

**T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**TİP 2 DİYABETLİ HASTALARDA LÖKOSİT TELOMER
UZUNLUĞUNUN; SİRTUİN-1 DÜZEYİ, GLİSEMİK
KONTROL, DİYABETİK KOMPLİKASYONLAR, VÜCUT
YAĞ DAĞILIMI, BESLENME VE EGZERSİZ
ALİŞKANLIKLARI İLE İLİŞKİSİ**

**UZMANLIK TEZİ
Dr. NAZMİ GÖKHAN ÜNVER**

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. ALEV EROĞLU ALTINOVA**

**ANKARA
EKİM 2020**

**T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**TİP 2 DİYABETLİ HASTALARDA LÖKOSİT TELOMER
UZUNLUĞUNUN; SİRTUİN-1 DÜZEYİ, GLİSEMİK
KONTROL, DİYABETİK KOMPLİKASYONLAR, VÜCUT
YAĞ DAĞILIMI, BESLENME VE EGZERSİZ
ALİŞKANLIKLARI İLE İLİŞKİSİ**

**UZMANLIK TEZİ
Dr. NAZMİ GÖKHAN ÜNVER**

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. ALEV EROĞLU ALTINOVA**

**ANKARA
EKİM 2020**

KABUL VE ONAY



Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tez Sınav Tutanağı

Adı ve Soyadı	Nazmi Gökhan ÜNER
Baba Adı	Mehmet
Doğum Yeri/Tarihi	Niğde / 13.11.1989
Diploma Tarihi / Diploma No	28.06.2015 / 2015-185
Mezun Olduğu Fakülte	Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi
İhtisas Yaptığı Anabilim Dalı/Bilim Dalı	İç Hastalıkları Anabilim Dalı
İhtisas Süresi	Yıl: 4 Ay: 48
Sınav Yapılmasını İsteyen Makam	Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı

UZMANLIK TEZİNİN ADI: Tip 2 diyabetli hastalarda lökosit telomer uzunluğunun; sirtuin-1 düzeyi, glisemik kontrol, diyabetik komplikasyonlar, vücut yağ dağılımı, beslenme ve egzersiz alışkanlıkları ile ilişkisi

JÜRİ KARARI: İç Hastalıkları Anabilim dalında araştırma görevlisi olarak çalışmakta olan Nazmi Gökhan Ünver'in "Tip 2 diyabetli hastalarda lökosit telomer uzunluğunun; sirtuin-1 düzeyi, glisemik kontrol, diyabetik komplikasyonlar, vücut yağ dağılımı, beslenme ve egzersiz alışkanlıkları ile ilişkisi " isimli tezi başarılı bulunmuştur ve uzmanlık sınavına girmeye hak kazanmıştır.

JÜRİ ÜYELERİ

BAŞKAN

Prof. Dr. Ali R. ERGÜL ALTINOVA
T.C. G.Ü. T.İ. E. Gazi Hastanesi
Endokrinoloji ve Metabolizma
Dip. No: 96011057 Dip. Tes. No: 7887

ÜYE

Prof. Dr. Müjde Y. AKTÜRK
Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi
Gazi Hastanesi
Endokrinoloji ve Metabolizma Hastalıkları BD
Dip. No: 96011057 Dip. Tes. No: 7887

ÜYE

Prof. Dr. Ceylan KANCA DEĞERTEKİN
Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi
Endokrinoloji ve Metabolizma Hastalıkları BD
Dip. No: 02392-206 Dip. Tes. No: 153338

TEŞEKKÜR

Eğitim sürecime katkıda bulunan başta anabilim dalı başkanımız Prof. Dr. İlhan Yetkin olmak üzere tüm değerli hocalarıma,

Tez çalışmamın tamamlanması süresince yol göstericiliği ve sabrı için tez danışmanı hocam Prof. Dr. Alev Eroğlu Altınova'ya,

Çalışmam boyunca yardımlarını esirgemeyen endokrinolojide görev yapan Fatma Dönmez Demir'e, Seval Halledici'ye, Emel Beşer'e ve Semra Doğutaş Aydoğan'a,

Güzel bir asistanlık geçirmemi sağlayan asistan arkadaşlarıma, iç hastalıkları hemşireleri ve personellerine,

Her zaman yanımda olan, bugünlere ulaşmamı sağlayan başta annem ve abim olmak üzere tüm aileme,

Tüm eğitim hayatımda zorlukları birlikte aştığım, birlikte zorunlu hizmet yaptığım, meslektaşım, ev arkadaşım Kerem Kenarlı'ya,

Tezin hazırlanma sürecinde manevi desteğiyle bana güç veren hayatımın kalanında hep yanımda olmasını dilediğim Ayda Beril Nas'a,

Çok teşekkür ederim.

Dr. Nazmi Gökhan Ünver
Ankara 2020

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY	i
TEŞEKKÜR	ii
İÇİNDEKİLER.....	iii
KISALTMALAR DİZİNİ	v
TABLolar DİZİNİ	vi
FİGÜRLER DİZİNİ	vii
1.GİRİŞ ve AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. Diabetes Mellitus	4
2.1.1 Tanımı	4
2.1.2 Epidemiyoloji.....	4
2.1.3 Tanı Kriterleri ve Sınıflama	5
2.1.4 Diyabetin Komplikasyonları	6
2.1.4.1 Diyabetin Akut Komplikasyonları	6
2.1.4.2 Kronik Vasküler Komplikasyonlar	7
2.1.4.2.1 Makrovasküler Komplikasyonlar	9
2.1.4.2.2 Mikrovasküler Komplikasyonlar	9
2.1.4.2.2.1 Retinopati.....	9
2.1.4.2.2.2 Nefropati (Diyabetik Böbrek Hastalığı)	10
2.1.4.2.2.3 Nöropati	10
2.1.5 Diyabet ve Yaşlanma	12
2.1.5.1 Tip 2 Diyabette Hücresel Yaşlanma İle İlgili Mekanizmalar.....	13
2.1.5.1.1 Hiperglisemi /Glukoz Toksisitesi	13
2.1.5.1.2 GH/IGF-1 Yolağı.....	14
2.1.5.1.3 Lipotoksisite	14
2.1.5.2 Biyolojik Yaşlanma İle İlişkili Salgısal Fenotipler (SASP) Aracılı İnsülin Direnci.....	14
2.1.5.3. Pankreatik β Hücre Disfonksiyonu.....	15
2.2 Telomer.....	16
2.2.1. Telomer Uzunluğu ve Diabetes Mellitus	17
2.2.2. Telomer Uzunluğu ve Obezite	18

2.3 Sirtuin 1 (SIRT1)	19
3. GEREÇ VE YÖNTEMLER	22
3.1 Çalışmaya Alınma Kriterleri.....	22
3.2 Çalışmadan Dışlanma Kriterleri	22
3.3 Çalışma Tasarımı	23
3.4 Serum Sirtuin 1 Konsantrasyonu Ölçümü	24
3.4.1. Numunelerin hazırlanması	24
3.4.2. Standartların ve diğer reaktiflerin hazırlanması.....	24
3.4.3. Deneyin yapılışı	24
3.5 Lökosit telomer uzunluğu tayini	25
3.5.1. Periferik kandan DNA izolasyonu	25
3.5.2. Deneyin yapılışı	26
3.6 Biyoelektrik impedans analizi (BİA) ile vücut kompozisyonunun değerlendirilmesi	30
3.7 İstatistiksel değerlendirme	32
4. BULGULAR	33
5. TARTIŞMA.....	44
6. SONUÇLAR	51
7. KAYNAKLAR.....	52
8.ÖZET	65
9. ABSTRACT	67
10. ÖZGEÇMİŞ.....	69
11. EKLER	70
11.1 EK-1 Olgu Kayıt Formu	70
11.2 EK-2 Etik Kurul Onayı.....	71

KISALTMALAR DİZİNİ

AGEs	: İleri glikasyon son ürünleri
ASA	: Asetil salisilik asit
ASKVH	: Aterosklerotik kardiyovasküler hastalık
BB	: Beta bloker
BİA	: Biyoelektrik impedans analizi
Ct	: Cycle threshold
DDR	: DNA hasar yanıtı
DKA	: Diyabetik ketoasidoz
DM	: Diabetes mellitus
DNA	: Deoksiribo nükleik asit
DR	: Diyabetik retinopati
DSPN	: Distal simetrik polinöropati
GDM	: Gestasyonel diabetes mellitus
GH	: Büyüme hormonu
HHH	: Hiperozmolar hiperglisemik durum
HT	: Hipertansiyon
IGF-1	: İnsülin benzeri büyüme faktörü 1
IL-6	: İnterlökin 6
IL-8	: İnterlökin 8
KAH	: Koroner arter hastalığı
LTU	: Lökosit telomer uzunluğu
NAD	: Nikotinamid adenin dinükleotit
NAD	: Nikotinamid adenin dinükleotit
OAD	: Oral antidiyabetik
PKC	: Protein kinaz c
qPCR	: Kantitatif polimeraz zincir reaksiyonu
ROS	: Reaktif oksijen radikalleri
SASP	: Yaşlanma ile ilişkili salgı fenotipi
SCR	: Tek kopya referans
SIRT1	: Silent information regülatör 1
Sir2	: Silent information regülatör 2
SVH	: Serebrovasküler hastalık
TEMĐ	: Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği
VKİ	: Vücut kitle indeksi

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1. ADA diyabetik nöropati sınıflaması	11
Tablo 2. qPCR reaksiyon kuyucu içeriği.....	27
Tablo 3. qPCR programı	28
Tablo 4. Viscan visceral yağlanma ölçüm sonucu sınıflaması	31
Tablo 5. Viscan karın bölgesi yağlanma ölçüm sonucu sınıflaması	31
Tablo 6. Tip 2 DM ve kontrol grubunun demografik ve klinik verileri	35
Tablo 7. Tip 2 DM ve kontrol grubunun BİA sonuçları	36
Tablo 8. Komplikasyonu olan ve olmayan tip 2 DM hastalarının demografik ve klinik.....	38
Tablo 9. Komplikasyonu olan ve olmayan tip 2 DM hastalarının BİA verileri	39
Tablo 10. Tip 2 DM hastalarında T/S'nin diğer parametreler ile korelasyon analizi sonuçları	41
Tablo 11. Tip 2 DM hastalarında SIRT1'in diğer parametreler ile korelasyon analizi sonuçları.....	42
Tablo 12. Kontrol grubunda T/S'nin diğer parametreler ile korelasyon analizi sonuçları	43
Tablo 13. Kontrol grubunda SIRT1'in diğer parametreler ile korelasyon analizi sonuçları	43

FIGÜRLER DİZİNİ

Figür 1: Bir qPCR ürününün amplifikasyonunu gösteren tipik bir amplifikasyon eğrisi.	28
Figür 2: Çalışmamızda elde ettiğimiz qPCR amplifikasyon eğrileri	29

1.GİRİŞ ve AMAÇ

Diabetes mellitus (DM) dünya genelinde prevalansı özellikle son yıllarda büyük bir hızla artan, ciddi morbidite ve mortaliteye neden olan önemli bir sağlık sorunudur. DM kronik hiperglisemi ile başta kardiyovasküler, renal ve göz olmak üzere pek çok komplikasyona yol açabilen metabolik bir hastalıktır. Bu nedenle alta yatan moleküler mekanizmaları anlamak ve etkin tedavi stratejileri geliştirmek son derece önemlidir. Hastalığın gelişiminde alta yatan patofizyolojik mekanizmalar kompleks ve multifaktöriyeldir (1).

DM ve yaşlanma birbiri ile yakın etkileşim içindedir. Birincisi DM sıklığı yaş ile artmaktadır. İkincisi yaşlanma ile ilişkili ateroskleroz ve bilişsel disfonksiyon gibi olayların şiddeti ve sıklığı DM tanılı hastalarda artmakta, kardiyovasküler hastalıklar diyabetlilerde daha erken gelişmektedir (2).

Hücre yaşlanması ile ilgili çeşitli faktörler tanımlanmıştır. Bunlardan bir tanesi olan telomer, ilk olarak McClintock ve Muller tarafından kromozom stabilitesi ve bütünlüğünün sağlanmasında görev alan kromozom sonunda bulunan yapı olarak tanımlanmıştır (3, 4). Kromozomal deoksiribo nükleik asit (DNA) son kısmında bulunan tekrarlayan TTAGGG nükleotid dizileri ve ilişkili proteinlerden oluşan telomer, kromozomu bozulma ve hasarlanmadan korur. Telomer DNA replikasyonu için gereklidir ve her replikasyon siklusunda kısalır ancak belirli bir kısalığa ulaştığında hücre apoptoz sinyali oluşur. Telomer uzunluğu hücrenin kaç kez replike olduğunu gösterir, böylece hücre yaşlanması ile ilgili belirteç olarak kullanılabilir (5).

Yaşlanma süreci ve onu etkileyen faktörler son yıllarda giderek daha fazla ilgi çekmektedir. Literatürde az sayıda yapılan çalışmada diyabetik hastalarda lökosit telomer uzunluğu incelenmiştir (6). Bildiğimiz kadarıyla bu konuda Türk diyabetli hastalarda yapılmış bir çalışma da bulunmamaktadır. Bazı çalışmalarda diyabetik bireylerde nondiyabetik kişilere göre lökosit telomer uzunluğunun kısaldığı saptanmıştır (7). Eldeki veriler diyabetteki metabolik bozukluklar ile telomer uzunluğu arasında olası bir ilişki olduğunu düşündürmektedir. Bununla

birlikte bazı çalışmalarda özellikle de diyabet süresi kısa olan hastalarda telomer uzunluğunun sağlıklı bireylerden farklı olmadığı bildirilmiştir (8). Çalışmalarda birbirleri ile çelişen sonuçlar elde edildiği görülmektedir.

Oksidatif stresin, diyabetik hastalarda telomer kısalmasında etkili olduğu öne sürülmektedir. Bu hastalarda artan reaktif oksijen radikalleri (ROS) üretimi çeşitli şekillerde oluşmaktadır. Hiperglisemi, mitokondride elektron transport zincirinden artan serbest oksijen radikallerine neden olmaktadır. Ayrıca artmış glukoz otooksidasyonu, polyol yolağı aktivasyonu, protein kinaz c yolağı aktivasyonu ve ileri glikasyon son ürünleri diyabette artmış oksidatif stres ile ilişkilidirler (9).

Telomer kısalması ile diyabete bağlı ölüm ve komplikasyon gelişme riski ilişkisi ile ilgili birçok çalışma göstermektedir ki telomer uzunluğu mortalite ve morbidite göstergesi olarak kullanılabilir. Mikroalbuminüri olan Tip 2 diyabetik hastalarda olmayanlara göre azalmış lökosit telomer uzunluğu saptanmıştır (10). Telomer uzunluğu diyabetik hastalarda makrovasküler komplikasyon riski ile de ilişkili bulunmuştur (11). Kesitsel çalışmalar göstermiştir ki karotis arter ultrasonografisinde saptanmış aterosklerotik plağı olan ya da geçirilmiş miyokard enfarktüsü olan diyabetik hastalarda lökosit telomer uzunluğu olmayan hastalara göre kısalmıştır (12).

Obezite, tip 2 DM patogenezinde önemli bir rol oynamaktadır. Lökosit telomer uzunluğu ile vücut kitle indeksi (VKİ), bel kalça oranı ve visseral yağ birikimi gibi obezite parametreleri arasında negatif korelasyon olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur. Adiposit hipertrofisi eşlik eden obez hastalarda telomer uzunluğunun kısaldığı gözlenmiştir. Bu durum yağ dokuda artan reaktif oksijen radikalleri üretimi ile ilişkilendirilmiştir (13).

Malnütrisyonu yol açmayan kalori kısıtlamasının yaşlanma sürecini yavaşlattığı düşünülmektedir. Çalışmalar göstermiştir ki kalori kısıtlaması solucanlarda, sineklerde ve kemirgenlerde yaşam süresini uzatmakta yaşlanmayı geciktirmektedir. Colman ve arkadaşları kalori kısıtlamasının yaşlanma ile ilişkili

olan diyabet, kardiyovasküler hastalık, beyin atrofi ve kanser gibi hastalıkları geciktirdiğini, mortaliteyi azalttığını raporlamışlardır (14). Fontana ve arkadaşları kalori kısıtlamasının insanlar üzerinde olumlu metabolik etkileri olduğunu göstermişlerdir (15). Kalori kısıtlamasının etkilerini oluşturmasını sağlayan tanımlanan moleküller arasında mayalarda silent information regülatör 2 (Sir2) bulunmaktadır. Nikotinamid adenin dinükleotit (NAD) bağımlı deasetilaz olan bu molekülün gelişmiş ökaryotik canlılardaki homoloğu ise sirtuinlerdir. Memelilerde bulunan 7 adet sirtuinden Sir2 ile en yakın ilişkili bulunan ise silent information regülatör 1 (SIRT1) olmuştur. Kalori kısıtlaması birçok farklı dokuda SIRT1 aktivitesini artırmaktadır. Bordone ve arkadaşları SIRT1 transgenik farelerin kalori kısıtlaması yapılan fareler fenotipinde olduklarını göstermişlerdir (16). SIRT1 eksikliği olan farelerde ise kalori kısıtlamasının yaşam süresine etkisi olmadığı gösterilmiştir (17).

Enerji metabolizması üzerinde, SIRT1'in önemli bir regülatör olduğu bilinmektedir. Glukoz ve lipid metabolizmaları, mitokondriyal biyogenez, otofaji, inflamasyon, sirkadyen ritim, apoptozis ve stres yanıtı üzerinde etkileri olduğu düşünülmektedir. İnsülin direnci ya da glukoz intoleransında SIRT1 etkinliği birçok dokuda azalmaktadır. Aşırı enerji tüketiminde azalan SIRT1 aktivitesinin, metabolik sendrom, insülin direnci ve DM'yi de içeren obezite ilişkili hastalıkların gelişimine katkıda bulunabileceği, hücrel yaşlanma ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir. SIRT1'in, tip 2 DM tanılı hastalarda terapötik hedef olabileceği üzerine çalışmalar sürmektedir (18).

Sonuç olarak, lökosit telomer uzunluğu, SIRT1 düzeyi ve tip 2 DM ilişkisinde kompleks mekanizmalar rol oynamaktadır ve bu konu üzerine yapılan çalışmaların sayısı sınırlıdır. Araştırmamızda tip 2 DM'li hastalarda lökosit telomer uzunluğu ve serum SIRT1 seviyesinin yaş, VKİ ve cinsiyet açısından benzer, diyabeti olmayan sağlıklı kontrol grubu ile karşılaştırmayı amaçladık. Ayrıca SIRT1 ve telomer uzunluğunun; diyabet süresi, diyabet komplikasyonları, hastaların aldığı tedaviler, vücut yağ dağılımı, visseral yağlanma gibi parametreler ile ilişkisini incelemeyi planladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Diabetes Mellitus

2.1.1 Tanımı

DM insülin sekresyonunda, insülin etkisinde ya da her ikisinde meydana gelen kusurlar nedeniyle ortaya çıkan hiperglisemi ile karakterize bir grup metabolik hastalıktır. Diyabette insülinin hedef dokulardaki eksik etkisi karbonhidrat, yağ ve protein metabolizmasındaki anormalliklerin temel nedenini oluşturmaktadır. Diyabetteki kronik hiperglisemi başta göz, böbrek, sinir, kalp ve damarlar olmak üzere birçok organda hasar, disfonksiyon ve yetmezlik ile ilişkilidir. Belirgin hiperglisemi; poliüri, polidipsi, kilo kaybı, zaman zaman polifaji ve bulanık görme gibi semptomlar ile ilişkilidir. Kontrolsüz diyabete bağlı hiperglisemi, akut ve hayatı tehdit edici ketoasidoz veya nonketotik hiperozmolar komaya neden olabilmektedir (1).

2.1.2 Epidemiyoloji

Dünya genelinde diyabet prevalansı artmaktadır. Bu artış hızlı kentleşme ve artan sedanter yaşam ile ilişkilendirilmektedir. Dünya Sağlık Örgütü (World Health Organization) verilerine göre 1980’de 108 milyon diyabetli hasta sayısı 2014’te dört katına çıkmıştır. Uluslararası Diyabet Vakfı (International Diabetes Foundation) dünya genelinde diyabetli hasta sayısını 2000 yılında 151 milyon 2006 yılında 246 milyon 2011 yılında 366 milyon ve 2015 yılında 415 milyon 2017’de ise 451 milyon olarak hesaplamaktadır. 2040 yılında DM tanılı hasta sayısının 693 milyon olacağı tahmin edilmektedir (19).

Ülkemizde 2010 yılında yapılan TURDEP II çalışmasında 20 yaş ve üzeri 26 499 rastgele seçilen erişkinde DM prevalansı %13,7 bulunmuş olup yaklaşık %45’i yeni tanı almıştır. Aynı çalışmada prediyabet prevalansı yaklaşık %30 olarak saptanmıştır. Çalışma 2010 yılında tüm toplumda yaklaşık 6,5 milyon diyabetli erişkin olduğunu öngörmektedir. 1997-98 yılları arasında yapılan TURDEP I çalışmasında DM prevalansı %7,2 saptanmıştır. Son 12 yılda diyabet

prevalansının erişkin toplumda yaklaşık %90 artışı ülkemizde diyabetin en önemli toplum sağlığı sorunlarından biri olduğunu göstermektedir (20).

2.1.3 Tanı Kriterleri ve Sınıflama

Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği (TEMED) kılavuzlarına göre DM tanısı aşağıdaki tanı kriterleri kullanılmaktadır.

- En az 8 saat açlık sonrası plazma açlık glukozunun 126 mg/dl ve/veya üzerinde olması,
- Oral glukoz tolerans testinde (75 gr) 2. saat plazma glukozunun 200 mg/dl ve/veya üzerinde olması,
- Rastgele ölçülen plazma glukoz seviyesinin 200 mg/dl ve/veya üzerinde olması ve beraberinde diyabet semptomlarının bulunması,
- HbA1c değerinin %6,5 (48 mmol/mol) ve/veya üzerinde olması (standardize metotlarla ölçüm yapılmalıdır).

*Yukarıda belirtilen kriterlerden herhangi birinin varlığında DM tanısı konulur (21).

Diyabet sınıflamasında dört klinik tip bulunmaktadır. Tip 1 diyabet, tip 2 diyabet ve gestasyonel diabetes mellitus (GDM) ve spesifik diyabet tipleri başlığı altındaki grup ise sekonder diyabet olarak kabul edilmektedir.

1. **Tip 1 DM:** Mutlak insülin noksanlığına sebep olan beta hücre yıkımıyla seyretmektedir. Bu yıkım hastaların yaklaşık %90'ında otoimmün, %10 kadarında ise nonotoimmün mekanizma ile olmaktadır. Beta hücre rezervi %80-90 oranında azaldığı zaman klinik diyabet semptomları ortaya çıkmaktadır. Genellikle 30 yaşından önce başlamaktadır (21).
2. **Tip 2 DM:** Fizyopatolojide temel olarak insülin direnci ve insülin sekresyonunda azalma rol oynamaktadır. Hücre-reseptör defektine bağlı olarak insülinin kullanımında ortaya çıkan sorunlar nedeni ile glukoz hücre içine alınıp enerji olarak kullanılamaz. Özellikle kas ve yağ

dokusunda insülinin etkisi yetersizdir. İnsülin salınımı azalmıştır ve karaciğerde glukoz yapımı artmıştır. Hastalık genellikle 30 yaşından sonra ortaya çıkmaktadır ancak son yıllarda artan obezite nedeni ile daha erken yaşlarda ortaya çıkabilmektedir. Güçlü bir genetik yatkınlık mevcuttur (21).

3. Gestasyonel DM: Gebelik esnasında saptanılan glukoz intoleransı GDM olarak isimlendirilmektedir. Gebeliğe bağlı oluşan insülin direnci ile ilişkilendirilmektedir. Genetik yatkınlık rol oynamaktadır. Doğumla beraber genellikle düzelmektedir. Tip 2 DM için önemli bir risk faktörüdür (22).

4. Spesifik Diyabet Tipleri: Monogenik diyabet formları, insülin etkisindeki genetik defektler, pankreasın ekzokrin doku hastalıkları, endokrinopatiler, ilaç ve kimyasal ajanlar, immün aracılıklı nadir diyabet formları, diyabetle ilişkili genetik sendromlar ve enfeksiyon ilişkili diyabet bu grupta yer almaktadır (21).

2.1.4 Diyabetin Komplikasyonları

Diyabetin komplikasyonları akut ve kronik olmak üzere iki ayrı grupta değerlendirilmektedir.

