



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

**YENİ TANI ALMIŞ TİP 2 DİYABETLİ
HASTALARDA SERUM İRİSİN
SEVİYESİNİN İNCELENMESİ**

Elif ŞAHİN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Prof. Dr. E. Edip KEHA

TRABZON-2016

ONAY

Bu Tez Yüksek Lisans Tezi Standartlarına Uygun Bulunmuştur

Prof. Dr. Süleyman Caner KARAHAN

Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Başkanı

.....

Karadeniz Teknik Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Yüksek Lisans öğrencisi Elif ŞAHİN'in hazırladığı **“Yeni Tanı Almış Tip 2 Diyabetli Hastalarda Serum İrisin Seviyesinin İncelenmesi”** başlıklı tez KTÜ Lisansüstü Eğitim - Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca kapsam ve bilimsel kalite yönünden değerlendirilerek Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Danışman Prof. Dr. E. Edip KEHA

Yüksek Lisans Sınavı Jüri Üyeleri

Prof. Dr. E. Edip KEHA

Yrd. Doç. Dr. Fulya BALABAN YÜCESAN

Yrd. Doç. Dr. Kağan KILINÇ

Tarih: 07/01/2016

Bu tez KTÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun/.../.... tarih ve ... sayılı kararıyla onaylanmıştır.

.....

Prof. Dr. Ali Osman KILIÇ

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

BEYAN

Bu tez çalışmasının KTÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü tez yazım kılavuzu standartlarına uygun olarak yazıldığını, tezin akademik ve etik kurallara bağlı kalınarak gerçekleştirilmiş özgün bir bilimsel araştırma eserim olduğunu, tezde yer alan ve bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen tüm bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve kaynakların kaynaklar listesinde yer aldığını, tezin çalışılması ve yazımı aşamalarda patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

Tarih: 07.01.2016

Arş. Gör. Elif ŞAHİN

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca ilminden faydalandığım, insani ve ahlaki değerleri ile örnek edindiğim, yanında çalışmaktan onur duyduğum, tez çalışmam süresince her aşamada göstermiş olduğu hoşgörü, inanç ve desteğinden dolayı değerli danışman hocam Sayın Prof. Dr. E. Edip KEHA' ya,

Yüksek lisans eğitimimde büyük emekleri olan Biyokimya Anabilim Dalı öğretim üyeleri Sayın Prof. Dr. Orhan DEĞER, Prof. Dr. Asım ÖREM, Prof. Dr. S. Caner KARAHAN, Prof. Dr. Yüksel ALİYAZICIOĞLU, Prof. Dr. Birgül V. KURAL, Prof. Dr. Ahmet ALVER, Doç. Dr. Ahmet MENTEŞE ve Yrd. Doç. Dr. Fulya B. YÜCESAN' a,

Çalışmam sırasında yardımlarını benden esirgemeyen, destek ve katkıları ile her zaman yanımda olan Dr. Diler US ALTAY' a ve Uzm. Dr. Hülya COŞKUN'a,

Biyokimya Anabilim Dalı'ndaki tüm araştırma görevlisi, doktora ve yüksek lisans öğrencisi arkadaşlarıma,

Tüm aşamalarda varlığını hissettiğim eşim Yasin ŞAHİN' e ve her daim yanımda olan sevgili aileme en içten dileklerimle teşekkür ederim.

Arş. Gör. Elif ŞAHİN

THD-2015-103 kodlu “ Yeni Tanı Almış Tip 2 Diyabetli Hastalarda Serum İrisin Seviyesinin İncelenmesi” adlı bu tez KTÜ BAP tarafından desteklenmiştir.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
KABUL ve ONAY	
BEYAN	
TEŞEKKÜR	
TABLolar DİZİNİ	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
KISALTMALAR, SİMGE ve FORMÜLLER DİZİNİ	xi
1.ÖZET	1
2. SUMMARY	2
3. GİRİŞ ve AMAÇ	3
4. GENEL BİLGİLER	5
4.1. İrisin	5
4.1.1. Miyokinler	5
4.1.2. İrisinin Keşfi ve Yapısı	6
4.1.3. İrisin Sentezleyen Dokular	7
4.1.4. İrisin ile Enerji Metabolizması Arasındaki İlişki	8
4.2. Tip 2 Diyabet ve Teşhisi	9
4.2.1. Tip 2 Diyabette Kullanılan İlaçlar ve Metformin	11
4.2.2. Diyabet ve İrisin	13
5. GEREÇ ve YÖNTEM	16
5.1.Gereç	16
5.1.1. Kullanılan Cihazlar, Laboratuvar Malzemeleri ve Kimyasallar	16
5.2.Yöntem	16
5.2.1. Çalışma Gruplarının Oluşturulması	16
5.2.2. Kan Örneklerinin Alınması ve Çalışmaya Hazırlanması	17
5.2.3. Serum Örneklerinde ELISA Yöntemi Kullanılarak İrisinin Seviyesinin Belirlenmesi	17
5.2.3.1. Örneklerin ELISA Pleytine Aktarılması ve Ölçüme Hazırlanması	17
5.2.3.2. İrisin Standart Grafiğinin Hazırlanması	18
5.2.4. İstatistiksel Analizler	19

6. BULGULAR	20
6.1. Hasta Grubunun Tedavi Uygulanmadan Önceki Serumları ile Kontrol Grubu Serumlarındaki İrisin Seviyelerinin Karşılaştırılması	20
6.2. Hasta Grubunun Tedavi Uygulandıktan Sonraki Serumları ile Kontrol Grubu Serumlarındaki İrisin Seviyelerinin Karşılaştırılması	20
6.3. Hasta Grubunun Tedavi Öncesi ve Sonrası Serum İrisin Seviyelerinin Karşılaştırılması	21
7. TARTIŞMA ve SONUÇ	22
8. KAYNAKLAR	26
9. EKLER	31
9.1. Ek 1. Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu	31
10. ETİK KURUL ONAYI	36
11. ÖZGEÇMİŞ	37

TABLolar DİZİNİ

Tablo		Sayfa
Tablo 1.	Kullanılan cihazlar, laboratuvar malzemeleri, kimyasal maddeler ve üretici firmaları	16
Tablo 2.	Tedavi öncesi hasta grubu ile kontrol grubunun serum irisin seviyeleri	20
Tablo 3.	Tedavi sonrası hasta grubu ile kontrol grubunun serum irisin seviyeleri	20
Tablo 4.	Hasta grubunun tedavi öncesi ve sonrasındaki serum irisin seviyeleri	21

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil	Sayfa
Şekil 1. FNDC5'in proteolitik olarak kırılması	7
Şekil 2. İrisinin yağ dokuları üzerindeki etkisi	9
Şekil 3. Guanidin yapısı ve biguanidin yapısındaki ilaçlar: metformin ve fenformin	12
Şekil 4. İrisin standart grafiği	18

SİMGELER, KISALTMALAR ve FORMÜLLER DİZİNİ

Kısaltmalar

FNDC5	Fibronektin Tip III Domainini içeren Protein 5
PGC-1α	Peroksizom Proliferatör ile Aktifleşen Reseptör Gama Koaktivatör-1Alfa
UCP-1	Uncoupling Protein-1
IL-6	İnterlökin-6
PeP	Peroksizomal Protein
FNIII	Fibronektin III
EGF	Epidermal Büyüme Faktörü
TGF	Transforming Büyüme Faktör
PPARγ	Peroksizom Proliferatör ile Aktifleşen Reseptör Gama
BAT	Kahverengi Yağ Dokusu
WAT	Beyaz Yağ Dokusu
T2DM	Tip 2 Diabetes Mellitus
T1DM	Tip 1 Diabetes Mellitus
HbA1c	Glikozillenmiş Hemoglobin
LDL	Düşük Yoğunluklu Lipoprotein
HDL	Yüksek Yoğunluklu Lipoprotein
GİS	Gastrointestinal Sistem
GDM	Gebelikteki Diabetes Mellitus
OGTT	Oral Glukoz Tolerans Testi
AMPK	AMP İle Aktifleşen Protein Kinaz

ÖZET

Yeni Tanı Almış Tip 2 Diyabetli Hastalarda Serum İrisin Seviyesinin İncelenmesi

Son yıllarda, bir hormon olarak tanımlanan irisin, miktarı PGC-1 α tarafından düzenlenen ve bir Tip 1 membran proteini olarak bilinen FNDC5'in proteolitik olarak parçalanması sonucu iskelet kasından kana salınan bir miyokindir. İrisin, glukoz toleransını ve enerji harcanmasını arttırırken, karbohidrat homeostazını iyileştirir. Metformin biguanid sınıfında olan oral antidiyabetik bir ilaçtır. Karaciğerde glukoneogenezi inhibe eder ve insulin direncini azaltır. İrisin enerji metabolizması yollarının düzenlenmesinde rol alan ve Tip 2 diyabet(T2DM)'li kişilerde kandaki miktarı azalan bir hormondur. Metformin de yakıt ve enerji metabolizmasını etkileyen ve Tip 2 diyabet tedavisinde çok yaygın olarak kullanılan bir ilaçtır. Bu bilgilerden hareketle bu çalışmada, metformin kullanımının serum irisin seviyesi üzerine etkisinin aydınlatılması amaçlanmıştır. Bu amaçla, Endokrinoloji ve Metabolizma Hastalıkları Bilim Dalı' na başvuran ve Oral Glukoz Tolerans Testi (OGTT) sonucu glukoz toleransının bozulmuş olduğu belirlenen 20 kişi çalışmaya dahil edilmiştir. Egzersiz ve beslenme gibi hayat tarzlarında değişiklik ve metformin kullanılması tavsiye edilen bu kişilerden 1 aylık dönemin ardından tekrar kan alınmıştır. Ayrıca, hasta grubuyla yaş ve cinsiyet olarak eşleşen sağlıklı kişilerden oluşan bir kontrol grubu oluşturulmuş (n=20), bu iki gruptan alınan kan örneklerindeki irisin seviyeleri ELISA metoduyla ölçülmüştür. Ölçümlerin istatistiksel değerlendirilmesi sonucunda, hasta grubunun tedavi öncesi kan örneklerindeki irisin seviyeleri ile bir ay boyunca tavsiye edilen tedavileri sonrası alınan kan örneklerindeki irisin seviyeleri arasında önemli bir farklılık olmadığı gözlemlenmiştir (p=0.780). Kontrol grubuyla tedavi gören grup arasında da benzer bir sonuç elde edilirken (p=0.170), kontrol grubuyla hasta grubunun tedavi öncesi örneklerindeki irisin miktarları karşılaştırıldığında, kontrol grubunun serum irisin değerinin anlamlı derecede daha fazla olduğu bulunmuştur (p=0.002). Sonuç olarak, hayat tarzının değiştirilerek alınan metforminin T2DM'li hastaların kanlarındaki irisin seviyesini değiştirip, değiştirmediği konusunda net bir kanaate varılamamıştır.

Anahtar Kelimeler: FNDC5, İrisin, Metformin, Tip 2 diyabet

SUMMARY

Investigation of Serum Irisin Levels of Patients With New-Onset Type 2 Diabetes Mellitus

Irisin is a myokine, which has been recently defined as a hormone, is released into the blood circulation from the skeletal muscle after a proteolytic cleavage of FNDC5, the level of which is regulated by PGC-1 α . Irisin increases glucose tolerance and energy expenditure and improves carbohydrate homeostasis. Metformin is a biguanidine class antidiabetic drug. It inhibits liver gluconeogenesis and decreases insulin resistance. Irisin has a role in the regulation of energy metabolism pathways and its level in the blood has been shown to decrease in persons with Type 2 Diabetes(T2DM). Metformin which is a frequently used drug in treatment of T2DM, also affects the energy metabolism. In this study, by regarding this relationship, it is aimed to reveal the effect metformin on serum irisin levels. 20 patients who had applied to the Department of Endocrinologic and Metabolic Diseases and whose Oral Glucose Tolerance Tests (OGTT) had been found to be impaired were included to this investigation. They were recommended to take metformin and to change their life style, such as exercise and diet and their blood were taken after 1 month. Also, a healthy control group (n=20) were formed from persons with almost a similar age and sexual distribution as the patient group and the irisin levels of the blood samples taken from these two groups had been measured by ELISA method. Statistical evaluation of the measurements did not show a significant difference ($p=0.780$) between the irisin levels of the blood samples taken from the patients before and after 1 month recommended treatment. A similar result were found between the control and the treated groups ($p=0.170$), while a significant increase ($p=0.002$) were observed for the irisin levels of the control group when compared with the patients group before treatment. In conclusion, the results obtained from this study had not shown clearly if metformin taken together with the life style change by patients with T2DM had changed their blood irisin levels.

