



T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI
Endokrinoloji ve Metabolizma Hastalıkları
Bilim Dalı

RENAL TRANSPLANT HASTALARINDA, FARKLI İMMÜNSUPRESİF İLAÇLARIN İNKRETİNLER ÜZERİNE ETKİLERİ

Yandal Uzmanlık Tezi

Uzm.Dr. Nusret YILMAZ

Antalya, 2014



T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI
Endokrinoloji ve Metabolizma Hastalıkları
Bilim Dalı

RENAL TRANSPLANT HASTALARINDA, FARKLI İMMÜNSUPRESİF İLAÇLARIN İNKRETİNLER ÜZERİNE ETKİLERİ

Yandal Uzmanlık Tezi

Uzm.Dr. Nusret YILMAZ

Tez Danışmanı: Prof.Dr. Ramazan SARI

“Kaynakça gösterilerek tezimden yararlanılabilir ”

Antalya, 2014

**Bu çalışma Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Yönetim Birimi
tarafından 2012.04.0103.001 Proje No ile Desteklenmiştir.**

TEŞEKKÜR

Endokrinoloji uzmanlığı eğitimim sürecinde bilgi ve deneyimlerini her fırsatta bana aktarmaya çalışan hocalarım Sayın Prof.Dr. Mustafa Kemal Balcı ve Sayın Prof.Dr. Hasan Ali Altunbaş'a,

Eğitimim ve tez hazırlama sürecinde desteğini ve bilgi birikimini sürekli yanımda hissettiğim, pratik çözümleri ile her türlü zorluğu kolayca aşmama yardım eden, yol göstericiliği ile bu süreci daha rahat geçirmeme katkı sağlayan, tez danışmanım Sayın Prof.Dr. Ramazan Sarı'ya,

Tezimin planlanma aşamasında ve biyokimyasal testlerin çalışılması sürecinde desteğini esirgemeyen Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı öğretim üyesi Sayın Prof.Dr. Sebahat Özdem'e,

Tezimin yapım aşamasında katkılarından dolayı kliniğimiz eğitim hemşireleri Döndü Babür ve Şefika Dalkıran'a;

Uzmanlık eğitimim sürecinde desteğini sürekli yanımda hissettiğim eşim Seyran Yılmaz'a; varlıkları ile bana enerji veren çocuklarım Deniz Cem ve Zeynep Ela'ya sonsuz teşekkürler.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
Simgeler ve Kısaltmalar Dizini	ii
Şekiller Dizini	iii
Grafikler Dizini	iii
Tablolar Dizini	iv
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Diabetes Mellitus	3
2.2. Tanı ve Sınıflama	3
2.3. Tip 1 DM	5
2.4. Tip 2 DM	6
2.5. İnkretinler	7
2.6. Posttransplant Diabetes Mellitus	14
3. GEREÇ VE YÖNTEM	18
3.1. Hastalar	19
3.2. Laboratuvar Ölçümleri	20
3.3. İstatistiksel Analiz	22
4. BULGULAR	23
5. TARTIŞMA	30
6. SONUÇLAR	37
7. ÖZET	39
8. ABSTRACT	41
9. KAYNAKLAR	43

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ΔGIP	Maksimum GIP düzeyleri ile bazal GIP düzeyleri arasındaki fark
ΔGLP-1	Maksimum GLP-1 düzeyleri ile bazal GLP-1 düzeyleri arasındaki fark
CKD-EPI	Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration
DM	Diabetes Mellitus
DPP-IV	Dipeptidil peptidaz-IV
eGFR	Glomerül filtrasyon hızı
GAD	Glutamik asit dekarboksilaz
GIP	Glucose-dependent Insulinotropic Polypeptide
GLP-1	Glukagon-like peptid 1
GLP-1R	GLP-1 reseptörü
HbA1C	Hemoglobin A1 C
HLA	İnsan lökosit antijenleri
IA-2	İnsülinoma-associated protein 2
KG	Kontrol grubu
mTOR	Mammalian target of rapamycine
SG	Siklosporin grubu
TG	Takrolimus grubu
UKPDS	The UK Prospective Diabetes Study Group

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Sekil</u>	<u>Sayfa</u>
2.1. GLP-1'in glukoz metabolizması ve periferik dokular üzerine etkileri	11

GRAFİKLER DİZİNİ

<u>Grafik</u>	<u>Sayfa</u>
3.1. GLP-1 ELISA standart grafiği	21
3.2. GIP ELISA standart grafiği	22
4.1. Grupların ortalama glukoz düzeylerinin zamansal değişimi	25
4.2. Grupların ortalama insülin düzeylerinin zamansal değişimi	25
4.3. Grupların ortalama GLP-1 düzeylerinin zamansal değişimi	27
4.4. Grupların ortalama GIP düzeylerinin zamansal değişimi	27

TABLOLAR DİZİNİ

<u>Tablo</u>	<u>Sayfa</u>
2.1. Diabetes mellitusun etiyolojik sınıflaması	4
2.2. DM tanı kriterleri	5
2.3. GLP-1 ve GIP'in özellikleri	11
2.4. İncretinlerin etkileri ve inkretin eksikliğinin sonuçları	12
2.5. Tip 2 DM'de patofizyolojik özellikler ve GLP-1'in etkileri	14
2.6. Posttransplant diyabet gelişimi için risk faktörleri	16
2.7. Farklı immünsupresiflerin glukoz metabolizması üzerine olan etkileri	17
2.8. İmmünsupresif ilaçların diyabet gelişiminde potansiyel patojenik mekanizmaları	17
3.1. Çalışmaya alınan renal transplant hastalarında altta yatan primer renal hastalıklar	20
4.1. Çalışmaya alınan katılımcıların temel özellikleri	23
4.2. Çalışmaya alınan katılımcıların bazal laboratuvar değerleri	23
4.3. Glukoz ve insülin düzeyleri	24
4.4. GLP-1 ve GIP düzeyleri	26
4.5. Δ GLP-1 ve Δ GIP düzeyleri	28
4.6. Siklosporin ile takrolimus gruplarının glukoz, insülin ve inkretin düzeylerinin EAA'ları	29
4.7. Siklosporin ile kontrol gruplarının glukoz, insülin ve inkretin düzeylerinin EAA'ları	29
4.8. Takrolimus ile kontrol gruplarının glukoz, insülin ve inkretin düzeylerinin EAA'ları	29

1. GİRİŞ ve AMAÇ

İnkretin etki; plazma glukoz düzeylerinde eşit miktarda artışa neden olacak kadar oral ve intravenöz glukoz yükü verildiğinde, oral yoldan verilen glukoz insülin sekresyon yanıtının daha fazla olması olarak tanımlanmaktadır [1]. Barsak ile ilişkili bu etki; inkretin olarak adlandırılan, enteral besin alımından sonra insülin salınımını potansiyalize eden humoral veya nöral faktörlere bağlanmaktadır [2]. Glukagon-like peptid 1 (GLP-1) ve gastrik inhibitör polipeptid (Glucose-dependent Insulinotropic Polypeptide = GIP) inkretin etkiden temel olarak sorumlu olan hormonlardır [3].

İnkretin etkinin eksikliği, rölatif insülin eksikliği ve hiperglisemiye neden olmaktadır [4]. İnkretin etki, tip 2 diabetes mellitus (Tip 2 DM) hastalarında belirgin olarak azalmıştır. Bu durum insülin eksikliğine ve kronik hiperglisemiye önemli bir katkı sağlamaktadır. GLP-1, insülin sekresyonunu arttırmanın yanında glukagon sekresyonunu inhibe ederek, gastrik boşalmayı yavaşlatarak, gıda alımını azaltarak ve muhtemelen insülin duyarlılığını arttırarak anti-diyabetik etki göstermektedir [5-10]. Son yıllarda inkretin bazlı tedaviler diyabet tedavisinde kullanıma sunulmuştur. GLP-1 reseptör agonistleri ve GLP-1'i parçalayan enzim olan DPP-IV (Dipeptidil peptidaz-IV) inhibitörleri tip 2 DM tedavisinde giderek artan sıklıkta kullanılmaya başlanmıştır.

Greft rejeksiyonunu önlemek için kullanılan immünsupresif ilaçların olumlu etkileri yanında yan etkileri de mevcuttur. Tanımlanan yan etkilerden biri de hiperglisemidir. Post-transplant diabetes mellitus, azalmış insülin sekresyonu ve artmış insülin rezistansının kombinasyonu ile ortaya çıkan multifaktöriyel bir hastalıktır ve insidansı %2-50 arasında raporlanmaktadır [11]. Post-transplant diabetes mellitus, kalsinörin inhibitörlerinin ve antirejeksiyon medikasyonların kullanımı ile güçlü bir şekilde ilişkilidir [12]. Kullanılan immünsupresif ilaçlar, beta hücrelerinin sağkalımı ve fonksiyonları üzerine olumsuz etki göstererek post-transplant diabetes mellitusa neden olabilmektedirler [13]. Ek olarak spesifik immünsupresif ilaçların insülin sekresyonu, insülin gen ekspresyonu, beta hücre apoptozu ve beta hücre proliferasyonu üzerine olumsuz etkileri olduğunu gösteren çalışmalar da vardır [14-17]. Yapılan çalışmalar, kalsinörinin insan

adacık β -hücre sağ kalımında regülatör görevi gördüğünü göstermiştir [18]. Bir çalışmada takrolimusa maruz bırakılan insan adacık hücrelerinde, GLP-1 agonisti eksenatidin, immünsupresifler tarafından bozulan glukoz aracılı insülin salınımını düzelttiği gösterilmiştir [13]. Transplantasyon hastalarında kullanılan immünsupresif ilaçlar, inkretinler üzerine yaptıkları olası olumsuz etkiler aracılığı ile post-transplant diabetes mellitus gelişmesine katkıda bulunuyor olabilir.

Literatürde, renal transplant hastalarında kullanılan spesifik immünsupresif ilaçların, inkretinler üzerine olan etkileri ile ilgili herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu çalışmada, renal transplantasyon uygulanan hastalarda kullanılan farklı immünsupresif ilaçların inkretinler üzerine etkilerini karşılaştırmayı amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Diabetes Mellitus

Diabetes mellitus (DM); insülin direnci, insülin eksikliği veya ikisinin sonucu ortaya çıkan, yüksek kan şekeri ile karakterize, heterojen, metabolik bir hastalıktır [19]. DM, hem akut, hem de kronik komplikasyonlarla seyretmektedir [20]. Kronik hiperglisemi; göz, böbrek, kalp ve kan damarları gibi organlarda hasara, disfonksiyona ve yetmezliğe neden olmaktadır [19]. Diyabetin temel klinik göstergesi hiperglisemi olmakla beraber, insülin eksikliği ve insülin direnci, lipid ve protein metabolizmasında anormalliklerle de ilişkilidir. Amerika Birleşik Devletleri'nde, toplumun %8,3'ünün diyabetten etkilendiği ve 25.8 milyon diyabetli olduğu tahmin edilmektedir. Bunların da 7 milyon kadarının hastalıklarından haberdar olmadıkları düşünülmektedir [21]. İnsülin eksikliği ile sonuçlanan beta hücrelerinin otoimmün yıkımından, insülin direnci ile sonuçlanan anormalliklere kadar birçok patojenik süreç diyabetin gelişiminde rol oynamaktadır [22]. Diyabette görülen karbonhidrat, protein ve yağ metabolizmasındaki temel bozukluk, insülinin hedef dokulardaki etkisinin eksik olmasıdır [22]. İnsülin etkisindeki eksiklik, insülin sekresyonundaki eksiklik ve/veya bozulmuş doku yanıtından kaynaklanmaktadır.

2.2. Tanı ve Sınıflama

DM etiyolojik olarak dört ana sınıfa ayrılmaktadır: genellikle mutlak insülin eksikliği ile sonuçlanan beta hücre yıkımının olduğu tip 1 DM, insülin direnci ve rölatif insülin eksikliğinin olduğu tip 2 DM, spesifik diyabet tipleri ve gebelikte ortaya çıkan gestasyonel diabetes mellitus [22]. DM'nin etiyolojik sınıflaması tablo 2.1'de gösterilmiştir [22].

Tablo 2.1. Diabetes mellitusun etiyolojik sınıflaması.

I- Tip 1 DM A- İmmün aracılı B- İdiyopatik
II-Tip 2 DM
III- Diğer spesifik tipler A-Beta hücre fonksiyonunun genetik defektleri 1-MODY 3 (Kromozom 12, HNF 1a) 2- MODY 1(Kromozom 20, HNF 4a) 3- MODY 2 (Kromozom 7, glukokinaz) 4-Diğerleri B- İnsülin etkisindeki genetik defekt 1- Tip A insülin direnci 2- Leprechaunism 3-Rabson-Mendenhall sendromu 4-Lipoatrofik diyabet 5-Diğerleri C- Ekzokrin pankreas hastalıkları 1-Pankreatit 2-Travma/pankreatektomi 3- Neoplazi 4-Kistik fibrozis 5- Diğerleri D- Endokrinopatiler 1-Akromegali 2-Cushing sendromu 3- Glukagonoma 4-Feokromasitoma 5- Diğerleri E- İlaç ve kimyasal maddeler 1-Vacor 2- Pentamidin 3-Nikotinik asit 4- Glukokortikoid 5- Diğerleri F- Enfeksiyonlar 1- Konjenital rubella 2- Sitomegalovirus 3- Diğerleri G- İmmün aracılı diyabetin sık olmayan formları 1- “Stiff-man” sendromu 2- Anti-insülin reseptör antikorları 3- Diğerleri H- Diğer genetik sendromlar 1-Down sendromu 2- Klinefelter sendromu 3- Turner sendromu 4- Wolfram sendromu 5- Diğerleri
IV Gestasyonel DM

DM tanısı koymak için açlık kan şekeri, random kan şekeri, hemogloblin A1 C (HbA1C) ve 75 gr oral glukoz tolerans testi kullanılabilir [22]. DM tanı kriterleri Tablo 2.2’de gösterilmiştir [22].

Tablo 2.2. DM tanı kriterleri.

Açlık plazma glukozu ≥ 126 mg/dl olması (Açlık, en az 8 saat boyunca kalori içeren bir gıda alımı olmaması olarak tanımlanmaktadır)* veya
75 gr glukoz ile yapılan oral glukoz tolerans testinde 2. saat plazma glukoz değerinin ≥ 200 mg/dl olması* veya
HbA1C’nin $\geq 6,5$ ’in üzerinde olması.* (Kullanılan test National Glycohemoglobin Standardization Program tarafından sertifikalı veya “Diabetes Control and Complications Trial” çalışmasındaki referans yöntemlere göre standardize olmalıdır.) veya
Hipergliseminin klasik semptomları veya hiperglisemik kriz varlığında bakılan random plazma glukoz düzeyinin ≥ 200 mg/dl olması

* Belirgin hipergliseminin yokluğunda sonuçlar, tekrarlanan testlerle doğrulanmalıdır.

2.3. Tip 1 DM

İmmün aracılı tip 1 DM (Tip 1A DM) tüm diyabetlerin %5-10’unu oluşturmaktadır [22]. Tip 1A DM, Langerhans hücrelerinde bulunan ve insülin sekrete eden beta hücrelerinin otoimmün destrüksiyonunun sonucu olarak ortaya çıkmaktadır [23]. Bu süreç; genetik yatkınlık temelinde, muhtemelen çeşitli çevresel faktörler tarafından tetiklenmekte ve öglisemik olarak birkaç ay veya yıl boyunca devam etmektedir. Bu nedenle; Tip 1A DM’nin genetik göstergeleri doğumdan itibaren mevcutken, immün belirteçler ise otoimmün süreç başladıktan sonra ve metabolik işaretler yeterli beta hücre hasarı ortaya çıktıktan sonra saptanabilmektedir [24]. Bu uzun sessiz dönem, klinik hipergliseminin ortaya çıkışından önce, çok sayıda beta hücre kaybının gerekli olduğunu göstermektedir. İmmün yıkım belirteçleri; adacık hücre otoantikorları, insülin otoantikorları, glutamik asit dekarboksilaz (GAD) otoantikorlar ve insülinoma-associated protein 2 (IA-2) otoantikorlarıdır ve hastaların %85-90’ında bu antikorların bir veya daha fazlası saptanmaktadır [22]. Hastalığın insan lökosit antijenleri (HLA) (özellikle DQA ve DQB genleri) ile güçlü bir ilişkisi mevcuttur [22].

Bazı tip 1 DM formlarının etiolojisi bilinmemektedir. Bu hastalarda insülinopeni ve ketoasidoza yatkınlık olmakla beraber otoimmüniteye dair bulgular mevcut değildir. Otoimmün olmayan ancak yine de adacık destrüksiyonu ile seyreden bu diyabet, tip 1B DM olarak tanımlanmaktadır [22]. Güçlü herediter özellik gösteren bu diyabet tipinde, beta hücre otoimmünitesinin immünolojik kanıtları yoktur ve HLA ile ilişkisi gösterilememiştir.

2.4. Tip 2 DM

Tip 2 DM tüm diyabetlerin %90-95'ini oluşturmaktadır. Hiperglisemi, insülin direnci ve rölatif bir insülin eksikliği ile karakterizedir. Tip 2 DM tanısı olan hastaların çoğu obezdir ve obezitenin kendisi belli bir oranda insülin direncine yol açmaktadır [22]. Yapılan çalışmalarda, tip 2 DM tanısı alan hastaların almayan hastalara oranla tanı zamanından önceki yıllarda insülin sensitivitesinin azaldığı gösterilmiştir. Bununla beraber beta hücre fonksiyonu (insülin sekresyonu), tanıdan önceki 3-4 yıl boyunca artmakta daha sonra tanı zamanına kadar progresif olarak azalmaktadır [25]. Azalmış insülin sekresyonunun ve insülin direncinin tip 2 DM gelişimi için bağımsız risk faktörleri olduğu gösterilmiştir [26].

