keton cisimlerinin oksidasyonuna yönlendirerek metabolizmayı ketogeneze doğru kaydırır. Kanda keton cisimlerinin 0,5-3 mM arasında tutulması ile beslenme ketozisi sağlanmış olur. Keton cisimleri, özellikle beyin gibi bazı dokuların enerji ihtiyacını karşılamak için kullanılır. Bu süreçte kan glikoz seviyesinin korunması keton cisimlerinin iştah bastırıcı etkisinde anahtar rolü üstlendiğini göstermektedir. Yağların karbonhidratlara ve proteinlere göre daha yavaş sindirilmesi sayesinde uzun süreli tokluk hissi oluşur. KD tokluk hissini destekleyen kolesistokinin hormonunun salınımını önemli ölçüde artırır. Ayrıca açıklanan metabolik değişiklikler, keton cisimlerinin anoreksijenik özelliklerine bağlı olarak açlığın azalmasına olanak tanır (Longo ve Mattson, 2014). KD uygulanan bazı çalışmalarda iştahı, açlık hissini ve gıda alımını azalttığı bildirilmiştir (Kirkpatrick vd., 2019). Roberts vd. (2017), KD uygulanan erkek C57BL/6 farelerin kontrol diyetine göre daha az besin tükettiklerini ve vücut ağırlıklarının azaldığını bildirmiştir. Çalışmamızda kullanılan farklı kalorilere sahip ketojenik ve standart rat yemleri serbest erişimle hayvanlara verilmiştir. KD'nin enerji değerinin daha yüksek olması ratlarda doyurucu bir etki sağlayarak günlük yem tüketim miktarının standart yem tüketen gruplara (Grup 1 ve 3) göre daha az olmasına neden olduğu düşünülmektedir.

Grup 4'te bulunan KD ile beslenen diyabetik ratlarda yem tüketim miktarı kendi kontrol grubu (Grup 2) ile istatistiksel olarak bir fark gözlenmemiştir. Grup 3'te bulunan ratlarda diyabetin indüklenmesi ile gelişen hiperglisemi ile birlikte yem tüketim miktarı artmıştır. Diğer taraftan KD, diyabetik ratlarda kan glikoz düzeylerinin (260,00-281,75 mg/dL) deney boyunca stabil seyretmesi nedeniyle yem tüketim miktarında artışa neden olmamıştır. İştahın bastırılmasına katkıda bulunan mekanizmalar tam olarak anlaşılmamıştır ancak keton cisimlerinin merkezi sinir sistemine etkileri, karbonhidrat kısıtlamasının etkilerini veya artan yağ ve protein alımının etkilerinin olabileceği düşünülmektedir (Gibson vd., 2015).

5.3 Vücut Ağırlıklarının ve BKİ'lerinin Değerlendirilmesi

Yüksek vücut ağırlığı ile ilişkili olarak BKİ'nin 25 kg/m^2 'nin üstünde olması Tip 2 DM için ilk sırada gösterilen önemli risk faktörlerinden biridir. Tip 2 diyabetiklerin % 90'ının obez olduğu belirtilmektedir. Azalmış vücut ağırlığı ile Tip 2 DM görülme riski azalırken obezite ile ilişkili diğer komorbidite varlığı ve komplikasyon görülme sıklığı da eş zamanlı olarak azalır. Sürdürülebilir ve korunabilir kilo azalmasının sağlanması Tip 2 DM tedavi yöntemlerinin hedefleri arasındadır. Kilo kaybı ile hipergliseminin azaltılabildiği belirtilmektedir (Franz vd., 2002).

Çalışmamızda gruplarda yer alan her bir ratın boy ve ağırlığı deney süresi boyunca haftalık olarak ölçülmüştür. Araştırmamızda yer alan ratların genç erişkin olması nedeniyle büyüme ve gelişim süreçleri devam ettiği için Grup 1, 2 ve 4'te yer alan ratların ağırlıklarının arttığı düşünülmektedir. Ancak diyabet indüklenen Grup 3'te ratların deney boyunca boy ortalamaları değişmezken ağırlık kaybı gerçekleşmiştir. Grup 3'te bulunan ratların ağırlıklarının azalması ilk haftadan itibaren başlamışsa da daha çok son haftada belirgin olmuştur.

Çalışmamızda uygulanan diyet türüne göre ratların ağırlıkları arasında istatistiksel olarak anlamlı değişimler gözlenmiştir. Grupların vücut ağırlıkları karşılaştırıldığında en düşük vücut ağırlığı artışı standart yem ile beslenen grupta (Grup 1) gözlenmiş, sonra sırasıyla KD ile beslenen diyabetik grupta (Grup 4) ve KD ile beslenen kontrol grubunda (Grup 2) vücut ağırlığı artışı saptanmıştır. Sonuç olarak Grup 2'de diğer gruplara göre deney sonunda ölçülen vücut ağırlıklarının diğer gruplara göre anlamlı düzeyde arttığı görüldü ($p < 0,001$).

Ratlarda STZ ve NAD kombinasyonu ile oluşturulan deneysel diyabet modellerinde, ciddi ağırlık kayıpları daha önceki araştırmalarda bildirilmiştir (Kavishankar ve Lakshmidhevi, 2014; Pari ve Srinivasan, 2010; Ahn vd., 2006). DM'nin katabolik yolları uyarması sonucu vücut ağırlığının azaldığı bilinmektedir. Karaciğer ve kaslardaki glikojen depolarının tükenmesi veya insülin yetersizliğine bağlı olarak glikoz oksidasyonunun bozulması durumunda, vücut alternatif enerji kaynaklarına yönelir (Paoli vd., 2023). İnsülin, vücuttaki ana anabolik hormondur ve normalde hücrelere glikozun alınmasını, protein sentezini ve yağ depolanmasını teşvik eder. Dolayısıyla, insülin eksikliği veya insülin direnci durumunda, vücut bu anabolik etkilere yeterince yararlanamaz ve katabolizmayı artırabilir. Ayrıca diyabet tablosunda gelişen hiperglisemi böbreklerde glikoz eşığının yükselmesine ve glikozüriye neden olur. Su ve beraberindeki elektrolitlerin osmotik etkisi, suyun idrarla atılmasını artırabilir. Bu da su kaybına ve dehidrasyona yol açabilir. DM'de ortaya çıkan glikozüri ile atılan her gram glikoz için vücuttan 4,1 kcal enerji kaybedilir. Glikozun idrarla birlikte atılması ve/veya hücrelerde kullanılamamasına bağlı olarak yağ ve protein yıkımı meydana gelir. Bu yıkım yapısal proteinlerin de kaybına veya bozulmasına yol açtığı ve yapısal proteinlerde vücut ağırlığına katkıda bulunduğu için vücut ağırlığında da azalmaya neden olur. Proteinin aşırı katabolizması, glikoneogenez için gerekli amino asitlerinin de katabolizması tedavi edilemeyen diyabetik sıçanlarda kas erimesi ve kilo kaybına yol açar (Ramesh ve Pugalendi, 2006). Bizim tez çalışmamızda da benzer çalışmalarda olduğu gibi Grup 3'teki hayvanlarda diyabet indüklendikten bir hafta sonra yem tüketimindeki artışa rağmen 4 haftalık beslenme periyodunda ağırlık kaybı olmuştur. Hücrelerin glikozu yeterince kullanamaması nedeniyle aşırı ağırlık kaybının geliştiği düşünülmektedir. Yine bu grupta poliüri, polidipsi ve polifaji gibi diyabetin spesifik belirtileri çalışmanın 2. haftasından itibaren görülmeye başlamıştır.

KD, son yıllarda kilo verdirici etkisi nedeniyle oldukça popüler hale gelmiştir. Yapılan meta-analiz çalışmalarında KD'nin yem tüketimi, kalori alımı, vücut ağırlığı kontrolü üzerindeki etkisi araştırılmış ve beslenme ketozisinin vücut ağırlığı yönetiminde etkili olduğu bildirilmiştir (Zhou vd., 2022). Bu çalışmalarda genellikle KD'nin vücut ağırlığını standart yemlere göre daha az artırdığı ya da daha fazla ağırlık kaybı oluşturduğu görülmüştür (Khodabakhshi vd., 2020; Gomez-Arbelaes vd., 2017; Peres vd., 2013). Roberts vd. (2017), KD ile beslenen erkek C57BL/6

farelerin kontrol diyete göre daha az besin tükettiklerini ve vücut ağırlıklarının azaldığını bildirmiştir. Literatürden farklı olarak çalışmamızda, standart yem ve KD ile beslenen kontrol gruplarını (Grup 1 ve 2) karşılaştırdığımızda; her iki grupta da ikinci haftanın sonuna kadar benzer oranlarda ağırlık artışı olmuştur. Ancak Grup 2’de üçüncü ve dördüncü hafta sonunda Grup 1’e göre ağırlık artışında anlamlı fark görülmüştür.

KD’nin vücut ağırlığını azaltmadaki rolüne ilişkin çeşitli olası mekanizmalar öne sürülmüştür. Her 1 gr glikojen, 3 gr suda depolanır; bu nedenle başlangıçtaki kilo kaybı glikojen depolarının tükenmesi ve su atılımına bağlı olabilir. Ketonların diüretik ve iştah bastırıcı etkisinin olduğu bilinmektedir. KD’deki yüksek yağ içeriği sindirimi geciktirerek tokluk hissi sağlar. Ayrıca yüksek yağ tüketiminin lipogenezin azalmasına, lipolizin ve glikoneogenezin artmasına bağlı ağırlık kaybının olabileceği düşünülmektedir (Zhou vd., 2022)

Çalışmamız boyunca hayvanlara yemler serbest erişimle verilmiştir ve bu nedenle günlük alınan kalori miktarları farklı değerlerdedir. Uygulanan KD’nin kalori değerinin daha yüksek olması ve hayvanların deney süresince fiziksel hareketlerinin kısıtlı olması nedeniyle diyet ile alınan yüksek enerjinin kullanılamamasına bağlı ağırlık artışının olduğu düşünülmektedir. Bu sonuç, kalori alımının diyet türünden daha önemli olduğunu göstermektedir. Bir çalışmada 66 gün boyunca uygulanan KD’nin erişkin ratlarda daha fazla kalori almasına rağmen egzersiz ile enerji harcanmasının artmasına bağlı vücut ağırlıklarının azaldığı bildirilmiştir (Murray vd., 2016). Bizim sonuçlarımıza benzer şekilde Ribeiro vd. (2008), KD ile beslenen farelerin, standart yem ile beslenen farelere göre ağırlık artışlarının daha az olmasına rağmen yağ kütlelerinde önemli bir artış olduğunu bildirmişlerdir. Başka bir çalışmada Drabińska vd. (2022) aralıklı oruç ve KD uygulamasının ratlarda ağırlık artışının daha düşük olduğunu bildirmiştir. Sonuç olarak KD’nin ratlarda tek başına etkili olamayacağı veya deney süresinin kısa olmasına bağlı olarak KD ile beslenen gruplarda ağırlık artışının olduğu düşünülmektedir

Çalışmamızda yer alan ratlar 24 saat boyunca ad libitum olarak beslenmişlerdir. Ancak ratlar, insanların aksine gece (ratların uyanıklık periyodu: ~19.00-7.00) aktif canlılar oldukları (nokturnal) ve daha çok gece beslendikleri için, gündüz saatleri (ratların uyku periyoduna karşılık gelen saatlerde) beslenen ratların, gece beslenen

ratlara oranla lipid sentezi ve yağ doku miktarlarının arttığı gösterilmiştir (Zhu vd., 2022). Bu nedenle Grup 2 ve 4'teki ratların uyku periyodu saatleri içinde de beslenmeye devam ettikleri için düşük ağırlık artışı gösteremediklerini düşünüyoruz. Böylelikle, KD ile yanlış zamanda beslenildiğinde beklenen düşük ağırlık artışının veya ağırlık kaybının sağlanamadığını söyleyebiliriz.

5.4 Kan Glikoz Düzeyi Değişiklikleri

Çalışma boyunca ratların açlık kan glikoz değerleri düzenli olarak takip edilmiştir. Çalışmanın başlangıç haftasında grupların ortalama glikoz düzeylerinde anlamlı bir farklılık görülmemiştir ($p>0,05$). Kan glikoz düzeyleri STZ uygulamasını takiben Grup 3 ve 4'te bulunan diyabetik ratlarda Grup 1 ve 2'de bulunan ratlara göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde yükselmiştir. Diyabetik guruplardan elde edilen açlık kan glikoz değerleri, doğal olarak diyabetin bir karakteristiği olan artmış kan glikoz düzeylerini ortaya koymaktadır. Çalışmamızda diyabet modeli oluşturulan Grup 3 ve 4'ün kan glikoz düzeyleri kıyaslandığında; ikinci haftadan itibaren Grup 3'teki ratların kan glikoz düzeyleri Grup 4'e göre anlamlı şekilde arttığı görülmüştür ($p<0,001$). Grup 4'te yer alan ve KD ile beslenen diyabetik ratlarda kan glikoz düzeyinin Grup 3'e göre daha stabil seyrettiği dikkat çekici bir bulgu olmuştur. Bu durum KD'nin açlık kan glikozunu standart yeme göre daha etkili düzenlendiği ve hipoglisemik etkiye sahip olduğunu düşündürmektedir. Çalışma boyunca kontrol gruplarının (Grup 1 ve 2) açlık kan glikoz değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmamıştır.

Tip 2 DM, açlık plazma glikoz konsantrasyonları ≥ 126 mg/dL ve HbA1c $\geq$ %6,5 olan kronik hiperglisemi ile karakterize bir tablodur (ADA, 2017). Beslenme alışkanlıklarındaki değişiklikler glisemik düzeyi etkiler ve diyet karbonhidratları postprandiyal glikoz seviyelerinin ana belirleyicisidir. Tip 2 DM'yi tedavi etmek için diyet karbonhidrat alımını azaltmak doğru bir yaklaşım olarak görülmektedir. Kan glikoz düzeyi, bağırsaktan glikoz emiliminin miktarı ve hızı ile dolaşıma girdiğinde kullanım veya depolanma oranı tarafından belirlenir. Diyabette, sindirilen karbonhidratlar esas olarak glikoz olarak emildiğinden, kan glikoz seviyesinde ani bir artış olur.

KD'nin içeriği esas olarak glikoz yerine trigliseritler ve proteinler emilir. Böylece daha düşük kan glikoz seviyesini sağlamasında, kan glikoz düzeyindeki dalgalanmanın azaltılmasında KD etkili olmaktadır. Bu durum glikoz metabolizmasının pozitif regülasyonunun göstergesidir (Yuan vd., 2020; Al-Khalifa vd., 2009).

Zhang vd. (2020) sekiz hafta boyunca KD ile beslenen diyabetik farelerde glisemik kontrolün sağlandığını ve glikoz homeostazının iyileştiğini belirtmişlerdir. Dashti vd. (2007), 64 hastanın katıldığı bir çalışmada 56 hafta boyunca uygulanan KD'in diyabetik hastada açlık kan glikoz düzeyinin $10,481 \pm 3,026$ mmol/L'den $4,874 \pm 0,556$ mmol/L'ye önemli ölçüde düştüğünü ($p < 0,0001$) ve KD'nin glisemik kontrolünü iyileştirmede etkili olduğu bildirmişlerdir.

KD'nin hayvan modellerinde diyabetteki yaralı etkisine ilişkin iki deneysel çalışma yapılmıştır. Birinci deney grubunda 8 haftalık bir süre boyunca ratlar normal, yüksek karbonhidratlı diyet ve KD ile önceden adlibitum beslendi ve ardından koruyucu etkisini incelemek için STZ ile diyabet oluşturuldu ve 4 hafta sonra sakrifiye edildi. Bu tür çalışmalar önceden beslemeli veya koruyucu deneyler olarak tanımlanmaktadır (Al-Khalifa vd., 2011). İkinci deney grubunda, ratlarda STZ ile diyabet modeli oluşturuldu ve ardından terapötik rolünü anlamak için 8 hafta boyunca normal, yüksek karbonhidratlı diyet ve KD ile adlibitum beslendi. Bu tür çalışmalar ise beslenme sonrası veya terapötik deneyler olarak tanımlanmaktadır (Al-Khalifa vd., 2009). Önceden beslenen (koruyucu) çalışmanın sonunda KD grubu dışındaki tüm gruplarda gıda alımı, su alımı ve idrar çıkışı anlamlı derecede arttı ($p < 0,01$), KD ile beslenen hayvanların ağırlık artışında diğer gruplarla karşılaştırıldığında önemli bir azalma görüldü ($p < 0,05$). Yine bu çalışmada diyabetik ratlarda β -hücre sayısında önemli bir azalma fark edilmesine rağmen, KD uygulanan diyabetik ratlarda β -hücre sayısında herhangi bir değişiklik olmadı. Dolayısıyla bu çalışmada KD'nin ratlarda STZ kaynaklı diyabet gelişimini ve komplikasyonunu önlediğini göstermektedir (Al-Khalifa vd., 2011). Beslenme sonrası çalışmanın sonunda ise diyabetik KD grubunun kan glikoz seviyelerindeki artış normal diyet ($p < 0,005$) ve yüksek karbonhidratlı diyet grubuna ($p < 0,01$) göre anlamlı derece düşüktü. Ayrıca bu çalışmada normal diyet ve yüksek karbonhidratlı diyet gruplarında vücut ağırlığında artış gözlenirken, KD grubunun kontrol ve diyabetik

grupları arasında vücut ağırlığında anlamlı bir değişiklik olmadı. Bu çalışma, KD'nin diyabetik durumu iyileştirmede ve hiperglisemiye stabilize etmeye yardımcı olmada yararlı bir etkiye sahip olduğunu göstermektedir (Al-Khalifa vd., 2009). Bu deney modeline benzer şekilde yapılan bizim çalışmamızda KD gruplarında ağırlık artışına rağmen glisemik kontrolün sağlandığı, KD'nin diyabetik ratlarda açlık kan glikoz düzeyini kontrol grubuna göre anlamlı şekilde düşürdüğü gözlenmiştir. KD'nin kilo kaybından bağımsız olarak glikoz metabolizmasını iyileştirdiği vurgulan bir çalışma yapılmıştır. Bu çalışmada KD tüketen hastalarda ketozun ve ardından gelen kilo kaybının glisemik kontrol üzerindeki etkisini araştırdılar. KD'nin kontrol grubuna göre glisemik seviyeleri önemli ölçüde daha fazla iyileştirdiğini, ancak her iki gruptaki hastaların da benzer bir kilo kaybı elde ettiğini buldular (Rafiullah vd., 2022).

5.5 HbA1c, İnsülin ve HOMA-IR Değerleri

Çalışmamızda diyabet modeli oluşturulan Grup 3 ve 4'teki ratların HbA1c değerlerinin Grup 1 ve 2'ye göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde arttığı görülmüştür ($p<0,001$). Grup 3 ve 4'ün HbA1c değerleri kıyaslandığında ise Grup 3'ün HbA1c değerlerinin anlamlı olarak yüksek bulunmuştur ($p<0,01$). Grup 1 ve 2'de yer alan ratların HbA1c değerlerinde ise anlamlı bir fark görülmedi ($p>0,05$).