Key Words: FNDC5, Irisin, Metformin, Type 2 Diabetes Mellitus

3. GİRİŞ ve AMAÇ

Obezitenin kardiyovasküler hastalıklar, Tip 2 diyabet, uyku apnesi ve hipertansiyon gibi yaygın olan birçok hastalıkla ilişkili olduğu ve bu hastalıkları tetiklediği ortaya konulmuştur. Bu nedenle, hastalığın yaygınlığını azaltmak için tedavi stratejilerinin geliştirilmesi oldukça önemli bir ihtiyaçtır. İskelet kas hücreleri otokrin, parakrin ve endokrin etkisi olan ve miyokin olarak da anılan bir takım sinyal sitokin peptitleri salgırlar. Son zamanlarda, özellikle, fiziksel aktivite sırasında veya hemen sonrasında, iskelet kasının dolaşıma birçok hormonu salgıladığı bulunmuştur. Bu peptidler metabolizmayı etkileyebilir ve farklı doku ve organlarda sitokin üretimini değiştirebilir. Bundan dolayı iskelet kası gerçek bir endokrin organ olarak değerlendirilmeye başlanmıştır. Miyokinlerin egzersiz ile salınımının arttığı ve bu nedenle obezite tedavisinde önemli rollerinin olduğu yapılan çalışmalarla ortaya konulmuştur (1).

İrisin, Bostrom ve ark. tarafından son yıllarda (Harvard Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde 2012 Ocak ayında) bazı özellikleri aydınlatılmış olup, kan glukoz seviyesinin düzenlenmesi ve kilo kaybına sebep olan etkileriyle diyabet ve obezite tedavisinde hedef olarak gösterilen ve bundan dolayı gelecek vadeden bir sinyal molekülüdür (2). Bu hormon, PGC-1 α tarafından düzenlenip, tip 1 membran proteini olarak bilinen FNDC5 (Fibronektin tip III domainini içeren 5.protein)'in proteolitik olarak parçalanması sonucu kastan kana salınan 112 amino asitlik polipeptiddir (3). Kanda bazal bir seviyede bulunan irisinin akut egzersiz ile iskelet kasından salınımının artmasıyla deri altı adipoz dokudaki UCP1 (*uncoupling* protein 1) ekspresyonu artar ve bunun sonucunda, adipoz dokudaki termogenezin aktifleşmesiyle meydana gelen enerji harcanmasından dolayı kilo kaybı ortaya çıkar (2). Bu etki irisinin Tip 2 diyabetle ilgili en kritik ilişkisidir.

Metformin, Tip 2 diyabet hastalığının tedavisinde kullanılan, insülin duyarlılığını artıran biguanid grubu bir ilaçtır (4). Metforminin kan glukoz seviyesini düşürücü etkisi karaciğerde, öncelikle, glukoneogenezin ve daha az olarak da glikojenolizin inhibisyonuyla ve iskelet kası ve adipositlerde artmış insülin aracılı glukoz alımıyla ve intestinal glukoz emilimini bir derece azaltmasıyla ortaya çıkmaktadır (5). Bütün bu

4nterl kin enerji metabolizmasını düzenleyen sinyal mekanizmasını etkileyerek gerçekleştirmektedir.

Bu çalışmada, irisinin enerji metabolizması üzerindeki etkisinden yola çıkararak, yine, metabolik etkileri olan metformin kullanımıyla ilişkisi hakkında ileride yapılacak daha kapsamlı çalışmalara ışık tutacak bazı  n bilgilerin elde edilmesi amaçlanmıştır.

4. GENEL BİLGİLER

4.1. İrisin

Son yıllarda, bir hormon olarak tanımlanan irisin, miktarı PGC-1 α (Peroksizom proliferatör ile aktifleşen reseptör gama koaktivatör -1alfa) tarafından düzenlenen ve bir Tip 1 membran proteini olarak bilinen FNDC5 (Fibronectin tip III domainini içeren protein 5)'in proteolitik olarak parçalanması sonucu iskelet kasından kana salınan bir miyokindir. 112 amino asit ihtiva eden bu hormonun herhangi bir dokuda bir reseptörü henüz tanımlanmamıştır. Ancak, deri altı adipoz dokuda UCP1 (*uncoupling* protein 1) ekspresyonunu artırarak termogenik fonksiyonu aktive ettiği bildirilen bu hormon kanda bazal seviyede bulunur, akut egzersiz ile iskelet kasından kana salınımı artar (2).

4.1.1. Miyokinler

Kas fiberleri tarafından üretilen ve kana salgılan sitokinler ile diğer peptidler “miyokinler” olarak adlandırılır. Miyokinler parakrin veya otokrin etkiler yapar. Buna rağmen, iskelet kası fizyolojisi içinde yer alan bu miyokinler sadece kas hücreleri tarafından salgılanmaz. Adipoz dokudan da salgılan sitokinler “adipokin” olarak adlandırılırlar (6). Egzersizin insan metabolizması için birçok faydalı etkisi olduğu yapılan pek çok çalışma ile kanıtlanmıştır. Kas kaynaklı sitokinlerin hem akut egzersizle ilişkili metabolik değişimlerin, hem de, egzersiz adaptasyonunu takiben meydana gelen metabolik değişimlerin sürdürülmesinde önemli bir rol oynadığı gösterilmiştir. Artan insülin duyarlılığı, iskelet kası içinde yağ asidi oksidasyonu ve glukoz alımı düzenli egzersizin beklenen faydalı etkilerinden bazılarıdır ve miyokinler aracılığı ile bunların bir kısmının gerçekleştiği gösterilmiştir (7). Benzer şekilde, kas kasılmasına cevap olarak salgılanan miyokinlerin sistematik etkileri uzak organlarda, adipoz doku gibi, çeşitli kısa ve uzun dönemli metabolik düzenleyici mekanizmalarda bulunmaktadır (8). Böylece miyokinler iskelet kası ve diğer organlar arasında egzersiz süresi boyunca ve sonrasındaki bağlantıyı anlamamızda bir merkez haline gelmektedir. Bu göz önüne alındığında, miyokinlerin düzenlenmesi ve etkisi üzerine yapılacak çalışmalar çok önemlidir. İlk belirlenen miyokin 5nterlökin-6 (IL-6)'dır (9). IL-6'nın keşfinden beri, iskelet kasının çok çeşitli miyokinleri eksprese etme kapasitesine sahip olduğu kabul edilmiştir. Ayrıca, son proteomik çalışmalar, miyokin listesinin farklı

protein ailesine ait olan 600'den fazla aday içerebileceği üzerine yoğunlaşmıştır(10). Bu miyokinlerden biri de irisin hormonudur.

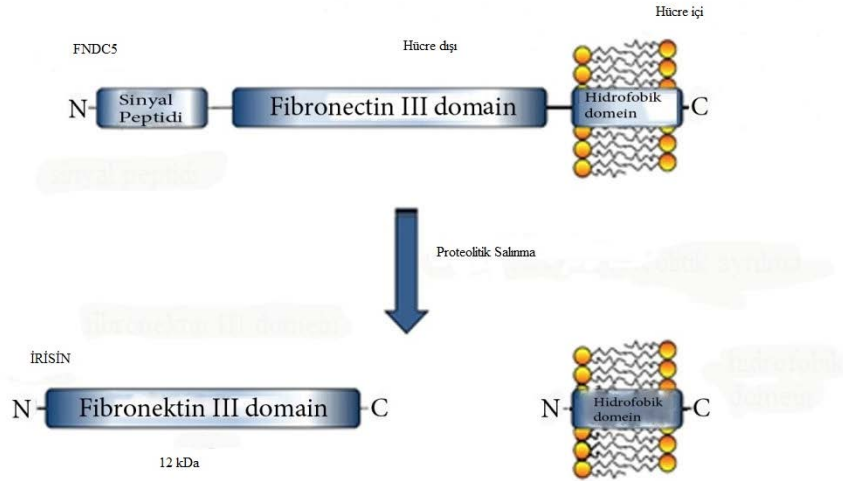
4.1.2. İrisinin Keşfi ve Yapısı

İrisin Boström ve arkadaşları tarafından 2012 yılında ilk kez kas dokusundan izole edilen, 112 amino asitlik 12 kDa ağırlığına sahip bir proteindir. Boström ve arkadaşları irisinin glikoprotein yapısında olduğunu iddia etmişler ve western blot analizinde birden fazla bant tespit ettiklerini bildirmişlerdir. Bu çoklu bantlar salgılanabilir ve glikozillenmiş proteinlerin genel özelliği olarak bilinir. Ancak, glikozilasyonun mahiyeti tam olarak açıklığa kavuşturulamamıştır (2). İrisin terimi Yunanca “iris”den türetilmiştir (11).

İrisin temel olarak fare ve insanların iskelet kasında, bilinmeyen bir proteaz tarafından FNDC5'in parçalanması sonucu oluşan bir yıkım ürünüdür (2). İlk defa, 2002 yılında 2 farklı grup tarafından keşfedilip, karakterize edilen FNDC5'in diğer adları FRCP2 ve PeP (Peroksizomal Protein)'dir (12). FNDC5, bir sinyal peptidi, iki fibronektin “domain” ve hücre membranına gömülü bir hidrofobik “domain”den oluşur. (12,15). Yaklaşık 32 kDa'lık bir moleküler ağırlığa sahip olan transmembran FNDC5, dolaşımda bulunan FNDC5'ten, yani, irisinden daha büyüktür (2, 13).

FNDC5, amino(N)-terminal ucunda iki fibronektin “domain” ile bir sinyal peptidi ve karboksi ©-terminal domaininde lipid ikili tabaka içine yerleşmiş bir hidrofobik “domain”den oluşur. Fare FNDC5'inin ilk 29 aminoasiti sinyal peptittir, hemen ardından 94 aminoasitlik tekli FNIII domaini gelir. Bir sonraki 28 aminoasitlik bölgenin yapısı ve fonksiyonu henüz bilinmemektedir fakat irisin için tahmini bir bölünme bölgesi içerdiği düşünülmektedir. Bunu 19 aminoasitlik transmembran “domain” ve 39 aminoasitlik sitoplazmik “domain” takip eder. Bu yapı Tip I membran proteini olarak sentezlenir ve ER lümeninde sinyal peptid kısmı uzaklaştırılırken, FNDC5/irisin olarak adlandırılan kısım, daha sonra, kas hücre membranından kan dolaşımındaki henüz tanımlanmamış bir proteaz tarafından parçalanarak dolaşıma salıverilir (Şekil 1). Karşılaştırıldıklarında insan ve fare irisleri, %100, insülin %85, glukagon %90 ve leptin %83 benzerlik göstermektedir (2). İrisinin salgılanması ve kesilmesi, EGF (Epidermal büyüme faktörü), TGF (Transforming büyüme faktör) gibidir. FNDC5 gen ekspresyonunu PPAR γ ve PGC-1 α aracılığıyla artırır. PGC-1 α artışına bağlı olarak kas

dokusunda, 5 farklı proteinin ekspresyonu indüklenir. Bunlar; FNDC5, IL-15, LRG1, TIMP4 ve VEGF'dir. FNDC5, kahverengi yağ dokusu genlerinin (Elov13, Cox7a ve Otop1) ekspresyonlarını artırırken, beyaz yağ dokusu ürünü olan leptin sentezini azaltmaktadır. Yaklaşık, 20Nm FNDC5, UCP1 ekspresyonunu 7-1500 kat artırmaktadır.



