



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



**TİP 1 VE TİP 2 DİYABETİK HASTALARDA SRC VE SRC'LA
İLİŞKİLİ MAPK VE STAT3 SİNYAL YOLAKLARININ
REGÜLASYONUNUN ARAŞTIRILMASI**

Günsel KİRMAN
DOKTORA TEZİ

HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Engin DEVECİ

DİYARBAKIR

2019



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



**TİP 1 VE TİP 2 DİYABETİK HASTALARDA SRC VE SRC'LA
İLİŞKİLİ MAPK VE STAT3 SİNYAL YOLAKLARININ
REGÜLASYONUNUN ARAŞTIRILMASI**

Günsel KİRMAN
DOKTORA TEZİ

HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Engin DEVECİ

DİYARBAKIR

2019



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



ONAY

Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü **Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı** doktora öğrencisi **Günel KİRMAN**'ın hazırladığı “**Tip 1 ve Tip 2 diyabetik hastalarda src ve src’la ilişkili mapk ve stat3 sinyal yollarının regülasyonunun araştırılması**” başlıklı tez Dicle Üniversitesi Lisansüstü Eğitim- Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca kapsam ve bilimsel kalite yönünden değerlendirilerek doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

Tarih : / / 20..

Danışman: **Prof. Dr. Engin DEVECİ**

Jüri üyeleri

İmza

Jüri başkanı

.....

Üye

.....

Üye

.....

Üye

.....

Üye

.....

Bu tez Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu’nun ... / ... / ... / ve ... sayılı kararıyla onaylanmıştır.

... / ... / ...

Prof. Dr. Hakkı Murat BİLGİN

Dicle Üniversitesi

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını ve tezimi Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kılavuzu standartlarına uygun bir şekilde hazırladığımı beyan ederim.

.../... /201..

Günsel KİRMAN

İmza

TEŞEKKÜR

Tezimin konusunun belirlenmesinde ve yürütülmesinde büyük katkıları olan, danışmanım olmasından gurur duyduğum, iyi bir akademisyen olma yolunda beni sürekli motive eden değerli ve saygıdeğer danışman hocam Prof. Dr. Engin DEVECİ'ye başta olmak üzere,

Çalışmalarım esnasında ve daha sonraki değerlendirme aşamalarında hem bilgi ve deneyimlerini hem de laboratuvar ortamını paylaşan, sıcak, samimi ve herkese örnek olması gereken çalışma azmi ve disiplinine sahip olan saygıdeğer hocam Doç. Dr. Sevgi İRTEGÜN KANDEMİR' e,

Lisansüstü eğitimimde bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan saygıdeğer hocalarım; A.B.D. Başkanı Prof. Dr. Murat AKKUŞ' a ve Prof. Dr. Yusuf NERGİZ' e,

Hasta kan örneklerinin temininde bana her türlü yardımlarını sağlayan Dr. Öğr. Üyesi Zafer PEKKOLAY ve Doç. Dr. Berçem AYÇİÇEK' e,

Manevi desteklerini hissettirdikleri için Arş. Gör. Recep Hakkı KOCA' ya, Gülsüm PEKTANÇ' a, Fırat AŞIR' a, Seval KAYA' ya, ,Gamze ERDOĞAN' a ve Fırat ŞAHİN' e,

Her anımda desteğini ve varlığını hissettiren eşim Faruk KİRMAN ve kızım İpek KİRMAN' a,

Bu tez, Dicle Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu Başkanlığı tarafından **TIP.18.032** Numaralı proje ile desteklenmiştir.

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

BEYAN	i
TEŞEKKÜR	ii
İÇİNDEKİLER DİZİNİ.....	iii
KISALTMALAR VE SİMGELER	v
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	vii
RESİMLER LİSTESİ	viii
TABLolar LİSTESİ	xi
1.1. TÜRKÇE ÖZET	1
1.2. ABSTRACT	3
2. GİRİŞ ve AMAÇ.....	5
3. GENEL BİLGİLER	8
3.1. Diyabetin Tanımı.....	8
3.2. Epidemiyoloji	8
3.3. Tarihçesi	9
3.4. Diyabetin Sınıflandırılması	11
3.5. Diyabet Tipleri	11
3.5.1. Tip 1 diyabet.....	12
3.5.2. Tip 1 diyabetin özellikleri	13
3.5.3. Tip 1 diyabetin patogenezi.....	13
3.5.4. Komplikasyonları	17
3.5.5. Teşhis	17
3.5.6. Tedavi.....	18
3.6. Tip 2 diyabet.....	19
3.6.1. Tip 2 diyabetin özellikleri	20
3.6.2. Patogenezi.....	20
3.6.3. Teşhisi	22
3.6.4. Tedavi.....	24
3.7. PBMC Hücreleri.....	24
3.8. Mitojenle-Etkinleşen Protein Kinaz (MAPK)	24
3.9. STAT3.....	26
3.10. Src family kinase	27
4. GEREÇ VE YÖNTEM	28
4.1. Western blot	29

4.1.1.	Ficoll-Paque yöntemi ile periferik kandan PBMC' lerin izolasyonu	29
4.1.2.	Western Blot için PBMC Hücre Lizatlarının Hazırlanması.....	32
4.1.3.	Western blot için protein örneklerinin jelde ayrımı ve membrana transferi	33
4.2.	PBMC Hücrelerinin İmmünohistokimyasal Analizi	37
5.	BULGULAR	39
5.1.	Western Blot Bulgular	39
5.2.	İmmünohistokimyasal Bulgular	42
6.	TARTIŞMA.....	49
7.	SONUÇ.....	54
8.	KAYNAKLAR.....	55
9.	ÖZGEÇMİŞ.....	66
10.	EKLER.....	68
10.1.	Etik kurul onayı.....	68
11.	ORJİNALLİK RAPORU.....	69

KISALTMALAR VE SİMGELER

SRC	: Proto-onkogen Tirozin-Protein Kinaz
STAT3	: Signal transducer and activator of transcription 3
PBS	: Phosphate Buffered Saline
PBMC	: Periferik kan mononükleer hücre
JNK	: c-Jun N-terminal kinaz
MAPK	: Mitogen activated protein kinase
ERK1/2	: Extracellular signal-regulated kinaz
BSA	: Bovine Serum Albumine
DM	: Diabetes Mellitus
PVDF	: Polivinilin Florit
WHO	: World Health Organization
IDF	: International Diabetes Federation
IGT	: Impaired Glucose Tolerance
APG	: Fasting Plasma Glucose
OGGT	: Oral Glucose Tolerance Test
GDM	: Gestastional Diabetes Mellitus
CM	: Cow Milk Proteins
HLA	: Human Leukocyte Antigen
IDDM	: İnsülin-Dependent Diabetes Mellitus
EDIC	: Diabetes Intervation and Complications
ES	: Embryonic Stem Cells

IPS : Induced Pluripotent Stem Cell

PS : Pancreatic Cells

T2DM : Type 2 Diabetes Mellitus

T1DM : Type 1 Diabetes Mellitus



ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1: Kontrol ve Tip 1 Diyabet Hastalarının Pbmcc Hücrelerinde Stat-3 fosforilasyon düzeyleri baskılanmıştır. Hücre lizatında STAT-3 ekspresyonu anti-STAT-3 antikoru kullanılarak araştırıldı. STAT-3 aktivitesi (Tyr-705 fosforilasyonu) tyr-705 in fosforilasyonu için spesifik olan antikor kullanılarak Western Blotla araştırıldı. β -actin yükleme kontrolü olarak kullanıldı.39

Şekil 2 : Tip-2 Diyabet Hastalarının Pbmcc Hücrelerinde Src Fosforilasyon Düzeyleri 40

Şekil 3 : Tip 2 Diyabet Hastalarının Pbmcc Hücrelerinde P38 Fosforilasyon Düzeyleri baskılanmıştır. Hücre lizatında P38 ekspresyonu anti-p38 antikoru kullanılarak araştırıldı. P38 aktivitesi (Tyr-180 fosforilasyonu) tyr-180 nin fosforilasyonu için spesifik olan antikor kullanılarak Western Blotla araştırıldı. β -actin yükleme kontrolü olarak kullanıldı.....41

Şekil 4 : Kontrol ve Tip-1 Diyabet Hastalarının Pbmcc Hücrelerinde Erk (P44)'ın Hem Ekspresyon Hem de Fosforilasyon Düzeyleri baskılanmıştır. Hücre lizatında ERK ekspresyonu anti-ERK antikoru kullanılarak araştırıldı. ERK 1/2 aktivitesi (Tyr-202/Tyr-204 fosforilasyonu) tyr-202 ve 204'ün fosforilasyonu için spesifik olan antikor kullanılarak Western Blotla araştırıldı. β -actin yükleme kontrolü olarak kullanıldı.42

RESİMLER LİSTESİ

Resim 1: Class II tip laminar kabinde çalışmanın yapılması	30
Resim 2: Santrifüjden sonra meydana gelen tabakalanma.....	31
Resim 3 : Çöken Hücre Peleti	32
Resim 4 : Örneklerin Protein Değerlerinin Ölçümü.....	33
Resim 5 : Örneklerin membrana yüklenmesi	34
Resim 6 : Yürütme İşlemi	34
Resim 7 : Örneklerin Yürütülmesinde Kullanılan Cihaz	35
Resim 8 : Proteinlerin Ayrıştığı Jelin Alınması	35
Resim 9 : Jelin Membrana Transferi	36
Resim 10 : İmmünohistokimya Alkol Serilerinden Geçirilmesi	38
Resim 11 : Kontrol grubu : Lenfosit ve monosit hücrelerinde hem nükleus hem de stoplazmada Stat-3 ekspresyonu pozitif(sarı ok), nötrofillerde(kırmızı ok) ve bazı trombosit pulcuklarında Stat-3 ekspresyonu belirgin idi. Stat-3 immünohistokimya boyama bar 20 µm	42
Resim 12 : Tip 1 diyabet grubu : Lenfosit hücrelerinin bazılarında nükleus kaybı, hücre membranında pozitif Stat-3 ekspresyonu, plazma hücrelerine benzer B tipi lenfosit hücrelerinde nükleus periferde hücre membranı ile birlikte Stat-3 pozitif(sarı ok) reaksiyonu gösterdi. Nötrofil hücrelerinde piknotik nükleus yapılarıyla birlikte Stat-3 ekspresyonunda artış gözlemlendi. Lökositler yapıların arasında kümeler halinde soliter dağılmış trombositlerde Stat-3 ekspresyonunda artış görüldü. Stat-3 immünohistokimya boyama bar 20 µm	43
Resim 13 : Tip 2 diyabet grubu : Bu gruba ait immünohistokimyasal incelemede lenfosit(sarı ok) ve monosit(mor ok) hücrelerinde negatif Stat-3 ekspresyonu, nötrofillerde(kırmızı ok) piknotik nükleus yapıları ve hücre membranında negatif Stat-3 ekspresyonu, bazı nükleus kaybı görülen lökositler yapıların membranında ve küçük gruplar halindeki plateletlerde hafif düzeyde Stat-3 ekspresyonu görüldü. Stat-3 immünohistokimya boyama bar 20 µm.....	43
Resim 14 : Kontrol grubu : Lenfosit(sarı ok) ve monosit(mor ok) hücrelerinde nükleus stoplazmaya yakın büyüklükte olup hem nükleus hem de stoplazmada Src	

ekspresyonu negatif olarak görüldü. Bazı soliter plateletlerde(yeşil ok) ise Src ekspresyonu orta düzeyde izlendi. Src immünohistokimya boyama bar 20 µm.44

Resim 15 : Tip 2 diyabet grubu : Lenfosit(sarı ok) ve monosit(mor ok) hücrelerinin hem nükleuslarında hem de stoplazmalarında Src ekspresyonu pozitif, nötrofillerde ve diğer granüler lökositlerde nükleuslarda dejeneratif değişiklikler(mavi ok) gözlenirken özellikle nötrofil nükleuslarında belirgin bir küçülme ve Src ekspresyonunda artış olduğu görüldü. Bununla beraber apoptotik indüksiyonla birlikte inflamasyonun da önemli ölçüde arttığı görülmüştür. Src immünohistokimya boyama bar 20 µm45

Resim 16 : Kontrol grubu : Bu grubun immünohistokimyasal kesitinde lenfosit ve monositlerin normal olduğu, P38 ekspresyonunun hem nükleusta hem de stoplazmada negatif ekspresyon gösterdiği, bazı nötrofil nükleuslarında ise hafif düzeyde P38 ekspresyonunun(kırmızı ok) olduğu görüldü. P38 immünohistokimya boyama bar 20 µm46

Resim 17 : Tip 1 diyabet grubu : Bu grupta kontrol grubuna göre lenfosit ve monosit hücrelerinin bazılarında hafif düzeyde P38 ekspresyonu, bazı nötrofil hücrelerinde ise P38 ekspresyon özellikle nükleuslarda belirgin(kırmızı ok) olduğu görüldü. P38 immünohistokimya boyama bar 20 µm46

Resim 18 : Tip 2 diyabet grubu : Lenfositlerde(sarı ok) ve monositlerde(mor ok) P38 ekspresyonunda artış, bazı dejenere olmuş nötrofil nükleuslarında(kırmızı ok) ve plateletlerde(yeşil ok) P38 ekspresyonu belirgin olarak izlendi. P38 immünohistokimya boyama bar 20 µm47

Resim 19 : Kontrol grubu : Bu grubun immünohistokimya kesitinde lenfosit, monosit, nötrofil ve plateletlerde negatif Erk 1/2 ekspresyonu görüldü. Erk 1/2 immünohistokimya boyama bar 20 µm47

Resim 20 : Tip 1 diyabet grubu . Lenfosit(sarı ok) ve monosit(mor ok) nükleuslarında piknozis ve nötrofillerde uzun çubuk şeklinde nukleus dejenerasyonu(kırmızı ok) pozitif Erk 1/2 ekspresyonu ayrıca diffuz bir biçimde yayılmış küçük trombosit pulcuklarında pozitif Erk 1/2 ekspresyonunda artış gözlemlendi. Erk 1/2 immünohistokimya boyama bar 20 µm48

Resim 21 : Tip 2 diyabet grubu : Bu gruba ait immünohistokimyasal incelemede lenfosit ve monositlerde negatif Erk 1/2 ekspresyonu, bazı nötrofillerin nükleer

yapılarında pozitif Erk $\frac{1}{2}$ ekspresyonu gözlenirken diğer nütrofil(kırmızı ok) ve granüllü lökositlerde negatif Erk $\frac{1}{2}$ ekspresyonu gözlendi. Erk $\frac{1}{2}$ immünohistokimya boyama bar 20 μ m 48



TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 1: Tip1, Tip 2 ve Kontrol gruplarına ait yaş ve cinsiyet bilgileri	28
Tablo 2: Primer Antikorların Listesi	37
Tablo 3: Sekonder antikorların listesi.....	37



Tip 1 ve Tip 2 diyabetik hastalarda src ve src'la ilişkili mapk ve stat3 sinyal yollarının regülasyonunun araştırılması

Öğrencinin adı ve soyadı: Günsel Kirman

Danışman: Prof. Dr. Engin DEVECİ

Anabilim Dalı: Histoloji ve Embriyoloji

1.1.TÜRKÇE ÖZET

Amaç: Amacımız, Tip1 ve Tip2 diyabet hastalarında hücre dejenerasyonlarına ve ölümüne neden olan Src ve Src' la ilişkili MapK VE STAT-3 sinyal yollarının araştırılması, bu proteazlarda meydana gelen ekspresyon düzeylerinin belirlenmesidir.

Gereç ve Yöntem: 15'er Tip1, Tip2 diyabet hastaları ve sağlıklı bireylerden toplanan 20 ml total kandan periferik kan mononükleer hücreleri izole edildi. Western Blot ve İmmünohistokimyasal yöntemler kullanılarak MapK'lar, Src ve Stat-3 aktiviteleri araştırıldı.

Bulgular: Tip1 diyabet grubunda Lenfosit, B tipi lenfosit, nötrofil ve trombositlerde Stat-3 ekspresyonunda artış, lenfositlerin çoğunda Src ekspresyonu negatif bazı nötrofillerin nükleuslarında pozitif görüldü. P38 ekspresyonu nötrofil hücrelerinin nükleuslarında belirgin, lenfosit ve monosit hücrelerinin bazılarında hafif gözlemlendi. Lenfosit ve monosit nükleuslarında ve küçük trombosit pulcuklarında Erk ½ ekspresyonunda pozitif artış gözlemlendi.

Tip2 diyabet grubunda ise lenfosit, monosit ve nötrofillerde negatif, bazı lökositler yapıların membranında ve trombositlerde hafif düzeyde Stat-3 ekspresyonu görüldü. Lenfosit, monosit ve özellikle nötrofil nükleus ve stoplazmalarında Src ekspresyonu pozitif görüldü. Lenfositler, monositler, bazı dejenere olmuş nötrofil nükleuslarında ve trombosit pulcuklarında P38 ekspresyonu artış göstermiştir. Bazı nötrofillerin nükleer yapılarında pozitif Erk ½ ekspresyonu gözlenirken lenfosit, monosit, diğer nötrofil ve granüllü lökositlerde negatif gözlemlendi.

Sonuç: Kontrol grubu ile kıyaslandığında Tip1 hastalarında Tip2'nin aksine Stat-3 ekspresyonunun arttığı ve fosforilasyonun baskılandığı görölmüşür. Src ve P38 için kontrol ve Tip1 grubunda ekspresyon düzeyinin baskılanıp fosforilasyonun arttığı izlenirken, Tip2 grubunda Src ve P38 fosforilasyonunun baskılanıp ekspresyonun arttığı gözlemlenmiştir. Erk ½ ekspresyonu Tip1 ve Kontrol grubunda artıp, fosforilasyonu baskılanırken,Tip2 grubunda ekspresyon ve fosforilasyon düzeyinin baskılandığı görölmüşür. Hücresel olarakta sonuçlar desteklenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Tip1 diyabet, Tip2 diyabet, PBMC, Ekspresyon, Fosforilasyon



Investigation of the regulation of SRC and SRC-related MAPK and STAT3 signaling pathways in Type 1 and Type 2 diabetic patients.

Student's surname and name: KIRMAN Günsel

Advisor: DEVECİ Engin, PhD, Prof.

Department: Histology and Embryology

1.2.ABSTRACT

Aim: Our aim is to investigate the Src and Src-related MapK and STAT-3 signaling pathways that cause cell degeneration and death in Type 1 and Type 2 diabetes patients, and to determine the expression levels occurring in these proteases.

Material and methods: Peripheral blood mononuclear cells were isolated from 20 ml total blood collected from 15 patients with Type 1, Type 2 diabetes and healthy individuals. MapKs, Src and Stat-3 activities were investigated by using Western blot and immunohistochemical methods.

Results: An increase in Stat-3 expression in lymphocytes, B-type lymphocytes, neutrophils and platelets in the type 1 diabetes group was found positive in the nucleus of some neutrophils negative for Src expression in most lymphocytes. The expression of P38 was evident in the nuclei of neutrophil cells and mild in some of the lymphocyte and monocyte cells. A positive increase in Erk ½ expression was observed in lymphocytes and monocyte nuclei and small platelet platelets.

In Type 2 diabetes, lymphocytes, monocytes and neutrophils were negative, while some leukocytic structures were found to have a slight Stat-3 expression in the membranes and platelets. Src expression was found positive in lymphocytes, monocytes and especially neutrophil nuclei and its stains. P38 expression in lymphocytes, monocytes, some degenerated neutrophil nuclei, and platelet scales increased. Positive expression of Erk ½ was observed in nuclear structures of some neutrophils, but negative for lymphocytes, monocytes, other neutrophils and granular leukocytes.

Conclusion: Contrary to type 2, Stat-3 expression increased and phosphorylation was suppressed in Type 1 patients compared to control group. For Src and P38, it was observed that the expression level was suppressed and phosphorylation increased in the control and Tip1 groups, whereas in the Type 2 group Src and P38 phosphorylation was suppressed and expression increased. While expression of Erk ½ was increased in Type 1 and Control groups, phosphorylation was suppressed and expression and phosphorylation level were suppressed in Type 2 group. Cellular results are supported.

Keywords: Type 1 diabetes, Type 2 diabetes, PBMC, Expression, Phosphorylation



2. GİRİŞ ve AMAÇ

Diabetes Mellitus (DM), insülin sekresyonu, insülin aktivasyonu veya her ikisinde birden meydana gelen defektler sonucu karbonhidrat, yağ ve protein metabolizmasındaki bozukluklarla karakterize olan, kronik hiperglisemi sonucu meydana gelen ve çoklu etiyolojik nedenlerle tanımlanan metabolik bir bozukluktur (1).

Son yıllarda insanların davranışlarında ve yaşam tarzlarında meydana gelen değişiklikler dünya çapında diyabetin insidansında çarpıcı bir biçimde artışa neden olmuştur. Genetik duyarlılığın yanı sıra, özellikle birtakım etnik gruplarda tip 2 diyabet, durağan yaşam tarzı, yüksek miktarda zengin beslenme ve obezite gibi çeşitli çevresel ve davranışsal faktörlerden de kaynaklanmaktadır (2). Diyabet ciddi ve giderek artan bir küresel sağlık yüküdür ve yaygınlığına dair tahminler, diyabete olan eğilimlerin gözlemlenmesinin ve kaynakların uygun şekilde dağıtılmasının önemli olduğunu göstermektedir. Bütün bunların yanı sıra sağlığı geliştirici yöntemlerin uygulanması ve diyabetin önlenmesi için gerekli adımların atılması da önem taşımaktadır (3). 2015 yılında yapılan bir çalışmaya göre, 20-79 yaş arası diyabetli nüfusunun 415 milyon, diyabete bağlı ölümlerinse yaklaşık beş milyon olduğu tahmin edilmiştir. Ayrıca diyabetle ilişkili küresel sağlık harcamalarının toplam 673 milyar ABD doları olduğu sanılmaktadır (4).