HbA1c, eritrositlerde bulunan hemoglobinlerin glikoz ile uzun süreli etkileşimi sonucunda oluşur. Eritrositlerin yaşam süresi yaklaşık olarak 120 gün (4 ay) civarındadır. Dolayısıyla, HbA1c seviyesi, son yaklaşık 3-4 aylık dönemdeki ortalama kan glikoz düzeyini yansıtır. Ancak wistar türü ratlarda eritrosit yaşam süresinin yaklaşık 60 gün olduğu bildirilmiştir (Derelanko, 1987). Bu nedenle elde edilen HbA1c düzeyleri ratların 4 haftalık hiperglisemi tablosunu yansıtmaktadır. Çalışmamızda HbA1c seviyelerinin diyabet modeli oluşturulan her iki grupta (Grup 3 ve 4) açlık glikoz düzeylerine paralel bir şekilde yüksek çıktığı anlaşılmaktadır. KD ile beslenme diyabetik ratlarda açlık kan glikozunu düzenlendiği gibi HbA1c düzeylerinin yükselmesini de önlemiştir.

Son yıllarda, diyabette kan şekeri kontrolünün ve oksidatif stresin derecesinin bir indeksi olarak kabul edilen HbA1c üzerine çeşitli çalışmalar yapılmıştır. HbA1c değeri, diyabetik hastalarda glisemik kontrolün değerlendirilmesinde altın standarttır.

ADA, diyabet hastaları için %7'den daha düşük bir HbA1c hedefi önermektedir. Bu parametreye dikkat çeken Webster vd. (2019), altı ay boyunca KD uygulanan Tip 2 DM'li hastaların ortalama HbA1c değerlerinin %7,5'ten %5,9'a düştüğünü bildirmişlerdir. 28 obez diyabetik hastadan oluşan bu çalışmada 16 hafta boyunca uygulanan KD sonrası HbA1c değerinde anlamlı bir düşüşün olduğu gözlenmiştir. Lichtash vd. (2020) tarafından yapılan başka bir vaka çalışmasında ise Tip 2 DM ve normal kilolu bir kadın hastanın 14 ay boyunca uygulanan KD sonrası kilosunu korurken HbA1c değeri %9,3'ten %5,8'e düşmüştür. KD'in Tip 2 DM hastaları üzerinde etkilerinin araştırıldığı bir metaanaliz çalışmasında KD'nin ez az üç ay uygulandığı sekiz çalışma incelenmiştir. Hastaların HbA1c değerinde dikkate değer bir azalmanın görülmesi sonucu, KD'in kan glikoz seviyelerini etkili bir şekilde düzenlediği bildirilmiştir. Walton vd. (2019) günde <30 gr karbonhidrat içeren bir KD'i kabul eden hipoglisemik etkili ilaçlar kullanmayan ve yeni tanı almış Tip 2 DM'li 11 kadın hastayı 90 gün boyunca takip etmişler. Uygulama sonrası katılımcıların HbA1c değerlerinde anlamlı bir düşüş izlenmiştir. Ayrıca lipid profilinde olumlu değişimler ve deneklerde anlamlı kilo kaybı görülmüştür. Bu çalışma sonunda diyet yönetiminin ilacın ideal terapötik etkilerini de sağlayabileceği bildirilmiştir. Literatürde diyabette KD'nin HbA1c düzeylerine etkilerinin değerlendirilmesinde genel olarak uzun vadeli araştırmalar planlanmıştır. Çalışmamızda dört hafta süren KD uygulamasının diyabetik ratlarda HbA1c düzeylerinin anlamlı şekilde düşük olması dikkat çekici bir bulgu olarak görülmektedir. KD'nin diyabetik hastalarda oksidatif stres derecesinin bir indeksi olarak kabul edilen HbA1c düzeyini düşürmesinin, ROT üretiminde azalma ve oksidatif durumda bir iyileşmeye işaret ettiği düşünülmektedir. Bizim çalışmamızda da KD gruplarında oksidatif stres belirteçlerinin standart yem ile beslenen gruplara göre anlamlı şekilde düştüğü görülmüştür.

Çalışmamızda diyabet modeli oluşturulan Grup 3 ve 4'teki ratların serum insülin düzeylerinin Grup 1 ve 2'ye göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde arttığı görülmüştür ($p<0,001$). Grup 3 ve 4'ün serum insülin düzeyleri kıyaslandığında ise Grup 3'ün insülin değerlerinin anlamlı olarak yüksek bulunmuştur ($p<0,01$). Grup 1 ve 2'de yer alan ratların insülin değerlerinde ise anlamlı bir fark görülmedi ($p>0,05$).

Karbonhidratlar glikozun ana kaynağı olduğundan, bunların alımının azaltılması insülin gereksiniminde azalmaya, insülin duyarlılığında iyileşmeye ve tokluk glisemisinde azalmaya yol açabilir. Tip 2 DM patogenezinin altında yatan insülin direnci mekanizması, dolaşımda normal veya yüksek seviyedeki insülin seviyesine rağmen azalmış cevap olarak tanımlanmaktadır (Pesta vd., 2017). Tip 2 DM'nin ilerlemesinin erken evresinde, β -hücresi telafi edici mekanizmalar tipik olarak normoglisemiyi koruyacak şekilde uyum sağlamıştır. Bu metabolik durumdaki β -hücre fonksiyonuna bağlı olarak artan insülin biyosentezi, glikoz ve lipid metabolizmasında değişiklikler gelişmektedir. Birçok metabolik süreç insülin tarafından yönetilmekte ve hücre içine glikozun girişini sağlayarak temel enerji üretme fonksiyonunu gerçekleştirmektedir. Yalnız diyetel müdahalelerle diyet karbonhidrat alımının azaltılması insülin düzeyini olumlu etkileyebilmektedir. KD'nin açlık hiperglisemisini etkili bir şekilde düşürdüğü, hepatik glikoz üretimini azalttığı ve vücut ağırlığını önemli ölçüde etkilemeden kısa sürede insülin duyarlılığını arttırdığını bildiren çalışmalar bulunmaktadır (Li vd., 2020; Roberts vd., 2017). Westman vd. (2008) ve Partsalaki vd. (2012), KD'nin karbonhidratın neden olduğu glisemik yanıtı azaltarak ve potansiyel insülin direncini iyileştirerek Tip 2 DM'yi iyileştirdiğini göstermiştir. Çalışmamızda diyabet modeli oluşturulan Grup 3'te yer alan ratlarda insülin düzeylerinde artışa rağmen kan glikoz seviyelerinde de artışın devam etmesi insülin direncinin geliştiğinin bir göstergesi olabilir. KD ile beslenen diyabetik ratların (Grup 4) kan glikozunun daha iyi kontrol edilebilmesi nedeniyle serum insülin düzeylerinde de daha az artışın olduğu düşünülmektedir.

İnsülin direncini iyileştirmek, diyabet tedavisindeki ana hedeflerinden biridir. İnsülin direncinin değerlendirilmesinde kullanılan metotlardan bir tanesi HOMA-IR hesaplama yöntemidir. Çalışmamızda elde ettiğimiz veriler ile insülin direncinin tespit etmek için gruplara ait HOMA-IR indeksi düzeylerini inceledik. Serum insülin düzeylerine paralel şekilde Grup 3'ün HOMA-IR düzeylerini diğer gruplardan istatistiksel olarak anlamlı bir biçimde daha yüksek olduğu gözlenmiştir. KD ile beslenen diyabetik grubun (Grup 4) diyabetik kontrol grubuna (Grup 2) kıyasla serum insülin ve HOMA-IR değerlerinde düşüş sağladığı saptanmıştır. Literatürde diyabetli hastalarda insülin direncinin iyileştirilmesinde KD'nin rolünü araştıran çalışmalar oldukça sınırlıdır. Ayrıca çalışmaların çoğu obez deneklerdeki etkiye odaklanmıştır (Saslow vd., 2014; Stocker vd., 2019). Örneğin, diyabeti olmayan obez

kişilerde KD tüketiminin etkilerini hedefleyen kontrollü bir klinik çalışma, 6 hafta boyunca KD tüketiminden sonra HOMA-IR'in yaklaşık 2,0 oranında azaldığını ortaya koymuştur (Handley vd., 2018). Ketogenez sırasında, insülin reseptörünün duyarlılığı desteklenir; bu nedenle, KD yalnızca temel besinlerin alınmasını sağlamakla kalmaz, aynı zamanda negatif bir enerji dengesini korur ve karbonhidrat alımının azalmasının neden olduğu insülin sekresyonunun dalgalanmasını da azaltır, bu da nihayetinde insülin duyarlılığının artmasını sağlar (Yuan vd., 2020).

Diyetle alınan karbonhidrat düzeyinin azaltılması, hiperglisemi durumunu daha da kötüleştirmeden az olan insülin yanıtını iyileştirebilir. Özellikle diyabetik bireylerde tekli doymamış yağ asitleri ile zenginleştirilmiş yüksek yağlı bir diyet açlık insülin düzeyi ve cevabını olumlu yönde geliştirebilir. Çalışmamızda kullanılan ketojenik diyetin yağ içeriğinde sadece zeytin yağının olması diyabetik ratlarda kan glikoz, HbA1c, insülin ve HOMA-IR değerlerinin Grup 3'te bulunan standart yem ile beslenen diyabetik ratlara göre daha iyi kontrol edilebildiği düşünülmektedir. Başka bir çalışmada 12 hafta boyunca KD ile beslenen fareler öglisemik (kan glikozu $250 < \text{mg/dl}$) kalsa da ortalama insülin seviyeleri ve HOMA IR düzeyleri azalmıştır ve intraperitoneal glikoz tolerans testleri ile değerlendirildiğinde glikoz intoleransı sergilemiştir (Garbow vd., 2011).

Literatürde KD'nin diyabetik hastalarda glisemik kontrol ve insülin duyarlılığı üzerine etkinliğini gösteren çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Bu çalışmalarda KD'nin insülin ve hipoglisemik ilaçlarla paralel olarak kısa veya uzun süre uygulanmasının hastalarda glisemik düzeyi iyileştirmede ve bu tür tedavilere olan ihtiyacı azaltmada terapötik etkisi gösterilmiştir. Yancy vd. (2005), 28 Tip 2 DM'li hastada 16 haftalık KD uygulaması sonunda KD'nin glisemik kontrolü iyileştirdiği, diyabet ilaçlarının bırakıldığı veya azaltıldığı bildirildi. Westman vd. (2008), Tip 2 DM hastalarında KD ve düşük glisemik indeksli diyetin etkilerini araştırdılar. Bu çalışmanın sonunda KD hastaların HbA1c, vücut ağırlığı ve HDL düzeylerinde daha fazla iyileşme gösterdiği, düşük glisemik indeksli diyet grubunda hastaların %62'si, KD grubunda ise %95,2'sinde diyabet ilaçları azaltıldı veya tamamen bırakıldığı görüldü. Walton vd. (2019) obez diyabetik kadınlarda 90 günlük KD uygulamasının hastaların vücut ağırlığında, HbA1c düzeyinde ve kan basıncında önemli azalmanın olduğunu gördüler ve KD'nin diyabette terapötik etkili olduğunu savunmuşlardır.

5.6 Serum Lipid Profiline Değişiklikler

Bu çalışmada grupların serum lipid profiline bakıldığında Grup 2’de bulunan ratların HDL-kolesterol düzeylerinin diğer gruplara göre anlamlı şekilde arttığı görülmüştür. En düşük HDL-Kolesterol düzeyleri ise Grup 3’te bulunmuştur. LDL-kolesterol ve VLDL kolesterol değerleri Grup 4’te diğer gruplara göre anlamlı şekilde yükselmiştir. Ayrıca Grup 1’e göre Grup 3’te LDL-Kolesterol düzeyleri anlamlı derecede yüksekti ($p<0,05$). TK düzeyleri ise her iki KD grubunda (Grup 2 ve 4) diğer gruplara göre anlamlı şekilde artmıştır. Grup 2 ve 4’ün TK düzeyleri arasında istatistiksel olarak fark yoktu. Serum TG düzeylerinin değerlendirilmesinde Grup 2, 3 ve 4’ün TG düzeylerinin Grup 1’e göre anlamlı derece de arttığı görülmüştür ($p<0,001$). Grup 4’ün TG düzeyleri ise Grup 2 ve 3’e göre anlamlı şekilde yükselmiştir.

Beslenme ve diyet, kan lipid profili üzerinde önemli bir etkiye sahiptir. Bununla birlikte birçok hastalık lipid metabolizmasını çeşitli yollarla etkileyebilmektedir. DM sıklıkla, diyabetik komplikasyonlardaki metabolik bozukluğa katkı sağlayan, anormal lipid metabolizmasıyla ilişkilidir (Bansal vd., 2010). Diyabetik hastalarda görülen hiperglisemi genellikle hiperlipidemi ile birlikte seyreder ve kolesterol düzeylerindeki değişiklikler sıkça görülür. Bu değişiklikler, diyabetin bir belirtisi veya sonucu olarak ortaya çıkabilir. TG, TK ve HDL, LDL, VLDL-kolesterol alt türlerinin düzeylerindeki değişimler, diyabette dislipidemini temelini oluşturmaktadır (Mooradian, 2009).

Diyabetteki anormal yüksek serum lipid konsantrasyonları başlıca periferdeki depolardan serbest yağ asitlerinin mobilizasyonuna bağlıdır, çünkü insülin, hormona duyarlı lipazı inhibe eder. Diğer taraftan; glukagonlar, katekolaminler ve diğer hormonlar lipolizi artırır. Diyabetik durumda dikkat çekici olan hiperlipidemi, lipolitik hormonların yağ depoları üzerindeki etkilerinin belirginleşmesi ile karakterizedir (Apparao vd., 2003). Ayrıca, karaciğer dokusundaki kolesterol seviyelerinde artış gözlenmiş ve bu artış şilomikron kolesterolünün karaciğere artmış taşınması ile ilişkilendirilmiştir (Chauhan vd., 1987). İnsülin salınımındaki azalma veya insülin direnci gibi faktörler, kan dolaşımında serbest yağ asitlerinin miktarını artırabilir. Bu durum, karaciğerde TG sentezinde artışa yol açar. TG’lerin artmasıyla birlikte, apolipoprotein A ve VLDL-kolesterol üretimi artar. VLDL-kolesterol,

karaciğerde üretilen ve TG taşıyan bir lipoproteindir. VLDL-kolesterolün artması, diyabetli kişilerde kolesterol metabolizmasında bozulmaya işaret eder. Son aşamada VLDL-kolesterol, LDL-kolesterol ve IDL-kolesterol gibi diğer lipoproteine dönüşür. STZ ile diyabet modeli oluşturulan wistar albino sıçanlarda TK ve TG düzeylerinde artış gözlemlenmiştir (Feillet-Coudray vd., 1999). Diyabette insülin etkisinin azalması, TK seviyelerinin artışına katkıda bulunur. Bu çalışmada Grup 3'te yer alan standart yem tüketen diyabetik ratlarda düşük HDL-Kolesterol ve yüksek LDL, VLDL-Kolesterol ve TG düzeyleri diyabete bağlı dislipidemi geliştiğini düşündürmektedir.

KD'nin glikoz metabolizmasını iyileştirmekle birlikte lipid metabolizmasını da etkilediğini bildiren çalışmalar vardır. Hussain vd. (2012) Tip 2 DM hastalarında düşük kalorili diyet ve KD'nin etkilerini araştırdıkları bir çalışmada, 24 hafta sonunda KD ve düşük kalorili diyet gruplarının hem diyabetik hem de diyabetik olmayan katılımcılarında lipid seviyelerinde bir azalma görüldü. Ancak KD grubunda düşük kalorili diyet grubuna göre TG, TK ve LDL düzeylerinde önemli düşüş ($p < 0,001$) ve HDL düzeyinde önemli bir artış ($p < 0,001$) gösterdi. Dashti vd. (2007) ise obez ve diyabetik olan 64 hastada 56 hafta boyunca uygulanan KD'nin etkilerini araştırdılar. Uzun süreli KD uygulamasını takiben kan-lipid parametrelerinde; TG'nin 3,67 mmol/L, TK'nın 1,88 mmol/L ve LDL'nin 1,78 mmol/L azaldığı, HDL'nin ise 0,14 mmol/L arttığı gözlenmiş ve uzun süreli KD uygulamasının obez diyabetik kişilerde önemli yararlı etkilere sahip olduğu ikna edici bir şekilde gösterilmiştir. Daha yüksek insülin seviyesi ile kolesterol biyosentezinde anahtar bir enzim olan HMG-CoA redüktazın aktivasyonu arasında doğrudan bir bağlantı vardır. Bu nedenle, uygun kolesterol alımıyla birlikte diyetteki karbonhidratın azaltılması, kolesterol biyosentezinin inhibisyonuna yol açacaktır (Dashti vd., 2020). KD'nin trigliserol ve LDL kolesterol seviyesini düşürdüğünü ve HDL kolesterol seviyesini arttırdığını göstermiştir. Güncel çalışmalarda KD'nin TG ve LDL-kolesterol seviyesini düşürdüğünü ve HDL-kolesterol seviyesini arttırdığını gösterilmiştir (Dashti vd., 2006).

Bizim çalışmamızda literatürde bu çalışmalardan farklı olarak KD ile beslenen kontrol grubu (Grup 2) ve standart yem ile beslenen kontrol grubu (Grup 1) arasında LDL ve VLDL-Kolesterol değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark

gözlenmemiştir. Diğer taraftan Grup 1'e göre Grup 2'de HDL-Kolesterol düzeyleri önemli düzeyde artmıştır ($p<0,05$). KD ile beslenen gruplarda (Grup 2 ve 4) serum TG ve TK düzeylerinin standart yem ile beslenen gruplara göre anlamlı olarak arttığı görülmüştür. Elde ettiğimiz bu sonuçlarla benzer şekilde KD'nin diyabetli hastalarda lipid profilini benzer şekilde etkilediğini bildiren çalışmalar mevcuttur. Lima vd. (2017) KD uygulanan 38 hastada diyetin 3. ayında başlangıç değerlerine göre TK, TG, LDL, HDL düzeylerinde artış olduğu ve bu artışın diyetin 6. ayında da devam ettiğini tespit etmişlerdir

Schmidt vd. (2013). KD'nin TK ve TG düzeyleri üzerindeki etkisini değerlendiren bazı çalışmalarda, kolesterol düzeylerinde nispeten ılımlı bir artış olduğunu göstermiştir (Schmidt vd., 2013). Farklı çalışmalarda, KD'nin TG düzeyini belirgin derecede düşürdüğü ve kilolu bireylerde dahi lipid profiline zarar vermediği bildirilmiştir (Dashti vd., 2007; Sondike vd., 2003). Rosenbaum vd. (2019), insanlarda; bir bazal diyetten izokalorik KD'e geçiş yapıldığında TG düzeyinin önemli ölçüde azaldığını göstermişlerdir.