Şekil 1. FNDC5'in proteolitik olarak kırılması (Novelle'den, 13)

Artmış UCP1, ATP sentezini azaltarak ısı üretimini sağladığından, enerji kaynaklarının daha fazla harcanmasına yol açar. Tüm bu veriler ışığında, kahverengi yağ dokusundaki termogenez aktivasyonun FNDC5 tarafından düzenlendiği söylenebilir (2).

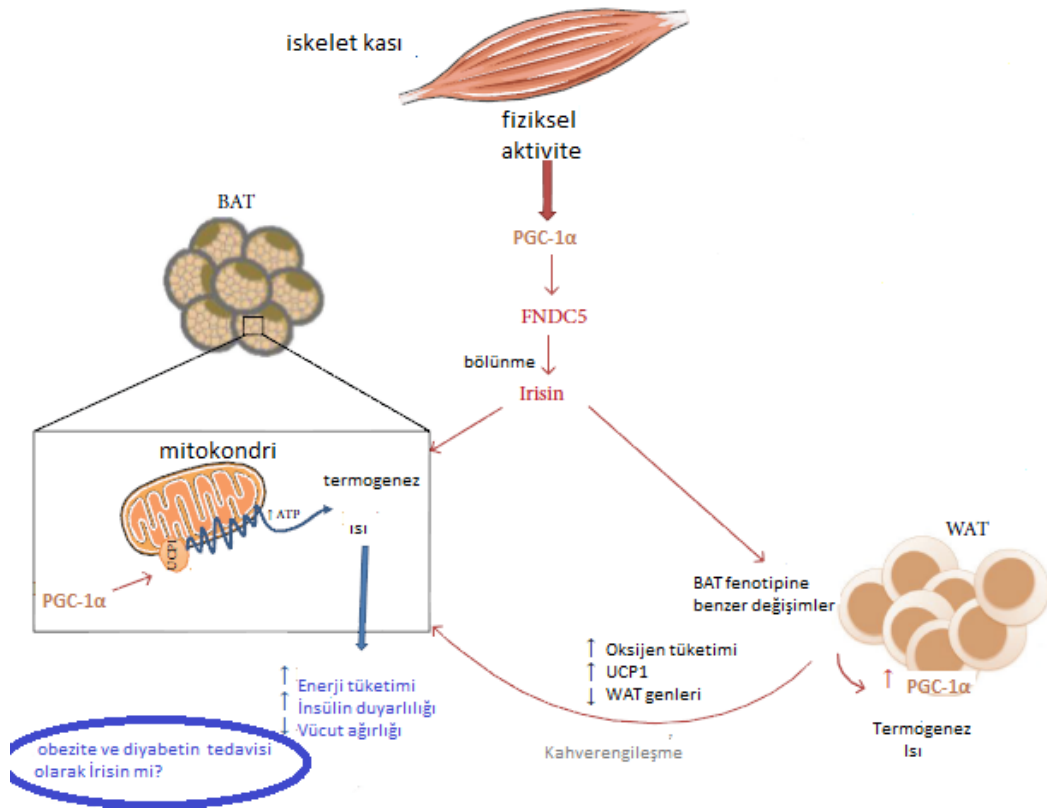
4.1.3. İrisin Sentezleyen Dokular

İrisin sentezinin büyük bir kısmının iskelet kas dokusunda gerçekleştiği öne sürülmüş, ancak, yapılan immünohistokimyasal çalışmalar irisinin kalp kası bağ dokusundan ve miyokardından da bol miktarda sentezlendiğini ortaya koymuştur (2). Sıçanlarda kalp kas dokusu ve iskelet kas dokusundaki miligram doku başına irisin miktarları hesaplandığında, kalp kası dokusundaki irisinin daha çok olduğu bulunmuştur. İrisinin iskelet kasının perimisyum, endomisyum ve çekirdek bölgelerinde immünoreaktif bir özelliği mevcuttur (16). Yüksek irisin seviyesinden düşük irisin seviyesine doğru sahip olan dokular şu şekilde sıralanmaktadır: kas, rektum, perikard, intrakranial arter, kalp, dil, optik sinir, uvula, beyin, yumurtalık, yumurta kanalı, hipofiz vezikülleri, böbreküstü bezi, yemek borusu, vena kava, böbrek, penis, retina, testis,

üretra, mesane, spinal kord, karaciğer, ince bağırsak, bademcik, tiroid ve vajina (17). İrisin adipoz dokudan da salgılanır. Bu nedenle, araştırmacılar irisini miyokin ailesine ek olarak, adipokin ailesine de dahil etmişlerdir.

4.1.4. İrisin ile Enerji Metabolizması Arasındaki İlişki

Memelilerde beyaz adipoz doku (WAT) temel olarak trigliseridleri depolar ve çok az miktarda mitokondri içerir. Ayrıca, bu doku insülin direnci oluşumuna da yardım etmektedir. Yağ depolamasının yanında, adipokin adı verilen peptid ve hormonlar gibi birçok molekülleri sentezlediği ve salgıladığı için önemli bir endokrin dokusudur. WAT'ın aksine, kahverengi adipoz doku (BAT) ise enerji tüketimi konusunda işlev yapmaktadır. BAT, WAT ile karşılaştırıldığında çok lipid damlacıklı hücrelerden oluşmaktadır ve yüksek sayıda mitokondri ihtiva etmektedir. BAT, UCP1 ekspresyonuna ve bol miktarda mitokondriyal içeriğe sahip olmasından dolayı yüksek metabolik kapasiteye sahiptir (18,19). UCP proteinleri ise oksidatif fosforilasyonda, proton gradienti oluşumunu azaltan transmembran proteinleridir ve kahverengi adipoz doku hücrelerinin mitokondri iç membranında bulunur. BAT'ın bebeklerde vücut sıcaklığının düzenlenmesine katkıda bulunduğunun bilinmesiyle birlikte, yetişkin fizyolojisindeki fonksiyonu irisin hormonu keşfine kadar bilinmemekteydi. Bundan dolayı irisinin izolasyonu, büyük ölçüde metabolik olayların ve adipoz doku metabolizmasının açıklanmasında yardımcı olmuştur (20). Egzersiz ile birlikte PGC-1 α 'nın aktivasyonu sağlanarak FNDC5 biyosentezi artar ve bunun da parçalanmasıyla oluşan irisin de dolaşıma salgılanmış olur. Farklı dokulara etki eden irisin, BAT'ı etkileyerek UCP1'in artmasını sağlar. İrisinin WAT üzerine olan etkisi ise şöyledir; tam açıklanmamış bir mekanizma ile, muhtemelen mitokondri biyogenezini artırarak, WAT'ı kahverengi adipoz doku fenotipine dönüştürür. Bu fenotipte de PGC-1 α 'nın ekspresyonunu artırır ve buna bağlı olarak beyaz adipoz doku genleri azalırken UCP1 ve oksijen tüketimi uyarılır. Enerji deposu olarak kullanılan beyaz adipoz doku, enerjiyi kullanan kahverengi adipoz dokuya dönüştürülür. Bu işleme kahverengileşme denir (Şekil 2) (13). Egzersizle birlikte hızlı ve güçlü bir şekilde ekspresyonu artan PGC-1 α 'nın ekspresyonunu artışı geçicidir. Çünkü hem Mrna seviyesi hem PGC-1 α 'nın düzeyi hızlı bir şekilde egzersiz öncesindeki ilk haline geri döner (14).



Şekil 2. İrisinin yağ dokuları üzerindeki etkisi (Novelle’ den, 13)

4.2. Tip 2 Diyabet ve Teşhisi

Diyabetes Mellitus insülin salgısının göreceli veya mutlak eksikliği ve/veya insülin direnciyle oluşan, hiperglisemiyle kendini belli eden, karbohidrat, yağ ve protein metabolizması bozuklukları ile karakterize progresif, kronik bir metabolizma hastalığıdır. Pankreastaki insülin sekresyonunun rölatif veya mutlak eksikliği, insülinin etkisizliği ya da insülin molekülündeki yapısal bozukluklar sonucunda oluşan DM, etiyolojisi, genetik ve klinik tablosu ile heterojen özellikler taşır (21).

Tip 1 diyabet (T1DM), pankreasta Langerhans adacıklarının beta hücrelerinin insülin üretmemesiyle ortaya çıkan ve sonuçta tam insülin yetersizliğinin oluşması ile karakterize bir hastalıktır. Bu tip diyabet “bağışıklık-aracılı” ya da “idyopatik” olarak ikiye ayrılabilir. T1DM hastalarının çoğunluğunu bağışıklık-aracılı tip oluşturur. Bu tipte pankreasın beta hücrelerinde oluşan kayıpların temel nedeni otoimmün bir süreç sonunda meydana gelen zedelenmelerdir (22).

Tip 2 diyabet (T2DM) insülinin etkisine karşı direnç gelişmesi, ya da, insülin duyarlılığının azalması ile insülin sentezi ve salgılanmasının göreceli azalması ya da bazen tamamen ortadan kalkması ile ortaya çıkan bir hastalıktır. T2DM erken evrelerindeki başlıca bozukluk insülin duyarlılığındaki azalmadır. Bu durum kendisini plazma insülin seviyesinin artması ile gösterir. Hastalığın bu aşamasındaki hiperglisemi alınacak çeşitli önlemler ve karaciğerde glukoz yapımını azaltan ya da insülin duyarlılığını arttıran ilaçlar kullanılarak geri çevrilebilir. Hastalık ilerledikçe, insülin salgılanmasındaki bozukluk daha da ilerler ve genellikle hastalara insülin vermek bir zorunluluk halini alır (23).

Progresif ve kronik bir hastalık olan T2DM, tedavisi ömür boyu sürdüğü için kesin tanıdan emin olmak gerekmektedir. Herhangi bir stres, travma, enfeksiyon, miyokard infarktüsü gibi akut gelişen durumlarda ortaya çıkan ağır bir hiperglisemi, T2DM tanısı için yeterli kabul edilmez. Bu yüzden, akut geçici durum düzeldikten sonra doğrulayıcı testler yapılarak kesin tanıya gidilmelidir. Ayrıca tesadüfen hiperglisemi saptanan bir kişide de diyabet tanısı kan glukoz düzeyinin birkaç gün ara ile bakıldığında her seferinde de normal sınırların üzerinde bulunmasına dayandırılmalıdır. Tanısal kriterler şunlardır:

1. Diyabet semptomları (poliüri, polidipsi, polifaji, noktüri, halsizlik, iştahsızlık, çabuk yorulma, açıklanamayan kilo kaybı, ağız kuruluğu, tekrarlayan inatçı mantar enfeksiyonları gibi) varlığında rastgele plazma glukozunun 200 mg/dL ve üzerinde olması.

2. Açlık plazma glukozunun en az 8 saatlik gece açlığını takiben 126 mg/dL ve üzerinde olması.

3. Standart 75 gram glukoz ile yapılan oral glukoz tolerans testi sonrası 2. Saat değerinin 200 mg/dL ve üzerinde olması

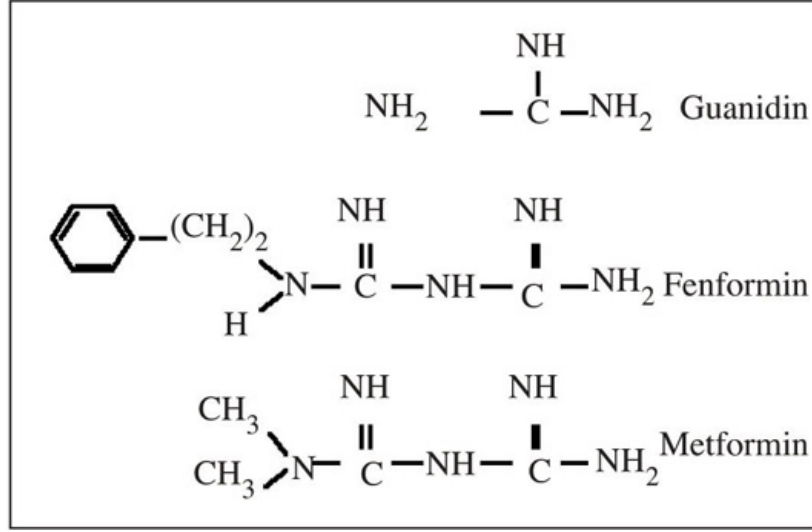
Bu üç kriter diyabet uzmanlarından oluşan uluslararası komitenin daha önceki tanı kriterlerini yeniden gözden geçirip düzenleyerek oluşturdukları son önerilerdir. Tanı yukarıdaki üç kriterden biriyle konabilir, ancak daha sonraki bir gün yine bu üç kriterden biriyle doğrulanmalıdır(24). Glisemik kontrolün değerlendirilmesinde diğer glukoz parametrelerinin de önemli olduğunu gösteren çalışmalar mevcut ise de günümüzde altın standart HbA1c'dir (25).

