

← Adınızı soyadınızı giriniz

Tez kabul edildikten sonra yapılan **sabit ciltte sırt yazısı** bu şablona göre yazılacak. Yazılar tek satır olacak
Cilt sırtı yazıların yönü yukarıdan aşağıya
(sol yandaki gibi) olacak .



← Tez, Yüksek Lisans'sa, YÜKSEK LİSANS TEZİ;
Doktora ise DOKTORA TEZİ ifadesi kalacak

← Tez Sınavının yapılacağı yılı yazınız

**T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

(DOKTORA TEZİ)

**DİYABETİK OBEZ VE DİYABETİK OLMAYAN OBEZ
KİŞİLERDE TRAIL MEKANİZMASININ GENETİK
OLARAK İNCELENMESİ**

SAADET BÜŞRA AKSOYER SEZGİN

**DANIŞMAN
PROF. DR. Ş. ÜMİT ZEYBEK**

**MOLEKÜLER TIP ANABİLİM DALI
MOLEKÜLER TIP DOKTORA PROGRAMI**

İSTANBUL-2022

İTHAF

Aileme ve Eşime ithafen...

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim süresince kendisinin yanına geldiğim o ilk günden itibaren beni destekleyen, ufkumu açan ve her daim en doğru yol hangisiyse orada ilerlememi teşvik eden, her zaman elimden tuttuğunu bildiğim ve artık ailemden biri gibi hisettiğim benim için çok değerli danışmanım Prof.Dr.Ümit ZEYBEK'e teşekkürlerimi sunmayı bir borç bilirim.

Doktora zahmetli ve uzun bir yol olmasına rağmen her zaman bizi güler yüzle karşılayan ve dersleri daha eğlenceli ve öğretici hale getiren, bir eğitimciden öte aile gibi hisettiren değerli Moleküler Tıp Anabilim Dalı Başkanımız Prof.Dr. İlhan YAYLIM'a ve bizi her alanda geliştiren Anabilim Dalımızın kıymetli hocalarına çok teşekkür ederim.

Bizlerin gerek ders dönemi gerek tez döneminde oluşan ve oluşabilecek tüm sorularımıza hiç sıkılmadan cevap veren, idari ve akademik işlerimizde bizlere her daim yardım eden hocamız Öğr. Gör. Mehmet Tolgahan HAKAN'a teşekkür ederim.

Tez çalışmamın her anında desteğini hiç esirgemeyen ve gece-gündüz farketmeksizin benimle birlikte emek gösteren kıymetli arkadaşım Şermin DURAK'a çok teşekkür ederim.

Doktora yeterliliğimizde aylarca birlikte çalıştığımız değerli arkadaşlarım Gökçe ERDEMİR ve Merve ERKISA GENEL'e ve Anabilim Dalı'nda her zaman yanımda olan arkadaşlarım başta Arezoo GHEYBİ olmak üzere Barış ERTUĞRUL, Merve Nur ATAŞ, Dilara SÖNMEZ, Göksu KAŞARCI ve Şeyda DEMİRKOL'a teşekkür ederim.

Bu uzun yolculukta iyisiyle kötüsüyle her zaman bana destek veren, tüm nazıma katlanan ve bana hep güzel motivasyonlar veren, hayatta hep iyi ki varlar dediğim en büyük destekçilerim kıymetli Ailem ve biricik Eşim'e çok teşekkür ederim.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: TDK-2020-36578.

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI.....	İİ
BEYAN	İİİ
İTHAF	İV
TEŞEKKÜR	V
İÇİNDEKİLER.....	VI
TABLolar LİSTESİ	İX
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ	X
ÖZET	Xİİİ
ABSTRACT	XİV
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Obezite.....	3
2.1.1. Obeziteye Etki Eden Faktörler	4
Tablo 2.2: Obezite Etkenleri ve Sebep Olduğu Hastalıklar	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.
2.2. Adipoz Doku	5
2.3. Diyabet	5
2.3.1. Diyabet Tanı Kriterleri	7
2.3.2. Diyabet Tipleri.....	9
2.3.2.1. Tip I Diyabet.....	10
2.3.2.2. Tip II Diyabet	11
2.3.3. İnsülin Direnci	12
2.4. TRAIL ve Biyolojik Aktiviteleri	14
2.5. TRAIL ve Obezite İlişkisi	17
2.6. TRAIL ve Diyabet İlişkisi	18
2.6.1. TRAIL ve Tip I Diyabet	19
2.6.2. TRAIL ve Tip II Diyabet.....	20
3. GEREÇ VE YÖNTEM	23
3.1. Çalışmada Kullanılan Örnekler	23
3.2. Çalışmaya Alınma ve Çalışmadan Dışlanma Kriterleri	23

3.3. Antropometri ve Biyokimyasal Parametreler	24
3.4. Kullanılan Cihazlar.....	24
3.5. Kullanılan Kimyasal Maddeler.....	25
3.6. Kullanılan Çözeltiler	25
3.6.1. RNA İzolasyonunda Kullanılan Çözeltiler	25
3.6.1.1. STL-P1	25
3.6.1.2. Proteinaz K	25
3.6.1.3. 3M GIT2	25
3.6.1.4. İzopropanol	25
3.6.1.5. DNaz I.....	25
3.6.1.6. WB-1-2-3	25
3.6.1.7. WB.....	25
3.6.1.8. 1X TE (Tris-EDTA buffer).....	26
3.6.1.9. 1M EDTA	26
3.6.1.10. 5M Sodyum Klorür (NaCl).....	26
3.6.1.11. %20'luk Sodyum Dodesil Sülfat (SDS)	26
3.7. Kullanılan Yöntemler	26
3.7.1. Robotik Cihaz (RINA™ M14) ile Nükleik Asit Ekstraksiyonu.....	26
3.7.1.1. Elde Edilen RNA'nın Konsantrasyon Tayini	29
3.7.2. Primer Tasarımı	29
3.7.2.1. TRAIL Geninin Primer Tasarımı.....	29
3.7.3. cDNA Sentezi ve RT-qPZR Analizi.....	30
3.7.4. Yüksek Çözünürlükte Erime Eğrisi (HRM) Analizi	32
3.7.5. Sanger Dizileme Yöntemi	33
3.8. İstatistiksel Analiz	34
4. BULGULAR	36
4.1. Demografik Verilerin Analizi.....	36
4.2. Grupların Biyokimyasal Parametreler Açısından Değerlendirilmesi.....	36
4.3. TRAIL Geninin Gen Ekspresyon Analizi	40
5. TARTIŞMA.....	44
KAYNAKLAR.....	51
ETİK KURUL KARARI.....	58
İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI	59

ÖZGEÇMİŞ.....	61
GÖNÜLLÜ ONAY FORMU.....	67
GÖNÜLLÜ ONAY FORMU.....	70



TABLÖLAR LİSTESİ

TABLO 2-1: VKİ'NE GÖRE OBEZİTENİN SINIFLANDIRILMASI	3
TABLO 2-2: OBEZİTE ETKENLERİ VE SEBEP OLDUĞU HASTALIKLAR	4
TABLO 2-3: DİYABET TANI KRİTERLERİ	7
TABLO 3-1: CDNA VE RT-PZR İÇİN HAZIRLANAN KARIŞIM MIX	31
TABLO 4-1: DİYABETİK OBEZ VE DİYABETİK OLMAYAN OBEZ GRUBUNUN ANTROPOMETRİK VE BİYOKİMYASAL PARAMETRELERİ	37
TABLO 4-2: DİYABETİK OBEZ HASTALARIN CİNSİYETE GÖRE KARŞILAŞTIRILMASI	38
TABLO 4-3: DİYABET OLMAYAN OBEZ HASTALARININ CİNSİYETE GÖRE KARŞILAŞTIRILMASI	39
TABLO 4-4: KONTROL GRUBUNUN CİNSİYETE GÖRE KARŞILAŞTIRILMASI	40
TABLO 4-5: TRAIL GEN EKSPRESYON DÜZEYLERİ	41
TABLO 4-6: TRAIL GEN EKSPRESYONUNUN CİNSİYETE GÖRE KARŞILAŞTIRILMASI	41
TABLO 4-7: BİYOKİMYASAL PARAMETRELERİN TRAIL GEN EKSPRESYONUNA GÖRE KARŞILAŞTIRILMASI	42

ŞEKİLLER LİSTESİ

ŞEKİL 2-1: DİYABET GELİŞİMİ	9
ŞEKİL 2-2: TİP I VE TİP II DİYABET MEKANİZMASININ SAĞLIKLI BİREY İLE KARŞILAŞTIRILMASI	12
ŞEKİL 2-3: İNSÜLİN DİRENCİ DÖNGÜSÜ	13
ŞEKİL 2-4: TRAIL'İN ETKİ ALANI	14
ŞEKİL 2-5: TRAIL RESEPTÖRLERİNİN ŞEMATİK OLARAK GÖSTERİMİ	16
ŞEKİL 2-6: ADİPOZİT HÜCREDE TRAIL'İN ETKİ MEKANİZMASI	17
ŞEKİL 2-7: TRAIL'İN PANKREATİK BETA HÜCRESİNDEKİ İŞLEVİ	18
ŞEKİL 2-8: TRAIL'İN İNSÜLİN DUYARLILIĞI ÜZERİNE ETKİSİ	21
ŞEKİL 3-1: RINA™ M14 İZOLASYON KİTLERİNİN, RINA™ M14 NÜKLEİK ASİT EKSTRAKSİYON ROBOTU'NA YERLEŞİMİ	28
ŞEKİL 3-2: TRAIL GEN EKSPRESYONU İÇİN TASARLANAN PRİMERLER	30
ŞEKİL 3-3: CDNA SENTEZİ VE RT-PZR PROTOKOLÜ	31
ŞEKİL 3-4: TRAIL GENİ İÇİN YAPILAN DENDOGRAM SONUCU	33
ŞEKİL 3-5: SANGER DİZİLEME İÇİN TASARLANAN TRAIL FORWARD VE REVERSE PRİMERLERİ	34
ŞEKİL 3-6: SANGER DİZİLEME AŞAMALARI	34

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

Alb:	Albumin
ALT:	Alanin aminotransferaz
APG:	Açlık plazma glukozu
AST:	Aspartat aminotransferaz
BAG:	Bozulmuş açlık glukozu
BGT:	Bozulmuş glukoz toleransı
Cl:	Klor
CP:	Eşik döngüsü
DM:	Diabetes mellitus
DSÖ:	Dünya sağlık örgütü
EDTA:	Etilen Diamintetraasetat
FFA:	Serbest yağ asidi
GAPDH:	Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase
GDM:	Gestasyonel diyabet
HDL:	Yüksek yoğunluklu lipoprotein
HOMA-IR:	İnsülin direncinin homeostatik modeli değerlendirmesi
HRM:	Yüksek Çözünürlükte Erime Eğrisi
IC-NA:	İnternal kontrol
IL-6:	İnterlökin-6
IR:	İnsülin direnci
K:	Potasyum
LDL:	Düşük yoğunluklu lipoprotein
MCP-1:	Momosit kemoatraktan protein-1
MCP-1:	Monosit kemotaktik protein-1
Na:	Sodyum
NaCl:	Sodyum Klorür
NADH:	Nikotinamid adenin dinükleotit hidrojen
NF-κB:	Nükleer lokalizasyon sinyali
OGTT:	Oral glukoz tolerans testi
OPG:	Osteoprotegerin
PG:	Plazma glukozu
PPAR-γ:	Peroksizom proliferatör aktive edici-γ

RNA:	Ribonükleik asit
RT-qPZR:	Gerçek Zamanlı Kantitatif Polimeraz Zincir Reaksiyonu
SDS:	Sodyum Dodesil Sülfat
SOCS-1:	Sitokin sinyal supresörü
STZ:	Streptozotosin
THD:	TNF homoloji alanı
TIMP-1:	Matriks metalloproteinaz-1 doku inhibitörü
TM:	Transmembran alanı
TNF-α:	Tümör nekroz faktör- α
TNF:	Tümör nekroz faktör
TP:	Total protein
TRAIL-R1, DR4:	TRAIL reseptör-1
TRAIL-R2, DR5:	TRAIL reseptör-2
TRAIL-R3:	TRAIL reseptör-3
TRAIL-R4:	TRAIL resptör-4
TRAIL:	Tümör nekroz faktör ilişkili apoptoz indükleyici ligand
VKİ:	Vücut kitle indeksi
WB:	Yıkama tamponu

ÖZET

Aksoyer Sezgin S.B. Diyabetik Obez ve Diyabetik Olmayan Obez Kişilerde TRAIL Mekanizmasının Genetik Olarak İncelenmesi. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Moleküler Tıp ABD. Doktora Tezi. İstanbul. 2022.

Obezite, enerji alımının enerji harcamasının önüne geçmesi sonucunda adipoz dokuda görülen anormal artışın sebep olduğu önemli bir sağlık sorunu olup, dünya çapında yüksek bir prevalansa sahiptir. Adipoz dokunun fizyolojik işlevinde görülen bozukluklar, diyabetin gelişimine aracılık etmektedir. Tip-I (insüline bağımlı olan) ve Tip-II (insüline bağımlı olmayan) olmak üzere iki ana sınıfa ayrılan diyabet, yüksek kan glukoz seviyesi ile karakterize olup; insülin düzeyinde azalma ve/veya insülin etki mekanizmasındaki değişikliklerden kaynaklanan metabolik bir hastalıktır. Bununla birlikte adipoz dokuda insüline karşı cevabın azalması insülin direncinin gelişimine neden olmaktadır. Adipoz doku biyolojisinde önemli role sahip Tümör nekroz faktör (TNF) ailesinin bir üyesi olan Tümör nekroz faktör ile ilişkili apoptozu indükleyici ligand (TRAIL)'in, kanser hücrelerinde apoptozu indükleme özelliği nedeniyle pek çok araştırmada yer almaktadır ancak diyabete ve obeziyete karşı koruyucu rolüyle ilgili gen düzeyinde yapılan insan çalışmalarının sayısı yetersizdir.

Çalışmamızda RNA izolasyonu, cDNA sentezi, gerçek zamanlı real-time PZR (RT-qPZR) ve Sanger dizileme yöntemleri kullanılmıştır. İnsanda TRAIL gen ekspresyonun ve dizilemesinin birlikte yapıldığı ilk çalışma niteliğini taşımaktadır. TRAIL gen ekspresyon düzeyinin analiz sonucunda kontrollerde, diyabetik obez ve diyabetik obez olmayan gruba göre daha yüksek düzeyde olduğu belirlenmiştir. TRAIL gen ekspresyonundaki bu değişikliğin, diyabet hastalığına karşı TRAIL'in koruyucu bir etken olabileceğini düşündürmektedir. Dizileme yöntemiyle belirlenen rs781673405, rs143353036, rs1244378045, rs201137623, rs767450259, rs759369504, rs750556128, rs369143448 mutasyonlarının varlığı ilk kez bizim çalışmamızda gösterilmiştir. Bu verilerimizin literatüre önemli katkı sağlayacağını düşünmekteyiz.

Anahtar Kelimeler: Obezite, Diyabet, TRAIL, Ekspresyon, Sanger dizileme

Proje Desteği: Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: TDK-2020-36578.

ABSTRACT

Aksoyer Sezgin S.B. Genetic Investigation of TRAIL Mechanism in Diabetic Obese and Non-Diabetic Obese Patients. Istanbul University Institute of Health Sciences, Molecular Medicine USA. Doctoral Thesis. İstanbul. 2022.

Obesity is an important healthcare issue caused by abnormally increased adipose tissue because of energy-intake overcoming energy expenditure with a globally high prevalence. Disturbances in the physiological function of adipose tissue mediate the development of diabetes, which is divided into two main classes as Type-I(insulin-dependent) and Type-II(non-insulin-dependent) characterized by high-blood-glucose levels. It is a metabolic disease that results from decreased insulin-levels and/or changes in the insulin action mechanism. However, decreased response to insulin in adipose tissue causes the development of insulin-resistance. Tumor Necrosis Factor-Associated Apoptosis-Inducing Ligand(TRAIL), which is a member of the Tumor Necrosis Factor(TNF)-family with an important role in adipose tissue biology, is included in many studies with its ability to induce apoptosis in cancer cells, but the number of human-studies conducted on the gene related to its protective-role against diabetes and obesity at this level is insufficient.

The RNA-isolation, cDNA-synthesis, Real-Time-PZR(RT-qPZR), and Sanger-Sequencing Methods were used in this study. It is the first study in which human TRAIL gene expression and sequencing were performed together. As a result of the analyses, TRAIL gene expression level was found to be higher in the controls than in the diabetic-obese and non-diabetic-obese group. This change in TRAIL gene expression suggests that TRAIL maybe a protective factor against diabetes. The presence of rs781673405, rs143353036, rs1244378045, rs201137623, rs767450259, rs759369504, rs750556128, and rs369143448 mutations, which was determined with the Sequencing Method, was shown for the first time in the present study. We believe that these data will make an important contribution to the literature.

Key Words: Obesity, Diabetes, TRAIL, Expression, Sanger sequencing

Project Support: This study was supported by Istanbul University, Scientific Research Project Unit. Project Number: TDK-2020-36578.

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Obezite, enerji harcamasına bağılı olarak enerji alımının artmasından kaynaklanan vücut yağlarındaki anormal artışın gerçekleştiği bir durumdur. Kardiyovasküler hastalık, kronik böbrek hastalığı, diyabet ve kanser dahil olmak üzere çeşitli olumsuz sağlık sorunlarına yol açan yağ birikimi ile ilişkilidir. Obezitenin belirleyici özelliklerinden biri; kronik düşük-dereceli enflamasyon, ve adipokinlerin, enflamatuvar sitokinlerin ve TNF-alfa, interlekin-6 (IL-6), monosit kemotaktik protein-1 (MCP-1), C-reaktif protein, leptin ve adiponektin de dahil olmak üzere hormonların salgılanma miktarındaki değişikliklerdir (Gregor MF ve Hotamışlıgil G (2011); Lumeng CN ve Saltiel AR (2011); Morris MJ (2008)). Epidemiyolojik çalışmalarda, obezitenin kolon, meme ve endometrium gibi birçok organ bölgesinde kanser riski ile doğrudan ilişkili olduğu gösterilmiştir (Lubin F ve ark. (1985); Bianchini F ve ark. (2002)). Sistemik olarak gerçekleşen bu enflamasyon; kas, karaciğer ve yağ dokusunda insülin direncinin gelişmesine aracılık etmektedir. Aşırı besin alımı, obezitenin bir diğer belirleyici özelliklerinden biri olan adiposit hipertrofisini teşvik etmektedir; bu da, mitokondriyal disfonksiyon ve endoplazmik retikulum stresinin yanı sıra oksidatif stresin artmasına ve dolayısıyla adipoz doku fonksiyon bozukluğuna yol açmaktadır. Adipoz dokunun fizyolojik işlevindeki bu bozukluklar diyabet tiplerinden biri olan Tip II diyabetin gelişiminde önemli bir rol oynamaktadır (Samuel VT ve Shulman GI (2012); Odegaard JI ve Chawla A (2013)). Diyabet, insülin düzeyinde meydana gelen eksiklik veya insülinin etki mekanizmasındaki değişikliklerden kaynaklanan ve hiperglisemi ile birlikte seyreden metabolik bir hastalıktır (Arıcı H ve ark (2018)).

Tümör nekroz faktör (TNF)- alfa'nın adipoz doku biyolojisinde önemli bir rol oynadığı ve obezitede bu bölgede meydana gelen anormalliklere aracılık ettiği bilinmektedir. Ayrıca; yağ dokularında meydana gelen aşırı ekspresyon, obezite insülin direncine aracılık etmede önemli bir rol oynamaktadır (Nisoli E ve ark (2000); Hotamışlıgil GS ve ark (1995)).

TNF ailesinin üyeleri, obezite ile ilişkili hastalıkların patogenezinde önemli bir yere sahiptir. TNF-ligand ailesinin bir üyesi olan “Tümör nekroz faktör apoptoz indükleyici ligand” olan TRAIL (Apo2L/TNFSF10/CD253), Tip II transmembran proteini olarak birçok hücrenin hücre yüzeyinde eksprese edilebilmektedir. Bu durum TRAIL'in şimdiye kadar karakterize edilmemiş farklı biyolojik fonksiyonlara da sahip

olduğunu düşündürmektedir (Hotamisligil GS (1999); Azahri NS ve Kavurma MM (2013)). Kanser hücrelerinin apoptozunu indükleme konusundaki özelliği nedeniyle TNF ile ilişkili olan TRAIL üzerinde kapsamlı araştırmalar yapılmaktadır. TRAIL'in sitotoksik kapasitesi haricinde, TRAIL'in oynadığı yeni fizyolojik ve patolojik roller de tanımlanmıştır ve obezite ile diyabetin gelişmesindeki rolünü destekleyen kanıtlar her geçen gün artmaktadır. Bu nedenle; in vivo TRAIL mekanizmasının ve bunların hastalıktaki rollerinin anlaşılması, dünya çapında artan obezite ve diyabet ile mücadele konusunda yeni stratejilerin geliştirilmesini sağlayabileceğini düşündürmektedir (Harith HH ve ark (2013)).

TRAIL'in hayvan modellerinde ve in vitro sistemlerde obeziteye ve diyabete karşı koruyucu bir rol oynadığına dair önemli kanıtlar bulunmaktadır (Keuper M ve ark (2013)). Ancak insanlarda TRAIL'in obezite ve kilo alımı ile ilişkili rolü henüz tam olarak tespit edilememiş olduğundan bu konuda daha fazla araştırma yapılmasına ihtiyaç vardır.

Bu çalışmanın amacı diyabetik obez ve diyabetik olmayan obez hastalarda TRAIL geninin ekspresyon ve dizileme yöntemleri kullanılarak dolaşımdaki TRAIL'in hastalık durumundaki rollerini tespit edebilmek, in vivo fonksiyonlarını daha iyi açıklayabilmek, obezite ve diyabet için moleküler marker niteliği taşıyıp taşımadığını araştırmaktır. Bu tez çalışması kapsamında TRAIL geninin ve house keeping geni olan GAPDH'in rölatif ekspresyon seviyesi RNA izolasyonu, cDNA sentezi ve gerçek zamanlı real-time PZR (RT-qPZR) ve Sanger dizileme yöntemleri kullanılarak belirlenecektir. Aynı zamanda bu çalışma, insan üzerine dizileme ve ekspresyonun birlikte yapıldığı ilk çalışma niteliğini taşıması açısından da literatüre önemli ölçüde katkı sağlayacaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Obezite

Obezite, dünya çapında önemli bir sağlık sorunu olarak kabul edilmektedir ve prevalansı dramatik bir şekilde artış göstermektedir (Ng M ve ark. (2013)).

Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ)' nün verilerine göre Dünya çapında her yıl 2,8 milyon insan aşırı kilo veya obezite neticesinde hayatını kaybetmektedir. Obezite tanısında Vücut Kitle İndeksi (VKİ)' nden yararlanmaktadır. Bu değer aşağıdaki formüle göre belirlenmektedir (WHO).

$$\text{Vücut Kitle İndeksi (kg/ m}^2\text{)} = \text{Ağırlık (kg) / Boy x Boy (m}^2\text{)}$$

Tablo 2-1: VKİ'ne Göre Obezitenin Sınıflandırılması

VKİ (kg/ m ²)	Sınıflandırma
< 18,5	Zayıf
18,50 – 24,99	Normal
25,00 – 29,99	Obezite öncesi (Pre-obez)
≥ 30	Obez
30,00 – 34,99	Şişman I. Derece
35,00 – 39,99	Şişman II. Derece
≥ 40	Şişman III. Derece (Morbid Obez)

Obez bir bireyin VKİ'si 30 kg/m²'den fazladır, bel çevresi veya toplam vücut yağında artış ile birlikte bu bireylerde sıklıkla hiperglisemi, hiperinsülinemi, hipertansiyon görülmektedir. Bu bireylerde, trigliserit ve kolesterol düzeylerinin yüksek olmasının yanı sıra insülin direnci (IR) de görülmektedir. Obeziteye, genellikle

kardiyovasküler hastalıklar, kronik böbrek hastalığı, diyabet ve kanser dahil olmak üzere çeşitli sağlık sorunlarına yol açan, yağ birikimi ile ilişkili diğer hastalıklar da eşlik etmektedir ve bu durum büyük oranda yüksek enerjili gıda tüketimi ile hareketsiz bir yaşam tarzına bağlı olarak ortaya çıkmaktadır. Ancak; çevresel ve genetik faktörlerden de etkilendiği bilinmektedir (Morris MJ (2008)). Obezite, metabolik sendromlarda tek başına bir sorun olmasa da, yetişkinler arasında obezite oranlarındaki artış nedeniyle, daha yaygın bir sorun haline gelmektedir (Fall T ve Ingelsson E (2014)).

