

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

**YÜKSEK YAĞLI DİYET VE STREPTOZOTOSİN İLE
İNDÜKLENMİŞ DİABETİK SIÇAN KARACİĞER
DOKUSUNDA EİKOSAPENTAENOİK ASİT İLE
MUAMELE SONRASI ADİPONEKTİN
SİNYALİZASYONU**

Zeynep AVCİL

DOKTORA TEZİ

2020-ANTALYA

**T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI**

**YÜKSEK YAĞLI DİYET VE STREPTOZOTOSİN İLE
İNDÜKLENMİŞ DİABETİK SIÇAN KARACİĞER
DOKUSUNDA EİKOSAPENTAENOİK ASİT İLE
MUAMELE SONRASI ADİPONEKTİN
SİNYALİZASYONU**

Zeynep AVCİL

DOKTORA TEZİ

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Akın Yeşilkaya**

Bu Tez Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından TDK-2017-2653 proje numarası ile desteklenmiştir.

“Kaynakça gösterilerek tezimden yararlanılabilir”

2020-ANTALYA

TEŐEKKÖR

Doktora eęitimim ve tez projemin geręekleřtirilmesi sűrecinde gűstermiř, oldukları tűm maddi ve manevi destek için Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı'ndaki tűm hocalarıma ve çalıřma arkadařlarıma,

Son olarak, bana her zaman sonsuz anlayış ve sabırla destek olan, eğitim yaşamım boyunca hep arkamda hissettiğim sevgili aileme en içten saygı, sevgi ve teőekkűrlerimi sunarım.



ÖZET

Konu ve Amaç: Type 2 diabetes mellitus (T2DM) insülin sekresyonu veya aktivitesinden kaynaklı hiperglisemi ile karakterize metabolik bir hastalıktır. n-3 poliunsature yağ asitleri (PUFAs), özellikle eikosapentaenoik asid (EPA, 20:5n-3)'in diyabetik hayvan modellerinde insülin duyarlılığını arttırdığı belirtilmesine rağmen, altında yatan moleküler mekanizma net değildir. Bu çalışma, etil-ester EPA'nin karaciğerde adiponektin reseptörlerinin ekspresyonunu arttırarak T2DM oluşum riskini azalttığı hipotezini savunmaktadır.

Yöntem: Bu çalışmamızda, normal diyet (ND), yüksek yağlı beslenme (HFD) ve HFD/STZ-indüklü Tip 2 Diabetes Mellitus (T2DM) gruplarında EPA'nın anti-diyabetik etkisinin adiponektin reseptörleri (T-cadherin, AdipoR1) üzerindeki etkisi değerlendirildi.

Bulgular: EPA takviyesinin, ND ve T2DM gruplarında AdipoR1 mRNA seviyesini arttırdığı gözlemlendi. Buna ek olarak, EPA ile tedavi sonrasında HFD ile beslenmiş ratların karaciğerinde T-cadherin protein seviyesinin arttığı gözlemlendi.

Sonuç: Bu sonuçlar, EPA'nın, T2DM'de AdipoR1 ekspresyonunu artırarak, insülin duyarlılığını geliştirebileceğini ve T2DM riskini düşürebileceğini göstermektedir. Anti-diyabetik etkilerine ek olarak, EPA aynı zamanda HFD ile beslenmiş ratlarda T-cadherin protein ekspresyonunu arttırarak HFD ile ilişkili bozuklukları ortadan kaldırabilir.

Anahtar Kelimeler: AdipoR1, Eikosapentaenoik asid, Omega-3, T-cadherin, Type 2 diabetes mellitus

ABSTRACT

Background and Aims: Type 2 diabetes mellitus (T2DM) is a metabolic disease characterized by hyperglycemia that results from a defect in insulin secretion or activity. n-3 polyunsaturated fatty acids (PUFAs), especially eicosapentaenoic acid (EPA, 20:5 n-3) is known to increase insulin sensitivity in the diabetic animal model. However, the underlying molecular mechanism of EPA in improving insulin sensitivity has not yet been fully elucidated. We hypothesise that n-3 PUFAs such as ethyl-ester EPA could reduce the risk of T2DM by regulating adiponectin receptors expression in the liver.

Methods: We examined the anti-diabetic effect of EPA supplementation on adiponectin receptors, T-cadherin and AdipoR1, in normal diet (ND)-fed, high-fat diet (HFD)-fed, and T2DM rats.

Results: We found that EPA supplementation was significantly increased the mRNA level of AdipoR1 in T2DM and ND-fed rats. We also found that T-cadherin levels were increased in response to EPA treatment in HFD-fed rats liver.

Conclusions: Taken together, these observations suggested that EPA supplementation may improve insulin sensitivity and reduce the risk of T2DM, at least partly, by increasing adipoR1 expression. In addition to its anti-diabetic effects, EPA may also ameliorate high fat diet-related disorders by increasing T-cadherin levels in the liver.

Key Words: AdipoR1, Eicosapentaenoic acid, Omega-3, T-cadherin, Type 2 diabetes mellitus

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT	ii
İÇİNDEKİLER	iii
TABLolar DİZİNİ	v
ŞEKİLLER DİZİNİ	vi
SİMGELER ve KISALTMALAR	vii
1. GİRİŞ	1
1.1. Hipotezin Temeli ve Amaç	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Diabetes Mellitus	3
2.2. Glukoz ve Lipid Metabolizmasının Regülasyonu	3
2.2.1. Glikojen Sentezinin regülasyonu	3
2.2.2. Glukoneogenezisin Düzenlenmesi	4
2.2.3. Lipid Sentezi ve Yıkımının Düzenlenmesi	5
2.2.4. Glukoz ve Lipid Metabolizmasında İnsülin Sinyalinin Bozulması ve insülin direnci	5
2.3. Obezite ve T2DM	5
2.4. Diyetle Alınan Yağlar ve T2DM	6
2.4.1. Serbest Yağ Asitleri ve İnsülin Sinyali	7
2.4.2. Omega-3 ve T2DM	8
2.5. Adipoz Dokunun Endokrin Fonksiyonu	10
2.5.1. Adiponektin	11
2.5.2. Adiponektin Reseptörleri	11

2.5.3. Adiponektin ve Anti-diyabetik Etkileri	12
2.5.4. T-cadherin Yapısı	13
3. GEREÇ ve YÖNTEM	15
3.1. Grupların Oluşturulması ve Doku Temini	15
3.2. Western-Blot	16
3.2.1. Western-blot Lizatlarının Oluşturulması	16
3.2.2. SDS-PAGE ve Protein Bantlarının Görüntülenmesi	17
3.3. RNA izolasyonu ve Revers Transkriptaz-Polimeraz Zincir Reaksiyonu (RT-PCR)	17
4. BULGULAR	19
4.1. Kilo değişimleri	19
4.2. T2DM grubun kan glukoz değerleri	19
4.3. Western-Blot Sonuçları	20
4.4. PCR sonuçları	21
5. TARTIŞMA	22
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	25
KAYNAKLAR	26
ÖZGEÇMİŞ	36

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 3.1.	Projede kullanılan grupların dizaynı ve deneysel süreci	16
Tablo 3.3.	RT-PCR deneyi için kullanılan AdipoR1 primer.	18
Tablo 4.1.	Grupların ilk bir aylık vücut ağırlıklarının haftalara göre değişimi	19
Tablo 4.2.	T2DM ratların kan glukoz değerleri.	20

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.2.	Karaciğerde glukoz metabolizmasının regülasyonu	4
Şekil. 2.3.	Obezite ve T2DM birbiri ile yakından ilişkilidir.	6
Şekil 2.4.	FFA tarafından GLUT4 translokasyonunun inhibisyonu	8
Şekil 2.5.	Adiponektin reseptörlerinin membranda lokalizasyonu.	12
Şekil 2.5.	T-cadherinin yapısı	13
Şekil 3.1.	T2DM modelinin oluşturulması ve deneysel süreci	16
Şekil 4.1.	HFD ve ND ratların ilk bir aylık vücut ağırlıklarının haftalara göre değişimi.	19
Şekil 4.3.	EPA ile tedavi sonrasında T-Cadherin protein ekspresyonu	20
Şekil 4.4.	EPA ile tedavi sonrasında AdipoR1 mRNA ekspresyonu	21

SİMGELER ve KISALTMALAR

AMPK	: AMP-protein kinase
DAG	: Diaçilgliserol
DHA	: Dokozahekzaenoik Asit
DM	: Diabetes Mellitus
ERK	: Ekstraselüler Sinyal-Regulated Kinaz
EPA	: Eikozapentaenoik Asit
F-1,6-Paz	: Früktoz-1,6-bisfosfatazı
FFA	: Serbest Yağ Asidi
gAD	: Globular adiponektin
G-6-Paz	: Glukoz-6-fosfatazı
GLP-1	: Glukagon-benzeri peptid-1
GLUT	: Glukoz Transporter
GPI	: Glikozilfosfatidilinozitol
HFD	: Yüksek yağlı diyet
HMW	:Yüksek moleküler ağırlıklı Adiponektin
IKKβ	: İnhibe edici kB kinaz β
IL-6	: Interlökin
iNOS	: Nitrik oksit sentaz
IRS	: İnsülin reseptör substart
LMW	: Düşük moleküler ağırlıklı oligomer
MAPK	: Mitojen-Aktivated Protein Kinaz
MUFA	: Tekli doymamış yağ asitleri
NEFA	: Esterleşmemiş yağ asidi
NFkB	: Nükleer faktör-kB
OGGT	: Oral Glukoz Tolerans Testi
PEPCK	: Fosfoenol pirüvat karboksilazı

PKB	: Protein kinaz B
PKC	: Protein kinaz C
PP1	: Protein fosfataz 1
PI3K	: Fosfatidil-Inositol 3-Kinazın
PTB	: Fosfotirozin Bağlanma Domaini
PUFA	: Çoklu doymamış yağ asitleri
SREBP-1c	: Steroid düzenleyici element bağlayıcı protein
SFA	: Doymuş yağ asitleri
STZ	: Streptozotocin
WAT	: Beyaz yağ dokusundan
T1DM	: Tip 1 Diabetes Mellitus
T2DM	: Tip 2 Diabetes Mellitus
TNF-α	: Tümör Nekrosis faktör- α

1. GİRİŞ

1.1. Hipotezin Temeli ve Amaç

Diyetle tükettiğimiz besinler insülin duyarlılığını arttırmada ve diyabet riskinin ve diyabet komplikasyonlarının azalmasında önemli rol oynar (Mann, 2006). Diyetteki yağın T2DM'deki rolü yıllardır klinik olarak ilgi çekici olmuştur. Kinsell ve diğ. muhtemelen tüketilen yağ türünün insanlarda insülin etkisini etkileyebileceğini bildiren ilk kişidir (Kinsell ve ark., 1959). Diyetle alınan yağ, farklı FA'lerin bir karışımıdır, hiçbir kaynak saf değildir. Tüketilen yağ türleri doymuş yağ asitleri (SFA), tekli doymamış yağ asitleri (MUFA), çoklu doymamış yağ asitleri (PUFA) (Galgani ve ark., 2008)'dir. PUFA'lar çift bağların pozisyonlarına göre n-6 veya n-3 PUFA şeklinde isimlendirilir. Temel n-3 PUFA'lar α -linolenik (ALA, C18:3), Eikozapentaenoik Asit (EPA, C20:5, n-3) ve Dokozaheksaenoik Asit (DHA, C22:6, n-3)'dır (Galgani ve ark., 2008).

HFD ile indüklenmiş insülin dirençli farelere n-3 PUFA verildiğinde, n-3 PUFA'nın inflamasyonu azaltarak ve adipoz dokuda glukoz alımını artırarak genel insülin duyarlılığını geliştirdiği gösterilmiştir. n-3 PUFA' ya yanıt olarak insülin duyarlılığının iyileşmesinin olası mekanizması, insülin sinyalizasyonunun onarılmasıdır (Gingras ve ark., 2007; Agrawal ve Gomez-Pinilla, 2012). İnsülin iskelet kasına glukoz alımını uyarırken, hepatik glukoz üretimi ve yağ doku lipolizini inhibe eder (Pinel ve ark., 2014). İnsülin direnci durumunda, insülinin bu fonksiyonları bozulur, açlıkta veya toklukta hiperglisemiye neden olan kısır bir döngü devreye girer, nihai olarak artmış serbest yağ asitleri, hiperinsülinemi ve pankreas β -hücre disfonksiyonu görülür (Reaven, 1988).

Beyaz yağ dokusundan (WAT) salınan adipokinler insülin duyarlılığına aracılık eder. Özellikle, adiponektin karaciğer ve iskelet kası gibi insülininin hedefi olan dokularda insülin duyarlılığını arttıran, obezite ve T2DM'de seviyesi azalan bir adipokindir (Takeuchi ve ark., 2007; Thundiyil ve ark., 2012; Combs ve Marliss, 2014). Adiponektin dolaşıma trimer, hegzamer ve yüksek moleküler ağırlıktaki (HMW) multimerler şeklinde salınır. Globular adiponektin (gAD) olarak adlandırılan formu ise adiponektin monomerinin proteolitik yıkımından oluşur (Thundiyil ve ark., 2012; Combs ve Marliss, 2014). Sağlıklı bireylerde yüksek moleküler ağırlıktaki

adiponektinin dolaşımdaki konsantrasyonu 5 µg/ml, düşük moleküler ağırlıktaki adiponektinin konsantrasyonu ise yaklaşık olarak 3 nM'dır (Combs ve Marliss, 2014). Adiponektin serumda genellikle yüksek seviyede mevcut olmasına rağmen, obezite veya diyabetli kişilerde seviyeleri anlamlı bir şekilde azalır (Thundiyil ve ark., 2012). Intraperitoneal olarak yüksek moleküler ağırlıklı ve düşük moleküler ağırlıklı adiponektin enjeksiyonu sağlıklı, T1DM ve T2DM farelerde plazma glukoz seviyesini düşürmüştü (Berg ve ark., 2001b). Adiponektin bu etkilerini adipoR1 ve adipoR2 olarak isimlendirilen reseptörlerine ve T-cadherin molekülüne bağlanıp hücre içine sinyal göndererek gerçekleştirmektedir.

EPA'nın insülin sekresyonu ve insülin duyarlılığını iyileştirdiği bilinmektedir, fakat sınırlı sayıda çalışma mevcut olduğu için moleküler mekanizması henüz net değildir. Bu çalışma, EPA'nın anti-diabetik etkilerini kısmende olsa adiponektin sinyalinde rol olan adipoR1 ve T-cadherin reseptörleri üzerinden gerçekleştirdiğini savunmaktadır. Ayrıca, adiponektinin T-cadherin için reseptör olarak görev yaptığı bilirse de diyabet ile ilişkisini gösteren sınırlı sayıda çalışma mevcut. Bu nedenle, bu proje hem bu iki reseptörün diyabetik koşullardaki rollerinin aydınlatılması hemde bu rolle EPA'nın anti-diabetik ve anti-obesite etkisinin olup olmadığını araştırılması için yazılmıştır. Bu amaç doğrultusunda, ND, HFD ve T2DM grupları EPA takviyesinin değerlendirilmesi için randomize şekilde iki alt gruba ayrıldı, grubun birine EPA verilirken diğerine, eşit miktarda çeşme suyu gavaj tekniği ile verildi. Deney süreci tamamlanıp dokular alındıktan sonra, EPA alan ve almayanlardaki T-cadherin ve AdipoR1 ekspresyonlarındaki artış ve azalışlar ölçülüp değerlendirildi. Böylece, kısmende olsa, EPA takviyesinin T2DM ve HFD koşullarındaki olası faydalı etkileri ve bu etkilerin adiponektin sinyali ile ilgili bağlantısı ortaya kondu.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Diabetes Mellitus

Diabetes Mellitus (DM), insülin sekresyonu, insülin etkisi veya her ikisinde meydana gelen defekten kaynaklı hiperglisemi ile karakterize metabolik bir hastalıktır. Altında yatan nedene göre, genelde T1DM veya T2DM olarak tanımlanır (American Diabetes, 2014).