2.1.4.1 Diyabetin Akut Komplikasyonları

Tanı ve tedavideki tüm gelişmelere rağmen mortaliteye neden olabilen diyabetik aciller 4 ana başlık altında incelenmektedirler.

- 1)Diyabetik ketoasidoz (DKA)
- 2)Hiperozmolar hiperglisemik durum (HHD)
- 3)Laktik asidoz
- 4)Hipoglisemi

Diyabetik ketoasidoz ve HHD, insülin eksikliği nedeni ile ağır hiperglisemi ile seyreden patogeneze ve tedavisi büyük ölçüde benzeyen iki önemli metabolik bozukluktur. DKA'da insülin eksikliği, HHD'de ise dehidratasyon daha ön plandaki sorunu oluşturmaktadır. Oluşum mekanizmaları benzerdir. DKA'da mutlak insülin eksiktir, bu nedenle lipoliz baskılanamaz ve ketonemi, ketonüri gelişir. HHD'de ise insülin miktarı lipolizi baskılamak için yeterlidir ve keton cisimleri oluşumu gelişmez. Laktik asidoz, kanda laktat konsantrasyonunun arttığı durumlarda görülen anyon açıklı asidoz tablosudur. Genellikle altta yatan ciddi bir hastalığı olanlarda görülür ve bununla ilişkili olarak yüksek mortalite ile seyreder. Biguanid kullanan diyabetlilerde nadiren gelişen bir komplikasyondur, insidansı düşüktür ve bu vakaların çoğunda aslında metformin kullanımının kontrendike olduğu hastalardır. Diyabetik aciller içerisinde en hızlı müdahaleyi gerektiren ve en fazla hayati öneme sahip olan durum ise hipoglisemidir. Antidiyabetik (insülin ve/veya oral antidiyabetik) tedavinin mutlak ya da göreceli fazlalığının bir sonucu olarak meydana gelmektedir (21).

2.1.4.2 Kronik Vasküler Komplikasyonlar

Uzun süreli diyabete bağlı en önemli klinik sorun mikrovasküler komplikasyonlar (retinopati, nefropati, nöropati) ve orta-büyük damarlarda gelişen ateroskleroza içeren makrovasküler komplikasyonlar olmak üzere vasküler problemlerdir. Amerika Birleşik Devletleri'nde renal yetmezlik, nontravmatik alt ekstremité amputasyonu ve yeni gelişen körlüğün en önemli sebebini diyabet oluşturmaktadır. Diyabet ayrıca kalp damar hastalıklarının, kalp yetmezliğinin ve inmenin en önemli nedenlerinden biridir. Mikrovasküler komplikasyonlar direkt olarak hiperglisemi ile ilişkilidirler. Diyabet süresi ve hipergliseminin derecesi mikrovasküler komplikasyonların majör risk faktörlerini oluşturmaktadır. Genetik yatkınlık, sigara kullanımı ve hipertansiyon gibi ek hastalıklar vasküler komplikasyon gelişme riskini artırmaktadır. Hiperglisemik doku hasarında rol alan hücresel ve moleküler mekanizmalar karmaşıktır. Vaskülopati gelişiminde anahtar rol oynadığı düşünülen dört aracı bulunmaktadır (23).

İleri Glikasyon Son Ürünleri

Proteinlerin amino grupları ile glukozun nonenzimatik etkileşim ile oluşturdukları bileşim ileri glikasyon son ürünleri (AGEs) olarak adlandırılmaktadır (24). İn vivo sürekli olan bu durum hiperglisemi halinde belirgin hızlanmaktadır. Kronik glisemi seviyesini gösteren HbA1c, erişkin tip hemoglobin glikozilasyonu ile oluşmaktadır. Dokudaki ya da serumdaki AGEs seviyesi ile diyabetik vasküler komplikasyonlar ve yüksek kan şekeri korelasyon göstermektedir. AGE spesifik hücre yüzey reseptörüne (AGE reseptörü, RAGE) bağlanmaktadır. Bu özellikle makrofaj ve endotelial hücre yüzeyinde gerçekleşerek inflamasyon ve oksidatif stres yollarını aktive etmektedir (23).

Artan Polyol Yolu Aktivasyonu

Hiperglisemide nöron ve endotelial hücreler olmak üzere birçok dokuda glukoz alımı downregule edilemez ve hücre içi hiperglisemi oluşur ve bu yolun artan aktivasyonuna neden olur. Hücre içerisinde ozmotik olarak aktif olan sorbitol artışı artan redoks strese neden olmaktadır (23).

Protein Kinaz C Aktivasyonu

İntraselüler hiperglisemi, protein kinaz c (PKC) ailesi enzimlerinin aktivasyonuna neden olan diaçilgliserol sentezinin artışına neden olmaktadır. PKC aktivasyonu intraselüler sinyalizasyon ile gen ekspresyonunda değişikliklere neden olmakta ve bunun sonucu olarak artan anjiyogenez, vazokonstrüksiyon, artan vasküler geçirgenlik, sitokin aktivasyonu ve ekstraselüler matriks artışı gelişmektedir (25). Hücre fonksiyonunda meydana gelen bu değişikliklerin mikrovasküler komplikasyonlar (özellikle retinopati) ve ateroskleroz ile ilişkili olduğu bilinmektedir (23).

Artan Heksozamin Yolu Aktivasyonu

Hiperglisemi ve artan yağ asidi oksidasyonu heksozamin yolu aktivasyonuna neden olmaktadır. Bu yolun artan aktivasyonu belirli nükleer ve sitoplazmik proteinlerin posttranslasyonel modifikasyonuna neden olmaktadır. Bunun sonucunda dönüştürücü büyüme faktörü alfa ve beta 1 (TGF α ve β) ve

plazminojen aktivator inhibitör-1 artmakta, endotelial nitrik oksit sentaz aktivitesi inhibe olmaktadır.

Bu çoklu ve kompleks yollar birbirleri ile bağlantılı olarak reaktif oksijen radikalleri oluşumuna neden olarak hücrel hasara sebebiyet vermektedirler (23).

2.1.4.2.1 Makrovasküler Komplikasyonlar

Diyabetli hastalarda kardiyovasküler hastalık en önemli ölüm sebebinin oluşturmaktadır. Tip 2 diyabetlilerde koroner arter hastalığı riski 2-4 kat artmaktadır ve bu hastalarda mortalitenin yaklaşık %60-75'i makrovasküler komplikasyonlar nedeni ile olmaktadır (26). Diyabetlilerde ateroskleroz daha erken yaşlarda görülmektedir ve daha yaygın tutulum yapmaktadır. Akut koroner sendrom (AKS), miyokard infarktüsü (Mİ) öyküsü, stabil veya unstabil angina, koroner ya da diğer arteriyel revaskülarizasyon, inme, geçici iskemik atak veya periferik arteriyel hastalık, aterosklerotik kardiyovasküler hastalık (ASKVH) olarak kabul edilmektedir. ASKVH diyabetli hastalarda en önemli morbidite ve mortalite nedenlerinden biridir. Amerikan Diyabet Derneği, Diyabetlilerde Standart Bakım Kılavuzu'nda, asemptomatik diyabetli bireylerde koroner arter hastalığı (KAH) açısından tarama yapılmasını önermemektedir. Buna karşılık Avrupa ekolü, diyabetli bireylerde KAH açısından rutin değerlendirme yapılmasını tavsiye etmektedir. Hastanın atipik kardiyak şikayetlerinin (açıklanamayan dispne, göğüste sıkıntı hissi vb.) olması, karotisler üzerinde üfürüm duyulması, geçirilmiş geçici iskemik atak öyküsü veya intermitant kladikasyon olması KAH açısından araştırılmayı gerektirir (27).

2.1.4.2.2 Mikrovasküler Komplikasyonlar

2.1.4.2.2.1 Retinopati

Dünya genelinde görme kaybında önemli nedenlerden birini oluşturan diyabetik retinopati (DR), diyabetli erişkinlerde körlüğün en önemli sebebinin oluşturmaktadır. Mikrovasküler komplikasyonlar arasında diyabette en sık karşılaşılan komplikasyondur (28). Son yıllarda glisemi kontrolü, kan basıncı kontrolü ve lipid düzey kontrolündeki iyileşme DR ilişkili görme kaybı

insidansında azalma sağlamıştır ancak halen önemli bir sorun teşkil etmektedir. Diyabet belirgin olarak retinal nörovasküler üniteyi ve bununla ilişkili olan vasküler, nöronal, glial ve immün hücreleri etkilemektedir (29). DR artan bir sağlık yükü oluşturmaktadır. Yapılan bir meta-analize göre 1990 ve 2010 yılları arasında DR ilişkili görme bozukluğu %64 görme kaybı ise %27 artmıştır (30).

2.1.4.2.2.2 Nefropati (Diyabetik Böbrek Hastalığı)

Son dönem böbrek yetmezliğinin birçok gelişmiş ülkede en önemli sebebi diyabetik böbrek hastalığıdır. Amerika Birleşik Devletleri'nde son dönem böbrek yetmezliği vakalarının %30-%50'si diyabet ile ilişkilidir. Diyabetlilerin %30-%40 kadarında diyabetik böbrek hastalığı gelişmektedir. Diyabetik böbrek hastalığı, diyabet ilişkili böbrekte görülen spesifik yapısal ve fonksiyonel değişiklikler olarak tanımlanmaktadır. Bu değişikliklere bağlı oluşan klinik sonuçta proteinüri, hipertansiyon ve böbrek fonksiyonlarında gerileme görülmektedir. Patofizyolojisinde artan ve dolaşıma katılan ileri glikasyon son ürünleri, büyüme faktörleri, hemodinamik ve hormonal değişiklikler sonucu artan reaktif oksijen radikalleri ve artan inflamasyon yer almaktadır. Bu değişiklikler sonucunda glomerüler hiperfiltrasyon, glomerüler hipertansiyon, renal hipertrofi ve değişen renal yapı kliniğe albüminüri ve hipertansiyon olarak yansımaktadır. Mezengiumda belirgin olmak üzere artmış ekstraselüler matriks yapımı, glomerüler bazal membranda kalınlaşma, proliferatif değişiklikler ve tübüler atrofi ve son olarak gelişen interstisyel fibrozis ve glomeruloskleroz böbrekte meydana gelen patolojik değişikliklerdir (31). Diyabetik nefropatinin önlenmesi ve tedavisinde en önemli basamağı sıkı glisemik kontrol oluşturmaktadır. Ek olarak kan basıncı kontrolü özellikle renin anjiyotensin aldosteron sisteminin kontrolü, hiperlipidemi tedavisi, diyetle tuz ve protein kısıtlamasının yapılması mutlaka gerekmektedir (32).

2.1.4.2.2.3 Nöropati

Diyabetik nöropati, diyabetin en sık karşılaşılan kronik komplikasyonudur. Santral sinir sisteminin farklı bölgelerini tutabilen ve çok farklı klinik tablolar ile prezante olabilen heterojen bir durumdur. Bir dışlama tanısıdır. Periferik nöropati,

hastaların yaklaşık yarısında asemptomatik olmakta ve tanı almaması ve koruyucu ayak bakımı yapılmaması halinde hastalar ayak hasarı açısından yüksek risklidirler (33). Özellikle alt ekstremiteleri tutan distal-simetrik duysal polinöropati, infeksiyon ve iskemi ile birlikte en önemli ayak amputasyonu nedenidir (19). Sinir hasarını hedefleyen tedavilerin eksikliği nedeniyle, diyabet bakımının anahtar bileşeni önlemedir bu nedenle diyabetik nöropatinin semptom ve bulgularının taranması klinik uygulamada önemlidir. Diyabetik nöropatinin nadir görülen atipik formlarının taranması gerekli olsa da, distal simetrik polinöropati (DSPN) ve otonomik nöropati en sık karşılaşılan formlardır ve tedaviye ilişkin mevcut en güçlü kanıt bu formlarla ilgilidir. Amerikan Diyabet Birliği'nce diyabetik nöropatiler aşağıdaki gibi sınıflandırılmaktadır (Tablo 1) (33).

Tablo 1. ADA diyabetik nöropati sınıflaması

Diffüz Nöropati	Mononöropati	Radikülopati veya Poliradikülopati
Distal Simetrik Polinöropati	İzole kranial veya periferik sinir	Radikülopleksus Nöropati
Otonom Nöropati	Mononöritis Multipleks	Toraksik Radikülopati
	Anormal Pupiller Fonksiyon	
	Hipoglisemiye Duyarsızlık	

Diyabetik nöropatilerin önlenmesi, glukoz kontrolü ve yaşam tarzı değişikliklerine odaklanır. Optimal glukoz kontrolü tip 2 diyabetlilerde DSPN gelişiminin gecikmesini ya da önlenmesini sağlamaktadır. Prediyabet, metabolik sendrom ve tip 2 diyabetli hastalarda distal simetrik polinöropatinin önlenmesi için yaşam tarzı değişiklikleri önerilmektedir. Diyabetik nöropati ağrı tedavisi için başlangıç tedavide pregabalin ve duloksetin ile başlanması önerilmektedir. Gabapentin, hastanın sosyoekonomik durumu, kullandığı ilaçlar ve ek hastalıkları göz önünde bulundurularak başlangıç tedavide kullanılabilir. ABD Gıda ve İlaç Dairesi tarafından onaylanmamış olsa da, trisiklik antidepressanlar da

diyabetik nöropati ağrı tedavisi için etkilidir ancak ciddi yan etki riski daha yüksek olduğu için dikkatli kullanılmalıdır (33).

2.1.5 Diyabet ve Yaşlanma

Bir organizmanın yaşamı boyunca işlevsel olarak azalması ile karakterize olan yaşlanma, kronik hastalıkların önemli bir nedenidir ve yaşlanan nüfusun artan morbidite, mortalite ve sağlık maliyetlerine önemli ölçüde katkıda bulunur (34). Kronik hastalıkların gelişimine ve yaşa bağlı doku işlev bozukluğuna katkıda bulunan başlıca etmenlerden biri hücresel yaşlanmadır (35). Biyolojik stres yanıtı olarak tanımlanan hücresel yaşlanma kalıcı hücre döngüsü durması, kronik steril inflamasyon, apoptoz direnci, artmış protein sentezi ve majör metabolik değişikliklerden artmış glikoliz, azalmış yağ asidi oksidasyonu, artmış reaktif oksijen radikalleri üretimi ve yaşlanma ile ilişkili salgı fenotipi (SASP) oluşumu ile karakterizedir (36). DM ve osteoporoz gibi kronik endokrin hastalıklar, yaş ilerledikçe daha yaygın hale gelir. Son on yılda, hücresel yaşlanma, doku bozukluğu ve yaşlanan fenotiplerin kritik bir bileşeni olarak yoğun bir şekilde incelenmiştir. Yağ doku, iskelet kası, böbrek ve cilt de dahil olmak üzere birçok dokuda yaşlanmış hücre yükü yaşlanma ile artmaktadır (37). Sonuç olarak, abdominal obezite, DM, hipertansiyon ve ateroskleroz dahil olmak üzere metabolik sendromun bileşenleri, artan hücresel yaşlanma ile ilişkili patolojiler arasındadır (38). Apoptotik sürecin aksine, hücresel yaşlanma, birden çok çıktıya yol açan farklı girdiler tarafından yönlendirilen çok sayıda işlevsel ağ ve efektör programların bir kombinasyonu yoluyla meydana gelir (39). Hücresel yaşlanma, aslında replikasyon, diferansiyasyon ya da apoptoz gibi yaşamın herhangi bir noktasında ortaya çıkabilen bir hücre kaderidir. Bir kez başlatıldığında yaşlanmanın tamamen sabitlenmesi için günler haftalar gerekmektedir ve geri dönüşü yoktur.

Tip 2 DM'nin prevalansı ve insidansı, artan obezite sıklığı ile birlikte dünya çapında artmaktadır. Tip 2 DM, kardiyovasküler hastalıklar, körlük, son dönem böbrek yetmezliği, amputasyonlar ve hastaneye yatışların önde gelen nedenidir. Diyabet, mikro ve makrovasküler komplikasyonlarının yanı sıra, artmış

kanser riski, ciddi psikiyatrik hastalık, kognitif gerileme, kronik karaciğer hastalığı ve artrit gelişimi hızlanması ile de ilişkilidir. Tip 2 DM patogenezinin iyi anlaşılmış olmasına rağmen, mevcut tedavilerin hastalığın ilerleyişi ve kronik komplikasyonları üzerine etkinliği sınırlıdır. Bu nedenle, tip 2 DM'nin ve komplikasyonlarının ilerlemesini durdurmak hatta geriletme için yeni terapötik yöntemler ve hedeflere ihtiyaç vardır. Yaşlanma ile ilişkili diğer kronik hastalıklara benzer şekilde tip 2 DM inflamasyon, makromoleküler hasar, progenitör hücre disfonksiyonu ve hücresel yaşlanma da dahil olmak üzere dokuların ağır işlev bozukluğuna neden olan temel yaşlanma mekanizmaları nedeni ile kaynaklanabilmektedir (40). Tip 2 DM ile yaşlanma arasındaki ilişki karmaşık ve tamamlayıcı olabilir. Bir yandan, diyabetik mikroçevre yaşlanan hücrelerin artmasına ve birikmesine izin verirken, diğer taraftan yaşlanan hücrelerin doku disfonksiyonuna ve tip 2 DM'de görülen diğer anormalliklere katkıda bulunduğu görülmektedir. Bu karmaşık etkileşimlerin, prediyabetteki metabolik disfonksiyonun hücresel yaşlanmaya yol açtığı, doku bozulmasına ve metabolik disfonksiyona katkıda bulunduğu ve böylece yaşlanmayı şiddetlendiren ve yaşlı hücrelerin temizlenmesini azaltan kısır bir döngüye yol açabileceği varsayılmaktadır (38).

2.1.5.1 Tip 2 Diyabette Hücresel Yaşlanma İle İlgili Mekanizmalar

2.1.5.1.1 Hiperglisemi /Glukoz Toksisitesi

Yüksek glukoz seviyeleri, endotelial hücreler, renal mezengial hücreler, pre-adipositler ve fibroblastlarda in vitro erken yaşlanmaya yol açar (41, 42). Glukoza bağlı yaşlanma mekanizması hala tam olarak açıklığa kavuşturulamamıştır ancak birkaç aday arasında mitokondriyal disfonksiyon, artmış ROS, otofajinin arttırması ve ileri glikasyon son ürünlerinin artmış oluşumu bulunmaktadır (43). İnsülin reseptör sinyal yolağının glukoza bağlı aktivasyonu, otofagosom oluşumunun birkaç basamağını inhibe eden mTOR kompleksini aktive eder böylece yaşlanma hızlandırıcı mekanizma olarak davranır (44). Ek olarak, glikoliz adenosin trifosfat üretir ve gliseraldehid-3-fosfat metabolizması sırasında NAD/NADH dönüşümü ile NAD azalır. Birkaç çalışma, NAD / NADH metabolizmasının, çok çeşitli biyolojik fonksiyonlara aracılık eden

NAD + bağımlı deasetilazlar olan sirtuinlerin aktivitesini düzenleyerek hücre yaşlanmasını ve ömrünü kontrol ettiğini göstermiştir (45, 46).

2.1.5.1.2 GH/IGF-1 Yolağı

İnsülin benzeri büyüme faktörü 1 (IGF-1) ve insülin benzeri büyüme faktörü bağlayan proteinler 3 ve 5 (IGFBP3 ve IGFBP5) dahil olmak üzere büyüme hormonu (GH) aksının bileşenlerinin, yağ ve kas dokusu gibi insüline duyarlı dokulardaki yaşlanma mekanizmalarında önemli bir rol oynadığı bildirilmiştir. Hiperinsülinemiye bağlı tip 2 DM'de yüksek IGF-1 düzeylerine kronik maruziyet, p53 aracılı erken yaşlanmaya neden olur (47).

2.1.5.1.3 Lipotoksiste

Adipogenez sırasında insülin reseptörü ve “glukoz transporter-4” ekspresyonu artar, böylece pre-adipositlerin artan insülin yanıtı ve bununla beraber artan PPAR γ ve C / EBP α transkripsiyon faktörlerinin ekspresyonu, adiposit farklılaşmasında ve insülin sensitivitesinde kritik rol oynar. SASP, inflamatuvar sitokin salınımı yoluyla adipogeneze müdahale edebilir. Yaşlanmış pre-adipositlerin birikmesi adipojenik potansiyeli azaltır, lipotoksisteyi indükler ve inflamasyonu daha da artırır (37).

Hücre zarında yüksek konsantrasyonda bulunan lipidler olan seramidler, pro-apoptotik moleküller olarak işlev görür ve hem in vitro hem de in vivo hücre yaşlanma ile önemli ölçüde ilişkilidir. Seramidlerin sentezi obezite ve tip 2 DM'de artar ve pankreatik β hücre apoptozuna yol açan lipotoksistenin önemli bir bileşenidir. Ek olarak, seramidler, çevresel strese yanıt olarak p53 ve p38 proteinleri aracılığıyla yağ asidi metabolizmasını modifiye ederek fibroblastlarda ve endotelial hücrelerde in vitro yaşlanmaya neden olmaktadır (48).

2.1.5.2 Biyolojik Yaşlanma İle İlişkili Salgısal Fenotipler (SASP) Aracılı

İnsülin Direnci

Yaşlanan hücreler, onları aktive eden tetikleyicilere bağlı olarak, yara iyileşmesi ve tümör oluşumu gibi bazı lokal doku süreçlerini negatif etkileyen çeşitli sitokinler, kemokinler ve proteinazlar salgılar (49). SASP son derece

heterojendir ve hem bölgesel hem de zamansal olarak farklılık gösteren mekanizmalar tarafından düzenlenir. Yaşlanan dokuların ortak bir özelliği, “inflammaging” adı verilen düşük seviyeli kronik iltihaptır. Proinflamatuvar sitokinlerin ekspresyonunu tetikleyen NF- κ B transkripsiyon faktörü, DNA hasar yanıtı (DDR) ve diğer bazı yollar tarafından aktive edilir. İnflamatuvar sitokinler, yakın hücrelerde bağışıklık sisteminin aktivasyonundan bağımsız olarak doku seviyesinde önemli fenotipik değişikliklere neden olur. Örnek olarak, NAD bağımlı deasetilaz olan sirtuin 1’in azalan seviyeleri, histon asetilasyonu yoluyla interleokin 6 ve 8 (IL-6 ve IL-8) ekspresyonunun artmasına yol açar. Bunun sonucunda IL-6 ve IL-8 anjiyogenezi uyarabilir, hücre-hücre iletişimini bozabilir, makrofaj fonksiyonunu engelleyebilir, doğal bağışıklık tepkilerini indükleyebilir ve epitelyal ve endotelyal hücre göçünü ve invazyonunu artırabilir. SASP türevleri endoplazmik retikulum üzerinde stres yaratarak artan ROS üretimine ve DDR aktivasyonuna neden olmaktadır (49). SASP hücre içi, parakrin veya uzak olabilir ancak belirgin heterojenitesi nedeni ile hücresel yaşlanmanın belirleyici bir işareti olarak kullanılamamaktadır (50).

İnflamasyon hem obezite hem de yaşlanma ile ilişkilidir ve insülin direncinin gelişmesinde önemli bir faktör olduğuna inanılmaktadır (51). IL-6, IL-8 ve monosit kemoatraktan protein-1(MCP-1) gibi SASP bileşenleri obez bireylerde artar ve makrofajlar ve diğer inflamasyon araçları ile birlikte proinflamatuvar bir sürece katkıda bulunabilir (52). Ayrıca, artan IL-6 ve IL-1 β seviyeleri, tip 2 DM için bağımsız bir prognostik faktör olarak kabul edilmektedir (53). Başka bir SASP bileşeni olan PAI-1’in, tip 2 DM’li hastalarda hem doku düzeyinde (koroner arterler gibi) hem de dolaşımda arttığı bulunmuştur. Bununla birlikte, hücresel yaşlanma, adipoz doku inflamasyonu, makrofaj akümüasyonu ve insülin direnci arasındaki zamansal korelasyon net olarak henüz tanımlanmamıştır.

2.1.5.3. Pankreatik β Hücre Disfonksiyonu

Tip 2 DM’de pankreatik adacık fonksiyonunun giderek kötüleşmesinde bir diğer önemli faktör pankreatik β hücre yaşlanmasıdır. Tip 2 DM fare modellerinde hücre döngüsü inhibitörü p27 pankreatik β hücrelerinde artar ve bu farelerde p27

delesyonu, insülin sekresyonunu ve β hücre kitlesini onarır (54). Embriyonik ölüme neden olan DNA tamir mekanizmaları bozulmuş başka bir fare modelinde p53 delesyonu embriyonik ölümden kurtulmalarını sağlamış ancak pankreatik β hücrelerinde meydana gelen yaşlanma nedeni ile hızlı β hücre disfonksiyonuna ve 3-4 ay içerisinde aşikar diyabete neden olmuştur (55).