2.1.1. Obeziteye Etki Eden Faktörler

Tablo 2-2: Obezite Etkenleri ve Sebep Olduğu Hastalıklar



Bireylerin başta genetik ve çevresel etmenler olmak üzere demografik bilgilerinin, sosyo-ekonomik düzeylerinin, beslenme alışkanlıklarının, ve fiziksel aktivitelerinin obezitenin gelişimde rol oynadığı bilinmektedir. Obeziteye etki eden faktörlerin belirlenmesi ve obezitenin yol açtığı sağlık sorunlarının daha iyi anlaşılabilmesi açısından gerekli araştırmaların yapılması önem arz etmektedir (Wehby GL ve ark. (2017); Kerkadi ve ark. (2019); Pigeyre ve ark. (2016)).

Günümüzde obezite önemli bir sağlık sorunu haline gelmiştir. Sağlıksız beslenmenin de etkisi ile oluşan yağ dokudaki artış, mortalite riskini artırmakla birlikte başta diyabet olmak üzere kardiyovasküler hastalıklar, böbrek hastalıkları, kanser ve uyku apnesi gibi çeşitli hastalıklara yol açmanın yanı sıra aynı zamanda bireylerde

toplum içinde olumsuzluklara neden olan psikososyal bozuklukları da beraberinde getirmektedir (Guh ve ark. (2009); Pantalone ve ark. (2017)).

2.2. Adipoz Doku

Obezite ile birlikte artış göstermekte olan, metabolik olarak aktif endokrin bir organ olan ve adipoz doku olarak da adlandırılan yağ dokusu, sistemik metabolizmayı etkileyen endokrin ürünlerini dolaşımdaki kana salgılayabilen, lipit depolanmasında, tamponlanmasında, sentezi ve salgılanmasında aktif rol oynayan, enerji dengesinin kilit bir düzenleyicisidir. Adipoz doku birikimi böbrek, kan damarları ve kalpte sıklıkla görülmektedir. Yağ dokusunun artışı ve vücuttaki dağılımı ile birlikte metabolik hastalıkların prevalansı da yükselmektedir (Romacho T ve ark. (2014); Despr'es JP ve Lemieux I (2006)). Fazla besin alımı adiposit hipertrofisini teşvik etmektedir; bu da, mitokondriyal disfonksiyon ve endoplazmik retikulum stresinin yanı sıra oksidatif stresin artmasına ve dolayısıyla adipoz doku fonksiyon bozukluğuna yol açmaktadır. Adipoz dokunun fizyolojik işlevindeki bu bozukluklar diyabetin gelişiminde önemli bir rol oynamaktadır (Odegaard JI ve Chaela A (2013)).

2.3. Diyabet

Toplumda diyabet olarak da bilinen Diabetes Mellitus (DM), düzenli olarak görülen yüksek kan glukoz seviyeleri ve hiperglisemi ile karakterize edilen bir metabolik bozukluktur. Hiperglisemi, insülin salgılanmasında/ insülin etkisinde veya her ikisindeki anormalliklerden kaynaklanmaktadır ve kronik bir şekilde karbonhidrat, yağ ve protein metabolik işlev bozuklukları olarak ortaya çıkmaktadır. Diyabet, karmaşık patogenezler şeklinde ortaya çıkmaktadır ve ilerleyen bir patern izlemektedir (American Diabetes Association (2014); (2018a)). Hiperglisemi ve bununla ilişkili karbonhidrat, yağ ve proteinlerin metabolik işlev bozuklukları, vücudun birçok organını etkilemekte ve normal işleyişlerini bozmaktadır. Bu bozulmalar kademeli olarak ilerlemekte ve çoğunlukla hipergliseminin ve buna bağlı metabolik anomalilerin, organ yapısının merkezinde yer alan ve vücudun tamamında işlev gören mikro ve makrovasküler sistemin yapısal düzeni ve işleyişi üzerinde olumsuz etkiler olarak ortaya çıkmaktadır. Organ sistemi damar yapısındaki yapısal ve fonksiyonel

bozukluklar mikro ve makrovasküler komplikasyonlara yol açmaktadır. Organ hasarı, disfonksiyonu ve nihayetinde organ yetmezliği bu komplikasyonları karakterize etmektedir ve özellikle gözler, böbrekler, kalp ve sinirler dahil olmak üzere vücut organlarını etkilemektedir. Gözlerle ilgili komplikasyonlar, körlüğe kadar ilerleyen retinopatiye neden olmaktadır. Böbrekler ile ilişkili komplikasyonlar nefropati'ye ve potansiyel böbrek yetmezliğine yol açmaktadır. Kalp ile ilgili komplikasyonlar arasında hipertansiyon ve koroner kalp hastalıkları bulunmaktadır. Sinirlerle ilişkili komplikasyonlar, otonomik ve/veya periferik olabilen nöropati'ye yol açmaktadır. Kardiyovasküler, gastrointestinal ve genitoüriner işlev bozuklukları, otonom nöropatinin karakteristik belirtileridir, bunun yanında ampütasyon gerektiren ülserler ve Charcot eklemi (osteoartropati) gibi ayak enfeksiyonları genellikle uzun süreli periferik nöropati ile ilişkilidir. Serebrovasküler hastalık, periferik arter hastalığı ve koroner kalp hastalığı, hepsi birlikte aterosklerotik kardiyovasküler hastalık olarak adlandırılır ve diyabette sık görülmektedir ve diyabetle ilişkili morbidite ve mortalitenin ana nedenlerinden birini oluşturmaktadır (American Diabetes Association (2018b); American Diabetes Association (2014); Rawshani A ve ark. (2017)). Sürekli artan küresel yaygınlığı ile diyabet, günümüzde karşı karşıya olunan en önemli ve zorlu sağlık sorunlarından birisi olarak ortaya çıkmıştır. Dünyanın birçok bölgesindeki hızlı ekonomik gelişme / kentleşme ve modern yaşam tarzı alışkanlıklarının benimsenmesi bütün bunlara paralel olarak, diyabet prevalansında da bir artışa yol açmaktadır (Blas E ve Kuru A (2010)). 2019 yılında, 20-79 yaş arası diyabetli yetişkinlerin sayısının yaklaşık 463 milyon olduğu bildirilmektedir, bu da dünyadaki toplam yetişkin nüfusunun %9,3'ünü temsil etmektedir. 2030 yılına gelindiğinde bu sayının 578 milyona yükseleceği ve dünyadaki toplam yetişkin nüfusunun %10,2'sini temsil edeceği ve 2045 yılında 700 milyona çıkacağı öngörülmektedir ki bu da, dünyadaki toplam yetişkin nüfusunun %10,9'unu temsil etmektedir. 2019 yılında, erkekler ve kadınlar arasında diyabet prevalansının, dünyadaki toplam ilgili cinsiyetlerin nüfusunun sırasıyla %9,6 ve % 9,0'u olduğu belirtilmektedir. Ayrıca, 2019 yılında, 20-99 yaşları arasındaki yaklaşık 4,2 milyon yetişkin, diyabet nedeniyle ölmüştür ve bununla ilişkili komplikasyonlar ve diyabet için yapılan sağlık harcamaları, yetişkinlere yapılan toplam harcamanın %10'unu temsil eden en az 760 milyar USD olarak tahmin edilmektedir (Saeedi P ve ark. (2019)).

Diyabet için uygulanmakta olan tedavi yöntemleri ve harcamalarının dışında obez bireylerde görülen kilo kaybının diyabetin şiddeti ve insidansını azalttığı görülmektedir. Bu nedenle obez bireylerde uygulanacak olan erken tedaviler diyabeti önleme adına önemli bir adımdır. Kilo kaybı ile birlikte görülen vücut kitle indeksindeki azalma diyabeti geciktirme ve hatta önleme açısından oldukça önem arz etmektedir.

2.3.1. Diyabet Tanı Kriterleri

Diyabet tanısı koyulabilmesi için Dünya Sağlık Örgütü' nün verileri dikkate alınarak aşağıda belirtilen tablo geliştirilmiş olup burada yer alan verilere göre doğru değerlendirmeler yapılabilmektedir.

Tablo 2-3: Diyabet Tanı Kriterleri

	Aşikar DM	İzole BAG	İzole BGT	BAG+ BGT	Yüksek riskli DM
APG (≥ 8 saat açlıkta)	≥126 mg/dl	100-125 mg/dl	<100 mg/dl	100-125 mg/dl	
OGTT 2. saat PG (75 gr glukoz)	≥200 mg/dl	<140 mg/dl	140-199 mg/dl	140-199 mg/dl	
Rastgele PG	≥200 mg/dl ve diyabet semptomları				
HbA1c (%)	≥6.5 (≥48 mmol/mol)				5.7 – 6.4 (39-46 mmol/ mol)

DM: Diabetes mellitus

APG: Açlık plazma glukozu

OGTT: Oral glukoz tolerans testi

BAG: Bozulmuş açlık glukozu (impaired fasting glucose)

BGT: Bozulmuş glukoz toleransı (impaired glucose tolerance)

Tabloda yer alan dört ayrı veriden herhangi bir tanesi kullanılarak bireylere diyabet tanısı konulabilmektedir. Ancak bu testleri özellikle diyabeti ağır seyretmeyen bireylerde kesin tanı konulmadan evvel mutlaka farklı diğer yöntemlerle de karşılaştırmak gerekmektedir. Testler arasındaki tutarlılık da oldukça önem arz etmektedir. Bu nedenle başlangıçta iki ayrı test yapıp bunlardan birinde eşik değerinden yüksek bir sonuç elde edilirse testin tekrarlanması ve tekrarlandığında da elde edilen sonuç yine aynı ise o zaman diyabet tanısı konulması daha uygundur.

Diyabet tanısını net bir şekilde ortaya koyabilmek adına ve tüm dünyada yapılan standardizasyon ile prognostik kanıtların artması sonucu HbA1c hem diyabet tanı testi olarak kullanılmaya başlandı hem de tanıda standardize olunması adına önemli bir yöntem olarak kabul edildi (Satman İ ve ark. (2018)).

Diyabet bilinen genetik faktörler neticesinde ortaya çıkabildiği gibi gebelik döneminde de sonradan gelişim gösterebilmektedir. Gestasyonel diyabet tanısı konulabilmesi için bir veya iki aşamalı tanı-testi yöntemleri uygulanmaktadır

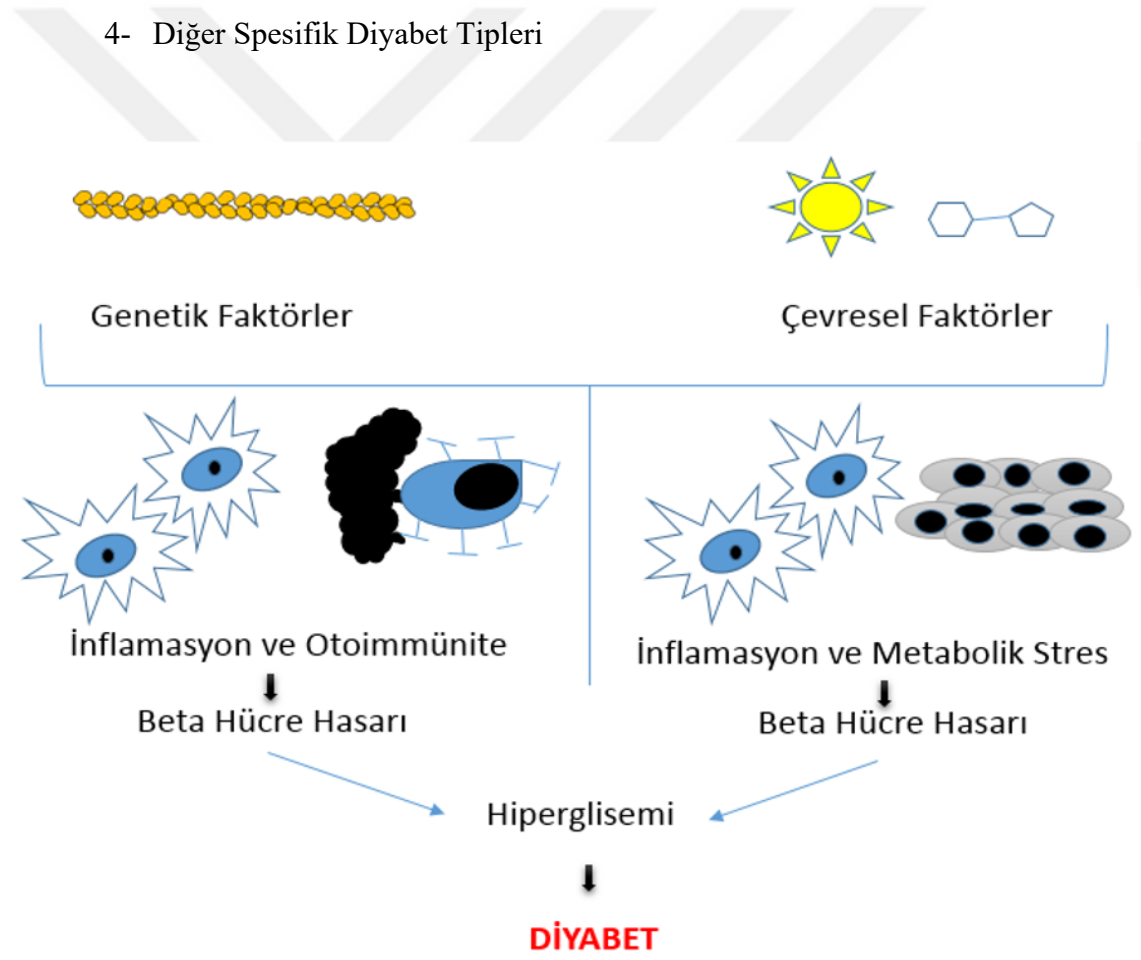
Tek aşamalı yöntemde tanı için 75 gr glukoz ile oral glukoz tolerans testine (OGTT) bakılırken; iki aşamalı tanı yönteminde 50 gr glukoz ile tarama testi yapılmaktadır. Özellikle gebelik döneminde 24-28. haftalarda 50 gr şekerli su içirilip 1 saate bekletildikten sonra elde edilen sonuçlardaki plazma glukoz (PG) düzeyi ≥ 140 mg/dl ise kişide şüpheli diyabet düşünülmektedir ve tekrar 75 g glukozlu ikinci bir test yapılması önerilmektedir. Test sonucu elde edilen değerlerin normal sınırların üzerinde olması da gestasyonel diyabet tanısının bir sonucudur.

OGTT, açlık plazma glukozu (APG)' na göre daha spesifik ve daha hassastır. APG düzeyi sabah en az 8 saat açlık neticesinde ölçülebilmektedir. Kolay uygulanabilirliğinin olması ve maliyetinin düşük oluşu da bu testin kullanımını artıran faktörler arasında yer almaktadır (Özdoğan Ö ve ark. (2015)).

2.3.2. Diyabet Tipleri

Diabetes mellitus, pankreasın langerhans adacığındaki beta hücrelerinden salınan insülinin eksikliğinden kaynaklanan ve hiperglisemiye neden olan, genetik ve çevresel faktörlere bağlı olarak yüksek kan glukozu ile seyreden kronik, metabolik bir bozukluktur (Şekil 2-1). Sınıflandırmada dört tip diyabet görülmektedir (Genuth SM ve ark. (2018)).

- 1- Tip I Diyabet
- 2- Tip II Diyabet
- 3- Gestasyonel Diyabet (GDM)
- 4- Diğer Spesifik Diyabet Tipleri



Şekil 2-1: Diyabet Gelişimi

2.3.2.1. Tip I Diyabet

Tip I diyabet pankreas langerhansın adacığındaki beta hücrelerinin harabiyeti sonucunda görülen ve insülin salınımının yetersizliği ile karakterize klinik bir tabloyu oluşturmaktadır (Şekil 2-2). Bu diyabet tipi sıklıkla adolesan dönemde ve çocukluk çağında görülmekle birlikte bu grubun %90'lık bir çoğunluğu da kapsamaktadır. Yaş, cinsiyet, ırk, beslenme düzeni, enfeksiyöz hastalıklar ve coğrafik alana özgü olarak görülme sıklığı değişkenlik göstermektedir (Behrman RE ve ark. (2004); Under RH ve ark. (1998); Malcová H ve ark. (2004)).

Tip I diyabet tablosu kendi içinde iki ayrı kategoride incelenmektedir.

2.3.2.1.1. Otoimmün Kaynaklı Tip IA Diyabet

Erken yaşta görülen, insüline bağımlı diyabet tipi olarak da adlandırılan Tip IA diyabet, diyabetli hastaların %5-10'unu oluşturmaktadır. Bu diyabet tipinde pankreasın langerhans adacıklarından salınan beta hücrelerindeki yıkım yenidoğanlar ile çocuklarda ergenlere göre oldukça hızlı bir şekilde gerçekleşmektedir. Tip IA'da görülen bir diğer özellik ise adacık antikorlarının erken dönemde kanda pozitif olması ancak ilk yıldan sonra kanda tespit edilememesidir (Kyvik KO ve ark. (2004)).

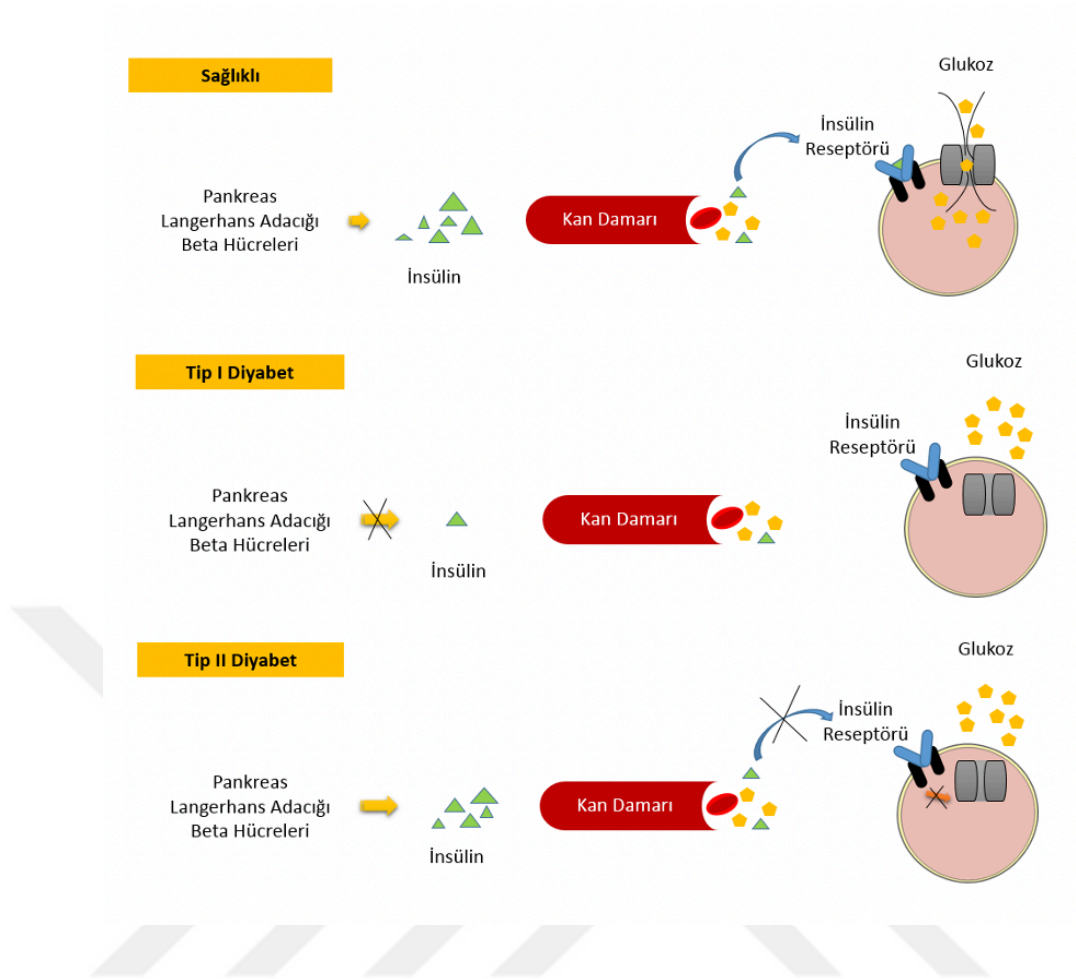
2.3.2.1.2. İdiopatik Tip IB Diyabet

İdiopatik Tip IB Diyabet genellikle Asya ve Afrika kökenlidir. Otoimmün sebepler dışında insülin eksikliğine bağlı olarak gelişim göstermektedir. Hastalarda insülinopeni mevcut olup farklı derecelerde insülin eksikliği ile birlikte ketoz, ketoasidoz ve hiperglisemi de görülmektedir. Bunun yanı sıra poliüri, polidipsi, kilo kaybı, ağız kuruluğu gibi semptomlara rastlanılabilmektedir. Tip IB'de yer alan hastalarda C-peptid düzeyi oldukça düşük gözlemlenmektedir ve genellikle vakaların da otuz yaşını aşmamış olduğu bildirilmektedir (Bolen SMD ve ark. (2007)).

2.3.2.2. Tip II Diyabet

Tip II diyabet, pankreasın langerhans adacıklarındaki beta hücrelerinden yeterli düzeyde insülinin salınım gösterememesi veya salınan insülinin de etkin olarak kullanılamaması neticesinde gelişim gösteren, yüksek risk taşıyan ve diyabetik hastaların %90'ında görülen metabolik bir sendromdur. Bu hastalıkta hücre ile reseptör arasındaki hasardan kaynaklı olarak glukoz hücre içerisine alınamamakta ve bu nedenle de enerji açısından kullanımı sağlanamamaktadır (Şekil 2-2). Beta hücre harabiyeti ile birlikte de bireylerde insülin direnci gözlemlenmektedir (Bolen SMD ve ark. (2007)). Hastalıktaki insülin sekresyonunun azalmasıyla birlikte açlık glikoz düzeyi artmakta ve bu durum da aşikar diyabet kliniğinin görülmesine neden olmaktadır (Fauci AS ve ark. (2013)). Tip II diyabet genellikle ilerleyen yaşlarda ortaya çıkmakta olup; Tip I diyabet ile karşılaştırıldığında asemptomatik olduğu bilinmektedir (Pfeiffer AFH ve Klein HH (2014)).

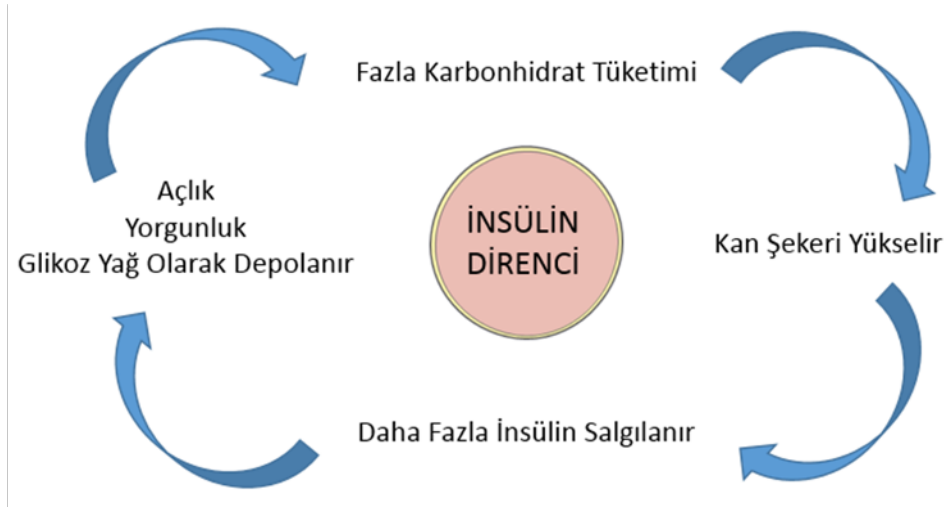
Periferik dokular incelendiğinde buradaki insülin salınımındaki yetersizlikten kaynaklı olarak yağ ve kas dokuda glukoz tutulumu giderek azalmakta ve bunun neticesinde de insülin direnci gelişmektedir. Tip II diyabet patogenezinde çevresel etmenler, fiziksel inaktivite, beslenme bozuklukları ile genetik faktörler oldukça önemli bir rol oynamaktadır. Ancak, buradaki temel problem insülin direncinden kaynaklanmaktadır. Besin alımındaki artış ile birlikte görülen vücut kitle indeksindeki yükselme de Tip II diyabetin gelişmesinde doğrudan etki göstermektedir (Oran FK ve ark. (2021)).



