NESRİN SAİTOĞULLARI

İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ CERRAHPAŞA
LİSANS ÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ 2019

İSTANBUL-2019

Adınızı soyadınızı giriniz

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

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

Tez Sınavının yapılacağı yılı yazınız

T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ-CERRAHPAŞA
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

PREDİYABETİK HASTALARDA SERUM ZONULİN DÜZEYİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

NESRİN SAİTOĞULLARI

DANIŞMAN
PROF.DR.HAFİZE UZUN

TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI
BİYOKİMYA PROGRAMI

İSTANBUL-2019

Bu çalışma 04.07.2019 Tarihinde aşağıdaki jüri tarafından
Biyokimya Anabilim Dalı, Biyokimya Tezli Yüksek Lisans Programı Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

TEZ JÜRİSİ

Prof. Dr. Hafize UZUN
İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa
Cerrahpaşa Tıp Fakültesi

Prof. Dr. Pınar ATUKEREN
İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa
Cerrahpaşa Tıp Fakültesi

Doç. Dr. Volkan SÖZER
Yıldız Teknik Üniversitesi
Fen Edebiyat Fakültesi

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 olmadığı beyan ederim.

Nesrin Saitoğulları



İTHAF

Aileme ithaf ediyorum

TEŞEKKÜR

Tezimin planlanmasından yazımına kadar her aşamasında büyük emeği geçen değerli hocam Prof. Dr.Hafize Uzun'a

Çalışmam süresince labaratuar imkânlarından faydalanmama olanak sağlayan bilgisini ve tecrübesini esirgemeyen değerli hocalarım Prof. Dr.Dildar Konukoğlu, Prof. Dr.Murat Bolayırlı ve Doç.Dr. Esma Gül Altunoğlu'na

Vaka toplamamda büyük emeği ve desteği olan Jermin Benlioğlu'na,

Tez parametrelerinin çalışılmasında büyük emeği ve desteği olan Selva Kaplanoğlu'na

İstatistik analizlerinde büyük destek sağlayan Dr.Uğurcan Sayılı'ya

Çalışmam boyunca manen beni destekleyen ve şevklendiren arkadaşım Dr.Dilek Sever Kaya 'ya

Bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım ve bana desteğini esirgemeyen yengem Doç.Dr. Burcu Hüseyinsinoğlu Ersöz'e

Çalışmaya katılan tüm gönüllülere,

Koşulsuz sevgi ve desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen sevgili annem, babam ve tüm aileme

Hayatı benim için anlamlandıran ve bu süreçte manevi desteklerini esirgemeyen eşim İsmail, kızım Zeynep ve oğlum Ali Özgür'e teşekkür ederim

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No:33242

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI ..... İİ
BEYAN ..... İİİ
İTHAF ..... İV
TEŞEKKÜR V
İÇİNDEKİLER ..... Vİİ
TABLOLAR LİSTESİ ..... İX
ŞEKİLLER LİSTESİ X
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ ..... Xİİ
ÖZET ..... Xİİİ
ABSTRACT ..... XİV
1. GİRİŞ VE AMAÇ 1
2. GENEL BİLGİLER 3
2.1.Diyabetes Mellitus 3
2.1.1. Tanımı 3
2.1.2. Epidemiyoloji 3
2.1.3. Sınıflandırma 3
2.1.3.1.Tip 1 Diyabet 4
2.1.3.2. Tip 2 diyabet 4
2.1.3.3. Gestasyonel Diyabet 4
2.1.3.4. Diğer Spesifik Diyabet Tipleri 4
2.1.4. Tanı Kriterleri 5
2.2 Prediyabet 6
2.2.1 Prediyabetin Tanımı ve risk faktörleri 6
2.2.2.Prediyabetin Tanı Kriterleri 7
2.2.3 Prediyabetin Epidemiyolojisi 7
2.2.3.Prediyabetin patogenezi 8
2.3. Bağırsak Geçirgenliği 9
2.3.1. Sıkı Bağlantılar 11
2.4. Zonulin 12
2.4.1 Zonulin sinyali 12

2.4.2.Spesifik Hastalıklarda Zonulinin Rolu……...15
2.5. DM, Zonulin, LPS……16
3. GEREÇ VE YÖNTEM……18
3.1 Çalışma Olgularının Temini……..18
3.2. Örneklerin Alınması ve Çalışılan Parametreler……18
3.3. Çalışma Gruplarının Oluşturulması……..18
3.4.Çalışmadan Dışlanma Kriterleri……19
3.5. Kullanılan araç ve gereçler……...20
3.6.Yöntemler……..20
3.6.1.Serum Zonulin Düzeyi Tayini……20
3.6.1.1Yöntemin Prensibi……20
3.6.1.2.Kullanılan Ayraçlar……..20
3.6.1.3.Testin Yapılışı……..21
3.6.2. Serum LPS Düzeyi Tayini……22
3.6.2.1.Yöntemin Prensibi……22
3.6.2.2 Kullanılan ayraçlar…… 22
3.6.2.3 Testin yapılışı……...23
3.6.3 Rutin Testlerin Analizi……...24
3.6.4.İstatistiksel Yöntem……24
4. BULGULAR.....25
4.1.Tanımlayıcı özellikler ve genel laboratuvar parametreleri……25
4.2.Korelasyon analizleri……32
4.3. Lojistik regresyon analizi……40
5. TARTIŞMA.....43
KAYNAKLAR.....49
ETİK KURUL KARARI.....61
İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI.....62
ÖZGEÇMİŞ.....63

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 2-1: DM tanı kriterleri

Tablo 2-2: Prediyabet tanı kriterleri

Tablo 2-3: Zonulinin ilişkili olduğu kronik inflamatuar hastalıklar

Tablo 4-1: Kontrol ve hasta gruplarının genel özellikleri ve rutin laboratuar sonuçları

Tablo 4-2: Kontrol ve hasta gruplarına ait zonulin ve lipopolisakkarid değerleri

Tablo 4-3: Kontrol, T2DM ve prediyabet alt grupları genel özellikleri ve rutin laboratuvar sonuçları

Tablo 4-4: Kontrol T2DM ve Prediyabet alt grupları zonulin ve lipopolisakkarid değerleri

Tablo 4-5:Normal ve prediabetik grubun zonulin ile lojistik regresyon analizi sonuçları

Tablo 4-6: Normal ve prediabetik grubun LPS ile lojistik regresyon analizi sonuçları

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1: Bozulmuş bağırsak bariyeri

Şekil 2.2: Sıkı bağlantıların (TJ) şematik yapısı

Şekil 2.3: Zonulinin hücre içi sinyalizasyonu

Şekil 2.5:Zonulin, lipopolisakkarid, inflamatuar belirteçler ve insulin direnci ile bağlantı mekanizmaları

Şekil 3.1: Zonulin standart eğrisi

Şekil 3.2: Lipopolisakkarid standart eğrisi

Şekil 4.1: Normal, prediyabet, diyabet gruplarının zonulin açlık ortalama ve %95 güven aralıklarının box plot grafiği

Şekil 4.2: Normal ve prediyabet gruplarında zonulin 2.saat ortalama ve %95 güven aralıklarının box plot grafiği

Şekil 4.3: Normal, prediyabet, diyabet gruplarının lps açlık ortalama ve %95 güven aralıklarının box plot grafiği

Şekil 4.4: Normal ve prediabet gruplarının lipopolisakkarid 2.saat ortalama ve %95 güven aralıklarının box plot grafiği

Şekil 4.5: Tüm çalışma gruplarında zonulin açlık ve 2.saat değerleri arasındaki korelasyon grafiği

Şekil 4.6: Tüm çalışma gruplarında açlık zonulin ve açlık lipopolisakkarid değerleri arasındaki korelasyon grafiği

Şekil 4.7: Tüm çalışma gruplarında açlık zonulin ve 2.saat lipopolisakkarid değerleri arasındaki korelasyon grafiği

Şekil 4.8: Tüm çalışma gruplarında zonulin 2.saat ile açlık lipopolisakkarid değerleri arasındaki korelasyon grafiği

Şekil 4.9: Tüm çalışma gruplarında zonulin 2.saat ile lipopolisakkarid 2. saat değerleri arasındaki korelasyon grafiği

Şekil 4.10: Tüm çalışma gruplarında açlık lipopolisakkarid ile 2. saat lipopolisakkarid değerleri arasındaki korelasyon grafiği

Şekil 4.11: Prediyabetik grupta zonulin açlık ve 2.saat değerleri arasındaki korelasyon grafiği

Şekil 4.12: Prediyabetik grupta zonulin açlık ve lipopolisakkarid açlık değerleri arasındaki korelasyon grafiği

Şekil 4.13: Prediyabetik grupta zonulin açlık ve lipopolisakkarid 2.saat değerleri arasındaki korelasyon grafiği
Şekil 4.14: Prediyabetik grupta zonulin 2.saat ve lipopolisakkarid açlık değerleri arasındaki korelasyon grafiği
Şekil 4.15: Prediyabetik grupta zonulin 2.saat ve lipopolisakkarid 2.saat değerleri arasındaki korelasyon grafiği
Şekil 4.16: Prediyabetik grupta lipopolisakkarid açlık ve lipopolisakkarid 2.saat değerleri arasındaki korelasyon grafiği
Şekil 4.17: Diyabet grubunda zonulin açlık ve lipopolisakkarid açlık değerleri arasındaki korelasyon grafiği

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

ADA: Amerikan Diyabet Cemiyeti

APG: Açlık plazma glukozu

BAG: Bozulmuş açlık glukozu

BAM: Bağlantı adezyon molekülleri

BGT: Bozulmuş glukoz toleransı

DM: Diabetes mellitus

ELISA :’’Enzim Linked İmmunabsorbent Assay’’ Enzim-işaretli İmmün Yöntem

GDM: Gestasyonel diabetes mellitus

HbA1c: Glikozillenmiş hemoglobin A1c

HOMA-IR: Homeostasis Model Assessment of Insulin Resistance

İD: İnsülin Direnci

LPS: Lipopolisakkarid

OGTT: Oral glukoz tolerans testi

Pre-HP: Haptoglobin

PG: Plazma glukozu

PKOS: Polikistik over sendromu

T1DM: Tip 1 diabetes mellitus

T2DM: Tip 2 diabetes mellitus

TJ :’’Tight Junctions’’ Sıkı Bağlantılar

TURDEP: Türkiye diyabet epidemiyoloji projesi

VKİ: Vücut kitle indeksi

WHO: Dünya Sağlık Örgütü

ZO: Zonula Okludin

Zot: Zonula tıkayıcı toksin

ÖZET

SAİTOĞULLARI, N. Prediyabetik hastalarda serum zonulin düzeyinin değerlendirilmesi. İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Lisansüstü Eğitim Enstitüsü,Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı. Yüksek Lisans İstanbul.2019

Amaç: Çalışmamızın amacı, prediyabetik hastalarda zonulin ve lipopolisakkarid (LPS) düzeylerinin ilişkisinin incelenmesi ve oral glukoz yüklemesi ile oluşturulan akut hiperglisemik stresin bağırsak geçirgenliğinin göstergesi olarak zonulin düzeyleri üzerine etkisinin araştırılmasıdır.

Gereç ve yöntem: Amerikan Diyabet Derneği (ADA) kriterlerine göre; oral glukoz tolerans testi (OGTT) sonuçları baz alınarak kontrol (n:40), prediyabet grup (n: 56) olarak bozulmuş açlık glukozu (BAG) (n: 36) / bozulmuş glukoz toleransı (BGT)+BAG (n: 20) ve tip 2 diabetes mellitus (T2DM) (n: 45) grupları oluşturuldu. Oral glukoz yüklemesinden önce ve yüklemenin ikinci saatinde alınan kan örneklerinde zonulin ve LPS düzeyleri ELISA yöntemi ile belirlendi. İstatistiksel anlamlılık $p<0,05$ olarak değerlendirildi.

Bulgular:Serum zonulin ve LPS bazal değerleri açısından kontrol ve prediyabet grupları arasında anlamlı farklılık saptanmaz iken T2DM grubunda hem kontrol hem de prediyabet grubuna göre anlamlı yüksek bulundu ($p<0,001$). Glukoz yüklemesi sonrasında prediyabet grubunda kontrol grubuna göre zonulin ve LPS düzeyleri (sırasıyla $p<0,01$, $p<0,05$) anlamlı olarak arttı. Glukoz yüklemesi sonrasında BAG ve BGT+BAG grubunda, T2DM grubuna, göre zonulin ve LPS düzeyleri (sırasıyla $p<0,001$, $p<0,001$; $p<0,001$, $p<0,001$) anlamlı olarak düşük bulundu. Prediyabetiklerde açlık zonulin düzeyleri ile 2. saat zonulin ($r=0,727$, $p<0,001$), açlık LPS ($r=0,555$, $p<0,001$) ve 2.saat LPS ($r=0,567$, $p<0,001$) arasında pozitif korelasyon saptandı.

Sonuç: Çalışmamızın sonuçları prediyabetik dönemde zonulin ve LPS düzeylerinin yükselmesinin ve aralarındaki korelasyonun bağırsak geçirgenliğinin başladığını ancak istatistiksel olarak değişmediğini düşündürmektedir. Akut hiperglisemi ise prediyabetik kişilerde zonulin ve LPS up-regülasyonunun bağırsak fonksiyonlarını etkileyebileceği görüşüne vardık. Sonuçlarımız aynı zamanda bağırsakların glukoz regülasyonunda ve diyabet patogenezinde anahtar rol oynayabileceğini göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Prediyabet, diabetes mellitus, bağırsak geçirgenliği, zonulin, lipopolisakkarid

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 33242

ABSTRACT

SAİTOĞULLARI, N. Evaluation of serum zonulin levels in prediabetic patients. İstanbul University-Cerrahpasa, Institute of Graduate Studies, Department of Medical Biochemistry, GraduateThesis. Istanbul.2019.

Purpose: The purpose of this study is to investigate the relationship between lipopolysaccharide (LPS) and zonulin levels and also to show the effect of acute hyperglycemic stress through oral glucose tolerance testing on zonulin levels as an indicator of intestinal permeability in pre-diabetic patients.

Material and Methods: Four groups have been constituted in according to criteria of American Diabetes Association (ADA) by taking oral glucose tolerance test results: control group (n:40), prediabetic group (n:56) which is divided into two subgroups of impaired fasting glucose group (IFG) (n:36)/ impaired glucose tolerance (IGT) + IFG (n:20) and lastly type 2 diabetes mellitus (T2DM) (n:45) group. The blood samples which obtained before the OGTT and blood samples obtained 2 hour after the the test were analyzed for serum zonulin and LPS levels via using ELISA. Statistical significance was evaluated to be $p<0.05$.

Results: Serum zonulin and LPS levels were not significantly different between prediabetes and control group. On the contrary, the zonulin and LPS levels were found to be significantly higher in T2DM group compared to both prediabetic and control group ($p<0.001$). After glucose challange test, zonulin and LPS levels were significantly higher in prediabetes group compared to control group ($p<0.01$ and $p<0.05$, respectively). After glucose challenge test, the zonulin and LPS levels were significantly lower IFG and IFG+IGT groups compared to T2DM group ($p<0,001$, $p<0,001$ and $p<0,001$, $p<0,001$; respectively). A positive correlation was detected between fasting zonulin levels and 2 hour zonulin ($r=0,727$, $p<0,001$), fasting LPS ($r=0,555$, $p<0,001$) and 2 hour LPS levels ($r=0,567$, $p<0,001$) in prediabetic group.

Conclusion: The results of increase in zonulin and LPS levels and the positive correlation between these levels during prediabetic period contemplates that the intestinal permeability has started however statistically has not changed. It was deduced that during acute hyperglycemia and on prediabetic patients, the up-regulation of zonulin and LPS level might affect intestinal functions. Our study also indicates that the intestines might play a key role in upregulation of glucose and pathogenesis of diabetes.

Key words: Prediabetes, diabetes mellitus, intestinal permeability, zonulin, lipopolysaccharide

The present work was supported by the Research Fund of Istanbul University. Project No. 33242

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Prediabet, kan glukoz düzeylerinin normalden daha yüksek olmasına rağmen diyabet tanı sınırlarına ulaşmadığı durumlardır. Prediyabet, prediyabet sınırlarındaki kan şekeri düzeylerinin artmış kardiyovasküler risk ve total mortalite ile ilişkili olması nedeniyle önemlidir [1,2]. Tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de prediyabet önemli bir halk sağlığı sorunudur. Aşikâr tip 2 diabetes mellitus (T2DM)'un gelişimi için yüksek riskli bir durumu temsil ettiğinden, prediyabetin taranması ve teşhisi önerilmektedir. Son zamanlarda yapılan bir meta-analiz, prediyabetli bireylerde Amerikan Diyabet Derneği (ADA) tanımına göre diyabet için yıllık ilerleme oranının % 3,5-7,0 olduğunu (normoglisemik olanlara karşılık % 2/yıl olarak) [3], kombine bozulmuş açlık glukozu (BAG) ve bozulmuş glukoz toleransı (BGT)'li hastalarda en yüksek oranlara sahip olduğunu ve BAG olanlarda en düşük oranlarda olduğunu göstermiştir [4].

Bağırsak geçirgenliği artışını gösteren önemli bir biyobelirteç olan zonulin, bağırsak epitelinde modülasyonu ve ‘’sıkı bağlantılar’’ (tight junctions (TJ)) arasında geçirgenliği modüle eden bir proteindir. Son yıllarda bağırsakların gıda alımı ve parçalanması haricinde, mukoza bariyerinden çevresel antijenlerin girişini sağlamak gibi bir rolünün olduğu çeşitli çalışmalarla bildirilmiştir [5]. Bağırsakta bulunan sıkı bağlantılar özellikle makromoleküllerin parasellüler geçişinden sorumlu olduğu için kendinden olmayan antijenlere karşı, tolerans ve immun cevap arasındaki dengeyi sağlamaktadır [6]. Zonulin, sıkı bağlantıları modüle ederek bağırsak geçirgenliğini geri dönüşümlü olarak düzenleyen bir proteindir. İnce bağırsaklarda bakterilere maruziyet ve glutene maruziyet zonulin salınımını tetikleyen faktörler arasında tespit edilmiştir [5]. 2000 yıldan daha önce, Hipokrat - modern tıbbın babası - tüm hastalıkların bağırsakta başladığını ileri sürdü. Ancak bu hastalıkların bağırsaklarda lokalize olmayıp diğer organlarda da oluşabileceği dikkat çekicidir [7].

Zonulin’in, otoimmun (Çölyak hastalığı, T1DM, inflamatuar bağırsak hastalığı/kolit, multipl skleroz/deneysel otoimmün ensefalomyelit), metabolik bozukluklar (obezite/insülin direnci, T2DM, polikistik over sendromu), akciğer hastalığı (akut akciğer yaralanması, astım), kalp hastalığı (koroner arter hastalığı), nörolojik hastalıklar (Glioma), sistemik infeksiyon hastalıkları (septisemi, HIV), bağırsak

hastalıkları (iritabl bağırsak sendromu, Çölyak olmayan glüten duyarlılığı, çevresel enteropati, nekrotizan enterokolit) gibi birçok kronik inflamatuar hastalıkta rolü olduğu bildirilmiştir [8]. Bozulmuş bağırsak bariyer fonksiyonu ve yüksek zonulin düzeylerinin, vücut kitle indeksin (VKİ)'den bağımsız olarak insülin direnci (İD) [9] ve T2DM [10] ile ilişkili olduğu saptanmıştır.

Klinik çalışmalar, zonulin düzeylerinin, bağırsak geçirgenliği için "altın standart" sayılan laktuloz-mannitol testi ile güçlü bir şekilde korele olduğunu göstermiştir [11,12]. Zonulin bu nedenle, bozulmuş bağırsak bariyer fonksiyonunun önemli bir biyolojik belirleyicisidir.

Zonulin başta karaciğer olmak üzere bağırsak, yağ dokusu, beyin, kalp, akciğer, böbrek ve deriden de sekrete edilmektedir [13,14]. Bu nedenle orjinin bağırsak olup olmadığının gösterilmesi önemlidir. Lipopolisakarit (LPS), Gram-negatif bakterilerin dış zarında yer alan endotoksik bir moleküldür. LPS, bağırsak mukozası bağışıklık sistemini ve mukozal bariyeri bozarak "sızdıran bağırsak (Geçirgen Bağırsak Sendromu)" oluşturarak inflamatuar yolları ve sistemik bağışıklığı aktive eder [15-17]. Bakterilerin veya LPS gibi bakteriyel ürünlerin dolaşıma geçmesi karaciğerde inflamasyona yol açarak, karaciğer yağlanması, T2DM ve kardiyovasküler hastalık gibi birçok metabolik koşulda nedensel bir rol oynar [18]. Serum zonulin düzeyi, bağırsak dışı dokulardan da salındığı için, bağırsak geçirgenliğini değerlendirirken serumda zonülün ile birlikte LPS düzeylerinin ölçülmesi daha da yararlı olabilir.

Bununla birlikte, literatürde prediabet ile zonulin arasındaki ilişki konusunda bilgi eksikliği bulunmaktadır. Bildiğimiz kadarıyla, prediabetik hastalarda dolaşımdaki zonulin konsantrasyonunu (bağırsak geçirgenliğinin bir belirteci ve modülatörü) ilişkilendiren ilk çalışmadır.

Çalışmanın başlıca amacı oral glukoz tolerans testi (OGTT) yapılmış olup ADA kriterlerine göre BAG ve BGT gelişen hastalar ile diyabetik glukoz toleransı (T2DM) olan gruplarda bağırsak geçirgenliğinin göstergesi olarak zonulin düzeylerini değerlendirmektir. Zonulin bağırsak dışındaki dokulardan da sekrete edildiğinden orjininin bağırsak olup olmadığını göstermesi açısından aynı örneklerde LPS düzeylerinide değerlendirmeyi amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Diabetes Mellitus

2.1.1.Tanımı

Diabetes mellitus (DM), temelinde genetik yatkınlık olup, çevresel faktörlerin ve yaşam tarzı değişikliklerinin birbiriyle etkileşimi sonucu insülin etkisi, insülin salgılanması veya her ikisinde oluşmuş kusurlardan kaynaklanan glukoz yüksekliği ile karakterize bir metabolik hastalıktır[19,20].

DM, ciddi ve ilerleyici bir hastalık olmasıyla birlikte, kontrol altına alınmadığında akut ve kronik komplikasyonlara sebep olup morbidite ve mortalite artışına yol açar. Bu durum hem bireysel hem de toplumsal sağlık sorunları olarak karşımıza çıkmaktadır. [20,21]. Birçok ülkede ölüme sebep olan başlıca hastalıklar içinde yer alan diyabetin etiyolojisi çok karmaşıktır ve hala tüm yönleriyle açıklanamamıştır [22,23].

2.1.2.Epidemiyoloji

Dünyada diyabet sıklığı hızla artmakta ve bu artışla birlikte diyabette gelişen komplikasyonlardan dolayı her yıl 3 milyon insan hayatını kaybetmektedir [24]. Yapılan istatiksel çalışmalarda 2000 yılında 171 milyona ulaşan diyabetli hasta sayısı 2007'de 246 milyon, 2010'da 285 milyon, 2017'de 425 milyona yükselmiş ve bu rakamın 2045 yılında 629 milyona çıkacağı tahmin edilmektedir [25,26].

Türkiye'de 1997-1998 yıllarında yapılan ''Türkiye Diyabet Epidemiyoloji Projesi'nin (TURDEP-1) sonuçlarına göre diyabet sıklığı % 7,2 iken, 2010 yılında yapılan TURDEP-2 çalışmasında bu oran %13,72'ye yükselmiştir [27-29].

2.1.3. Sınıflandırma

Diyabet klinik olarak dört sınıfta incelenmektedir.

a) Tip 1 diabetes mellitus
b) Tip 2 diabetes mellitus
c) Gestasyonel diabetes mellitus
d) Diğer spesifik diyabet tipleri

2.1.3.1. Tip 1 Diyabet

Tip 1 diabetes mellitus (T1DM), pankreasta beta hücrelerinin yıkımına bağlı mutlak insülin yetersizliği ile karakterize olan diyabet tipidir. Otoimmün bir hastalık olan T1DM genellikle 35 yaş altında ortaya çıkmakta olup en sık görüldüğü yaş aralığı 10-15 yaş olarak belirlenmiştir. Tüm diyabet hastaları arasında görülme oranı yaklaşık %5-10'dur. Patogenezinde mutlak insülin yetersizliği olduğundan tedavide mutlaka insülin kullanılmalıdır [30,31].