T1DM β -hücre hasarına neden olan oto-ümmün bir hastalıktır. Genellikle çocuklukta görülür ve total diyabetin %5-10'unu oluşturur. Ümmün sistemin Pankreas β -hücrelerini tahrip etmesi sonrasında, pankreasın β -hücreleri insülin üretemez. Hastalar ömür boyu insüline ihtiyaç duyar (Ashcroft ve Rorsman, 2012).

T2DM kompleks bir etiyolojiye sahip ve giderek artan majör hastalıklardan biridir. Total diyabetin %90'nını T2DM oluşturmaktadır (American Diabetes, 2009; Ashcroft ve Rorsman, 2012). Hem genetik hem çevresel faktörlerin bu hastalığın oluşmasında etkili olduğu bilinmektedir (Scheen, 2003; Murea ve ark., 2012). T2DM, insülin direnci ve insülin sekresyonundaki değişim ile karakterize bir hastalıktır. İnsülin duyarlılığındaki azalma periferik dokuları, özellikle iskelet kası ve yağ dokusunu etkiler. Tüm bu tablo glukoz kullanımında azalma ve metabolik değişim ile sonuçlanan hiperglisemiye neden olur (Bonadonna, 1993; Prentki ve Nolan, 2006). Obezite ve T2DM insülin direnci ile yakından ilişkilidir. Bazı obez ve insülin direncine sahip bireyler hiperglisemi geliştirmez (Srinivasan ve Ramarao, 2007). Fakat aynı durumdaki T2DM'li bireyler yeterli insülin sekresyonu yapamadığı için hiperglisemi gelişir (Perley ve Kipnis, 1966; Kahn, 2001).

2.2. Glukoz ve Lipid Metabolizmasının Regülasyonu

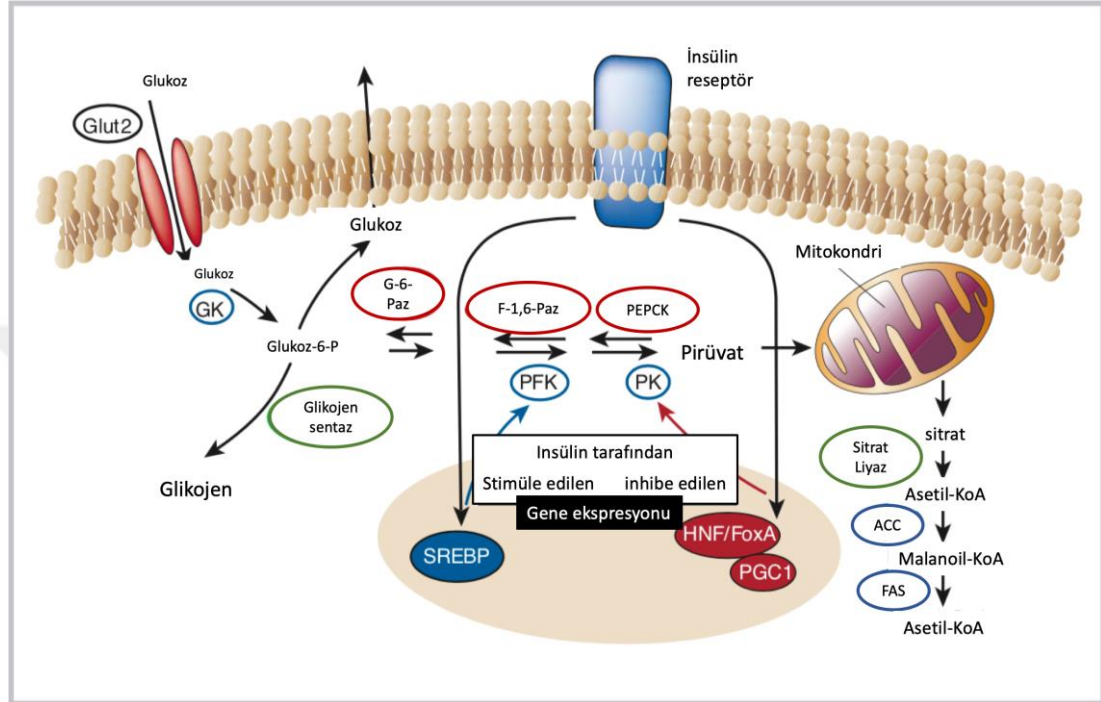
2.2.1. Glikojen Sentezinin Regülasyonu

İnsülin glukoz transportu ve glikojen sentezini arttırarak glikojen birikimini stimüle eder. Fosfatil inositol 3 kinaz (PI3K) aktivasyonu, Akt fosforilasyonu ve GSK-3 inaktivasyonu glikojen sentaz fosforilasyonunu azaltarak aktif hale getirir (Cross ve ark., 1995). İnsülin, protein kinaz A (PKA) veya glikojen sentaz kinaz-3 (GSK-3) gibi kinazları inhibe ederek (Cross ve ark., 1995) ve protein fosfataz 1 (PP1)'i (Brady ve ark., 1997) aktive ederek glikojen sentazı aktive eder. İnsülin, global olarak PPI'yi aktive etmez, fakat spesifik olarak, özellikle glikojen partikülünde

lokalize edilmiş PPI aktivitesini artıran ayrı ayrı fosfataz havuzlarını hedef alır.

2.2.2. Glukoneogenezisin Düzenlenmesi

İnsülin, glukoneogenezis ve glikojenolizi inhibe ederek karaciğer tarafından glukoz üretimi ve salınmasını inhibe eder (şekil 2.2.) (Michael ve ark., 2000).



Şekil 2.2. Karaciğerde glukoz metabolizmasının regülasyonu (Saltiel ve Kahn, 2001).

İnsülin glukoneogeneziste hız kısıtlayıcı basamakta görev alan fosfoenol pirüvat karboksilazı (PEPCK) kodlayan genin transkripsiyonunu inhibe eder. Bu hormon aynı zamanda früktoz-1,6-bisfosfatazı (F-1,6-Paz) ve glukoz-6-fosfatazı (G-6-Paz) kodlayan genin transkripsiyonunu düşürür ve glukokinaz, pirüvat kinaz gibi glikolitik enzimlerin ve yağ asidi sentaz, asetil-coA karboksilaz gibi lipojenik enzimlerin transkripsiyonunu artırır.

İnsülin aynı zamanda plazmadaki serbest yağ asidi miktarındaki değişim ile glukoz metabolizmasını in direkt yoldan etkileyebilir, bu durum 'tek geçit yolu' hipotezi olarak adlandırılır (Bergman, 1997). Visseral yağ insüline subkutan yağdan daha az duyarlıdır. Bu yağdan türetilen yağ asitleri portal ven ile karaciğere gelir ve glukoz üretimini stimüle eder, böylece karaciğerde insülin etkisi ve insülin direnci için bir sinyal sağlar. İnsülin, fosforilasyon ve defosforilasyon yoluyla bir dizi metabolik enzimin aktivitesini doğrudan kontrol eder. Ayrıca, glukoneogenez ve glikoliz'in enzimlerini kodlayan genlerin ekspresyonunu düzenler (S J Pilgis ve Granner, 1992) (şekil 2.2).

2.2.3. Lipid Sentezi ve Yıkımının Düzenlenmesi

Artmış plazma FFA konsantrasyonu obezite ve T2DM ile ilişkilidir. FFA glukoz alımını, glikojen sentezini ve glikolizi inhibe ederek hepatik glukoz üretimini artırarak insülin direncine katkıda bulunmaktadır. Karbonhidrat metabolizmasında olduğu gibi, insülin anabolik fonksiyon göstererek lipid yapımını indükler ve yıkımını inhibe eder. Glukoz alımının artması ve pirüvat dehidrojenaz, yağ asidi sentaz ve asetil-CoA karboksilaz dahil olmak üzere lipid sentezinde rol alan enzimlerin aktivasyonu nedeniyle, adipositlerde glukoz esasen lipid olarak depolanır. İnsülin ayrıca adipositlerdeki lipolizi, özellikle de hormona duyarlı lipaz enziminin inhibisyonu yoluyla inhibe eder (Saltiel ve Kahn, 2001).

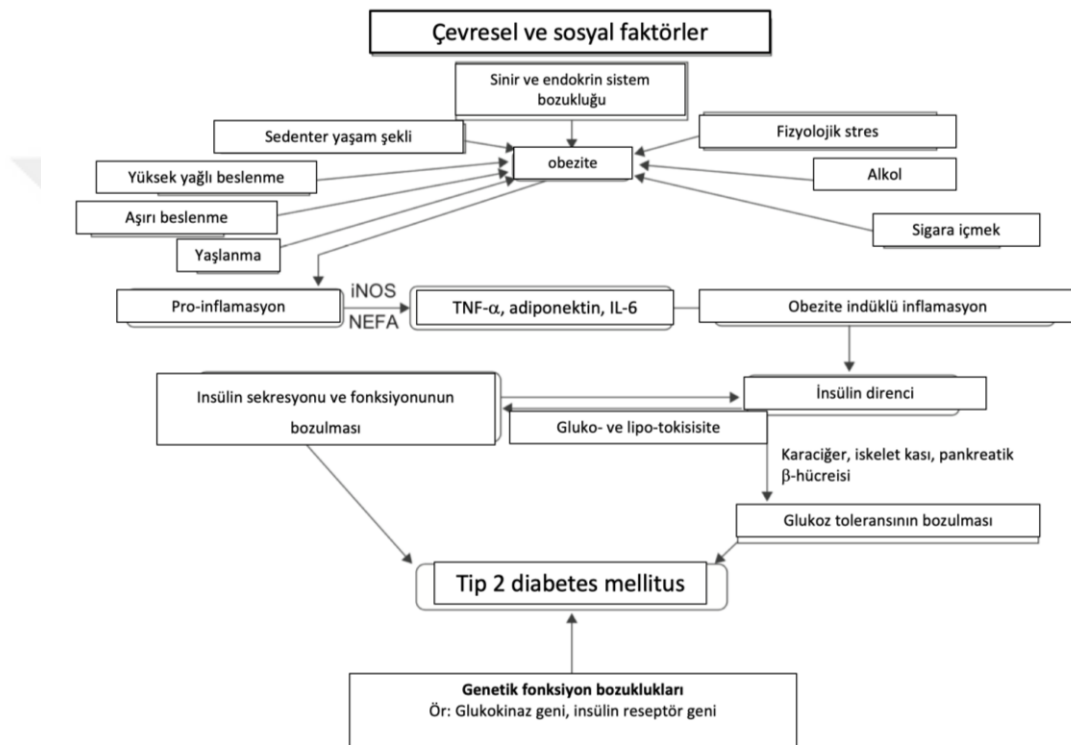
Son çalışmalar, bu değişikliklerin çoğunun, transkripsiyon faktörü steroid düzenleyici element bağlayıcı protein (SREBP)-1c'deki artışa bağlı olduğunu göstermektedir (Iichiro Shimomura, Bashmakov, ve ark., 1999). SREBP-1c'in dominant negatif formları, bu glukojenik ve lipojenik genlerin ekspresyonunu engelleyebilir (Brown ve Goldstein, 1998; Foretz ve ark., 1999). Yapılan bir çalışmada, SREBP-1c artışının, diyabetik rodentlerin karaciğerinde insülin direncine katkıda bulunduğu tespit edilmiştir (Saltiel ve Kahn, 2001).

2.3. Obezite ve T2DM

Obezite, insülin direnci ve hiper-insülinemi ile karakterize (Weyer ve ark., 1999), T2DM gelişimi için risk oluşturan metabolik bir hastalıktır (şekil 2.8) ("Clinical guidelines on the identification, evaluation, and treatment of overweight and obesity in adults--the evidence report. National institutes of health," 1998). Bundan dolayı adipoz doku T2DM patojeninde önemli rol oynar. Sinirsel ve endokrin sistemin tahribi, sedenter yaşam şekli, fizyolojik stres, yüksek yağlı beslenme, sigara ve alkol alımı obeziteye yol açarak diyabete neden olur. T2DM hastalarının çoğu aşırı kilolu veya obez olduğundan, yağ asidinin diyabet gelişimindeki rolü göz ardı edilemez (Martinez de Morentin ve ark., 2010). Obezite ve insülin direnci arasındaki korelasyonun "sebe-sonuç" ilişkisi olduğu varsayılabilir çünkü klinik ve pre-klinik çalışmalar kilo kaybı/kazanımının, artan/azalan insülin duyarlılığı ile yakından ilişkili olduğunu göstermektedir (Vigneri ve ark., 2009).

Obezitede inflamasyonun nedeni çeşitli metabolik ve immün yollarla yakından ilişkilidir. Obezite başlangıçta metabolik hücrelerden (adiposit, hepatosit veya

miyosit) başlayarak pro-inflamasyon geliştirir ve sonunda tümör nekrozis- α (TNF- α) ve interlökin (IL)-6 gibi enflamatuvar sitokinlerin salınmasıyla immün hücreleri içine alır. Leptin, TNF- α , resistin, indüklenebilir nitrik oksit sentaz (iNOS) salgılanması ve plazma esmerleşmemiş yağ asidi (NEFA, serbest yağ asidi) seviyesinin yükselmesi yavaş yavaş obeziteye bağlı inflamasyona neden olur, bu durum glukoz metabolizmasını ve insülin duyarlılığını etkileyerek T2DM oluşumuna neden olabilir (şekil 2.3) (Rabe ve ark., 2008).



Şekil 2.3. Obezite ve T2DM birbiri ile yakından ilişkilidir.

Çevresel, sosyal ve genetik faktörler obeziteye indüklü inflamasyonu uyarak insülin direnci ve T2DM gelişimine neden olur (Mukherjee ve ark., 2013).

2.4. Diyetle Alınan Yağlar ve T2DM

İnsülin reseptörlerinin aktivasyonundan, moleküler ve biyokimyasal regülasyona kadar birçok moleküler olay insülin sinyalinin regülasyonunda, dolayısıyla T2DM’de rol alır. İnsülin sinyali, özellikle besin duyarlı sinyal yolları ve pro-inflamatuvar sinyaller ile kontrol edilir (Pinel ve ark., 2014).