Şekil 2-2: Tip I ve Tip II Diyabet Mekanizmasının Sağlıklı Birey ile Karşılaştırılması

2.3.3. İnsülin Direnci

İnsülin direnci (IR), diyabet ile obezite arasındaki ilişki ile bağlantılı olup, hem eksojen hem de endojen insüline karşı bozulmuş bir yanıt geliştiren önemli bir morbidite nedenidir. IR, adipoz doku, karaciğer ve kas doku gibi hedef dokuların insüline karşı cevabının azalması ile meydana gelir ve glukoz, büyüme-gelişme, protein ile yağ metabolizması için de bir önemli bir temeli oluşturur. Vücuttaki insülin direnci gelişiminde sedanter yaşam tarzı, düzensiz beslenme ve genetik faktörler etkili olmaktadır. İnsülin direncinde, karbonhidrat tüketiminin artması ile birlikte kan şekeri düzeyi yükselmekte ve daha fazla insülin salınımı gerçekleşmektedir. Bu durum glikozun yağ olarak depolanmasına, kişilerde yorgunluğa ve karbonhidrat tüketimini tetikleyen açlık durumunun gelişmesine neden olmaktadır (Şekil 2-3).



Şekil 2-3: İnsülin Direnci Döngüsü

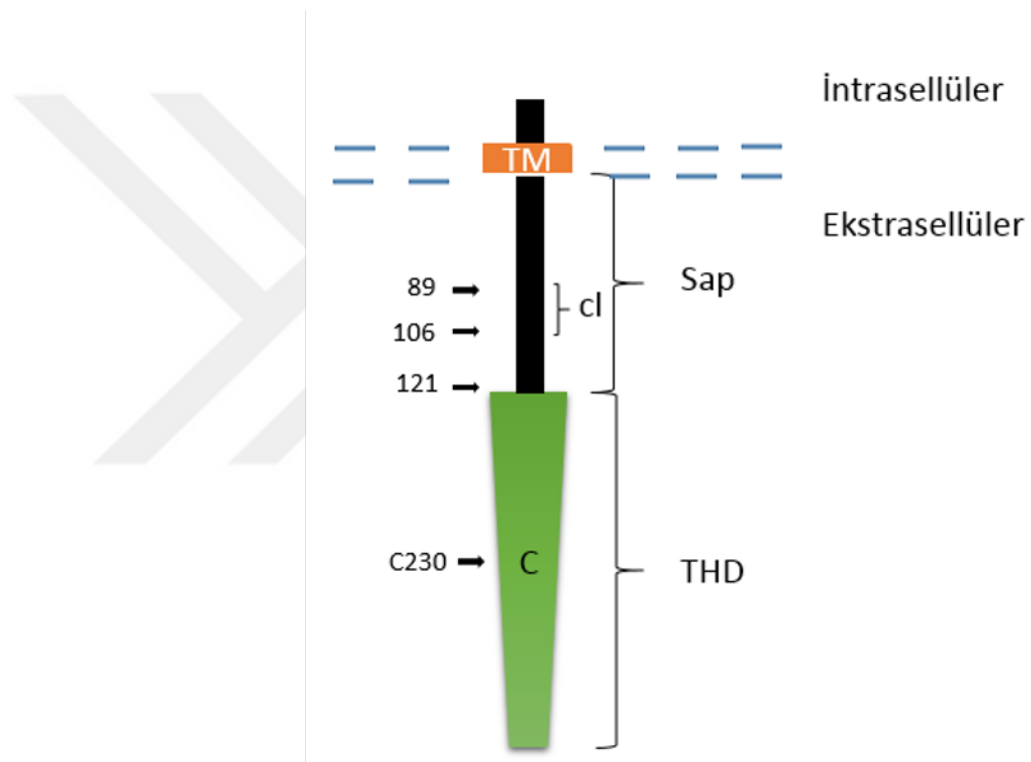
IR'nın Tip II diyabet patogenezi, hiperlipidemi, hipertansiyon ve obezite ile ilişkisi oldukça önemlidir. IR'nın Homeostatik Modeli Değerlendirmesi (HOMA-IR) ile İnsülin Duyarlılık İndeksleri “(QUICKI, Quantitative insulin sensitivity check index)” kullanılan güvenilir metodlardandır (Ulu MS ve Yüksel Ş (2015); Ascaso JF ve ark. (2003)).

IR ile birlikte seyreden metabolik ve kardiyovasküler risk faktörleri şunlardır (Güldal Altunoğlu E (2012));

- Hipertansiyon
- Endotel fonksiyonunun bozulması
- Trigliserit seviyesinde artış
- Yüksek yoğunluklu lipoprotein (HDL)-Kolesterol seviyesindeki düşüş
- Düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL)-Kolesterol seviyesindeki artış
- Serum reaktif protein düzeyindeki artış
- Apolipoprotein B'deki artış
- Ürik asit miktarındaki artış
- Fibrinojen düzeyindeki artış
- Plazminojen aktivatör inhibitör-1 düzeyindeki artış

2.4. TRAIL ve Biyolojik Aktiviteleri

“Tümör nekroz faktör ile ilişkili apoptozu indükleyici ligand (TRAIL(TNSF10)(Apo2L))”, “tümör nekroz faktör (TNF) süper ailesinin” bir üyesi olup 281 aminoasitlik Tip II transmembran proteini veya çözünebilir bir sitokin olarak ifade edilmektedir (Secchiero P ve Zauli G (2008a); Pietro RD ve Zauli G (2004)).



Şekil 2-4: TRAIL’in Etki Alanı

THD: TNF Homoloji alanı

TM: Transmembran alanı

cl: Sap bölgesi içinde proteolitik işlem için bir veya daha fazla bölge içeren 89-106 aa’lık bir alanı ifade etmektedir.

TRAIL geni, sağlıklı bireylerde dört intron ve beş ekzon içermektedir. Aynı zamanda 3’ UTR bölgesinde, üçü 1525, 1588 ve 1595 pozisyonlarında bulunan ve diğer ikisi de 192 ve 912 pozisyonlarında yer alan beş SNP (tek nükleotid polimorfizmi) içermektedir (Gray HL ve ark. (2001)). TRAIL reseptör-1 (TRAIL-R1 veya DR4)’ in ektodomaininde yanlış anlamalı iki değişiklik bulunmaktadır. Bunlardan birisi nükleotid 626’dadır ve bir sitozini bir guanine (C626G) dönüştürebilmekte ve treonin yerine

arginin gelmesine neden olmaktadır. Diğer değişiklik ise nükleotid 422’de meydana gelmekte olup bir guanini, bir adenine (G422A) dönüştürebilmekte ve arginin yerine histidinin gelmesiyle sonuçlanmaktadır. Bu değişikliklerin, TRAIL-R1’in ligand bağlanma alanında veya yakınında aminoasit değişikliklerine neden olduğu bildirilmiştir. TRAIL reseptör-2 (TRAIL-R2 veya DR5)’ in kristal yapısı sebebiyle TRAIL-R1 ile homoloji gösterebilmektedir ve bununla birlikte TRAIL-R1’e TRAIL’in bağlanma potansiyelini etkileyebilmektedir (Fisher MJ ve ark. (2001)).

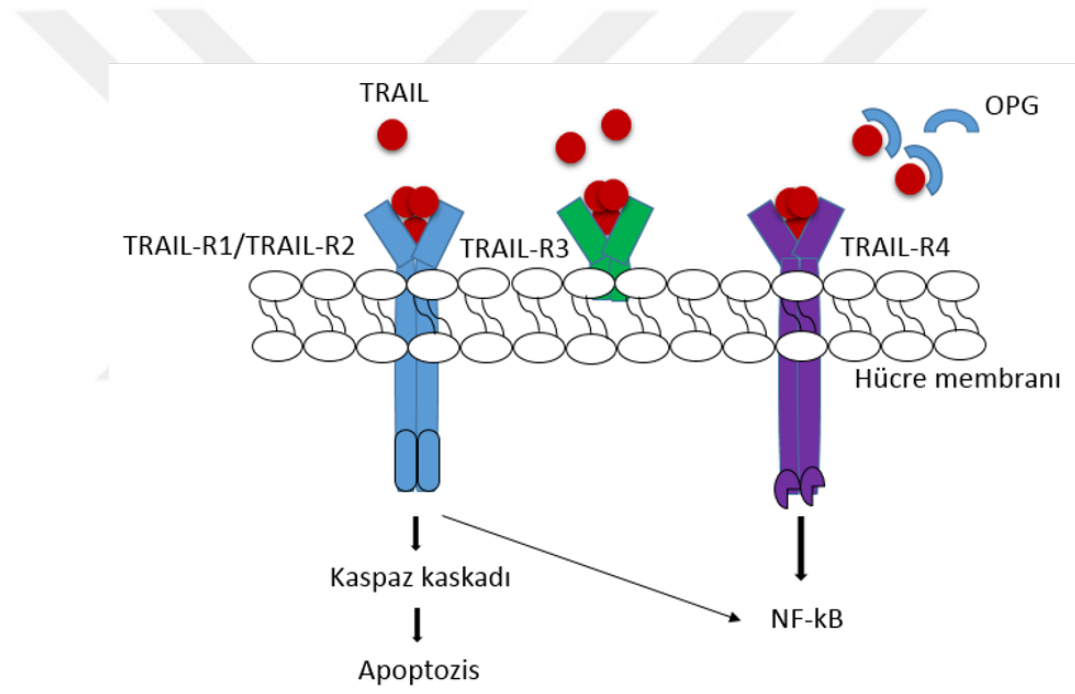
TRAIL, dolaşımında çözünür bir protein oluşturabilmek için şekilde belirtilen C-terminal alanda bölünme göstermektedir. Pozisyon 230’daki (Cys230) sistein artığı, çözünür TRAIL’in bir trimerik ligand oluşturan diğer iki çözünür TRAIL molekülü ile etkileşmesine ve birleşmesine izin vermektedir. Bu kompleks, reseptör etkileşimiyle birlikte biyolojik aktiviteye sahip bir çözünür TRAIL formunu oluşturmaktadır (Şekil 2-4).

C-terminal TNF homoloji alanı (THD), ligand trimerizasyonundan ve reseptör bağlanmasından sorumludur. Sap bölgesi ise molekülün trimerik yapısını stabilize etmektedir ve çözünür TRAIL’in proteolitik salınımı için bölünme yerlerini içermektedir (Bodmer JL ve ark (2002); Berg D ve ark. (2007)).

TRAIL, dört transmembran (TRAIL-R1, TRAIL-R2, TRAIL-R3 ve TRAIL-R4) ve bir çözünür (osteoprotegerin (OPG)) reseptörden herhangi biri ile etkileşime girerek, farklı afinitelerde de olsa, bir homotrimer olarak davranır (Zauli G ve ark. (2009)). Bir ölüm-domeni (TRAIL-R1 ve TRAIL-R2) içeren iki TRAIL-reseptörünün en iyi karakterize olan biyolojik fonksiyonu, TRAIL’in bağlanmasından sonra apoptotik bir yanıt olarak ortaya çıkmaktadır. Kaspazlar (Kaspaz 8 ve 10), proteolitik bölünme ile otoaktivasyona uğramaktadır ve daha sonra apoptotik süreci yürüten kaspaz 3, 6 ve 7’yi aktive etmektedir. TRAIL’in hem neoplastik hem de non-neoplastik hücrelerin sağkalımını ve proliferasyonunu uyarabildiği bilinmektedir (Lancaster JM ve ark. (2003); Morel J ve ark. (2005)). Burada TRAIL-R2 bağlantısı ile ERK/MAPK, AKT ve NF-kB gibi hücre içi sinyal iletim yollarının aktivasyonu sağlanmaktadır (Secchiero P ve ark. (2008b); Zauli G ve ark. (2005), (2008)). TRAIL’e bağlanan TRAIL-R1 ve TRAIL-R2 kaspaz kaskadını aktive etmekte ve apoptozu tetikleyebilmektedir (Pietro RD ve Zauli G. (2004)). TRAIL-R3 ve TRAIL-R4 ise tuzak reseptörler (DcR) olarak adlandırılmaktadır. TRAIL-R4, ölüm alanını kesmekle görevlidir. Bu reseptör, kaspaz kaskadını aktive edemez ancak; NF-kB’yi aktive ederek apoptozu bloke edebilmektedir.

NF- κ B ligandının (RANKL) bağlanma reseptör aktivatörü ile osteoklastogenez regülasyonunda yer alan, çözünür bir protein olan osteoprotegerin (OPG), TRAIL'in çözünür nötralize edici bir reseptörü olarak işlev görmektedir (Zauli G ve ark. (2007); (2009)).

TRAIL-R3 ve TRAIL-R4 ise membran nötralize edici veya düzenleyici reseptörler olarak kabul edilmektedir (Şekil 2-5). OPG, başlangıçta tümör nekroz faktörü (TNF) reseptör ailesinin bir üyesi olarak tanımlanmış olmasına rağmen, RANKL-aracılı osteoklastogenezini inhibe etse de, çeşitli in vitro çalışmalarda, TRAIL'i nötralize etme özelliği bildirilmiştir (Emery JG ve ark. (1998); Miyashita T ve ark. (2004); Zauli G ve ark. (2009)).



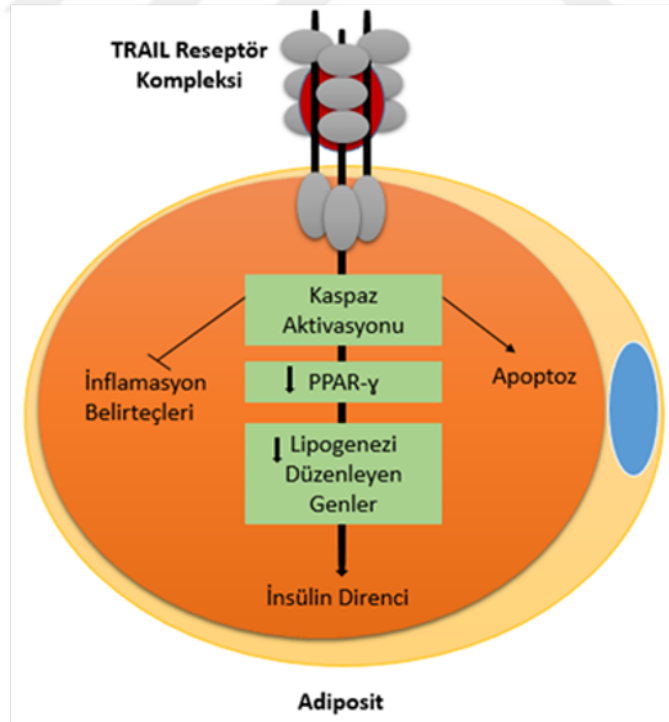
Şekil 2-5: TRAIL Reseptörlerinin Şematik Olarak Gösterimi

- TRAIL: Tümör nekroz faktör apoptoz indükleyici ligand
 TRAIL-R1: TRAIL reseptör-1
 TRAIL-R2: TRAIL reseptör-2
 TRAIL-R3: TRAIL reseptör-3
 TRAIL-R4: TRAIL reseptör-4
 OPG: Osteoprotegerin
 NF- κ B: Nükleer lokalizasyon sinyali

2.5. TRAIL ve Obezite İlişkisi

TRAIL'in obez bireylerde serum lipid konsantrasyonları, kolesterol, enerji dengesi, bel çevresi gibi çeşitli parametrelerle ilgili ilişkisini destekleyen çalışmalar mevcuttur (Choi ve ark. (2004); Biolo G ve ark. (2012)).

Özellikle kemirgen modellerle yapılan çalışmalarda TRAIL ile kilo alımı arasında pozitif ilişki olduğu bildirilmiştir (Keuper M ve ark. (2013)). Adiposit hücrelerde TRAIL'in kaspaz aktivasyonunu indükleyerek insülin bağımlı glukoz alımını ve lipogenezi bozduğu belirlenmiştir. Buna ek olarak; TRAIL'in inflamasyona ve ölüm reseptörleri olan TRAIL-R1 (DR4) ve TRAIL-R2 (DR5) aracılı kaspaz aktivasyonu ile apoptozu tetikleyerek insülin direncine neden olduğu bildirilmiştir. TRAIL aracılı insülin direnci, Peroksizom Proliferatör aktive edici- γ (PPAR- γ)' yı inaktive ederek down regülasyonuna neden olmaktadır (Şekil 2-6). Bu durum adipositlerde lipogenezi düzenleyen GLUT-4, Asetil CoA-Karboksilaz ve Yağ asidi sentaz gibi genlerin ekspresyonlarının azalmasına ve buna bağlı olarak da insülin direncinin gelişmesine yol açmaktadır (Bossi F (2015)).



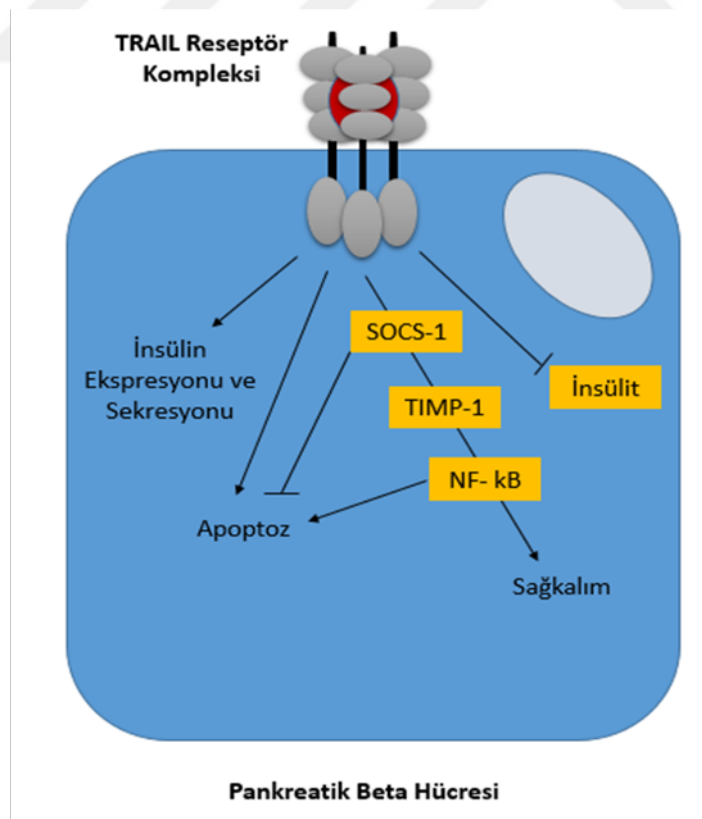
Şekil 2-6: Adiposit Hücrede TRAIL'in Etki Mekanizması

PPAR- γ : Peroksizom proliferatör aktive edici- γ

Deneyisel obezite ve diyabet oluşturulan fare modellerinde TRAIL'in etkisi incelenmiştir. İnceleme neticesinde; obez farelerde TRAIL eksikliğinin artan gıda alımı ile tetiklenen kilo kazanımına, adiposit hücre hipertrofisine ve hiperkolesterolemiye neden olduğu görülmektedir. Diyabet modellerinde de TRAIL eksikliğinin glukoz toleransını ve beta hücre fonksiyonunu bozduğu, hiperlisemi ve hiperinsülinemiye neden olduğu bildirilmiştir (Harith HH ve ark. (2013)).

2.6. TRAIL ve Diyabet İlişkisi

TRAIL'in diyabet patogenezindeki işlevi, ilk olarak Tip I diyabette hayvan modelleri ile yapılan çalışmalarda bildirilmiştir. İlerleyen yıllarda ise TRAIL'in Tip II diyabet patogenezinde de rolünün olduğu gösterilmiştir. Bu durum dünya çapında Tip II diyabet vakalarında görülen artışlar dikkate alındığında oldukça önemli bir yer edinmiştir (AIHW (2008); Danaei G ve ark (2011)).



Şekil 2-7: TRAIL'in Pankreatik Beta Hücresindeki İşlevi

SOCS-1: Sitokin sinyal supresörü

TIMP-1: Matriks metalloproteinaz-1 doku inhibitörü

NF- κ B: Nükleer lokalizasyon sinyali

TRAIL reseptör kompleksinin pankreasın langerhans adacıklarındaki beta hücreleri üzerine olan etkisi Şekil 2-7’de gösterilmektedir. Pankreatik β hücrelerinde, TRAIL kaspaz veya nükleer lokalizasyon sinyali (NF- κ B) aracılı apoptozu uyarabilir veya NF- κ B, Metalloproteinaz-1’in doku inhibitörü (TIMP-1) ve sinyal proteininin baskılayıcısı olan sitokin sinyal supresörü-1 (SOCS-1) aracılığıyla hayatta kalmayı uyarabilir. TRAIL, ayrıca β hücrelerinden insülin üretimini/salgılanmasını teşvik etmekle kalmaz, aynı zamanda kısmen TIMP-1’in pankreastaki lökosit infiltrasyonu üzerindeki inhibitör etkileri yoluyla insülini de önler.

TRAIL’in Tip I diyabette koruyucu rolünün olup olmalıdığı hala araştırılan konular arasında yer almaktadır. Yapılan çalışmalarda; SOCS-1 ve TIMP-1’in diyabete karşı TRAIL aracılı koruyucu etkilerinin olduğu ve SOCS-1’in diyabet insidansında rolü olduğu belirlenmiştir (Kang S ve ark (2010); Zauli G ve ark (2010); Rønn SG ve ark (2007)). TIMP-1 ekspresyonundaki artış ise pankreatik beta hücrelerinde insülini ve apoptozu önemli ölçüde azaltmaktadır (Jiang H ve ark (2007)).

2.6.1. TRAIL ve Tip I Diyabet

Tip I diyabet, pankreasın langerhans adacıklarındaki beta hücrelerinden salgılanan insülinin yetersizliği ile karakterizedir. T hücreli otoimmün yanıt, pankreas beta hücrelerinde tahribata yol açarak insülin salınımının eksikliğine ve dolayısıyla Tip I diyabetin gelişimine neden olmaktadır (Rother KI (2007)). Beta hücre yıkımı, pankreasın Langerhans adacıklarında meydana gelen kronik inflamasyonun bir sonucudur. Tip I diyabet gelişiminin ilk aşamasında pankreas adacık inflamasyonu olarak bilinen insülitis meydana gelmektedir. Apoptoz, pankreas β hücre yıkımının ana mekanizması olarak kabul edilmektedir. Bu mekanizma immün sistem aracılı olup, Fas veya TNF reseptörü gibi ölüm reseptörleri yoluyla T hücresi kaynaklı hücre yıkımına yol açmaktadır. Ayrıca; makrofajlar da TNF-alfa ve interferon-gama gibi pro-inflamatuar sitokinlerin salgılanmasını uyararak sürece dahil olmaktadır (Thomas HE ve ark (2009); Soleimanpour SA ve Stoffers DA (2013)).

TRAIL ve Tip I diyabet arasındaki ilişkiyi açıklayan, deney hayvanları ile yapılan çalışmalarda sDR5 enjeksiyonu ile oluşturulan TRAIL blokajının, Obez Olmayan Diyabetik (NOD) farelerde T1DM insidansını önemli ölçüde arttırdığı ve T1DM başlangıcını hızlandığı gösterilmektedir (Lamhamedi-Cherradi SE ve ark (2003)). Buna ilave olarak, TRAIL, TIMP-1'in artmasına neden olabilir; bu, artış, diyabetik hastalarda genellikle daha yüksek olan matriks metalloproteinaz-9'un pankreas aktivitesini azaltarak T1DM'ye karşı bir koruyucu bir rolünün olabileceği belirlenmiştir (Kang S ve ark (2010); Xue M ve ark (2005)). Bu sonuçlar, TIMP-1'in pankreas adacıkları ve β hücrelerinde sitokin aracılı işlev bozukluklarını ve sitokin aracılı sitotoksiteyi önlediğini göstermektedir (Han X ve ark (2001)).

DeneySEL diyabet gelişim modelleri oluşturulan hayvan çalışmalarında TRAIL'in blokajı ve düşük doz streptozotosin (STZ) uygulaması daha fazla lökosit infiltrasyonu, adacık enflamasyonu ve diyabetin indüklenmesine neden olmaktadır. Deney hayvanları üzerinde yapılan çalışmalar, otoimmün açıdan değerlendirildiğinde TRAIL'in, Tip I diyabette koruyucu bir rolünün olduğu ve olası bir immün düzenleyici olarak çalışabileceği bildirilmiştir (Lamhamedi-Cherradi SE ve ark. (2003), Zauli G ve ark (2010)).