2.1.3.2. Tip 2 diyabet

T2DM, erişkin bireylerde görülen en yaygın metabolik hastalıktır. Genetik yatkınlığı olan bireylerde çevresel faktörlerin etkisiyle başlayıp, patogenezinde İD, pankreasın beta hücrelerinde fonksiyon bozukluğu ve karaciğer glukoz üretimi artışı olarak sıralayabileceğimiz üç temel metabolik bozukluk mevcuttur. Obezite ile İD arasında mutlak bir ilişki olmakla birlikte T2DM hastalarının %80'inden fazlası obezdir. Stres, düzensiz ve dengesiz beslenme, fiziksel aktivite azlığı gibi yaşam tarzından kaynaklanan faktörlerin T2DM'nin ortaya çıkışını hızlandırdığı kabul edilmektedir [30,32-35]. Esas bozukluk her ne kadar anormal karbonhidrat metabolizması olsa da klinik tabloya protein ve yağ metabolizması bozuklukları da eklenmektedir. İlerleyen dönemlerde böbrek, göz, sinirler, kalp ve damarlarda disfonksiyona bağlı hasar ve yetmezlikler gelişebilir [36,37].

2.1.3.3. Gestasyonel diabetes mellitus

Gestasyonel diabetes mellitus (GDM), başlangıcı ya da ilk tanısı gebelik sırasında olup değişik derecelerdeki glukoz intolerası olarak tanımlanır [38]. Gebelik sonrası dönemde GDM'lu kadınların T2DM olma olasılığı yüksek olup, 10-20 yıl içerisinde BGT veya T2DM gelişme riski %30-40 arasındadır [33,38].

2.1.3.4. Diğer Spesifik Diyabet Tipleri

Birçok nedenden kaynaklanıp pankreası etkileyerek ortaya çıkan kan glukozu yüksekliğini tanımlar. Bunlar nadir diyabet formlarıdır ve diyabetlilerin %1'den azını oluştururlar [39].

a. Beta-hücre fonksiyonlarının genetik defektleri (monogenik diyabet formları)
b. Ekzokrin pankreas doku hastalıkları: Kistik Fibrozis, pankreatit, travma vs.

c. İnsülin etkisindeki genetik defektler: Tip A insülin direnci vs.
d. İlaç veya kimyasal ajanlar: Antiviral ilaçlar, tiroid hormonu vs.
e. Endokrin bozukluklar: Akromegali, Cushing Sendromu, hipertiroidizm vs.
f. İmmun aracılıklı nadir diyabet formları: Antinsülin reseptör antikorları vs.
g. İnfeksiyonlar: Konjenital Rubella vs.
h. Diyabetle ilişkili genetik sendromlar: Down, Klinefelter sendromları vs.

Dünyada tanı alan diyabet olgularının %90-95'ini T2DM, %5-10'unu T1DM ve %2-3'ünü ise diğer diyabet tipleri oluşturmaktadır. Gelişmiş ülkelerde toplumun %5-%10'u T2DM'dir [40]. En fazla diyabetlinin bulunduğu yaş aralığı 40-59 olup, bu grup tüm diyabetlilerin %46'sını kapsamaktadır [42].

2.1.4. Tanı Kriterleri

T2DM tanısında kullanılan testler; açlık plazma glukozu (APG), 75 gr.'lık OGTT sırasında ölçülen 2.saat plazma glukozu ve glikozillenmiş hemoglobin A1c (HbA1c)'dir [41]. Bu testlerden biri ile tanı konmadan önce test muhakkak tekrarlanmalı ya da diğer bir testle doğrulanmalıdır [42,43]. T2DM tanı kriterleri aşağıda özetlenmiş ve tablo 2.1'de gösterilmiştir [41-43]

- APG'nun peş peşe en az iki ölçümünde 126 mg/dL ya da üzerinde olması
- Günün herhangi bir zamanında açlık ve tokluk durumuna bakılmaksızın venöz plazmada ölçülen kan glukozunun 200 mg/dL'nın üzerinde olması ve bununla birlikte polidipsi, poliüri, polifaji, kilo kaybı vb. diyabet semptomlarının varlığı
- OGTT nin 2. saatinde kan glukoz düzeyinin 200 mg/dL ya da üzerinde olması
- HbA_{1c}'nin ≥ %6,5 ya da ≥48 mmol/mol olması şeklinde dört farklı yöntemden biri ile DM tanısı konulabilir.

Tablo 2-1: DM tanı kriterleri

	Plazma glukoz değerleri
Açlık plazma glukozu	≥ 126 mg/dL
Rastlantısal plazma glukozu	≥ 200 mg/dL + Diyabet belirtileri
OGTT'nin 2. saatindeki plazma glukozu	≥ 200 mg/dL
HbA1c	≥ 6,5 %

Kan şekeri ölçümünde referans yöntem olarak venöz plazmada glukozoksidaz yöntemi kullanılmalıdır. APG ölçümü en az 8 saat süren gece boyu açlığı sonrası

yapılmalıdır. APG düzeyinin ölçülmesi hala en fazla kabul gören ve pahalı olmayan yaklaşımdır. Rastlantısal plazma glukozu, aç tok olduğuna bakılmaksızın günün herhangi bir saatinde ölçülebilir. OGTT, 75 g oral glukoz alımı ile yapılmalıdır. HbA1c ölçümü uluslararası standardize edilmiş yöntemlerle yapılırsa tanı testi olarak kullanılabilir.

2.2 Prediyabet

2.2.1 Prediyabetin tanımı ve risk faktörleri

Prediyabet, kan glukoz düzeyinin normalden yüksek olmasına karşın diyabet tanısı için gerekli eşik değerin üstünde olmaması durumudur [44].

Aşağıda sıralanan durumlar prediyabet ve diyabet için risk faktörleri olarak tanımlanmaktadır [45].

- Yaş > 45
- VKİ ≥ 25 kg/m² olması
- Birinci derece akrabalarda T2DM öyküsü
- GDM öyküsü
- Hipertansiyon (>140/90 mmHg ya da hipertansiyon tedavisi)
- HDL<35 mg/dL ADA'ya göre; LDL≥130mg/dL, HDL ≤ 35 mg/dL erkekte, HDL≤ 45mg/dL kadında ve/veya trigliserid (TG)>250 mg/dL olması
- Polikistik over sendromu (PKOS)
- DM prevalansı yüksek etnik gruplara mensup olmak
- İD ile ilgili diğer sağlık sorunları (örn. ciddi obezite, metabolik sendrom).
- Önceki testlerde BAG veya BGT saptanması

Yukarıdaki faktörlerden yaş veya VKİ ile birlikte diğer faktörlerden herhangi birinin bulunması prediyabetin OGTT ile taranması için yeterlidir. Bu risklerin bulunmaması halinde 45 yaşına kadar prediyabet ya da DM olasılığı çok azdır. Sonuçların normal çıkması durumunda 3'er yıl arayla tekrarlanması gerekmektedir [46,47].

2.2.2.Prediyabetin Tanı Kriterleri

ADA, prediyabetik hastaları BAG ve BGT olarak sınıflandırmıştır. APG'nun 100-125 mg/dL arasında olması BAG; 75 gr glukoz ile yapılan OGTT'de glukoz yüklemesini

izleyen 2.saat plazma glukoz (PG)'nun 140-199 mg/dL arasında olması BGT olarak tanımlanmaktadır [41]. Dünya Sağlık Örgütü (WHO) ve diğer bazı kuruluşlar ise BAG için PG konsantrasyonu cut-off değerini 110-125 mg/dL olarak kabul etmektedir. BAG ve BGT izole olarak görülebileceği gibi, bir arada da görülebilmektedir. Kombine BAG+BGT durumunda APG 100-125 mg/dL arasında ve 2.saat PG da 140-199 mg/dL arasındadır [48]. Son yıllarda, standart bir yöntem ile ölçülmüş HbA1c değerleri % 5,7- 6,4 olan bireyler ADA tarafından ''yüksek riskli'' olarak değerlendirilmiş ve prediyabet sınıflamasına dahil edilmiştir [41].

Prediyabet tanısı, APG, 75 gr glukoz ile yapılan OGTT ve HbA1c testleri ile konulmaktadır. ADA tarafından belirlenen güncel prediyabet tanı kriterleri Tablo 2.2'de gösterilmiştir [41,48]

Tablo 2-2.Prediyabet tanı kriterleri

	BAG	**BGT**	**BAG +BGT**	**DM için yüksek risk**
Açlık PG	100-125 mg/dL	<100 mg/dl	100-125 mg/dL	
OGTT 2.saat PG	<140 mg/dL	140-199 mg/dL	140-199 mg/dL	
HbA1c*				5,7-6,4

*HbA1c analizi standart bir yöntemle ölçülmelidir.

ADA kriterlerine göre tanı PG düzeyi üzerinden belirlendiği için serum, tam kan ve kapiller glukoz değerleri aşağıdaki formüller kullanılarak değerler birbirine dönüştürülebilir.

PG (mg/dL) = 0,558 + (20,254 X tam kan glukoz (mg/dL) / 18)

PG (mg/dL) = 0,102 + (19,295 X kapiller kan glukoz (mg/dL) / 18)

PG (mg/dL) = -0,137 + (18,951 X serum glukoz (mg/dL) / 18)

2.2.3 Prediyabetin Epidemiyolojisi

Dünyadaki diyabet prevalansı 2017 yılı itibari ile %8,8 iken BGT prevalansı %7,3 olarak belirtilmiştir [49]. Amerika Birleşik Devletleri'nde yapılan bir çalışmada prediyabet prevalansı 1999–2002 arasında %27,4 iken 2007–2010 yıllarında %34,1'e ulaşmıştır [50]. Türkiye'de TURDEP-1 sonuçlarına göre T2DM prevalansı %7,2, BGT prevalansı ise %6,7 olarak belirtilmiştir [27]. 2010 yılında yapılan TURDEP-2 çalışmasında ise prediyabet prevalansı %30,8 (izole BAG; %14,7, izole BGT; %7,9, BAG+BGT; %8,2) olduğu tespit edilmiştir [28]. BAG ve BGT sıklığı etnik kökenler

arasında farklılıklar göstermektedir. Hem BAG hem de BGT sıklığı yaş ile birlikte artmaktadır [44].

Uzun dönem takip edilen prediyabetli hastaların yaklaşık %70'i yaşamlarının ileri dönemlerinde diyabet hastası olmaktadır. Toplum özelliklerine ve prediyabet sınıflamasına göre değişmekle birlikte, prediyabetik hastaların diyabet gelişimi için yıllık insidans oranı %5-10 arasındadır [44]. 1979'dan 2004 yılına kadar yapılan prospektif çalışmaların bulunduğu bir meta-analizde izole BGT için yıllık diyabet insidansı %4-6, izole BAG için %6-9 ve kombine BAG+BGT durumunda %10-15 olarak belirlenmiştir [51].

Dünyada ve ülkemizde hızlı kentleşme sonucunda artan yağ tüketimi ve glisemik indeksi yüksek gıdalarla beslenme alışkanlıklarına yönelimin olması, hareket azalması ve bunlara bağlı olarak obezitenin artması prediyabet sıklığını olumsuz yönde etkilemektedir. Bunlarla birlikte stres kaynaklarının artması prediyabet sıklığını artırabilmektedir. Prediyabetin prevelansı etnik grupsal değişiklere görede farklılıklar gösterebilmektedir [52].

2.2.3.Prediyabetin patogenezi

Sağlıklı bireylerde kan şekeri sıkı bir şekilde düzenlenir. Açlık durumunda, kan glukozunun yaklaşık %90'ı karaciğerde gerçekleşen glikojenoliz ve glukoneojenez ile sağlanmaktadır. Postprandiyal dönemde ise PG düzeylerindeki artışın sınırlanmasına yardımcı olmak için karaciğer glukoz üretimini baskılar. Kan glukoz düzeyindeki artışlar, pankreasın beta hücrelerinde insülin salınımını arttırır. İnsülin, karaciğerde glukoneojenezi ve glikojenolizi inhibe ederek hepatik glukoz üretimini baskılar. Kas ve yağ dokusu da dahil olmak üzere periferik dokulara glukoz alımını, glikojen şeklinde depolanmasını veya enerji üretmek için okside olmasını sağlar.

Glukoz ile uyarılan insülin salınımı, BAG ve BGT'de bozulmuştur. Bununla birlikte, beta hücre fonksiyonundaki bozulma özellikleri, BAG ve BGT'si olan kişilerde oldukça farklıdır. BAG'lı bireylerde OGTT'de erken faz insülin sekresyonu azalmakla birlikte, geç faz insülin yanıtı normaldir. BGT'li bireylerde ise OGTT'de esas olarak geç faz insülin salgılanması bozulmuştur. İnsülin direnci(İD) olan durumlarda; hepatik glukoneojenez artmakta, periferik dokular tarafından glukoz alımı azalmakta ve tüm bunların sonucu olarak kan glukoz seviyeleri artmaktadır. Hem BAG hem de BGT'li bireylerde İD görülürken İD'nin görüldüğü yerler ile ilgili iki grup arasında farklılıklar

mevcuttur. BAG durumunda bireyler iskelet kasında normal insülin duyarlılığına sahip olmalarına rağmen, karaciğerde İD mevcuttur. BGT durumunda ise daha çok kas dokusunda, kısmen de karaciğerde İD bulunmaktadır. Patofizyolojik mekanizmalardaki bu farklılıklar BAG'da karaciğer glukoz üretiminin aşırı derecede artmasına ve açlık kan glukoz düzeyinin yükselmesine neden olurken; BGT'de glukoz verilmesini takiben uzun süren hiperglisemi yanıtının ortaya çıkmasına neden olur [53].

İD'nin diyabet gelişmeden yıllar önce başladığı ve beta hücre fonksiyonundaki azalmanın prediyabetik evrede mevcut olduğu düşünülmektedir. Diyabet gelişiminin ilk evresi olan prediyabet dönemi, uzun ve telafi edilebilir bir evredir. Bu dönemde artmış beta hücre kütlesindeki ve insülin salgısındaki artış ile birlikte İD bulunmaktadır. İkinci aşama beta hücrelerinin İD'ni telafi edemediği stabil adaptasyon dönemidir. Bu dönem sıklıkla açlık ve yükleme sonrası glukoz düzeyleri normal aralıkta olduğunda başlar. Fakat zamanla açlık ve yükleme sonrası normal glukoz düzeyleri korunamaz. Bu nedenle birinci ve ikinci aşamanın çoğu prediyabetik evreye ulaşmadan önce gerçekleşir. Üçüncü evre olan stabil olmayan erken dekompansasyon döneminde beta hücreleri İD'ni telafi edememektedir ve bu nedenle açlık ve/veya yükleme sonrası glukoz düzeyleri hızla artmaya başlar. Bu periyod prediyabetten aşikâr diyabet gelişimine kadar uzanmaktadır [56].

2.3. Bağırsak Geçirgenliği

Bağırsağın içini çevreleyen ve tek sıra epitel hücrelerden oluşan bağırsak duvarı, insan vücudu ile dış çevre arasında en geniş yüzeye sahip bariyerdir. Patojenlere karşı korunmada ve immun sistemin regülasyonunda bağırsak bariyer bütünlüğünün korunması ve bağırsak geçirgenliğinin düzenlenmesi önemli bir role sahiptir [8]. Bağırsaklar; besinlerin sindirim ve emilimi, su ve elektrolit dengesinin korunması ile birlikte mukozal bariyerin vücuda yabancı çevresel antijenlerin girişinin önlenmesinde kilit bir role sahip olduğu yapılan çalışmalar göstermiştir [54].

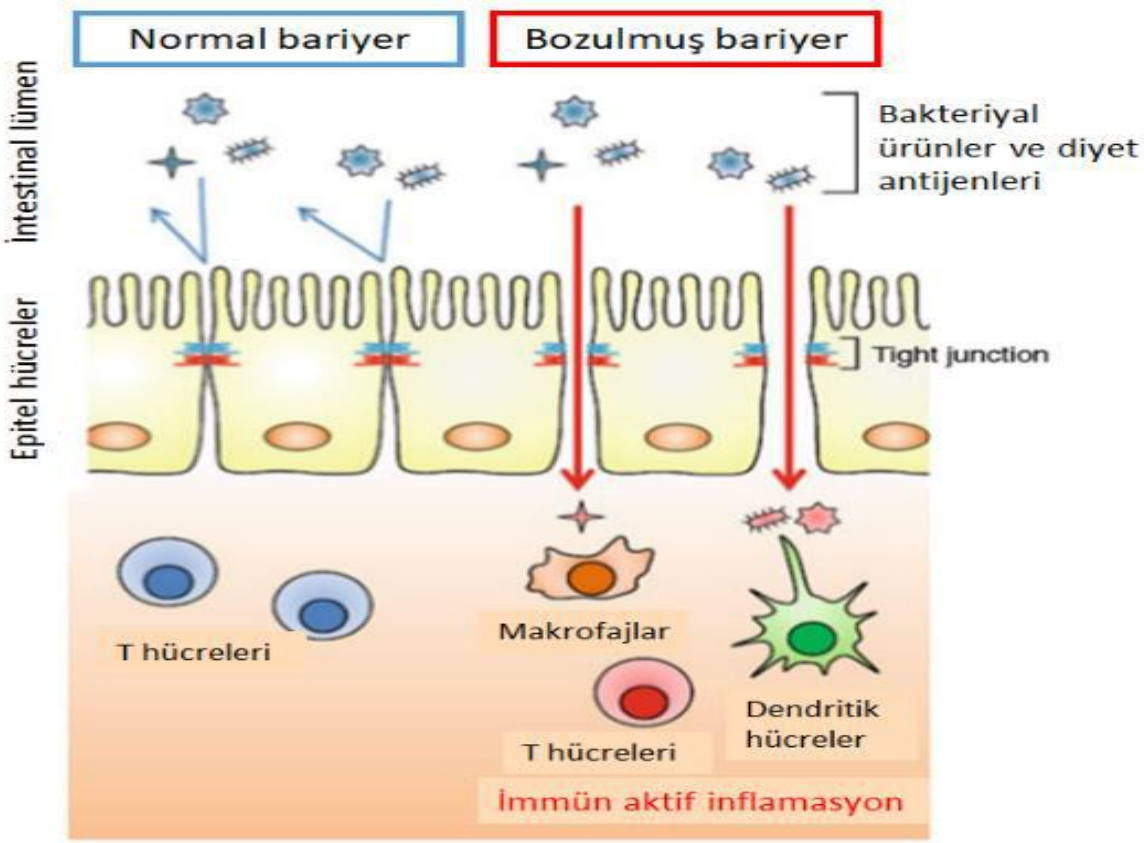
Sindirilen besinlerin bağırsak lümeninden dolaşıma geçişinde iki yol mevcuttur. Birinci yol; bağırsak mukozasının epitelinde yer alan hücrelerin içinden taşıyıcılar (transporter) aracılığı ile olan transselüler yoldur. Pek çok besin maddesinin emilimi bu yolla olur. İkincisi; paraselüler geçiştir ve bu yolla iyonlar, suda çözünen moleküller ve nadiren mikro organizmalar geçiş yapar [55,5].

Gastrointestinal sistemin en önemli ve gözden kaçan işlevlerinden biri, hem transselüler hem de paraselüler yolla antijen kaçağını sıkı bir şekilde kontrol etmek için dinamik bir bariyer sağlamaktır [56].

Epitel hücreleri, sıkı bağlantılar, adherens bağlantılar, gap junction ve desmozomlar ile bir arada tutulur [57].

Parasellüler geçiş bu bağlantılardan apikalde yer alan sıkı bağlantılar ‘‘tight junctions’’ denilen protein yapıdaki moleküller tarafından kontrol edilir. Bu dinamik yapılar beslenme durumu, fiziksel aktivite, hormonal / sinirsel sinyaller ve inflamatuvar medyatörler aracılığı ile uyumlu bir şekilde açılıp kapatılır [58,59].

Bağırsak geçirgenliğinde değişikliklerin olduğu çok sayıda kronik inflamatuar hastalıklar tanımlanmıştır. Bunlardan bazıları; inflamatuar bağırsak hastalığı, çölyak hastalığı, irritabl bağırsak sendromu, multipl skleroz (MS), romatoid artrit (RA), T1DM, astım, nekrotizan enterekolit, otizim spektrum bozuklukları olarak sıralanabilir[5,66-74]. İlginç bir şekilde, uyumlu genetik yapıya sahip deneklerin %10'undan azı klinik hastalığa ilerler, bu da ortam uyarıcılarının hastalığa ilerleyenlerin belirlenmesinde kilit bir rol oynadığını gösterir. Bağırsak epiteli konak ve çevre arasında bir ara yüz sağlayan en büyük mukozal yüzey olduğundan, bağırsak mukozasından uygunsuz antijen girişi olabileceği bildirilmiştir [8]. Şekil 2.1’de bağırsak bariyerinin normal ve bozulmuş hali yer almaktadır.

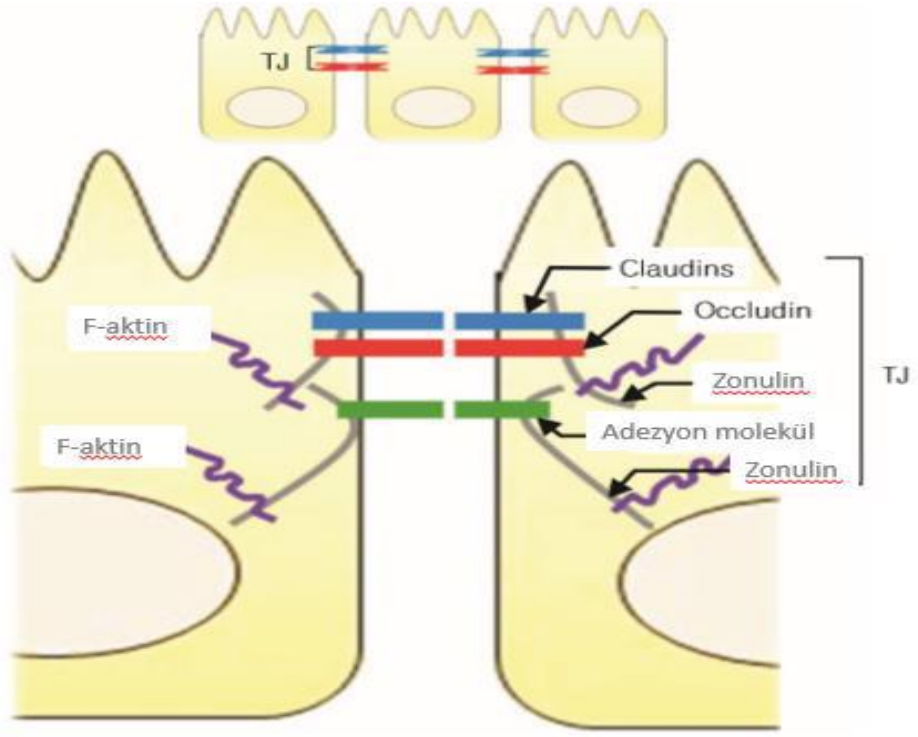


Şekil 2-1:Bozulmuş bağırsak bariyeri [75]

2.3.1. Sıkı Bağlantılar

Geçmişte, sıkı bağlantıların, makromoleküllerin paraselüler geçişini engelleyen geçirimsiz bir bariyer olduğu düşünülürken artık sıkı kavşakların, intestinal epitelyal antijen girişinin hem fizyolojik hem de patolojik düzenlenmesinde rol oynayan dinamik yapılar olduğunu yapılan çalışmalar göstermiştir [5].

TJ'ler, hem komşu epitelyal hem de endotel hücrelerini birleştiren, ilk olarak 1963 yılında Farquhar ve Paladeand tarafından tanımlanan yapılardır. Bu yapılar okludin, klaudin, trisellulin, angulin ve bağlantı adezyon molekülleri (BAM) de içeren transmembran proteinlerinden oluşur [5,66,67]. Bu transmembran proteinler kendi aralarında (hem homofilik hem de heterofilik etkileşimler) ve aktin hücre iskeletine tutturulmuş zonula okludinler (ZO) dahil hücre içi iskelet proteinleri ile etkileşime girer. Okludin, claudin, tricellulin ve BAM'ların hücreler arasında ve ZO'larla etkileşimi, sıkı birleşme bütünlüğünü korur ve moleküllerin paraselüler boşluktan geçişini kontrol eder [68,69]. Şekil 2.2'de sıkı bağlantıların şematik gösterimi yeralmaktadır.