2.2 Telomer

Telomerler, her bir lineer kromozomun her iki ucunda, genomun nükleolitik degradasyon, gereksiz rekombinasyon, onarım ve kromozomal füzyondan korunmasında hayati bir rol oynayan spesifik DNA-protein yapılarıdır (56). Telomerlerin yapısı ilk olarak 1938'de tanımlandı ve kromozom uçlarının DNA çift iplik kopmasını önlemeyen stabilize edici olduğu düşünülüyordu (57). Son otuz yılda, telomer uzunluğu, telomer kısalması ve sağlık sonuçları arasındaki ilişkiyi araştıran çalışmaların sayısı artmaktadır (58-62). İnsanlarda telomerler, her hücre bölünmesi ile yaşam süresi boyunca kısalır, bu nedenle bir bireyin tam hücrel döngüsünü yansıtır (63). Bu nedenle, telomer uzunluğunun kronolojik yaştan bağımsız biyolojik yaşlanmanın bir belirteci olduğu düşünülmektedir ve yaygın yaşlanma ile ilişkili hastalıkların yanı sıra tüm nedenlere bağlı mortalite ile de bağlantılı olduğu düşünülmektedir (64). Özellikle son 20 yılda, daha kısa telomer uzunluğunun daha yüksek kardiyovasküler hastalık riski (63), kardiyovasküler hastalık riskinin biyobelirteçleri (65), kanser (66), diyabet (9), şizofreni (67), depresyon ve anksiyete (68), bilişsel işlevde azalma (69) ve mortalite (70) ile ilişkili olduğunu gösteren araştırmalar artmaktadır. Farklı çalışmalarda çeşitli telomer uzunluğu veya yıpranma oranı ölçümleri kullanılmıştır (57). Kısalmış telomer uzunluğunun rapor edilen zararlı sonuçları tanındığında, araştırmalar telomer uzunluğunun ve telomer kısalma oranlarının belirleyicilerini, özellikle değiştirilebilir faktörleri araştırmaya başlamışlardır (58). Örneğin 20-50 yaş arası 477 sağlıklı gönüllüyü içeren kesitsel bir çalışmada, sigara içiminin daha kısa telomer uzunluğu ile ilişkili olduğu bulunmuştur (71).

2.2.1. Telomer Uzunluğu ve Diabetes Mellitus

Literatürde az sayıda yapılan çalışmada DM'li hastaların DM olmayan bireylere göre daha kısa lökosit telomerlerine sahip olduğu gösterilmiştir (9, 72). Ek olarak bir otopsi çalışmasında, T2DM'li hastalarda pankreas β hücrelerinin telomer uzunluğunun kontrole göre daha kısa olduğu ve HbA1c ile negatif korelasyon gösterdiği bildirilmiştir (73). Lökosit telomer uzunluğu (LTU) ve Tip 2 DM arasındaki ilişkiyi ele alan araştırmaları içeren meta analizde Tip 2 DM'nin LTU'da kısalma ile ilişkili olduğu öne sürülmüştür (74). Bir başka çalışma daha uzun DM süresi ile daha kısa LTU arasında anlamlı ilişki bulmuştur (8). Bu sonuçlar bozulmuş glukoz metabolizması ile telomer yıpranması arasında ilişki olduğunu göstermektedir (75).

LTU bozulmuş glukoz toleransı olan bireylerde azalmış olarak bulunmuş ve bu DM'nin başlangıcı için bir risk faktörü olabileceğini düşündürmüştür (12). Willeit ve ark. yaptıkları prospektif kohort çalışması ve literatüre dayalı meta analizde, telomer uzunluğu en düşük çeyrekte bulunan grubun en yüksek telomer uzunluğuna sahip çeyreğe göre T2DM göreceli riskinin 1.3 kat yüksek olduğunu raporlamıştır (76). Bunun tersi olarak 10 yıllık takipte DM başlangıcı ile telomer uzunluğu arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır (77). Yine komplikasyonu olmayan tip 2 diyabetli hastalarda LTU açısından kontrol grubu ile fark bulunmayan çalışmalar da mevcuttur (78). Bu çelişkili sonuçlar, T2DM ve LTU arasındaki ilişkinin daha fazla araştırmaya ihtiyaç duyduğunu düşündürmektedir.

Diyabetik hastalarda telomer kısalması ile mortalite veya diyabetik komplikasyonların ilerlemesi arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışmaların sonuçları telomer uzunluğunun mortalite ve morbidite için kullanılabilir bir belirteç olabileceğini düşündürmektedir. Kesitsel bir çalışmada, mikroalbuminüri T2DM hastalarında mikroalbuminüri olmayan hastalara göre LTU azalması saptanmıştır (10). Telomer uzunluğu diyabetik hastalarda makrovasküler komplikasyon riski ile de ilişkili bulunmuştur (63). T2DM hastalarının kesitsel çalışmaları, daha önce miyokard enfarktüsü veya karotis arter ultrasonografisi ile saptanan aterosklerotik plakları olan hastaların olmayan hastalara göre azalmış LTU'ya sahip olduğunu göstermiştir (12, 79). Telomer kısalma hızının diyabetik

hastalarda yeterli glisemik kontrol ile azaldığı düşünülmektedir (80). Yapılan bir çalışmada antidiyabetik ajan kullanmayan T2DM hastalarının, 3 aydan fazla antidiyabetik ajan kullananlara göre daha yüksek telomer kısalma hızı sergilediği görülmüş olup, antidiyabetik ajanların kan glukoz seviyelerini ve komplikasyon oranlarını azaltmanın yanı sıra hücrel yaşlanma geciktirici etkiye sahip olabileceğini düşündürmektedir (81).

2.2.2. Telomer Uzunluğu ve Obezite

Obezite, yağ dokusunda insan sağlığı üzerinde zararlı etkileri olan anormal veya aşırı yağ birikimi ile karakterizedir. $VKİ \geq 30 \text{ kg/m}^2$ olan bireyler obez bireyler olarak tanımlanır. Morbid obezite $VKİ \geq 40 \text{ kg/m}^2$ ile tanımlanır ve bu bireylerin ciddi bir kronik sağlık sorunu vardır (82). Literatürde obez bireylerin obez olmayan bireylere göre daha kısa telomer uzunluğuna sahip olduğu bildirilmiştir (83-85). Literatür telomer uzunluğunun kısalmasının dokuya daha az spesifik olduğunu ve periferik kan lökositlerindeki telomer uzunluğunun ölçümünün sistemik telomer uzunluğunu ve yaşlanmayı doğru bir şekilde yansıtabileceğini önermektedir (86-88). Telomer uzunluğunun obezitede neden daha kısa olduğunu açıklayabilecek ana hususlar göz önüne alındığında, aşırı vücut ağırlığına eşlik eden artmış inflamatuvar süreç ve artmış oksidatif strese dikkat çekilmektedir (89, 90). LTU ile VKİ, bel-kalça oranı, toplam vücut yağı ve bel çevresi arasında ters bir korelasyon vardır ve abdominal yağ dokusu doğrudan telomer yıpranmasıyla ilişkilidir ve yaşlanma sürecini destekler (13, 84, 91-101). Njajou ve ark. ve García-Calzón ve ark. ayrıca daha yüksek bel çevresinin yaşa göre düzeltmeler yapıldıktan sonra daha kısa telomer uzunluğu ile ilişkili olduğunu bildirmiştir (91, 102). Bununla birlikte, birçok çalışma dolaylı antropometrik ölçümler kullandığı için, obezite, abdominal yağ ve telomer uzunluğu arasındaki korelasyon üzerine çalışma sonuçları tutarlı olmamıştır. Bazı çalışmalar, LTU'nun obezite indeksleri ile ilişkili olduğunu göstermiştir (97-99), bazı çalışmalar orta yaşlı insanlarda (103, 104) bazı çalışmalar ise yaşlılarda (105-107) hiçbir korelasyon rapor etmemiştir.

Adipoz doku telomer uzunluğunun yaştan bağımsız olarak bel çevresi ve adipoz doku boyutu ile negatif bir ilişkisi olduğu bildirilmektedir (96). Subkütan

yağ dokusu ve visseral yağ dokusu telomer uzunluğunun VKİ, kan basıncı, hiperlipidemi ve yağ dokusu büyüklüğü ile negatif korelasyonu olduğu bildirilmiştir. Bu nedenle, obezite ile ilişkili metabolik hastalıklar, yağ dokusu miktarı ve telomer kısalması ile ilişkili görünmektedir (13, 95, 96).

Sonuç olarak obezite, kronik inflamasyon ve oksidatif stres nedeniyle telomer uzunluğunda kısalma ile ilişkilidir. Obezite ile ilgili göstergelerin de (bel çevresi, bel kalça oranı ve yağ kütlesi) telomer uzunluğunda kısalma ile korele olduğu düşünülmektedir (108). Literatürdeki birbirinden farklı sonuçlar konu ile ilgili daha fazla çalışma gerektiğini düşündürmektedir.

2.3 Sirtuin 1 (SIRT1)

Sirtuinler, NAD + bağımlı protein deasetilazlar ve ADP-ribosiltransferazlar içeren Sir2 (silent information regulator 2) ailesinin üyeleridirler. İlk önce tomurcuklanan mayada ve daha sonra bakterilerden memelilere kadar birçok organizmada bulundukları tespit edilmiştir (109). Memeliler, farklı hücresel konumları ve enzimatik aktiviteleri ile ayırt edilen yedi farklı sirtuin, SIRT1-SIRT7 içerir (110). En iyi karakterize edilmiş Sir2 ailesi üyesi olan SIRT1, esas olarak çekirdeğin içinde bulunur (111), ancak çekirdekten sitozola geçebilir (112). SIRT1 karaciğer, iskelet kası, pankreas, yağ dokusu ve beyinde bulunur ve enerji metabolizmasının önemli bir düzenleyicisi olarak tanımlanmıştır (113). Çok sayıda veri SIRT1'in glukoz ve lipid metabolizmasını insülin üzerinden doğrudan veya dolaylı olarak dahil olmasıyla düzenleyebileceğini (114), insülin direncinde ve tip 2 diyabette rolü olabileceğini düşündürmektedir (115).

Hayvan çalışmalarında düşük hepatik SIRT1 seviyesinin hepatik insülin direncine ve tip 2 diyabet gelişimine etkisi olabileceği öne sürülmüştür (116). Zhou ve ark. diyabetik hastalarda hepatositlerde SIRT1 protein ekspresyonunun ve aktivitesinin inhibe edilerek insülin direncine yol açtığını bulmuşlardır (117). Yapılan bir çalışmada hepatik SIRT1'in metformin ile aktive olabileceği bulunmuştur (118). Nonalkolik yağlı karaciğer hastalığının uzun süredir hepatik insülin direncine ve tip 2 diyabete zemin hazırladığı bilinmektedir (119). Biriken kanıtlar SIRT1'in hepatik lipid metabolizmasının önemli bir düzenleyicisi

olduğunu göstermektedir (120). Son yıllarda, çok sayıda hayvan çalışmasında, artan SIRT1 ekspresyonunun karaciğer steatozunu geriletebileceği veya önleyebileceği ileri sürülmüştür (121). SIRT1'in yağ sentezinde yer alan bazı genlerin ekspresyonunu azaltabileceği düşünülmektedir (122, 123). SIRT1 ayrıca obezite kaynaklı diyabette glukoz ve lipid homeostazını sağlayan hepatositte üretilen bir hormon olan fibroblast büyüme faktörü 21'i aktive ederek karaciğer steatozu gelişimini önleyebileceği ortaya atılmıştır (124, 125). Ek olarak, karaciğer yağının aşırı birikmesi, insülin direnci ve tip 2 diyabet patofizyolojisinde rol oynayan endoplazmik retikulum stresini artırabilir (121). Valdecantos ve ark. lipoik asidin SIRT1'i aktive ederek yüksek yağlı diyetin neden olduğu hepatik trigliserid birikimini ve karaciğer oksidatif hasarını önleyebileceğini bulmuşlardır (126). SIRT1'in, mammalian target of rapamycin complex 1 (mTORC1) aktivitesini inhibe ettiği, hepatik steatozu hafiflettiği ve endoplazmik retikulum stresini azalttığı da bilinmektedir (127). SIRT1 hepatik glukoneogenezi nükleer faktörlere etki ederek hem artırabilir hem azaltabilmektedir (128).

İskelet kası insülin direnci, tip 2 diyabet gelişiminin altında yatan metabolik bir kusurdur ve SIRT1'in iskelet kası metabolizmasının önemli bir düzenleyicisi olduğu düşünülmektedir. Şimdiye kadar çoğu veri SIRT1 ekspresyonunun azalmasının kas insülin direncine katkıda bulunabileceğini düşündürmektedir (121). Frojdo ve ark. tip 2 diyabetik hastalardan elde edilen kas biyopsilerinde SIRT1 protein ekspresyonunun azaldığını bulmuşlardır (129). SIRT1'in, mitokondri disfonksiyonunu iyileştirerek iskelet kasının insülin direncini azaltabileceği düşünülmektedir (130). İskelet kas hücrelerinin insülin direncinin SIRT1'in aşırı ekspresyonu ile azaltılabileceğini düşündüren çalışmalar mevcuttur (131, 132).

Yağ dokusu insan vücudundaki en büyük organlardan biridir ve enerji metabolizmasını düzenlemede önemli bir rol oynamaktadır. Beyaz yağ dokusunda, SIRT1'in adipogenez ve lipolizi düzenlediği gösterilmiştir (133, 134). Farelerin yağ dokusunda insan SIRT1'in aşırı ekspresyonu, yaşlanmaya bağlı insülin duyarlılığının azalmasını önleyebilmektedir (135). Yapılan bir çalışmada yağ dokusuna özgü SIRT1 susturulmuş fareler, yüksek yağlı bir diyet altında ciddi

glukoz intoleransı ve insülin direnci göstermiştir, bu yağ dokusundaki SIRT1'in vücudun enerji dengesini ve insülin duyarlılığını korumak için önemli bir faktör olduğunu göstermektedir (136). SIRT1'in yağ dokusunda insülin direncini iyileştirmesi büyük ölçüde antiinflamatuvar özelliklerinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Yağ dokusunda kronik bir inflamatuvar yanıtın obezite ve insülin direncinin nedeni olduğu gösterilmiştir ve ayrıca düşük SIRT1 seviyelerinin eşlik ettiği bulunmuştur (137-139).

Adiponektin, obezite ve tip 2 diyabette önemli bir rol oynayan hormondur (140). Obezite ve tip 2 diyabetli kadınlarda adipoz dokuda SIRT1 ve adiponektin ekspresyonunda azalma bulunmuştur (141). Gıda kısıtlaması altında sıçanların epididimal yağ dokusunda SIRT1 ve adiponektin düzeylerinde artış bulunmuştur aynı durum resveratrol tedavisi ile in vitro olarak da bulunmuştur (142, 143).

Progresif β hücre disfonksiyonu ve β hücre kütlelerinde azalma nedeniyle bozulmuş insülin sekresyonu, tip 2 diyabetin en önemli nedenini oluşturmaktadır. SIRT1, β hücrelerinin hem çekirdeğinde hem de sitoplazmasında bulunmaktadır (144), β hücrelerindeki ekspresyonu, kalori kısıtlamasına yanıt olarak önemli ölçüde artırılabilir iken yüksek yağ ve yüksek fruktoz diyetleri ile azaltılabilmektedir (145). Bu, SIRT1'in β hücrelerinin fonksiyonu ve hayatta kalması ile ilişkili olduğunu düşündürmektedir (121). Yapılan çalışmalarda, SIRT1'in, glukoz stimülasyonuna yanıt olarak insülin sekresyonunu artırdığını ve β hücrelerinde SIRT1'deki bir azalmanın bozulmuş glukoz algılamasına ve bozulmuş insülin sekresyonuna yol açabileceği bildirilmiştir (146-148). Pankreas β hücrelerinin apoptozu tip 2 DM'de insülin sekresyonundaki eksikliği tetikler. Veriler, SIRT1 azaltılmasının pankreatik β hücre apoptozuna yol açabileceğini, bu da artan SIRT1 seviyelerinin veya SIRT1 aktivitesinin β hücre kütlelerinde bir azalmayı önleyebileceğini göstermektedir (149). Bu nedenle, SIRT1 β hücreleri için koruyucu olabilir ve SIRT1 ekspresyonunun veya aktivitesinin azalması, insülin sekresyonunun bozulmasına ve tip 2 diyabet gelişimine katkıda bulunabilir (121).

3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

Bu çalışma için 27.01.2020 tarihinde karar numarası 109 olan Gazi Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu onayı alınmıştır.

3.1 Çalışmaya Alınma Kriterleri

Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Endokrinoloji ve Metabolizma Bilim Dalı Diyabet ve Obezite Polikliniğine Şubat 2020 ile Temmuz 2020 tarihleri arasında başvuran 40-65 yaş arası tip 2 DM tanılı 84 hasta çalışmaya dahil edilmiştir. Tip 2 DM tanılı olan takip hastaları ve yukarıda anlatılan tanı kriterlerine göre yeni tanı alan hastalar çalışmaya dahil edilmiştir. Diyabet dışı sebepler ile poliklinik başvurusu olan ancak patoloji saptanmayan bilinen hastalığı olmayan 40-65 yaş arası yaş cinsiyet ve VKİ açısından benzer 40 gönüllü ise kontrol grubu olarak alındı. Telomer uzunluğuna yaşın etkisini minimuma indirebilmek amacıyla bu yaş aralığı tercih edildi. Hasta ve kontrol grubuna çalışma ile ilgili bilgi verilerek etik kurul şartlarına uygun olan bilgilendirilmiş gönüllü onam formu alınmıştır.

3.2 Çalışmadan Dışlanma Kriterleri

1. Çalışmaya katılmayı kabul etmeyen hastalar
2. Malignite tanılı olanlar (kür olan ya da devam eden)
3. Romatolojik hastalık varlığı
4. Gebelik
5. Diyabetik nefropati dışında kronik böbrek hastalığı varlığı
6. Kronik karaciğer hastalığı
7. Steroid tedavisi alıyor olmak
8. Bilinen akut ya da kronik enfeksiyon varlığı
9. Hematolojik hastalık varlığı
10. Hipotiroidik ya da hipertiroidik olmak

3.3 Çalışma Tasarımı

Bu çalışma tek merkezli, kesitsel, girişimsel olmayan ilaç dışı klinik çalışmadır. Poliklinik kontrolleri sırasında en az 8 saatlik açlık sonrasında diyabete yönelik tetkikleri yapılmış bireylerden seçilen hasta ve kontrol grubunun ayrıntılı anamnezleri alındı, kullanılan ilaçlar ve komplikasyon taramaları kontrol edilerek kayıt edildi ve fizik muayeneleri yapıldı. Gönüllü olan hasta ve kontrol grubundan LTU için EDTA'lı tüpe 4 cc ve SIRT1 düzeyi için biyokimya tüpüne 4 cc kan alındı. EDTA'lı tüp santrifüj edilmeden, biyokimya tüpündeki kan ise santrifüj edilip -80 derecede dolapta analiz gününe kadar saklandı. Telomer uzunluğu 84 hastada ve 40 kontrol grubunda, Sirtuin 1 ise 44 hastada ve 40 kontrol grubunda kişide çalışılmıştır. Telomer uzunluğu ve Sirtuin 1 düzeyinin GÜTF Hastanesi laboratuvarında rutin prosedürde çalışılamaması nedeni ile hastane dışında bir laboratuvar da çalıştırılmıştır (Diagen Biyoteknolojik Sistemler A.Ş.). Hastaların ve kontrol grubunun vücut kompozisyonlarının değerlendirilmesi amacı ile açlık sonrası aynı araştırmacı ve aynı cihazlar tarafından biyoelektrik impedans analizi (BIA) yapıldı. Poliklinik istemlerinde olan ve Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi laboratuvarlarında çalışılan; Açlık Kan Şekeri, Kreatinin, ALT, HbA1c, Total Kolesterol, LDL, Trigliserid ve HDL değerleri kayıt edilmiştir. Katılımcılar ile poliklinik randevuları dışında egzersiz kaydı formu ve besin tüketim kaydı formu ile yüz yüze yapılmasını gerektiren randevular, Yeni Koronavirüs (Covid-19) salgını nedeni ile yapılamamıştır ve yeterli veri elde edilememesi nedeniyle egzersiz ve diyet alışkanlıkları ile ilgili analiz yapılamamıştır.

Hastalar retinopati açısından hastanemiz göz hastalıkları tarafından yapılan muayene ve anamnez sonuçları ile değerlendirilmiştir. Nefropati, hastanemiz laboratuvarında rutin kontrolleri esnasında yapılan spot idrar protein, mikroalbumin ve kreatinin sonuçları ile değerlendirildi. Spot idrar mikroalbumin/kreatinin ve spot idrar protein/kreatinin formülleri kullanıldı. Nöropati ve makrovasküler komplikasyonlar detaylı anamnez ve fizik muayene ile değerlendirildi ve TEMD 2019 kılavuzuna uygun olarak tanılandırıldı (21).

3.4 Serum Sirtuin 1 Konsantrasyonu Ölçümü

3.4.1. Numunelerin hazırlanması

- Örnekler -80 dereceden oda sıcaklığına getirildi.

3.4.2. Standartların ve diğer reaktiflerin hazırlanması

- Bütün reaktifler kullanılmadan önce oda sıcaklığına getirildi ve kit içeriğine uygun şekilde hazırlandı.
- Standart solüsyondan Standart diluent ile seri dilüsyon yapılarak 100, 500, 250, 125, 62.5, 31.2, ve 15.6 pg/ml'lik solüsyonlar hazırlandı.
- Konsantre yıkama solüsyonu çift distile su ile dilüe edildi (1:25).

3.4.3. Deneyin yapılışı

- Her kuyucuğa 100 µl farklı konsantrasyonlarda SIRT1 standart örneği veya numune eklendi. Standart dilüent eklenmedi. 37 °C'de 90 dakika inkübe edildi.
- Elisa plate 2 kez yıkandı.
- Kuyucuklara 100 µl biyotinlenmiş insan SIRT 1 antikoru eklendi. 37 C'de 60 dakika inkübe edildi.
- Elisa plate 3 kez yıkandı.
- Her kuyucuğa (boş olanlar hariç) 100 µl enzim-konjüгат sıvısı eklendi. 37 C'de 90 dakika inkübe edildi.
- Elisa plate 5 kez yıkandı.
- Her kuyucuğa (boş olanlar dahil) 100 µl renk reaktif sıvısı eklendi. 37 C'de karanlıkta inkübe edildi. Yüksek standart eğri konsantrasyonu için renk koyulaştığında ve renk gradyanı belirdiğinde, inkübasyon durduruldu. Kromojenik reaksiyon 30 dakika içinde kontrol edildi.
- Her kuyucuğa (boş olanlar dahil) 100 µl renk reaktif C eklendi.

- ELISA mikropate okuyucusunda 450 nm dalga boyunda absorbanslar okutuldu.

3.5 Lökosit telomer uzunluğu tayini

Telomer uzunluğunu değerlendirmek için büyük miktarlarda DNA'ya ihtiyaç duyulması engelinin üstesinden gelmek için polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) bazlı telomer uzunluğu analiz yöntemleri geliştirilmiştir. Bu prosedürlerden biri olan kantitatif (veya gerçek zamanlı) PCR (qPCR) çalışmamızda tercih ettiğimiz yöntemdir. PCR, özel olarak tasarlanmış primerler kullanılarak ilgilenilen bir DNA dizisini, her bir döngüde iki katına çıkan PCR ürünü ile çoğaltır (57). 2002 yılında Cawthon ve ark. telomer uzunluğunu aydınlatmak için qPCR teknolojisini kullanarak bir primer seti ve protokolünün geliştirildiğini bildirmiştir (150). Bu gelişme ile beraber qPCR, telomer uzunluğunun tayini için doğru sonuçlar verebilmektedir ve literatürde bu yöntem ile birçok çalışma mevcuttur.

Literatürde telomer uzunluğu ile ilgili yapılan çalışmalarda isteğe bağlı olarak telomer uzunluğunu bir sınır değeri belirlenerek kısa ve uzun rölatif telomer uzunluğu şeklinde ayırım yapılması sıkça karşılaşılmaktadır. Farklı ölçüm metodlarında farklı sınır değerler kullanılabilmektedir (80). Çalışmamızda kalibratör olarak kontrol grubunun kullanılmış olması ve rölatif telomer uzunluğu değerlerinin buna göre belirlenmiş olması sebebi ile T/S için 1 değerinin sınır kabul edilmesi uygun görülmüştür. Çalışmamızda kullanılan qPCR methodu ile yapılan benzer çalışmalarda sınır değeri olarak 1 birçok çalışmada kullanılmaktadır (12).