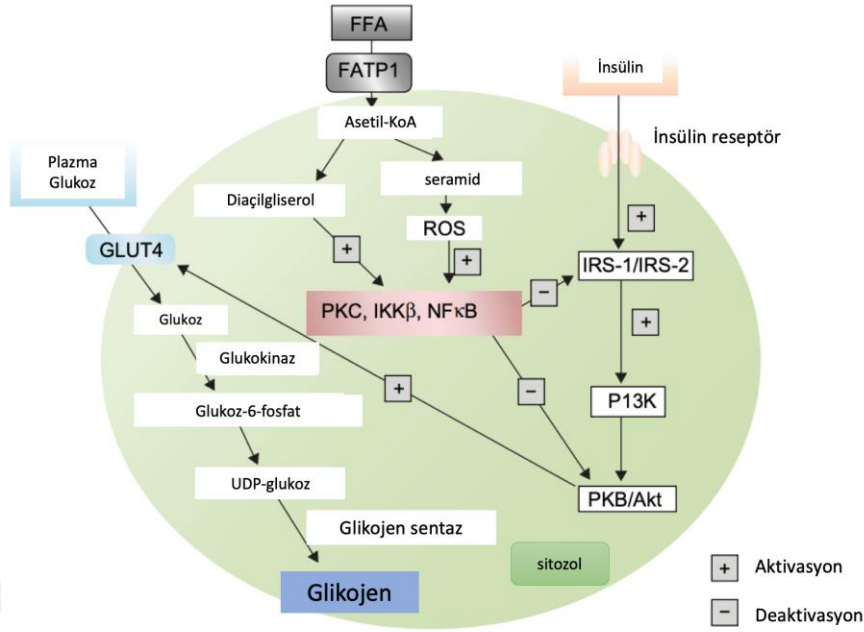
Diyette alınan yağ insülin direncinin belirleyicisidir. Diyetle alınan yağ asitleri üç grupta sınıflandırılır: SFA, MUFA ve PUFA. PUFA’larda kendi içinde n-6 PUFA ve n-3 PUFA olarak iki alt gruba ayrılır. n-3 PUFA, metil grubundan itibaren 3.

Karbonda çift bağ içerir (Galgani ve ark., 2008). ALA, EPA ve DHA temel n-3 PUFA'lardır. Doymuş yağ asitleri insülin direnci ve hiperglisemiye neden olurken, PUFA'lar insülin duyarlılığını geliştirir.

2.4.1. Serbest Yağ Asitleri ve İnsülin Direnci

Patolojik olmayan durumlarda, insülin hepatik glukoz üretimini inhibe eder, iskelet kası glukoz alımını uyarır ve yağ dokusunda lipolizi inhibe eder (Pinel ve ark., 2014). Bu durum insüline dirençli deneklerde bozulmakta ve plazmada glukoz ve FFA artmasına ve özellikle karaciğer ve iskelet kasında ektopik yağ depolanmasına neden olur.

Seramidler, açıl-CoA, diaçilgliserol (DAG) gibi FFA metabolitleri, insülin reseptör substrat (IRS) ve PKB/Akt'yi inhibe eden serin/treonin kinazları (protein kinaz C (PKC), nükleer faktör-kB (NFkB), inhibe edici kB kinaz β (IKK β)) aktive ederek insülin sinyalini inhibe eder ve GLUT-4 translokasyonunu inhibe eder. Bu durum, glukozun hücre içine alınıp metabolize olmasına engel olarak diyabetik durumun daha da kötüye gitmesini sağlar (şekil 2.4.) (Mukherjee ve ark., 2013). Dolayısıyla, artmış FFA'leri hiperglisemiye neden olur.



Şekil 2.4. FFA tarafından GLUT4 translokasyonunun inhibisyonu (Mukherjee ve ark., 2013).

İnsülinin reseptörüne bağlanması IRS fosforilasyonunu sağlar, bu fosforilasyon sırasıyla PI3K'ın aktivasyonuna neden olur, ardından protein kinaz B (PKB)/Akt fosforilasyonuna neden olarak GLUT4'ün hücre membranına transferine neden olur. FFA metabolitleri PKC ve NFκB'yi aktive ederek, IRS ve PKB/Akt'yı inhibe ederek, insülin sinyalini ve GLUT4 translokasyonunu inhibe eder.

2.4.2. Omega-3 ve T2DM

Son zamanlarda yapılan çalışmalar, obezite-indüklü düşük dereceli kronik inflamasyonun, T2DM patogeneğinde önemli bir faktör olduğunu göstermektedir (Hotamisligil ve ark., 1996; Shoelson ve ark., 2006). İnflamatuvar duruma ek olarak, obezite ilişkili hiperlipidemi ve hiperglisemi periferik dokularda insülin direncine neden olur. Hipergliseminin üstesinden gelmek için pankreas β-hücreleri daha fazla insülin sekrete eder. Bu adaptif yanıt, insüline dirençli bireylerin iskelet kasına glukoz alımını artırarak ve hepatik glukoz üretimini inhibe ederek normoglisemiye sürdürmelerini sağlar (Pinel ve ark., 2014). Kronik insülin direnci, pankreas β-hücresi fonksiyon bozukluğuna neden olarak T2DM'ye yol açar (Kwon ve Pessin, 2013).

Yüksek yağlı beslenme insülin sekresyonunu olumsuz etkileyerek diyabetik durumu kötüleştirmektedir. İnsülin reseptörü mutant (InsrP1195L/+) ve yüksek yağlı diyet ile beslenmiş farelerde (InsrP1195L/+HFD), adipoz dokuda lipoliz ve karaciğerde glukoneogenesis artmaktadır (E. Y. Lee ve ark., 2015). T2DM diyet, fiziksel aktivite ve farmakolojik olarak tedavi edilir. T2DM'in farmakolojik tedavisi, temelde glukozun periferik dokular tarafından alımını destekleyerek, dolaşımdaki glukozu

azaltan anti-diyabetojenik ajanların uygulanmasına dayanır (Kendall ve Bergenstal, 2001). Besinsel olarak alınan omega-3'ün, diyabetik hayvan modellerinde insülin duyarlılığını arttırdığı bilinmektedir (Storlien ve ark., 1987). Yine de omega-3'ün insülin direncini düşürmedeki moleküler mekanizması henüz tam olarak açıklanmamıştır. Kilo kaybı, obezite ile ilişkili metabolik bozuklukları tersine çevirmek için yaygın bir stratejidir (Pinel ve ark., 2014). Diğer taraftan, spesifik beslenme stratejileride metabolik doku disfonksiyonun ve inflamatuvar durumu değiştirmeye yardımcı olabilir. Lipid beslenme alanında yapılan araştırmalar, kilo ile ilişkili metabolik parametrelerin iyileştirilmesinde omega-3'ün potansiyel yararlarını vurgulamıştır (Mori ve ark., 1999; Marik ve Varon, 2009; Pinel ve ark., 2014). İnsülin sinyalizasyonu primer olarak besin duyarlı sinyal yolları ve pro-inflamatuvar sinyaller ile kontrol edilir (Pinel ve ark., 2014). Bağırsak lümenindeki glukoz ve omega-3 gibi besin maddelerine yanıt olarak L-hücrelerinden glukagon-benzeri peptid-1 (GLP-1) salınır. GLP-1, β -hücrelerinde cAMP'yi stimüle ederek PKA bağımlı veya bağımsız yollarla insülin sekresyonunu sağlar (Ashcroft ve Rorsman, 2012). Bu nedenle, diyetle alınan yağ insülin direncinin belirleyicisidir (Riserus ve ark., 2009). Doymuş ve trans yağ asitleri insülin sekresyonunu düşürür ve insülin duyarlılığını kötüleştirir (Galgani ve ark., 2008; Riserus ve ark., 2009; Thompson ve ark., 2011; Martins ve ark., 2012). Bunun aksine, doymamış yağ asitleri, özellikle n-3 PUFA insülin sekresyonu ve duyarlılığını iyileştirir (Poudyal ve ark., 2011; Poudyal ve ark., 2012; Jafari ve ark., 2013; Juarez-Lopez ve ark., 2013; Poudyal ve ark., 2013). Aşırı kilolu T2DM'li hastalara 3 ay boyunca EPA (2 g/gün) verilmesi açlık plazma glukoz, insülin, HbA1c ve HOMA-IR konsantrasyonunu düşürmüştür (Sarbolouki ve ark., 2013). Bu sonuçlar, ratlarla yapılan çalışmalarla da desteklenmektedir. n-3 PUFA'lara yanıt olarak İnsülin duyarlılığının iyileşmesi insülin sinyalinin artmasından kaynaklanıyor olabilir (Gingras ve ark., 2007; Agrawal ve Gomez-Pinilla, 2012; Kamolrat ve ark., 2013). Ratlarda, n-3 PUFA-eksik diyet verilmesi insülin reseptörleri ve sinyal yolağındaki Akt'nin fosforilasyonunu düşürerek, glukoz intoleransına ve insülin direncine neden olmaktadır (Cancelas ve ark., 2007; Agrawal ve Gomez-Pinilla, 2012). Ayrıca, diyetle EPA+DHA alınması PPAR γ , GLUT2, GLUT4 ve IRS-1/IRS-2 ekspresyonunu ve adenosin monofosfat (AMP) kinaz fosforilasyonunu artırarak adipoz doku ve *ob/ob* farelerin karaciğerinde insülin duyarlaştırıcı etkiler gösterdiği tespit edilmiştir (Gonzalez-Periz ve ark., 2009). Ayrıca, n-3 PUFA eksik diyet, düşük

Ca²⁺ Na⁺/K⁺-ATPaz aktivitesinin azalmasına neden olarak normal insülin sekresyon yolağına zarar vermektedir (Louchami ve ark., 2006; Sener ve ark., 2006; Y. Zhang ve ark., 2006).

Yapılan çalışmalar, EPA türevli eikosonoidlerin anti-inflamatuar etkileri bulunduğunu göstermektedir (Poudyal ve ark., 2011; Poudyal ve Brown, 2013). Bu durum, EPA'nın insülin duyarlılığı ve sekresyonunu iyileştirmesindeki etkilerinden birinin EPA'nın anti-inflamatuar özelliğinden kaynaklandığını düşündürmektedir. Yüksek yağlı beslenmiş ratlara beş hafta boyunca EPA (1 g/kg) takviyesi yapılması TNF- α ve IL-6 gibi sitokinlerin azalmasına neden olmuştur (Perez-Matute ve ark., 2007; Kubota ve ark., 2013).

Yüksek yağlı ve yüksek früktoz diyeti ile beslenmiş C57BL/6J farelere EPA verilmesi visceral adipoz dokuda ve plazma leptin, TG ve FFA seviyesinde azalmaya neden olduğu tespit edilmiş (Iyer ve ark., 2010). Bu farelerde aynı zamanda, glukoz oksidasyonunda yer alan sitrat sentaz, fosfofruktokinaz gibi enzimlerin, lipogeneze yer alan asetil-coA karboksilaz, yağ asidi sentaz gibi enzimlerin mRNA ekspresyonları azalmış, hidroksiaçil-CoA ve SREBP-1 dehidrojenaz aktivitesi azalmış (Sato ve ark., 2010) (Poudyal ve ark., 2013).

Yapılan çalışmaların çoğunda, ALA, EPA ve DHA'nın birbirinden bağımsız etkisi çalışılmamıştır. Sınırlı sayıda çalışma, EPA'nın anti-diyabetik etkisini göstermiştir. Bu etkilerin EPA mı, DHA mı yoksa ALA'dan mı kaynaklandığı ve moleküler mekanizmasının ne olduğu henüz belirsizdir. EPA'nın anti-diyabetik etkisinin belirlenmesi için daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır. Bu tezde, yüksek yağlı/früktoz içeren yem ile beslenmiş ratlarda, EPA'nın anti-diyabetik fonksiyonun adiponektin reseptörleri üzerindeki etkisi değerlendirilmiştir. Adiponektin, glikoz metabolizmasında önemli rol oynayan adipoz kaynaklı bir adipokindir.

2.5. Adipoz Dokunun Endokrin Fonksiyonu

Lipid depolama rolüne ek olarak, yağ hücreleri metabolizmayı ve enerji tüketimini düzenleyen adipokin ve sitokinler salgılayarak parakrin ve endokrin fonksiyonu göstermektedir. Leptin, TNF- α , IL-6, ve adiponektin adipoz dokudan sekrete edilen moleküllerdir. Obez rodent ve insanlarda artmış olan tümör nekrosis faktör- α (TNF- α), IRS-1'in serin fosforilasyonunu artırarak insülin reseptör kinaz ve insülin

direncinin azalmasına neden olur (Hotamisligil ve ark., 1996). Leptin adipoz dokudan sekrete edilen sitokin ailesine ait bir hormon ve merkezi sinir sistemindeki reseptörü üzerine etki ederek besin alımı ve enerji tüketimini regüle eder. *ob/ob* ya da *db/db* gibi farelerde ya da lipoatrofik diyabetik modellerde İnsülin direnci, leptin eksikliği ya da direnci ile karakterizedir. Bunlardan bazılarında, eksojen leptinin uygulanması, muhtemelen karaciğerde insülin etkisini modüle eden nöroendokrin yollarını etkileyerek, glukoz toleransını ve insülin duyarlılığını artırır (Halaas ve ark., 1995; I. Shimomura, Hammer, ve ark., 1999; Y. Lee ve ark., 2001). Adiponektin (Acrp30 veya adipoQ olarak da bilinir) adipoz dokudan üretilen anti-diyabetik bir adipokindir. Son çalışmalar, adiponektinin mRNA'nın ekspresyonunun obez farelerde, insanlarda ve lipoatrofik diyabetik modellerde azaldığını göstermektedir.

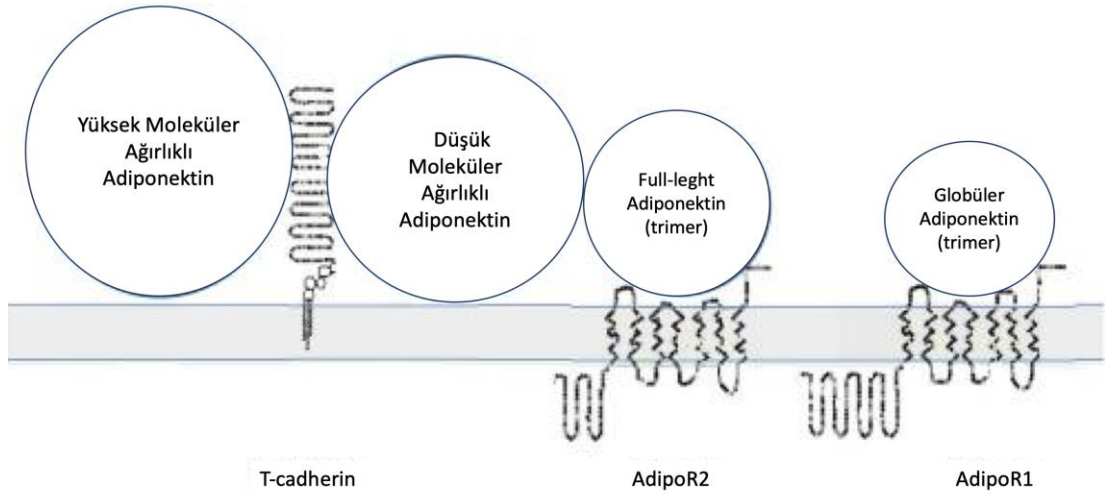
2.5.1. Adiponektin

Adiponektin, lipid ve glukoz metabolizmasını düzenleyen, insülin direnci ve obezite ile güçlü bir negatif korelasyon gösteren, adiposit kökenli bir hormondur (Y. Arita ve ark., 1999; Weyer ve ark., 2001; Ahima, 2006). Adiponektin kollogen N-terminal domain ve bir globüler C-terminal domainden oluşan 248 amino asit içeren bir peptittir (Berg ve ark., 2002).