Postabsorptif total glukoz kullanımının çoğu insülin bağımsız dokularda kullanılmaktadır. Bazal durumlarda tüm glukoz kullanımının yaklaşık %50'si insülin bağımsız olarak beyinde gerçekleşmektedir [27]. Glukoz kullanımının diğer bir %25'i splanknik (karaciğer ve gastrointestinal dokular) alanda yine insülin bağımsız olarak meydana gelmektedir [28]. Postabsorptif glukoz metabolizmasının geri kalan %25'i, primer olarak kaslarda olmak üzere, insülin bağımlı dokularda kullanılmaktadır [29]. Endojen glukoz yapımının yaklaşık %85'i karaciğer, geri kalanı ise böbrek kaynaklıdır [30]. Bazal hepatik glukoz yapımının yaklaşık yarısı glikojenolizden ve yaklaşık yarısı da glukoneogenezden elde edilmektedir [30]. Glukoz alımını takiben plazma glukoz düzeyi artmakta ve bu durum, beta hücrelerinden insülin salınımını stimüle etmektedir. Sonuç olarak hiperglisemi ve hiperinsülinemi ortaya çıkmaktadır. İnsülin, başta karaciğerde olmak üzere endojen glukoz yapımını inhibe ederken, splanknik ve periferik glukoz kullanımını stimüle etmektedir [28]. Tip 2 DM hastalarının karakteristiği

olan insülin direnci hem karaciğer, hem de kasları tutmaktadır. Bazal durumlarda karaciğer insülin direncinin olduğu temel bölgedir. Açlık hiperglisemisi ve hiperinsülinemiye rağmen, karaciğerde glukoz aşırı yapımı insülin direncinin bir sonucudur. Bu hızlanmış karaciğer glukoz çıkışı tip 2 DM hastalarındaki yüksek açlık plazma glukoz konsantrasyonlarının temel belirleyicisidir [28]. Aynı şekilde postabsorptif dönemde glukozun kas tarafından kullanımı azalmakta ve glukoz klirensi bozulmaktadır [28].

Tip 2 DM hastalarında, beta hücre fonksiyonlarının zamanla progresif olarak bozulduğu bilinmektedir [31]. Tanı zamanında, tip 2 DM hastalarının pankreas adacık hücre fonksiyonları, insülin direncinin derecesinden bağımsız olarak, normalin yaklaşık %50'sidir [32]. Tip 2 DM hastalarında, diyabeti olmayan kontrol grubuna göre, beta hücre kitlesi azalmıştır. Yeni adacık oluşumu ve beta hücre replikasyonu normal veya artmış olmasına rağmen, beta hücre apoptozu artmıştır ve bunun altta yatan asıl mekanizma olduğu düşünülmektedir [33]. Tip 2 DM hastalarında hem insülin eksikliği hem de beta hücre insülin sekresyon defekti söz konusudur [34].

2.5. İncretinler

İncretin etki; plazma glukoz düzeylerinde eşit miktarda artışa neden olacak şekilde oral ve intravenöz glukoz yükü verildiğinde, oral yoldan verilen glukoz insülin sekresyon yanıtının daha fazla olması olarak tanımlanmaktadır [1]. Başka bir tanımlamayla; oral yolla verilen belli bir miktardaki glukozun, intravenöz yolla verilen ve plazma glukoz düzeyinde aynı miktarda artışa neden olan glukoz oranla insülin sekresyonunda oluşturduğu fark incretin etki olarak adlandırılmaktadır [35]. İncretin etki, sağlıklı insanlarda oral glukoz alımından sonra ortaya çıkan insülin yanıtının %50-70'inden sorumludur [36]. Barsak ile ilişkili bu etki; incretin olarak adlandırılan, enteral besin alımından sonra insülin salınımını potansiyalize eden, humoral veya nöral faktörlere bağlanmaktadır [2]. Bir ajanın incretin olarak adlandırılabilmesi için, oral bir besin alımına (özellikle glukoz) yanıt olarak salınmalı ve insülin salınımına neden olacak fizyolojik konsantrasyonlara ulaşmalıdır [35].

GLP-1 ve GIP inkretin etkiden temel olarak sorumlu olan hormonlardır [3]. GIP temel olarak proksimal ince barsaktaki enterokromaffin hücrelerden (K-hücreleri), GLP-1 ise distal ince barsakta ve kolonda bulunan L- hücrelerinden salgılanmaktadır [35]. GIP 42 aminoasitten oluşmaktadır. GIP, 2. pozisyonda GLP-1 ve GIP'i degrade eden DPP-IV için mükemmel bir substrat olan alanin taşımaktadır. GIP (1-42) salındıktan birkaç dakika sonra biyoaktif GIP (3-42)'e parçalanır [37]. Dolaşımdaki immünoreaktif GIP aktif ve inaktif formların karışımını yansıttığından dolayı, GIP için yapılacak deneysel analizlerin aktif GIP (1-42) ile inaktif GIP (3-42)'i ayırabilmelidir [2]. Biyoaktif GLP-1, GLP-1 (1-37)'den üretilir ve eşit potensi olan GLP-1 (7-37) ve GLP-1(7-36) amid olmak üzere iki moleküler formu vardır [2,38]. GLP-1 (7-36) amid, insan plazmasındaki major aktif GLP-1 formudur [39]. Her iki aktif GLP-1 formu 2. pozisyonda alanin içerir ve DPP-IV tarafından hemen GLP-1(9-36) amid veya GLP-1 (9-37)'ye degrade olur [2,35]. DPP-IV tüm vücut hücrelerinde ve sıvılarında her zaman bulunan, GLP-1 ve GIP dahil olmak üzere bir çok substratı olan bir serin proteazdır [35]. Hem GLP-1, hem de GIP, DPP-IV ile degradasyona ek olarak, böbrekler tarafından dolaşımdan hızla temizlenir [2].

İnsan GLP-1 reseptörü (GLP-1R), 463 aminoasitlik heptahelikal G protein-coupled bir resptördür. Pankreas adacıklarında, böbrekte, akciğerlerde, kalpte, periferik ve santral sinir sisteminde yaygın olarak bulunmaktadır [2,38]. Adacıklarda GLP-1R, predominant olarak beta hücreleri üzerinde bulunmakla beraber alfa ve delta hücreleri üzerinde de GLP-1R ekspresyonu gösterilmiştir [2]. GIP reseptörünün 466 ve 493 aminoasitlik iki izoformu vardır. Beta hücrelerinde, yağ dokusunda, kalp ve beyinde ekspresse olmaktadır [2,38].

Hem GLP-1, hem de GIP adacık beta hücreleri üzerindeki reseptörleri aracılığı ile glukoz bağımlı insülin sekresyonunu stimüle etmektedir [2,40]. Aynı zamanda insülin biyosentezini ve insülin gen transkripsiyonunu arttırmaktadırlar [40]. GLP-1 ve GIP'in neden sadece yüksek glukoz düzeylerinde insülin salınımını stimüle ettiği net olarak bilinmemektedir [2]. GLP-1 aynı zamanda, adacık alfa hücrelerinden glukagon sekresyonunu azaltarak da glukozu düşürmektedir. Glukagon sekresyonunun inhibisyonu alfa hücreleri üzerinde ekspresse olan GLP-1R üzerinden direkt veya insülin ve somatostatin sekresyonu

üzerinden indirekt yolla olabilir [2]. GLP-1R bağımlı glukagon sekresyonu supresyonu glukoz bağımlı olarak gerçekleşmektedir. Glukoz düzeyi normal veya hipoglisemik düzeylere inince glukagon salınımı üzerindeki inhibisyon kalkmakta ve böylelikle hipoglisemi riski azalmaktadır [6,41]. İncretinler, beta hücre proliferasyonunu arttırmakta, adacık neogenezi indüklemekte ve beta hücre apoptozunu inhibe etmektedirler [42,43]. Böylelikle de beta hücre kütesini arttırmaktadırlar [44]. GLP-1 aynı zamanda, ekzokrin duktal hücrelerden veya inmatür adacık progenitörlerinden, daha diferansiye beta hücre fenotipine diferansiyasyonu arttırmaktadır [42].

GLP-1 ve GIP reseptörleri midede de bulunmakta ve GLP-1 gastrik boşalmayı yavaşlatmaktadır [2]. Bu etki postprandiyal hiperglisemiyi azaltmaktadır. GLP-1 ile ilişkili gastrik boşalma azalması hem santral hem de periferik sinir sistemi ile bağlantılı olarak gerçekleşmektedir. Gastrik sekresyon ve motilitenin GLP-1 aracılı kontrolünde vagal innervasyon önemli bir rol oynuyor gibi görünmektedir. Vagal afferent denervasyonu ratlarda GLP-1'in gastrik boşalma üzerine olan etkileri ortadan kaldırmaktadır [45]. Pilorik sfinkterdeki GLP-1R'nin uyarılması gastrik boşalmayı geciktirmekte ve postprandiyal hiperglisemiyi azaltmaktadır [46]. Gastrik boşalmanın gecikmesi, mide distansiyonunu ve periferik doyma sinyallerini etkilemektedir.

GLP-1 ve GIP, yağ dokusunda yağ asidi sentezini arttırmakta ve bu etkileri insülin varlığında daha da belirgin olmaktadır [47]. Paradoks olarak GLP-1'in lipolizi arttırdığı da raporlanmakla beraber, GLP-1 tarafından insülin salınımı ve serbest yağ asidi salınımının inhibisyonu muhtemelen yağ dokusu üzerindeki dominant etkidir [48]. GIP bağımsız olarak adipoz dokuda lipogenezi uyarmaktadır [47].

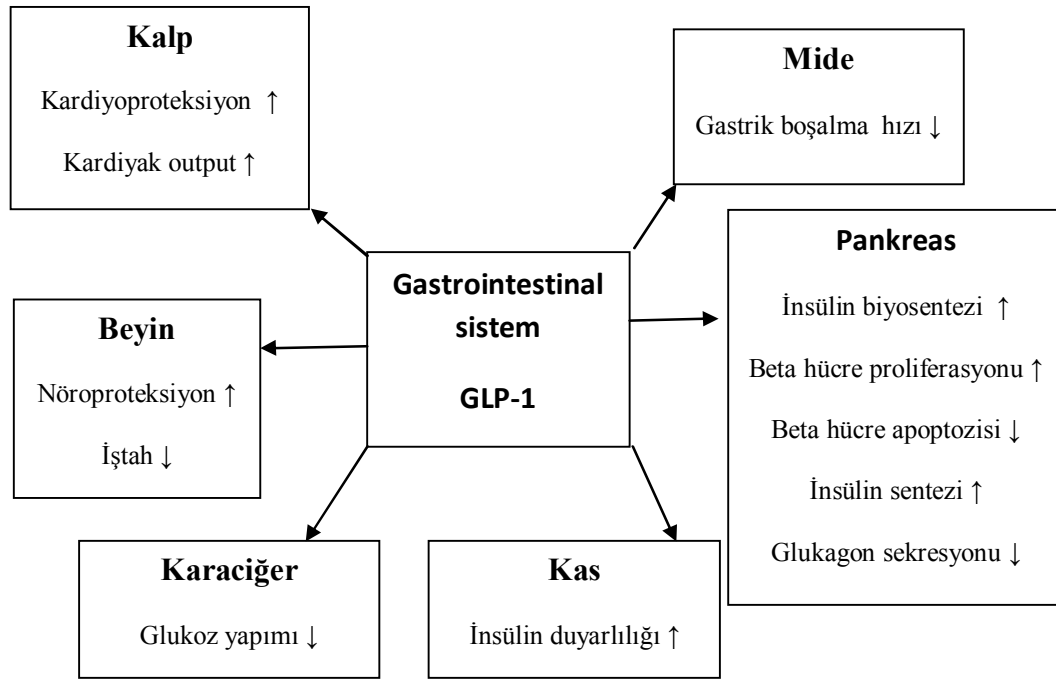
Hem intraserebroventriküler hem de periferik olarak verilen GLP-1 agonistleri gıda alımını azaltmaktadır [49,50]. GLP-1 sentezi santral sinir sisteminde sadece nükleus tractus solitarius ve medüller retiküler sistem nöronlarında gösterilmiştir [51]. Bununla beraber, GLP-1 peptiderjik sinir liflerinde nörotransmitter olarak beyinde yaygın olarak bulunmaktadır. Özellikle gıda alımı ve iştah ile sıkı ilişkili olan hipotalamik bölgelerde en yüksek konsantrasyonlarda bulunmaktadır. GLP-1 reseptörleri; hipotalamus, hipofiz ve 4.

ventrikül tabanında yüksek konsantrasyonlarda bulunmaktadır. Buralar, kan-beyin bariyerinin olmadığı ve dolaşımdaki periferik GLP-1'e ulaşılacak yerlerdir. Kan-beyin bariyerinin olmadığı bu yerlerin gıda alımı ve enerji harcamasını kontrol eden merkezlerle ilişkili olmasından dolayı, periferik GLP-1'in yemek yeme ve enerji harcanması üzerine önemli santral etkileri olabilir [52]. GLP-1 en azından bu mekanizma ile tokluk hissine aracılık edebilir. Beyinde GIP reseptör ekspresyonunun da olduğu gösterilmiştir ve sağlıklı insanlara GIP verilmesi, GLP-1'in aksine, gıda alımını arttırmakta ve enerji harcanmasını azaltmaktadır [51].

GLP-1 reseptörleri; akciğer membranlarında, trakea mukus bezlerinde ve pulmoner arter vasküler düz kaslarında mevcuttur [38]. Bunun önemi ile ilgili çok az bilgi vardır. GLP-1'in akciğerdeki etkilerinin dolaşımdaki GLP-1'in endokrin etkisinden çok peptiderjik sinir sistem uyarısının bir sonucu olduğu düşünülmektedir [35].

GLP-1 reseptörleri kalpte de bulunmaktadır. GLP-1 agonistleri ratlarda ve micelerde kalp hızını ve kan basıncını arttırmaktadırlar [53]. GLP-1 deneysel modellerde miyokardial fonksiyon ve kardiyak outputu düzeltmektedir. GLP-1 köpeklerde kardiyak outputu arttırmakta, sol ventrikül end diastolik basıncı azaltmaktadır [54]. GLP-1, hayvan modellerinde infarkt alanını azaltmaktadır [55].

GLP-1 ve GIP reseptörleri osteoblastlar üzerinde bulunurken osteoklastlar üzerinde sadece GIP reseptörleri bulunmaktadır [56]. İntravenöz GLP-1 verilmesi osteoklastik fonksiyonların plazma markerlarını azaltmaktadır. GIP invitro koşullarda anabolik etkilerde bulunmaktadır [57]. Şekil 2.1 GLP-1'in glukoz metabolizmasındaki rolünü ve periferik etkilerini göstermektedir [2].



Şekil 2.1. GLP-1’in glukoz metabolizması ve periferik dokular üzerine etkileri.

GLP-1 ve GIP’in bazı özellikleri Tablo 2.3’de gösterilmektedir [35].

Tablo 2.3. GLP-1 ve GIP’in özellikleri.

	GLP-1	GIP
Yapı/moleküler ağırlık	42 AA	31/32 AA
Salgılandıkları hücre	K hücreleri / Proksimal barsak	L hücreleri / Distal barsak / Kolon
Degradasyon	DPP-IV	DPP-IV
İnsülin sekresyonu	Arttırır	Arttırır
Gastrik boşalma	Tartışmalı	Azaltır
Beta hücre proliferasyonu	Stimüle eder	Stimüle eder
Glukagon sekresyonu	Değiştirmez/Arttırır	Azaltır
Gıda alımı	Arttırır	Azaltır
İnsülin sensitivitesi	Değiştirmez	Muhtemelen düzeltir
Tip 2 DM’de sekresyonları	Azalırlar	Azalırlar
İnsülin sekresyonu	Arttırır	Arttırır

GLP-1 reseptör antagonisti exendin (9-39), GLP-1 reseptörüne bağlanmakta olup endojen GLP-1'in fizyolojik rollerini göstermek amacı ile kullanılmaktadır. Exendin (9-39) açlık ve tokluk glisemilerini arttırmakta ve yemekle stimüle edilen insülin düzeylerini azaltmaktadır [58]. Exendin (9-39), plazma glukagon düzeylerini normal veya yüksek glukoz seviyelerinde arttırmaktadır. Bu da endojen GLP-1 sekresyonunun, glukagon sekresyonunun tonik bir inhibitörü olarak önemini göstermektedir [59]. Exendin (9-39) gastrik boşalmayı da hızlandırmaktadır [45].

GIP'in glukoz dengesindeki önemine yönelik, sıçanlarda ve farelerde, GIP antagonistleri veya GIP reseptörlerine karşı antiserumlarla yapılmış çalışmalar vardır. Bu çalışmalar, GIP'in özellikle postprandiyal glukoz klirensinin kontrolünde önemli olduğunu göstermiştir. GLP-1 ile yapılan çalışmaların aksine endojen GIP, açlık glukozu kontrolünde önemli gibi görünmemektedir [60-62]. Tablo 2.4'de inkretinlerin etkileri ve inkretin eksikliğinin sonuçları gösterilmiştir [35].