Şekil 2-2:Sıkı bağlantıların(TJ)şematik yapısı [76]

2.4. Zonulin

Zonulin, 47 kDa ağırlığında, aminoterminalinde "Zot bağlayan reseptör motifi" ile yapısal ve fonksiyonel benzerlik gösteren bir motif içeren, ve serin proteazlara benzer özelliklere sahip bir sinyal proteinidir [79,80].

Fosano ve grubu tarafından Vibrio kolera için bir aşı geliştirirken yapılan araştırmalar, epitel hücreleri arasındakı sıkı bağlantıları geri dönüşümlü olarak açabilen bir enterotoksin olan zonula tıkayıcı toksinin (Zot) keşfini sağlamış [77]. Daha sonraki araştırmalarda, Zot tarafından tetiklenen sinyal kaskadlarının paraselüler yolun düzenlenmesinde rol oynadığı görülmüş. Zot protein kinaz C bağımlı mekanizma aracılığla hedef hücrelerde aktin polimerleşmesine yol açar ve sıkı bağlantıların gevşemesine neden olur [78].

Sıkı bağlantıların modülasyonunu sağlayan Zot'un hücre içi sinyalinin karmaşıklığı göz önüne alındığında, toksinin, endojen bir proteini taklit edebileceği varsayıldı. Bu varsayımla hareket eden araştırmacılar ~47 kDa ağırlığında ve Zot'un insan analoğu olan bir protein tanımladılar ve buna zonulin adını verdiler [79]

Ex vivo çalışmalar, endojen insan zonülin'in hem jejunum hem ileumdaki geçirgenliği artırabildiğini göstermektedir [80].

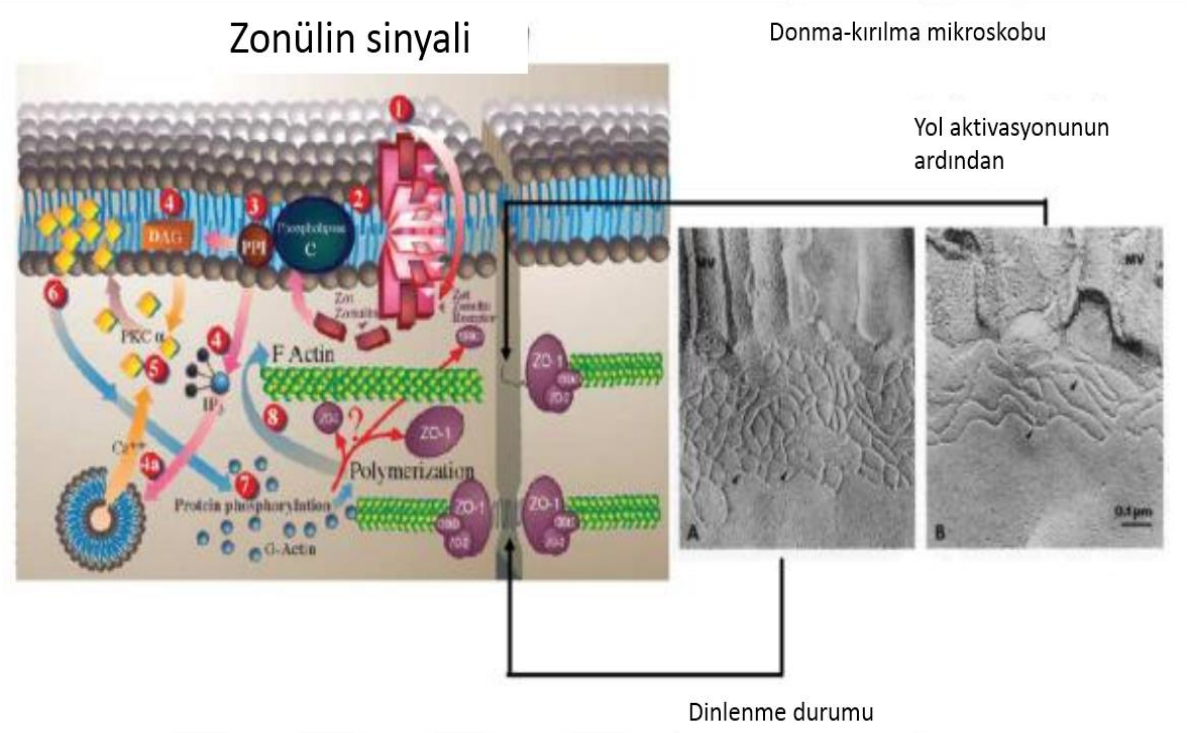
İnsan serumunun proteomik analizi ile zonulin pre-haptoglobin (HP) 2 olarak tanımlanmıştır; bu molekül insan HP'lerinden HP1 ile birlikte iki genetik varyanttan biri olan HP2 için inaktif öncüsü olarak kabul edilmiştir [78]. Olgun insan HP'leri, disülfid bağları ile kovalent ilişkili olan ve sadece β zinciri glikozile edilmiş olan α ve β polipeptid zincirlerinden oluşan heterodimerik plazma glikoproteinleridır [81].

Pre-HP2 olan zonulin, çok fonksiyonlu bozulmamış tek zincirli form, PAR2 (proteaz active edici reseptör) yoluyla epidermal büyüme faktör reseptör (EGFR) transaktivasyonuna neden olarak bağırsak permeabilitesini düzenlemektedir [82]. Zonulin, hedef reseptörünü diğer serin proteazlara benzer bir şekilde aktive eden bir proteazdır. Zonulin sistemi, sıvının, makromoleküllerin ve kan akışı ile bağırsak lümeni arasındaki lökositlerin hareketinden sorumlu TJ düzenlemesi ve bunun tersi de dahil olmak üzere çeşitli işlevlerde yer alıyor gibi görünmektedir. Bağırsak zonülininin bir başka potansiyel fizyolojik rolü, proksimal bağırsağın mikroorganizma kolonizasyonuna karşı korunmasıdır [83,5].

Klinik çalışmalar, zonulin düzeylerinin, bağırsak geçirgenliği için "altın standart" sayılan laktuloz-mannitol testi ile güçlü bir şekilde korele olduğunu göstermiştir [11,12]. Zonulin bu nedenle, bozulmuş bağırsak bariyer fonksiyonunun önemli bir biyolojik belirleyicisidir.

2.4.1 Zonulin sinyali

Zonülin salınımını tetikleyebilen çeşitli potansiyel bağırsak uyaranları arasında, bakterilere ve glütene maruziyet, şu ana kadar tanımlanmış iki tetikleyicidir [5]. Bağırsak epitelinin bu uyaranlarla maruziyeti sonucunda zonulin Zot ile aynı yüzey reseptörüne bağlanarak ve benzer bir mekanizmayla sıkı bağlantıları module ettiği öne sürülmüştür [78,79]. Önerilen zonulin sinyali şekil 2.3'te gösterilmiş ve aşağıda açıklanmıştır [57].



Şekil 2-3:**Zonulin'in hücre içi sinyalizasyonu** (57 nolu kaynaktan türkçeleştirilmiştir)

Önerilen zonulin hücre içi sinyalizasyonu bağırsak TJ (sıkı bağlantılarını) açılmasına yol açar.

1. Zot ve zonulin aynı yüzey reseptörü ile etkileşime geçer (bağırsaktaki dağılımı değişkendir)
2. Daha sonra bu proteinler içselleştirilir ve fosfolipaz C aktive edilir
3. Fosfotidil inositol hidrolizi
4. İnositol 1,4,5-trifosfat (PPI-3) ve diaçilgliserol (DAG) salınır
5. PK-C, DAG veya IP3 hücre içi Ca salınımı ile aktive olur
6. F aktin ve G aktin protein fosfarilasyonu
7. Polimerizasyon
8. TJ (sıkı bağlantıların) gevşemesi

Zonulin sinyali bittikten sonra, TJ başlangıçtaki sabit durumunu sürdürür

2.4.2.Spesifik Hastalıklarda Zonulinin Rolu

Fizyolojik koşullar altında, spesifik immün hücreler ve kemokin/sitokin mediatörleri ile uyum içinde enerji ve dolayısıyla mukozal toleransla sonuçlanan mukozal antijen girişinin sıkı bir kontrolü vardır. Ancak zonulinin artan miktarda uygunsuz üretimi, fonksiyonel bir bariyer fonksiyon kaybına neden olur ve ardından uygunsuz ve kontrolsüz antijen girişi, sub-mukozal immün kompartımanın doğal bir immün tepkisini tetikler. Bu işlem devam ederse, IFN-γ ve TNF-α dahil olmak üzere proinflamatuar sitokinlerin üretilmesine neden olan ve kısır bir döngü yaratan paraselüler yolun daha fazla açılmasına neden olan adaptif bir bağışıklık tepkisi gelişir [8]. Zonulin'in birçok kronik inflamatuar hastalıkta (KİH) rol aldığı yapılan çalışmalar göstermiştir [8]. Bu kronik inflamatuar hastalıklar tablo 2.3'te gösterilmiştir.

Tablo 2-3:Zonulinin ilişkili olduğu kronik inflamatuar hastalıklar

Hastalık kategorisi	Hastalık	Model	Hastalıkla ilişkisi
Otoimmün	Çölyak hastalığı	İnsan	Patogenezde spesifik rol
	T1DM	İnsan, sıçan	Patogenezde olası rol
	İnflamatuar Bağırsak Hastalığı / Kolit	Fare	Patogenezde olası rol
	Multipl skleroz	İnsan, fare	Patogenezde olası rol
Metabolik bozukluklar	Obezite / İnsülin direnci	İnsan	Up-regüle
	T2DM	İnsan	Up-regüle
	Polikistik over sendromu	İnsan	Up-regüle
Akciğer hastalığı	Akut Akciğer Hasarı	Fare	Patogenezde olası rol
	Astım	İnsan	Patogenezde olası rol
Kalp hastalığı	Kronik Arter Hastalığı	İnsan	Up-regüle
Nörolojik hastalıklar	Gliyom	Insan, hücre kültürü	Up-regüle
Sistemik infeksiyon hastalıklar	Septisemi	İnsan	Up-regüle
	HIV	İnsan	Down-regüle
Bağırsak hastalıkları	İrritabl bağırsak sendromu	İnsan	Up-regüle
	Çölyak olmayan gluten duyarlılığı	İnsan	Up-regüle
	Nekrotizan enterokolit	Sıçan, hücre kültürü	Up-regüle

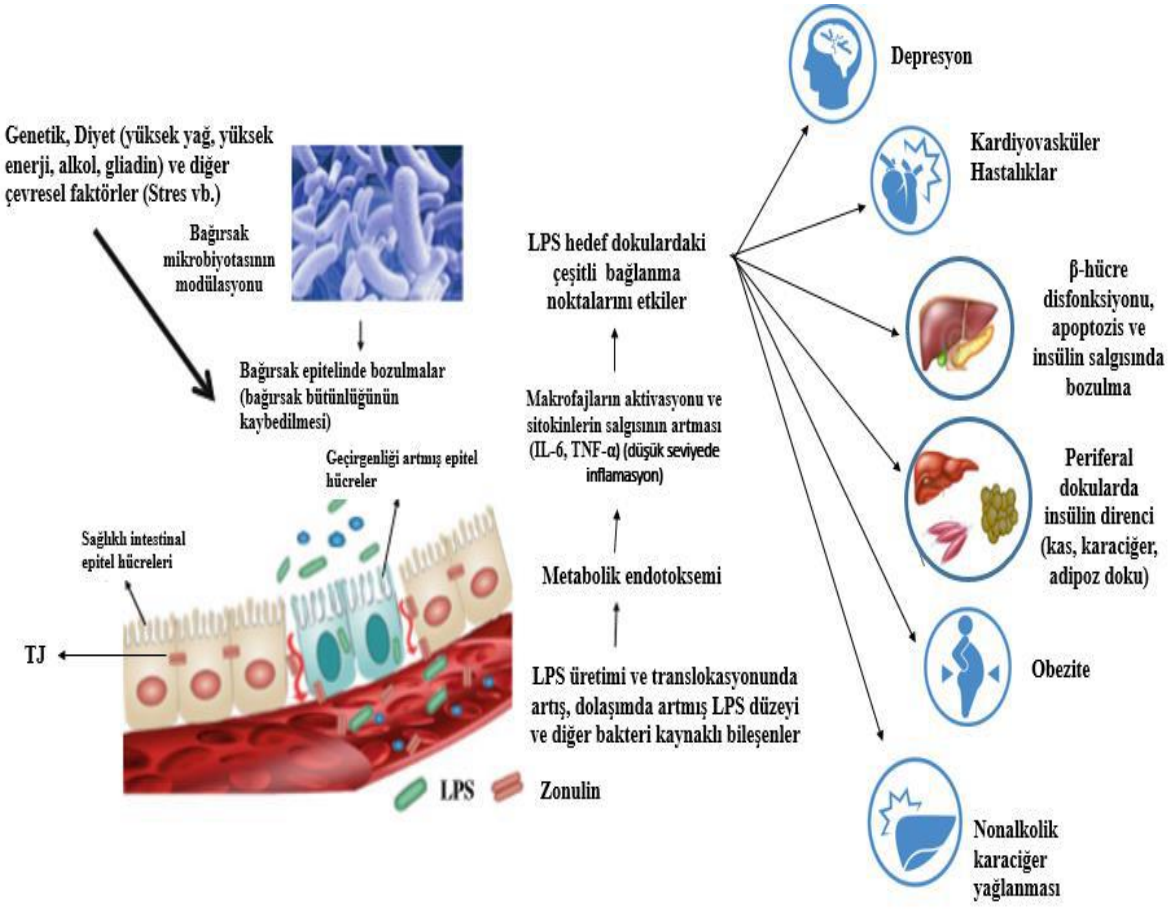
2.5. DM, Zonulin, lipopolisakkarid

Lipopolisakkarid (LPS)'ler, gram negatif bakterilerinin dış hücre duvarlarının ana bileşenlerinden biridir. Bu nedenle bağırsak mikrobiyotası bu endotoksin için önemli bir rezervuardır. Normal koşullarda bağırsak lümeninde LPS varlığı sağlık üzerinde olumsuz etkilere neden olmamaktadır. Ancak bazı faktörler dolaşımda LPS'nin artışına neden olmaktadır. Tüketilen diyet (özellikle yüksek yağlı), kortizol, stres, alkol gibi etmenler bağırsak geçirgenliğini arttırmaktadır; bu durum lümende dolaşıma bakteriyal toksinlerin ve LPS'nin geçmesi ve dolaşımda LPS düzeyinin artmasına ve metabolik endotoksemiye neden olabilir. Dolaşımdaki LPS'ler immün hücrelerin uyarılmasına ve proinflamatuvar sitokinlerin salgısının artışına neden olmaktadır [89-91]. Bunun sonucunda; dolaşımda inflamatuvar sitokin düzeyleri artmakta ve kronik hastalıkların oluşumu gerçekleşmektedir [5].

Bağırsak geçirgenliğindeki değişiklikler sonucu bakteriler ve diyet antijenlerin mukozal immun elementlere erişimi kolaylaşır ve bu durumda bağırsak bariyer fonksiyonu bozulur. Bunun sonucunda immun reaksiyonlar gelişir. Gelişen immün reaksiyonlar sitokin üretiminin artmasına ve beta hücre hasarına yol açabilir. Sonuç olarak İD gelişir [84]. T2DM, obezite ve periferik İD ile karakterizedir. Obezite ve İD ile T2DM arasında gözlenen ilişkiyi açıklamak için çeşitli patofizyolojik mekanizmalar öne sürülmüştür. Bunlar endokrin (yağ asitleri, adipokinler), nöronal, hücresel metabolik (oksidatif stres, mitokondrial disfonksiyon) ve inflamatuar faktörlerdir [85]. Obezite ve T2DM'de artmış pro-inflamatuar sitokinlerin (interlökinler, TNF-α) ve C-reaktif protein (CRP)'nin sistemik üretimi gözlenmiştir [86].

Diyet bileşimi, bağırsak mikrobiyotası, epitelyal bütünlük ve obezite arasındaki ilişkiyi araştıran çalışmalarda, obezite ve T2DM ile ilişkili metabolik bozuklukların başlangıcında bağırsak mikrobiyotasının ve daha spesifik olarak LPS'nin önemli bir rolü olduğu öne sürülmüştür [87]. T2DM hastalarda plazma LPS'inde kontrollere kıyasla anlamlı bir artış olduğu gösterilmiştir [88].

Klinik çalışmalarda T2DM ve obez bireylerde zonulin düzeyinin arttığı ve bu artışın İD, kan yağları, inflamatuvar belirteçler (IL-6, TNF-α vb), LPS gibi bileşenlerle pozitif korelasyon gösterdiği bulunmuştur [92,9,10]. Şekil.2.5.'de zonulin, LPS, inflamatuar belirteçler ve İD ile bağlantılı olası mekanizmaların şematik gösterimi yer almaktadır.



Şekil 2-5: Zonulin, LPS, inflamatuar belirteçler ve İD ile bağlantılı mekanizmalar (92 nolu kaynaktan türkçeleştirilmiştir).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1 Çalışma Olgularının Temini

Çalışmamız, İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Etik Kurulu'nun (16.11.2018 tarih, 68871907-604.01.01-93619 sayılı yazı) onayı alınarak gerçekleştirildi. Çalışmaya alınan tüm olgulara, çalışmayı anlatan bilgilendirilmiş onam formu verilip çalışmanın amacı izah edildi ve çalışmaya katılım onayı alındı.

Çalışmamızdaki olgular,**Aralık 2018- Nisan 2019**tarihleri arasında İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Fikret Biyal Merkez Araştırma Laboratuvarına OGTT yaptırmak için başvuran gönüllüler ve Sağlık Bakanlığı, İstanbul Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Diyabet Polikliniğine başvuran aşikar diyabeti olan gönüllülerden oluşturuldu.

3.2. Örneklerin Alınması ve Çalışılan Parametreler

OGTT uygulaması 10-12 saatlik gece açlığı sonrasında sabah 08.00-09.30 saatleri arasında yapıldı. Bireylere 75 g glukoz 300 mL'lik suda eritilerek 1-2 dakika içinde içirildi. Test süresince bireylerin sigara içmesine ve fiziksel aktivitede bulunmasına ve su dışında yiyecek almasına izin verilmedi.

Gönüllülerden OGTT'den önce (bazal; 0.saat) ve yüklemeden 2 saat sonra 5'er mL, T2DM olan gönüllülerden sadece 10-12 saatlik açlık sonrasında 5'er mL venöz kan alındı. Alınan numuneler 4000 rpm'de 5 dk santrifüj edildikten sonra serumları 5 ependorfa ayrılarak zonulin ve LPS çalışmak için -80°C de muhafaza edildi. Glukoz düzeyleri ve rutin parametreler (üre, kreatinin, LDL, HDL, total kolesterol, TG, CRP, ürik asit, HbA1c, insülin) aynı gün çalışıldı.

3.3. Çalışma Gruplarının Oluşturulması

Bireylerin anamnezi alınarak çalışmamızın dışlama kriterleri açısından değerlendirildi. Kaydedilen boy ve kilo ölçümlerinden VKİ hesaplandı. Serum glukoz değerleri ADA kriterleri kullanılacağından [PG (mg/dL) = -0,137 + (18,951 X serum glukoz (mg/dL) / 18)] formülü ile PG değerlerine çevrildi. APG değerleri ve 75 g oral glukoz yüklemesi sonuçlarına göre ADA kriterleri göz önüne alınarak 69 erkek 72 kadın toplam 141 kişiyi kapsayan ve aşağıda tanımlanan çalışma grupları oluşturuldu.

Kontrol grubu (n:40)

Açlık plazma glukoz düzeyi <100 mg/dL ve OGTT sonrası 2.saat PG düzeyi <140 mg/dL olan 18'i erkek 22'si kadın 40 kişi (yaş ortalaması: 44,47±5,44 yıl).

Prediyabet grubu (n:56)

Açlık ve OGTT sonrası 2.saat PG düzeylerine göre ADA kriterleri baz alınarak BAG ve BAG+BGT olmak üzere iki alt grup halinde değelendirilmiştir.

- **BAG Grubu:** APG düzeyi 100-125 mg/dL arasında ve OGTT sonrası 2.saat PG düzeyi <140 mg/dL 17'i erkek 19'u kadın 36 hasta (yaş ortalaması: 45,78±5,28 yıl)
- **BAG+BGT grubu:** APG düzeyleri 100-125 mg/dL arasında ve OGTT sonrası 2.saat PG düzeyi 140-199 mg/dL olan 9'u erkek 11'i kadın 20 hasta (yaş ortalaması: 46,5±6,75 yıl)

Aşikâr diyabet (T2DM) grubu (n:45)

Tablo 2.1'deki DM tanı kriterlerine göre diyabet tanısının ilk 3 yılında olanlar 25'sı erkek 20'si kadın 45 hasta (yaş ortalaması:46,00±5,38 yıl)

3.4.Çalışmadan Dışlanma Kriterleri

Aşağıda belirtilen özelliklere sahip hastalar çalışmadan dışlanmıştır

- T1DM ve diğer kronik otoümmin hastalık
- İnflamatuar bağırsak hastalığı,
- Psikiyatrik, nörolojik hastalıklar,
- Romatoid artrit gibi kronik inflamatuar hastalıkları,
- Koroner kalp hastalığı olanlar
- Herhangi bir nedenle anti-inflamatuar ilaç alan
- Malignite veya malignite öyküsü
- Bağ doku hastalığı
- İmmuno-modülatör ilaç kullananlar,
- Alkol alışkanlığı olan hastalar,
- Karaciğer ve böbrek hastalığı olanlar,
- Gebe olanlar.

Ayrıca bilgilendirilmiş olur vermek istemeyen ya da sonradan olurlarını çekmek istediklerini söyleyen hastalar da çalışma dışında tutulmuştur

3.5. Kullanılan araç ve gereçler

- Santrifüj (Mipro)
- Derin dondurucu (SEG RF4540 A)
- Biyokimya analiz cihazı (Roche Cobas c702)
- HbA1c analiz cihazı (Biorad Varyant 2 Turbo)
- Hormon analiz cihazı (Roche Cobas c602)
- Pipetler (Eppendorf 50, 100, 200µL)
- Eppendorf tüpleri (Labosel)
- Vortex (Jankle & Kunkel IKA VF2)
- Otomatik ELISA cihazı (GDV MPT Reader DV 990 BV 4 ve Diagnostic Pasteur LP35)
- Otomatik ELISA yıkayıcı (Robonik Washwell Plate Elisa Washer)

3.6. Yöntemler

3.6.1 Serum Zonulin Düzeyi Tayini

Serum zonulin düzeyinin tayininde 'Enzim Linked İmmunabsorbent Assay' (ELISA) yöntemi kullanıldı (Human zonulin ELISA kit Bioassay Tecnology Laboratory, Katalog numarası E370Hu; çalışma içi (n:10) CV<%8, çalışmalar arası (n:10) CV<%10).

3.6.1.1Yöntemin Prensibi

Yöntemin prensibi, sandwich ELISA yöntemine dayanmaktadır. 96 kuyucuklu plaklara önceden kaplanan zonulin için spesifik antikorlar ile plaklara eklenen numunelerdeki antijen ve biyotin işaretli antikorların arasında antikor-antijen-antikor kompleksi oluşur (sandwich formu). Ortama eklenen Horseredish peroksidaz (HRP) işaretli antikorlar ile substrat çözeltisi arasında gerçekleşen enzim-substrat resksiyonu sonucu oluşan rengin yoğunluğu, plakta tutulan zonulin miktarı ile orantılıdır.