3.5.1. Periferik kandan DNA izolasyonu

İzolasyon için Vivantis marka DNA izolasyon kiti (Vivantis GF-1 Blood Dna Extraction Kit) kullanıldı. Kit içeriğine uygun protokol takip edildi. Tüplerde bulunan kanların homojenizasyonu için vortekslendi ve pıhtılaşmış kan kullanılmamasına özen gösterildi.

- Kandan 200 µl alındı ve eppendorf tüpüne eklenerek üzerine 200 µl kan lizis tamponu konuldu.
- 20 µl Proteinaz K eklenip vortekslendi.
- 65 °C 'de önceden ısıtılmış sıcak plakada 10 dk boyunca inkübe edildi.
- 10 dk sonunda 200 µl etanol eklenerek pipetaj yapıldı ve kolonlara alındı.
- Santrifüj işlemi 5.000 x g 'de 1 dakika olacak şekilde yapıldı.
- İşlem sonunda süzüntü atıldı ve yıkama işlemine geçildi.
- 500 µl yıkama tamponu eklendi ve 5.000 x g 'de 1 dakika ilk yıkama yapıldı.
- Kolonlara 500 µl yıkama tamponu eklendi ve 5.000 x g de 1 dakika santrifüj edildi.
- Üçüncü ve son yıkama ve kurutma işlemi 500 µl yıkama tamponu ile santrifüj 14.000x g 'de 3 dakika olacak şekilde yapıldı ve üzerine 50 µl önceden ısıtılmış elüsyon tamponu eklenerek 2-3 dk oda sıcaklığında inkübe edildi.
- 5.000 x g'de 1 dakika santrifüj edildi ve 1,5 ml tüpe çözünmüş DNA toplanarak işlem sonlandırıldı.

3.5.2. Deneyin yapılışı

Çalışmada kullanılan ScienCell's Relative Human Telomere Length Quantification qPCR Assay Kit (RHTLQ) numunelerin telomer uzunluğunu doğrudan kıyaslamak için tasarlanmış bir kittir. Telomer primer seti, telomer dizilerini tanır ve çoğaltır. Tek kopya referans (SCR) primer seti, insan kromozomu 17 üzerindeki 100 bp uzunluğundaki bir bölgeyi tanır ve amplifiye eder. Veri normalizasyonu için amplifiye edilen bölge referans görevi görür ve normalizasyonu sağlar. Özenle tasarlanmış primerler güvenilir miktar tayini için yüksek verimlilik taşımaktadır ve spesifik olmayan amplifikasyon barındırmamaktadır. Her primer set özgülüğü kantitatif polimeraz zincir reaksiyonu (qPCR) erime eğrisi analizi ile, amplifikasyon özgülüğü jel elektroforezi ile ve amplifikasyon verimliliği seri dilüsyon ile doğrulanmıştır.

- Kullanmadan önce primer telomer seti (liyofilize) ve SCR primer seti (liyofilize) şişeleri oda sıcaklığına getirildi ve 1500 x g'de 1 dakika santrifüj edildi.
- Telomer primer stok çözeltisi elde etmek amacı ile 200 µl nükleaz içermeyen H₂O, telomer primer setine eklendi. Gerektiği kadar porsiyona ayrıldı ve uygun koşullarda -20 °C'de saklandı.
- SCR primer stok çözeltisi elde etmek amacı ile 200 µl nükleaz içermeyen H₂O, SCR primer setine eklendi. Gerektiği kadar porsiyona ayrıldı ve uygun koşullarda -20 °C'de saklandı.
- Her genomik DNA örneği için, biri telomer primer stok çözeltisi ve diğeri SCR primer stok çözeltisi olan iki qPCR reaksiyonu hazırlandı.
- Tablo 2 'de gösterildiği gibi bir kuyucuk için 20 µl qPCR reaksiyonları hazırlandı.

Tablo 2. qPCR reaksiyon kuyucuk içeriği

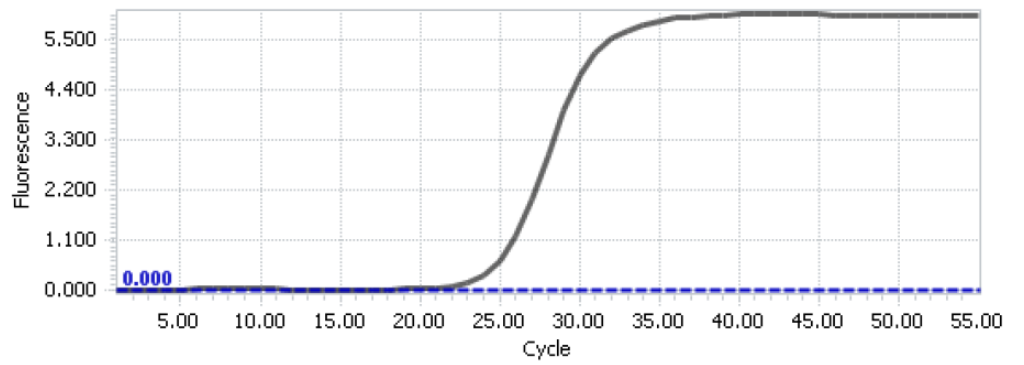
Genomik DNA şablonu	0.5 – 5 ng
Primer stok çözeltisi (Telomer ya da SCR)	2 µl
2x qPCR master mix	10 µl
Nükleaz içermeyen H₂O	değişken
<i>Toplam volüm</i>	<i>20 µl</i>

- qPCR reaksiyon kuyucukları kapatıldı ve 15 saniye boyunca 1.500 x g'de santrifüj edildi.
- Sonuçlar, uygun qPCR programı ile elde edildi (Tablo 3)

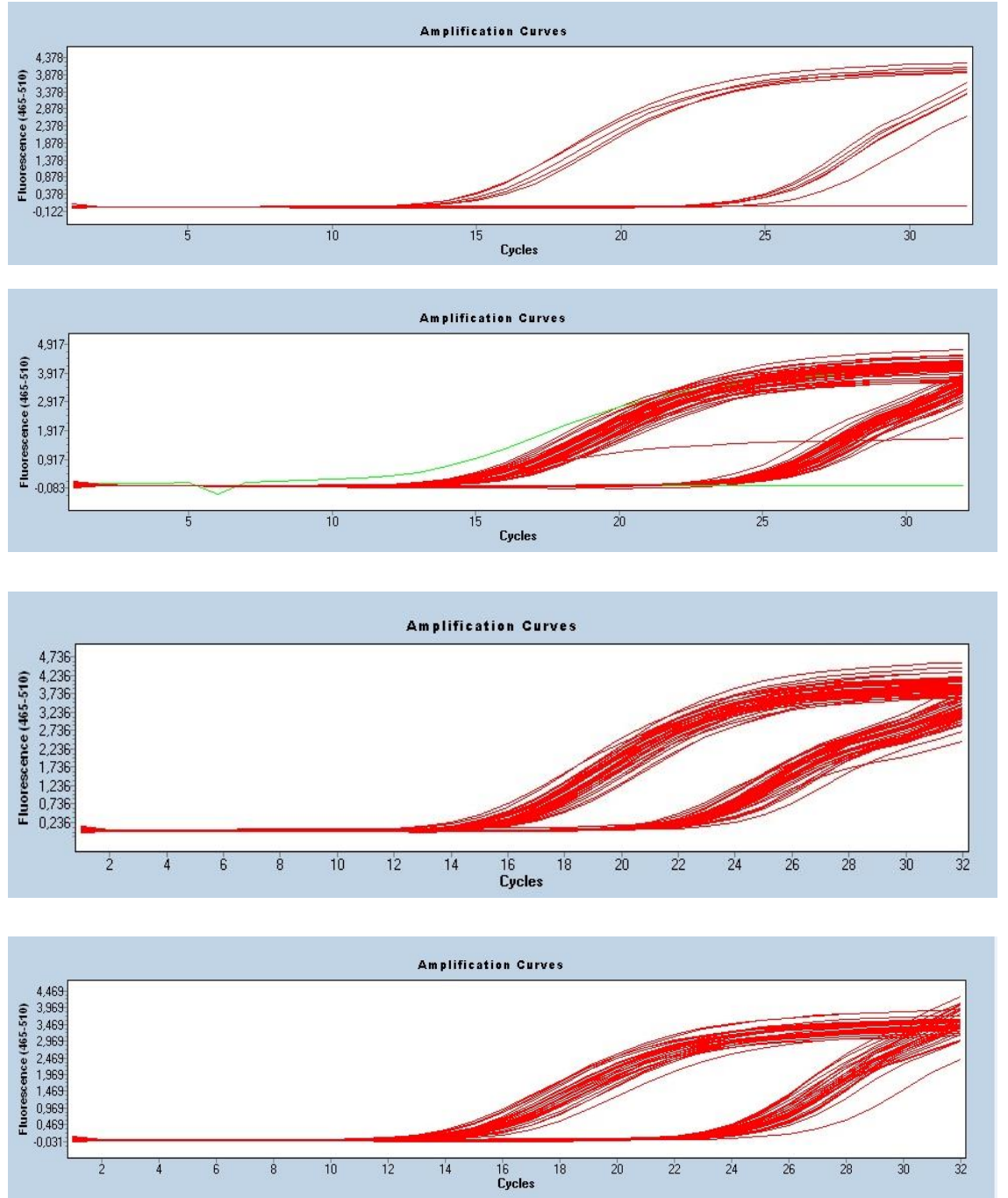
Tablo 3. qPCR programı

Evre	Sıcaklık	Süre	Siklus Sayısı
Başlangıç Denatürasyonu	95°C	10 Dakika	1
Denatürasyon	95°C	20 Saniye	32
Annealing	52°C	20 Saniye	
Ekstansiyon	72°C	45 Saniye	
Veri Toplama	Plaka okuyucu		
Opsiyonel	Erime eğrisi analizi		1

Figür 1: Bir qPCR ürününün amplifikasyonunu gösteren tipik bir amplifikasyon eğrisi.



Figür 2: Çalışmamızda elde ettiğimiz qPCR amplifikasyon eğrileri



Floresan sinyal, Ct (cycle threshold) birimi ile elde edildi. Telomer (TEL) Ct ve Tek Kopya Referans (SCR) Ct değerleri elde edildi. Kalibratör olarak kontrol grubu belirlendi ve aşağıda detayları anlatılan kantifikasyon yöntemi ile her bir numune için hesaplama yapılarak rölatif Telomer/Tek Kopya Referans (T/S) oranı elde edildi.

Kantifikasyon yöntemi :

1. Telomer (TEL) için, ΔCq (TEL) iki genomik DNA örneği için kantifikasyon döngü sayısı farkını vermektedir.

$$\Delta Cq \text{ (TEL)} = Cq \text{ (TEL, örnek 2)} - Cq \text{ (TEL , örnek 1)}$$

2. Tek Kopya Referans (SCR) için ΔCq (SCR) iki genomik DNA örneği için kantifikasyon döngü sayısı farkını vermektedir

$$\Delta Cq \text{ (SCR)} = Cq \text{ (SCR, örnek 2)} - Cq \text{ (SCR , örnek 1)}$$

3. $\Delta \Delta Cq = \Delta Cq \text{ (TEL)} - \Delta Cq \text{ (SCR)}$
4. Örnek 2'nin 1'e göre rölatif telomer uzunluğu (kat) = $2^{-\Delta \Delta Cq}$

3.6 Biyoelektrik impedans analizi (BİA) ile vücut kompozisyonunun değerlendirilmesi

BİA, alternatif akım yardımı ile vücut kompozisyonunun değerlendirilmesi için kullanılmaktadır. Ölçüm, akımın farklı vücut dokularının yapısına bağlı olarak farklı şekilde iletilmesi esasına dayanmaktadır. İşlemin kolay, hızlı, maliyetinin düşük olması ve uzmanlık gerektirmeyen basit kullanımı nedeni ile tercih edilmektedir. Birçok yayın dual enerji x-ray absorpsiyometri (DEXA) gibi diğer vücut kompozisyonu ölçüm yöntemleri ile benzerlik gösterdiğini ve sonuçların güvenilir olduğunu göstermektedir (151-154). Çalışmamızda Tanita BC-418 MA Body Composition Analyzer (TANITA corp, Tokyo, Japonya) cihaz kullanıldı. Toplam yağ yüzdesi ve kütlesi, yağsız vücut kütlesi, toplam vücut suyu, gövde yağ yüzdesi ve kütlesi, gövde yağsız vücut kütlesi ve tahmini kas kütlesi verileri elde edildi. Çalışmamız için karın bölgesi yağlanma önem arz etmektedir ve ileri incelemeyi hak etmektedir. Bu neden ile Tanita Viscan AB-140M Abdominal Fat Analyzer (Tanita corp, Tokyo, Japonya) cihaz ile BİA yöntemi kullanılarak değerlendirildi. Cihaz tarafından visseral yağlanma, iç yağlanma değer ve 6 dereceye ayrılan bar ile sonuç vermektedir (Tablo 4). Karın bölgesi yağlanma (Subkütan abdominal yağ dokusu + visseral yağ dokusu) ise

yüzde değer ve 9 dereceye ayrılan bar ile verilmektedir (Tablo 5). Karın bölgesi yağlanma erkek ve kadın bireyler için bar derecelendirilmelerinde farklılık göstermektedir. Visseral yağ dokusu ölçümü ayrıca BT ya da MRG ile de yapılabilir ancak BİA ile daha hızlı, kolay, düşük yan etki ve maliyet ile sonuç alınabilmektedir ve sonuçlar benzer şekilde olmaktadır (155). Ölçümler öncesinde cihaz, teknisyen ya da gönüllü kaynaklı olabilecek ve sonuçların doğruluğunu azaltabilecek tüm koşullara dikkat edildi. Bir gece açlık sonrası, boş mesane ile, kadın gönüllülerde menstruel dönemin dışında olanlara, ateşi olmayan gönüllülere uygun işlem kuralları göz önünde bulundurularak ölçümler bireylerin klinik durumları ile ilgili bilgisi olmayan tek bir kişi tarafından yapıldı (152).

Tablo 4. Viscan visseral yağlanma ölçüm sonucu sınıflaması

Ölçülen değer aralığı	Seviye derecesi
<5.5	Normal 1.derece
5.5 - < 10.0	Normal 2.derece
10.0 - < 12.5	Yüksek eğilimli 1.derece
12.5 - < 15.0	Yüksek eğilimli 2.derece
15.0 - < 17.5	Yüksek 1.derece
>= 17.5	Çok yüksek

Tablo 5. Viscan karın bölgesi yağlanma ölçüm sonucu sınıflaması

Ölçülen değer aralığı		Seviye derecesi
Erkek için	Kadın için	
	< 6.0	Düşük 1.derece
<7.3	6.0 - < 13.7	Düşük 2.derece
7.3 - < 13.9	13.7 - < 21.5	Düşük 3.derece
13.9 - < 17.2	21.5 - < 25.3	Normal 1.derece
17.2 - < 23.8	25.3 - < 33.0	Normal 2.derece
23.8 - < 27.1	33.0 - < 36.9	Normal 3.derece
27.1 - < 33.7	36.9 - < 44.6	Yüksek 1.derece
33.7 - < 40.3	44.6 - < 52.3	Yüksek 2.derece
> = 40.3	> = 52.3	Çok yüksek

3.7 İstatistiksel değerlendirme

İstatistiksel değerlendirme Statistical Package for Social Sciences (SPSS) for Windows 22.0 (IBM SPSS Inc., Chicago, IL) programı kullanılarak yapılmıştır. Verilerin normal dağılımı Kolmogorov-Smirnov testi ile değerlendirilmiştir. Sayısal değişkenlerden normal dağılım sergileyenler ortalama±standart sapma olarak, normal dağılım sergilemeyenler ortanca ve minimum maksimum değerler olarak gösterilmiştir. Kategorik değişkenler sayı ve yüzde olarak belirtilmiştir. İki grup karşılaştırmalarında normal dağılım sergileyen sayısal değişkenlerin analizinde bağımsız örneklem için t-testi ve normal dağılım sergilemeyen sayısal değişkenlerin analizinde Mann-Whitney U testi tercih edilmiştir. Kategorik verilerin karşılaştırılmasında ise Ki-kare testi ve Fisher'in kesin Ki-kare testi kullanılmıştır. Sayısal veriler arasında yapılacak olan korelasyon analizlerinde normal dağılan gruplar arasında pearson korelasyon analizi, normal dağılmayan gruplar arasında spearman korelasyon testleri uygulanmıştır. İstatistiksel analizlerde $p < 0.05$ değeri anlamlı kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

Çalışmaya 84 tip 2 DM tanılı hasta ve 40 gönüllü kontrol olarak alındı. Hasta grubu median yaşı 55,5 (40 – 65) kontrol grubunun ise 52 (41 – 65) ve gruplar arasında yaş açısından anlamlı farklılık olmadığı görülmüştür ($p=0,057$). Hastaların 38'i erkek (%45,2) 46'sı kadın (%54,8), kontrol grubunda 17 erkek (%42,5) 23 kadın (%57,5) mevcuttur ve gruplar arası cinsiyet açısından anlamlı farklılık yoktur ($p=0,775$). VKİ hastalar için median değer $29,95 \text{ kg/m}^2$ (20 – 40) kontrol grubu için ise $27,55 \text{ kg/m}^2$ (19,6 – 42,5) ve gruplar arasında anlamlı farklılık mevcut değildir ($p=0,221$).

Hasta grupta 40 kişide (%47,6) eşlik eden HT tanısı bulunmaktayken kontrol grubunda bilinen hastalık tanısı mevcut değildir. 13 hasta (%13,5) asetil salisilik asit (ASA), 8 hasta (%8,5) beta bloker (BB) ve 34 hasta (%40,5) statin grubu hiperlipidemi ilacı kullanmaktadır. 12 hasta (%14,3) ve kontrol grubunda 5 kişi (%12,5) sigara kullanmaktaydı ve gruplar arasında anlamlı fark mevcut değildir. Eksmoker olanlar da eklendiğinde hasta grupta sigara maruziyet öyküsü olan toplam kişi sayısı 22, kontrol grubunda ise 8 kişi ve gruplar arasında anlamlı farklılık saptanmamıştır ($p=0,456$).

Hastaların median açlık kan şekeri $132,5 \text{ mg/dl}$ (85 – 404) iken kontrol grubunda 95 mg/dl (77 – 99) olarak görülmüştür. Hastaların median DM süresi 8 yıldır (0 – 30). 41 hastada (%46,4) eşlik eden en az bir komplikasyon bulunmaktadır. 33 hastada (%39,3) en az bir mikrovasküler komplikasyon bulunmakta, 6 hastada (%7,1) retinopati, 16 hastada (%19) nefropati ve 24 hastada (%28,6) nöropati bulunmaktadır. 17 hastada (%20,2) makrovasküler komplikasyon bulunmaktadır. 16 hastada koroner arter hastalığı bulunur iken bir hastada serebrovasküler hastalık (SVH) bulunmaktadır. 14 hastada (%16,7) birden fazla komplikasyon eşlik etmektedir. Çalışmaya dahil edilen 7 hasta (%8,3) yeni tanı DM ve tedavisiz iken, 50 hasta (%59,5) yalnızca oral antidiyabetik (OAD), 24 (%28,6) hasta OAD ve insülin, 3 hasta (%3,6) ise yalnızca insülin kullanıyordu. Hastaların median HbA1c değeri %6,9 (5,5 – 15,9) idi.

Hasta grupta LDL ortalaması $125,3 \pm 38,9$ kontrol grupta ise $141,88 \pm 42,02$ olarak görülmüş ve aralarında anlamlı farklılık tespit edilmiştir ($p=0,039$). Bu durum hastaların almakta oldukları hiperlipidemik tedavi ile ilişkilendirilmiştir. Triglicerid median değer hasta grubunda 155 (59 – 632) iken kontrol grubunda 110,5'dir (40 - 485) ve gruplar arasında anlamlı farklılık mevcuttur ($p<0,001$). Gruplar arasında ALT, ürik asit, albümin ve kreatinin değerleri arasında anlamlı farklılık yoktur.

SIRT1, hasta grubunda 48 kişide kontrol grubunda 40 kişide çalışılmış olup hasta grubunda ortalama değer $90,6 \text{ pg/ml}$ ($29,5 - 175,4$) kontrol grubunda ortalama değer ise $133,5 \text{ pg/ml}$ ($71,1 - 229,1$) olarak ölçülmüş olup hasta grubunda anlamlı şekilde düşük bulunmuştur ($p<0,001$). Kadın ve erkek cinsiyetleri arasında SIRT1 düzeyinde anlamlı farklılık görülmemektedir ($p=0,604$). Tüm gönüllüler değerlendirildiğinde smoker olanlar ve smoker olmayanlar arasında SIRT1 arasında anlamlı farklılık saptanmamıştır ($p=0,856$). Sigara maruziyetini göstermesi açısından exsmoker ve smoker olanlar, nonsmoker olanlar ile kıyaslandığında da serum SIRT1 ile anlamlı farklılık saptanmamıştır ($0,709$).

Hasta grupta T/S ortalama değeri 1,03 ($0,10 - 4,46$) kontrol grubuna göre 1,25 ($0,12 - 2,98$) düşüktür, ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlı düzeye ulaşmamıştır ($p=0,064$). Hasta ve kontrol grubunda kısa telomer uzunluğuna ($T/S < 1$) sahip olma yüzdesi açısından istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu görülmüştür ($p=0,035$). Cinsiyetler arasında T/S sonucunda anlamlı farklılık mevcut değildir ($p=0,662$). Tüm gönüllüler değerlendirildiğinde smoker olanlar ve smoker olmayanlar arasında T/S arasında anlamlı farklılık saptanmamıştır ($p=0,268$). Sigara maruziyetini göstermesi açısından exsmoker ve smoker olanlar, nonsmoker olanlar ile kıyaslandığında da T/S ile anlamlı farklılık saptanmamıştır ($0,615$). Tip 2 DM tanılı hasta ve kontrol grubu verileri Tablo 6'da gösterilmektedir.

Hasta ve kontrol grupları arasında toplam yağ kütlesi, toplam yağ yüzdesi, yağsız vücut kütlesi, toplam vücut suyu, gövde yağ kütlesi, gövde yağ yüzdesi, yağsız gövde kütlesi, gövde tahmini kas kütlesi ve karın yağlanma sonuçları anlamlı farklılık içermemektedir. İç yağlanma değeri hasta grubunda $14,06 \pm 4,76$ kontrol grubunda ise $11,4 \pm 6,03$ olarak ölçülmüş olup gruplar arasında anlamlı

farklılık saptanmıştır (p=0,018). İç yağlanma derece sonuçları gruplar arasında anlamlı farklılık göstermektedir (p=0,008). Tablo 7’de detaylı olarak gösterilmektedir.