Tablo 2.4. İnkretinlerin etkileri ve inkretin eksikliğinin sonuçları.

İnkretin etkileri	İnkretin eksikliği
Azalmış gıda alımı	Kilo alımı
Artmış glukoz aracılı insülin salımı	Postprandiyal hiperglisemi
Glukoz aracılı glukagon salgısının supresyonunda artma	Glukagona bağlı artmış postprandiyal hiperglisemi
Artmış beta hücre neogenezi ve proliferasyonu	Beta hücre kaybında artış
Gastrik boşalmada gecikme	Kilo alımı

Geleneksel olarak insülin direnci ve beta hücre yetmezliği, tip 2 DM patofizyolojisindeki temel defektlerdir. Normal sağlıklı insanlarda, postprandiyal dönemde insülin ve açlıkta glukagon, dolaşımdaki glukozun sunumu ve kullanımı arasındaki dengenin sağlanmasında anahtar rol oynamaktadır [63,64]. İnsülin ve glukagondaki anormallik, tip 2 DM'deki bozulmuş glukoz metabolizmasını açıklamaktadır. Tip 2 DM hastalarında hepatik glukoz yapımı, yüksek insülin konsantrasyonuna rağmen, uygunsuz olarak artmıştır ve bu hepatik insülin direncini göstermektedir. Endojen insülinin, periferik dokularda glukoz alımını arttırıcı etkisi belirgin olarak azalmıştır ve bu azalma periferik insülin direncini

göstermektedir [65]. Tip 2 DM'nin gelişiminde, insülin direnci erken dönemden itibaren devamlı olarak stabil kalmakta, beta hücreleri başlangıçta kompanse edebilir. Hiperinsülinemi ile normal glukoz konsantrasyonlarını devam ettirebilmektedirler. Klinik tip 2 DM, beta hücre sayısı düştüğü veya disfonksiyonel olmaya başladığı ve normoglisemiye devam ettirmek için gerekli olan hiperinsülinemiye devam ettirmediği zaman ortaya çıkmaktadır [66]. Tip 2 DM'nin erken dönemlerinde kompanse edebilir hiperinsülinemi, insülin direncini yenmekte ve öglisemiye devam ettirmekte başarılı olmaktadır. İncretin etkideki yetmezlik rölatif bir insülinopeniye ve hiperglisemiye yol açmaktadır. Çeşitli araştırmacılar tip 2 DM'de azalmış bir incretin etkinin olduğunu göstermişlerdir [4,67]. Tip 2 DM'de GLP-1 sekresyonu üzerine yapılan ilk çalışmalar, kan konsantrasyonlarının arttığını bildirmekle beraber; son zamanlarda metabolik faktörleri daha iyi kontrol eden ve çok spesifik analitik yöntemlerle yapılan çalışmalar, GLP-1'in belirgin derecede düşük olduğunu desteklemektedir [68]. Tip 2 DM hastalarında incretin etki azalmıştır ve oral glukoz verilen insülin yanıtına katkısı sadece %20-35'dir [36,69].

Çoğu tip 2 DM hastası fazla kiloludur ve biguanidler hariç tip 2 DM tedavisinde kullanılan ilaçların çoğu kilo kaybına neden olmamaktadır. Tedavi ile ilişkili kilo alımı tedavilerin etkinliğini düşürmekte ve uzun vadede sonuçların kötüleşmesine neden olmaktadır.

The UK Prospective Diabetes Study Group (UKPDS) çalışması, yeni tanı tip 2 DM hastalarının, beta hücre fonksiyonlarının sadece %50'sine sahip olduğunu ve bu oranın hastalığın ilerlemesi ile daha da azaldığını göstermiştir [70]. Beta hücre disfonksiyonunun erken göstergelerinden biri olan bozulmuş glukoz toleransında birinci faz insülin sekresyonu kaybolmuştur. Bu kayıp, erken prandiyal hepatik glukoz yapımının süpresyonunu bozmakta ve postprandiyal hiperglisemiye artırmaktadır. Beta hücre fonksiyonlarındaki azalmanın düzeltilmesi, diyabetin progresif özelliğinin değiştirilmesi için hedef olmalıdır. Beta hücre fonksiyonlarındaki progresif azalma, glukotoksositeye yol açan hiperglisemiye ve lipotoksositeye yol açan dolaşımdaki non-esterifiye yağ asitlerine bağlanmaktadır [71,72].

Tip 2 DM hastalarında gastrik boşalma hızlanmış olabilir ve bu postprandiyal glukoz artışının anahtar belirleyicilerinden olabilir [73]. İncretin mimetik ajanlar gastrik boşalma hızını modifiye edebilir.

Tip 2 DM’de artmış olan glukagon sekresyonu, karbonhidrattan zengin bir besinden sonra süprese olmamaktadır ve bu durum diyabetin erken dönemlerinden itibaren görülmektedir [74]. Hiperglukagonemi, postprandiyal hepatik glukoz yapımının süprese edilememesine katkıda bulunmaktadır. Günümüz tedavilerin çoğu, hiperglukagonemi üzerine etkili değildir ve glukagon süpresyonunu hedefleyen tedaviler, glisemik kontrolü düzeltmek için bir alternatif olabilir. Tablo 2.5’de tip 2 DM’deki patofizyolojik özellikler ve GLP-1’in etkileri karşılaştırılmıştır [35].

Tablo 2.5. Tip 2 DM’de patofizyolojik özellikler ve GLP-1’in etkileri.

	Tip 2 DM	GLP-1
İnsülin sekresyonu	Azalır	Arttırır
İnsülin sentezi	Azalır	Arttırır
Glukagon sekresyonu	Artar	Azaltır
İnsülin duyarlılığı	Azalır	Arttırır
Gastrik boşalma	Hızlanır	Yavaşlar
İştah	Artar	Azalır
Beta hücre kitlesi	Azalır	Artar

Günümüzde inkretin bazlı tedaviler, GLP-1 reseptörünün biyolojik etkinliğini artırmak üzerine temellendirilmiştir. İncretin etkiyi artırmak amacı ile iki farklı yaklaşım tedavi amacı ile kullanılabilmektedir. Bu tedavi yaklaşımları; ekzojen olarak inkretinlerin (GLP-1 analogları) verilmesi veya DPP-IV inhibitörleri ile endojen inkretinlerin artırılmasıdır.

2.6. Posttransplant Diabetes Mellitus

Böbrek transplantasyonu en sık yapılan solid organ transplantasyonudur. Amerika Birleşik Devletleri’nde 2008 yılında böbrek nakli yapılan hasta sayısı 16.517, organ nakli için bekleyen hasta sayısı ise 76.809’dur. Böbrek transplantasyon sonuçları, pretransplant komorbid durumlar ve posttransplant

komplasyonlarla iliskilidir [75]. Erken posttransplant donemdeki DM, greft rejeksiyon riskini arttirmakta, hasta sag kalimini ve hayat kalitesini etkilemektedir [76].

Post-transplant diabetes mellitus insidansi, %2-50 arasinda degisen oranlarda raporlanmaktadır [11]. Calisma dizayni, calisma populasyonu ve diyabet taramasinin yapildiği zaman intervallerindeki farklılıklar bu degışken insidans oranlarına neden olmaktadır. Örneğın 1. yılda renal transplant alıcılarında %20-50, karaciğer transplant alıcılarında %9-30 ve kalp transplant alıcılarında %28-30 gibi oranlar raporlanmıştır [77-79]. Posttransplant 1. yılda %34'e ve 3. yılda %50'ye varan oranlar bildirilmiştir [76]. Posttransplant diyabet; artmış kardiyovasküler morbidite, greft yetmezliğı ve tüm nedenlere bağı mortalite ile iliskilidir [12,77]. Posttransplant donemde diyabetin erken tanınması ve tedavisi, greft ve hasta sonuçlarını düzeltebileceğinden dolayı önemlidir [75].

Posttransplant diyabet; ilk defa transplantasyondan sonra gelişen diyabet olarak tanımlanmaktadır [80]. Posttransplant diyabetin tanısında ADA tarafından tanımlanmış olan diyabet tanı kriterlerinin kullanılması önerilmektedir [12,22,81]. Posttransplant donemde; ilk ay haftalık, sonraki 1 yıl için 3 ayda bir ve daha sonra yıllık olarak açlık glukozunun monitorizasyonu önerilmektedir [12,80,81].

Posttransplant diyabet riskini arttıran çeşitli risk faktörleri tanımlanmıştır. Bu risk faktörleri Tablo 2.6'da gösterilmiştir [75,82]. Kullanılan immünsupresif ilaçlar, posttransplant diyabet gelişimi için, modifiye edilebilecek en önemli risk faktörlerinden biridir [11]. Steroid içeren rejimlerin steroid içermeyen rejimlere oranla daha diyabetojenik olduklarına inanılmakla beraber; çalışmalar, iki rejim arasında eşit oranda posttransplant diyabet geliştiğini ve steroid içermeyen rejimlerde daha fazla greft rejeksiyon oranları olduğunu göstermiştir [11,83-85]. Kortikosteroidlerin diyabet gelişimi üzerine etkileri doz bağımlıdır [86]. Kortikosteroidlerin glukoz metabolizması üzerine olan etkileri, günlük 5 mg prednizolon veya eşdeğerinden daha yüksek dozlarda ortaya çıkmaktadır [83]. Steroidlerin diyabetojenik etkilerinin altında, insülin sinyali down-regülasyonu nedeni ile ortaya çıkan azalmış insülin sensitivitesi ve beta hücreleri fonksiyonları üzerine olan direk supresif etkileri yatmaktadır. Bunların sonucunda kaslar tarafından glukoz alımı azalmakta, karaciğerde glukoneogenez hızlanmakta ve

lipoliz artmaktadır [87,88]. Glukokortikoidler, aynı zamanda insülin sekresyonunu azaltmakta ve glukagon sekresyonunu arttırmaktadırlar [89].

Tablo 2.6. Posttransplant diyabet gelişimi için risk faktörleri.

45 yaş üstü
Beyazlar dışındaki etnik gruplar
Fazla kilo/ obezite (Vücut kütle indeksi $\geq 25\text{kg/m}^2$)
Ailede diyabet öyküsü
Fiziksel inaktivasyon
Hipertansiyon
Hiperlipidemi
Bozulmuş açlık glukozu (AKŞ 100-125 mg/dl)
Sitomegalovirus enfeksiyonu
Hepatit C enfeksiyonu
İmmünsüpresif ajanlar Glukokortikoid Takrolimus Siklosporin

Kalsinörin inhibitörleri, özellikle beta hücre fonksiyonlarını geçici olarak bozmaları nedeni ile, glukoz metabolizmasında bozulmayla ilişkilidirler [90,91]. Takrolimus ve siklosporin, hem bazal hem de glukoz ile uyarılmış insülin sekresyonunu azaltmaktadırlar [92]. Bu ajanlar aynı zamanda; beta hücre büyümesini kontrol eden, mitokondri sayı ve fonksiyonunu değiştiren transkripsiyon faktörleri ile etkileşmektedirler [93,94]. Takrolimus, insülin gen ekspresyonunu inhibe etmekte ve direkt beta hücre toksisitesine yol açmaktadır. İn vitro çalışmalar siklosporinin beta hücre apoptozisine neden olduğunu göstermiştir [95]. Yapılan çalışmalar, kalsinörinin insan adacık β -hücre sağ kalımında regülatör görevi gördüğünü göstermiştir [18]. Siklosporin tedavisi alanlarda almayanlara göre posttransplant diyabet gelişme riski 3 kat daha fazladır [96]. Posttransplant diyabet gelişimi, iki kalsinörin inhibitöründen takrolimusta siklosporine göre 2-5 kat daha fazladır [97]. Hepatit C enfeksiyonu, takrolimusun diyabet yapıcı etkisini arttırmaktadır [98]. Diğer immünsüpresif ilaçlardan DNA sentez inhibitörleri mikofenolat mofetil, mikofenolik asit ve azatioprinin posttransplant diyabet gelişim riskini arttırmamaktadır [80,99]. mTOR

(mammalian target of rapamycin) inhibitörleri sirolimus ve everolimusun, glukoz metabolizması üzerine etkileri tartışmalıdır [80,99]. Sirolimusun posttransplant diyabet gelişim riskini arttırdığına dair yayınlar vardır [100]. Altta yatan mekanizmaların insülin aracılı glikojenoliz baskılanmasının bozulması, hipertrigliseridemi aracılı insülin direnci ve adacık hücre toksitesi olduğu düşünülmektedir [100]. Tablo 2.7’de farklı immünsupresiflerin glukoz metabolizması üzerine olan etkileri gösterilmiştir [75]. Tablo 2.8’de, immünsupresif ilaçların diyabet gelişimi için potansiyel patojenik mekanizmaları gösterilmiştir [101].

Tablo 2.7. Farklı immünsupresiflerin glukoz metabolizması üzerine olan etkileri.

İmmünsupresif ilaç	Glukoz
Glukokortikoid	↑↑
Siklosporin A	↑
Takrolimus	↑↑
Mikofenolat mofetil	↔
Sirolimus/Everolimus	↑ veya ↔
Azatioprin	?

↑- artırır, ↔-değiştirmez, ?-bilinmiyor

Tablo 2.8. İmmünsupresif ilaçların diyabet gelişiminde potansiyel patojenik mekanizmaları.

İmmünsupresif ilaçlar	Potansiyel patojenik mekanizma
Glukokortikoidler	Azalmış periferik insülin sensitivitesi İnsülin sentezinin ve sekresyonunun inhibisyonu Hepatik glukoneogenezde artma Artmış lipoliz
Siklosporin	Azalmış insülin sekresyonu Azalmış insülin sentezi Azalmış beta hücre yoğunluğu
Takrolimus	Azalmış insülin sekresyonu Azalmış insülin sentezi
Sirolimus	Artmış periferik insülin direnci Bozulmuş pankreas beta hücre yanıtı

Siklosporin ve takrolimus, insülin sekresyonunu azaltmakta ve beta hücre apoptozisini arttırmaktadırlar. Kalsinörin insan adacık β -hücre sağ kalımında regülatör görevi gördüğü gösterilmiştir. Yine bir çalışmada takrolimusa maruz bırakılan insan adacık hücrelerinde, GLP-1 agonisti eksenatidin, immüsupresifler tarafından bozulan glukoz aracılı insülin salınımını düzelttiği gösterilmiştir [13]. Bu bulgular, özellikle kalsinörin inhibitörleri olmak üzere bazı immüsupresif ilaçların, inkretin sistem üzerine bazı etkileri olabileceğini ve transplantasyon hastalarında kullanılan immüsupresif ilaçların, inkretinler üzerine yaptıkları olası negatif etkiler aracılığı ile post-transplant diabetes mellitus gelişmesine katkıda bulunuyor olabileceğini düşündürmektedir. Kalsinörin inhibitörleri takrolimusu ve siklosporini alan hastalarda, posttransplant diyabet takrolimus kullananlarda daha fazla ortaya çıkmaktadır. Bu fark, iki ilacın inkretinler üzerine olan olası farklı etkilerinin bir sonucu olabilir. Bu çalışmada, renal transplantasyon uygulanan hastalarda kullanılan immüsupresif ilaçların inkretinler üzerine etkilerini karşılaştırmayı amaçladık.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmaya Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Organ Nakli Merkezi'nde renal transplantasyon yapılmış ve burada düzenli takip edilen hastalar ile kontrol grubu olarak herhangi bir hastalığı olmayan sağlıklı bireyler alındı. Çalışma için Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu'ndan onay alındı (Tarih: 13.02.2012 Sayı: B.30.2.AKD.0.20.05.05/33).

3.1. Hastalar

Çalışmaya, bilinen diyabet öyküsü olmayan 15'er kişiden oluşan 3 grup halinde, toplam 45 erkek hasta alındı ve oluşturulan gruplar birbirleri ile karşılaştırıldı. Oluşturulan grupların özellikleri şu şekilde idi:

1. Siklosporin grubu (SG): Renal transplantasyon uygulanmış olan ve siklosporin kullanan grup.
2. Takrolimus grubu (TG): Renal transplantasyon uygulanmış olan ve takrolimus kullanan grup.
3. Kontrol grubu (KG): Normal sağlıklı kontrol grubu.

Çalışmaya alınma kriterleri şunlardı:

- a) Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Organ Nakli Merkezi'nde renal transplantasyon yapılmış, burada düzenli takip edilen, nakil sonrası takrolimus veya siklosporin tedavisi alan hastalar
- b) 18 yaş üstü
- c) Kontrol grubu olarak sağlıklı gönüllüler

Çalışmadan dışlanma kriterleri şunlardı:

- a) 18 yaş altı olanlar
- b) Diabetes mellitus hastalığı olanlar
- c) GIS cerrahisi geçirmiş olanlar
- d) Karaciğer fonksiyon testlerinde 2 kattan fazla artış olanlar
- e) Kreatinin düzeyi 1,5 mg/dl'den yüksek olanlar
- f) Hepatit C virüs enfeksiyonu olanlar

Çalışmaya alınan renal transplant hastalarının, karbonhidrat metabolizmasını etkileyen herhangi bir hastalığı mevcut değildi. Çalışmaya alınan renal transplant hastalarının, altta yatan primer renal hastalıkları ve bunların gruplara göre frekansları Tablo 3.1’de verilmiştir.