Dolaşımda farklı formlarda bulunur, 3 tane adiponektin molekülü içeren trimer (90 kDa), 6 tane adiponektin içeren düşük moleküler ağırlıklı oligomer (LMW, 180 kDa) ve 12 yada 18 adiponektin içeren yüksek moleküler ağırlıklı oligomer (HMW, 360–540 kDa) (Kadowaki ve ark., 2006). HMW adiponektinin dolaşımdaki konsantrasyonun 5 µg/ml iken LMW adiponektinin dolaşımdaki konsantrasyonu yaklaşık olarak 3 nM'dir (Haugen ve Drevon, 2007). Full-length adiponektin olarak isimlendirilen trimer formu ise dolaşımdaki adiponektinin %90'nını içermektedir.

2.5.2. Adiponektin Reseptörleri

Adiponektin sinyalizasyonu, AdipoR1, AdipoR2 ve T-cadherin olarak isimlendirilen 3 majör reseptör aracılığı ile gerçekleşmektedir (şekil 2.5).



Şekil 2.5. Adiponektin reseptörlerinin membranda lokalizasyonu.

Farklı adiponektin formları farklı adiponektin reseptörüne afinite duymaktadır (Combs ve Marliss, 2014).

AdipoR1, AMP-protein kinase (AMPK) aktivasyonunda, AdipoR2, PPAR- α yolağının aktivasyonunda rol alarak insülin duyarlılığını arttırmaktadır (Yamauchi ve Kadowaki, 2013). AdipoR1 ve R2'nin adiponektin sinyalizasyonundaki rolüyle ilgili birçok çalışma mevcut. Ancak, T-cadherinin adiponektin sinyalizasyonundaki rolü henüz tam olarak aydınlatılamamıştır. Özellikle, T-cadherinin, diyabetik koşullarda adiponektin ile ilişkisi hakkında sınırlı sayıda çalışma mevcuttur. T-cadherin reseptörü majör olarak endotelial hücrelerde anjiogenik aktivitenin regülasyonunda rol alır (Rubina ve ark., 2007; Philippova ve ark., 2012; Parker-Duffen ve ark., 2013) ancak elde edilen sonuçlar tutarsızdır. Genom düzeyinde yapılan çalışmalar, T-cadherinin, kanser (Yang ve ark., 2016) metabolik sendrom, metabolik fenotip (Teng ve ark., 2015) ve T2DM (Nicolas ve ark., 2017) ile ilişkili olduğunu göstermektedir. Fakat, etki mekanizmasının aydınlatılması için daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.

2.5.3. Adiponektin ve Anti-diyabetik Etkileri

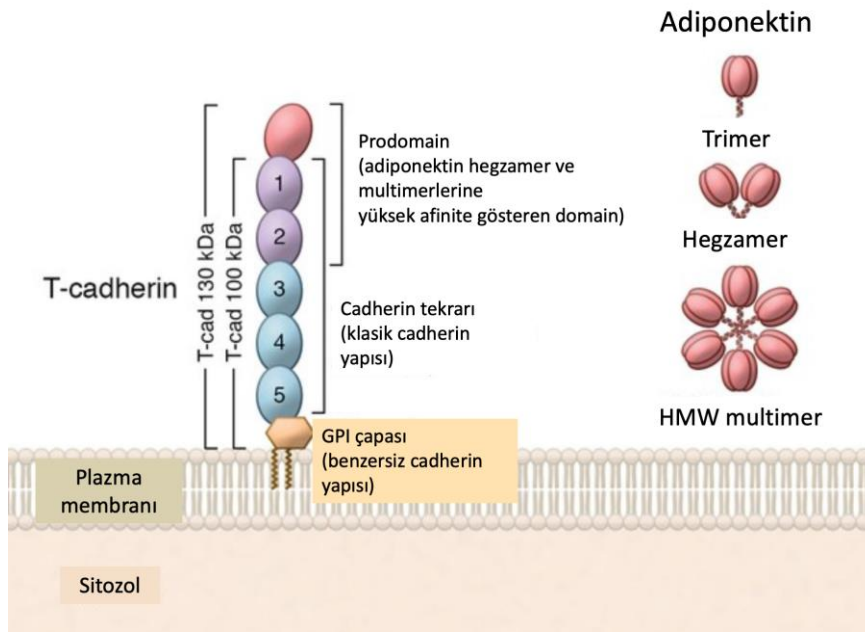
Yapılan genom taramaları, T2DM ve metabolik sendroma duyarlı olan lokusun adiponektin genine yakın bir bölgede bulunduğunu göstermiştir (Vionnet ve ark., 2000). T2DM hastalarında adiponektin seviyesi düşük bulunmuştur. T2DM'li hastalarda düşük adiponektin seviyesi periferik insülin direncine katkıda bulunur.

Intraperitoneal HMW ve LMW adiponektin enjeksiyonu T1DM ve T2DM'li ve sağlıklı farelerde plazma glukoz seviyesini düşürdüğü gözlenmiştir (Berg ve ark., 2001c). Intravenöz olarak HMW ve LMW adiponektin infüzyonu dolaşımdaki adiponektin seviyesini 3-kat arttırmış, bu artışın glukoz üretimini %65 azalttığı tespit

edilmiştir (Combs ve ark., 2001). Kültürü yapılmış karaciğer hücreleri hücre ortamına glukoz salar, bu hücrelerin kısa süreli HMW ve LMW adiponektin ile muamele edilmesi glukoz üretimini %20-40 oranında azaltmaktadır (Berg ve ark., 2001c; Wang ve ark., 2002). Benzer şekilde full-length adiponektin trimer ile muamele sonrası, glukoz üretimini %90 azaltmış (Pajvani ve ark., 2003).

2.5.4. T-cadherin Yapısı

Cadherin embriyonik gelişim ve doku homeostazında merkezi rol oynayan kalsiyum bağımlı hücre adhezyon molekülüdür (Cowin ve ark., 2005; Halbleib ve Nelson, 2006; Takeichi, 2007). T-cadherin (T-cad, H-cadherin, cadherin-13), sinir sisteminde keşfedildi, ancak karaciğer de dahil olmak üzere yaygın bir doku dağılımına sahiptir (Chan ve ark., 2008). T-cadherin sadece hücre adezyonunda değil aynı zamanda hücre sinyalizasyonunda da görev alır. T-cadherin, cadherin ailesine aittir. T-cadherin hücre membranında bulunur, transmembran yada sitozolik domain içermez glikosilfosfatidilinositol (GPI) ile membrana bağlanır (şekil 2.5.) (Vestal ve Ranscht, 1992; Angst ve ark., 2001).



Şekil 2.5. T-cadherin'nın yapısı

T-cadherin transmembran veya sitozolik domain içermez, GPI çapası ile membrana bağlanır. Serumdaki HMW adiponektine yüksek afinite ile bağlanır (Kita ve ark., 2019).

T-cadherin, full-length adiponektin trimers ya da globüler adiponektin trimerine bağlanmaz. T-cadherin, özellikle HMW ve hegzamerik adiponektin molekülüne

bağlanarak adiponektin sinyalizasyonunda görev alır (Hug ve ark., 2004; Hartge ve ark., 2006; Parker-Duffen ve ark., 2013; Kostopoulos ve ark., 2014).

Hem plazma Adiponektin konsantrasyonu hem de doku Adiponektin ekspresyonu, T-cadherin ile yakından ilişkilidir (Matsuda ve ark., 2015). Adiponektin ile bu etkileşimi, T-cadherinin metabolik regülasyondaki olası rolüne dikkat çekmektedir. T-cadherinin, T2DM'nin patogenezi ile ilişkili olduğu bilinse de altında yatan moleküler mekanizma henüz belirsizdir (Tyrberg ve ark., 2011; Nicolas ve ark., 2017). T-cadherin ve β -hücrelerinin insülin içeren dense-core granülleri arasındaki etkileşim değerlendirildiğinde, T-cadherinin insülin sekresyonu için gerekli olduğu tespit edilmiş (Tyrberg ve ark., 2011). Yapılan klinik çalışmalar, metabolik hastalıklarda T-cadherin ve hipo-adiponektin arasındaki bağlantıyı ortaya koymaktadır (Matsuda ve ark., 2015; Pfaff ve ark., 2015). T-cadherinin adiponektin için reseptör fonksiyonu gösterdiği bilinse de diyabetik hastalarda T-cadherin ve adiponektin arasındaki ilişkiyi direkt olarak gösteren bir çalışma henüz mevcut değildir.

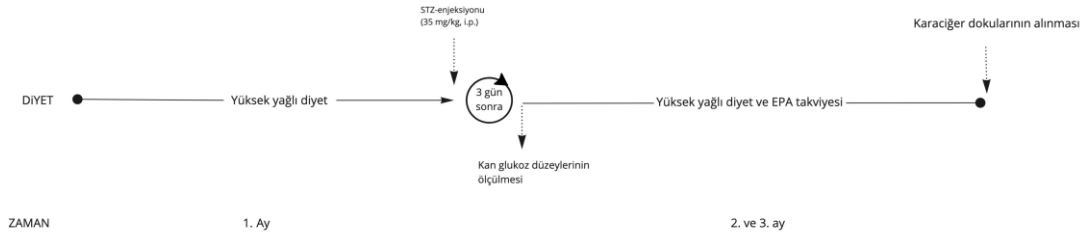
Bundan dolayı bu çalışmanın amacı: (1) T-cadherin'in T2DM de rol alıp almadığını belirlemek, (2) T-cadherin ve AdipoR1 arasındaki etkileşimi ortaya koymak (3) anti-inflamatuar ve anti-diyabetik etki gösteren omega-3'ün bu moleküller üzerindeki etkisini değerlendirmek (5) EPA/T-cadherin reseptörü ve EPA/AdipoR1 reseptörü dengesinin olası fizyolojik sonuçlarını ortaya çıkarmak (6) diyabetin farmakolojik tedavisine destek olarak EPA kullanımının olası faydasını göstermektir.

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Grupların Oluşturulması ve Doku Temini

Bu araştırmada Akdeniz Üniversitesi 'Deney Hayvanları Ünitesi'nde yetiştirilen 6-8 haftalık, daha önce hiç deneye girmemiş ve ortalama ağırlıkları 250-300 g olan Spargue Dawly ırkı 68 adet dişi ergin sıçan kullanıldı. Deneyde kullanılan sıçanlar, Deney Hayvanları Etik Kurulu'ndan onay alınarak (19.12.2016, karar no:89) Akdeniz Üniversitesi Deney Hayvanları Ünitesinden temin edildi. Bu çalışmamız yüksek yağlı diyet ile beslenmiş (HFD, %48 yağ, %21 karbonhidrat %10 protein), normal diyet ile beslenmiş (ND, %10 yağ, %16 karbonhidrat, %24 protein) ve T2DM olmak üzere üç gruptan oluşacaktır. HFD diyetinde kullanılan yemin yağ içeriğini ve kalori miktarını arttırmak için yüksek oranda doymuş yağ (hayvansal iç yağ) ve saf früktoz (fruktofin c) kullanıldı (Tasyurek ve ark., 2018). İki-karbon birimleri in vivo yağ asidi sentezi için substrat oluşturdıkları için früktoz lipojenik şekerlerdendir (Bhaswant ve ark., 2015). Ayrıca, yüksek früktoz içerikli yem ile beslemenin hayvanlarda insülin direncine (IR) ve glukoz toleransına neden olduğu tespit edilmiştir (Dornas ve ark., 2015).

Klinik olarak, düşük-doz STZ T2DM'nin ileriki evresindeki ılımlı insülin sekresyonu bozukluğunu stimüle etmek için yaygın olarak kullanılmaktadır. Düşük doz-STZ ve HFD kombinasyonu ideal deneysel T2DM modeli olarak kabul edilmektedir. Bu nedenle, bu çalışmada T2DM, yüksek yağlı beslenme (1 ay) ve tek doz streptozotocin (STZ) (i.p, 0.1 M pH 4.5 sitrat tamponunda çözünmüş 35 mg/kg vücut ağırlığı) enjeksiyonu ile oluşturuldu (Liang ve ark., 2020; W. Zhang ve ark., 2020). STZ enjeksiyonundan 72 saat sonra kuyruk kanlarından kan glukozu ölçülerek ≥ 300 mg/dl olanlar diyabetik olarak kabul edildi (Ghorbanzadeh ve ark., 2016). Diyabetik Rat'lar daha sonra 2 alt gruba ayrılıp grubunun birine 1g/kg EPA (%99 saflıkta, etil-ester formunda) gavaj ile verilirken diğer gruba eşit miktarda su 2 ay boyunca verildi (şekil 3.1).



Şekil 3.1. T2DM modelinin oluşturulması ve deneysel süreci.
T2DM modeli yüksek yağlı diyet ve düşük doz STZ enjeksiyonu ile indüklendi.

Benzer şekilde diğer gruplarda, EPA takviyesinin değerlendirilmesi için 1. Ayın sonunda randomize şekilde 2 alt gruba ayrılıp grubunun birine EPA verilirken diğer gruba gavaj ile sadece su verildi. Deney grupları, sayısı ve deney süreci kısaca tablo 3.1’de özetlenmiştir. Deneyde kullanılan %99 saflıktaki EPA’lar KD Pharma’dan temin edildi.

Tablo 3.1. Projede kullanılan grupların dizaynı ve deneysel süreci

GRUPLAR	1. AY	2. ve 3. AY
TİP 2 DİABET GRUP (HFD ve STZ ile indüklenmiş)	Yüksek yağlı (HFD) beslenme n=24	(HFD+STZ, diyabetik grup) + n=12
		(HFD+STZ, diyabetik grup) n=12
HFD İLE BESLENMİŞ GRUP	Yüksek yağlı (HFD) beslenme n=24	HFD+EPA n=12
		HFD n=12
ND İLE BESLENMİŞ GRUP	Normal (ND) beslenme n=20	ND+EPA n=10
		ND n=10

Deney süresi tamamlandığında tüm gruplardaki ratlar eter anestezisi altında bayıltılıp disekte edildikten sonra KC dokuları alındı. Alınan doku örnekleri western-blot ve PCR teknikleri ile analiz edilene kadar -80° C’de saklandı.

3.2. Western Blot

3.2.1. Western-blot Lizatlarının Oluşturulması

0,2 g doku başına 800 µL lizis tamponu ve 10 µL proteaz inhibitör kokteyli olacak şekilde hesaplama yapılarak tüplere lizis tamponu ve proteaz inhibitör kokteyli konuldu ve dokular homojenize edildi. Daha sonra 15.000 rpm’de 15 dakika +4°C’de santrifüj edildi. Süpernatantlar alınıp pelet kısmı atılarak lizatlar hazırlandı. Elde edilen süpernatantların protein konsantrasyonları, standart olarak sığır serum albümin (BSA) kullanılarak Bradford yöntemi ile ölçüldü (Harlow ve Lane, 2006).