Tablo 6. Tip 2 DM ve kontrol grubunun demografik ve klinik verileri

Değişken	Tip 2 DM (n=84)	Kontrol (n=40)	p değeri
<i>Yaş, yıl, (min-max)</i>	55,5 (40-65)	51 (41-65)	0,057
<i>Cinsiyet, n (%)</i>	38 (%45,2) erkek 46 (%54,8) kadın	17 (%42,5) erkek 23 (%57,5) kadın	0,775
<i>VKİ (kg/m²)</i>	29,95 (20 – 40)	27,55 (19,6 – 42,5)	0,077
<i>Sigara Kullanımı</i>	12 (%14,3)	5 (%12,5)	0,788
<i>Diyabet Süresi, yıl</i>	8 (0 – 30)		
<i>DM Komplikasyon, n (%)</i>	41 (%46,4)		
<i>ASA, n (%)</i>	13 (%13,5)		
<i>BB Kullanımı, n (%)</i>	8 (%8,5)		
<i>Hipertansiyon</i>	40 (%47,6)		
<i>Statin Kullanımı, n (%)</i>	34 (%40,5)		
<i>HbA1c %</i>	6,9 (5,5 – 15,9)		
<i>Açlık Kan Şekeri (mg/dl)</i>	132,5 (85 – 404)	95 (77 – 99)	<0,001
<i>Total Kolesterol (mg/dl)</i>	196,5 (114 – 323)	230,5 (138 – 329)	0,075
<i>LDL (mg/dl)</i>	125,33±38,9	141,88±42,02	0,039
<i>HDL (mg/dl)</i>	46,5 (28 – 97)	56 (32 - 91)	0,001
<i>Trigliserid (mg/dl)</i>	155 (59 – 632)	110,5 (40 - 485)	<0,001
<i>ALT (U/L)</i>	21 (7 – 80)	22 (8 – 69)	0,273
<i>Albümin (g/dl)</i>	4,3 (4 – 5)	4,4 (4- 4,8)	0,332
<i>Kreatinin (mg/dl)</i>	0,7 (0,5 – 1,4)	0,65 (0,5 – 1,0)	0,222
<i>Ürik Asit (mg/dl)</i>	5,38±1,2	4,9±1,3	0,118
<i>SIRT1 (pg/ml)</i>	95,48±29,95	138,40±42,66	<0,001
<i>T/S oranı (%25-75)</i>	1,03 (0,20 – 1,48)	1,25 (0,80 – 1,69)	0,064
<i>T/S<1 (%)</i>	%47,6	%27,5	0,035

Tablo 7. Tip 2 DM ve kontrol grubunun BİA sonuçları

Değişken	Tip 2 DM (n=84)	Kontrol (n=40)	p değeri
<i>Toplam Yağ Kütlesi</i>	24,8 (5,6 – 47)	23,3 (10,3 – 46,5)	0,446
<i>Toplam Yağ %</i>	31,83±9,14	31,72±8,63	0,931
<i>Yağsız Vücut Kütlesi</i>	53,0 (36,6 – 81,5)	49,1 (39,4 – 88,3)	0,056
<i>Toplam Vücut Suyu</i>	38,8 (26,8 – 59,6)	49,1 (39,4 – 88,3)	0,059
<i>Gövde Yağ Kütlesi</i>	13,79±4,78	12,85±5,42	0,335
<i>Gövde Yağ %</i>	30,64±7,8	29,79±8,37	0,539
<i>Yağsız Gövde Kütlesi</i>	29,9 (21 – 42,7)	27,25 (22,9 – 45,3)	0,055
<i>Gövde Tahmini Kas Kütlesi</i>	28,5 (20,1 – 41)	26,05 (21,9 – 43,6)	0,057
<i>İç Yağlanma Değer</i>	14,06±4,76	11,4±6,03	0,018
<i>İç Yağlanma Derece</i>			0,008
Normal 1. Der.	2 (%2,4)	8 (%20,0)	
Normal 2. Der.	14 (%16,7)	8 (%20,0)	
Yük. Eğil. 1. Der.	12 (%14,3)	9 (%22,5)	
Yük. Eğil. 2. Der.	15 (%17,9)	4 (%10,0)	
Yük. 1. Der.	18 (%21,4)	4 (%10,0)	
Çok Yüksek	18 (%21,4)	7 (%17,5)	
<i>Karın Yağlanma Yüzde</i>	39,95±9,29	39,19±8,26	0,649
<i>Karın Yağlanma Derece</i>			0,171
Düşük 1. Der.	0	0	
Düşük 2. Der.	0	0	
Düşük 3. Der.	1 (%1,2)	0	
Normal 1. Der.	0	1 (%2,5)	
Normal 2. Der.	4 (%4,8)	4 (% 10)	
Normal 3. Der.	3 (%3,6)	2 (%5)	
Yüksek 1. Der.	26 (%31,0)	17 (%42,5)	
Yüksek 2. Der.	33 (%39,3)	9 (%22,5)	
Çok Yüksek	12 (%14,3)	7 (%17,5)	

Hasta grubu kendi içerisinde en az bir diyabetik komplikasyonu olan ve olmayan olarak yeniden gruplanmıştır ve grup özellikleri Tablo 8’de görülmektedir. Komplikasyonu olan 41 hasta ve herhangi bir diyabetik komplikasyonu olmayan 43 hasta bulunmaktadır. Gruplar arasında yaş, cinsiyet ve VKİ dağılımı açısından anlamlı farklılık bulunmamaktadır. Komplikasyonu olan grupta 8 hasta komplikasyonu olmayan grupta ise 4 hasta sigara

kullanılmaktadır, komplikasyonu olan grupta 3 eksmoker komplikasyonu olmayan grupta ise 7 eksmoker bulunmaktadır ve bu hastalar da dahil edildiğinde sigara maruziyeti açısından komplikasyonu olan ve olmayan gruplar arasında anlamlı farklılık mevcut değildir ($p=0,897$). Komplikeasyonu olan grupta diyabet ortalama süre 9 yıl iken komplikasyonu olmayan grupta bu süre 6 yıl olarak görülmüş ve gruplar arasında diyabet süresi açısından anlamlı farklılık saptanmamıştır ($p=0,192$). Komplikeasyonların sayısal bilgisi tabloda yer almaktadır. Eşlik eden HT komplikasyonu olan grupta %58,5 komplikasyonu olmayan grupta ise %37,2 ve gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmamaktadır ($p=0,052$). Komplikeasyonu olmayan grupta yalnızca oral antidiyabetik kullanımı komplikasyonu olan gruba göre fazla iken, komplikasyonu olan grupta insülin kullanımı daha fazla saptanmıştır. Komplikeasyonu olan grupta iki hasta yeni tanı ve tedavisiz iken komplikasyonu olmayan grupta beş hasta yeni tanı ve tedavi almamaktadır. Tedavi modaliteleri tabloda detaylı olarak gösterilmektedir. Açlık kan şekeri ve HbA1c komplikasyonu olan grupta olmayan gruba göre anlamlı olarak daha yüksek saptanmıştır. Lipid profili, ALT, albümin, kreatinin ve ürik asit değerleri arasında gruplar arasında anlamlı farklılık olmadığı görülmüştür.

Komplikasyonu olan 24 hastada komplikasyonu olmayan 20 hastada SIRT1 çalışılmıştır. Komplikeasyon eşlik eden hasta grubunda SIRT1 ortalaması $89,20 \pm 22,77$ iken komplikasyon olmayan grupta ise $104,28 \pm 36,64$ olarak görülmüş ve gruplar arasında anlamlı fark saptanmamıştır ($p=0,114$).

Komplikasyonu olmayan grupta median T/S 1,12 komplikasyonu olan grupta ise 0,96 olarak saptanmıştır ancak aralarındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p=0,390$). Eşlik eden toplam komplikasyon sayısı ile hastalar gruplandırıldığında aralarında T/S anlamlı farkı görülmemiştir, komplikasyon sayısı ile azalan ya da artan T/S trendi saptanmamıştır. Komplikeasyonu olan ve olmayan diyabetliler arasında kısa telomer uzunluğuna sahip olma yüzdeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmamıştır. Hasta grubu içerisinde de tüm grupta olduğu gibi cinsiyetler arasında T/S değeri anlamlı farklılığı görülmemiştir ($p=0,794$).

Obez diyabetlilerde ($VKI \geq 30 \text{ kg/m}^2$) T/S obez olmayanlara göre daha düşük saptanmış olup bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p=0,098$).

ancak obez diyabetlilerde düşük telomer uzunluğuna sahip olma yüzdesi (%60) obez olmayan diyabetlilere (%35,7) göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur (p=0,029).

Tablo 8. Komplikasyonu olan ve olmayan tip 2 DM hastalarının demografik ve klinik

Değişken	Tip 2 DM Komplikasyonu olan(n=41)	Tip 2 DM Komplikasyonu olmayan(n=43)	p değeri
Yaş, yıl, (min-max)	55 (40 – 65)	56 (41 – 65)	0,710
Cinsiyet, n (%)	19 (%46,3) erkek 22 (%53,7) kadın	19 (%44,2) erkek 24 (%55,8) kadın	0,844
VKİ (kg/m²)	30,0 (20 – 40)	29,9 (21,2 – 37,4)	0,681
Sigara Kullanımı	8 (%18,6)	4 (%9,8)	0,250
Diyabet Süresi, yıl	9 (0 – 30)	6 (0 – 22)	0,192
Mikrovasküler Komp.	33 (%79,5)		
Retinopati	6 (%14,6)		
Nefropati	16 (%39)		
Nöropati	24 (%58,5)		
Makrovasküler Komp.	17 (%20,2)		
Koroner Arter Hast.	16 (%39)		
Serebrovasküler Hast.	1 (%2,4)		
Hipertansiyon	24 (%58,5)	16 (%37,2)	0,052
Statin Kullanımı, n (%)	19 (%46,3)	15 (%34,9)	0,288
Yalnızca OAD Kullanımı	20 (%48,8)	30 (%69,8)	0,052
OAD + İnsülin Kullanımı	18 (%43,9)	6 (%14)	0,003
Yalnızca İnsülin Kullanımı	1 (%2,4)	2 (%4,7)	0,587
HbA1c	7,6 (5,7 – 15,9)	6,6 (5,5 – 11,5)	0,004
Açlık Kan Şekeri	140 (92 – 404)	123 (85 – 270)	0,024
Total Kolesterol	192 (114 – 310)	206 (141 – 323)	0,436
LDL	120,05±40,40	130,37±37,17	0,227
HDL	46 (32 – 97)	47 (28 - 88)	0,723
Trigliserid	154 (59 – 485)	156 (69 - 632)	0,613
SIRT1	89,20±22,77	104,28±36,64	0,114
T/S oranı	0,96 (0,18 – 1,44)	1,12 (0,22 – 1,78)	0,390
T/S<1 (%)	%50,0	%45,2	0,668

Tip 2 diyabetli hastalar komplikasyonu olan ve olmayan şeklinde biyoimpedans analizi sonuçları ile de değerlendirilmiştir. VKİ açısından aralarında anlamlı fark olmayan grupların, toplam vücut yağı, gövde yağ yüzdesi, iç yağlanma gibi biyoimpedans analizi sonuçları açısından anlamlı farklılık içermedikleri görülmüştür. Tablo 9’da detaylı olarak gösterilmiştir.

Tablo 9. Komplikasyonu olan ve olmayan tip 2 DM hastalarının BİA verileri

Değişken	Tip 2 DM Komplikasyonu olan (n=41)	Tip 2 DM Komplikasyonu olmayan (n=43)	p değeri
Toplam Yağ Kütlesi	24,3 (10,7 – 47,0)	26,0 (5,6 – 45,4)	0,810
Toplam Yağ %	31,59±8,74	32,06±9,63	0,818
Yağsız Vücut Kütlesi	52,2 (38,5 – 81,5)	53,5 (36,6 – 76,9)	0,925
Toplam Vücut Suyu	38,2 (28,2 – 59,6)	39,1 (26,8 – 56,3)	0,923
Gövde Yağ Kütlesi	13,72±4,96	13,86±4,66	0,896
Gövde Yağ %	30,37±7,69	30,91±8,01	0,760
Yağsız Gövde Kütlesi	29,7 (21,9 – 42,7)	30,1 (21 – 41,9)	0,954
Gövde Tahmini Kas Kütle	28,3 (21 – 41)	28,7 (20,1 – 40,3)	0,950
İç Yağlanma Değer	13,59±4,99	14,52±4,54	0,387
İç Yağlanma Derece			0,236
Normal 1. Der.	1 (2,4)	1 (%2,3)	
Normal 2. Der.	9 (%22)	5 (%11,6)	
Yük. Eğil. 1. Der.	6 (14,6)	6 (%14)	
Yük. Eğil. 2. Der.	8 (19,5)	7 (16,3)	
Yük. 1. Der.	7 (17,1)	11 (25,6)	
Çok Yüksek	8 (19,5)	10 (23,3)	
Karın Yağlanma Yüzde	39,87±8,57	40,02±10,05	0,944
Karın Yağlanma Derece			0,983
Düşük 3. Der.	1 (%2,4)	0	
Normal 1. Der.	0	0	
Normal 2. Der.	0	4 (%9,3)	
Normal 3. Der.	1 (%2,4)	2 (%4,7)	
Yüksek 1. Der.	16 (%39)	10 (%23,3)	
Yüksek 2. Der.	15 (%36,6)	18 (%41,9)	
Çok Yüksek	6 (%14,6)	6 (%14,0)	

Tablo 10’da tip 2 diyabetliler ile T/S korelasyon tablosu detaylı olarak gösterilmiştir. Hasta grubu içerisinde T/S ile yaş arasında negatif korelasyon katsayısı görüldü ancak anlamlı korelasyon görülmedi. Diyabet süresi ile T/S arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır ($p=0,956$). Vücut ağırlığı ile düşük dereceli korelasyon katsayısına sahip negatif korelasyon saptanmıştır ($p=0,025$). VKİ ile benzer şekilde negatif korelasyon saptanmıştır ancak istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p=0,061$).

Tip 2 diyabetli hastalarda açlık kan şekeri ile T/S arasında anlamlı korelasyon saptanmamıştır ($p=0,427$). Benzer şekilde HbA1c ile de anlamlı korelasyon saptanmamıştır ($p=0,403$). Tip 2 diyabetlilerde gövde yağ kütle ile T/S arasında düşük dereceli negatif korelasyon saptanmıştır ($p=0,028$). Diğer biyoimpedans analizi sonuçları ile T/S arasında anlamlı korelasyon saptanmamıştır. İç yağlanma derece ($p=0,365$) ve karın yağlanma derecelerinde ($p=0,434$) T/S anlamlı farklılık göstermemektedir, azalan ya da artan trend saptanmamıştır. Hastaların aldıkları antidiyabetik tedaviler ile T/S arasında anlamlı farklılık görülmemiştir. İnsülin kullanan ve kullanmayan hastalar arasında anlamlı T/S farklılığı saptanmamıştır ($p=0,654$). Statin kullanımı ile T/S arasında anlamlı fark bulunmamıştır. Eşlik eden HT tanısı olan diyabetli hastalarda HT tanısı olmayan diyabetli hastalara oranla T/S düşüklüğü saptanmıştır ($p=0,048$).

Tip 2 diyabetli hastalarda kontrol grubuna göre kısa telomer uzunluğuna sahip birey sayısı fazla bulunmuştur. Hasta grup kendi içerisinde değerlendirildiğinde eşlik eden komplikasyon ile T/S arasında ya da kısa telomer uzunluğuna sahip olma açısından anlamlı farklılık saptanmamıştır. Retinopati, nefropati, nöropati, koroner arter hastalığı, serebrovasküler hastalık eşlik eden gruplar ile etmeyen gruplar ile kıyaslandığında T/S’de anlamlı farklılık saptanmamıştır. Yine hastalar mikrovasküler komplikasyon, makrovasküler komplikasyon ya da komplikasyon sayıları ile ayrı ayrı gruplandırılmış ve T/S ile gruplar arasında anlamlı farklılık saptanmamıştır. Komplikasyon sayısı ile T/S değerleri arasında ilişki görülmemiştir. Hasta grubunda T/S ile SIRT1 arasında istatistiksel olarak anlamlı korelasyon saptanmamıştır ($p=0,507$).

Tablo 10. Tip 2 DM hastalarında T/S'nin diğer parametreler ile korelasyon analizi sonuçları

Değişken	Korelasyon Katsayısı	P değeri
<i>Yaş</i>	-0,185	0,096
<i>Diyabet Süresi</i>	0,006	0,956
<i>Vücut Ağırlığı</i>	-0,248	0,025
<i>VKİ</i>	-0,208	0,061
<i>HbA1c</i>	-0,094	0,403
<i>Açlık Kan Şekeri</i>	-0,089	0,427
<i>Total Kolesterol</i>	0,048	0,666
<i>LDL</i>	0,050	0,654
<i>HDL</i>	-0,073	0,512
<i>Trigliserid</i>	0,131	0,240
<i>Toplam Yağ Kütle</i>	-0,205	0,073
<i>Toplam Yağ Yüzde</i>	-0,139	0,229
<i>Gövde Yağ Kütle</i>	-0,250	0,028
<i>Gövde Yağ Yüzde</i>	-0,212	0,064
<i>İç Yağlanma</i>	-0,216	0,315
<i>Karın Yağlanma</i>	-0,092	0,426
<i>SIRT1</i>	0,100	0,507

SIRT1 ile tip 2 DM grubu korelasyon analizinde yaş, diyabet süresi, VKİ, BİA analizi sonuçları ile ve lipid profili sonuçları ile istatistiksel anlamlı korelasyon görülmemiştir. Açlık kan şekeri ile orta düşük derecede anlamlı pozitif yönde korelasyon saptanmıştır (p=0,020). Obez diyabetliler ile obez olmayan diyabetliler arasında anlamlı farklılık saptanmamıştır. HbA1c ile SIRT1 düzeyi arasında anlamlı korelasyon saptanmamıştır. Kadın erkek arasında anlamlı farklılık görülmemiştir (p=0,325). Retinopati saptanılan 5 hastada çalışılan SIRT1 sonucunda retinopati olan grup ile retinopati olmayan grupların arasında SIRT1 açısından anlamlı fark bulunmamıştır (p=0,392). Nefropati eşlik eden 10 hastada SIRT1 çalışılmıştır ve ortalama 92,0±23,90, nefropati olmayan grubun ise ortalaması 96,39±31,57 ölçülmüştür ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (p=0,685). Nöropati eşlik eden hastaların SIRT1 ortalaması 88,05±23,74 nöropati olmayan tip 2 DM hastalarının ortalaması ise 100,79±33,09 ölçülmüştür ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (p=0,127). Mikrovasküler komplikasyonu olan hastaların ortalama SIRT1 değeri 103,65±34,48, mikrovasküler komplikasyonu olmayan hastaların ortalama değeri

ise $87,31 \pm 22,48$ saptanmıştır ($p=0,058$). KAH ve SVH komplikasyonları olan hastalar ile olmayan hastalar arasında istatistiksel anlamlı fark görülmemiştir. Eşlik eden HT ile anlamlı SIRT1 farklılığı saptanmamıştır. Statin kullanımı, BB kullanımı, ASA kullanımı, meformin kullanımı, insülin kullanımı ya da diyabetik tedavi tipi ile anlamlı SIRT1 farklılığı görülmemiştir. Tablo 11’de korelasyon analizi görülmektedir.

Tablo 11. Tip 2 DM hastalarında SIRT1’in diğer parametreler ile korelasyon analizi sonuçları

Değişken	Korelasyon Katsayısı	P değeri
<i>Yaş</i>	-0,017	0,907
<i>Diyabet Süresi</i>	0,132	0,372
<i>Vücut Ağırlığı</i>	-0,149	0,313
<i>VKİ</i>	-0,107	0,468
<i>Açlık Kan Şekeri</i>	0,334	0,020
<i>HbA1c</i>	0,237	0,105
<i>Total Kolesterol</i>	0,208	0,157
<i>LDL</i>	0,091	0,537
<i>HDL</i>	0,136	0,357
<i>Trigliserid</i>	-0,069	0,639
<i>Toplam Yağ Kütle</i>	-0,068	0,695
<i>Toplam Yağ Yüzde</i>	0,019	0,898
<i>Gövde Yağ Kütle</i>	-0,067	0,650
<i>Gövde Yağ Yüzde</i>	-0,036	0,808
<i>İç Yağlanma</i>	-0,013	0,928
<i>Karın Yağlanma</i>	0,060	0,685

Kontrol grubunda da tüm grupta ve diyabetlilerde olduğu gibi cinsiyetleri arasında anlamlı T/S farklılığı bulunmamaktadır. Tablo 12’de kontrol grubunda T/S korelasyon tablosu görülmektedir. T/S ile SIRT1 arasında orta düşük dereceli negatif yönde korelasyon bulunmaktadır ($p=0,019$). Kontrol grubunda yaş, VKİ, AKŞ, BİA sonuçları ile anlamlı korelasyon saptanmamıştır. İç yağlanma ve karın yağlanma dereceleri ile anlamlı T/S farklılığı saptanmamış olup dereceler ile anlamlı T/S azalan ya da artan trendi görülmemiştir.

Tablo 12. Kontrol grubunda T/S'nin diğer parametreler ile korelasyon analizi sonuçları

Değişken	Korelasyon Katsayısı	P değeri
<i>Yaş</i>	0,131	0,419
<i>Vücut Ağırlığı</i>	-0,020	0,900
<i>VKİ</i>	-0,132	0,416
<i>Açlık Kan Şekeri</i>	0,302	0,058
<i>Total Kolesterol</i>	-0,030	0,861
<i>LDL</i>	0,004	0,979
<i>HDL</i>	-0,012	0,943
<i>Trigliserid</i>	0,124	0,457
<i>Toplam Yağ Kütle</i>	-0,070	0,667
<i>Toplam Yağ Yüzde</i>	-0,066	0,685
<i>Gövde Yağ Kütle</i>	-0,063	0,701
<i>Gövde Yağ Yüzde</i>	-0,050	0,757
<i>İç Yağlanma</i>	-0,083	0,613
<i>Karın Yağlanma</i>	-0,001	0,997
<i>SIRT1</i>	-0,368	0,019

SIRT1 ile kontrol grubunda korelasyon analizi Tablo 13'de görülmektedir. Yaş, VKİ ve BİA analizi sonuçları ile anlamlı korelasyon saptanmamıştır.

Tablo 13. Kontrol grubunda SIRT1'in diğer parametreler ile korelasyon analizi sonuçları

Değişken	Korelasyon Katsayısı	P değeri
<i>Yaş</i>	0,034	0,833
<i>Vücut Ağırlığı</i>	0,162	0,318
<i>VKİ</i>	0,077	0,638
<i>Açlık Kan Şekeri</i>	0,116	0,474
<i>Total Kolesterol</i>	-0,143	0,404
<i>LDL</i>	-0,140	0,388
<i>HDL</i>	-0,140	0,410
<i>Trigliserid</i>	0,174	0,660
<i>Toplam Yağ Kütle</i>	0,037	0,821
<i>Toplam Yağ Yüzde</i>	-0,044	0,789
<i>Gövde Yağ Kütle</i>	0,092	0,572
<i>Gövde Yağ Yüzde</i>	0,056	0,730
<i>İç Yağlanma</i>	0,189	0,242
<i>Karın Yağlanma</i>	0,037	0,820

5. TARTIŞMA

Diabetes mellitus, sebep olduğu ciddi mortalite ve morbidite, yüksek maliyeti ve ülkemizde ve dünyada artan prevalansı nedeni ile son yıllarda önemli bir sağlık sorunu haline gelmiştir ve bu nedenle hastalığın patofizyolojisinin aydınlatılması ile ilgili son yıllarda birçok çalışma mevcuttur. Biyolojik stres yanıtı olarak tanımlanan hücresel yaşlanmanın diyabete eşlik ettiği düşünülmektedir. Diabetes mellitusun, hızlanan telomer kısalmasına neden olan hiperglisemiye bağlı hücre hasarından sorumlu yolları tetikleyebildiği bilinmektedir (80). Çalışmamızda telomer uzunluğu hücresel düzeyde yaşlanmanın bir belirteci olarak kullanılmıştır ve etkileyen faktörlerin detaylı şekilde değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Çalışmamızda tip 2 DM tanısı olan grubun yaş, cinsiyet ve VKİ açısından anlamlı farklılık olmayan kontrol grubuna göre rölatif telomer uzunluğunun daha kısa olduğu ancak bu farkın istatistiksel olarak anlamlı düzeye ulaşmadığı tespit edilmiştir. Bununla birlikte, kısa telomer uzunluğuna ($T/S < 1$) sahip olma oranının ise diyabetli hastalarda istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha fazla olduğu görülmüştür. Zee ve ark. qPCR yöntemi ile LTU çalışmışlardır ve tip 2 diyabetli hastalarda kontrol grubuna göre kısa telomer uzunluğu saptamışlardır (72). Benzer şekilde farklı çalışmalarda da tip 2 diyabetli hastalarda LTU kontrol grubuna göre kısalmış saptanmıştır (9, 156). Ancak literatürde farklı sonuçlar elde edilen çalışmalar da mevcuttur. Testa ve ark. yaptıkları çalışmada komplikasyon eşlik etmeyen tip 2 diyabetliler ile kontrol grubu arasında anlamlı telomer uzunluğu farkı saptamamışlardır (78). Diyabette artan reaktif oksijen radikalleri ile artan oksidatif stresin hücresel düzeyde yaşlanma ile ilişkili olduğunu düşünmekteyiz. Çalışmamız bu sonucu destekler niteliktedir.