Diyabetli hastaların dörtte üçü yani %75'i orta ve düşük gelirli ülkelerde yaşamaktadır. 20-79 yaş arası diyabetli kişilerin sayısının 2040 yılında 642 milyona ulaşabileceği tahmin edilmektedir. Diyabetin epidemiyolojisindeki en önemli gelişmelerden biri Dünya Sağlık Örgütü (WHO) ve U.S. NDDG tarafından yapılan bozulmuş glikoz toleransı ve diyabetin teşhisi için standart kriterlerin belirlenmesidir (5). Geniş alanı, gelişmekte olan ekonomisi ve 65 milyondan fazla nüfusu olan Türkiye diyabetle ilgili yeterli bilince sahip değildir. Türkiye'de diyabet tarama programlarının uygulanması 1940'lara dayanmaktadır ve şimdiye kadar 1 milyon insan bu taramadan faydalanmıştır. Fakat çalışmalar arasındaki metodoloji farklılığı ve standardizasyon eksikliğinden dolayı diyabetin prevalansında zaman içinde bir bölgeden bir bölgeye hatta aynı bölgede bile dikkate değer varyasyonlar tespit

edilmiştir (6). 1999'dan beri WHO Diabetes mellitus'u, açlık şekeri ile iki saat sonra 75 gr yüklenmiş glikozun sonuçlarını birleştirerek elde edilen sonuca göre teşhis için uygulanabilir bir sınıflandırma olduğunu ve bunun bir yöntem olarak kullanılabileceğini göstermiştir (7).

Diyabetin uzun dönem komplikasyonları arasında olası görme kaybına neden olan retinopati, böbrek yetmezliğiyle sonuçlanan nefropati, ayak ülseri, amputasyon ve Charcot eklemi riski oluşturan periferik nöropati ile kardiyovasküler, gastrointestinal, genitoüriner semptomlara ve cinsel işlev bozukluğuna yol açan otonom nöropati bulunmaktadır (8). Diyabet birçok açıdan farklılık gösteren iki ana forma sahip heterojen bir hastalıktır. Bunlar;

1. Tip1 Diabetes Mellitus (T1DM) yani insüline bağımlı diyabet, tipik olarak zayıf ve gençlerde görülen, sürekli değişen insülin ihtiyacına bağlı olarak eksojen insüline ihtiyaç duyulduğundan dolayı kan glikoz düzeylerinin değişkenliğiyle karakterize bir hastalıktır (9). Bu form diyabet vakalarının %5-10'unu oluşturmaktadır (10).
2. Tip 2 Diabetes Mellitus (T2DM) ise Tip 1 diyabete oranla 20 kat daha fazla görülen, tipik olarak obez ve orta yaş ve üstü bireylerde rastlanan Langerhans adacıklarında meydana gelen bozukluktan dolayı insülin direncinin üstesinden gelebilmek için yeterince insülin salgılanamaması ile karakterize olan, semptom ve belirtilerinin azlığı nedeniyle sinsi ilerleyen bir hastalıktır (9).

Diyabet vakalarının %90-95'ini bu form oluşturur. Fakat Tip 2 diyabetin yaklaşık %50'si semptomların eksik oluşundan dolayı teşhis konulamaz (10). Ayrıca, üçüncü bir grup olarak "Diğer spesifik diyabet türleri" bulunmaktadır. Dördüncü olarakta gebelik ilk dönemlerinde teşhis edilen glikoz tolerans bozukluklarıdır (gestasyonel diyabet) (11). Diyabetin tedavisinde genelde glikoz kontrolü için oral ilaçlar veya insülin uygulaması yapılır. Şu anda piyasada diyabet tedavisi için insülin dahil çok çeşitli ilaçlar bulunmaktadır. Fakat herkes her ilaca aynı yanıtı vermemektedir ve her ilacı her insan aynı şekilde tolere edememektedir. Bugün, hastalığın patofizyolojisini daha iyi anlayabilmek için daha etkili tedavi yöntemleri geliştirilmesine çalışılmaktadır. Şu anda, Tip 2 diyabet için diyet ve

egzersiz ile yaşam tarzı değişiklikleri, insülin replasman tedavisi, insülin salgılatıcıları, biguanitler, meglinititler, glukozidaz inhibitörleri ve PPAR-agonistleri olmak üzere en az altı farklı ana tedavi yöntemleri bulunmaktadır. Bu yöntemler çok sayıda olası kombinasyonlar sağlar. Diyabetin komplikasyonlarını önlemek ve iyi bir glikoz kontrolü sağlamak için hastalar genellikle çoklu ilaç kombinasyonları ile tedavi edilirler (12).

Bu çalışmamızın amacı, kullanacağımız Src ve Src'la ilişkili MAPK ve STAT3 genlerinin Tip 1 ve Tip 2 diyabet patogeneğinde rol alan hücresel ve moleküler mekanizmaların daha iyi bir şekilde anlaşılmasını sağlamaktır. Ayrıca hastalıkla ilgili olası bir tedavi yöntemi oluşturabilmektir.

3. GENEL BİLGİLER

3.1. Diyabetin Tanımı

Diabetes Mellitus (DM), karbonhidrat, yağ ve protein metabolizmasında meydana gelen anormalliklerden kaynaklanan, birkaç farklı formda seyreden, insülin sekresyonu, insülin sekresyonunda defekt veya her ikisinden meydana gelen metabolik bir hastalıktır (13).

3.2. Epidemiyoloji

Diyabet, dünyada en sık görülen metabolik bozukluklardan biridir ve son yıllarda erişkinlerde diyabetin prevalansı artmıştır (3). Diyabetin nedenleri tümüyle açıklanmamıştır. Hastalığın oluşmasında birçok faktörün rol oynadığı ve hem genetik hem de çevresel faktörlerin de katkıda bulunduğu söz konusudur (14). Diyabet vakaları, sıklıkla Avrupa kökenli insanlarda görülür ve Avrupa ve Kuzey Amerika'daki yaklaşık 2 milyon insanı etkilemektedir. Hastalığın insidansında belirgin bir varasyon mevcuttur. Finlandiya'daki bir çocuğun Venezüella'daki bir çocuğa göre diyabete yakalanma olasılığı yaklaşık 400 kez daha yüksektir. Mevcut küresel artışın yılda %3 olduğu rapor edilmiştir (15).

Diyabet, dünya nüfusunun yaklaşık %6'sını etkileyen yaygın endokrin hastalıklarının en önemlilerinden biridir. Diyabetik hasta sayısının 2025'te 300 milyona ulaşacağı tahmin edilmektedir (International Diabetes Federation). Bu hastaların 97%'sinden fazlası Tip 2 diyabettir. Diyabetik hasta sayısındaki öngörülen artış dünyadaki sağlık hizmetlerinin kapasitesini zorlayacak niteliktedir. Bu yüzden diyabetin epidemiyolojisini ve nedenlerini yeniden gözden geçirmek önemlidir. Diyabetin meydana gelmesinde hem genetik hem de çevresel faktörler etkilidir. Diyabetin oluşmasına yol açabilen faktörler, fiziksel hareketsizlik, ilaçlar ve toksik ajanlar, obezite ve viral enfeksiyonlardır. Tip I diyabet genetik olarak önceden belirlenmiş bir hastalık olmasa bile artan bir duyarlılık sonucu kalıtsal olabilir. Genetik faktörlerin meydana gelmesini çevresel faktörler değiştirilebilir. Duyarlı bir gene sahip olan birey, çevresel faktörlerin bu gen ifadesini değiştirmesi sonucu diyabet hastası olabilir. Diyabet eğiliminde yaygın bir artış söz konusu olduğu için

diabetes mellitusun nedenlerinden olan çevresel faktörlerin bu artışta önemli rol oynadığı söz konusudur (16).

Tahminler gösteriyor ki şimdi ve önümüzdeki yıllarda diyabet hastalığı konusunda gelecek nesiller için teşvik girişimleri, sağlığı geliştirici politikaların sürdürülmesi ve uygun kaynaklar ayırmak önemlidir (3). 1980 yılında Dünya Sağlık Örgütü (WHO) diyabetle yaşayan 108 milyon insanın varlığını ve 2014 yılına kıyasla bu sayının dört kat arttığını tahmin etmiştir. Uluslararası Diyabet Federasyonu (IDF) 2001 yılında 151 milyon, 2003 yılında 194 milyon, 2006 yılında 246 milyon, 2009 yılında 285 milyon, 2011 yılında 366 milyon, 2013 yılında 382 milyon ve 2015 yılında 615 milyon kişinin diyabet hastası olduğunu tahmin etmiştir. 2017 yılında 451 milyon (18 yaş - 99 yaş arasında) insan bulunduğu tahmin edildi. Dünyada diyabet hasta sayısının 2045 yılına kadar 693 milyona çıkması tahmin ediliyor. Diyabetli insanların yaklaşık yarısında (% 49.7), diyabet ile yaşayan tüm insanların yaklaşık yarısının (%49.7) tanı konmadığı sanılmaktadır. Ayrıca, bozulmuş glukoz toleransı (IGT) olan yaklaşık 374 milyon insan mevcuttur. Kadınların yaklaşık 21,3 milyon canlı doğumun bir kısmında etkilendiği tahmin edilmiştir. Diyabet hastalarına yönelik yapılan küresel sağlık harcamalarının 2017 yılında 850 milyar ABD doları olduğu tahmin edilmiştir (17).

3.3. Tarihçesi

Diyabet son 3.500 yıldır bilinmektedir. Eski Mısırlılar, Ebers Papirüs1 adı verilen bir belge sayesinde çok iyi bilmekteydi (18). Aretaeus (130–200 CE) on beş yüz yıl sonra, diyabet terimini (Yunanca karşılığı olan sifon) kullandı ve Tip 2 diyabetin semptom ve belirtilerini doğru bir biçimde tanımladı. Diyabet terim olarak Kapadokya Aretaeus tarafından ilan edildi. Yunanca olarak “diabaínein” fiilinden türetilmiştir; ‘dia’ yani “karşıt, birbirinden ayrı” anlamına gelen bir ön ekten oluşuyordu ve “bainein” fiili olan ve “yürümek, ayakta durmak” fiilinden türetilmiştir. "Diabeinein" fiili birlikte " yürümek veya ayağa kalkmak" anlamını taşıyordu; bu sebeple, " diabētēs " tanımı spesifik olarak "bir pusula, sifon" anlamına karşılık geliyordu. Sifon kelimesinden türetilmesinin nedeni aşırı miktarda idrara çıkılan bir hastalık olmasıydı ve bu hastalığın adı “diabētēs” olarak kullanıldı. Roma ve Yunanlı doktorlar, kardinal bulgunun yüksek miktarda idrar olduğu durumları

belirtebilmek için “diyabet” terimini kullanmışlardır. Eski Hindistan’daki Vedik tıbbi tedavilerde “deli idrar ya da bal idrarı” olarak tanımlandı ve sınıflandırıldı. Eski Kızılderililer, diyabet için birinin idrarının karıncalar tarafından cezbedici olup olmadığını test ettiler ve "tatlı idrar hastalığı" (Madhumeha) olarak adlandırdılar. Aynı zamanda, Hintliler diyabetin obezite, kalıtım, hareketsiz yaşam ve diyetle ilişkisinin olduğunu da tespit ettiler. Yeni hasat edilen tahıllar ile silikon ve benzoat içeren preparatları diyabet için bir tedavi olarak önermişlerdir. Poliüriyi ilk kez MÖ 5. yüzyıldan itibaren Sushruta (tanınmış bir Hint hekimi) tatlı tatlandırıcı bir madde ile ilişkilendirerek rapor etmiştir (19).

Tip 1 ve tip 2 diyabet ilk kez M.Ö. 500-600 yıllarında Hintli doktorlar Sushruta ve Charaka tarafından gençlikle ilişkili olarak tip 1 ve fazla kiloyla ilişkili olarak tip 2 diyabeti tanımladılar (20). Zamanla, diyabetin iki farklı türü tanımlanmıştır. Birincisi idrarın tatlı olduğu diabetes mellitus diğeri ise idrarın sulu fakat tatlı olmadığı diyabet insipidus olarak adlandırıldı. Diyabet kelimesi genelde diabetes mellitus ile eşanlamlı olarak kullanılmaktadır (21). Diyabet tarihindeki modern çağ, 1675 yılında Thomas Willis'in diyabetik hastaların idrarının tatlılığının yeniden keşfiyle başlamıştır. Birleşik Krallık'taki Guy's Hastanesi'nde görev yapan doktor Willis, diyabetik idrarın "şeker ya da bal içmiş gibi harika bir biçimde tatlı olduğunu” açıkça ifade etmiştir. Yunan diyabetine kelimenin tam anlamıyla ballı tatlı anlamına gelen Latince “Mellitus” kelimesini ekleyerek hastalığın tanımını yaptı. Fakat Willis idrardaki bu tatlılığı şekerin varlığıyla ilişkilendiremedi. Dört yıl sonra, Frank, hastalığı, diyabet verası yani tatlı idrar ve şeker benzeri maddenin varlığına dayalı olarak diyabet insipidus yani tatsız idrar şeklinde sınıflandırdı (22). 1775'te diyabet Dobson tarafından ayrıca tanımlandı ve idrarda şeker varlığı tespit edildi (23). 1889'da Von Mering ve Minkowski, köpeklerin pankreaslarını toplamışlar ve köpeklerde sindirim bozukluklarının gelişmesine ek olarak diyabetik hale geldiklerini tespit etmişler (24). Pankreasın sindirmeyen bölümü yani adacık hücrelerinin diyabetin önlenmesinde sorumlu olduğunun 1921 yılında Basting ve Best tarafından ortaya atılmasından önce 1909 ‘da Mayer insülinin diyabetin ortaya çıkmasını engelleyen bir madde olduğunu düşünüyordu (25). Sulfonamidin hipoglisemik etkisi Janben tarafından 1942 yılında keşfedildi ve Frank ve Fuchs tarafından 1955 ‘te onaylandı. (26).

3.4. Diyabetin Sınıflandırılması

Diyabetes mellitusun teşhisi ve sınıflandırılması amacıyla kullanılan testler, 1979 ve 1980 yıllarında ABD Ulusal Diyabet Veri Grubu ve İkinci Dünya Sağlık Örgütü Uzman Komitesi tarafından düzenlenmiştir. WHO'nun 1985'te yaptığı ufak değişiklikler dışında çok az şey değişmiştir.(27) Diabetes mellitus (DM); Tip 1 DM, Tip 2 DM, farklı nedenlere bağlı özel diyabet çeşitleri ve gestasyonel DM olmak üzere 4 gruba ayrılır. Açlık plazma glukozu (APG) ≥ 126 mg/dL, 75 g oral glukoz tolerans testinin (OGTT) 2. saatinde bakıldığında plazma glukozu ≥ 200 mg/ dL veya HbA1C $\geq 6,5$ ise sonuçların tekrardan doğrulanması şartıyla DM tanısı konulabilir (28).

3.5. Diyabet Tipleri

1. Tip 1 Diyabet: β hücrelerinin yıkılmasından dolayı meydana gelir. Genellikle insülin eksikliğine neden olur.
 - A. Otoimmün
 - B. İdiyopatik
2. Tip 2 Diyabet: Aslen İnsülin direnci ile gelişen bir insülin salgılama defektinin neden olduğu bir türdür.
3. Gestasyonel Diyabetes Mellitus (GDM): Gebeliğin ikinci veya üçüncü trimesterinde teşhis edilen ve net olarak belirgin olmayan diyabet türüdür.
4. Değişik nedenlerden dolayı meydana gelen spesifik diyabet türleri:
 - a. β hücre fonksiyonunun genetik defektleri
 - i. MODY 1 (Kromozom 20, HNF-4)
 - ii. MODY 2 (Kromozom 7, glukokinaz)
 - iii. MODY 3 (Kromozom 12, HNF-1 a)
 - iv. Mitokondrial DNA ve diğer tipler
 - b. İnsülin salgılanmasındaki genetik bozukluklar
Robson-Menden Hall Sendromu, lepreçauinizm, Tip A insülin rezistansı, lipodistrofik diyabet ve diğerleri.
 - c. Ekzokrin pankreas hastalıkları
Kistik fibroz, Pankreatik travma/pankreotektomi, fibrokalkülöz pankreatit, neoplazi, hemokromatozis, vs.

- d. Endokrinopatiler
Feokromastoma, Cushing sendromu, Akromegali,
Glukogonoma, aldesteronoma, hipertiroidizm, somotostatinoma,
vs.
- e. İlaç veya kimyasallardan kaynaklanan nedenler

Tiroid hormonu, nikotinik asit, Vekor, pentamidin, glukokortikoidler, tiazidler, dilantin, diazoksit, beta adrenejik agonistler, alfa interferon, vb.

- f. Enfeksiyonlar
CMV, Konjenital rubella gibi.
- g. G. Nadir olarak görülen immün kökenli diyabet formları
Anti insülin reseptör antikolları, Stiff-men sendromu gibi.
- h. Diyabetle beraber ortaya çıkan diğer genetik sendromlar

Myostonik distrofi, Preder Willi sendromu, Down Sendromu, Klinefelter sendromu, Wolfam Sendromu, Lorange Moon Dieadl Sendromu, Friedrich ataksisi, Hantington Koresi, Turner Sendromu vs. (29-31).

3.5.1. Tip 1 diyabet

Tip 1 (insüline bağımlı) diabetes mellitus (T1D) pankreasın beta-hücrelerinin tahribatı sonucu gelişen, mutlak insülin eksikliğine yol açan, semptomlarının ani olarak ortaya çıkmasıyla karakterize olan, ketoz eğilimi ve eksojen insüline bağımlılığın sürdüğü metabolik bir hastalıktır (32). Tarihsel olarak, tip 1 diyabet çoğunlukla çocuklarda ve ergenlerde görülebilen bir hastalık olarak kabul ediliyordu. Fakat bu görüş son on yılda değişti ve yaş kısıtlayıcı bir faktör olmaktan çıkmıştır.

Polydipsia (aşırı susama), polyhagia (aşırı yeme) ve polyuria (aşırı idrara çıkma) (diyabete özgü olarak ortaya çıkan klasik üçlü semptomlar) çocuklar, ergenler ve daha az oranda olmak üzere yetişkinlerde hipergliseminin tanısal özellikleri olarak ortaya çıkar. Eksojen insülin ihtiyacını karşılamak aynı zamanda ömür boyu devam edecek olan tip 1 diyabetin bir özelliğidir. Tip 1 diyabetin epidemiyolojisi, tedavisi, hastalığın önlenmesi ve iyileştirilmesi, hastalığın nasıl geliştiği ile ilgili temel soruların yanıtları hala tam olarak bilinmemektedir (33).

3.5.2. Tip 1 diyabetin özellikleri

Çoğunlukla çocuklarda görülen kronik hastalıklardan biri olan Tip 1 diyabet uzun süreli komplikasyonlarından dolayı halk sağlığı yönünden önemli bir problemidir (34). Tip 1 diyabet, genetik olarak duyarlı bireylerde, insülin üreten pankreatik β hücrelerinin hasarıyla karakterize olan ve uzun bir preklinik sürece sahip metabolik hastalıktır. T-hücre aracılı otoimmün bir hastalık olduğu düşünülmektedir (35). 14 yaş altı çocuklar arasında Tip 1 diyabet insidansındaki küresel değişim büyüktür (36). Tip 1 diyabet, çevresel risk faktörleri, immün aracılı tetikleyiciler, pankteastaki beta hücrelerinin genetik olarak imha edilmesi, duyarlılık gibi multifaktöriyel bir hastalıktır (37). Genellikle 35 yaşın altında olanlarda ortaya çıkar, fakat sık görülme yaşı 10-15 yaş grubundadır. Dünyadaki diyabetlilerin yaklaşık %5-10'unu oluşturur (38). Mutlak insülin yetersizliği söz konusu olduğu için tanı konulduktan hemen sonra tedavi için insülin kullanılması şarttır (39). Tip 1 diyabetin yaygın olarak görülen mikrovasküler komplikasyonları nöropati, nefropati ve retinopati'dir. İskemik ve periferik vasküler hastalığa meyilli makrovasküler komplikasyonlar 30 yaşın altı kişilerde seyrek görülür. Ayrıca, ergenliğin gecikmesi, ruhsal bozukluklar, büyümede gerilik, dermatolojik komplikasyonlar, çölyak hastalığı ve otoimmün hipotiroidizm Tip 1 ile bağıntılı komplikasyonlardır (40).

3.5.3. Tip 1 diyabetin patogenezi

Tip 1 diyabet T lenfositlerin pankreas adacıklarına sızdığı ve insülinin üretilmesinden sorumlu olan beta hücrelerinin yıkımlanmasına neden olan otoimmün bir hastalıktır (41). Tip 1 diyabet iki temel form olarak tanımlanmıştır. Tip 1A: Beta hücrelerinde hücre aracılı otoimmün saldırı sonucu meydana gelen tip (42-43). Tip 1B: Nedeni bilinmeyen ve ketoasidozun sporadik vakaları arasında değişik derecelerde insülin eksikliği olan çoğunlukla Asya veya Afrika ırklı bireylerde ortaya çıkan tip (44).