3.2.2. SDS-PAGE ve Protein Bantlarının Görüntülenmesi

Eşit miktarlarda (40 µg) doku lizatu yükleme tamponu ile karıştırılıp 95°C’de 5 dakika kaynatıldı ve çalışılacak proteininin molekül ağırlığına uygun konsantrasyondaki SDS-poliakrilamid jellere yüklenip elektroforeze tabi tutularak ayrıştırıldı. Elektroforez sonrası jel, plakalardan uzaklaştırıldı ve transfer sistemine alınarak PVDF membrana transfer edildi. Transferden sonra membran, bloklama solüsyonu (%5 lik yağsız süt tozu) içerisinde 1 saat oda ısısında bekletildi. Bloklama aşamasını takiben membran, 1:500 dilüsyonda primer antikor (T-Cadherin) ile gece boyu +4 °C’de inkübe edildi. Primer antikor aşamasını takiben membran üç defa 20 dakika TBS-T ile oda ısısında yıkandı. Böylece ortamdaki zayıf bağlanan veya bağlanmamış antikorlar uzaklaştırıldı. Yıkama aşamalarından sonra membran, bloklama solüsyonu içerisinde hazırlanan primer antikor türüne göre belirlenmiş sekonder antikor ile oda ısısında 2 saat inkübe edildi. TBS-T ile üç defa 20 dakika yıkandı. Yıkama işleminden sonra, membran kemiluminesans reaktifi (Thermo) ile görüntülendi. PVDF membran strip solüsyonu ile muamele edildikten sonra β–aktin antikoruna ile muamele edilip, benzer şekilde görüntülendi.

3.3. RNA İzolasyonu ve Revers Transkriptaz–Polimeraz Zincir Reaksiyonu (RT-PCR)

Karaciğer dokularından total RNA trizol (TRIzol® Reagent, Thermo Scientific) kullanılarak izole edildi. 1µg total RNA’dan cDNA sentez kiti (High-Capacity cDNA Reverse Transcription cDNA Synthesis Kit, Thermo Scientific) kullanılarak cDNA sentez edildi. AdipoR1’e spesifik primerler, DNA polimeraz kiti (Platinum Taq DNA Polymerase kit, Invitrogen) kullanılarak çoğaltıldı. Kısaca, PCR için 2µL cDNA, 1.5 mM MgCl₂, 200µM deoksi nükleotid trifosfat (ddNTPs), 1 unit Platinum Taq polimeraz ve her iki primer’den 0.2µM içeren 1xPCR buffer kullanıldı. Kullanılan primer sekansı tablo 3.3.’te gösterilmiştir. cDNA örnekleri, denatürasyon ve enzim aktivasyonu için 94 °C (2 dk) inkübe edildi. Bu adımı, 35 döngü PCR amplifikasyonu takip etti (her bir döngüde, örnekler 30 ° C’de ve 94 ° C’de 30 saniye boyunca, 72 ° C’de 60 saniye boyunca inkübe edildi), ayrıca 72 ° C’de ilave bir döngüye 5 dakika boyunca amplifikasyon gerçekleştirildi. Amplifikasyon ürünleri etidyum bromid içeren %1,2 agaroz jelde analiz edildi. GAPDH internal kontrol olarak kullanıldı.

Tablo 3.3. RT-PCR deneyi için kullanılan AdipoR1 primerleri.

Gen	Forward primer	Reverse primer	Ürün (bp)
AdipoR1 (GI: 326633221)	5'-CTT CTAC TGCT CCC CAC AGC-3'	5'-TCC CAG GAA CAC TCC TGCT C-3'	139 bp

4. BULGULAR

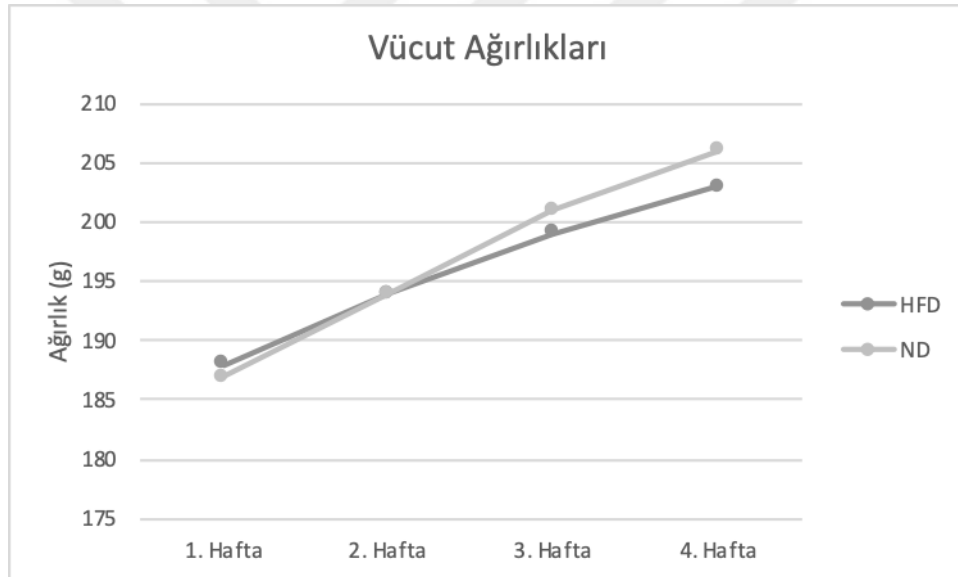
4.1. Kilo Değişimleri

HFD ve ND ile beslenmiş ratların vücut ağırlıkları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (tablo 4.1, şekil 4.1).

Tablo 4.1. Grupların ilk bir aylık vücut ağırlıklarının haftalara göre değişimi.

HFD ve ND diyet ile beslenmiş ratların haftalara göre vücut ağırlıklarındaki artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0.05$). Vücut ağırlıkları her hafta aynı gün ölçüldü. Değerler mean $\pm$ SEM (Std. Error of Mean) olarak verilmiştir. Kullanılan denek sayıları: (n=10-12 rat/grup).

GRUP	1. HAFTA	2. HAFTA	3. HAFTA	4. HAFTA
HFD	187,89 $\pm$ 5.7	193,78 $\pm$ 6.2	198,78 $\pm$ 6,6	203,44 $\pm$ 6.4
ND	186,78 $\pm$ 4.7	194,33 $\pm$ 4.4	201,11 $\pm$ 5,1	206,44 $\pm$ 4.6



Şekil 4.1. HFD ve ND ratların ilk bir aylık vücut ağırlıklarının haftalara göre değişimi.

Vücut ağırlıkları her hafta aynı gün ölçüldü. Vücut ağırlıkları (g) mean $\pm$ SEM olarak verildi, (n=10-12 rat/grup). Gruplar arasındaki farklar Mann-Whitney U Test ile belirlendi, ve $p<0,05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4.2. T2DM Grubun Kan Glukoz Değerleri

T2DM grubuna dahil edilen ratların kan glukoz değerleri tablo 4.2.'de gösterilmiştir.

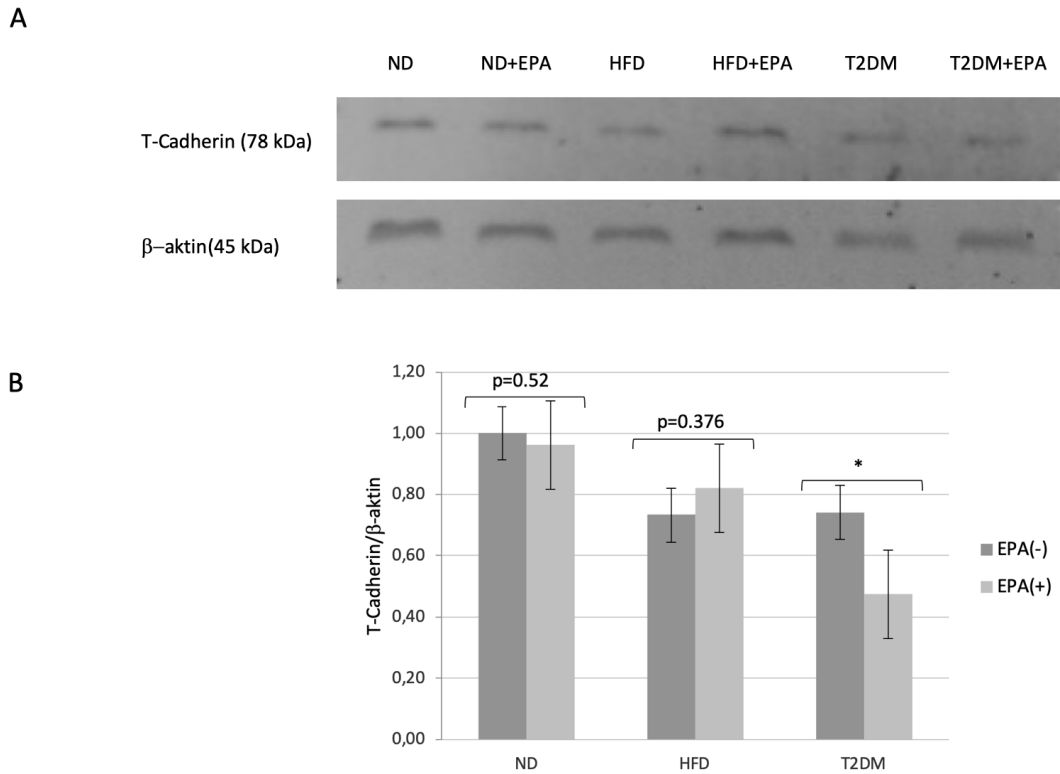
Tablo 4.2. T2DM ratların kan glukoz değerleri.

T2DM modeli, HFD diyet ve tek doz STZ (i.p., 0.1 M pH 4.5 sitrat tamponunda çözünmüş 35 mg/kg vücut ağırlığı) enjeksiyonu ile indüklendi. Enjeksiyondan 72 saat sonra lateral kuyruk veninden alınan kanlarından glukometre ile kan glukoz değeri ölçüldü. Kan glukoz değeri ≥ 300 mg/dL olanlar diyabetik olarak kabul edildi.

Denekler	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.	11.	12.
Kan glukoz değerleri (mg/dL)	429	445	400	568	400	500	500	500	500	443	402	495

4.3. Western-Blot Sonuçları

EPA takviyesi, T2DM grubunda T-cadherin seviyesinde istatistiksel olarak anlamlı düşüşe neden olurken, HFD grubunda, T-cadherin seviyesinde artışa neden olmuş, fakat bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunamamıştır (şekil 4.3).



Şekil 4.3. EPA ile tedavi sonrasında T-cadherin protein ekspresyonu.

ND, HFD ve T2DM gruplarında EPA'nın T-cadherin protein ekspresyonu üzerindeki etkisi western-blot ile analiz edildi. (A) T-cadherin ve β-aktin (internal kontrol) proteinlerinin western-blot sonucuna ait bantlar gösterilmektedir. (B) RT-PCR sonucu elde edilen bantların yoğunlukları taranarak sütun grafik şekline dönüştürüldü. (* $p < 0,05$, $n = 3$ rat/grup, 3 tekrar).

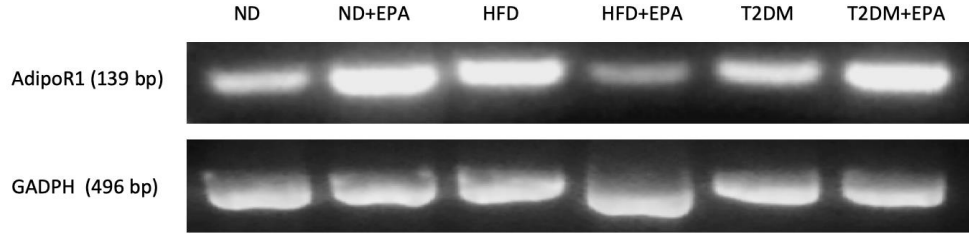
NOT: Yapılan tekrarlı western-blot ölçümleri sonrasında Adiponektin ekspresyonlarından sinyal alınamamıştır. Doktora Projeleri için ayrılan bütçe imkanları doğrultusunda yeniden antikor ve azalan

diğer kimyasalların alınması mümkün olmadığı için deneylere Adiponektin protein ekspresyonu sonucu eklenememiştir.

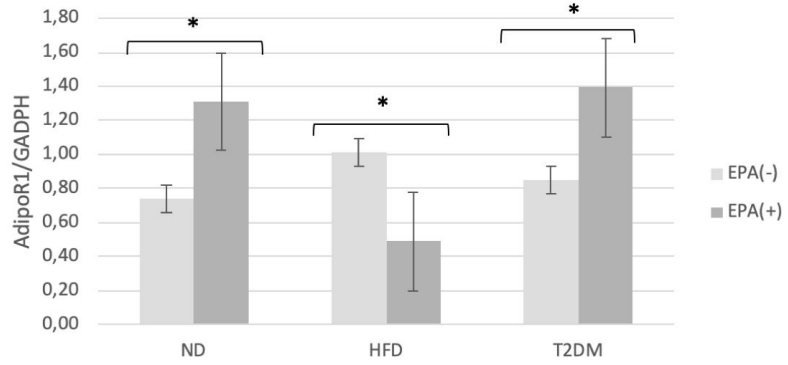
4.4. PCR Sonuçları

EPA takviyesi, ND ve T2DM grubunda AdipoR1 ekspresyonunda istatistiksel olarak anlamlı bir artışa neden olurken, HFD grubunda AdipoR1 seviyesinde istatistiksel olarak anlamlı bir azalışa neden olmuştur (şekil 4.4).

A



B



Şekil 4.4. EPA ile tedavi sonrasında AdipoR1 mRNA ekspresyonu.

ND, HFD ve T2DM gruplarına EPA verildikten sonra AdipoR1 mRNA ekspresyonu RT-PCR ile belirlendi. (A) AdipoR1 ve GADPH (internal kontrol)'in RT-PCR sonucuna ait bantlar gösterilmektedir. (B) RT-PCR sonucu elde edilen bantların yoğunlukları taranarak sütun grafik şekline dönüştürüldü. (*p<0,05, n=3 rat/grup, 2 tekrar).

NOT: Yapılan tekrarlı RT-PCR ölçümleri sonrasında, Adiponektin ve T-cadherin mRNA ekspresyonlarından sinyal alınamamıştır. Doktora Projeleri için ayrılan bütçe imkanları doğrultusunda yeniden kimyasalların alınması mümkün olmadığı için deney sonucuna, Adiponektin ve T-cadherin mRNA sonucu eklenememiştir. Adiponektin yerine, adiponektin sinyaline aracılık eden, adiponektin reseptörü, AdipoR1'in mRNA ekspresyonları değerlendirilerek, EPA'nın anti-diabetik etkisinin adiponektin sinyali üzerindeki etkisi değerlendirilmiştir.

5. TARTIŞMA

Obezite, T2DM ve kardiovasküler hastalıklar gibi kronik hastalıklar dünya genelinde artış gösteren ve ölüme neden olan hastalıklardandır. Birçok epidemiyolojik ve deneysel çalışmadan elde edilen veriler EPA'nın kardiovasküler hastalıklar üzerinde inhibe edici etkiye sahip olduğunu göstermiştir (Gonzalez-Becerra ve ark., 2019; Konishi ve ark., 2019; Nelson ve Raskin, 2019; L. Y. Zhang ve ark., 2019). Fakat, EPA'nın anti-diyabetik etkisini gösteren sınırlı sayıda çalışma mevcut ve moleküler mekanizması henüz tartışmalıdır. Ayrıca yapılan çalışmaların çoğunda, omega-3 direkt verilmiş, EPA'nın, DHA'nın ve ALA'nın tek başına etkisi sınırlı sayıda çalışılmıştır (Cancelas ve ark., 2007; Gonzalez-Periz ve ark., 2009; Agrawal ve Gomez-Pinilla, 2012; Poudyal ve ark., 2013).