Komplikasyon varlığı hasta grubu içerisinde değerlendirildiğinde ise rölatif telomer uzunluğunda ya da kısa telomer uzunluğuna sahip birey sayısında anlamlı farklılık saptanmamıştır. Çalışmamızda hastalar toplam komplikasyon sayılarına göre gruplandırıldığında artan komplikasyon sayısı ile azalan telomer uzunluğu trendi görülmemiştir. Olivieri ve ark. yaptıkları çalışmada, tip 2 diyabetlilerde eşlik eden nefropati ya da retinopati ile telomer uzunluğu arasında

ilişki saptamamışlardır (79). Januszewski ve ark. çalışmamıza benzer sonucu tip 1 diyabetlilerde yaptıkları çalışmada elde etmişlerdir. Kontrol grubuna göre tip 1 diyabetlilerde kısa telomer uzunluğu saptamışlar ve eşlik eden komplikasyon varlığı ile telomer uzunluğu arasında ilişki saptamamışlardır. Bu durumun hastaların kullandıkları statinler ya da ACE inhibitörleri gibi vazoprotektif ilaçların telomer ksalmasında koruyucu etkileri ile ilişkili olabileceğini öne sürmektedirler (157). Literatürde çalışmamızda elde ettiğimiz sonucun aksine eşlik eden komplikasyon varlığı ile tip 2 diyabetlilerde telomer ksalması arasında anlamlı ilişki bulunan çalışmalar da mevcuttur. Testa ve ark. yaptıkları çalışmada komplikasyon eşlik etmeyen diyabetliler ile sağlıklı kontrol grubu arasında telomer uzunluğu anlamlı farkı saptamamış, komplikasyon eşlik eden diyabetliler ile kontrol grubu arasında ve komplikasyon eşlik etmeyen tip 2 diyabetliler arasında telomer uzunluğu anlamlı farklılığı saptamışlardır (78). Birbirleri ile farklılık gösteren bu sonuçlar diyabet ve komplikasyonları ile telomer uzunluğu ilişkisinin daha fazla araştırılmaya ihtiyacı olduğunu düşündürmektedir. Literatürdeki farklı popülasyonlar arasındaki çalışmalarda elde edilen farklı sonuçların, Türk toplumunda ilk olarak gerçekleştirilen bu çalışmayı daha değerli kıldığını düşünmekteyiz.

Çalışmamızda diyabet süresi ile telomer uzunluğu arasında anlamlı korelasyon saptanmadı. Murillo-Ortiz ve ark. yaptıkları çalışmada tip 2 DM tanılı hastaları diyabet süresi 10 yıl ve üzeri olanlar ve 1 yıl ve altında olanlar şeklinde gruplandırarak değerlendirmişlerdir. Diyabet süresi 10 yılın üzerinde olan grupta hem kontrol grubuna göre hem de diyabet süresi bir yılın altında olan diyabetlilere göre anlamlı telomer kısalığı saptamışlardır (8). Bu durum uzun süreli diyabet tanılı hastalarda daha fazla oksidatif strese maruziyet ile ilişkili görünmektedir. Ancak Çin’de yapılan bazı çalışmalarda çalışmamıza benzer şekilde diyabet süresi ile korelasyon saptanmamıştır (9). Bununla ilgili olarak diyabet süresinin hastalığın ciddiyetini tam olarak yansıtmadığı düşünülebilir. Ayrıca, hipergliseminin etkili tedavi edilip edilmediği ya da ne süredir edildiği hastalar arasında fark göstermekte ve bu diyabet süresi ile hastalık ciddiyeti arasında belirgin bir korelasyon oluşmasına engel olmakta gibi görünmektedir. Öte yandan bu durumun popülasyon ilişkili olabileceği ile ilgili görüşler de mevcuttur (158).

Kafkas ırkı ile yapılan bir çalışmada da yine tip 2 DM tanılı hastalarda diyabet süresi ile telomer uzunluğu arasında anlamlı korelasyon saptanmamıştır (159). Türk toplumunda yaptığımız bu çalışma ile saptamadığımız korelasyon bu görüşü destekler nitelikte görünmektedir. Diyabet süresi ile LTU ilişkisi toplumdan topluma değişmesinin sebebi olarak toplumlar arası diyabetli hastaların takip ve tedavisindeki farklılıklar öne sürülebilir.

Kronik hiperglisemi ve artmış oksidatif stres ile karakterize diyabet hastalığında yüksek glukoz seviyesi artmış oksidatif stres ile korelasyon göstermektedir ve bu telomerik DNA hasarı ve telomer kısalması ile ilişkili olabileceğini düşündürmektedir (159). Uziel ve ark. yaptıkları çalışmada iyi glisemik kontrolün telomer kısalmasını yavaşlattığını göstermişlerdir (80). Fakat, çalışmamızda tip 2 diyabeti olan hastalarda telomer uzunluğu ile açlık kan şekeri ya da HbA1c ile korelasyon görülmedi. Elde ettiğimiz sonuca benzer şekilde Masi ve ark. yaptıkları 10 yıllık prospektif çalışmalarının başlangıç değerlerinde tip 2 DM tanılı hastalarda açlık kan şekeri ya da HbA1c ile korelasyon saptamamışlardır (160). Ma ve ark. tip1 DM, tip 2 DM ve kontrol grubu ile yaptıkları çalışmada ise tüm katılımcılar ile yapılan korelasyon analizinde AKŞ ve HbA1c ile telomer uzunluğu arasında istatistiksel anlamlı korelasyon saptanmış ancak tip 2 DM tanılı hasta grupta yapılan korelasyon analizi ile ilgili ayrı bir veri bulunmamaktadır. Aynı çalışmada Tip 2 DM tanılı grupta yapılan regresyon analizinde AKŞ ve HbA1c, anlamlı prediktör olarak saptanmamışlardır (161). Salpea ve ark. tip 2 diyabetli hastalarda yaptıkları korelasyon analizinde çalışmamıza benzer şekilde AKŞ ve HbA1c arasında anlamlı korelasyon saptamamışlardır (159). Çalışmamızda hastaların AKŞ ve HbA1c ölçümlerinin hipergliseminin telomer uzunluğu üzerine uzun süreli kümülatif etkisini tam olarak yansıtmayabileceğini düşünmekteyiz.

Çalışmamızda, HT eşlik eden diyabetli hastalarda telomer uzunluğu HT eşlik etmeyen diyabetli hastalara göre düşük fakat istatistiksel olarak sınırda düzeyde anlamlılık saptanmıştır. Bu sınırda istatistiksel anlamlılık iki grup arasında anlamlı farklılık gösteren yaş ve eşlik eden komplikasyon varlığı ile değerlendirildiğinde anlamlı görünmemektedir. HT olan diyabetlilerde ortalama yaş 58 (HT olmayan diyabetlilerde ise 51) ve komplikasyon %60 eşlik etmektedir

(HT olmayan diyabetlilerde ise bu oran %38). Çalışmamızda diyabetli grupta yaş ile istatistiksel anlamlı olmayan ancak negatif korelasyon saptanmıştır. Komplikasyon varlığı ise istatistiksel olarak anlamlı olmasa da daha düşük telomer uzunluğu ile ilişkili bulunmuştur. HT eşlik eden grupta bu farklılığın oluşmasında yaş ve komplikasyon varlığı etkili görünmektedir. Literatürde HT varlığının düşük telomer uzunluğu ile ilişkili olduğunu saptayan çalışmalar da mevcuttur (162). Demisse ve ark. yaptıkları çalışmada HT eşlik eden grupta saptanan kısa telomer uzunluğunu, HT olan hastalarda daha fazla saptadıkları insülin direnci ile ilişkilendirmişlerdir (163). HT ve telomer uzunluğu ilişkisi ile ilgili daha fazla çalışmaya ihtiyaç olduğu görülmektedir.

Çalışmamızda tip 2 diyabetli obezlerde, tip 2 diyabetli obez olmayan hastalara göre daha kısa telomer uzunluğu yüzdesinin daha fazla olduğu ve bunun istatistiksel olarak anlamlı olduğu görülmüştür. Literatürde, diyabeti olmayan obez bireylerin obez olmayan bireylere göre daha kısa telomer uzunluğuna sahip olduğuna dair çalışmalar mevcuttur (83-85). Obeziteye eşlik eden artmış inflamatuvar süreç ve artmış oksidatif stres bu durumun açıklayıcısı olarak görülmektedir (89, 90, 164).

Çalışmamız, diyabetli bireylerde telomer uzunluğuna visseral obezitenin olumsuz etkisini ortaya koyması açısından önemli bir çalışmadır. Çalışmamızda tip 2 diyabetli hastalarda BİA ile elde ettiğimiz toplam yağ kütle, toplam yağ yüzde, gövde yağ kütle, gövde yağ yüzde, iç yağlanma ve karın yağlanma ile rölatif telomer uzunluğu arasında negatif korelasyon eğilimi olsa da, sadece gövde yağ kütlesi ile istatistiksel olarak anlamlı sonuç elde edilmiştir. Hasta grubun kendi içerisinde yapılan korelasyon analizi sonucunda anlamlı korelasyon saptanması, bu ilişkinin obezitede olduğu gibi diyabet hastalığından bağımsız olarak var olduğunu düşündürmektedir. Literatürde telomer uzunluğunun BİA ölçüm sonuçları ile ilişkisi ile ilgili çalışma sayısı sınırlıdır. Zanolli ve ark. yaptıkları çalışmada çalışmamıza benzer şekilde erişkinlerde obezite ile telomer kısalması arasında ilişki saptamışlar, toplam yağ kütle yağsız vücut kütlesi arasında anlamlı korelasyon saptamamışlardır (165). Ölçümlelerinde çalışmamızda anlamlı korelasyon saptadığımız gövde yağ kütle ölçümü bulunmamaktadır. Endonezya'da yapılan bir çalışmada, vücut yağ yüzdesi ile çalışmamıza benzer

şekilde telomer uzunluğu ile negatif korelasyon olduğu görülmüş ancak bu durum istatistiksel olarak anlamlı saptanmamıştır (166). Ancak bu çalışmada da bölgesel yağlanma ile ilgili veri bulunmamaktadır. Njajou ve ark. yaptıkları ileri yaş (70-79) denekler ile yaptıkları prospektif kohortta, başlangıç verilerinde kısa telomer uzunluğu ile VKİ ve abdominal subkütan yağ doku (bilgisayarlı tomografi ile saptanan) arasında negatif anlamlı korelasyon saptamışlardır (91). García-Calzón ve ark. yaptıkları çalışmada, telomer uzunluğu ile bel çevresi ve bel kalça oranı arasında negatif korelasyon olduğunu saptamışlardır (102). Farklı çalışmalarda elde edilen farklı sonuçlar obezite, özellikle de visseral obezite ile telomer uzunluğu arasındaki ilişkinin bilinenden daha kompleks olabileceğini düşündürmektedir. Olası biyolojik mekanizmaların daha fazla araştırma ile aydınlatılması, obezitenin yarattığı sağlık yükünün hafifletilmesi ve sağlıklı yaşlanma sağlanması açısından önemli görünmektedir.

Çalışmamızda diyabetli hastalarda serum SIRT1 düzeyi ile LTU arasında anlamlı korelasyon tespit edilmemiştir. Bunun sebebinin diyabette varolan kompleks metabolik bozuklukların etkisi olabileceğini düşünmekteyiz. Bununla birlikte telomer uzunluğu ile SIRT1 arasında kontrol grubunda anlamlı negatif korelasyon saptanmıştır. Palacios ve ark. farelerde artırılmış SIRT1 ekspresyonunun telomeraz aktivitesi üzerinde değişiklik ile daha uzun telomer uzunluğu ile ilişkili olduğunu göstermişlerdir (167). İnsan denekler ile yapılan bir diğer çalışmada ise SIRT1 gen lokusu ile telomer uzunluğu ve uzunluğun korunması arasında ilişki olduğu tespit edilmiştir (168). Lin ve ark. obstrüktif uyku apne sendromlu hastalar ve kontrol grubu ile yaptıkları prospektif çalışmada başlangıçta hasta grupta telomer uzunluğunu ve dolaşımdaki SIRT1 seviyesini düşük saptamışlar, tedavi sonrası telomer uzunluğu yükselen grupta dolaşımdaki SIRT1 seviyesinde de yükselme saptamışlardır ve telomer uzunluğu ile dolaşımdaki SIRT1 seviyesi ile telomer uzunluğu arasında pozitif yönde korelasyon saptamışlardır (169). Ölçümlerinde çalışmamıza benzer şekilde rölatif telomer uzunluğu için qPCR ve dolaşımdaki SIRT1 ölçümü için ELİSA kullanılan 118 sağlıklı gönüllü ile yapılan bir çalışmada, SIRT1 seviyesinin daha düşük telomer uzunluğuna sahip grupta daha yüksek saptandığı görülmüştür ve çalışmamızda kontrol grubunda elde ettiğimiz sonuçla kısmen uyumludur. Yine

aynı çalışmada BMİ >25 olanlarda zayıf olanlara göre ve alkol ve sigara kullananlarda kullanmayanlara göre dolaşımdaki SIRT1 daha yüksek saptanmıştır, telomer uzunlukları arasında anlamlı farklılık saptanmamıştır ve dolaşımdaki SIRT1 seviyesi ile SIRT1 gen ekspresyonu arasında ters korelasyon saptanmıştır (170). Bu ve literatürdeki buna benzer sonuçlar SIRT1 gen ekspresyonu ile elde edilen her sonucun serum SIRT1 ile korelasyon göstermeyebileceğini düşündürmektedir. Glukoz metabolizmasında rolü olduğu düşünülen SIRT1 ile diyabetlilerde yaptığımız bu çalışma, hücresel düzeyde yaşlanmanın bir belirteci olarak telomer uzunluğunun da beraber çalışılması ile literatüre katkısı açısından önemli görünmektedir.

Çalışmamızda diyabeti olan grupta serum SIRT1 seviyesi yaş, cinsiyet ve VKİ açısından benzer kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düşük saptanmıştır. Literatürde diyabetli hastalarda serum SIRT1 seviyesinin ELİSA yöntemi ile çalışılarak kontrol grubu ile kıyaslandığı çalışmamıza benzer Shao ve ark. yaptıkları çalışma gösterilebilir (171). Çalışmamıza benzer şekilde tip 2 diyabetli grupta kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı daha düşük SIRT1 saptamışlardır. Nefropati eşlik eden hastalarda daha düşük SIRT1 elde etmişler, proteinüri miktarı ile negatif yönde anlamlı korelasyon saptamışlardır. Çalışmamızda hasta grupta eşlik eden nefropati ya da proteinüri miktarı ile ya da diyabete bağlı herhangi bir komplikasyon ile istatistiksel olarak anlamlı SIRT1 ilişkisi görülmemiştir. Tip 2 diyabetliler ile yapılan bir diğer çalışmada, kontrol grubuna göre diyabetli hastalarda serum SIRT1 seviyesi düşük saptanmış olup, hasta grup kendi içerisinde normoalbuminürik, mikroalbuminürik ve makroalbuminürik olarak gruplandırılmış ve bu gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır (172). Çalışmamızda komplikasyonları olan diyabetliler ile olmayanlar arasında SIRT1 açısından bir farklılık saptanmamıştır.

Çalışmamızda tip 2 diyabetlilerde serum SIRT1 ile HbA1c arasında anlamlı korelasyon olmadığı, açlık kan şekeri ile pozitif yönde korelasyon olduğu görülmüştür. Fathy ve ark. yaptıkları çalışmada normoalbuminürik diyabetlilerde serum SIRT1 ile açlık kan şekeri arasında pozitif korelasyon saptamışlar, proteinüri eşlik eden diyabetlilerde ise bu korelasyonu saptamamışlardır (172).

Tip 2 diyabetliler ve kontrol grubu ile yapılan bir başka çalışmada ise serum SIRT1 ile açlık kan şekeri arasında anlamlı negatif korelasyon saptanmıştır (173). Aynı çalışmada HbA1c ile de negatif korelasyon saptandığı görülmüştür. Literatürde serum SIRT1 ile diyabetlilerde yapılan az sayıdaki çalışmada elde edilen farklı sonuçlar, serum SIRT1'in diğer parametreler ile olan ilişkisinin daha fazla araştırılmaya ihtiyacı olduğunu göstermektedir. Türk toplumunda yaptığımız ve daha önce benzeri yapılmayan çalışmamızın literatüre katkısının bu açıdan önemli olduğunu düşünmekteyiz.

Zayıf sosyoekonomik durum ve olumsuz yaşam şartlarının artan oksidatif stres, kötü beslenme, sağlıksız davranışlar ve fiziksel ve psikolojik stres nedeniyle daha kısa telomer uzunluğu ile ilişkilendirildiği bilinmektedir (174-176). Ayrıca telomer uzunluğunun genetik faktörlerden ve intrauterin dönemden etkilendiği bilinmektedir (177, 178). Telomer uzunluğuna etkisi olduğu bilinen bu verilerin elimizde olmaması çalışmamızın kısıtlılıklarından sayılabilir. Serum SIRT1 kontrol grubunun tamamında çalışılmıştır ancak diyabetlilerin tamamında çalışılmamıştır. Daha fazla sayıda hastada çalışılması elde edilen sonuçların kesinliğine katkı sağlayabileceğini düşünmekteyiz. Son olarak, çalışmamızda hastaların diyabete yönelik aldıkları tedavilerin sonuçlarımıza olumsuz etkisi olabileceği düşünülebilir. Hem bu açıdan literatürde çok net veriler olmaması hem de insülin tedavisi alan ve almayan hastalar arasında sonuçlarımızda farklılık saptanmaması nedeniyle bu durumun çalışmamızın gücünü azaltmadığını düşünmekteyiz.

6. SONUÇLAR

Çalışmamızda tip 2 diyabetli hastalarda kontrol grubuna göre kısa telomer uzunluğuna sahip olma oranının daha fazla olduğu gösterildi.

Komplikasyonu olan diyabetliler ile olmayan diyabetliler arasında telomer uzunluğu açısından anlamlı fark saptanmadı. Komplikasyon sayısı ile telomer uzunluğu arasında bir ilişki saptanmadı.

Obez tip 2 diyabetlilerde obez olmayan tip 2 diyabetlilere göre kısa telomer uzunluğuna sahip olma oranı anlamlı olarak fazla saptandı.

Glisemik kontrol ile telomer uzunluğu arasında bir ilişki bulunmadı. Diyabet süresi ile telomer uzunluğu arasında anlamlı ilişki görülmedi, buna karşın vücut ağırlığı ile negatif bir ilişki saptandı. Diyabetlilerde telomer uzunluğu ile serum SIRT1 düzeyi arasında anlamlı ilişki saptanmazken, kontrol grubunda anlamlı negatif ilişki tespit edildi.

Diyabetli hastalarda vücut yağ dağılımı açısından gövde yağ kütlesi ile telomer uzunluğu arasında negatif ilişki olduğu görüldü.

Telomer uzunluğu, cinsiyetler arasında farklılık göstermedi. Sigara kullanımı ile ilişkili telomer uzunluğu farkı saptanmadı. Antidiyabetik tedaviler ile ilişkili telomer uzunluğu farkı görülmedi.

Serum SIRT1 düzeyi diyabetli hastalarda kontrol grubuna göre düşük saptandı. SIRT1 düzeyi ile klinik ve metabolik parametreler arasında önemli bir ilişki tespit edilmedi.

7. KAYNAKLAR

1. Association AD. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes care*. 2014;37(Supplement 1):S81-S90.
2. Sinclair A, Dunning T, Rodriguez-Mañas L. Diabetes in older people: new insights and remaining challenges. *The lancet Diabetes & endocrinology*. 2015;3(4):275-85.
3. McClintock B. The stability of broken ends of chromosomes in *Zea mays*. *Genetics*. 1941;26(2):234.
4. Muller H. The remaking of chromosomes. *Collecting net*. 1938;13:181-98.
5. Zakian VA. Structure, function, and replication of *Saccharomyces cerevisiae* telomeres. *Annual review of genetics*. 1996;30(1):141-72.
6. Blackburn EH. Structure and function of telomeres. *Nature*. 1991;350(6319):569-73.
7. Cao Y, Bryan TM, Reddel RR. Increased copy number of the TERT and TERC telomerase subunit genes in cancer cells. *Cancer science*. 2008;99(6):1092-9.
8. Murillo-Ortiz B, Albarrán-Tamayo F, Arenas-Aranda D, Benítez-Bribiesca L, Malacara-Hernández J, Martínez-Garza S, et al. Telomere length and type 2 diabetes in males, a premature aging syndrome. *The Aging Male*. 2012;15(1):54-8.
9. Sampson MJ, Winterbone MS, Hughes JC, Dozio N, Hughes DA. Monocyte telomere shortening and oxidative DNA damage in type 2 diabetes. *Diabetes care*. 2006;29(2):283-9.
10. Fyhrquist F, Tiitu A, Saijonmaa O, Forsblom C, Groop PH, Group FS. Telomere length and progression of diabetic nephropathy in patients with type 1 diabetes. *Journal of internal medicine*. 2010;267(3):278-86.
11. Haycock PC, Heydon EE, Kaptoge S, Butterworth AS, Thompson A, Willeit P. Leucocyte telomere length and risk of cardiovascular disease: systematic review and meta-analysis. *Bmj*. 2014;349.
12. Adaikalakoteswari A, Balasubramanyam M, Ravikumar R, Deepa R, Mohan V. Association of telomere shortening with impaired glucose tolerance and diabetic macroangiopathy. *Atherosclerosis*. 2007;195(1):83-9.
13. Monickaraj F, Gokulakrishnan K, Prabu P, Sathishkumar C, Anjana RM, Rajkumar JS, et al. Convergence of adipocyte hypertrophy, telomere shortening and hypoadiponectinemia in obese subjects and in patients with type 2 diabetes. *Clinical biochemistry*. 2012;45(16-17):1432-8.

14. Colman RJ, Anderson RM, Johnson SC, Kastman EK, Kosmatka KJ, Beasley TM, et al. Caloric restriction delays disease onset and mortality in rhesus monkeys. *Science*. 2009;325(5937):201-4.
15. Fontana L, Meyer TE, Klein S, Holloszy JO. Long-term calorie restriction is highly effective in reducing the risk for atherosclerosis in humans. *Proceedings of the national Academy of Sciences*. 2004;101(17):6659-63.
16. Bordone L, Cohen D, Robinson A, Motta MC, Van Veen E, Czopik A, et al. SIRT1 transgenic mice show phenotypes resembling calorie restriction. *Aging cell*. 2007;6(6):759-67.
17. Boily G, Seifert EL, Bevilacqua L, He XH, Sabourin G, Estey C, et al. SirT1 regulates energy metabolism and response to caloric restriction in mice. *PloS one*. 2008;3(3).
18. Kitada M, Koya D. SIRT1 in type 2 diabetes: mechanisms and therapeutic potential. *Diabetes & metabolism journal*. 2013;37(5):315-25.
19. Cho N, Shaw J, Karuranga S, Huang Y, da Rocha Fernandes J, Ohlrogge A, et al. IDF Diabetes Atlas: Global estimates of diabetes prevalence for 2017 and projections for 2045. *Diabetes research and clinical practice*. 2018;138:271-81.
20. Satman I, Omer B, Tutuncu Y, Kalaca S, Gedik S, Dincag N, et al. Twelve-year trends in the prevalence and risk factors of diabetes and prediabetes in Turkish adults. *European journal of epidemiology*. 2013;28(2):169-80.
21. Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği, Diabetes Mellitus ve Komplikasyonlarının Tanı, Tedavi ve İzlem Kılavuzu 2019
22. Association AD. Gestational diabetes mellitus. *Diabetes care*. 2004;27:S88.
23. Goldman-Cecil Medicine International Edition / (edited by) Lee Goldman, Andrew I. Schafer. 26th edition.
24. Singh R, Barden A, Mori T, Beilin L. Advanced glycation end-products: a review. *Diabetologia*. 2001;44(2):129-46.
25. Koya D, King GL. Protein kinase C activation and the development of diabetic complications. *Diabetes*. 1998;47(6):859-66.
26. Booth GL, Kapral MK, Fung K, Tu JV. Relation between age and cardiovascular disease in men and women with diabetes compared with non-diabetic people: a population-based retrospective cohort study. *The Lancet*. 2006;368(9529):29-36.
27. Bacci S, Vilella M, Vilella A, Langialonga T, Grilli M, Rauseo A, et al. Screening for silent myocardial ischaemia in type 2 diabetic patients with additional atherogenic risk factors: applicability and accuracy of the exercise stress test. *European journal of endocrinology*. 2002;147(5):649-54.
28. Antonetti DA, Klein R, Gardner TW. Diabetic retinopathy. *N Engl J Med*. 2012;366(13):1227-39.