Tip 1 diyabet 100 yıldan daha uzun bir süre önce ketoasidoz sonucu ölen diyabetli çocuklarda Langerhans adacıklarıyla sınırlandırılan karakteristik bir enflamatuar infiltrat (sızma) olarak tanımlanmıştır. Daha sonra bu lezyona insülitis adı verildi. Şimdi ise diyabetin başlangıcında olan çocuklarda Tip 1 için bu durum patagnomik olarak kabul edilmiştir (45). Bu infiltrat baskın olarak T-hücreleri, CD8 ve aynı

zamanda CD4'te içeren lenfositler, B lenfositler ve makrofajları kapsamaktadır (46). Araştırma makalelerinin çoğu Tip 1 diyabetin patogenezi ile ilgili olarak insülin salgılayan pankreasın β hücrelerinin bir otoimmün yıkımlanması sonucu oluştuğunu belirtmektedir. Tip 1 diyabetin semptomatik başlangıcında pankreas adacıklarını etkileyen kronik inflamatuvar bir infiltratın varlığı bu gözlemlerin temelini oluşturmuştur. Diğer bir düşünce ise hastalığın uzun süre devam ettiği hastalarda, pankreasın insülin üreten hücrelerden yoksun olduğu ve diğer β hücrelerinin yenilenme yeteneğinin bulunmayışıdır. Tip 1 diyabetin patogenezi hakkındaki bu iki fikir uzun süre tartışılmıştır. Ancak son verilere göre uzun süre Tip 1 diyabete sahip bebek ve çok küçük çocuklarda β hücrelerinin yenilendiğine dair kanıtlar bulunmaktadır. Ancak ergen ve yetişkinlerde böyle bir durum söz konusu değildir. Tip 1 diyabetin patogenezi hakkında daha fazla bilgi edinmek için hastalardan elde edilen pankreas örnekleri, serum ve periferik kandan alınan lenfositlerin analizi gerekir. Bu bileşenler Tip 1 diyabetin patofizyolojisinde, β hücreleri, immün sistem, timus ve kemik iliğinde meydana gelen bir dizi fonksiyonel bozukluklara yönelik bir fikir vermektedir (33).

Tip 1 diyabetin klinik semptomları ortaya çıkmadan önce birkaç belirgin olmayan bağışıklık olayları meydana gelir. Bunlardan en önemlisi, otoantikorlar üretilir, reaktif lenfositler kendiliğinden aktive olur ve pankreasa sızarak Langerhans adacıklarındaki insülin üretiminden sorumlu beta hücrelerini imha ederler (47). Bu kalıcı ve hedefli yok ediş yıllarca tespit edilemeyebilir ve çoğunlukla ilk klinik belirtiler ortaya çıktıktan sonra teşhis edilir. Beta hücrelerinin yıkımlanması ve sonuçta işlevini yitirmesi, bireyin hayatta kalmak için insüline bağımlı bir hale gelmesine neden olur (48).

Tip 1 diyabetin meydana gelmesindeki çevresel faktörler:

A. Viral Enfeksiyonlar

Farklı çalışmalar viral enfeksiyonların tip 1 diyabetin patogenezisinde rol oynayabildiğini ileri sürmüştür. Congenital rubella (konjenital kızamıkçık) virüsten kaynaklı diyabetin klasik bir örneğidir. Fakat etkili aşılama programlarıyla çoğu batı ülkelerinde bu virüs elimine edilmiştir (49). Diğer bir viral tetikleyici virüs ise

Picornavirus ailesine ait küçük ve zarfsız RNA virüsü olan enterovirüs grubudur (50).

B. Diyet Faktörü

İnek sütü proteinleri (CM) ile Tip 1 diyabet arasındaki ilişkiye dayalı hipotez onbeş yıldan fazla bir süre tartışılmıştır. Yapılan çalışmalarda hastalık sürecinde özellikle bebeklerde inek sütü gibi diyet proteinlerle beslenme sonucu zararlı etkilerinin olduğu kanıtlanmıştır. Ayrıca glutenli gıdalarla beslenmenin Tip 1 diyabetin gelişimiyle bağlantılı olduğu belirtilmiştir (51).

C. Büyüme

Bebeklik döneminde artan kilo alımı hastalığın gelişmesinde etkili olmuştur (41).

D. Vitamin D Eksikliği

D vitaminin aktif form veya analogları

İnsülitisi ve otoimmün gelişimi önler (52).

E. Toksinler

i. N-nitroso Bileşikleri

İngiltere’de ekolojik bir analiz sonucunda, çocuklarda içme suyu ile alınan artmış nitrat düzeyleri ile Tip 1 insidansı arasında pozitif bir ilişki olduğu görülmüştür (53).

ii. Son zamanlarda farelerde yapılan araştırmalarda makrolid antibiyotik olan bafilomisin, A1'nin çok düşük miktarlarda (nanogram) pankreas adacıklarında bozulmaya ve glukoz intoleransına neden olduğu görülmüştür.

Bafilomisin A1 ve ilgili makrolidler, toprakta yaşayan *Streptomyces* spp. tarafından üretilmekte, yumrulu sebzeler özellikle patates ve pancarlar gibi diyet sebzeleri kontamine ederek tip 1 diyabetin çevresel nedenlerinden birini meydana getirir (54).

F. Doğum Öncesi ve Perinatal Faktörler

G. Stresli Yaşam Olayları

Tip 1 diyabetin evriminde klinik olarak başlamasından önce stresli yaşam olaylarının meydana getirdiği psikolojik faktörlerin olası rolü kanıtlanmasına rağmen hala üzerinde tartışılmaya devam edilmektedir (55). Tip 1 için yüksek riskli bireyleri gözlemleyen birtakım prospektif çalışmalar hastalık belirtisine kadar psikososyal olayların değerlendirilmesinin gerekli olacağını ve özellikle psikolojik stres ve yaşanan olayların tip 1 diyabet gelişimini tetiklediğini göstermektedir (56).

H. Genetik faktör

Tip 1 diyabetin temelde kalıtsal olan HLA (İnsan Lökosit Antijeni) aracılığıyla güçlü bir genetik bileşeni vardır. Ancak hastalığı klinik olarak tetikleyen faktörler geniş bir biçimde bilinmemektedir. 1980'lerde Eisenbarth Tip 1 diyabetin bağışıklık formunun gelişimine dair bir model önermiştir ve o zamandan beri bu konuda önemli ölçüde ilerleme kaydedilmiştir. Bu model temel görüş olarak kabul edilmiştir. Bu fikir, herkesin doğuştan Tip 1 diyabete bir dereceye kadar yatkın olduğunu ve bazılarının hassasiyetinin yüksek kiminin ise daha az hassas olduğunu önerir. Duyarlılık büyük ölçüde kalıtsaldır. Bu ağırlıklı olarak HLA genotiplerinde bulunan DR ve DQ, genleri ve daha az olmak üzere IDDM (insulin-dependent diabetes mellitus) genetik lokuslarında bulunan yatkın genlerden kaynaklanmaktadır (57).

Risk Faktörleri

1. Zayıf glisemik kontrol
2. Erken yaşta başlayan ve uzun süren tip 1 diyabet
3. Genetik olarak yatkınlık - örneğin, aile öyküsünde diyabetin varlığı
4. Sigara kullanmak
5. Aşırı kilolu olmak
6. Hareketsiz yaşam tarzı
7. Hipertansiyon
8. Hiperlipidemi (58).

3.5.4. Komplikasyonları

Tip 1 diyabet ile ilişkili komplikasyonlar mikrovasküler ve makrovasküler olarak sınıflandırılır. Kardiyovasküler hastalık, uzun süre Tip 1 diyabetle yaşayan bireyler için daha yaygın olarak makrovasküler komplikasyonlara neden oluyor (59). Diyabetli bireyler örneğin, miyokard enfarktüs, anjina ve koroner-arter revaskülarizasyonu, inme gibi kardiyovasküler vakalarda diyabetsiz bireylere göre 10 kat daha fazla risk taşımaktadırlar.

Pittsburgh Epidemiology of Diabetes Complications'ın yapmış olduğu araştırmaya göre 40 yaşın altındaki tip 1 diyabetli yetişkin hastalarda kardiyovasküler rahatsızlıklar tespit edilmiş ve 55 yaşından büyük bireylerde bu vakalar üç kat daha fazla görülmüştür (33). Diabetes Interventions and Complications (EDIC)' in uzun dönem komplikasyonlar için yoğun diyabet tedavisi uygulanmış 109 Tip 1 diyabetli hastada geleneksel tedaviye göre % 42 oranında kardiyovasküler hastalıkların azaldığı gözlemlenmiştir (60).

Açıklanan bir rapora göre miyokard infarktüsünden sonra Tip 1 diyabetli hastalarda kalp proteinlerine karşı antikor eksprese edilirken Tip 2 diyabetlilerde böyle bir durum görülmemiştir (61). Retinopati, nöropati ve nefropati gibi mikrovasküler komplikasyon riskleri yoğun insülin tedavisiyle azalır. Son beş yılda bazı büyük klinik çalışmalar mikrovasküler komplikasyonların önceden tahmin edilmesi ve önlenmesi konusunda ilerleme göstermiştir (33).

3.5.5. Teşhis

Tip 1 diyabetli hastalarda, genellikle diyabetin akut semptomları ve net bir şekilde yükselen kan glukoz seviyeleriyle teşhis konulur. Yaklaşık hastaların üçte bir hayati risk taşıyan ketoasidoz varlığıyla teşhis edilir.

Klasik semptomlara (hiperglisemi veya hiperglisemik krizin belirtileri)sahip hastalarda, kan şekerinin ölçülmesi ile diyabeti teşhisi koymak mümkündür. (plazma glikozu 200 mg / dL [11.1 mmol / L]).

Böylesi durumlarda, kan şekeri seviyesini bilmek hayati bir önem taşımaktadır. Çünkü saptanan semptomların diyabetten kaynaklanıp kaynaklanmadığını doğru tespit etmek gerekir. Sonuçta tedavi programının düzenlenmesini de etkiler. Bazen,

bir hastanın ne kadar süre zarfında hiperglisemisi olduğunu belirlemek için Alc (Üç aylık kan şekeri olarak bilinen hemoglobin Alc (HbAlc) şeker hastalığının teşhis ve takibinde kullanılan önemli bir laboratuvar testidir.) istenebilir (62).

3.5.6. Tedavi

Tip 1 diyabet önceden tahmin edilebildiğinden hastalığın önlenmesine veya geciktirilmesine yönelik araştırma yöntemleri bulunmaktadır (63).

a) Hücrelerde meydana gelen immün yıkımı durdurma

Amaç klinik olarak hastalığın başlamasından önce müdahale ederek immün tahribatı durdurabilmek ve sonuçta klinik açıdan hastalığın oluşumunu geciktirmek veya önlemektir (64). Genetik belirteçlerle yeni doğan taraması yapılarak başarı elde edilebilir (65).

b) Islet transplantation (Adacık Nakli)

Tüm pankreas yerine adacık nakli ilk olarak 1972’de rodentlerde, 1977’de ise insanlarda yapılmıştır (66-67). Adacık izolasyonu ve saflaştırmasındaki gelişmeler, adacık nakli çalışmalarındaki ilerlemelerini belirgin bir şekilde kolaylaştırdığı 1989’da rapor edildi (68). Pankreas transplantasyonu ile karşılaştırıldığında işlem daha az invaziv işlem gerektirmekte ve morbidite oranı daha düşüktür. Bu işlemde karşılaşılan problem ise adacıklar çoğunlukla insülin üretmeye devam edememektedirler ve ikinci bir adacık nakli gerektirir veya insülin tedavisine geri dönüş söz konusu olur (69).

c) Stem cells (kök hücre)

Son zamanlarda, hastalık genotipleriyle uyarılmış insan pluripotent kök hücreleri, insan hastalık modellemesi için bir araç olarak üretilmektedir (70-71). Hastalıkla ilişkili hücre tipleri invitro farklılaşma protokolü vasıtasıyla üretilebilir. Bu protokoller hastalık patolojisinin in vitro ortamda analizini sağlayabilir. ES (kök hücre) hücreler pluripotent kök hücreler için altın değerinde olmasına rağmen ES

hücreleri basit bir Mendel genetiği olarak hastalığın teşhisi veya tahmini konusunda sadece hastalığı modeller (72).

Multijenik hastalıkların yanı sıra Tip 1 diyabet için indüklenmiş pluripotent kök hücreleri (IPS) tedavide en iyi başlangıç noktasıdır çünkü hastanın kendi hücrelerinden üretilmektedir. Dolayısıyla bu hücreler bir kök hücrede hastalıklı geni yakalayabilir. İnsülin üreten hücrelerin kaynağına alternatif olarak pankreas hücrelerine farklılaşabilen (PS) hücreleridir (73).

d) Pankreas Nakli

Pankreas naklinin modern dönemi 1967 yılında Minnesota üniversitesinde yapılan bir raporla başlamıştır (74). Pankreas transplantasyonu ile ilgili sorun, akut doku reddi, greft trombozu, enfeksiyöz komplikasyonlar ve nispeten yüksek oranda hematolojik kanserleri içeren morbiditedir (75). Diğer bir sorunda organ bağışı yapacakların sayısının sınırlı olmasıdır. Aynı zamanda hepsinin transplantasyon için uygun bir pankreasa sahip olmamasıdır (81). Pankreas naklinde uygulanan yöntemlerden biri laparoskopik Robotik bir yaklaşım kullanarak pankreas nakli yapmaktır (76).

3.6. Tip 2 diyabet

Tip 2 diabetes mellitus (T2DM), obezite ile yakından ilişkili olan ve sürekli olarak yaygınlık gösteren global bir problemdir. T2 DM'li bireyler, hem makrovasküler komplikasyonlar (kardiyovasküler komorbiditeler) hem de mikrovasküler komplikasyonlar (retinopati, nöropati ve nefropati gibi), hiperglisemi ve insülin direnci (metabolik) sendromunun bireysel bileşenleri sebebiyle yüksek riskle karşı karşıyadır. Çevresel faktörler (obezite, sağlıksız beslenme ve fiziksel hareketsizlik) ile genetik faktörler, Tip 2 DM'de bozulmuş glikoz homeostazından sorumlu olan çoklu patofizyolojik bozukluklara neden olur (77). Diyabetli hastaların %90-95'ini oluşturan bu tip diyabette insüline bağımlı olmayan diyabet, yetişkin başlangıçlı diyabet veya insülin direncinin olduğu diyabet denmektedir. En azından başlangıçta veya hayatları boyunca hastaların hayatta kalmak için insülin tedavisine gereksinimleri yoktur. Tip 2 diyabetin birçok farklı nedeni bulunmaktadır.

Muhtemelen bu diyabet formunun birçok farklı nedeni vardır. Spesifik etiyolojiler bilinmiyor ancak bu hastalıkta β hücrelerinin otoimmün şeklinde yıkımı sözkonusu değildir. Bu diyabet türü olan hastaların çoğunluğu obezdir ve obezitenin bizzat kendisi insülin direncinin yükselmesine neden olabilir. Ketoasidoz bu tip diyabetlerde nadir olarak kendiliğinden meydana gelir. Genellikle teşhisi yıllarca yapılmaz. Çünkü bu tip diyabette hiperglisemi yavaş gelişir. Ayrıca erken dönemlerde genellikle hastanın diyabetin klasik semptomlarını şiddetli olmaması nedeniyle fark etmesi oldukça zordur. Ancak bu hastalar, makrovasküler ve mikrovasküler komplikasyonların gelişmesi bakımından risk altındadırlar (8).

3.6.1. Tip 2 diyabetin özellikleri

Tip 2 DM insülin sekresyonunda bozukluk olmasından başka insülinin çalışmasındaki aksaklıklar sonucu gelişir. Hastaların %75-80'i genellikle şişmandır, obezite bulunur fakat kilolu olmayanlarda da gelişebilir. Ancak kilolularda uygun tedaviyle düzelme izlenebilir. Genellikle 30 yaş ve üzerinde görülse de her yaşta gelişebilir. Tip 2 diyabetli hastalarda makrovasküler ve mikrovasküler komplikasyonlar bulunabilir. Klasik semptomlarından çok fazla su içme ve aşırı idrara çıkma görülür. Bazen de bu tür şikayetler olmadan da hastalık ortaya çıkabilir. Kilo ve genetik olarak yatkınlık bu hastalığın önemli risk faktörleridir. Bu hastalığa göz, sinir ve damar hastalıkları birlikte eşlik edebilir. Tip 1'in aksine hasta kanında antikorlar bulunmaz. Temel özelliği ise insülin sekresyonundaki bozukluktur.

3.6.2. Patogenezi

Tip 2 diyabet tüm dünyada yaygın bir hastalık haline gelmiştir. İnsülin duyarsızlığı obezite fenomeniyle ilişkilendirilirken, pankreas hücre fonksiyonları klinik hipergliseminin ortaya çıkmasından önce kademeli olarak azalır. Hastalığın oluşumunda insülin direnci nedeniyle artan esterlenmemiş yağ asitleri, inflamatuvar sitokinler, adipokinler ve mitokondriyal fonksiyon bozuklukları, hücre fonksiyon bozuklukları nedeniyle glukotoksisite, lipotoksisite ve amiloid oluşumu gibi birkaç multifaktör olduğu ileri sürülmektedir. Ayrıca hastalığın güçlü bir genetik bileşeni bulunmaktadır. Ancak şimdiye kadar bu genlerin çok azı tanımlanabilmiştir. Bunlar arasında calpain 10, potassium inward-rectifier 6.2, peroxisome proliferator-activated receptor, insulin receptor substrate-1 bulunmaktadır. Hastalığın tedavisinde sadece diyet ve egzersiz değil aynı zamanda lipid azaltıcı antihiperglisemik ilaç

tedavisi, antihipertansif ve anti trombosit tedavisi kombinasyonlarından da faydalanılır (7).

- İnsülin direnci

İnsülin direnci, hem karaciğerde üretilen endojen glikozun üretiminin baskılanması hem de iskelet kasındaki glikozun kullanılmaması sonucu insülinin biyolojik etkisinin beklenenden daha az meydana gelmesi olarak tanımlanmaktadır (78). Endojen glikoz üretimi, açlık glikozu bozulmuş veya tip 2 diyabetli hastalarda hızlı bir şekilde üretilir. Çünkü bu artış hiperinsülineminin varlığında meydana gelir (7).

- Obezite

Obezite Tip 2 diyabet ve insülin direncinin meydana gelmesiyle ilişkili bir durumdur. Obez bireylerde adipoz doku gliserol, artmış oranda esterleşmemiş yağ asitlerinin miktarını, hormonları, preinflamatuvar sitokinleri ve insülin direncinin gelişmesini içeren diğer faktörleri serbest bırakır. İnsülin direncine pankreasın beta adacık hücrelerinin işlevsizliği eşlik ettiği zaman insülin salgılayan hücreler kan-glikoz seviyesini kontrol edemez duruma gelir. Bu beta hücrelerinin işlevsel bozukluğu nedeniyle Tip 2 diyabet gelişimi ve risklerinin meydana gelmesinin açıklanabilmesinde hayati önem taşır (79).

- Beta hücre disfonksiyonu

Tip 2 diyabet, hastalığın seyri boyunca beta hücrelerinde ilerleyici bir hücresel fonksiyon kaybı ile karakterize bir metabolik hastalıktır (80). Normal pankreatik β hücresi obeziteye bağlı insülin direncine yanıt olarak normoglisemiyi devam ettirmek amacıyla insülin hipersekresyonunu gerçekleştirir. β hücresi bu kompensatuar yanıtı devam ettiremediğinde Tip 2 diyabet oluşur. Yapılan çalışmalar normoglisemiden diyabete ilerlemenin temel belirleyicisinin β hücre fonksiyon bozukluğunu olduğunu tespit etmiştir (81).

- **Genetik faktörler**

Tip 2 diyabetin genetiğinde yatan temel nedenleri anlamamızı sınırlayan en büyük problem insülin sekresyonu ve duyarlılığındaki birçok çevresel ve genetik temelli faktörlerin varlığıdır ki bunlar yaş, cinsiyet, etnik köken, fiziksel uygunluk, diyet, sigara kullanımı, obezite ve yağ dağılımını kapsamaktadır. Bunların çoğunun altında genetik kontrol sözkonusu olsa da diyabete spesifik genlerin olmayabileceğini de vurgulamak önemlidir. Örneğin; insülin direnci bulunan tip 2 diyabetlilerde temel neden karın içi yağ birikimidir ve esas olarak gen kontrolü altında meydana gelmektedir. Sonuç olarak İnsülin direnci tespit edilmiş diyabetik hastada bu durum genetik olarak değerlendirilir. Fakat bu spesifik bir diyabet geninin varlığını temsil etmeyebilir. Çünkü insülin direnci bulunan obez insanlarda diyabet gelişmeyebilir. Öte yandan, insülin reseptörü genindeki insülin direncine neden olan bir mutasyon, diyabet için spesifik bir gen olarak kabul edilebilir (82).

3.6.3. Teşhisi

Diabetes mellitus'un teşhisi 1999'dan beri WHO'nun önermiş olduğu açlık kan şekeri ile iki saat sonra 75 gr glikoz yüklendikten sonraki kan şekerlerinin ölçülerek her ikisinin birleşimi sonucu ortaya çıkan kriterlere göre tanısal sınıflandırma yapılması öngörülmüştür (83). Diyabeti ortaya çıkaran predispose koşullar, bozulmuş glikoz toleransı ve bozulmuş açlık glikozu sadece akademik bir meraktan ileri gelmez. Çünkü tedavi edilmediği sürece her yıl bu rahatsızlıklara sahip insanların % 7 'sinde diyabetin ortaya çıkması kaçınılmazdır. Ayrıca bozulmuş glukoz toleransının bizzat kendisi makrovasküler hastalık riskinin artmasına neden olmaktadır (7).

Bu diyabet tipi şeker hastalığı olanların% 90–95'ni kapsar ve insüline bağımlı olmayan diyabet yada yetişkin başlangıçlı diyabet olarak adlandırılmaktadır. İnsülin direncine sahip bireylerde sözkonusudur ve genetik yakınlıkla ilişkilidir. En azından hastalığın başlangıcında bireyler hayatta kalmak için insülin tedavisine ihtiyaç

duymazlar. Birçok nedeni bulunmasına rağmen spesifik bir etiyolojiye sahip değildir. Tip 1 diyabetteki gibi B-hücrelerinde otoimmün yıkım görülmez (84).