4.2.1. Tip 2 Diyabette Kullanılan İlaçlar ve Metformin

Tüm diyabetiklerin %90'ından fazlasını tip 2 diyabetikler oluşturur ve bu grup genellikle Tip 1 diyabetik hastaların aksine aşırı kilolu, ya da, obezdirler. İyi glisemik kontrolün erken sağlanması diyabete bağlı gelişecek olan bozuklukları azaltır ya da geciktirir. Diyabetlinin tedavisinde olumlu yönde uygulanacak yaşam tarzı değişikliğinin yerini tutacak hiçbir ilaç yoktur. Yaşam tarzı değişiklikleri yalnız kan şekeri üzerine değil, diğer tüm risk faktörleri üzerine de olumlu etki gösterir. Yaşam tarzı değişikliğinin iki bileşeni olan beslenme alışkanlıklarının düzenlenmesi ve yeterli fiziksel aktivite düzeyi için öneriler hastanın özelliklerine göre, bireysel olarak belirlenmelidir. Kan şekeri normale getirilirken, kan lipid düzeyleri ve kan basıncı da düzenlenmelidir (26).

Optimal glisemik kontrolü sağlayabilmek için diyabetin tedavisinde farmakolojik tedavi zorunludur. Oral antidiyabetik ilaçlar tek başlarına, birbirleriyle veya insülinle kombine olarak oral yoldan kullanılabilir. Mevcut olan oral antidiyabetik ilaçlar T2DM'nin patofizyolojik bozukluklarının bir veya daha fazlasında etkilidir (27).

30 yılı aşkın bir süredir diyabet tedavisinde biguanidler kullanılmaktadır. Metformin dünyanın pek çok ülkesinde olduğu gibi Türkiye'de de kullanımda bulunan tek biguaniddir. Guanidlerin glukoz düşürücü potansiyeli ilk olarak ortaçağ döneminde, Galega ilaçlarının (sedefotu veya Fransız leylağı özlerinin) Avrupa'da diyabet tedavisinde kullanıldığı zaman tanımlanmıştır. 1957'de metformin (di metil biguanid) ve fenformin (fenetil biguanid) T2DM tedavisinde kullanılacak ajanlar olarak tanıtılmıştır (Şekil 3). Fenformin, laktik asidozla olan güçlü ilişkisi nedeniyle 1970'lerde ABD dahil olmak üzere çoğu ülkede kullanımdan kaldırılmıştır (28).



Şekil 3. Guanidin yapısı ve biguanidin yapısındaki ilaçlar: metformin ve fenformin (Harmancı'dan, 29)

Günümüzde, metformin diyabetes mellitus tedavisinde kullanılan tek hipoglisemik ilaçtır. Periferik dokularda insülin duyarlılığını artırır. Bu nedenle metformini antihiperglisemik bir ajan olarak düşünmek gerekir. Metformin sadece insülin varlığında etkilidir ve esas etkisi hepatik glukoz yapımını azaltmak ve insülin etkisini artırmaktır. Glisemik kontrolün sağlanması ile serum insülin seviyelerinde hafifçe düşme meydana gelir (30).

Metformin hepatik glukoz yapımını baskılar. Bunu da primer olarak glukoneogenezi ve daha az olarak da glikojenolizi inhibe ederek gerçekleştirir. İnsülin aracılıklı periferik glukoz kullanımını artırır, özellikle yemeklerden sonra antilipolitik etkisi ile serum serbest yağ asiti seviyelerini düşürür, glukoneogenez için mevcut substratları azaltır. Anoreksiye neden olur, glukozun intestinal absorpsiyonunu azaltır. Kas ve adipoz doku glukoz alımını artırır. GLUT-1 ve GLUT-4 'ün plazma membranına tranlakosyonunu artırır (31).

Metformin obez ve obez olmayan T2DM'li hastalarda kullanımı oldukça etkili bir oral antidiyabetik ilaçtır. Obez hastalarda ağırlığın azalmasını, en azından stabilizasyonunu sağlar. Ayrıca birçok çalışmada metformin tedavisi ile kan glukoz kontrolünün sağlanmasının yanında kilo kaybı olduğu gösterilmiştir. Genellikle ilk 6 ay içinde ağırlıkta ortalama 2.5-4.5 kg'lık bir düşme sağlanır ve bu vücut ağırlığı devam edebilir. Kilo kaybı oluşmasında ilacın direk olarak iştah merkezini etkileyerek anoreksiye neden olduğu, gıdaların bağırsaktan absorpsiyonunu etkilediği veya

termogenezi artırdığı gibi nedenler ileri sürülmüştür (32). Metformin, tipik olarak açlık plazma glukoz değerlerini yaklaşık olarak %20 civarında düşürür. (33).

Önemli lipid düşürücü etkileri de vardır (serum trigliserid ve serbest yağ asit düzeylerinde azalma yapar). Postprandial hiperlipidemiye azaltır. LDL-kolesterol düzeyini düşürücü, HDL- kolesterol düzeylerinde arttırıcı etkileri mevcuttur. Metforminin laktik asidoz için potansiyel risk ve önemli GİS yan etkileri olmak üzere iki önemli dezavantajı vardır. Metformin, oral alımını takiben ince bağırsakta (%60'ı) hızla absorbe edilir, 2 saatte pik plazma konsantrasyonuna ulaşır. Plazma proteinlerine bağlanamaz ve vücutta metabolize edilmez. Oral alımda 24-36 saat sonra absorbe edilen dozun tamamı idrarla atılır. Yarılanma ömrü 1.5-4.9 saattir. Metformin sadece böbrek yoluyla atıldığından, böbrek yetmezliği olanlarda özellikle serum kreatinin değeri 1.5mg/dL (kadınlarda 1.4 mg/dL) den fazla ise metformin kullanılmamalıdır (34).

Metforminin etkisinin başlaması hızlı değildir. Tedavi başladıktan 2-3 gün içinde kan glukozu düşmeye başlar ve 2 haftada pik değere erişir. Metformin alan hastaların birçoğunda plazma insülin konsantrasyonu düşer. İnsülin sekresyonunu uyarmaz ve genellikle hipoglisemi oluşturmaz. Metforminin kan glukoz konsantrasyonunu etkin bir şekilde düşürmesi, kilo kaybını uyarması, plazma lipid profilini iyileştirmesi, plazma insülin seviyesini düşürebilmesi ve karaciğer ile kaslarda insülin sensitiviteini artırabilmesi ve obez ve dislipidemik T2DM 'lilerde ilk seçilecek ilaç olması gerektiğini göstermektedir. Her ne kadar, insülin sekresyonunda sıklıkla daha ağır bir bozukluk bulunmasına rağmen, metformin obez olmayan tip 2 diyabetlilerde de kullanılabilir (35).

4.2.3. Diyabet ve İrisin

Obezite özellikle sanayileşmiş ülkelerde birçok sağlık problemine neden olan mevcut en yaygın beslenme hastalığıdır. Hastaların hayat kalitelerini ve yaşam sürelerini doğrudan veya dolaylı olarak azaltan, yüksek mortalite ve morbite oranlarına neden olan kardiyovasküler hastalıklar, T2DM, bazı kanser türleri ve solunum komplikasyonlarının gelişime ile ilişkilidir (36). Obezite, organizmadaki yağ kütlesinin artışıyla karakterize edilen ve gittikçe büyüyen bir sağlık problemidir. İrisinin termogenik özelliğinden dolayı, yağ kütlesinin azaltılmasında önemli bir role sahip olduğuna inanılmaktadır. Yapılan çalışmalarda irisin düzeylerinin obez bireylerde 353,1

$\pm 18,6$ ng / mL iken kontrol gruplarında $198,4 \pm 7.8$ ng / mL olarak bulunurken, kadınlarda $353,1 \pm 18,6$ ng / mL ve erkeklerde $267,6 \pm 12$ ng / mL olarak belirlenmiştir. Bu rapora göre irisin düzeyleri cinsiyete bağlıdır ve erkeklere oranla kadınlarda daha yüksektir (37). Ayrıca, dolaşımdaki irisinin, obezitede hiperglisemiye bir cevap olarak arttığının, fakat tıpkı insülin ve leptin gibi duyarlılığının azaldığı öne sürülmüştür. İrisin düzeyinin kilo kaybı ile azaldığı için dolaşımdaki irisin seviyesinin vücut yağ kitlesinin bir göstergesi olabileceği ileri sürülmüştür (38). Obezite ameliyatı geçiren obez hastalardan, ameliyat sonrasındaki 6. ayında alınan iskelet kası ve serum örneklerinde, iskelet kasındaki FNDC5 mRNA'nın ve dolaşımdaki irisin miktarının düştüğü gözlemlenmiştir. Araştırmacılar, cerrahiye bağlı kilo kaybı ile irisin seviyesinin düştüğü sonucuna varmıştır (17). Bazı araştırmacılar dolaşımdaki irisin seviyesi ile vücut kitle indeksi arasında pozitif bir korelasyon olduğunu söylerken, bazı araştırmacılar ise adi poz doku kütlesi ile dolaşımdaki irisin miktarının arasında ters bir ilişki olduğunu savunmuşlardır. Dolaşımdaki irisin seviyesindeki bir artış enerji tüketimini artırır, kilo alımını azaltmasının yanında, diyet nedeniyle oluşmuş insülin direncini de iyileştirir (2).

İrisin PGC-1 α aktivasyonuna cevap olarak salgılanan bir miyokindir. Çalışmalar PGC-1 α 'nın mitokondriyal biyogenezi ve oksidatif metabolizmayı düzenlemesi mitokondriyal homeostazisi için önemlidir ve mitokondriyal fonksiyon ayrıca insülin direncinde de rol oynar. Ayrıca, PGC-1 α aktivitesinin ve ekspresyonunun T2DM'li hastalarda daha düşük olduğu bulunmuştur (39). Choi ve ark. (40) yeni tanı almış T2DM'li hastalar ile normal glukoz toleransı olan kontrollerde serum irisin seviyelerini karşılaştırmışlardır ve serum irisin seviyelerinin yeni tanı almış T2DM'li grupta önemli ölçüde düştüğünü bulmuşlardır. Xiang ve ark. (41) yeni tanı almış T2DM'li kişilerde serum irisin konsantrasyonlarının kontrollere göre önemli ölçüde daha düşük olduğunu bildirmişlerdir. Yüksel ve ark. (42) gestasyonel diabetes mellitus (GDM) olan 20 kadın ve GDM olmayan 20 hamile kadın ile bir vaka kontrol çalışması yapmışlardır. Maternal serum irisin seviyesinin kontrol grubu ile karşılaştırıldığı zaman GDM'li hamile kadınlarda anlamlı derecede düşük olduğunu bulmuşlardır. Buna rağmen, GDM'li ve sağlıklı hamilelerin kordon kanı irisin seviyesinde önemli bir fark bulamamışlardır. Kuzmucki ve ark. (43) hamile kadınlarda serum irisin konsantrasyonun önemli derece arttığını, fakat, GDM'li hastalarda bu artışın anlamlı derece düştüğünü öne sürmüşlerdir. Bu çalışmalara ilave olarak, irisin ve glukoz homeostazisi arasındaki ilişki

de gösterilmiştir. Ancak bu sonuçlar tartışmalıdır. Choi ve ark. (38) serum irisin seviyesinin 2. saat plazma glukozu ve hemoglobin A1c (HbA1c) ile anlamlı derecede ters ilişkili olduğunu bulmuşlardır. Yan ve ark. (44) ayrıca Çinli obez yetişkinlerde, serum irisinin açlık insülin değeri ve HbA1c ile anlamlı derecede ters ilişkili olduğunu rapor etmişlerdir.