Tablo 3.1. Çalışmaya alınan renal transplant hastalarında altta yatan primer renal hastalıklar.

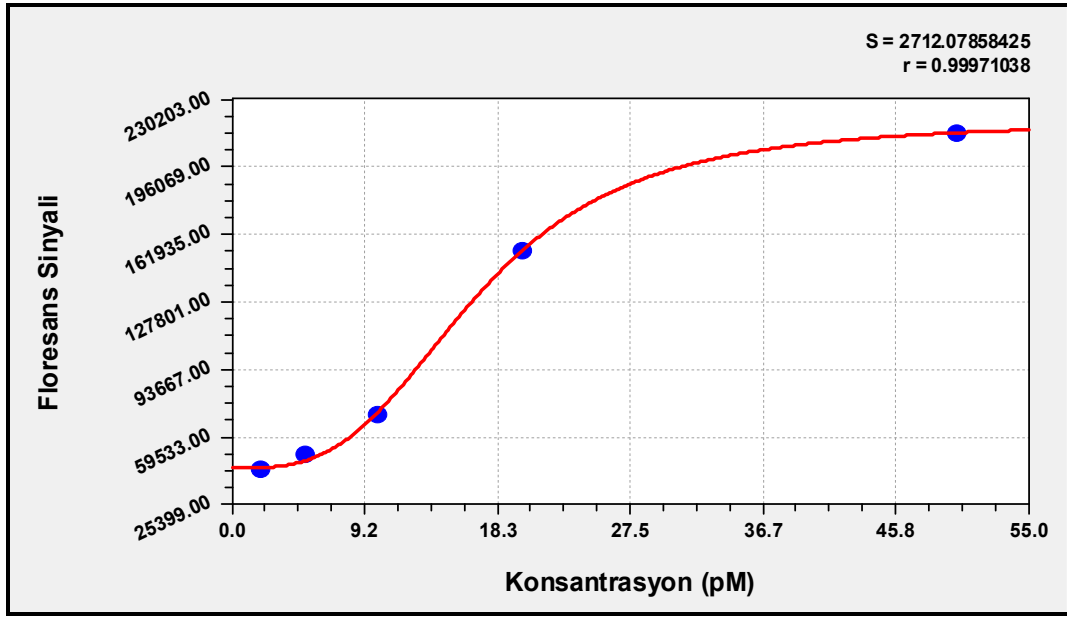
Primer renal hastalık	Siklosporin grubu (n=15)	Takrolimus grubu (n=15)
Bilinmeyen	7 (%46,7)	3 (%20)
Hipertansiyon	3 (%20)	4 (%26,7)
Kronik glomerülonefrit	4 (%26,7)	3 (%20)
Vezikoureteral reflü	1 (6,7)	1 (%6,7)
Atrofik böbrek	-	1 (%6,7)
Nefrolitiazis	-	3 (%20)

3.2. Laboratuvar Ölçümleri

Değerlendirmeler, hastaların onamları alındıktan sonra, 12 saat açlığı takiben yapıldı. Hastaların ayrıntılı anamnez ve fizik muayeneleri yapıldı. Antropometrik ölçümleri yapıldıktan sonra bazal laboratuvar ölçümleri için kan örnekleri alındı. Kan örnekleri antekübital vene yerleştirilen kanül aracılığı ile alındı. Bazal olarak glukoz, kreatinin, ALT, total kolesterol, LDL kolesterol, HDL kolesterol, trigliserid, hemoglobin A1C, insülin çalışıldı. Daha sonra 75 gr glukoz ile oral glukoz tolerans testi yapıldı. 75 gr glukoz, 300 ml su ile karıştırıldı ve oluşan glukoz solüsyonu 5 dakika içinde içirildi. 0., 30., 60., 90. ve 120. dakikalarda glukoz, insülin, GLP-1 (7-36) ve total GIP ölçümleri için venöz kan örnekleri alındı. GLP-1 ve GIP ölçümleri için kan örnekleri; GLP-1 ve GIP'in degradasyonunu önleyen DPP-IV, esteraz ve diğer proteaz inhibitörlerini içeren özel bir içeriğe sahip BD marka (BD™ P800) özel tüplere alındı ve +4°C’de 3000 devirde 10 dakika santrifüj edildi [102,103]. Daha sonra plazma örnekleri ayrılıp çalışıldıkları zamana kadar -80°C’de saklandı.

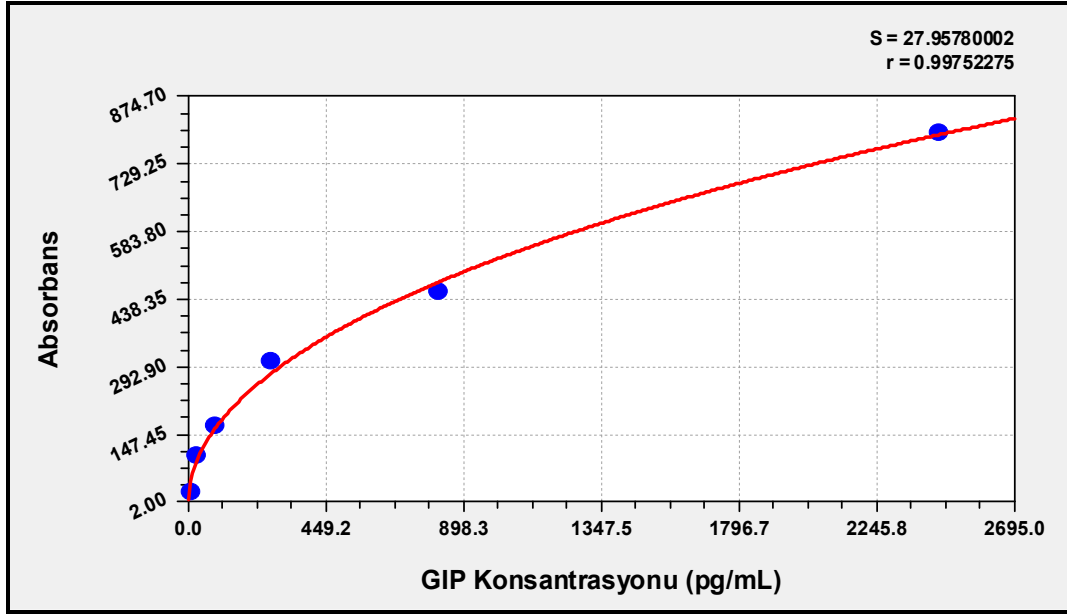
GLP-1 ve GIP ölçümleri aşağıdaki şekilde yapıldı:

GLP-1 (Active) düzeyi ölçümü: Plazma örneklerinde Millipore marka kit (EMD Millipore, 6 Research Park Drive, St. Charles, Missouri, USA) kullanılarak ELISA yöntemi ile çalışıldı. Kite ait (Cat.#EGLP-35K) intra-assay CV: %6 (kontrol değeri: 12 pM) ve %9 (kontrol değeri: 76 pM), inter-assay CV: %7 (kontrol değeri: 12pM) ve %<1 (kontrol değeri: 76 pM) idi. Minimum ölçümü yapılabilen GLP-1 düzeyi 2 pM idi. Kit kullanılacağı zamana kadar -20°C’de saklandı. Grafik 3.1’de GLP-1 ELISA standart grafiği gösterilmiştir.



Grafik 3.1. GLP-1 ELISA standart grafiği.

Total GIP düzeyi ölçümü: Plazma örneklerinde Millipore marka kit (EMD Millipore, 6 Research Park Drive, St. Charles, Missouri, USA) kullanılarak ELISA yöntemi ile çalışıldı. Kite ait (Cat.#EZHGIP-54K) intra-assay CV: %7.3 (kontrol değeri: 21 pg/mL) ve %8.8 (kontrol değeri: 185 pg/mL), inter-assay CV: %6.1 (kontrol değeri: 26 pg/mL) ve %1.8 (kontrol değeri: 166 pg/mL) idi. Minimum ölçümü yapılabilen GIP düzeyi 4.2 pg/mL idi. Kit kullanılacağı zamana kadar 2-8°C’de saklandı. Grafik 3.2’de GIP ELISA standart grafiği gösterilmiştir.



Grafik 3.2. GIP ELISA standart grafiği.

Hastaların tahmini glomerül filtrasyon hızı (eGFR) ve HOMA-IR (The Homeostasis Model Assessment-insulin resistance) skoru hesaplandı. eGFR, CKD-EPI (Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration) formülü kullanılarak elektronik olarak hesaplandı. HOMA-IR skoru İnsülin ($\mu\text{U/ml}$) x Glukoz (mg/dl) / 405 formülü ile hesaplandı [104].

3.3. İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analizler SPSS version 21 programı ile yapıldı. Sürekli değişkenler aksi belirtilmedikçe ortalama $\pm$ standart sapma şeklinde gösterildi. Normal dağılım göstermeyen parametrelerin median (minimum-maksimum) değerleri verildi. Kategorik değişkenler ise frekans ve yüzde ile ifade edildi. Verilerin normal dağılıp dağılmadığı tek örneklem Kolmogorov-Smirnov testi ile değerlendirildi. Sürekli değişkenlerin analizi için Mann-Whitney U testi kullanıldı. Üç grup arasındaki karşılaştırmalarda Kruskal Wallis testinden yararlanıldı. ROC analizi ile eğri altındaki alanlar hesaplandı. İstatistiksel analizler yapılırken sonuçlar %95 güven aralığında, p değeri $<0,05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

Gruplar arasında yaş ve VKİ yönünden fark saptanmadı. SG ve TG grupları arasında hastaların kullandığı steroid dozu ve transplantasyonun üzerinden geçen süre arasında fark yoktu. SG’de ortalama siklosporin dozu 176,67±51,29 mg/ gün ve TG’de ortalama takrolimus dozu 2,26±0,84 mg/gün idi. Hem SG, hem de TG’deki tüm hastalar mikofenolat mofetil almaktaydılar. Tablo 4.1’de çalışmaya alınan katılımcıların özellikleri verilmiştir.

Tablo 4.1. Çalışmaya alınan katılımcıların temel özellikleri.

	Siklosporin grubu (n=15)	Takrolimus grubu (n=15)	Kontrol grubu (n=15)	p
Yaş	33,07±9,11	33,47±7,97	33,33±8,16	0,95
VKİ (kg/m ²)	25,40±3,97	25,96±4,72	25,11±3,91	0,96
Steroid dozu (prenisolon) (mg/gün)*	5 (5-10)	5 (5-7,5)	-	0,825
Transplantasyon süresi (ay)	26,87±18,8	27,27±18,46	-	0,95

*Değerler median (minimum-maksimum) olarak verilmiştir.

Çalışmaya alınan hastaların bazal laboratuvar değerleri değerlendirildiğinde her üç grup arasında kreatinin ve eGFR düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptandı (sırası ile p<0,001 ve p<0,001) (Tablo 4.2). Tablo 4.2’de bazal laboratuvar değerleri verilmiştir.

Tablo 4.2. Çalışmaya alınan katılımcıların bazal laboratuvar değerleri.

	Siklosporin grubu (n=15)	Takrolimus grubu (n=15)	Kontrol grubu (n=15)	P
Cr (mg/dl)	1,22±0,17	1,06±0,14	0,92±0,10	<0,001 ^a
Egfr (mg/dk/1,73m ²)	78,75±15,11	92,5±15,09	105,93±12,38	<0,001 ^b
ALT(IU/l)	20,1±13,1	24,9±15,9	28,7±15,3	0,136
HbA1C (%)	5,30±0,36	5,46±0,64	5,35±0,34	0,815
T. kolesterol (mg/dl)	172,1±38,2	178,9±38,6	197,6±41,1	0,168
Trigliserid (mg/dl)	142,0±80,8	180,7±110,8	148,4±90,6	0,556
LDL-kol (mg/dl)	100,2±30,5	100,5±23,1	112,8±44,4	0,360
HDL-kol (mg/dl)	43,4±9,5	42,2±9,9	48,4±10,5	0,375

a: SG vs TG p=0,025, SG vs KG p<0,001, TG vs KG p=0,009

b: SG vs TG p=0,025, SG vs KG p<0,001, TG vs KG p=0,011

OGTT sonrasında siklosporin grubunda sadece 1 hastada bozulmuş glukoz toleransı saptanırken hiçbir hastada DM veya bozulmuş açlık glukozu saptanmadı. Takrolimus grubunda 3 hastada DM ve 2 hastada bozulmuş glukoz toleransı saptandı. Kontrol grubuna bakıldığında ise OGTT sonrasında hiçbir hastada diyabet saptanmazken, 1 hastada bozulmuş açlık glukozu ve 1 hastada bozulmuş glukoz toleransı saptandı.

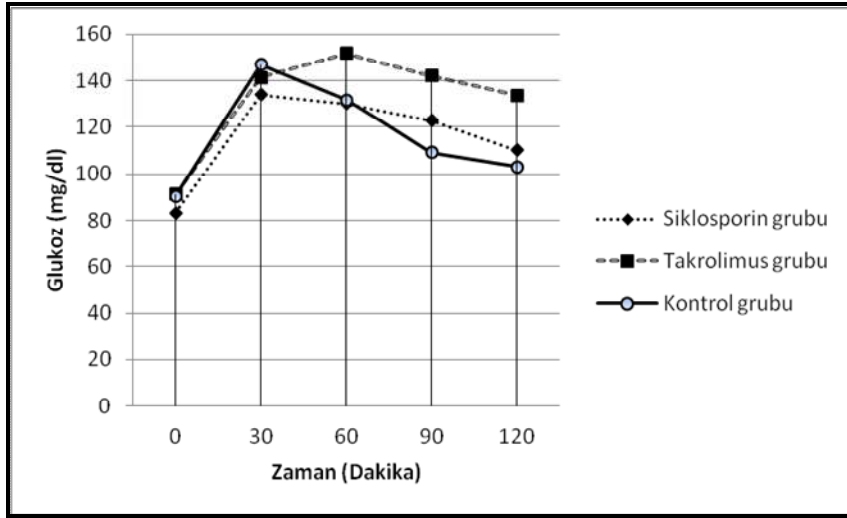
OGTT sırasındaki glukoz ve insülin sonuçlarına bakıldığında takrolimus ve kontrol grupları arasında 30. dakika insülin düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptandı ($p=0,049$) (Tablo 4.3). Bunun dışında gruplar arasında glukoz ve insülin düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı. OGTT sırasındaki glukoz ve insülin düzeyleri Tablo 4.3’de verilmiştir. Grupların ortalama glukoz ve insülin düzeylerinin zamansal değişimi sırası ile Grafik 4.1 ve Grafik 4.2’de verilmiştir.

Tablo 4.3. Glukoz ve insülin düzeyleri.

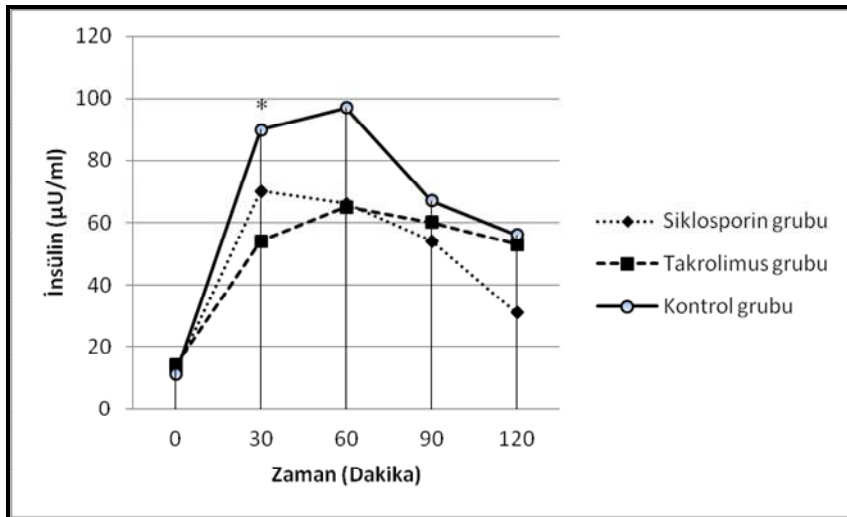
	Siklosporin grubu (n=15)	Takrolimus grubu (n=15)	Kontrol grubu (n=15)	P
Glukoz 0. dk (mg/dl)	83,1±9,2	91,3±10,6	90,4±7,8	0,119
Glukoz 30. dk (mg/dl)	133,8±23,8	141,4±29,6	146,8±23,3	0,362
Glukoz 60. dk (mg/dl)	129,9±39,1	151,6±66,5	131,7±37,7	0,495
Glukoz 90. dk (mg/dl)	122,6±28,8	142,0±58,1	109,2±25,8	0,209
Glukoz 120. dk (mg/dl)	110,1±22,5	133,5±49,0	103,0±24,5	0,194
İnsülin 0. dk (µU/ml)	12,1±7,5	14,9±10,8	11,4±5,2	0,869
İnsülin 30. dk (µU/ml)	70,7±37,0	54,5±26,6	90,7±50,6	0,135 ^a
İnsülin 60. dk (µU/ml)	66,3±67,5	65,2±43,4	97,8±74,6	0,403
İnsülin 90. dk (µU/ml)*	39,51 (18,67-240,3)	43,03 (21,19-204,10)	53,53 (11,48-227,10)	0,610
İnsülin 120. dk (µU/ml) *	25,84 (12,58-96,93)	37,54 (9,39-188,10)	37,33 (4,07-157,50)	0,276
HOMA-IR*	2,20 (1,18-8,69)	2,62 (1,29-10,23)	2,54 (0,76-4,56)	0,562

a: TG vs KG $p=0,049$

*Değerler median (minimum-maksimum) olarak verilmiştir.