Tip 2 diyabet teşhisi için yapılan testler

- Rasgele yapılan plazma glikoz ölçümü

Rastgele veya gündelik olarak plazma glikoz ölçümü ucuz, başarı oranı yüksek, rahatsız edici bir yönü olmayan ve kan alma sırasındaki riskler hariç herhangi bir risk içermeyen bir test yöntemidir.

- AÇLIK PLASMA GLİKOZ ÖLÇÜMÜ

Açlık plazma glikoz seviyesi en az 8 saat aç bırakılmış ve klinik olarak takibi yapılan hastalarda ölçülmesi gereken bir testtir (85).

Oral glikoz tolerans testi

OGTT aslında 1922'de suprafizyolojik bir glikoz yükünü tolere etme yeteneğinin bir ölçüsü olarak tanımlanmıştı. Testin şu andaki hali 1979'da tanımlandı (86).

Fakat ADA artık bu testin rutin olarak kullanımını önermemektedir (85).

- Hemoglobin A1c

Hemoglobin A1c ölçümü, güvenilirliği yüksek olan bir testtir. mükemmel güvenilirliğe sahiptir. Birey içi varyasyon katsayısı kısa süreli diyabetli bireylerde % 4,2 iken uzun vadede ve diyabetsiz bireylerde bu oran %1.9 olarak belirlenmiştir. Hemoglobin A1c düzeylerinin tespit edilmesi aynı zamanda diyabete özgü komplikasyonların tahmin edilmesine de katkıda bulunur (87-88). Diyabet tedavi kararlarının temel tedavisinin ne olduğu konusunda fikir edinilmesini sağlamaktadır. Bütün bunlara ek olarak gelecekte glisemide glikoz toleransı bozuk kişiler arasında ve daha az bozuklukları olan insanlar arasında hemoglobin A1c seviyesindeki ufak yükselmeler öngörülmektedir (85).

3.6.4. Tedavi

Tip 2 diyabetin tedavi seçiminde ilk amaç hastayı uzun dönemli komplikasyonlardan korumaktır. Çünkü insülin direnci tip 2 diyabetin patogenezisinde temel rol oynamaktadır ve özellikle kardiyovasküler rahatsızlıklar doğurabilir. Müdahalelerde ilk hedef insüline duyarlı dokuların iyileşmesini sağlamaktır. Çeşitli ilaç tedavileri uygulanabilir. (Thiazolidinediones, Metformin, Sulfonilurea derivatives, glucosidase inhibitors, Glucagon-like peptide 1, Eksojen insulin) (7).

Bariatric cerrahi (Obezite ameliyatı): Bariatrik cerrahi, tip 2 diyabetli hastalarda iyileşmeyi ve hastalığın önlenmesini net bir şekilde sağlamaktadır. Ancak bariatrik cerrahi sonrasında hastalarda diyabetin nüks etmesi gerçekleşebilir (86).

3.7. PBMC Hücreleri

Periferik kan mononükleer hücresi (PBMC), yuvarlak çekirdeğe sahip (diğer bir deyişle bir lenfosit, bir monosit veya bir makrofaj içeren) herhangi bir kan hücresi olarak tanımlanmaktadır. Bu hücreler, bağışıklık sisteminin, enfeksiyonlarla savaşan veya dışardan gelecek mikroorganizmalara karşı uyumu sağlayan önemli birer parçasıdır. Lenfosit popülasyonu meydana getiren bileşenler, T hücreleri, B hücreleri ve Natural Killer hücreleridir (87).

3.8. Mitojenle-Etkinleşen Protein Kinaz (MAPK)

Ökaryotik hücrelerin tümünde bulunan MAPK enzimleri, farklı reseptörler ile alınan mitojenik uyarıların kesişme ya da birleşme noktalarıdır (88). Sitoplazmada bulunan bu proteinler hücre zarından çekirdeğe bilgi aktarılmasında önem taşımakla birlikte, hücre içindeki diğer proteinlerin, serin(Ser)/treonin(Thr) amino asitlerine fosfat gruplarını aktararak etkinliklerini düzenleyebilmektedirler. Şimdiye kadar İnsan genomunda 14 MAPK geni ve 7 farklı MAPK sinyal iletimi yolağı olduğu tespit edilmiştir (89-90-91).

MAPK ailesi; gen ekspresyonu, hücre bölünmesi, hücre canlılığı, apoptoz, metabolizma, farklılaşma ve motiliteyle ilişkili süreçlerin kontrolünde yer alan sinyal

iletimi yollarını oluşturmaktadırlar (19). MAPK ailesi, klasik MAPK' lar olarak ifade edilen dış sinyal düzenleyici kinaz (ERK)1/2, c-Jun N-terminal kinaz (JNK)' lar, p38MAPK' lar ve ERK5 ile atipik MAPK' lar olarak bilinen ERK3, ERK4, nemo benzeri kinaz (NLK) ve ERK7 MAPK' larını içermektedirler (92).

1. ERK yolağı

Dokuların büyük bir kısmında eksprese olmaktadır (93). ERK yolağı, hücre çoğalması hücre iskeletinin şekillenmesinde ve hücre ölümünde rol oynamaktadır. ERK' in geçici ve sürekli etkinleşmesi, E-26 bölgesi içeren proteini (ELK-1) fosforile ederek hücre döngüsü sırasında, FBJ osteosarkoma onkogen (Fos) protein ekspresyonunu uyarmaktadır (94).

2. JNK yolağı

En iyi bilinen JNK substratları, Fos ve Jun aile üyelerini kapsayan, A P-1 transkript faktörleridir. Fare fibroblastlarında, JNK etkinliğinin hücre çoğalmasını uyardığı ifade edilmiştir (92). JNK' ların pro-apoptotik işlevleri hücrenin tipine ve uyarana bağlıdır. JNK tarafından indüklenen apoptoz, B-lenfoma 2 (Bcl-2) protein ailesinin fosforillenme ve ekspresyonuna bağlıdır (95).

3. p38 yolağı

Yapılan araştırmalarda p38 MAPK yolağının, p38 α (MAPK14),p38 β (MAPK11), p38 γ (SAPK3 veya ERK6 veya MAPK12) ve p38 δ (SAPK4 veya MAPK13) olan dört izoformu elde edilmiştir (96). Dokuların çoğunda p38 α ve p38 β izoform ekspresyonu görülürken, p38 γ iskelet kasında, p38 δ ise daha çok akciğer, böbrek, testis, pankreas ve ince bağırsakta eksprese olmaktadır (97). p38 yolağı enzimleri, oksidatif stresler ve iyonizan radyasyon gibi uyarılar aracılığıyla p38' de yer alan Thr-Gly-Tyr amino asit dizisini fosforile ederek p38 yolağını etkinleştirmektedirler (90). p38 izoformları substrat özgünlüklerine bağlı olarak bazı proteinleri ve transkripsiyon faktörlerini fosforile ederek hücresel yanıtlar oluşturmaktadırlar (98).

MAP kinazların diyabet kaynaklı hücresel değişikliklere cevaplarında potansiyel katılımını ortaya koyan biyokimyalarını, sınıflandırmalarını ve isimlendirmelerini dikkate almak gerekmektedir. Mitojenle aktive olan protein kinazlar, korunmuş treonin ve tirozin artıklarında çift fosforilasyon yoluyla hücre

dışı uyarıcılara cevap olarak aktive edilen bir serin / treonin spesifik kinaz grubunu oluştururlar. Üç ana MAP kinaz grubu vardır; hücre dışı sinyal düzenlenmiş kinazları (ERK), c-Jun N-terminal kinazları (JNK) ve p38 kinazları (99). MAP kinaz sinyal mekaniği, uyarıcıları ve substratları tetikleyen detayları içeren son zamanda birkaç eleştiri yazısı bulunmaktadır (100-101-102). Hücre fizyolojisindeki algılanan rolleri evrimleşmektedir, ancak genel olarak p38 ozmotik bir cevap elemanı olarak görünürken (103) , JNK'lar, çeşitli hücrel stres formlarına cevap verir ve arketipal stresle aktive olan protein kinazlar olarak görülür (SAP kinaz) (99) ERK'ler ise esas olarak büyüme faktör sinyal kinazları olarak kabul edilmektedirler (100).

Ancak daha sonra, hem ERK hem de p38 kinaz gruplarının hücrel reseplere yanıt verdiği netleşmiştir, böylece üç MAP kinaz grubunun tamamı belirli koşullar altında SAP kinazları haline gelebilmiştir (104-107).

3.9. STAT3

STAT3 sitokin stimülasyonundan sonra sinyalleri çekirdeğe ileten önemli bir transkripsiyon faktörüdür. Sitokin stimülasyonundan sonra, Janus Kinaz (JAK), STAT tirozin fosforilatı olan sitokin reseptörü ile ilişkili kinazları aktive eden sitokin reseptörünü fosforile eder. Daha sonra, iki STAT molekülü, SH2 domeni üzerinden homo veya hetero dimerize olur ve gen ekspresyonunu düzenlemek için spesifik DNA elemanlarına bağlanmak üzere çekirdeğe translokasyon yapar (108). Şimdiye kadar toplam 7 tane STAT proteini belirlenmiştir: STAT-1, STAT-2, STAT-3, STAT-4, STAT-5a, STAT-5b ve STAT-6 (109).

Bu proteinlerden biri olarak bilinen STAT3, hücre büyümesinin düzenlenmesinde, yeniden deri şekillenmesinde, hücrel transformasyonda, keratinosit göçünde, makrofaj inaktivasyonunda, IL-6' ya bağımlı karaciğer rejenerasyonunda, epitelial hücrelerin apoptozunda ve T-helper hücre cevabında oluşan inflamatuvar sitokinlerin downregülasyonunda rol aldığı bildirilmiştir (110-112) Ayrıca, STAT3 IFN'ler, IL-2, IL-6, IL-7, IL-10, IL-12, IL-15, IL-21, IL-23 ve IL-27 içeren çeşitli sitokinler yoluyla hem doğal hem de adaptif tepkilerin modüle edilmesinde önemlidir (113).

3.10. Src family kinase

Src ailesi kinazları (SFK'ler), hücre çoğalması, yapışma, göç, hayatta kalma ve bağışıklık fonksiyonları da dahil olmak üzere çeşitli hücrel olayların düzenlenmesinde önemli rol oynayan reseptör olmayan tirozin kinazlardır.(114) SFK'ler, yapısal olarak korunmuş sekiz üyeden (Hck, Lyn, Fyn, c-Src, Lck, Evet, Blk ve Fgr) oluşur ve SFK'lerin anormal ekspresyonu veya aktivitesi, kanser ve otoimmün hastalıklar dahil olmak üzere birçok hastalık tipiyle ilişkilidir (115). Ayrıca, reseptör olmayan tirozin kinaz ailesinin bir üyesi olan c-Src'nin ekspresyonu ve aktivasyonu, diyabetle ilişkili kardiyovasküler hastalıkların patofizyolojisinde büyük rol oynamaktadır (116). c-Src, çoklu mekanizmalar yoluyla aktive edilir ve hipergliseminin hücre içi sinyaline, sitokinlere, büyüme faktörlerine, vazoaktif ajanlara (ET-1 dahil) ve 2 adrenerjik reseptöre aracılık eder (117).

Son yıllarda, SFK'ların düzenleme modları, SFK'ların etkileşime girdiği birçok kinaz ve fosfatazın etkilerini anlayacağımız bir dereceye kadar aydınlatılmıştır. SFK aktivitesi birçok faktör tarafından düzenlenir. En önemlisi, Tyr-418 (kalıntı sayıları, insan Src'sine atıfta bulunur), bir trans otokatalitik reaksiyonda fosforile edilir ve kinaz aktivitesini önemli ölçüde artırır (118). Src familyası kinazlarının çeşitli reseptörlerle etkileşime girmesi ve aynı zamanda diğer sinyal yollarına dahil olması, SFK'ların dahil edilmesinden kazanılan fizyolojik fayda ve etkileşim mekanizması hakkında daha fazla açıklama yapılması için genel bir model gerektirmektedir. Böyle bir genel model, belirli sinyalizasyon sistemlerinden herhangi biri hakkında, örneğin aralarındaki paralelliklerin çizilmesi ve bilinmeyen moleküler mekanizmaların aydınlatılması için temel fayda sağlayacaktır. Ayrıca SFK'ların oynadığı belirli fizyolojik rol hakkındaki soruyu cevaplamaya da yardımcı olacaktır (119).

4. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamızdaki bütün deneyler Dicle Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezinde (DÜBTAM) gerçekleştirildi. Çalışmamız Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Endokrinoloji kliniğinde yatmakta olan ve Diyarbakır Gazi Yaşargil Araştırma Hastanesi Endokrinoloji polikliniğine başvuran Tip 1 ve Tip 2 diyabet tanısı konulmuş 15 Tip 1 ve 15 Tip 2 hastası ile (cinsiyet farkı gözetilmeden) 15 kontrol olarak sağlıklı bireylerden (cinsiyet ve yaş açısından uyumlu) kan örnekleri alındı.

Çalışma protokolünün amacı, gereç ve yöntemlerinin incelenmesi, Helsinki Deklarasyonu Kararlarına, Hasta Hakları Yönetmeliği' ne ve etik kurallarına uygun olarak tasarlandığına ilişkin Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu tarafından **15.03.2018 tarih ve 7/9** sayılı kararıyla etik kurul onay belgesi alındı (Ek 1).

Tablo 1: Tip1, Tip 2 ve Kontrol gruplarına ait yaş ve cinsiyet bilgileri

Sıra	Grup	Cinsiyet	Yaş	Sıra	Grup	Cinsiyet	Yaş
1	Kontrol	Erkek	26	24	Kontrol	Erkek	26
2	Kontrol	Kadın	43	25	Kontrol	Kadın	43
3	Kontrol	Kadın	32		Kontrol	Kadın	32
4	Kontrol	Erkek	28		Kontrol	Erkek	28
5	Kontrol	Erkek	33		Kontrol	Erkek	33
6	Kontrol	Erkek	28		Kontrol	Erkek	28
7	Kontrol	Kadın	44		Kontrol	Kadın	44
8	Kontrol	Kadın	50		Kontrol	Kadın	50
9	Kontrol	Erkek	38		Kontrol	Erkek	38
10	Kontrol	Kadın	45		Kontrol	Kadın	45
11	Kontrol	Kadın	32		Kontrol	Kadın	32
12	Kontrol	Erkek	40		Kontrol	Erkek	40

13	Kontrol	Erkek	52
14	Kontrol	Erkek	39
15	Kontrol	Erkek	41
16	Tip 1	Erkek	21
17	Tip 1	Kadın	36
18	Tip 1	Kadın	41
19	Tip 1	Erkek	25
20	Tip 1	Kadın	20
21	Tip 1	Erkek	32
22	Tip 1	Kadın	19
23	Tip 1	Kadın	23

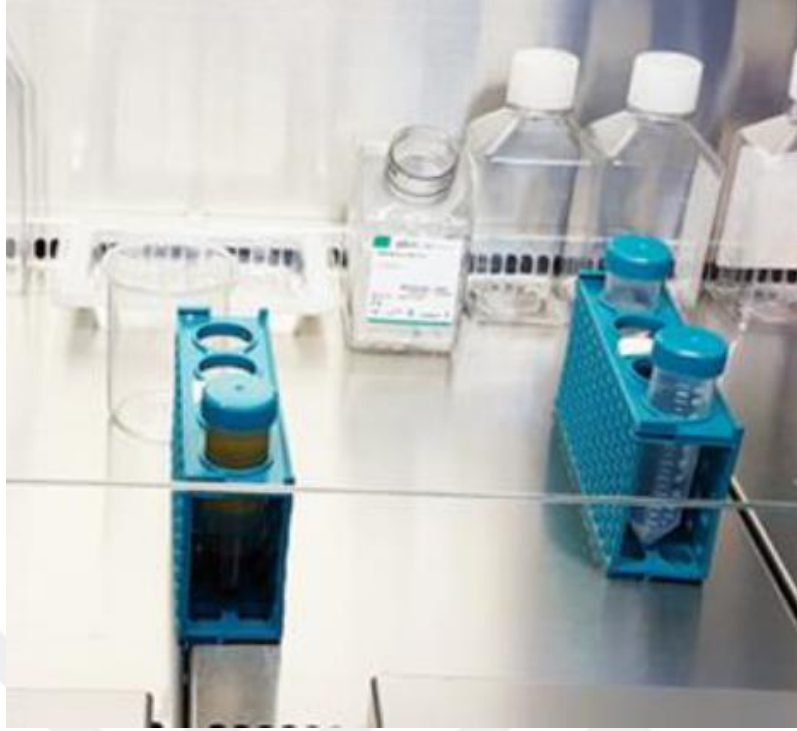
	Kontrol	Erkek	52
	Kontrol	Erkek	39
	Kontrol	Erkek	41
	Tip 1	Erkek	21
	Tip 1	Kadın	36
	Tip 1	Kadın	41
	Tip 1	Erkek	25
	Tip 1	Kadın	20
	Tip 1	Erkek	32
	Tip 1	Kadın	19

4.1. Western blot

4.1.1. Ficoll-Paque yöntemi ile periferik kandan PBMC' lerin izolasyonu

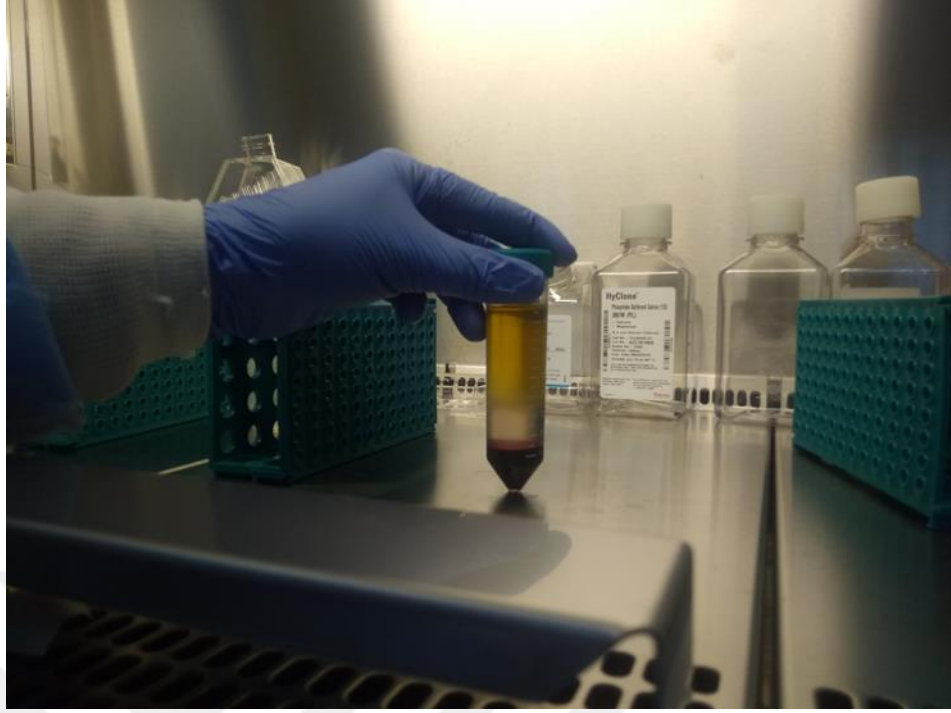
Tip 1, Tip 2 hastaları ile sağlıklı bireylerden alınan 20 ml venöz kanın 10 ml'si immünohistokimya analizi için 10 ml'si ise PBMC'lerin izolasyonu için heparinize tüp içine aktarıldı. Hücre izolasyon basamakları, steril koşullarda yapılabilmesi için Class II tip laminar kabin içinde (Thermo safe 1.2 class II) gerçekleştirildi (Resim 1). Toplam kandan PBMC'lerin izolasyonu mevcut standart protokolü uygulanarak şu şekilde gerçekleştirildi.

- Heparinize kan 50 ml' lik falkon tüp içine aktarıldı. Üzerine total kan miktarı kadar(10 ml) Phosphate Buffered Saline (PBS) [Gibco®] eklendi.