Bütün bu veriler, dolaşımdaki irisin seviyesinin, hem, yeni teşhis konmuş, hem de, uzun dönemli T2DM'li hastalarda daha düşük olduğunu ve irisinin T2DM'nin bir öngörücüsü olabileceğini göstermektedir. Buna rağmen, T2DM'de hangi faktörün dolaşımdaki irisin seviyesi üzerine baskın etkiye sahip olduğu bilinmemektedir.

5. GEREÇ ve YÖNTEM

5.1. Gereç

5.1.1. Kullanılan Cihazlar, Laboratuvar Malzemeleri ve Kimyasallar

Çalışmamızda kullanılan cihazlar, laboratuvar malzemeleri ve kimyasal maddelerin listesi üretici firmaları ile birlikte Tablo 1’de verilmiştir.

Tablo 1. Kullanılan cihazlar, laboratuvar malzemeleri, kimyasal maddeler ve üretici firmaları

Kullanılan Cihazlar, Laboratuvar Malzemeleri ve Kimyasallar	Üretici Firma
Derin Dondurucu (-80°C)	Thermo Electron Corporation
ELISA yıkayıcısı	Biotek
FNDC5/irisin ELISA kiti	SunRed
İnkübatör	Shel Lab Shaking Incubator
Mikroplate Okuyucusu	Molecular Devices VersaMax
Otomatik pipetler	Socorex, Isolab
Saf Su Arıtma Cihazı	Kros
Santrifüj	Eppendorf, Centrifuge 5810
Vorteks	IKA Vortex, Genius 3

5.2. Yöntem

5.2.1. Çalışma Gruplarının Oluşturulması

Endokrinoloji ve Metabolizma Hastalıkları Bilim Dalı' na başvuran ve Oral Glukoz Tolerans Testi (OGTT) sonucu glukoz toleransının bozulmuş olduğu belirlenen 40-60 yaş arasında olan 20 kişi çalışmaya dahil edildi. Bu kişilerin herhangi bir hastalıkla ilgili ilaç tedavisi görmüyor olmalarına ve diyetleriyle ilgili bir kısıtlama içinde olmamalarına dikkat edildi. Egzersiz ve beslenme gibi hayat tarzlarında değişiklik ve metformin kullanılması tavsiye edilen bu kişilerden hemen ve bir ay sonra

kan alındı. Ayrıca, hasta grubuyla yaş ve cinsiyet olarak eşleşen sağlıklı kişilerden oluşan bir kontrol grubu (n=20) oluşturuldu ve bu kişilerden bir kez kan alındı.

Çalışmaya dahil olan gönüllülere ve hastalara çalışma ile ilgili gereken bilgiler verildi. Çalışmada yer alan gönüllülerin ve hastaların aydınlatılmış onamları alındı (Bkz. Onam Formu Örneği).

Çalışmanın yürütülebilmesi için, KTÜ Tıp Fakültesi, Bilimsel Araştırmaları Değerlendirme Komisyonu'ndan 2014/112 dosya numarası ve 670 sayılı karar ile onay alınmıştır (Bkz. Etik Kurul Onayı).

5.2.2. Kan Örneklerinin Alınması ve Çalışmaya Hazırlanması

Çalışmaya dahil edilen hasta ve kontrol gruplarına ait kişilerin kan örnekleri antikoagulan içermeyen seperatörlü biyokimya tüpüne vakumun aldığı kadar alındı. 30 dakika içinde kan örnekleri 3000 rpm'de 10 dakika süreyle santrifüjlendi ve serum örnekleri ayrılıp çalışma zamanına kadar -80 °C'deki derin dondurucuda saklandı. Yeterli hasta ve kontrol sayısına ulaşıldıktan sonra ticari ELISA kiti kullanılarak üretici firmanın tavsiyeleri doğrultusunda serumlarda irisin düzeyleri ölçüldü.

5.2.3. Serum Örneklerinde ELISA Yöntemi Kullanılarak İrisin Seviyesinin Belirlenmesi

Serum irisin ölçümünde SunRed firmasının 201-12-5328 katalog nolu insan irisini için üretilen ELISA kiti kullanılarak serumdaki ölçümleri kit protokolüne uygun olarak gerçekleştirilmiştir. Bu ölçümden gerçekleştirilen çalışma basamakları aşağıdaki gibidir.

5.2.3.1. Örneklerin ELISA Pleytine Aktarılması ve Ölçüme Hazırlanması

Numuneler aşağıda sıralanan işlemler ile ELISA pleytine aktarılarak ölçüme hazırlandı. Numuneler çift çalışıldı.

- -80 °C'deki numuneler oda sıcaklığına getirildi.
- Standartlar sırası ile 50 µL olacak şekilde kuyucuklara yüklendi ve içinde standart bulunan her bir kuyucuğa 50 µL Streptavidin-HRP eklendi. Kör için ayrılan kuyucuğa kromojen A, kromojen B ve durdurma çözeltisi eklendi.
- Diğer kuyucuklara sırası ile 40 µL numune ve numune bulunan her kuyucuğa 10 µL irisin-antikoru ve 50 µL Streptavidin- HRP eklendi. Sonrasında pleyt folyo ile kapatılarak çalkalayıcıda 37°C'de 1 saat inkübasyona bırakıldı.

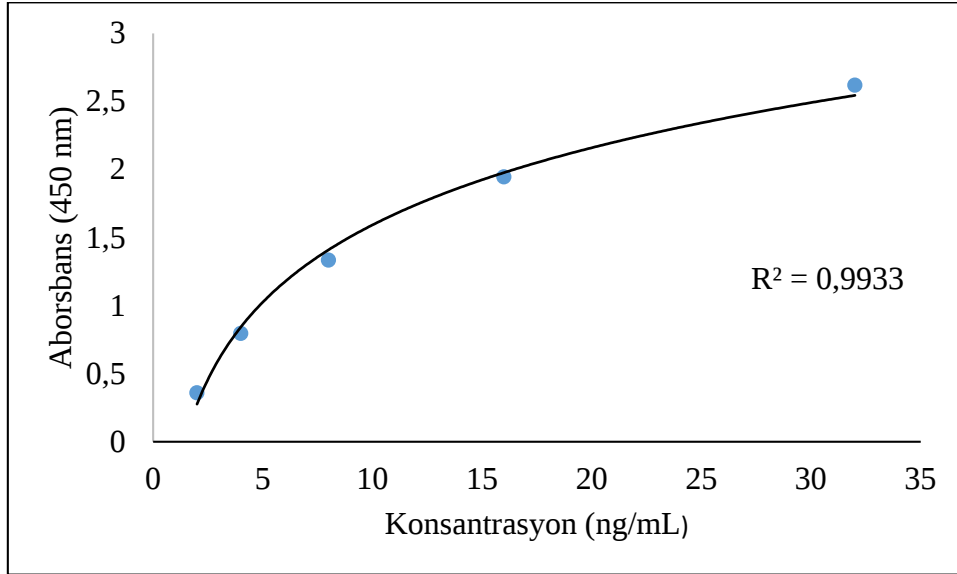
- Kitten çıkan yıkama tamponu 30 kat seyreltildi.
- İnkübasyon sonrası pleyt, pleyt yıkayıcıda yıkama tamponu ile yıkandı ve kuyucuklarda kalan artık yıkama tamponu tamamen uzaklaştırıldı.

Numuneler aşağıdaki işlem basamakları ile renklendirildi ve miktarları ölçüldü.

- Her bir kuyucuğa renklendirme için kromojen A ve B çözeltilerinden 50'şer μL eklendi. 37°C 'de karanlıkta 10 dk inkübasyona bırakıldı.
- Standartların rengi maviye döner dönmez her bir kuyucuğa 50 μL renklenmeyi durdurma çözeltisi eklendi ve numunelerin renginin sarıya döndüğü gözlemlendi.
- 450 nm dalga boyunda absorpsanlar ölçüldü.

5.2.3.2. İrisin Standart Grafiğinin Hazırlanması

Kit paketinde bulunan ve konsantrasyonu 64 ng/mL olan irisin standart çözeltisi, ELISA ölçümlerinde kullanılmak üzere konsantrasyonları 32, 16, 8, 4, 2 ng/mL olacak şekilde seyreltilerek çözeltiler oluşturuldu. Bundan hazırlanan irisin standart grafiği Şekil 4'te gösterildi.



Şekil 4. İrisin standart grafiği

5.2.4. İstatistiksel Analizler

Çalışma sonrasında elde edilen analiz sonuçları; aritmetik ortalama ve standart sapma ($X \pm SD$) olarak ifade edildi. Deney sonuçları, SPSS (Statistics Program for Social and Science) 13.0.1 (Lisans numarası: 9069727) istatistik programına yüklenerek normal dağılıma uygunlukları Kolmogorov-Smirnov Testi ile kontrol edildi. Normal dağılıma uymayan; bağımlı ikili testlerin karşılaştırılmasında Wilcoxon testi kullanıldı. Bağımsız ikili testlerin karşılaştırılmasında ise Mann-Whitney Testi uygulandı. İstatistiksel testlerdeki sonuçların $p < 0.05$ olması anlamlı kabul edildi.

6. BULGULAR

Gruplarda aşırı uç değerler atılarak, bütün gruplar 15 kişi olacak şekilde düzeltme yapılmıştır.

6.1. Hasta Grubunun Tedavi Uygulanmadan Önceki Serumları ile Kontrol Grubu Serumlarındaki İrisin Seviyelerinin Karşılaştırılması

Tedavi öncesi hasta grubundan ve kontrol grubundan alınan kanlardan elde edilen serumda ölçülen irisin miktarlarının ortalama ve standart sapma değerleri Tablo 2’de verilmiştir. İstatistiksel analiz sonucuna göre, hasta grubunun tedavi öncesi serum irisin seviyeleri ile kontrol grubunun serum irisin seviyeleri karşılaştırıldığında, kontrol grubundaki serum irisin miktarının anlamlı derecede daha yüksek olduğu bulunmuştur ($p=0.002$).

Tablo 2. Tedavi öncesi hasta grubu ile kontrol grubunun serum irisin seviyeleri (ng/ mL)

Parametre	Tedavi Öncesi Hasta Grubun Serum İrisin Seviyesi n=15	Kontrol Grubunun Serum İrisin Seviyesi n=15	p
İrisin	3.49±1.69	6.48±5.07	0.002

p, "Mann-Whitney testi" ne göre verilmiştir.

6.2. Hasta Grubunun Tedavi Uygulandıktan Sonraki Serumları ile Kontrol Grubu Serumlarındaki İrisin Seviyelerinin Karşılaştırılması

Tedavi sonrası hasta grubundan ve kontrol grubundan alınan kanlardan elde edilen serum örneklerinde ölçülen irisin miktarlarının, ortalama ve standart sapma değerleri Tablo 3’de verilmiştir. İstatistiksel analiz sonucuna göre tedavi sonrası hasta grubu ile kontrol grubu arasında serum örneklerindeki irisin seviyeleri arasında önemli bir fark olmadığı görülmektedir ($p=0.170$).

Tablo 3. Tedavi sonrası hasta grubu ile kontrol grubu arasındaki serum irisin seviyeleri (ng/mL)

Parametre	Tedavi Sonrası Hasta Grubun Serum İrisin Seviyesi n=15	Kontrol Grubunun Serum İrisin Seviyesi n=15	p
İrisin	3.73±1.60	6.48±5.07	0.170

p, "Mann-Whitney testi" ne göre verilmiştir.

6.3. Hasta Grubunun Tedavi Öncesi ve Sonrası Serum İrisin Seviyelerinin Karşılaştırılması

Hasta grubunun tedavi öncesi ve sonrası serum örneklerinde ölçülen irisin miktarlarının, ortalama ve standart sapma değerleri Tablo 4'te verilmiştir. İstatistiksel analiz sonucuna göre hasta grubunun tedavi öncesi ve sonrası serum örneklerindeki irisin seviyeleri arasında önemli bir fark olmadığı görülmektedir ($p=0.780$).