Grafik 4.1. Grupların ortalama glukoz düzeylerinin zamansal değişimi.



*TG vs KG $p=0,049$

Grafik 4.2. Grupların ortalama insülin düzeylerinin zamansal değişimi.

Her üç grup arasında; bazal, 30. dakika ve 120 dakikalardaki GLP-1 düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı düzeyde fark saptandı (sırası ile $p<0,001$, $p=0,026$ ve $p<0,001$). Bazal GLP-1 düzeyi hem siklosporin grubunda, hem de takrolimus grubunda kontrol grubuna göre daha yüksekti (sırası ile $p<0,001$ ve $p=0,033$). Siklosporin grubunun bazal GLP-1 düzeyleri, takrolimus grubuna göre, istatistiksel olarak anlamlı olacak şekilde daha yüksek saptandı ($p=0,003$). 30.ve 90. dakikalardaki GLP-1 düzeyleri, takrolimus grubunda siklosporin grubuna göre

istatistiksel olarak anlamlı olacak şekilde daha yüksekti (sırası ile $p=0,009$ ve $p=0,042$). Bununla beraber 120. dakikadaki GLP-1 düzeyleri siklosporin grubunda takrolimus grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksekti ($p=0,01$). Pık GLP-1 düzeylerine takrolimus grubunda ve kontrol grubunda 30. dakikada ulaşılırken, en yüksek GLP-1 düzeylerine siklosporin grubunda 120. dakikada ulaşılmıştır. Siklosporin grubunda oral glukoz alımını takiben 30. dakikada hafif bir artış ve daha sonra 60. ile 90. dakikalarda progresif bir azalma saptandı. Bu azalmayı takiben de 120. dakikada tekrar bir artış ile en yüksek GLP-1 düzeylerine ulaşıldı (Tablo 4.4). Ortalama GLP-1 düzeylerinin zamansal değişimi Grafik 4.3’de gösterilmiştir.

Tablo 4.4. GLP-1 ve GIP düzeyleri.

	Siklosporin grubu (n=15)	Takrolimus grubu (n=15)	Kontrol grubu (n=15)	P
GLP-1 0. dk (pM)	6,22±3,36	2,92±1,87	1,46±1,02	<0,001 ^a
GLP-1 30. dk (pM)	7,90±9,25	13,13±7,68	10,63±7,02	0,026 ^b
GLP-1 60. dk (pM)*	3,64 (2,52-12,07)	5,96 (2,02-36,96)	4,16 (0,1-22,53)	0,423
GLP-1 90. dk (pM)*	2,79 (2,06-4,72)	4,12 (1,49-39,94)	4,17 (0,14-12,69)	0,087 ^c
GLP-1 120. dk (pM)	8,47±2,73	6,93±8,29	2,82±2,94	<0,001 ^d
GIP 0. dk (pg/ml)*	23,80 (2,1-621,9)	30,60 (8,3-194,5)	37,5 (7,2-227,7)	0,291
GIP 30. dk (pg/ml)	188,79±109,15	259,33±110,86	301,76±148,08	0,058 ^e
GIP 60. dk (pg/ml)	242,24±216,48	240,46±94,71	280,12±123,81	0,155 ^f
GIP 90. dk (pg/ml)	165,20±107,78	238,66±157,00	233,88±106,87	0,083 ^g
GIP 120. dk (pg/ml)	116,12±101,84	172,28±113,61	205,50±58,52	0,005 ⁱ

*Değerler median (minimum-maksimum) olarak verilmiştir.

a: SG vs KG $p<0,001$, TG vs KG $p=0,033$, SG vs TG $p=0,003$

b: SG vs TG $p=0,009$

c: SG vs TG $p=0,042$

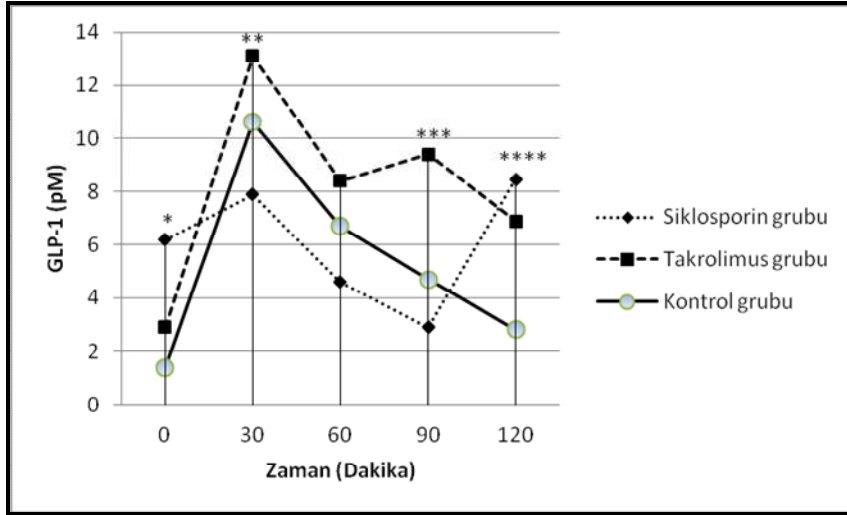
d: SG vs KG $p<0,001$, TG vs KG $p=0,015$, SG vs TG $p=0,01$

e: SG vs KG $p=0,040$

f: SG vs KG $p=0,049$

g: SG vs KG $p=0,040$

i: SG vs KG $p=0,002$, SG vs TG $p=0,049$



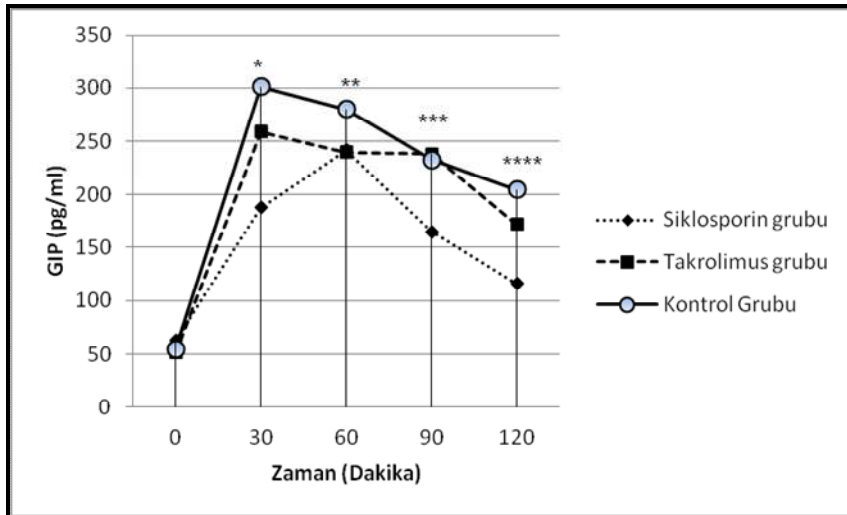
* Üç grup karşılaştırıldığında $p < 0,001$, SG vs KG $p < 0,001$, TG vs KG $p = 0,033$, SG vs TG $p = 0,003$

** Üç grup karşılaştırıldığında $p = 0,026$, SG vs TG $p = 0,009$ *** SG vs TG $p = 0,042$

**** Üç grup karşılaştırıldığında $p < 0,001$, SG vs KG $p < 0,001$, TG vs KG $p = 0,015$, SG vs TG $p = 0,01$

Grafik 4.3. Grupların ortalama GLP-1 düzeylerinin zamansal değişimi.

Üç grup arasında 120. dakika GIP düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı ($p = 0,005$). Siklosporin grubu ile kontrol grubu arasında 30., 60., 90. ve 120. dakika GIP düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı (sırası ile $p = 0,04$, $p = 0,049$, $p = 0,040$ ve $p = 0,002$). Siklosporin grubu ile takrolimus grubu GIP düzeyleri arasında sadece 120. dakika değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptandı ($p = 0,049$)(Tablo 4.5). Ortalama GIP düzeylerinin zamansal değişimi Grafik 4.4’de gösterilmiştir.



* SG vs KG $p = 0,040$

** SG vs KG $p = 0,049$

*** SG vs KG $p = 0,040$

**** Üç grup karşılaştırıldığında $p = 0,005$, SG vs KG $p = 0,002$, SG vs TG $p = 0,049$

Grafik 4.4. Grupların ortalama GIP düzeylerinin zamansal değişimi.

Maksimum GLP-1 düzeyleri ile bazal GLP-1 düzeyleri arasındaki fark (Δ GLP-1), gruplar arasında karşılaştırıldığında üç grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı ($p<0,0001$). Siklosporin grubu ile kontrol ve takrolimus grubu arasında, Δ GLP-1 yönünden istatistiksel olarak anlamlı düzeyde fark vardı (sırası ile $p<0,0001$ ve $p=0,003$). Δ GLP-1 değerleri yönünden takrolimus grubu ile kontrol grubu arasında fark saptanmadı ($p=0,756$). Maksimum GIP düzeyleri ile bazal GIP düzeyleri arasındaki fark (Δ GIP), gruplar arasında karşılaştırıldığında üç grup arasında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde fark bulundu ($p=0,029$). Takrolimus grubu ile siklosporin ve kontrol grubu arasında Δ GIP değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yok iken (sırası ile $p=101$ ve $p=0,351$) siklosporin grubu ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmıştır ($p<0,0001$) (Tablo 4.5).

Tablo 4.5. Δ GLP-1 ve Δ GIP düzeyleri.

	Siklosporin grubu (n=15)	Takrolimus grubu (n=15)	Kontrol grubu (n=15)	p
Δ GLP-1	1,68 $\pm$ 8,84	10,20 $\pm$ 8,51	9,17 $\pm$ 6,52	$<0,0001^a$
Δ GIP	125,06 $\pm$ 125,35	208,09 $\pm$ 111,67	246,04 $\pm$ 143,50	0,029 ^b

a: SG vs KG $p<0,0001$, TG vs KG $p=0,756$, SG vs TG $p=0,003$

b:SG vs KG $p<0,0001$, TG ve KG $p=0,351$, SG ve TG $p=101$)

OGTT sonrası DM tanısı konulan hastalar çıkarılıp gruplar arasında analizler tekrarlandığında; siklosporin ve takrolimus gruplarında bazal, 30., 90., ve 120. dakika GLP 1 düzeylerinde yine istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı (0. dakika $p=0,016$, 30. dakika $p=0,020$, 90. dakika $p=.0,023$ ve 120. dakika $p=0,043$).

Siklosporin grubu ile takrolimus grubunun glukoz, insülin ve inkretin düzeylerinin eğri altındaki alanları (EAA) karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı (Tablo 4.6).

Tablo 4.6. Siklosporin ile takrolimus gruplarının glukoz, insülin ve inkretin düzeylerinin EAA'ları.

	Siklosporin grubu (Ortalama±SEM) (n=15)	Takrolimus grubu (Ortalama±SEM) (n=15)	p
EAA Glukoz (0-2.saat)	115,93±5,40	132±10,23	0,361
EAA İnsülin (0-2.saat)	47,09±8,89	49,82±7,78	0,820
EAA GLP-1 (0-2.saat)	6,05±0,67	8,17±1,19	0,221
EAA GIP (0-2. saat)	155,21±31,83	192,39±22,25	0,59

Siklosporin grubu ile kontrol grubunun glukoz, insülin ve inkretin düzeylerinin eğri altındaki alanları (EAA) karşılaştırıldığında siklosporin grubunda GIP için hesaplanan EAA kontrol grubuna oranla istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha düşüktü ($p=0,007$). Glukoz, insülin ve GLP-1'in EAA'ları arasında ise istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı (Tablo 4.7).

Tablo 4.7. Siklosporin ile kontrol gruplarının glukoz, insülin ve inkretin düzeylerinin EAA'ları.

	Siklosporin grubu (Ortalama±SEM) (n=15)	Kontrol grubu (Ortalama±SEM) (n=15)	p
EAA Glukoz (0-2.saat)	115,93±5,40	116,25±5,11	0,950
EAA İnsülin (0-2.saat)	47,09±8,89	64,83±10,09	0,254
EAA GLP-1 (0-2.saat)	6,05±0,67	5,28±0,91	0,290
EAA GIP (0-2. saat)	155,21±31,83	215±20,24	0,007

Takrolimus grubu ile kontrol grubunun glukoz, insülin ve inkretin düzeylerinin eğri altındaki alanları (EAA) karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı (Tablo 4.8).

Tablo 4.8. Takrolimus ile kontrol gruplarının glukoz, insülin ve inkretin düzeylerinin EAA'ları.

	Takrolimus grubu (Ortalama±SEM) (n=15)	Kontrol grubu (Ortalama±SEM) (n=15)	p
EAA Glukoz (0-2.saat)	132±10,23	116,25±5,11	0,384
EAA İnsülin (0-2.saat)	49,82±7,78	64,83±10,09	0,310
EAA GLP-1 (0-2.saat)	8,17±1,19	5,28±0,91	0,054
EAA GIP (0-2. saat)	192,39±22,25	215±20,24	0,443

5. TARTIŞMA

İnkretin etkinin eksikliği, rölatif insülin eksikliği ve hiperglisemiye neden olmaktadır [4]. Bu durum tip 2 DM fizyopatolojisinde önemli bir rol oynamaktadır. GLP-1'in, insülin sekresyonunu arttırmanın yanında glukagon sekresyonunu inhibe etmek, gastrik boşalmayı yavaşlatmak ve gıda alımını azaltmak gibi etkileri tanımlanmıştır [5,6,10]. İnkretin bazlı tedaviler, inkretinlerin bu olumlu antidiyabetik etkileri nedeni ile, son yıllarda tip 2 DM tedavisinde kullanıma sunulmuştur ve bu tedavilerin kullanımları giderek artmaktadır. Renal transplantasyon hastalarında greft rejeksiyonunu önlemek için kullanılan immünsupresif ilaçların önemli yan etkilerinden biri hiperglisemidir. Post-transplant diabetes mellitus, azalmış insülin sekresyonu ve artmış insülin rezistansının kombinasyonu ile ortaya çıkan multifaktöriyel bir hastalıktır. Post-transplant diabetes mellitus, kalsinörin inhibitörlerinin kullanımı ile güçlü bir şekilde ilişkilidir [12]. İmmünsupresif ilaçlar, beta hücrelerinin sağkalımı ve fonksiyonları üzerine olumsuz etki göstermektedir [13].

Spesifik immünsupresif ilaçların insülin sekresyonu, insülin gen ekspresyonu, beta hücre apoptozu ve beta hücre proliferasyonu üzerine olumsuz etkileri olduğu gösterilmiştir [14-17]. Transplantasyon hastalarında kullanılan immünsupresif ilaçların hiperglisemi yapıcı etkilerinin fizyopatolojisinde, inkretinler üzerine yaptıkları olası olumsuz etkilerin de katkısı söz konusu olabilir. Kalp ve karaciğer transplantasyonu yapılmış hastalarda, inkretin yanıtını değerlendiren bir çalışma olmakla beraber bu çalışmaya alınan hastalar, kullanılan steroid dozu ile kalsinörin inhibitörü ilacın tipi ve dozu yönünden homojenize değildir [105]. Çalışmamızda, renal transplantasyon uygulanan hastalarda kullanılan farklı immünsupresif ilaçların inkretinler üzerine etkilerini karşılaştırdık. Çalışmamızda, siklosporin ve takrolimus kullanan renal transplant hastalarının oral glukoz yüküne verdikleri glukoz, insülin, GLP-1 ve GIP yanıtlarını değerlendirdik. Çalışmamız; transplant hastalarında immünsupresif ilaçların inkretin sistem üzerine etkilerini, ortalama steroid dozu ve kullanılan immünsupresif ilaçlar yönünden, homojen gruplar arasında karşılaştıran ilk

çalışmadır. Aynı zamanda renal transplant hastalarında immünsupresif ilaçların inkretin sistem üzerine etkilerini değerlendiren ilk çalışmadır.

Bazal GLP-1 düzeyi siklosporin grubunda takrolimus grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha yüksekti. Siklosporin ve takrolimus gruplarında kontrol grubuna göre bazal GLP-1 düzeyleri daha yüksek saptandı. Siklosporin ve takrolimus gruplarındaki hastaların steroid kullanıyor olması bu farka katkıda bulunmuş olabilir. Bununla beraber eşit miktarda steroid kullanan siklosporin ve takrolimus grupları karşılaştırıldığında siklosporin grubunda bazal GLP-1 düzeyleri daha yüksekti. Oral glukoz yüküne GLP-1 yanıtları değerlendirildiğinde 30. ve 90. dakika GLP-1 düzeyleri takrolimus grubunda siklosporin grubuna göre daha yüksekti. Bununla beraber 120. dakika GLP-1 düzeyi ise siklosporin grubunda daha yüksek saptandı. Oral glukoz yüküne GLP-1 yanıtı zamansal olarak değerlendirildiğinde, takrolimus ve kontrol gruplarında en düşük GLP-1 değerlerinin bazal değerler olduğu, 30. dakikada en yüksek GLP-1 düzeylerine ulaşıldığı ve daha sonra GLP-1 düzeylerinin progresif olarak azaldığı saptanmıştır. Ancak siklosporin grubuna bakıldığında; bazal GLP-1 düzeylerinin daha yüksek olduğu, 30. dakikada hafif bir artış sonrası 60. ve 90. dakikalarda bir azalma gösterdiği ve pik değerlere 120. dakikada ulaşıldığı saptanmıştır. Δ GLP-1 düzeyleri de siklosporin grubunda daha düşüktü. Sonuç olarak siklosporin grubunda daha düşük bir GLP-1 artışı ve daha düşük pik GLP-1 düzeyi saptanmıştır. Bu bulgularla beraber GLP-1 için hesaplanan EAA'lar arasında her üç grup arasında da anlamlı bir fark yoktu. Bu bulgular takrolimus grubunda, kontrol grubuna benzer bir şekilde, oral glukoz yüküne GLP-1 yanıtının korunmuş olmasına karşın, siklosporin grubunda bazal olarak daha yüksek bir GLP-1 düzeyinin olduğunu ve oral glukoz yüküne körelmiş ve zamansal olarak bozulmuş bir GLP-1 yanıtının söz konusu olduğunu düşündürmektedir.