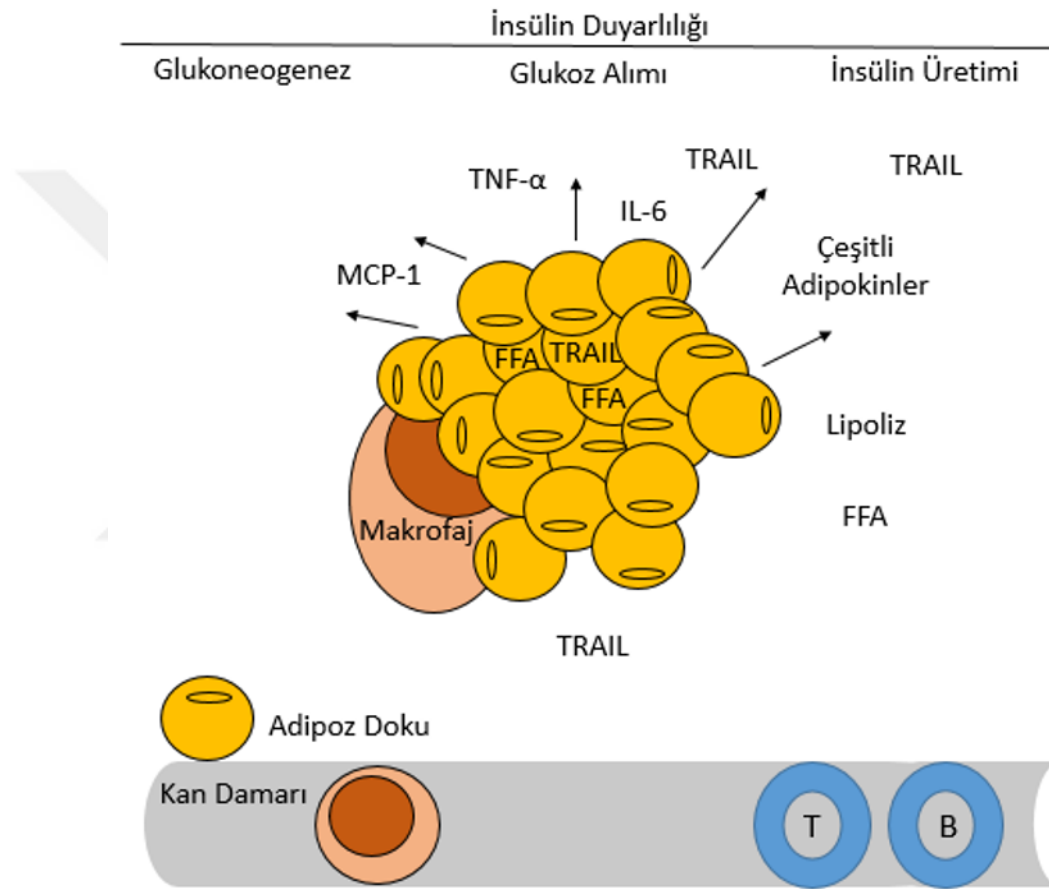
2.6.2. TRAIL ve Tip II Diyabet

Tip II diyabet, hiperglisemi, pankreasın langerhans adacıklarından yetersiz insülin salınımı ve vücudun insüline karşı geliştirmiş olduğu direnç ile karakterize metabolik bir hastalıktır. Pankreas beta hücrelerinden yetersiz insülin salınımı veya salgılanan insülinin aktivitesinde görülen bozukluklar, hücre-reseptör defektine ve glukozun hücre içine alınamamasına ve bunun neticesinde de glukozun enerji olarak kullanılamamasına neden olmaktadır Bu durumda hücre içi hipoglisemi ve hücre dışında da hiperglisemi görülmektedir (Bolen SMD ve ark. (2007)).

TRAIL ve Tip II diyabet ilişkisini açıklamak üzere yapılan deneySEL hayvan çalışmalarında TRAIL'in Tip II diyabete karşı koruma sağlayabileceği gösterilmektedir. Obezite ve insülin direncini indüklemek için yüksek yağlı diyet uygulanan ApoE/TRAIL nakavt farelerde TRAIL eksikliğinin, diyabet gelişimine neden olabileceği bildirilmiştir. Özellikle, farelerde ApoE'nin TRAIL ile beraber blokajı, yüksek glikoz ve düşük insülin düzeylerine neden olmaktadır. Sonuç olarak, bu çalışma,

TRAIL eksikliğinin glukoz toleransını önemli ölçüde etkilediğini ve β -hücre fonksiyon bozukluğunu göstermiştir. Adacık makrofaj infiltrasyonundaki artış ile β -hücre yoğunluğundaki azalmanın TRAIL eksikliği ile ilişkili olabileceği gösterilmiştir.

TRAIL'in Tip II diyabet gelişimine karşı koruyucu mekanizmalarından bir diğeri de; TRAIL'in anti-adipojenik ve anti-inflamatuar etkilerinin olması düşünülmektedir (Şekil 2-8).



Şekil 2-8: TRAIL'in İnsülin Duyarlılığı Üzerine Etkisi

TRAIL: Tümör nekroz faktör ile ilişkili apoptozu indükleyici ligand

FFA: Serbest yağ asidi

MCP-1: Momosit kemoatraktan protein-1

IL-6: İnterlökin-6

T: T lenfositleri

B: B lenfositleri

Bernardi S ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada TRAIL'in, proapoptotik ve anti-adipojenik etkilerinden dolayı kaspaz-3 ve PPAR- γ ekspresyonunu indüklediği ve yağ kütlesi birikimini önemli ölçüde azalttığı gösterilmiştir. TRAIL'in anti-adipojenik etkileri, bağışıklık sistemi üzerindeki oluşabilecek enflamasyonun düzenlenmesine aracılık etmektedir. TRAIL'in sistemik dolaşımında ve dokuda IL-6, MCP-1 ve TNF- α seviyelerini önemli ölçüde azalttığı, bunun aksine TRAIL nakavt farelerde ise IL-6, MCP-1 ve TNF- α seviyelerini yükselmesine sebep olduğu gösterilmiştir. Bu sonuçlar, TRAIL'in Tip II diyabette pankreas beta hücrelerindeki CD3'ün azalmasında ve metabolik anormalliklerin iyileşmesinde rolü olabileceğini göstermektedir (Bernardi S ve ark (2012); Di Bartolo BA ve ark (2011)).



3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Çalışmada Kullanılan Örnekler

Bu çalışmada, materyal olarak üç örnek grubu yer almaktadır. Gruptaki örnekler İstanbul Üniversitesi, Tıp Fakültesi Hastanesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Endokrinoloji ve Metabolizma Hastalıkları Bilim Dalı' na gelen, obezite tanısı almış diyabetik, diyabetik olmayan ve sağlıklı kontrol bireylerden oluşmaktadır. Çalışma grubuna dahil edilen kişiler arasında akrabalık ilişkisi bulunmamaktadır. Çalışma gruplarındaki bireylere çalışmanın amacı açıklanarak kendilerinden yazılı izinleri alınmıştır ve bilgilendirilmiş gönüllü olur formları okutularak imzalatılmıştır.

Çalışmamıza 80 diyabetik obez, 80 diyabetik olmayan obez ve 80 sağlıklı kontrol olmak üzere toplam 240 birey dahil edilmiştir. Vücut Kitle İndeksi ($VKI = \text{kg/m}^2$) ölçümlerinin yaşa ve cinsiyete bağlı değişen obezite sınırı dikkate alınarak çalışma grupları belirlenmiştir. Gruplardaki bireylerin her birinden 2'ser adet olacak şekilde periferik kan örnekleri 5 ml' lik vakumlu steril K_3 -EDTA (Tri Potasyum Etilendiamine tetra asetik asit)' lı tüplere alınmıştır. Demografik bilgileri alınan bireylerin kan örnekleri gerekli koşullar altında İ.Ü. Aziz Sancar Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü, Moleküler Tıp Anabilim Dalı' na getirilmiştir.

Çalışmanın deneysel aşamalarında kan örneklerinden RNA izolasyonları, cDNA sentezi, TRAIL ekspresyonunun belirlenebilmesi için gerçek zamanlı kantitatif polimeraz zincir reaksiyonu (RT-qPZR) ve Sanger dizileme yöntemi gerçekleştirilmiştir.

3.2. Çalışmaya Alınma ve Çalışmadan Dışlanma Kriterleri

- Çalışmaya Alınma Ölçütleri:
 - Hastanın obezite tanısı almış olması.
 - Hastalık süresince herhangi bir tedavi görmüş olmaması (kemoterapi, ilaç vb).

- Çalışmadan Dışlanma Ölçütleri:

- Diyabet dışında kronik hastalığı olan bireyler.
- Hamile veya emziren bireyler.
- Tamamlanmış olan kemoterapi veya radyoterapi, akut enfeksiyon ve diğer klinik çalışmalar altında ilaç almış olmak.

3.3. Antropometri ve Biyokimyasal Parametreler

Çalışma gruplarının kilo, boy, vücut kitle ölçümleri kaydedilmiştir. Her bir gruptaki bireylerin total kolesterol, trigliserit, düşük yoğunluklu lipoprotein- kolesterol (LDL-kolesterol), yüksek yoğunluklu lipoprotein- kolesterol (HDL-kolesterol), glukoz, üre, kreatinin, Alanin aminotransferaz (ALT), Aspartat aminotransferaz (AST), Sodyum (Na), Potasyum (K), Klor (Cl), Total protein (TP), Albumin (Alb), Üre, HbA1c gibi biyokimyasal parametreleri incelenmiştir.

3.4. Kullanılan Cihazlar

- Buzdolabı (+4 °C) (Arçelik, Türkiye)
- Buzdolabı (-20 °C) (Arçelik, Türkiye)
- Derin Dondurucu (-80 °C) (DaihanScientefic, Güney Kore)
- Distile Su Cihazı (Millipore, Almanya)
- Vorteks-Mikrospin (Biosan, Letonya)
- Otomatik Pipet Seti (Gilson, Amerika Birleşik Devletleri)
- Nanodrop Spektrofotometre (Thermo Scientific, Almanya)
- Qubit Florometre (Invitrogen, Amerika Birleşik Devletleri)
- Soğutmalı Santrifüj (Beckman Coulter, Almanya)
- DNA/RNA UV Cleaner Kabin (Biosan, Letonya)
- RINA M14 Nükleik Asit Ekstraksiyon Cihazı (Bioeksen, Kat. No: RN-NA-14-114-100)
- Sanger Dizileme Cihazı (ABI Prism 377 DNA Sequencer'da (Applied Biosystems, ABD)

- Real-Time PZR Cihazı (Agilent Technologies Stratagene, Amerika Birleşik Devletleri)

3.5. Kullanılan Kimyasal Maddeler

STL-P1, Proteinaz K, 3M GIT2, İzopropanol, DNaz I, WB1, WB, 1X TE, Tris baz, EDTA, Etanol (%99), Sodyum klorür, sodyum hidroksit, SDS, TRİTONX

3.6. Kullanılan Çözeltiler

3.6.1. RNA İzolasyonunda Kullanılan Çözeltiler

3.6.1.1. STL-P1

1M Tris-Cl pH 8.0 + 1M EDTA pH 8.0 + 5M NaCl + %20 SDS + PVP-10

3.6.1.2. Proteinaz K

25 mg Proteinaz K tartılarak steril bir tüp içinde steril distile su ile 1 ml'ye tamamlandı.

3.6.1.3. 3M GIT2

3M GIT+%2 TRİTONX

3.6.1.4. İzopropanol

3.6.1.5. DNAaz I

3.6.1.6. WB-1-2-3

3.6.1.7. WB

1:2 3M GIT+%100 EtOH

3.6.1.8. 1X TE (Tris-EDTA buffer)

10 mM Tris + HCl + 1 mM EDTA

3.6.1.9. 1M EDTA

372.2 gram Etilendiamintetraasetat (EDTA) tartılarak beher içine alındı ve 1600 ml distile su eklendikten sonra manyetik karıştırıcı yardımıyla çözündürüldü ve pH'sı sodyum hidroksit çözeltis ile 8.0'e ayarlanarak distile su ile 1 litreye tamamlandı. Çözelti, 120°C'de 15 dakika otoklavlanarak sterilize edildi.

3.6.1.10. 5M Sodyum Klorür (NaCl)

292 gram sodyum klorür (NaCl) tartılarak erlene alındı. Üzerine 1000 mililitre distile su ilave edildikten sonra manyetik karıştırıcı ile iyice çözündürüldü. Balon jojeye aktararak 1 litreye tamamlandı. Çözelti, 120°C 'de 15 dakika otoklavlanarak sterilize edildi.

3.6.1.11. %20'luk Sodyum Dodesil Sülfat (SDS)

20 gram Sodyum dodesil sülfat tartıldı. Beher içine alınarak üzerine 160 mililitre distile su ilave edildi ve manyetik karıştırıcı yardımı ile çözündürüldü ve pH'sı 7.2'ye ayarlandı. 0.22 mikronluk filtreden geçirilerek sterilize edilerek oda ısısında saklandı.

3.7. Kullanılan Yöntemler

3.7.1. Robotik Cihaz (RINA™ M14) ile Nükleik Asit Ekstraksiyonu

Robotik cihaz (RINA™ M14) kan örneklerinden nükleik asit ekstraksiyonu tam otomatik olarak elde edilmesi amacıyla kullanılmaktadır. Prensip, genetik materyallerin fiziksel ve kimyasal parçalama, ısı işlem ve enzimatik uygulamalar ile hücre dışına alınmasının ardından manyetik boncuk yüzeyinde tutulup yıkanarak izole edilmesi ilkesine dayanmaktadır. Öncelikle parçalama tamponu ve deterjan ile muamele edilerek

ısıll işleme tabi tutulur. Ardından Örnek Tüpü' ne alınır ve istendiğı takdirde Internal Kontrol (IC-NA) ilave edilerek robota yerleştirilir. Sonraki işlemler robot tarafından otomatik olarak gerçekleştirilir. Robot içerisinde öncelikle, kullanıcı tarafından IC-NA ilave edilmiş örnekte bulunan tüm hücreler, Proteinaz K enzimi varlığında konsantre kaotropik tuz ve deterjan karışımı (Lizis Solüsyonu) ile parçalanır. Açığa çıkan nükleik asitler alkol içerikli Bağlama Solüsyonu yardımıyla silika kaplı demir oksit nanopartiküllerden oluşan Manyetik Boncuklara bağlanır. Ardından, kaotropik tuzun azaldığı alkollün arttığı Yıkama Solüsyonları serisi (WB1, WB2 ve WB3) ile manyetik boncuklara bağlı tüm nükleik asitler (örneklerden ve Internal kontrolden açığa çıkan DNA'lar) temizlenir ve kurutulur. Robotik pipet uçları bu aşamadan sonra Uç Yıkama Solüsyonları ile temizlenir. Son olarak, manyetik boncukların yüzeyindeki nükleik asitler düşük konsantrasyonda tuz içeren Elüsyon Solüsyonu içerisine alınarak saflaştırma işlemi tamamlanır. Robot çalıştırıldığında aşağıdaki basamaklar sırasıyla gerçekleştirilir.

- 1) RINA™ M14 UV lambası, UV menüsü kullanılarak en az 15 dakika çalıştırılır.
- 2) Oda sıcaklığında muhafaza edilen 'Kartuşlar' paketinden çalışılacak örnek sayısı kadar kartuş çıkarılır.
- 3) Kullanılacak kartuşlarda çökelti olup olmadığı tek tek kontrol edilir. Çökelti varsa, 37 °C'de 5-10 dakika ısıtılarak çözünmesi sağlanır.
- 4) Çalışılacak örnek sayısı kadar Elüsyon Tüpü ve Örnek Tüpü çıkarılır, her bir tüp numune ismine göre tek tek işaretlenir.
- 5) Kartuşlar el ile silkilerek ya da sert bir zemine vurularak, kapak ve duvarlarındaki sıvıların tüp diplerine doğru akması sağlanır.
- 6) Aşağıdaki RINA™ M14 İzolasyon Kitlerinin, RINA™ M14 Nükleik Asit Ekstraksiyon Robotu'na Yerleşimi tablosu takip edilerek, Örnek Tüpleri dışındaki tüm bileşenler (kartuşlar, uçlar, uç kılıfları, kartuş delici, elüsyon tüpleri, ısıtıcı blok tüpleri vb) RINA™ M14'e yerleştirilir (Şekil 3-1).
- 7) Örnek tüplerinin her birine 10 µL IC-NA pipetlenir.
- 8) Çalışılacak örneklerden 550'şer µL alınarak Örnek Tüpleri'ne eklenir. Ardından, Örnek Tüpleri de Şekil 3-1'de gösterildiğı şekilde RINA™ M14'e yerleştirilir.
- 9) Kartuş tutucunun tam kapatıldığından emin olunur.

10) Çekmece kapatılır, yerine oturduğundan emin olunur ve ‘İleri’ butonu ile devam edilir.

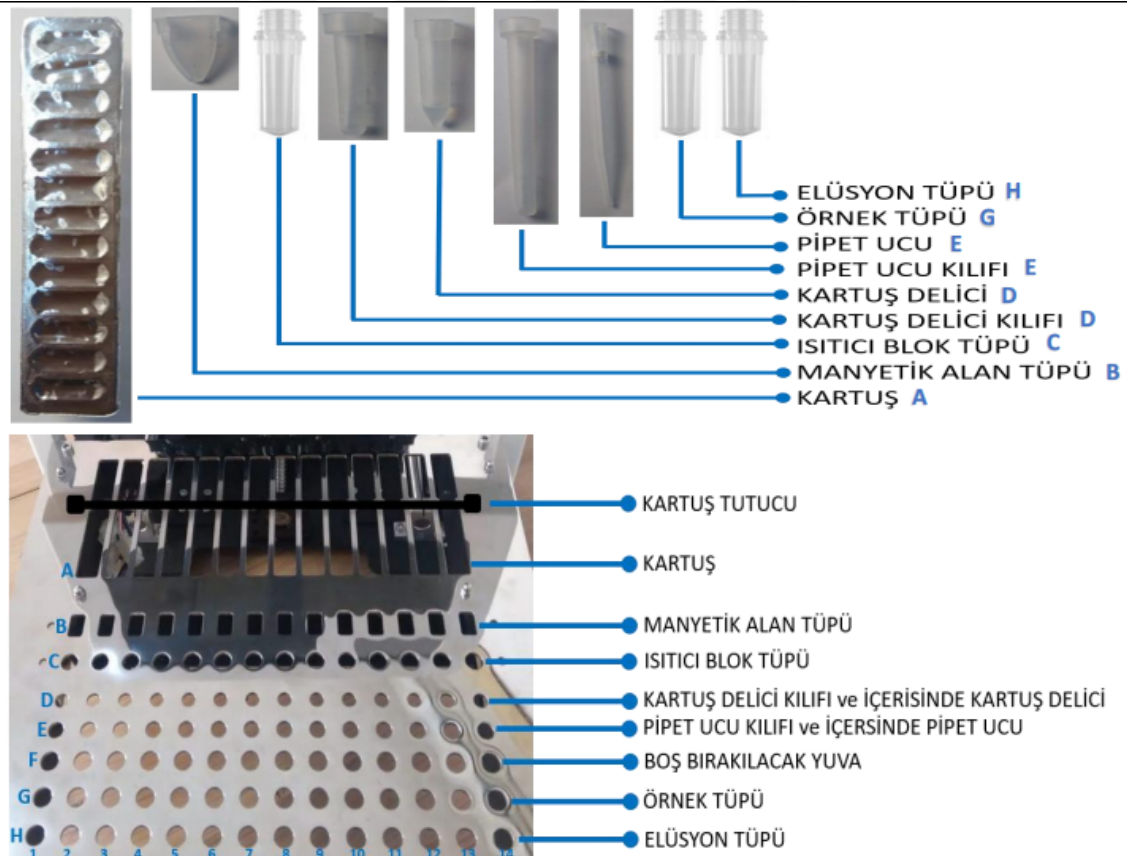
11) Kit yükleme sayfası sonrası, robot ekranında protokol seçim sayfası görüntülenir. Listede görüntülenen protokol/ kitlerden kullanılmak istenen, üstüne tıklanarak seçilir.

12) Ekranda, seçilen protokolün detaylı açıklaması ve versiyonu gösterilir. ‘İleri’ butonu ile devam edilir.

13) Örnek Hacmi ve Elüsyon Hacm girilir ve Ekstraksiyonu Başlat butonuna basılarak cihaz çalıştırılır.

14) İşlem bittiğinde sistem sesli uyarı verecektir. ‘İleri’ tuşuna basılıp ana menüye dönülür.

15) Cihaz açma-kapama düğmesi ile kapatılır ve güverte boşaltılır; Elüsyon Tüpleri ileri analizlerde RT-PZR’ da kullanılmak üzere $\leq -20\text{ }^{\circ}\text{C}$ ’de saklanır. Diğer bileşenler atılır.



Şekil 3-1: RINA™ M14 İzolasyon Kitlerinin, RINA™ M14 Nükleik Asit Ekstraksiyon Robotu'na Yerleşimi

3.7.1.1. Elde Edilen RNA'nın Konsantrasyon Tayini

Elde edilen RNA örneklerinin konsantrasyonları NanoDrop (Thermo Scientific) cihazı kullanılarak ölçüldü. RNA konsantrasyonu 260 nm'deki optik yoğunluğundan (OD), saflığı ise 260 nm/ 280 nm'deki OD değerinden saptandı.

RNA Konsantrasyonu= 50 (sulandırma oranı) X 40 (sabit) X OD 260 nm = ng/μl.

RNA saflığı = OD 260/ OD 280= 2

Konsantrasyonları belirlenen RNA örnekleri, cDNA sentezine kadar -80 °C' de muhafaza edildi.

3.7.2. Primer Tasarımı

TRAIL geninin RT-qPCR deneyinin yapılabilmesi amacıyla oluşturulan primerler aşağıda verilmiştir.

Çalışmamızda gen ekspresyon düzeyinin belirlenebilmesi için, referans olarak Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH) housekeeping gen olarak seçilmiştir. Primerleri GAPDH_Human_F (5'-GAAGGTGAAGGTCGGAGT-3') ve GAPDH_Human_R (5'-GAAGATGGTGATGGGATTTC-3') olarak seçilmiş ve optimizasyondan sonra RT- PCR' da çalışılmıştır.

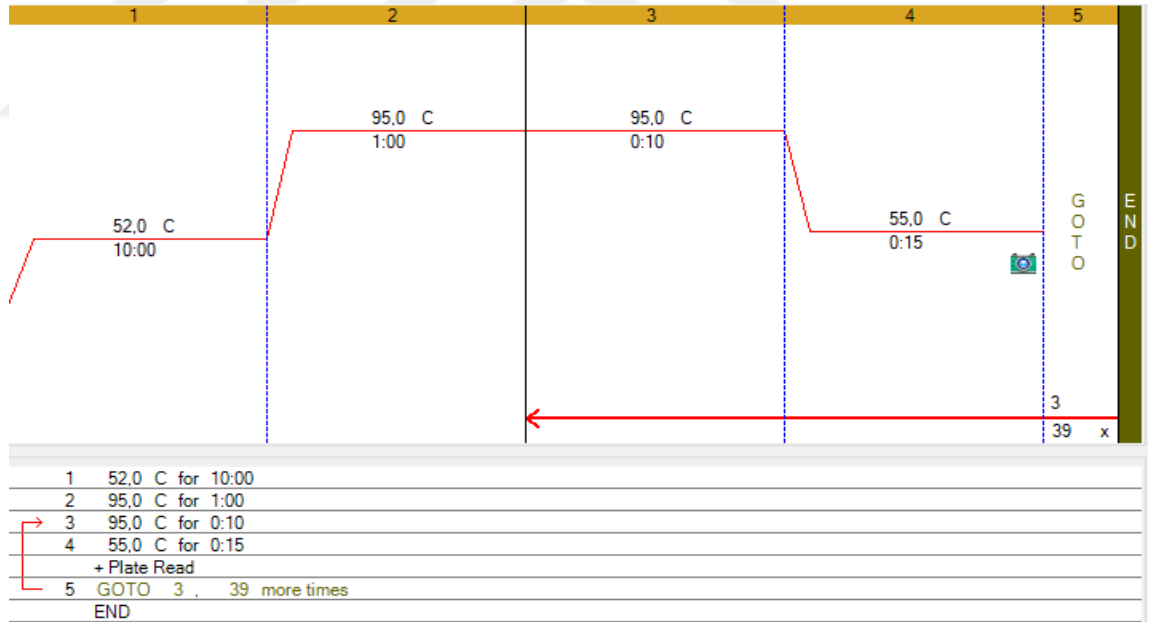
3.7.2.1. TRAIL Geninin Primer Tasarımı

Primer tasarımı için insan TRAIL genine ait ekzonlar hg38 genom versiyonunda incelenmiştir. Primer3 programı kullanılarak primerler tasarlanmış ve 249 bp uzunluğunda ürün elde edilmiştir (Şekil 3-2).