Tablo 4. Hasta grubunun tedavi öncesi ve sonrası serum irisin seviyeleri (ng/mL)

Parametreler	Tedavi Öncesi Hasta Grubun Serum İrisin Seviyesi n=15	Tedavi Öncesi Hasta Grubun Serum İrisin Seviyesi n=15	p
İrisin	3.49±1.69	3.73±1.60	0.780

p, "Wilcoxon testi " ne göre verilmiştir.

7. TARTIŞMA ve SONUÇ

İrisin, ekspresyonu PGC-1 α tarafından düzenlenen ve bir membran proteini olan FNDC5'in ekstraselüler kısmının proteoliziyle iskelet kasından kana salınan ve adipoz dokuda yağ oksidasyonunu artırarak kilo kaybına sebep olan yeni tanımlanmış bir miyokindir. Bu protein bazal seviyede kanda bulunur, akut ve yoğun egzersizle iskelet kasından kana salınımı artar ve subkutan (derialtı) adipoz dokuda henüz tanımlanmamış reseptörüne bağlanarak, PPAR γ aracılıklı bir mekanizma ile beyaz adipoz dokunun kahverengileşmesini sağlayıp, UCP1 ekspresyonunu uyarır. Bunun sonucunda, toplam vücut enerjisinin harcanmasında önemli bir artışa ve zayıflamaya sebep olur (2). Bundan dolayı irisinin, kimyasal enerjinin ısı şeklinde tüketilmesini sağlayan ve enerji metabolizmasını düzenleyen yeni bir hormon olduğu belirlenmiştir. Kanda irisin seviyesindeki nisbi bir artışın, enerji tüketimini artırmanın yanı sıra, diyetle indüklenmiş insülin direncini de iyileştirdiği bulunmuştur. Dolayısıyla, irisin obezite ve T2DM gibi metabolik hastalıkların tedavisinde etkisi olabilecek bir hormon olarak düşünülmeye başlanmış ve bu hormonun etki mekanizmasının anlaşılması önemli bir ilgi alanı oluşturmıştır.

Bu amaçla yapılan bazı çalışmalarda irisin ve enerji metabolizması belirteçleri arasındaki ilişkiler araştırılmış, ancak, birbirinden farklı sonuçlar elde edilmiştir. Mesela; Timmons ve ark. (45) irisinin miyosit ekspresyonunun vücut kitle indeksi, açlık insülini ve açlık kan glukozu gibi enerji metabolizması belirteçleri ile ilişkili olmadığını belirtirken, Huh ve ark. (46) dolaşımdaki irisin konsantrasyonunun vücut kitle indeksi ve açlık kan glukozu ile pozitif ilişkili olduğunu ileri sürmüşlerdir.

Metformin, T2DM tedavisinde kullanılan, insülin duyarlılığını arttıran biguanid grubunda bir ilaçtır. Metformin etkisini temel olarak hepatik glukoz çıkışını azaltarak yapar. Bunu da, glukoneogenezi ve daha az olarak da glikojenolizi inhibe ederek gerçekleştirir. Ayrıca, iskelet kası ve yağ hücrelerinde insülin aracılı glukoz alımını arttırması ve intestinal glukoz emilimini azaltması T2DM tedavisinde etkili olmaktadır (5). Metformin tek başına veya insülin ve diğer antidiyabetik ajanlarla birlikte kullanılır. Metformin bu etkilerini AMP ile aktive edilmiş protein kinaz (AMPK) enzimini aktifleştirerek gerçekleştirir. AMPK hücresel ve sistemik enerji metabolizması üzerinde ATP sentezini artıran bir düzenleyici olarak etkili olur ve bunu hepatositlerden glukoz

çıkışını inhibe edip ve miyositlerde GLUT-1 and GLUT-4 tarafından glukoz alımını artırarak gerçekleştirir (47).

İrisin yeni keşfedilen bir hormon olması nedeniyle, literatürde irisine ilgili yapılan çalışmalar sınırlıdır. Bu hormonun yakıt metabolizmasının düzenlenmesinde önemli rolü olduğu yapılan araştırmalarla ortaya konulmuştur. Ayrıca, pek çok çalışma ile de kan dolaşımındaki irisin seviyesinin, sağlıklı kişilerle karşılaştırıldığı zaman, T2DM'li kişilerde daha düşük olduğu bildirilmiştir. Metformin de T2DM tedavisinde kullanılan ve yakıt metabolizmasını etkileyen bir ilaçtır. Dolayısıyla, bu durum hormonun metforminin etki mekanizmasıyla ilişkili olabileceğini düşündürmektedir. Literatürde bu anlamda bir çalışma ve bilgiye rastlanmamıştır. Bundan dolayı, bu çalışmada söz konusu muhtemel ilişkinin aydınlatılması amaçlanmıştır.

Bu amaçla, KTÜ Tıp Fakültesi Endokrinoloji ve Metabolizma Hastalıkları Bilim Dalı'na başvuran ve Oral Glukoz Tolerans Testi (OGTT) sonucu glukoz toleransının bozulmuş olduğu belirlenen 20 kişinin oluşturduğu hasta grubu çalışmada araştırıldı. Egzersiz (yürüyüş, tempolu yürüme, koşu, yüzme gibi...) ve beslenme (kan şekerinin hızlı bir şekilde yükselmesine neden olan karbohidrat ve karbohidrat içeren yiyecekler ile kilo almaya neden olacak yağ ve yağlı yiyecekleri azaltma şeklinde) gibi hayat tarzlarında değişiklik ile metformin kullanılması tavsiye edilen bu kişilerden hemen ve bir ay sonra kan alındı. Bir aylık bir süre belirlememizin sebebi ise çalışma süresinin azlığı olup, yapılan bu çalışmanın daha sonra gerçekleştirilecek araştırmalar için bir ön çalışma niteliğinde olmasıdır. Ayrıca, hasta grubuyla yaş ve cinsiyet olarak eşleşen sağlıklı kişilerden oluşan bir kontrol grubu(n=20) da oluşturuldu ve bu kişilerden bir kez kan alındı. Hasta ve kontrol grubu yeterli sayıya ulaşınca kadar alınan kan örnekleri -80 °C'deki derin dondurucuda saklandı. Yeterli hasta ve kontrol sayısına ulaşıldıktan sonra, ticari ELISA kiti kullanılarak üretici firmanın tavsiyeleri doğrultusunda serumlarda irisin düzeyleri ölçüldü.

Hasta grubunu tedavi öncesi serum örnekleri ile kontrol grubunun serum örnekleri karşılaştırıldığında, kontrol grubunun serum irisin değerinin anlamlı derece daha fazla olduğu bulunmuştur ($p=0.002$). Bu gruplara ait değerler Tablo 2'de verilmiştir. T2DM'li hastalarda serum irisin seviyesinin belirlenmesi için yapılan önceki çalışmalar da bu sonuçları destekler niteliktedir. Choi ve ark. (40) ile Xiang ve ark. (41) yeni tanı

almış T2DM'li hastalar ile normal glukoz toleransı olan kontrollerde serum irisin seviyelerini karşılaştırmışlar ve serum irisin seviyelerinin yeni tanı almış T2DM'li grupta önemli ölçüde düşük olduğunu bulmuşlardır. Yapılan daha kapsamlı bir çalışmada, Kurdiova ve ark. (48) kas ve yağ dokusunda sentezlenen ve dolaşıma salınan FNDC5/irisin seviyelerini sedanter, zayıf, obez, prediyabetik ve T2DM'li erkeklerde ölçmüşler ve dolaşımdaki en yüksek irisin seviyesinin zayıf erkeklerde olduğunu, obez ve prediyabetik erkeklerde anlamlı bir değişiklik olmadığını, fakat tip 2 diyabetli erkeklerde neredeyse %40 azaldığını bulmuşlardır. Yukarıdaki bulgulara ilaveten, irisin ve glukoz homeostazisi arasındaki ilişki de gösterilmiştir. Choi ve ark. (40) serum irisin seviyesinin 2. saat plazma glukozu ve HbA1c ile anlamlı derecede ters ilişkili olduğunu bulmuşlardır. Ayrıca, Yan ve ark. (44) Çinli obez yetişkinlerde, serum irisinin açlık insülin değeri ve HbA1c ile anlamlı derecede ters ilişkili olduğunu bildirmişlerdir. Espes ve ark. (49) yaptıkları bir çalışmada ise T1DM'li kişilerde, özellikle de kadınlarda, irisin seviyesinin arttığını bulmuşlar, ancak bu konuda daha kesin bilgilere ulaşmak için daha fazla çalışma yapılması gerektiğini de vurgulamışlardır.

Bu çalışmada tedavi gören T2DM'li hastaların serum örnekleri ile kontrol grubunun serum örnekleri irisin değerleri açısından değerlendirilmiş, hasta grubunun tedavi öncesi serum örneklerinde olduğu gibi, kontrol grubunun serum örneklerinin irisin değerlerinin yaklaşık benzer miktarda daha yüksek bulunmuş, ancak bu farkın istatistiksel olarak önemli olmadığı görülmüştür ($p= 0.170$). Bu gruplara ait bulgular Tablo 3'te verilmiştir.

Aslında, bu çalışmadan elde edilecek en önemli bilgi hasta grubunun tedavi öncesi ve sonrası serum irisin değerleriyle ilgilidir. Ancak, ölçüm sonuçlarının (Tablo 4) istatistiksel değerlendirilmesi ile iki grup arasında önemli bir farkın ortaya çıkmadığı görülmektedir ($p=0.780$). Tedaviden beklenen, hasta grubunun değerlerinin, kontrol grubuna yaklaşması, yani, artmasıdır. Az da olsa ortalama değerde önemsiz bir artış gözlenmektedir.

Literatürde metformin ve irisin arasındaki ilişkiyi T2DM'li hastalarda gösteren bir insan çalışması yoktur. Ancak, bu ilişkiyi hayvansal modelde açıklayan bir çalışma D.J. Li ve ark. (50) tarafından yapılmıştır. İki haftalık metformin tedavisi sonrasında, metforminin diyabetik farelerde önemli ölçüde vücut ağırlığını azalttığını, normal

farelerde ise azaltmadığını bildirmişlerdir. Ayrıca, metforminin diyabetik farelerde açlık kan glukoz ve insülin seviyelerini de azalttığını belirtmişlerdir. Yapılan bu analizler diyabetik farelerde kan glukozunun ve vücut ağırlığının azalmasının irisin konsantrasyonu ile pozitif ilişkili olduğunu göstermiştir. Metforminin diyabetik farelerde kan trigliseritlerini azalttığı, ancak, normal farelerde azaltmadığı belirlenirken, hem normal, hem de, diyabetik farelerde kan LDL ve HDL seviyelerini değiştirmedığı bulunmuştur. İskelet kasında FNDC5 ekspresyonunun diyabetik farelerde normal farelere göre önemli ölçüde daha düşük olduğu, metforminin FNDC5 protein ve mRNA ekspresyonunu iskelet kasında hem normal hem de diyabetik farelerde önemli ölçüde arttırdığı gözlemlenmiştir.

Bu çalışmada elde edilen sonuçlar bir arada değerlendirildiğinde, bir aylık önerilen tedavinin uygulanmasının hastaların serum irisin seviyelerini önemli ölçüde değiştirmediğini göstermektedir. Özet olarak, hedeflenen bir ön bilgiye sonuçlar çerçevesinde net olarak ulaşılamamıştır. Serum irisin seviyelerinde anlamlı bir artışın ortaya çıkarılması için daha uzun bir süreye ihtiyaç olabilir. Ayrıca, hasta grubu sayısının mümkün olduğunca artırılması sonuçların güvenilirliği için gerekmektedir. Lipid profilleri başta olmak üzere, HbA1c gibi bazı metabolik parametrelerin de böyle bir çalışmaya ilave edilmesi ilerde yapılacak araştırmalar için önerilebilir.