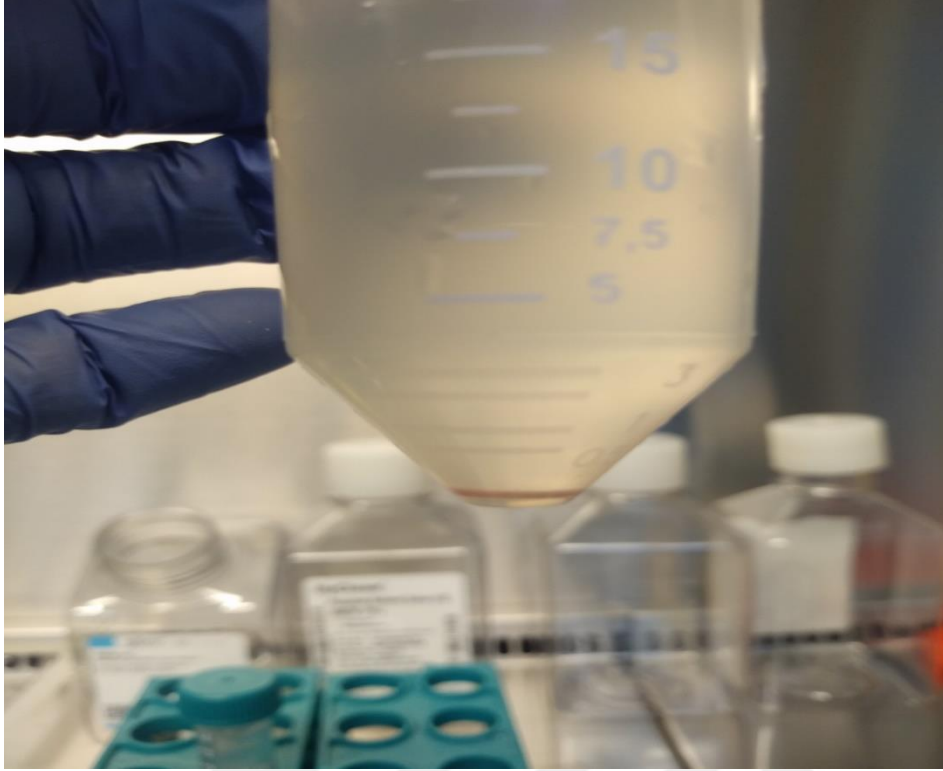
Resim 1: Class II tip laminar kabinde çalışmanın yapılması

- b) PBS ile sulandırılan kan dört-beş defa pipet yardımıyla (pipetaj) karıştırıldı. 50 ml'lik falkon tüp içine alınan 15 ml FicollPaque PLUS (GE Healthcare Life Sciences) üzerine PBS ile sulandırılmış olan kan tüpün yan duvarından oldukça yavaş bir şekilde ve sızdırma tarzında eklendi.
- c) Tüpler 400 xg' de 18°C' de 30 dk 4 acc ayarı ile declaration ayarı 0 olacak biçimde santrifüj edildi (Thermo SL16R).
- d) Santrifüj yapıldıktan sonra falkon tüpün en dip kısmında eritrositler, eritrositlerin üstünde yüksek yoğunluktaki ficoll ve en üst kısımda da PBS ile plazma bulundu. PBS ile Ficoll'ün birleşim yerinde halka şeklinde PBMC' ler tespit edildi (Şekil 2).



Resim 2: Santrifüjden sonra meydana gelen tabakalanma

- e) 10 ml'lik steril pipet kullanılarak PBS ve plazma uzaklaştırıldı.
- f) 5 ml'lik steril pipet yardımıyla PBMC' ler toplandı. Toplanan PBMC' ler başka bir 50 ml' lik falkon tüpe transfer edilerek, üstüne total volüm 50 ml olacak şekilde PBS eklendi.
- g) Tüpler 200 xg' de 18 °C' de 10 dk acc ayarı 9 declaration ayarı 9 olacak biçimde ayarlanarak santrifüj edildi.



Resim 3 : Çöken Hücre Peleti

h) Falcon tüpün dibine çöken PBMC' lerin üzerindeki PBS uzaklaştırıldı. Çöken hücreler hafifçe tüpe vurularak kaldırıldı. Üzerine total miktar 14 ml olacak şekilde pbs eklenerek pipet yardımıyla pipetaj yapıldı. 15 ml'lik falkona aktarılarak tekrar 200 xg' de 18 °C' de 10 dk acc ayarı 9 declaration ayarı 9 olacak şekilde ayarlanarak santrifüj edildi (Resim 3).

ı) PBS Santrifüjden sonra pipet yardımıyla hücre peletine dokunulmadan uzaklaştırıldı.

4.1.2. Western Blot için PBMC Hücre Lizatlarının Hazırlanması

Hücre lizatları aşağıdaki protokol eşliğinde yapıldı.

Tüpler içinde bulunan hücre peletleri üzerinde yapılacak olan işlemlerin tümü buz içerisinde gerçekleştirildi. Peletlerin üzerine nükleaz (Thermo Fischer) içeren soğuk RIPA buffer (160 µl) (Sigma Aldrich) ve proteaz-fosfat inhibitör kokteyli (Thermo Fischer) eklendi. Pipetle pipetlendikten sonra vorteksenerek karıştırılan örnekler 1 saat boyunca buzun üzerinde tutulmak kaydıyla 15 dakikada bir vortekslendi ve lizisi sağlanmış oldu. Protein karışımı içindeki toplam protein

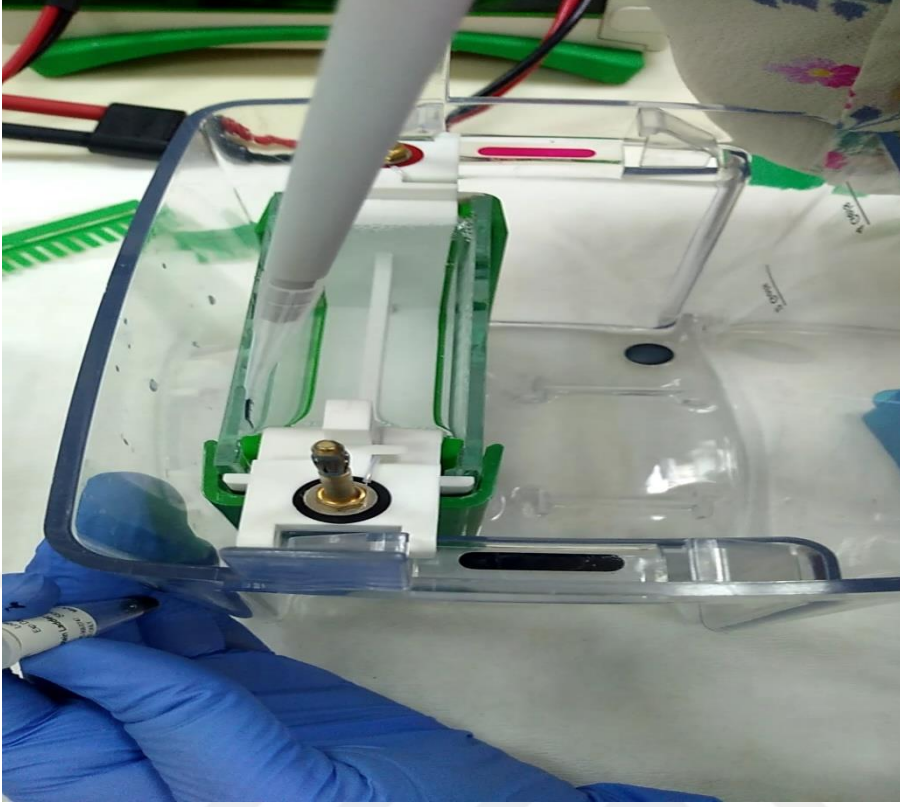
miktarını ölçmek amacıyla BCA protein assay kiti (Thermo Scientific Pierce) kullanıldı. Kitin üzerinde yazılı olan kullanma talimatına uygun şekilde BSA (Bovine Serum Albumine) standartları kullanıldı ve 562 nm’ de ölçüm yapılarak $\mu\text{g/ml}$ deki total protein konsantrasyonu tespit edildi (Resim 4).



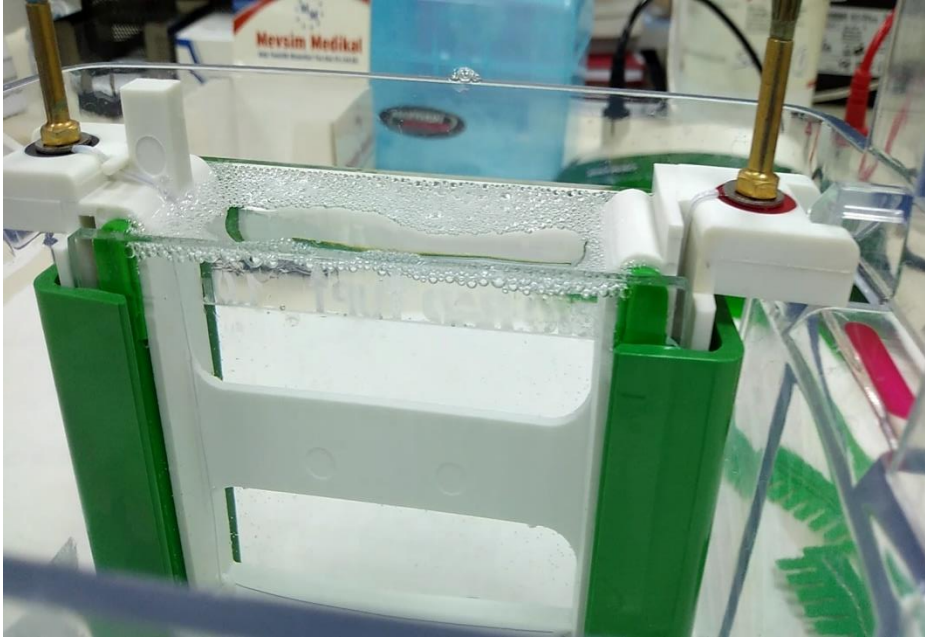
Resim 4 : Örneklerin Protein Değerlerinin Ölçümü

4.1.3. Western blot için protein örneklerinin jelde ayrımı ve membrana transferi

1. Bütün protein örneklerinin ayrımı Mini Protean Tetra Cell apparatus sistemi (Bio-Rad) kullanılarak % 10’ luk TGX stain-free fast cast acrylamid jel (Bio-Rad) üzerinde gerçekleştirildi.
2. Protein örnekleri % 0.01 (w/v) bromophenol blue, $1\times$ SDS loading buffer [% 2 (w/v) SDS, % 5 (v/v) glycerol, % 8 (w/v) DTT] içerisinde hazırlandı. 94’ °C de 2 dk ısıtıldı.
3. Eşit miktardaki (20 μg) ve eşit hacimdeki (20 μl) proteinler % 10’ luk TGX stain-free fast cast acrylamid jel üzerine yüklendi (Resim 5) . 300 V’ da 20 dk SDS running buffer (2.4 mM Tris, 19.2 mM glycine, % 0.01 (w/v) SDS) içerisinde elektroforez yapıldı (Resim 6,7).



Resim 5 : Örneklerin membrana yüklenmesi



Resim 6 : Yürütme İşlemi



Resim 7 : Örneklerin Yürütülmesinde Kullanılan Cihaz

4. Ayrılan proteinler jelden PVDF membrana transfer edildi (Bio-Rad, Transfer pack) (Resim 8,9).



Resim 8 : Proteinlerin Ayrıştığı Jelin Alınması



Resim 9 : Jelin Membrana Transferi

5. Membranlar, % 5' lik 1 gr yağsız süt tozunun 20 ml PBS-Tween içerisinde eritilerek hazırlanan solüsyon içerisinde çalkalayıcı (shaker) üzerinde 1 saat boyunca oda sıcaklığında bloke edildi.
6. Bloklanan membranlar yine % 5' lik süt tozundan PBS-Tween içerisinde 1/1000 oranında hazırlanan primer antikorlar 2 saat oda sıcaklığında ve çalkalayıcı üzerinde inkübe edildi.
7. Membranlar ilki 15 dk olmak üzere 25 ml PBS-Tween ve toplam 15 dk olacak şekilde 3 defa (5 dk+5 dk+5 dk) 25 ml PBS-Tween ile yıkandıktan sonra 1 saat oda sıcaklığında çalkalayıcı üzerinde sekonder antikorlar (1/10000 oranında PBS-Tween içerisinde hazırlanmış) ile inkübe edildi
- 8 .Membranlar yine 15 dk 25 ml PBS-Tween ve toplam 15 dk olacak şekilde 3 defa (5 dk+5 dk+5 dk) 25 ml PBS-Tween ile yıkandıktan sonra, proteinler, ECL (enhanced chemiluminiscent) (Bio-Rad) metoduna göre görüntüleme cihazı (Bio-Rad ChemiDoc MP) aracılığıyla görüntülendi.

Tablo 2: Primer Antikorların Listesi

Primer antikor	Firma
STAT3 antibody	BD Biosciences
Phospho- STAT3 antibody	Cell Signaling
P38 antibody	Abcam
Phospho -P38 antibody	Cell Signaling
SRC antibody	CELL SIGNALİNG
Phospho -SRC antibody	CELL SIGNALİNG
Erk 1/2 antibody	Cell Signaling
Phospho Erk 1 /2 antibody	Cell Signaling
BETA-ACTIN antibody	Abcam

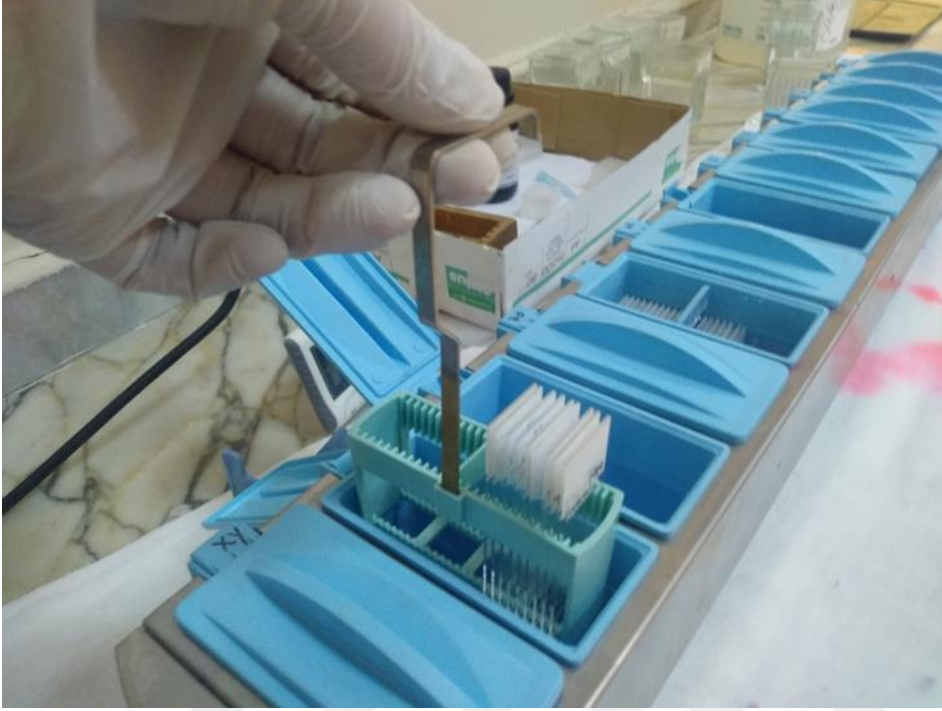
Tablo 3: Sekonder antikorların listesi

Sekonder antikor	Firma
1. HRP conjugated anti-rabbit antibody	Abcam
2. HRP conjugated anti-mouse antibody	Abcam

4.2. PBMC Hücrelerinin İmmunohistokimyasal Analizi

İmmunohistokimyasal analiz için Tip 1 ve Tip 2 diyabet hastalarından ve sağlıklı bireylerden alınan 10 ml'lik edta'lı tüp içindeki kanlar santrifüj edildi. Üzerlerine formalin eklendi. Daha sonra rutin parafin protokolünü takiben bölümler bir mikrotom ve Ultra V bloğu ile kesildi. Primer antikorlarımız olan SRC ve SRC'la ilişkili MAPK ve STAT3 uygulandı. Sekonder antikor uygulamasından sonra bölümler streptavidin-peroksidaza maruz bırakıldı. Diaminobenzidin, bir kromojen

olarak kullanılacak ve kesitler Hematoksilen ile boyandıktan sonra ışık mikroskobu altında incelendi (Resim 10).

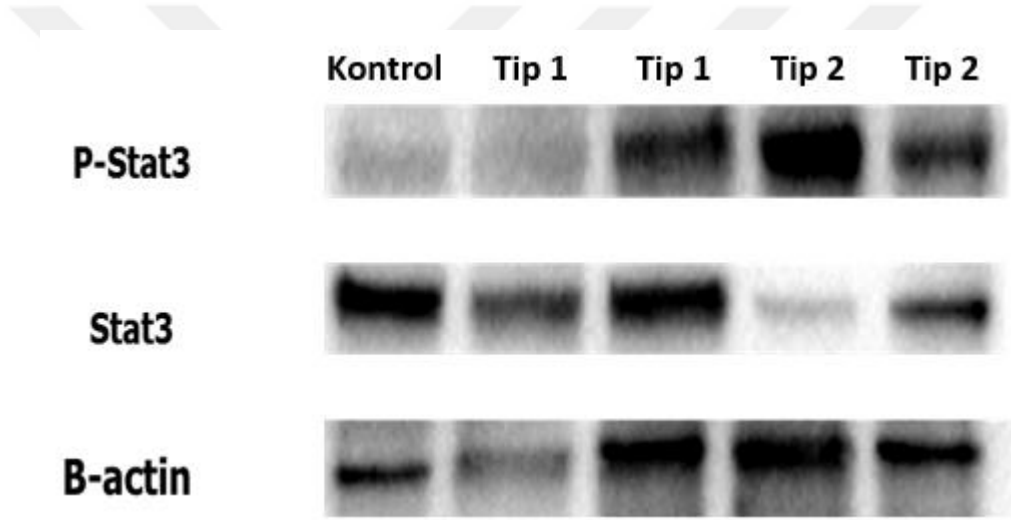


Resim 10 : İmmünohistokimya Alkol Serilerinden Geçirilmesi

5. BULGULAR

5.1. Western Blot Bulgular

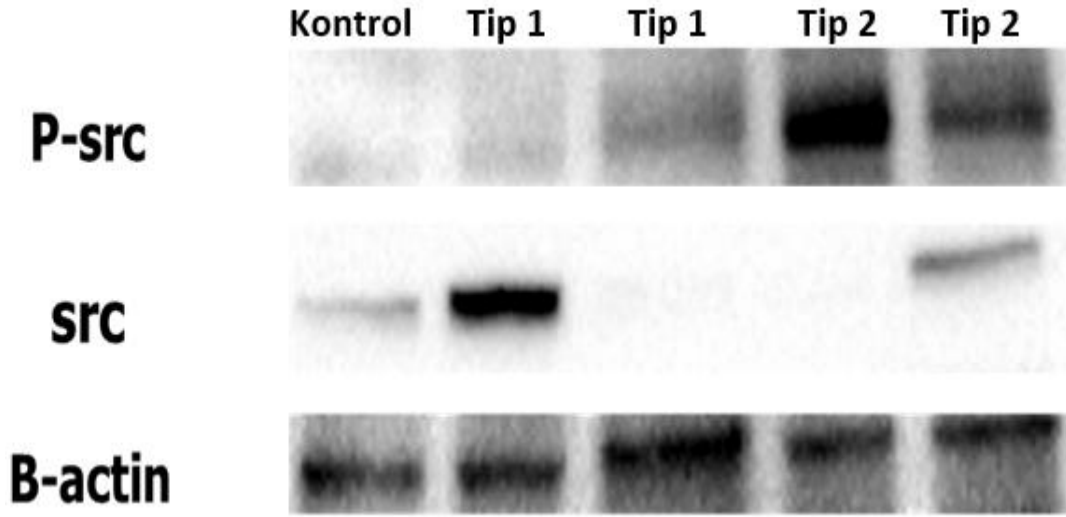
Hasta ve kontrol gruplarından (Tip 1 ve Tip 2) alınan total kandan izole edilen PBMC hücrelerinde STAT-3 proteinin fosforilasyon ve ekspresyon düzeyleri Western Blot yöntemiyle araştırıldı. Kontrol ve Tip 1 hasta grubunun hücre lizatınlarında STAT-3 ekspresyonunun deteksiyon düzeyinde olduğu gözlemlenmiştir. Tip 2 hasta gruplarında ise ekspresyonunun baskılandığı görülmüştür. Kontrol ve Tip 1 gruplarında STAT-3 ekspresyonu artarken fosforilasyon düzeyi baskılanmıştır. Tip 2 grubunda ise bu durumun tam tersi olan STAT-3 fosforilasyon düzeylerinin arttığı gözlemlenmiştir (Şekil 3).



Şekil 1: Kontrol ve Tip 1 Diyabet Hastalarının Pbmcc Hücrelerinde Stat-3 fosforilasyon düzeyleri baskılanmıştır. Hücre lizatında STAT-3 ekspresyonu anti-STAT-3 antikoruna kullanılarak araştırıldı. STAT-3 aktivitesi (Tyr-705 fosforilasyonu) tyr-705 in fosforilasyonu için spesifik olan antikor kullanılarak Western Blotla araştırıldı. β -actin yükleme kontrolü olarak kullanıldı.

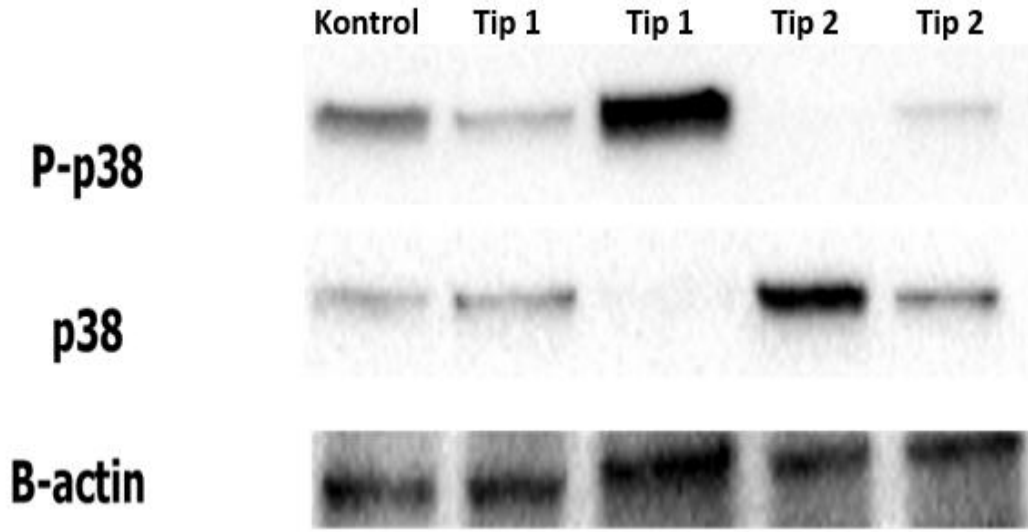
Kontrol ve hasta gruplarından (Tip-1 ve Tip-2) alınan total kandan izole edilen PBMC hücrelerinde Src proteinin ekspresyon ve fosforilasyon düzeyleri Western Blot yöntemiyle araştırıldı. Kontrol ve Tip 1 hasta grubuna ait hücre lizatında Src ekspresyonunun neredeyse deteksiyon düzeyinde olmadığı, fakat Tip 2 hasta gruplarının lizatında Src ekspresyonunun belirgin düzeyde arttığı gözlemlendi. Kontrol ve Tip 1 gruplarında Src ekspresyonu baskılanmış olmasına rağmen Src

fosforilasyon düzeyinin dramatik bir şekilde arttığı tespit edildi. Buna karşın, Tip 2 grubu, kontrol ve Tip 1 gruplarıyla kıyaslandığında Src fosforilasyon düzeylerinin önemli derecede baskılandığı saptandı (Şekil 3.1.2).