Tablo 3-1: cDNA ve RT-PZR için Hazırlanan Karışım Mix

Karışım Mix;

2X Prime Script Mix	5 μ L
Oligo Mix	2.5 μ L
Template Nucleic Acid	2.5 μ L
Total Reaction Volume	10 μ L



Şekil 3-3: cDNA Sentezi ve RT-PZR Protokolü

Ters transkripsiyon aşamaları aşağıdaki sıra ile uygulanmıştır (Şekil 3-3).

- İzole edilen RNA örneklerinden 2,5 µL ve 2X Prime Script Mix' ten µL kullanıldı.
- 10 dk 52 °C'de inkübasyon gerçekleştirildi.
- İnkübasyon sonrası elde edilen cDNA'lardan devam eden işlem basamakları ile gerçek zamanlı (RT)-qPZR gerçekleştirildi.
- TRAIL hedefi Fam kanlında; GAPDH hedefi ise Hex kanalında incelenmiştir.

RT-qPZR' deki nükleik asit miktarı, reaksiyon süresince ürün miktarıyla orantılı olacak şekilde artan floresan boyaların ve problemlerin verdiği sinyalin tayini ile sağlanmaktadır.

RT-qPZR' nin en önemli basamağı, DNA parçasının çoğaltıldığı, ilk PZR döngüsünün belirlendiği aşamadır. Eşik Döngüsü (Cross Point (CP) veya Cycle Threshold (CT)) olarak adlandırılır. Başlangıçtaki DNA miktarı arttıkça, floresan ışımda da aynı oranda ve oldukça hızlı bir şekilde artış göstermektedir. Bu nedenle de CT değerinde de düşüş beklenmektedir.

3.7.4. Yüksek Çözünürlükte Erime Eğrisi (HRM) Analizi

HRM, DNA'nın ayrışma (melting) sıcaklıklarını görüntülemek için kullanılan bir yöntemdir. Sıcaklık artışına bağlı olarak çift zincirli DNA yapısı birbirinden ayrılır ve zincirin %50'sinin (T_m) ayrılmasıyla birlikte floresan ışıma miktarının azalması beklenmektedir. HRM analizi için Bio-Speedy, dendrogramlar için minitab programı kullanılmıştır. Yapılan analizlere ait dendrogramlar ise aşağıda belirtilmektedir (Şekil 3-4). Dendrogram analizi sonucunda <99 benzerlik gösteren 5 grup oluşturularak dizi analizi yapılmış ve farklılıklar tespit edilmiştir.



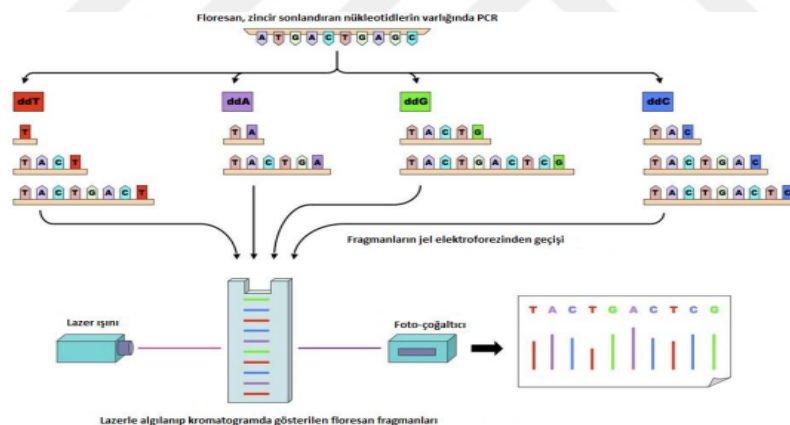
Şekil 3-4: TRAIL Geni İçin Yapılan Dendrogram Sonucu

3.7.5. Sanger Dizileme Yöntemi

Sanger dizileme, bir dideoksinükleotid ve dört normal nükleotid içeren dört aşamalı bir PZR reaksiyonundan meydana gelmektedir. Sanger dizileme yönteminde, zincir sonlandırıcı olarak kullanılan dideoksinükleotidler, DNA polimeraz ile reaksiyona dahil olmakta ve istenilen DNA bölgesinin dizilenmesine aracılık etmektedir. Dideoksinükleotidlerin nükleotid zincirine dahil olması uzamayı durdurmaktadır. Dideoksi dizilemesi, DNA dizisine eş yeni DNA iplikçığının senteziyle gerçekleşmektedir. Sanger dizilemede tasarlanan primerlerin bağlanma ısıları birbirlerine yakın, pürin-pirimidin baz sayıları da eşit dağılımlı seçilmektedir ve kalıp olarak çoğaltılan PZR ürünleri kullanılmaktadır (Şekil 3-5). DNA dizisinde yer alan nükleotitlerin tespit edilmesi için; floresan sinyali kullanılmaktadır (Sun K ve ark. (2014); Baudhuin L ve ark. (2015)). (Şekil 3-6). Yapılan dizi analizi ABI prism Big Dye Terminator Cycle-Sequencing Ready reaksiyon kiti aracılığıyla ABI Prism 377 DNA Sequencer'da (Applied Biosystems, ABD) tespit edilmiştir.

[illegible]

Şekil 3-5: Sanger Dizileme İçin Tasarlanan TRAIL Forward ve Reverse Primerleri



Şekil 3-6: Sanger Dizileme Aşamaları

3.8. İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analizler için SPSS (Statistical Package for Social Sciences for Windows) 22.0 software değerlendirme programı kullanılarak $p < 0,05$ anlamlı kabul edildi. Sayısal veriler Ortalama $\pm$ Standart Sapma (Ort $\pm$ SS) ve medyan olarak,

parametrik veriler de çalışmaya katılan birey sayısı (n) ve/veya (%) ile gösterilmiştir. Biyokimyasal parametreler arasındaki tanımlayıcı veriler hesaplandı ve normal dağılıma uygunluğu Shapiro-Wilk testi ile belirlendi. İkili karşılaştırmalarda normal dağılıma uyuyorsa Student's t, uymuyorsa Mann-Whitney U testi yapıldı. Benzer şekilde üçlü karşılaştırmalar normal dağılıma uyuyorsa ANOVA testi, uymuyorsa Kruskal-Wallis testin kullanıldı. Gen ekspresyon seviyelerinin gruplar arasındaki anlamlılıkları Fold Change ($2^{-\Delta\Delta C_t}$) kullanılarak belirlendi.



4. BULGULAR

Çalışmamıza İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Hastanesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Endokrinoloji ve Metabolizma Hastalıkları Bilim Dalı'nda diyabet tanısı konulmuş 80 obez, 80 diyabetik olmayan obez ve herhangi bir patolojik bulgusu bulunmayan 80 sağlıklı kontrol grubu olmak üzere toplam üç grup dahil edilmiştir.

Vaka ve kontrol örnekleri arasında TRAIL geninin ekspresyon düzeyi incelenip, Sanger dizi analizi yapılarak diyabet ile olan ilişkisinin bulunması sağlanmıştır.

4.1. Demografik Verilerin Analizi

Kontrol grubunun yaş ortalaması $41,67 \pm 11,59$ (Minimum: 17, Maksimum: 66) yaş, diyabetik obez hasta grubunda yaş ortalaması $42,60 \pm 14,34$ (Minimum: 17, Maksimum: 68) yaş, diyabetik olmayan obez hasta grubunda yaş ortalaması $55,03 \pm 9,65$ (Minimum: 19, Maksimum: 74) yaş olarak hesaplandı.

Student-t testi sonucunda hasta grupları ile ve kontrol grubu arasında cinsiyet dağılımı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmedi ($p > 0,05$).

4.2. Grupların Biyokimyasal Parametreler Açısından Değerlendirilmesi

Kontrol, diyabetik ve diyabetik olmayan obez gruplardan alınan kan örneklerinden, TRAIL'in gen ekspresyonu RT-qPZR yöntemi ile, dizilemesi ise Sanger yöntemi ile saptandı. Tablo 4-1'de diyabetik obez, diyabetik olmayan obez hasta grupları ile sağlıklı kontrol grubuna ait metabolik parametreler gösterilmektedir. Biyokimyasal parametrelerin data analizi sonucunda, diyabetik obez grubu glukoz, üre, kreatinin, trigliserit, VKİ ve HbA1c açısından diyabetik olmayan obez gruba ve kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak yüksek bulundu ve ileri derecede anlamlı olduğu tespit edildi ($p \leq 0,001$). Çalışma grupları HDL, Na ve Cl açısından değerlendirildiğinde diyabetik olmayan obez grupta, diyabetik obez gruba ve kontrol grubuna göre bu

değerlerin daha yüksek ve anlamlı olduğu belirlendi ($p<0,05$). LDH, AST, ALT, Total kolesterol, LDL, K, Total protein ve Albumin açısından karşılaştırıldığında ise gruplar arasında istatistiksel bir farklılık gözlenmedi ($p>0,05$).

Tablo 4-1: Diyabetik Obez ve Diyabetik Olmayan Obez Grubunun Antropometrik ve Biyokimyasal Parametreleri

	Diyabetik Obez n=80			Diyabetik Olmayan Obez n=80			Kontrol n=80			p
	Min	Max	Mean±Std	Min	Max	Mean±Std	Min	Max	Mean±Std	
Glukoz	48	422	187,73±75,19	75	105	89,95±8,55	72	111	91,88±8,07	<0,001
Üre	16	105	35,44±16,74	13	37	24,16±8,11	12	47	26,78±7,66	<0,001
Kreatinin	0,4	2,66	0,86±0,35	0,34	0,9	0,60±0,17	0,38	1,07	0,68±0,15	<0,001
LDH	133	298	187,48±32,80	138	330	188,05±44,07	118	263	173,06±30,58	0,048
ALT	7,5	104	25,42±16,08	12	152	25,50±28,71	8	84	22,30±13,89	0,314
AST	9	78	20,42±9,03	10	98	22,32±17,32	10	54	19,66±6,03	0,96
T_Kol	112	301	203,26±42,78	145	333	207,18±47,48	96	359	209,38±51,43	0,79
Trig	50	815	195,19±129,79	29	936	132,27±184,63	31	364	112,74±62,56	<0,001
HDL	23	66,5	44,04±9,94	20	111	54,68±17,32	32	80	54,16±11,27	<0,001
LDL	58	193	121,40±32,90	54	242	130,36±41,07	52	256	132,26±42,69	0,396
HbA1c	5,1	13,7	8,56±1,97	4,5	6	5,36±0,36	4,6	6	5,33±0,30	<0,001
Na	135	146	139,46±2,37	137	145	140,73±2,33	135	144	140,23±2,01	0,024
K	3,4	9,5	4,56±0,71	3,9	5,5	4,47±0,39	3,4	5,8	4,46±0,42	0,548
Cl	96	107	101,39±2,43	100	107	103,68±1,86	99	108	102,67±1,92	<0,001
T_prot	5,9	8,2	7,37±0,42	6,6	7,9	7,29±0,37	0,1	8,4	7,13±0,96	0,202
Alb	3,2	5,1	0,4	0	4,5	4,03±0,94	3,5	4,9	4,29±0,29	0,528
VKİ	30,04	45,79	35,17±3,99	30,08	65,33	37,91±8,08	18,34	29,97	25,01±3,03	<0,001

Mean ± Std: Sayısal veriler Ortalama ± Standart Sapma

Çalışmada kullanılan parametrelerin, gruplar arası istatistiksel analizi için ANOVA testi kullanıldı.

Diyabetik obez hasta grubu kendi arasında kadın ve erkek olmak üzere cinsiyete göre biyokimyasal parametreler açısından kıyaslandığında kreatinin ve ALT değerinin erkeklerde kadınlara göre daha yüksek ve istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirlendi (sırasıyla $p<0,001$; $p=0,025$). HDL değerinin ise erkeklerde kadınlara göre daha düşük ve istatistiksel olarak yüksek düzeyde anlamlılığa sahip olduğu tespit edildi ($p=0,004$) (Tablo 4-2). Diyabetik olmayan bireylerden seçilmiş olan hasta grubu kendi arasında cinsiyete göre biyokimyasal parametreler açısından kıyaslandığında kreatinin değerinin erkeklerde kadınlara göre daha yüksek olduğu belirlendi ancak istatistiksel olarak bir anlamlılık tespit edilemedi ($p=0,055$). Çalışılan diğer biyokimyasal parametreler

istatistiksel açıdan değerlendirildiğinde ise bir anlamlılık elde edilememiştir ($p>0,05$) (Tablo 4-3).

Tablo 4-2: Diyabetik Obez Hastaların Cinsiyete Göre Karşılaştırılması

	Kadın			Erkek			<i>P</i>
	Min	Max	Mean±Std	Min	Max	Mean±Std	
Glukoz	48	422	196,33±82,55	89	390	177,73±65,31	0,28
Üre	16	105	33,48±15,88	16,6	92	37,74±17,65	0,187
Kreatinin	0,4	2	0,77±0,27	0,63	2,66	0,97±0,40	<0,001
LDH	133	298	194,24±40,52	135	250	182,22±24,82	0,4
ALT	7,5	71	21,73±11,96	10	104	29,69±19,12	0,025
AST	9	41	19,10±6,55	13	78	22,00±11,20	0,248
T_Kolesterol	119	301	212,23±46,40	112	287	192,71±35,94	0,074
Trigliserit	59	815	202,15±153,25	50	431	186,88±96,08	0,941
HDL	26	66,5	46,95±9,71	23	57	40,56±9,16	0,004
LDL	58	193	126,09±34,08	61	174	115,63±30,91	0,218
HbA1c	5,1	13,7	8,78±2,10	5,1	12,9	8,29±1,81	0,381
Na	135	146	139,45±2,52	135	144	139,46±2,22	0,866
K	3,8	5,4	4,53±0,40	3,4	9,5	4,59±0,96	0,711
Cl	96	107	101,61±2,54	96	105	101,19±2,37	0,943
Total protein	6,6	8,2	7,38±0,38	5,9	8,2	7,37±0,46	0,917
Alb	3,2	4,96	4,22±0,38	3,3	5,1	4,37±0,40	0,153
VKİ	30,04	45,79	35,69±4,60	30,2	43,69	34,56±3,09	0,616

Mean ± Std: Sayısal veriler Ortalama ± Standart Sapma

Çalışmada kullanılan parametrelerin, gruplar arası istatistiksel analizi için Student's t ve Mann-Whitney U testi kullanıldı.

Tablo 4-3: Diyabet Olmayan Obez Hastalarının Cinsiyete Göre Karşılaştırılması

	Kadın			Erkek			<i>p</i>
	Min	Max	Mean±Std	Min	Max	Mean±Std	
Glukoz	75	105	89,61±8,37	76	98	91,50±10,50	0,443
Üre	13	36	23,86±8,20	16	37	25,50±8,74	0,551
Kreatinin	0,34	0,9	0,57±0,17	0,64	0,8	0,75±0,07	0,055
LDH	146	330	192,47±46,27	138	220	171,50±34,62	0,484
ALT	12	152	26,39±31,74	17	30	21,50±5,80	0,55
AST	10	98	22,67±19,18	17	24	20,75±3,30	0,415
T_Kolesterol	145	333	202,67±48,97	172	257	227,50±38,96	0,202
Trig	29	183	98,22±46,04	46	936	285,50±434,00	0,865
HDL	20	111	56,56±18,33	34	55	46,25±8,85	0,293
LDL	54	242	126,17±42,77	115	182	149,25±29,35	0,173
HbA1c	4,5	6	5,38±0,39	5,1	5,4	5,23±0,13	0,251
Na	137	145	140,39±2,09	138	145	142,25±3,10	0,18
K	3,9	5	4,41±0,34	4,4	5,5	4,76±0,51	0,099
Cl	100	107	103,83±1,95	102	105	103,00±1,41	0,387
Total protein	6,6	7,7	7,29±0,36	6,8	7,9	7,28±0,46	0,652
Alb	0	4,5	3,97±1,04	4,2	4,4	4,30±0,08	0,365
VKİ	30,08	65,33	37,68±7,69	30,25	59,03	38,85±10,07	0,974

Mean ± Std: Sayısal veriler Ortalama ± Standart Sapma

Çalışmada kullanılan parametrelerin, gruplar arası istatistiksel analizi için Student's t ve Mann-Whitney U testi kullanıldı.

Çalışmamızda yer alan sağlıklı bireylerden oluşan kontrol grubunun cinsiyete göre kadın ve erkek olarak kendi arasında kıyaslanması neticesinde; glukoz ($p<0,001$), üre ($p=0,001$), kreatinin ($p<0,001$), ALT ($p<0,001$), AST ($p<0,001$), Na ($p=0,003$), Cl ($p=0,035$), Total protein ($p=0,015$), Albumin ($p=0,012$) değerlerinin erkeklerde kadınlara göre daha yüksek olduğu ve istatistiksel açıdan değerlendirildiğinde de yüksek düzeyde anlamlılığın olduğu belirlenmiştir. HDL değerinin ise erkeklerde kadınlara kıyasla daha düşük ancak yüksek düzeyde anlamlılık gösterdiği belirlenmiştir ($p<0,001$). Çalışılan LDH, Total kolesterol, trigliserit, LDL, HbA1c, K ve VKİ gibi diğer parametrelerde ise istatistiksel olarak bir anlamlılık elde edilememiştir ($p>0,05$) (Tablo 4-4).

Tablo 4-4: Kontrol Grubunun Cinsiyete Göre Karşılaştırılması

	Kadın			Erkek			<i>p</i>
	Min	Max	Mean±Std	Min	Max	Mean±Std	
Glukoz	72	107	89,16±7,59	81	111	95,7419±7,20	<0,001
Üre	12	39	24,09±6,51	19	47	30,4062±7,68	0,001
Kreatinin	0,38	0,8	0,58±0,10	0,6	1,07	0,8072±0,11	<0,001
LDH	127	233	169,13±27,80	118	263	178,6786±33,90	0,168
ALT	8	35	16,61±5,35	8	84	29,9375±17,81	<0,001
AST	10	26	17,50±3,13	14	54	22,5625±7,63	<0,001
T_Kolesterol	135	359	214,63±53,07	96	343	202,4194±49,16	0,776
Trig	31	278	101,29±53,30	45	364	128,2581±71,25	0,084
HDL	37	80	59,33±9,75	32	66	47,1613±9,31	<0,001
LDL	70	256	134,21±43,57	52	249	129,6129±42,04	0,88
HbA1c	4,6	5,9	5,30±0,31	4,7	6	5,3750±0,28	0,217
Na	135	143	139,70±1,72	136	144	141,0000±2,18	0,003
K	3,6	5,8	4,53±0,43	3,4	5,3	4,3687±0,38	0,111
Cl	99,6	108	102,32±1,80	99	106	103,1786±2,00	0,035
Total protein	0,1	7,8	6,97±1,16	5,9	8,4	7,3643±0,46	0,015
Alb	3,8	4,7	4,22±0,25	3,5	4,9	4,3897±0,30	0,012
VKİ	18,34	29,97	24,81±3,04	18,83	29,41	25,2684±3,04	0,592

Mean ± Std: Sayısal veriler Ortalama ± Standart Sapma

Çalışmada kullanılan parametrelerin, gruplar arası istatistiksel analizi için Student's t ve Mann-Whitney U testi kullanıldı.

4.3. TRAIL Geninin Gen Ekspresyon Analizi

Ekspresyon düzeylerinin karşılaştırmasında, amplifikasyon neticesinde yayılan floresan ışımının miktarının ölçüldüğü döngü sayısını ifade eden Ct değeri kullanılmıştır. Ct değerleri incelenerek, TRAIL geninin ve GAPDH Housekeeping genin ΔCt , $\Delta\Delta Ct$ değerleri hesaplanmıştır. TRAIL ekspresyon düzeyi ise; GAPDH geni referans alınarak $2^{-\Delta\Delta Ct}$ olarak hesaplanmıştır ve istatistiksel anlamlılığı Kruskal-Wallis testi ile açıklanmıştır. Yapılan incelemeler sonucunda TRAIL gen ekspresyonunun diyabetik obez grubunda azaldığı, diyabetik olmayan obez grubunda ve kontrol grubunda ise arttığı tespit edilmiş ve istatistiksel olarak yüksek düzeyde anlamlı olduğu belirlenmiştir (sırasıyla, 0,25; 1,68; 10,95; $p < 0,001$) (Tablo 4-5).

Tablo 4-5: TRAIL Gen Ekspresyon Düzeyleri

TRAIL	Diyabetik Obez			Diyabetik Olmayan Obez			Kontrol			p
	Min	Max	Mean±Std	Min	Max	Mean±Std	Min	Max	Mean±Std	
ΔCT	3,84	11,6	9,13±1,57	-2,1	12,3	6,32±3,17	-1,8	12,66	6,24±3,12	<0,001
$\Delta\Delta CT$	-2,2	5,58	3,14±1,57	-5,6	12,3	3,21±4,45	-7,8	6,67	0,25±3,12	<0,001
$2^{-\Delta\Delta CT}$	0,02	4,44	0,25±0,56	0,02	46,9	1,68±5,68	0,01	216,8	10,95±31,46	<0,001

Mean ± Std: Sayısal veriler Ortalama ± Standart Sapma

Çalışmada kullanılan parametrelerin, gruplar arası istatistiksel analizi için Kruskal-Wallis testi kullanıldı.

TRAIL gen ekspresyonu diyabetik obez, diyabetik olmayan obez ve kontrol gruplarında kadın ve erkek olmak üzere cinsiyete göre karşılaştırılmıştır. Diyabetik obez grubundaki erkeklerde $2^{-\Delta\Delta CT}$ ekspresyon düzeyinin kadınlara göre daha yüksek düzeyde ve anlamlı olduğu gösterilmiştir ($p=0,015$). Diyabetik olmayan obez gruptaki erkeklerde TRAIL $2^{-\Delta\Delta CT}$ ekspresyon düzeyi kadınlara göre daha yüksek olsa da istatistiksel açıdan bir anlamlılık elde edilememiştir. Kontrol grubunda ise TRAIL $2^{-\Delta\Delta CT}$ ekspresyon düzeyi erkeklere göre karşılaştırıldığında, kadınlarda daha yüksek ve istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirlenmiştir ($p=0,015$) (Tablo 4-6).

Tablo 4-6: TRAIL Gen Ekspresyonunun Cinsiyete Göre Karşılaştırılması

Gruplar	TRAIL	Kadın			Erkek			P
		Min	Max	Mean±Std	Min	Max	Mean±Std	
Diyabetik Obez	ΔCT	3,84	11,51	9,51±1,40	5,05	11,6	8,70±1,65	0,015
	$\Delta\Delta CT$	-2,2	5,52	3,52±1,40	-0,9	5,58	2,71±1,65	0,015
	$2^{-\Delta\Delta CT}$	0,02	4,44	0,21±0,68	0,02	1,92	0,29±0,39	0,015
Diyabetik Olmayan Obez	ΔCT	-2,1	11,29	6,09±3,29	1,87	12,3	6,23±2,68	0,562
	$\Delta\Delta CT$	-5,6	11,29	3,09±4,42	-4,1	12,3	2,96±5,31	0,622
	$2^{-\Delta\Delta CT}$	0	46,85	1,68±6,06	0	17,4	2,54±5,12	0,622
Kontrol	ΔCT	-1,8	10,45	5,26±3,53	0,83	12,7	7,4763±2,10	0,015
	$\Delta\Delta CT$	-7,8	4,46	-0,73±3,53	-5,2	6,67	1,4862±2,10	0,015
	$2^{-\Delta\Delta CT}$	0,05	216,8	18,81±40,86	0,01	35,8	1,6487±6,25	0,015

Mean ± Std: Sayısal veriler Ortalama ± Standart Sapma

Çalışmada kullanılan parametrelerin, gruplar arası istatistiksel analizi için Student's t ve Mann-Whitney U testi kullanıldı.

Diyabetik Obez, Diyabetik Olmayan Obez ve Kontrol Gruplarında TRAIL gen ekspresyonu biyokimyasal parametreler açısından ekspresyonu azalan ve ekspresyonu artan olmak üzere kıyaslandığında total protein değeri dışındaki parametrelerde istatistiksel açıdan bir anlamlılık tespit edilememiştir. Total protein düzeyinin ise, ekspresyonu artanlarda gen ekspresyonu azalanlara göre daha yüksek ve anlamlı olduğu belirlenmiştir ($p=0,007$) (Tablo 4-7).