KD çalışmalarının diyet içerikleri ve süresi oldukça önem taşımaktadır. Örneğin, KD ile beslenen fareler ile yapılan 14 günlük bir çalışmada lipid profillerinde hiçbir değişim saptanmamıştır (Murata vd., 2013). Ancak dört haftalık bir çalışmada standart diyet ve iki adet farklı içeriğe sahip KD karşılaştırılmıştır. KD grubunun HDL düzeyleri düşerken, TG düzeyleri yükselmiştir. Ancak gruplar arasında TK düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunamamıştır (Bielohuby vd., 2013). Daha uzun süreli (28-80 hafta) çalışmalarda KD beslenen farelerin TK ve TG düzeylerinde iki kat artış saptanmıştır (Ellenbroek vd., 2014).

Çalışmamızda KD uygulanan gruplarda (Grup 2 ve 4) TK ve TG düzeylerinin diğer gruplara kıyasla daha yüksek olması literatürden farklı sonuçlar elde edildiğini göstermektedir. KD tarafından sağlanan yağ asitlerinin enerji depolama ve kullanımı için gerekenden çok daha fazla olması nedeniyle Lipid birikimine yol açtığını düşünüyoruz. Çalışmamızın kısa süreli olması ve KD ile kan lipid profilinin yükselmesi; kan keton seviyelerinde artışa neden olsa bile bu artışın ketozisi tetikleyecek kadar yüksek olmamasına bağlı olarak SYA'nın keton cisimlerine dönüşerek enerji için kullanılmamasından kaynaklanabileceğini düşündürmektedir.

5.7 Adipokin Düzeylerinde Değişiklikler

ZAG ilk kez kanser kaşeksisi olan hastalarda yağ dokusu kaybı ile ilişkili lipid mobilize edici faktör olarak tanımlanmıştır. Kanser hastalarında yapılan ölçümlerde kaşeksi durumunda serum ZAG'ın normal yaş ve cinsiyetteki insana göre 20 kat arttığı tespit edilmiştir (Hirai vd., 1998). Yağ dokusundaki ekspresyonu, kanser kaşeksisi olan farelerde belirgin şekilde yükselmiştir (Bing vd., 2004). Başlangıçta ZAG'ın yalnızca kanserle ilişkili olduğu düşünülse de daha sonraki çalışmalarda beyaz ve kahverengi yağ dokusunun yanı sıra karaciğer, kalp ve akciğerlerde de üretilen bir adipokin olarak değerlendirilmiştir (Liao vd., 2016). Lipid katabolizması ve enerji üretimi ile ilişkili olduğunu düşünülen ZAG, özellikle LMF (Lipid Mobilizing Factor) ile benzerlik göstermesi, ZAG'ın bu süreçlerde rol oynayabileceği fikrini desteklemektedir. ZAG, cAMP yoluyla etki ederek beyaz yağ dokusunun esmerleşmesini ve enerji tüketimini teşvik ederek lipolizi artırır. İn vivo olarak, ZAG'ın farelere uygulanması gıda ve su alımında bir azalma olmaksızın vücut ağırlığında oldukça önemli bir azalmaya neden olmuştur (Russel vd., 2004). ZAG'ın lipolitik etkisinin gösterildiği bir başka çalışmada ZAG'ın fare adipoz dokusundan izole edilen adipositlerle inkübasyonunun, doza bağlı bir şekilde gliserol salınımını büyük ölçüde uyardığı gösterilmiştir (Hirai vd., 1998). Bu bulgular ZAG'ın adipoz doku lipolizindeki uyarıcı etkisinde yer alabilecek vücut yağ kaybıyla ilişkili olduğunu göstermektedir. Ancak ZAG'ın obezitede yağ dokusunun lipolizinde benzer uyarıcı etkiye sahip olup olmadığı ve yağ dokusunun lipogenezinde herhangi bir etkisinin olup olmadığı hala belirsizliğini korumaktadır.

ZAG'ın lipogenezi inhibe ederek ve lipoliz ve lipid kullanımını uyarak obezite oluşumunu engellediği düşünülen çalışmalarda farklı sonuçlar elde edilmiştir. Obezite üzerindeki etkisinin araştırıldığı bir çalışmada obezite ile yakın ilişkisi olduğunu, vücut ağırlığı ve vücut yağ yüzdesi ile ters orantılı olarak miktarının değiştiği ve obez kişilerde deri altı yağ dokusunda ZAG gen ekspresyonunun azaldığı gösterilmiştir. Aynı çalışmada yüksek yağlı diyet ile yedi hafta boyunca beslenen obez farelerde de benzer şekilde artan vücut yağ kütlesi ile serum ZAG düzeyinde negatif korelasyon bulunmuştur (Gong vd., 2010). Benzer şekilde yağ dokusu artışı ve ZAG düzeyleri arasındaki negatif korelasyonu destekleyen araştırmalar bulunmaktadır (Liu vd., 2018; Yang vd., 2017; Marrades vd., 2008). Ancak bu

Çalışmalarda ZAG ve BKİ arasındaki ilişkinin nedensel mi yoksa sonuçsal mı olduğu açıklanmamıştır.

Bu çalışmalardan farklı olarak bizim alışmamızda BKİ ve serum ZAG düzeyleri arasında pozitif korelasyon tespit edilmiştir. BKİ değeri yüksek olan Grup 2 ve 4'te serum ZAG konsantrasyonu diğer gruplara göre anlamlı şekilde yüksekti. BKİ değeri en düşük olan Grup 3'te ZAG konsantrasyonu diğer gruplara göre anlamlı şekilde düşük gelmiştir. Yeung vd. (2009), tarafından yapılan bir çalışmada serum ZAG konsantrasyonunun obez bireylerde normal kilolu bireylere göre anlamlı derecede yüksek görölmüştür. Bu alışmada ZAG'ın kiloyu sabit tutmak ve adipojenik aktiviteleri dengelemek için artabileceği öne sürölmüştür. Bizim alışmamızda ise KD ile beslenen gruplarda yağ metabolizmasının artması ayrıca bu gruplarda gözlenen ağırlık artışına bağlı olarak serum ZAG düzeylerinin arttığı düşünölmektedir.

İnsan ve hayvan çalışmalarında ZAG'ın lipid metabolizmasında önemli bir düzenleyici rol oynadığı gösterilmiştir. Obez bireylerde yüksek TG ve düşük HDL-kolesterolü olan kişilerde belirgin şekilde yüksek serum ZAG konsantrasyonu bulunmuştur (Yeung vd., 2009). Bir hücre kültürü çalışmasında ZAG'ın hepatositlerde aşırı ekspresyonunun, yağ asitlerinin lipolizisini ve β -oksidasyonunu uyarırken, aynı zamanda hepatositlerde palmitik asit kaynaklı lipogenezi ve lipid birikimini de inhibe ettiği, ZAG ekspresyonunun düşürölmemesinin lipogenezi ve hepatositlerdeki lipid seviyesini arttırdığı görölmüştür (Xiao vd., 2017). Bizim alışmamızda KD ile beslenen gruplarda görölen yüksek TG, TK düzeyleri ile artan ZAG konsantrasyonu arasında ilişki olduğu görölmektedir.

ZAG, obezite ve Tip 2 DM tedavisinde terapötik ajan olabileceği düşünölen bir adipokindir (Hassan vd., 2008; Tzanavari vd., 2007; Bao vd., 2005). Tip 2 diyabetik obez erkek farelere günlük 50µg ZAG intravenöz olarak uygulanan bir çalışmada, farelerdeki pankreatik insülin tutulumu ve vücut sıcaklığında artış, vücut ağırlığı ve plazma insülin seviyelerinde ise azalma tespit edilmiştir. Aynı alışmada ZAG uygulanması ile glikoz toleransı yanıtında görölen iyileşme, ZAG'ın insülin benzeri etkisi ile ilişkilendirilmiştir. Ayrıca ZAG'ın glikoz kullanımını Beta 3 adrenerjik reseptör üzerinden olduğu düşünölen bir yolak vasıtasıyla cAMP aracılığıyla mitokondride bulunan UCP-1 ve 3'ün ekspresyonunu arttırarak gerçekleştirebileceği

ileri sürülmüştür (Wargent vd., 2013). Dolaşımdaki ZAG seviyelerinin prediyabetik ve Tip 2 DM hastalarında kontrol gruplarına göre daha düşük olduğu görülmüştür. Ayrıca insanlarda yapılan çalışmalar da plazma ZAG seviyelerinin insülin seviyeleri ve HOMA-IR ile negatif korelasyon gösterdiği bildirilmiştir (Yang vd., 2013). Çalışmamızda literatüre benzer şekilde standart yem ile beslenen diyabetik grupta (Grup 3) ZAG düzeyi kontrol grubuna göre (Grup 1) anlamlı şekilde düşük olduğu görüldü. Ayrıca bu iki grupta açlık kan glikozu ve HOMA-IR ile serum ZAG düzeyleri arasında negatif korelasyon tespit edilmiştir. Yang vd. (2013), kontrol, BGT ve Tip 2 DM gruplandırılan bireylerde serum ZAG seviyelerinin incelemişler. Sonuç olarak kontrol grubunda en yüksek serum ZAG konsantrasyonunun bulunduğunu, BGT grubunda bir miktar daha düşük olduğunu ve Tip 2 DM grubunda ise en düşük seviyede olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca, HOMA-IR ve açlık plazma glikozu ile serum ZAG seviyeleri arasında ters bir ilişki olduğunu gözlemişlerdir. Bu bulgular, ZAG'ın insülin duyarlılığı ve glikoz metabolizması üzerinde olumlu bir etkiye sahip olabileceğini düşündürmektedir. Daha yüksek ZAG seviyeleri, insülin direncini azaltabilir ve glikoz metabolizmasını iyileştirebilir, bu da Tip 2 DM riskini azaltabilir. Ancak, bu ilişkinin kesin mekanizmalarını ve neden-sonuç ilişkisini anlamak için daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır. Bu sonuçlardan farklı olarak Tip 2 DM ve normal glikoz toleransına sahip bireylerde BKİ'lerine göre obez ve normal şeklinde alt gruplara ayrılan bir çalışmada obez-Tip 2 DM'li bireylerde en yüksek serum ZAG konsantrasyonu saptanmış. Ayrıca HOMA-IR ile ZAG arasında pozitif bir korelasyon tespit edilmiştir (Jing, 2011).

ZAG'ın lipoliz arttırıcı ve glikoz düzenleyici özelliklerinden metabolik sendrom tedavisinde yararlanılabileceğini belirten literatürler ve tüm bulgular göz önüne alındığında, çalışmamızda lipit profili ile serum ZAG düzeyleri arasında ilişki bulunması ve BKİ değeri yüksek ve açlık kan glikozu ve HOMA-IR ile ters korele bulunması ZAG'ın hücreye glikoz alımını arttırıcı insülin benzeri etkileri ile açıklanabilir. Bu açıdan bakıldığında sonuçlarımıza göre serum ZAG'ın insülin direnci ve kan glikozu için düzenleyici etkileriyle ön plana çıktığı düşüncesindeyiz.

ZAG, yağ dokusu kütlesinin düzenlenmesinde büyük bir rol oynar. ZAG, lipolizi uyarmada, yağ dokusunda lipit birikimini engellemede, serum lipit değerlerini düzenlemede ve diğer adipokinlerin salgılanmasını etkilemede rol oynayarak çok

yönlü etki gösterir. Lipit harekete geçirici bir faktör olarak ZAG, hepatositlerde ve adipositlerde lipolizi, yağ asidi β -oksidasyonunu ve ketogenezi teşvik eder (Tan vd., 2020). Bu çalışmada KD ile beslenen her iki grupta lipoliz ve lipid kullanımının artması sonucu lipid metabolizması da artmıştır. Bu duruma bağlı olarak Grup 2 ve 4'te serum ZAG düzeylerinin arttığı düşünülmektedir. Hayvan çalışmalarında, ZAG'ın lipid metabolizmasının düzenleyicisi olarak etki ettiği gösterilmiştir. Benzer şekilde elde ettiğimiz sonuçlara göre ZAG düzeylerinin TK, TG, LDL, VLDL-kolesterol düzeyleri ile pozitif, HDL-kolesterol ile negatif korelasyon gözlemlendi.

Omentin (intelektin, bağırsak laktoferin reseptörü, endotel lektini HL-1, galaktofuranos bağlayıcı lektin), Yang ve arkadaşları tarafından keşfedilen adipoz dokuya özgü yeni bir adipokindir (Yang vd., 2003). Visseral adipoz dokuda yüksek oranda ifade edilen omentin-1'in antiinflamatuvar, antioksidan ve antiapoptotik rollerinin olduğu gösterilmiştir (Yang vd., 2006; Zhao vd., 2022). Ayrıca omentinin insülinle uyarılmış glikoz alımını arttırdığı da bildirilmiştir. Omentin, yalnızca metabolik hastalıkların biyobelirteci olarak değil, aynı zamanda metabolik bozuklukların risk düzenleyicisi olarak da öne sürülmektedir (Shibata vd., 2012).

Dolaşımdaki omentin-1 düzeylerinin obez kişilerde azaldığı ve BKİ, bel çevresi ve dolaşımdaki leptin gibi obezite belirteçleri ile negatif ilişkili olduğu ileri sürülmüştür (Rathwa vd., 2019). Aşırı kilolu/obez hastalarda gözlenen azalmış serum omentin düzeyleri, insüline duyarlı dokularda insülinin uyardığı glikoz alımında azalmaya neden olabilir. Bu durum obez bireylerde mevcut olan insülin direncini açıklayabilir ve Tip 2 DM gelişimine katkıda bulunabilir. Obeziteye, insülin direnci ve kronik inflamasyon eşlik eder ancak omentin, obezite ile ilişkili hastalıkların ilerlemesini engellemede rol oynayan pozitif bir belirteç gibi görünmektedir (Zhang vd., 2014). Diğer taraftan bazı çalışmalarda bu sonuçlardan farklı olarak kilolu/obez bireylerde omentin-1 düzeylerinin yüksek olduğu bildirilmişlerdir (Alizadeh vd., 2017; Orlik vd., 2014). Bizim çalışmamızda ise BKİ'i değerleri yüksek olan her iki KD ile beslenen grupta (Grup 2 ve 4) omentin-1 düzeylerinin istatistiksel olarak daha yüksek olduğu görüldü. Söz konusu gruplarda ağırlık artışına rağmen omentin-1 düzeylerinin de artması KD'nin metabolik etkileri ile ilişki olabileceği düşünülmektedir. Antiinflamatuvar ve antioksidan etkilerinin olduğu gösterilen omentin-1'in KD uygulaması ile metabolik faydalı etkiler sağlayacaktır.

Çalışmamızda KD'in insülin direncini azaltması, hiperglisemiye kontrol altına alması bu düşüncemizi desteklemektedir. Yeni bir adipokin olan omentin-1'in KD ile ilişkisini gösteren sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Chayra vd. (2022) ilaca dirençli epilepsili çocuklarda KD'nin BKİ'de bağımsız olarak serum omentin düzeylerini arttırdığını bulmuşlardır. Bu çalışmada epileptik çocuklarda KD'nin metabolik olarak faydalı ve antiinflamatuvar adipokin düzeylerini arttırdığı vurgulanmıştır. Diğer taraftan bir diyabet biyobelirteci olarak düşünülen omentinin vücut ağırlığıyla ilişkili olup olmadığını gösteren çok az çalışma bulunmaktadır.

Omentin-1 dokuların insülin duyarlılığındaki artışını sağlayarak karbonhidrat metabolizması üzerindeki yararlı etkiler göstermektedir. DM'de omentin-1 düzeylerinin düştüğü ve artan kan omentin düzeylerinin insülin aktivitesini düzenleyici etki gösterdiği bildirilmiştir (Kalupahana vd., 2011). Pan vd. (2010), bozulmuş glikoz toleransı olan bireylerin yanı sıra yeni tanı almış ve tedavi edilmemiş Tip 2 DM'li hastaların serum omentin-1 düzeyinde azalma olduğu göstermiştir. Bizim çalışmamızda literatüre benzer şekilde standart yem ile beslenen diyabetik grupta (Grup 3) omentin-1 düzeylerinin anlamlı şekilde düştüğü gözlemlendi. Ayrıca KD ile beslenmenin diyabetik ratlarda insülin duyarlılığını arttırdığı görüldü.

İn vitro çalışmalar da bir polipeptit hormon olan omentinin adipoz dokuda Akt/protein kinaz B'yi aktive ederek insülin ile uyarılan glikoz taşınmasını arttırdığı gösterilmiştir. Akt yolağının hücre dışı sinyallere tepki olarak hayatta kalmayı ve büyümeyi artıran bir sinyal iletim yolu olduğu bilinmektedir. Söz konusu yolağın regülasyonunun işlevsizliği Tip 2 DM'ye yol açabilecek sinyal aktivitesinin artmasıyla sonuçlanır (Kalupahana vd., 2011).

Omentin-1 ayrıca leptin, resistin ve TNF- α ile negatif korelasyona sahipken adiponektin ile pozitif korelasyona sahiptir. Omentin ve adiponektin arasındaki birçok benzerlik, omentinin faydalı bir adipositokin olabileceğini düşündürmektedir (Yamawaki, 2011). Yapılan çalışmaların büyük bir kısmında serum omentin-1 düzeyinin Tip 2 DM'de önemli bir biyobelirteç olduğunu desteklemektedir. Omentin-1'in anti-diyabetojenik özelliğinin olması, insülin direnci ve DM ile ters orantılı olması ile birlikte son çalışmalarda diyabetik komplikasyonlarla da ters orantılı olduğu ifade edilmiştir. Biscetti vd. (2019) periferik arter hastalığı (PAD) olan diyabetik hastalarda omentin-1 düzeylerinin, PAD olmayan diyabetik

hastalardan istatistiksel olarak daha düşük olduğunu bulmuştur. Diyabetik komplikasyonlar ve omentin-1 ilişkisinin araştırıldığı çalışmalarda omentin-1'in lipid metabolizması ve inflamasyona dahil olması nedeniyle diyabet hastaları üzerinde koruyucu bir etkiye sahip olduğu da bildirilmiştir. Bazı çalışmalarda ise prediyabette omentin-1 konsantrasyonlarının azaldığını dolayısıyla plazma omentin-1'in diyabetin erken teşhisi ve yönetimi için kullanılabileceği önerilmiştir (Kaushik vd., 2018).

Diyabetik komplikasyonlar ve omentin-1 ilişkisinin araştırıldığı çalışmalarda omentin-1'in lipid metabolizması ve inflamasyona dahil olması nedeniyle diyabet hastaları üzerinde koruyucu bir etkiye sahip olduğu da bildirilmiştir. Bizim çalışmamızda her iki diyabet grubunda (Grup 3 ve 4) kendi kontrol gruplarına göre serum omentin-1 düzeyleri yüksek olmakla birlikte ketojenik yem ile beslenen diyabetik grupta omentin-1 düzeyinin sayısal olarak arttığı gözlenmiştir.

Yakın zamanda tanımlanmış anoreksijenik (iştahı azaltıcı) bir peptit olan nesfatin-1, öncül nükleobindin 2'den (NUKB2) köken alır. Nesfatin-1'in esas olarak hipotalamusta eksprese edilmekle birlikte pankreas, mide ve adipositler gibi periferik dokularda sentezlendiği bildirilmiştir (Matta vd., 2022). Nesfatin-1'in iştahın düzenlenmesi, yetersiz beslenme ve kilo kaybı ile bağlantısı bulunmaktadır. Böylece hipergliseminin düzenlenmesinde ve gıda alımında etkin rol oynamaktadır (Zhai vd., 2017).