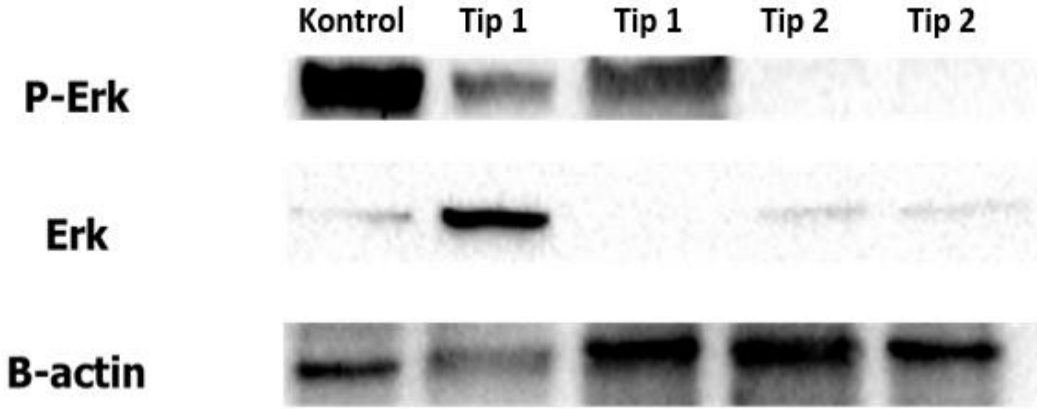
Şekil 2: Tip-2 Diyabet Hastalarının Pbmcc Hücrelerinde Src Fosforilasyon Düzeyleri baskılanmıştır. Hücre lizatında Src ekspresyonu anti-Src antikoru kullanılarak araştırıldı. Src aktivitesi (Tyr-416 fosforilasyonu) tyr-416 nın fosforilasyonu için spesifik olan antikor kullanılarak Western Blotla araştırıldı. β -actin yükleme kontrolü olarak kullanıldı.

Hasta ve kontrol gruplarından (Tip 1 ve Tip 2) alınan total kandan izole edilen PBMC hücrelerinde P38 proteinin fosforilasyon ve ekspresyon düzeyleri Western Blot yöntemiyle araştırıldı. Kontrol ve Tip-1 hasta grubunun hücre lizatınlarında P38 ekspresyonunun belirgin düzeyde olmadığı görülmüştür. Tip 2 hasta gruplarında ise ekspresyonunun artmış olduğu gözlemlendi . Kontrol ve Tip 1 gruplarında P38 ekspresyonu baskılanmış olmasına karşın P38 fosforilasyon düzeyinin arttığı tespit edildi. Tip 2 grubu, kontrol ve Tip 1 gruplarıyla karşılaştırıldığında ise P38 fosforilasyon düzeylerinin dikkate değer miktarda baskılandığı tespit edilmiştir. (Şekil 3.1.3).



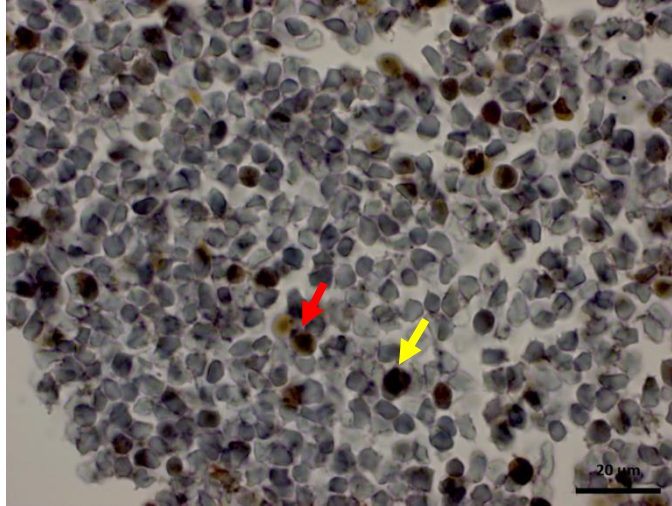
Şekil 3 : Tip 2 Diyabet Hastalarının Pbmcc Hücresinde P38 Fosforilasyon Düzeyleri baskılanmıştır. Hücre lizatında P38 ekspresyonu anti-p38 antikorunu kullanılarak araştırıldı. P38 aktivitesi (Tyr-180 fosforilasyonu) tyr-180 nin fosforilasyonu için spesifik olan antikor kullanılarak Western Blotla araştırıldı. β -actin yükleme kontrolü olarak kullanıldı.

Hasta ve kontrol gruplarından (Tip-1 ve Tip-2) alınan total kandan izole edilen PBMC hücrelerinde ERK(P44) proteinin fosforilasyon ve ekspresyon düzeyleri Western Blot yöntemiyle araştırıldı. Kontrol ve Tip-1 hasta grubunun hücre lizatınlarında ERK ekspresyonunun arttığı Tip-2 hasta gruplarında ise baskılandığı görülmüştür. Aynı şekilde Kontrol ve Tip-1 gruplarında ERK fosforilasyon düzeyi de artmıştır. Tip-2 grubunda da ekspresyonda olduğu gibi fosforilasyon da baskılanmıştır. (Şekil 3.1.4).

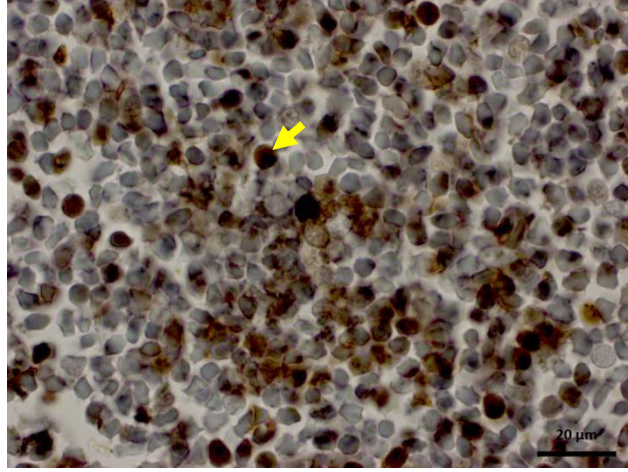


Şekil 4 : Kontrol ve Tip-1 Diyabet Hastalarının Pbmç Hücrelerinde Erk (P44)'ın Hem Ekspresyon Hem de Fosforilasyon Düzeyleri baskılanmıştır. Hücre lizatında ERK ekspresyonu anti-ERK antikoruna kullanılarak araştırıldı. ERK 1/2 aktivitesi (Tyr-202/Tyr-204 fosforilasyonu) tyr-202 ve 204'ün fosforilasyonu için spesifik olan antikor kullanılarak Western Blotla araştırıldı. β -actin yükleme kontrolü olarak kullanıldı.

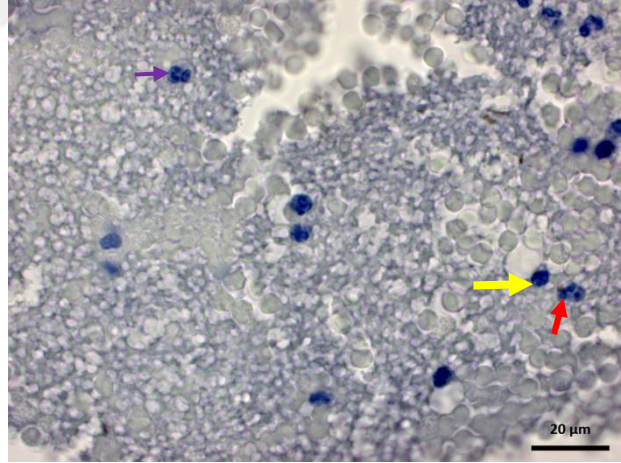
5.2. İmmünohistokimyasal Bulgular



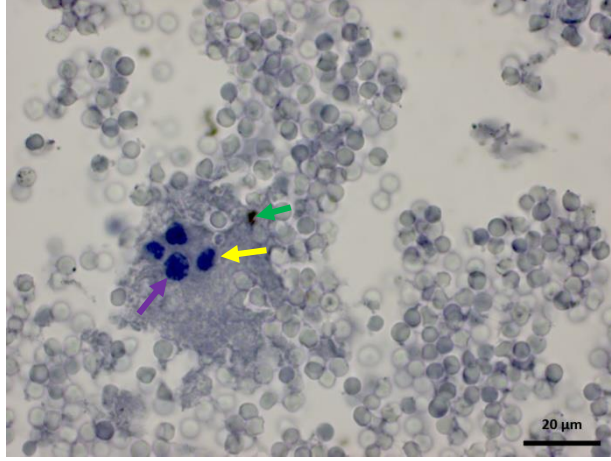
Resim 11 : Kontrol grubu : Lenfosit ve monosit hücrelerinde hem nükleus hem de stoplazmada Stat-3 ekspresyonu pozitif(sarı ok), nötrofillerde(kırmızı ok) ve bazı trombosit pulcuklarında Stat-3 ekspresyonu belirgin idi. Stat-3 immünohistokimya boyama bar 20 μ m



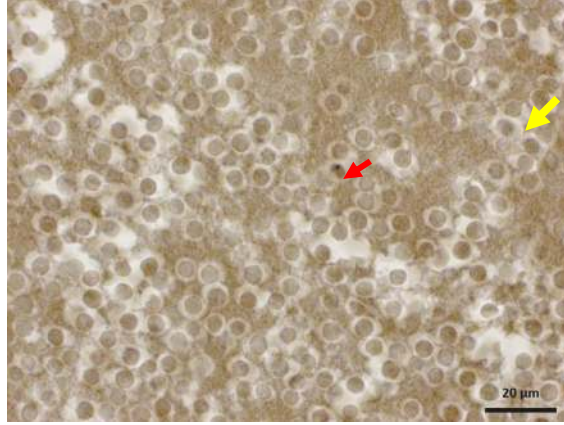
Resim 12 : Tip 1 diyabet grubu : Lenfosit hücrelerinin bazılarında nükleus kaybı, hücre membranında pozitif Stat-3 ekspresyonu, plazma hücrelerine benzer B tipi lenfosit hücrelerinde nükleus periferde hücre membranı ile birlikte Stat-3 pozitif(sarı ok) reaksiyonu gösterdi. Nötrofil hücrelerinde piknotik nükleus yapılarıyla birlikte Stat-3 ekspresyonunda artış gözlemlendi. Lökositler yapıların arasında kümeler halinde soliter dağılmış trombositlerde Stat-3 ekspresyonunda artış görüldü. Stat-3 immünohistokimya boyama bar 20 µm



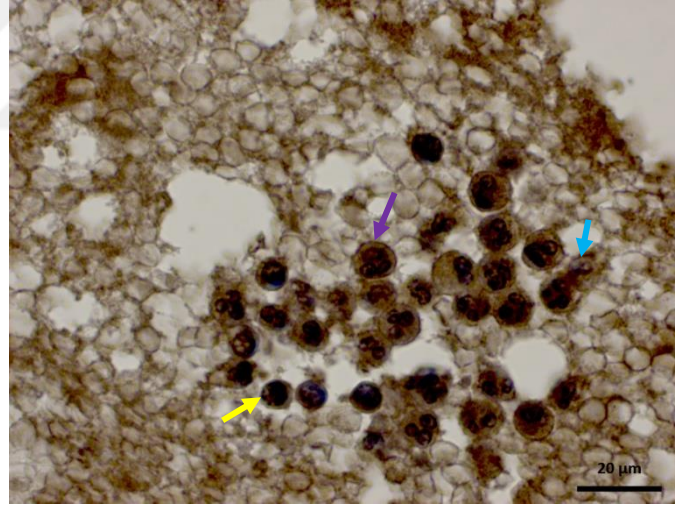
Resim 13 : Tip 2 diyabet grubu : Bu gruba ait immünohistokimyasal incelemede lenfosit(sarı ok) ve monosit(mor ok) hücrelerinde negatif Stat-3 ekspresyonu, nötrofillerde(kırmızı ok) piknotik nükleus yapıları ve hücre membranında negatif Stat-3 ekspresyonu, bazı nükleus kaybı görülen lökositler yapıların membranında ve küçük gruplar halindeki plateletlerde hafif düzeyde Stat-3 ekspresyonu görüldü. Stat-3 immünohistokimya boyama bar 20 µm



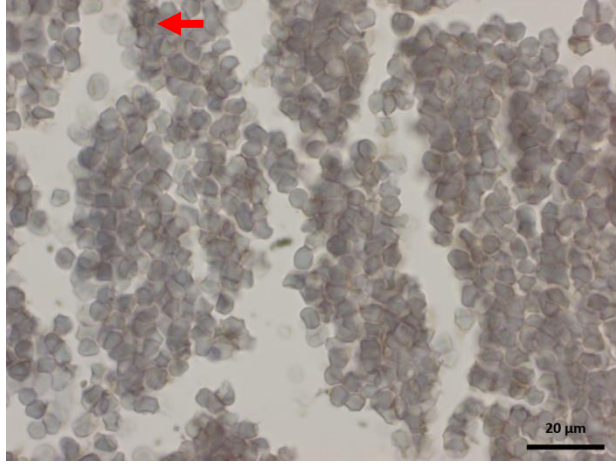
Resim 14 : Kontrol grubu : Lenfosit(sarı ok) ve monosit(mor ok) hücrelerinde nükleus stoplazmaya yakın büyüklükte olup hem nükleus hem de stoplazmada Src ekspresyonu negatif olarak görüldü. Bazı soliter plateletlerde(yeşil ok) ise Src ekspresyonu orta düzeyde izlendi. Src immünohistokimya boyama bar 20 µm.



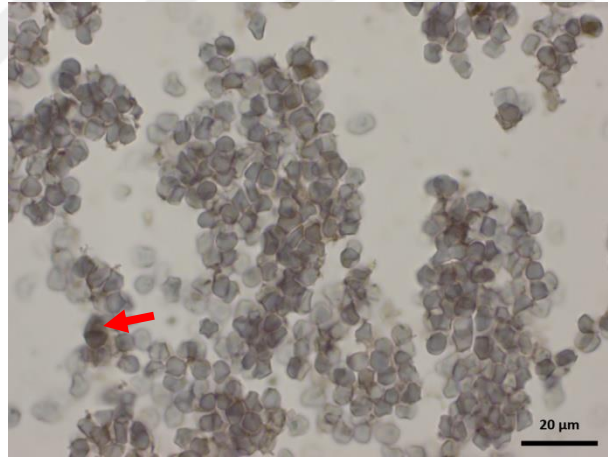
Resim 15 : Tip 1 diyabet grubu : Bu grubun immünohistokimyasal incelemesinde bazı lenfositlerde(kırmızı ok) orta düzeyde Src ekspresyonu gözlenirken genel olarak lenfositlerin(sarı ok) büyük bir çoğunluğunda Src ekspresyonu negatif olduğu görüldü. Bazı nötrofillerin nükleuslarının belirgin olarak piknotik olduğu ve bu nükleuslarda ekspresyonun pozitif olduğu görüldü. Src immünohistokimya boyama bar 20 µm



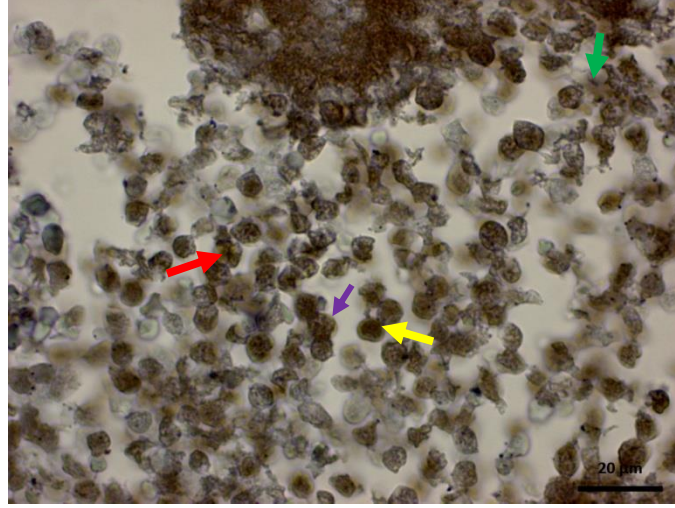
Resim 15 : Tip 2 diyabet grubu : Lenfosit(sarı ok) ve monosit(mor ok) hücrelerinin hem nükleuslarında hem de stoplazmalarında Src ekspresyonu pozitif, nötrofillerde ve diğer granüler lökositlerde nükleuslarda dejeneratif değişiklikler(mavi ok) gözlenirken özellikle nötrofil nükleuslarında belirgin bir küçülme ve Src ekspresyonunda artış olduğu görüldü. Bununla beraber apoptotik indüksiyonla birlikte inflamasyonun da önemli ölçüde arttığı görülmüştür. Src immünohistokimya boyama bar 20 µm



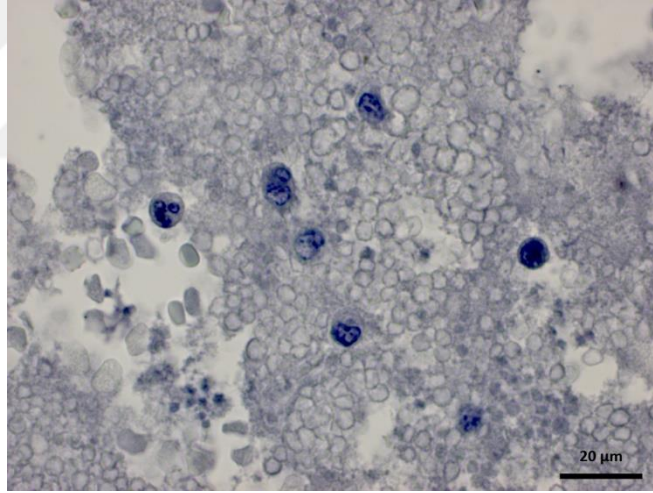
Resim 16 : Kontrol grubu : Bu grubun immünohistokimyasal kesitinde lenfosit ve monositlerin normal olduğu, P38 ekspresyonunun hem nükleusta hem de stoplazmada negatif ekspresyon gösterdiği, bazı nötrofil nükleuslarında ise hafif düzeyde P38 ekspresyonunun(kırmızı ok) olduğu görüldü. P38 immünohistokimya boyama bar 20 µm



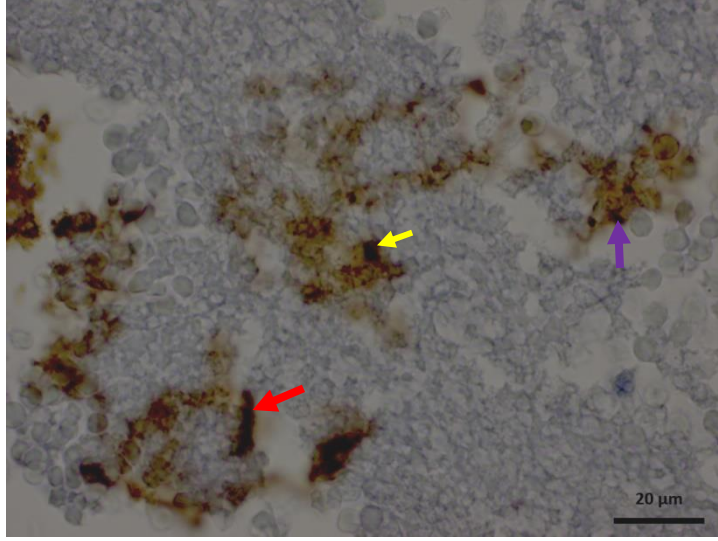
Resim 17 : Tip 1 diyabet grubu : Bu grupta kontrol grubuna göre lenfosit ve monosit hücrelerinin bazılarında hafif düzeyde P38 ekspresyonu, bazı nötrofil hücrelerinde ise P38 ekspresyon özellikle nükleuslarda belirgin(kırmızı ok) olduğu görüldü. P38 immünohistokimya boyama bar 20 µm



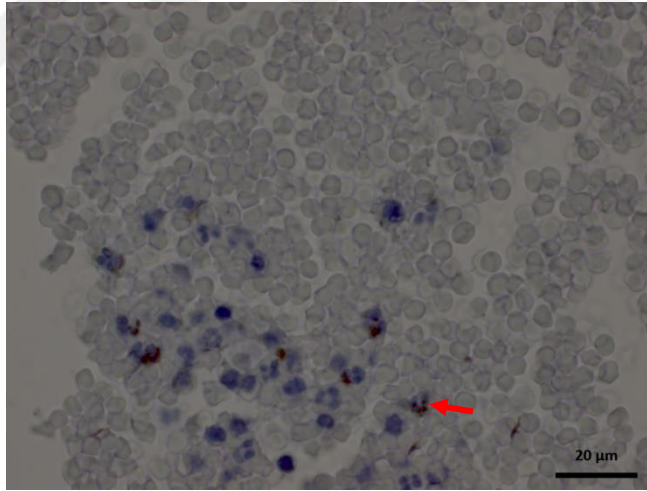
Resim 18 : Tip 2 diyabet grubu : Lenfositlerde(sarı ok) ve monositlerde(mor ok) P38 ekspresyonunda artış, bazı dejenere olmuş nötrofil nükleuslarında(kırmızı ok) ve plateletlerde(yeşil ok) P38 ekspresyonu belirgin olarak izlendi. P38 immünohistokimya boyama bar 20 μm



Resim 19 : Kontrol grubu : Bu grubun immünohistokimya kesitinde lenfosit, monosit, nötrofil ve plateletlerde negatif Erk 1/2 ekspresyonu görüldü. Erk 1/2 immünohistokimya boyama bar 20 μm



Resim 20 : Tip 1 diyabet grubu . Lenfosit(sarı ok) ve monosit(mor ok) nükleuslarında piknozis ve nötrofillerde uzun çubuk şeklinde nükleus dejenerasyonu(kırmızı ok) pozitif Erk ½ ekspresyonu ayrıca diffuz bir biçimde yayılmış küçük trombosit pulcuklarında pozitif Erk ½ ekspresyonunda artış gözlemlendi. Erk ½ immünohistokimya boyama bar 20 µm



Resim 21 : Tip 2 diyabet grubu : Bu gruba ait immünohistokimyasal incelemede lenfosit ve monositlerde negatif Erk ½ ekspresyonu, bazı nötrofillerin nükleer yapılarında pozitif Erk ½ ekspresyonu gözlenirken diğer nötrofil(kırmızı ok) ve granüllü lökositlerde negatif Erk ½ ekspresyonu gözlemlendi. Erk ½ immünohistokimya boyama bar 20 µm

JNK'ya ait herhangi bir bulgu elde edilememiştir.