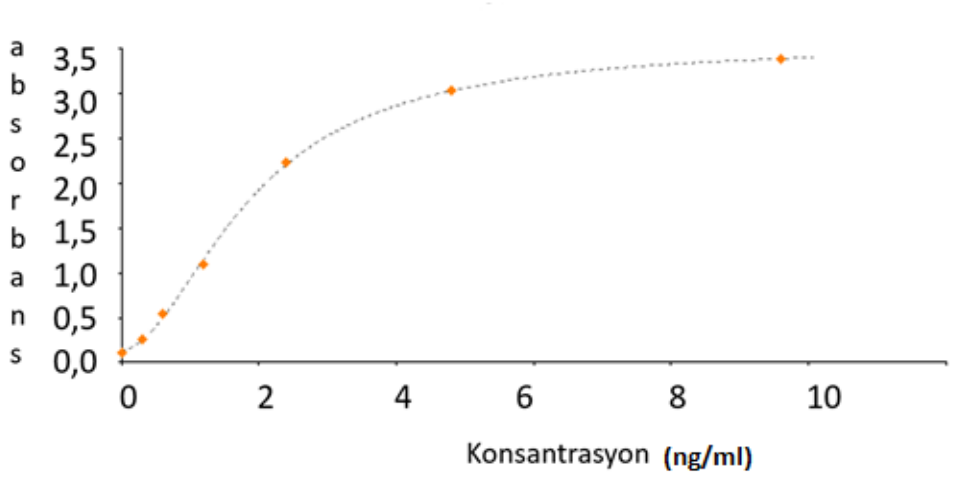
3.6.1.2. Kullanılan Ayraçlar

- Standart solüsyon (96 ng/mL)
- Zonulin antikoru kaplanmış plate (96 kuyucuklu)
- Standart diluent
- Streptavidin-HRP
- Durdurma solüsyonu

- Substrat solüsyon A
- Substrat solusyon B
- Yıkama solüsyonu
- Biyotinle işaretli zonulin antikoru

3.6.1.3.Testin Yapılışı

1. Kullanmadan önce tüm reaktifler oda ısısına getirildi
2. Standart solüsyonu belirtilen oranlarda sulandırıldı.
3. Yıkama solüsyonu hazırlandı.
4. Standart kuyucuklarına 50 µL diğer kuyucuklara 40 µL serum +10 µL anti-zonulin antikoru ilave edildi.
5. Kör hariç tüm kuyucuklara 50 µL streptavidin-HRP eklenerek 37^0C' de 60 dakika inkübe edildi.
6. Yıkama solüsyonuyla plak 5 defa yıkandı.
7. Tüm kuyucuklara 50 µL substrat solüsyon A ve 50 µL substrat solüsyon B eklenerek 37^0C' de 10 dakika inkübe edildi.
8. Her bir kuyucuğa 50 µL durdurma solüsyonu ilave edilerek 450 nm dalga boyunda absorbans ölçümü yapıldı.
9. Standart eğrisi oluşturuldu.(Şekil 3.1'de zonilin standart eğrisi gösterilmiştir)
10. Örneklerin konsantrasyonları hesaplandı.



Şekil 3-1: Zonulin Standart Eğrisi

3.6.2. Serum LPS Düzeyi Tayini

Serum LPS düzeyinin tayininde 'Enzim Linked İmmunabsorbent Assay' (ELISA) yöntemi kullanıldı (Human lipopolysaccaride ELISA kit Bioassay Tecnology Laboratory, Katalog numarası E1791Hu; çalışma içi (n:10) CV<%8, çalışmalar arası (n:10) CV<%10).

3.6.2.1. Yöntemin Prensibi

Yöntemin prensibi, sandwich ELISA yöntemine dayanmaktadır. 96 kuyucuklu plaklara önceden kaplanan LPS için spesifik antikorlar ile kaplanan plaklara eklenen numunelerdeki antijen ve biyotin işaretli antikorların arasında antikor-antijen-antikor kompleksi oluşur (sandwich formu). Ortama eklenen Horseredish peroksidaz (HRP) işaretli antikorlar ile substrat çözeltisi arasında gerçekleşen enzim-substrat resksiyonu sonucu oluşan rengin yoğunluğu, plakta tutulan LPS miktarı ile orantılıdır.

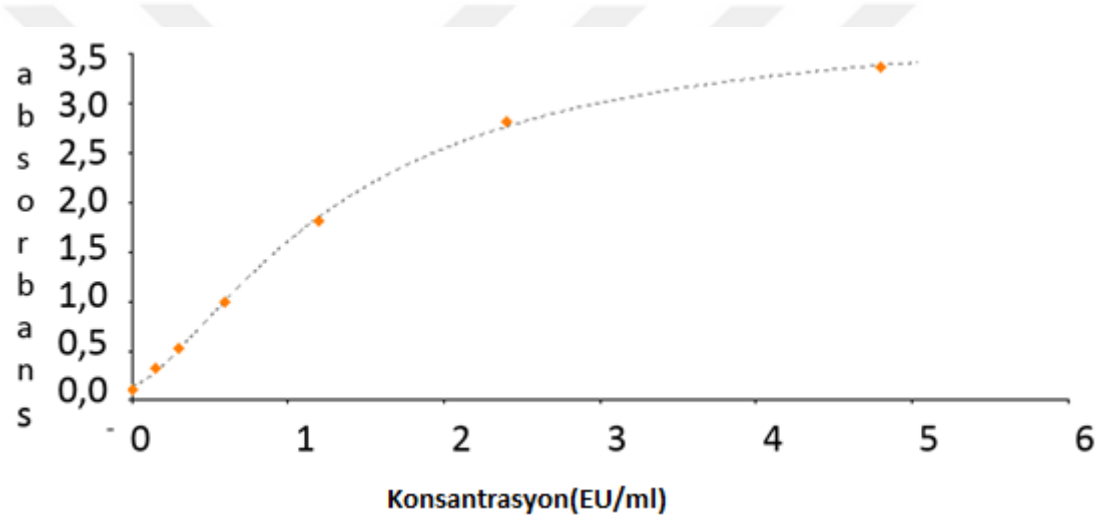
3.6.2.2. Kullanılan Ayıraçlar

- Standart solüsyon (96 ng/mL)
- Zonulin antikoru kaplanmış plate (96 kuyucuklu)
- Standart diluent
- Streptavidin-HRP
- Durdurma solisyonu
- Substrat solüsyon A
- Substrat solusyon B
- Yıkama solüsyonu
- Biyotinle işaretli LPS antikoru

3.6.2.3 Testin Yapılışı

1. Kullanmadan önce tüm reaktifler oda ısısına getirildi
2. Standart solüsyonu belirtilen oranlarda sulandırıldı.
3. Yıkama solüsyonu hazırlandı.
4. Standart kuyucuklarına 50 µL diğer kuyucuklara 40 µL serum +10 µL anti-LPS antikoru ilave edildi.

5. Kör hariç tüm kuyucuklara 50 µL streptavidin-HRP eklenerek 37^0C' de 60 dakika inkübe edildi.
6. Yıkama solüsyonuyla plak 5 defa yıkandı.
7. Tüm kuyucuklara 50 µL substrat solusyon A ve 50 µL substrat solüsyon B eklenerek 37^0C' de 10 dakika inkübe edildi.
8. Her bir kuyucuğa 50 µL durdurma solüsyonu ilave edilerek 450 nm dalga boyunda absorbans ölçümü yapıldı.
9. Standart eğrisi oluşturuldu.(Şekil 3.2'de LPS standart eğrisi gösterilmiştir.)
10. Örneklerin konsantrasyonları hesaplandı.



Şekil 3-2:LPS Standart Eğrisi

3.6.3 Rutin Testlerin Analizi

Bireylerin serum glukoz, insülin, total kolesterol, HDL, LDL, TG, üre, kreatinin ve CRP düzeyleri İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Hastanesi Fikret Biyal Tıbbi Biyokimya Laboratuvarında Roche Cobas c702 ve c602 cihazlarında ölçüldü.

Glukoz analizi için referans metod olan hekzokinaz yöntemi kullanıldı (Roche Cobas, katalog no: 04404483).

İnsülin analizi, elektro-kemilüminesans immünolojik test (ECLIA) yöntemi ile yapıldı (Roche Cobas, katalog no:12017547).

Total kolesterol, HDL, LDL ve TG düzeyleri; enzimatik-kolorimetrik yöntemle tayin edildi (Roche Cobas, katalog no sırasıyla; 05168538, 04399803, 03038866, 20767107).

Üre düzeyleri, enzimatik-kinetik yöntem kullanılarak belirlendi (Roche Cobas, katalog no: 04460715).

Kreatinin düzeyleri, kinetik Jaffe yöntemi ile belirlendi (Roche Cobas, katalog no: 04810716).

CRP analizi, immüno-türbidimetrik yöntem kullanılarak yapıldı (Roche Cobas, katalog no: 04956842).

HbA1c değerleri, Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC) yöntemi ile belirlendi (Tosoh Automated Glycohemoglobin Analyzer, katalog no: 0021849, 0021850, 0021851).

3.6.4.İstatistiksel Yöntem

Verilerin değerlendirilmesinde SPSS v.20 paket programı kullanıldı. Tanımlayıcı istatistiklerde kategorik değişkenler frekans (n) ve yüzde (%) ile ifade edilirken; sürekli değişkenlerden ortalama ± standart sapma ile ifade edildi. Sürekli değişkenlerin normal dağılıma uygunluğunda Skewness, kurtousis değerleri, normalite testleri ve histogramlarına göre karar verildi. Kategorik değişkenlerin analizinde Ki-kare testi kullanıldı. Bağımsız iki grup arasında sürekli değişkenlerin karşılaştırılmasında bağımsız gruplar t-testi kullanıldı. Bağımsız ikiden fazla grup arasında sürekli değişkenlerin karşılaştırılmasında normal dağılıma uyduğu durumlarda One-Way ANOVA testi kullanıldı; farkın kaynaklandığı grupların belirlenmesi amacıyla post-hoc Tukey yöntemi seçildi. Bağımsız ikiden fazla grup arasında sürekli değişkenlerin karşılaştırılmasında normal dağılıma uymadığı durumlarda Kruskall-Wallis testi kullanıldı; farkın kaynaklandığı grupların belirlenmesi amacıyla düzeltilmiş p değerleri kullanıldı. Sürekli değişkenlerin birbiriyle olan ilişkisini belirlemek amacıyla Pearson Korelasyon analizi uygulandı. Prediabetik olmanın risk faktörlerini veya prediktörlerini belirlemek amacıyla Lojistik regresyon analizi uygulandı. İstatistiksel anlamlılık için $p<0.05$ değeri kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. Tanımlayıcı özellikler ve genel laboratuvar parametreleri

Kontrol, prediyabet ve T2DM gruplarının genel özellikleri ile rutin laboratuar sonuçları ortalama ve standart sapma olarak **Tablo 4.1.'de** gösterilmiştir.

Tablo 4-1: Kontrol ve hasta gruplarınnın genel özellikleri rutin laboratuar sonuçları (Ort±SD)

	Kontrol	Prediyabet	T2DM	p değeri
n (Kadın/Erkek)	40 (22/18)	56 (30/26)	45 (20/25)	AD
Yaş (yıl)	44,38±5,51	45,95±5,91	46,00±5,44	AD
APG (mg/dL)	90,63±6,04	110,48±8,40^{a***}	157,82±40,53^{a***,b***}	<0,001ǂ
OGTT 2.Saat PG (mg/dL)	87,63±22,22	122,64±30,35 ^{a***}		<0,001^{S}
HbA1c (%)	5,49±0,32	5,79±0,41	8,03±2,11^{a***,b***}	<0,001ǂ
İnsülin (µU/mL)	9,47±3,91	13,17±6,43^{a*}	13,78±7,40^{a**}	0,003^{KW}
HOMA−IR	2,11±0,87	3,58±1,77 ^{a***}	5,30±3,29 ^{a***,b**}	<0,001 ^{KW}
CRP (mg/dL)	1,92±2,48	2,24±1,90	2,04±1,22	0,120 ^{KW}
VKİ (kg/m²)	24,24±2,43	29,71±5,66^{a***}	29,12±3,06^{a***}	<0,001ǂ
Üre (mg/dL)	24,48±6,07	28,54±6,0^{a*}	27,40±6,06	0,005ǂ
Kreatinin (mg/dL)	0,72±0,11	0,78±0,16	0,82±0,24 ^{a*}	0,028ǂ
Ürik Asit (mg/dL)	4,61±1,01	5,13±1,07 ^{a*}	5,26±0,90 ^{a**}	0,008ǂ
LDL (mg/dL)	127,63±33,13	148,38±26,65a*	128,18±34,01^{b*}	0,001ǂ
HDL (mg/dL)	55,65±9,77	49,98±14,97	45,13±10,41^{a*}	0,001ǂ
Trigliserid (mg/dL)	103,4±33,9	155,86±65,63^{a***}	169,53±81,43^{a***}	<0,001 ^{KW}
Total kolesterol (mg/dL)	185±43,28	206±27,78^{a**}	185±36,48 ^{a*}	0,001 ^{KW}

a=kontrole göre ; b:prediyabet göre
<0.05:* <0.01: ** <0,001***
^{K}:Ki-kare Testi; ǂ:One-Way ANOVA Testi; ^{S}: Bağımsız Gruplar T Testi (Student t Testi); ^{KW}: Kruskall-Wallis Testi

- Kontrol grubu ile hasta gruplarının yaş ortalamaları arasında anlamlı fark gözlenmedi.
- Prediyabet ve T2DM gruplanının VKİ ortalamaları kontrol grubundan yüksek bulundu. Prediyabet grubu ile T2DM grubu arasında fark bulunamadı.
- APG, T2DM grubunda hem normal gruba göre hem de prediyabet grubuna göre yüksek, prediyabet grubunda normal gruba göre yüksek bulundu.
- HA1c; T2DM grubunda hem kontrol grubuna göre hem de prediyabet grubuna göre yüksek bulundu, kontrol grubu ile prediyabet grubu arasında fark bulunmadı.
- İnsülin: prediyabet grubunda kontrol grubuna göre yüksek, T2DM grubunda kontrol grubuna göre yüksek, prediabet grubu ile T2DM grubu arasında fark gözlenmedi.
- Üre: prediyabet grubunda kontrol grubuna göre yüksek bulundu.
- Kreatinin: T2DM grubunda kontrol grubuna göre yüksek bulundu.
- Ürik asit: prediyabet grubunda kontrol grubuna göre; T2DM grubunda kontrol grubuna göre yüksek. Prediyabet grubu ile T2DM grubu arasında fark bulunmadı.
- HDL: T2DM grubunda kontrol grubuna göre düşük bulundu.
- LDL: Prediyabet grubunda hem kontrollere göre hem de T2DM grubuna göre yüksek bulundu.
- TG: prediyabet grubunda kontrol grubuna göre yüksek, T2DM grubunda kontrol grubuna göre yüksek bulundu. Prediabet grubu ile T2DM grubu arasında fark bulunmadı.
- T.Kolesterol. prediyabet grubunda kontrol grubuna göre yüksek, T2DM grubu kontrol grubuna göre yüksek bulundu. Prediyabet grubu ile T2DM grubu arasında fark bulunamadı.
- 2. Saat PG prediyabet grubunda kontrol grubuna göre yüksek bulundu.

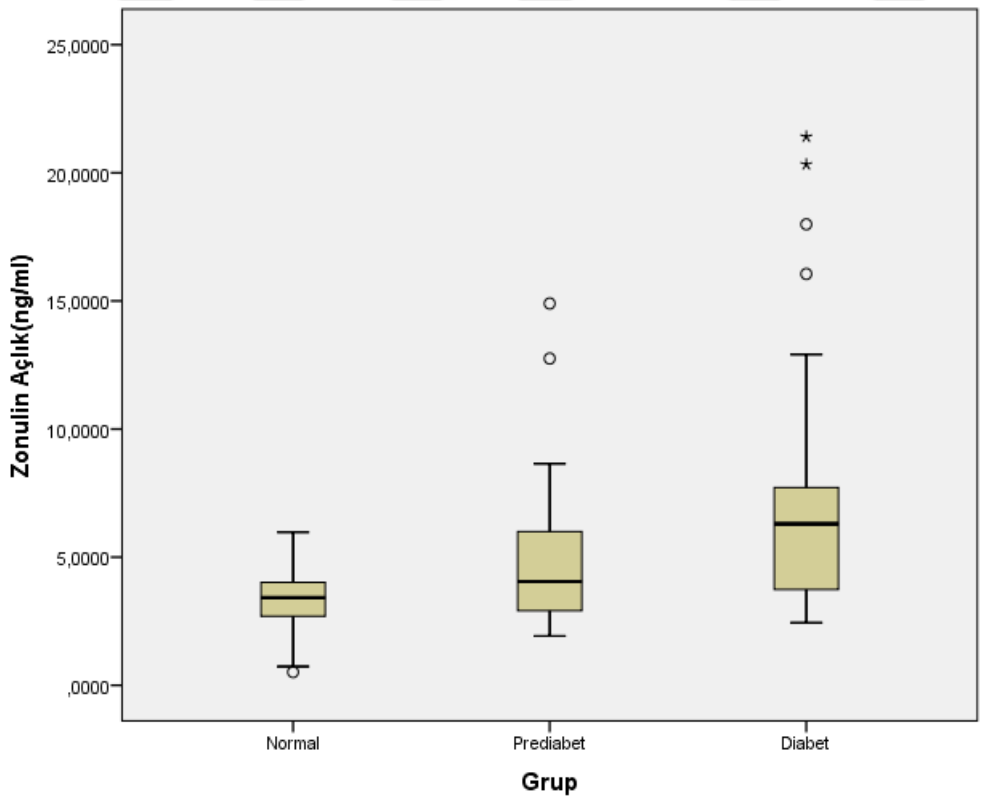
Kontrol, prediyabet ve T2DM gruplarının zonulin ve LPS değerleri ortalama ve standart sapma olarak **Tablo 4.2.'de** verilmiş ve Şekil4.1- Şekil 4.2.-Şekil4.3-Şekil4.4 te Box Plot Grafikleri gösterilmiştir.

Tablo 4-2: Kontrol ve hasta gruplarına ait Zonulin ve LPS değerleri (Ort±SD)

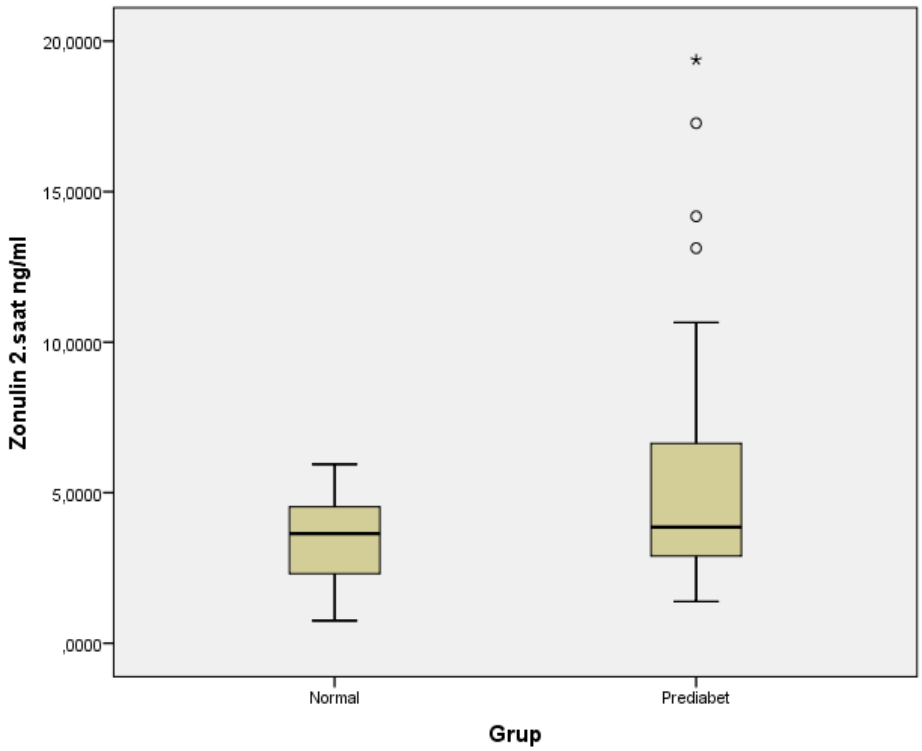
	Kontrol	Prediyabet	T2DM	p değeri
Zonulin (Açlık) (ng/ml)	3,43±1,12	4,74±2,54	7,20±4,61^{a***b***}	<0,001ǂ
Zonulin (2.saat) (ng/ml)	3,56±1,31	5,32±3,73^{a**}		0,002 ^{S}
LPS (Açlık) (EU/mL)	0,25±0,12	0,36±0,24	0,67±0,46^{a***b***}	<0,001ǂ
LPS (2.saat) (EU/mL)	0,28±0,13	0,38±0,22^{a**}		<0,008 ^{S}

a=kontrol; b:prediyabet
<0.05:* <0.01: ** <0,001***
^{K}:Ki-kare Testi; ǂ:One-Way ANOVA Testi; ^{S}: Bağımsız Gruplar T Testi (Student t Testi); ^{KW}: Kruskall-Wallis Testi

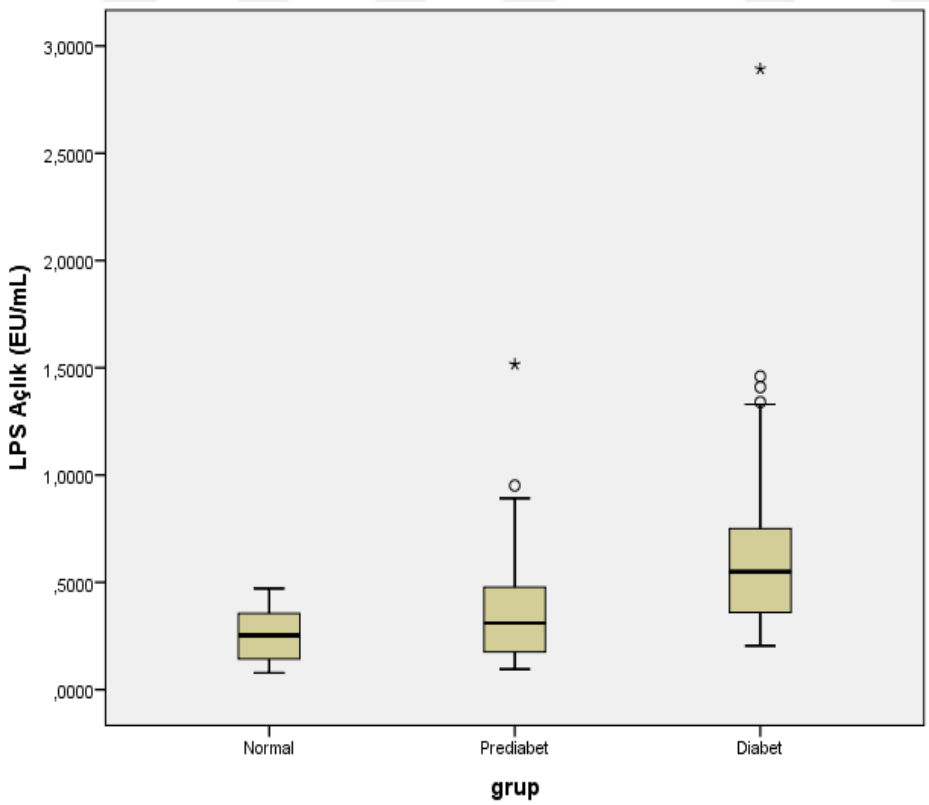
- Zonulin açlık: T2DM grubunda hem kontrol hem de prediyabet grubuna göre yüksek bulundu. Prediyabet grubu ile kontrol grubu arasında fark bulunamadı.
- Zonulin 2.saat: prediyabet grubunda kontrol grubuna göre yüksek bulundu.
- LPS açlık: T2DM grubunda hem kontrol hem de prediabet grubuna göre yüksek bulundu. Prediyabet grup ile kontrol grubu arasında fark bulunamadı.
- LPS 2.saat: prediyabet grubunda kontrol grubuna göre yüksek bulundu.