8. KAYNAKLAR

1. So B, Kim H, Kim J, Song W (2014). Exercise-induced myokines in health and metabolic diseases. *IMR* 3: 172–179.
2. Boström P, Wu J, Jedrychowski MP, Korde A, Ye L, Lo JC, Rasbach KA, Boström EA, Choi JH, Long JZ, Kajimura S, Zingaretti MC, Vind BF, Tu H, Cinti S, Hojlund K, Gygi SP, Spiegelman BM (2012). A PGC1- α dependent myokine that drives browning of white fat and thermogenesis. *Nature* 481: 463–468.
3. Erickson HP (2013). Irisin and FNDC5 in retrospect. An exercise hormone or a transmembrane receptor? *Adipocyte* 2: 289-293.
4. Scarpello J, Howlett H (2008). Metformin therapy and clinical uses. *Diabetes Vasc Dis Res* 5: 157–67.
5. Hundal RS, Krssak M, Dufour S (2000). Mechanism by which metformin reduces glucose production in type 2 diabetes. *Diabetes* 49: 2063-9.
6. Pedersen BK, Febbraio MA (2008). Muscle as an endocrine organ: focus on muscle-derived interleukin-6. *Physiol Rev* 88: 1379-406.
7. Pedersen BK, Akerström TC, Nielsen AR, Fischer CP (2007). Role of myokines in exercise and metabolism. *J Appl Physiol* 103:1093-8.
8. Brandt C, Pedersen BK. The role of exercise-induced myokines in muscle homeostasis and the defense against chronic diseases (2010). *J Biomed Biotechnol* 2010: 520258.
9. Steensberg A, van Hall G, Osada T, Sacchetti M, Saltin B, Klarlund Pedersen B (2000). Production of interleukin-6 in contracting human skeletal muscles can account for the exercise-induced increase in plasma interleukin-6. *J Physiol* 529: 237-42.
10. Henningsen J, Rigbolt KT, Blagoev B, Pedersen BK, Kratchmarova I (2010). Dynamics of the skeletal muscle secretome during myoblast differentiation. *Mol Cell Proteomics* 9: 2482-96.
11. Grimal P (1996). The dictionary of classical mythology. Wiley-Blackwell; ISBN978-0-631-20102-1.
12. Ferrer-Martí'Nez A, Ruiz-Lozano P, R. Chien K (2002). Mouse PEP: a novel peroxisomal protein linked to myoblast differentiation and development. *Dev. Dynam.* 224:154-167.

13. Novelle M, Contreras C, Romero-Picó A, López M, Diéguez C (2013). Irisin, two years later. *Int J Endocrinol* 2013: 746281.
14. Pilegaard H, Saltin B, Neufer PD (2003). Exercise induces transient transcriptional activation of the PGC-1alpha gene in human skeletal muscle. *J Physiol* 546: 851-858.
15. Teufel A, Malik N, Mukhopadhyay M, Westphal H (2002). *Frcp1* and *Frcp2*, two novel fibronectin type III repeat containing genes. *Gene* 297: 79-83.
16. Aydın S, Kuloglu T, Aydın S, Eren MN, Celik A, Yilmaz M, Kalayci M, Sahin I, Gungor O, Gurel A, Ogeturk M, Dabak O (2013). Cardiac, skeletal muscle and serum irisin responses to with or without water exercise in young and old male rats: cardiac muscle produces more irisin than skeletal muscle. *Peptides* 52: 68-73.
17. Huh JY, Panagiotou G, Mougios V, Brinkoetter M, Vamvini MT, Schneider BE, Mantzoros CS (2012). *FNDC5* and irisin in humans. I. Predictors of circulating concentrations in serum and plasma and II. mRNA expression and circulating concentrations in response to weight loss and exercise. *Metabolism* 61: 1725-1738.
18. Nicholls DG, Locke RM (1984). Thermogenic mechanisms in brown fat. *Physiol Rev* 64: 1-64.
19. Fedorenko A, Lishko PV, Kirichok Y (2012). Mechanism of fatty-acid-dependent *UCP1* uncoupling in brown fat mitochondria. *Cell* 151: 400-13.
20. Aydın S (2014). Three new players in energy regulation: Preptin, adropin and irisin. *Peptides* 56: 94-110.
21. Altuntaş Y (2001). Diabetes mellitusun tanımı, tanısı ve sınıflaması. Her Yönüyle Diabetes Mellitus (Ed: Yenigün M, Altuntaş M). İstanbul, 51-62.
22. Rother KI (2007). Diabetes treatment—bridging the divide. *New Eng J Med* 356: 1499-501.
23. Vijan, S (2010). Type 2 diabetes. *Ann. Int. Med.* 152: 3-1.
24. American Diabetes Association (2004). Standards of medical care in diabetes. *Diabetes Care* 27: 15-35.
25. Temelkova Kurktschiev TS, Koehler C, Henkel E, Leonhardt W, Fuecker K, Hanefeld M (2000). Postchallenge plasma glucose and glycemic spikes are more strongly associated with atherosclerosis than fasting glucose or HbA1c level. *Diabetes Care* 23: 1830-4.

26. Tip 2 diyabette kullanılan ilaçlar (2015). Electronic resources [online]. Available from: <http://diyabet.gov.tr/index.php?lang=tr&page=34>.
27. Standl E, F  chtenbusch M (2003). The role of oral antidiabetic agents: why and when to use an early-phase insulin secretion agent in Type II diabetes mellitus. *Diabetologia* 46: 30-6.
28. Bah  eli M, Yılmaz MT, Bah  eci M, B  y  kbe  e MA (2003). Oral antidiyabetik ilaçlar ve yeni uygulamalar. *Diabetes mellitusun modern tedavisi*. Birinci Baskı, T  rk Diyabet Vakfı, İstanbul, 35-54.
29. Eski İla  , Eski ve Yeni Kullanımları: Metformin (2015). Electronic resources [online]. Available from: http://ichastaliklaridergisi.org/managete/fu_folder/2005-01/html/2005-12-1-029-037.htm
30. Scarpello JH, Howlett HC (2008). Metformin therapy and clinical uses. *Diabetes Vasc Dis Res* 5: 157–67.
31. Andujar-Plata P, Pi-Sunyer X, Laferre B (2011). Metformin effects revisited. *Diabetes Res Clin Pract* 95: 1-9.
32. United Kingdom Prospective Diabetes Study Group. United Kingdom Prospective Diabetes Study Group. (UKPDS) (1995). Relative efficacy of randomly allocated diet, sulphonylureas, insulin, or metformin in patients with newly diagnosed non-insulindependent diabetes followed for three years. *BMJ* 310: 83-8.
33. Bailey CJ, Turner RC (1996). Metformin. *N Engl Med* 334:574-9.
34. DeFronzo RA, Goodman AM (1995). Efficacy of metformin in patients with non-insulin dependent diabetes mellitus. The Multicenter Metformin Study Group. *N Engl Med* 333:541-9.
35. İmamo  lu    (2009). *Diabetes Mellitus Multidisipliner Yakla  ımla Tanı Tedavi ve İzlem*. Deomed Medikal Yayıncılık, İstanbul; 151-153.
36. Kopelman PG (2000). Obesity as a medical problem. *Nature* 404: 635-643.
37. Mitchell N, Catenacci V, Wyatt HR, Hill JH (2011). Longitudinal variation of circulating irisin after an energy restriction-induced weight loss and following weight regain in obese men and women. *Am. J. Hum. Biol.* 26: 198-207.
38. Stengel A, Hofmann T, Goebel-Stengel M, Elbelt U, Kobelt P, Klapp BF (2013). Circulating levels of irisin in patients with anorexia nervosa and different stages of obesity – correlation with body mass index. *Peptides* 39: 125–30.

39. Guilherme A, Virbasius JV, Puri V, Czech MP (2008). Adipocyte dysfunctions linking obesity to insulin resistance and type 2 diabetes. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 9: 367–377.
40. Choi YK, Kim MK, Bae KH, Seo HA, Jeong JY, Lee WK (2013). Serum irisin levels in new-onset type 2 diabetes. *Diabetes Res Clin Pract.* 100: 96–101.
41. Xiang L, Xiang G, Yue L, Zhang J, Zhao L (2014). Circulating irisin levels are positively associated with endothelium-dependent vasodilation in newly diagnosed type 2 diabetic patients without clinical angiopathy. *Atherosclerosis.* 235:328–33.
42. Yuksel MA, Oncul M, Tuten A, Imamoglu M, Acikgoz AS, Kucur M (2014). Maternal serum and fetal cord blood irisin levels in gestational diabetes mellitus. *Diabetes Res Clin Pract.* 104:171–5.
43. Kuzmicki M, Telejko B, Lipinska D, Pliszka J, Szamatowicz M, Wilk J (2014). Serum irisin concentration in women with gestational diabetes. *Gynecol Endocrinol.* 30: 636–9.
44. Yan B, Shi X, Zhang H, Pan L, Ma Z, Liu S (2014). Association of serum irisin with metabolic syndrome in obese Chinese adults. *PLoS One.* 9: 94-235.
45. Guilherme A, Virbasius JV, Puri V, Czech MP (2008). Adipocyte dysfunctions linking obesity to insulin resistance and type 2 diabetes. *Nat Rev Mol Cell Biol* 9:367–77.
46. Yan J, Feng Z, Liu J, Shen W, Wang Y, Wertz K (2012). Enhanced autophagy plays a cardinal role in mitochondrial dysfunction in type 2 diabetic Goto-Kakizaki (GK) rats: ameliorating effects of (-)-epigallocatechin-3-gallate. *J Nutr Biochem* 23: 716–24.
47. Grisouarda J, Timpera K, Radimerskia TM, Freyb DM, Peterlic R, Kolad B, Korbonitsd M, Herrmanne P, Krähenbühlf S, Zulewskia H, Kellera U, Müllerg B, Christ-Crain M (2010). Mechanisms of metformin action on glucose transport and metabolism in human adipocytes. *Biochem Pharmacol* 80: 1736–1745.
48. Kurdiova T, Balaz M, Vician M, Maderova D, Vlcek M, Valkovic L (2014). Effects of obesity, diabetes and exercise on Fndc5 gene expression and irisin release in human skeletal muscle and adipose tissue: in vivo and in vitro studies. *J Physiol* 592: 1091–107.

49. Espes D, Lau J, Carlsson PO (2015). Increased levels of irisin in people with long-standing Type 1 diabetes. *Diabet Med.* 32(9): 1172-6.
50. Li DJ, Huang F, Lu WJ, Jiang GJ, Deng YP, Shen FM (2014). Metformin promotes irisin release from murine skeletal muscle independently of AMP-activated protein kinase activation. *Acta Physiol* 213: 711-21.

9.EKLER

9.1. Ek 1. Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu

BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU

Araştırmanın Adı: Yeni Yanı Almış Tip 2 Diyabetli Hastalarda Serum İrisin Seviyesinin İncelenmesi

LÜTFEN DİKKATLİCE OKUYUNUZ !!!

Bu çalışmaya katılmak üzere davet edilmiş bulunmaktasınız. Bu çalışmada yer almayı kabul etmeden önce çalışmanın ne amaçla yapılmak istendiğini anlamanız ve kararınızı bu bilgilendirme sonrası özgürce vermeniz gerekmektedir. Size özel hazırlanmış bu bilgilendirmeyi lütfen dikkatlice okuyunuz, sorularınıza açık yanıtlar isteyiniz.

ÇALIŞMANIN AMACI NEDİR?

İrisin yeni keşfedilen bir miyokindir. Bu nedenle literatürde irisinle ilgili çalışmalar sınırlıdır, ancak, bu miyokinin metabolizma ile ilişkili birçok hastalıkta önemli rolü olduğu yapılan araştırmalarla ortaya konulmuştur. İrisin enerji metabolizması yollarının düzenlenmesinde rol alan ve Tip 2 diyabet (T2DM)'li kişilerde kandaki miktarı azalan bir hormondur. Metformin de yakıt ve enerji metabolizmasını etkileyen ve Tip 2 diyabet tedavisinde çok yaygın olarak kullanılan bir ilaçtır. Bu bilgilerden hareketle bu çalışmada, metformin kullanımının serum irisin seviyesi üzerine etkisinin aydınlatılması amaçlanmıştır.

KATILMA KOŞULLARI NEDİR?