Adiponektin anti-diyabetik, anti-inflamatuar ve anti-atherojenik etkilere sahip bir proteindir. Bu nedenle, diyabet ve metabolik sendrom için yeni bir terapötik hedeftir (Yamauchi ve ark., 2001a; Okamoto ve ark., 2002). InsrP1195L/+HFD (insülin reseptör fonksiyonu olamayan) farelere EPA verilmesi hiperglisemiye önemli derecede iyileştirmiş ve adiponektin seviyesini yükseltmiştir. EPA'nın hepatositlerde direkt olarak glukogenezisi inhibe ederek ve adipositlerdeki indirekt yoldan adiponektin seviyesini yükselterek insülin sinyalini geliştirdiği gösterilmiştir (Morimoto ve ark., 2016). Bu çalışmamızda, farklı olarak karaciğer dokusunda ND, HFD ve T2DM gruplarında EPA'nın adiponektin reseptörlerinin, AdipoR1 ve T-cadherin ekspresyonları üzerindeki etkisi ve adiponektin sinyalindeki olası rolü değerlendirilmiştir.

Bu çalışmamızda, EPA ile tedavi sonrası, ND ve T2DM olan gruplarının karaciğer dokusunda AdipoR1 seviyesinde artış gözlenirken, T-cadherin seviyesinde azalış gözlenmiştir. Bu durum bu reseptörlerin farklı adiponektin formlarına affinite duymasından ve farklı sinyal yollarına aracılık ettiğinden kaynaklı olabilir. Globüler adiponektin AdipoR1 için ligand fonksiyonu gösterirken HMW ve LMW adiponektin T-cadherin için ligand olarak fonksiyon göstermektedir. Buna ek olarak, EPA ile tedavi sonrasında adipoR1 gen ekspresyonu artışının nedeni, PPAR γ aktivasyonundaki artıştan kaynaklanıyor olabilir. EPA, transkripsiyon faktörü olan

PPAR γ ile etkili bir şekilde etkileşime geçen endojen bir ligand olarak fonksiyon göstermektedir (H. Eric, 1999). EPA'nın PPAR γ ile ligasyonu adipoR1 gen ekspresyonunun artışı ile sonuçlanmış olabilir.

AdipoR1, AMPK/PPARs yolağı üzerinden lipid ve glukoz metabolizmasını regüle eder. AMPK enerji sensörü olarak kullanılan bir serine/threonine kinazdır. AMPK^{T172}, hücre içi AMP/ATP oranının artışına yanıt olarak fosforillenerek aktif hale getirilir. AMPK-aktive edilince ATP-tüketen yolları (glikojen sentezi) inhibe edip, ATP-üreten yolları (glikolizis ve β -oksidasyon) aktive ederek enerji seviyelerini yeniden yeniler (Jeon, 2016). Bu kinaz T2DM gibi birçok metabolik hastalık ve kanser için hedef molekül olarak kullanılmaktadır. Diyabette kullanılan metformin AMPK'nın bir aktivatörüdür (Jian ve ark., 2019). Artmış olan AdipoR1 ekspresyonu AMPK ve PPARs yolağı üzerinden EPA'nın anti-diyabetik etkilerine aracılık etmiş olabilir. Bu nedenle, hücre içi AdipoR1/EPA dengesi T2DM tedavisinde önemli bir etken olabilir.

Obez bireylerdeki düşük adiponektin seviyesi insülin direnci ve T2DM riski ile ilişkili bulunmuştur. Bu çalışmada kullandığımız HFD diyet, yüksek oranda doymuş yağ asidi ve früktoz içermektedir. Doymamış yağ asitleri yağ dokusunda kronik inflamasyonu indükler ve insülin direncine neden olur (Olefsky ve Glass, 2010). Bunun aksine, EPA ve dokosaheksaenoik asit gibi n-3 PUFA'ların, Toll-like reseptör 4 (TLR4), GRP120 aracılığı ile kronik inflamasyonu baskıladığı bildirilmiştir (J. Y. Lee ve ark., 2003; M. Arita ve ark., 2005; Oh ve ark., 2010). Sadece EPA değil, aynı zamanda EPA'dan türeyen resolvin E1 gibi metabolitler de anti-inflamatuar etkiler göstererek diyabetik durumu iyileştirmektedir.

Yapılan çalışmalar, T-cadherinin özellikle kardiovasküler hastalıklarda önemli rol oynadığını göstermektedir (Kostopoulos ve ark., 2014). Fakat, diyabetik koşullarda T-cadherinin rolü çok kısıtlı çalışılmış (Li ve ark., 2017; Nicolas ve ark., 2017; Goddeke ve ark., 2018). Bu çalışmada, T-cadherinin EPA'nın anti-diabetik etkilerine aracılık edip etmediği değerlendirildi. İlginç olarak, EPA takviyesi HFD grubunda T-cadherin seviyesinde ılımlı bir artışa neden olurken, T2DM grubunda T-Cadherin seviyesinde istatistiksel olarak anlamlı bir azalışa sebep oldu. Yapılan çalışmalar, EPA'nın yağ asidi oksidasyonunu arttırarak ve lipogenezi azaltarak obezite ve insülin direnci riskini düşürdüğünü, dolayısıyla diyabet riskini düşürdüğünü

göstermektedir (Siriwardhana ve ark., 2013). Çalışmamızla tutarlı olarak, obez fare modellerinde, visceral adipoz doku T-cadherinin protein ve mRNA düzeyinin düştüğü gözlenmiştir. Temelde, T-cadherin olgun adiposit aşamasında değil, özellikle adipogenezis aşamasında rol alır. T-cadherin inhibisyonu PPAR γ ve C/EBP α ekspresyonunun azalmasına neden olur (Goddeke ve ark., 2018). PPAR γ ligand ile aktive olan, özellikle lipid metabolizmasının regülasyonundan sorumlu genlerin ekspresyonunu regüle eden bir transkripsiyon faktörüdür (Vargas-Bello-Perez ve ark., 2019). Bu nedenle, HFD grubunda, EPA/T-cadherin dengesinin yüksek yağlı beslenme kaynaklı abdominal obezite ve obezite ilişkili kardiyovasküler hastalıkların gelişme riskinde önemli bir belirleyici olabileceğini göstermektedir. Bu çalışma, ilk defa, EPA ile tedavi sonrasında, karaciğer dokusunda T-cadherin ekspresyonundaki değişimi göstermiştir. EPA/T-cadherin dengesinin yüksek yağlı beslenme ve lipid metabolizmasındaki rolünün daha detaylı anlaşılabilmesi için ileriki çalışmalara ihtiyaç vardır. Ayrıca, Adiponektin sinyalinde rol alan T-cadherin ve AdipoR1 arasındaki ilişkiyi gösteren sınırlı sayıda çalışma mevcuttur. AdipoR1 ve T-cadherin aynı molekül için reseptör fonksiyonu gösteriyor olsa da farklı sinyal yolları üzerinden farklı roller üstlenmektedir. Hem iki molekülün adiponektin sinyalindeki rollerinin ve bu rollerin birbiri ile bağlantılı olup olmadığının anlaşılabilmesi için ileriki çalışmalara ihtiyaç vardır.

T2DM'nin altında sedenter yaşam şekli, beslenme gibi birçok çevresel ve genetik faktörler yatmaktadır. İlaçlar başarılı bir şekilde kan glukoz düzeyini regüle etmesine rağmen, uzun süre kullanılması nedeniyle yaşanan yan etkilerinden dolayı endişe yaratmaktadır, bu nedenle, omega-3, özellikle EPA formu ilaçlara kıyasla daha tolere edilebileceği için T2DM tedavisinde faydalı olabilir. Son zamanlarda yapılan klinik ve deneysel çalışmalarda EPA'nın klinik olarak kullanımını desteklemektedir. Sonuç olarak, bulgularımız, etil ester EPA'nın en azından yüksek yağlı beslenmenin neden olduğu T2DM hastalarında tedavi amaçlı kullanılabileceğini desteklemektedir. EPA'nın diyabetteki rolünün, özellikle adiponektin sinyalindeki rolünün daha net anlaşılması için ileriki çalışmalara ihtiyaç vardır.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu çalışmada, diyetle alınan EPA'nın anti-diyabetik etkilerini adiponektin reseptörleri üzerinden gerçekleştirip gerçekleştirmediği değerlendirildi. Elde edilen sonuçlar, Adiponektin/AdipoR1 sinyalinin kısmen de olsa EPA'nın anti-diyabetik etkilerine aracılık ettiğini, Adiponektin/T-cadherinin sinyalinin ise obezite ile ilişkili kardiovasküler hastalıklarda rol alabileceğini göstermektedir.

Adiponektin sinyalinde bu iki reseptörün birbiri ile ilişkisi sınırlı sayıda çalışılmış. Bu çalışmada, her iki reseptörün birbiri ile bağlantısının olmadığını, farklı beslenme gruplarında etkili olduklarını göstermiştir.

Sonuç olarak, diyetle alınan EPA'nın anti-diyabetik etki mekanizmasının daha detaylı açıklanabilmesi ve adiponektin sinyalinin bu olaydaki rolünün daha detaylı anlaşılabilmesi için ileriki çalışmalara ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

Agrawal, R., & Gomez-Pinilla, F. 'Metabolic syndrome' in the brain: Deficiency in omega-3 fatty acid exacerbates dysfunctions in insulin receptor signalling and cognition. *J Physiol.* 2012; 590 (10): 2485-2499.

Ahima, R. S. Adipose tissue as an endocrine organ. *Obesity (Silver Spring).* 2006; 14 Suppl 5: 242S-249S.

American Diabetes, A. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care.* 2009; 32 Suppl 1: S62-67.

American Diabetes, A. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care.* 2014; 37 Suppl 1: S81-90.

Angst, B. D., Marcozzi, C., & Magee, A. I. The cadherin superfamily: Diversity in form and function. *J Cell Sci.* 2001; 114 (Pt 4): 629-641.

Arita, M., Yoshida, M., Hong, S., Tjonahen, E., Glickman, J. N., Petasis, N. A., Serhan, C. N. Resolvin e1, an endogenous lipid mediator derived from omega-3 eicosapentaenoic acid, protects against 2,4,6-trinitrobenzene sulfonic acid-induced colitis. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2005; 102 (21): 7671-7676.

Arita, Y., Kihara, S., Ouchi, N., Takahashi, M., Maeda, K., Miyagawa, J., Matsuzawa, Y. Paradoxical decrease of an adipose-specific protein, adiponectin, in obesity. *Biochem Biophys Res Commun.* 1999; 257 (1): 79-83.

Ashcroft, F. M., & Rorsman, P. Diabetes mellitus and the beta cell: The last ten years. *Cell.* 2012; 148 (6): 1160-1171.

Berg, A. H., Combs, T. P., Du, X., Brownlee, M., & Scherer, P. E. The adipocyte-secreted protein acrp30 enhances hepatic insulin action. *Nat Med.* 2001b; 7 (8): 947-953.

Berg, A. H., Combs, T. P., Du, X., Brownlee, M., & Scherer, P. E. The adipocyte-secreted protein acrp30 enhances hepatic insulin action. *Nat Med.* 2001c; 7 (8): 947-953.

Berg, A. H., Combs, T. P., & Scherer, P. E. Acrp30/adiponectin: An adipokine regulating glucose and lipid metabolism. *Trends Endocrinol Metab.* 2002; 13 (2): 84-89.

Bergman, R. N. New concepts in extracellular signaling for insulin action: The single gateway hypothesis. *Recent Prog Horm Res.* 1997; 52: 359-385; discussion 385-357. Bhaswant, M., Poudyal, H., & Brown, L. Mechanisms of enhanced insulin secretion and sensitivity with n-3 unsaturated fatty acids. *J Nutr Biochem.* 2015; 26 (6): 571-584.

Bonadonna, R. C. In vivo metabolic defects in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Horm Res.* 1993; 39 Suppl 3: 102-106.

Brady, M. J., Nairn, A. C., & Saltiel, A. R. The regulation of glycogen synthase by protein phosphatase 1 in 3T3-L1 adipocytes: Evidence for a potential role for darpp-32 in insulin action. *Journal of Biological Chemistry.* 1997; 272 (47): 29698-29703.

Brown, M. S., & Goldstein, J. L. Sterol regulatory element binding proteins (srebps): Controllers of lipid synthesis and cellular uptake. *Nutr Rev.* 1998; 56 (2 Pt 2): S1-3; discussion S54-75.

Bruning, J. C., Michael, M. D., Winnay, J. N., Hayashi, T., Horsch, D., Accili, D., Kahn, C. R. A muscle-specific insulin receptor knockout exhibits features of the metabolic syndrome of niddm without altering glucose tolerance. *Mol Cell.* 1998; 2 (5): 559-569.

Cancelas, J., Prieto, P. G., Villanueva-Penacarrillo, M. L., Zhang, Y., Portois, L., Sener, A., Malaisse, W. J. Glucose intolerance associated to insulin resistance and increased insulin secretion in rats depleted in long-chain omega3 fatty acids. *Horm Metab Res.* 2007; 39 (11): 823-825.

Chan, D. W., Lee, J. M., Chan, P. C., & Ng, I. O. Genetic and epigenetic inactivation of t-cadherin in human hepatocellular carcinoma cells. *Int J Cancer.* 2008; 123 (5): 1043-1052.

Clinical guidelines on the identification, evaluation, and treatment of overweight and obesity in adults--the evidence report. National institutes of health. *Obes Res.* 1998; 6 Suppl 2: 51S-209S.

Combs, T. P., Berg, A. H., Obici, S., Scherer, P. E., & Rossetti, L. Endogenous glucose production is inhibited by the adipose-derived protein acrp30. *J Clin Invest.* 2001; 108 (12): 1875-1881.

Combs, T. P., & Marliss, E. B. Adiponectin signaling in the liver. *Rev Endocr Metab Disord.* 2014; 15 (2): 137-147.

Cowin, P., Rowlands, T. M., & Hatsell, S. J. Cadherins and catenins in breast cancer. *Curr Opin Cell Biol.* 2005; 17 (5): 499-508.

Cross, D. A. E., Alessi, D. R., Cohen, P., Andjelkovich, M., & Hemmings, B. A. Inhibition of glycogen synthase kinase-3 by insulin mediated by protein kinase b. *Nature.* 1995; 378 (6559): 785-789.

Dornas, W. C., de Lima, W. G., Pedrosa, M. L., & Silva, M. E. Health implications of high-fructose intake and current research. *Adv Nutr.* 2015; 6 (6): 729-737.

Foretz, M., Pacot, C., Dugail, I., Lemarchand, P., Guichard, C., le Lièvre, X., Foulfelle, F. Add1/srebp-1c is required in the activation of hepatic lipogenic gene expression by glucose. *Molecular and Cellular Biology.* 1999; 19 (5): 3760.