Tablo 4-7: Biyokimyasal Parametrelerin TRAIL Gen Ekspresyonuna Göre Karşılaştırılması

Biyokimyasal Parametreler	Diyabetik Obez							Diyabetik Olmayan Obez							Kontrol						
	Gen Ekspresyonu Azalan			Gen Ekspresyonu Artan			<i>p</i>	Gen Ekspresyonu Azalan			Gen Ekspresyonu Artan			<i>P</i>	Gen Ekspresyonu Azalan			Gen Ekspresyonu Artan			<i>p</i>
	Min	Max	Mean±Std	Min	Max	Mean±Std		Min	Max	Mean±Std	Min	Max	Mean±Std		Min	Max	Mean±Std	Min	Max	Mean±Std	
Glukoz	48	422	189,19±77,69	134	215	174,75±33,43	0.904	75	105	88,61±8,35	88	99	93,00±5,57	0.412	12	47	27,06±8,43	14	39	26,20±5,80	0.068
Üre	16	105	34,89±16,44	17	77	46,15±24,94	0.237	13	37	22,81±7,84	20	36	30,00±8,72	0.185	0,38	1,1	0,69±0,16	0,4	0,9	0,63±0,12	0.982
Kreatinin	0,4	2	0,84±0,29	0,8	2,7	1,32±0,89	0.063	0,34	0,9	0,58±0,17	0,5	0,9	0,67±0,17	0.356	118	263	172,44±32,20	127	233	174,55±27,01	0.125
LDH	133	298	186,52±33,32	166	197	181,50±21,92	0.978	138	330	189,87±47,23	167	231	190,33±35,35	0.574	8	84	23,67±15,22	10	55	19,39±10,21	0.518
ALT	7,5	104	25,60±16,50	15	28	21,65±7,12	0.870	12	152	27,28±31,58	14	22	18,33±4,04	0.600	10	54	19,88±6,67	12	33	19,18±4,47	0.207
AST	9	78	20,49±9,29	16	19	17,33±1,53	0.644	10	98	23,78±18,89	13	19	15,33±3,21	0.080	96	343	212,46±48,07	97	359	205,57±58,42	0.896
T_Kolesterol	112	301	205,63±43,57	141	194	174,50±23,19	0.156	145	333	207,78±47,53	159	280	215,67±60,86	0.814	31	364	120,88±69,35	45	176	96,91±40,13	0.566
Trig	50	815	200,09±132,99	103	244	147,43±66,37	0.367	46	936	148,72±200,73	36	111	68,00±38,69	0.221	32	75	54,24±11,37	35	80	54,23±11,51	0.258
HDL	23	66,5	43,89±9,91	31	51	41,28±9,72	0.650	20	69	51,33±11,81	40	73	56,00±16,52	0.669	55	249	134,10±41,20	52	256	130,68±46,05	0.956
LDL	58	193	123,01±33,60	80	114	101,75±15,84	0.181	85	242	132,28±39,07	108	185	144,33±38,68	0.471	4,7	6	5,33±0,29	4,6	5,7	5,31±0,32	0.990
HbA1c	5,1	13,7	8,69±1,98	5,1	7,9	6,85±1,31	0.063	4,5	6	5,35±0,40	5,2	5,4	5,33±0,12	1.000	136	144	140,16±2,09	135	144	140,33±1,93	0.909
Na	135	146	139,49±2,42	137	141	139,50±1,73	0.886	137	145	140,61±2,52	140	141	140,67±0,58	0.740	3,4	5,3	4,43±0,36	3,6	5,8	4,51±0,52	0.807
K	3,4	9,5	4,56±0,73	4,2	5,1	4,57±0,42	0.984	4	5,5	4,49±0,39	3,9	4,9	4,30±0,53	0.456	99	108	102,83±2,04	100	105	102,31±1,62	0.45
Cl	96	107	101,40±2,52	100	103	101,50±2,12	1.000	100	107	103,67±1,91	101	105	103,67±2,31	1.000	5,9	8,4	7,31±0,41	0,1	7,7	6,76±1,53	0.361
Total protein	6,6	8,2	7,39±0,38	5,9	7,6	6,75±1,20	0.551	6,6	7,9	7,26±0,40	7,2	7,6	7,40±0,20	0.765	3,5	4,9	4,30±0,29	3,8	4,8	4,27±0,28	0.007
Alb	3,2	5,1	4,30±0,38	3,3	4,7	4,17±0,70	0.898	0	4,5	4,01±1,04	3,9	4,5	4,13±0,32	0.546	151	186	168,37±8,50	150	181	164,63±8,49	0.604
BKİ	30	45,8	35,34±4,05	30	35	32,11±2,01	0.083	30,1	65,3	37,38±8,58	30	53	39,60±7,03	0.217	17	66	41,73±12,11	17	62	41,62±10,93	0.670

Mean ± Std: Sayısal veriler Ortalama ± Standart Sapma

Çalışmada kullanılan parametrelerin, gruplar arası istatistiksel analizi için ANOVA testi ve Kruskal-Wallis testi kullanıldı.

Çalışmamızda Sanger dizileme öncesinde, yüksek çözünürlüklü erime (HRM) analizi yapılmıştır. Yüksek çözünürlüklü erime analizi, sekans spesifik olarak ampikonların tek baz değişiminde bile farklı profiller açığa çıkaran fark grafikleri sayesinde, aynı

diziye sahip olan numuneleri gruplara ayırarak analizin maliyeti ile süresini azaltmaktadır. HRM analizinin neticesine göre belirlenen grupların içerisinde seçilen numuneler dizilenerek sekansları belirlenmiştir. Dendrogramın oluşturulmasıyla birlikte elde edilen mutasyonlar aşağıda gösterilmektedir.

- rs781673405 (ATGAA[C/G]AGCCC)
- rs143353036 (TGGCAAG[T/C])
- rs1244378045 (TTAGAAAG[A/T])
- rs201137623 (TTAGAAAGAT[G/C,A])
- rs767450259 (ATTTTG[A/G])
- rs759369504 (TTTTGAGAA[C/A])
- rs750556128 (TGAGAACCTC[T/C])
- rs369143448 (AAGAGGTC[C/T])

5. TARTIŞMA

Obezite, dünyada en yaygın görülen kronik inflamatuvar hastalıklardan biri olup; alınan enerjinin, harcanan enerjiden fazla olduğu durumda görülen pozitif enerji dengesi neticesinde gelişim göstermektedir ve vücutta aşırı miktarda yağ dokusu birikimine neden olmaktadır. Sedanter yaşam ve düzensiz beslenme de bu hastalığın gelişimine aracılık etmektedir. Obezitenin varlığı, dislipidemide, hipertansiyonda, kardiyovasküler hastalıklarda ve insülin direncinde görülen risk artışı ile ilişkilendirilmektedir (Chiang DJ ve ark. (2011)). Obezite ile ilişkilendirilen insülin direncinin temel nedeni ise; vücuttaki yağ dağılımı, TNF- α , serbest yağ asitleri ile β 3-adrenerjik reseptöründe görülen genetik bozukluklardan kaynaklanmaktadır (Altunoğlu EG (2012)). Klinik veriler neticesinde multi-faktöriyel bir durum olan obezite ile diyabet hastalığı arasında önemli ilişkilerin olduğu açıklanmıştır (Shoelson SE ve ark. (2006); Güngör NK (2014)).

Diyabet, pankreasın langerhans adacıklarındaki hücrelerde gerçekleşen insülin salınımı ve/veya aktivitesindeki bozukluk sebebiyle kan glukoz düzeyinin yükselmesi ile karakterize metabolik bir hastalıktır. İnsülin salınımı ve azalma gösteren doku yanıtı neticesinde insülin, hedef dokularda yetersiz etki göstermekte ve böylelikle protein, karbonhidrat ve yağ metabolizmasında da bozukluklar meydana gelmektedir (Mayer-Davis EJ ve ark. (2018)). Bu durum diyabetin, diyabetik ketoasidoz, hipoglisemi gibi akut; nefropati, makrovasküler hastalıklar, retinopati ve nöropati gibi de kronik hastalıklara yol açmasına ve bu hastalıkların da diyabet ile ilişkilendirilmesine neden olmaktadır (DiMeglio LA ve ark. (2018); Donaghue KC ve ark (2018)).

Tümör nekroz faktör süper-ailesinin bir üyesi olan TRAIL, beş ekzonlu bir gen olup kromozomun 3q26 pozisyonunda yer almaktadır. Tümör nekroz faktör ailesinin diğer üyeleri ile de sekans homolojisi göstermektedir. Dalak, ince bağırsak, plasenta gibi pek çok dokuda eksprese olabildiği gibi; monosit, lenfosit ve doğal öldürücü hücrelerde de ekspresyon gösterebilmektedir (Micheau O ve ark (2002)). Kardiyovasküler hastalıklarda prognostik özellik gösterdiği bilinen TRAIL'in metabolik hastalıklara sebep olan adipoz doku birikimi ile insülin direncine karşı da etkisinin olabileceği bildirilmektedir (Gloria Brombo ve ark. (2013)). Ancak obezite varlığında görülen

insülin direnci üzerine etkisi ve bunun neticesinde gelişim gösteren diyabet hastalığı ile ilgili çalışmaların literatürde yeterli sayıda olmaması ve bunların antropometrik ve/veya biyokimyasal parametrelerle olan ilişkisine odaklanılan insanda yapılan daha az sayıda literatür çalışmasının varlığı bizi bu konuda bir araştırma yapmaya yönlendirmiştir. Bu amaçla çalışmamızda diyabetik ve obez bireylerde TRAIL geninin ekspresyonunun ve gen dizilemesinin incelenmesi amaçlanmıştır.

Çalışmamıza dahil olan olgular VKİ, albümin, total protein, Cl, K, Na, HbA1c, LDL, HDL, total kolesterol, trigliserit, AST, ALT, LDH, kreatinin, üre ve glikoz gibi somatik ve biyokimyasal parametreler açısından değerlendirilmiştir. Bunlardan VKİ, glikoz, üre, kreatinin, trigliserit ve HbA1c'nin diyabetik obez grubunda diyabetik olmayan obez grubuna ve kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu bulunmuştur ve istatistiksel açıdan değerlendirildiğinde ileri derecede anlamlı olduğu saptanmıştır ($p \leq 0,001$). HDL, Na ve Cl değerlerinin ise diyabetik olmayan obez grupta, diyabetik obez gruba ve kontrol grubuna kıyasla daha yüksek ve istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirlenmiştir ($p < 0,05$). LDH, AST, ALT, total kolesterol, LDL, K, total protein ve albumin açısından değerlendirilme yapıldığında ise çalışma gruplarımız arasında istatistiksel bir farklılık gözlemlenmemiştir ($p > 0,05$). Literatür çalışmamızda HbA1c, trigliserit, glikoz, VKİ, değerlerinin bulgularımızı destekler nitelikte olduğu araştırmalar gözlemlenmiştir. (Özdoğan E ve ark. (2015); Hotamışlıgil GS ve ark. (1995); Gray N ve ark. (2015)). Buna ek olarak; Erdelen F ve arkadaşlarının diyabetik ve diyabetik olmayan obez gruplar arasında biyokimyasal parametreler açısından yapmış olduğu kıyaslama çalışması sonucunda LDL, total kolesterol, total protein, albumin açısından çalışma grupları arasında anlamlı bir fark olmadığı tespit edilmiştir. Bu sonuçlar da bizim bulgularımızı destekler niteliktedir (Erdenen F ve ark. (2012)).

Diyabet ve obezite çalışmalarında araştırılan biyokimyasal parametreler dışında TRAIL geni ile ilgili olarak literatürde ekspresyon çalışmasından ziyade çok sayıda serum çalışmasına rastladık. Bu çalışmalardan birkaçının verilerini değerlendirme açısından burada açıklanmıştır.

Kardiyovasküler hastalıklarda, vasküler kalsifikasyonda önemli bir protein olan TRAIL'in potansiyel olarak kardiyovasküler hastalıklarda yararlı olabilecek bir biyobelirteç olduğu bilinmektedir. Egzersiz eğitiminin, vasküler biyolojiyi,

metabolizmayı ve kan akışını iyileştirerek kardiyovasküler hastalıklar için oluşabilecek risk faktörlerini azalttığı bilinmektedir. Davenport C ve arkadaşlarının çalışmasında da fazla kilolu ve obez hastalardan oluşan 21 birey (17 erkek, 4 kadın) üzerinde yapılan haftada 4 saat birincil aerobik egzersizden oluşan toplam 6 aylık bir egzersiz programının TRAIL serum seviyesi üzerine olan etkisi incelenmiştir. Programın başında ve sonunda antropometrik ölçümler ve TRAIL serum seviyesi ölçülmüştür. Ancak; egzersiz eğitiminin TRAIL serum seviyesi üzerinde önemli bir etki göstermediği sonucuna varılmıştır. TRAIL serum seviyesinin egzersiz öncesinde, egzersiz sonrasına kıyasla anlamlı olduğu belirlenmiştir ($p<0,005$). Ağırlık, VKİ ve bel çevresi açısından değerlendirildiğinde, egzersiz öncesi değerler beklenildiği üzere egzersiz sonrasına göre yüksek ve anlamlı olduğu belirlenmiştir ($p<0,005$). Total kolesterol, HDL, LDL, trigliserit ve kreatinin açısından değerlendirildiğinde ise egzersiz öncesi ve sonrasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilememiştir ($p>0,005$) (Davenport C ve ark. (2012)).

Obezite ve dislipidemi teşhisi alan 199 hasta ile yapılan bir başka çalışmada; ELISA yöntemi ile serumda çözünür TRAIL konsantrasyonları incelenmiş ve serum TRAIL seviyesinin trigliserit, total kolesterol, vücut kitle indeksi ve LDL-kolesterol ile anlamlı bir korelasyon gösterdiği tespit edilmiştir ($p<0,005$) (Gloria Brombo ve ark. (2013)).

Literatürde, VKİ ve serum lipid düzeyi yüksek olan hastalarda serum TRAIL konsantrasyonunun artmış olduğunu gösteren çalışmalar olduğu gözlemlenmiştir (Choi JW ve ark. (2004); Ashley DT ve ark. (2011)).

41 fazla kilolu, 23 obez ve 36 zayıftan oluşan 100 bireyde gerçekleştirilen ve TRAIL'in obezite ile insülin duyarlılığı üzerine ilişkisini incelemek üzere yapılan bir araştırmada ise; ELISA yöntemi ile ölçülen TRAIL konsantrasyonunun yağ kütlesi ve bel çevresi ile ilişkili fakat vücut kitle indeksi için bir anlamlılığının olmadığı belirlenmiştir. (David T Ashley ve ark. (2011)).

Diyabetik hastalarla yapılan çalışmalar incelendiğinde; Tip-II diyabeti olan 416 hasta ile yapılan bir araştırmada; serum TRAIL seviyesi incelenmiş ve bunun VKİ, HOMA ve trigliserit ile korelasyonunun olduğu ancak total kolesterol, LDL-kolesterol ve HDL-kolesterol ile anlamlı bir ilişkisinin olmadığı gösterilmiştir. Ayrıca aynı çalışma içerisinde cinsiyetler arası kıyaslama yapıldığında TRAIL serum seviyesinin kadınlarda

erkeklere göre daha anlamlı ve yüksek olduğu belirlenmiştir ($p=0,016$) (Kawano N ve ark. (2011)).

Gianluca Tornese ve arkadaşlarının yapmış olduğu bir retrospektif çalışmaya göre dolaşımdaki TRAIL seviyesi incelenmiş ve bu seviyenin Tip-I diyabeti olan hasta grubunda, sağlıklı kontrol grubuna oranla önemli ölçüde azalma gösterdiği belirlenmiştir (Tornese G ve ark. (2014)).

Choi JW ve arkadaşlarının sağlıklı yetişkinler üzerine yapmış oldukları bir araştırmada ise serum TRAIL konsantrasyonunun kadınlarda erkeklere göre biraz daha yüksek ancak istatistiksel olarak anlamlı olmadığı bildirilmiştir (Choi JW ve ark. (2004)).

Diyabetes mellitus ve diyabetik nefropatisi olan hastalarda yapılan bir çalışmada hasta grupları ile sağlıklı kontrol grubu arasında TRAIL ekspresyonu ile serum düzeyinde sTRAIL incelenmiş ve TRAIL serum seviyesinin, TRAIL mRNA ekspresyon seviyesi ile pozitif korelasyon gösterdiği bildirilmiştir. Aynı zamanda kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, diyabeti ve diyabetik nefropatisi olan hastalarda TRAIL ekspresyon düzeyi ile serum seviyesinin önemli ölçüde azaldığı tespit edilmiştir ($p<0,005$) (Weiwei Chang ve ark. (2018)). Literatürde buna benzer bir diğer çalışmada da Tip-II diyabetli hastaların serum TRAIL seviyeleri incelenmiş ve sTRAIL seviyesinin sağlıklı bireylerden oluşan kontrol grubuna kıyasla anlamlı derecede düşük olduğu gösterilmiştir (Arık HO ve ark. (2013)).

55 Tip-I diyabetik hasta ve 50 sağlıklı bireyde gerçekleştirilen bir diğer çalışmada ise izole edilen periferik T hücrelerinde TRAIL'in protein ve mRNA seviyesindeki ekspresyonu incelenmiştir. Bunun neticesinde TRAIL ekspresyonunun hasta grubunda önemli ölçüde arttığı belirlenmiştir (Toffoli B ve ark. (2020)).

Lorz ve arkadaşlarının bir çalışmasında, diyabetik hastaların böbreğindeki TRAIL ekspresyonunun sağlıklı bireylerin böbreğindeki TRAIL ekspresyonuna oranla daha yüksek olduğu bildirilmiştir (Lorz C ve ark. (2008)).

Toffoli B ile Lorz C ve arkadaşlarının bulgularının aksine, çalışmamızda Arık HO ve arkadaşlarının sonuçlarına benzer olarak; diyabetik obez ve diyabetik olmayan obez gruba göre kıyaslandığında kontrol grubunda TRAIL gen ekspresyonunun daha yüksek

düzeyde ve istatistiksel açıdan değerlendirildiğinde anlamlı olduğu belirlenmiştir ($p<0,001$).

Çalışmamızda ise; TRAIL gen ekspresyonu cinsiyete göre karşılaştırıldığında diyabetik obez grubundaki erkeklerde $2^{-\Delta\Delta CT}$ düzeyinin kadınlara oranla daha yüksek düzeyde ve anlamlı olduğu saptanmıştır ($p=0,015$). Bunun yanı sıra diyabetik obez, diyabetik olmayan obez ve kontrol grupları arasında TRAIL gen ekspresyonu karşılaştırması yapıldığında (sırasıyla $0,25\pm0,56$; $1,68\pm5,68$; $10,95\pm31,46$), kontrol grubunda gen ekspresyon düzeyinin diğer iki gruba göre yaklaşık 10 kat fazla ve yüksek düzeyde anlamlı olduğu belirlenmiştir ($p<0,001$).

40-64 yaş aralığındaki vücut kitle indeksi $20-67 \text{ kg/m}^2$ olan 10 bireyden alınan subkutan yağ dokusunda TRAIL gen ekspresyonu gerçekleştirilerek yapılan bir başka çalışmada, TRAIL ekspresyonu ile obezite ve VKİ arasında herhangi bir ilişkiye rastlanılamamıştır (Keuper M ve ark. (2013)).

Buna ek olarak; çalışmamızda obez bireylerdeki VKİ değeri ile TRAIL gen ekspresyonu arasında herhangi bir anlamlılık gözlemlenmemiştir. Bu bulgumuz Keuper M ve arkadaşlarının verilerini destekler niteliktedir. İncelemiş olduğumuz diğer biyokimyasal parametrelerin de VKİ değerine benzer olarak istatistiksel bir anlamlılıklarının olmadığı saptanmıştır ($p>0,05$).

Hayvan çalışmalarından birinde ise; TRAIL'in beslenme ile oluşturulan farklı enerji düzeylerinde yağ dokusundaki ekspresyonu incelenmiştir. Buna göre; genetik olarak obez (ob/ob) farelerin yağ dokularında TRAIL ekspresyonunun artış gösterdiği tespit edilmiştir. Bunun yanı sıra seçilen vahşi tip farelere, belirli bir süre aç bırakıldıktan sonra gece boyunca hızlı ve yeniden beslenme uygulandığında kasıklarındaki yağ deposunda TRAIL'in down regule olduğu ancak bu ekspresyon seviyesinin yeniden beslenmeden iki saat sonra ilk değerlerine döndüğü belirtilmiştir (Keuper M ve ark. (2013)).

Deney hayvanları ile yapılan bir diğer çalışmada; TRAIL'in Tip-I diyabetteki potansiyel rolünü araştırabilmek için iki ayrı otoimmün hayvan modeli uygulanmıştır ve bu modellerde TRAIL blokajının veya TRAIL eksikliğinin sonuçlarını karşılaştırmak amaçlanmıştır. İlk oluşturulan modelde kullanılan obez olmayan diyabetik (NOD) farelere, TRAIL'in işlevini bloke etmek için çözünür bir TRAIL reseptör enjeksiyonu

yapılmıştır ve bunun sonucunda diyabetin önemli ölçüde hızlandığı, hem pankreas langerhans adacıklarında hem de tükürük bezlerinde otoimmün inflamasyonun derecesinin arttığı belirlenmiştir. İkinci modelde ise; diyabeti indükleyebilmek için normal ve TRAIL eksikliği olan C57BL/6 farelerine çoklu ancak düşük dozda streptozotosin tedavisi uygulanmıştır. TRAIL eksikliği bulunan farelerde adacık iltihabının hem derecesinin hem de insidansının önemli ölçüde arttığı tespit edilmiştir. Bu araştırmanın verilerine dayanarak; TRAIL eksikliğin otoimmün diyabeti hızlandığı söylenebilmektedir (Lamhamedi-Cherradi SE ve ark. (2003)).

Tip-II diyabet için bir risk faktörü olan non-alkolik yağlı karaciğer hastalığının TRAIL geninin 1595C/T (rs1131580) bölgesindeki tek bir nükleotid polimorfizmi ile olan ilişkisinin incelendiği bir çalışmada; CC genotipinin ve rs1131580'in C aleli sıklığının Tip-II diyabetli hastalarda kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek olduğu gösterilmiştir. Buna ek olarak; CC genotipli Tip-II diyabet hastalarının trigliserit ve serum kreatinin seviyelerinin TT genotipli hastalardan önemli ölçüde yüksek olduğu açıklanmıştır. İncelenen tek nükleotid polimorfizmindeki CC genotipinin Tip-II diyabet ile ilişkili olduğu ve Tip-II diyabetin prognostik değerlendirilmesinde aday olarak kullanılabileceği bildirilmiştir (Yu MY ve ark. (2013)).

Çalışmamızda Sanger dizileme öncesinde, örnek sayılarının temsil potansiyelini kaybetmeden düşürülmesi için yüksek çözünürlüklü erime (HRM) analizi yapılmıştır. Yüksek çözünürlüklü erime analizi, sekans spesifik olarak ampikonların tek baz değişiminde bile farklı profiller açığa çıkaran fark grafikleri sayesinde, aynı diziye sahip olan numuneleri gruplara ayırarak analizin maliyeti ile süresini azaltmaktadır. Çalışmamızda HRM analizi ile çalışmaya katılan olgularımız beş gruba ayrılmıştır. Bu ayrımın bir diğer nedeni ise çalışmaya katılan tüm olgulara dizi analizi gerçekleştirilemeyeceğinden dolayı bunların gruplara bölünerek, gruplar arası dizileme için örnek seçiminin yapılması çalışmanın doğru ve hızlı bir şekilde ilerlemesini de sağlamıştır. HRM analizinin neticesine göre belirlenen grupların içerisinden seçilen numuneler dizilenerek sekansları belirlenmiştir. Dendrogramın oluşturulmasıyla birlikte elde edilen mutasyonlar aşağıda gösterilmiştir. Dendrogramda bir ayrımın olup olmadığı incelenmiş ve ayrılan dalların belirli bir grubu diğerlerinden ayıramadığı tespit edilmiştir.