Bir tokluk molekülü olan nesfatin-1'in hayvan çalışmalarında glikoz metabolizması üzerinde potansiyel bir etkisinin olduğu çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir. Nesfatin-1'in hiperglisemik koşullar altında β -hücrelerinde insülin salınımını uyardığı gösterilmiştir (Su vd., 2010). Bunun en önemli kanıtı ise pankreas β -hücrelerinde prepronesfatin ile insülinin birlikte lokalize olmasından kaynaklanmaktadır (Gonzalez vd., 2009). Ayrıca nesfatin-1 kan-beyin bariyerini çift yönlü geçebilmesi sayesinde beyindeki insülin duyarlılığını da düzenleyebilmektedir. Bu bulgular, dolaşımdaki nesfatin-1'in enerji homeostazında önemli bir rol oynadığını göstermektedir. Ancak diyabet ile nesfatin-1 arasındaki ilişkiye dair yapılan çalışmaların sonuçları çelişkilidir. Bazı araştırmalarda Tip 2 DM'li hastaların nesfatin-1 düzeylerinin kontrol grubuna göre daha düşük çıktığını gösterilmiştir (Dai vd., 2017; Li vd., 2010). Bizim elde ettiğimiz sonuçlarda bu çalışmalara benzer şekilde standart yem ile beslenen diyabetik grupta nesfatin-1 düzeyi kendi kontrol

grubuna göre düşüktü. Diyabetik ratlarda nesfatin-1 düzeyinin düşük olması insülin duyarlılığının bozulması ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir. Diğer taraftan bizim sonuçlarımızdan farklı olarak yeni tanı almış Tip 2 DM'li hastalarda ve yeni tanı almış BGT'si olan hastaların kontrol grubuna kıyasla dolaşımdaki nesfatin-1 düzeylerinin arttığını bildiren çalışmalarda bulunmaktadır (Guo vd., 2013; Zhang vd., 2012). Nakata vd. (2013), Tip 2 DM ve nesfatin-1 düzeyleri arasındaki bu tutarsızlığı hastaların BKİ ve insülin direncindeki farklılıklardan kaynaklandığını ileri sürmüştür.

Yapılan son çalışmalarda glikoz homeostazında nesfatin-1'in antihiperglisemik etkileri ortaya konulmuştur. Nesfatin-1 iskelet kası, yağ dokusu ve karaciğerde AKT (protein kinaz B) fosforilasyonunu ve GLUT 4 membran translokasyonunu değiştirerek insülin salınımını ve insülin duyarlılığını artıran mekanizmalarla kan-glikoz seviyesini düşürmektedir (Li vd., 2013). Nesfatin-1'in i.v. enjeksiyonunun hiperglisemik farelerde kan-glikoz düzeyini önemli ölçüde düşürdüğü ve bu antihiperglisemik etkinin zamana, doza, insüline bağımlı olduğu belirtilmiştir. Nesfatin-1'in merkezi enjeksiyonu ise, gıda alımını inhibe ederek vücut ağırlığında ve yağ miktarında kronik bir azalma sağlamıştır (Su vd., 2010). Nesfatin-1'in antihiperglisemik etkisi periferiktir ve anoreksik etkisinden bağımsızdır. Çünkü nesfatin-1'in intraserebroventriküler (icv) enjeksiyonunun gıda alımını azaltırken yüksek glikoz seviyesini etkilemediği gösterilmiştir (Stengel vd., 2011). Çalışmamızda KD'nin diyabetik ratlarda insülin duyarlılığını arttırması ve hiperglisemiye kontrol altına almasında nesfatin-1 düzeyinin artışına bağlı olabileceği düşünülmektedir. Grup 4'ün nesfatin-1 düzeyleri HOMA-IR ve serum insülini ile negatif korele olması bu düşüncemizi destekleyecek en önemli veridir.

Shimizu vd. (2016), tarafından yapılan bir çalışmada ise transgenik farelerde nesfatin-1'in aşırı ekspresyonunda, normal diyetle ve yüksek yağlı diyetle aşırı beslenmede gıda alımı değişmedi ve bu farelerin vücut ağırlığında artış görüldü. Bu sonuçlar, nesfatinin enerji alımından bağımsız olarak TG birikiminde ve insülin direncinde rol oynayabileceğini göstermektedir.

Tip 2 DM'de nesfatin-1 düzeyindeki azalmanın, diyabetik hiperfaji ile ilişkili bağlantılı olabileceği düşünülmüştür. Ratlarda yapılan bir çalışmada ise nesfatin-1'in beslenme alışkanlığı, besin alımı, vücut ağırlığı ve glikoz dengesinin düzenlenmesinde

etkili olduğu gösterilmiştir (Rodgers vd., 2012). Bu çalışmada diyabet modeli geliştirilen Grup 3'te bulunan ratlarda serum nesfatin-1 düzeylerinin Grup 1'e göre anlamlı şekilde düştüğü grlmştir. Serum nesfatin-1 düzeylerinin düşmesi Grup 3'te bulunan ratlarda gelişen polifajiyi arttıran bir sebep olabilir.

Chemerinin otokrin yanıtı; lipoliz, glikoz alımı ve lipostatik sinyalizasyonu düzenleyen metabolik yolaklarla bağlantılıdır. Parakrin yanıtı ise; obezite ile ilişkili kronik düşük dereceli inflamasyon boyunca aktif olmasıdır (Booth vd., 2015). Yang vd. (2010) chemerin seviyesinin obezlerde arttığı ve obezite belirteçleri ile korele olduğunu göstermiştir. Genellikle dolaşımdaki yüksek TG ve yüksek LDL/HDL kolesterol oranı olarak bilinen hiperlipidemi, kısmen değişen lipolizin bir sonucu olarak obezitede ortaya çıkmaktadır. Çalışmaların birçoğunda chemerin ve dolaşımdaki TG, LDL kolesterol ve kan basıncı ile önemli pozitif korelasyon, HDL kolesterol ile negatif korelasyon bildirilmiştir (Rourke ve Dranse, 2013). Adipositlerden salına chemerin, insülin aracılı glikoz alımını arttırabilir. Bu, insülin duyarlılığını artırıcı bir etki olarak düşünülür. Çalışmamızda diyabetik gruplarda (Grup 3 ve 4) glikoz hemostazının sağlanabilmesi için serum chemerin düzeylerinin yükseldiği düşünülebilir. Bununla birlikte chemerinin visseral adipoz dokunun Tip 2 DM gelişimindeki endokrin ve inflamatuvar rolüyle ilişkili olabileceği şeklinde yorumladık.

Chemerinin glikoz homeostazını düzenlediği konusunda fikir birliği olmasına rağmen, çeşitli in vivo ve in vitro çalışmalardan elde edilen çelişkili sonuçlar nedeniyle glikoz toleransını düzenlemedeki rolü belirsizliğini korumaktadır. Bir alışmada Tip 2 DM hastalarında sistemik chemerin ile yaş, BKİ, bel-kalça oranı, TG, HOMA-IR, HbA1c ve kan basıncı arasında korelasyon olduğu bildirilmiştir (Weigert vd., 2010). Prospektif bir çalışmada ise sistemik chemerinin yükselmesinin Tip 2 DM'nin başlangıcından önce olduğu bu nedenle chemerinin Tip 2 DM'nin erken teşhisi için bir biyobelirteç olabileceği dşnlmştir (Bobbert vd., 2015). Diğer taraftan Tip 2 DM'de chemerin düzeyinin araştırılmasına yönelik çalışmalar az olmakla birlikte invivo ve invitro çalışmalardan elde edilen sonuçlar çelişkilidir. şöyle ki chemerin ve insülin direnci arasında doğrudan bir ilişki olduğunu bildiren çalışmalarla birlikte aslında chemerinin insülin duyarlılığının düzenlenmesinde rol oynadığını söyleyerek bunu reddeden araştırmalarda mevcuttur (Sitar-Taut vd.,

2020). Bazı araştırmacılar Tip 2 DM'de insülin salınımını düzenlemek ve iyileştirmek için Chemerin-CMKLR1 sinyalinin terapötik potansiyele sahip olabileceğini bildirmişlerdir (Helfer ve Wu, 2018). Chemerin seviyelerindeki değişikliklerin, BKİ'deki değişikliklerden bağımsız olarak, kan glikozu ve yüksek duyarlı C-reaktif protein (hs-CRP) ile ilişkili olduğunu bildiren çalışmalar; chemerin düzeylerinin obezite ile arttığını, dislipidemi ve insülin direncine neden olabileceğini ve egzersiz veya diyet yoluyla chemerin düzeylerini ve insülin direncini azaltacağını öne sürmektedir. Bizim çalışmamızda KD ile beslenen her iki grupta serum chemerin düzeylerinin yükselmesi glikoz hemostazinin sağlanması ve insülin duyarlılığını arttırmaması ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir. Buradan yola çıkarak diyabet ve ilişkili komorbiditelerin serum chemerin değiştirilerek iyileşme sağlanması hedeflenebilir.

5.8 Oksidatif Stres Parametrelerinde Değişiklikler

Diyabette gelişen kalıcı hiperglisemi, bir dizi metabolik ve hücrel değişikliğe neden olur. Bu değişikliklerin bir sonucu olarak, toksik serbest radikallerin üretimi artar ve oksidatif stres oluşur (Lipinski, 2001). Tip 2 DM hastalarında oksidatif stres, insülin direnci ve β -hücre disfonksiyonuna katkıda bulunan önemli bir faktördür. Oksidatif stres, kan damarları, sinirler ve göz retinası gibi dokularda hücrel hasara ve inflamasyona yol açarak bu komplikasyonların gelişimini hızlandırabilir. Diyabetik hastaların uzun süreli yüksek kan glikoz seviyelerine maruz kalması, oksidatif stresin artmasına neden olabilir (Bonnetfont-Rousselot vd., 2003; Altan vd., 2006). Memişoğulları (2005), diyabette serbest radikal üretiminin arttığını ve antioksidan mekanizmaların baskılanarak oksidatif strese neden olduğunu bildirmiştir.

KD'nin etki mekanizması hala tam olarak anlaşılmamış olsa da farklı birkaç deneysel çalışmada bu diyetin dikkate değer antioksidan ve anti-inflamatuar aktivitelerinin olabileceği gösterilmiştir. KD ile üretilen β -hidroksibutiratın (β -HOB) mitokondride ATP üretiminin etkinliğini artırabilir ve serbest radikallerin sayısını azaltabilir. Buradaki mekanizma β -HOB'ın koenzim Q'yu okside etme ve NADP^{+} 'yı azaltması ile serbest radikallerin hasarını azalttığı şeklinde açıklanmaktadır (Veech vd., 2001). Genel olarak β -HOB'ın redoks homeostazı üzerindeki etkisi, kalori kısıtlamasının aynı zamanda oksidatif stresi ve hasarı azaltma yeteneği ile uyumludur (Rojas-

Morales vd., 2022). Keton metabolizması glikolize kıyasla oksidatif stresi azaltır. Keton cisimleri arasında en çok çalışılan β -HOB'ın mitokondriyal solunumu iyileştirdiği ve kompleks I işlev bozukluğunu atlayarak ROT üretimini azalttığı gösterilmiştir (Achanta ve Rae, 2017). İnvitro çalışmalar, β -HOB'ın hidroksil radikali için doğrudan bir antioksidan olarak işlev gördüğünü ve oksidasyonunu kolaylaştırarak stresli nöronlarda mitokondriyal ROS üretimini engellediğini göstermiştir (Maalouf, vd., 2007).

Kronik hiperglisemi ile seyreden diyabet, vücutta inflamatuvar bir ortam oluşturarak oksidatif strese yol açarak diyabet tablosunu ağırlaştırır. KD'nin diyabetik hastalarda oksidatif stresin iyileştirilmesinde yararlı bir rol oynayabileceğini düşündürmektedir. İnsan ve hayvanlar ile yapılan çalışmalarda diyabette KD'nin koruyucu ve tedavi edici etkilerinin olduğu gösterilmiştir. Falk vd. (1976) keton cisimlerinin, reaktif oksijen türlerinin azalması ve glutatyon peroksidaz aktivitesinin artması yoluyla antiinflamatuvar ajanlar olarak işlev gördüğünü göstermiştir. Diyabette serbest radikal üretiminin artması, hücrelerdeki yağ asitleri ve kolesterolün doymamış bağlarıyla reaksiyona girerek lipid peroksidasyonunu başlatabilirler (Atalay ve Laaksonen, 2002). Hücrelerde lipid peroksidasyonunun bir sonucu olarak MDA gibi ürünler açığa çıkar. MDA, çoklu doymamış yağ asidi peroksidasyon ürünlerinin bozulması sonucu üretilir ve geleneksel bir oksidatif stres indeksi olarak kullanılır. Çalışmamızda deney sonunda karaciğer dokularında ölçülen lipid peroksidasyonunun son ürünü olan MDA düzeylerinin diyabetik ratlarda (Grup 3 ve 4) kontrol gruplarına kıyasla (Grup 1 ve 2) artmış olduğunu tespit ettik. Diyabet gruplarında karaciğer MDA konsantrasyonunun artması oksidatif hasarı göstermektedir. Grup 3 ve 4'te gelişen hiperlipidemi ve hiperglisemi MDA düzeylerinin artışında sorumlu olabilir. Lipid peroksidasyonu özellikle hücre membranını tahrip ederek lipidlere geçirgenliğin artmasına neden olarak kanda lipid düzeylerinin yükselmesine yol açar (Taş vd., 2005). Çalışmamızda 4 haftalık KD diyet uygulamasından sonra ratlarda HDL düzeyinin artmasını sağlamıştır. HDL'nin oksitlenmiş lipidlerin birikimini baskılayan potansiyel bir antioksidan olduğu bilinmektedir (Vohl ve diğerleri, 1999). Sağlıklı kadınları kapsayan bir araştırmada Nazarewicz vd. (2007), 14 günlük KD'nin toplam antioksidatif durumun iyileşmesinin yanı sıra ürik asit ve HDL düzeylerinde artışa yol açtığını gösterdi. Elde ettiğimiz bu veriler benzer çalışmalarla uyumlu görülmektedir. Haluzik ve Nedvidkova (2000), STZ ile diyabet oluşturulan

ratlarda böbrek dokusularında MDA düzeylerinin arttığını, SOD ve KAT enzim aktivitelerinin azaldığını tespit etmişlerdir. Yılmaz vd. (2004), sekiz haftalık diyabetik sıçanların karaciğer dokusunda oksidatif stresin artışına bağlı olarak MDA düzeyinin arttığını bildirmiştir.

Diğer taraftan Grup 3'te MDA düzeylerinin Grup 4'e göre anlamlı şekilde yükseldiği görülmüştür. Grup 4'te diyabet modeli oluşturulan ratların KD ile beslenmesi MDA düzeylerinin artışını engellemiş olabilir. Çalışmamızda kullanılan KD'nin içeriğinde yağ olarak sadece zeytin yağının kullanılması ve zeytin yağının tekli doymuş yağ asitleri ve yüksek miktarda antioksidan madde içermesi nedeniyle MDA artışının baskılanmış olabileceği düşünülmektedir.

NO, hem prooksidan hem de antioksidan özelliklere sahip olabilen bir moleküldür (Wiernsperger, 2003). NO bazı durumlarda bir antioksidan gibi davranarak hücreyi korur. Bununla birlikte SOD düzeylerinin arttığı durumlarda SOD ile reaksiyona girer ve bir prooksidan olan peroksinitrit oluşturur (Praticò, 2005). Diyabette görülen endotel fonksiyon bozukluklarından endoteldeki NO üretiminin azalması sorumlu tutulmaktadır (Fidan, 2007; Xia vd., 2006). Ancak diyabette NO'nin artmış olduğunu rapor eden araştırmacılar da vardır (Abou-Seif ve Youssef, 2004; Anwar ve Meki, 2003). Bir çalışmada diyabet oluşturulan ratlarda serum NO düzeylerinin düştüğü, insülin infüzyonu ile NO düzeyinin arttığı bildirilmiştir (Mohan ve Das, 2000). Bizim çalışmamızda diyabet gruplarında (Grup 3 ve 4) NO yapımının azalmasına bağlı NO miktarının azaldığı düşünülmektedir. Diğer taraftan Grup 3'ün NO düzeylerinin Grup 4'e göre anlamlı şekilde artması KD'nin diyabetik ratlarda NO artışının önleminde etkili olduğunu göstermektedir. Çalışmamızda elde ettiğimiz verilere göre DM ve beraberinde ortaya çıkan hiperglisemi durumunda, artmış olan serbest radikaller ve NO'nin reaksiyona girerek β -hücrelerinin yıkımında rol oynayan peroksinitritlerin oluşabileceği, KD ise hiperglisemi durumunu normal düzeylerine getirerek serbest radikaller ve NO düzeyini azaltabileceği düşünülmektedir.

Kan glikoz düzeyinin yükselmesi ile insülin sekresyonunun bozulması sonucu oluşan DM'nin en önemli komplikasyonlarından birisi serbest radikal düzeyinin bütün vücutta artması ve bu durumun birçok dokuya zarar vermesidir. Oluşan serbest radikalleri ortamdan uzaklaştırmak için vücutta SOD, KAT ve GSHPx gibi

antioksidan enzimler sentezlemektedir. Sentezlenen bu enzimler, radikallerin indirgenmesini sağlayarak ortamdan uzaklaştırmaktadır. Ancak DM gibi durumlarda enzim sentezinin yetersizlikleri dokuların hasar görmesine yol açmaktadır (Dönder vd., 2012). Diyabette antioksidan enzim (KAT, SOD, GSH-Px gibi) aktivitelerinde ya da düzeylerinde artma, azalma ya da bir değişiklik olmadığını bildiren çalışmalar mevcuttur (Taş vd., 2018). Diyabet oluşumunda KAT enziminin aktivitesine ilişkin çalışmaların sonuçları çelişkili olabilir. Bazı çalışmalar, diyabetli bireylerde KAT aktivitesinde artış olduğunu öne sürerken (Salmonowicz vd., 2014; Kesavulu vd., 2001), diğerleri azalma belirlemiştir (Abou vd., 2004). Kalak vd. (1996), yaptıkları çalışmada H_2O_2 'yi parçalayarak hücreleri serbest radikallerin zararlı etkilerine karşı koruyan önemli bir antioksidan enzim olan KAT aktivitesini Tip 2 DM'li hastalarda kontrollere göre önemli derecede düşük bulmuşlardır. Bu düşüklüğün kaynağının diyabetli kişilerin eritrositlerinde oksidatif hasar sonucu meydana gelen değişikliklerden sorumlu faktörlerden biri olabileceği kanaatinde olduklarını bildirmişlerdir. Bizim çalışmamızda karaciğer dokularında bakılan KAT enzim aktivitesinin diyabetli gruplarda (Grup 3 ve 4) kontrol gruplarına göre (Grup 1 ve 2) anlamlı şekilde düştüğü görüldü. Bununla birlikte KD uygulamasının diyabetik ratlarda KAT enzim aktivitesini arttırdığı önemli bir bulgu olarak görülmektedir.