Tip 2 DM hastalarında GLP-1 sekresyonunun azaldığını gösteren çeşitli çalışmalar [7,106,107] olmakla beraber GLP-1 yanıtının normal olduğunu bildiren çalışmalar [108,109] da mevcuttur. Bu durum tip 2 DM hastalarında, inkretin hormonlarının salınım paterninde farklı derecede değişiklikler gösteren hasta grupları olduğunu ve GLP-1 sekresyon bozukluğunun diyabet hastalarında genel bir kural olmadığını desteklemektedir [110].

Daha önce tip 2 DM hastalarında ve idiyopatik gastroparezi hastalarında bazal GIP düzeylerinin kontrollere göre oranla anlamlı düzeyde daha yüksek olduğu gösterilmiş ve bunun olası bir GIP direncinin bir ürünü olabileceği ileri sürülmüştür [111, 112]. Benzer olarak bizim çalışmamızda da, bazal GLP-1 düzeylerinin, siklosporin ve takrolimus grubunda daha yüksek olması pankreatik beta hücrelerinde olası GLP-1 direncinin bir sonucu olabilir. Yeterli insülin sekresyonunun devamı için GLP-1 sekresyonu artmış olabilir.

0. ve 120. dakika GLP-1 düzeyleri siklosporin grubunda ve takrolimus grubunda, kontrol grubuna oranla daha yüksekti. Bu durum; steroid ve kalsinörin inhibitörü alan renal transplant hastalarının normal kontrollere göre daha yüksek GLP-1 düzeylerine sahip olduğunu düşündürmektedir. Bu durum kalsinörin inhibitörlerinin bir etkisi olabileceği gibi, steroidin veya her ikisinin ortak etkisinin bir sonucu olabilir. Glukokortikoidlerin, oral glukoz yüküne total GLP-1 ve GIP yanıtını arttırdığı; bununla beraber inkretin etkiyi azalttıkları gösterilmiştir [113]. Sonuç olarak siklosporin, takrolimusa göre, daha yüksek bazal GLP-1 düzeyine neden olmakta; oral glukoz yüküne GLP-1 yanıtını ve GLP-1'in zamansal değişimini, takrolimus ve kontrol gruplarına göre, bozmakta ve daha düşük pik GLP-1 düzeyleri elde edilmesine neden olmaktadır. Her ne kadar posttransplant DM takrolimus kullanan hastalarda siklosporin kullananlara oranla daha sık ortaya çıksa da çalışmamız, takrolimus kullanan nondiyabetik renal transplant hastalarında oral glukoz yüküne pik GLP-1 yanıtının ve zamansal GLP-1 yanıtının siklosporin kullanan nondiyabetik renal transplant hastalarına göre korunduğunu, siklosporinin pik GLP-1 yanıtını ve GLP-1'in zamansal değişimini bozduğunu göstermiştir. Siklosporin ve takrolimusun GLP-1 üzerine olan bu farklı etkileri siklosporin kullanan renal transplant hastalarında ortaya çıkan posttransplant DM'de inkretin yanıtının bozulmasının patogeneizde önemli bir rol oynuyor olabileceğini düşündürmektedir. Bununla beraber takrolimus kullanan renal transplant hastalarında ortaya çıkan posttransplant diyabetin gelişmesinde ise inkretin sistemden çok diğer mekanizmalar daha önemli olabilir.

Bazal GIP düzeyleri arasında gruplar arasında bir fark yoktu. Takrolimus grubunda ve kontrol grubunda pik GIP düzeylerine 30. dakikada ulaşıldı. Siklosporin grubunda ise pik GIP düzeyine 60. dakikada ulaşıldı. Takrolimus

grubu ile kontrol grubu arasında GIP düzeyleri arasında fark saptanmadı. Bununla bereaber siklosporin grubunda 30., 60., 90. ve 120. dakikalardaki GIP düzeyleri kontrol grubuna göre daha düşüktü. Δ GIP değerleri karşılaştırıldığında takrolimus ile siklosporin grubu arasında bir fark yokken siklosporin grubunda kontrol grubuna oranla daha düşük değerler saptandı. GIP için hesaplanan EAA da siklosporin grubunda, kontrol grubuna göre daha düşüktü. Bu bulgular siklosporin grubunda, GLP-1'e benzer şekilde oral glukoz yüküne GIP yanıtının ve GIP'in zamansal değişiminin bozulduğunu göstermektedir. Steroidlerin total GLP-1 ve GIP düzeylerini arttırıcı etkileri olduğu daha önce gösterilmiştir [113]. Glukokortikoidlerin total GLP-1 ve GIP düzeylerini arttırıcı etkileri düşünüldüğünde, kontrol grubuna oranla, siklosporin grubundaki daha düşük GLP-1 yanıtı, daha düşük GIP yanıtı ve daha düşük GIP EAA düzeyleri siklosporinin inkretin sistem üzerine olan olan direkt etkisinin bir sonucu olabilir.

Karaciğer ve kalp nakli yapılmış hastalarda glukoz yüküne insülin yanıtlarının değerlendirildiği bir çalışmada inkretin hormon yanıtları da değerlendirilmiştir. Takrolimus veya siklosporin alan kalp ve karaciğer hastalarında yapılan bu çalışmada, hem karaciğer hem de kalp nakli yapılan hastalarda, sağlıklı gönüllülere göre, plazma GLP-1 ve GIP düzeylerinin benzer olmasına rağmen, oral glukoz yüküne verilen inkretin etkinin köreldiği gösterilmiştir. Bu çalışmada GLP-1 ve GIP için hesaplanan EAA'lar arasında anlamlı bir fark saptanmamıştır. Ancak bu çalışmada transplant hastaları karaciğer ve kalp nakil hastaları olarak ayrılmış, çalışmaya karaciğer nakil grubunda hem takrolimus hem de siklosporin kullanan heterojen bir hasta grubu alınmışken, kalp nakil grubunda ise sadece siklosporin kullanan hastalar alınmıştır. Karaciğer nakil grubundaki dokuz hastanın beşi steroid alırken (ortalama 6,2 mg/gün prednizolon), kalp nakil grubunda ise sadece bir hasta steroid almaktaydı. Bu çalışmada siklosporin kullanan kardiyak transplant hastalarında oral glukoz yüküne inkretin yanıtının sağlıklı gönüllülere göre köreldiği saptanmıştır [105]. Bu hastalardan sadece birinin steroid alıyor olması bu etkinin steroid etkisinden bağımsız olduğunu göstermektedir. Bizim çalışmamızda da siklosporin grubunda, kontrol grubuna göre, körelmiş ve zamansal olarak bozulmuş bir GLP-1 ve GIP yanıtı saptanmıştır. Aynı çalışmada takrolimus veya siklosporin kullanan

karaciğer transplant hastalarında ve sadece siklosporin kullanan kalp nakil hastalarındaki bazal GLP-1 düzeyleri sağlıklı gönüllülere göre istatistiksel olarak anlamlı olmasa da daha yüksek saptanmıştır [105]. Bizim çalışmamızda bazal GLP-1 düzeyi siklosporin grubunda, hem sağlıklı gönüllülere hem de takrolimus grubuna oranla, istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksek saptanmıştır. Takrolimus grubunda da, siklosporin grubundaki kadar belirgin olmasa da, kontrol grubuna oranla istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bazal GLP-1 düzeyi elde edilmiştir. Bu bulgular hem siklosporinin, hem de takrolimusun bazal GLP-1 düzeyini arttırdığını, bunun muhtemelen kalsinörin inhibitörü ajanların ortak etkisi olduğunu, ancak siklosporinde bunun daha belirgin olduğunu düşündürmektedir. Henchoz ve arkadaşlarının yaptığı bu çalışmada, kalp ve karaciğer nakli yapılan gruplarda sağlıklı gönüllülere göre oral glukoz yüküne GLP-1 yanıtında fark bildirilmemekle beraber; bizim çalışmamızda, siklosporin grubunda 30. ve 90. dakika GLP-1 düzeyleri takrolimus grubundan daha düşük iken, 120. dakika GLP-1 düzeyleri takrolimus grubundan ve sağlıklı gönüllülerden daha yüksekti. Bu durum siklosporinin, daha yüksek bazal GLP-1 düzeyleri yanında, körelmiş ve gecikmiş bir GLP-1 yanıtı ile de ilişkili olduğunu düşündürmektedir. Aynı çalışmada gruplar arasında benzer GIP yanıtları raporlanmıştır. Bizim çalışmamızda ise siklosporin grubunda, kontrol grubuna oranla, daha düşük GIP düzeyleri elde edilmiştir.

Henchoz ve arkadaşlarının yaptığı bu çalışmada, karaciğer ve kalp nakil hastalarında oral glukoz yüküne insülin sekresyon yanıtının steroid kullanımından bağımsız olarak azaldığı bildirilmiş olsa da ortalama 6 mg/gün prednizolon kullanımının olduğu bizim çalışmada insülin yanıtında bir fark saptanmamıştır. Genel olarak kalsinörin inhibitörlerinin beta hücresinin insülin sentez ve sekresyonunu bozdukları bilinmektedir. Daha önce yapılan çalışmada kalp ve karaciğer transplant hastalarında oral glukoz yüküne bozulmuş insülin yanıtı olduğu bildirilmiştir [105]. Bizim çalışmamızda insülin düzeyleri yönünden gruplar arasında anlamlı bir fark yoktu. Bu durum belki de yapılan organ transplantasyonu ile ilişkili olabilir. Örneğin karaciğer transplant hastalarında hepatik denervasyon bozulmuş insülin yanıtı ile ilişkili olabilir. Henchoz ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada elde edilen bozulmuş insülin yanıtının nedeni

olarak kalsinörünün beta hücresi üzerine olan etkilerinin veya otonom sinir sistemi üzerine olan etkilerinin bir sonucu olabileceği düşünülmüştür[105]. Ancak bizim renal transplant hastalarında yaptığımız bu çalışma, insülin sekresyon yanıtının sağlıklı kontroller ile benzer olduğunu, inkretin düzeyleri üzerine olan mevcut bozuklukların genel kalsinörin inhibitörü ilaçların etkisinden çok, ajan spesifik olarak siklosporinin bir etkisi olduğunu düşündürmektedir.

Bizim çalışmamızdaki temel hipotezlerden biri kalsinörin inhibitörlerinin inkretin hormonlarının yapımını ve salımını azalttığı ve bunun posttransplant diyabet gelişiminde önemli bir rol oynayabileceği idi. Aynı şekilde inkretin hormon düzeylerinin takrolimus grubunda siklosporin grubundan daha düşük olmasını bekliyorduk. Ancak çalışmamızda hem siklosporin hemde takrolimus grubunda bazal GLP-1 düzeyleri kontrol grubundan daha yüksek bulundu. GIP düzeyleri de kontrol grubu ile benzer düzeylerde idi. Bu bize siklosporin ve takrolimus grubunda GLP-1 ve GIP sentezinde sorun olmadığını göstermektedir. Ancak siklosporin grubunda, oral glukoz yüküne inkretin yanıtının köreldiğini ve zamansal yanıtın bozulduğunu düşündüren bulgular saptadık.

Kronik renal yetmezliği olan hastalarda yapılan çalışmada, oral glukoz yükü sonrasındaki intakt (aktif) GLP-1 ve intakt GIP düzeylerinin sağlıklı kontrol grubu ile benzer olduğu ve istatistiksel bir fark olmadığı gösterilmiştir [114]. Aynı çalışmada total GIP ölçümlerinin ise renal yetmezliği olan hastalarda daha yüksek olduğu saptanmıştır [114]. Bizim çalışmamızda gruplar arasında kreatinin ve eGFR düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olsa da bunun bizim sonuçlarımızı etkilediğini düşünmemekteyiz. Çünkü bizim çalışmamızda, renal yetmezlik hastalarında düzeylerinin değişmediği gösterilmiş olan, intakt GLP-1 düzeyleri ölçülmüştür. Çalışmamızda her ne kadar Total GIP ölçümü kullanılmış ve gruplar arasında kreatinin ile eGFR düzeyleri arasında istatistiksel düzeyde bir fark çıkmış olsa da çalışmamıza kreatinin düzeyi 1,5 mg/dl'den yüksek hastalar alınmamıştır. Çalışmamıza alınan hasta gruplarındaki en yüksek ortalama kreatinin düzeyi $1,22 \pm 0,17$ mg/dl ve en düşük ortalama eGFR $78,75 \pm 15,11$ ml/dk/1,73 m² olup, ciddi düzeyde renal yetmezliği olan hiçbir hasta çalışmaya alınmamıştır.

Çalışmamızın kısıtlayıcı özelliği, merkezimizde siklosporin kullanan kadın renal transplant hastalarının oldukça az olması nedeni ile sadece erkek hastaların alınmış olmasıdır. Siklosporinin kullanmayı arttırıcı etkisinden dolayı merkezimizde premenapozal kadın hastalarda kullanımı pek tercih edilmemektedir. Çalışmamızın sadece erkek hastaların olduğu bir populasyonda gerçekleştirilmesi bir eksikliktir. Cinsiyete bağlı etki edebilecek faktörlerin dışlanması açısından kadın hastaların da olduğu bir populasyonda benzer çalışmaların planlanması uygun olacaktır. Çalışmamızda nondiyabetik bir populasyonda immünsüpresif ilaçların inkretinler üzerine olan etkilerini değerlendirdik. Posttransplant diyabeti olan ve daha farklı immünsüpresif ilaçları da kullanan hastalarda yapılacak çalışmalar, immünsüpresif ilaçların inkretinler üzerine olan etkileri ve bunların posttransplant diyabet gelişimindeki rolleri ile ilgili ek bilgiler elde edilmesine katkıda bulunacaktır.

6. SONUÇLAR

1. OGTT sırasındaki glukoz ve insülin sonuçlarına bakıldığında; takrolimus grubunda kontrol grubuna göre 30. dakika insülin düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı derecede daha düşük saptandı ($p=0,049$). Bunun dışında gruplar arasında glukoz ve insülin düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı.
2. Her üç grup arasında; bazal, 30. dakika ve 120 dakikalardaki GLP-1 düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı düzeyde fark saptandı (sırası ile $p<0,001$, $p=0,026$ ve $p<0,001$).
3. Bazal GLP-1 düzeyi hem siklosporin grubunda hem de takrolimus grubunda kontrol grubuna göre daha yüksekti (sırası ile $p<0,001$ ve $p=0,033$).
4. Siklosporin grubunun bazal GLP-1 düzeyleri, takrolimus grubuna göre, istatistiksel olarak anlamlı olacak şekilde daha yüksek saptandı ($p=0,003$).
5. 30.ve 90. dakikalardaki GLP-1 düzeyleri, takrolimus grubunda siklosporin grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olacak şekilde daha yüksekti (sırası ile $p=0,009$ ve $p=0,042$).
6. 120. dakikadaki GLP-1 düzeyleri siklosporin grubunda takrolimus grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksekti ($p=0,01$).
7. Pık GLP-1 düzeylerine takrolimus grubunda ve kontrol grubunda 30. dakikada ulaşılırken, en yüksek GLP-1 düzeylerine siklosporin grubunda 120. dakikada ulaşılmıştır.
8. Üç grup arasında 120. dakika GIP düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı ($p=0,005$).
9. Siklosporin grubu ile kontrol grubu arasında 30., 60., 90. ve 120. dakika GIP düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı (sırası ile $p=0,04$, $p=0,049$, $p=0,040$ ve $p=0,002$).