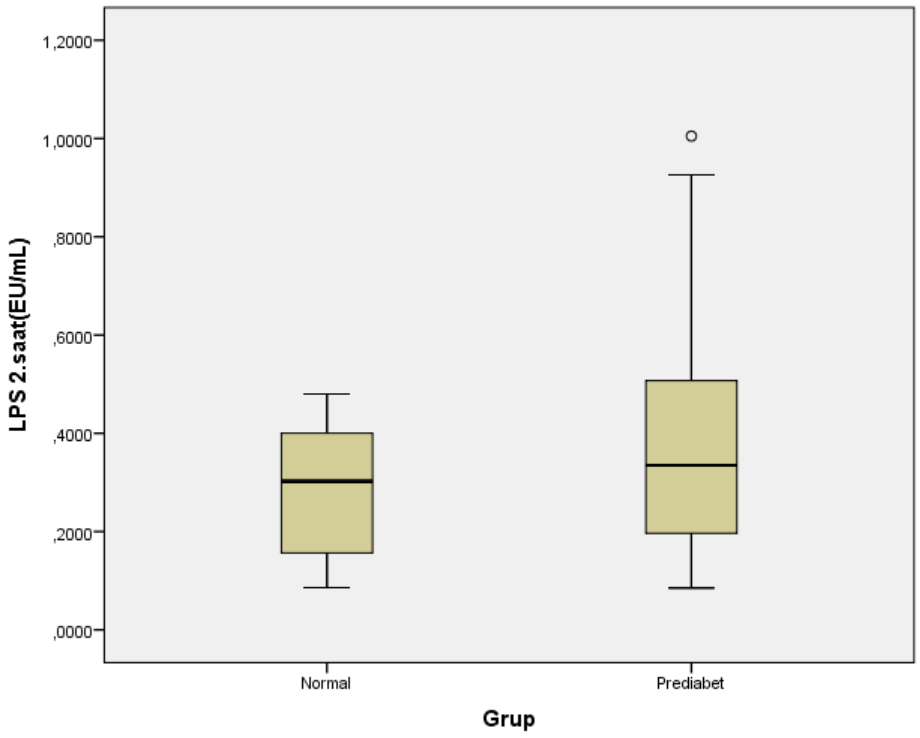
Şekil 4-1:Normal, Prediyabet, T2DM Gruplarının Zonulin Açlık Ortalama ve %95 Güven Aralıklarının Box Plot Grafiği.



Şekil 4-2:Normal ve Prediyabet Gruplarında Zonulin 2.saat Ortalama ve %95 Güven Aralıklarının Box Plot Grafiği.



Şekil 4-3:Normal, Prediyabet, T2DM Gruplarının LPS Açlık Ortalama ve %95 Güven Aralıklarının Box Plot Grafiği



Şekil 4-4:Normal ve Prediabet Gruplarının LPS 2.saat Ortalama ve %95 Güven Aralıklarının Box Plot Grafiği

Tablo 4-3:Kontrol, Prediyabet alt grupları ve T2DM genel özellikleri ve rutin laboratuvar sonuçları (Ort±SD)

	Kontrol	BAG	BAG+BGT	T2DM	P değeri
n (Kadın/Erkek)	40(22/18)	36(19/17)	20(11/9)	45(20/25)	AD
Yaş(yıl)	44,38±5,51	45,78±5,36	46,25±6,93	46,00±5,44	AD
APG(mg/dL)	90,63±6,04	109,88±6,96^{a**}	111,55±10,63^{a**}	157,82±40,53^{a***b***c***}	<0,001ǂ
OGTT 2.Saat PG (mg/dL)	87,63±22,2	103,83±17,46^{a**}	156,50±15,12^{a***b***}		<0,001ǂ
HbA1c (%)	5,49±,31	5,71±0,38	5,95±0,43	8,03±2,11^{a***b***c***}	<0,001ǂ
İnsülin (µU/mL	9,46±3,90	12,07±5,25	15,14±7,89^{a**}	13,77±7,40^{a**}	0,006 ^{KW}
HOMA-IR	2,11±0,87	3,26±1,44 ^{a**}	4,16±2,18 ^{a***}	5,30±3,30 ^{a***,b**}	<0,001^{KW}
CRP (mg/dL)	1,92±2,49	2,09±2,25	2,50±1,05^{a**}	2,04±1,22	0,007 ^{KW}
VKİ (kg/m2)	24,24±2,43	28,82±6,13^{a***}	31,32±4,43^{a***}	29,12±3,06^{a***}	<0,001ǂ
Üre (mg/dL)	24,48±6,07	28,97±6,58^{a**}	27,75±4,84	27,40±6,06	0,012ǂ
Kreatinin (mg/dL)	0,72±0,11	0,77±0,16	0,79±0,18	0,82±0,24	0,066ǂ
ÜrikAsit (mg/dl)	4,61±1,01	5,04±0,96	5,27±1,24	5,26±0,89^{a*}	0,017ǂ
LDL (mg/dL)	127,6±33,1	147,8±27,48^{a*}	149,4±25,7	128,2±34,01^{b*}	0,003ǂ
HDL (mg/dL)	55,65±9,76	51,22±16,48	47,75±11,53	43,13±10,41^{a**}	0,001ǂ
Trigliserid (mg/dL)	103±33,89	137±62,79	189±58,22^{a***b**}	169±81,43^{a***}	<0,001^{KW}
Total kolesterol (mg/dL)	185±43,28	205±28,4^{a*}	208±27,92^{a*}	185±36,48	0,003 ^{KW}

a:kontrole göre b:BAG'a göre c:BAG+BGT'ye göre
<0.05:* <0.01: ** <0,001***
ǂ:One-Way ANOVA Testi; ^{KW}: Kruskall-Wallis Testi

Tablo 4-4: Kontrol D2DM ve Prediyabet alt grupları Zonulin ve LPS değerleri

	Kontrol	BAG	BAG+BGT	T2DM	P değeri
Zonulin Aç(ng/mL)	3,43±1,12	5,04±2,97	4,21±1,50	7,20±4,62^{a***b*c**}	<0,001ǂ
Zonulin 2.saat (ng/mL)	3,56±1,31	5,77±4,5^{a**}	4,50±2,03		0,007ǂ
LPS Açlık (EU/mL)	0,25±0,12	0,37±0,27	0,33±0,17	0,67±0,46^{a***b***c***}	<0,001ǂ
LPS 2.saat (EU/mL)	0,28±0,13	0,38±0,23^{a*}	0,36±0,19		0,047ǂ

a:kontrole göre b:BAG'a göre c:BAG+BGT'ye göre
<0.05:* <0.01: ** <0,001***
ǂ:One-Way ANOVA Testi

4.2.Korelasyon analizleri

Tüm çalışma grupları ele alındığında;

Açlık zonulin değerleri ile 2.saat zonulin, açlık LPS ve 2.saat LPS değerleri arasında pozitif yönde korelasyon saptandı (sırasıyla r=0,747, p<0,001; r=0,678, p<0,001; r=0,546, p<0,001). Korelasyon grafikleri Şekil 4.5, Şekil 4.6, Şekil 4.7'de gösterilmiştir.

Zonulin 2.saat değerleri ile açlık LPS ve 2.saat LPS değerleri arasında pozitif yönde korelasyon bulundu (sırasıyla, r=0,744; p<0,001; r=0,685, p<0,01). Korelasyon grafikleri Şekil.4.8, Şekil.4.9.da gösterilmiştir.

Açlık LPS değerleri ile 2.saat LPS değerleri arasında pozitif yönde korelasyon saptandı.(r=0,863 p<0,001).Korelasyon grafiği Şekil 4.10 da gösterilmiştir.

APG değerleri ile 2.saat PG, Hba1c, VKİ, kreatinin, ürik asit, TG, açlık zonulin ve açlık LPS değerleri arasında pozitif yönde korelasyon saptandı.(sırasıyla, r=0,504, p<0,001; r=0,774, p<0,001; r=0,212, p<0,05; r=0,170, p<0,05; r=209, p<0,05; r=269 p<0,01; r=0,243 p<0,01; r=286 p<0,01)

2.saat PG değerleri ile HbA1c, insulin, CRP, VKİ, LDL, TG ve T.kolesterol değerleri arasında pozitif yönde korelasyon saptandı.(sırasıyla, r=0,513, p<0,001; r=0,357, p<0,001; r=0,208, p<0,05; r=0,368, p<0,001; r=0,280, p<0,01; r=0,443, p<0,001; r=0,325 p<0,01).

HBA1c değerleri ile açlık LPS değerleri arasında pozitif yönde zayıf korelasyon saptandı (r=0,219, p<0,01).

Insulin değerleri ile CRP, VKİ ve TG arasında pozitif yönde korelasyon saptandı (r=0,182, p<0,05; r=0,357, p<0,001; r=0,337, p<0,001).

CRP değerleri ile VKİ değerleri arasında pozitif yönde zayıf korelasyon saptandı (r=0,281, p<0,01).

Üre değerleri ile kreatinin ve ürik asit değerleri arasında pozitif yönde korelasyon saptandı (sırasıyla, r=0,420, p<0,001; r=0,256, p<0,01).

Kreatinin değerleri ile ürik asit değerleri arasında pozitif yönde orta düzeyde korelasyon saptandı (r=0,545, p<0,001).

TG değerleri ile açlık zonulin ve açlık LPS değerleri arasında pozitif yönde korelasyon saptandı (sırasıyla, r=0,227, p<0,01; r=0,181 p<0,05).

Kontrol grubu ele alındığında;

Açlık zonulin değerleri ile 2.saat zonulin, açlık LPS ve 2.saat LPS değerleri arasında pozitif yönde korelasyon saptandı (sırasıyla, r=0,710, p<0,001; r=0,458, p<0,01; r=0,346, p<0,05).

Zonulin 2.saat değerleri ile açlık LPS ve 2.saat LPS değerleri arasında pozitif yönde korelasyon bulundu (sırasıyla, r=0,611, p<0,001; r=0,586, p<0,001).

Açlık LPS değerleri ile 2.saat LPS değerleri arasında pozitif yönde korelasyon saptandı (r=0,844, p<0,001).

Prediyabetik grub ele alındığında;

Açlık zonulin değerleri ile 2.saat zonulin, açlık LPS ve 2.saat LPS değerleri arasında pozitif yönde korelasyon saptandı (sırasıyla, r=0,727, p<0,001; r=0,550, p<0,001; r=0,567, p<0,001). Korelasyon grafiği Şekil 4.11, Şekil 4.12 ve Şekil 4.13'te gösterilmiştir.

Zonulin 2.saat değerleri ile açlık LPS ve 2.saat LPS değerleri arasında pozitif yönde korelasyon bulundu (sırasıyla, r=0,742, p<0,001; r=0,683, p<0,001). Korelasyon grafiği Şekil.4.14 ve Şekil 4.15'de gösterilmiştir.

Açlık LPS değerleri ile 2.saat LPS değerleri arasında pozitif yönde korelasyon saptandı (r=0,859, p<0,001). Korelasyon grafiği Şekil.4.16.'de gösterilmiştir.

2.saat PG değerleri ile HbA1c ve TG değerleri arasında pozitif yönde korelasyon saptandı (sırasıyla, r=0,411, p<0,01; r=337, p<0,05).

İnsülin ile VKİ değerleri arasında pozitif yönde zayıf düzeyde korelasyon saptandı (r=0,359, p<0,01).

CRP ile VKİ değerleri arasında pozitif yönde zayıf düzeyde korelasyon saptandı (r=0,435, p<0,01).

Üre ile kreatinin değerleri arasında pozitif yönde zayıf düzeyde korelasyon saptandı (r=0,485, p<0,001).

Kreatinin ile ürik asit ve TG değerleri arasında pozitif yönde korelasyon saptandı (sırasıyla, r=0,410, p<0,01; r=0,296, p<0,05).

Diyabetik grub ele alındığında;

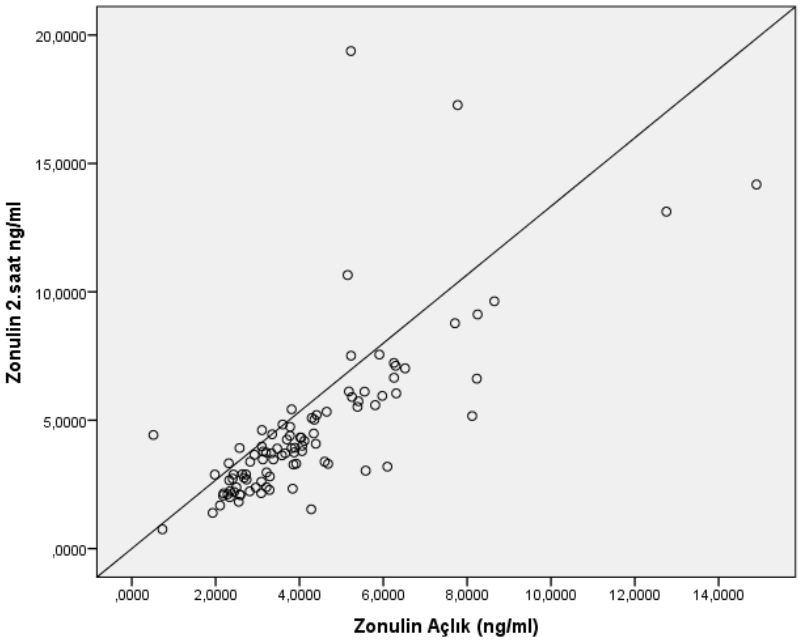
Açlık zonulin değerleri ile açlık LPS değerleri arasında pozitif yönde orta düzeyde korelasyon saptandı (r=0,620, p<0,001). Korelasyon grafiği Şekil.4.17.'de gösterilmiştir.

HbA1c ile APG değerleri arasında pozitif yönde orta düzeyde korelasyon saptandı.(r=0,590, p<0,001).

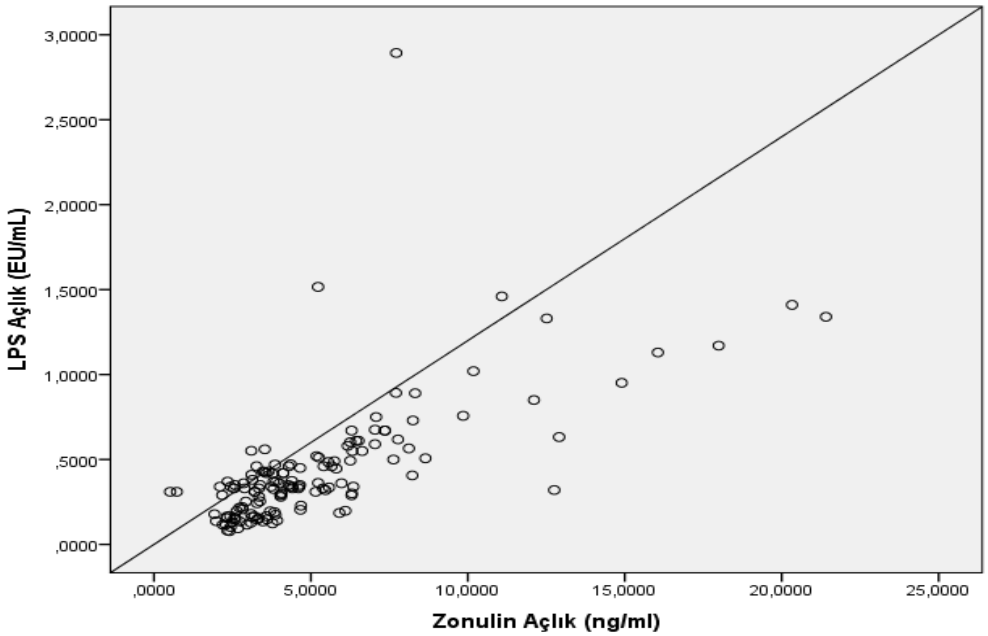
İnsülin ile CRP ve TG değerleri arasında pozitif yönde korelasyon saptandı (sırasıyla, r=0,345, p<0,05; r=426, p<0,01).

Üre ile kreatinin değerleri arasında pozitif yönde zayıf düzeyde korelasyon saptandı (r=0,331, p<0,05).

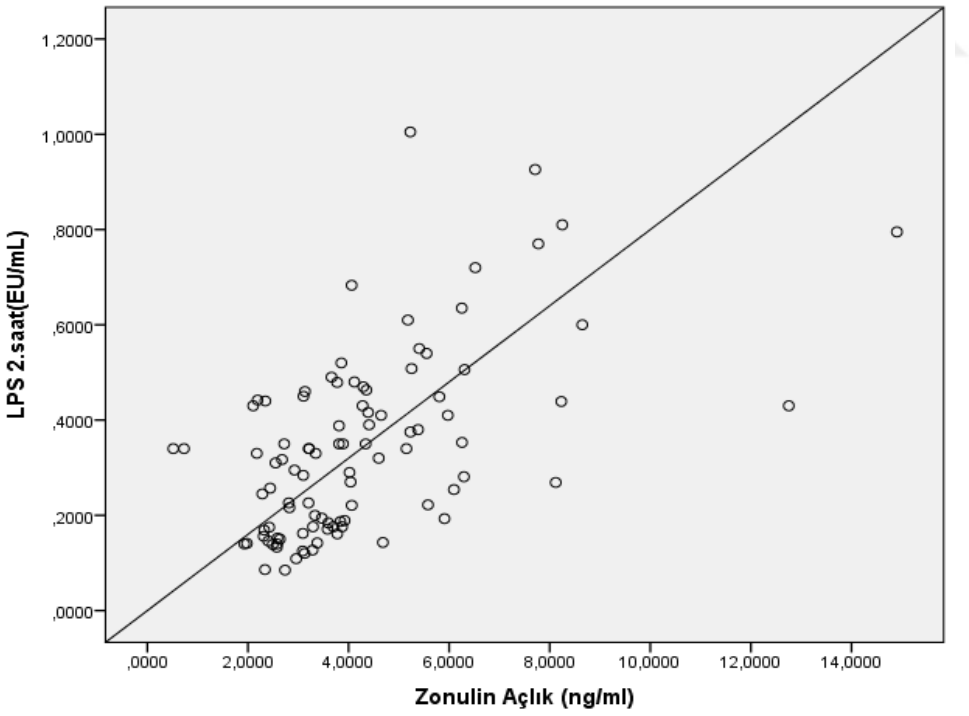
Kreatinin ile ürik asit değerleri arasında pozitif yönde yüksek düzeyde korelasyon saptandı (r=0,733, p<0,001).



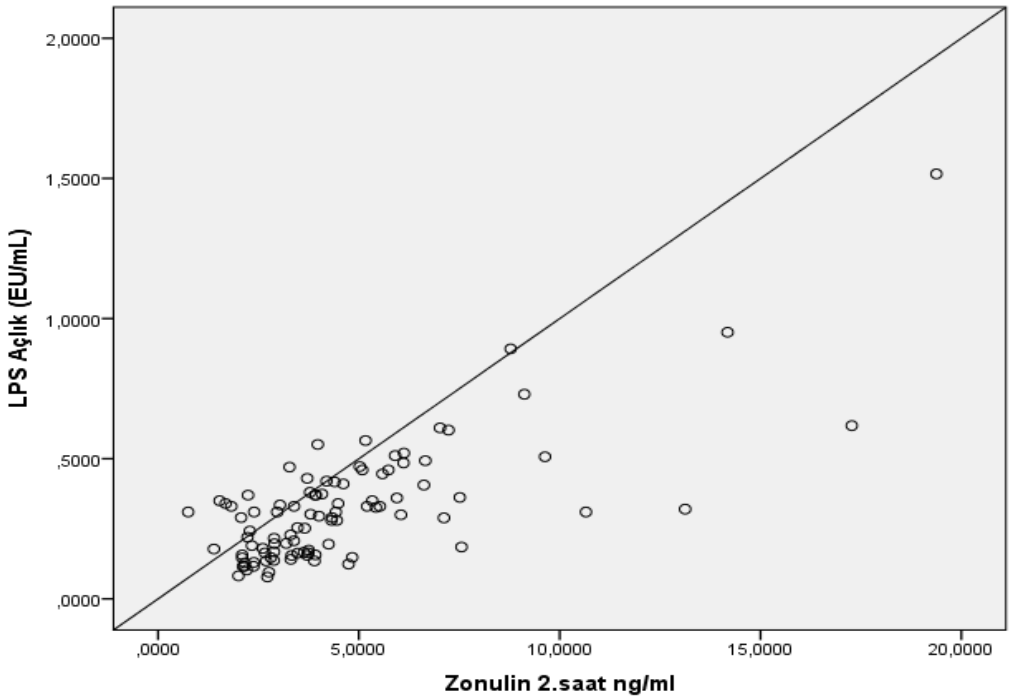
Şekil 4-5:Tüm çalışma gruplarında zonulin açlık ve 2.saat değerleri arasındaki korelasyon grafiği



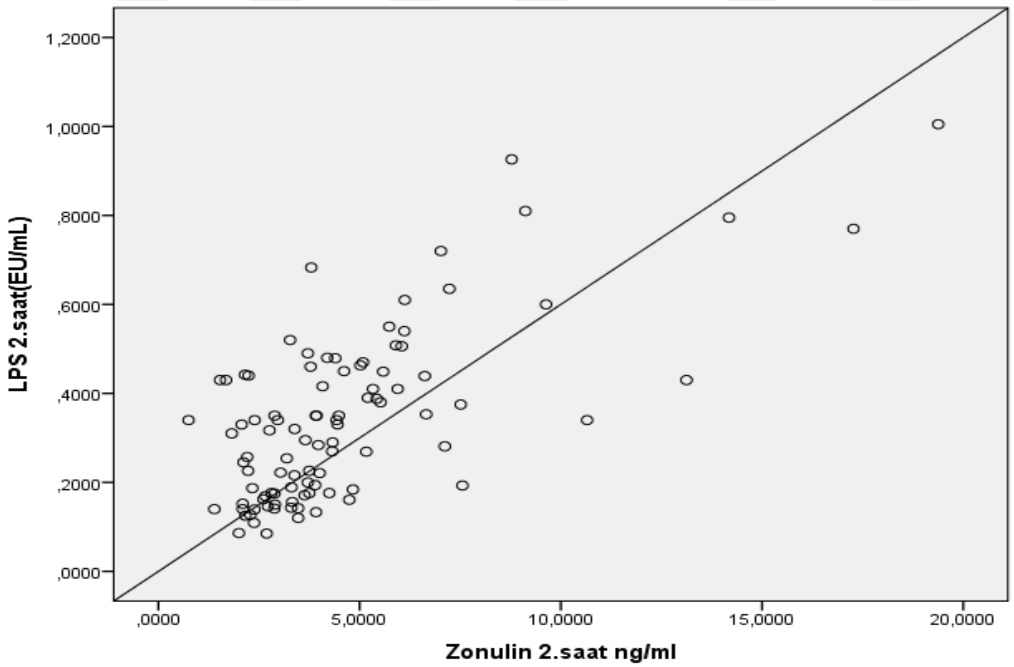
Şekil 4-6: Tüm çalışma gruplarında açlık zonulin ve açlık LPS değerleri arasındaki korelasyon grafiği



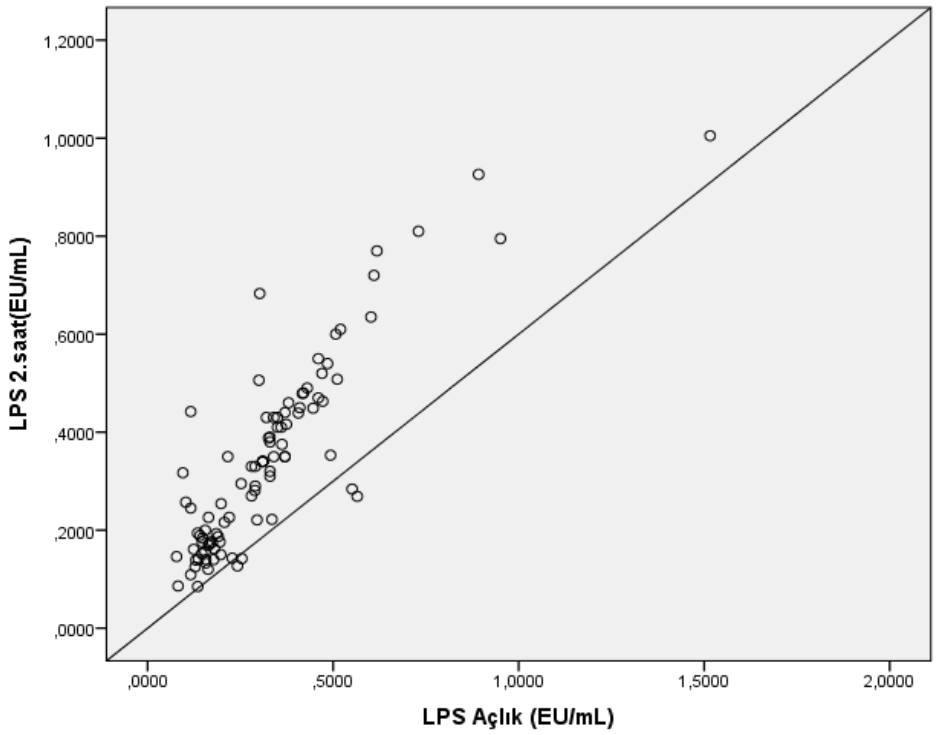
Şekil 4-7:Tüm çalışma gruplarında açlık zonulin ve 2.saat LPS değerleri arasındaki korelasyon grafiği.