Galgani, J. E., Uauy, R. D., Aguirre, C. A., & Diaz, E. O. Effect of the dietary fat quality on insulin sensitivity. *Br J Nutr.* 2008; 100 (3): 471-479.

Ghorbanzadeh, V., Mohammadi, M., Dariushnejad, H., Chodari, L., & Mohaddes, G. Effects of crocin and voluntary exercise, alone or combined, on heart vegf-a and homa-ir of hfd/stz induced type 2 diabetic rats. *J Endocrinol Invest.* 2016; 39 (10): 1179-1186.

Gingras, A. A., White, P. J., Chouinard, P. Y., Julien, P., Davis, T. A., Dombrowski, L., Thivierge, M. C. Long-chain omega-3 fatty acids regulate bovine whole-body protein metabolism by promoting muscle insulin signalling to the akt-mtor-s6k1 pathway and insulin sensitivity. *J Physiol.* 2007; 579 (Pt 1): 269-284.

Goddeke, S., Knebel, B., Fahlbusch, P., Horbelt, T., Poschmann, G., van de Velde, F., . . . Kotzka, J. Cdh13 abundance interferes with adipocyte differentiation and is a novel biomarker for adipose tissue health. *Int J Obes (Lond).* 2018; 42 (5): 1039-1050.

Gonzalez-Becerra, K., Ramos-Lopez, O., Barron-Cabrera, E., Riezu-Boj, J. I., Milagro, F. I., Martinez-Lopez, E., & Martinez, J. A. Fatty acids, epigenetic mechanisms and chronic diseases: A systematic review. *Lipids Health Dis.* 2019; 18 (1): 178.

Gonzalez-Periz, A., Horrillo, R., Ferre, N., Gronert, K., Dong, B., Moran-Salvador, E., Claria, J. Obesity-induced insulin resistance and hepatic steatosis are alleviated by omega-3 fatty acids: A role for resolvins and protectins. *FASEB J.* 2009; 23 (6): 1946-1957.

Halaas, J. L., Gajiwala, K. S., Maffei, M., Cohen, S. L., Chait, B. T., Rabinowitz, D., Friedman, J. M. Weight-reducing effects of the plasma protein encoded by the obese gene. *Science.* 1995; 269 (5223): 543-546.

Halbleib, J. M., & Nelson, W. J. Cadherins in development: Cell adhesion, sorting, and tissue morphogenesis. *Genes Dev.* 2006; 20 (23): 3199-3214.

Harlow, E., & Lane, D. Bradford assay. *CSH Protoc.* 2006; 2006 (6).

Hartge, M. M., Kintscher, U., & Unger, T. Endothelial dysfunction and its role in diabetic vascular disease. *Endocrinol Metab Clin North Am.* 2006; 35 (3): 551-560, viii-ix.

Haugen, F., & Drevon, C. A. Activation of nuclear factor-kappaB by high molecular weight and globular adiponectin. *Endocrinology.* 2007; 148 (11): 5478-5486.

H. Eric, Xu, M.H. Lambert, V.G. Montana, D.J. Parks, S.G. Blanchard, P.J. Brown, D.D. Sternbach, J. Rgen, M. Lehmann, G.B. Wisely, T.M. Willson, S.A. Kliwer, M. v Milburn, Molecular Recognition of Fatty Acids by Peroxisome Proliferator-Activated Receptors ligands. *Molecular cell.* 1999; Vol. 3, 397-403,.

Hotamisligil, G. S., Peraldi, P., Budavari, A., Ellis, R., White, M. F., & Spiegelman, B. M. Irs-1-mediated inhibition of insulin receptor tyrosine kinase activity in tnfr-alpha- and obesity-induced insulin resistance. *Science.* 1996; 271 (5249): 665-668.

Hug, C., Wang, J., Ahmad, N. S., Bogan, J. S., Tsao, T. S., & Lodish, H. F. T-cadherin is a receptor for hexameric and high-molecular-weight forms of acrp30/adiponectin. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2004; 101 (28): 10308-10313.

Iyer, A., Fairlie, D. P., Prins, J. B., Hammock, B. D., & Brown, L. Inflammatory lipid mediators in adipocyte function and obesity. *Nat Rev Endocrinol*. 2010; 6 (2): 71-82.

Jafari, T., Fallah, A. A., & Azadbakht, L. Role of dietary n-3 polyunsaturated fatty acids in type 2 diabetes: A review of epidemiological and clinical studies. *Maturitas*. 2013; 74 (4): 303-308.

Jeon, S. M. Regulation and function of ampk in physiology and diseases. *Exp Mol Med*. 2016; 48 (7): e245.

Jian, M., Kwan, J. S., Bunting, M., Ng, R. C., & Chan, K. H. Adiponectin suppresses amyloid-beta oligomer (abetao)-induced inflammatory response of microglia via adipor1-ampk-nf-kappab signaling pathway. *J Neuroinflammation*. 2019; 16 (1): 110.

Juarez-Lopez, C., Klunder-Klunder, M., Madrigal-Azcarate, A., & Flores-Huerta, S. Omega-3 polyunsaturated fatty acids reduce insulin resistance and triglycerides in obese children and adolescents. *Pediatr Diabetes*. 2013; 14 (5): 377-383.

Kadowaki, T., Yamauchi, T., Kubota, N., Hara, K., Ueki, K., & Tobe, K. Adiponectin and adiponectin receptors in insulin resistance, diabetes, and the metabolic syndrome. *J Clin Invest*. 2006; 116 (7): 1784-1792.

Kahn, S. E. Clinical review 135: The importance of beta-cell failure in the development and progression of type 2 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab*. 2001; 86 (9): 4047-4058.

Kamolrat, T., Gray, S. R., & Thivierge, M. C. Fish oil positively regulates anabolic signalling alongside an increase in whole-body gluconeogenesis in ageing skeletal muscle. *Eur J Nutr*. 2013; 52 (2): 647-657.

Kendall, D. M., & Bergenstal, R. M. Comprehensive management of patients with type 2 diabetes: Establishing priorities of care. *Am J Manag Care*. 2001; 7 (10 Suppl): S327-343; quiz S344-328.

Kinsell, L. W., Walker, G., Michaels, G. D., & Olson, F. E. Dietary fats and the diabetic patient. *N Engl J Med*. 1959; 261: 431-434.

Kita, S., Maeda, N., & Shimomura, I. Interorgan communication by exosomes, adipose tissue, and adiponectin in metabolic syndrome. *J Clin Invest*. 2019; 129 (10): 4041-4049.

Klip, A., & Paquet, M. R. Glucose transport and glucose transporters in muscle and their metabolic regulation. *Diabetes Care*. 1990; 13 (3): 228-243.

Konishi, T., Sunaga, D., Funayama, N., Yamamoto, T., Murakami, H., Hotta, D., Tanaka, S. Eicosapentaenoic acid therapy is associated with decreased coronary

plaque instability assessed using optical frequency domain imaging. *Clin Cardiol.* 2019; 42 (6): 618-628.

Kostopoulos, C. G., Spiroglou, S. G., Varakis, J. N., Apostolakis, E., & Papadaki, H. H. Adiponectin/t-cadherin and apelin/apj expression in human arteries and periadventitial fat: Implication of local adipokine signaling in atherosclerosis? *Cardiovasc Pathol.* 2014; 23 (3): 131-138.

Kubota, H., Matsumoto, H., Higashida, M., Murakami, H., Nakashima, H., Oka, Y., .Hirai, T. Eicosapentaenoic acid modifies cytokine activity and inhibits cell proliferation in an oesophageal cancer cell line. *Anticancer Res.* 2013; 33 (10): 4319-4324.

Kwon, H., & Pessin, J. E. Adipokines mediate inflammation and insulin resistance. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2013; 4: 71.

Lee, E. Y., Sakurai, K., Zhang, X., Toda, C., Tanaka, T., Jiang, M., Miki, T. Unsuppressed lipolysis in adipocytes is linked with enhanced gluconeogenesis and altered bile acid physiology in *insr*(p1195l/+) mice fed high-fat-diet. *Sci Rep.* 2015; 5: 17565.

Lee, J. Y., Plakidas, A., Lee, W. H., Heikkinen, A., Chanmugam, P., Bray, G., & Hwang, D. H. Differential modulation of toll-like receptors by fatty acids: Preferential inhibition by n-3 polyunsaturated fatty acids. *J Lipid Res.* 2003; 44 (3): 479-486.

Lee, Y., Wang, M. Y., Kakuma, T., Wang, Z. W., Babcock, E., McCorkle, K., Unger, R. H. Liporegulation in diet-induced obesity. The antisteatotic role of hyperleptinemia. *J Biol Chem.* 2001; 276 (8): 5629-5635.

Li, Y., Li, C., Yang, Y., Shi, L., Tao, W., Liu, S., . . . Xiao, C. The association of six single nucleotide polymorphisms and their haplotypes in *cdh13* with t2dm in a han chinese population. *Medicine (Baltimore).* 2017; 96 (22): e7063.

Liang, L., Liu, G., Yu, G., Zhang, F., Linhardt, R. J., & Li, Q. Urinary metabolomics analysis reveals the anti-diabetic effect of stachyose in high-fat diet/streptozotocin-induced type 2 diabetic rats. *Carbohydr Polym.* 2020; 229: 115534.

Louchami, K., Zhang, Y., Oguzhan, B., Delporte, C., Portois, L., Carpentier, Y. A., Sener, A. Rapid changes in liver lipid composition and pancreatic islet k⁺ handling and secretory behaviour provoked by the intravenous administration of a medium-chain triglyceride: Fish oil emulsion to long-chain polyunsaturated omega3 fatty acid-depleted rats. *Int J Mol Med.* 2006; 18 (6): 1047-1055.

Mann, J. I. Nutrition recommendations for the treatment and prevention of type 2 diabetes and the metabolic syndrome: An evidenced-based review. *Nutr Rev.* 2006; 64 (9): 422-427.

Marik, P. E., & Varon, J. Omega-3 dietary supplements and the risk of cardiovascular events: A systematic review. *Clin Cardiol.* 2009; 32 (7): 365-372.

Martinez de Morentin, P. B., Varela, L., Ferno, J., Nogueiras, R., Dieguez, C., & Lopez, M. Hypothalamic lipotoxicity and the metabolic syndrome. *Biochim Biophys Acta*. 2010; 1801 (3): 350-361.

Martins, A. R., Nachbar, R. T., Gorjao, R., Vinolo, M. A., Festuccia, W. T., Lambertucci, R. H., Hirabara, S. M. Mechanisms underlying skeletal muscle insulin resistance induced by fatty acids: Importance of the mitochondrial function. *Lipids Health Dis*. 2012; 11: 30.

Matsuda, K., Fujishima, Y., Maeda, N., Mori, T., Hirata, A., Sekimoto, R., Shimomura, I. Positive feedback regulation between adiponectin and t-cadherin impacts adiponectin levels in tissue and plasma of male mice. *Endocrinology*. 2015; 156 (3): 934-946.

Michael, M. D., Kulkarni, R. N., Postic, C., Previs, S. F., Shulman, G. I., Magnuson, M. A., & Kahn, C. R. Loss of insulin signaling in hepatocytes leads to severe insulin resistance and progressive hepatic dysfunction. *Molecular Cell*. 2000; 6 (1): 87-97.

Mori, T. A., Bao, D. Q., Burke, V., Puddey, I. B., Watts, G. F., & Beilin, L. J. Dietary fish as a major component of a weight-loss diet: Effect on serum lipids, glucose, and insulin metabolism in overweight hypertensive subjects. *Am J Clin Nutr*. 1999; 70 (5): 817-825.

Morimoto, M., Lee, E. Y., Zhang, X., Inaba, Y., Inoue, H., Ogawa, M., Miki, T. Eicosapentaenoic acid ameliorates hyperglycemia in high-fat diet-sensitive diabetes mice in conjunction with restoration of hypoadiponectinemia. *Nutr Diabetes*. 2016; 6: e213.

Mukherjee, B., Hossain, C. M., Mondal, L., Paul, P., & Ghosh, M. K. Obesity and insulin resistance: An abridged molecular correlation. *Lipid Insights*. 2013; 6: 1-11.

Murea, M., Ma, L., & Freedman, B. I. Genetic and environmental factors associated with type 2 diabetes and diabetic vascular complications. *Rev Diabet Stud*. 2012; 9 (1): 6-22.

Nelson, J. R., & Raskin, S. The eicosapentaenoic acid:Arachidonic acid ratio and its clinical utility in cardiovascular disease. *Postgrad Med*. 2019; 131 (4): 268-277.

Nicolas, A., Aubert, R., Bellili-Munoz, N., Balkau, B., Bonnet, F., Tichet, J., Fumeron, F. T-cadherin gene variants are associated with type 2 diabetes and the fatty liver index in the french population. *Diabetes Metab*. 2017; 43 (1): 33-39.

Oh, D. Y., Talukdar, S., Bae, E. J., Imamura, T., Morinaga, H., Fan, W., Olefsky, J. M. Gpr120 is an omega-3 fatty acid receptor mediating potent anti-inflammatory and insulin-sensitizing effects. *Cell*. 2010; 142 (5): 687-698.

Okamoto, Y., Kihara, S., Ouchi, N., Nishida, M., Arita, Y., Kumada, M., Matsuzawa, Y. Adiponectin reduces atherosclerosis in apolipoprotein e-deficient mice. *Circulation*. 2002; 106 (22): 2767-2770.

Olefsky, J. M., & Glass, C. K. Macrophages, inflammation, and insulin resistance. *Annu Rev Physiol*. 2010; 72: 219-246.

Pajvani, U. B., Du, X., Combs, T. P., Berg, A. H., Rajala, M. W., Schulthess, T., Scherer, P. E. Structure-function studies of the adipocyte-secreted hormone acrp30/adiponectin. Implications for metabolic regulation and bioactivity. *J Biol Chem.* 2003; 278 (11): 9073-9085.

Parker-Duffen, J. L., Nakamura, K., Silver, M., Kikuchi, R., Tigges, U., Yoshida, S., Walsh, K. T-cadherin is essential for adiponectin-mediated revascularization. *J Biol Chem.* 2013; 288 (34): 24886-24897.

Perez-Matute, P., Perez-Echarri, N., Martinez, J. A., Marti, A., & Moreno-Aliaga, M. J. Eicosapentaenoic acid actions on adiposity and insulin resistance in control and high-fat-fed rats: Role of apoptosis, adiponectin and tumour necrosis factor-alpha. *Br J Nutr.* 2007; 97 (2): 389-398.

Perley, M., & Kipnis, D. M. Plasma insulin responses to glucose and tolbutamide of normal weight and obese diabetic and nondiabetic subjects. *Diabetes.* 1966; 15 (12): 867-874.

Pfaff, D., Schoenenberger, A. W., Dasen, B., Erne, P., Resink, T. J., & Philippova, M. Plasma t-cadherin negatively associates with coronary lesion severity and acute coronary syndrome. *Eur Heart J Acute Cardiovasc Care.* 2015; 4 (5): 410-418.

Philippova, M., Joshi, M. B., Pfaff, D., Kyriakakis, E., Maslova, K., Erne, P., & Resink, T. J. T-cadherin attenuates insulin-dependent signalling, enos activation, and angiogenesis in vascular endothelial cells. *Cardiovasc Res.* 2012; 93 (3): 498-507.