6. TARTIŞMA

Tip 1 diyabet, kandaki şeker düzeyinin yükselmesiyle meydana gelen metabolik bir rahatsızlıktır ve yaşamın tüm evresinde insan sağlığını tehdit etmektedir. Tip 1 diyabete yol açan bu glikoz yüksekliği pankreastaki β ve α hücrelerindeki dengesizlik sebebiyle ortaya çıktığı, otoimmün sistemi etkileyecek başka organlarda önemli hasarlara neden olduğu bildirilmiştir (120). Doku hasarının oluşumu sırasında hücre yıkımına neden olan faktörlerin birbirini tetikleyerek gelişen insülin yanıtına karşı olumsuz bir cevap verdiği ve hasarın daha da arttığı belirtilmiştir (121). İnsülin hasarına bağlı olarak (insülitis) β hücrelerinde aşırı dejenerasyon ve MHC-1'de baskılanma sebebiyle β hücrelerinde insülin sekresyonunda azalma görülür. Buna bağlı olarak inflamatuvar reaksiyonun kanda artması sebebiyle buradaki lökositler sistem etkilenerek moleküler düzeyde hücrelerde sinyal yetersizliğine bağlı hasarlar oluşmaya başlar.

Yapılan bazı çalışmalarda Tip bir diyabet etkisine bağlı olarak pankreastaki β hücrelerinde otoimmün sistemde meydana gelen değişikliklere bağlı olarak periferik kanda nötrofil olgunlaşmasında ve hasarında artışın olduğu, özellikle de nötrofil sayısında azalma olduğu bildirilmiştir (122-123). Çalışmamızda periferik yaymada Tip 1 diyabette nötrofil nükleuslarında piknozis, nükleer yapıları birleştiren kromatin köprülerinde kırılmalar ve kayıpla birlikte apoptotik değişiklikler gözlemlendi. Çalışmamızda nötrofil sayısından ziyade nötrofilde oluşan hasarın hücresel defansı etkilediği, Tip 1 diyabete bağlı olarak oluşan sinyal yollarındaki yetersizlikten dolayı hücre kaybının hızlı bir şekilde gerçekleştiği gözlenmiştir. Çalışmamızın lenfosit ve monosit hücrelerindeki nükleus yapılarında boyut olarak önemli farklılıklar görülmesiyle birlikte nötrofiller kadar etkilenmediği tespit edilmiştir. Çalışmamızda dikkat çeken önemli bulgulardan biri de trombosit pulcuklarında görülen küçülmelerdir. Bunun da özellikle makrofaj aktivitesine bağlı olarak gelişebileceği ve makrofajlarda görülen defansın etkisine bağlı olarak olduğu düşünülmüştür.

Stat-3 antikorlu T lenfositler tarafından IL-6 (interlökin-6) aracılığıyla baskılandığı ve özellikle de Tip 1 diyabetli hastalarda Stat-3'ün daha fazla bloke edildiği bildirilmiştir. Stat-3 blokajının kalkmasını öneren immün tedavilerin

inflamasyonun ilerlemesini azaltacağı bildirilmiştir (124). Çalışmamızda Tip 1 diyabet grubunda lenfosit hücrelerinin bazılarında çekirdek kaybı belirgin olmakla birlikte genel olarak tüm lenfositlerde hem membranda hem de nükleuslarda Stat-3 ekspresyonu pozitif reaksiyon göstermiştir. Bizim çalışmamız Emmi-Leena Ihantola ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmayı destekler niteliktedir. Ayrıca çalışmamızda nötrofillerde ve trombositlerde Stat-3 ekspresyonunun belirgin olması inflamasyon artışı ve pıhtılaşma aktivasyonunu artırıcı niteliktedir (Şekil 1 ve Resim 12).

.Yapılan bir çalışmada insülin sekresyonu ve glikoz metabolizmasındaki Src'nin rolü araştırılmış, glikoz metabolizması ve insülin salgılanması üzerinde Src'nin aşağı doğru baskılayıcı etkileri, glikokinaz aktivitesini aktifleştirerek oksidatif stres üzerinde glikoz metabolizmasını azalttığı rapor edilmiştir (125). Başka bir çalışmada pankreastaki β hücrelerinde indüklenmiş glikoz insülin sekresyonu (GIIS) hücre içi lokalizasyonla sitozole doğru yönlendirmek suretiyle Src'nin glikoz aktivitesinin düzenlenmesinde ve hücre içi lokalizasyonunda önemli rol oynadığı bildirilmiştir (126). Çalışmamızda Tip 1 diabetik hastalardan alınan periferik yağma kan örneklerinde lenfositlerin ve monositlerin çoğunluğunda Src ekspresyonunun negatif olduğu gözlenirken özellikle bazı nötrofillerde nükleusların piknotik olduğu ve erken dejenerasyona uğrayarak apoptotik değişime doğru erken yönde ilerleme gösterdiği tespit edilmiştir. Bunun da artan insülin sekresyonuna bağlı indükleyici etkiyle inflamasyonun arttığının bir işareti olabileceği düşünülmüştür (şekil 2 ve Resim15).

Erk 1 ve Erk 2 pankreastaki langerhans adacıklarında eşit olarak ve bol miktarda görüldüğü, hücre proliferasyonu ile farklılaşması için fosforilasyon boyunca hücre ölümünde sinyal molekülü olarak görev yapan önemli bir moleküldür (127). Yapılan bir çalışmada Erk 1'in glikoz indükleyici aktivitede kritik bir anahtar protein olduğu açıkça gösterilmiş olup insülin direncinin gelişmesinde önemli rol oynadığı görülmüştür. Diyabet sonrasında glikoz metabolizmasındaki değişime bağlı olarak Erk sinyalinde oluşan değişiklik sonucu hücresel farklılaşma değişime uğramıştır. Bunun da apoptozisin erken dönemde proapoptozise doğru ilerlediğinin bir belirtisi olduğu düşünülmüştür (128).

Çalışmamızda Tip 1 diyabet grubunda lenfosit ve monosit nükleuslarında piknotik değişiklikler, nötrofillerdeki nükleuslarda şekil değişiklikleri, uzun çubuk şeklinde nükleus yapısı ve her tarafa dağılmış trombosit pulcukları görülmüştür. Diyabete bağlı Erk ½ aktivasyonundaki değişim sonucu hücre proliferasyonu ve farklılaşması önemli ölçüde değişmiş, Erk ½ sinyali ile hücre farklılaşması apoptozise doğru ilerleme göstermiştir (Şekil 4 ve Resim 21).

Yapılan bir çalışmada P38 mitojen aktive edici proteininin hiperglisemideki etkileri araştırılmıştır. P38'in gen düzenlenmesinde, hücre büyümesinde, apoptozis gelişiminde proinflamatuvar bir sitokin olduğu ve oksidanlar tarafından indüklenebileceği bildirilmiştir. P38 Mapk'nın (Mapkinaz) yüksek glikoz ve diyabet ile aktive edilebileceği, vasküler hücrelerde önemli bir hedef olabileceği tanımlanmıştır. P38 Mapk aktivitesinin geç hiperglisemi düzeyinde glikoz metabolizmasını önemli ölçüde etkileyebileceği öne sürülmüştür (129). Çalışmamızın Tip 1 diyabet grubunda kontrol grubuna göre lenfosit ve monosit hücrelerinde hafif düzeyde P38 mitojen aktive edici ekspresyonunun olduğu, bazı nötrofil hücrelerinde özellikle nükleuslarında P38 ekspresyonunun pozitif reaksiyon gösterdiği görülmüştür. Tip 1 diyabete bağlı olarak P38 mitojen aktivitesinin sinyal yolları dağılımında ara basamak olduğu, Erk ½ sinyal yollarını aktive edebileceği öngörülmüştür (Şekil 3 ve Resim 18).

Stat-3 insüline bağlı üretim yapan hücrelerde sinyal düzenleme programını kontrol eden endokrin farklılaşması ve pankreas gelişimi için temel olduğu, β hücrelerinin baskılanması sırasında Stat-3'ün aktive olacağı bildirilmiştir. Alloksan verilen diyabetik farelerde oluşturulmuş olan hiperglisemik esnasında transkripsiyon faktörü olarak tanımlanmış olan Stat-3'ün β hücrelerinde baskılama nedeni olabileceği belirtilmiştir (130). Yapılan bir çalışmada yüksek glikoz aktivitesine bağlı makrofajlarda Interlökin-10 aşağı doğru hareketi sonucunda Stat-3 aktivasyonunu bozduğu tespit edilmiştir (131). Çalışmamızda Tip 2 diyabet grubunda Stat-3 ekspresyonunun lenfosit ve monositlerde negatif olduğu, nötrofillerde ise nükleuslarda piknozisle beraber hücre membranında negatif Stat-3 ekspresyonunun görülmesi Stat-3 aktivasyonunun baskılandığı ve nötrofil yapılarının erken apoptotik değişikliğe uğradığının bir belirtisi olarak düşünülmektedir (Şekil 1 ve Resim 13).

Hiperglisemi sonucu ortaya çıkan endotel hasarındaki Src'nin rolü araştırılmış, diyabetik sıçanlarda Src-1 ve Src-3'te önemli azalmalar tespit edilmiştir. Bu çalışmada aktive edici sinyal yollarının oksidatif strese bağlı olarak oksidatif stres tarafından baskılanarak endotel hasarını ortaya çıkardığı ve beraberinde Src düzeyinin azalmasına sebep olduğu belirtilmiştir (132).

Yapılan başka bir çalışmada Tip 2 diyabetin P38/Mapkinaz aktivitesini inhibe ettiğini, bunun da özellikle gelişen glikoz metabolizmasına bağlı olduğu, bu sinyal uyarıcılarının beraberinde Src'yi baskılaması nedeniyle hücre apoptozisini hızlandırdığı belirtilmiştir (133). Yapılan çalışmalar göstermiştir ki Tip 2 diyabetin sinyal yollarını baskılayarak hücre hasarı arttırdığı, özellikle çalışmamızda periferik yayma aşamasında granüler lökositlerin çekirdeklerinde görülen dejeneratif değişiklikler, nötrofil nükleuslarında belirgin küçülme, beraberinde Src ekspresyonunda artış oluşan bu inflamasyonu önemli ölçüde açıklamaktadır (Şekik 2 ve Resim 26).

Tip 2 diyabetle ilgili yapılan çalışmada pankreastaki β hücrelerinin inhibisyonu sebebiyle Erk $\frac{1}{2}$ aktivasyonunun Kaspaz-3 sinyalini uyararak apoptozise sebep olduğu bildirilmiştir. Bu çalışmanın Tip 2 diyabet oluşturulan grubunda uygulanan tedaviyle Erk $\frac{1}{2}$ sinyalinin etkilenecek apoptozisi önleyebileceği belirtilmiştir (134). Başka bir çalışmada, Tip 1 ve Tip 2 diyabette inflamasyon hastalarında diyabete bağlı olarak P38, Erk $\frac{1}{2}$ ve NF-kB gibi sinyal düzenleyicilerin baskılandığı, Metformin tedavisiyle özellikle T-helper hücrelerinin ve diğer monositer kökenli hücrelerin bu tedavide baskılandığı belirtilmiştir (135).

Çalışmamızda lenfosit ve monosit hücrelerinde Erk $\frac{1}{2}$ ekspresyonunun hafif ya da negatif boyandığı, bazı nötrofillerin nükleer yapıda Erk $\frac{1}{2}$ pozitif ekspresyonu olduğu görüldü. Tip 2 diyabetin hasta gruplarında Erk $\frac{1}{2}$ ekspresyonunu önemli ölçüde etkilemediği ancak inflamasyon modülatörü olarak diğer sinyal uyarıcılarının daha etkili olduğu görülmüştür (Şekil 4 ve Resim 22).

Tip 2 diyabeti olan periodontis hastalarında nötrofillerin anormal yapıları incelenmiş, özellikle periferik yaymada P38 Mapkinaz sinyal yolağının nötrofil hücrelerinde apoptotik değişmelere yol açtığı ve periodontitisi indüklediği tespit

edilmiştir. Bu çalışmada mRNA ve protein ekspresyonunun artması nedeniyle Kaspaz-3 ve Box aktivitesi artış göstermiştir (136).

Çalışmamızda nötrofil hücrelerinin yanında lenfosit ve monositlerde de P38 ekspresyonunda artış görülmüştür. Ancak özellikle bazı nötrofillerin nükleuslarında ve trombosit pulcuklarında dejenerasyonla birlikte P38 sinyal uyarıcı ekspresyonu artış göstermiştir. Tip 2 diyabet grubunda P38 sinyalinin apoptozisi arttırdığı düşünülmüştür (Şekil 3 ve Resim 19).



7. SONUÇ

Çalışmamızın sonucunda Tip 1 ve Tip 2 diyabetin birçok hastalığa sebebiyet vermesiyle birlikte bozulmuş insülin metabolizması ve yüksek glisemiye bağlı hücrelerde oluşan dejenerasyonların moleküler düzeydeki etkisi tanımlanmıştır. Periferel kan hücrelerinde her iki diyabet tipine bağlı olarak inflamasyon modölatörlerinden Stat-3,Src ve Mapkinaz ailesine ait Erk $\frac{1}{2}$ ve P38 sinyal yollarının özellikle nötrofillerde nükleus dejenerasyonuna erken dönemde işaret ettiği ve proapoptotik reaksiyonu erken dönemde uyararak nötrofil defansının apoptozise doğru sürüklenmesine, lenfositlerde de gerek membran düzeyinde gerekse nükleer yapıda değişikliklere neden olduğu görölmüştür. Bu çalışmada işaret ettiğimiz önemli bulgulardan bir tanesi diyabete bağlı periferel kanda nötrofil apoptozisinin sinyalleşme döneminde apoptozise neden olabileceği düşünölmüştür.

8. KAYNAKLAR

1. Alberti P.Z, Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus and its Complications Part 1: Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus Provisional Report of a WHO Consultation K.G.M.M. for the WHO Consultation Accepted 2001.
2. Zimmet P., K. G. M. M. Alberti & Jonathan Shaw Global and societal implications of the diabetes epidemic,. Nature.2001;414.
3. Guariguata L., Whiting D.R., Hambleton I., Beagley J., Linnenkamp U., Shaw J.E., Global estimates of diabetes prevalence for 2013 and projections for 2035.2014;103(2):137-149.
4. Ogurtsova K., da Rocha Fernandes J. D., Huang Y., Linnenkamp U., Guariguata L., Cho N. H., Cavan A B D., Shaw J. E., Makaroff C L. E., A. DF diyabet Atlas: 2015 ve 2040 için diyabet prevalansı için küresel tahminler2018;31:1-6.
5. King H., Md, Dsc Who Ad Hoc Diabetes Reporting Group Marian Rewers, Md, Phd. Global Estimates for Prevalence of Diabetes Mellitus and Impaired Glucose Tolerance in Adults Diabetes Care 1993;16(1): 157-177.
6. Satman İ., Yılmaz T., et all., Population-Based Study of Diabetes and Risk Characteristics in Turkey Results of the Turkish Diabetes Epidemiology Study (Turdep) Turdep Group. Diabetes Care 2002;25(9):1551-1556.
7. Stumvoll M., Goldstein B., J., Haeften T., W., Type 2 diabetes: principles of pathogenesis and therapy. 2005; 365:1333-134.
8. Diabetes Mellitusun teşhisi ve sınıflandırılması, Amerikan Diyabet Derneği, Diyabet Bakımı 2014;37: 81-90.
9. Bloke D., Ceci M., Fraticelli ., Fallucca F., Diabetes mellitus: lessons from patient education. 1995;26: 57-66.
10. Galtier F., Definition, epidemiology, risk factors. November 5th, 2010.
11. Kerner W., Brückel J., Diabetes Mellitusun tanımı, sınıflandırılması ve teşhisi. Exp Clin Endocrinol Diabetes 2014; 122(7): 384-386.

12. Modi P., Diabetes Beyond Insulin: Review of New Drugs for Treatment of Diabetes Mellitus. 2007;4(9): 39-47.
13. Akram T., Kharroubi., Hisham M Darwish., 2015; 6(6): 850–867.
14. Adeghate E,Schattner P.,Dunn E.2004;4(4):201-204.
15. Kathleen M., Gillespie C.Type 1 diabetes: pathogenesis and prevention,.2006;175 (2):165-170 .
16. Adeghate E,PhD. Diabetes Mellitus and its Complications.2006;1084(1):1-29.
17. Cho H., Shaw J.E., Karuranga S., Huang Y., J.D. da Rocha Fernandes., Ohlrogge A.W. Ohlrogge ., Malanda B.,2018; 138: 271-281
18. Ebbell B. 2015; 1937: 115.
19. Algaonker SS. Insulin and Metabolism. Bombay (India).2013; 3(1):1-19.
20. Sen BC. Diabetes mellitus. 2013;3. 28- 240.
21. PathakAnuj K.,Sinha Praveen K., Sharma J.Diabetes –A Historical Review .2013;3(1).
22. Mc Grew RE.2013;3(1):74-297.
23. Dobson M. Experiments and observations on urine in diabetes.2013; 13(3): 368–370.
24. Von Mering J., Minkowski O. Diabetes mellitus nach, pancreas extirpation. 2013;3(1):371—378.
25. Banting F., Best C., Collip JB., Campbell WR., Fletcher AA., Pancreatic extracts in the treatment of diabetes mellitus.2011;12: 141-146.
26. Janben M., Vedel L., Schoop J. Accidents hypoglycaemiques graves par un sulfamido-thiazidiagoe. 2013; 3(1).
27. Alberti K.G.M.M., Zimmet P.Z. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. 2006 ;23(5):469-80.
28. Atmaca A., Journal of Experimental and Clinical Medicine. 2012; 29:S2-S6.
29. American Diabetes Association, Diabetes Care. 2015; 38(1): 6-8.

30. Report of the expert committee on the diagnosis and classification of diabetes mellitus B Idiopathic, D Endocrinopathies. 2003;58(5).
31. Altunoğlu E,pHD. Tip 2 diyabet hastalarında kan lipid düzeylerinin HbA1c ve. Obezite ile ilişkisi. 2015; 49(4): 248-254.
32. F Pociot., MF McDermott. Genetics of type 1 diabetes mellitus.2002; 3: 235–249.
33. Atkinson M.A., Eisenbarth G.S., Michels A.W. Type 1 diabetes.2014;383(9911): 69-82.
34. Cotellessa M.,Barbieri P.,Mazzella M.,Bonassi S.High Incidence of Childhood Type 1 Diabetes in Liguria, Italy, From 1989 to 1998. 2003; 26(6): 1786-1789.
35. Couper JJ., Environmental triggers of type 1 diabetes.2001; 37: 218–20
36. M Karvonen.,M Viik-Kajander.,E Moltchanova.,Libman Ben.,R LaPorte.,J Tuomilehto. Incidence of childhood type 1 diabetes worldwide.2000;23: 1516-1526.
37. K.O Kyvik.,L Nystrom., F Gorus.,M Songini.,J Oestman., C Castell., A Green., E Guyrus.,C Ionescu-Tirgoviste.,P.A McKinney., D Michalkova.,R Ostrauskas., N.T Raymond. The epidemiology of Type 1 diabetes mellitus is not the same in young adults as in children.2004;47(3):377–384.
38. American Diabetes Association. Standards of medical care in diabetes.2011;34 (1):11-61.
39. Yılmaz T. Tip 1 diabetes mellitus.2009; 38-51)
40. A Abacı., E Böber., A Büyükgebiz.Tip 1 Diyabetin Uzun Dönem İzlemi. 2008;6 (3):111-118.
41. Hans K., Kerblom A ., Vaarala O., Heikki HYO TY., Ilonen J., Kbiip M. Environmental Factors in the Etiology of Type 1 Diabetes.2002;115(1):18-29
42. Redondo MJ., Fain PR., Eisenbarth GS. Genetics of type 1A diabetes. 2001; 56: 69–89.
43. Devendra D., Liu E., Eisenbarth GS. Type 1 diabetes. 2004; 328: 750–54.