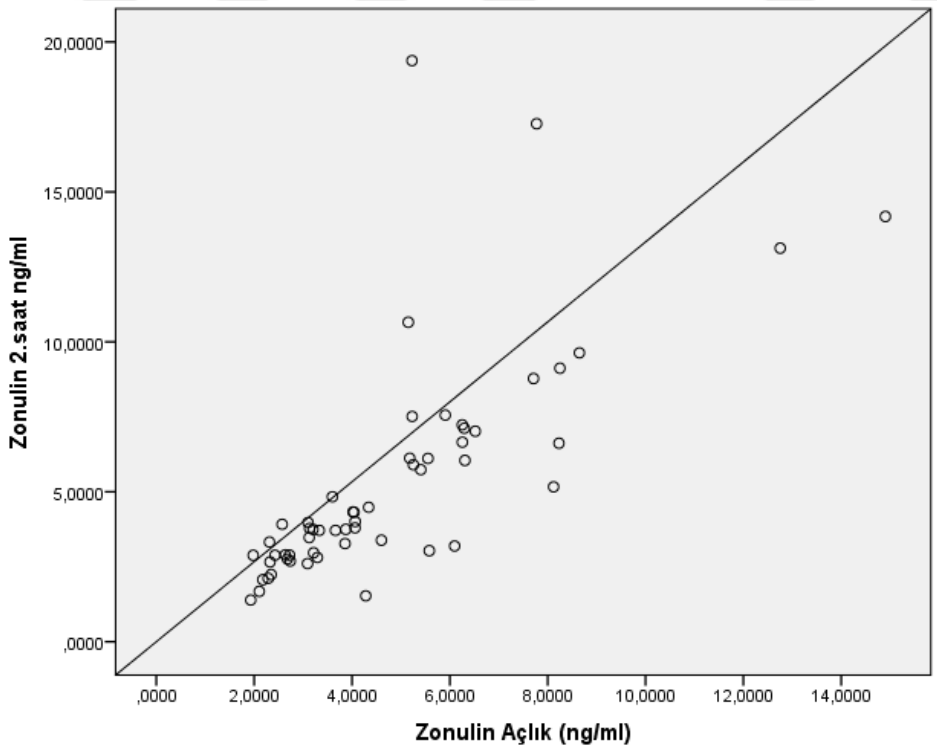
Şekil 4-8: Tüm çalışma gruplarında zonulin 2.saat ile açlık LPS değerleri arasındaki korelasyon grafiği



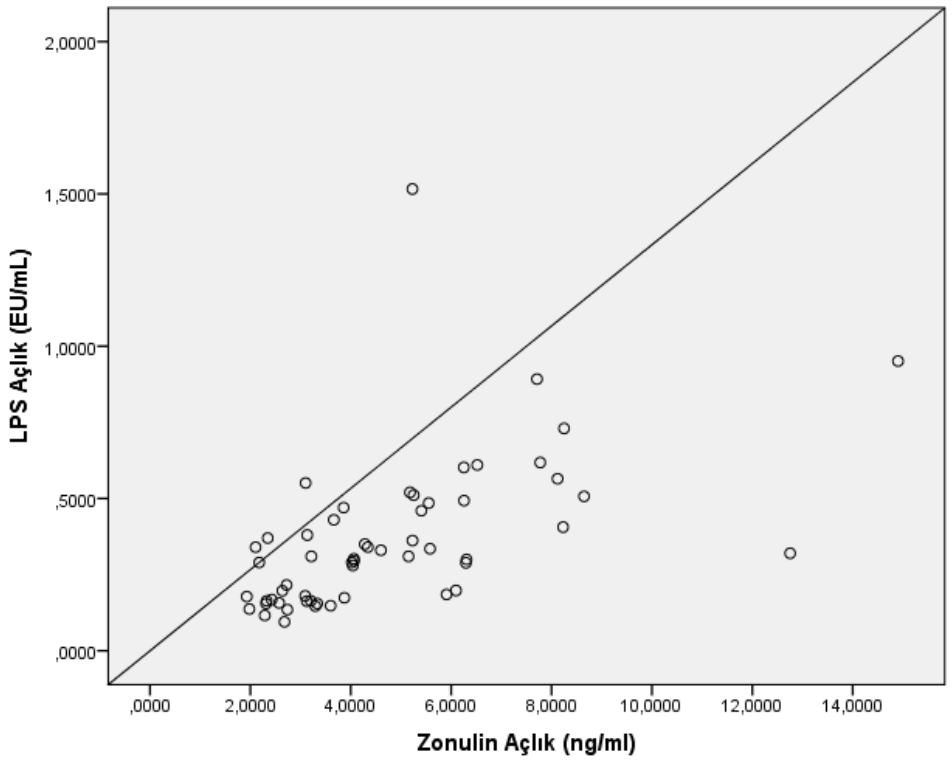
Şekil 4-9: Tüm çalışma gruplarında zonulin 2.saat ile LPS 2. saat değerleri arasındaki korelasyon grafiği



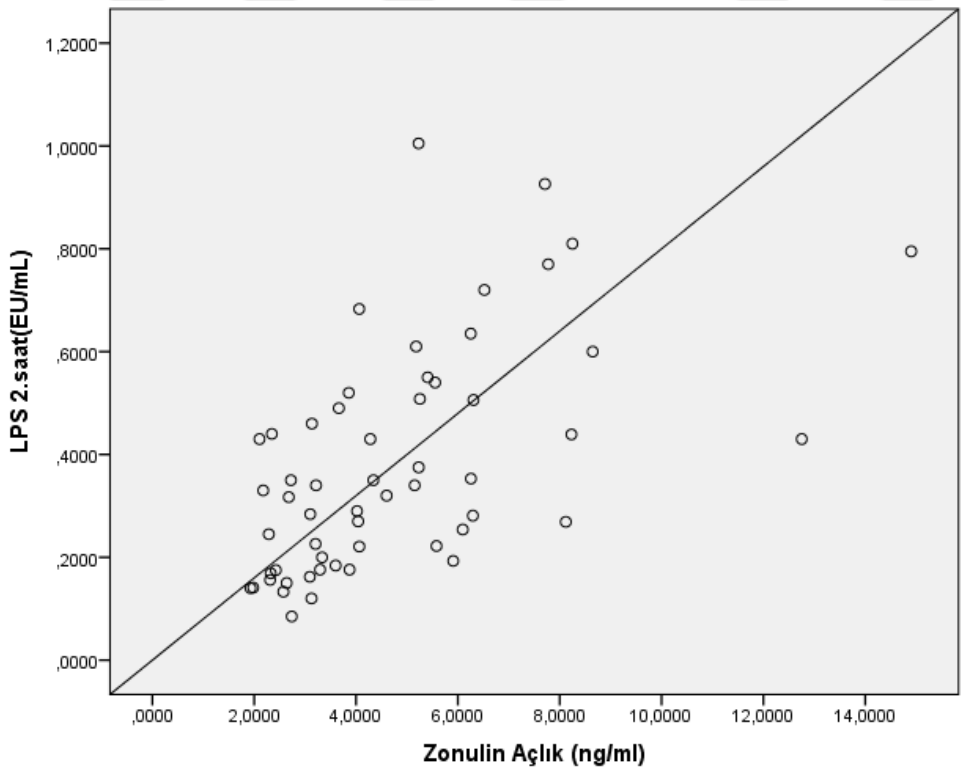
Şekil 4-10:Tüm çalışma gruplarında açlık LPS ile 2.saat LPS değerleri arasındaki korelasyon grafiği



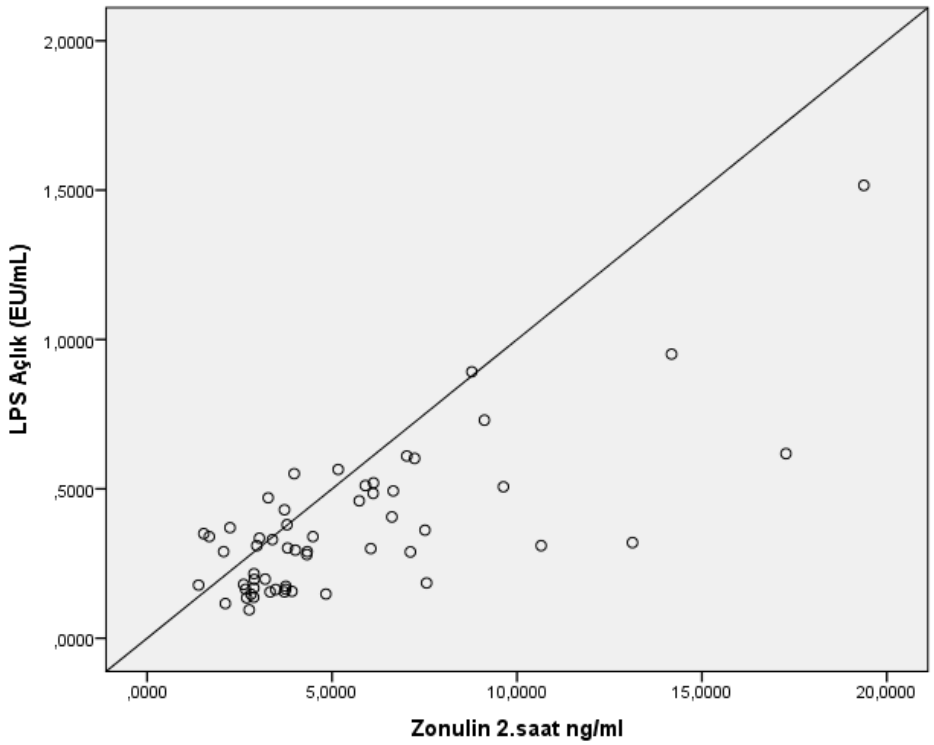
Şekil 4-11: Prediyabetik grupta zonulin açlık ve 2.saat değerleri arasındaki korelasyon grafiği.



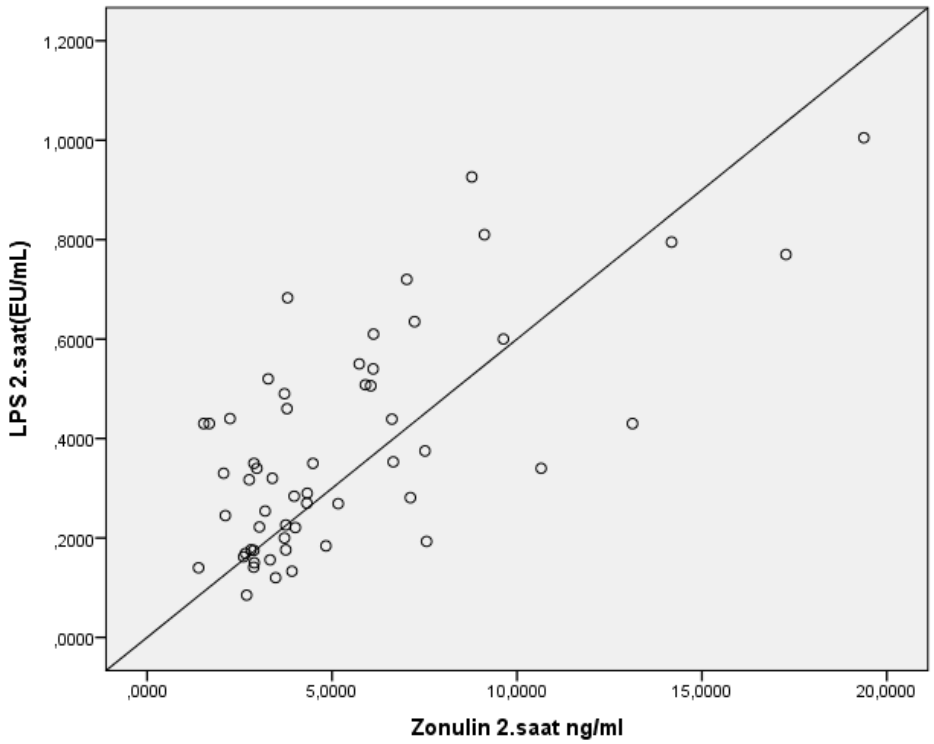
Şekil 4-12:Prediyabetik grupta zonulin açlık ve LPS açlık değerleri arasındaki korelasyon grafiği.



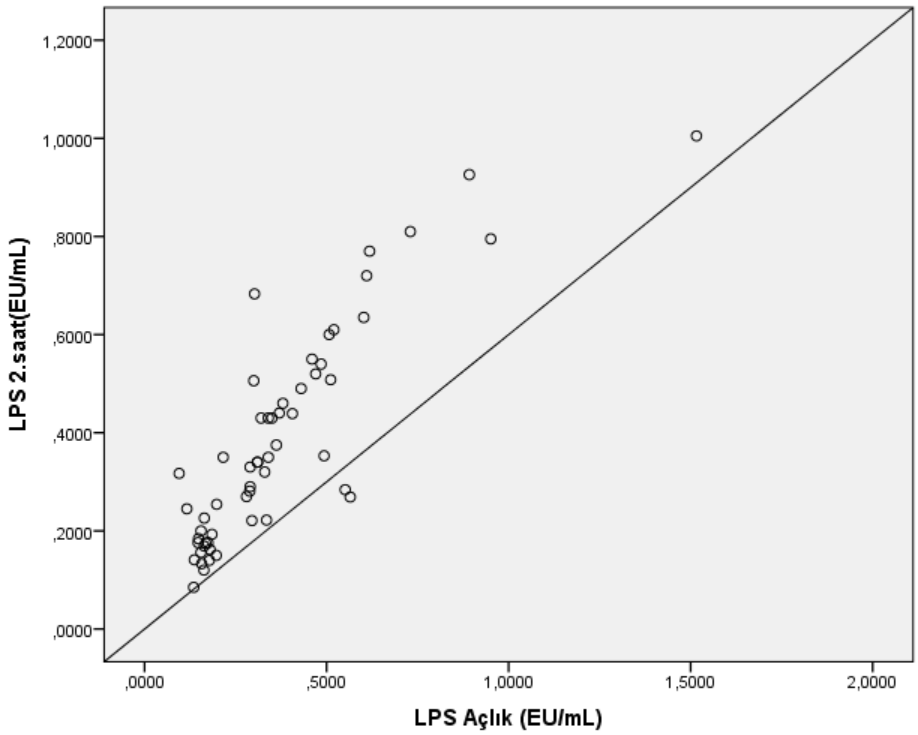
Şekil 4-13:Prediyabetik grupta zonulin açlık ve LPS 2.saat değerleri arasındaki korelasyon grafiği.



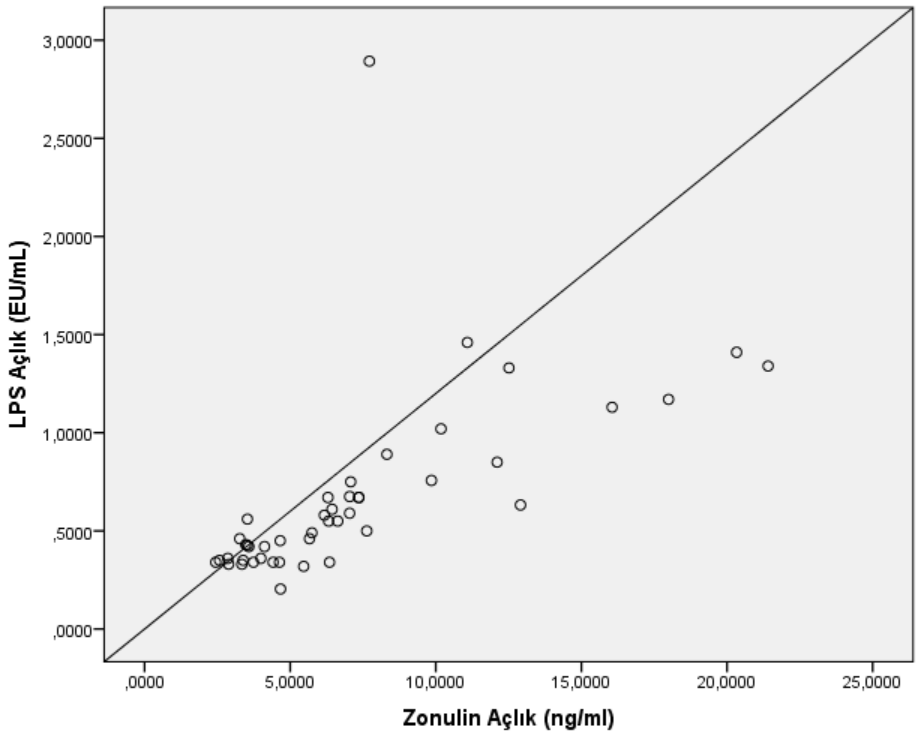
Şekil 4-14:Prediyabetik grupta zonulin 2.saat ve LPS açlık değerleri arasındaki korelasyon grafiği



Şekil 4-15:Prediyabetik grupta zonulin 2.saat ve LPS 2.saat değerleri arasındaki korelasyon grafiği.



Şekil 4-16: Prediyabetik grupta LPS açlık ve LPS 2.saat değerleri arasındaki korelasyon grafiği



Şekil 4-17: Diyabet grubunda zonulin açlık ve LPS açlık değerleri arasındaki korelasyon grafiği.

4.3. Lojistik regresyon analizi

Prediabetik-normal: Bağımlı değişken

Modeldekiler bağımsız değişken

Diabetikleri lojistik regresyona alınmadı. Lojistik regresyon sonuç değişkeni iki kategoride yapılır. Prediabetik-normal grubunda yapıldı.

Tablo 4-5:Normal ve prediabetik grubun zonulin ile lojistik regresyon analizi sonuçları

	Exp(B)	**95% GA (Alt Sınır)**	**95% GA (Üst Sınır)**	**p değeri**	**Nagelkerke R2**
Model 1					0,142
Zonulin (açlık)	1,519	1,130	2,042	0,006	
Model 2					
Zonulin 2.saat	1,359	1,073	1,721	0,011	0,133
Model 3					
Zonulin açlık	**3,101**	**1,657**	**5,801**	**<0,001**	
Kadın (ref:erkek)	1,189	0,268	5,272	0,820	
Yaş	1,072	0,930	1,235	0,340	0,751
VKİ	1,842	1,317	2,576	<0,001	
LDL	1,040	1,012	1,069	0,005	
TG	1,016	1,000	1,032	0,053	
Model 4					
Zonulin 2.saat	**2,288**	**1,139**	**3,909**	**0,002**	
Kadın (ref:erkek)	1,597	0,327	7,796	0,563	0,743
Yaş	1,103	0,967	1,257	0,145	
VKİ	1,654	1,246	2,195	<0,001	
LDL	1,048	1,017	1,080	0,002	
TG	1,018	1,001	1,035	0,034	

Lojistik regresyon uygulandı

Cinsiyet, yaş, VKİ, LDL, TG'e göre düzeltildiğinde (adjustment) zonulin açlık düzeyi prediabetik olma arasında ilişki saptandı. Aynı şekilde zonulin 2.saat değeri prediabetik olma arasında ilişki saptandı. Ayrıca LDL, VKİ'de prediabetik olma için belirleyici görülüyor. Cinsiyet ve yaş'da ilişki saptanmadı. Zonulin düzeyi, prediabetik bireylerde kontrollere göre daha yüksek görüldü. Lojistik regresyon analizinde yapılan düzeltmelerle birlikte bile zonulin düzeyi, prediabetik gruplar için bağımsız bir risk faktörü olarak değerlendirilebilir.

Tablo4-6:**Normal ve prediabetik grubun LPS ile lojistik regresyon analizi sonuçları**

	Exp(B)	**95% GA (Alt Sınır)**	**95% GA (Üst Sınır)**	**p değeri**	**Nagelkerke R2**
Model 1					0,142
Zonulin (açlık)	1,519	1,130	2,042	0,006	
Model 2					
Zonulin 2.saat	1,359	1,073	1,721	0,011	0,133
Model 3					
LPS Açlık (EU/mL) (0,01 EU/mL artış)	30,825	1,734	548,032	0,020	0,097
Model 4					
LPS 2.saat (EU/mL) (0,01 EU/mL artış)	20,994	1,636	269,342	0,019	0,087
Model 5					
Zonulin açlık	**3,101**	**1,657**	**5,801**	**<0,001**	
Kadın (ref:erkek)	1,189	0,268	5,272	0,820	
Yaş	1,072	0,930	1,235	0,340	0,751
VKİ	1,842	1,317	2,576	<0,001	
LDL	1,040	1,012	1,069	0,005	
TG	1,016	1,000	1,032	0,053	
Model 6					
Zonulin 2.saat	**2,288**	**1,139**	**3,909**	**0,002**	
Kadın (ref:erkek)	1,597	0,327	7,796	0,563	0,743
Yaş	1,103	0,967	1,257	0,145	
VKİ	1,654	1,246	2,195	<0,001	
LDL	1,048	1,017	1,080	0,002	
TG	1,018	1,001	1,035	0,034	
Model 7					
LPS Açlık (EU/mL) (0,01 EU/mL artış)	**1,100**	**1,041**	**1,163**	**0,001**	
Kadın (ref:erkek)	1,167	0,275	4,959	0,835	
Yaş	1,117	0,985	1,267	0,085	0,706
VKİ	1,832	1,320	2,543	<0,001	
LDL	1,035	1,010	1,060	0,005	
TG	1,012	0,998	1,026	0,104	
Model 8					
LPS 2.saat(EU/mL) (0,01 EU/mL artış)	**1,102**	**1,042**	**1,166**	**0,001**	
Kadın(ref:erkek)	1,221	0,276	5,397	0,793	0,725
Yaş	1,153	1,000	1,330	0,050	
VKİ	1,875	1,338	2,625	<0,001	
LDL	1,042	1,015	1,071	0,003	
TG	1,011	0,988	1,025	0,103	

Lojistik regresyon uygulandı

LPS düzeyi, prediabetik bireylerde kontrollere göre daha yüksek görüldü. Lojistik regresyon analizinde yapılan düzeltmelerle birlikte bile LPS düzeyi, prediabetik gruplar için bağımsız bir risk faktörü olarak değerlendirilebilir.

TARTIŞMA

Tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de T2DM ve BGT prevalansı giderek artmaktadır. Prediyabetli bireyler genellikle fazla kilolu, insülin direnci ve düşük dereceli inflamasyonla ortaya çıkarlar. Prediyabetiklerde yaklaşık 5 yılda T2DM gelişme ve iskemik kardiyovasküler hastalık riski artar [93].

Bağırsak, enerji homeostazında önemli nöroendokrin role sahip endokrin bir organdır. Birçok bağırsak hormonunun glukoz homeostazında yer aldığına dair bulgular mevcuttur [94]. Zonulin, makromoleküllerin metabolik yolları için önemli olan, hücreler arası ‘’sıkı bağlantıların’’ bilinen tek fizyolojik modülatörüdür. Bu nedenle, mukozal immün yanıtın ve toleransın düzenlenmesinde anahtar rol oynayan protein olup bağırsak geçirgenliği hakkında bilgi verir [5]. Bazı çalışmalar, değişmiş bağırsak mikrobiyota kompozisyonu ve fonksiyonunun aşikâr T2DM ile ilişkili olduğunu öne sürmüştür [95,99]. Son zamanlarda, bağırsak bariyeri disfonksiyonu ile obezite [100,101], alkolsüz yağlı karaciğer hastalığı [102] ve T2DM [100,103] gibi metabolik hastalıklar arasında bağlantı olduğu gösterildi. Diyabetin aynı zamanda, ağırlıklı olarak bağırsak hastalığı olduğu düşünülmektedir [104]. Ancak prediyabetik hastalarda bağırsak geçirgenliği hakkında sonuçlar yetersizdir. Bu tez çalışmasında prediyabetik ve T2DM hastalarda zonulin ve LPS düzeyleri arasındaki ilişki ve akut hiperglisemik stresin bağırsak geçirgenliği parametrelerine etkisi araştırıldı.