SOD enzimi, antioksidan enzimler arasında ROT'lara karşı ilk savunma hattını oluşturur ve oksidatif hasarın yayılmasını engeller. Genel olarak çalışmalarda, diyabette SOD aktivitesinin düştüğü gözlenirken, bazı çalışmalarda değişmemiş veya artmış SOD aktiviteleri bildirilmiştir. Örneğin tedavisiz diyabetik ratların bazı dokularında Cu-Zn SOD'un sitozolik formunun azalıp, mitokondrial formunun arttığı gözlenmiştir (Taşdemir, 2005). Diyabette SOD aktivitesinde düşme belirleyen araştırmacılar (Dhanajaya ve Lokanathan 2016; Çiğremiş vd. 2003) bu düşüşün artan oksidatif strese kaynaklanabileceğini, artan oksidatif stresin oksidan/antioksidan dengesi bozabileceğini, diyabette meydana gelen oksidatif stres artışının SOD aktivitesindeki değişikliği beraberinde getirebileceğini bildirilmişlerdir. Aynı şekilde Koca vd. (2008), Tip 1 ve Tip 2 diyabet gruplarının kontrol grupları ile karşılaştırılması sonucunda diyabetik SOD aktivitelerinde başlangıçta artış, ardından anlamlı olarak düşüş olduğunu bildirmişlerdir. SOD aktivitesinin başlangıçta artmasının, süperoksit (O_2^-) artmış üretimine, daha sonraki düşmenin ise enzimin glikasyonuna ve/veya H_2O_2 birikimine bağlı olabileceğini rapor etmişlerdir. Diğer

tarafından Soliman (2008), bir çalışmada serum SOD düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış bulunduğunu ve bu artışın oksidatif stresin bir belirtisi olduğunu belirtmiştir. Benzer şekilde Halifeoğlu vd. (2005) da kan glikoz düzeylerinin yüksek seyretmesine bağlı oluşan lipid peroksidasyona bağlı olarak serum SOD enzim aktivelerinde artış olduğunu göstermişlerdir. KD'nin mitokondriyal niceliği ve/veya niteliği etkileyerek oksidatif stresi etkileyebileceğini ileri sürülmüştür. Bu bilgiye dayanarak Parry vd. (2018) 10 aylık 344 rat ve izokalorik KD ve standart diyetin kullanıldığı bir deneyde, karaciğer ve iskelet kas dokusundan SOD ve KAT düzeylerini ölçtüler. Sonuç olarak SOD ve KAT antioksidan seviyeleri, KD'de anlamlı olmamakla birlikte daha yüksek buldular. Bu çalışmada ayrıca KD'in antioksidan seviyelerinde değişiklik yapmadan mitokondri hacmini arttırdığı gösterilmiştir. Bizim çalışmamızda her iki diyabet grubunda genel olarak kontrol gruplarına göre karaciğer SOD aktivitesi düşmüştür. Ancak bu sonuç istatistiksel olarak anlamlı görülmedi. Grup 2'de yer alan KD ile beslenen grupta ise SOD aktivitesi diğer gruplara göre anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur. Bu sonuca göre KD ratlarda SOD aktivitesinin artışını sağladığını düşünebiliriz.

5.9 Karaciğer Dokusunda Histopatolojik Değişiklikler

Bu çalışmada, kontrol grubundaki ratların (Grup 1) karaciğer dokuları normal histolojik yapısında görülürken, KD ile beslenen (Grup 2) ratların karaciğerlerinde hafif düzeyde steatoz, hepatosit hasar, inflamasyon ve konjesyon gözleildi. Deney grupları içinde en fazla karaciğer hasarı Grup 3'te bulunan diyabet modeli gelişen ratlarda gözleildi. Bu sonuç diyabete bağlı gelişen hiperglisemi, insülin direnci ve oksidatif stres parametreleri ile ilişkili bulundu. Karaciğer santral metabolik bir organ olup diyabet sonucu oluşan oksidatif hasara bağlı olarak şekillenen ROT'lerine maruz kaldığı bildirilmiştir (Seven vd., 2004). STZ ile indüklenen diyabet çalışmalarında hepatositlerde nekroz, konjesyon, inflamatuvar hücre infiltrasyonu ve steatoz gibi değişiklikler meydana gelmektedir (Zhang vd., 2012). Histopatolojik olarak karaciğerde görülen dejeneratif değişikliklere benzer sonuçlar deneysel diyabet çalışmalarında da rapor edilmiştir (El-Soud vd., 2007; Özdemir vd., 2009; Aboonabi vd., 2014). Anormal derecede artan serum TG'lerin ve serbest yağ asitlerinin pankreas, kalp, böbrek ve karaciğer gibi yağsız dokularda lipid birikimine neden olduğu bilinmektedir. Çalışmamızda KD ile beslenen gruplarda artan lipid anormalliklerinin belirli derecede karaciğer hasarına neden düşünülmektedir. Diğer

tarafından Grup 4'te yer alan KD ile beslenen diyabetik ratlarda Grup 3'e göre daha düşük oranlarda histopatolojik değişiklikler geliştiği gözlemlendi. KD'in diyabete bağlı gelişen hiperglisemiye kontrol edebilmesi, insülin uyarlılığını artırması ve karaciğer dokularında oksidatif stresi düşürmesine bağlı bu grupta karaciğerde histopatolojik değişiklikler daha hafif seyretmiştir.



SONUÇ VE ÖNERİLER

Deneysel diyabet modeli oluşturulan ratlarda KD'in adipokin düzeyleri, oksidan-antioksidan statü ve biyokimyasal parametreler üzerine etkilerinin araştırıldığı bu çalışma alanında yapılan ilk çalışma olması bakımından önem taşımaktadır. Deneysel çalışmamızın sonunda KD ile beslenmenin ratlarda ağırlık artışına neden olduğu görüldü. Ratların ağırlık artışında KD ile alınan günlük kalori değerinin yüksek olmasına bağlı olduğu düşünüldü. Hiperglisemi diyabetin prognozunda önemli bir sorun olarak görülmektedir. Kan glikoz düzeyinin kontrol edilebilmesi diyabet tedavisinde birincil hedeflerdendir. Bu çalışmada KD'in diyabette glisemik kontrolü daha iyi sağladığı, glikoz kullanımını ve insülin duyarlılığını arttırdığı görüldü. Diğer taraftan ratlarda uygulanan KD lipid profilinde HDL değerinin artmasını sağlarken TK ve TG değerlerinin de artmasına neden olmuştur. KD modelinde toplam kalori alımının tekrar düzenlenerek kan lipid profilinde değişiklikler incelenebilir. Diğer taraftan KD ile alınan yüksek yağın vücutta kullanılabilmesi, enerjiye dönüşümün arttırılabilmesi için diyet ile birlikte egzersiz programı uygulanabilir. Ketojenik beslenme ve serum adipokin düzeylerini etkileyerek proinfamatuar adipokinler ve antiinflamatuvar adipokinler aracılığı ile diyabete bağlı inflamatuvar tabloyu değiştirebildiği görülmüştür. Bu değişikliklerin altta yatan mekanizmalarının araştırılması için ayrıntılı çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır. Bu projede değerlendirilen söz konusu adipokinlerin klinik çalışmalarda da etkileri araştırılabilir. Çünkü diyabetle ilişkili yeni bir adipokinin tanımlanması, klinisyenlere diyabetin ve bununla ilgili komplikasyonların erken teşhisi ve daha iyi yönetimi için yeni fırsatlar sağlayabilir. Çalışmamızda diyabetik ratlarda oksidatif stres belirteçlerini arttığı, antioksidan enzim aktivitelerinin ise azaldığı görüldü. KD ile beslenmenin ise diyabette görülen bu durumu tersine çevirdiği bulunmuştur. Çalışmamızın kısa vadeli olması, KD'in uzun vadeli etkileri ve sürdürülebilir faydaları hakkında sonuç çıkarmamızı engelliyor. Ek olarak, gözlemlenen değişikliklerin temelini oluşturan kesin hücrel ve moleküler mekanizmaların daha sonraki çalışmalarda yapılmasını öneriyoruz.

Sonuç olarak bu çalışmada sunulan biyokimyasal ve histolojik veriler KD'in diyabetik durumu iyileştirmede ve hiperglisemiyi stabilize etmeye yardımcı olmada önemli bir yararlı etkiye sahip olduğu ancak KD'in lipid metabolizmasında ve hepatik steatozda bozulmalara yol açabileceğini göstermektedir.

KAYNAKLAR

- Aboonabi, A., Rahmat, A. ve Othman, F., 2014. Effect of pomegranate on histopathology of liver and kidney on generated oxidative stress diabetic induced rats, *Journal of Cytology & Histology*, 6, 10-18.
- Abou-Seif, M. A. ve Youssef, A. A., 2004. Evaluation of some biochemical changes in diabetic patients, *Clinica Chimica Acta*, 346, 161-170.
- Ağar, E., 2021. İnsan Fizyolojisi, İstanbul Tıp Kitapevleri, İstanbul.
- Ağar, E., Ayyıldız, M., ve Yıldırım, M., 2017. Tıbbi Fizyoloji Klinik Tıbbın Temelleri, İstanbul Tıp Kitapevleri, İstanbul.
- Ahima, R. S. ve Flier, J. S., 2000. Adipose tissue as an endocrine organ, *Trends Endocrinol Metabolism*, 11, 8, 327-332.
- Ahn, Y. M, Lim, S. J, Han, H. K. ve Choi, S. S., 2006. Effects of Allium vegetable intake on levels of plasma glucose, lipid and minerals in streptozotocin induced diabetic rats, *Korean Journal of Nutrition*, 39, 5, 433-443.
- Ajala, O., English, P. ve Pinkney, J., 2013. Systematic review and meta-analysis of different dietary approaches to the management of type 2 diabetes, *The American Journal of Clinical Nutrition*, 97, 3, 505-16.
- Akhtar, D. H., Iqbal, U., Vazquez-Montesino, L. M., Dennis, B. B. ve Ahmed, A., 2019. Pathogenesis of insulin resistance and atherogenic dyslipidemia in nonalcoholic fatty liver disease, *Journal of Clinical and Translational Hepatology*, 7, 362-370.
- Alaca, N., Uslu, S., Gülec Süyen, G., İnce, U., Serteser, M. ve Kurtel, H., 2018. Effects of different aerobic exercise frequencies on streptozotocin-nicotinamide-induced type 2 diabetic rats: Continuous versus short bouts and weekend warrior exercises, *Journal of Diabetes*, 10, 1, 73-84.
- Alderton, W. K., Cooper, C. E., ve Knowles, R. G. 2001. Nitric oxide synthases: structure, function and inhibition, *The Biochemical Journal*, 357, 3, 593-615.
- Alizadeh, S., Mirzaei, K., Mohammadi, C., Keshavarz, S. ve Maghbooli Z., 2017. Circulating omentin-1 might be associated with metabolic health status in different phenotypes of body size, *Archives of Endocrinology and Metabolism*, 61, 567-574.
- Al-Khalifa, A., Mathew, T. C., Al-Zaid, N. S., Mathew, E. ve Dashti, H., 2011. Low carbohydrate ketogenic diet prevents the induction of diabetes using streptozotocin in rats, *Experimental and Toxicologic Pathology*, 63, 7, 663-669.

- Al-Khalifa, A., Mathew, T. C., Al-Zaid, N. S., Mathew, E. ve Dashti, H. M., 2009. Therapeutic role of low-carbohydrate ketogenic diet in Diabetes, *Nutrition*, 25, 11, 12, 1177-85.
- Altan, N., Dinçel, A. S. ve Koca, C., 2006. Diabets mellitus ve oksidatif stres, *Türk Biyokimya Dergisi*, 31, 2, 51-56.
- Altın, A., Atalay, H. ve Bilal, T., 2018. Serbest radikaller ve stres ile ilişkisi. *Balıkesir Sağlık Bilimleri Dergisi*, 7, 1, 51-55.
- Altuntaş, Y., 2001. Diyabetes Mellitus'un tanımı, tanısı ve sınıflaması, *Her Yönüyle Diyabetes Mellitus*, Yenigün M., 2. Baskı, Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul.
- Alzahrani, N., Alouffi, S., Almutairi, K., Almutairi, M., Almutairi, T., Alwan, I. A., Otaibi, N. ve Tamimi, W., 2020. Can Fasting Blood Sugar be Used as an Indicator of Long-Term Diabetic Control Instead of Estimated Average Glucose?, *Clinical Laboratory*, 1, 66, 12.
- American Diabetes Association, 2021. Classification and diagnosis of diabetes: standards of medical care in diabetes 2021. *Diabetes Care*, 44, 15-33.
- American Diabetes Association, 2019. Classification and diagnosis of diabetes: standard of medical care in Diabetes 2019, *Diabetes Care*, 52, 25-43.
- American Diabetes Association, 2013. Diagnosis and classification of diabetes Mellitus, *Diabetes care*, 36, 67-74.
- Arora, S. K. ve McFarlane, S. I., 2005. The case for low carbohydrate diets in diabetes management, *Nutrition & Metabolism*, 2, 16, 1-9.
- Aslankoç, R., Demirci, D., İnan, Ü., Yıldız, M., Çetin, M., Savran, E. Ş. ve Yılmaz, B., 2008. Oksidatif stres durumunda antioksidan enzimlerin rolü- Süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz (GPX), *Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 26, 3, 362-369.
- Atalay, M. ve Laaksonen, D. E., 2002. Diabetes Oxidative Stress and Physical Exercise, *Journal of Sports Science and Medicine*, 1, 1-14.
- Ayada, C., Toru, Ü. ve Korkut, Y., 2015. Nesfatin-1 and its effects on different systems, *Hippokratia*, 19, 1, 4-10.
- Ayala, A., Munoz, M. F. ve Argüelles, S., 2014. Lipid Peroxidation: Production, Metabolism, and Signaling Mechanisms of Malondialdehyde and 4-Hydroxy-2-Nonenal, *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 3, 6, 38-42.
- Aycan, Z., 2023. Temel Endokrinoloji ve Diyabet Kitabı, İstanbul Yayıncılık, İstanbul.
- Aydın, S., 2013. Role of NUCB2/nesfatin-1 as a possible biomarker, *Current Pharmaceutical Design*, 19, 6986-6992.

- Bakırel, T., Bakırel, U., Üstüner Keles, O., Güneş Ülgen, S. ve Yardibi, H., 2008. In vivo assessment of antidiabetic and antioxidant activities of rosemary (*Rosmarinus officinalis*) in alloxan-diabetic rabbits, *Journal of Ethnopharmacology*, 116, 64-73.
- Balaz, M., Vician, M., Janakova, Z., Kurdiova, T., Surova, M., Imrich, R. ve Majercikova, Z., 2014. Subcutaneous adipose tissue zinc- α 2-glycoprotein is associated with adipose tissue and whole-body insulin sensitivity, *Obesity*, 22, 1821-1829.
- Banaszak, M., Górna, I. ve Przysławski, J., 2021. Zinc and the Innovative Zinc- α 2-Glycoprotein Adipokine Play an Important Role in Lipid Metabolism: A Critical Review, *Nutrients*, 11, 13, 6-10.
- Banday, M. Z., Sameer, A. S. ve Nissar, S., 2020. Pathophysiology of diabetes: An overview, *Avicenna J Med*, 13, 10, 4, 174-188.
- Bao, Y., Bing, C. ve Jenkins, J. R., 2005. Zinc- α 2-glycoprotein, a lipid mobilizing factor is expressed and secreted by human (SGBS) adipocytes, *FEBS Letters*, 579, 41-47.
- Bartz, R. R., Piantadosi, C. A., 2010. Clinical review: oxygen as a signaling molecule, *Critical Care*, 14, 5, 1-19.
- Basu, S., 2003. Carbon tetrachloride-induced lipid peroxidation: eicosanoid formation and their regulation by antioxidant nutrients, *Toxicology*, 189, 113-127.
- Beken, Z. ve Akça T., 2021. Klinik Mitokondriyal Tıp. Celsus Kitabevi, İstanbul.
- Berköz, M. ve Yalın S., 2008. Yağ dokusunun immünolojik ve inflamatuvar fonksiyonları, *Mersin Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, 1, 1, 1-9.
- Betteridge, D.J., 2000. What Is Oxidative Stress?, *Metabolism*, 49, 3-8.
- Beutler, E., 1985. Red Cell Metabolism. A manual of biochemical methods, Orlando, FL: Grune & Stratton, New York.
- Bielohuby, M., Sisley, S., Sandoval, D., Herbach, N., Zengin, A., Fischereder, M., Seeley, R. J. ve Bidlingmaier, M., 2013. Impaired glucose tolerance in rats fed low-carbohydrate, high-fat diets, *American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism*, 305, 9, 1059-1070.
- Bilous, R. ve Donnelly, R., 2013. Diyabet El Kitabı (4. Basım), Dinççağ, N., (Editör), İstanbul Tıp Kitabevi Yayıncılık, İstanbul.
- Bing, C., Bao, Y., Jenkins, J., Sanders, P., Manieri, M. ve Trayhurn, P., 2004 Zinc- α 2-glycoprotein, a lipid mobilizing factor, is expressed in adipocytes and is up-regulated in mice with cachexia, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 101, 2500-2505.

- Birol, L., 2011. Pankreas Hastalıkları ve Hemşirelik Bakımı, İç Hastalıkları ve Hemşirelik Bakımı, Sistem Ofset, Ankara.
- Biscetti, F., Nardella, E. ve Bonadia, N., 2019. Association between plasma omentin-1 levels in type 2 diabetic patients and peripheral artery disease, *Cardiovascular Diabetology*, 1, 12-20.
- Blair, I. A., 2008. DNA adducts with lipid peroxidation products, *Journal of Biological Chemistry*, 283, 23, 15545-15549.
- Blankenberg, S., Rupprecht, H.J., Bickel, C., Torzewski, M., Hafner, G., Tiret, L., Smieja, M., Cambien, F., Meyer, J. ve Lackner, K. J., 2003. Glutathione peroxidase 1 activity and cardiovascular events in patients with coronary artery disease, *The New England Journal of Medicine*, 349, 1605-1613.
- Bobbert, T., Schwarz, F., Fischer-Rosinsky, A., Maurer, L., Mohlig, M., Pfeiffer, A.F., Mai, K. ve Spranger, J., 2015. Chemerin and prediction of diabetes mellitus type 2, *Clinical Endocrinology*, 82, 838-843.
- Bonnefont Rousselot, D., Bastard, J. P, Jaudon, M. C., ve Delattre, J., 2000. Consequences of the diabetic status on the oxidant/antioxidant balance, *Diabetes and Metabolism*, 26, 163-176.
- Booth, A., Magnuson, A., Fouts, J. ve Foster, M., 2015. Adipose tissue, obesity and adipokines: role in cancer promotion, *Hormone Molecular Biology and Clinical Investigation*, 21, 1, 57-74.
- Bough, K. J., Rho, J. M., 2007. Anticonvulsant mechanisms of the ketogenic diet, *Epilepsia*, 48, 1, 43-58.
- Brouns, F., 2018. Overweight and diabetes prevention: is a low-carbohydrate-high-fat diet recommendable?, *European Journal of Nutrition*, 57, 4, 1301-1312.
- Brownlee, M., 2005. The pathobiology of diabetic complications: a unifying mechanism, *Diabetes*, 54, 1615-1625.
- Cacho, J., Sevillano, J., de Castro, J. ve Ramous, M., 2008. Validation of simple indexes to assess insulin sensitivity during pregnancy in wistar and sprague-dawley rats, *American Journal of Physiology, Endocrinology and Metabolism*, 295, 5, 1269-1276.
- Cannon, B. ve Nedergaard, J., 2004. Brown adipose tissue: function and physiological significance, *Physiological Reviews*, 84, 277-359.
- Carey, G. B., 1998. Mechanisms regulating adipocyte lipolysis. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 441, 157-170.
- Castro, A. V., Kolka, C. M., Kim, S. P. ve Bergman, R., 2014. Obesity, insulin resistance and comorbidities? Mechanisms of association, *Arquivos Brasileiros de Endocrinologiae Metabologia*, 58, 6, 600-609.