Pinel, A., Morio-Liondore, B., & Capel, F. N-3 polyunsaturated fatty acids modulate metabolism of insulin-sensitive tissues: Implication for the prevention of type 2 diabetes. *J Physiol Biochem.* 2014; 70 (2): 647-658.

Poudyal, H., & Brown, L. The role of n-3 polyunsaturated fatty acids in human heart failure. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets.* 2013; 13 (1): 105-117.

Poudyal, H., Panchal, S. K., Ward, L. C., & Brown, L. Effects of ala, epa and dha in high-carbohydrate, high-fat diet-induced metabolic syndrome in rats. *J Nutr Biochem.* 2013; 24 (6): 1041-1052.

Poudyal, H., Panchal, S. K., Ward, L. C., Waanders, J., & Brown, L. Chronic high-carbohydrate, high-fat feeding in rats induces reversible metabolic, cardiovascular, and liver changes. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2012; 302 (12): E1472-1482.

Prentki, M., & Nolan, C. J. Islet beta cell failure in type 2 diabetes. *J Clin Invest.* 2006; 116 (7): 1802-1812.

Rabe, K., Lehrke, M., Parhofer, K. G., & Broedl, U. C. Adipokines and insulin resistance. *Mol Med.* 2008; 14 (11-12): 741-751.

Reaven, G. M. Banting lecture 1988. Role of insulin resistance in human disease. *Diabetes.* 1988; 37 (12): 1595-1607.

Riserus, U., Willett, W. C., & Hu, F. B. Dietary fats and prevention of type 2 diabetes. *Prog Lipid Res.* 2009; 48 (1): 44-51.

Ruan, H., & Dong, L. Q. Adiponectin signaling and function in insulin target tissues. *J Mol Cell Biol.* 2016; 8 (2): 101-109.

Rubina, K., Kalinina, N., Potekhina, A., Efimenko, A., Semina, E., Poliakov, A., Tkachuk, V. T-cadherin suppresses angiogenesis in vivo by inhibiting migration of endothelial cells. *Angiogenesis.* 2007; 10 (3): 183-195.

S J Pilkis, a., & Granner, D. K. Molecular physiology of the regulation of hepatic gluconeogenesis and glycolysis. *Annual Review of Physiology.* 1992; 54 (1): 885-909.

Saltiel, A. R., & Kahn, C. R. Insulin signalling and the regulation of glucose and lipid metabolism. *Nature.* 2001; 414 (6865): 799-806.

Sarbolouki, S., Javanbakht, M. H., Derakhshanian, H., Hosseinzadeh, P., Zareei, M., Hashemi, S. B., . . . Djalali, M. Eicosapentaenoic acid improves insulin sensitivity and blood sugar in overweight type 2 diabetes mellitus patients: A double-blind randomised clinical trial. *Singapore Med J.* 2013; 54 (7): 387-390.

Sato, A., Kawano, H., Notsu, T., Ohta, M., Nakakuki, M., Mizuguchi, K., Ogawa, Y. Antiobesity effect of eicosapentaenoic acid in high-fat/high-sucrose diet-induced obesity: Importance of hepatic lipogenesis. *Diabetes.* 2010; 59 (10): 2495-2504.

Scheen, A. J. Pathophysiology of type 2 diabetes. *Acta Clin Belg.* 2003; 58 (6): 335-341.

Sener, A., Zhang, Y., Louchami, K., Oguzhan, B., Courtois, P., Portois, L., Malaisse, W. J. Altered k⁺ fluxes and insulin release in pancreatic islets from omega3 fatty acid-depleted rats. *Endocrine.* 2006; 30 (2): 207-211.

Shimomura, I., Bashmakov, Y., Ikemoto, S., Horton, J. D., Brown, M. S., & Goldstein, J. L. Insulin selectively increases srebp-1c mrna in the livers of rats with streptozotocin-induced diabetes. *Proceedings of the National Academy of Sciences.* 1999; 96 (24): 13656-13661.

Shimomura, I., Hammer, R. E., Ikemoto, S., Brown, M. S., & Goldstein, J. L. Leptin reverses insulin resistance and diabetes mellitus in mice with congenital lipodystrophy. *Nature.* 1999; 401 (6748): 73-76.

Shoelson, S. E., Lee, J., & Goldfine, A. B. Inflammation and insulin resistance. *J Clin Invest.* 2006; 116 (7): 1793-1801.

Siriwardhana, N., Kalupahana, N. S., Cekanova, M., LeMieux, M., Greer, B., & Moustaid-Moussa, N. Modulation of adipose tissue inflammation by bioactive food compounds. *J Nutr Biochem.* 2013; 24 (4): 613-623.

Srinivasan, K., & Ramarao, P. Animal models in type 2 diabetes research: An overview. *Indian J Med Res.* 2007; 125 (3): 451-472.

Storlien, L. H., Kraegen, E. W., Chisholm, D. J., Ford, G. L., Bruce, D. G., & Pascoe, W. S. Fish oil prevents insulin resistance induced by high-fat feeding in rats. *Science.* 1987; 237 (4817): 885-888.

Takeichi, M. The cadherin superfamily in neuronal connections and interactions. *Nat Rev Neurosci.* 2007; 8 (1): 11-20.

Takeuchi, T., Adachi, Y., Ohtsuki, Y., & Furihata, M. Adiponectin receptors, with special focus on the role of the third receptor, t-cadherin, in vascular disease. *Med Mol Morphol.* 2007; 40 (3): 115-120.

Tasyurek, H. M., Altunbas, H. A., Balci, M. K., Griffith, T. S., & Sanlioglu, S. Therapeutic potential of lentivirus-mediated glucagon-like peptide-1 gene therapy for diabetes. *Hum Gene Ther.* 2018; 29 (7): 802-815.

Teng, M. S., Hsu, L. A., Wu, S., Sun, Y. C., Juan, S. H., & Ko, Y. L. Association of *cdh13* genotypes/haplotypes with circulating adiponectin levels, metabolic syndrome, and related metabolic phenotypes: The role of the suppression effect. *PLoS One.* 2015; 10 (4): e0122664.

Thompson, A. K., Minihaue, A. M., & Williams, C. M. Trans fatty acids, insulin resistance and diabetes. *Eur J Clin Nutr.* 2011; 65 (5): 553-564.

Thundyil, J., Pavlovski, D., Sobey, C. G., & Arumugam, T. V. Adiponectin receptor signalling in the brain. *Br J Pharmacol.* 2012; 165 (2): 313-327.

Tyrberg, B., Miles, P., Azizian, K. T., Denzel, M. S., Nieves, M. L., Monosov, E. Z., Ranscht, B. T-cadherin (*cdh13*) in association with pancreatic beta-cell granules contributes to second phase insulin secretion. *Islets.* 2011; 3 (6): 327-337.

Vargas-Bello-Perez, E., Zhao, W., Bionaz, M., Luo, J., & Loor, J. J. Nutrigenomic effect of saturated and unsaturated long chain fatty acids on lipid-related genes in goat mammary epithelial cells: What is the role of *pparg*? *Vet Sci.* 2019; 6 (2).

Vestal, D. J., & Ranscht, B. Glycosyl phosphatidylinositol--anchored t-cadherin mediates calcium-dependent, homophilic cell adhesion. *J Cell Biol.* 1992; 119 (2): 451-461.

Vigneri, P., Frasca, F., Sciacca, L., Pandini, G., & Vigneri, R. Diabetes and cancer. *Endocr Relat Cancer.* 2009; 16 (4): 1103-1123.

Vionnet, N., Hani, E. H., Dupont, S., Gallina, S., Francke, S., Dotte, S., Froguel, P. Genomewide search for type 2 diabetes-susceptibility genes in french whites: Evidence for a novel susceptibility locus for early-onset diabetes on chromosome 3q27-qter and independent replication of a type 2-diabetes locus on chromosome 1q21-q24. *Am J Hum Genet.* 2000; 67 (6): 1470-1480.

Wang, Y., Xu, A., Knight, C., Xu, L. Y., & Cooper, G. J. Hydroxylation and glycosylation of the four conserved lysine residues in the collagenous domain of adiponectin. Potential role in the modulation of its insulin-sensitizing activity. *J Biol Chem.* 2002; 277 (22): 19521-19529.

Weyer, C., Bogardus, C., & Pratley, R. E. Metabolic factors contributing to increased resting metabolic rate and decreased insulin-induced thermogenesis during the development of type 2 diabetes. *Diabetes.* 1999; 48 (8): 1607-1614.

Weyer, C., Funahashi, T., Tanaka, S., Hotta, K., Matsuzawa, Y., Pratley, R. E., & Tataranni, P. A. Hypoadiponectinemia in obesity and type 2 diabetes: Close association with insulin resistance and hyperinsulinemia. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001; 86 (5): 1930-1935.

Yamauchi, T., & Kadowaki, T. Adiponectin receptor as a key player in healthy longevity and obesity-related diseases. *Cell Metab.* 2013; 17 (2): 185-196.

Yamauchi, T., Kamon, J., Waki, H., Terauchi, Y., Kubota, N., Hara, K., Kadowaki, T. The fat-derived hormone adiponectin reverses insulin resistance associated with both lipodystrophy and obesity. *Nat Med.* 2001a; 7 (8): 941-946.

Yang, J., Niu, H., Huang, Y., & Yang, K. A systematic analysis of the relationship of *cdh13* promoter methylation and breast cancer risk and prognosis. *PLoS One.* 2016; 11 (5): e0149185.

Zhang, L. Y., Ding, L., Shi, H. H., Xu, J., Xue, C. H., Zhang, T. T., & Wang, Y. M. Eicosapentaenoic acid in the form of phospholipids exerts superior anti-atherosclerosis effects to its triglyceride form in *apoe(-/-)* mice. *Food Funct.* 2019; 10 (7): 4177-4188.

Zhang, W., Meng, J., Liu, Q., Makinde, E. A., Lin, Q., & Olatunji, O. J. *Shorea roxburghii* leaves extract ameliorates hyperglycemia induced abnormalities in high fat/fructose and streptozotocin induced diabetic rats. *Chem Biodivers.* 2020.

Zhang, Y., Oguzhan, B., Louchami, K., Chardigny, J. M., Portois, L., Carpentier, Y. A., Sener, A. Pancreatic islet function in omega-3 fatty acid-depleted rats: Alteration of calcium fluxes and calcium-dependent insulin release. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2006; 291 (3): E441-448.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	Zeynep	Uyruğu	T.C.
Soyadı	Avcil	Tel No	90-242-2274343-6889
Doğum Tarihi	07.03.1984	e-posta	zeynepavcil@gmail.com

Eğitim Bilgileri

Mezun olduğu kurum		Mezuniyet yılı
Lise	Karatay Lisesi	2005
Lisans	Adnan Menderes Üniversitesi	2011
Yüksek Lisans	Akdeniz Üniversitesi	2014
Doktora	Akdeniz üniversitesi	2020

İş Deneyimi

Görevi	Kurum	Süre (ay-yıl)
Araştırma Görevlisi	Akdeniz Üniversitesi	9 yıl
Stajyer	Paris Sud University	2 ay

Yabancı Dilleri	Sınav türü	Puanı
İngilizce	ÜDS	80

Proje Deneyimi

Proje Adı	Destekleyen kurum	Süre (Yıl-Yıl)
Glucocorticoid exposure altered angiogenic factor expression via Akt/mTOR pathway in rat placenta	BAP	2
Diyabetik Sıçanların Plasental Gelişiminde Adiponektinin Rolü	BAP	2

Burslar-Ödüller:

Kongre Katılım Bursları

1. 43. FEBS kongresi, Prag, Temmuz 2018
2. 41. FEBS kongresi, Kuşadası, Aydın, Eylül 2016
3. 27. Biyokimya kongresi, Antalya, Kasım 2015
4. IFCC-worldLab İstanbul 2014 kongresi, İstanbul, Haziran 2014
5. 25. Uluslararası Biyokimya Kongresi, İzmir, Eylül 2013

Yayınlar ve Bildiriler:

1. Ozmen A., Unek G., Kipmen-Korgun D., Çetinkaya B., Avcil Z., Korgun E.T., "Glucocorticoid exposure altered angiogenic factor expression via Akt/mTOR pathway in rat placenta.", ANNALS OF ANATOMY-ANATOMISCHER ANZEIGER, vol.198, pp.34-40, 2015
2. Avcil Z., Hanikoğlu A., Korgun E.T., Kipmen-Korgun D., 'The role of Adiponectin in streptozocin induced diabetic rat placental development', 43. FEBS kongresi, Prague/Czech Republic, 7-12 Temmuz 2018, pp. 1-1
3. Avcil Z., Öztürk O.H., Eken C., Özcan F., Aydın Aslan M., "Mass spectrometric detection of collagen alpha-1 (III) chain nitration in patients with acute pulmonary embolism", The 41st FEBS CONGRESS, Aydın/TÜRKİYE, 3-8 Eylül 2016, vol.283, pp.364-364
4. Avcil Z., Hanikoğlu A., Ünek G., Özmen A., Korgun E.T., Kipmen Korgun D., "Diyabetik rat plasentasında adiponektin ve PPAR'lar", 27. Ulusal Biyokimya Kongresi, Antalya/TÜRKİYE, 3-6 Kasım 2015, cilt.40, ss.1-1
5. Cetin A., Kirça M., Uzuner F., Avcil Z., Yeşilkaya A., Öztürk O.H., "High glucose enhances the proliferation of vascular smooth muscle cells and angiotensin II-induced p44/42 MAPK and p38 MAPK phosphorylations", 23rd meeting of the balkan clinical laboratory federation, Saraybosna, Bosna Hersek, 7-9 Ekim 2015, vol. XXII, no.1, pp.34-35
6. Avcil Z., Hanikoğlu A., Unek G., Ozmen A., korgun E.T., Kipmen korgun D., "Expression of Adiponectin and its receptors in diabetic rat placenta", IFCC WorldLab Istanbul 2014 – Istanbul, 22-26 June 2014, İstanbul/TÜRKİYE, 22-26 Haziran 2014, pp.1-1
7. Korgun E.T., Özmen A., Ünek G., Kipmen Korgun D., Avcil Z., Mendilcioğlu İ.İ., "Adverse glucocorticoid effect on angiogenesis is associated with Akt/mTOR pathway in vitro", FEBS EMBO 2014 Conference, Paris/France, 30 Ağustos- 4 Eylül 2014, vol.281, pp.317-317
8. Kipmen Korgun D., Erdoğan A., Avcil Z., Ünek G., Özmen A., Korgun E.T., "The Role Of Adiponectin In Dexamethasone Induced Intrauterine Growth Restricted Rat Placental Development", FEBS EMBO Conference, Paris/France, 30 Ağustos- 4 Eylül 2014, pp.337-337

9. Özmen A., Ünek G., Kipmen Korgun D., Avcil Z., Mendilcioğlu İ.İ., Korgun E.T., "Normal Ve Diyabetik Sıcan Plasenta Gelisiminde Akt Ve Erk1/2 Proteinlerinin Rolu", XI. Ulusal Histoloji ve Embriyoloji Kongresi, Denizli/TÜRKİYE, 16-19 Mayıs 2012, ss.1-1