10. Siklosporin grubu ile takrolimus grubu GIP düzeyleri arasında sadece 120. dakika değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptandı ($p=0,049$).
11. Maksimum GLP-1 düzeyleri ile bazal GLP-1 düzeyleri arasındaki fark (Δ GLP-1), gruplar arasında karşılaştırıldığında üç grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı ($p<0,0001$).
12. Siklosporin grubu ile kontrol ve takrolimus grubu arasında, Δ GLP-1 yönünden istatistiksel olarak anlamlı düzeyde fark vardı (sırası ile $p<0,0001$ ve $p=0,003$).
13. Δ GLP-1 değerleri yönünden takrolimus grubu ile kontrol grubu arasında fark saptanmadı ($p=0,756$).
14. Maksimum GIP düzeyleri ile bazal GIP düzeyleri arasındaki fark (Δ GIP), gruplar arasında karşılaştırıldığında üç grup arasında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde fark bulundu ($p=0,029$).
15. Takrolimus grubu ile siklosporin ve kontrol grubu arasında Δ GIP değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yok iken (sırası ile $p=101$ ve $p=0,351$) siklosporin grubu ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmıştır ($p<0,0001$).
16. Siklosporin grubu ile takrolimus grubunun glukoz, insülin ve inkretin düzeylerinin eğri altındaki alanları (EAA) karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı.
17. Siklosporin grubu ile kontrol grubunun glukoz, insülin ve inkretin düzeylerinin eğri altındaki alanları (EAA) karşılaştırıldığında siklosporin grubunda GIP için hesaplanan EAA kontrol grubuna oranla istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha düşüktü ($p=0,007$). Glukoz, insülin ve GLP-1'in EAA'ları arasında ise istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı.
18. Takrolimus grubu ile kontrol grubunun glukoz, insülin ve inkretin düzeylerinin eğri altındaki alanları (EAA) karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı.

7. ÖZET

RENAL TRANSPLANT HASTALARINDA, FARKLI İMMUNSUPRESİF İLAÇLARIN İNKRETİNLER ÜZERİNE ETKİLERİ

İnkretin sistem diabetes mellitus patogeneğinde önemli bir rol oynamaktadır. Post-transplant diyabet, özellikle kalsinörin inhibitörleri olmak üzere kullanılan antirejeksiyon medikasyonlarla ilişkili olan ve greft ömrünü etkileyen önemli bir sorundur. Transplantasyon hastalarında kullanılan immünsupresif ilaçlar, inkretinler üzerine yaptıkları olası olumsuz etkiler aracılığı ile post-transplant diabetes mellitus gelişmesine katkıda bulunuyor olabilir. Bu çalışmada, renal transplantasyon uygulanan hastalarda kullanılan farklı immünsupresif ilaçların inkretinler üzerine etkilerini karşılaştırmayı amaçladık.

Çalışmaya, bilinen diyabet öyküsü olmayan, siklosporin tedavisi alan 15 renal transplant hastası, takrolimus tedavisi alan 15 renal transplant hastası ve kontrol grubu olarak 15 sağlıklı gönüllü olmak üzere üç grup halinde toplam 45 kişi alındı. Hastalara 75 gr glukoz ile oral glukoz tolerans testi yapıldı. 0., 30., 60., 90. ve 120. dakikalarda Glukagon-like peptid 1 (GLP-1) ve Glucose-dependent Insulinotropic Polypeptide (GIP) ölçümleri yapıldı.

Her üç grup arasında; bazal, 30. dakika ve 120 dakikalardaki GLP-1 düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı düzeyde fark saptandı (sırası ile $p<0,001$, $p=0,026$ ve $p<0,001$). Bazal GLP-1 düzeyi hem siklosporin grubunda, hem de takrolimus grubunda kontrol grubuna göre daha yüksekti (sırası ile $p<0,001$ ve $p=0,033$). Siklosporin grubunun bazal GLP-1 düzeyleri, takrolimus grubuna göre, istatistiksel olarak anlamlı olacak şekilde daha yüksek saptandı ($p=0,003$). 30.ve 90. dakikalardaki GLP-1 düzeyleri, takrolimus grubunda siklosporin grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olacak şekilde daha yüksekti (sırası ile $p=0,009$ ve $p=0,042$). 120. dakikadaki GLP-1 düzeyleri siklosporin grubunda takrolimus grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksekti ($p=0,01$). Pik GLP-1 düzeylerine takrolimus grubunda ve kontrol grubunda 30. dakikada ulaşılırken, en yüksek GLP-1 düzeylerine siklosporin grubunda 120. dakikada ulaşılmıştır. Üç grup arasında 120. dakika GIP düzeyleri arasında istatistiksel

olarak anlamlı fark saptandı ($p=0,005$). Siklosporin grubu ile kontrol grubu arasında 30., 60., 90. ve 120. dakika GIP düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı (sırası ile $p=0,04$, $p=0,049$, $p=0,040$ ve $p=0,002$). Maksimum GLP-1 düzeyleri ile bazal GLP-1 düzeyleri arasındaki fark (Δ GLP-1), gruplar arasında karşılaştırıldığında üç grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı ($p<0,0001$). Siklosporin grubu ile kontrol ve takrolimus grubu arasında, Δ GLP-1 yönünden istatistiksel olarak anlamlı düzeyde fark vardı (sırası ile $p<0,0001$ ve $p=0,003$). Maksimum GIP düzeyleri ile bazal GIP düzeyleri arasındaki fark (Δ GIP), gruplar arasında karşılaştırıldığında üç grup arasında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde fark bulundu ($p=0,029$).

Bu bulgular takrolimus kullanan renal transplant hastalarında oral glukoz yüküne GLP-1 yanıtının korunmuş olmasına karşın, siklosporin kullanan renal transplant hastalarında bazal olarak daha yüksek bir GLP-1 düzeyinin olduğunu ve oral glukoz yüküne körelmiş ve zamansal olarak bozulmuş bir GLP-1 yanıtının söz konusu olduğunu göstermiştir.

Anahtar kelimeler: İncretin, GLP-1, GIP, post-transplant diyabet, renal transplantasyon.

8. ABSTRACT

EFFECTS OF DIFFERENT IMMUNOSUPPRESSIVE DRUGS ON INCRETINS IN RENAL TRANSPLANT PATIENTS

Incretin system has an important role in the pathogenesis of diabetes mellitus. Post-transplant diabetes, associated with antirejection medications especially including calcineurin inhibitors and is a major problem affect graft survival. Immunosuppressive drugs used in transplantation patients, may contribute to the development of post-transplant diabetes mellitus through their possible adverse effects on incretins. In this study, we aimed to compare the effects of different immunosuppressive drugs used in renal transplantation patients, on incretins.

15 cyclosporine-treated renal transplant patients, 15 tacrolimus-treated renal transplant patients and 15 healthy volunteers as a control group, a total of 45 people with no history of diabetes were enrolled in the study. Oral glucose tolerance test with 75 gr glucose was performed to all patients. Glucagon-like peptide 1 (GLP-1), and Glucose-dependent Insulinotropic Polypeptide (GIP) were measured at 0, 30, 60, 90, 120 minutes.

Among three groups, at 0, 30 and 120 minutes statistically significant difference on GLP-1 levels was observed (respectively, $p < 0.001$, $p = 0.026$ and $p < 0.001$). Baseline GLP-1 levels in both cyclosporine and tacrolimus groups was higher than the control group (respectively, $p < 0.001$ and $p = 0.033$). Basal GLP-1 levels were significantly higher in cyclosporine group, compared to the tacrolimus group, ($p = 0.003$). At 30 and 90 minutes, GLP-1 levels were significantly higher in tacrolimus group compared to cyclosporine group ($p = 0.009$ and $p = 0.042$, respectively). GLP-1 levels at 120 minutes were significantly higher in the cyclosporin group compared to the tacrolimus group ($p = 0.01$). While reaching peak GLP-1 levels at 30 minutes in the tacrolimus and control group, the highest levels of GLP-1 in cyclosporine group was achieved at 120 minutes. Among three groups GIP levels at 120 minutes statistically significant difference was found ($p = 0.005$). Between the cyclosporine group and the control group GIP levels at 30,

60, 90 and 120 minutes revealed statistically significant difference (respectively $p = 0.04$, $p = 0.049$, $p = 0.040$ and $p = 0.002$). The difference between maximum GLP-1 levels and basal GLP-1 levels (Δ GLP-1), revealed statistically significant difference among three groups ($p < 0.0001$). When compared with cyclosporine group, control and tacrolimus group had a statistically significant difference in the terms of Δ GLP-1 (respectively, $p < 0.0001$ and $p = 0.003$). The difference between the maximum and the basal levels of GIP (Δ GIP) was statistically significant among three groups ($p = 0.029$).

These findings showed that tacrolimus-treated renal transplant patients had preserved GLP-1 response to oral glucose load and cyclosporin-treated ones had higher baseline GLP-1 levels and atrophied and temporally impaired GLP-1 response to the oral glucose load.

Key words: Incretin, GLP-1, GIP, post-transplant diabetes, renal transplantation.

9. KAYNAKLAR

1. Gautier JF, Choukem SP, Girard J. Physiology of incretins (GIP and GLP-1) and abnormalities in type 2 diabetes. *Diabetes Metab* 2008; 34(2): 65-72.
2. Drucker DJ. The biology of incretin hormones. *Cell Metab* 2006; 3(3): 153-65.
3. Verspohl EJ. Novel therapeutics for type 2 diabetes: incretin hormone mimetics (glucagon-like peptide-1 receptor agonists) and dipeptidyl peptidase-4 inhibitors. *Pharmacol Ther* 2009; 124(1): 113-38.
4. Nauck MA, Baller B, Meier JJ. Gastric inhibitory polypeptide and glucagon-like peptide-1 in the pathogenesis of type 2 diabetes. *Diabetes* 2004; 53(3): 190-6.
5. Schirra J, Nicolaus M, Roggel R, Katschinski M, Storr M, Woerle HJ, et al. Endogenous glucagon-like peptide 1 controls endocrine pancreatic secretion and antro-pyloro-duodenal motility in humans. *Gut* 2006; 55(2): 243-51.
6. Nauck MA, Heimesaat MM, Behle K, Holst JJ, Nauck MS, Ritzel R, et al. Effects of glucagon-like peptide 1 on counterregulatory hormone responses, cognitive functions, and insulin secretion during hyperinsulinemic, stepped hypoglycemic clamp experiments in healthy volunteers. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87(3): 1239-46.
7. Toft-Nielsen MB, Madsbad S, Holst JJ. Determinants of the effectiveness of glucagon-like peptide-1 in type 2 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86(8): 3853-60.
8. Zander M, Madsbad S, Madsen JL, Holst JJ. Effect of 6-week course of glucagon-like peptide 1 on glycaemic control, insulin sensitivity, and beta-cell function in type 2 diabetes: a parallel-group study. *Lancet* 2002; 359(9309): 824-30.
9. Nauck MA, Niedereichholz U, Ettler R, Holst JJ, Orskov C, Ritzel R, et al. Glucagon-like peptide 1 inhibition of gastric emptying outweighs its insulinotropic effects in healthy humans. *Am J Physiol* 1997; 273(5 Pt 1): E981-8.
10. Verdich C, Flint A, Gutzwiller JP, Naslund E, Beglinger C, Hellstrom PM, et al. A meta-analysis of the effect of glucagon-like peptide-1 (7-36) amide on ad libitum energy intake in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86(9): 4382-9.
11. Montori VM, Basu A, Erwin PJ, Velosa JA, Gabriel SE, Kudva YC. Posttransplantation diabetes: a systematic review of the literature. *Diabetes Care* 2002; 25(3): 583-92.
12. Davidson J, Wilkinson A, Dantal J, Dotta F, Haller H, Hernandez D, et al. New-onset diabetes after transplantation: 2003 International consensus guidelines. Proceedings of an international expert panel meeting. Barcelona, Spain, 19 February 2003. *Transplantation* 2003; 75(10 Suppl): SS3-24.

13. Johnson JD, Ao Z, Ao P, Li H, Dai LJ, He Z, et al. Different effects of FK506, rapamycin, and mycophenolate mofetil on glucose-stimulated insulin release and apoptosis in human islets. *Cell Transplant* 2009; 18(8): 833-45.
14. Nir T, Melton DA, Dor Y. Recovery from diabetes in mice by beta cell regeneration. *J Clin Invest* 2007; 117(9): 2553-61.
15. Paty BW, Harmon JS, Marsh CL, Robertson RP. Inhibitory effects of immunosuppressive drugs on insulin secretion from HIT-T15 cells and Wistar rat islets. *Transplantation* 2002; 73(3): 353-7.
16. Polastri L, Galbiati F, Bertuzzi F, Fiorina P, Nano R, Gregori S, et al. Secretory defects induced by immunosuppressive agents on human pancreatic beta-cells. *Acta Diabetol* 2002; 39(4): 229-33.
17. Bussiere CT, Lakey JR, Shapiro AM, Korbitt GS. The impact of the mTOR inhibitor sirolimus on the proliferation and function of pancreatic islets and ductal cells. *Diabetologia* 2006; 49(10): 2341-9.
18. Soleimanpour SA, Crutchlow MF, Ferrari AM, Raum JC, Groff DN, Rankin MM, et al., Calcineurin signaling regulates human islet {beta}-cell survival. *J Biol Chem* 2010; 285(51): 40050-9.
19. Report of the expert committee on the diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care* 2003; 26(1): S5-20.
20. Standards of medical care in diabetes--2013. *Diabetes Care* 2013; 36(1): S11-66.
21. Centers for Disease Control and Prevention. National diabetes fact sheet: national estimates and general information on diabetes and prediabetes in the United States. National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases 2011; Available from: <http://diabetes.niddk.nih.gov/dm/pubs/statistics/>.
22. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care* 2013; 36(1): 67-74.
23. Atkinson MA, Maclaren NK. The pathogenesis of insulin-dependent diabetes mellitus. *N Engl J Med* 1994; 331(21): 1428-36.
24. McCulloch DK, Palmer JP. The appropriate use of B-cell function testing in the preclinical period of type 1 diabetes. *Diabet Med* 1991; 8(9): 800-4.
25. Tabak AG, Jokela M, Akbaraly TN, Brunner EJ, Kivimaki M, Witte DR. Trajectories of glycaemia, insulin sensitivity, and insulin secretion before diagnosis of type 2 diabetes: an analysis from the Whitehall II study. *Lancet* 2009; 373(9682): 2215-21.
26. Haffner SM, Miettinen H, Gaskill SP, Stern MP. Decreased insulin secretion and increased insulin resistance are independently related to the 7-year risk of NIDDM in Mexican-Americans. *Diabetes* 1995; 44(12): 1386-91.

27. Grill V. A comparison of brain glucose metabolism in diabetes as measured by positron emission tomography or by arteriovenous techniques. *Ann Med* 1990; 22(3): 171-6.
28. DeFronzo RA, Gunnarsson R, Bjorkman O, Olsson M, Wahren J. Effects of insulin on peripheral and splanchnic glucose metabolism in noninsulin-dependent (type II) diabetes mellitus. *J Clin Invest* 1985; 76(1): 149-55.
29. DeFronzo RA. Lilly lecture 1987. The triumvirate: beta-cell, muscle, liver. A collusion responsible for NIDDM. *Diabetes* 1988; 37(6): 667-87.
30. Ekberg K, Landau BR, Wajngot A, Chandramouli V, Efendic S, Brunengraber H, et al. Contributions by kidney and liver to glucose production in the postabsorptive state and after 60 h of fasting. *Diabetes* 1999; 48(2): 292-8.
31. Intensive blood-glucose control with sulphonylureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patients with type 2 diabetes (UKPDS 33). UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group. *Lancet* 1998; 352(9131): 837-53.
32. Holman RR. Assessing the potential for alpha-glucosidase inhibitors in prediabetic states. *Diabetes Res Clin Pract* 1998; 40: S21-5.
33. Butler AE, Janson J, Bonner-Weir S, Ritzel R, Rizza RA, Butler PC. Beta-cell deficit and increased beta-cell apoptosis in humans with type 2 diabetes. *Diabetes* 2003; 52(1): 102-10.
34. Donath MY, Halban PA. Decreased beta-cell mass in diabetes: significance, mechanisms and therapeutic implications. *Diabetologia* 2004; 47(3): 581-9.
35. Ranganath LR. The entero-insular axis: implications for human metabolism. *Clin Chem Lab Med* 2008; 46(1): 43-56.
36. Nauck MA, Homberger E, Siegel EG, Allen RC, Eaton RP, Ebert R, et al. Incretin effects of increasing glucose loads in man calculated from venous insulin and C-peptide responses. *J Clin Endocrinol Metab* 1986; 63(2): 492-8.
37. Kieffer TJ, McIntosh CH, Pederson RA. Degradation of glucose-dependent insulintropic polypeptide and truncated glucagon-like peptide 1 in vitro and in vivo by dipeptidyl peptidase IV. *Endocrinology* 1995; 136(8): 3585-96.
38. Fehmann HC, Goke R, Goke B. Cell and molecular biology of the incretin hormones glucagon-like peptide-I and glucose-dependent insulin releasing polypeptide. *Endocr Rev* 1995; 16(3): 390-410.
39. Orskov C, Rabenhøj L, Wettergren A, Kofod H, Holst JJ. Tissue and plasma concentrations of amidated and glycine-extended glucagon-like peptide I in humans. *Diabetes* 1994; 43(4): 535-9.