- Cefalu, W. T., 2001. Insulin resistance: cellular and clinical concepts, *Experimental Biology and Medicine*, 226, 1, 13-26.
- Ceriello, A., 2003. New insights on oxidative stress and diabetic complications may lead to a “causal” antioxidant therapy, *Diabetes Care*, 26, 5, 1589-1596.
- Cesur, G. ve Gökçimen, A., 2012. Yağ dokusunun işlevsel sırları, *Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 13, 2, 47-53.
- Chabory, E., Damon, C., Lenoir, A., Kauselmann, G., Kern, H. ve Zevnik, B., 2009. Epididymis seleno-independent glutathione peroxidase 5 maintains sperm DNA integrity in mice, *Journal of Clinical Investigation*, 119, 7, 2074-2085.
- Chang, K. C., Tseng, C. D., Chou, T. F., Cho, Y. L., Chi, T. C., Su, M. J. ve Tseng, Y. Z., 2006. Arterial stiffening and cardiac hypertrophy in a new rat model of type 2 diabetes, *European Journal of Clinical Investigation*, 36, 1-7.
- Chelikani, P., Fita, I. ve Loewen, P. C., 2004. Diversity of structures and properties among catalases, *Cellular and Molecular Life Sciences*, 61, 192-208.
- Chen, Y. C., Travers, R. L., Walhin, J. P., Gonzalez, J. T., Koumanov, F., Betts, J. A. ve Thompson, D., 2017. Feeding influences adipose tissue responses to exercise in overweight men, *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, 1, 313, 84-93.
- Cheng, J., Liu I., Tzeng, T., Chen, W., Hayakawa, S. ve Yamamoto, T., 2003., Release of β -endorphin by caffeic acid to lower plasma glucose in streptozotocin-induced diabetic rats, *Hormone and Metabolic Research*, 35, 251-258.
- Choy, K. Y. C., ve Louie, J. C. Y., 2023. The effects of the ketogenic diet for the management of type 2 diabetes mellitus: A systematic review and meta-analysis of recent studies, *Diabetes & Metabolic Syndrome*, 17, 12, 10-29.
- Christensen, A. A. ve Gannon, M., 2019. The beta cell in type 2 diabetes, *Current Diabetes Reports*, 19, 9, 1-8.
- Chusyd, D., Wang, D., Huffman, D. ve Nagy, T., 2016. Relationships between rodent white adipose fat pads and human white adipose fat depots, *Frontiers in Nutrition*, 3, 1-12.
- Cortas, N. K. ve Wakid, N. W., 1990. Determination of inorganic nitrate in serum and urine by a kinetic cadmium-reduction method, *Clinical Chemistry*, 36, 8, 1440-1443.
- Coşansu, G. 2015. Diyabet: Küresel bir salgın hastalık, *Okmeydanı Tıp Dergisi*, 31, 1-6.

- Cypess, A. M., Lehman, S., Williams, G., Tal, I., Rodman, D., Goldfine, A., Kuo, F.C., Palmer, E., Tseng, Y., Doria, A., Kolodny, G. ve Kahn, C., 2009. Identification and importance of brown adipose tissue in adult humans, *The New England Journal of Medicine*, 9, 15, 1509-1517
- Çiğremiş, Y., Köse, M., Özüdurlu, F., Türköz, Y. ve Eğri, M., 2003. Tip 2 Diabetes Mellitus'lu Hastaların Eritrosit İçi Cu, Zn-Sod, Cat ve Gsh-Px Antioksidan Enzim Düzeylerinin Araştırılması, *Gazi University Journal of Science*, 16, 2, 239-244.
- Çoban, E. ve Gültekin, S., 2012. Hastalıkların patofizyolojisi: Klinik Tıpla Bir Tanışma, Palme Yayıncılık, Ankara.
- Dağıstanlı, F. K. ve Öztürk, M., 2007. Yenidoğan STZ diyabet modelinde pankreatik beta hücre rejenerasyonunu kontrol eden genlerin ekspresyonu, *Cerrahpaşa Tıp Dergisi*, 38, 127-138.
- Dai, R., Deng, G., Sun, Z., Liu Z., Qian, Y. ve Han, Y., 2017. Relation of serum and vitreous nesfatin-1 concentrations with diabetic retinopathy, *Journal of Clinical Laboratory Analysis*, 31, 5, 1-4.
- Daniel, C. B., Drew, S., Daniel, Z. ve Jonathan, M. G., 2013. The developmental origins of adipose tissue, *Development*, 140, 3939-3949.
- Dashti, H. M., Mathew, T. C. ve Al-Zaid, N. S., 2020. Efficacy of low carbohydrate ketogenic diet in the treatment of Type 2 Diabetes, *Medical Principles and Practice*, 30, 3, 223-235.
- Dashti, H.M., Mathew, T.C. ve Kadada, M., 2007. Beneficial effects of ketogenic diet in obese diabetic subjects, *Molecular and Cellular Biochemistry*, 302, 249-256.
- Dashti, H. M., Al-Zaid, N. S., Mathew, T. C., Al-Mousawi, M., Talib, H., Asfar, S. K. ve Behbahani, A. I., 2007. Long term effects of ketogenic diet in obese subjects with high cholesterol level, *Molecular and Cellular Biochemistry*, 286, 1, 2-9.
- Dashti, H. M., Bo-Abbas, Y. Y., Asfar, S. K., Mathew, T. C., Hussein, T. ve Behbahani, A, 2003. Ketogenic diet modifies the risk factors of heart disease in obese patients, *Nutrition*, 19, 10, 901-902.
- Dean, R. T., Fu, S., Stocker, R. ve Davies, M. J., 1997. Biochemistry and pathology of radical-mediated protein oxidation, *Biochemical Journal*, 324, 1, 1-18.
- Delikanlı Akbay, G., 2021. PKOS'ta Ketojenik Beslenmenin Etkileri, *Cumhuriyet Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 6, 2, 93-102.

- Derelanko, M. J., 1987. Determination of erythrocyte life span in F-344, Wistar, and Sprague-Dawley rats using a modification of the diisopropylfluorophosphate method. *Fundamental and applied toxicology, Official Journal of the Society of Toxicology*, 9, 2, 271-276.
- Devasagayam, T. P., Tilak, J. C., Bloor, K. K., Sane, KS, Ghaskadbi, S.S. ve Lele, RD., 2004. Free radicals and antioxidants in human health: current status and future prospects, *Journal of the Association of Physicians of India*, 52, 794-804.
- Dhanajaya, S. ve Lokanathan, T., 2016. Lipid peroxidation and superoxide dismutase activities in patients with type 2 diabetes complicated with peripheral neuropathy, *International Journal of Research in Medical Sciences*, 4, 2, 457-460.
- Dizdaroğlu, M., Jaruga, P. ve Rodriguez, H., 2002. Free radical-induced damage to DNA: mechanisms and measurement, *Free Radical Biology and Medicine*, 32, 11, 1102-1115.
- Drabińska, N., Juśkiewicz, J. ve Wiczowski, W., 2022. The Effect of the Restrictive Ketogenic Diet on the Body Composition, Haematological and Biochemical Parameters, Oxidative Stress and Advanced Glycation End-Products in Young Wistar Rats with Diet-Induced Obesity, *Nutrients*, 13, 14-22.
- Ekici, L. ve Sağdıç, O., 2008. Serbest radikaller ve antioksidan gıdalarla inhibisyonu. *Gıda*, 33, 5, 251-260.
- Ellenbroek, J. H., van Dijck, L., Töns, H. A., Rabelink, T. J., Carlotti, F., Ballieux, B. E., ve Koning, E. J., 2014. Long-term ketogenic diet causes glucose intolerance and reduced β - and α -cell mass but no weight loss in mice. *American journal of physiology, Endocrinology and metabolism*, 306, 5, 552-558.
- El-Soud, N. H. A., Khalil, M. Y., Hussein, J. S., Oraby, F. ve Farrag, A. R. H., 2007. Antidiabetic effects of fenugreek alkaloid extract in streptozotocin induced hyperglycemic rats, *Journal of Applied Sciences Research*, 3, 1073-1083.
- Erdoğan, S., Özcan, Ş., 2021. *Diyabet Hemşireliği*, Nobel Tıp Kitapevleri, İstanbul.
- Esterbauer, H., Schaur, R. J. ve Zollner, H., 1991. Chemistry and Biochemistry of 4-hydroxynonenal, malonaldehyde and related aldehydes, *Free Radical Biology and Medicine*, 11, 1, 81-128.
- Evans, J. L., Goldfine, I. D. ve Grodsky, G. M., 2005. Are oxidative stress-signaling pathways mediators of insulin resistance and β -cell dysfunction? *Diabetes* 52, 1-8.
- Evans, M., Cogan, K. E. ve Egan B., 2017. Metabolism of ketone bodies during exercise and training: physiological basis for exogenous supplementation, *The Journal of Physiology*, 595, 2857-2871.

- Falk, R. E., Cederbaum, S. D., Blass, J. P., Gibson, G. E., Kark, R. P. ve Carrel, R. E., 1976. Ketonic diet in the management of pyruvate dehydrogenase deficiency, *Pediatrics*, 58, 5, 713-721.
- Fang, Y. Z., Yang, S. ve Wu, G., 2002. Free radicals, antioxidants, and nutrition, *Nutrition* 18, 10, 872-879.
- Fattman, C. L., Schaefer, L. M. ve Oury, T. D., 2003. Extracellular superoxide dismutase in biology and medicine, *Free Radical Biology & Medicine*, 35, 3, 236-256.
- Feillet-Coudray, C., Rock, E., Coudray, C., Grzelkowska, K., Azaïs-Braesco, V., Dardevet, D. ve Mazur, A., 1999. Lipid peroxidation and antioxidant status in experimental diabetes, *Clinica Chimica Acta*, 284, 1, 31-43.
- Finkel, T. ve Holbrook, N. J., 2000. Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing, *Nature*, 408, 239-247.
- Frankel, E. N., Neff, W. E., 1983. Formation of malonaldehyde from lipid oxidation products, *Biochimica et Biophysica Acta*, 754, 3, 264-270.
- Franz, M. J., Bantle, J. P., Beebe, C. A., Brunzell, J. D. ve Garg, A., 2002. Evidence based nutrition principles and recommendations for the treatment and prevention of diabetes and related complications, *Diabetes Care*, 25, 1, 148-198.
- Freeman, B.A. ve Crapo, J. D., 1982. Free radicals and tissue injury, *Laboratory Investigation*, 47, 412-425.
- Fuehrlein, B. S., Rutenberg, M. S., Silver, J. N., Warren, M. W., Duncan, G. E., Stacpoole, P. W. ve Brantly, M. L., 2004. Differential metabolic effects of saturated versus polyunsaturated fats in ketogenic diets, *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 89, 4, 641-645.
- Galicía-García, U., Benito-Vicente, A., Jebari S., Larrea-Sebal, A., Siddiqi, H., Uribe, K. B., Ostolaza, H. ve Martín, C., 2020. Pathophysiology of Type 2 Diabetes Mellitus, *International Journal of Molecular Sciences*, 30, 21-27.
- Garbow, J. R., Doherty, J. M., Schugar R. C., Travers, S., Weber, M. L., Wentz, A. E., Ezenwajiaku, N., Cotter, D. G., Brunt, E. M. ve Crawford, P. A., 2011. Hepatic steatosis, inflammation, and ER stress in mice maintained long term on a very low-carbohydrate ketogenic diet, *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 300, 6, 956-67.
- Gardner, D. G. ve Shoback, D., 2013. Greenspan's temel ve klinik endokrinoloji. Güneş Tıp Kitabevleri, İstanbul.
- Geraldes, P. ve King, G. L., 2010. Activation of protein kinase C isoforms and its impact on diabetic complications, *Circulation Research*, 106, 1319-1331.

- Giacco, F. ve Brownlee, M., 2010. Oxidative stress and diabetic complications, *Circulation Research*, 29, 107, 9, 1058-70.
- Giardino, F. J., 2005. Oxygen, oxidative stress, hypoxia, and heart failure, *The Journal of Clinical Investigation*, 115, 3, 500-508.
- Gibson, A.A., Seimon, R.V., Lee, C.M.Y., Ayre, J., Franklin, J. ve Markovic, T.P. 2015. Do ketogenic diets really suppress appetite? A systematic review and meta-analysis, *Obesity Reviews*, 16, 1, 64-76.
- Gimble, J. M., 2003. Adipose tissue-derived therapeutics, *Expert Opinion on Biological Therapy*, 3, 705-13.
- Gohda, T., Makita, Y., Shike, T., Tanimoto, M., Funabiki, K., Horikoshi, S. ve Tomino, Y., 2003. Identification of epistatic interaction involved in obesity using the KK/Ta mouse as a type 2 diabetes model. Is Zn- α 2-glycoprotein-1 a candidate gene for obesity?, *Diabetes* 52, 2175-2181.
- Gomez, A., Bellido, D., Castro, A. I., Ordoñez-Mayan, L., Carreira, J., Galban, C. ve Casanueva, F. F. 2017., Body composition changes after very-low-calorie ketogenic diet in obesity evaluated by 3 standardized methods, *The Journal of Clinical Endocrinology Metabolism*, 102, 2, 488-498.
- Gong, F. Y., Zhang, S. J., Deng, L. J., Zhu, H. J., Pan, H., Li, N. S. ve Shi, Y. F., 2009. Zinc- α 2-glycoprotein is involved in regulation of body weight through inhibition of lipogenic enzymes in adipose tissue, *International Journal of Obesity*, 33, 1023-1030.
- Gonzalez, R., Tiwari, A. ve Unniappan, S., 2009. Pancreatic beta cells colocalize insulin and pronesfatin immunoreactivity in rodents, *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 381, 4, 643-8.
- Goralski, K. B., McCarthy, T. C. ve Hanniman, E. A., 2007. Chemerin, a novel adipokine that regulates adipogenesis and adipocyte metabolism, *Journal of Biological Chemistry*, 282, 38, 28175-28188.
- Guo, Y., Liao, Y., Fang, G., Dong, J. ve Li, Z., 2013. Increased nucleobindin-2 (NUCB2) transcriptional activity links the regulation of insulin sensitivity in type 2 diabetes, *Journal of Endocrinological Investigation*, 36, 10, 883-888.
- Gupta, L., Khandelwal, D., Kalra, S., Gupta, P., Dutta, D. ve Aggarwal S., 2017. Ketogenic Diet in Endocrine Disorders: Current Perspectives, *Journal of Postgraduate Medicine*, 63, 242-251.
- Guyton, A. C. ve Hall, J. E., 2013. Tıbbi Fizyoloji, Çağlayan Yeğen, B. (Editör), Nobel Tıp Kitapevleri, İstanbul.
- Gürdöl, F., 2019. Tıbbi Biyokimya (4. Basım), Nobel Tıp Kitabevi, İstanbul.

- Halban, P. A., Polonsky, K. S., Bowden, D. W., Hawkins, M. A., Ling, C. ve Mather, K. J., 2014. β -cell failure in type 2 diabetes: postulated mechanisms and prospects for prevention and treatment, *Diabetes Care*, 37, 6, 1751-1758.
- Halifeoğlu, İ., Karataş, F., Çolak, R. ve Telo, S., 2005. Tip 2 diyabetik hastalarda tedavi öncesi ve tedavi sonrası oksidan ve antioksidan durum, *Fırat Tıp Dergisi*, 10, 117-122
- Haluzik, M. ve Nedvidkova, J., 2000. The role of nitric oxide in the development of streptozotocineinduced diabetes mellitus: experimental and clinical implications, *Physiological Research*, 49, 37-42.
- Handley, R. T., Brown, T. L. ve Annan, A. A., 2018. Successful treatment of obesity and insulin resistance via ketogenic diet status post Roux-en-Y, *British Medical Journal Case Reports*, 2, 12-19.
- Harvey, I., Boudreau A., Stephens J. M., 2020. Adipose tissue in health and disease. *The Open Biology Journal*, 10, 12, 200-211.
- Harvey, K. L., Holcomb, L. E., Kolwicz, S. C., 2019. Ketogenic diets and exercise performance, *Nutrients*, 26, 11, 10, 2-16.
- Hassan, I., Bilgrami, S. ve Kumar, V., 2008. Crystal structure of the novel complex formed between zinc α 2-glycoprotein (ZAG) and prolactin-inducible protein (PIP) from human seminal plasma, *Journal of Molecular Biology*, 384, 3, 663-672.
- Helfer, G. ve Wu, Q. F., 2018. Chemerin: a multifaceted adipokine involved in metabolic disorders, *The Journal of Endocrinology*, 2, 2, 79-94.
- Hirai, K., Hussey, H. J., Barber, M. D. ve Tisdale, M. J., 1998. Aevaluation of a lipid-mobilizing factor isolated from the urine of cancer patients, *Cancer Research*, 58, 2359-2365.
- International Diabetes Federation (IDF) 2021. *IDF Diabetes Atlas*, 10th edition, Brussels, Belgium.
- International Diabetes Federation (IDF) 2019. *IDF Diabetes Atlas*, 9th edition, Brussels, Belgium.
- Johansen, J. S., Harris, A. K., Rychly, D. J. ve Ergül, A., 2005. Oxidative stress and the use of antioxidants in diabetes: Linking basic science to clinical practice, *Cardiovascular Diabetology*, 4, 5, 1-11.
- Kalupahana, N. S., Claycombe, K. J. ve Moustaid-Moussa, N., 2011. Fatty acids alleviate adipose tissue inflammation and insulin resistance: mechanistic insights, *Advances in Nutrition*, 2, 4, 304-316.
- Karabulut, H. ve Gülay, M. Ş., 2016. Serbest radikaller, *Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 4, 1, 50-59.