29. Duh EJ, Sun JK, Stitt AW. Diabetic retinopathy: current understanding, mechanisms, and treatment strategies. *JCI insight*. 2017;2(14).
30. Leasher JL, Bourne RR, Flaxman SR, Jonas JB, Keeffe J, Naidoo K, et al. Global estimates on the number of people blind or visually impaired by diabetic retinopathy: a meta-analysis from 1990 to 2010. *Diabetes care*. 2016;39(9):1643-9.
31. Umanath K, Lewis JB. Update on diabetic nephropathy: core curriculum 2018. *American Journal of Kidney Diseases*. 2018;71(6):884-95.
32. Yigit IP, Taskapan H. Diabetic nephropathy: diagnosis, prevention and treatment. *Medicine Science*. 2016;5(4):1068-73.
33. Pop-Busui R, Boulton AJ, Feldman EL, Bril V, Freeman R, Malik RA, et al. Diabetic neuropathy: a position statement by the American Diabetes Association. *Diabetes care*. 2017;40(1):136-54.
34. Goldman DP, Cutler D, Rowe JW, Michaud P-C, Sullivan J, Peneva D, et al. Substantial health and economic returns from delayed aging may warrant a new focus for medical research. *Health affairs*. 2013;32(10):1698-705.
35. Kirkland JL. Translating advances from the basic biology of aging into clinical application. *Experimental gerontology*. 2013;48(1):1-5.
36. Tchkonja T, Zhu Y, Van Deursen J, Campisi J, Kirkland JL. Cellular senescence and the senescent secretory phenotype: therapeutic opportunities. *The Journal of clinical investigation*. 2013;123(3):966-72.
37. Tchkonja T, Morbeck DE, Von Zglinicki T, Van Deursen J, Lustgarten J, Scoble H, et al. Fat tissue, aging, and cellular senescence. *Aging cell*. 2010;9(5):667-84.
38. Giovos G, Yavropoulou MP, Yovos JG. The role of cellular senescence in diabetes mellitus and osteoporosis: molecular pathways and potential interventions. *Hormones*. 2019:1-13.
39. Young AR, Narita M, Narita M. Cell senescence as both a dynamic and a static phenotype. *Cell Senescence*: Springer; 2013. p. 1-13.
40. López-Otín C, Blasco MA, Partridge L, Serrano M, Kroemer G. The hallmarks of aging. *Cell*. 2013;153(6):1194-217.
41. Yokoi T, Fukuo K, Yasuda O, Hotta M, Miyazaki J, Takemura Y, et al. Apoptosis signal-regulating kinase 1 mediates cellular senescence induced by high glucose in endothelial cells. *Diabetes*. 2006;55(6):1660-5.
42. Cramer C, Freisinger E, Jones RK, Slakey DP, Dupin CL, Newsome ER, et al. Persistent high glucose concentrations alter the regenerative potential of mesenchymal stem cells. *Stem cells and development*. 2010;19(12):1875-84.
43. Kassi E, Papavassiliou AG. Could glucose be a proaging factor? *Journal of cellular and molecular medicine*. 2008;12(4):1194-8.

44. Kamada Y, Funakoshi T, Shintani T, Nagano K, Ohsumi M, Ohsumi Y. Tor-mediated induction of autophagy via an Apg1 protein kinase complex. *The Journal of cell biology*. 2000;150(6):1507-13.
45. Belenky P, Racette FG, Bogan KL, McClure JM, Smith JS, Brenner C. Nicotinamide riboside promotes Sir2 silencing and extends lifespan via Nrk and Urh1/Pnp1/Meu1 pathways to NAD⁺. *Cell*. 2007;129(3):473-84.
46. Bordone L, Guarente L. Calorie restriction, SIRT1 and metabolism: understanding longevity. *Nature reviews Molecular cell biology*. 2005;6(4):298-305.
47. Chan SS, Twigg SM, Firth SM, Baxter RC. Insulin-like growth factor binding protein-3 leads to insulin resistance in adipocytes. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2005;90(12):6588-95.
48. Markowski DN, Thies HW, Gottlieb A, Wenk H, Wischnewsky M, Bullerdiek J. HMGA2 expression in white adipose tissue linking cellular senescence with diabetes. *Genes & nutrition*. 2013;8(5):449.
49. Demaria M, Ohtani N, Youssef SA, Rodier F, Toussaint W, Mitchell JR, et al. An essential role for senescent cells in optimal wound healing through secretion of PDGF-AA. *Developmental cell*. 2014;31(6):722-33.
50. Stow JL, Murray RZ. Intracellular trafficking and secretion of inflammatory cytokines. *Cytokine & growth factor reviews*. 2013;24(3):227-39.
51. Esser N, Legrand-Poels S, Piette J, Scheen AJ, Paquot N. Inflammation as a link between obesity, metabolic syndrome and type 2 diabetes. *Diabetes research and clinical practice*. 2014;105(2):141-50.
52. Freund A, Orjalo AV, Desprez P-Y, Campisi J. Inflammatory networks during cellular senescence: causes and consequences. *Trends in molecular medicine*. 2010;16(5):238-46.
53. Spranger J, Kroke A, Möhlig M, Hoffmann K, Bergmann MM, Ristow M, et al. Inflammatory cytokines and the risk to develop type 2 diabetes: results of the prospective population-based European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC)-Potsdam Study. *Diabetes*. 2003;52(3):812-7.
54. Uchida T, Nakamura T, Hashimoto N, Matsuda T, Kotani K, Sakaue H, et al. Deletion of Cdkn1b ameliorates hyperglycemia by maintaining compensatory hyperinsulinemia in diabetic mice. *Nature medicine*. 2005;11(2):175-82.
55. Tavana O, Puebla-Osorio N, Sang M, Zhu C. Absence of p53-dependent apoptosis combined with nonhomologous end-joining deficiency leads to a severe diabetic phenotype in mice. *Diabetes*. 2010;59(1):135-42.
56. Blackburn EH, Epel ES, Lin J. Human telomere biology: a contributory and interactive factor in aging, disease risks, and protection. *Science*. 2015;350(6265):1193-8.
57. Montpetit AJ, Alhareeri AA, Montpetit M, Starkweather AR, Elmore LW, Filler K, et al. Telomere length: a review of methods for measurement. *Nursing research*. 2014;63(4):289.

58. Epel ES, Blackburn EH, Lin J, Dhabhar FS, Adler NE, Morrow JD, et al. Accelerated telomere shortening in response to life stress. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2004;101(49):17312-5.
59. Adamson DJ, King DJ, Haites NE. Significant telomere shortening in childhood leukemia. *Cancer genetics and cytogenetics*. 1992;61(2):204-6.
60. Engelhardt M, Martens U. The implication of telomerase activity and telomere stability for replicative aging and cellular immortality. *Oncology reports*. 1998;5(5):1043-95.
61. Mehle C, Ljungberg B, Roos G. Telomere shortening in renal cell carcinoma. *Cancer research*. 1994;54(1):236-41.
62. Ohyashiki JH, Ohyashiki K, Fujimura T, Kawakubo K, Shimamoto T, Iwabuchi A, et al. Telomere shortening associated with disease evolution patterns in myelodysplastic syndromes. *Cancer research*. 1994;54(13):3557-60.
63. Haycock PC, Heydon EE, Kaptoge S, Butterworth AS, Thompson A, Willeit P. Leucocyte telomere length and risk of cardiovascular disease: systematic review and meta-analysis. *Bmj*. 2014;349:g4227.
64. Lu W, Zhang Y, Liu D, Songyang Z, Wan M. Telomeres—structure, function, and regulation. *Experimental cell research*. 2013;319(2):133-41.
65. Rehkopf DH, Needham BL, Lin J, Blackburn EH, Zota AR, Wojcicki JM, et al. Leukocyte telomere length in relation to 17 biomarkers of cardiovascular disease risk: a cross-sectional study of US adults. *PLoS medicine*. 2016;13(11).
66. Shay JW, Wright WE. Telomerase activity in human cancer. *Current opinion in oncology*. 1996;8(1):66-71.
67. Russo P, Prinzi G, Proietti S, Lamonaca P, Frustaci A, Boccia S, et al. Shorter telomere length in schizophrenia: Evidence from a real-world population and meta-analysis of most recent literature. *Schizophrenia research*. 2018;202:37-45.
68. Needham B, Mezuk B, Bareis N, Lin J, Blackburn E, Epel E. Depression, anxiety and telomere length in young adults: evidence from the National Health and Nutrition Examination Survey. *Molecular psychiatry*. 2015;20(4):520.
69. Yaffe K, Lindquist K, Kluse M, Cawthon R, Harris T, Hsueh W-C, et al. Telomere length and cognitive function in community-dwelling elders: findings from the Health ABC Study. *Neurobiology of aging*. 2011;32(11):2055-60.
70. Njajou OT, Hsueh W-C, Blackburn EH, Newman AB, Wu S-H, Li R, et al. Association between telomere length, specific causes of death, and years of healthy life in health, aging, and body composition, a population-based cohort study. *Journals of Gerontology Series A: Biomedical Sciences and Medical Sciences*. 2009;64(8):860-4.
71. Latifovic L, Peacock SD, Massey TE, King WD. The influence of alcohol consumption, cigarette smoking, and physical activity on leukocyte telomere length. *Cancer Epidemiology and Prevention Biomarkers*. 2016;25(2):374-80.

72. Zee RY, Castonguay AJ, Barton NS, Germer S, Martin M. Mean leukocyte telomere length shortening and type 2 diabetes mellitus: a case-control study. *Translational research*. 2010;155(4):166-9.
73. Tamura Y, Izumiyama-Shimomura N, Kimbara Y, Nakamura K-i, Ishikawa N, Aida J, et al. β -cell telomere attrition in diabetes: inverse correlation between HbA1c and telomere length. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2014;99(8):2771-7.
74. D'Mello MJ, Ross SA, Briel M, Anand SS, Gerstein H, Pare G. Association between shortened leukocyte telomere length and cardiometabolic outcomes: systematic review and meta-analysis. *Circulation: cardiovascular genetics*. 2015;8(1):82-90.
75. Tamura Y, Takubo K, Aida J, Araki A, Ito H. Telomere attrition and diabetes mellitus. *Geriatrics & gerontology international*. 2016;16:66-74.
76. Willeit P, Raschenberger J, Heydon EE, Tsimikas S, Haun M, Mayr A, et al. Leucocyte telomere length and risk of type 2 diabetes mellitus: new prospective cohort study and literature-based meta-analysis. *PloS one*. 2014;9(11).
77. Weischer M, Bojesen SE, Nordestgaard BG. Telomere shortening unrelated to smoking, body weight, physical activity, and alcohol intake: 4,576 general population individuals with repeat measurements 10 years apart. *PLoS genetics*. 2014;10(3).
78. Testa R, Olivieri F, Sirolla C, Spazzafumo L, Rippon M, Marra M, et al. Leukocyte telomere length is associated with complications of type 2 diabetes mellitus. *Diabetic medicine*. 2011;28(11):1388-94.
79. Olivieri F, Lorenzi M, Antonicelli R, Testa R, Sirolla C, Cardelli M, et al. Leukocyte telomere shortening in elderly Type2DM patients with previous myocardial infarction. *Atherosclerosis*. 2009;206(2):588-93.
80. Uziel O, Singer JA, Danicek V, Sahar G, Berkov E, Luchansky M, et al. Telomere dynamics in arteries and mononuclear cells of diabetic patients: effect of diabetes and of glycemic control. *Experimental gerontology*. 2007;42(10):971-8.
81. Liu J, Ge Y, Wu S, Ma D, Xu W, Zhang Y, et al. Association between antidiabetic agents use and leukocyte telomere shortening rates in patients with type 2 diabetes. *Aging (Albany NY)*. 2019;11(2):741.
82. Welendorf C, Ferreira CN, de Souza MA, Noronha NY, de Paula BMF, Nonino CB. Obesity, weight loss and its influence on telomere length: new insights for personalized nutrition. *Nutrition*. 2019.
83. Garcia-Calzon S, Moleres A, Marcos A, Campoy C, Moreno LA, Azcona-Sanjulián MC, et al. Telomere length as a biomarker for adiposity changes after a multidisciplinary intervention in overweight/obese adolescents: the EVASYON study. *PLoS One*. 2014;9(2).
84. Lee M, Martin H, Firpo MA, Demerath EW. Inverse association between adiposity and telomere length: The Fels Longitudinal Study. *American Journal of Human Biology*. 2011;23(1):100-6.

85. Rode L, Nordestgaard BG, Weischer M, Bojesen SE. Increased body mass index, elevated C-reactive protein, and short telomere length. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2014;99(9):E1671-E5.
86. Okuda K, Bardeguet A, Gardner JP, Rodriguez P, Ganesh V, Kimura M, et al. Telomere length in the newborn. *Pediatric research*. 2002;52(3):377-81.
87. Proctor CJ, Kirkwood TB. Modelling telomere shortening and the role of oxidative stress. *Mechanisms of ageing and development*. 2002;123(4):351-63.
88. Takubo K, Izumiyama-Shimomura N, Honma N, Sawabe M, Arai T, Kato M, et al. Telomere lengths are characteristic in each human individual. *Experimental gerontology*. 2002;37(4):523-31.
89. Fingeret M, Marques-Vidal P, Vollenweider P. Incidence of type 2 diabetes, hypertension, and dyslipidemia in metabolically healthy obese and non-obese. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*. 2018;28(10):1036-44.
90. Horwich TB, Fonarow GC, Clark AL. Obesity and the obesity paradox in heart failure. *Progress in cardiovascular diseases*. 2018;61(2):151-6.
91. Njajou OT, Cawthon RM, Blackburn EH, Harris TB, Li R, Sanders JL, et al. Shorter telomeres are associated with obesity and weight gain in the elderly. *International journal of obesity*. 2012;36(9):1176-9.
92. Valdes AM, Andrew T, Gardner JP, Kimura M, Oelsner E, Cherkas LF, et al. Obesity, cigarette smoking, and telomere length in women. *The lancet*. 2005;366(9486):662-4.
93. Cherkas LF, Hunkin JL, Kato BS, Richards JB, Gardner JP, Surdulescu GL, et al. The association between physical activity in leisure time and leukocyte telomere length. *Archives of internal medicine*. 2008;168(2):154-8.
94. Nordfjäll K, Eliasson M, Stegmayr B, Melander O, Nilsson P, Roos G. Telomere length is associated with obesity parameters but with a gender difference. *Obesity*. 2008;16(12):2682-9.
95. Moreno-Navarrete J, Ortega F, Sabater M, Ricart W, Fernandez-Real J. Telomere length of subcutaneous adipose tissue cells is shorter in obese and formerly obese subjects. *International journal of obesity*. 2010;34(8):1345-8.
96. Jones D, Prior S, Barry J, Caplin S, Baxter J, Stephens J. Changes in markers of oxidative stress and DNA damage in human visceral adipose tissue from subjects with obesity and type 2 diabetes. *Diabetes research and clinical practice*. 2014;106(3):627-33.
97. Kim J-H, Kim HK, Ko J-H, Bang H, Lee D-C. The relationship between leukocyte mitochondrial DNA copy number and telomere length in community-dwelling elderly women. *PloS one*. 2013;8(6).
98. Cui Y, Gao YT, Cai Q, Qu S, Cai H, Li HL, et al. Associations of leukocyte telomere length with body anthropometric indices and weight change in Chinese women. *Obesity*. 2013;21(12):2582-8.

99. Al-Attas O, Al-Daghri N, Bamakhramah A, Shaun Sabico S, McTernan P, Huang TK. Telomere length in relation to insulin resistance, inflammation and obesity among Arab youth. *Acta paediatrica*. 2010;99(6):896-9.
100. Fitzpatrick AL, Kronmal RA, Gardner JP, Psaty BM, Jenny NS, Tracy RP, et al. Leukocyte telomere length and cardiovascular disease in the cardiovascular health study. *American journal of epidemiology*. 2007;165(1):14-21.
101. Gardner JP, Li S, Srinivasan SR, Chen W, Kimura M, Lu X, et al. Rise in insulin resistance is associated with escalated telomere attrition. *Circulation*. 2005;111(17):2171-7.
102. García-Calzón S, Gea A, Razquin C, Corella D, Lamuela-Raventós RM, Martínez JA, et al. Longitudinal association of telomere length and obesity indices in an intervention study with a Mediterranean diet: the PREDIMED-NAVARRA trial. *International journal of obesity*. 2014;38(2):177-82.
103. Bekaert S, De Meyer T, Rietzschel ER, De Buyzere ML, De Bacquer D, Langlois M, et al. Telomere length and cardiovascular risk factors in a middle-aged population free of overt cardiovascular disease. *Aging cell*. 2007;6(5):639-47.
104. Diaz V, Mainous A, Player M, Everett C. Telomere length and adiposity in a racially diverse sample. *International journal of obesity*. 2010;34(2):261-5.
105. Farzaneh-Far R, Lin J, Epel E, Lapham K, Blackburn E, Whooley MA. Telomere length trajectory and its determinants in persons with coronary artery disease: longitudinal findings from the heart and soul study. *PloS one*. 2010;5(1).
106. Bischoff C, Petersen HC, Graakjaer J, Andersen-Ranberg K, Vaupel JW, Bohr VA, et al. No association between telomere length and survival among the elderly and oldest old. *Epidemiology*. 2006;17(2):190-4.
107. Oliveira BS, Pirkle CM, Zunzunegui MV, Batistuzzo de Medeiros SR, Thomasini RL, Guerra RO. Leukocyte Telomere Length and Chronic Conditions in Older Women of Northeast Brazil: A Cross-Sectional Study. *Cells*. 2018;7(11):193.
108. Shin Y-A. How Does Obesity and Physical Activity Affect Aging?: Focused on Telomere as a Biomarker of Aging. *Journal of obesity & metabolic syndrome*. 2019;28(2):92.
109. North BJ, Verdin E. Sirtuins: Sir2-related NAD-dependent protein deacetylases. *Genome biology*. 2004;5(5):224.
110. Cantó C, Auwerx J. Targeting sirtuin 1 to improve metabolism: all you need is NAD+? *Pharmacological reviews*. 2012;64(1):166-87.
111. Michishita E, Park JY, Burneskis JM, Barrett JC, Horikawa I. Evolutionarily conserved and nonconserved cellular localizations and functions of human SIRT proteins. *Molecular biology of the cell*. 2005;16(10):4623-35.
112. Tanno M, Sakamoto J, Miura T, Shimamoto K, Horio Y. Nucleocytoplasmic shuttling of the NAD⁺-dependent histone deacetylase SIRT1. *Journal of Biological Chemistry*. 2007;282(9):6823-32.

113. Li X. SIRT1 and energy metabolism. *Acta Biochim Biophys Sin.* 2013;45(1):51-60.
114. Liang F, Kume S, Koya D. SIRT1 and insulin resistance. *Nature Reviews Endocrinology.* 2009;5(7):367.
115. Colak Y, Ozturk O, Senates E, Tuncer I, Yorulmaz E, Adali G, et al. SIRT1 as a potential therapeutic target for treatment of nonalcoholic fatty liver disease. *Medical science monitor: international medical journal of experimental and clinical research.* 2011;17(5):HY5.
116. Wang R-H, Kim H-S, Xiao C, Xu X, Gavrilova O, Deng C-X. Hepatic Sirt1 deficiency in mice impairs mTorc2/Akt signaling and results in hyperglycemia, oxidative damage, and insulin resistance. *The Journal of clinical investigation.* 2011;121(11).
117. Zhou B, Li C, Qi W, Zhang Y, Zhang F, Wu J, et al. Downregulation of miR-181a upregulates sirtuin-1 (SIRT1) and improves hepatic insulin sensitivity. *Diabetologia.* 2012;55(7):2032-43.
118. Caton PW, Nayuni NK, Kieswich J, Khan NQ, Yaqoob MM, Corder R. Metformin suppresses hepatic gluconeogenesis through induction of SIRT1 and GCN5. *Journal of Endocrinology.* 2010;205(1):97.
119. Birkenfeld AL, Shulman GI. Nonalcoholic fatty liver disease, hepatic insulin resistance, and type 2 diabetes. *Hepatology.* 2014;59(2):713-23.
120. Kemper JK, Choi S-E, Kim DH. Sirtuin 1 deacetylase: a key regulator of hepatic lipid metabolism. *Vitamins & hormones.* 91: Elsevier; 2013. p. 385-404.
121. Cao Y, Jiang X, Ma H, Wang Y, Xue P, Liu Y. SIRT1 and insulin resistance. *Journal of Diabetes and its Complications.* 2016;30(1):178-83.
122. Ponugoti B, Kim D-H, Xiao Z, Smith Z, Miao J, Zang M, et al. SIRT1 deacetylates and inhibits SREBP-1C activity in regulation of hepatic lipid metabolism. *Journal of Biological Chemistry.* 2010;285(44):33959-70.
123. Yamazaki Y, Usui I, Kanatani Y, Matsuya Y, Tsuneyama K, Fujisaka S, et al. Treatment with SRT1720, a SIRT1 activator, ameliorates fatty liver with reduced expression of lipogenic enzymes in MSG mice. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism.* 2009;297(5):E1179-E86.
124. Fisher FM, Chui PC, Nasser IA, Popov Y, Cunniff JC, Lundasen T, et al. Fibroblast growth factor 21 limits lipotoxicity by promoting hepatic fatty acid activation in mice on methionine and choline-deficient diets. *Gastroenterology.* 2014;147(5):1073-83. e6.
125. Li Y, Wong K, Walsh K, Gao B, Zang M. Retinoic acid receptor β stimulates hepatic induction of fibroblast growth factor 21 to promote fatty acid oxidation and control whole-body energy homeostasis in mice. *Journal of Biological Chemistry.* 2013;288(15):10490-504.
126. Valdecantos MP, Pérez-Matute P, González-Muniesa P, Prieto-Hontoria PL, Moreno-Aliaga MJ, Martínez JA. Lipoic acid improves mitochondrial function in nonalcoholic steatosis through the stimulation of sirtuin 1 and sirtuin 3. *Obesity.* 2012;20(10):1974-83.

127. Li Y, Xu S, Giles A, Nakamura K, Lee JW, Hou X, et al. Hepatic overexpression of SIRT1 in mice attenuates endoplasmic reticulum stress and insulin resistance in the liver. *The FASEB Journal*. 2011;25(5):1664-79.
128. Nie Y, Erion DM, Yuan Z, Dietrich M, Shulman GI, Horvath TL, et al. STAT3 inhibition of gluconeogenesis is downregulated by SirT1. *Nature cell biology*. 2009;11(4):492-500.
129. Fröjdö S, Durand C, Molin L, Carey AL, El-Osta A, Kingwell BA, et al. Phosphoinositide 3-kinase as a novel functional target for the regulation of the insulin signaling pathway by SIRT1. *Molecular and cellular endocrinology*. 2011;335(2):166-76.
130. Hong J, Kim B-W, Choo H-J, Park J-J, Yi J-S, Yu D-M, et al. Mitochondrial complex I deficiency enhances skeletal myogenesis but impairs insulin signaling through SIRT1 inactivation. *Journal of Biological Chemistry*. 2014;289(29):20012-25.
131. Zhang H-H, Ma X-J, Wu L-N, Zhao Y-Y, Zhang P-Y, Zhang Y-H, et al. SIRT1 attenuates high glucose-induced insulin resistance via reducing mitochondrial dysfunction in skeletal muscle cells. *Experimental Biology and Medicine*. 2015;240(5):557-65.
132. Zhang H-H, Qin G-J, Li X-L, Zhang Y-H, Du P-J, Zhang P-Y, et al. SIRT1 overexpression in skeletal muscle in vivo induces increased insulin sensitivity and enhanced complex I but not complex II–V functions in individual subsarcolemmal and intermyofibrillar mitochondria. *Journal of physiology and biochemistry*. 2015;71(2):177-90.
133. Jin Q, Zhang F, Yan T, Liu Z, Wang C, Ge X, et al. C/EBP α regulates SIRT1 expression during adipogenesis. *Cell research*. 2010;20(4):470-9.
134. Chakrabarti P, English T, Karki S, Qiang L, Tao R, Kim J, et al. SIRT1 controls lipolysis in adipocytes via FOXO1-mediated expression of ATGL. *Journal of lipid research*. 2011;52(9):1693-701.
135. Xu C, Bai B, Fan P, Cai Y, Huang B, Law IK, et al. Selective overexpression of human SIRT1 in adipose tissue enhances energy homeostasis and prevents the deterioration of insulin sensitivity with ageing in mice. *American journal of translational research*. 2013;5(4):412.
136. Chalkiadaki A, Guarente L. High-fat diet triggers inflammation-induced cleavage of SIRT1 in adipose tissue to promote metabolic dysfunction. *Cell metabolism*. 2012;16(2):180-8.
137. Fuentes E, Fuentes F, Vilahur G, Badimon L, Palomo I. Mechanisms of chronic state of inflammation as mediators that link obese adipose tissue and metabolic syndrome. *Mediators of inflammation*. 2013;2013.
138. Ota T. Chemokine systems link obesity to insulin resistance. *Diabetes & metabolism journal*. 2013;37(3):165-72.
139. Gouranton E, Romier B, Marcotorchino J, Tourniaire F, Astier J, Peiretti F, et al. Visfatin is involved in TNF α -mediated insulin resistance via an NAD⁺/Sirt1/PTP1B pathway in 3T3-L1 adipocytes. *Adipocyte*. 2014;3(3):180-9.