Çalışma sonucunda elde edilen mutasyonlar; rs781673405 (ATGAA[C/G]AGCCC), rs143353036 (TGGCAAG[T/C]), rs1244378045 (TTAGAAAG[A/T]), rs201137623 (TTAGAAAGAT[G/C,A]), rs767450259 (ATTTTG[A/G]), rs759369504 (TTTTGAGAA[C/A]), rs750556128 (TGAGAACCTC[T/C]), rs369143448 (AAGAGGTC[C/T])'dır. Literatürde çalışmamızın sonucunda tespit etmiş olduğumuz bu mutasyonlarla ilgili diyabet ve obezite üzerine yapılan herhangi bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Bu nedenle diyabetik obez grubunda ve diyabetik olmayan obez grubunda TRAIL'in Sanger dizileme yöntemi ile belirlenen olan bu mutasyonlarının varlığı ilk kez bizim çalışmamızda gösterilmektedir. Bu açıdan değerlendirildiğinde verilerimizin literatüre önemli bir katkı sağlayacağını düşünmekteyiz.

Elde ettiğimiz tüm bu sonuçlar, TRAIL gen ekspresyonundaki bu değişikliğin, diyabet hastalığına karşı TRAIL'in koruyucu bir etken olabileceğini düşündürmektedir. TRAIL'in antropometrik ve biyokimyasal parametreler ile olan ilişkisinin biyolojik temellerini netleştirebilmek ve Tip-I/Tip-II diyabet ile bunların komplikasyonlarına karşı TRAIL'e yönelik etkili tedavi yöntemleri geliştirebilmek için daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır.

KAYNAKLAR

- Altunoğlu, E.G. (2012). İnsülin Direnci Insulin Resistance. *Istanbul Tıp Derg.*, **13**, 137–40.
- American Diabetes Association. (2014). Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care*, **37**, **1**, S81-90.
- American Diabetes Association. (2018a). 10.Microvascular complications and foot care: Standards of medical care in diabetes—2018. *Diabetes Care*, **41**, **1**, S105-18.
- American Diabetes Association. (2018b). Cardiovascular disease and risk management: Standards of medical care in diabetes—2018. *Diabetes Care*, **41**, **1**, S86-104.
- Arıcı, H., Altunoğlu, E.G., Katran, H.B. (2018). Bir Eğitim ve Araştırma Hastanesinde 14 Kasım Dünya Diyabet Günü Kapsamında Diyabet Risk Taraması Sonuçları. *JAREN*, **4**, **3**, 156-163
- Arık, H.O., Yalcin, A.D., Gumuslu, S., Genc, G.E., Turan, A., Sanlioglu, A.D. (2013). Association of circulating sTRAIL and high-sensitivity CRP with type 2 diabetic nephropathy and foot ulcers. *Med Sci Monit*, **19**, **1**, 712–715.
- Ascaso, J.F., Pardo, S., Real, J.T., Lorente, I.L., Priego, A., Carmena, R. (2003). Diagnosing insulin resistance by simple quantitative methods in subjects with normal glucose metabolism. *Diabetes Care*, **26**, **12**, 3320-5.
- Ashley, D.T., O’Sullivan, E.P., Davenport, C., Devlin, N., Crowley, R.K., McCaffrey, N. ve ark. (2011). Similar to adiponectin, serum levels of osteoprotegerin are associated with obesity in healthy subjects. *Metabolism*, **60**, 994–1000.
- Australian Institute of Health and Welfare (AIHW). (2008). *Diabetes: Australian facts 2008*. AIHW. ISSN: 1444-8033.
- Azahri, N.S. ve Kavurma, M.M. (2013). Transcriptional of tumour necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand. *Cell Mol. Life Sci.*, **70**, **19**, 3617-29. doi: 10.1007/s00018-013-1264-x.
- Baudhuin, L.M., Lagerstedt, S.A., Klee, E.W., Fadra, N., Oglesbee, D., Ferber, M.J. (2015). Confirming Variants in NextGeneration Sequencing Panel Testing by Sanger Sequencing. *J Mol Diagn*, **17**, **4**, 456-61.
- Behrman, R.E., Kliegman, R.M., Jenson, H.B. (2004). Diabetes Mellitus in children. *In Sperling MA:17. WB Saunders Company*, p. 1947-1972.
- Berg, D., Lehne, M., Muller, N., Siegmund, D., Munkel, S., Sebald, W. ve ark. (2007). Enforced covalent trimerization increases the activity of the TNF ligand family members TRAIL and CD95L. *Cell Death Differ.*, **14**, 2021–2034. doi: 10.1038/sj.cdd.4402213.
- Bernardi, S., Zauli, G., Tikellisetal, C. (1979). TNF-relatedapoptosisinducing ligand significantly attenuates metabolic abnormalities in high-fat-fed mice reducing adiposity and systemic inflammation. *Clinical Science*, **123**, **9**, pp.547–555.
- Bianchini, F., Kaaks, R., Vainio, H. (2002). Overweight obesity, and cancer risk. *Lancet Oncol*, **3**, 56574.

- Biolo, G., Secchiero, P., Giorgi, S.D., Tisato, V., Zauli, G. (2012). The energy balance positively regulates the levels of circulating TNF-related apoptosis inducing ligand in humans. *Clin. Nutr.*, 32, 6, 1018-21.
- Blas, E. ve Kuru, A. (Ed.). (2010). [internetten] Diabetes: Equity and social determinants. In: Equity, Social Determinants and Public Health Programmes. Geneva, Switzerland: *World Health Organization*. https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/44289/9789241563970_eng.pdf?sequence=1&isAllowed=y.
- Bodmer, J.L., Schneider, P., Tschopp, J. (2002). The molecular architecture of the TNF superfamily. *Trends Biochem. Sci.*, 27, 1, 19–26. doi: 10.1016/S0968-0004(01)01995-8.
- Bolen, S.M.D., Feldman, L., Vassy, J., Wilson, L., Yeh, H.C., Marinopoulos, S. ve ark. (2007). Systematic review: comparative effectiveness and safety of oral medications for type 2 diabetes mellitus. *Annals of Internal Medicine*, 147, 6, 386-399.
- Bossi, F., Bernardi, S., Zauli, G., Secchiero, P., Fabris, B. (2015). TRAIL Modulates the Immune System and Protects against the Development of Diabetes. *Journal of Immunology Research*, 2015, 680749.
- Brombo, G., Volpato, S., Secchiero, P., Passaro, A., Bosi, C., Zuliani, G. ve ark. (2013). Giorgio Zauli. Association of Soluble Tumor Necrosis Factor-Related Apoptosis-Inducing Ligand (TRAIL) with Central Adiposity and Low-Density Lipoprotein Cholesterol. *PLoS ONE*, 8, 3, e58225.
- Chang, W.W., Liang, W., Yao, X.M., Zhang, L., Zhu, L.J., Yan, C. ve ark. (2018). Yue-long Jin, Ying-shui Yao. Tumour necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand expression in patients with diabetic nephropathy. *J Renin Angiotensin Aldosterone Syst.*, 19, 3, 1470320318785744.
- Chiang, D.J., Pritchard, M.T., Nagy, L.E. (2011). Obesity, diabetes mellitus, and liver brosis. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 300, 5, G697-702.
- Choi, J.W., Song, J.S., Pai, S.H. (2004). Associations of serum TRAIL concentrations, anthropometric variables, and serum lipid parameters in healthy adults. *Ann. Clin. Sci.*, 34, 4, 400-404.
- Danaei, G., Finucane, M.M., Lu, Y., Singh, G.M., Cowan, M.J., Paciorek, C.J. ve ark. (2011). National, regional, and global trends in fasting plasma glucose and diabetes prevalence since 1980: systematic analysis of health examination surveys and epidemiological studies with 370 country-years and 2.7 million participants. *Lancet*, 378, 9785, 31–40.
- Davenport, C., Kenny, H., Ashley, D.T., O'Sullivan, E.P., Smith, D., O'Gorman, D.J. (2012). The effect of exercise on osteoprotogerin and TNF-related apoptosis-inducing ligand in obese patients. *Eur J Clin Invest.*, 42, 11, 1173-9.
- Despr'es, J.P ve Lemieux, I. (2006). Abdominal obesity and metabolic syndrome. *Nature*, 444, 7121, 881–887.
- Di Bartolo, B.A., Chan, J., Bennett, M.R., Cartland, S., Bao, S., Tuch, B.E. ve ark. (2011). TNF-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) protects against diabetes and atherosclerosis in Apoe $-/-$ mice. *Diabetologia*, 54, 12, pp.3157–3167.

- DiMeglio, L.A., Evans-Molina, C., Oram, R.A. (2018). Type 1 diabetes. *Lancet.*, **16**, 391(10138), 2449-2462.
- Donaghue, K.C., Marcovecchio, M.L., Wadwa, R.P., Chew, E.Y., Wong, T.Y., Calliari, E. ve ark. (2018). ISPAD Clinical Practice Consensus Guidelines 2018: Microvascular and macrovascular complications in children and adolescents. *Pediatr Diabetes*, **19**, **27**, 262-274.
- Emery, J.G., McDonnell, P., Burke, M.B., Deen, K.C., Lyn, S., Silverman, C. ve ark. (1998). Osteoprotegerin is a receptor for the cytotoxic ligand TRAIL. *Journal of Biological Chemistry*, **273**, **23**, 14363–14367.
- Erdenen, F., Kocaöz, Y., Civelek, S., Akbaş, F., Altunoğlu, E., Uzun, H. (2012). Comparison of Adiponectin Values in Obese and Nonobese Diabetics and Relationship with Metabolic Parameters. *İstanbul Tıp Derg-İstanbul Med J*, **13**, **3**, 105-111.
- Fall, T. ve Ingelsson, E. (2014). Genome-wide association studies of obesity and metabolic syndrome. *Molecular and Cellular Endocrinology*, **382**, **1**, 740–757.
- Fauci, A.S., Kasper, D.L., Braunwald, E., Hauser, S.L., Longo, D.L., Jameson, J.L. ve ark. (2013). Harrison's Principles of Internal Medicine Seventeenth Edition, Diabetes Mellitus, Powers AC (Ed.), 17.baskı, *Nobel Kitabevi*, S2275-S2302.
- Fisher, M.J., Virmani, A.K., Wu, L., Aplenc, R., Harper, J.C., Powell, S.M. ve ark. (2001). Nucleotide substitution in the ectodomain of trail receptor DR4 is associated with lung cancer and head and neck cancer. *Clin Cancer Res*, **7**, **6**, 1688-97.
- Genuth, S.M., Palmer, J.P., Nathan, D.M., Cowie, C.C, Casagrande, S.S., Menke, A. ve ark. (2018). Diabetes in America. Classification and diagnosis of diabetes. *Bethesda (MD): National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases (US)*, 3rd Edition. PMID: 33651569.
- Gray, H.L., Sorensen, E.L., Hunt, J.S., Ober, C. (2001). Three polymorphisms in the 3' UTR of the TRAIL (TNF-related apoptosis-inducing ligand) gene. *Genes Immun*, **2**, **8**, 469-70.
- Gray, N., Picone, G., Sloan, F., Yashkin, A. (2015). Relation between BMI and diabetes mellitus and its complications among US older adults. *South Med J*, **108**, **1**, 29-36.
- Gregor, M.F. ve Hotamisligil, G.S. (2011). Inflammatory mechanisms in obesity. *Annu. Rev. Immunol*, **29**, 415-445 5.
- Guh, D.P., Zhang, W., Bansback, N., Amarsi, Z., Birmingham, C.L., Anis, A.H. (2009). The incidence of co-morbidities related to obesity and overweight: a systematic review and meta-analysis. *BMC Public Health*, **25**, **9**, 88. doi:10.1186/1471-2458-9-88.
- Güldal Altunoğlu E. (2012). İnsülin Direnci. *İstanbul Tıp Derg*, **13**, **3**, 137-140 doi: 10.5505/1304.8503.2012.78941.
- Güngör, N.K. (2014). Overweight and Obesity in Children and Adolescents. *J Clin Res Pediatr Endocrinol*, **6**, **3**, 129-143.
- Han, X., Suni Y., Scott, S., Bleich, D. (2001). Tissue inhibitor of metalloproteinase-1 prevents cytokine-mediated dysfunction and cytotoxicity in pancreatic islets and β -cells. *Diabetes*, **50**, **5**, pp.1047–1055.
- Harith, H.H, Morris, M.J., Kavurma, M.M. (2013). On the TRAIL of obesity and diabetes. *Trends Endocrinol Metab.*, **24**, **11**, 578-87.

Hotamisligil, G.S. (1999). The role of TNF alpha and TNF receptors in obesity and insulin resistance. *J Intern Med.*, **245**, 621-625.

Hotamisligil, G.S., Arner, P., Caro, J.F., Atkinson, R.L. (1995). Spiegelman BM. Increased adipose tissue expression of tumor necrosis factor alpha in human obesity and insulin resistance. *J. Clin. Invest.*, 95, **5**, 2409-15.

Jiang, H., Zhu, H., Chen, X., Peng, Y., Wang, J., Liu, F. ve ark. (2007). TIMP-1 transgenic mice recover from diabetes induced by multiple low-dose streptozotocin. *Diabetes*, 56, **1**, 49–56.

Kang, S., Park, E.J., Joe, Y., Seo, E., Park, M.K., Seo, S.Y. ve ark. (2010). Systemic delivery of TNFRelated Apoptosis-Inducing Ligand (TRAIL) elevates levels of tissue inhibitor of metalloproteinase-1 (TIMP-1) and prevents type 1 diabetes in nonobese diabetic mice. *Endocrinology*, 151, **12**, pp.5638–5646.

Kawano, N., Mori, K., Emoto, M, Lee, E., Kobayashi, I., Yamazaki, Y. Ve ark. (2011). Association of serum TRAIL levels with atherosclerosis in patients with type 2 diabetes mellitus. *Diabetes Res Clin Pract.*, 91, **3**, 316-20.

Kerkadi, A., Sadig, A.H., Bawadi, H., Al Thani, A.A.M., Al Chetachi, W., Akrram, H. ve ark. (2019). The Relationship between Lifestyle Factors and Obesity Indices among Adolescents in Qatar. *Int J Environ Res Public Health*, 16, **22**, 4428. doi:10.3390/ijerph16224428.

Keuper, M., Asterholm, I.W., Scherer, P.E., Westhoff, M.A., Möller, P., Debatin, K.M. ve ark. (2013). TRAIL (TNF-related apoptosis-inducing ligand) regulates adipocyte metabolism by caspase-mediated cleavage of PPARgamma. *Cell Death Dis.*, 4, **1**, e474.

Kyvik, K.O., Nystrom, L., Gorus, F., Songini, M., Oestman, J., Castell, C. ve ark. (2004). The epidemiology of type 1 diabetes mellitus is not the same in young adults as in children. *Diabetologia*, 47, **3**, 377- 384.

Lamhamedi-Cherradi, S.E., Zheng, S., Tisch, R.M., Chen, Y.H. (2003). Critical roles of tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand in type 1 diabetes. *Diabetes*, **52**: 2274–2278.

Lancaster, J.M., Sayer, R., Blanchette, C., Calingaert, B., Whitaker, R., Schildkraut, J. ve ark. (2003). High expression of tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand is associated with favorable ovarian cancer survival. *Clin Cancer Res*, 9, **2**, 762-6.

Lorz, C., Benito-Martín, A., Boucherot, A., Ucero, A.C., Rataldi, M.P., Henger, A. ve ark. (2008). The death ligand TRAIL in diabetic nephropathy. *J Am Soc Nephrol*, 19, **5**, 904–914.

Lubin, F., Ruder, A.M., Wax, Y., Modan, B. (1985). Overweight and changes in weight throughout adult life in breast cancer etiology. A case –control study. *Am J Epidemiol*, **122**, 579-588.

Lumeng, C.N. ve Saltiel, A.R. (2011). Inflammatory links between obesity and metabolic disease. *J. Clin. Invest*, **121**, 2111-2117.

Malcová, H., Sumník, Z., Drevínek, P., Lebl, J., Venhácová, J., Vavrinec, J. ve ark. (2004). Type I diabetes mellitus and associated autoimmune diseases in the first-degree relatives of diabetic children: questionnaire based study. *Cas Lek Cesk*, 143, **9**, 625-629.

- Mayer-Davis, E.J., Kahkoska, A.R., Jefferies, C., Dabelea, D., Balde, N., Gong, C.X. ve ark. (2018). ISPAD Clinical Practice Consensus Guidelines 2018: Definition, epidemiology, and classification of diabetes in children and adolescents. *Pediatr Diabetes*, **27**, 7-19.
- Micheau, O., Thome, M., Schneider, P., Holler, N., Tschopp, J., Nicholson, D.W. ve ark. (2002). The long form of FLIP is an activator of caspase-8 at the Fas death-inducing signaling complex. *J. Biol. Chem.*, **277**, **47**, 45162-71.
- Miyashita, T., Kawakami, A., Nakashima, T., Yamasaki, S., Tamai, M., Tanaka, F. ve ark. (2004). Osteoprotegerin (OPG) acts as an endogenous decoy receptor in tumour necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL)-mediated apoptosis of fibroblast-like synovial cells. *Clinical and Experimental Immunology*, **137**, **2**, 430-436.
- Morel, J., Audo, R., Hahne, M., Combe, B. (2005). Tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) induces rheumatoid arthritis synovial fibroblast proliferation through mitogen-activated protein kinases and phosphatidylinositol 3-kinase/Akt. *J Biol Chem*, **280**, **16**, 15709-18.
- Morris, M.J. (2008). Cardiovascular and metabolic effects of obesity. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* **35**, **4**, 416-419.
- Ng, M., Fleming, T., Robinson, M., Thomson, B., Graetz, N., Margono C ve ark. Global, regional, and national prevalence of overweight and obesity in children and adults during 1980-2013: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013. (2014). *Lancet*, **384**, **9945**, 766-781.
- Nisoli, E., Briscini, L., Giordano, A., Tonello, C., Wiesbrock, S.M., Uysal, K.T. ve ark. (2000). Tumor necrosis factor alpha mediates apoptosis of brown adipocytes and defective brown adipocyte function in obesity. *PNAS USA*, **97**, 8033-8038.
- Odegaard, J.I. ve Chaela, A. (2013). Pleiotropic actions of insulin resistance and inflammation in metabolic homeostasis. *Science*, **339**, **6116**, 172-177.
- Oran, F.K., Gheybi, A., Çelik, F., Durak, Ş., Doğan, Z., Aksoyer Sezgin, S.B. ve ark. (2021). Investigation of Gene Polymorphisms of Vaspın, Visfatin and Chemerin Obese and Non-Diabetic Obese Patients. *Journal of Health Services and Education*; **5**, **2**, 33-38 ISSN: 2636-8285 DOI: 10.29228/JOHSE.9.
- Özdoğan, E., Özdoğan, O., Altunoğlu, E.G., Köksal, A.R. (2015). Tip 2 Diyabet Hastalarında Kan Lipid Düzeylerinin Hba1c ve Obezite ile İlişkisi. *Med Bull Etfal Hosp*, **49**, **4**, 248-254.
- Pantalone, K.M., Hobbs, T.M., Chagin, K.M., Kong, S.X., Wells, B.J., Kattan, M.W. ve ark. (2017). Prevalence and recognition of obesity and its associated comorbidities: cross-sectional analysis of electronic health record data from a large US integrated health system. *BMJ Open*, **7**, **11**, e017583. doi:10.1136/bmjopen-2017-017583.
- Pfeiffer, A.F.H., Klein, H.H. (2014). The treatment of type 2 diabetes. *Dtsch Arztebl Int*, **111**, **5**, 69-82.
- Pietro, R.D., Zauli, G. (2004). Emerging non-apoptotic functions of tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL)/Apo2L. *J Cell Physiol*, **201**, **3**, 331-40.

- Pigeyre, M., Rousseaux, J., Trouiller, P., Dumont, J., Goumide, L., Bonte, D. ve ark. (2016). How obesity relates to socio-economic status: identification of eating behavior mediators. *Int J Obes (Lond)*, 40, **11**, 1794-1801. doi:10.1038/ijo.2016.109.
- Rawshani, A., Rawshani, A., Franzén, S., Eliasson, B., Svensson, A.M., Miftaraj, M. ve ark. (2017). Mortality and cardiovascular disease in type 1 and type 2 diabetes. *N Engl J Med*, 376, **15**, 1407-18.
- Romacho, T., Elsen, M., Röhrborn, D., Eckel, J. (2014). Adipose tissue and its role in organ crosstalk. *Acta Physiologica*, 210, **4**, 733–753.
- Rønn, S.G., Billestrup, N., Mandrup-Poulsen, T. (2007). Diabetes and suppressors of cytokine signaling proteins. *Diabetes*, 56, **2**, 541–548.
- Rother, K.I. (2007). Diabetes treatment--bridging the divide. *N Engl J Med*, 356, **15**, p. 1499-501.
- Saeedi, P., Petersohn, I., Salpea, P., Malanda, B., Karuranga, S., Unwin, N. ve ark. (2019). IDF Diabetes Atlas Committee. Global and regional diabetes prevalence estimates for 2019 and projections for 2030 and 2045: Results from the international diabetes federation diabetes atlas, 9th edition. *Diabetes Res Clin Practice*, **157**, 107843.
- Samuel, V.T. ve Shulman, G.I. (2012). Mechanisms for insulin resistance: common threads and missing links. *Cell*, **148**, 852-871 7.
- Satman, İ., Salman, S., Deyneli, O., İmamoğlu, Ş., Yılmaz, C., Akalın, S. ve ark. (2018). Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği, Diabetes Mellitus Ve Komplikasyonlarının Tanı, Tedavi Ve İzlem Kılavuzu. 10. baskı Ankara Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği, S15-S35.
- Secchiero, P. ve Zauli, G. (2008a). Tumor-necrosis-factor-related apoptosis- inducing ligand and the regulation of hematopoiesis. *Current Opinion in Hematology*, 15, **1**, 42-8.
- Secchiero, P., Melloni, E., Corallini, F., Beltrami, A.P., Alviano, F., Milani, D. ve ark. (2008b). Tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand promotes migration of human bone marrow multipotent stroma cells. *Stem Cells*, 26, **11**, 2955–2963.
- Shoelson, S.E., Lee, J., Goldfine, A.B. (2006). Inflammation and insulin resistance. *J. Clin. Invest.*, 116, **7**, 1793–1801.
- Soleimanpour, S.A. ve Stoffers, D.A. (2013). The pancreatic *b* cell and type 1 diabetes: innocent bystander or active participant? *Trends Endocrinol. Metab.*, 24, **7**, 324–331.
- Sun, K., Yuen, Y.P., Wang, H., Sun, H. (2014). Online Diagnosis System: A webserver for analysis of Sanger sequencing-based genetic testing data. *Methods*, 69, **3**, 230-6.
- Thomas, H.E., McKenzie, M.D., Angstetra, E., Campbell, P.D., Kay, T.W. (2009). Beta cell apoptosis in diabetes. *Apoptosis*, **14**, 1389–1404.
- Tornese, G., Iafusco, D., Monasta, L., Agnoletto, C., Tisato, V., Ventura, A. ve ark. (2014). The levels of circulating TRAIL at the onset of type 1 diabetes are markedly decreased in patients with ketoacidosis and with the highest insulin requirement. *Acta Diabetol.*, 51, **2**, 239-46.
- Toffoli, B., Tonon, F., Tisato, V., Michelli, A., Zauli, G., Secchiero, P. ve ark. (2020).

TRAIL treatment prevents renal morphological changes and TGF- β -induced mesenchymal transition associated with diabetic nephropathy. *Clin Sci (Lond)*, 134, **17**, 2337-2352.

Ulu, M.S., Yüksel, Ş. (2015). İnsülin Direnci. *Kocaeli Tıp Dergisi*, **16**, s 238-243.

Unger, R.H., Foster, D.W., Wilson, J.D., Foster, D.W., Kronenberg, H.M., Larsen, P.R. (1998). In 16th Ed, Williams Textbook of Endocrinology, Philadelphia: WB Saunders Company, p. 973-1059.

Wehby, G.L., Domingue, B.W., Ullrich, F., Wolinsky, F.D. (2017). Genetic Predisposition to Obesity and Medicare Expenditures. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*, 73, **1**, 66-72. doi:10.1093/gerona/glx062.

WHO. Global Database on BMI. Erişim 9.02.2022, [internetten]. <https://www.who.int/data/gho/data/themes/topics/topic-details/GHO/body-mass-index>.

Xue, M., Thompson, P.J., Clifton-Bligh, R., Fulcher, G., Gallery, E.D.M., Jackson, C. (2005). Leukocyte matrix metalloproteinase 9 is elevated and contributes to lymphocyte activation in type I diabetes. *International Journal of Biochemistry and Cell Biology*, 37, **11**, pp.2406–2416.