- Karakan, M. ve Nazlıkul, H., 2017. Oksidatif stres ve serbest radikallerin vücut üzerindeki etkisi, Bilimsel Tamamlayıcı Tıp Regülasyon ve Nöral Terapi Dergisi, 11, 2, 7-11.
- Kaushik, N., Kaushik, R., Dixit, P., Tyagi, M., Gambhir, J. ve Madhu, S. V., 2018. Plasma Omentin-1 Level and its Relationship with Insulin Resistance in Obese Prediabetics, Journal of Clinical and Diagnostic Research, 1, 12-18.
- Kavishankar, G. B. ve Lakshmidhevi, N., 2020. Anti-diabetic effect of a novel N-Trisaccharide isolated from cucumis prophetarum on streptozotocin–nicotinamide induced type 2 diabetic rats, Phytomedicine, 21, 5, 624-630.
- Kehrer, J. P. ve Klotz, L. O., 2015. Critical Reviews in Toxicology, 45, 765-98.
- Kesavulu, M.M., Rao, B. K., Giri, R., Vijaya, J., Subramanyam, G. ve Apparao, C., 2001. Lipid peroxidation and antioxidant enzyme status in Type 2 diabetics with coronary heart disease, Diabetes Research and Clinical Practice, 53, 1, 33-39.
- Kirkpatrick, C. F., Bolick, J. P., Kris-Etherton, P. M., Sikand, G., Aspary, K. E. ve Soffer, D. E. 2019., Review of current evidence and clinical recommendations on the effects of low-carbohydrate and very-low-carbohydrate (including ketogenic) diets for the management of body weight and other cardiometabolic risk factors: a scientific statement from the national lipid association nutrition and lifestyle task force, Journal of Clinical Lipidology, 13, 5, 689-711.
- Kleiner, D. E., Brunt, E. M., Van Natta, M. 2005., Design and validation of a histological scoring system for nonalcoholic fatty liver disease, Hepatology, 41, 1313-1321.
- Koca, C., Altan, N., Dincel, A., Kosova, F., Şahin, D. ve Arslan, M., 2008. Tip 1 ve Tip 2 diyabetik hasta serumlarında oksidatif stres ve leptin düzeylerinin incelenmesi, Türk Klinik Biyokimya Dergisi, 6, 3, 99-107.
- Köskenli, V., 2014. Obezite ve İnsülin Direnci. Uzmanlık Tezi, Maltepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, İstanbul.
- Köylü, H., 2019. Klinik Anlatımlı Tıbbi Fizyoloji (3. Baskı), İstanbul Tıp Kitabevi, İstanbul.
- Kuchkuntla, A. R., Shah, M., Velapati, S., Gershuni, V. M, Rajjo, T., Nanda, S. ve Mundi, M. S., 2019. Ketogenic Diet:an Endocrinologist Perspective, Current Nutrition Reports, 8, 4, 402-410.
- Laffel, L., 1999. Ketone bodies: a review of physiology, pathophysiology and application of monitoring to Diabetes, Diabetes, Metabolism Research and Reviews, 15, 6, 412-26.
- Lancaster, J. R., 2015. Nitric oxide: a brief overview of chemical and physical properties relevant to therapeutic applications, Future Science, 1, 1, 1-6.

- Leung, J. Y., Kwok, E. W., Liu, G.Y. ve Pang, C. C., 2010. Attenuated alpha-adrenoceptor-mediated arterial and venous constrictions in rat models of diabetes, *European Journal of Pharmacology*, 642, 128-33.
- Li, Q. C., Wang, H. Y., Chen, X., Guan, H. Z. ve Jiang, Z. Y., 2013. Fasting plasma levels of nesfatin-1 in patients with type 1 and type 2 diabetes mellitus and the nutrient-related fluctuation of nesfatin-1 level in normal humans, *Regulatory Peptides*, 159, 3, 143-148.
- Liao, X., Wang, X. ve Li, H., 2016. Sodium-Glucose Cotransporter 2 (SGLT2) Inhibitor Increases Circulating Zinc- α 2-Glycoprotein Levels in Patients with Type 2 Diabetes, *Scientific Reports*, 6, 1-12.
- Lichtash, C., Fung, J., Ostoich, K. C. ve Ramos, M., 2020. Therapeutic use of intermittent fasting and ketogenic diet as an alternative treatment for type 2 diabetes in a normal weight woman: a 14-month case study, *BMJ Case Reports*, 13, 7, 1-5.
- Lima, P. A, Baldini Prudencio, M., Murakami, D. K., Figueiredo Neto, A. M. ve Teixeira Damasceno, N. R., 2017. Effect of classic ketogenic diet treatment on lipoprotein subfractions in children and adolescents with refractory epilepsy, *Nutrition*, 33, 271-277.
- Limón-Pacheco, J. ve Gonsebatt, M. E., 2009. The role of antioxidants and antioxidant-related enzymes in protective responses to environmentally induced oxidative stress, *Mutation Research*, 31, 674, 137-147.
- Lipinski, B., 2001. Pathophysiology of oxidative stress in diabetes Mellitus, *Journal of Diabetes and its Complications*, 15, 4, 203-210.
- Liu, M., Zhu H. ve Dai, Y., 2018. Zinc- α 2-glycoprotein is associated with obesity in Chinese and HFD-induced obese mice, *Frontiers in Physiology*, 7, 9, 62-69.
- Lobo, V., Patil, A., Phatak, A. ve Chandra, N., 2010. Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health, *Pharmacognosy Reviews*, 4, 118-126.
- Longo, R., Peri, C., Cricri, D., Coppi, L. ve Caruso, D., 2019. Ketogenic diet: a new light shining on old but gold biochemistry, *Nutrients*, 11, 10, 2497-2501.
- Longo, V. D. ve Mattson, M. P., 2014. Fasting: molecular mechanisms and clinical applications, *Cell Metabolism*, 19, 2, 181-192.
- Lowry, O., 1951. Protein measurement with the folin phenol reagent, *Journal of Biological Chemistry*, 193, 265-275.
- Macit M. S. ve Akbulut, G., 2015. Diabetes Mellitus ve Oksidatif Stres, *Beslenme ve Diyet Dergisi*, 43, 59-65.

- Makino, A., Scott, B. ve Dillmann, W., 2010. Mitochondrial fragmentation and superoxide anion. production in coronary endothelial cells from a mouse model of type 1 diabetes, *Diabetologia*, 53, 8, 1783-94.
- Marrades, M. P., Martínez, J. A. ve Moreno-Aliaga, M. J., 2008. ZAG, a lipid-activated adipokine, is downregulated in human obesity, *Journal of Physiology and Biochemistry*, 64, 1, 61-66 .
- Masiello, P., Broca, C., Gross, R., Roye, M., Manteghetti, M. ve Hillaire-Buys, D., 1998. Experimental NIDDM: development of a new model in adult rats administered streptozotocin and nicotinamide, *Diabetes*, 47, 2, 224-229.
- Matta, R. A., El-Hini, S. H., Salama, A., 2022. Serum nesfatin-1 is a biomarker of pre-diabetes and interplays with cardiovascular risk factors, *The Egyptian Journal of Internal Medicine*, 34, 15, 1-8.
- Matthews, D., Hosker, J., Rudenski, A., Naylor, B., Treacher, D. ve Turner, R., 1985. Homeostasis model assessment: insulin resistance and β -cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man, *Diabetologia*, 28, 7, 412-419.
- McDonald, T. J. W. ve Cervenka, M. C., 2018. The expanding role of ketogenic diets in adult neurological disorders, *Brain Sciences*, 8, 8, 1-16.
- Memişoğulları, R., 2005. Diyabette serbest radikallerin rolü ve antioksidanların etkisi, *Düzce Tıp Fakültesi Dergisi*, 7, 3, 30-39.
- Mermer, M. ve Acar Tek, N., 2017. Adipoz doku ve enerji metabolizması üzerine etkileri, *Süleyman Demirel Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, 8, 3, 40-6.
- Mitchell, G. A., Kassovska-Bratinova, S. ve Boukaftane, Y., 1995. Medical aspects of ketone body metabolism, *Clinical and Investigative Medicine*, 18, 193-216.
- Mohan, K. ve Das, U. N., 2000. Effect of L-arginine-nitric oxide system on the metabolism of essential fatty acids in chemical-induced diabetes mellitus, *Prostaglandins Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, 62, 1, 35-46.
- Mooradian, A. D., 2009. Dyslipidemia in type 2 diabetes mellitus, *Nature Reviews Endocrinology*, 5, 3, 150.
- Moreno-Navarrete, J. M., Catalan, V., Ortega, F., GomezAmbrosi, J., Ricart, W., Frühbeck, G. ve Fernandez-Real, J. M., 2010. Circulating omentin concentration increases after weight loss, *Nutrition & Metabolism*, 7, 2, 12-18.
- Motor, S., Öztürk, S. ve Özcan, O., 2014. Evaluation of total antioxidant status, total oxidant status and oxidative stres index in patients with alopecia areata, *International Journal of Clinical and Experimental Medicine*, 7, 1089-1093.

- Mracek, T., Ding, Q., Tzanavari, T., Kos, K., Pinkney, J., Wilding, J., Trayhurn, P. ve Bing, C., 2010. The adipokine zinc-alpha2-glycoprotein (ZAG) is downregulated with fat mass expansion in obesity, *Clinical Endocrinology-Oxford*, 72, 3, 334-341.
- Murata, Y., Nishio, K., Mochiyama, T., Konishi, M., Shimada, M. ve Ohta, H., 2013. Fgf21 impairs adipocyte insulin sensitivity in mice fed a low-carbohydrate, high-fat ketogenic diet, *Plos One*, 8, 7, 69330.
- Murray, A. J., Knight, N. S., Cole, M. A., Cochlin, L. E., Carter, E. ve Tchabanenko, K., 2016. Novel ketone diet enhances physical and cognitive performance, *Federation of American Societies for Experimental Biology*, 30, 12, 4021-32.
- Müller, M. J., Paschen, U. ve Seitz, H. J., 1984. Effect of ketone bodies on glucose production and utilization in the miniature pig, *Journal of Clinical Investigation*, 74, 49-261
- Nagendrappa, C. G., 2005. An appreciation of free radical chemistry-3. free radicals in diseases and health, *Resonance*, 10, 65-74.
- Nakata, M. ve Yada, T., 2013. Role of NUCB2/nesfatin-1 in glucose control: diverse functions in islets, adipocytes and brain, *Current Pharmaceutical Design*, 19, 39, 6960-6965.
- Nam, T. G., 2011. Lipid peroxidation and its toxicological implications, *Toxicological Research*, 27, 1, 1-6.
- Nasri, M., Mahdavi, S., Babaeenezhad, E., Adibhesami, G., Nouryazdan, N., Veiskarami, S., Rahimi Monfared, S., Birjandi, M. ve Ahmadvand, H., 2020. Ameliorative effects of histidine on oxidative stress, tumor necrosis factor alpha (TNF- α), and renal histological alterations in streptozotocin/nicotinamide-induced type 2 diabetic rats, *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, 23, 6, 714-723.
- Navale, A.M. ve Paranjape, A. N., 2016. Glucose transporters: physiological and pathological roles, *Biophysical Investigations*, 8, 1, 5-9.
- Navarro, A. ve Boveris, A., 2004. Rat brain and liver mitochondria develop oxidative stress and lose enzymatic activities on aging, *American Journal of Physiology-Regulatory*, 287, 1244-1249.
- Oh, S., Shimizu H., Ohsaki, A., Okada, S. ve Mori, M., 2009. A new anorexigenic protein, nesfatin- 1, *Peptides*, 30, 5, 995-998.
- Ohkawa, H., Ohishi, N. ve Yagi K., 1979. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction, *Analytical Biochemistry*, 95, 351-358.
- Olgun, N. ve Çetinkaya, S., 2021. Diyabet Hemşireliği, Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul.

- Orlik, B., Madej, P., Skalba, P. ve Olszanecka-Glinianowicz, M., 2014. Plasma omentin and adiponectin levels as markers of adipose tissue dysfunction in normal weight and obese women with polycystic ovary syndrome, *Clinical Endocrinology*, 81, 529-535.
- Osborn, O. ve Olefsky, J. M. 2012. The cellular and signaling networks linking the immune system and metabolism in disease, *Nature Medicine*, 18, 3, 363-74.
- Özcan, O., Erdal, H., Çakırca, G. ve Yönden, Z., 2015. Oksidatif stres ve hücre içi lipit, protein ve DNA yapıları üzerine etkileri, *Journal of Clinical and Experimental Investigations*, 6, 3, 331-6.
- Özdemir, O., Akalın, P., Baspınar, N. ve Hatipoğlu, F., 2009. Pathological changes in the acute phase of streptozotocin-induced diabetic rats, *Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy*, 53, 4, 783-790.
- Öztürk, İ. Ç., Öztürk, F., Gül, M., Ateş, B. ve Çetin A., 2009. Protective effects of ascorbic acid on hepatotoxicity and oxidative stress caused by carbon tetrachloride in the liver of Wistar rats, *Cell Biochemistry and Function*, 27, 309-315.
- Pan, H.Y., Guo, L. ve Li, Q., 2010. Changes of serum omentin-1 levels in normal subjects and in patients with impaired glucose regulation and with newly diagnosed and untreated type 2 diabetes, *Diabetes Research and Clinical Practice*, 88, 29-33
- Paoli, A., Bianco, A., Moro, T., Mota, J. F. ve Coelho-Ravagnani, C. F., 2023. The effects of ketogenic diet on insulin sensitivity and weight loss, which came first: the chicken or the egg? *Nutrients*, 15, 14, 2-31.
- Paoli, A., Rubini, A., Volek, J. S. ve Grimaldi, K. A., 2014. Beyond weight loss: a review of the therapeutic uses of very-low-carbohydrate (ketogenic) diets, *European Journal of Clinical Nutrition*, 67, 789-796.
- Pari, L. ve Srinivasan, S., 2010. Antihyperglycemic effect of diosmin on hepatic keyenzymes of carbohydrate metabolism in streptozotocin–nicotinamide induceddiabetic rats, *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 64, 477-481.
- Partsalaki I., Karvela A. ve Spiliotis B. E., 2012. Metabolic impact of a ketogenic diet compared to a hypocaloric diet in obese children and adolescents. *Journal of Pediatric Endocrinology and Metabolism*, 25, 697-704.
- Patikorn, C., Saidoung, P., Pham, T., Phisalprapa, P., Lee, Y. Y., Varady, K. A., Veettil, S. K. ve Chaiyakunapruk, N., 2023. Effects of ketogenic diet on health outcomes: An umbrella review of meta-analyses of randomized clinical trials, *BMC Medicine*, 21, 196-200.
- Peres, R. C., Nogueira, D. B., Da Costa, E. ve Ribeiro, D. A., 2013. Implications of ketogenic diet on weight gain, motor activity and cicatrization in Wistar rats, *Toxicology Mechanisms and Methods*, 23, 2, 144-149.

- Pesta, D. H., Goncalves, R. L., Madiraju, A. K., Strasser, B. ve Sparks, L. M., 2017. Resistance training to improve type 2 diabetes: working toward a prescription for the future, *Nutrition & Metabolism*, 14, 1, 24.
- Petersen, K. F., Dufour, S., Morino, K., Yoo, P. S., Cline, G. W. ve Shulman, G. I., 2012. Reversal of muscle insulin resistance by weight reduction in young, lean, insulin-resistant offspring of parents with type 2 diabetes, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 109, 21, 8236-8240.
- Pham-Huy, L. A., He, H., Pham-Huyc, C., 2008. Free Radicals, Antioxidants in Disease and Health, *International Journal of Biomedical Science*, 4, 2, 89-96.
- Pilla, R., 2018. The ketogenic diet and its clinical applications in type 1 and 2 diabetes, *Eurasian Journal of Food Science and Technology*, 2, 85-92.
- Puchalska, P. ve Crawford, P. A., 2017. Multi-dimensional roles of ketone bodies in fuel metabolism, signaling, and therapeutics, *Cell Metabolism*, 25, 2, 262-284.
- Punthakee, Z., Goldenberg, R. ve Katz, P., 2018. Diabetes canada clinical practice guidelines expert committee. Definition, classification and diagnosis of diabetes, prediabetes and metabolic syndrome, *Canadian Journal of Diabetes*, 342, 10-15.
- Rafiullah, M., Musambil, M. ve Satish, D., 2022. Kumar David, Effect of a very low-carbohydrate ketogenic diet vs recommended diets in patients with type 2 diabetes: a meta-analysis, *Nutrition Reviews*, 80, 3, 488-502.
- Rains, J. L. ve Jain, S. K., 2011. Oxidative stress, insulin signaling, and diabetes. *Free Radical Biology and Medicine*, 50, 5, 567-575.
- Ramesh, B. ve Pugalendi, K. V., 2006. Antioxidant role of umbelliferone in STZ-diabetic rats, *Life Science Journal*, 79, 306-310.
- Rathwa, N., Patel, R., Pramanik, Palit, S., Jadeja, S. D., Narwaria, M., Ramachandran, A. V. ve Begum, R., 2019. Circulatory omentin-1 levels but not genetic variants influence the pathophysiology of type 2 diabetes, *Cytokine*, 119, 144-151.
- Rehman, K. ve Akash, M. S. H., 2017. Mechanism of generation of oxidative stress and pathophysiology of type 2 diabetes mellitus: How are they interlinked?, *Journal of Cellular Biochemistry*, 118, 11, 3577-3585.
- Ribeiro, L. C., Chittó, A. L., Müller, A. P., Da Silva, M., Quincozes-Santos, A. ve Gonçalves, C. A., 2008. Ketogenic diet-fed rats have increased fat mass and phosphoenolpyruvate carboxykinase activity, *Molecular Nutrition & Food Research*, 52, 1365-1371.

- Ridnour, L. A., Thomas, D. D., Mancardi, D., Espey, M., Miranda, K. M. ve Paolocci, N., 2004. The chemistry of nitrosative stress induced by nitric oxide and reactive nitrogen oxide species. Putting perspective on stressful biological situations, *Biological Chemistry*, 385, 1, 1-10.
- Roberts, M. N., Wallace, M. A., Tomilov, A. A., Zhou, Z., Marcotte, G.R. ve Tran, D., 2017. A Ketogenic Diet Extends Longevity and Healthspan in Adult Mice, *Cell Metabolism*, 26, 3, 539-46.
- Roche, E., Jones, J., Arribas, M. I., Leon-Quinto, T. ve Soria, B., 2006. Role of small bioorganic molecules in stem cell differentiation to insulin-producing cells, *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 14, 6466-6474.
- Rodgers, R. J., Tschöp, M. H. ve Wilding, J. P. H. 2012. Anti-obesity drugs: past, present and future, *Disease Models & Mechanisms*, 621- 626.
- Rodwell, V. W., Bender, D. A., Botham, K. M., Kennelly, P. J., Weil, P. A., 2019. Harper'ın Resimli Biyokimyası, 31. Baskı, Yücel, D. (Editör), Güneş Tıp Kitabevi, Ankara.
- Romacho, T., Elsen, M., Rohrborn, D. ve Eckel, J., 2014. Adipose tissue and its role in organ crosstalk, *Acta Physiologica*, 210, 733-753.
- Rosenbaum, M., Hall, K. D., Guo, J., Ravussin, E., Mayer, L. S., Reitman, M. L., Smith, S. R., Walsh, B. T. ve Leibel, R. L., 2019. Glucose and lipid homeostasis and inflammation in humans following an isocaloric ketogenic diet, *Obesity*, 27, 6, 971-981.
- Rosenwald, M., Perdikari, A., Rüllicke, T. ve Wolfrum, C., 2013. Bi-directional interconversion of brite and white adipocytes, *Nature Cell Biology*, 15, 659-667.
- Rourke, J. L., Dranse, H. J. ve Sinal C. J., 2013. Towards an integrative approach to understanding the role of chemerin in human health and disease, *Obesity Reviews*, 14, 3, 245-62.
- Röder, P. V., Wu, B., Liu, Y. ve Han, W., 2016. Pancreatic regulation of glucose homeostasis, *Experimental & Molecular Medicine*, 11, 48, 3-10.
- Rui, L., 2017. Brown and Beige Adipose Tissues in Health and Disease, *Comprehensive Physiology*, 7, 4, 1281-1306.
- Russell, S. T., Zimmerman, T. P., Domin, B. A., Tisdale, M. J., 2004. Induction of lipolysis in vitro and loss of body fat in vivo by zinc-alpha2-glycoprotein. *Biochim Biophys Acta*, 1636, 1, 59-68.
- Saely, C. H., Geiger, K. ve Drexel, H., 2012. Brown versus white adipose tissue: a mini-review, *Gerontology*, 58, 15-23.