Yapılacak çalışmada gönüllülük esas alınarak, Oral Glukoz Tolerans Testi (OGTT) sonucu glukoz toleransının bozulmuş olduğu belirlenen 20 kişi çalışmaya dahil edilecek. Egzersiz ve beslenme gibi hayat tarzlarında değişiklik ve metformin kullanılması tavsiye edilen bu kişilerden hemen ve bir aylık tedavi dönemin ardından birer tüp kan alınacaktır. Ayrıca, hasta grubuyla yaş ve cinsiyet olarak eşleşen sağlıklı kişilerden oluşan bir kontrol grubu (n=20) oluşturulacak ve bu kişilerden bir kez kan alınacaktır.

9.1. Ek 1. Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu (Devam)

NASIL BİR UYGULAMA YAPILACAKTIR?

Çalışmaya dahil edilen hasta ve sağlıklı kişilerin kan örnekleri antikoagulan içermeyen seperatörlü biyokimya tüpüne vakumun aldığı kadar alınacaktır. 30 dakika içinde kan örnekleri 3000 rpm'de 10 dakika süreyle santrifüjlenecek ve serum örnekleri ayrılacaktır.

Serum örnekleri çalışma zamanına kadar -80 °C'deki derin dondurucuda saklanacaktır. Yeterli hasta sayısına ulaşıldıktan sonra ticari ELISA kiti kullanılarak üretici firmanın tavsiyeleri doğrultusunda serumlarda irisin düzeyleri ölçülecek.

SORUMLULUKLARIM NEDİR?

Araştırma ile ilgili olarak hastanın herhangi bir sorumluluğu yoktur (örn. uygulama süresi boyunca hiçbir ilaç kullanmama ancak zorunlu olarak ilaç almak durumunda kalındığında mutlaka sorumlu araştırmacıyı bilgilendirme, uygulanan araştırma şemasına özen gösterme, araştırmacının önerilerine uyma vb.). Bu koşullara uymadığınız durumlarda araştırmacı sizi uygulama dışı bırakabilme yetkisine sahiptir.

KATILIMCI SAYISI NEDİR?

Araştırmaya 20 hasta 20 sağlıklı birey olmak üzere toplam 40 kişi katılacaktır.

KATILIMIM NE KADAR SÜRECEKTİR?

Hastalar rutin hastalıklarının seyri sırasında iki kez kan vereceklerdir. Sağlıklı kişiler ise bir kez kan vereceklerdir.

ÇALIŞMAYA KATILMA İLE BEKLENEN OLASI YARAR NEDİR?

Bu çalışmada, irisinin enerji metabolizması üzerindeki etkisinden yola çıkarak, yine, metabolik etkileri olan metformin kullanımıyla ilişkisi hakkında ileride yapılacak daha kapsamlı çalışmalara ışık tutacak bazı ön bilgilerin elde edilmesi amaçlanmıştır. (örn, araştırmadan tıbbi olarak bir yarar sağlamasının söz konusu olmadığı ancak bu çalışmadan çıkarılan sonuçların başka insanların yararına kullanılabilecek olması, yalnızca araştırma amaçlı olduğu ve doğrudan yarar görmesi ya da tedavinin seyrinin değiştirilmesinin beklenmeyeceği vb.)

9.1. Ek 1. Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu (Devam)

ÇALIŞMAYA KATILMA İLE BEKLENEN OLASI RİSKLER NEDİR?

Hastanın rutin işlemleri için kan verme sırasında 6-8 mL ek kan verme dışında hiçbir ek işlem olmayıp, bununda hiçbir tıbbi riski yoktur.

ARAŞTIRMA SÜRECİNDE BİRLİKTE KULLANILMASININ SAKINCA LI OLDUĞU BİLİNER İLAÇLAR/BESİNLER NELERDİR?

Çalışma çerçevesinde böyle bir durum yoktur.

HANGİ KOŞULLARDA ARAŞTIRMA DIŞI BIRAKILABİLİRİM?

Çalışmaya alınacak hasta kişilerden iki kez, sağlıklı kişilerden ise bir kez kan alınması nedeniyle böyle bir durum söz konusu değildir.

DİĞER TEDAVİLER NELERDİR?

Başka bir tedavi yoktur.

HERHANGİ BİR ZARARLANMA DURUMUNDA YÜKÜMLÜLÜK/SORUMLULUK KİMDEDİR ve NE YAPILACAKTIR?

Hastaya herhangi bir zarar verilmesi mümkün değildir.

ARAŞTIRMA SÜRESİNCE ÇIKABİLECEK SORUNLAR İÇİN KİMİ ARAMALIYIM?

Acil bir durumda Uzm. Dr. Hülya COŞKUN'u arayabilirsiniz.

ÇALIŞMA KAPSAMINDAKİ GİDERLER KARŞILANACAK MIDIR?

Çalışmada böyle bir ödeme gerektiren parametre kullanılmamaktadır.

ÇALIŞMAYI DESTEKLEYEN KURUM VAR MIDIR?

KTÜ Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) birimi bu çalışmayı desteklemektedir.

ÇALIŞMAYA KATILMAM NEDENİYLE HERHANGİ BİR ÖDEME YAPILACAK MIDIR?

Herhangi bir ödeme yapılmayacaktır.

9.1. Ek 1. Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu (Devam)

ARAŞTIRMAYA KATILMAYI KABUL ETMEMEM VEYA ARAŞTIRMADAN AYRILMAM DURUMUNDA NE YAPMAM GEREKİR?

Bu araştırmada yer almak tamamen sizin isteğinize bağlıdır. Araştırmada yer almayı reddedebilirsiniz. Araştırmanın sonuçları bilimsel amaçla kullanılacaktır; çalışmadan çekilmeniz ya da araştırmacı tarafından çıkarılmanız durumunda, sizle ilgili tıbbi veriler de gerekirse bilimsel amaçla kullanılabilir.

KATILMAMA İLİŞKİN BİLGİLER KONUSUNDA GİZLİLİK SAĞLANABİLECEK MİDİR?

Size ait tüm tıbbi ve kimlik bilgileriniz gizli tutulacaktır ve araştırma yayınlansa bile kimlik bilgileriniz verilmeyecektir, ancak araştırmanın izleyicileri, yoklama yapanlar, etik kurullar ve resmi makamlar gerektiğinde tıbbi bilgilerinize ulaşabilir. Siz de istediğinizde kendinize ait tıbbi bilgilere ulaşabilirsiniz.

Çalışmaya Katılma Onayı:

Yukarıda yer alan ve araştırmaya başlanmadan önce gönüllüye verilmesi gereken bilgileri gösteren sayfalık metni okudum ve sözlü olarak dinledim. Aklıma gelen tüm soruları araştırmacıya sordum, yazılı ve sözlü olarak bana yapılan tüm açıklamaları ayrıntılarıyla anlamış bulunmaktayım. Çalışmaya katılmayı isteyip istemediğime karar vermem için bana yeterli zaman tanındı. Bu koşullar altında, bana ait tıbbi bilgilerin gözden geçirilmesi, transfer edilmesi ve işlenmesi konusunda araştırma yürütücüsüne yetki veriyor ve söz konusu araştırmaya ilişkin bana yapılan katılım davetini hiçbir zorlama ve baskı olmaksızın büyük bir gönüllülük içerisinde kabul ediyorum. Bu formu imzalamakla yerel yasaların bana sağladığı hakları kaybetmeyeceğimi biliyorum.

Bu formun imzalı ve tarihli bir kopyası bana verildi.

GÖNÜLLÜNÜN		İMZASI
ADI & SOYADI		
ADRESİ		
TEL. & FAKS		
TARİH		

9.1. Ek 1. Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu (Devam)

VELAYET VEYA VESAYET ALTINDA BULUNANLAR İÇİN VELİ VEYA VASİNİN		İMZASI
ADI & SOYADI		
ADRESİ		
TEL. & FAKS		
TARİH		

ARAŞTIRMA EKİBİ DIŞINDAN YETKİN BİR HEKİM		İMZASI
ADI & SOYADI		
TARİH		

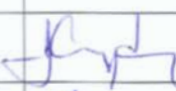
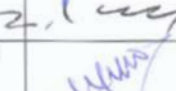
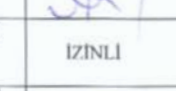
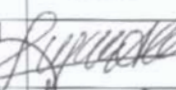
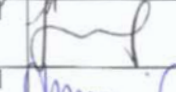
GEREKTİĞİ DURUMLARDA TANIK		İMZASI
ADI & SOYADI		
GÖREVİ		
TARİH		

10. ETİK KURUL ONAYI

KTÜ TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU İLAÇ DIŞI ARAŞTIRMALAR KARAR FORMU

KARAR BİLGİLERİ	Karar No: 2 Prof.Dr.E.Edip KEHA'nın sorumluluğunda yürütülen Arş.Gör.Elif ŞAHİN'e ait "Tip 2 Diyabetli Hastalarda Serum İrisin Seviyesinin İncelenmesi" başlıklı 2014/112 no.lu ve yukarıda başvuru bilgileri verilen araştırma/tez başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş, gerçekleştirilmesinde etik sakınca bulunmadığına; toplantıya katılan etik kurul üyelerinin oy birliği ile karar verilmiştir.	Tarih: 01/12/2014
----------------------------	--	--------------------------

KTÜ TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU İLAÇ DIŞI KLİNİK ARAŞTIRMALARI KARAR FORMU	
ÇALIŞMA ESASI BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI:	Klinik Araştırmalar Hakkında Yönetmelik, İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu Prof.Dr.Faruk AYDIN

Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet		İlişki *		Katılım **		İmza
Prof.Dr.Faruk AYDIN Başkan:	Tıbbi Mikrobiyoloji	KTÜ Tıp Fakültesi	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Prof.Dr.Gamze ÇAN Başkan Yrd.	Halk Sağlığı	KTÜ Tıp Fakültesi	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Prof.Dr.S.Caner KARAHAHAN Üye:	Tıbbi Biyokimya	KTÜ Tıp Fakültesi	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Prof.Dr. Hafız AYDIN Üye:	Ortopedi ve Travmatoloji	KTÜ Tıp Fakültesi	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Prof.Dr.Yüksel ALİYAZICIOĞLU Üye:	Tıbbi Biyokimya	KTÜ Tıp Fakültesi	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☐	H ☒	İZİNLİ
Prof.Dr.S. Murat KESİM Raportör:	Farmakoloji	KTÜ Tıp Fakültesi	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Doç.Dr. Murat LİVAOĞLU Üye:	Plastik, Rekons. ve Estetik Cer	KTÜ Tıp Fakültesi	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Prof.Dr.Gülşay KARAGÜZEL Üye:	Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları	KTÜ Tıp Fakültesi	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☐	H ☒	İZİNLİ
Doç.Dr.Şafak ERSÖZ Üye:	Patoloji	KTÜ Tıp Fakültesi	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Doç.Dr. Evrim ÖZKORUMAK Üye:	Ruh Sağlığı ve Hastalıkları	KTÜ Tıp Fakültesi	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Doç.Dr.Fatih Mehmet GÖKÇE Üye:	Fizyoloji	RTE Üniv. Tıp Fakültesi	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Doç.Dr.Bahanur ÇEKİÇ Üye:	Anesteziyoloji ve Reanimasyon	KTÜ Tıp Fakültesi	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Dr.Dilek MALKOÇ Üye:	Aile Hekimi	Sörmene Aile Sağlığı Merkezi	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Miraç ÇELİK Üye:	Hukuk	KTÜ Hukuk Fakültesi	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☐	H ☒	İZİNLİ
Tufan SAĞLAM Üye:	Tekstil	Serbest (Tekstil Mühendisi)	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☐	H ☒	İZİNLİ

* :Araştırma ile İlişki / ** :Toplantıda Bulunma

11. ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Soyadı, Adı : ŞAHİN, Elif

Uyruğu : TC

Doğum tarihi ve yeri : 23/03/1990 Sürmene

Medeni hali : Evli

EĞİTİM BİLGİLERİ

Derece	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mezuniyet Yılı
Lisans	Karadeniz Teknik Üniversitesi- Fen Fakültesi, Kimya Bölümü	2012
Lise	Hasan Sadri Yetmişbir Anadolu Lisesi	2008

YABANCI DİL

İngilizce, Almanca