40. Lu M, Wheeler MB, Leng XH, Boyd AE. 3rd, Stimulation of insulin secretion and insulin gene expression by gastric inhibitory polypeptide. *Trans Assoc Am Physicians* 1993; 106: 42-53.
41. Degn KB, Brock B, Juhl CB, Djurhuus CB, Grubert J, Kim D, et al. Effect of intravenous infusion of exenatide (synthetic exendin-4) on glucose-dependent insulin secretion and counterregulation during hypoglycemia. *Diabetes* 2004; 53(9): 2397-403.
42. Drucker DJ. Glucagon-like peptides: regulators of cell proliferation, differentiation, and apoptosis. *Mol Endocrinol* 2003; 17(2): 161-71.
43. Wideman RD, Kieffer TJ. Glucose-dependent insulintropic polypeptide as a regulator of beta cell function and fate. *Horm Metab Res* 2004; 36(11-12): 782-6.
44. Perfetti R, Zhou J, Doyle ME, Egan JM. Glucagon-like peptide-1 induces cell proliferation and pancreatic-duodenum homeobox-1 expression and increases endocrine cell mass in the pancreas of old, glucose-intolerant rats. *Endocrinology* 2000; 141(12): 4600-5.
45. Imeryuz N, Yegen BC, Bozkurt A, Coskun T, Villanueva-Penacarrillo ML, Ulusoy NB. Glucagon-like peptide-1 inhibits gastric emptying via vagal afferent-mediated central mechanisms. *Am J Physiol* 1997; 273(4 Pt 1): G920-7.
46. Naslund E, Bogefors J, Skogar S, Gryback P, Jacobsson H, Holst JJ, et al. GLP-1 slows solid gastric emptying and inhibits insulin, glucagon, and PYY release in humans. *Am J Physiol* 1999; 277(3 Pt 2): R910-6.
47. Oben J, Morgan L, Fletcher J, Marks V. Effect of the entero-pancreatic hormones, gastric inhibitory polypeptide and glucagon-like polypeptide-1(7-36) amide, on fatty acid synthesis in explants of rat adipose tissue. *J Endocrinol* 1991; 130(2): 267-72.
48. Ruiz-Grande C, Alarcon C, Merida E, Valverde I. Lipolytic action of glucagon-like peptides in isolated rat adipocytes. *Peptides* 1992; 13(1): 13-6.
49. Tang-Christensen M, Larsen PJ, Goke R, Fink-Jensen A, Jessop DS, Moller M, et al. Central administration of GLP-1-(7-36) amide inhibits food and water intake in rats. *Am J Physiol* 1996; 271(4 Pt 2): R848-56.
50. Turton MD, O'Shea D, Gunn I, Beak SA, Edwards CM, Meeran K, et al. A role for glucagon-like peptide-1 in the central regulation of feeding. *Nature* 1996; 379(6560): 69-72.
51. Lui EY, Asa SL, Drucker DJ, Lee YC, Brubaker PL. Glucagon and related peptides in fetal rat hypothalamus in vivo and in vitro. *Endocrinology* 1990; 126(1): 110-7.
52. Kastin AJ, Akerstrom V, Pan W. Interactions of glucagon-like peptide-1 (GLP-1) with the blood-brain barrier. *J Mol Neurosci* 2002; 18(1-2): 7-14.

53. Barragan JM, Rodriguez RE, Blazquez E. Changes in arterial blood pressure and heart rate induced by glucagon-like peptide-1-(7-36) amide in rats. *Am J Physiol* 1994; 266(3 Pt 1): E459-66.
54. Nikolaidis LA, Elahi D, Hentosz T, Doverspike A, Huerbin R, Zourelas L, et al. Recombinant glucagon-like peptide-1 increases myocardial glucose uptake and improves left ventricular performance in conscious dogs with pacing-induced dilated cardiomyopathy. *Circulation* 2004; 110(8): 955-61.
55. Bose AK, Mocanu MM, Carr RD, Brand CL, Yellon DM. Glucagon-like peptide 1 can directly protect the heart against ischemia/reperfusion injury. *Diabetes* 2005; 54(1): 146-51.
56. Bollag RJ, Zhong Q, Phillips P, Min L, Zhong L, Cameron R, et al. Osteoblast-derived cells express functional glucose-dependent insulinotropic peptide receptors. *Endocrinology* 2000; 141(3): 1228-35.
57. Tsukiyama K, Yamada Y, Yamada C, Harada N, Kawasaki Y, Ogura M, et al. Gastric inhibitory polypeptide as an endogenous factor promoting new bone formation after food ingestion. *Mol Endocrinol* 2006; 20(7): 1644-51.
58. Edwards CM, Todd JF, Mahmoudi M, Wang Z, Wang RM, Ghattei MA, et al. Glucagon-like peptide 1 has a physiological role in the control of postprandial glucose in humans: studies with the antagonist exendin 9-39. *Diabetes* 1999; 48(1): 86-93.
59. Schirra J, Sturm K, Leicht P, Arnold R, Goke B, Katschinski M. Exendin(9-39)amide is an antagonist of glucagon-like peptide-1(7-36)amide in humans. *J Clin Invest* 1998; 101(7): 1421-30.
60. Baggio L, Kieffer TJ, Drucker DJ. Glucagon-like peptide-1, but not glucose-dependent insulinotropic peptide, regulates fasting glycemia and nonenteral glucose clearance in mice. *Endocrinology* 2000; 141(10): 3703-9.
61. Lewis JT, Dayanandan B, Habener JF, Kieffer TJ. Glucose-dependent insulinotropic polypeptide confers early phase insulin release to oral glucose in rats: demonstration by a receptor antagonist. *Endocrinology* 2000; 141(10): 3710-6.
62. Tseng CC, Kieffer TJ, Jarboe LA, Usdin TB, Wolfe MM. Postprandial stimulation of insulin release by glucose-dependent insulinotropic polypeptide (GIP). Effect of a specific glucose-dependent insulinotropic polypeptide receptor antagonist in the rat. *J Clin Invest* 1996; 98(11): 2440-5.
63. Unger RH, Orci L. Glucagon and the A cell: physiology and pathophysiology (first two parts). *N Engl J Med* 1981; 304(25): 1518-24.
64. Rizza R, Verdonk C, Miles J, Service FJ, Gerich J. Effect of intermittent endogenous hyperglucagonemia on glucose homeostasis in normal and diabetic man. *J Clin Invest* 1979; 63(6): 1119-23.

65. DeFronzo RA. Pharmacologic therapy for type 2 diabetes mellitus. *Ann Intern Med* 2000; 133(1): 73-4.
66. Hawkins, D, Bradberry JC, Cziraky MJ, Talbert RL, Bartels DW, Cervený JD. National Pharmacy Cardiovascular Council treatment guidelines for the management of type 2 diabetes mellitus: toward better patient outcomes and new roles for pharmacists. *Pharmacotherapy* 2002; 22(4): 436-44.
67. Nauck M, Stockmann F, Ebert R, Creutzfeldt W. Reduced incretin effect in type 2 (non-insulin-dependent) diabetes. *Diabetologia* 1986; 29(1): 46-52.
68. Mannucci E, Ognibene A, Cremasco F, Bardini G, Mencucci A, Pierazzuoli E, et al. Glucagon-like peptide (GLP)-1 and leptin concentrations in obese patients with Type 2 diabetes mellitus. *Diabet Med* 2000; 17(10): 713-9.
69. Knop FK, Vilsboll T, Hojberg PV, Larsen S, Madsbad S, Volund A, et al. Reduced incretin effect in type 2 diabetes: cause or consequence of the diabetic state? *Diabetes* 2007; 56(8): 1951-9.
70. U.K. prospective diabetes study 16. Overview of 6 years' therapy of type II diabetes: a progressive disease. U.K. Prospective Diabetes Study Group. *Diabetes* 1995; 44(11): 1249-58.
71. Rossetti L, Shulman GI, Zawulich W, DeFronzo RA. Effect of chronic hyperglycemia on in vivo insulin secretion in partially pancreatectomized rats. *J Clin Invest* 1987; 80(4): 1037-44.
72. McGarry JD. Banting lecture 2001: dysregulation of fatty acid metabolism in the etiology of type 2 diabetes. *Diabetes* 2002; 51(1): 7-18.
73. Phillips WT, Schwartz JG, McMahan CA. Rapid gastric emptying of an oral glucose solution in type 2 diabetic patients. *J Nucl Med* 1992; 33(8): 1496-500.
74. Ahren B, Larsson H. Impaired glucose tolerance (IGT) is associated with reduced insulin-induced suppression of glucagon concentrations. *Diabetologia* 2001; 44(11): 1998-2003.
75. Gosmanova EO, Tangpricha V, Gosmanov AR. Endocrine-Metabolic Pathophysiology and Treatment Approaches Following Kidney Transplantation: a Review. *Endocr Pract* 2012; 1-29.
76. Kuo HT, Sampaio MS, Vincenti F, Bunnapradist S. Associations of pretransplant diabetes mellitus, new-onset diabetes after transplant, and acute rejection with transplant outcomes: an analysis of the Organ Procurement and Transplant Network/United Network for Organ Sharing (OPTN/UNOS) database. *Am J Kidney Dis* 2010; 56(6): 1127-39.
77. Kasiske BL, Snyder JJ, Gilbertson D, Matas AJ. Diabetes mellitus after kidney transplantation in the United States. *Am J Transplant* 2003; 3(2): 178-85.

78. Pageaux GP, Faure S, Bouyabrine H, Bismuth M, Assenat E. Long-term outcomes of liver transplantation: diabetes mellitus. *Liver Transpl* 2009; 15(2): S79-82.
79. Bedanova H, Ondrasek J, Cerny J, Orban M, Spinarova L, Hude P, et al. Impact of diabetes mellitus on survival rates after heart transplantation. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub* 2009; 153(4): 283-7.
80. KDIGO clinical practice guideline for the care of kidney transplant recipients. *Am J Transplant* 2009; 9(3): S1-155.
81. Wilkinson A, Davidson J, Dotta F, Home PD, Keown P, Kiberd B, et al. Guidelines for the treatment and management of new-onset diabetes after transplantation. *Clin Transplant* 2005; 19(3): 291-8.
82. Lane JT, Dagogo-Jack S. Approach to the patient with new-onset diabetes after transplant (NODAT). *J Clin Endocrinol Metab* 2011; 96(11): 3289-97.
83. Pham PT, Pham PC, Lipshutz GS, Wilkinson AH. New onset diabetes mellitus after solid organ transplantation. *Endocrinol Metab Clin North Am* 2007; 36(4): 873-90; vii.
84. Sharif A, Baboolal K. Risk factors for new-onset diabetes after kidney transplantation. *Nat Rev Nephrol* 2010; 6(7): 415-23.
85. Woodle ES, First MR, Pirsch J, Shihab F, Gaber AO, Van Veldhuisen P. A prospective, randomized, double-blind, placebo-controlled multicenter trial comparing early (7 day) corticosteroid cessation versus long-term, low-dose corticosteroid therapy. *Ann Surg* 2008; 248(4): 564-77.
86. Hjelmestaeth J, Hartmann A, Kofstad J, Stenstrom J, Leivestad T, Egeland T, et al. Glucose intolerance after renal transplantation depends upon prednisolone dose and recipient age. *Transplantation* 1997; 64(7): 979-83.
87. Clore JN, Thurby-Hay L. Glucocorticoid-induced hyperglycemia. *Endocr Pract* 2009; 15(5): 469-74.
88. Kauh EA, Mixson LA, Shankar S, McCarthy J, Maridakis V, Morrow L, et al., Short-term metabolic effects of prednisone administration in healthy subjects. *Diabetes Obes Metab* 2011; 13(11): 1001-7.
89. Markell M. New-onset diabetes mellitus in transplant patients: pathogenesis, complications, and management. *Am J Kidney Dis* 2004; 43(6): 953-65.
90. Dieterle CD, Schmauss S, Veitenhansl M, Gutt B, Illner WD, Land W, et al. Glucose metabolism after pancreas transplantation: cyclosporine versus tacrolimus. *Transplantation* 2004; 77(10): 1561-5.
91. Redmon JB, Olson LK, Armstrong MB, Greene MJ, Robertson RP. Effects of tacrolimus (FK506) on human insulin gene expression, insulin mRNA levels, and insulin secretion in HIT-T15 cells. *J Clin Invest* 1996; 98(12): 2786-93.

92. Ozbay LA, Smidt K, Mortensen DM, Carstens J, Jorgensen KA, Rungby J. Cyclosporin and tacrolimus impair insulin secretion and transcriptional regulation in INS-1E beta-cells. *Br J Pharmacol* 2011; 162(1): 136-46.
93. Heit JJ, Apelqvist AA, Gu X, Winslow MM, Neilson JR, Crabtree GR, et al. Calcineurin/NFAT signalling regulates pancreatic beta-cell growth and function. *Nature* 2006; 443(7109): 345-9.
94. Rostambeigi N, Lanza IR, Dzeja PP, Deeds MC, Irving BA, Reddi HV, et al. Unique cellular and mitochondrial defects mediate FK506-induced islet beta-cell dysfunction. *Transplantation* 2011; 91(6): 615-23.
95. Plaumann S, Blume R, Borchers S, Steinfelder HJ, Knepel W, Oetjen E. Activation of the dual-leucine-zipper-bearing kinase and induction of beta-cell apoptosis by the immunosuppressive drug cyclosporin A. *Mol Pharmacol* 2008; 73(3): 652-9.
96. Sulanc E, Lane JT, Puumala SE, Groggel GC, Wrenshall LE, Stevens RB. New-onset diabetes after kidney transplantation: an application of 2003 International Guidelines. *Transplantation* 2005; 80(7): 945-52.
97. Knoll GA, Bell RC. Tacrolimus versus cyclosporin for immunosuppression in renal transplantation: meta-analysis of randomised trials. *BMJ* 1999; 318(7191): 1104-7.
98. Bloom RD, Rao V, Weng F, Grossman RA, Cohen D, Mange KC. Association of hepatitis C with posttransplant diabetes in renal transplant patients on tacrolimus. *J Am Soc Nephrol* 2002; 13(5): 1374-80.
99. Subramanian S, Trencle DL. Immunosuppressive agents: effects on glucose and lipid metabolism. *Endocrinol Metab Clin North Am* 2007; 36(4): 891-905; vii.
100. Johnston O, Rose CL, Webster AC, Gill JS. Sirolimus is associated with new-onset diabetes in kidney transplant recipients. *J Am Soc Nephrol* 2008; 19(7): 1411-8.
101. Pham PT, Pham PM, Pham SV, Pham PA, Pham PC. New onset diabetes after transplantation (NODAT): an overview. *Diabetes Metab Syndr Obes* 2011; 4: 175-86.
102. Yu SH, Cho B, Lee Y, Kim E, Choi SH, Lim S, et al. Insulin secretion and incretin hormone concentration in women with previous gestational diabetes mellitus. *Diabetes Metab J* 2011; 35(1): 58-64.
103. Falken Y, Hellstrom PM, Holst JJ, Naslund E. Changes in glucose homeostasis after Roux-en-Y gastric bypass surgery for obesity at day three, two months, and one year after surgery: role of gut peptides. *J Clin Endocrinol Metab* 2011; 96(7): 2227-35.
104. Muniyappa R, Lee S, Chen H, Quon MJ. Current approaches for assessing insulin sensitivity and resistance in vivo: advantages, limitations, and appropriate usage. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2008; 294(1): E15-26.

105. Henchoz E, D'Alessio DA, Gillet M, Halkic N, Matzinger O, Goy JJ, et al. Impaired insulin response after oral but not intravenous glucose in heart- and liver-transplant recipients. *Transplantation* 2003; 76(6): 923-9.
106. Vilsboll T, Krarup T, Deacon CF, Madsbad S, Holst JJ. Reduced postprandial concentrations of intact biologically active glucagon-like peptide 1 in type 2 diabetic patients. *Diabetes* 2001; 50(3): 609-13.
107. Vilsboll T, Krarup T, Sonne J, Madsbad S, Volund A, Juul AG, et al. Incretin secretion in relation to meal size and body weight in healthy subjects and people with type 1 and type 2 diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88(6): 2706-13.
108. Vollmer K, Holst JJ, Baller B, Ellrichmann M, Nauck MA, Schmidt WE, et al. Predictors of incretin concentrations in subjects with normal, impaired, and diabetic glucose tolerance. *Diabetes* 2008; 57(3): 678-87.
109. Ryskjaer J, Deacon CF, Carr RD, Krarup T, Madsbad S, Holst J, et al. Plasma dipeptidyl peptidase-IV activity in patients with type-2 diabetes mellitus correlates positively with HbA_{1c} levels, but is not acutely affected by food intake. *Eur J Endocrinol* 2006; 155(3): 485-93.
110. Carr RD, Larsen MO, Jelic K, Lindgren O, Vikman J, Holst JJ, et al. Secretion and dipeptidyl peptidase-4-mediated metabolism of incretin hormones after a mixed meal or glucose ingestion in obese compared to lean, nondiabetic men. *J Clin Endocrinol Metab* 2010; 95(2): 872-8.
111. Bagger JJ, Knop FK, Lund A, Vestergaard H, Holst JJ, Vilsboll T. Impaired regulation of the incretin effect in patients with type 2 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab* 2011; 96(3): 737-45.
112. Prevost G, Ducrotte P, Cailleux A, Khalfi K, Basuyau JP, Lefebvre H, et al. Glucose-induced incretin hormone release and insulin sensitivity are impaired in patients with idiopathic gastroparesis: results from a pilot descriptive study. *Neurogastroenterol Motil* 2013; 25(8): 694-9.
113. Jensen DH, Aaboe K, Henriksen JE, Volund A, Holst JJ, Madsbad S, et al. Steroid-induced insulin resistance and impaired glucose tolerance are both associated with a progressive decline of incretin effect in first-degree relatives of patients with type 2 diabetes. *Diabetologia* 2012; 55(5): 1406-16.
114. Meier JJ, Nauck MA, Kranz D, Holst JJ, Deacon CF, Gaeckler D, et al. Secretion, degradation, and elimination of glucagon-like peptide 1 and gastric inhibitory polypeptide in patients with chronic renal insufficiency and healthy control subjects. *Diabetes* 2004; 53(3): 654-62.