- Saslow, L. R., 2014. A randomized pilot trial of a moderate carbohydrate diet compared to a very low carbohydrate diet in overweight or obese individuals with type 2 diabetes mellitus or prediabetes, *Public Library of Science*, 9, 91027.
- Satman, I., Ömer, B. ve Tütüncü, Y., 2013. Twelve-year trends in the prevalence and risk factors of diabetes and prediabetes in Turkish adults, *European Journal of Epidemiology*, 28, 169-180.
- Schaffler, A., Neumeier, A., Herfarth, H., Furst, A., Scholmerich, J. ve Buchler, C., 2005. Genomic structure of human omentin, a new adipocytokine expressed in omental adipose tissue, *Biochimica et Biophysica Acta*, 1732, 1, 96-102.
- Schalla, M.A. ve Stengel, A., 2018. Current understanding of the role of nesfatin-1, *Journal of the Endocrine Society*, 2, 1188-1206.
- Schmidt, M., Dekker, F. ve Maarsingh, H., 2013. Exchange protein directly activated by cAMP (epac): A multidomain cAMP mediator in the regulation of diverse biological functions, *Pharmacological Reviews*, 65, 670-709.
- Schmidt, T., Harmon, D. M., Kludtke E., Mickow A., Simha V., Kopecky S., 2023. Dramatic elevation of LDL cholesterol from ketogenic-dieting: A Case Series, *American Journal of Preventive Cardiology*, 6, 14, 1-4.
- Seven, A., Güzel, S., Seymen, O., Civelek, S., Bolayirli, M. ve Uncul, M., 2004. Effects of vitamin e supplementation on oxidative stress in streptozotocin induced diabetic rats: investigation of liver and plasma, *Yonsei Medical Journal*, 45, 4, 703-710.
- Shibata, R., Ouchi, N., Takahashi, R., Terakura, Y. ve Ohashi, K., 2012. Omentin as a novel biomarker of metabolic risk factors, *Diabetology & Metabolic Syndrome*, 4, 37-38.
- Shimizu, H. ve Tanaka, M ve Osaki, A., 2016. Transgenic mice overexpressing nesfatin/nucleobindin-2 are susceptible to high-fat diet-induced obesity, *Nutrition & Diabetes*, 6, 1-6.
- Shimizu, H., Oh-I, S., Hashimoto, K., Nakata, M., Yamamoto, S., Yoshida, N., Eguchi, H., Kato, I., Inoue, K. ve Mori, M., 2009. Peripheral administration of nesfatin-1 reduces food intake in mice: the leptin-independent mechanism, *Endocrinology*, 150, 2, 662-671.
- Sitar-Taut, A. V., Coste, S. C., Tarmure, S., Orasan, O. H., Fodor, A., Negrean, V., Pop, D., Zdrengea, D., Login, C., Tiperciuc, B. ve Cozma, A., 2020. Cumulative or complementary effects of diabetes and obesity on adipokines, inflammation and insulin resistance, *Journal of Clinical Medicine*, 9, 9, 27-37.

- Sjögren, K., Hellberg, N., Bohlooly-Y, M., Savendahl, L., Johansson, M.S., Berglindh, T., Bosaeus, I. ve Ohlsson, C., 2001. Body fat content can be predicted in vivo in mice using a modified dual-energy X-ray absorptiometry technique, *The Journal of Nutrition*, 131, 11, 2963-2966.
- Soliman, G. Z., 2008. Blood lipid peroxidation (superoxide dismutase, malondialdehyde, glutathione) levels in Egyptian type 2 diabetic patients, *Singapore Medical Journal*, 49, 2, 129-136.
- Sondike, S. B., Copperman, N. ve Jacobson, M. S., 2003. Effects of a low-carbohydrate diet on weight loss and cardiovascular risk factor in overweight adolescents, *The Journal of Pediatrics*, 142, 3, 253-258.
- Srinivasan, K., Viswanad, B., Asrat, L., Kaul, C. L. ve Ramarao, P., 2005. Combination of highfat diet-fed and low-dose streptozotocin-treated rat: a model for type 2 diabetes and pharmacological screening, *Pharmacological Research*, 52, 313-320.
- Stengel, A., Goebel, Y., Fau-Tache, M. ve Tache, Y., 2011. Nesfatin-1: a novel inhibitory regulator of food intake and body weight, *Obesity Reviews*, 12, 4, 261-271.
- Stocker, R. K., Reber, A. E., Bally, L. ve Stanga, Z., 2019. Ketogenic diet and its evidence-based therapeutic implementation in endocrine diseases, *Praxis*, 108, 541-553.
- Su, Y., Zhang, J., Tang, Y., Bi, F. ve Liu, J., 2010. The novel function of nesfatin-1: anti-hyperglycemia, *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 391, 1, 1039-1042.
- Sukkar, S. G. ve Muscaritoli, M., 2021. A clinical perspective of low carbohydrate ketogenic diets: A narrative review, *Frontiers in Nutrition*, 8, 1-15.
- Takada, Y., Hachiya, M., Park, S. H., Osawa, Y., Ozawa, T. ve Akashi, M., 2002. Role of reactive oxygen species in cells overexpressing manganese superoxide dismutase: mechanism for induction of radioresistance, *Molecular Cancer Research*, 1, 137-146.
- Takahashi, M., Takahashi, Y. ve Takahashi, K., 2008. Chemerin enhances insulin signaling and potentiates insulin-stimulated glucose uptake in 3T3-L1 adipocytes, *Federation of European Biochemical Societies Letters*, 582, 5, 573-578.
- Taş, S., Sarandol, E., Ziyanoğlu, S., Aslan, K. ve Dirican, M., 2005. Effects of green tea on serum paraoxonase/arylesterase activities in streptozotocin-induced diabetic rats, *Nutrition Research*, 25, 1061-1074.
- Thiele-Franz, M. A., Steckhan, N., Michalsen, A. ve Stange, R., 2020. Ketosis in patients undergoing medically supervised therapeutic fasting-results from an observational trial, *European Journal of Clinical Nutrition*, 74, 43-47.

- Thong, F., Dugani, C. ve Klip, A., 2005. Turning Signals On and Off: GLUT4 Traffic in the Insulin-Signaling Highway, *Physiology*, 20, 271-84.
- Trayhurn, P., 2016. Recruiting brown adipose tissue in human obesity, *Diabetes*, 65, 5, 1158-1160.
- Tucker, R. M. ve Tan S. Y., 2017. Do non-nutritive sweeteners influence acute glucose homeostasis in humans? A systematic review, *Physiology & Behavior*, 18, 2, 17-25
- Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği (TEMED), 2020. Diabetes Mellitus Komplikasyonlarının Tanı, Tedavi Klavuzu, İstanbul.
- Türkyılmaz, Z., 2003. İskemi-reperfüzyon zedelenmesinde pentoksifilin, dimetilsülfoksit ve eksojen melatoninin koruyucu etkilerinin karşılaştırılması, Genel Cerrahi Uzmanlık Tezi, Trakya Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Edirne.
- Tzanavari, T., Bing, C. ve Trayhurn, P., 2007. Postnatal expression of zinc- alpha 2-glycoprotein in rat white and brown adipose tissue, *Molecular and Cellular Endocrinology*, 279, 26-33.
- Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M.T., Mazur, M. ve Telser, J., 2007. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease, *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 39, 44-84.
- Valko, M., Rhodes, C. J., Moncol, J., Izakovic, M. ve Mazur M., 2007. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer, *Chemico-Biological Interactions*, 160, 1-40.
- Varewijck, A. J. ve Janssen, J. A., 2012. Insulin and its analogues and their affinities for the IGF1 receptor, *Endocrine-related cancer*, 19, 5, 63-75.
- Veech, R. L, Chance, B, Kashiwaya, Y, Lardy, H. A ve Cahill, G. F., 2001. Ketone bodies, potential therapeutic uses, *The International Union of Biochemistry and Molecular Biology Unites Biochemists and Molecular Biologists*, 51, 241-247.
- Veech, R.L., 2004. The therapeutic implications of ketone bodies: the effects of ketone bodies in pathological conditions: ketosis, ketogenic diet, redox states, insulin resistance, and mitochondrial metabolism, *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, 70, 309-319.
- Walton, C. M., Perry, K., Hart, R. H., Berry, S. L. ve Bikman, B. T., 2019. Improvement in glycemic and lipid profiles in type 2 diabetics with a 90-day ketogenic diet, *Journal of Diabetes Research*, 4, 1-6.
- Wang, X., Lei, X. G. ve Wang, J., 2014. Malondialdehyde regulates glucose-stimulated insulin secretion in murine islets via TCF7L2-dependent Wnt signaling pathway, *Molecular and Cellular Endocrinology*, 382, 1, 8-16.

- Wargent, E., O'Dowd, J. F., Zaibi, M. S., Gao, D., Bing, C., Trayhurn, P., Cawthorne, M., Arch, J. ve Stocker, C. J., 2013. Contrasts between the effects of zinc- α 2-glycoprotein, a putative β 3/2-adrenoceptor agonist and the β 3/2-adrenoceptor agonist BRL35135 in C57Bl/6 (ob/ob) mice, *Journal of Endocrinology*, 216, 157-168.
- Webster, C. C., Murphy, T. E., Larmuth, K. M., Noakes, T. D. ve Smith, J. A. 2019. Diet, diabetes status, and personal experiences of individuals with type 2 diabetes who self-selected and followed a low carbohydrate high fat diet, *Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity*, 5, 12, 2567-2582.
- Weigert, J., Neumeier, M., Wanninger, J., Filarsky, M., Bauer, S., Wiest, R., Scherer, M.N., Schaffler, A. ve Aslanidis, C., 2010. Systemic chemerin is related to inflammation rather than obesity in type 2 diabetes, *Clinical Endocrinology*, 72, 342-348.
- Westman, E. C, Yancy, W. S., Mavropoulos, J. C., Marquart, M. ve McDuffie, J. R., 2008. The effect of a low-carbohydrate, ketogenic diet versus a low-glycemic index diet on glycemic control in T2DM Mellitus, *Nutrition & Metabolism*, 5, 36, 1-9.
- Westman, E. C., Yancy, W. S. ve Humphreys, M., 2006. Dietary Treatment of Diabetes Mellitus in The Pre-Insulin, *Perspectives in Biology and Medicine*, 49, 1, 77-83.
- Wiernsperger, N. F., 2003. Oxidative stress as a therapeutic target in diabetes: revisiting the controversy, *Diabetes Metabolism*, 29, 1-14.
- Winterbourn, C. C., Hawkins, R. E., Brian, M. ve Carrell, R. W., 1975. The estimation of red cell superoxide dismutase activity, *The Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, 85, 2, 337-341.
- Wittamer, V., Franssen, J. D., Vulcano, M., Mirjolet, J. F., Le Poul, E., Migeotte, I., Brézillon, S., Tyldesley, R., Blanpain, C., Detheux, M., Mantovani, A., Sozzani, S., Vassart, G., Parmentier, M. ve Communi, D., 2003. Specific recruitment of antigen-presenting cells by chemerin, a novel processed ligand from human inflammatory fluids, *Journal of Experimental Medicine*, 198, 7, 977-985
- Wright, E. M., Loo, D. D. ve Hirayama, B. A., 2011. Biology of human sodium glucose transporters, *Physiological Reviews*, 91, 733-794.
- Xiao, X., Li, H., Qi, X., Wang, Y., Xu, C., Liu, G., 2017. Zinc α 2 glycoprotein alleviates palmitic acid-induced intracellular lipid accumulation in hepatocytes, *Molecular and Cellular Endocrinology*, 439, 155-164.
- Yamawaki, H., 2011. Vascular effects of novel adipocytokines: focus on vascular contractility and inflammatory responses, *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 34, 3, 307-310.

- Yancy, W. S., Foy, M., Chalecki, A. M., Vernon, M. C. ve Westman, E. C., 2005. A low-carbohydrate, ketogenic diet to treat type 2 diabetes, *Nutrition & Metabolism*, 1, 2, 34-38.
- Yancy, W. S., Vernon, M. C. ve Westman, E. C., 2003. A pilot trial of a low-carbohydrate, ketogenic diet in patients with type 2 diabetes, *Metabolic Syndrome and Related Disorders*, 1, 239-243.
- Yang, C. J., Han, R. Y. ve Wang, S. S., 2017. The relationship of serum zinc alpha 2 glycoprotein with blood lipids and reproductive hormone levels in men, *National Journal of Andrology*, 23, 11, 997-1001.
- Yang, M., Liu, R. ve Li, S., 2013. Zinc-alfa-2-glycoprotein is associated with insulin resistance in humans and is regulated by hyperglycemia, hyperinsulinemia, or liraglutide administration: cross-sectional and interventional studies in normal subjects, insulin-resistant subjects, and subjects, *Diabetes Care*, 36, 5, 1074-82.
- Yang, M., Yang, G. ve Dong J. 2010. Elevated plasma levels of chemerin in newly diagnosed type 2 diabetes mellitus with hypertension, *Journal of Investigative Medicine*, 58, 7, 883-886.
- Yang, R. Z., Lee, M. J. ve Hu, H., 2006. Identification of omentin as a novel depot-specific adipokine in human adipose tissue: Possible role in modulating insulin action, *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, 290, 1253-1261.
- Yang, R., Xu, A. ve Pray, J., 2003. Cloning of omentin, a new adipocytokine from omental fat tissue in humans, *Diabetes*, 52, 61.
- Yeung, D., Lam, K. Wang, Y., Tso, A. ve Xu, A., 2009. Serum Zinc-alpha-2-glycoprotein correlates with adiposity, triglycerides, and the key components of the metabolic syndrome in Chinese subjects, *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 94, 531-36.
- Yılmaz, H. R., Uz, E., Yücel, N., Altuntaş, I. ve Özçelik N., 2004. Protective effect of caffeic acid phenethyl ester (CAPE) on lipid peroxidation and antioxidant enzymes in diabetic rat liver, *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, 18, 234-238.
- Youm, Y. H., Nguyen, K. Y., Grant, R. W., Goldberg, E. L., Bodogai, M., Kim, D., D'Agostino, D., Planavsky, N., Lupfer, C. ve Kanneganti, T. D., 2015. The ketone metabolite beta-hydroxybutyrate blocks NLRP3 inflammasome-mediated inflammatory disease, *Nature Medicine*, 21, 263-269.
- Yuan, T., Yang, T., Chen, H., Fu, D., Hu, Y. ve Wang, J., 2019. New insights into oxidative stress and inflammation during diabetes mellitus-accelerated atherosclerosis, *Redox Biology*, 20, 247-260.

- Yuan, X., Wang, J. ve Yang, S., 2020. Effect of the ketogenic diet on glycemic control, insulin resistance, and lipid metabolism in patients with T2DM: a systematic review and meta-analysis, *Nutrition & Diabetes*, 10, 38-42.
- Zelko, I.N., Mariani, T. J. ve Folz, R. J., 2002. Superoxide dismutase multigene family: a comparison of the CuZn-SOD (SOD1), Mn-SOD (SOD2), and EC-SOD (SOD3) gene structures, evolution, and expression, *Free Radical Biology & Medicine*, 33, 3, 337-349.
- Zhai, T., Li, S. Z., Fan, X. T., Tian, Z., Lu, Q. ve Dong, J., 2017. Circulating nesfatin-1 levels and type 2 diabetes: A systematic review and meta-analysis, *Journal of Diabetes Research*, 7, 68, 70-98.
- Zhang, M., Lv, X. Y., Li, J., Xu, Z. G. ve Chen, L., 2008. The characterization of high-fat diet and multiple low-dose streptozotocin induced type 2 diabetes rat model, *Experimental Diabetes Research*, 704045.
- Zhang, Q., Shen, F., Shen, W., Xia, J., Wang, J., Zhao, Y., Zhang, Z., Sun, Y., Qian, M. ve Ding, S., 2020. High-intensity interval training attenuates ketogenic diet-induced liver fibrosis in type 2 diabetic mice by ameliorating TGF- β 1/Smad Signaling, *Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity*, 13, 4209-4219.
- Zhang, Q., Zhu, L., Zheng, M., Fan, C. ve Li, Y., 2014. Changes of serum omentin-1 levels in normal subjects, type 2 diabetes and type 2 diabetes with overweight and obesity in Chinese adults, *Annales Endocrinol*, 75, 171-175.
- Zhang, Z., Li, L., Yang, M., Liu, H., Boden, G. ve Yang, G., 2012. Increased plasma levels of nesfatin-1 in patients with newly diagnosed type 2 diabetes Mellitus, *Experimental and Clinical Endocrinology & Diabetes*, 120, 2, 91-95.
- Zhao, A., Xiao, H., Zhu, Y., Liu, S., Zhang, S., Yang, Z., Du, L., Li, X., Niu, X., Wang, C., Yang, Y. ve Tian Y., 2022. Omentin-1: a newly discovered warrior against metabolic related diseases, *Expert Opinion on Therapeutic Targets*, 10, 1-15.
- Zhu, H., Bi, D., Zhang, Y., Kong, C., Du, J., Wu, X. ve Wei, Q., 2022. Ketogenic diet for human diseases: the underlying mechanisms and potential for clinical implementations, *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 17, 7-11.

ÖZGEÇMİŞ

Adı ve Soyadı : Fadime GÖKTAŞ

EĞİTİM BİLGİLERİ (Kurum ve Yıl)

Lisans : Gazi üniversitesi, Hemşirelik yüksekokulu, 2003-2007

Yüksek Lisans : Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi, Biyoloji Anabilim Dalı,
2017-2018

MESLEKİ DENEYİM VE ÖDÜLLERİ

1. Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi / Enfeksiyon Kontrol Hemşiresi
2. Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi / Öğretim Görevlisi
3. Aksaray Üniversitesi / Öğretim Görevlisi

TEZDEN ÜRETİLEN YAYINLAR, SUNUMLAR VE PATENTLER

Uluslararası Hakemli Dergilerde Yayınlanan Makaleler

1. Göktaş, F. ve Tekin Karacaer, N., 2024. Tip 2 Diabetes Mellitusta Ketojenik Diyetin Etkileri, Aksaray Üniversitesi Tıp Bilimleri Dergisi, 4, 3, 16-22.