140. Nigro E, Scudiero O, Monaco ML, Palmieri A, Mazzarella G, Costagliola C, et al. New insight into adiponectin role in obesity and obesity-related diseases. *BioMed research international*. 2014;2014.
141. Song YS, Lee SK, Jang YJ, Park HS, Kim J-H, Lee YJ, et al. Association between low SIRT1 expression in visceral and subcutaneous adipose tissues and metabolic abnormalities in women with obesity and type 2 diabetes. *Diabetes research and clinical practice*. 2013;101(3):341-8.
142. Takemori K, Kimura T, Shirasaka N, Inoue T, Masuno K, Ito H. Food restriction improves glucose and lipid metabolism through Sirt1 expression: a study using a new rat model with obesity and severe hypertension. *Life sciences*. 2011;88(25-26):1088-94.
143. dos Santos Costa C, Rohden F, Hammes TO, Margis R, Bortolotto JW, Padoin AV, et al. Resveratrol upregulated SIRT1, FOXO1, and adiponectin and downregulated PPAR γ 1–3 mRNA expression in human visceral adipocytes. *Obesity surgery*. 2011;21(3):356-61.
144. Chen Y-R, Lai Y-l, Li X-t, Fu Y-C, Xu W-C. SIRT1 interacts with metabolic transcriptional factors in the pancreas of insulin-resistant and calorie-restricted rats. *Molecular biology reports*. 2013;40(4):3373-80.
145. Chen Y-R, Fang S-R, Fu Y-C, Zhou X-H, Xu M-Y, Xu W-C. Calorie restriction on insulin resistance and expression of SIRT1 and SIRT4 in rats. *Biochemistry and Cell Biology*. 2010;88(4):715-22.
146. do Amaral MEC, Ueno M, Oliveira CA, Borsonello NC, Vanzela EC, Ribeiro RA, et al. Reduced expression of SIRT1 is associated with diminished glucose-induced insulin secretion in islets from calorie-restricted rats. *The Journal of nutritional biochemistry*. 2011;22(6):554-9.
147. Moynihan KA, Grimm AA, Plueger MM, Bernal-Mizrachi E, Ford E, Cras-Méneur C, et al. Increased dosage of mammalian Sir2 in pancreatic β cells enhances glucose-stimulated insulin secretion in mice. *Cell metabolism*. 2005;2(2):105-17.
148. Ramsey KM, Mills KF, Satoh A, Imai Si. Age-associated loss of Sirt1-mediated enhancement of glucose-stimulated insulin secretion in beta cell-specific Sirt1-overexpressing (BESTO) mice. *Aging cell*. 2008;7(1):78-88.
149. Lafontaine-Lacasse M, Dore G, Picard F. Hexosamines stimulate apoptosis by altering SIRT1 action and levels in rodent pancreatic A-cells. *J Endocrinol*. 2011;208:41-9.
150. Cawthon RM. Telomere measurement by quantitative PCR. *Nucleic acids research*. 2002;30(10):e47-e.
151. Mulasi U, Kuchnia AJ, Cole AJ, Earthman CP. Bioimpedance at the bedside: current applications, limitations, and opportunities. *Nutrition in Clinical Practice*. 2015;30(2):180-93.
152. Sergi G, De Rui M, Stubbs B, Veronese N, Manzato E. Measurement of lean body mass using bioelectrical impedance analysis: a consideration of the pros and cons. *Aging clinical and experimental research*. 2017;29(4):591-7.

153. Kyle UG, Bosaeus I, De Lorenzo AD, Deurenberg P, Elia M, Gómez JM, et al. Bioelectrical impedance analysis—part II: utilization in clinical practice. *Clinical nutrition*. 2004;23(6):1430-53.
154. Bland JM, Altman D. Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement. *The lancet*. 1986;327(8476):307-10.
155. Ross R, Leger L, Morris D, de Guise J, Guardo R. Quantification of adipose tissue by MRI: relationship with anthropometric variables. *Journal of applied physiology*. 1992;72(2):787-95.
156. Shen Q, Zhao X, Yu L, Zhang Z, Zhou D, Kan M, et al. Association of leukocyte telomere length with type 2 diabetes in mainland Chinese populations. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2012;97(4):1371-4.
157. Januszewski AS, Sutanto SS, McLennan S, O'Neal DN, Keech AC, Twigg SM, et al. Shorter telomeres in adults with type 1 diabetes correlate with diabetes duration, but only weakly with vascular function and risk factors. *Diabetes research and clinical practice*. 2016;117:4-11.
158. Wang J, Dong X, Cao L, Sun Y, Qiu Y, Zhang Y, et al. Association between telomere length and diabetes mellitus: A meta-analysis. *Journal of International Medical Research*. 2016;44(6):1156-73.
159. Salpea KD, Talmud PJ, Cooper JA, Maubaret CG, Stephens JW, Abelak K, et al. Association of telomere length with type 2 diabetes, oxidative stress and UCP2 gene variation. *Atherosclerosis*. 2010;209(1):42-50.
160. Masi S, D'Aiuto F, Cooper J, Salpea K, Stephens JW, Hurel SJ, et al. Telomere length, antioxidant status and incidence of ischaemic heart disease in type 2 diabetes. *International journal of cardiology*. 2016;216:159-64.
161. Ma D, Zhu W, Hu S, Yu X, Yang Y. Association between oxidative stress and telomere length in Type 1 and Type 2 diabetic patients. *Journal of endocrinological investigation*. 2013;36(11):1032-7.
162. Lung F, Ku C, Kao W. Telomere length may be associated with hypertension. *Journal of human hypertension*. 2008;22(3):230-2.
163. Demissie S, Levy D, Benjamin EJ, Cupples LA, Gardner JP, Herbert A, et al. Insulin resistance, oxidative stress, hypertension, and leukocyte telomere length in men from the Framingham Heart Study. *Aging cell*. 2006;5(4):325-30.
164. Lopes HF, Martin KL, Nashar K, Morrow JD, Goodfriend TL, Egan BM. DASH diet lowers blood pressure and lipid-induced oxidative stress in obesity. *Hypertension*. 2003;41(3):422-30.
165. Zannolli R, Mohn A, Buoni S, Pietrobelli A, Messina M, Chiarelli F, et al. Telomere length and obesity. *Acta Paediatrica*. 2008;97(7):952-4.
166. Sulastri D, Lestari Y. Relationship Between Body Composition and Smoking Habit with Telomere Length of Minangkabau Ethnicity Men, in West Sumatera, Indonesia. *Pakistan journal of biological sciences: PJBS*. 2017;20(10):516-22.

167. Palacios JA, Herranz D, De Bonis ML, Velasco S, Serrano M, Blasco MA. SIRT1 contributes to telomere maintenance and augments global homologous recombination. *Journal of Cell Biology*. 2010;191(7):1299-313.
168. Kim S, Bi X, Czarny-Ratajczak M, Dai J, Welsh DA, Myers L, et al. Telomere maintenance genes SIRT1 and XRCC6 impact age-related decline in telomere length but only SIRT1 is associated with human longevity. *Biogerontology*. 2012;13(2):119-31.
169. Lin C-C, Liaw S-F, Lin M-W, Chiu C-H. Effect Of Oral Appliance On Circulating Leukocyte Telomere Length And Sirt1 In Obstructive Sleep Apnea Syndrome. B80-H METABOLIC CONSEQUENCES OF SDB: American Thoracic Society; 2017. p. A4521-A.
170. Opstad TB, Kalstad AA, Holte KB, Berg TJ, Solheim S, Arnesen H, et al. Shorter Leukocyte Telomere Lengths in Healthy Relatives of Patients with Coronary Heart Disease. *Rejuvenation Research*. 2020.
171. Shao Y, Ren H, Lv C, Ma X, Wu C, Wang Q. Changes of serum Mir-217 and the correlation with the severity in type 2 diabetes patients with different stages of diabetic kidney disease. *Endocrine*. 2017;55(1):130-8.
172. Fathy SA, Ibrahim DM, Elkhayat WA, Ahmed HS. Association between serum sirt 1 and advanced glycation end products levels in type 2 diabetic nephropathy patients. *Int J Biosci*. 2017;10:398-404.
173. Rahimi M, Ghanbari S, Khazaei M, Niroman E. Comparison of sirtuin 1 level and related blood factors in diabetic and healthy subjects. *Pediatric Endocrinology, Diabetes & Metabolism*. 2020;26(1).
174. Robertson T, Batty GD, Der G, Green MJ, McGlynn LM, McIntyre A, et al. Is telomere length socially patterned? Evidence from the West of Scotland Twenty-07 Study. *PloS one*. 2012;7(7):e41805.
175. Blaze J, Asok A, Roth TL. The long-term impact of adverse caregiving environments on epigenetic modifications and telomeres. *Frontiers in behavioral neuroscience*. 2015;9:79.
176. Sies H. Oxidative stress: oxidants and antioxidants. *Experimental Physiology: Translation and Integration*. 1997;82(2):291-5.
177. Daniali L, Benetos A, Susser E, Kark JD, Labat C, Kimura M, et al. Telomeres shorten at equivalent rates in somatic tissues of adults. *Nature communications*. 2013;4(1):1-7.
178. Entringer S, Epel ES, Kumsta R, Lin J, Hellhammer DH, Blackburn EH, et al. Stress exposure in intrauterine life is associated with shorter telomere length in young adulthood. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2011;108(33):E513-E8.

8.ÖZET

TİP 2 DİYABETLİ HASTALARDA LÖKOSİT TELOMER UZUNLUĞUNUN; SİRTUİN-1 DÜZEYİ, GLİSEMİK KONTROL, DİYABETİK KOMPLİKASYONLAR, VÜCUT YAĞ DAĞILIMI, BESLENME VE EGZERSİZ ALIŞKANLIKLARI İLE İLİŞKİSİ

Giriş: İnsanda telomerler, her hücre bölünmesi ile yaşam süresi boyunca kısalır, bu nedenle bir bireyin tam hücrel döngüsünü yansıtır. Telomer uzunluğunun biyolojik yaşlanmanın bir belirteci olduğu düşünülmektedir. Son çalışmalarda diabetes mellitus (DM) ve komplikasyonlarının lökosit telomer uzunluğu (LTU)'nda kısalma ile ilişkili olabileceği öne sürülmüştür. Enerji metabolizmasının bir düzenleyicisi olan Silent Information Regulator 1(SIRT1); oksidatif stres, inflamasyon ve mitokondriyal fonksiyonlara etkisi ile DM ve obezite gelişimine katkıda bulunabileceği, bunun yanında hücrel yaşlanma ile bağlantılı olabileceği gösterilmiştir. Araştırmamızda tip 2 DM'li hastalarda LTU ve serum SIRT1 seviyesini diyabeti olmayan kontrol grubu ile karşılaştırmayı amaçladık. Ayrıca SIRT1 ve telomer uzunluğunun; diyabet süresi, diyabet komplikasyonları, vücut yağ dağılımı, beslenme ve egzersiz alışkanlıkları ile ilişkisini incelemeyi planladık.

Gereç ve Yöntem: Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Endokrinoloji ve Metabolizma Bilim Dalı Diyabet ve Obezite Polikliniğine Şubat 2020 ile Temmuz 2020 tarihleri arasında başvuran 40-65 yaş arası tip 2 DM tanılı 84 hasta ve yaş, vücut kile indeksi (VKİ) ve cinsiyet açısından benzer 40 sağlıklı gönüllü alındı. LTU, tüm grupta kantitatif PCR yöntemi ile çalışıldı ve rölatif T/S oranı hesaplandı. Serum SIRT1 44 hastada ve 40 kontrolde ELİSA yöntemi ile çalışıldı. Hastaların ve kontrol grubunun vücut yağ dağılımları biyoelektrik impedans analizi ile yapıldı. Yüz yüze yapılması planlanan beslenme ve egzersiz kaydı formları değerlendirilmeleri Covid-19 pandemisi nedeniyle yapılamadı.

Bulgular: Median LTU tip 2 diyabetli hastalarla kontrol grubu arasında benzer saptanmasına rağmen (1,03 ve 1,25 p=0,064), diyabetli hastalarda kısa

telomer uzunluğuna (T/S<1) sahip olma yüzdesi (%47,6) kontrol grubuna göre (%27,5) daha yüksek bulundu (p=0,035). Komplikasyonu olan ve olmayan tip 2 diyabetliler arasında anlamlı telomer uzunluğu açısından fark saptanmadı (p>0,05). Obez diyabetlilerde düşük telomer uzunluğuna sahip olma yüzdesi (%60) obez olmayan diyabetlilere (%35,7) göre yüksek bulundu (p=0,029). Tip 2 diyabetlilerde gövde yağ kütlesi ile LTU arasında negatif korelasyon saptandı (r=-0,250 p=0,028). Diyabet süresi, açlık kan şekeri ve HbA1c ile LTU arasında bir ilişki bulunmadı (p>0,05). Buna karşın vücut ağırlığı ile negatif bir ilişki saptandı (r=-0,248, p=0,025). Serum SIRT1 düzeyi diyabetli hastalarda kontrole göre anlamlı şekilde düşük bulundu (95,48±29,9 ve 138,40±42,66, p<0,001). Komplikasyon eşlik eden hastalar ile komplikasyonu olmayan hastalar arasında serum SIRT1 düzeyi benzer bulundu (p=0,114). Diyabetlilerde LTU ile SIRT1 arasında korelasyon görülmezken (r=0,100 p=0,507), kontrol grubunda anlamlı düzeyde negatif korelasyon saptandı (r=-0,368 p=0,019).

Sonuç: Çalışmamızda tip 2 diyabetli hastalarda sağlıklı bireylere göre LTU'nun daha kısa ve serum SIRT1 düzeyinin düşük olduğu bulunmuştur. Ayrıca, visseral obezitenin LTU'ndaki kısalmaya olumsuz etkisi olduğu ortaya konmuştur. LTU ve SIRT1'in diyabetik komplikasyonlar ile bağlantısı saptanmamıştır. Bulgularımız diyabetli hastalarda hücrel yaşlanma sürecinin daha hızlı olduğunu ve obezite ile ilişkili olduğunu göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Lökosit telomer uzunluğu, Sirtuin 1, Tip 2 diabetes mellitus, Biyoelektrik impedans analizi, komplikasyon

9. ABSTRACT

THE RELATIONSHIP BETWEEN LEUKOCYTE TELOMERE LENGTH AND SIRTUIN-1 LEVEL, GLYCEMIC CONTROL, DIABETIC COMPLICATIONS, BODY FAT DISTRIBUTION, NUTRITION AND EXERCISE HABITS IN PATIENTS WITH TYPE 2 DIABETES

Introduction: In humans, telomeres shorten throughout life span with each cell division, thus reflecting an individual's complete cellular cycle. Telomere length is thought to be a marker of biological aging. In recent studies, it has been suggested that diabetes mellitus (DM) and its complications may be associated with shortening of leukocyte telomere length (LTL). Silent Information Regulator 1 (SIRT1), which is a regulator of energy metabolism, may contribute to the development of DM and obesity via its effects on oxidative stress, inflammation and mitochondrial functions. Also, SIRT1 has been shown to be associated with cellular aging. In our study, we aimed to compare leukocyte telomere length and serum SIRT1 levels in patients with type 2 DM with a healthy control group. In addition, we planned to examine the relationship between telomere length and SIRT1 level, glycemic control, complications of diabetes, body fat distribution as well as nutrition and exercise habits.

Material and Method: Eighty four patients aged between 40-65 with type 2 DM diagnosis who referred to Gazi University Medical Faculty Hospital Endocrinology and Metabolism Department Diabetes and Obesity Outpatient clinic between February 2020- July 2020 were selected and forty healthy volunteers who were similar with patients in terms of age, body mass index (BMI) and gender were taken as a control group. LTL was studied in all participants by quantitative PCR method and relative T/S ratio was calculated. Serum SIRT1 level was studied by ELISA method in 44 patients and 40 controls. The measurements of body fat distribution of the patients and the control group were performed by bioelectrical impedance analysis. Evaluation of nutrition and exercise habits with two questionnaires, which was planned to be made face to face, could not be done because of Covid-19 pandemic.

Findings: Median LTL was found to be lower in patients with type 2 diabetes compared to control group (1.03 vs 1.25, $p=0.064$) but it is not statistically significant, however, the percentage of having a short telomere length ($T/S < 1$) in diabetic patients was higher compared to the control group (47.6% vs 27.5%, $p=0.035$). There was no significant LTL difference between patients with and without diabetic complications ($p>0.05$). The percentage of having low telomere length was found to be significantly higher in obese diabetics than in non-obese diabetics (60% vs 35.7%, $p=0.029$). In diabetic patients, T/S correlated negatively with body weight ($r=-0.248$ $p=0.025$) and trunk fat mass ($r=-0.250$, $p=0.028$). No relationship was found between duration of diabetes, fasting blood glucose, HbA1c and LTU ($p>0.05$). Serum SIRT1 level was found to be significantly lower in diabetic patients (95.48 ± 29.9 vs 138.40 ± 42.66 , $p<0.001$). SIRT1 level was found to be similar between patients with complications and patients without complications ($p=0.05$). There was no correlation between T/S ratio and SIRT1 in diabetic patients ($r=0.100$ $p=0.507$), however, a statistically significant negative correlation was observed in the control group ($r=-0.368$, $p=0.019$).

Conclusion: In our study, it was found that LTL was shorter and serum SIRT1 level was lower in patients with type 2 diabetes than healthy volunteers. In addition, it was demonstrated that visceral obesity has a negative effect on LTL shortening. No relationship was observed between LTL, SIRT1 and diabetic complications. Our findings show that the cellular aging process is faster in patients with diabetes and is associated with obesity.

Key words: Leukocyte telomere length, Sirtuin 1, Type 2 diabetes mellitus, Bioelectrical impedance analysis, complication

10. ÖZGEÇMİŞ

Adı: Nazmi Gökhan

Soyadı: ÜNVER

Doğum yeri ve tarihi: Niğde- 13.11.1989

Eğitimi: Araştırma Görevlisi Dr.

Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları ABD Mart 2016- Halen

Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi 2008-2015

Niğde Fen Lisesi 2004-2008

Yabancı Dili: İngilizce

11. EKLER

11.1 EK-1 Olgu Kayıt Formu

Tarih :

Adı Soyadı :

Yaş :

TC Kimlik Numarası :

Telefon Numarası :

Diyabet Süresi :

Retinopati : Nefropati : Nöropati:

Koroner arter hastalığı : Serebrovasküler Hastalık :

HbA1C :

Açlık kan şekeri :

Lipid profili :

Ek hastalıklar :

Kullanılan ilaçlar :

Kre :

Alt :

Albümin :

Boy : Ağırlık : BMI :

Tanita :

Vscan :

11.2 EK-2 Etik Kurul Onayı



T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
Tıp Fakültesi Dekanlığı



Sayı : 24074710-604.01.01-06
Konu : Toplantı Kararları

04.02.2020

Sayın *Prof. Dr. Alev Eroğlu Altınova*
Proje Yürütücüsü

Fakültemiz Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'nun **27** Ocak 2020 tarihinde yapmış olduğu toplantı kararları ekte sunulmuştur.
Bilgilerinizi rica ederim.

Prof. Dr. Taner AKAR
Dekan Yardımcısı

GAZİ ÜNİVERSİTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU
GİRİŞİMSSEL OLMAYAN ARAŞTIRMALAR KARAR FORMU

ETİK KURUL BİLGİLERİ	ETİK KURULUNUN ADI	Gazi Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu
	AÇIK ADRES	Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlık Binası 06500 Beşevler/Ankara
	TELEFON	0312 202 69 58
	FAKS	0312 202 46 73
	E-POSTA	tipetikkurul@gazi.edu.tr

BAŞVURU BİLGİLERİ	ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Tip 2 diyabetli hastalarda lökosit telomer uzunluğunun; sirtuin-1 düzeyi, glisemik kontrol, diyabetik komplikasyonlar, vücut yağ dağılımı, beslenme ve egzersiz alışkanlıkları ile ilişkisi			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI ÜNVANI/ADI/SOYADI	Prof. Dr. Alev EROĞLU ALTINOVA			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI /UZMANLIK ALANI/ BULUNDUĞU MERKEZ	İç Hastalıkları Anabilim Dalı / G.Ü.T.F.			
	DESTEKLEYİCİ (Varsa)				
	ARAŞTIRMANIN TÜRÜ	Anket çalışmaları-Kan, idrar, doku, radyolojik görüntü gibi biyokimya, mikrobiyoloji, patoloji ve radyoloji koleksiyon materyalleriyle veya rutin muayene tetkik tahlil ve tedavi işlemleri sırasında (önceden) elde edilmiş materyallerle yapılacak araştırmalar-Tanımlamaya yönelik olarak genetik materyalde yapılacak araştırmalar(gen tedavisi klinik araştırmaları dışında kalan) Antropometrik ölçümlere dayalı olarak yapılan araştırmalar-Yaşam alışkanlıklarının değerlendirilmesi araştırmaları -Uzmanlık tezi			
ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER		TEK MERKEZ ☒	ÇOK MERKEZLİ ☐	ULUSAL ☒	ULUSLARARASI ☐

DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Ver.No	Dili
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ	13.01.2020	1	Türkçe ☒ İngilizce ☐ Diğer ☐
	AYDINLATILMIŞ ONAM FORMU	13.01.2020	1	Türkçe ☒ İngilizce ☐ Diğer ☐
DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	Belge Adı			Açıklama
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	☒		
	BİYOLOJİK MATERYAL TRANSFER FORMU	☐		
		☐		

KARAR BİLGİLERİ	Karar No: 109	Toplantı tarihi: 27.01.2020
	Yukarıda bilgileri verilen başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın gerekçe amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve uygun bulunmuş olup, araştırma dosyasında belirtilen merkez/merkezlerde gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına, G.Ü. Klinik Araştırmalar Etik Kurulu üyelerinin oybirliği ile karar verilmiştir.	

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU									
ETİK KURULUN ÇALIŞMA ESASI		İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik, İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu							
BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI:		Prof. Dr. D. Berrin GÜNAYDIN							
Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet		Araştırma ile ilişki		Katılım *		İmza
Prof. Dr. D. Berrin GÜNAYDIN BAŞKAN	Anest. ve Rea. AD. Farmako. Bİ.Dr.	G.Ü.T.F.	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Prof. Dr. Gülten TAÇOY BAŞKAN YARD.	Kardiyoloji AD.	G.Ü.T.F.	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	

Doç. Dr. İlyas OKUR BİLDİRİMDEN SORUMLU ÜYE	Çocuk Sağ. ve Hast AD.Ç.Met. Bes BD	G.Ü.T.F	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Prof. Dr. Nevzat YÜKSEL ÜYE	Psikiyatri AD.	G.Ü.T.F	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Prof. Dr. Nesrin ÇOBANOĞLU ÜYE	Tıp Tarihi ve Etik AD.	G.Ü.T.F	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☒	Katılmadı
Prof. Dr. Mehmet Ali ERGÜN ÜYE	Tıbbi Genetik AD.	G.Ü.T.F	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Prof. Dr. Nuriye ÖZDEMİR ÜYE	İç Hast. AD. Tıbbi Onkoloji BD.	G.Ü.T.F	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Prof. Dr. Aylin SEPİCİ DİNÇEL ÜYE	Tıbbi Biyokimya A.D	G.Ü.T.F	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Doç. Dr. Hasan BOSTANCI ÜYE	Genel Cerrahi AD.	G.Ü.T.F	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Doç. Dr. Murat UÇAR ÜYE	Radyoloji AD.	G.Ü.T.F	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Doç. Dr. Gökçe S. ÖZTÜRK FİNCAN ÜYE	Tıbbi Farmakoloji AD.	G.Ü.T.F	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☐	H ☐	Katılmadı
Dr. Öğr. Üyesi A. Meltem SEVGİLİ ÜYE	Tıbbi Fizyoloji AD.	G.Ü.T.F	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☐	H ☐	Katılmadı
Uzm Dr. Emine AVCI ÜYE	Halk Sağlığı	Halk Sağlığı Genel Müd.	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	Katılmadı
Araş. Gör. Dr. Fahri Erdem KAŞAK ÜYE	Hukukçu	Hacı Bayram Veli Üniv.	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
İ. Nüket EKŞİ ÜYE	Sivil Temsilci	-	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☐	H ☐	

* :Araştırma ile İlişki
** :Toplantıda Bulunma