Çalışmalar daha önce otoimmün hastalıkta zonülinin rolünü ele almıştır. Zonülin’in, hayvan modellerinde T1DM'nin patogenezinde yer aldığı bildirilmiştir [105] ve artmış serum zonulin düzeylerinin, insanlarda T1DM ve Crohn hastalığı gibi birçok otoimmün hastalıkla ilişkili olduğu bildirilmiştir [106,107]. Son kanıtlar intestinal permeabilitenin metabolik hastalıklarda olası bir rol oynadığını gösterdiğinden, zonülin’in metabolik hastalıklarla ilişkisine daha fazla dikkat edilmektedir. Çalışmalar, beyaz obez kişilerde [9] ve Hint T2DM hastalarında [92], yeni tanı konulan Çin T2DM [10] hastalarında serum zonulin seviyelerinin arttığını göstermiştir, ancak prediabetiklerde çalışılmamıştır. Bildiğimiz kadarıyla, prediabetiklerde dolaşımdaki zonulin ve LPS düzeylerini tanımlayan ilk çalışmadır.

Çalışmamızda T2DM grubunda zonulin ve LPS açlık düzeyleri hem kontrol hem de prediyabet grubuna göre anlamlı yüksek bulundu. Prediyabet grubu ile kontrol grubu

arasında fark bulunmazken zonulin ve LPS 2.saatinde prediyabet grubunda kontrol grubuna göre yüksek bulundu. Prediyabetiklerde açlık zonulin düzeyleri ile 2. saat zonulin, açlık LPS ve 2.saat LPS arasında pozitif korelasyon saptandı. Zonulin başta karaciğer olmak üzere bağırsak, yağ dokusu, beyin, kalp, akciğer, böbrek ve deriden de sekrete edilmektedir [13,14]. Zonulin ile LPS arasında korelasyon olduğuna göre bu çalışmada ölçülen zonulin muhtemelen bağırsak kaynaklıdır. Zonulin ve LPS birlikteliğine inflamasyon aracılık edebilir. Zonulin bir intestinal permeabilite belirteci olduğundan intestinal permeabilite ile inflamasyon arasında güçlü bir ilişki olabilir. Bununla birlikte, daha fazla araştırma gereklidir. İleride hasta sayısı arttırılarak yapılacak çalışmalarda yüksek zonulin konsantrasyonu, obeziteye ve İD'ne bağlı metabolik bozukluklara yol açan bağırsak geçirgenliği üzerinde olumsuz etkiler gösterebilir.

Zonulin ve İD arasındaki ilişkiyi gösteren çalışmalar arasında çelişkili sonuçlar vardır. Zonulinin, glukoz ve insülin metabolizmasındaki rolüyle ilgili çelişkili sonuçlar, çalışmaların farklı deneysel ayarlarından kaynaklanabilir ve sadece hormonun akut etkilerini veya konsantrasyonundaki akut değişiklikleri temsil edebilir. Aynı zamanda zonulin'in, insülin ve glukoz metabolizması üzerindeki uzun vadeli fizyolojik etkileri üzerine yapılan çalışmalarda bulunmamaktadır. Zonulin'in fizyolojisinin karmaşıklığı göz önüne alındığında, akut glukoza verilen tepkilerin değiştiği koşulları belirlemek de önemlidir.

Moreno-Navarrete ve ark.[9] insanlarda bağırsak geçirgenliği ve obeziteye bağlı metabolik bozukluklar arasındaki ilişkiyi araştırdıkları çalışmalarında serum zonulin seviyelerinin İD ile pozitif korele olduğunu bildirdiler. Sonuç olarak dolaşımdaki zonulin konsantrasyonu, obeziteye bağlı metabolik bozukluklarla ilişkilendirildi [9]. Bu çalışmada aynı zamanda çok değişkenli lojistik regresyon analizi yapıldığında zonülinin yaş, cinsiyet, VKİ, bel kalça oranı (WHR), lipid profilinin ayarlanmasından sonra bile T2DM ile anlamlı şekilde ilişkili olduğunu, zonülinin T2DM'nin bağımsız bir belirleyicisi olabileceğini bildirdiler.

Zak-Golab ve ark. [108] zonulin düzeyleri ile HOMA-IR arasında bir ilişki bulamamışlardır.

Bizim çalışmamızda da Zak-Golab ve ark. [108] çalışmasına benzer şekilde tüm gruplarda zonulin düzeyleri ile HOMA-IR arasında bir ilişki saptanmamıştır. Ancak çalışmamızda, kontrol ve prediabetiklerde çok değişkenli lojistik regresyon analizi

yapıldığında zonülinin cinsiyet, yaş, VKİ, LDL ve TG'e göre düzeltildiğinde (adjustment) zonulin açlık düzeyi prediabetik olma arasında ilişkili olduğunu göstermiştir. Aynı şekilde zonulin 2.saat değeri prediabetik olma arasında ilişki saptandı. Ayrıca LDL, VKİ'de prediabetik olma için belirleyici görülüyor. Ancak cinsiyet ve yaş ile ilişki saptanmamıştır. Zonulin düzeyi, prediabetik bireylerde kontrollere göre daha yüksek görüldü. Sonuç olarak lojistik regresyon analizinde yapılan düzeltmelerle birlikte bile zonulin düzeyi, prediabetik gruplar için bağımsız bir risk faktörü olarak değerlendirilebilir. İlerde yapılacak benzer çalışmalarla zonulin prediabetin patofizyolojisinde rol alacakmış gibi gözüküyor.

Horton ve ark. [109] T2DM hastalarında artmış bağırsak geçirgenliğini göstermişlerdir. Başka bir çalışmada yeni tanı konulan T2DM hastalarında serum zonülin düzeylerinin belirgin şekilde yükseldiği gösterilmiştir. Zonulin düzeylerinin dislipidemi, inflamasyon ve insülin direnci ile ilişkili olmasının T2DM patofizyolojisindeki potansiyel rolünü gösterdiğini bildirmişlerdir [106].

Bakteriyel endotoksinler / LPS'ler akut ve kronik inflamasyonlarda merkezi bir rol oynar. LPS, sitokin salınımı ve bağışıklık sistemi aktivasyonu ile karakterize edilen doğal bağışıklık tepkisini tetikler. Bu potansiyel olarak zararlı bakteriler, oral mukoza ve gastrointestinal, genitoüriner ve solunum yolları dahil olmak üzere vücudun farklı bölgelerinde kolonileşebilir [110].

Nymark ve ark. [111] yüksek serum LPS aktivitesi, T1DM'li Finli hastalarda diyabetik nefropati gelişimi ile ilişkili olduğunu göstermişlerdir. Aynı çalışmada, düşük glisemik kontrolün ve yüksek serum LPS aktivitesinin, mikroalbüminüri gelişen hastalarda böbrek hastalığı gelişimi ile ilişkili olduğunu gösterdiler.

Lassenius ve ark. [112] yüksek serum LPS aktivitesi, metabolik sendrom (MetS) bileşenleriyle güçlü bir şekilde ilişkili olduğunu bildirdiler. Böbrek hastalığı olan diyabetik hastalar, metabolik endotoksemiye IgA glomerülonefritli (IgAGN) hastalardan daha duyarlı gibi göründüğünü bildirmişlerdir. Ayrıca endotokseminin, diyabet için bağımsız bir risk faktörü olduğunu bildirdiler. Gram negatif bakterilerden türetilen endotoksinlerin in vivo MetS değişkenleriyle güçlü bir şekilde ilişkili olduğunu gösterdiler. Böylece bakteriyel endotoksinlerin, obezite ve diyabetle ilişkili hastalıklarda sık görülen metabolik ve vasküler anormalliklerin gelişiminde önemli bir rol oynayabilceğini öne sürmüşlerdir.

Creely ve ark. [88] T2DM bireylerde, dolaşımdaki LPS düzeylerini kontrollere göre % 76 daha yüksek ve serum LPS'nin zayıf sağlıklı kişilere göre daha yüksek olduğunu saptadılar. Ayrıca, insülin ile endotoksin arasında hiperinsülinemik / insüline dirençli obez fenotipte önemli bir ilişki olduğunu belirttiler. Obez ve T2DM hastalarından alınan adipoz dokuda doğuştan gelen immün sistem yolu faktörlerinin artmış ekspresyonunun bulunmasıyla birlikte, LPS'nin bu bireylerde görülen subklinik inflamasyonu başlatmada rol oynadığını bildirdiler. Dolayısıyla, diyabetik bireylerin endotoksin yoluyla inflamasyon riskine daha fazla maruz kaldıkları görülmektedir. Sonuç olarak, bu çalışma obezite ile ilişkili T2DM'nin patogenezinde ve doğal immün yanıtta bağırsak florası için potansiyel bir rol öne sürmektedir.

Jayashree ve ark. [92] çalışmalarında T2DM hastalarda LPS ve zonulin (bağırsak geçirgenliğinin bir belirteci) ve sistemik düzeylerinde serum tümör nekroz faktörü-α (TNF-α) ve interlökin-6 (IL-6) seviyelerini kontrol gruplarıyla karşılaştırmayı amaçladılar. T2DM'li hastalarda serum LPS, LPS aktivitesi, TNF-α ve IL-6 düzeylerini kontrol grubuna göre anlamlı olarak arttığını saptadılar. Regresyon analizi, artmış LPS seviyelerinin T2DM ile anlamlı şekilde ilişkili olduğunu göstermiştir. LPS aktivitesinin zonulin, açlık plazma glukozu, 2. saat glukoz, HbA1c, TG, TNF-α, IL-6 ile anlamlı ve pozitif ve HDL kolesterol ile negatif olarak korele olduğunu gösterdiler. Diğer metabolik anormallikler ile birlikte dolaşımdaki yüksek LPS seviyeleri diyabetin kendisinin ve ayrıca mikro ve makrovasküler komplikasyonların gelişmesi için güçlü bir risk teşkil edebileceğinden, LPS aktivitesinin ölçümü, metabolik risk profili değeri tahmin etmek için yeni bir biyobelirteç aracı olarak görünüyor. T2DM hastalarda artan serum LPS ve zonulin düzeyleri, diyabet patogenezinde ortaya çıkan bağırsak ve bağırsak mikrobiyotasının rolünün anlaşılmasına yardımcı olmaktadır. Jayashree ve ark.[92]'nın çalışmasının sonuçları LPS / zonulin'in proinflammasyon ve zayıf glisemik kontrolün yeni biyobelirteçleri olabileceğini düşündürmektedir.

Çeşitli çalışmalar, değişmiş bağırsak mikrobiyota kompozisyonu ve fonksiyonunun aşikâr T2DM ile ilişkili olduğunu ileri sürmüştür [95-98]. Allin ve ark [113] prediyabetik bireylerde spesifik bağırsak mikrobiyota profillerini belirlediler. Sonuç olarak, T2DM ve iskemik kardiyovasküler hastalığın öncü durumu olan prediyabetli bireylerin, Clostridium cinsi ve müsin-degrade eden bakteri A. muciniphila cinsinin arttığı ile karakterize, anormal intestinal mikrobiyota sahip olduklarını gösterdiler. Ancak prediyabetli veya aşikâr T2DM hastaları arasında A. muciniphila'nın

artması ile ilgili önceki bulgular çelişkilidir. Bazı araştırmacılar farklılık olmadığını [95], artmış [97] ve azalmış [99] olduğunu bildirmişlerdir. Bu farklılıkların nedeni, metforminin Akkermansia seviyelerini arttırması ile ilgili olması muhtemeldir [114]. Yakın zamanda yapılan çalışmalar ile metformin alan bireylerde A. muciniphila'nın arttığını gösteren bu bulgu desteklenmektedir [115,116]. İlginç bir şekilde, sıçanlarda A. muciniphila'nın oral yoldan uygulanmasının glukoz toleransını ve insülin direncini arttırdığını [114,117], adipoz doku inflamasyonunu azalttığını gösterilmiştir. Bu mekanizmanın muhtemelen Toll benzeri reseptör 2 sinyali [118] yoluyla olabileceğini bildirmişlerdir. Bu çalışmanın sonuçları prediyabetiklerde bağırsak mikrobiyal değişikliklerinin, düşük dereceli inflamasyonun bir işareti olabileceğini düşündürmektedir.

Çalışmamızda ilk kez açlık LPS düzeyleri T2DM grubunda hem kontrol hem de prediyabet grubuna göre yüksek bulunduğu gösterilmiştir. Prediyabet grup ile kontrol grubu arasında fark bulunamadı. 2.saat LPS düzeyleri prediyabet grubunda kontrol grubuna göre yüksek bulundu. Açlık zonulin değerleri ile açlık LPS arasında pozitif korelasyon saptandı. Diyabetik grup ele alındığında açlık zonulin değerleri ile açlık LPS değerleri arasında pozitif yönde orta düzeyde korelasyon saptandı. CRP ile insülin arasında pozitif yönde korelasyon saptandı. Lojistik regresyon analizi sonuçlarına göre; LPS düzeyi, prediyabetik bireylerde kontrollere göre daha yüksek görüldü. Lojistik regresyon analizinde yapılan düzeltmelerle birlikte bile LPS düzeyi, prediabetik gruplar için bağımsız bir risk faktörü olarak değerlendirilebilir. Bizim çalışmamız ve diğer çalışmalar göstermiştirki bakteriyel endotoksinler, obezite ve diyabetle ilişkili hastalıklarda sık görülen metabolik ve vasküler anormalliklerin gelişiminde önemli bir rol oynayabilir. Bu gözlemlerin klinik etkileri olabilir, çünkü yüksek LPS aktivitesi, dislipidemi belirtileri, İD, fazla kilolu ve çeşitli inflamasyon riskini artıran mikro ve makrovasküler komplikasyon riskini artıran faktörlerde görülen bireylerde daha fazla bulunur. Gram negatif bakteriyel enfeksiyonların diyabetli hastalarda rolünü açıklamak için ileri çalışmalar gereklidir. Gelecekte, bakteriyel patojenlerin tanımlanması, bu hastalar için daha etkili tedaviler bulmamıza yardımcı olabilir, bu da diyabet komplikasyonlarının ilerlemesini geciktirebilir.

Dolaşımdaki LPS / zonulin seviyelerinin artmasına neden olan mekanizmaları ve hücresel etkilerini hem önleme açısından hem de T2DM'yi tedavi etmek ve kontrol

altına almak, yeni terapötik önlemler, faydalı bir şekilde kullanabilecek faktörleri anlamak için daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır.

Sonuç olarak sistemik dolaşımda artmış zonulin düzeylerinin prediyabetiklerde ve özellikle T2DM'da bağırsak geçirgenliği artışını gösteren önemli bir biyobelirteç olabilir. Glukoz bağırsaklardaki ortamı bozarak geçirgenliği arttırabilir. Ancak hem açlık hemde 2.saat serum zonulin ile LPS arasında ilişki olduğu tespit edilmekle birlikte glukozun akut olarak artmasının bir sebep mi, yoksa primer hastalık sürecinin bir sonucu mu olduğu net değildir. Artmış glukoz düzeyleri, LPS'yi arttırarak zonulin'in aktivasyonuna yol açabilir. Ortaya çıkan veriler bağırsaktan türetilmiş endotoksinin (metabolik endotoksemi) İD'den bağımsız olarak düşük dereceli sistemik inflamasyona katkıda bulunabileceğini göstermektedir. Bu nedenle, zonülinin varlığı sadece bağırsak geçirgenliğini yansıtmayabilir, aynı zamanda inflamasyona ikincil bir reaksiyonu yansıtabilir.

Diyabetin erken evrelerinden itibaren kimde bağırsak geçirgenliği gelişeceğine dair belirteçlere ve risk faktörü profillerine ihtiyaç vardır. Diyabette ve prediyabette bağırsak bariyer fonksiyon kaybının etiyolojisi daha netleştikçe mekanizmaya yönelik tedaviler planlanarak hastalar bağırsak fonksiyon açısından korunmalıdır. Prediyabetik ve T2DM hastalarda bağırsak geçirgenliğinin bozulması serumdaki zonulin seviyelerini tayin ederek bağırsak geçirgenliği için "altın standart" sayılan ve zonulin düzeyleri ile güçlü bir şekilde korele olduğu gösterilmiş olan ''laktuloz-mannitol testi''ne gerek kalmaksızın belirlenebilecektir. Yakın gelecekte otoimmun ve kronik hastalıklarda bağırsak hücreleri arasındaki sıkı bağlantıların devamınını sağlayan zonulin'in laktuloz-mannitol testi gibi bağırsak geçirgenliği artışını gösteren önemli bir biyobelirteç olabileceği görüşündeyiz. Ancak, bulgularımızın rutin klinik uygulamalara yansıyabilmesi için serum zonulin düzeylerinin aynı zamanda feçes'te de bakıldığı kapsamlı deneysel ve klinik araştırmalara gereksinim vardır. Çalışmamız bundan sonra yapılacak projelere yol gösterici olacaktır.

KAYNAKLAR

1. Rao Kondapally Seshasai S, Kaptoge S, Thompson A, Di Angelantonio E, Gao P, Sarwar N, ve ark.; Emerging Risk Factors Collaboration. Diabetes mellitus, fasting glucose, and risk of cause-specific death. N Engl J Med. 2011; 364: 829-841.
2. Balkau B. The DECODE study. Diabetes epidemiology: collaborative analysis of diagnostic criteria in Europe. Diabetes Metab. 2000; 26: 282-6.
3. Engberg S, Vistisen D, Lau C, Glumer C, Jorgensen T, Pedersen O, ve ark. Progression to impaired glucose regulation and diabetes in the population-based Inter99 study. Diabetes Care. 2009; 32: 606–611.
4. Morris DH, Khunti K, Achana F, Srinivasan B, Gray LJ, Davies MJ, ve ark. Progression rates from HbA1c 6.0-6.4% and other prediabetes definitions to type 2 diabetes: a meta-analysis. Diabetologia. 2013; 56: 1489–1493.
5. Fasano A. Zonulin and its regulation of intestinal barrier function: the biological door to inflammation, autoimmunity, and cancer. Physiological reviews, 2011; 91: 151-175.
6. Fasano A, Shea-Donohue T. Mechanisms of disease: the role of intestinal barrier function in the pathogenesis of gastrointestinal autoimmune diseases. Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology, 2005; 2: 416.
7. Vajro P, Paolella G, Fasano A. Microbiota and gut-liver axis: their influences on obesity and obesity-related liver disease. J Pediatr Gastroenterol Nutr. 2013; 56: 461-468.
8. Sturgeon C, Fasano A. Zonulin, a regulator of epithelial and endothelial barrier functions, and its involvement in chronic inflammatory diseases. Tissue Barriers. 2016; 4: e1251384.
9. Moreno-Navarrete JM, Sabater M, Ortega F, Ricart W, Fernández-Real JM. Circulating zonulin, a marker of intestinal permeability, is increased in association with obesity-associated insulin resistance. PLoS One. 2012; 7: e37160.

10. Zhang D, Zhang L, Zheng Y, Yue F, Russell RD, Zeng Y. Circulating zonulin levels in newly diagnosed Chinese type 2 diabetes patients. Diabetes Res Clin Pract. 2014; 106: 312-318.
11. Stenman LK, Lehtinen MJ, Meland N, Christensen JE, Yeung N, Saarinen MT, ve ark. Probiotic With or Without Fiber Controls Body Fat Mass, Associated With Serum Zonulin, in Overweight and Obese Adults-Randomized Controlled Trial. EBioMedicine. 2016; 13: 190-200.
12. Wang L, Llorente C, Hartmann P, Yang AM, Chen P, Schnabl B. Methods to determine intestinal permeability and bacterial translocation during liver disease. J Immunol Methods. 2015; 421: 44-53.
13. Wang W, Uzzau S, Goldblum S.E, Fasano A. Human zonulin, a potential modulator of intestinal tight junctions. J. Cell Sci. 2000; 113: 4435-4440.
14. Vanuytsel T,Vermeire S, Cleynen I. The role of haptoglobin and its related protein, zonulin, in inflammatory bowel disease. Tissue Barriers. 2013; 1: e27321.
15. Tarantino G, Finelli C. Systematic review on intervention with prebiotics/probiotics in patients with obesityrelated nonalcoholic fatty liver disease. Future Microbiol. 2015; 10: 889-902.
16. Ciubotaru I, Green SJ, Kukreja S, Barengolts E. Significant differences in fecal microbiota are associated with various stages of glucose tolerance in African American male veterans. Transl Res. 2015; 166: 401-411.
17. Barengolts E. Vitamin D and prebiotics may benefit the intestinal microbacteria and improve glucose homeostasis in prediabetes and type 2 diabetes. Endocr Pract. 2013; 19: 497-510.
18. Gnauck A, Lentle RG, Kruger MC. The Characteristics and Function of Bacterial Lipopolysaccharides and Their Endotoxic Potential in Humans. Int Rev Immunol. 2016; 35: 189-218.
19. Tanrıverdi MH, Çelepkolu T, Aslanhan H. Diyabet ve birinci basamak sağlık hizmetleri. Journal of Clinical & Experimental Investigations 2013; 4: 562-567.
20. American Diabetes Association. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. Diabetes Care. 2010; 33 Suppl 1: S62-S69.

21. Aksoy DY, Gürlek A. Tip 2 diyabetin tedavisinde yeni umut: Thiazolidinedionlar. Hacettepe Tıp Dergisi 2004; 35: 123-126.
22. Ayhan D, Kahveci R, Koç EM, Sencan İ, Kasım İ, Özkara A ve ark. Ceza İnfaz Kurumlarında Diyabet Yönetimi. Ankara Medical Journal 2012; 12: 199-204.
23. Altınova AE, Yetkin İ. Tip 1 Diabetes Mellitus'a Yatkınlıkta Rolü Olabilecek Genetik Faktörler. Marmara Med J 2011; 24: 126-130.
24. Çetinkalp Ş. Diyabet Tedavisinde Oral Antidiyabetiklerin Bugünü ve Yarını. Ege Diyabet ve Çalışma Grubu 2005; 1: 1-15.
25. Shaw JE, Sicree RA, Zimmet PZ. Global estimates of the prevalence of diabetes for 2010 and 2030. Diabetes Research and Clinical Practice 2010; 87: 4-14.
26. Cho NH, Shaw JE, Karuranga S, Huang Y, da Rocha Fernandes JD, Ohlrogge AW, ve ark. IDF Diabetes Atlas: Global estimates of diabetes prevalence for 2017 and projections for 2045. Diabetes Res Clin Pract. 2018; 138: 271-281.
27. Satman I, Yilmaz T, Sengul A, Salman S, Salman F, Uygur S. ve ark. Population-based study of diabetes and risk characteristics in Turkey: results of the turkish diabetes epidemiology study (TURDEP). Diabetes Care. 2002; 25: 1551-1556.
28. Satman I, Omer B, Tutuncu Y, Kalaca S, Gedik S, Dinccag N. ve ark. Twelve-year trends in the prevalence and risk factors of diabetes and prediabetes in Turkish adults. European journal of epidemiology. 2013; 28: 169-180.
29. Satman İ. TURDEP-II Çalışması ilk sonuçlar, 32.TEMH Kongresi, 13¬17 Ekim 2010, Antalya Kongre Kitabı, 2010;12.
30. American Diabetes Association: Standards of medicalcare in diabetes-2011. DiabetesCare, 2011; 34: 11-61.
31. Yılmaz T. Tip 1 diabetesmellitus. "DiabetesMellitus" içinde. (ed) İmamoğlu Ş, Ersoy C. 3. Baskı. İstanbul, Deomed Medikal Yayıncılık, 2009; 38-51.
32. International Diabetes Federation: Diabetes Atlas, 4th Edition, 2009, Erişim 30.04.2019, http://www.idf.org/diabetesatlas
33. American Diabetes Association: Standards of medicalcare in diabetes-2010. Diabetes Care, 2010; 33: 11-61.