Yu, M.Y., Zhao, P.Q., Yan, X.H., Liu, B., Zhang, Q.Q., Wang, R. ve ark. (2013). Association between the TRAIL single nucleotide polymorphism re1131580 and type 2 diabetes mellitus in a Han Chinese population. *Genet Mol Res.*, 12, **3**, 3455-64.

Zauli, G., Corallini, F., Bossi, F., Fischetti, F., Durigutto, P., Celeghini, C. ve ark. (2007). Osteoprotegerin increases leukocyte adhesion to endothelial cells both in vitro and in vivo. *Blood*, 110, **2**, 536-43.

Zauli, G., Melloni, E., Capitani, S., Secchiero, P. (2009). Role of full-length osteoprotegerin in tumor cell biology. *Cell Mol Life Sci*, 66, **5**, 841-51.

Zauli, G., Rimondi, E., Stea, S., Baruffaldi, F., Stebel, M., Zerbinati, C. ve ark. (2008). TRAIL inhibits osteoclastic differentiation by counteracting RANKL-dependent p27Kip1 accumulation in pre-osteoclast precursors. *Journal of Cellular Physiology*, **214**, 117–125.

Zauli, G., Sancilio, S., Cataldi, A., Sabatini, N., Bosco, D., Pietro, R.D. (2005). PI-3K/Akt and NF- κ B/I κ Ba pathways are activated in Jurkat T cells in response to TRAIL treatment. *Journal of Cellular Physiology*, 202, **3**, 900–911.

Zauli, G., Toffoli, B., di lasio, M.G., Celeghini, C., Fabris, B., Secchiero, P. ve ark. (2010). Treatment with recombinant tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand alleviates the severity of streptozotocin-induced diabetes. *Diabetes*, 59, **5**, 1261–1265.

DIYABETİK OBEZ VE DIYABETİK OLMAYAN OBEZ KİŞİLERDE TRAIL MEKANİZMASININ GENETİK OLARAK İNCELENMESİ

ORJİNALLİK RAPORU

% 16	% 15	% 3	% 5
BENZERLİK ENDEKSİ	İNTERNET KAYNAKLARI	YAYINLAR	ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1	acikbilim.yok.gov.tr İnternet Kaynağı	% 8
2	nek.istanbul.edu.tr:4444 İnternet Kaynağı	% 1
3	www.bioeksen.com.tr İnternet Kaynağı	% 1
4	Submitted to Istanbul University Öğrenci Ödevi	% 1
5	pure.tue.nl İnternet Kaynağı	<% 1
6	Submitted to Uludag University Öğrenci Ödevi	<% 1
7	www.perinataljournal.com İnternet Kaynağı	<% 1
8	dergipark.org.tr İnternet Kaynağı	<% 1
9	www.openaccess.hacettepe.edu.tr:8080 İnternet Kaynağı	<% 1

Patients", 6th International Congress of Molecular Medicine, İSTANBUL, TÜRKİYE, 22-25 Mayıs 2017, vol.02, no.1, pp.255-255

3. Aksoyer S.B., Bayoğlu B., Ersöz F., Sarıcı M., Niyazoğlu M., Cengiz M., "MMP 2 and MMP9 expression levels in adipose tissues of obese patients", 41st FEBS Congress, AYDIN, TÜRKİYE, 3-8 Eylül 2016, vol.283, no.1, pp.432-432

4. Demir T., Karaçetin G., Bayoğlu B., Aksoyer S.B., Özdemir M., Eseroğlu T., et al., "Erken Başlangıçlı Şizofrenide BDNF geni Val66Met ve DRD2/ANKK1 geni Taq1A(rs1800497) varyantlarının rolü", XIV. Ulusal Tıbbi Biyoloji ve Genetik Kongresi, MUĞLA, TÜRKİYE, 27-30 Ekim 2015, ss.413-413

5. Cengiz M., Bayoğlu B., Karaçetin G., Aksoyer S.B., Eseroğlu T., Elagöz Yüksel M., et al., "Çocukluk çağı Bipolar Bozukluğunda Dopamin D2 Reseptörü (DRD2) rs6275 ve Katekol-O-Metil Transferaz (COMT) Val158Met gen polimorfizmlerinin incelenmesi", XIV. Ulusal Tıbbi Biyoloji ve Genetik Kongresi, MUĞLA, TÜRKİYE, 27-30 Ekim 2015, ss.412-412

Uluslararası bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitabında (Proceedings) basılan bildiriler

1. Başaran C, Aksoyer Sezgin SB, Çelik F, Arslan AO, Zeybek ŞÜ. : Research of the AdipoQ, AdipoR1 and AdipoR2 genetic variation effects at the obese coronary artery disease patients. , VII. International Congress of Molecular Medicine, Haliç University, Istanbul/Turkey, 2019
2. Aksoyer Sezgin SB, Durak Ş, Çelik F, Gheybi A, Dıramalı M, Çakmak R, Gürol AO, Yaylın İ, Zeybek Ü. Investigation Of The Effect Of Trail In Obese Patients. VIII. International Congress of Molecular Medicine, Yeni Yüzyıl University, Istanbul/Turkey, 2021
3. Gheybi A, Çelik F, Arslan AO, Aksoyer Sezgin SB, Aksakal N, Çakmak R, Zeybek ŞÜ. Evaluation of Mutation Profiles of PLIN and POMC Genes in Different BMI Groups. VIII. International Congress of Molecular Medicine, Yeni Yüzyıl University, Istanbul/Turkey, 2021
4. Aktaş V, Durak Ş, Aksoyer Sezgin SB, Çelik F, Dıramalı M, Zeybek Ü. Investigation of genetic variations of PPAR-γ gene in patients with diabetic and obesity. VIII. International Congress of Molecular Medicine, Yeni Yüzyıl University, Istanbul/Turkey, 2021

Kitap ve Kitap Bölüm Yazarlığı

1. Saadet Büşra Aksoyer Sezgin., " Göze İlişkin Terimler ", Mesleki ve Tıbbi Terminoloji, Çelik F, Ed., Ankara Nobel Tıp Kitabevi, İstanbul, ss.157-163, 2019 ISBN:9786057578532
2. Saadet Büşra Aksoyer Sezgin., " Sinir ve Psikiyatri Terimleri ", Mesleki ve Tıbbi Terminoloji, Çelik F, Ed., Ankara Nobel Tıp Kitabevi, İstanbul, ss.149-156, 2019 ISBN:9786057578532

3. Saadet Büşra Aksoyer Sezgin., "Nükleik Asitler, Yapısı ve Sınıflandırılması", "Sağlık Bilimleri İçin Biyokimya", Akademisyen Yayınevi, İstanbul (Basım aşamasında)

Ödüller

1.Fatih Üniversitesi 2. Uluslararası Biyoteknoloji Kongresi – İstanbul’da Kentsel Alanlarda Ağır Metal Kirliliğinin Belirlenmesinde ‘ Top Akasya (Robinia pseudoacacia umbraculifera) ‘ Bitki Gövdesinin Biyomonitör Olarak Kullanılması 24-26/10/2011– Sözlü Sunum Birincilik Ödülü

Kongreler, Sempozyum ve Kurs Sertifikaları

1. 5/08-21/09/2012 İngilizce kursu Regent School, Brighton/ İngiltere
2. 05/03/2010 I. Kök Hücre Sempozyumu, Marmara Üniversitesi, İstanbul/ Türkiye – Katılım Belgesi
3. 04-06/03/2011 Uluslararası VIII. İUGEN Moleküler Biyoloji ve Genetik Öğrenci Kış Okulu, İstanbul/Türkiye – Katılım Belgesi
4. 28/04-01/05/2011 6. Moleküler Biyoteknoloji Bahar Okulu, Karadeniz Teknik Üniversitesi, Trabzon/ Türkiye – Katılım Belgesi
5. 19-22/08/2011 Uluslararası Katılımlı ITÜ 5. Ulusal Moleküler Biyoloji ve Genetik Kongresi, İstanbul Teknik Üniversitesi, İstanbul/Türkiye - Katılım Belgesi, Gen Knockout ve Western Blot Workshop Sertifikası
6. 24-26/10/2011 2. Ulusal Biyoteknoloji Öğrenci Kongresi, Fatih Üniversitesi, İstanbul / Türkiye – Katılım Belgesi ve Sözlü Sunum Başarı Belgesi
7. 24/12/2011 II. Kök Hücre Sempozyumu, Marmara Üniversitesi, İstanbul/Türkiye – Katılım Belgesi
8. 28/12/2011 Programlı Hücre Ölümü: Güncel Yaklaşımlar Sempozyumu, Acıbadem Üniversitesi, İstanbul/Türkiye – Katılım Belgesi
9. 09-10/04/2012 Biyoteknoloji Kongresi, İstanbul Teknik Üniversitesi, İstanbul/Türkiye – Katılım Belgesi
10. 4-6/05/2012 4.Ulusal Biyoloji Toplulukları Kongresi, Uludağ Üniversitesi, Bursa/Türkiye – Katılım Belgesi
11. 27-30/10/2014 XIII. Ulusal Tıbbi Biyoloji ve Genetik Kongresi, Kuşadası, Aydın/Türkiye - Katılım Belgesi
12. 20-21/03/2015 Moleküler Tıpta Biyomühendislik ve İnovasyon Sempozyumu, Sanko Üniversitesi, Gaziantep/ Türkiye - Katılım Belgesi
13. 27-30/10/2015 XIV. Ulusal Tıbbi Biyoloji ve Genetik Kongresi, Ölüdeniz, Fethiye/Türkiye- Katılım Belgesi
14. 26- 29/10/2017 XV.Ulusal Tıbbi Biyoloji ve Genetik Kongresi, Muğla/Türkiye- Katılım Belgesi
15. 13-15/04/2018 Temel ve Uygulamalı Bilimlerde Araştırma Projesi Hazırlama ve Yürütme Süreçleri Eğitimi, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Van/ Türkiye – Katılım Belgesi

BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU

(Hasta İçin)

I-Araştırmayla İlgili Bilgiler

Bu katıldığınız çalışma bilimsel bir araştırma olup, araştırmanın adı “DIYABETİK OBEZ VE DIYABETİK OLMAYAN OBEZ KİŞİLERDE TRAIL MEKANİZMASININ GENETİK OLARAK İNCELENMESİ” dir.

Bu araştırmada TRAIL geminin mekanizmasının obezite ve diyabet hastalığının gelişiminde daha önceden yapılan araştırmalarla açıklanmamış olduğu bilinen fonksiyonlarının belirlenmesi ve TRAIL’in diyabet üzerine olan etkilerinin Türk popülasyonu üzerinde incelenmesi amaçlanmaktadır. Elde edilen sonuçlar TRAIL’in diyabetik obez ve diyabetik olmayan obez sağlıklı kontroller üzerine moleküler mekanizmasının aydınlatılmasına, obezite ve diyabet gelişimine daha elverişli olan kişilerin önceden tespit edilmesine ve bu kişilerin hastalığı önlemede gerekli işlemlere tabi tutulmasının sağlanmasında faydalı olacaktır. Bu araştırmada size herhangi bir tedavi süreci uygulanmayacaktır. Bu araştırma için öngörülen süre 12 ay olup, araştırmada yer alacak gönüllülerin sayısı 100 kişi ‘dir.

Bu araştırma ile ilgili olarak biz araştırmacılara kan örneğinizin alınmasına izin verip, verdiğiniz kan örneklerinde çalışma yapmamıza yardımcı olmanız ve çalışmanın sonucunda bilgi almanız sizin sorumluluklarınızdır.

Bu araştırmada sizin için her hangi bir risk ve rahatsızlık durumu bulunmamaktadır ayrıca sizin için beklenen yararlar sizden sonraki bireylerin obezite ile ilgili tedavilerine yarar sağlamak olup bilim dünyasına dolaylı yönden katkıda bulunmuş olacaksınız.

Bu araştırmada yer almanız nedeniyle size hiçbir ödeme yapılmayacaktır ayrıca, bu araştırma kapsamındaki bütün muayene, tetkik, testler ve tıbbi bakım hizmetleri için sizden veya bağlı bulunduğunuz sosyal güvenlik kuruluşundan hiçbir ücret istenmeyecektir. Bu araştırma BAP tarafından desteklenmektedir.

II-Gönüllünün Haklarıyla İlgili Bilgiler

Bu araştırmada uygulama sırasında herhangi bir rahatsızlıkla ve riskle karşılaşmanız söz konusu değildir ve yer almak tamamen sizin isteğinize bağlıdır. Araştırmada yer almayı reddedebilirsiniz ya da herhangi bir aşamada araştırmadan ayrılabilirsiniz; bu durum herhangi bir cezaya ya da sizin yararlarınıza engel duruma yol açmayacaktır. Araştırmacı bilginiz dahilinde veya isteğiniz dışında, uygulanan tedavi şemasının gereklerini yerine getirmemeniz, çalışma programını aksatmanız veya tedavinin etkinliğini artırmak vb. nedenlerle sizi araştırmadan çıkarabilir. Bu çalışmada sizin hiçbir hukuki ve mali sorumluluğunuz bulunmayıp tüm sorumluluk araştırmacı ve destekleyiciye aittir. Arzunuz üzere mali ve hukuki yükümlülüğünüz olmaksızın çalışmadan ayrılabilirsiniz. Elde edilen DNA bu çalışma dışında başka bir işlem için

kullanılmayacaktır. Başka bir çalışmada sizin DNA'nızın kullanılması gerektiğinde sizden izin alınacaktır. Araştırmanın sonuçları bilimsel amaçla kullanılacaktır; çalışmadan çekilmeniz ya da araştırmacı tarafından çıkarılmanız durumunda, sizle ilgili tıbbi veriler de gerekirse bilimsel amaçla kullanılabilir. Size ait tüm tıbbi ve kimlik bilgileriniz gizli tutulacaktır ve araştırma yayınlansa bile kimlik bilgileriniz verilmeyecektir, ancak araştırmanın izleyicileri, yoklama yapanlar, etik kurullar ve resmi makamlar gerektiğinde tıbbi bilgilerinize ulaşabilir. Siz de istediğinizde kendinize ait tıbbi bilgilere ulaşabilirsiniz.

Araştırma hakkında ek bilgiler almak için ya da çalışma ile ilgili herhangi bir sorun, istenmeyen etki ya da diğer rahatsızlıklarınız için 0212 414 20 00 nolu telefondan Prof. Dr. Ş. Ümit ZEYBEK'e veya 0 5348936660 nolu telefondan Saadet Büşra AKSOYER SEZGİN'e ulaşabilirsiniz.

Sayın Uzm. Dr. Ramazan ÇAKMAK İ.Ü. İ.T.F. İç Hastalıkları AD'nda tıbbi bir araştırma yapılacağı belirtilerek bu araştırma ile ilgili yukarıdaki bilgiler bana aktarıldı. Bu bilgilerden sonra böyle bir araştırmaya "katılımcı" (denek) olarak davet edildim. Eğer bu araştırmaya katılırsam hekim ile aramda kalması gereken bana ait bilgilerin gizliliğine bu araştırma sırasında da büyük özen ve saygı ile yaklaşılabileceğine inanıyorum. Araştırma sonuçlarının eğitim ve bilimsel amaçlarla kullanımı sırasında kişisel bilgilerimin ihtimamla korunacağı konusunda bana yeterli güven verildi.

Projenin yürütülmesi sırasında herhangi bir sebep göstermeden araştırmadan çekilebilirim. (Ancak araştırmacıları zor durumda bırakmamak için araştırmadan çekileceğimi önceden bildirmemim uygun olacağının bilincindeyim). Ayrıca tıbbi durumuma herhangi bir zarar verilmemesi koşuluyla araştırmacı tarafından araştırma dışı da tutulabilirim.

Araştırma için yapılacak harcamalarla ilgili herhangi bir parasal sorumluluk altına girmiyorum. Bana da bir ödeme yapılmayacaktır.

İster doğrudan, ister dolaylı olsun araştırma uygulamasından kaynaklanan nedenlerle meydana gelebilecek herhangi bir sağlık sorununun ortaya çıkması halinde, her türlü tıbbi müdahalenin sağlanacağı konusunda gerekli güvence verildi. (Bu tıbbi müdahalelerle ilgili olarak da parasal bir yük altına girmeyeceğim).

Araştırma sırasında bir sağlık sorunu ile karşılaştığımda; herhangi bir saatte, Uzm. Dr. Ramazan ÇAKMAK'ı, İ.T.F İç Hastalıkları AD 0212 414 20 00 numaralı telefondan arayabileceğimi biliyorum

Bu araştırmaya katılmak zorunda değilim ve katılmayabilirim. Araştırmaya katılmam konusunda zorlayıcı bir davranışla karşılaşmış değilim. Eğer katılmayı reddedersem, bu durumun tıbbi bakımına ve hekim ile olan ilişkiye herhangi bir zarar getirmeyeceğini de biliyorum.

Bana yapılan tüm açıklamaları ayrıntılarıyla anlamış bulunmaktayım. Kendi başıma belli bir düşünme süresi sonunda adı geçen bu araştırma projesinde "katılımcı" (denek) olarak yer alma kararını aldım. Bu konuda yapılan daveti büyük bir memnuniyet ve gönüllülük içerisinde kabul ediyorum.

İmzalı bu form kağıdının bir kopyası bana verilecektir.

BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU (Sağlıklı Birey İçin)

I-Araştırmayla İlgili Bilgiler

Bu katıldığınız çalışma bilimsel bir araştırma olup, araştırmanın adı “**DIYABETİK OBEZ VE DIYABETİK OLMAYAN OBEZ KİŞİLERDE TRAIL MEKANİZMASININ GENETİK OLARAK İNCELENMESİ**” dir.

Bu araştırmada TRAIL geminin mekanizmasının obezite ve diyabet hastalığının gelişiminde daha önceden yapılan araştırmalarla açıklanmamış olduğu bilinen fonksiyonlarının belirlenmesi ve TRAIL’in diyabet üzerine olan etkilerinin Türk popülasyonu üzerinde incelenmesi amaçlanmaktadır. Elde edilen sonuçlar TRAIL’in diyabetik obez ve diyabetik olmayan obez sağlıklı kontroller üzerine moleküler mekanizmasının aydınlatılmasına, obezite ve diyabet gelişimine daha elverişli olan kişilerin önceden tespit edilmesine ve bu kişilerin hastalığı önlemede gerekli işlemlere tabi tutulmasının sağlanmasında faydalı olacaktır. Bu araştırmada size herhangi bir tedavi süreci uygulanmayacaktır. Bu araştırma için öngörülen süre 12 ay olup, araştırmada yer alacak gönüllülerin sayısı 100 kişi ‘dir.

Bu araştırma ile ilgili olarak biz araştırmacılara kan örneğinizin alınmasına izin verip, verdiğiniz kan örneklerinde çalışma yapmamıza yardımcı olmanız ve çalışmanın sonucunda bilgi almanız sizin sorumluluklarınızdır.

Bu araştırmada sizin için herhangi bir risk ve rahatsızlık durumu bulunmamaktadır ayrıca sizin için beklenen yararlar sizden sonraki bireylerin obezite ile ilgili tedavilerine yarar sağlamak olup bilim dünyasına dolaylı yünden katkıda bulunmuş olacaksınız.

Bu araştırmada yer almanız nedeniyle size hiçbir ödeme yapılmayacaktır ayrıca, bu araştırma kapsamındaki bütün muayene, tetkik, testler ve tıbbi bakım hizmetleri için sizden veya bağlı bulunduğunuz sosyal güvenlik kuruluşundan hiçbir ücret istenmeyecektir. Bu araştırma BAP tarafından desteklenmektedir.

II-Gönüllünün Haklarıyla İlgili Bilgiler

Bu araştırmada uygulama sırasında herhangi bir rahatsızlıkla ve riskle karşılaşmanız söz konusu değildir ve yer almak tamamen sizin isteğinize bağlıdır. Araştırmada yer almayı reddedebilirsiniz ya da herhangi bir aşamada araştırmadan ayrılabilirsiniz; bu durum herhangi bir cezaya ya da sizin yararlarınıza engel duruma yol açmayacaktır. Araştırmacı bilginiz dahilinde veya isteğiniz dışında, uygulanan tedavi şemasının gereklerini yerine getirmemeniz, çalışma programını aksatmanız veya tedavinin etkinliğini artırmak vb. nedenlerle sizi araştırmadan çıkarabilir. Bu çalışmada sizin hiçbir hukuki ve mali sorumluluğunuz bulunmayıp tüm sorumluluk araştırmacı ve destekleyiciye aittir. Arzunuz üzere mali ve hukuki yükümlülüğünüz olmaksızın çalışmadan ayrılabilirsiniz. Elde edilen DNA bu çalışma dışında başka bir işlem için kullanılmayacaktır. Başka bir çalışmada sizin DNA’nızın kullanılması gerektiğinde sizden izin alınacaktır. Araştırmanın sonuçları bilimsel amaçla kullanılacaktır; çalışmadan çekilmeniz ya da araştırmacı tarafından çıkarılmanız durumunda, sizle ilgili tıbbi veriler de gerekirse bilimsel amaçla kullanılabilir. Size ait tüm tıbbi ve kimlik bilgileriniz gizli tutulacaktır ve araştırma yayınlsa bile kimlik bilgileriniz verilmeyecektir, ancak araştırmanın izleyicileri, yoklama

yapanlar, etik kurullar ve resmi makamlar gerektiğinde tıbbi bilgilerinize ulaşabilir. Siz de istediğinizde kendinize ait tıbbi bilgilere ulaşabilirsiniz.

Araştırma hakkında ek bilgiler almak için ya da çalışma ile ilgili herhangi bir sorun, istenmeyen etki ya da diğer rahatsızlıklarınız için 0212 414 20 00 nolu telefondan Prof. Dr. Ş. Ümit ZEYBEK'e veya 0 5348936660 nolu telefondan Saadet Büşra AKSOYER SEZGİN'e ulaşabilirsiniz.

Sayın Uzm. Dr. Ramazan ÇAKMAK İ.Ü. İ.T.F. İç Hastalıkları AD'nda tıbbi bir araştırma yapılacağı belirtilerek bu araştırma ile ilgili yukarıdaki bilgiler bana aktarıldı. Bu bilgilerden sonra böyle bir araştırmaya "katılımcı" (denek) olarak davet edildim. Eğer bu araştırmaya katılırsam hekim ile aramda kalması gereken bana ait bilgilerin gizliliğine bu araştırma sırasında da büyük özen ve saygı ile yaklaşılabileceğine inanıyorum. Araştırma sonuçlarının eğitim ve bilimsel amaçlarla kullanımı sırasında kişisel bilgilerimin ihtimamla korunacağı konusunda bana yeterli güven verildi.

Projenin yürütülmesi sırasında herhangi bir sebep göstermeden araştırmadan çekilebilirim. (Ancak araştırmacıları zor durumda bırakmamak için araştırmadan çekileceğimi önceden bildirmemim uygun olacağının bilincindeyim). Ayrıca tıbbi durumuma herhangi bir zarar verilmemesi koşuluyla araştırmacı tarafından araştırma dışı da tutulabilirim.

Araştırma için yapılacak harcamalarla ilgili herhangi bir parasal sorumluluk altına girmiyorum. Bana da bir ödeme yapılmayacaktır.

İster doğrudan, ister dolaylı olsun araştırma uygulamasından kaynaklanan nedenlerle meydana gelebilecek herhangi bir sağlık sorununun ortaya çıkması halinde, her türlü tıbbi müdahalenin sağlanacağı konusunda gerekli güvence verildi. (Bu tıbbi müdahalelerle ilgili olarak da parasal bir yük altına girmeyeceğim).

Araştırma sırasında bir sağlık sorunu ile karşılaştığımda; herhangi bir saatte, Uzm. Dr. Ramazan ÇAKMAK'ı, İ.T.F İç Hastalıkları AD 0212 414 20 00 numaralı telefondan arayabileceğimi biliyorum

Bu araştırmaya katılmak zorunda değilim ve katılmayabilirim. Araştırmaya katılmam konusunda zorlayıcı bir davranışla karşılaşmış değilim. Eğer katılmayı reddedersem, bu durumun tıbbi bakımına ve hekim ile olan ilişkiye herhangi bir zarar getirmeyeceğini de biliyorum.

Bana yapılan tüm açıklamaları ayrıntılarıyla anlamış bulunmaktayım. Kendi başıma belli bir düşünme süresi sonunda adı geçen bu araştırma projesinde "katılımcı" (denek) olarak yer alma kararını aldım. Bu konuda yapılan daveti büyük bir memnuniyet ve gönüllülük içerisinde kabul ediyorum.

İmzalı bu form kağıdının bir kopyası bana verilecektir.