44. Abiru N., Kawasaki E., Eguchi K. Current knowledge of Japanese type 1 diabetic syndrome. 2002; 18: 357–66.
45. In't Veld P. Insulitis in human type 1 diabetes. 2011; 3: 131–38.
46. Willcox A., Richardson SJ., Bone AJ., Foulis AK., Morgan NG. Analysis of islet inflammation in human type 1 diabetes. 2008; 155:173-81.
47. Bottazzo GF., Dean BM., McNally JM., MacKay EH., Swift PG., Gamble DR. In situ characterization of autoimmune phenomena and expression of HLA molecules in the pancreas in diabetic insulitis. 1985; 313: 353–360.
48. Lehuen A., Diana J., Zaccane P., Cooke A. Immune cell crosstalk in type 1 diabetes. 2010; 10: 501–513.
49. Menser MA., Forrest JM., Bransby RD. Rubella infection and diabetes mellitus. 1978; 311(8055):57-60.
50. Gamble DR., Kinsley ML., Fitzgerald MG., Taylor KW. Viral antibodies in diabetes mellitus. 1969; 3: 627–630.
51. Elliott RB., Martin JM. Dietary protein: a trigger of insulin-dependent diabetes in the BB rat? 1984; 26(4):297–299.
52. Mathieu C., Laureys J., Sobis H., Vandeputte M., Waer M., Bouillon R. 1992. 1,25-Dihydroxyvitamin D₃ prevents insulitis in NOD mice. 1992; 41(11): 1491-1495.
53. Dahlquist G., Blom L., Persson L-A., Sandström AIM., Wall SGI. Dietary factors and the risk of developing insulin-dependent diabetes in childhood. 1990; 300:1302–1306.
54. Myers MA., Mackay IR., Rowley MJ., Zimmet PZ. Dietary microbial toxins and Type 1 diabetes—a new meaning for seed and soil. 2001; 44:1199–1200.
55. Akerblom HK., Knip M. Putative environmental factors in type 1 diabetes. 1998; 14(1):Pages 31-68.
56. Hans K., Kerblom A., Vaarala O., Heikki HYÖTY., Ilonen J., Knip M. Environmental Factors in the Etiology of Type 1 Diabetes. 2002; 115(1):1-70.
57. Denis Daneman. Type 1 diabetes. 2006; 367(9513):789-874.
58. Denis Daneman. Type 1 diabetes. 2006; 367(9513):795-797.

59. Melendez-Ramirez LY., Richards RJ., Cefalu WT. Complications of type 1 diabetes. 2017;20(2):625–40.
60. Eckel RH., Eisenbarth GS. Autoimmune diabetes inflames the heart. 2012;4: 138-18.
61. Gottumukkala RV., Lv H., Cornivelli L. Myocardial infarction triggers chronic cardiac autoimmunity in type 1 diabetes. 2012; 4: 138-80.
62. Classification and Diagnosis of Diabetes, American Diabetes Association. 2017; 40(1): S11-S24.
63. Knip M., Virtanen SM., Seppä K. Dietary intervention in infancy and later signs of beta-cell autoimmunity. 2010; 363: 1900–8.
64. Ziegler AG., Nepom GT. Prediction and pathogenesis in type 1 diabetes. 2010;32: 468 – 478.
65. Knip M., Korhonen S., Kulmala P., Veijola R., Reunanen A., Raitakari OT., Viikari J., Akerblom HK. Prediction of type 1 diabetes in the general population. Diabetes Care 201.
66. Ballinger WF., Lacy PE. 2) Transplantation of intact pancreatic islets in rats. 72: 175–186.
67. Najarian JS., Sutherland DE., Matas AJ., Steffes MW., Simmons RL., Goetz FC. Human islet transplantation. 9: 233–236.
68. Ricordi C., Lacy PE., Scharp DW. Automated islet isolation from human pancreas. 1989; 38: 140–142.
69. Jay S. Skyler Hope vs hype: where are we in type 1 diabetes? Springer-Verlag GmbH Germany, part of Springer Nature 2017.
70. Dimos JT. Induced Pluripotent Stem Cells Generated from Patients with ALS Can Be Differentiated into Motor Neurons. 2008;321:1218 – 1221 .
71. Soldner F. Parkinson's disease patient-derived induced pluripotent stem cells free of viral reprogramming factors. 2009;136:964 –977.
72. Pickering SJ. Generation of a human embryonic stem cell line encoding the cystic fibrosis mutation delta F508, using preimplantation genetic diagnosis. 2005;10:390 –397.

73. Maehra R.,Chena S.,Snitow M.,Ludwig T.,Yagasakia L.,Goland R.,Leibel R.L., Douglas A. Melton Generation of pluripotent stem cells from patients.2009;106 (37):15768-15773.
74. Kelly WD., Lillehei RC., Merkel Fk., Suzuki Y., Goetz FC.Diyabetik nefropatide böbrek ile birlikte pankreas ve duodenumun Allotransplantasyonu.1967; 61: 827-837.
75. Gruessner RW., Gruessner AC. The current state of pancreas transplantation.2013; 555–562.
76. Gruessner AC., Gruessner RWG.Declining numbers of pancreas transplantations but significant improvements in outcome.2014;46(6):1936-1937.
77. Ralph A.,Fronzo D.,Ferrannini E.,Groop L.,Henry R.R.,Herman W.H.,Holst J.J., Frank B., Hu C.,Kahn R.,Raz I.,Shulman G.I.,Simonson D.C.,Testa M.A.,Weiss R. Tip 2 diabetes mellitus.2015;15019.
78. Dinneen S., Gerich J., Rizza R. Carbohydrate metabolism in noninsulin-dependent diabetes mellitus.1992; 327: 707–13.
79. Kahn S.E.,Hull R.L.,Kristina M. Mechanisms linking obesity to insulin resistance and type 2 diabetes.2006;444:840–846.
80. D Porte, Jr and S E Kahn. Beta-cell dysfunction and failure in type 2 diabetes: potential mechanisms.2001;50(1):S160.
81. Prentki M.,Nolan C.J. Islet β cell failure in type 2 diabetes. 2006.
82. The Genetic Basis of Type 2 Diabetes Mellitus: Impaired Insulin Secretion versus Impaired Insulin Sensitivity JOHN E. GERICH University of Rochester, School of Medicine and Dentistry, Departments of Medicine, Physiology, and Pharmacology, Rochester, New York 14642. 19(4): 491–503.
83. World Health Organization Expert Committee. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications.Diagnosis and classification of diabetes mellitus.1999.
84. Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus, American Diabetes Association.2014;37(1).
85. Barr R.G., Nathan D.M., Meigs J.B., Şarkıcı D.E.Tests of Glycemia for the Diagnosis of Type 2 Diabetes Mellitus.2002;137(4).

86. Stacy A., Brethauer PR., Aminian SA. 2018; 28(8): 2247-2251.
87. Human Mononuclear Cells (MNCs), Zenbio.
88. Offermans S., Simon MI. Organization of transmembrane signaling by heterotrimeric G proteins. 1997; 27: 177-98.
89. Goldsmith ZG., Dhanasekaran DN. G protein regulation of MAPK networks. 2007; 26(22): 3122-42.
90. Yang SH., Sharrock AD., Whitmarsh A. MAP kinase signalling cascades and transcriptional regulation. 2013; 513(1): 1-13.
91. Obara Y., Nakahata N. The signaling pathway leading to extracellular signal-regulated kinase 5 (ERK5) activation via G-proteins ERK5-dependent neurotrophic effects. 2010; 77(1): 10-6.
92. Johnson GL. Defining MAPK interactomes. 2011; 6(1): 18-20.
93. Roskoski R Jr. ERK1/2 MAP kinases: structure, function, and regulation. 2012; 66(2): 105-43.
94. Guma M., Firestein GS. c-Jun N-Terminal Kinase in Inflammation and Rheumatic Diseases. 2012; 6: 220-31.
95. Tournier C., Hess P., Yang DD., Xu J., Turner TK. Requirement of JNK for stress-induced activation of the cytochrome c-mediated death pathway. 2000; 288(5467): 870-4.
96. Cuadrado A., Nebreda AR. Mechanisms and functions of the p38 MAPKs signalling. 2010; 429(3): 403-17.
97. Cargnello M., Roux PP. Activation and function of the MAPKs and their substrates the MAPK-activated protein kinases. 2011; 75(1): 50-83.
98. Rose BA., Force T., Wang Y. Mitogen-activated protein kinase signaling in the heart: angels versus demons in a heart-breaking tale. 2010; 90(4): 1507-46.
99. Ip YT., Davis RJ. Signal transduction by the c-Jun N-terminal kinase (JNK) ± from inflammation to development. 1998; 10: 205±219.
100. Davis RJ. Transcriptional regulation by MAP kinases. 1995; 2: 459±467.
101. Su B., Karin M. Mitogen-activated protein kinase cascades and regulation of gene expression. 1996; 8: 402±411.

102. Garrington TP., Johnson GL. Organization and regulation of mitogen-activated protein kinase signaling pathways. 1999;11: 211±218 .
103. Han J., Lee JD., Bibbs L., Ulevitch RJ. A MAP kinase targeted by endotoxin and hyperosmolarity in mammalian cells. 1994;265: 808±811.
104. Raingeaud J., Gupta S., Rogers J. Pro-inflammatory cytokines and environmental stress cause p38 mitogen- activated protein kinase activation by dual phosphorylation on tyrosine and threonine. 1995;270:7420±7426.
105. Guyton KZ., Liu Y., Gorospe M., Xu Q., Holbrook NJ. Activation of mitogen-activated protein kinase by H₂O₂. Role in cell survival following oxidant injury. 1996;271: 4138±4142.
106. Liu Y., Guyton KZ., Gorospe M., Xu Q., Lee JC., Holbrook NJ. Differential activation of ERK, JNK/SAPK and P38/CSBP/RK map kinase family members during the cellular response to arsenite. 1996;21: 771±781.
107. Price MA., Cruzalegui FH., Treisman R. The p38 and ERK MAP kinase pathways cooperate to activate Ternary Complex Factors and c-fos transcription in response to UV light. 1996;15: 6552±6563.
108. O'Shea JJ., Holland SM., Staudt LM. JAKs and STATs in immunity, immunodeficiency, and cancer. The New England journal of medicine. 2013; 368(2):161–70.
109. Bowman T., Garcia R., Turkson J., Jove. 2000;19: 2474-2488.
110. Chapman, R.S. Suppression of epithelial apoptosis and delayed mammary gland involution in mice with a conditional knockout of Stat3. 1999;13(19): 2604-16.
111. Takeda K. Enhanced Th1 activity and development of chronic enterocolitis in mice devoid of Stat3 in macrophages and neutrophils. 1999;10(1): 39-49.
112. Sano S. Keratinocyte-specific ablation of Stat3 exhibits impaired skin remodeling, but does not affect skin morphogenesis. 1999; 18(17): 4657-68.
113. Harris TJ., Grosso JF., Yen HR., Xin H., Kortylewski M., Albesiano E. An in vivo requirement for STAT3 signaling in TH17 development and TH17-dependent autoimmunity. 2007; 179(7):4313–7.

114. Saijo K., Schmedt C., Su IH. Essential role of Src-family protein tyrosine kinases in NF-[kappa] B activation during B cell development. 2003;4: 274–9.
115. Elsberger B., Fullerton R., Zino S. Breast cancer patients' clinical outcome measures are associated with Src kinase family member expression. 2010; 103:899–909.
116. Cho H.M., Choi S.H., Hwang K.C., Oh S.Y., Kim H.G., Yoon D.H. The Src/PLC/PKC/MEK/ERK signaling pathway is involved in aortic smooth muscle cell proliferation induced by glycated LDL. 2005;19 (1):60–66.
117. Ciccarelli M., Cipolletta E., Santulli G., Campanile A., Pumiglia K., Cervero P. Endothelial beta2 adrenergic signaling to AKT: role of Gi and SRC. 2007;19 (9): 1949–1955.
118. Nada S., T Yagi., H Takeda., T Tokunaga., H Nakagawa., Y Ikawa., M Okada., S Aizawa. Constitutive activation of Src family kinases in mouse embryos that lack CSK. 1993;73:1125–1135.
119. Matsuoka H., S Nada., M Okada. Mechanism of Csk mediated down-regulation of Src family tyrosine kinases in epidermal growth factor signaling. 2004;279:5975–5983.
120. Kelly MA., Rayner ML., Mijovic CH., Barnett AH. Molecular aspects of type 1 diabetes. 2003; 56(1): 1–10.
121. Liu E., Eisenbarth GS. Type 1 diabetes: recent developments Devasenar Devendra. 2004;328:750–4.
122. Harsunen MH., Puff R., D'Orlando O. Reduced blood leukocyte and neutrophil numbers in the pathogenesis of type 1 diabetes. 2013; 45: 467–470.
123. Battaglia M. Neutrophils and type 1 autoimmune diabetes. 2014; 21: 8–15.
124. Ihantola EL., Viisanen T., Gazali AM., Nääntö-Salonen K., Juutilainen A., Moilanen L., Rintamäki R., Pihlajamäki J., Veijola R., Toppari J., Knip M., Ilonen J., Kinnunen T. Effector T Cell Resistance to Suppression and STAT3 Signaling during the Development of Human Type 1 Diabetes. 2018;201(4):1144–1153.

125. Fujimoto S., Mukai E., Inagaki N. Role of endogenous ROS production in impaired metabolism-secretion coupling of diabetic pancreatic β cells.2011;107: 304–310.
126. Sato H., Nagashima K., Ogura M.Src regulates insulin secretion and glucose metabolism by influencing subcellular localization of glucokinase in pancreatic β -cells.2015;7(2):171–178.
127. Cargnello M., Roux PP.Activation and function of the MAPKs and their substrates, the MAPK-activated protein kinases.2011;75:50–83.
128. Bost F., Aouadi M., Caron L.The extracellular signal-regulated kinase isoform ERK1 is specifically required for in vitro and in vivo adipogenesis. 2005; 54:402–411.
129. Igarashi M., Wakasaki H., Takahara N.Glucose or diabetes activates p38 mitogen-activated protein kinase via different pathways.1999;103(2):185–195.
130. Miura M., Miyatsuka T., Katahira T.Suppression of STAT3 signaling promotes cellular reprogramming into insulin-producing cells induced by defined transcription factors.2018;36:358–366.
131. Barry JC.,Shakibakho S.,Durrer C.,Simtchouk S.,Jawanda KK., Cheung ST.,Mui AL.,Little JP.Hyporesponsiveness to the anti-inflammatory action of interleukin-10 in type 2 diabetes.2016.
132. Quan X.,Liang C.,Sun M.,Zhang L.,Li X.Overexpression of steroid receptor coactivators alleviates hyperglycemia-induced endothelial cell injury in rats through activating the PI3K/Akt pathway. 2018; 0: 1–1.
133. Ning C., Wang X., Gao S., Mu J., Wang Y., Liu S., Zhu J.,Meng X. Chicory inulin ameliorates type 2 diabetes mellitus and suppresses JNK and MAPK pathways in vivo and in vitro.2017;61(8).
134. Tian C.,Chang H., La X.,Li JA.,Ma L.Wushenziye Formula Inhibits Pancreatic β Cell Apoptosis in Type 2 Diabetes Mellitus via MEK-ERK-Caspase-3 Signaling Pathway. 2018; 25: 4084259.
135. Chen YC., Kuo CH., Tsai YM.,Lin YC., Hsiao HP.,Chen BH.,Chen YT.,Wang SL.,Hung CH.Suppressive effects of metformin on T-helper 1-related

chemokines expression in the human monocytic leukemia cell line THP-1.2018;43(4):228-234.

136. Tang Y.,Liu J.,Yan Y.,Fang H.,Guo C.,Xie R.,Liu Q.2018;97(52):13903.





TÜRKİYE CUMHURİYETİ
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



9. ÖZGEÇMİŞ

Adı	Günsel	Soyadı	Kirman
Doğum Yeri	Elazığ/Maden	Doğum Tarihi	22.04.1975
Uyruğu	T.C.	Tel	0.505.7660665
E-posta	Gkirman21@gmail.com		

EĞİTİM DÜZEYİ

Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mezuniyet Yılı
Diyarbakır Anadolu Teknik Lisesi Bilgisayar	1989-1993
Fırat Üniversitesi Teknik Bilimler MYO Bilgisayar Programcılığı Teknikerliği	1993-1995
Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi	2008-2013

İŞ DENEYİMİ

Görevi			Kurum				Süre (Yıl - Yıl)	
Yabancı Dil Sınav Notu								
ÜDS/YDS	YÖKDİL	IELTS	TOEFL IBT	TOEFL PBT	TOEFL CBT	FCE	CAE	CP E
	73.75							

Tıpta Uzmanlık Puanı	
----------------------	--

10.EKLER

10.1. Etik kurul onayı

DICLE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ GİRİŞİMSEL OLMAYAN KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU DICLE UNIVERSITY MEDICAL FACULTY ETHICS COMMITTEE FOR NONINTERVENTIONAL STUDIES					
193 KARAR					
Prof. Dr. Engin DEVECİ, Günel KIRMAN, Dr. Öğretim Üyesi Sevgi İRTEGÜN, Doktora Öğrencisi Gülsüm PEKTANÇ, Dr. Öğretim Üyesi Zafer PEKKOLAY, Dr. Öğretim Üyesi Ramazan ATİÇ isimli araştırmacılar tarafından planlanan "Tip 1 ve Tip 2 diyabetik hastalarda Src ve Src' la ilişkili MAPK ve STAT3 sinyal yollarının regülasyonunun araştırılması" başlıklı araştırmaya Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurul'u tarafından toplantıda hazır bulunan üyeler tarafından oy birliği ile onay verilmiştir. Klinik araştırma tamamlanıp yayın aşamasına geldiğinde, yayına sunulan bildiri veya makalenin bir örneğinin Etik Kurul'a verilmesi zorunludur.					
DECISION					
The project titled as "Investigation of the regulation of Src and Src-related MAPK and STAT3 signaling pathways in Type 1 and Type 2 diabetic patients" planned by Engin DEVECİ, Günel KIRMAN, Sevgi İRTEGÜN, Gülsüm PEKTANÇ, Zafer PEKKOLAY, Ramazan ATİÇ has been approved by Ethics Committee of Dicle University Faculty of Medicine.					
Oturum No (Meeting number) :		Tarih (Date): 18.05.2018	Saat (Hour): 14:00-15:00		
KURUL BAŞKANI (CHIEF)		Prof. Dr. Hüseyin BÜYÜKBAYRAM			
KURUL ÜYELERİ / MEMBERS					
	ÜN VANI	ADI-SOYADI	KURUMU	BRANŞI	İMZA
1	Prof. Dr.	Hüseyin BÜYÜKBAYRAM	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	Patoloji	
2	Prof. Dr.	Levent ERDİNÇ	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	Tıbbi Biyokimya	
3	Prof. Dr.	Aziz KARABULUT	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	Kardiyoloji	
4	Prof. Dr.	Cihan AKGÜL ÖZMEN	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	Radyoloji	
5	Doç. Dr.	İlker KELLE	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	Tıbbi Farmakoloji	
6	Doç. Dr.	Haktan KARAMAN	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	Anesteziyoloji ve Reanimasyon	
7	Doç. Dr.	Zülfükar YILMAZ	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	İç Hastalıkları	
8	Doç. Dr.	M. Veysi BAHADIR	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	Genel Cerrahi	
9	Doç. Dr.	Ezeli AZARKAN	Dicle Üniversitesi Hukuk Fakültesi	Öğretim Üyesi	
10	Dr. Öğretim Üyesi	İsmail YILDIZ	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	Biyostatistik	
11	Dr. Öğretim Üyesi	Diclehan ORAL	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	Tıbbi Biyoloji	

Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlık Binası Zemin Kat 21280 Kampüs/DIYARBAKIR
Telefon: +90.412 . 248 80 01-16/4631 Faks: +90.412. 248 84 40 kuruletikdiyar@gmail.com

11.ORIJİNALLIK RAPORU

02.04.2019

Turnitin

Turnitin Originality Report Processed on: 2019/04/02 14:06 +03 ID: 1104416647 Word Count: 9454 Submitted: 1 Doktora Bitirme Tezi By Günsel Kirman		
3% match (Internet from 09-Sep-2013) http://www.turkjbiochem.com/2013/218-228.pdf	Similarity Index 7%	Similarity by Source Internet Sources: 5% Publications: 4% Student Papers: 4%
2% match (student papers from 22-May-2017) Submitted to Dicle University on 2017-05-22		
< 1% match (Internet from 24-May-2016) http://dergi.omu.edu.tr/omujecm/article/view/1009002166		
< 1% match (Internet from 27-Dec-2013) http://istanbulsaaglik.gov.tr/w/tez/pdf/aile_hekimligi/dr_ibrahim_solak.pdf		
< 1% match (Internet from 25-Jun-2015) http://dspace.trakya.edu.tr:8080/jspui/bitstream/1/1176/1/110.pdf		
< 1% match (student papers from 03-Aug-2015) Submitted to TechKnowledge Turkey on 2015-08-03		
< 1% match (publications) "Abstracts of the 47th Annual Meeting of the EASD, Lisbon 2011", Diabetologia, 09/2011		
< 1% match (Internet from 15-Jul-2017) http://mobile.repository.ubn.ru.nl/bitstream/handle/2066/152731/152731.pdf?sequence=1		
< 1% match (student papers from 24-May-2016) Submitted to Gaziantep Aniversitesi on 2016-05-24		
< 1% match (Internet from 30-Aug-2018) https://pubs.acs.org/doi/full/10.1021/acsnano.7b01809		
< 1% match (student papers from 04-Aug-2015) Submitted to Ataturk Universitesi on 2015-08-04		
< 1% match (Internet from 08-Jul-2017) https://zone.biblio.laurentian.ca/bitstream/10219/2766/1/Paul%20Michael%20BMS%20Ph.D.%20Thesis%20Final.p		