34. Kabalak T, Çetinkalp Ş. Tip 2 diabetesmellitus. "DiabetesMellitus" içinde. (ed) İmamoğlu Ş, Ersoy C. 3. Baskı, İstanbul, Deomed Medikal Yayıncılık, 2009; 54-72.
35. Satman, I. Diabetes Mellitus Epidemiyolojisi. "DiabetesMellitus" içinde. (ed) İmamoğlu Ş, Ersoy C. 3. Baskı. İstanbul, Deomed Medikal Yayıncılık, 2009; 11-35.
36. İlhan GK. Yeni Tanı Konmuş Tip 2 Diyabet Hastalarıyla Kontrollü Ve Kontrolsüz Diyabet Hastalarının Homosistein Ve Hba1c Düzeylerinin Diyabetin Kronik Komplikasyonlarıyla İlişkisi. Uzm. Tezi. Şişli Etfal Eğit. ve Araş. Hast. Biyokim.ve Klin. Biyokim. Böl. 2007.
37. Serin Yalçın G. Yeni Tespit Tip 2 Diabetes Mellituslu Hastalarda Pankreas BetaHücre Rezervinin Değerlendirilmesi. Uzm. Tezi. Şişli Etfal Eğitim ve Araştırma Hast. Tıbbi Biyokim. 2004.
38. American Diabetes Association. Gestational diabetes mellitus. Diabetes care 2004; 27(suppl 1): s88-s90.
39. TEMD Diabetes Mellitus Çalışma ve Eğitim Grubu. Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği İzlem Klavuzu 5.Baskı ed. Ankara: Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği; 2011.
40. Satman, İ. Diabetes mellitus tanı ve izleminde yeni kriterler ve belirlenme gerekçeleri. Turkiye Klinikleri Journal of Internal Medical Sciences 2007; 3: 1-15.
41. American Diabetes Association. 2. Classification and diagnosis of diabetes: standards of medical care in diabetes—2018. Diabetes care, 2018; 41(Supplement 1): S13-S27.
42. Satman İ, İmamoğlu Ş, Yılmaz C, Akalın S, Salman S, Dinçağ N. ve ark. (Eds) Diabetes Mellitus ve Komplikasyonlarının Tanı, Tedavi ve İzlem Kılavuzu. 9.Baskı, Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği (TEMD) Yayınları Ankara, BAYT Matbaacılık 2017.
43. Satman İ, Yılmaz T, Çakır B, Sargın M: T.C Sağlık Bakanlığı Halk Sağlığı Kurumu: Birinci Basamakta Çalışan Hekimler İçin Diyabet Tanı ve Tedavi İzlem Rehberi, Ankara 2017.

44. Tabak AG, Herder C, Rathmann W, Brunner EJ, Kivimaki M. Prediabetes: a high-risk state for diabetes development. Lancet (London, England). 2012; 379: 227990.
45. Saatçı E. Birinci Basamak Sağlık Kuruluşunda Takip Edilen Tip 2 Diabetes Mellituslu Hastaların Glisemik Kontrollerinin, Lipid Profillerinin Ve Yaşam Kalitelerinin Değerlendirilmesi. Uzm. Tezi. Çukurova Tıp Fak. Aile Hekim. 2008.
46. Besler D. Prediyabetik Bireylerde Tip 2 Diyabet gelişiminin engellenmesi için verilen yaşam tarzı değişikliklerine hasta uyumunu etkileyen faktörlerin saptanması. Dokuz Eylül Üni. Aile Hekim. 2006.
47. Seven A. Diabetin Tanı ve Tedavisinde Güncel Parametreler. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Hastalıkların Tanı ve İzlenmesinde Biyokimya Laboratuvarı 2013:1–10.
48. Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği.Diabetes Mellitus ve komplikasyonlarının tanı, tedavi ve izlem klavuzu. 2018: 16; 20.
49. International Diabetes Federation. Diabetes Atlas. 8th edition, 2017. Erişim 03.05.2019http://www.idf.org/diabetesatlas
50. Bullard KM, Saydah SH, Imperatore G, Cowie CC, Gregg EW, Geiss LS, ve ark. Secular changes in U.S. Prediabetes prevalence defined by hemoglobin A1c and fasting plasma glucose: National Health and Nutrition Examination Surveys, 1999-2010. Diabetes Care. 2013; 36: 2286-2293.
51. Gerstein HC, Santaguida P, Raina P, Morrison KM, Balion C, Hunt D, ve ark. Annual incidence and relative risk of diabetes in people with various categories of dysglycemia: a systematic overview and meta-analysis of prospective studies. Diabetes Res Clin Pract. 2007; 78: 305-312.
52. Lam DW, LeRoith D. The worldwide diabetes epidemic. CurrOpin Endocrinol Diabetes Obes 2012; 19: 93-96.
53. Bergman M. Pathophysiology of prediabetes and treatment implications for the prevention of type 2 diabetes mellitus. Endocrine. 2013; 43: 504-513.
54. 54 Fasano A,Ann N.Y. Zonulin, regulation of tight junctions, and autoimmune diseases. Acad Sci. 2012: 1258: 25-33.

55. 55 Fasano A. Physiological, Pathological, and Therapeutic Implications of Zonulin-Mediated Intestinal Barrier Modulation. Am J Pathology 2008; 173: 1243-1252.
56. Fasano A. Intestinal permeability and its regulation by zonulin: diagnostic and therapeutic implications. Clinical Gastroenterology and Hepatology 2012; 10: 1096-1100.
57. Visser J, Rozing J, Sapone A, Lammers K, Fasano A. Tight junctions, intestinal permeability, and autoimmunity: celiac disease and type 1 diabetes paradigms. Annals of the New York Academy of Sciences, 2009; 1165: 195-205.
58. Arrieta MC, Bistritz L, Meddings JB. Alterations in intestinal permeability. Gut. 2006; 55: 1512-1520.
59. Lamprecht M, Frauwallner A. Exercise, intestinal barrier dysfunction and probiotic supplementation. Med Sport Sci 2012; 59: 47–56.
60. Turner JR. Intestinal mucosal barrier function in health and disease. Nature reviews immunology 2009; 9: 799.
61. Furuse M, Hirase T, Itoh M, Nagafuchi A, Yonemura S, Tsukita S. Occludin: a novel integral membrane protein localizing at tight junctions. The Journal of cell biology 1993; 123: 1777-1788.
62. Furuse M, Fujita K, Hiiragi T, Fujimoto K, Tsukita S. (). Claudin-1 and-2: novel integral membrane proteins localizing at tight junctions with no sequence similarity to occludin. The Journal of cell biology 1998; 141: 1539-1550.
63. Martìn-Padura I, Lostaglio S, Schneemann M, Williams L, Romano M, Fruscella P, ve ark. Junctional adhesion molecule, a novel member of the immunoglobulin superfamily that distributes at intercellular junctions and modulates monocyte transmigration. The Journal of cell biology, 1998; 142: 117-127.
64. Ikenouchi J, Furuse M, Furuse K, Sasaki H, Tsukita S, Tsukita S. (). Tricellulin constitutes a novel barrier at tricellular contacts of epithelial cells. The Journal of cell biology 2005; 171: 939-945.
65. Higashi T, Tokuda S, Kitajiri SI, Masuda S, Nakamura H, Oda Y, ve ark. Analysis of the ‘angulin’proteins LSR, ILDR1 and ILDR2–tricellulin

recruitment, epithelial barrier function and implication in deafness pathogenesis. J Cell Sci. 2013; 126: 966-977.

66. Mielants H, De MV, Goemaere S, Schelstraete K, Cuvelier C, Goethals K, ve ark. Intestinal mucosal permeability in inflammatory rheumatic diseases. II. Role of disease. The Journal of rheumatology 1991; 18: 394-400.
67. Drago S, El Asmar R, Di Pierro M, Grazia Clemente M, Sapone ATA, Thakar M, ve ark. Gliadin, zonulin and gut permeability: Effects on celiac and non-celiac intestinal mucosa and intestinal cell lines. Scandinavian journal of gastroenterology 2006; 41: 408-419.
68. Hollon J, Puppa E, Greenwald B, Goldberg E, Guerrerio A, Fasano A. Effect of gliadin on permeability of intestinal biopsy explants from celiac disease patients and patients with non-celiac gluten sensitivity. Nutrients 2015; 7: 1565-1576.
69. Camilleri M, Gorman H. Intestinal permeability and irritable bowel syndrome. Neurogastroenterology & Motility, 2007; 19: 545-552.
70. Yacyshyn B, Meddings J, Sadowski D, Bowen-Yacyshyn MB. Multiple sclerosis patients have peripheral blood CD45RO+ B cells and increased intestinal permeability. Digestive diseases and sciences 1996; 41: 2493-2498.
71. Mooradian AD, Morley JE, Levine AS, Prigge WF, Gebhard RL. Abnormal intestinal permeability to sugars in diabetes mellitus. Diabetologia 1986; 29(4), 221-224.
72. Benard A, Desreumeaux P, Huglo D, Hoorelbeke A, Tonnel AB, Wallaert B. Increased intestinal permeability in bronchial asthma. Journal of Allergy and Clinical Immunology 1996; 97: 1173-1178.
73. Hijazi Z, Molla AM, Al-Habashi H, Muawad WM, Molla AM, Sharma PN. Intestinal permeability is increased in bronchial asthma. Arch Dis Child. 2004; 89: 227-229.
74. Bergmann KR, Liu SX, Tian R, Kushnir A, Turner JR, Li HL, ve ark. Bifidobacteria stabilize claudins at tight junctions and prevent intestinal barrier dysfunction in mouse necrotizing enterocolitis. Am J Pathol. 2013; 182: 1595-1606.
75. Suzuki T. Regulation of intestinal epithelial permeability by tight junctions. Cellular and molecular life sciences 2013; 70: 631-659.

76. Lee SH. Intestinal Permeability Regulation by Tight Junction: Implicationon Inflammatory Bowel Diseases. Intestinal Research 2015; 13: 11-18.
77. Fasano A, Baudry B, Pumplin DW, Wasserman SS, Tall BD, Ketley JM, ve ark. Vibrio cholerae produces a second enterotoxin, which affects intestinal tight junctions. Proceedings of the National Academy of Sciences 1991; 88: 5242-5246.
78. Fasano A, Fiorentini C, Donelli G, Uzzau S, Kaper JB, Margaretten K, ve ark. Zonula occludens toxin modulates tight junctions through protein kinase C-dependent actin reorganization, in vitro. The Journal of clinical investigation 1995; 96: 710-720.
79. Fasano A, Not T, Wang W, Uzzau S, Berti I, Tommasini A, ve ark. Zonulin, a newly discovered modulator of intestinal permeability, and its expression in coeliac disease. The Lancet 2000; 355: 1518-1519.
80. Wang W, Uzzau S, Goldblum SE, Fasano A. Human zonulin, a potential modulator of intestinal tight junctions. Journal of cell science 2000; 113: 4435-4440.
81. Bjorkman PJ, Saper MA, Samraoui B, Bennett WS, Strominger JL, Wiley DC. Structure of the human class I histocompatibility antigen, HLA-A2. Nature. 1987; 329: 506-512.
82. Fasano A, Zonulin, regulation of tight junctions, and autoimmune diseases. Annals of the New York Academy of Sciences 2012; 1258: 25-33.
83. El Asmar R, Panigrahi P, Bamford P, Berti I, Not T, Coppa GV, ve ark. Host-dependent zonulin secretion causes the impairment of the small intestine barrier function after bacterial exposure. Gastroenterology. 2002; 123: 1607-1615.
84. De Kort S, Keszthelyi D, Masclee AAM. Leaky gut and diabetes mellitus: what is the link?. Obesity Reviews 2011; 12: 449-458.
85. Qatanani M, Lazar MA. Mechanisms of obesity-associated insulin resistance: many choices on the menu. Genes & development 2007; 21: 1443-1455.
86. Hotamisligil GS, Erbay E. Nutrient sensing and inflammation in metabolic diseases. Nature Reviews Immunology 2008; 8: 923.

87. Diamant M, Blaak EE, De Vos WM. Do nutrient–gut–microbiota interactions play a role in human obesity, insulin resistance and type 2 diabetes?. Obesity reviews 2011; 12: 272-281.
88. Creely SJ, McTernan PG, Kusminski CM, Fisher FM, Da Silva NF., Khanolkar M, ve ark. Lipopolysaccharide activates an innate immune system response in human adipose tissue in obesity and type 2 diabetes. American journal of physiology-endocrinology and metabolism 2007; 292: E740-E747.
89. Rodríguez JM, Murphy K, Stanton C, Ross RP, Kober OI, Juge N, ve ark. The composition of the gut microbiota throughout life, with an emphasis on early life. Microbial ecology in health and disease 2015; 26; 26050.
90. Moreira AP, Texeira TF, Ferreira AB, Peluzio Mdo C, Alfenas Rde C. Influence of a high-fat diet on gut microbiota, intestinal permeability and metabolic endotoxaemia. Br J Nutr. 2012; 108: 801-9.
91. Schachter J, Martel J, Lin CS, Chang CJ, Wu TR, Lu CC, ve ark. Effects of obesity on depression: a role for inflammation and the gut microbiota. Brain, behavior, and immunity 2018; 69: 1-8.
92. Jayashree B, Bibin YS, Prabhu D, Shanthirani CS, Gokulakrishnan K, Lakshmi BS, ve ark. Increased circulatory levels of lipopolysaccharide (LPS) and zonulin signify novel biomarkers of proinflammation in patients with type 2 diabetes. Mol Cell Biochem 2014;388:203–10.
93. World Health Organization, World Health Organization. Definition and diagnosis of diabetes mellitus and intermediate hyperglycemia: Report of a WHO/IDF consultation. Geneva: World Health Organization, 2006: 1-50.
94. Ostenson CG. The pathophysiology of type 2 diabetes mellitus: an overview. Acta Physiol Scand. 2001 Mar; 171(3):241-7.
95. Karlsson FH, Tremaroli V, Nookaew I, Bergström G, Behre CJ, Fagerberg B, ve ark. Gut metagenome in European women with normal, impaired and diabetic glucose control. Nature 2013; 498: 99-103.
96. Larsen N, Vogensen FK, van den Berg FW et al Gut microbiota in human adults with type 2 diabetes differs from non-diabetic adults. PLoS One 2010; 5:e9085.

97. Qin J, Li Y, Cai Z, Li S, Zhu J, Zhang F, ve ark. A metagenome-wide association study of gut microbiota in type 2 diabetes. Nature. 2012; 490:55-60.
98. Sato J, Kanazawa A, Ikeda F, Yoshihara T, Goto H, Abe H, ve ark Gut dysbiosis and detection of "live gut bacteria" in blood of Japanese patients with type 2 diabetes. Diabetes Care. 2014; 37: 2343-2350.
99. Zhang X, Shen D, Fang Z, Jie Z, Qiu X, Zhang C, ve ark. Human gut microbiota changes reveal the progression of glucose intolerance. PLoS One. 2013; 8(8): e71108.
100. Cani PD, Bibiloni R, Knauf C, Waget A, Neyrinck AM, Delzenne NM, ve ark. Changes in gut microbiota control metabolic endotoxemia-induced inflammation in high-fat diet-induced obesity and diabetes in mice. Diabetes 2008; 57: 1470–81.
101. Cani PD, Possemiers S, Van de Wiele T, Guiot Y, Everard A, Rottier O, ve ark. Changes in gut microbiota control inflammation in obese mice through a mechanism involving GLP-2-driven improvement of gut permeability. Gut 2009; 58: 1091–103.
102. Brun P, Castagliuolo I, Di Leo V, Buda A, Pinzani M, Palu G, ve ark. Increased intestinal permeability in obese mice: new evidence in the pathogenesis of nonalcoholic steatohepatitis. Am J Physiol – Gastrointest Liver Physiol 2007; 292: G518–25.
103. Cani PD, Osto M, Geurts L, Everard A. Involvement of gut microbiota in the development of low-grade inflammation and type 2 diabetes associated with obesity. Gut Microbes 2012; 3: 279-88.
104. Sanyal D. Diabetes is predominantly an intestinal disease. Indian J Endocrinol Metab. 2013; 17(Suppl 1): S64-S67.
105. Watts T, Berti I, Sapone A, Gerarduzzi T, Not T, Zielke R, ve ark. Role of the intestinal tight junction modulator zonulin in the pathogenesis of type I diabetes in BB diabetic-prone rats. Proc Natl Acad Sci U S A 2005; 102: 2916–2921.
106. Sapone A, de Magistris L, Pietzak M, Clemente MG, Tripathi A, Cucca F, ve ark. Zonulin upregulation is associated with increased gut permeability in subjects with type 1 diabetes and their relatives. Diabetes 2006; 55: 1443-1449.

107. Leffler DA, Kelly CP, Abdallah HZ, Colatrella AM, Harris LA, Leon F, ve ark. A randomized, double-blind study of larazotide acetate to prevent the activation of celiac disease during gluten challenge. Am J Gastroenterol 2012; 107: 1554.
108. Zak-Golab A, Kocelak P, Aptekorz M, Zientara M, Juszczyk L, Martirosian G, ve ark. Gut microbiota, microinflammation, metabolic profile, and zonulin concentration in obese and normal weight subjects. Int J Endocrinol 2013; 2013: 674106.
109. Horton F, Wright J, Smith L, Hinton PJ, Robertson MD. Increased intestinal permeability to oral chromium ((51) Cr)-EDTA in human Type 2 diabetes. Diabet Med: J Br Diabet Assoc 2014; 31: 559-563.
110. Wendel M, Paul R, Heller AR. Lipoproteins in inflammation and sepsis. II. Clinical aspects. Intensive Care Med 2007; 33: 25–35.
111. Nymark M, Pussinen PJ, Tuomainen AM, Forsblom C, Groop PH, Lehto M; FinnDiane Study Group. Serum lipopolysaccharide activity is associated with the progression of kidney disease in finnish patients with type 1 diabetes. Diabetes Care. 2009; 32: 1689-93.
112. Lassenius MI, Pietiläinen KH, Kaartinen K, Pussinen PJ, Syrjänen J, Forsblom C, ve ark.; FinnDiane Study Group. Bacterial endotoxin activity in human serum is associated with dyslipidemia, insulin resistance, obesity, and chronic inflammation. Diabetes Care. 2011; 34: 1809-1815.
113. Allin KH, Tremaroli V, Caesar R, Jensen BAH, Damgaard MTF, Bahl MI, Licht TR, ve ark.; IMI-DIRECT consortium, Hansen T, Bäckhed F, Pedersen O. Aberrant intestinal microbiota in individuals with prediabetes. Diabetologia. 2018; 61: 810-820.
114. Shin NR, Lee JC, Lee HY, Kim MS, Whon TW, Lee MS, ve ark. An increase in the Akkermansia spp. population induced by metformin treatment improves glucose homeostasis in diet-induced obese mice. Gut. 2014; 63: 727-735.
115. de la Cuesta-Zuluaga J, Mueller NT, Corrales-Agudelo V et al Metformin is associated with higher relative abundance of mucin-degrading Akkermansia muciniphila and several short-chain fatty acid-producing microbiota in the gut. Diabetes Care2017; 40:54–62.

.

116. Wu H, Esteve E, Tremaroli V, Khan MT, Caesar R, Manneråas-Holm L, ve ark. Metformin alters the gut microbiome of individuals with treatment-naive type 2 diabetes, contributing to the therapeutic effects of the drug. Nat Med. 2017; 23: 850-858.
117. Everard A, Belzer C, Geurts L, Ouwerkerk JP, Druart C, Bindels LB, ve ark. Cross-talk between Akkermansia muciniphila and intestinal epithelium controls diet-induced obesity. Proc Natl Acad Sci U S A. 2013; 110: 9066-9071.
118. Plovier H, Everard A, Druart C et al A purified membrane protein from Akkermansia muciniphila or the pasteurized bacterium improves metabolism in obese and diabetic mice. Nat Med 2017;23:107–113.

ETİK KURUL KARARI

İÜC Tarih ve Sayı: 07/12/2018-106263

T.C.
CERRAHPAŞA TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI
Klinik Araştırmalar Etik Kurulu

Sayı :83045809-604.01.02-
Konu :üksek Lisans Öğrencisi Nesrin SAİTOĞULLARI'nın etik kurul kararı A-37

TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI BAŞKANLIĞINA

İlgi :16.11.2018 tarih, 68871907-604.01.01-93619 sayılı yazı

Anabilim Dalınız öğretim üyesi **Prof.Dr.Hafize UZUN'un** danışmanlığında **Yüksek Lisans Öğrencisi Nesrin SAİTOĞULLARI'nın** yürütücülüğünde **Prof.Dr.Dildar KONUKOĞLU ve Doç.Dr.Esma ALTUNOĞLU'nun** yardımcılıklarında **"Prediyabetik Hastalarda Serum Zonulin Düzeyinin Değerlendirilmesi"** başlıklı Yüksek Lisans Tezi hakkında ilgi yazınız ve ekleri **04 Aralık 2018** tarihinde toplanan Fakültemiz Klinik Araştırmalar Etik Kurulunca müzakere edilmiş olup, Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) desteği alınması koşuluyla etik açıdan uygun olduğuna karar verilmiştir.

Bilgilerinizi rica ederim.

e-İmzalı
Prof. Dr. Özgür KASAPÇOPUR
Başkan

e-İmzalı
Prof. Dr. Emine Gülderen ŞAHİN
Bölüm Başkanı

NOT:Yönetmelik gereği Sonuç Raporunun ve Bilimsel Araştırma Projeleri Desteği onay belgesinin Klinik Araştırmalar Etik Kuruluna iletilmesi gerekmektedir.

EK :
1 dosya elden teslim edilecektir.

Doğrulamak İçin:http://dogrulama.istanbulc.edu.tr/enVision.sorgula/belgedogrulama.aspx?V=BE6E00P1T

Ayrıntılı bilgi için irtibat : Güler SOYDANER Dahili : 22300
İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Cerrahpaşa Tıp Fakültesi 34303 Cerrahpaşa/ İSTANBUL
Tel : 0 (212) 414 30 00 Faks : 0 (212) 632 00 33
e-posta : ctfpersonel@istanbul.edu.tr Elektronik Ağ : www.istanbulc.edu.tr

elge 5070 sayılı Elektronik İmza Kanununun 5. Maddesi gereğince güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.

İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI

PREDİYABETİK HASTALARDA SERUM ZONULİN DÜZEYİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

ORIJINALLIK RAPORU

%17	%11	%6	%15
BENZERLIK ENDEKSI	İNTERNET KAYNAKLARI	YAYINLAR	ÖĞRENCI ÖDEVLERI

BIRINCIL KAYNAKLAR

1	Submitted to Istanbul University Öğrenci Ödevi	%3
2	"Poster Özetleri / Poster Abstracts", Turkish Journal of Biochemistry, 2015 Yayın	%1
3	Submitted to Hacettepe University Öğrenci Ödevi	%1
4	www.docstoc.com İnternet Kaynağı	%1
5	www.turkosteoporozdergisi.org İnternet Kaynağı	%1
6	Submitted to TechKnowledge Turkey Öğrenci Ödevi	%1
7	Submitted to Eastern Mediterranean University Öğrenci Ödevi	%1
8	SİNCER, İsa, AKTÜRK, Erdal, AÇIKGÖZ, Nusret, ERMİŞ, Necip and KOŞAR FERİDUN,	<%1

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	Nesrin	**Soyadı**	Saitoğulları
Doğ.Yeri	Antakya	**Doğ.Tar.**	01.05.1974
Uyruğu	T.C.	**TC Kim No**	17447129522
Email	nesrinsait@hotmail.com	**Tel**	05335122857

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	**Mez. Yılı**
Doktora		
Yük.Lis.		
Lisans	İ.Ü. C.T.F. Tıbbi Biyolojik Bilimler Bölümü	1996
Lise	Antakya Kurtuluş Lisesi	1991

İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

	Görevi	**Kurum**	**Süre (Yıl - Yıl)**
1.	Biyolog	Cerrahpaşa Tıp Fakültesi	22
2.			-

Yabancı Dilleri	**Okuduğunu Anlama***	**Konuşma***	**Yazma***	**KPDS/ÜDS Puanı**	**(Diğer) Puanı**
ingilizce	iyi	iyi	iyi		

***Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

	Sayısal	**Eşit Ağırlık**	**Sözel**
LES Puanı			
(Diğer) Puanı			

Bilgisayar Bilgisi

Program	**Kullanma becerisi**

Yayınları/Tebligleri Sertifikaları/Ödülleri

Özel İlgi Alanları (Hobileri):